

## Датчик пероксида водорода на основе каталитически активных систем Ru-RuO<sub>2</sub>, полученных методом высокоскоростного лазерного синтеза

### Аннотация

Существует потребность в простых и экономичных химических сенсорах для мониторинга концентрации пероксида водорода в биологических средах (плазме крови, моче, спинно-мозговой жидкости). В настоящей статье показана возможность использования для этой цели каталитически активных соединений рутения, полученных методом высокоскоростного лазерного синтеза на поверхности графитового электрода.

### Введение

Пероксид водорода – один из активных кислородных метаболитов, концентрация которого различается в разных тканях и органах, а также зависит от физиологических и патологических состояний организма [1]-[6]. Важным свойством пероксида водорода является относительная стабильность при физиологических условиях [1]-[4], что позволяет использовать его как маркер окислительного стресса на клеточном и организменном уровнях. Представляют интерес оценка и мониторинг концентрации пероксида водорода в биологических жидкостях человека для диагностики сердечно-сосудистых [2], онкологических [3], [7] и респираторных [6] заболеваний. Известно, например, что базальная концентрация пероксида водорода в плазме крови составляет 1...5 мкмоль, повышаясь до 50 мкмоль при развитии воспалительных заболеваний [1], [2], [4]. В моче здорового человека определяется 15 мкмоль пероксида водорода, а у пациентов с онкологическими заболеваниями этот показатель повышается более чем втрое [2].

Существует множество электрохимических методов оценки концентрации пероксида водорода, которые можно подразделить на энзиматические, основанные на пероксидазном биокатализе [5], [6], и неэнзиматические, использующие каталитически активные металлы и/или материалы с углеродными нанотрубками [8]-[12].

Перспективный класс электродных материалов можно получить методами высокоскоростного лазерного синтеза (ВЛС) [13], применяя в качестве модификаторов электродной поверхности соединения металлов платиновой группы – в частности рутения. В ряде работ показаны биомиметические свойства катализаторов на основе рутения, позволяющие сравнивать их с ферментами [14], [15]. Электрохимическое поведение электродов, модифицированных диоксидом рутения, является предметом пристального научного интереса [16], [17]. Рутений в составе активного слоя графитового электрода должен выполнять электрокаталитические функции в отношении пероксида водорода, генерируемого ферментами-оксидазами [18], [19] и клетками (нейтрофильными гранулоцитами, макрофагами, эндотелиоцитами, эритроцитами, культивируемыми опухолевыми клетками, и др.) [1], [2], [4], [5], [20], [21].

Целью рассматриваемой работы стала оценка чувствительности к пероксиду водорода графитового электрода, содержащего сформированную методом ВЛС каталитически активную систему Ru-RuO<sub>2</sub>.

### Материалы и методы

В качестве электрода-основы использовали коммерчески доступные планарные трехэлектродные системы (ООО «Автоком», Москва, Россия).

Спиртовой раствор рутения (IV) гидроксохлорида (0,3 г/мл) наносили на поверхность рабочего электрода (рис. 1, поз. 3). После полной просушки поверхности электрода осуществляли лазерную обработку в защитной среде. Для короткоимпульсной лазерной обработки использовали импульсный иттербиевый оптоволоконный лазер номинальной мощностью 50 Вт с длиной волны 1,065 мкм. Методика лазерной обработки была описана ранее [22].



Рис. 1. Внешний вид планарного трехэлектродного датчика: 1 – графитовый противэлектрод; 2 – электрод сравнения Ag/AgCl; 3 – рабочий электрод, модифицированный оксидом рутения

Растровое изображение поверхности получали на сканирующем электронном микроскопе «FEI INSPECT S50» при ускоряющем напряжении 20 кВ с использованием энергодисперсионного микроанализатора для определения элементного состава.

Исследование электрохимических характеристик и каталитической активности образцов проводили методом циклической вольтамперометрии (ЦВА) на потенциостате-измерителе импеданса «EcoLab 2A-500» (ООО «Эковектор», Ижевск, Россия) в диапазоне потенциалов от –500 до 500 мВ при скорости сканирования 100 мВ/с. Все потенциалы приведены относительно хлоридсеребряного электрода. Фоновым электролитом во всех экспериментах служил 0,15 моль фосфатно-солевой буферный раствор (pH = 7,2). Рабочие растворы пероксида водорода (0,1...100 мкмоль) готовили непосредственно перед экспериментом методом последовательного разведения 30%-ного раствора.

### Результаты

Электронно-микроскопическое изображение графитовой поверхности рабочего электрода после нанесения оксиднорутениевого покрытия представлено на рис. 2 с различным увеличением. На контрастном изображении светлые области соответствуют оксиду рутения, а более темные – графитовой подложке.

Таблица 1

Содержание элементов на поверхности модифицированного рутением электрода

Элемент	Содержание, % ат.	Погрешность, %
O	24	14
Ru	15	3
C	61	4

Согласно данным СЭМ, оксид рутения, сформированный лазерным излучением, прочно закрепляется на поверхности графитового электрода и формирует высокоразвитую поверхность. На изображениях регистрируется множество включений оксида рутения с размерами от 50 до 400 нм. При данных усло-

виях обработки около 70 % поверхности графитового рабочего электрода покрыто оксидом рутения. Для определения элементного состава модифицированной поверхности использовали метод энергодисперсионного микроанализа; результаты измерений приведены в *табл. 1*.

Как видно из *табл. 1*, содержание кислорода недостаточно для формирования стехиометрического оксида  $\text{RuO}_2$ . В результате лазерной обработки возникает смешанное состояние нульвалентного рутения и его диоксида. Это может быть следствием частичного восстановления металла парами углерода при лазерной обработке.

Модификация рутением оказала существенное влияние на вольт-амперные характеристики электрода, определяемые методом ЦВА. Наблюдается выраженный рост токов во всем исследованном диапазоне потенциалов, что можно рассматривать как изменение емкостных характеристик электродной поверхности при модификации ее рутением.

Модифицированные рутением графитовые электроды обнаруживают выраженную реакцию на присутствие в фоновом электролите пероксида водорода. На кривых циклической вольтамперометрии в диапазоне потенциалов  $-350 \dots -500$  мВ формируется пик восстановления (*рис. 3*), значения силы тока пропорциональны концентрации пероксида водорода в диапазоне значений  $10^{-6} \dots 10^{-4}$  моль (*рис. 4*).

Использованные в эксперименте концентрации пероксида водорода рассматриваются как физиологически и патофизиологически достижимые, т. е. соответствуют диапазону концентраций пероксида водорода в биологических жидкостях как в здоровом организме, так и при развитии ряда заболеваний [1], [2], [4]. Датчик в отличие от аналогичных решений [10] демонстрирует работоспособность при физиологических значениях

pH, что делает его пригодным для измерений в биологических средах. Диапазон определяемых концентраций соответствует аналогам (датчикам на основе берлинской лазури [13]). После модификации электрод не требует особых условий хранения.

Следует отметить низкую себестоимость модификации датчика диоксидом рутения. Используются микроколичества соли рутения, а основой для изготовления датчика является коммерчески доступная планарная электродная система, включающая в себя противоэлектрод и электрод сравнения, показавшая свою работоспособность при конструировании сенсоров пероксида водорода на основе берлинской лазури [12]. Низкая себестоимость позволяет использовать датчик как одноразовое устройство. Наши эксперименты показали хорошую воспроизводимость измерений и возможность применения датчика в проточных системах. Технология модификации, основанная на высокоскоростном лазерном синтезе, позволяет без больших затрат масштабировать и автоматизировать процесс изготовления датчиков. Варьируя режимы обработки (мощность, скорость, частоту импульсов, состав модификатора и др.), можно получать датчики с разной чувствительностью к целевому аналиту.

Разработанный датчик является основным компонентом перспективного приборного комплекса для регистрации и анализа патологических состояний, в который входит коммерчески доступный портативный минипотенциостат. Для приборного комплекса, помимо потенциостата, разрабатывается набор сенсоров, а также программное обеспечение для регистрации и обработки данных. Изготовленный прототип комплекса показал эффективность применения электрохимических методов в медико-биологических исследованиях. Разработанное оборудование адаптировано для высокоточного измерения

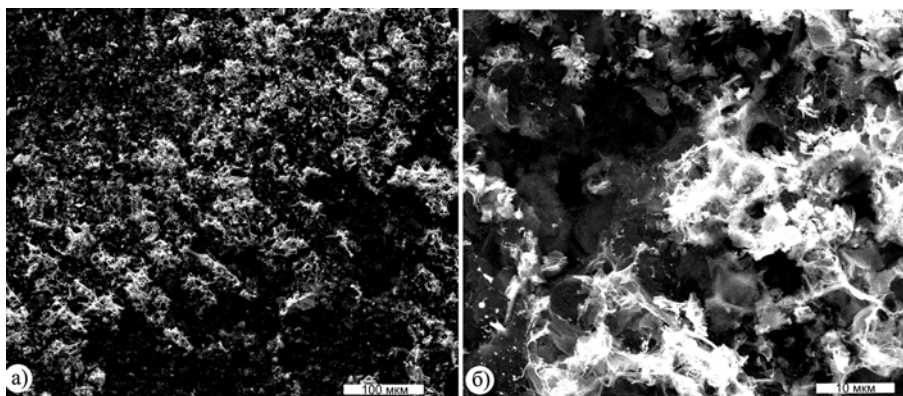


Рис. 2. Электронно-микроскопическое изображение поверхности рабочего электрода датчика после нанесения оксида рутения

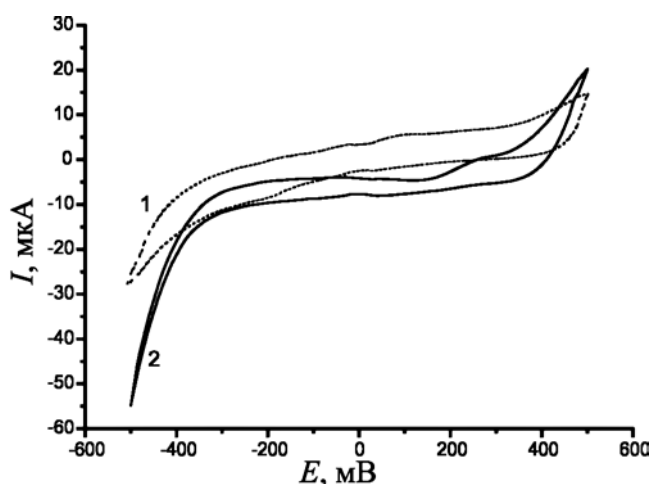


Рис. 3. Вольт-амперные характеристики модифицированного рутением электрода: 1 – в среде фосфатно-солевого буферного раствора (фон); 2 – в присутствии пероксида водорода (10 мкмоль). Скорость развертки потенциала 100 мВ/с

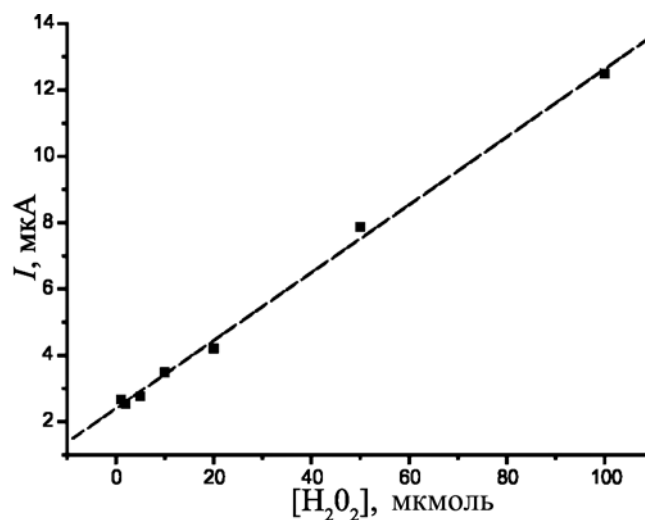


Рис. 4. Зависимость силы тока от концентрации пероксида водорода на модифицированном рутением электроде. Потенциал  $-500$  мВ (отн. Ag/AgCl)

малых токов в режимах циклической и квадратно-волновой вольтамперометрии, хроноамперометрии. Предусмотрено питание от аккумуляторных батарей. Пользователем задаются режим измерений, диапазон потенциалов, в котором проводится измерение, скорость развертки потенциала, форма графического и/или цифрового представления результатов. Измерения можно проводить без использования персонального компьютера, сохраняя результаты на карту памяти, что делает данный комплекс портативным и перспективным для создания на его основе устройств для диагностики «по месту лечения».

## Заключение

Предлагаемый датчик пероксида водорода, помимо медицинского применения (анализ биологических жидкостей с целью оценки окислительно-антиоксидантного равновесия), применим также для контроля качества фармакологических субстанций и антисептических средств, содержащих пероксид водорода. Перспективной выглядит область применения модифицированных электродов в составе сложных биоэлектрохимических датчиков, содержащих ферменты-оксидазы и живые клетки, продуцирующие пероксид водорода.

*Авторы благодарят Министерство образования и науки РФ за финансовую поддержку (проект 11.6513.2017/8.9).*

### Список литературы:

1. *Forman H.J., Bernardo A., Davies K.J.A.* What is the concentration of hydrogen peroxide in blood and plasma? // *Arch. Biochem. Biophys.* 2016. Vol. 603. PP. 48-53.
2. *Мартинювич Г.Г., Черенкевич С.Н.* Окислительно-восстановительные процессы в клетках. – Минск: БГУ, 2008. 159 с.
3. *Winterbourn C.* Methods in Enzymology: The Biological Chemistry of Hydrogen Peroxide // *Methods in Enzymology.* 2013. Vol. 528. PP. 3-25.
4. *Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А.* Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. – М.: Слово, 2006. 556 с.
5. *Brooks W.M., Lash H., Kettle A.J., Epton M.J.* Optimising hydrogen peroxide measurement in exhaled breath condensate // *Redox Rep.* 2006. Vol. 11. № 2. PP. 78-84.
6. *Zhao J., Yan Y., Zhu L., Li X., Li G.* An amperometric biosensor for the detection of hydrogen peroxide released from human breast cancer cells // *Biosens. Bioelectron.* 2013. Vol. 41. № 1. PP. 815-819.
7. *Хань Л., Тао Х., Хуан М., Чжан И., Цяо Ш., Ши Р.* Биосенсор на пероксид водорода на основе электрода, модифицированного поливинилбутиралем и многостенными углеродными нанотрубками // *Электрохимия.* 2016. Т. 52. № 2. С. 133-141.
8. *Чекин Ф., Багхери С., Абд Хамид Ш.Б.* Синтез наночастиц Ag с использованием геля: новый сенсор на пероксид водорода на основе пленки нанокompозита наночастиц Ag и углеродных нанотрубок // *Электрохимия.* 2014. Т. 50. № 12. С. 1299-1305.
9. *Selvaraju T., Ramaraj R.* Electrocatalytic reduction of hydrogen peroxide at nanostructured copper modified electrode // *J. Appl. Electrochem.* 2009. Vol. 39. № 3. PP. 321-327.
10. *Норузи Б., Малекан А., Морадыян М.* Никелево-цеолитный модифицированный угольно-пастовый электрод в качестве электрохимического сенсора пероксида водорода // *Электрохимия.* 2016. Т. 52. № 4. С. 379-389.
11. *Zhu S., Fan L., Liu X., Shi L., Li H., Han S., Xua G.* Determination of concentrated hydrogen peroxide at single-walled carbon nanohorn paste electrode // *Electrochem. Commun.* 2008. Vol. 10. № 5. PP. 695-698.
12. *Пуганова Е.А., Комаров А.В., Вагин М.Ю., Карякина Е.Е., Карякин А.А.* Использование микроэлектродов, модифицированных берлинской лазурью, для определения пероксида водорода в физиологических жидкостях // *Микросистемная техника.* 2004. № 12. С. 42-44.
13. *Решетников С.М., Харанжевский Е.В., Кривилев М.Д.* Катодное выделение водорода на поверхности нанокompозитных слоев, полученных лазерным спеканием порошков железо-никель // *Химическая физика и мезоскопия.* 2011. Т. 13. № 3. С. 419-424.
14. *Ventura-Espinosa D., Vicent C., Bayac M., Mata J.A.* Ruthenium molecular complexes immobilized on graphene as active catalysts for the synthesis of carboxylic acids from alcohol dehydrogenation // *Catal. Sci. Technol. The Royal Society of Chemistry.* 2016. Vol. 112. PP. 1536-1554.
15. *Murahashi S.-I., Zhang D.* Ruthenium catalyzed biomimetic oxidation in organic synthesis inspired by cytochrome P-450 // *Chem. Soc. Rev. The Royal Society of Chemistry.* 2008. Vol. 37. № 8. PP. 1490-1501.
16. *Chalupeczok S., Kurzweil P., Hartmann H.* Impact of various acids and bases on the voltammetric response of platinum group metal oxides // *International Journal of Electrochemistry.* 2018. Vol. 2018. Article ID 1697956.
17. *Chalupeczok S., Kurzweil P., Hartmann H., Schell C.* The redox chemistry of ruthenium dioxide: A cyclic voltammetry study: Review and revision // *International Journal of Electrochemistry.* 2018. Vol. 2018. Article ID 1273768.
18. *Katz E., Privman V.* Enzyme-based logic systems for information processing // *Chem. Soc. Rev.* 2010. Vol. 39. № 5. PP. 1835-1857.
19. *Давыдова М.Е., Курова В.С., Сухачева М.В., Куплетская М.Б., Рябов А.Д., Непрусов А.И.* Стабильность и каталитические свойства глюкозооксидазы из *Penicillium funiculosum* G-15 // *Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия.* 2002. Т. 43. № 6. С. 366-370.
20. *Heiskanen A., Emmés J.* Monitoring of Cellular Dynamics with Electrochemical Detection Techniques // *Applications of Electrochemistry and Nanotechnology in Biology and Medicine I.* 2011. Vol. 52. № 52. PP. 1-104.
21. *Yu G., Wu W., Pan X., Zhao Q., Wei X., Lu Q.* High sensitive and selective sensing of hydrogen peroxide released from pheochromocytoma cells based on Pt-Au bimetallic nanoparticles electrodeposited on reduced graphene sheets // *Sensors.* 2015. Vol. 15. № 2. PP. 2709-2722.
22. *Kharanzhevskiy E., Reshetnikov S.* Chromium oxide dissolution in steels via short pulse laser processing // *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* 2014. Vol. 115. № 4. PP. 1469-1477.

*Иван Анатольевич Черенков,  
канд. биол. наук, доцент,  
кафедра физиологии, клеточной биологии  
и биотехнологии,  
зав. лабораторией иммуногистохимии,  
Евгений Викторович Харанжевский,  
д-р техн. наук, доцент,  
кафедра общей физики,  
зав. лабораторией физики  
и химии материалов,  
Ирина Сергеевна Костенкова,  
магистрант,  
кафедра физиологии, клеточной биологии  
и биотехнологии,  
ФГБОУ ВО «Удмуртский  
государственный университет»,  
г. Ижевск,  
e-mail: ivch75@yandex.ru*