

F.A. Blyakhman – PhD, Doctor of Sciences (Biology), Professor
*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
ODinislamova@gmail.com

УДК: 546.655

СИНТЕЗ КОМПОЗИТНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ОКСИДА ЦЕРИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ГЛЮКОЗЫ В РАСТВОРЕ

Лапина Полина Константиновна, Чебыкина Полина Николаевна, Бажукова Ирина Николаевна, Мышкина Александра Владимировна
ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»
Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Создание композитных материалов на основе наночастиц оксида церия, являющихся индикаторными агентами за счет биокаталитической активности, способно адаптировать процесс определения лабораторных показателей под повседневную жизнь пользователя. **Цель исследования** – получить композитные тест-полоски с добавлением наночастиц оксида церия согласно разработанной методике для визуального определения содержания широкого диапазона концентраций глюкозы в пробе. **Материал и методы.** В работе используется нанопорошок оксида церия, полученный методом химического осаждения. Образование агломератов в суспензии исключается путем модификации поверхности частиц мальтодекстрином. Композитной матрицей служит карбоксиметилцеллюлоза ввиду механических свойств материала. Оценку колориметрических характеристик проводили на основе анализа RGB-модели изображения и перевода рисунка в оттенки серого. **Результаты.** Синтезированные тест-системы показали высокую эффективность выявления содержания глюкозы в водном растворе с концентрациями 54 мМ–135 мМ. **Выводы.** Данные колориметрического анализа тест-полосок определяют широкий рабочий диапазон их практического применения и подтверждают результативность разработанной методики. Полученные в работе результаты могут служить базисом для создания материалов с большей чувствительностью к малым концентрациям глюкозы, что обеспечит медико-биологическое приложение данной разработки.

Ключевые слова: композитные материалы, наночастицы оксида церия, колориметрия, тест-полоски, детекция глюкозы.

SYNTHESIS OF COMPOSITE TEST SYSTEMS BASED ON CERIUM OXIDE FOR DETERMINATION OF GLUCOSE LEVEL IN SOLUTION

Lapina Polina Konstantinovna, Chebykina Polina Nikolaevna, Bazhukova Irina Nikolaevna, Myshkina Alexandra Vladimirovna
Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin
Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. The design of composite materials based on cerium oxide nanoparticles, which are indicator agents due to biocatalytic activity, is able to adapt the process of determining laboratory indicators to the daily life of the user. **The aim of this study** is to obtain composite test system with the addition of cerium oxide nanoparticles according to the developed methodology for visual determination of a wide range glucose concentrations. **Material and methods.** Cerium oxide nanopowder was obtained by chemical precipitation method. The formation of agglomerates in the suspension is excluded by modifying the particle surface with maltodextrin. The composite matrix is carboxymethylcellulose due to the mechanical properties. The color characteristics were analyzed based on the transition from RGB model of the image to grayscale. **Results.** Synthesized test systems showed high efficiency in detecting glucose content in aqueous solution with concentrations of 54 mM to 135 mM. **Conclusion.** The colorimetric analysis data of test system determine a wide working range of their practical application and confirm the effectiveness of the developed methodology. The results obtained can serve as a basis for the design of materials with greater sensitivity to low concentrations of glucose, which will provide medical and biological application of this development.

Keywords: composite materials, cerium oxide nanoparticles, colorimetry, test strips, glucose detection.

ВВЕДЕНИЕ

Содержание глюкозы в крови является одним из важнейших медицинских показателей углеводного обмена, величина которого вне референсного интервала определяет нарушения работы систем внутренних органов. Проведение своевременной диагностики уровня глюкозы в крови с использованием новых технических средств, характеризующихся высокой

чувствительностью и стабильностью измерения, играет ключевую роль в вопросах предупреждения развития патологических состояний различного характера.

В связи с ростом уровня осознанности людей по отношению к состоянию здоровья наблюдается увеличение доли населения, прибегающей к лабораторной диагностике. На фоне повышения экономического спроса перед производителями новых тест-систем стоит ряд важных задач, таких как обеспечение экспрессности и доступности анализа, а также возможность проведения диагностики за пределами медицинской лаборатории без потери достоверности полученного результата.

С целью снижения стоимости и упрощения процесса тестирования для проведения качественной оценки содержания определяемого вещества широко используется колориметрический анализ. В основе данного метода лежит использование хромогенных агентов, примером которых могут быть наночастицы диоксида церия (НДЦ). Эти наночастицы характеризуются возможностью перехода между различными валентными состояниями иона церия, что обуславливает их каталитическую активность. На сегодняшний день разработки композитных материалов на основе НДЦ для определения уровня глюкозы в биологических жидкостях ведутся активно [1, 2], однако описание отечественных аналогов тест-систем отсутствует. Кроме того, результаты исследований в области нанобиотехнологий показывают неоднозначную зависимость проявляемых наночастицами свойств от множества факторов [3], что требует особого внимания в случае их использования в качестве индикаторной системы.

Цель исследования – разработать методику синтеза композитного материала на основе оксида церия для определения уровня глюкозы в растворе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Синтез композитного материала осуществлялся на основе НДЦ, полученных методом химического осаждения. В качестве органического стабилизатора поверхности наночастиц использовался мальтодекстрин [4]. Диспергирование частиц в жидкой фазе достигнуто путем ультразвуковой обработки суспензии в течение 20 минут. В качестве органической стабилизирующей матрицы композита использовалась карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) с массовой долей 3%. Катализ реакции окисления глюкозы в объеме пленки осуществляется при введении в систему глюкозооксидазы (ГО) в реакционной среде ацетатного буфера (pH=5) с целью достижения оптимума кислотности для данного фермента. Таким образом, массовое соотношение реагентов составило КМЦ:ГО:НДЦ = 8:1:1. Совместное дезинтегрирование реактивов проведено в УЗ-ванне в течение 40 минут, после чего непосредственный синтез тест-систем был реализован методом полива на поверхность чашек Петри диаметром 9 см. Высушивание пленок проводилось в нормальных условиях в течение 7 дней.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В основу анализа цветовых характеристик синтезированных тест-систем положена реакция окисления глюкозы, катализируемая ферментом ГО, с образованием пероксида водорода в эквимолярном количестве.

Качественное определение изменения цветовой реакции системы от светло-желтой до оранжевой возможно благодаря образованию комплексов пергидроксида церия при адсорбции пероксида водорода на гидратированных ионах Ce^{4+} , локализованных на поверхности НДЦ. Сокращение количественного содержания H_2O_2 в системе приводит к восстановлению кислородной нестехиометрии, характерной для данного вида наночастиц.

Для проведения колориметрического анализа цветовые характеристики образцов были зафиксированы при одинаковом освещении при времени экспозиции 30 минут. Цифровая обработка изображений заключалась в выделении фрагментов зон взаимодействия материала с раствором глюкозы с однородными цветовыми характеристиками (рис. 1), после чего для каждого из рассматриваемых случаев определялся средний цвет снимка (рис. 2).

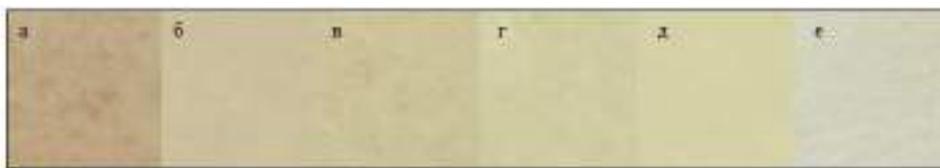


Рис.1 Цветовые характеристики тест-полосок: а – 135 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; б – 90 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; в – 30 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; г – 45 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; д – 54 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; е – до добавления раствора $C_6H_{12}O_6$



Рис.2 Выделение среднего цвета изображения: а – 135 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; б – 90 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; в – 30 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; г – 45 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; д – 54 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; е – до добавления раствора $C_6H_{12}O_6$

Распределение изображений по яркости было произведено на основе серого режима (рис. 3), переход в который заключался в замене цветов модели RGB на единое значение, отображающее параметр яркости точки.



Рис.3 Серый режим изображений: а – 135 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; б – 90 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; в – 30 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; г – 45 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; д – 54 мМ раствор $C_6H_{12}O_6$; е – до добавления раствора $C_6H_{12}O_6$

ОБСУЖДЕНИЕ

Благодаря известным RGB-значениям серого цвета была выявлена корреляция между цветом тест-системы и концентрацией раствора глюкозы. В работах [5, 6] отмечается тенденция к увеличению насыщенности цвета пленки по мере возрастания молярной концентрации глюкозы в растворе, что связано с миметической активностью наночастиц оксида церия. Результаты проведенного эксперимента показывают аналогичную зависимость для растворов с концентрациями 135 мМ, 90 мМ и 54 мМ. Содержание глюкозы в пробах с концентрациями 30 мМ и 45 мМ не было выявлено с необходимой точностью. Вероятнее всего данный результат связан с кислотностью среды, значение которой приводит к ингибированию процессов образования и разложения H_2O_2 [7]. Данный факт делает необходимым фиксирование и анализ цветовых характеристик тест-систем данного компонентного состава в динамике.

ВЫВОДЫ

1. В работе приведены результаты синтеза композитного материала на основе НДЦ и исследование изменения его цветовых свойств при взаимодействии с раствором глюкозы.
2. Полученные экспериментальные данные подтверждают эффективность действия синтезированных композитных тест-систем для детекции содержания глюкозы в ограниченном концентрационном диапазоне.
3. Высокая энзимоподобная активность нанокристаллического диоксид церия, выступающего в качестве хромогенного зонда, расширяет спектр его медико-биологических применений в сфере разработки индикаторных систем нового поколения.
4. Результаты данной работы могут стать основой для разработки материала, обладающего большей чувствительностью к малым концентрациям глюкозы, для оптимизации процесса проведения исследований сыворотки крови человека.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cerium oxide nanoparticle-containing colorimetric contact lenses for noninvasively monitoring human tear glucose / S. Park, J. Hwang, H. Jeon [et al.] // ACS Applied Nano Materials. – 2021. – Vol. 4, № 5. – P. 5198–5210.
2. Kim, H. Y. Glucose oxidase-like activity of cerium oxide nanoparticles: Use for personal glucose meter-based label-free target DNA detection / H. Y. Kim, K. S. Park, H. G. Park // Theranostics. – 2020. – Vol. 10, № 10. – P. 4507.
3. Nanoceria: factors affecting its pro- and anti-oxidant properties / E. Grulke, K. Reed, M. Beck [et al.] // Environmental Science: Nano. – 2014. – Vol. 1, № 5. – P. 429–444.
4. Synthesis and antioxidant activity of biocompatible maltodextrin-stabilized aqueous sols of nanocrystalline ceria / A. B. Shcherbakov, N. M. Zholobak, V. K. Ivanov [et al.] // Russian Journal of inorganic chemistry. – 2012. – Vol. 57. – P. 1411–1418.
5. Ultrarapid, size-controlled, high-crystalline plasma-mediated synthesis of ceria nanoparticles for reagent-free colorimetric glucose test strips / H. T. Ahn, H. R. An, Y. C. Hong [et al.] // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2020. – Vol. 320. – P. 128404.
6. Paper bioassay based on ceria nanoparticles as colorimetric probes / M. Ornatska, E. Sharpe, D. Andreescu, S. Andreescu // Analytical chemistry. – 2011. – Vol. 83, № 11. – P. 4273–4280.
7. Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия : монография / А. Б. Щербаков, О. С. Иванова, Н. Я. Спивак [и др.]. – Томск : Издательский Дом Томского государственного университета, 2016. – 474 с.

Сведения об авторах

П.К. Лапина* – студент магистратуры

П.Н. Чебыкина – студент магистратуры

И.Н. Бажукова – кандидат физико-математических наук, доцент

А.В. Мышкина – кандидат физико-математических наук, ассистент кафедры

Information about the authors

P.K. Lapina* – M.S. student

P.N. Chebykina – M.S. student

I.N. Bazhukova – Candidate of Sciences (Physics and Mathematics), Associate Professor

A.V. Myshkina – Candidate of Sciences (Physics and Mathematics), Department assistant

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

pln.lpn99@gmail.com

УДК: 546.26-162

ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ УГЛЕРОДНЫХ АЛМАЗОПОДОБНЫХ ПОКРЫТИЙ, ДОПИРОВАННЫХ ИОНАМИ МЕТАЛЛОВ

Лапина Полина Константиновна, Городничий Евгений Константинович, Бажукова Ирина Николаевна, Райков Дмитрий Вячеславович

ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Обнаружение цитотоксического действия разной величины в зависимости от состава углеродных алмазоподобных покрытий по отношению к патогенам позволяет использовать их качестве модификаторов поверхности имплантов с целью предотвращения возникновения имплант-ассоциированных инфекций. **Цель исследования** – провести оценку антибактериальной активности углеродных алмазоподобных покрытий допированных ионами металлов на основе анализа кривых ингибирования сигнала биолоуминесценции препарата «Эколюм». **Материал и методы.** В работе использовали алмазоподобные углеродные покрытия, нанесенные на титановые подложки площадью 0,6 см² методом ионно-плазменного напыления. В качестве биологического объекта использовался биосенсор «Эколюм». Аттестация образцов проведена с помощью методов спектроскопии комбинационного рассеяния и рентгенофлуоресцентного анализа. Выводы об изменении бактерицидных свойств покрытий в зависимости от их состава сделаны на основе люминесцентного анализа. **Результаты.** Наблюдается вариабельность проявляемого покрытием действия на бактериальную суспензию в зависимости от добавленного металла-модификатора. **Выводы.** Результаты люминесцентного анализа позволяют заключить о проявлении образцами антибактериальной активности, степень которой модулируется расширением элементного состава покрытия. Таким образом данный способ модификации металлической поверхности становится универсальным для применения в области хирургии.

Ключевые слова: антибактериальная активность, алмазоподобный углерод, ионно-плазменное осаждение, люминесцентный анализ, бактериальный биосенсор.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CARBON DIAMOND-LIKE COATINGS DOPED WITH METAL IONS

Lapina Polina Konstantinovna, Gorodnichiy Evgeniy Konstantinovich, Bazhukova Irina Nikolaevna, Raikov Dmitry Vyacheslavovich