

УДК 544.018:577.113.7

## ФАРАДЕЕВСКИЙ ИМПЕДАНС СТЕКЛОУГЛЕРОДНОГО ЭЛЕКТРОДА, МОДИФИЦИРОВАННОГО ПЛЕНКОЙ ДНК-ПОИАНИЛИН

Т.И. Абдуллин, В.Г. Винтер, Л.З. Манапова, Г.А. Евтюгин, Г.К. Будников

### Аннотация

В работе исследованы электрохимические свойства двухкомпонентной пленки ДНК-полианилин на поверхности стеклоуглеродного электрода методом фарадеевского импеданса. Установлено, что включение ДНК в состав полианилина приводит к значительному увеличению проводимости полимера в нейтральных и слабощелочных растворах. Полученная пленка ДНК-полианилин может быть использована в качестве матрицы в электрохимических биосенсорах.

### Введение

Полианилин и его производные широко применяются в различных областях современной науки. Перспективно исследование полианилиновых материалов для создания новых конденсаторов, основанных на различии ионообменных свойств окисленной и восстановленной форм полимеров [1]. Другим направлением является использование полианилина в составе электрохимических детектирующих устройств и биосенсоров. В условиях потенциостатического и гальваностатического электролиза можно получать на поверхности электродов тонкие пленки этого полимера, имеющие контролируемые характеристики. С другой стороны, полианилин является удобной матрицей для иммобилизации биочувствительного компонента благодаря своей структуре, ионообменным свойствам, возможности химической модификации и прямого включения биомолекул в состав полимера [2, 3].

Установлена электрокаталитическая активность электродов, модифицированных полианилином и его производными, по отношению к некоторым неорганическим и органическим соединениям [4], в том числе аскорбиновой кислоте [5, 6]. Разработаны различные ферментные [7, 8], иммунологические [9, 10] и гибридные [11] сенсоры, трансдьюсером которых является модифицированный полианилином электрод. Регистрируемым сигналом таких биосенсоров может служить ток, потенциал, омическая или емкостная составляющая импеданса.

Одной из основных проблем применения полианилина при создании биосенсоров является отсутствие проводимости полимера при pH выше 3, обусловленное его депротонированием [1, 12]. Решением этой проблемы является допирование полианилина поливинилсульфоновой кислотой [10] или использование полимеров на основе производных анилина, несущих отрицательно за-

ряженные группы [1]. Это позволяет значительно увеличить проводимость полимеров в нейтральных и слабощелочных электролитах.

В настоящей работе осуществлена полимеризация анилина на поверхности стеклоуглеродного электрода (СУЭ), модифицированного ДНК. Изучено влияние ДНК в составе полианилина на омическую и емкостную составляющие импеданса электродов.

### 1. Экспериментальная часть

В работе использовали ДНК эритроцитов цыплят, высокий полимер (Reanal, Венгрия), анилин («Экрос», Казань). Перед использованием анилин дополнительно очищали вакуумной перегонкой.

Электрохимические измерения проводили в 0.01 М буферных растворах: трис-НСl (рН 8.5), фосфатном (рН 7.4), ацетатном (рН 5.0) и глициновом (рН 2.0) растворах, содержащих 0.1 М хлорид натрия в качестве фонового электролита.

Измерения емкости и проводимости модифицированных электродов осуществляли с помощью моста переменного тока Р5021, совмещенного с низкочастотным генератором сигналов ГЗ-36А, в частотном диапазоне от 0.11 до 30 кГц, амплитуда переменного напряжения составляла 10 мВ. Электрохимическая ячейка состояла из дискового СУЭ диаметром 1.5 мм и цилиндрической никелевой пластины в качестве противоиэлектрода. Электродом сравнения служил хлоридсеребряный электрод. Для построения частотных зависимостей емкостной и омической составляющих импеданса был использован интервал частот от 0.11 до 2 кГц, в котором наблюдались максимальные изменения. Измерения проводили при установившемся значении электродного потенциала в изучаемых электролитах. В этом случае полагали, что электрод находился в квазиравновесных условиях.

Вольтамперометрические измерения проводили с помощью компьютеризированного вольтамперографа «Экотест-ВА» (ООО «Эконикс-Эксперт2, Москва) в режиме линейной постоянноточковой вольтамперометрии. Полимеризацию анилина из 0.1 М раствора в 0.2 М серной кислоте на поверхности СУЭ осуществляли циклированием потенциала от  $-200$  до  $+1200$  мВ при скорости развертки 100 мВ/с.

Потенциалы модифицированного СУЭ измеряли универсальным катодным вольтметром В7-21.

Перед модификацией поверхность СУЭ полировали оксидом алюминия (размер частиц 5 мкм) и обрабатывали ацетоном. Для нанесения ДНК СУЭ предварительно подвергали воздействию потенциала в области  $+1500$  мВ в течение нескольких минут. Такая процедура увеличивала гидрофильность СУЭ, о чем свидетельствовала адгезия воды на его поверхности, и способствовала формированию равномерной интерферирующей пленки ДНК.

### 2. Результаты и обсуждение

Величины емкости и проводимости являются составляющими электрического импеданса – полного сопротивления системы при прохождении перемен-

ного тока. В случае электродных процессов импеданс ( $Z$ ) включает омическую ( $R$ ) и емкостную составляющие ( $1/\omega C$ ) и определяется выражением  $Z = R - j/\omega C$ , где  $\omega$  – угловая частота ( $\omega = 2\pi f$ ),  $j = (-1)^{1/2}$ .

Исследуемую границу раздела фаз для СУЭ, модифицированного полианилином (ПАН), моделировали эквивалентной схемой, предложенной Любертом с соавторами [13] (рис. 1). Для исключения емкости двойного слоя ( $C_\infty$ ) и сопротивления электролита ( $R_\infty$ ) использовали алгоритм пересчета на параллельную схему, описанный Дамаскиным [14, с. 62–64]. Величины  $C_\Pi$  и  $R_\Pi$  использовались для построения низкочастотных спектров модифицированных электродов. Известно, что для изучения поверхностных свойств модифицированных электродов в спектроскопии импеданса применяется низкочастотный диапазон переменного тока, тогда как высокие частоты несут информацию о свойствах электролита, в который помещен электрод [15].

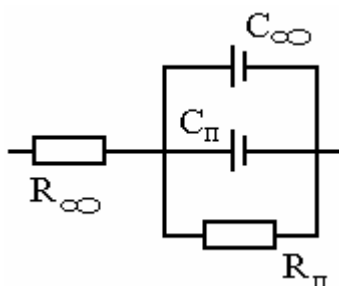


Рис. 1. Эквивалентная электрическая цепь для электрода, модифицированного ПАН

Полимеризация анилина на поверхности СУЭ приводила к значительному возрастанию низкочастотной емкости и проводимости. Частотно-независимая область начиналась при 30 кГц. Дальнейшее увеличение частоты не приводило к существенным изменениям измеряемых величин  $C$  и  $R$ , которые принимались за  $C_\infty$  и  $R_\infty$  соответственно.

Зависимости емкости и проводимости ПАН от количества циклов полимеризации приведены на рис. 2 (рН 5.0). Так, максимальные значения  $C_\Pi$  и  $1/R_\Pi$  наблюдались для трех циклов полимеризации. Возрастание проводимости обусловлено образованием на поверхности СУЭ электропроводящей пленки, состав которой зависит от количества циклов полимеризации. Увеличение количества циклов полимеризации до пяти сопровождалось уменьшением емкости; проводимость при этом незначительно уменьшалась. Это может быть обусловлено как уплотнением полимера, приводящим к уменьшению фактической площади поверхности электрода, так и изменением диэлектрической проницаемости пленки в процессе электрополимеризации. В дальнейших экспериментах для модификации СУЭ использовали 5 циклов полимеризации, так как с увеличением количества циклов стабильность полимерной пленки возрастала.

Значения емкости и проводимости модифицированных СУЭ, измеренные при различных рН, зависели от условий получения полимера.

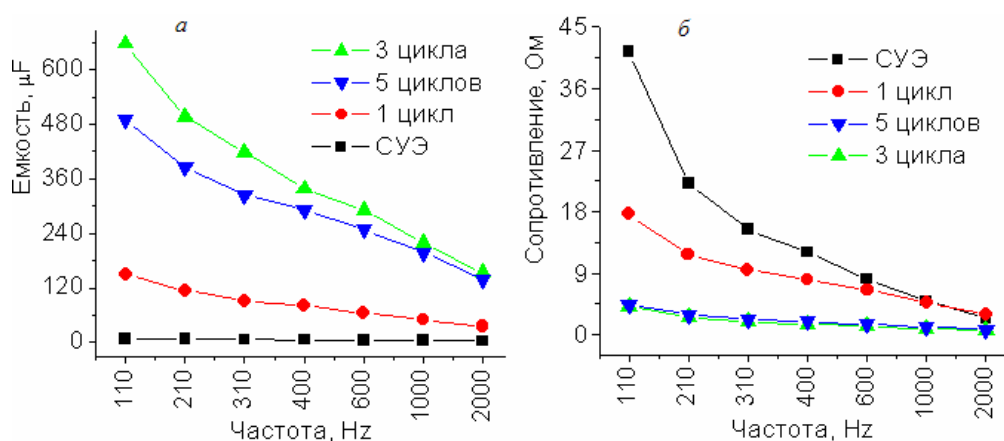


Рис. 2. Низкочастотные спектры емкости (а) и сопротивления (б) СУЭ/ПАН в зависимости от количества циклов полимеризации; скорость разверстки 100 мВ/с, рН 5.0

Исходная форма ПАН (I) была получена в результате электрополимеризации анилина в растворе серной кислоты, формы II (окисленная) и III (восстановленная) получали однократным действием линейно изменяющегося потенциала между +1000 мВ и –1000 мВ.

После полимеризации ПАН (форма I) обладал максимальными для трех форм значениями емкости и проводимости при рН 8.5, 7.4 и 5.0. Это может быть связано с тем, что форма I соответствует полуокисленному состоянию полимера (эмеральдинсульфат), которое имеет максимальную проводимость [1, 12]. С другой стороны, этот факт может быть обусловлен высокой степенью протонирования пленки в процессе полимеризации в растворе серной кислоты, что подтверждается отсутствием значительных различий  $C_p$  и  $R_p$  для форм I – III при рН 2.0. Величины  $C_p$  и  $R_p$  для СУЭ/ПАН в форме I были постоянны в течение длительного времени, в том числе при измерении в слабощелочных электролитах, что свидетельствует о стабильности этой формы ПАН.

Переход ПАН в окисленную (пернигранилиновую) и восстановленную (лейкоэмеральдиновую) формы приводил к значительному уменьшению емкости и проводимости, обусловленному миграцией протонов и анионов [1, 12].

Значения  $C_p$  и  $R_p$  СУЭ/ПАН мало отличались при рН 8.5 и 7.4 как для окисленной, так и для восстановленной форм полимера. При рН 2.0 происходило резкое увеличение емкости и проводимости. Так, величины  $C_p$  и  $R_p$  для формы II изменялись в исследуемом диапазоне частот в интервале 1124–109 μF и 1.32–0.25 Ом соответственно; эти показатели для формы III составили 1353–791 μF и 1.96–0.82 Ом.

При рН 2.0 также наблюдалось уменьшение  $R_\infty$  и увеличение  $C_\infty$  для СУЭ, модифицированных ПАН, по сравнению с аналогичными значениями сопротивления электролита, полученными для немодифицированных СУЭ. Это свидетельствует, вероятно, об увеличении фактической поверхности электрода в результате модификации, приводящей к кажущемуся увеличению проводимости электролита.

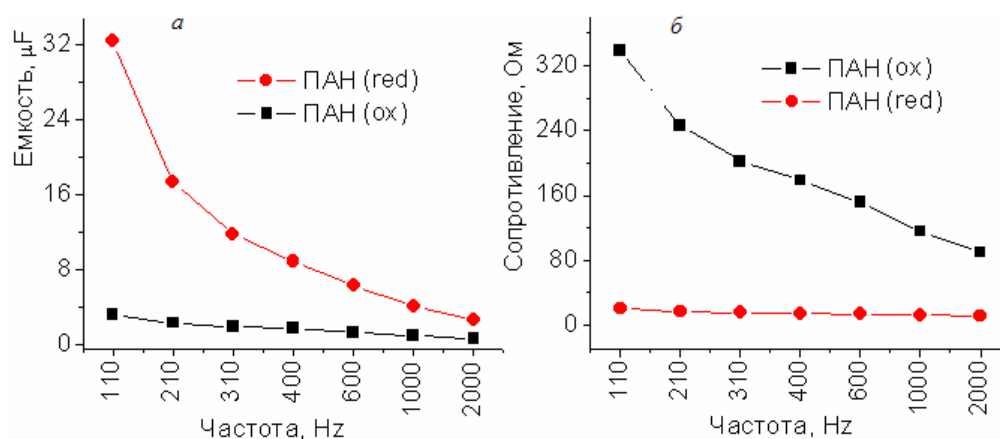


Рис. 3. Низкочастотные спектры емкости (а) и сопротивления (б) СУЭ/ПАН для окисленной и восстановленной форм полимера; pH 5.0

Наиболее значительные изменения между окисленной и восстановленной формами ПАН наблюдались при pH 5.0 (рис. 3). Емкость и проводимость формы III были выше, однако при этом длительное время не происходило стабилизации сигнала, в течение которого наблюдалось увеличение емкости и уменьшение сопротивления, что, по-видимому, связано с аккумулярованием протонов восстановленным полимером. Согласно литературным данным, лейкоэмеральдиновая форма ПАН является значительно более протонированной по сравнению с пернигранилиновой формой [1, 12].

Дальнейшее изучение модифицированных СУЭ показало, что включение ДНК в состав ПАН приводит к значительному изменению электрохимических свойств пленки. Двухкомпонентную пленку ДНК-ПАН получали в результате электрополимеризации анилина на поверхности СУЭ, предварительно модифицированных ДНК. Для формирования пленки ДНК 2 мкл раствора нативной ДНК (0.5 мг/мл) наносили на СУЭ и высушивали. Необходимым условием образования равномерной и тонкой пленки из водных растворов на поверхности гидрофобного стеклоглерода была соответствующая подготовка электрода, описанная выше. Полимеризацию анилина на поверхности модифицированных СУЭ осуществляли в аналогичных условиях. Скорость развертки потенциала 100 мВ/с была выбрана для уменьшения времени контакта слоя ДНК с раствором серной кислоты. Согласно литературным данным, при этой скорости развертки происходит образование тонкого слоя ПАН [12].

Вольтамперограммы полимеризации анилина на поверхности СУЭ/ДНК отличались от вольтамперограмм, полученных для немодифицированных СУЭ (рис. 4). В целом, процесс полимеризации на поверхности электродов, модифицированных ДНК, происходил более эффективно. При этом наблюдалось выраженное увеличение первого пика окисления анилина и первого пика восстановления формирующейся пленки. Потенциалы редокс-пику при этом не изменялись.

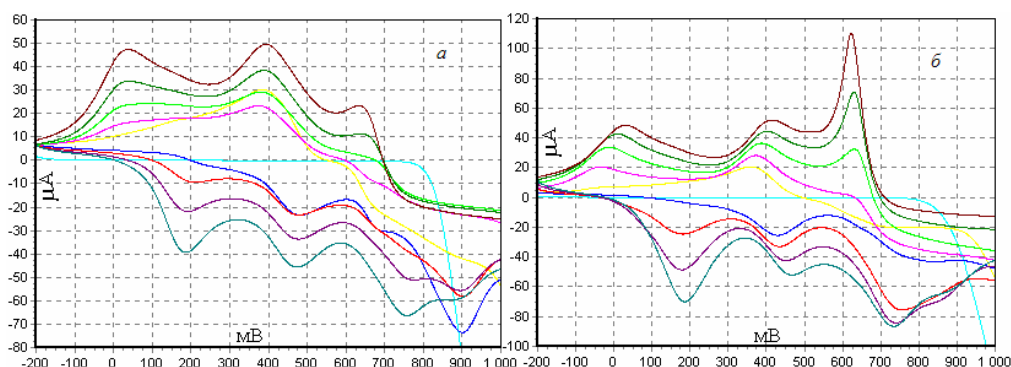


Рис. 4. Вольтамперограммы, отражающие полимеризацию анилина, для чистого СУЭ (а) и СУЭ, предварительно модифицированного ДНК (б); 0.1 М анилин в 0.2 М серной кислоте, скорость развертки потенциала 100 мВ/с

Включение ДНК в пленку ПАН приводило к увеличению  $C_n$  и  $1/R_n$  пленки для трех форм полимера. Необходимо отметить, что модификация СУЭ ДНК в отсутствие ПАН не приводила к достоверным изменениям этих величин в исследуемом частотном диапазоне.

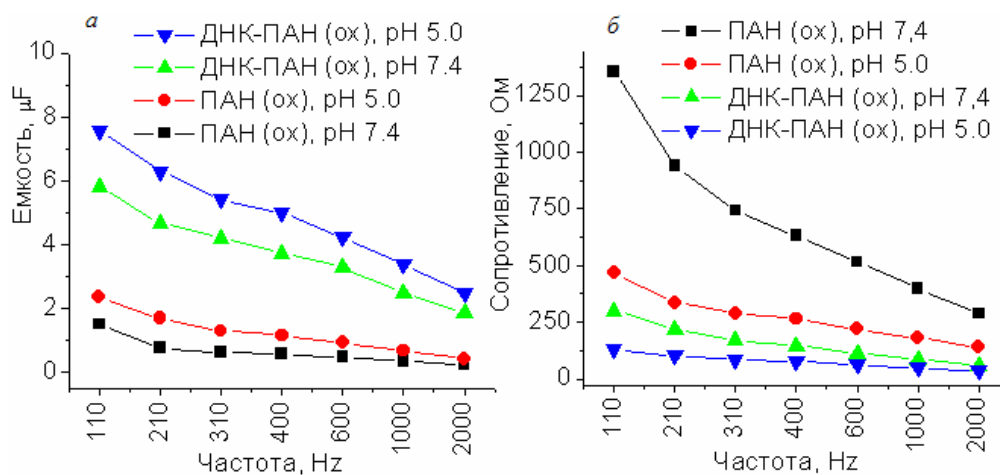


Рис. 5. Сравнение величин емкости (а) и сопротивления (б) СУЭ/ПАН и СУЭ/ДНК-ПАН в окисленной форме при pH 7.4 и 5.0.

Для формы I ДНК-ПАН было характерно значительное возрастание значений емкости и проводимости, измеренных при pH 8.5–5.0 по сравнению с электродами, модифицированными ПАН. Так, анализ зависимости низкочастотных спектров СУЭ/ПАН (форма I) от pH показал, что для pH 8.5 и 7.4 наблюдаются минимальные значения  $C_n$  и  $1/R_n$ , значительно возрастающие для pH 2.0 (для pH 5.0 были характерны промежуточные значения). В случае СУЭ/ДНК-ПАН (форма I) переход pH из слабощелочной области в кислую не сопровождался значительными изменениями спектров емкости и проводимости. Значения  $C_n$  и

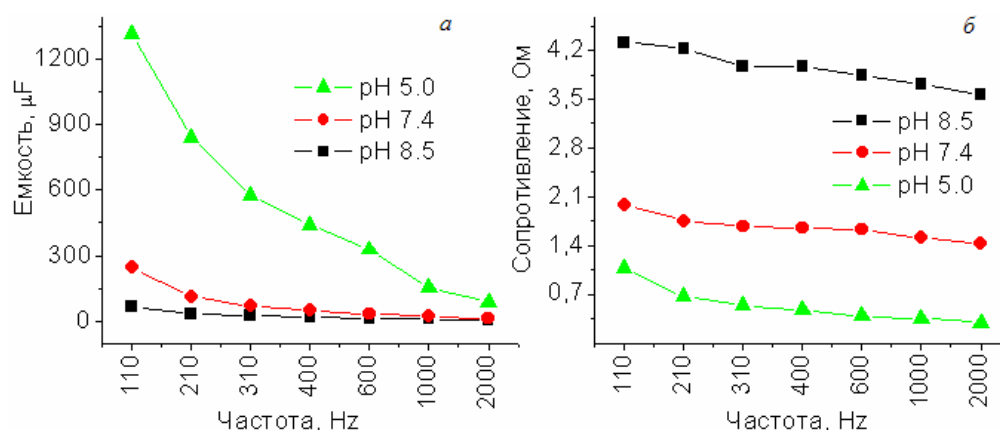


Рис. 6. Низкочастотные спектры емкости (а) и сопротивления (б) СУЭ/ДНК-ПАН в восстановленной форме при различных рН

$R_p$ , полученные для СУЭ/ДНК-ПАН (форма I) при рН 8.5–5.0, были близки к аналогичным значениям, полученным для СУЭ/ПАН (форма I) при рН 2.0.

Электрохимическое окисление ДНК-ПАН, как и в случае ПАН, приводило к уменьшению емкости и проводимости пленки. Значения  $C_p$  и  $1/R_p$  пленки ДНК-ПАН в окисленной форме были приблизительно в 3–5 раз выше по сравнению с пленкой ПАН, не содержащей ДНК; характер зависимости от рН при этом оказался сходным (рис. 5).

При переходе пленки ДНК-ПАН в восстановленную форму наблюдалось значительное возрастание емкости и проводимости, измеренных при рН 8.5, 7.4 и 5.0, по сравнению с пленками ДНК-ПАН в окисленной форме и ПАН в восстановленной форме (рис. 6).

Переход ПАН из окисленного в восстановленное состояние не сопровождался столь значительным увеличением емкости и проводимости при рН 5.0 (рис. 3) и, тем более, при рН 8.5 и 7.4, по сравнению с пленкой ДНК-ПАН. Восстановленная форма ДНК-ПАН так же, как и форма I ПАН, обладала большой емкостью и проводимостью в слабощелочных и слабокислых буферных растворах (рис. 6). Значения  $C_p$  и  $R_p$  восстановленной формы ДНК-ПАН при рН 8.5–5.0 оказались соизмеримыми и в некоторых случаях близкими со значениями, полученными для различных форм ПАН при рН 2.0.

Полученные результаты показывают, что полимеризация анилина на поверхности СУЭ, предварительно модифицированных ДНК, приводит к образованию двухкомпонентной пленки ДНК-ПАН, имеющей значительно более высокую проводимость в слабощелочных и нейтральных растворах по сравнению с собственно ПАН. Сходный эффект наблюдается в случае допирования ПАН отрицательно заряженными полимерами или применения производных анилина, несущих отрицательно заряженные группы [1, 10]. Предварительный анализ зависимостей омической и емкостной составляющих импеданса модифицированных электродов от величины рН электролита и редокс-формы полимерной пленки позволяет предположить, что включение ДНК приводит к значительному увеличению степени протонирования ПАН в слабокислой и сла-

бощелочной областях рН, обуславливающего увеличение проводимости и емкости.

Высокая проводимость пленки ДНК-ПАН предполагает возможность ее использования в качестве матрицы в электрохимических биосенсорах, работающих в нейтральной области рН. С помощью метода фарадеевского импеданса можно проводить контроль электрофизических свойств этой пленки на поверхности электродов.

### Summary

*T.I. Abdullin, V.G. Vinter, L.Z. Manapova, G.A. Evtugyn, G.K. Budnikov.* Faradaic impedance study of the DNA-polyaniline film modified glassy carbon electrodes.

In this research the electrochemical properties of DNA-polyaniline bi-component film deposited onto glassy carbon electrode were investigated. For this purposes faradaic impedance is a convenient method to control different parameters of the film. It was shown that DNA entrapment into polyaniline film greatly enhances its conductivity in neutral and weak alkaline solutions. Prepared DNA-polyaniline film may serve as the matrix to construct electrochemical biosensors.

### Литература

1. *Malinauskas A.* Self-doped polyanilines // *J. Power Sources.* – 2004. – V. 126. – P. 214–220.
2. *Gerard M., Chaubey A., Malhotra B.D.* Application of conducting polymers to biosensors // *Biosens. Bioelectron.* – 2002. – V. 17. – P. 345–359.
3. *Cosnier S.* Biomolecule immobilization on electrode surfaces by entrapment or attachment to electrochemically polymerized films. A review // *Biosens. Bioelectron.* – 1999. – V. 14. – P. 443–456.
4. *Malinauskas A.* Electrocatalysis at conducting polymers // *Synth. Met.* – 1999. – V. 107. – P. 75–83.
5. *Jurevičiūtė I., Brazdžiuvienė K., Bernotaitė L., Šalkus B., Malinauskas A.* Polyaniline-modified electrode as an amperometric ascorbate sensor // *Sens. Actuators, B.* – 2005. – V. 107. – P. 716–721.
6. *Mondal S.K., Raman R.K., Shukla A.K., Munichandraiah N.* Electrooxidation of ascorbic acid on polyaniline and its implications to fuel cells // *J. Power Sources.* – 2005. – V. 145. – P. 16–20.
7. *Karyakin A.A., Bobrova O.A., Lukachova L.V., Karyakina E.E.* Potentiometric biosensors based on polyaniline semiconductor films // *Sens. Actuators, B.* – 1996. – V. 33. – P. 34–38.
8. *Langer J.J., Filipiak M., Kęcińska J., Jasnowska J., Włodarczyk J., Buładowski B.* Polyaniline biosensor for choline determination // *Surf. Sci.* – 2004. – V. 573. – P. 140–145.
9. *Deng A.-P., Cheng J.-T., Huang H.-J.* Application of a polyaniline based ammonium sensor for the amperometric immunoassay of a urease conjugated Tal 1 protein // *Anal. Chim. Acta.* – 2002. – V. 461. – P. 49–55.
10. *Killard A.J., Micheli L., Grennan K., Franek M., Kolar V., Moscone D., Palchetti I., Smyth M.R.* Amperometric separation-free immunosensor for real-time environmental monitoring // *Anal. Chim. Acta.* – 2001. – V. 427. – P. 173–180.



11. *Davis F., Nabok A.V., Higson S.P.J.* Species differentiation by DNA-modified carbon electrodes using an ac impedimetric approach // *Biosens. Bioelectron.* – 2005. – V. 20. – P. 1531–1538.
12. *Pile D.L., Hillier A.C.* Electrochemically modulated transport through a conducting polymer membrane // *J. Membr. Sci.* – 2002. – V. 208. – P. 119–131.
13. *Lubert K.-H., Dunsch L.* The influence of protons on the impedance of polyaniline films // *Electrochim. Acta.* – 1998. – V. 43. – P. 813–822.
14. *Дамаскин Б.Б.* Принципы современных методов изучения электрохимических реакций. – М.: Изд-во МГУ, 1965.
15. *Fernández-Sánchez C., McNeil C.J., Rawson K.* Electrochemical impedance spectroscopy studies of polymer degradation: application to biosensor development // *Trends Anal. Chem.* – 2005. – V. 24. – P. 37–48.

Поступила в редакцию  
21.11.05

---

**Абдуллин Тимур Илдарович** – аспирант кафедры биохимии Казанского государственного университета.

E-mail: *Timur.Abdullin@ksu.ru*

**Евтюгин Геннадий Артурович** – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

**Манапова Лаура Закиевна** – кандидат химических наук, доцент кафедры физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

**Будников Герман Константинович** – доктор химических наук, профессор, зав. кафедрой аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

E-mail: *Herman.Budnikov@ksu.ru*