



VILNIAUS UNIVERSITETAS
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS
CHEMIJOS INSTITUTAS
ANALIZINĖS IR APLINKOS CHEMIJOS KATEDRA

Egita Banevičiūtė

Farmacinė Chemija

Magistro baigiamasis darbas

POLIANILINO NANOSTRUKTŪRŲ IR $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXENŲ
TAIKYMAS ELEKTROCHEMINIUOSE GLIUKOZĖS
BIOLOGINIUIOSE JUTIKLIUIOSE

Darbo vadovas
dr. Anton Popov

Vilnius 2025



VILNIUS UNIVERSITY
FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES
INSTITUTE OF CHEMISTRY
DEPARTMENT OF ANALYTICAL AND ENVIRONMENTAL CHEMISTRY

Egita Banevičiūtė
Pharmaceutical Chemistry
Master thesis

**APPLICATION OF POLYANILINE NANOSTRUCTURES AND
 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXENES IN ELECTROCHEMICAL GLUCOSE
BIOSENSORS**

Scientific adviser
dr. Anton Popov

Vilnius 2025

TURINYS

SANTRUMPOS	5
ĮVADAS	6
1. LITERATŪRINĖ APŽVALGA	7
1.1 Cukrinis diabetas	7
1.2 Biologiniai jutikliai.....	7
1.3 Elektrocheminiai gliukozės biologiniai jutikliai	8
1.4 Gliukozės oksidazė	11
1.5 Elektrai laidūs polimerai.....	12
1.6 Polianilinas	13
1.7 MXenai	15
1.8 Chronoamperometrija.....	16
2. EKSPERIMENTINIO TYRIMO METODIKA.....	17
2.1 Prietaisai ir priemonės	17
2.2 Medžiagos ir reagentai.....	17
2.3 Programinė įranga.....	18
2.4 Polianilino sintezė	18
2.4.1 Tarpfazinė polianilino sintezė (Sintezė 1)	18
2.4.2 Cheminė polianilino sintezė (Sintezė 2).....	18
2.5 Darbinių tirpalų paruošimas	18
2.6 Nanostruktūrų charakterizavimas	19
2.7 Stikliškosios anglies elektrodų paruošimas darbui	19
2.8 Optimalios gliukozės oksidazės koncentracijos nustatymas	20
2.9 Elektrodo paviršiaus modifikavimo metodo optimizavimas	20
2.10 Elektrodų paviršiaus modifikavimas su PANI _{II} nanostruktūromis.....	21
2.11 Elektrodų paviršiaus modifikavimas su PANI _I ir MXenų nanostruktūrų kompozitu	21
2.12 Biologinio jutiklio analizinių charakteristikų skaičiavimas	21
2.13 Gliukozės koncentracijos nustatymas serume	22
2.14 Elektroaktyvių medžiagų įtakos elektrocheminiui gliukozės biologiniui jutikliui įvertinimas	22
2.15 Elektrocheminiai tyrimai	22
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	24
3.1 Polianilino ir MXenų nanostruktūrų charakterizavimas.....	24
3.2 Gliukozės oksidazės koncentracijos optimizavimas.....	25

3.3	Elektrodo paviršiaus modifikavimo metodo parinkimas.....	26
3.4	Polianilino nanostruktūrų pasirinkimas	28
3.5	Elektrodo paviršiaus modifikavimo su PANI ₁ ir MXenų nanostruktūrų kompozitu optimizavimas	30
3.6	Elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio analizinių charakteristikų įvertinimas.....	33
3.7	Gliukozės koncentracijos nustatymas serume	34
3.8	Elektroaktyvių medžiagų įtakos elektrocheminiui gliukozės biologiniui jutikliui nustatymas	35
IŠVADOS		36
LITERATŪROS SĄRAŠAS		37
SANTRAUKA		43
SUMMARY		44

SANTRUMPOS

GCE – stikliškosios anglies elektrodas
PANI – polianilinas
GOx – gliukozės oksidazė
APS – amonio persulfatas
PBS – fosfatinis buferis
CTAB - cetiltrimetilamonio bromidas
FMS – fenazinmetasulfatas
GA – glutaro aldehidas
AA – askorbo rūgštis
UA – šlapimo rūgštis
SEM – skenuojantis elektroninis mikroskopas
LOD – aptikimo riba
LOQ – nustatymo riba
Pt – platina
TP – tiesinė priklausomybė

IVADAS

Cukrinis diabetas yra lėtinė liga, kuriai būdingas didelis gliukozės kiekis kraujyje dėl nepakankamos insulino gamybos arba ląstelių rezistencijos insulinui. Diabetu serga įvairaus amžiaus, lyties, geografinės padėties asmenys, todėl ši liga yra viena iš didžiausių sergamumą turinčių ir mirtingumą sukeliančių ligų pasaulyje [1]. Pagal pasaulio sveikatos organizacijos duomenis (PSO), 1990 metais cukriniu diabetu sirgo 200 milijonai žmonių, o 2022 metais – 830 milijonai žmonių [2]. Ankstyvas diabeto ligos diagnozavimas ir pastovus gliukozės kiekio kraujyje stebėjimas yra 2 labai svarbūs dalykai diabetu sergančio žmogaus sveikatai. Laiku nediagnozavus diabeto ar neprižiūrint gliukozės kiekio kraujyje, sergančiam žmogui gali išsivystyti įvairios papildomos ligos, kaip širdies priepuolis, insultas, inkstų ligos, diabetinė retinopatija, glaukoma, katarakta, įvairūs nervų pažeidimai ir kitos [3], [4]. Gliukozės jutikliai yra nuolat kuriami ir tobulinami. Nors šiuo metu rinkoje yra nemažai patvirtintų gliukozės jutiklių, jų atsikartojamumą, tikslumą, lengvą naudojimą, ilgaamžiškumą ir prieinamumą pacientams vis dar reikia tobulinti ir didinti [5].

Biologiniai jutikliai yra prietaisai, kurie su biologinių medžiagų pagalba, biologinius arba cheminius pakitimus paverčia į išmatuojamą signalą. Biologiniai jutikliai yra plačiai naudojami medicinos srityje, pavyzdžiui ligas sukeliančių mikroorganizmų, žymenų esančių kūno skysčiuose (kraujyje, šlapime, seilėse, prakaitu) aptikime [6]. Dažnai, biologinių jutiklių charakteristikų pagerinimui yra naudojamos įvairios nanostruktūros. Elektrai laidžių polimerų nanostruktūros yra sparčiai populiarėjančios biologinių jutiklių gamyboje. Vienas iš geriausiai žinomų ir daugiausiai naudojamų elektrai laidžių polimerų yra polianilinas [7]. Polianilino platų panaudojimą įvairiuose biologiniuose jutikliuose, nulemia jo unikalios savybės: stabilumas, atsparumas rūgštims ir bazėms ir platus bei kontroliuojamas laidumo diapazonas. Taip pat, jo struktūrinės, cheminės, fizinės savybės gali būti keičiamos naudojant skirtingus cheminės sintezės metodus, parametrus ir kompozitus [7], [8], [9], [10]. Nuo tada, kai 2011 metais MXenus pirmą kartą atrado Drexel universiteto mokslininkai, šios medžiagos taip pat susilaukė didelio susidomėjimo ir bandymo pritaikyti biologiniuose jutikliuose [11]. MXenai yra pagaminti iš pereinamųjų metalų karbidų, nitridų arba karbonitridų ir turi daug patrauklių savybių biologinių jutiklių kūrimui, kaip hidrofiliškumas, didelis paviršiaus plotas, elektrinis laidumas ir biologinis suderinamumas [12].

Darbo tikslas:

Sukurti polianilino nanostruktūromis ar jų nanokompozitu modifikuotą elektrocheminį gliukozės biologinį jutiklį.

Uždaviniai:

1. Susintetinti dviejų tipų polianilino nanostruktūras.
2. Optimizuoti elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio paviršiaus modifikavimo polianilino nanostruktūromis ar jų kompozitais su MXenais sąlygas.
3. Pasirinkti elektrodo modifikavimo sąlygas.
4. Nustatyti sukurto gliukozės biologinio jutiklio charakteristikas.
5. Patikrinti sukurto gliukozės biologinio jutiklio veikimą serume.

1. LITERATŪRINĖ APŽVALGA

1.1 Cukrinis diabetas

Gliukozė yra pagrindinis mūsų organizmo energijos šaltinis. Mūsų organizmas gliukozę gali pasigaminti pats, bet taip pat didelį kiekį gliukozės gauname su maistu. Cukrinis diabetas dažniausiai yra apibūdinamas padidėjusiu gliukozės kiekiu kraujyje, kurį sukelia dalinis arba visiškas insulino trūkumas, ar ląstelių nereagavimas į insuliną [13], [14]. Tačiau, medicinos pasaulyje ši liga yra apibūdinama, kaip daugybė medžiagų apykaitos sutrikimų, kurie yra susiję su hiperglikemija, nes cukrinis diabetas padidina akių, inkstų, nervų, kraujagyslių ir širdies pažeidimo riziką [14], [15], [16], [17]. Cukrinis diabetas yra skirstomas į 4 pagrindines grupes:

1. 1 tipo cukrinis diabetas. Imuninė sistema atakuoja ir sunaikina kasoje esančias β ląsteles, kurios gamina insuliną. Šis procesas paprastai sukelia visišką insulino trūkumą. 1 tipo cukrinis diabetas dažniausiai diagnozuojamas vaikams ir paaugliams, tačiau gali pasireikšti bet kuriame amžiuje [14], [17]. Tikslios priežastys, dėl ko yra susergama 1 tipo cukriniu diabetu nėra žinomos, tačiau yra manoma, kad šią ligą sukelia pakitimai genuose ir tam tikri aplinkos veiksniai [13]. Šio tipo cukriniu diabetu sergantys žmonės turi kasdien atlikti insulino injekcijas [13], [14], [18].
2. 2 tipo cukrinis diabetas. Medžiagų apykaitos sutrikimas susijęs su β ląstelių disfunkcija ir įvairaus laipsnio ląstelių atsparumu insulinui. Rezistencija insulinui taip pat siejama su kitais sveikatos sutrikimais, kaip hipertenzija, nutukimu ir policistinių kiaušidžių sindromu [17]. Išvardinti sveikatos sutrikimai, šeimos ligos istorija, nepakankamas fizinis aktyvumas padidina riziką susirgti 2 tipo cukriniu diabetu. Šio tipo diabetas yra dažniausiai pasitaikantis ir juo galima susirgti bet kuriame amžiuje [13].
3. Gestacinis diabetas. Tai yra diabeto tipas, kuris išsivysto nėštumo metu. Jis apibrėžiamas kaip angliavandenių netoleravimas. Dažniausiai nėštumui pasibaigus moterys šia liga nebeserga, tačiau šioms moterims padidėja rizika susirgti 2 tipo cukriniu diabetu [14], [17].
4. Kiti cukrinio diabeto tipai. Mažiau pasireiškiantys cukrinio diabeto tipai, kurie pasireiškia dėl genų mutacijos, tam tikrų vaistų, hormonų disbalanso, kasos ligų [14], [17].

Pagal pasaulio sveikatos organizacijos duomenis (PSO) cukriniu diabetu serga vis daugiau žmonių. 1990 metais nustatyta, kad šia liga sirgo 200 milijonai žmonių, o 2022 metais – 830 milijonai žmonių. Tai dažniausiai siejama su sveikos mitybos ir reguliaraus fizinio aktyvumo mažėjimu [2].

1.2 Biologiniai jutikliai

Biologiniai jutikliai yra prietaisai, kombinuojantys biologines medžiagas su joms tinkamomis platformomis ir taip aptinkantys cheminius ar biologinius pakitimus. Šie užfiksuoti pakitimai po to yra verčiami į elektrinį signalą [19], [20]. Biologiniai jutikliai susideda iš keturių pagrindinių komponentų – biologinio receptoriaus, signalo vertiklio, analitės ir ekrano (signalo parodymo) [19], [21], [22]. Biologinis receptorius arba biologinis atpažinimo elementas, yra molekulė, kuri reaguoja / atpažįsta analitę ir sukuria signalą. Biologiniais receptoriais gali būti fermentai, ląstelės, aptamerai, antikūnai, deoksiribonukleorūgštis (DNR), ribonukleino rūgštis (RNR) ar kitos biologinės molekulės. Signalo vertiklis yra prietaiso dalis, kuri užfiksuoja biologinio receptoriaus sąveiką su analite ir ją paverčia į elektrinį signalą [19], [21], [22]. Analitė yra medžiaga, kurią norime aptikti.

Ekranas yra signalo parodymo / interpretavimo sistema, pavyzdžiui kompiuteris ar spausdintuvas [21]. Biologiniai jutikliai gali būti klasifikuojami pagal įvairius kriterijus, tačiau dažniausiai pristatomos ir naudojamos klasifikacijos grupės yra pagal biologinį atpažinimo elementą ir pagal signalo vertiklio tipą [19], [20], [21], [22].

Pagal biologinį atpažinimo elementą jutikliai yra skirstomi į:

1. Fermentinius biologinius jutiklius. Dauguma fermentų katalizuojamų reakcijų vieno iš reagentų arba produktų sumažėjimas / padaugėjimas gali būti išmatuojamas, pavyzdžiui O_2 , CO_2 ar tam tikri jonai. Analitė aptinkama, kuomet įvyksta fermento katalizuojama reakcija [20], [21].
2. Imuninius jutiklius. Šių jutiklių tikslinė analitė yra antigenas. Signalas fiksuojamas kuomet susidaro antigeno-antikūno kompleksas [23].
3. Aptamerais paremtus jutiklius. Aptamerai yra trumpos, viengrandės DNR arba RNR molekulės, kurios gali selektyviai susijungti su tiksline analite. Signalas fiksuojamas kuomet aptameras susijungia su analite [21], [24].
4. Ląstelėmis paremtus jutiklius. Šiuose jutikliuose yra naudojami mikrobai, dumbliai, pirmuonys, virusai, nes jie turi biologinius atpažinimo elementus (pavyzdžiui – antikūnus). Naudojant išvardintas ląstelės išvengiame biologinių receptorių ekstrakcijos ir gryninimo [20], [21].
5. Baltymų receptoriais paremtus jutiklius. Šio tipo jutikliai remiasi ląstelių membranų gebėjimu veikti kaip receptoriai. Membranų receptoriai signalą gali perduoti metabotropiniais (fermentų sekrecija) arba jonotropiniais (membranų laidumo jonams keitimas) receptoriais [20].

Pagal signalo vertiklio tipą jutikliai yra skirstomi į:

1. Elektrocheminius jutiklius. Šie jutikliai biocheminius procesus paverčia į elektrinį signalą, kuris gali būti įtampa, srovė ar varža. Pagal signalo tipą, elektrocheminiai jutikliai yra skirstomi į amperometrinius, potenciometrinius, impedimetrinius ir konduktometrinius jutiklius [19], [25], [26].
2. Optinius jutiklius. Šie jutikliai yra pagrįsti sąveika su šviesa. Jutiklis matuoja optinių savybių pakitimus, pavyzdžiui, fluorescenciją, absorbciją, liuminescenciją, paviršiaus plazmono rezonansą [19], [25].
3. Gravimetrinius jutiklius. Šio tipo jutikliai fiksuoja masės pokyčius. Šie jutikliai dar skirstomi į pjezoelektrinius, kvarcinių rezonansinių svarstyklių (QCM), magnetoelastinius (angl. *magnetoelastic*) jutiklius [19], [21], [25].
4. Šiluminius jutiklius. Šie jutikliai matuoja endoterminių ar egzoterminių reakcijų metu susidariusius šilumos pokyčius [21], [27].

Dėl biologinių jutiklių įvairovės juos galima panaudoti įvairiausiose srityse, pavyzdžiui medicinoje, maisto pramonėje, aplinkos monitoringe [19], [20], [21], [25], [27], [28].

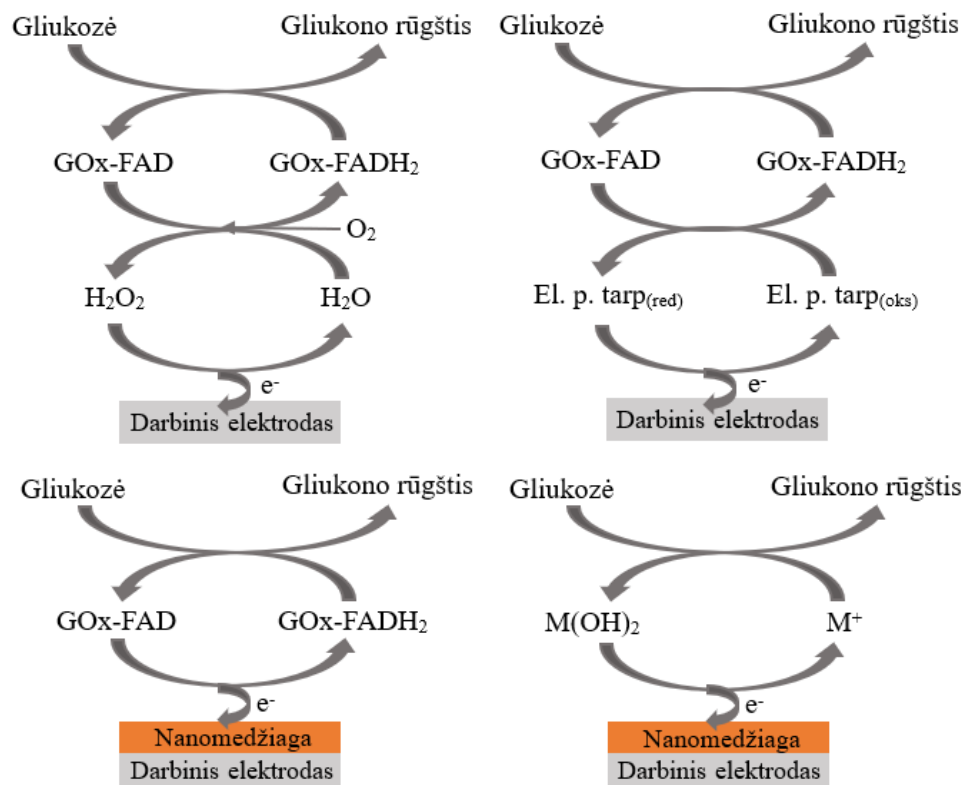
1.3 Elektrocheminiai gliukozės biologiniai jutikliai

Elektrocheminiai gliukozės biologiniai jutikliai gali būti klasifikuojami pagal įvairius kriterijus. Plačiausias gliukozės jutiklių klasifikavimas susideda iš dviejų grupių – fermentiniai ir nefermentiniai [29], [30]. 1962 metais mokslininkai Clark ir Lyons aprašė amperometrinį jutiklį, skirtą gliukozės kiekiui kraujyje nustatyti. Šiame jutiklyje buvo naudojamas fermentas – gliukozės oksidazė (GOx). Šis sukurtas gliukozės jutiklio konceptas dabar yra vadinamas pirmuoju elektrocheminiu biologiniu jutikliu [30], [31], [32].

Remiantis elektronų perdavimo mechanizmu, fermentiniai gliukozės biologiniai jutikliai yra toliau klasifikuojami į tris kartas:

1. Pirmosios kartos fermentiniai gliukozės biologiniai jutikliai yra pagrįsti deguonies, kaip fiziologinio elektronų akceptorius, naudojimu ir susidariusio vandenilio peroksido ar sumažėjusios deguonies koncentracijos aptikimu [30], [33], [34]. Naudojant molekulinį deguonį, ant elektrodo imobilizuotas fermentas (gliukozės oksidazė) katalizuoja gliukozės oksidaciją ir susidaro gliukono rūgštis, vandenilio peroksidas ir vanduo (1 pav., a). Analizės metu matuojama elektros srovė ir nustatoma gliukozės koncentracija [35]. Šios kartos jutiklių privalumai yra lengvas paruošimas, ekonomiškumas ir lengvas pritaikymas mažuose įrenginiuose [29], [33], [34]. Tačiau pirmosios kartos gliukozės biologiniai jutikliai turi ir keletą trūkumų. Vandenilio peroksido fiksavimui reikalingas didelis potencialas, o esant dideliui potencialui, kai kurios medžiagos, kaip askorbo ir šlapimo rūgštys oksiduojasi, todėl mažėja jutiklio atrankumas ir tikslumas [29], [30], [35], [36], [37]. Ši problema buvo dalinai išspręsta sumažinant elektroaktyvių molekulių prieigą prie vertiklio paviršiaus naudojant pralaidžias membranas. Kitas būdas sumažinti trukdžių įtaką yra sumažinti reikalingą vandenilio peroksidui aptikti potencialą naudojant kitokius vertiklius [29]. Kita, taip pat labai opi šių jutiklių problema yra deguonies koncentracijų svyravimai skirtinguose mėginiuose ir tai, kad fiziologinės gliukozės koncentracija kraujo mėginiuose yra gerokai didesnė nei deguonies. Šiam trūkumui spręsti buvo pasitelkti įvairūs būdai, kaip dvimatis cilindrinis elektrodas ar deguonimi prisotinta anglies pasta [29], [36], [38]. Tad nors pirmos kartos biologinių jutiklių paruošimas yra traktuojamas kaip paprastas ir ekonomiškas, be papildomų žingsnių šių jutiklių stabilumas ir atrankumas yra labai prastas.
2. Antrosios kartos biologiniuose jutikliuose elektronų pernašą iš fermento aktyviojo centro atlieka ne deguonis, o nefiziologinis tarpininkas [29]. Elektronų pernašos tarpininkai yra nedideli, mažos molekulinės masės redokso komponentai [35]. Tarpininkas gali būti imobilizuotas ant elektrodo paviršiaus kartu su fermentu arba būti ištirpintas tirpale [29]. Dažniausiai naudojami elektronų pernašos tarpininkai yra laidžios organinės druskos, ferocenas, fericianidas, pereinamųjų metalų kompleksai, fenoksazino junginiai, chinonų dariniai [29], [30], [33]. Šios kartos jutiklio veikimo procesas susideda iš 3 žingsnių, tai yra gliukozės oksidazės redukavimas, elektronų pernašos tarpininko redukavimas ir elektronų pernašos tarpininko oksidavimas ant elektrodo paviršiaus (1 pav., b). Būtent dėl paskutiniojo žingsnio yra matomas signalas – elektros srovės pakitimas [29], [33], [34]. Naudojant nefiziologinius tarpininkus veikimo potencialas sumažinamas, tad taip išsprendžiamos pirmosios kartos jutikliams kilusios problemos su pašalinių junginių oksidacija ir rezultatų priklausomybe nuo deguonies koncentracijos [33], [34], [35], [39]. Tačiau, jei naudojami nefiziologiniai tarpininkai yra tirpūs ir imobilizuojami ant elektrodo paviršiaus, jie gali lengvai nuo jo nusiplauti, todėl dažnai reikia atlikti papildomus žingsnius jų imobilizavimui ant paviršiaus. Tad kuriant šios kartos jutiklius yra labai svarbu pasirinkti tinkamus elektrodus, potencialo vertę, nefiziologinius tarpininkus, jų užnešimo ar naudojimo būdą ir vietą [30], [34], [36]. Nepaisant tam tikrų šios kartos gliukozės jutiklių trūkumų, šie jutikliai reprezentuoja didelę pažangą gliukozės matavimo įrenginiuose, nes 1987 metais buvo pristatytas pirmasis gliukozės jutiklis, kurį buvo galima naudoti namuose, tai yra be medicinos personalo [33], [36].

3. Trečiosios kartos fermentiniuose gliukozės biologiniuose jutikliuose natūralūs ar sintetiniai elektronų pernašos tarpininkai nenaudojami, elektronų pernaša tarp fermento katalitinio centro ir elektrodo vyksta tiesiogiai (1 pav., c). Atstumo tarp katalitinio centro ir elektrodo sumažinimui, fermentas yra imobilizuojamas ant elektrodo paviršiaus. Daugumos fermentų katalitiniai centrai yra giliai fermento struktūroje, tad mokslinėje literatūroje yra aprašyti tik keli fermentai, su kuriais buvo pasiekta tiesioginė elektronų pernaša, kaip flavinadeninindinukleotidas (FAD), flavinmononukleotidas (FMN), pirolochinolino chinonas (PQQ), celobiozės dehidrogenazė (CDH) [33], [36], [39], [40]. Tiesioginė elektronų pernaša dažnu atveju pasiekama naudojant įvairias nanostruktūras – aukso nanodaleles, platinos nanoklasterius, anglies nanovamzdelius, grafeną, kobalto sulfido nanodalelės ir kitas [29], [34]. Trečiosios kartos gliukozės biologiniai jutikliai rodo geresnius rezultatus nei pirmosios ar antrosios kartos jutikliai, tačiau jų paruošimas yra sunkesnis. Taip pat, kadangi šios kartos jutikliuose yra nenaudojamas elektronų pernašos tarpininkas, kuris dažnai yra toksiškas, šie jutikliai gali būti naudojami nuolatiniam in vivo gliukozės kiekio kraujyje stebėjimui [29], [33].



1 pav. a) Pirmos kartos, b) Antros kartos, c) Trečios kartos, d) Nefermentinių gliukozės biologinių jutiklių veikimo mechanizmas.

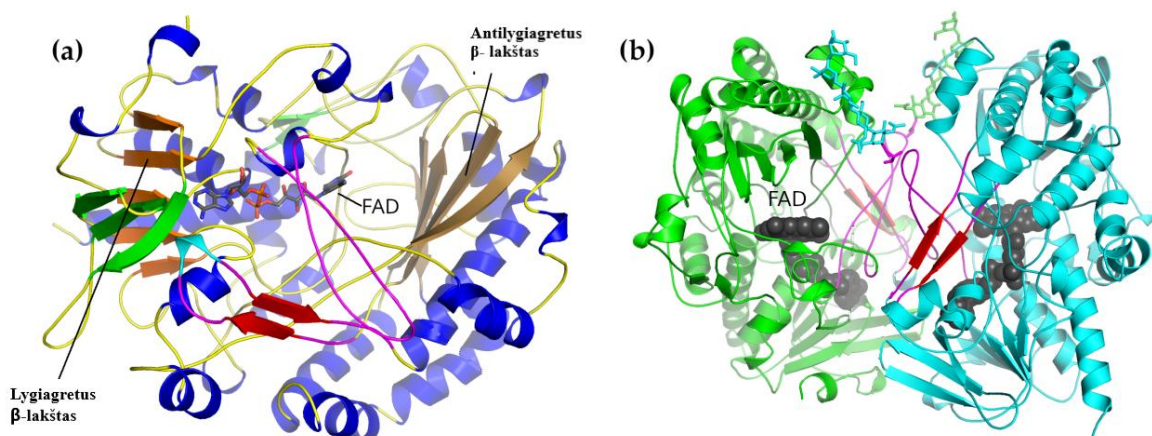
Kuriant fermentinius gliukozės biologinius jutiklius dažnai susiduriama su fermento imobilizavimo, stabilumo, fermento jautrumo tam tikriems aplinkos veiksniams problemomis, todėl vis didesnis dėmesys kyla nefermentiniams gliukozės biologiniams jutikliams, kurie dar dažnai vadinami ketvirtąja gliukozės jutiklio karta [29], [34], [41]. Nefermentinių gliukozės biologinių jutiklių mechanizmas pagrįstas elektrokatalizine veikla (1 pav., d), tačiau tikslus gliukozės oksidacijos ant elektrodo paviršiaus mechanizmas nėra žinomas [29], [34], [41]. Pagal vietoje fermento naudojamą medžiagą nefermentiniai jutikliai gali būti skirstomi į metalo / metalo junginius

(Pt, Au, Ni, Cu, Ag, kiti metalai ar jų junginiai), kompozitais (lydiniai, metalų, metalo oksidų, polimerų kompozitai), anglies mikro / nano medžiagomis (anglies nanovamzdeliai, grafas, grafeno oksidas) paremtus jutiklius [29], [34], [36], [41], [42]. Bendrai apibendrinus šie jutikliai yra ekonomiškai, stabilūs, jų pagaminimas yra paprastas, tačiau jų atrankumas nėra geras. Taip pat, verta paminėti, kad šių jutiklių jautrumas labai priklauso nuo pH terpės – jie geriausiai rezultatus rodo šarminėje terpėje. Nepaisant to, jie tapo alternatyva fermentiniams gliukozės biologiniams jutikliams [29], [43].

1.4 Gliukozės oksidazė

Oksidazės, oksigenazės, peroksidazės, degidrogenazės yra fermentai, kurie katalizuoja oksidacijos ir redukcijos reakcijas gyvuose organizmuose. Šie fermentai priklauso oksidoreduktazių šeimai [44], [45]. Nikotino amido adenino dinukleotidas (NAD), flavino adenino dinukleotidas (FAD) ir (arba) nikotino amido adenino dinukleotido fosfatas (NADP) yra pagrindiniai kofaktoriai, reikalingi oksidoreduktazių aktyvumui [45]. Vienas iš geriausiai žinomų šios klasės fermentų yra gliukozės oksidazė (GOx), kurios kofermentas yra flavino adenino dinukleotidas (FAD) [45], [46], [47], [48].

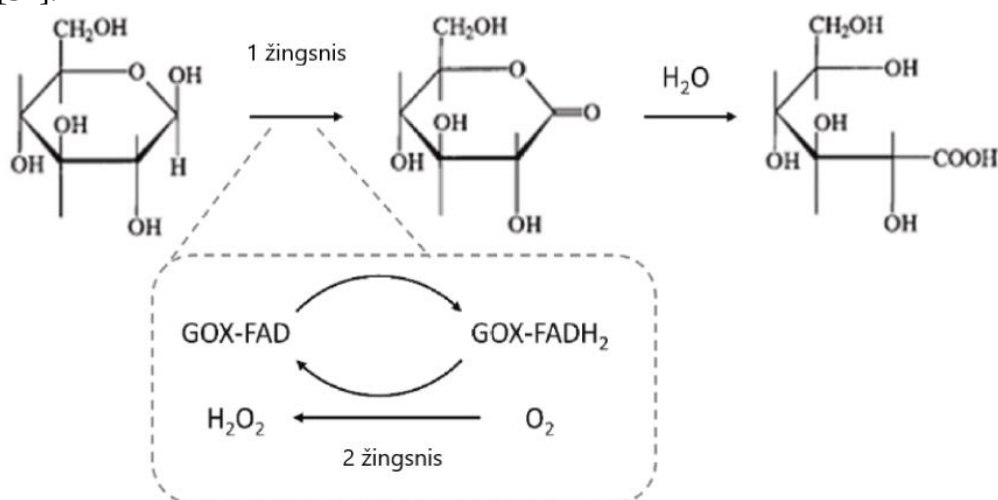
Gliukozės oksidazės, gautos iš *Aspergillus niger* ir *Penicillium amagasakiense*, struktūros yra gerai žinomos ir išstudijuotos [46], [49]. Iš *A. niger* gauta gliukozės oksidazė yra sudaryta iš dviejų identiškų subvienetų, kurių masė yra apie 80 kDa (2 pav., b) [48], [50]. Fermento monomere yra išskiriami du pagrindiniai domenai: substratą prijungiantis domenas ir kofermentą (FAD) prijungiantis domenas (2 pav., a) [46]. FAD prijungiantis domenas yra daugiausiai sudarytas iš β -lakštų ir yra nekovalentiškai susijungęs su FAD. Substratą prijungiantis domenas yra sudarytas iš keturių α -spiralių ir antilygiagretaus β -lakšto [46], [49]. Taip pat, yra žinoma pirminė iš *A. niger* gautos gliukozės oksidazės struktūra – viena polipeptidinė subvieneto grandinė turi 583 aminorūgščių liekanas [50].



2 pav. a) Gliukozės oksidazės monomero struktūra; b) Gliukozės oksidazės dimero struktūra [46].

Gliukozės oksidazė katalizuoja β -D-gliukozės oksidacijos reakciją, naudojant molekulinę deguonį. Ši reakcija susideda iš oksidacijos ir redukcijos žingsnių. Pirmajame (redukcijos) žingsnyje gliukozės oksidazė katalizuoja β -D-gliukozės oksidaciją į D-gliukono- δ -laktoną, kuris po to

hidrolizuojasi į gliukono rūgštį. Reakcijos metu FAD redukuojasi į FADH₂. Antrajame (oksidacijos) žingsnyje redukuotas FADH₂ yra reoksiduojamas deguonimi ir gaunamas vandenilio peroksidas (3 pav.) [47], [51].



3 pav. Gliukozės oksidazės katalizuojama gliukozės oksidacija[51].

Gliukozės oksidazės komercinė vertė yra gan didelė. Maisto pramonėje, dėl savo antioksidantinių, konservantinių savybių, GOx yra naudojama pieno perdirbime, duonos gamyboje, kiaušinių miltelių bei gliukozės gamyboje ir kaip konservantas įvairiuose produktuose. Šis fermentas taip pat naudojamas tekstilės pramonėje fermentiniam tekstilės balinimui. Biotechnologijų sferoje gliukozės oksidazė yra naudojama biokuro elementų gamyboje [45], [47], [52], [53]. Šis fermentas gan plačiai naudojamas medicinoje: burnos / dantų priežiūros produktuose, chemoterapijoje, biologiniuose jutikliuose [45], [47], [48].

1.5 Elektrai laidūs polimerai

Nors poliacetilenas pirmą kartą buvo susintetintas 1958 metais Giulio Natta ir jo komandos, pirmąjį elektrai laidų polimerą – poliacetileną legiruotą halogenais, susintetino mokslininkai Heeger, MacDiarmid ir Shirakawa 1977 metais. Prieš šį atradimą buvo manoma, kad visi polimerai yra elektros izoliatoriai, tačiau ši, atsitiktinuma nusėta, trijų mokslininkų kolaboracija sukūrė naują organinių polimerų klasę – elektrai laidžius polimerus [7], [54], [55]. Ši polimerų klasė pasižymi unikaliomis elektrinėmis ir optinėmis savybėmis, kurios yra panašios į neorganinių puslaidininkinių ir metalų savybes. Savaime laidūs polimerai gali būti sintetinami naudojant paprastus ir ekonomiškus metodus, pavyzdžiui cheminę ir elektrocheminę polimerizacijas [8], [56]. Keičiant polimerizacijos sąlygas galima susintetinti įvairių struktūrų ir morfologijų polimerus, kurių fizinės ir cheminės savybės bus skirtingos [54]. Pavyzdžiui, supramolekulinių struktūrų gavimui yra naudojama paprasta elektrocheminė polimerizacija [8], [57].

Minėtos elektrai laidžių polimerų savybės pasireiškia dėl jų unikalios struktūros ir įvairių legiravimo metodų. Skirtingai nuo paprastų polimerų, kurie yra elektros izoliatoriai, elektrai laidūs polimerai turi konjuguotas π -elektronų sistemas su kintančiais viengubais ir dvigubais ryšiais, tai yra – π ryšiai yra delokalizuoti, poliarizuoti ir turintys didelį elektronų tankį. Šių polimerų elektrinį laidumą galima didinti juos legiruojant – oksiduojant (p-tipo legiravimas) arba redukuojant (n-tipo legiravimas). Legiruojant elektrai laidžius polimerus susidaro krūvininkai – polaronai, bipolaronai ir solitonai. Naudojant skirtingas cheminio ir elektrocheminio legiravimo sąlygas šių polimerų

elektrinis laidumas gali būti reguliuojamas nuo visiškos elektros izoliacijos iki metalinio laidumo [54], [58], [59].

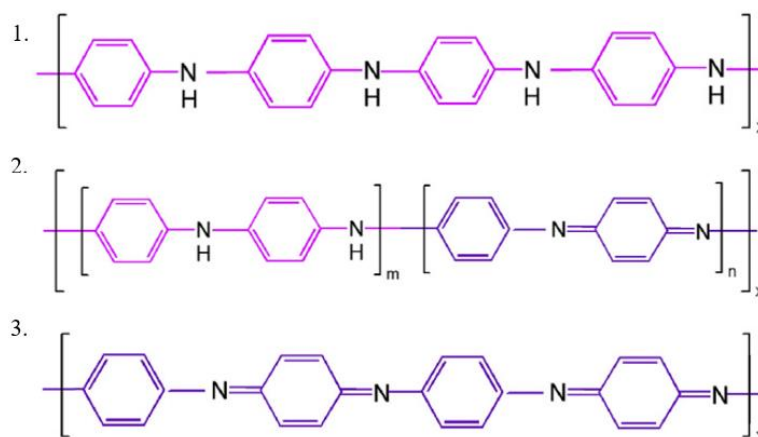
Elektrai laidžių polimerų panaudojimo galimybės yra labai plačios. Elektronikos srityje jie naudojami superkondensatorių ir kompaktiškų kondensatorių gamyboje, saulės elementuose, baterijose, šviesios dioduose, tranzistoriuose [56], [58], [60]. Jie taip pat naudojami dujų jutikliuose ir kaip korozijos slopikliai. Medicinos pramonėje jie naudojami vaistų pernašos sistemose, biologiniuose jutikliuose, neuroprotezavimo prietaisuose, audinių inžinerijoje, žaizdų gydyme, širdies stimuliatoriuose ir defibriliatoriuose [8], [58], [61].

Dažniausiai sutinkami ir naudojami elektrai laidūs polimerai ir jų kompozitai yra poliacetilenas (PA), polianilinas (PANI), polipirolas (PPy), politiofenas (PTH), poli(p-fenileno-vinilenas) (PPV) ir polifuranas (PF) [58].

1.6 Polianilinas

Polianilinas literatūroje pirmą kartą paminėtas beveik 100 metų ankščiau nei poliacetilenas – 1862 metais. Daktaras Henry Letheby vykdydamas anilino sulfato elektrolizę susintetino mėlyną medžiagą, kurios spalva iš dalies išnyko, kuomet ją bandė redukuoti. Ši medžiaga dėl savo tamsios spalvos tuomet buvo pavadinta juodoju anilinu ir buvo naudojama tekstilės audiniams dažyti. Šiuo metu juodasis anilinas yra geriau žinomas polianilino pavadinimu ir yra vienas iš daugiausiai tiriamų ir įvairiose srityse naudojamų elektrai laidžių polimerų [7].

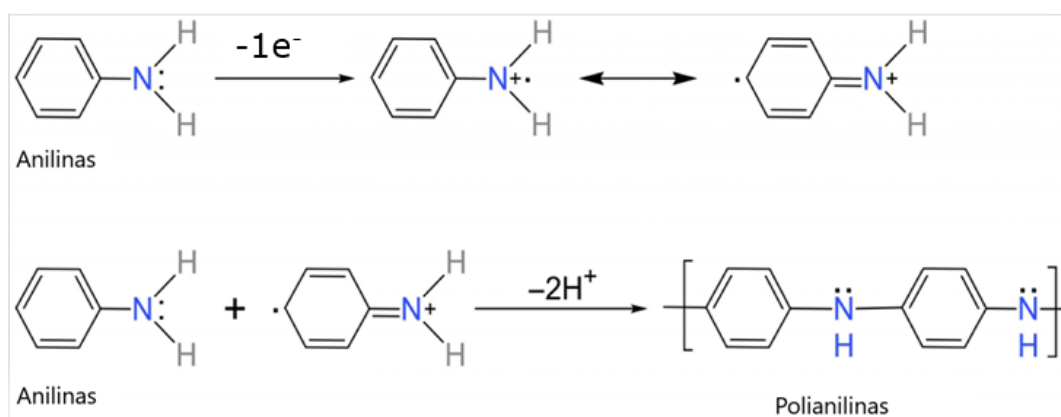
Polianilinas yra homopolimeras, tačiau jo struktūroje gali būti benzenoidų arba chinoidų arba abiejų skirtingomis proporcijomis. Šis polimeras egzistuoja skirtingose oksidacinėse būsenose – leucoemeraldino, emeraldino (bazė ir druska) ir pernigranilino. Leucoemeraldino būseną yra pilnai redukuota ir susideda iš benzenoidų – vandenilio atomai yra prisijungę prie azoto atomų, dvigubųjų ryšių tarp aromatinių žiedų ir azoto nėra (4 pav., 1). Emeraldino būseną yra pusiau redukuota ir pusiau oksiduota. Tai reiškia, kad šioje būsenoje benzenoidų ir chinoidų santykis idealiu atveju lygus 1:1 (4 pav., 2). Emeraldino oksidacinė būseną yra stabiliausia ir laidžiausia. Pilnai oksiduota oksidacinė būseną yra vadinama pernigranilinu, ji susideda iš chinoidų – tarp azoto ir aromatinio žiedo yra dvigubasis ryšys (4 pav., 3) [7], [62]. Polianilino spalva priklauso nuo jo oksidacinės būsenos: leucoemeraldino būsenoje polianilinas yra bespalvis, emeraldino – mėlynas (bazė) arba žalias (druska), o pernigranilino būsenoje – violetinis [9].



4 pav. Polianilino oksidacinės būsenos: 1. leucoemeraldinas; 2. emeraldinas; 3. pernigranilinas [7].

Polianilinas literatūroje yra sintetinamas įvairiausiais būdais, kuriuos būtų galima suskirstyti į dvi grupes: naudojant oksidatorių ir nenaudojant oksidatoriaus [7]. Daugiausiai literatūroje minimi ir aprašomi būdai yra cheminė ir elektrocheminė polimerizacijos:

1. Cheminė polimerizacija. Paprastas ir pigus metodas dideliame polianilino kiekiui pagaminti [9], [56]. Šioje polimerizacijoje yra naudojami įvairūs oksidatoriai, kaip amonio persulfatas, natrio vanadatas, vandenilio peroksidas, kalio dichromatas ir kiti. Vienas iš daugiausiai naudojamų oksidatorių yra amonio persulfatas [9], [56]. Dažniausiai amonio persulfatas yra ištirpinamas rūgštyje ir tuomet tirpinamas anilinas. Polimerizacija susideda iš dviejų žingsnių: anilino radikalo susiformavimo ir dviejų radikalų susijungimo (5 pav.) [9]. Reakcijos mišinio nusidažymas žalia spalva rodo sėkmingą polianilino polimerizaciją [7].



5 pav. Cheminė polianilino polimerizacija [57].

2. Elektrocheminė polimerizacija. Šis polimerizacijos būdas yra naudojamas laidaus polianilino sluoksnio nusodinimui ant įvairių paviršių. Nusodinimas gali būti atliekamas naudojant skirtingus metodus: galvonastatinis (pastovi elektros srovė), potenciodinaminis (potencialas keičiasi), potenciostatinis (pastovus potencialas). Elektrocheminė polimerizacija, kaip ir cheminė polimerizacija, vyksta rūgštinėje terpėje, tačiau šioje polimerizacijoje nereikia naudoti oksidatoriaus. Šio metodo didžiausi privalumai yra kontroliuojamas polimero sluoksnis ir jo grynumas [7], [9], [56], [57].

Polianiliną galima susintetinti ir kitais būdais: tarpfazine, kietafaze, fermentine, mikroemulsine polimerizacijomis, bei elektriniu verpimu (angl. *electrospinning*) ir kitais [7], [9], [58].

Polianilinas pasižymi įvairiomis patraukliomis savybėmis, kaip stabilumas, atsparumas rūgštims ir bazėms ir platus bei kontroliuojamas laidumo diapazonas. Kaip ir minėta aukščiau, priklausomai nuo oksidacinės būsenos, jis gali būti skirtingų spalvų. Polianilinas yra netirpus vandenyje, o jo tirpumas tam tikrose organiniuose tirpikliuose skiriasi priklausomai nuo oksidacinės būsenos ir jų paruošimo. Jo struktūrinės, cheminės, fizikinės savybės gali būti keičiamos naudojant skirtingus cheminės sintezės metodus, parametrus ir kompozitus [7], [8], [9], [10].

Polianilinas yra sėkmingai naudojamas įvairiose srityse. Šis polimeras naudojamas superkondensatoriuose, temperatūros, dujų (NH₃, NO₂, CO₂, CO, H₂ ir kitų) jutikliuose, saulės elementuose. Polianilinas ir jo kompozitai naudojami antikoroziinių dangų gamybai. Jo kompozitai naudojami apsaugai nuo elektromagnetinių trukdžių. Medicinos pramonėje polianilinas naudojamas

įvairiuose biologiniuose jutikliuose, vaistų pernešimo sistemose, tam tikrų audinių inžinerijoje [7], [9], [10], [57], [61].

1.7 MXenai

Nuo tada, kai 2011 metais MXenus pirmą kartą atrado Drexel universiteto mokslininkai, šie tapo viena didžiausių dvimačių (2D) medžiagų šeimų ir susilaukė didelio dėmesio mokslininkų bendruomenėje [11]. Šios medžiagos vadinamos MXenais, nes jos dažniausiai yra gaminamos iš MAX fazių, panaikinant A (kaip Al, Si) elementą (6 pav.) [63], [64]. MXenų bendroji cheminė formulė:



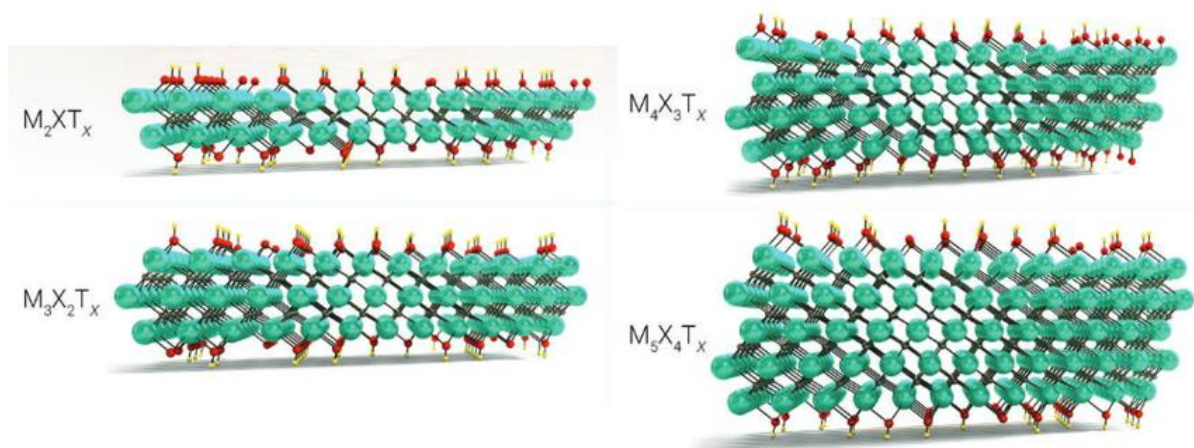
kur M – pereinamieji metalai (Sc, Ti, V, Cr, Zr, Nb, Mo, Hf, Ta); X – C, N; n – 1-3; T_x – paviršiaus funkcinės grupės (O, OH, F ir / ar Cl) (6 pav.) [64], [65], [66].

6 pav. Periodinė lentelė, vaizduojanti MAX fazių ir MXenų elementus [67].

MXenų sintezė bendrai gali būti skirstoma į dvi kategorijas – sintezė „iš apačios į viršų“ (angl. *bottom-up*) ir sintezė „iš viršaus į apačią“ (angl. *top-down*) [68]. Daugiausiai naudojamas MXenų sintezės būdas yra *top-down*. Šiame metode yra naudojamos MAX fazės ir iš jų selektyviai panaikinamas / išsodinamas (angl. *etching*) A sluoksnis. Šis sluoksnis gali būti panaikinamas naudojant aukštas temperatūras, HF rūgštį, bazes, išlydytas druskas, įtampą (elektrocheminis A sluoksnio panaikinimas) [63], [66], [68], [69], [70], [71]. *Bottom-up* metode, naudojant įvairius elementus, yra sukuriamos MXenų plėvelės. Tai galima padaryti naudojant cheminį garinį nusodinimą (angl. *chemical vapor deposition*), impulsinį lazerinį nusodinimą (angl. *pulsed laser deposition*), purškimo jonais vakuuminėje kameroje metodą (angl. *sputtering*) ir kitus [66], [68], [69].

MXenų struktūra susideda iš pereinamųjų metalų (M) sluoksnių, kurie tarpusavyje yra sujungti C ir / arba N (X) ir prie M išorinio sluoksnio prisijungusių funkcinų grupių (T_x) (7 pav.). M ir X sluoksnių skaičius, jų išsidėstymas ir paviršiaus funkcinės grupės priklauso nuo pasirinkto sintezės būdo ir naudojamų elementų. MAX fazių kristalinės gardelės yra heksagoninės, tad ir iš jų gaminami MXenai formuoja tokias pačias kristalines gardeles [64], [66].

MXenų cheminės ir fizikinės savybės priklauso nuo jų pagaminimo būdo, tai yra, paviršiaus funkcinų grupių, naudojamų pereinamųjų metalų. Kadangi MXenai turi pereinamųjų metalų sluoksnius, jie pasižymi geru elektriniu laidumu. Priklausomai nuo funkcinų grupių ir jų kiekio, MXenai yra tirpūs arba dalinai tirpūs vandenyje, poliniuose tirpikliuose. Šios medžiagos taip pat pasižymi geru mechaniniu stiprumu ir atsparumu aukštomis temperatūroms [64], [65], [68], [69], [72].



7 pav. Skirtingos MXenų struktūros. Žalia spalva – M sluoksnis, juoda spalva – X sluoksnis, geltona spalva - T_x [66].

MXenai yra naujai atrasta medžiaga, todėl jų galimas panaudojimas įvairiose srityse yra vis dar tiriamas. Dėl unikalių MXenų savybių juos yra bandoma pritaikyti įvairiose elektronikos, medicinos ir kitose srityse, pavyzdžiui: įvairiuose jutikliuose, vaistų pernešimo sistemose, vėžio gydyme, baterijose, superkondensatoriuose, vandens valymo sistemose ir daug kitų [11], [64], [65], [66], [68], [69], [71].

1.8 Chronoamperometrija

Chronoamperometrija yra elektrocheminė analizė, kurioje tarp darbinio ir palyginamojo elektrodo yra užduodamas pastovus potencialas ir matuojama per laiką besikeičianti elektros srovė. Chronoamperogramoje vaizduojama elektros srovės priklausomybė nuo laiko. Norint nustatyti analitės koncentraciją mėginiuose yra sudaromos kalibracinės kreivės ir atliekant analizę analitės koncentracija yra išskaičiuojama. Chronoamperometrija yra greitas, paprastas ir pigus metodas, dėl to yra labai plačiai naudojamas. Ypač didelio populiarumo šis metodas yra susilaukęs kuriant gliukozės biologinius jutiklius [73], [74], [75], [76].

2. EKSPERIMENTINIO TYRIMO METODIKA

2.1 Prietaisai ir priemonės

Automatinės pipetės („Eppendorf“, Vokietija);
Magnetinė maišyklė („IKA“, Kinija);
Maišyklė Mini Vortex Mixer („ISOLAB“, Vokietija);
Magnetinė maišyklė su šildymu RSM-10HP („Phoenix Instrument“, Vokietija);
Analitinės svarstyklės ABJ-NM/ABS-N („Kern“, Vokietija);
Centrifuga MEGAFUGE 8R („ThermoScientific“, Jungtinės Amerikos valstijos);
Potenciostatas PalmSens4 („PalmSens“, Kinija);
pH-metras FiveEasy („Mettler Toledo“, Šveicarija);
Skenuojantis elektroninis mikroskopas (SEM) SU-70 („Hitachi“, Japonija);
UV-Vis Spektrofotometras UV-1900i („Shimadzu“, Japonija);
Vakuuminis filtravimo aparatas;
Lyginamasis elektrodas – $\text{Ag/AgCl}_{3 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{ KCl}}$ („Metrohm“, Šveicarija);
Pagalbinis elektrodas – Platinos viela;
Darbinis elektrodas – modifikuotas stikliškosios anglies elektrodas („CH Instruments“, Jungtinės Amerikos valstijos).

2.2 Medžiagos ir reagentai

$\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXenai (Materials Research Center Ltd., Ukraina);
Druskos rūgštis HCl 37 % („Carl ROTH“, Vokietija);
Amonio persulfatas $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ („FLUKA“, Vokietija);
Anilinas $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$ („FLUKA“, Vokietija);
Chloroformas CHCl_3 („Eurochemicals“, Lietuva);
Acetonas $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ („Honeywell“, Jungtinės Amerikos valstijos);
Cetiltrimetilamonio bromidas $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$ („ThermoScientific“, Jungtinės Amerikos valstijos);
Kalio chloridas KCl („Carl ROTH“, Vokietija);
Fosfatinio buferio (PBS) tabletės („Carl ROTH“, Vokietija);
Glutaro aldehidas 25 % $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ („Carl ROTH“, Vokietija);
D-(+)-gliukozė $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ („MERCK“, Jungtinės Amerikos valstijos);
Gliukozės oksidazė iš *Aspergillus niger* (GOx) („Carl ROTH“, Vokietija);
Fenazinmetasulfatas (FMS) $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ („ThermoScientific“, Jungtinės Amerikos valstijos);
Askorbo rūgštis $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ („FLUKA“, Vokietija);
Šlapimo rūgštis $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$ („Sigma-Aldrich“, Jungtinės Amerikos valstijos);
Veršelių serumas (FBS) („GIBCO“, Jungtinės Amerikos valstijos);
Filtro popierius MN 640 w („Macherey-Nagel“, Vokietija);
Plastikinis švirkštas 60 ml („Fisher Scientific“, Jungtinės Amerikos valstijos);
Membraninis filtrus $0,2 \mu\text{m}$ 30 mm („DD Biolab“, Ispanija).

2.3 Programinė įranga

Magistro baigiamojo darbo metu elektrocheminiai tyrimai buvo atlikti naudojantis PSTrace programine įranga. Rezultatai buvo apdorojami naudojantis OriginPro 2021, Microsoft Word, Microsoft Excel ir ImageJ programomis.

2.4 Polianilino sintezė

2.4.1 Tarpfazinė polianilino sintezė (Sintezė 1)

Sintzei buvo pagaminti du tirpalai:

1. 20 ml $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ HCl tirpalas, kuriame amonio persulfato (APS) koncentracija lygi $4 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.
2. 20 ml chloroformo tirpalas, kuriame anilino koncentracija lygi $4 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Pagaminti tirpalai prieš sintezę 1 valandą atskirai maišomi ant magnetinės maišyklės. Praėjus laikui, vandeninis tirpalas iš lėto supilamas virš organinio tirpalo. Polimerizacija vykdoma 24 valandas kambario temperatūroje. Sekančią dieną vandeninėje fazėje susidariusios polianilino nanostruktūros surenkamos pipete ir filtruojamos naudojant vakuuminį filtravimo aparatą. Susidaręs polianilinas praplaunamas nedideliu acetono kiekiu, o po to plaunamas distiliuotu vandeniu tol, kol filtratas tampa skaidrus. Šiuo metodu pagamintos polianilino nanostruktūros (toliau – PANI_I) disperguojamos vandenyje ir laikomos $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

2.4.2 Cheminė polianilino sintezė (Sintezė 2)

60 ml $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ HCl tirpalas įdedamas į ledo vonią. Įdedamas tam tikras kiekis cetiltrimetilamonio bromido (CTAB), kad jo koncentracija druskos rūgštyje būtų $0,01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Įjungiamas maišymas ir cetiltrimetilamonio bromidas tirpale disperguojamas. Po to įdedama amonio persulfato (APS) tiek, kad jo koncentracija tirpale būtų $0,03 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Susidaro CTAB / APS komplekso baltos nuosėdos, kurios veikia kaip oksidacinis šablonas polianilino polimerizacijai. Reakcijos mišinys atšaldomas iki $0-3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ir įdedamas anilinas. Polimerizacija vyksta 24 valandas $0-3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, maišant 200 apm greičiu. Po 24 valandų, gautas tirpalas centrifuguojamas $5000 \times g$ greičiu 10 minučių. Tirpalas nupilamas ir užpilama 50 ml $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ HCl ir vėl centrifuguojama. Tai kartojama dar du kartus. PANI nuosėdas išplovus su $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ HCl, nuosėdos tris kartus plaunamos su 50 ml acetonu analogiškomis sąlygomis. Šiuo metodu pagamintos polianilino nanostruktūros (toliau – PANI_{II}) disperguojamos vandenyje ir laikomos $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

2.5 Darbinių tirpalų paruošimas

$10 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ fosfatinis buferis (PBS) su $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ KCl ($\text{pH} = 6$), buvo paruošiamas ištirpinant fosfatinio buferio tabletes ir reikiamą kiekį KCl vandenyje. Tirpalo pH privedimui buvo naudojamas $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ HCl tirpalas. Privedus tirpalo pH iki 6, tirpalas buvo perpilamas į matavimo kolbą ir atskiedžiamas iki žymės. Pagamintas tirpalas perfiltruojamas į stiklinę talpą ir laikomas $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

$1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ gliukozės tirpalas buvo gaminamas naudojant magnetinę maišyklę su šildymu. Stiklinė su distiliuotu vandeniu ir magnetu padedama ant magnetinės maišyklės. Į stiklinę supilamas

reikiamas gliukozės kiekis, įjungiamas maišymas ir šildymas. Maišyklės parametrai – 250 apm, 50 °C. Maišymas vykdomas iki tol, kol ištirpsta visa gliukozė. Ištirpus gliukozei, pagamintas tirpalas perpilamas į matavimo cilindrą ir atskiedžiamas iki žymės. Pagamintas tirpalas perpilamas į plastikinę talpą ir laikomas 5 °C temperatūroje.

40 ir 20 mg·ml⁻¹ gliukozės oksidazės tirpalai buvo gaminami ištirpinant reikiamą gliukozės oksidazės kiekį 10 mmol·l⁻¹ PBS su 0,1 mol·l⁻¹ KCl (pH = 6). Pagaminti tirpalai buvo išpilstomi į mėgintuvėlius ir laikomi -20 °C temperatūroje.

0,1 mol·l⁻¹ fenazinmetasulfato (FMS) tirpalas buvo paruošiamas ištirpinant reikiamą kiekį FMS vandenyje. Tirpalas perpilamas į matavimo cilindrą ir atskiedžiamas iki žymės. Pagamintas tirpalas perpilamas į tamsinto stiklo talpą ir laikomas 5 °C temperatūroje.

Įvairių koncentracijų PANI_I ir PANI_{II} tirpalai buvo ruošiami automatine pipete paimant reikalingą jų tūrį ir praskiedžiant 10 mmol·l⁻¹ PBS su 0,1 mol·l⁻¹ KCl (pH = 6). Pagaminti tirpalai laikomi 5 °C temperatūroje.

Įvairių koncentracijų PANI_I su 40 mg·ml⁻¹ GOx tirpalai buvo paruošti automatine pipete paimant 20 µl reikiamos koncentracijos PANI_I ir jį įpilant į 20 µl 40 mg·ml⁻¹ GOx tirpalą (galutinė GOx koncentracija tirpale – 20 mg·ml⁻¹).

Įvairių koncentracijų MXenų tirpalai buvo ruošiami ištirpinant reikalingą MXenų kiekį distiliuotame vandenyje. Pagaminti tirpalai laikomi 5 °C temperatūroje.

0,5 mg·ml⁻¹ PANI_I su įvairių koncentracijų MXenais tirpalai buvo ruošiami automatine pipete paėmus reikalingą 1,0 mg·ml⁻¹ PANI_I ir įvairių koncentracijų MXenų tirpalų tūrius ir juos sumaišius santykiu 1:1.

0,2 mol·l⁻¹ askorbo rūgšties (AA) tirpalas buvo ruošiamas ištirpinant reikiamą AA kiekį vandenyje. Pagamintas tirpalas laikomas 5 °C temperatūroje.

0,2 mol·l⁻¹ šlapimo rūgšties (UA) tirpalas buvo ruošiamas ištirpinant reikiamą UA kiekį vandenyje. Pagamintas tirpalas laikomas 5 °C temperatūroje.

2.6 Nanostruktūrų charakterizavimas

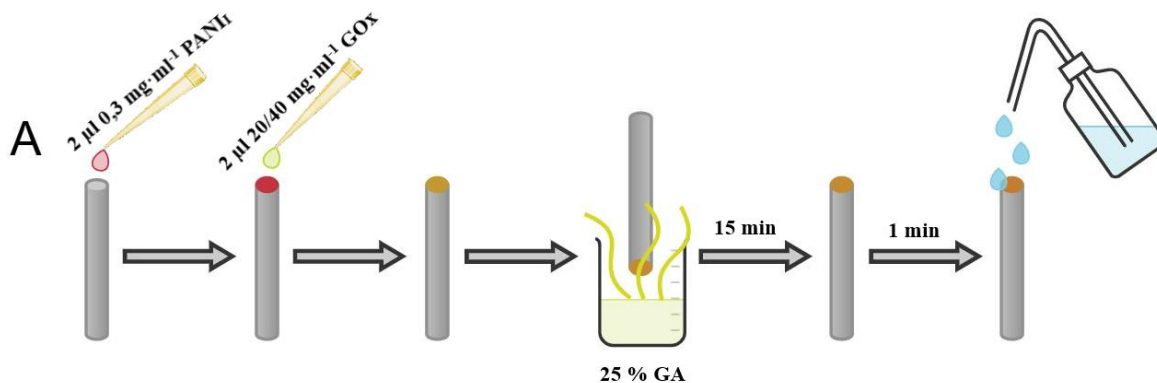
PANI_I, PANI_{II} ir MXenų nanostruktūrų morfologijai nustatyti buvo naudojamas skenuojantis elektroninis mikroskopas (SEM). Taip pat, naudojantis UV-Vis spektrofotometru, buvo atliktos 0,1 mg·ml⁻¹ PANI_I, PANI_{II} ir MXenų nanostruktūrų spektrinės analizės 400-900 nm bangų ilgio intervale.

2.7 Stikliškosios anglies elektrodų paruošimas darbui

Stikliškosios anglies elektrodai (GCE) poliruojami 0,05 µm aliuminio oksido pasta ant mikroaudinio poliravimo pluošto. Nupoliruoti elektrodai gausiai plaunami distiliuotu vandeniu tol, kol ant jų nebelieka aliuminio oksido pastos likučių. Elektrodai nudžiovinami kambario temperatūroje ir, naudojant ciklinės voltamperometrijos metodą, valomi elektrochemiškai 5 ml 0,1 mol·l⁻¹ H₂SO₄ rūgštyje. Ciklinės voltamperometrijos sąlygos: įtampos intervalas nuo -0,2 V iki 1,2 V, greitis 100 mV·s⁻¹, ciklų skaičius – 10 CV. Atlikus elektrocheminį valymą elektrodai vėl nuplaunami distiliuotu vandeniu ir paliekami džiūti kambario temperatūroje. Elektrodams nudžiūvus atliekami elektrodų paviršiaus modifikavimai.

2.8 Optimalios gliukozės oksidazės koncentracijos nustatymas

Optimaliai gliukozės oksidazės koncentracijai nustatyti išbandytos 2 skirtingos koncentracijos – $20 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ir $40 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Stikliškosios anglies elektrodai modifikavimui paruošti 2.7 skyrelyje aprašyta eiga. Tuomet ant GCE užlašinama $2 \text{ }\mu\text{l}$ $0,3 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ PANI₁ ir paliekama džiūti kambario temperatūroje. Elektrodams nudžiūvus, ant jų paviršiaus lašinama $2 \text{ }\mu\text{l}$ 20 arba $40 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ GOx ir paliekama džiūti kambario temperatūroje. Tuomet elektrodai 15 minučių laikomi virš 25 % glutaro aldehido garų. Po 15 minučių elektrodai paliekami traukos spintoje 1 minutę ir tada nuplaunami distiliuotu vandeniu (8 pav.).

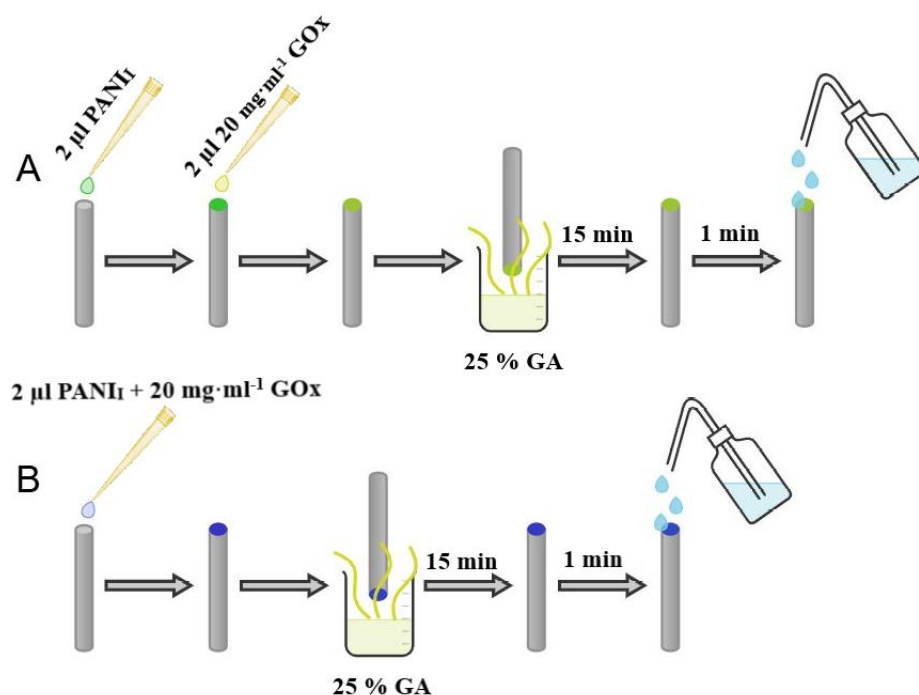


8 pav. Elektrodų paviršiaus modifikavimo principinė schema.

2.9 Elektrodo paviršiaus modifikavimo metodo optimizavimas

Tinkamam elektrodo paviršiaus modifikavimo būdui pasirinkti buvo naudotas PANI₁ (sintezė 1) ir išbandyti du metodai:

1. 1 metodas (9 pav., A). Stikliškosios anglies elektrodai (GCE) paruošti 2.7 skyrelyje aprašyta eiga. Ant elektrodų paviršiaus užlašinama $2 \text{ }\mu\text{l}$ skirtingų koncentracijų PANI₁ ir paliekama nudžiūti kambario temperatūroje. GCE nudžiūvus ant jų paviršiaus užlašinama $2 \text{ }\mu\text{l}$ $20 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ GOx ir paliekama nudžiūti kambario temperatūroje. Modifikavus elektrodo paviršius, elektrodai 15 minučių laikomi virš 25 % glutaro aldehido garų. Po 15 minučių GCE paliekami traukos spintoje 1 minutę ir tada nuplaunami distiliuotu vandeniu.
2. 2 metodas (9 pav., B). GCE paruošiami 2.7 skyrelyje aprašyta eiga. Ant elektrodų paviršiaus užlašinama $2 \text{ }\mu\text{l}$ skirtingų koncentracijų PANI₁ su $20 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ GOx mišinio. Elektrodai paliekami nudžiūti kambario temperatūroje. Elektrodų paviršiams nudžiūvus, elektrodai 15 minučių laikomi virš 25 % glutaro aldehido garų. Po 15 minučių GCE paliekami traukos spintoje 1 minutę ir tada nuplaunami distiliuotu vandeniu.



9 pav. Elektrodo paviršiaus modifikavimo metodų principinės schemos: A – 1 metodas; B – 2 metodas.

2.10 Elektrodo paviršiaus modifikavimas su PANI_{II} nanostruktūromis

Elektrodų paviršiaus modifikavimas su PANI_{II} nanostruktūromis buvo atliekamas naudojant 1 metodą (žr. 2.9 skyrelį). Elektrodo paviršiaus modifikavimo sąlygos analogiškos 9 paveikslo A schemoje pavaizduotoms sąlygoms, tik vietoje PANI_I buvo naudojamos PANI_{II} nanostruktūros.

2.11 Elektrodo paviršiaus modifikavimas su PANI_I ir MXenų nanostruktūrų kompozitu

Stikliškosios anglies elektrodai darbui paruošti 2.7 skyrelyje aprašyta eiga. Ant elektrodų paviršiaus užlašinama 2 µl 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_I su skirtingų koncentracijų MXenais mišinio ir paliekama nudžiūti kambario temperatūroje. Elektrodo paviršiams nudžiūvus, sekantys elektrodo paviršiaus modifikavimo žingsniai analogiški 2.9 skyrelyje aprašytai eigai (1 metodas, 9 pav., A).

2.12 Biologinio jutiklio analizinių charakteristikų skaičiavimas

Paruošto elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio aptikimo riba (LOD) buvo apskaičiuojama naudojantis šia formule:

$$LOD = 3 \times \frac{\sigma}{k} \quad (2)$$

kur σ – mažiausios nustatytos gliukozės koncentracijos taško standartinis nuokrypis, k – kalibracinės kreivės krypties koeficientas.

Nustatymo riba (LOQ) buvo apskaičiuojama naudojantis šia formule:

$$LOQ = 10 \times \frac{\sigma}{k} \quad (3)$$

kur σ – mažiausios nustatytos gliukozės koncentracijos taško standartinis nuokrypis, k – kalibracinės kreivės krypties koeficientas.

Sukurto elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio jautrumas apskaičiuotas naudojantis šia formule:

$$Jautrumas = \frac{k}{S} \quad (4)$$

kur k - kalibracinės kreivės lygties krypties koeficientas, S – elektrodo paviršiaus plotas.

2.13 Gliukozės koncentracijos nustatymas serume

Stikliškosios anglies elektrodai darbui paruošti 2.7 skyrelyje aprašyta eiga. Elektrodo paviršiai modifikuojami 1 metodu (žr. 2.9 skyrelį) $0,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ PANI nanostruktūromis. Matuojama gliukozės koncentracija 10 kartų praskiestame serume buvo lygi $1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Naudojantis kalibracinės kreivės tiesės lygtimi, gauti srovės stiprio pokyčiai buvo perskaičiuojami į koncentraciją pagal šią formulę:

$$C_{gauta} = \frac{(\Delta I + b)}{k} \quad (5)$$

kur ΔI – srovės stiprio pokytis po gliukozės įpylimo, b – vertikalus tiesės polinkis, k – kalibracinės kreivės krypties koeficientas.

Gautų koncentracijų išgava buvo apskaičiuojama naudojantis šia formule:

$$Išgava = \frac{C_{gauta}}{C_t} \times 100 \% \quad (6)$$

kur C_{gauta} – apskaičiuota gauta koncentracija, C_t – teorinė koncentracija.

2.14 Elektroaktyvių medžiagų įtakos elektrocheminiui gliukozės biologiniui jutikliui įvertinimas

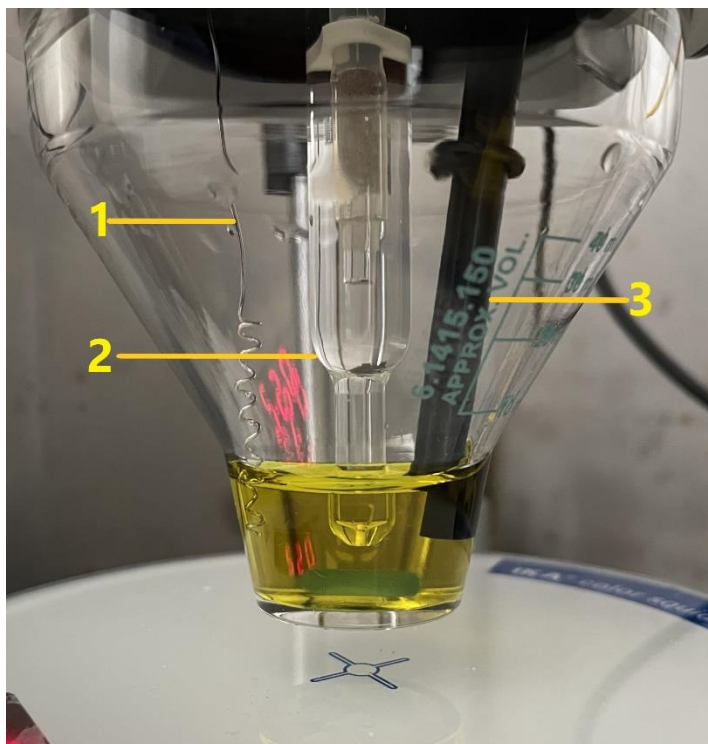
Stikliškosios anglies elektrodai darbui paruošti 2.7 skyrelyje aprašyta eiga. Elektrodo paviršiai modifikuojami 1 metodu (žr. 2.9 skyrelį) $0,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ PANI nanostruktūromis. Elektroaktyvių medžiagų įtaka buvo vertinama, kuomet gliukozės koncentracija serume buvo lygi $2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. 10 kartų praskiestame serume buvo tikrinama $0,04 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ askorbo rūgšties ir $0,05 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ šlapimo rūgšties koncentracijų įtaka.

2.15 Elektrocheminiai tyrimai

Elektrocheminiai tyrimai buvo atliekami naudojant elektrocheminę celę ir trijų elektrodų sistemą: darbinis – modifikuotas stikliškosios anglies elektrodas (GCE), pagalbinis – platinos (Pt) viela ir lyginamasis - $\text{Ag}/\text{AgCl}_{3 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ KCl}}$ elektrodas (10 pav.).

Chronoamperometriniai tyrimai atlikti į elektrocheminę celę įpylus $4,7 \text{ ml } 10 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ PBS su $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ KCl ($\text{pH} = 6$) ir $0,3 \text{ ml } 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ FMS. Analizės vykdomos pastoviai maišant 250 apm greičiu. Nustatytas pastovus potencialas $+0,2 \text{ V}$. Tyrimų metu į elektrocheminę celę pilamas reikiamas $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ gliukozės tūris.

Chronoamperometriniai tyrimai serume atlikti į elektrocheminę celę įpylus $4,2 \text{ ml } 10 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ PBS su $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ KCl ($\text{pH} = 6$) ir $0,3 \text{ ml } 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ FMS. Nusistovėjus signalui į celę įpilama $0,5 \text{ ml}$ viršelių serumo. Analizės vykdomos pastoviai maišant 250 apm greičiu. Nustatytas pastovus potencialas $+0,2 \text{ V}$. Tyrimų metu į elektrocheminę celę pilami reikiami $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ gliukozės, $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ askorbo rūgšties ir $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ šlapimo rūgšties tūriai.

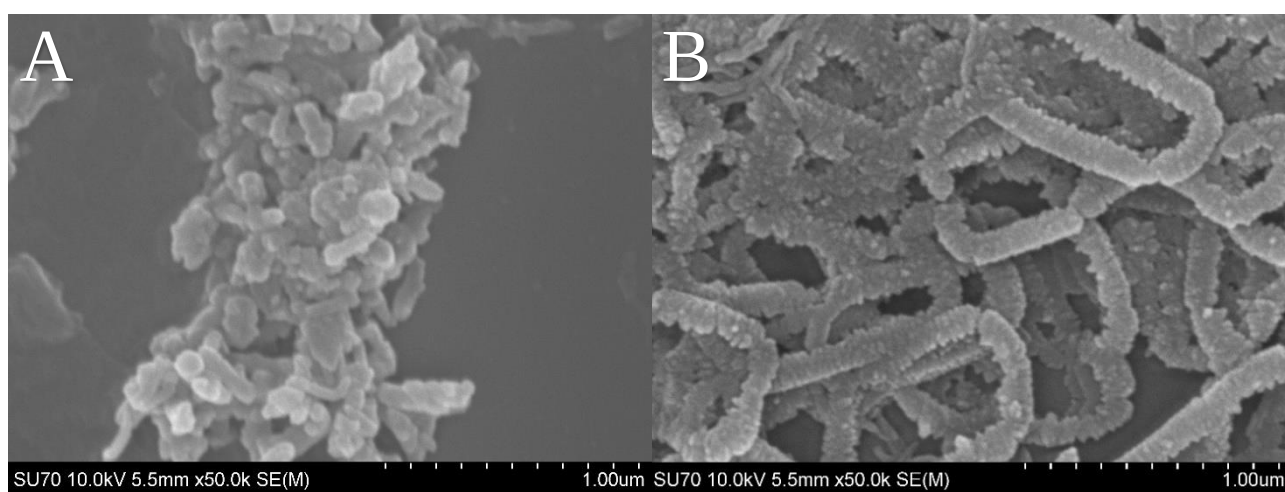


10 pav. Elektrocheminė celė su trijų elektrodų sistema: 1. pagalbinis – platinos (Pt) viela; 2. lyginamasis - $\text{Ag}/\text{AgCl}_{3 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{ KCl}}$ elektrodas; 3. modifikuotas stikliškosios anglies elektrodas (GCE). Nuotrauka daryta autorės.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

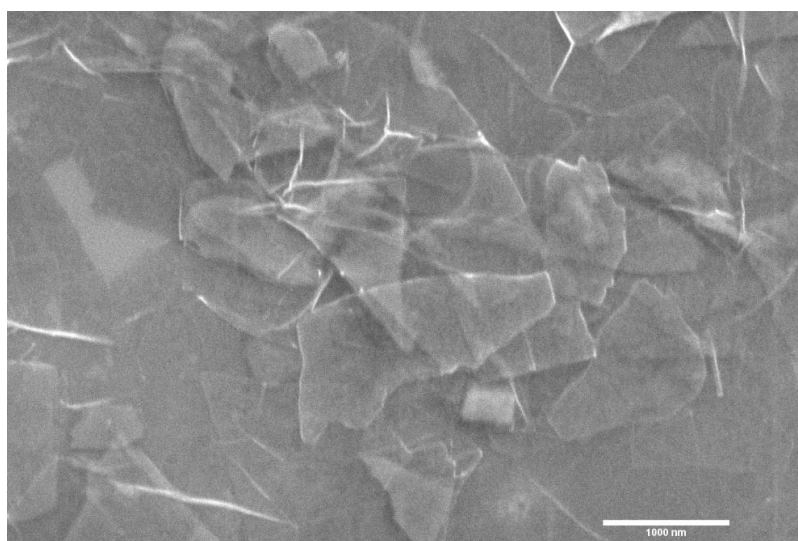
3.1 Polianilino ir MXenų nanostruktūrų charakterizavimas

Susintetinus PANI_I ir PANI_{II} nanostruktūras, jų morfologijai nustatyti buvo daromos SEM nuotraukos. Paveiksle (11 pav., A) galime matyti, kad PANI_I nanostruktūros yra skirtingų, netaisyklingų formų: kai kurios struktūros sulipusios, kitos – pavienės bei šakotos. Nustatytas nanostruktūrų ilgio diapazonas yra nuo 1,57 μm iki 2,98 μm . Literatūroje rastos tuo pačiu metodu susintetintos polianilino nanostruktūros atrodo šiek tiek kitaip: jos yra šakotesnės, mažiau sulipusios tarpusavyje [77], [78]. 11 paveikslo B dalyje galima matyti, kad susintetintos PANI_{II} nanostruktūros yra nanožiogeliai. Nustatytas gautų nanožiogelių storis yra $1,2 \pm 0,18 \mu\text{m}$. Tuo pačiu metodu susintetintos PANI_{II} nanostruktūros rastos literatūroje, taip pat pasižymėjo nanožiogelių morfologija [79].



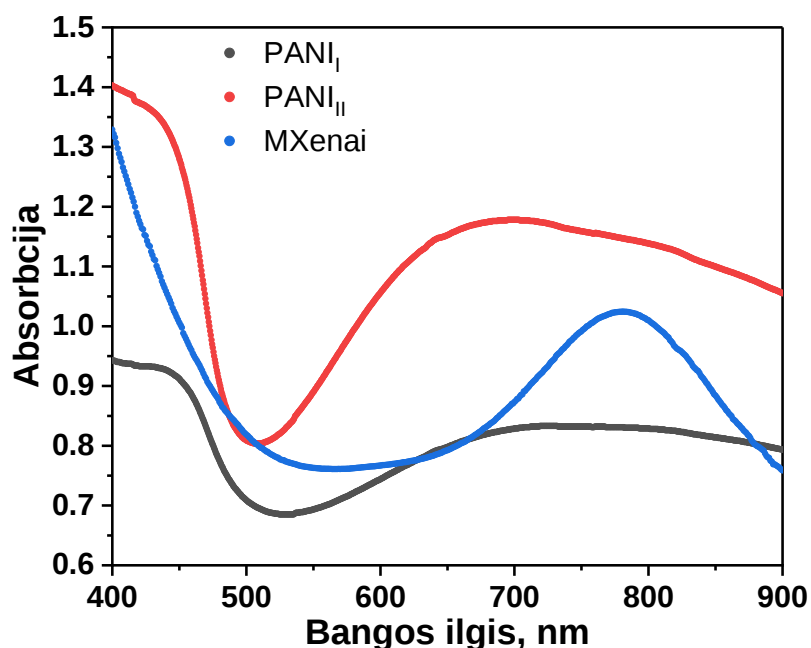
11 pav. PANI_I (A) ir PANI_{II} (B) nanostruktūrų SEM nuotraukos.

MXenų nanostruktūrų morfologijai nustatyti, taip pat buvo daromos SEM nuotraukos. Nuotraukoje (12 pav.) matomi pavieniai ploni MXenų nanolakštai. Kai kurie matomi lakštai yra palūžę. Taip pat galima pastebėti, kad lakštų dydžiai skiriasi.



12 pav. Ti₃C₂T_x MXenų nanostruktūrų SEM nuotraukos.

PANI_{I/II} ir MXenų nanostruktūroms taip pat buvo atlikta UV-Vis spektrinė analizė. Pateiktame PANI_I absorbcijos spektre (13 pav.) galime matyti du plačius absorbcijos maksimumus. Pirmasis absorbcijos maksimumas matomas ties 428 nm, o antrasis ties 732 nm bangos ilgių. PANI_{II} absorbcijos spektre pirmasis absorbcijos maksimumas (ties 424 nm) matosi šiek tiek sunkiau, tačiau gan gerai matomas platus antrasis absorbcijos maksimumas ties 695 nm. Abiejų polianilino nanostruktūrų absorbcijos maksimumai yra charakteringi emeraldino druskos (legiruotos, laidžios PANI formos) maksimumams. Taip pat, abiejuose polianilino nanostruktūrų spektruose galime matyti absorbcijos sumažėjimus 450-550 nm bangos ilgių intervale. Tai rodo, kad nanostruktūrų tirpalai yra žali, kas dar kartą patvirtina, kad susintetintos polianilino nanostruktūros yra emeraldino druskos formoje [80]. MXenų absorbcijos spektre matomas šioms struktūroms būdingas absorbcijos maksimumas ties 781 nm [81], [82].

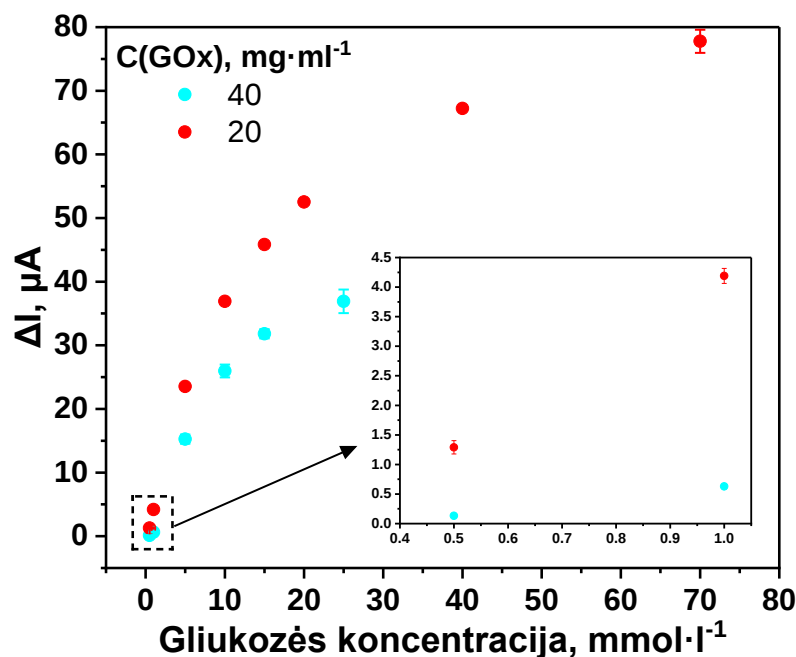


13 pav. PANI_{I/II} ir MXenų nanostruktūrų absorbcijos spektrai.

3.2 Gliukozės oksidazės koncentracijos optimizavimas

Tyrimų pradžioje buvo nustatoma optimali gliukozės oksidazės (GOx) koncentracija. Elektrodo paruošimas ir modifikavimas aprašytas 2.8 skyrelyje, o elektrocheminių tyrimų sąlygos 2.15 skyrelyje.

Iš pateiktų rezultatų (14 pav.) matoma, kad naudojant 40 mg·ml⁻¹ GOx, signalą buvo galima registruoti gliukozės intervale nuo 0,5 iki 25 mmol·l⁻¹, o naudojant 20 mg·ml⁻¹ GOx, signalai buvo registruojami nuo 0,5 iki 70 mmol·l⁻¹. Taip pat, naudojant 20 mg·ml⁻¹ GOx, prie mažų gliukozės koncentracijų stebimi gerokai didesni elektros srovės stiprio pokyčiai, pavyzdžiui, celėje esant 0,5 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentracijai, naudojant 20 mg·ml⁻¹ GOx, elektros srovės pokytis yra 9,9 karto didesnis nei naudojant 40 mg·ml⁻¹ GOx. Taigi, naudojant 20 mg·ml⁻¹ GOx signalas buvo registruojamas platesniame gliukozės koncentracijos intervale ir stebimi elektros srovės pokyčiai buvo didesni, todėl tolimesniems tyrimams buvo pasirinkta 20 mg·ml⁻¹ gliukozės oksidazės koncentracija.

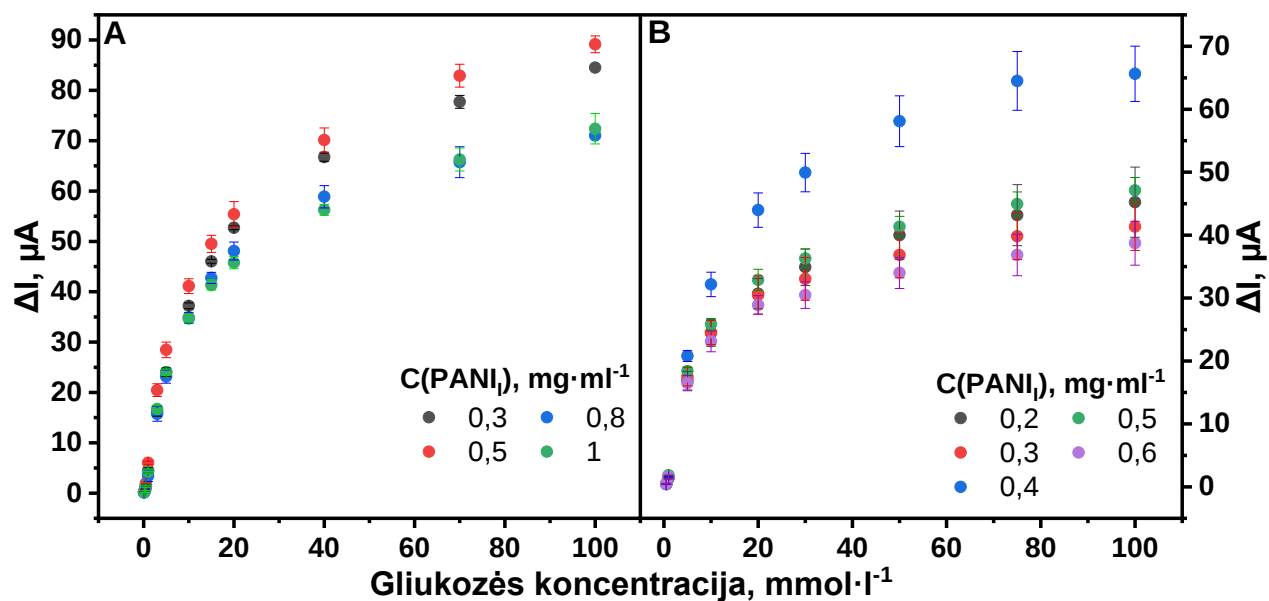


14 pav. Elektros srovės stiprio pokyčio priklausomybės nuo gliukozės koncentracijos, naudojant 20 ir 40 mg·ml⁻¹ gliukozės oksidazės koncentracijas. Sąlygos: 4,7 ml 10 mmol·l⁻¹ PBS su 0,1 mol·l⁻¹ KCl (pH = 6) ir 0,3 ml 0,1 mol·l⁻¹ FMS. Naudota trijų elektrodų sistema: darbinis – stikliškosios anglies elektrodas modifikuotas 2 μl 0,3 mg·ml⁻¹ PANI_I ir 2 μl 20/40 mg·ml⁻¹ GOx, pagalbinis – platinos (Pt) viela ir lyginamasis - Ag/AgCl_{3 mol·l⁻¹ KCl} elektrodas.

3.3 Elektrodo paviršiaus modifikavimo metodo parinkimas

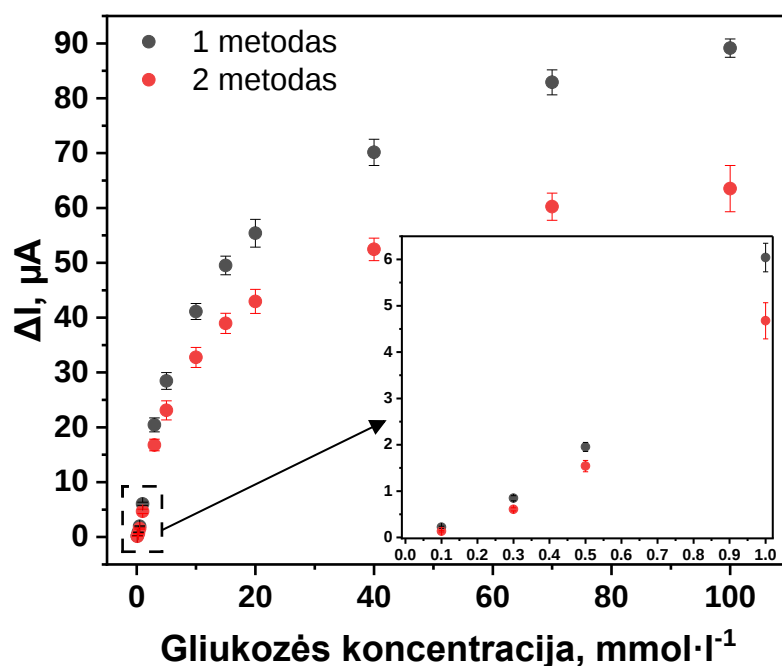
Optimaliam elektrodo paviršiaus modifikavimo metodui nustatyti buvo išbandyti 2 metodai: polianilino nanostruktūrų tirpalo nemaišant su 20 mg·ml⁻¹ GOx tirpalu (1 metodas) ir polianilino nanostruktūrų tirpalą maišant su 40 mg·ml⁻¹ GOx tirpalu (galutinė GOx koncentracija tirpale – 20 mg·ml⁻¹, 2 metodas). Elektrodų paruošimas darbui ir jų paviršiaus modifikavimas atliktas 2.9 skyrelyje aprašyta eiga, o elektrocheminiai tyrimai atlikti 2.15 skyrelyje aprašytais sąlygomis.

Iš pradžių buvo atliekami tyrimai optimaliausioms PANI_I koncentracijoms kiekviename metode nustatyti. 15 paveikslo A dalyje matome, kad elektrodo paviršių modifikuojant pirmu metodu geriausi rezultatai pasiekti naudojant 0,5 mg·ml⁻¹ koncentracijos PANI_I. Taip pat galime matyti, kad naudojant 0,8 ir 1 mg·ml⁻¹ koncentracijos PANI_I, gauti rezultatai tarpusavyje yra panašūs, bet gerokai mažesni nei elektrodą modifikuojant 0,3 ar 0,5 mg·ml⁻¹ koncentracijos PANI_I. To priežastis galėtų būti tai, kad didinant PANI nanostruktūrų koncentraciją, ant elektrodo susidaręs nanostruktūrų sluoksnis yra storesnis, o tai gali pabloginti elektronų pernašą iki elektrodo paviršiaus. Taip pat, didinant polianilino nanostruktūrų sluoksnį, gali sumažėti sluoksnio laidumas [83]. Elektrodo paviršių modifikuojant antruoju metodu (15 pav., B) geriausi rezultatai pasiekti, kuomet PANI_I koncentracija mišinyje buvo lygi 0,4 mg·ml⁻¹. Naudojant 2 elektrodo paviršiaus modifikavimo metodą, didinant PANI_I koncentraciją mišinyje, elektros srovės stiprio pokyčiai mažėja, tai yra, matoma tokia pati elektros srovės pokyčių priklausomybė nuo PANI nanostruktūrų koncentracijos, kaip ir naudojant pirmąjį metodą. Tai galėtų būti dėl tų pačių priežasčių išvardintų aukščiau. Parinkus optimalias 1 ir 2 modifikavimo metodų PANI_I koncentracijas, galima pastebėti, kad PANI_I koncentracijos yra panašios (0,5 ir 0,4 mg·ml⁻¹).



15 pav. Elektros srovės stiprio pokyčio priklausomybės nuo gliukozės koncentracijos, naudojant skirtingus GCE paviršiaus modifikavimo metodus ir PANI_I koncentracijas. **A** – 1 metodas, **B** – 2 metodas (priklausomybėje pateiktos PANI_I koncentracijos tirpale) (žr. 2.8 skyrelį). Sąlygos: 4,7 ml 10 mmol·l⁻¹ PBS su 0,1 mol·l⁻¹ KCl (pH = 6) ir 0,3 ml 0,1 mol·l⁻¹ FMS. Naudota trijų elektrodų sistema: darbinis – stikliškosios anglies elektrodas modifikuotas 2 μl skirtingų koncentracijų PANI_I ir 2 μl 20 mg·ml⁻¹ GOx (**A**) arba 2 μl skirtingų koncentracijų PANI_I su 20 mg·ml⁻¹ GOx (**B**), pagalbinis – platinos (Pt) viela ir lyginamasis - Ag/AgCl₃ mol·l⁻¹ KCl elektrodas.

Pasirinkus PANI_I koncentracijas abiem metodams, gauti rezultatai buvo lyginami tarpusavyje (16 pav.). Pateiktuose rezultatuose matoma, kad naudojant 1-ą modifikavimo metodą visame gliukozės koncentracijų intervale registruojami elektros srovės stiprio pokyčiai yra gerokai didesni, nei naudojant 2-ą modifikavimo metodą. To priežastis galėtų būti tai, kad sumaišant polianiliną ir gliukozės oksidazę, GOx įsiterpia į polianilino nanostruktūrų matricą ir sumažėja / pasunkėja prieinamumas prie fermento aktyviojo centro. Išanalizavus gautus rezultatus tolimesniems tyrimams nuspręsta naudoti pirmąjį elektrodo paviršiaus modifikavimo metodą.

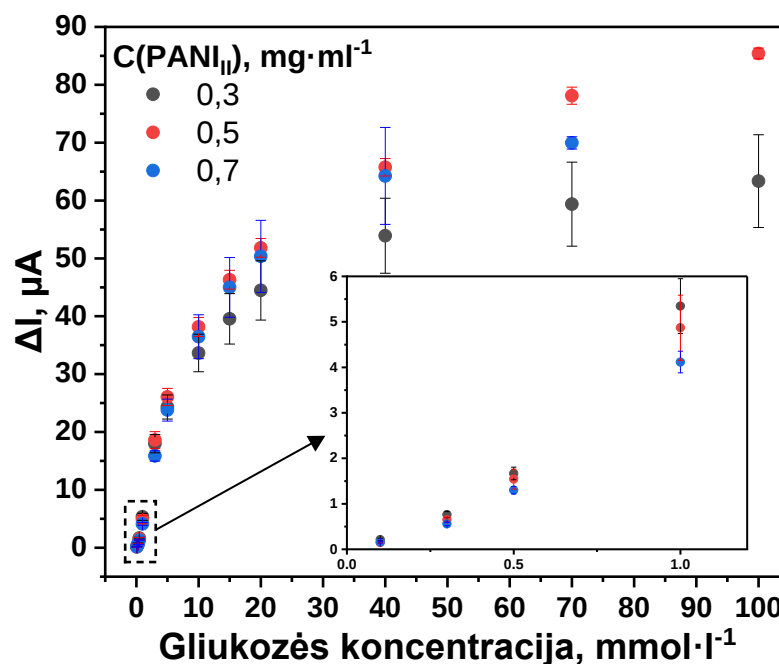


16 pav. Elektros srovės stiprio pokyčio priklausomybės nuo gliukozės koncentracijos, naudojant skirtingus GCE paviršiaus modifikavimo metodus. Sąlygos: 4,7 ml 10 mmol·l⁻¹ PBS su 0,1 mol·l⁻¹ KCl (pH = 6) ir 0,3 ml 0,1 mol·l⁻¹ FMS. Naudota trijų elektrodų sistema: darbinis – stikliškosios anglies elektrodas modifikuotas 2 μl 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_I ir 2 μl 20 mg·ml⁻¹ GOx (**1 metodas**) arba 2 μl 0,4 mg·ml⁻¹ PANI_I su 20 mg·ml⁻¹ GOx (**2 metodas**), pagalbinis – platinos (Pt) viela ir lyginamasis - Ag/AgCl_{3 mol·l⁻¹ KCl} elektrodas.

3.4 Polianilino nanostruktūrų pasirinkimas

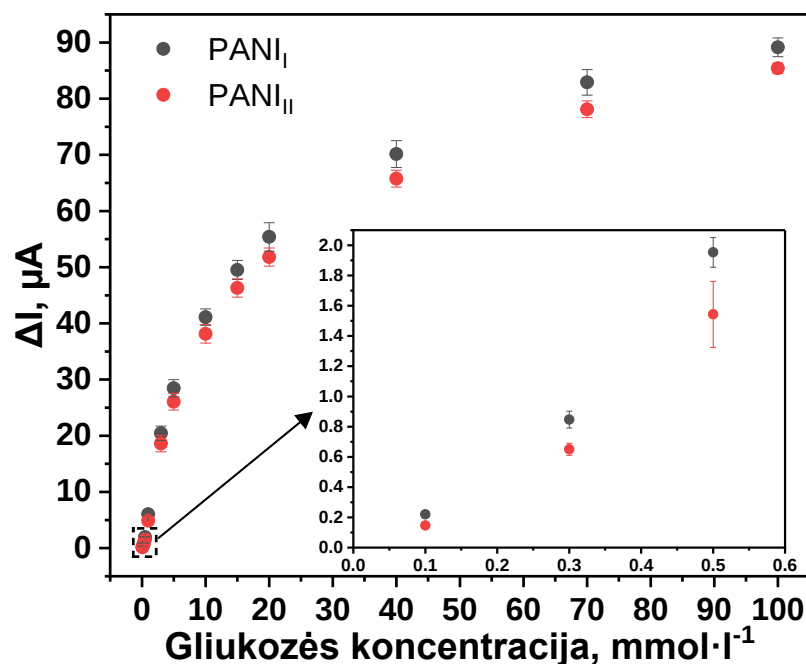
Pasirinkus elektrodo paviršiaus modifikavimo metodą, sekantis tyrimas buvo skirtas polianilino nanostruktūrų parinkimui. Elektrodo paviršiaus modifikavimo su PANI_I nanostruktūromis rezultatai aprašyti 3.3 skyrelyje. GCE paviršiaus modifikavimo PANI_{II} nanostruktūromis eiga aprašyta 2.10 skyrelyje, o amperometrinės analizės atliktos 2.15 skyrelyje aprašytomis sąlygomis.

17 paveiksle matoma, kad naudojant 0,7 mg·ml⁻¹ PANI_{II} koncentraciją signalai buvo registruojami tik iki 70 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentracijos, o naudojant mažesnes polianilino nanostruktūrų koncentracijas registruojami signalai siekė iki 100 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentracijos. Taip pat, elektrodo paviršių modifikuojant 0,7 mg·ml⁻¹ PANI_{II} nanostruktūromis fiksuojami elektros srovės stiprio pokyčiai yra mažesni nei naudojant 0,3 ar 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_{II}. Verta paminėti, kad elektrodų paviršių modifikuojant PANI_I nanostruktūromis, matoma tokia pati rezultatų priklausomybė nuo polianilino koncentracijos, tai yra, naudojant didesnę nei 0,5 mg·ml⁻¹ koncentraciją, stebimi elektros srovės stiprio pokyčiai yra mažesni. GCE paviršių modifikuojant 0,3 mg·ml⁻¹ koncentracijos PANI_{II} nanostruktūromis, celėje esant nuo 0,1 iki 3 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentracijai, stebimi elektros srovės stiprio pokyčiai yra didesni nei naudojant 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_{II}. Į celę įlašinus didesnes gliukozės koncentracijas (5-100 mmol·l⁻¹) didesnius elektros srovės pokyčius fiksuoja elektrodai modifikuoti 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_{II} nanostruktūromis. Siektinas gliukozės koncentracijų intervalas kraujyje yra apie 4-7 mmol·l⁻¹ sveikam žmogui, o diabetu sergančiam žmogui ~4-9 mmol·l⁻¹ [84], [85], [86], [87]. Atsižvelgus į literatūroje rastus gliukozės koncentracijų intervalus kraujyje, nuspręsta, kad optimaliausia PANI_{II} nanostruktūrų koncentracija yra 0,5 mg·ml⁻¹.



17 pav. Elektros srovės stiprio pokyčio priklausomybės nuo gliukozės koncentracijos, naudojant skirtingas PANI_{II} koncentracijas. Sąlygos: 4,7 ml 10 mmol·l⁻¹ PBS su 0,1 mol·l⁻¹ KCl (pH = 6) ir 0,3 ml 0,1 mol·l⁻¹ FMS. Naudota trijų elektrodų sistema: darbinis – stikliškosios anglies elektrodas modifikuotas 2 μl 0,3/0,5/0,7 mg·ml⁻¹ PANI_{II} ir 2 μl 20 mg·ml⁻¹ GOx, pagalbinis – platinos (Pt) viela ir lyginamasis - Ag/AgCl_{3 mol·l⁻¹ KCl} elektrodas.

Nors elektrodo paviršių modifikuojant skirtingomis polianilino struktūromis optimaliausia jų koncentracija yra nustatyta ta pati (0,5 mg·ml⁻¹), stebimi elektros srovės stiprio pokyčiai skiriasi (18 pav). Naudojant PANI_I nanostruktūras stebimi didesni elektros srovės stiprio pokyčiai visame gliukozės koncentracijų intervale. To priežastis galėtų būti tai, kad gautos PANI_I nanostruktūros yra mažesnės (žr. 3.1 skyrelį) ir jomis modifikuojant elektrodo paviršių, galbūt gaunamas elektrodo elektroaktyvus paviršiaus plotas yra didesnis. Taigi, tolimesniems tyrimams pasirinktos PANI_I nanostruktūros.

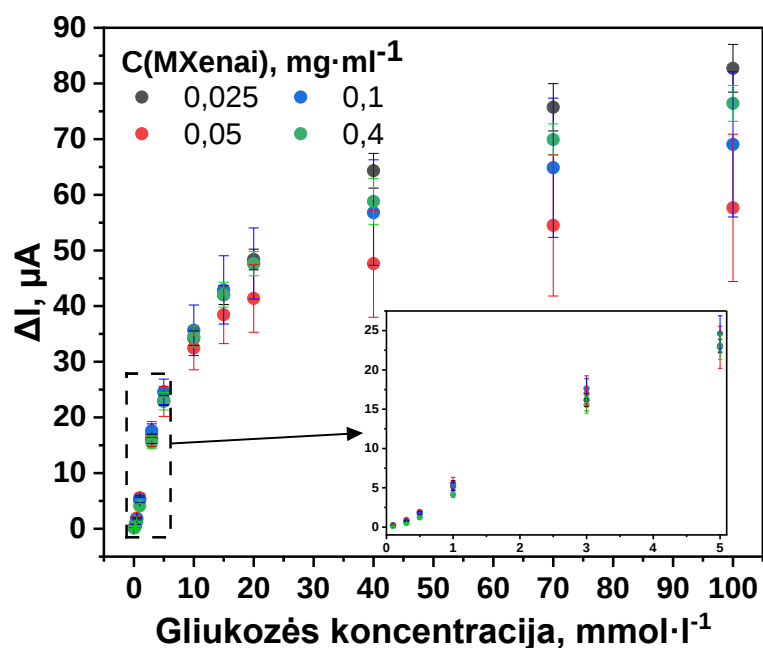


18 pav. Elektros srovės stiprio pokyčio priklausomybės nuo gliukozės koncentracijos, naudojant skirtingas PANI nanostruktūras. Sąlygos: 4,7 ml 10 mmol·l⁻¹ PBS su 0,1 mol·l⁻¹ KCl (pH = 6) ir 0,3 ml 0,1 mol·l⁻¹ FMS. Naudota trijų elektrodų sistema: darbinis – stikliškosios anglies elektrodas modifikuotas 2 μl 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_{I/II} ir 2 μl 20 mg·ml⁻¹ GOx, pagalbinis – platinos (Pt) viela ir lyginamasis - Ag/AgCl_{3 mol·l⁻¹ KCl} elektrodas.

3.5 Elektrodo paviršiaus modifikavimo su PANI_I ir MXenų nanostruktūrų kompozitu optimizavimas

Optimaliai MXenų koncentracijai PANI_I ir MXenų nanokompozite nustatyti buvo išbandytos 4 skirtingos MXenų koncentracijos. Elektrodų paruošimas ir modifikavimas aprašytas 2.11 skyrelyje, o elektrocheminių tyrimų sąlygos pateiktos 2.15 skyrelyje.

Pateiktoje priklausomybėje matoma (19 pav.), kad 20 – 100 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentracijų intervale, didžiausi elektros srovės pokyčiai buvo fiksuojami naudojant 0,025 mg·ml⁻¹ MXenų koncentraciją. 0,1 – 10 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentracijų intervale geriausi rezultatai gauti naudojant 0,05 ir 0,025 mg·ml⁻¹ MXenų koncentracijas.



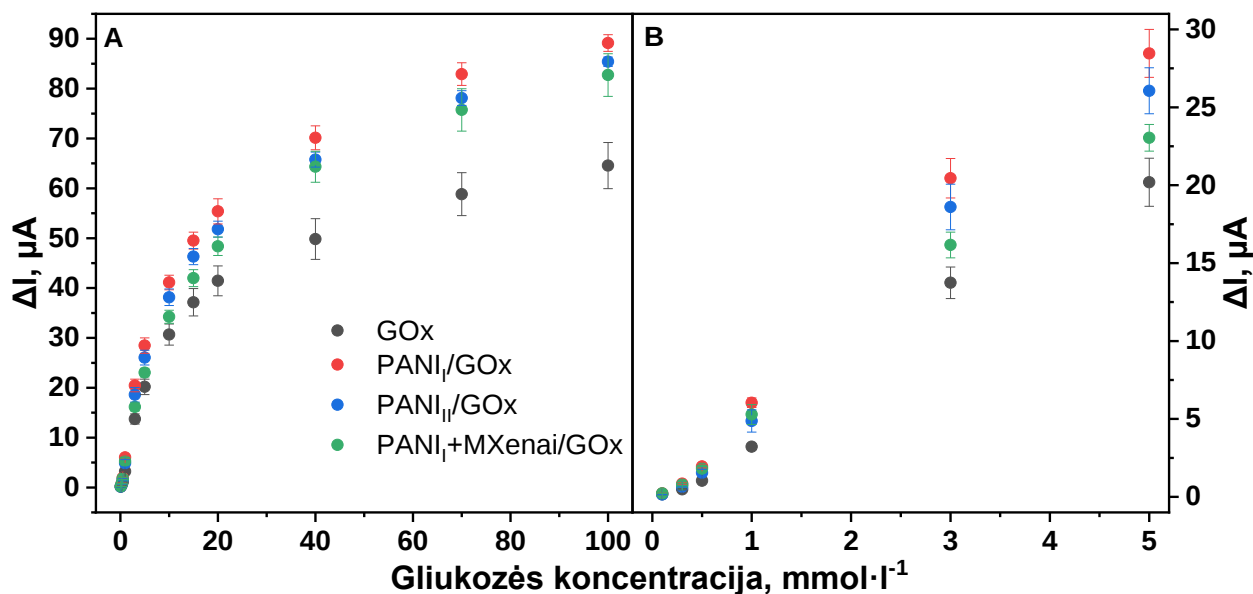
19 pav. Elektros srovės stiprio pokyčio priklausomybės nuo gliukozės koncentracijos, naudojant skirtingas MXenų koncentracijas nanokompozite su PANI_I. Sąlygos: 4,7 ml 10 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ PBS su 0,1 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ KCl (pH = 6) ir 0,3 ml 0,1 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ FMS. Naudota trijų elektrodų sistema: darbinis – stikliškosios anglies elektrodas modifikuotas 2 μl 0,5 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ PANI_I + 0,025/0,05/0,1/0,4 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ MXenais ir 2 μl 20 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ GOx, pagalbinis – platinos (Pt) viela ir lyginamasis - Ag/AgCl₃ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ KCl elektrodas.

Esant 0,1-3 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ gliukozės koncentracijai, nežymiai didesni srovės pokyčiai fiksuojami paviršių modifikuojant nanokompozitu, kuriame MXenų koncentracija lygi 0,05 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, bet taip pat matomas didesnis gautų rezultatų išsibarstymas (1 lentelė). Pavyzdžiui, gliukozės koncentracijai celėje esant 3 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$, naudojant 0,05 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ MXenų koncentraciją nanokompozite, stebimas standartinis nuokrypis yra 2,7 karto didesnis, nei naudojant 0,025 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, o gauta ΔI reikšmė yra didesnė tik 1,05 karto. Taip pat, kaip jau buvo minima 3.4 skyrelyje, gliukozės koncentracijų intervale didesnius elektros srovės stiprio pokyčius fiksuoja elektrodai modifikuoti nanokompozitu, kuriame MXenų koncentracija yra lygi 0,025 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Taigi, atsižvelgus į rezultatų standartinius nuokrypius, ΔI reikšmės norimuose gliukozės koncentracijos intervaluose, tolimesniam palyginimui pasirinkta 0,025 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ MXenų koncentracija.

1 lentelė. 0,1-10 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ gliukozės koncentracijų intervale gautų rezultatų palyginimas

Gliukozės koncentracija celėje, $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$	0,025 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ MXenai		0,05 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ MXenai	
	ΔI , μA	σ	ΔI , μA	σ
0,1	0,22	0,006	0,24	0,05
0,3	0,78	0,06	0,90	0,10
0,5	1,81	0,20	1,92	0,23
1	5,28	0,64	5,57	0,77
3	16,17	0,82	17,01	2,24
5	23,04	0,86	22,88	2,69
10	34,24	1,30	32,47	3,92

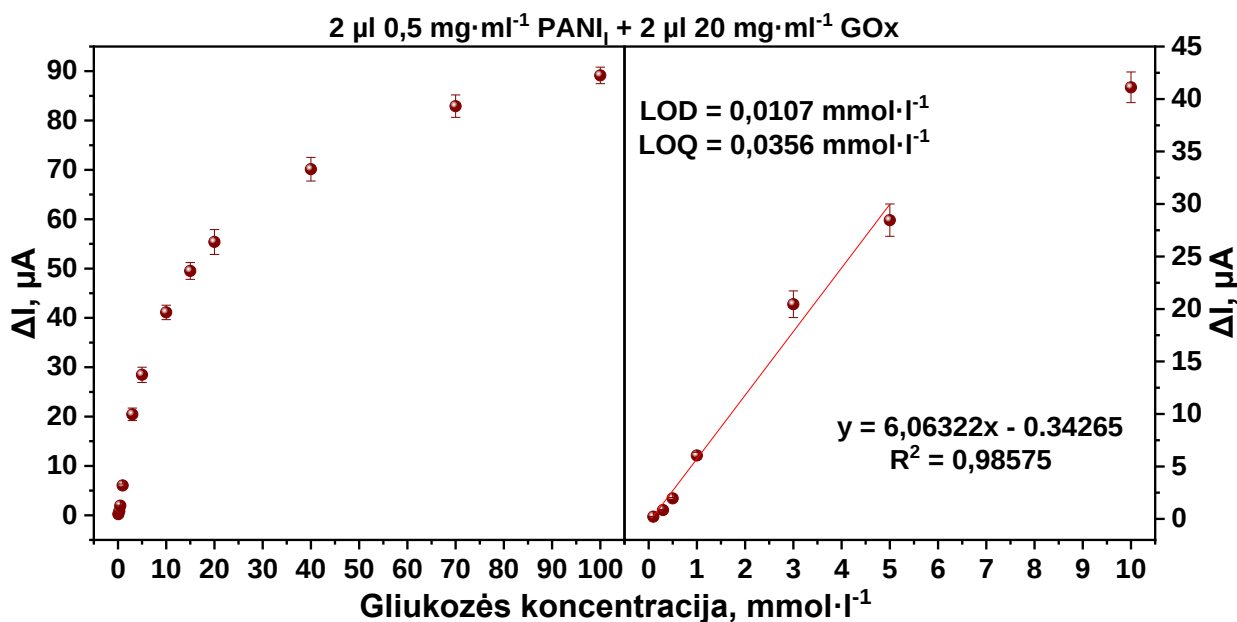
Atrinkus optimaliausią MXenų koncentraciją PANI_I ir MXenų nanokompozite, gauti rezultatai buvo lyginami su duomenimis gautais elektrodo paviršių modifikuojant PANI_{I/II} nanostruktūromis ir tik su gliukozės oksidaze. Pateiktame paveiksle (20 pav.) matoma, kad visų nanostruktūromis modifikuotų elektrodų rezultatai yra geresni, nei elektrodus modifikuojant tik su GOx. Tą galima paaiškinti tuo, kad elektrodo paviršių modifikuojant polianilino nanostruktūromis ar polianilino/Mxenų nanokompozitu, yra padidinamas elektrodo elektroaktyvus paviršius ir / ar pagerinama elektrodų pernaša iki elektrodo paviršiaus. 20 paveikslo B dalyje stebima, kad 0,1 – 0,5 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentracijų intervale gauti srovės stiprio pokyčiai yra panašūs, o gliukozės koncentraciją didinant, geriausius rezultatus rodo elektrodai modifikuoti tik PANI_I nanostruktūromis. Celėje esant 1 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentracijai, nanokompozitu modifikuoti elektrodai fiksavo panašius rezultatus, kaip PANI_{II} nanostruktūromis modifikuoti elektrodai. Gliukozės koncentraciją didinant, PANI_{II} nanostruktūromis modifikuotais elektrodais registruojami rezultatai buvo geresni, nei kai elektrodai buvo modifikuojami nanokompozitu. Polianilino ir MXenų nanokompozito panaudojimo gliukozės biologiniuose jutikliuose literatūroje daug pavyzdžių nėra, tačiau rastuose straipsniuose buvo naudojami kitokie elektrodai ir jų paviršiaus modifikavimo metodai. Pavyzdžiui, J.Wang ir kt. straipsnyje ant elektrodo, modifikuoto Ti₃C₂T_x MXenų nanostruktūromis, polianilino nanostruktūros buvo sintetinės elektrochemiškai [88]. K. A. Saraswathi ir kt. straipsnyje, polianilino ir MXenų kompozito tirpalas buvo 4 valandas maišomas ultragarso vonelėje ir po to sumaišomas su n-metil-2-pirolidonu [89]. Taigi, norint gauti geresnius rezultatus naudojant MXenų ir polianilino nanokompozitą reikėtų atlikti daugiau tyrimų. Šiame darbe elektrodo paviršiui modifikuoti buvo pasirinktos 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_I nanostruktūros.



20 pav. Elektros srovės stiprio pokyčio priklausomybės nuo gliukozės koncentracijos, naudojant PANI_{I/II}, PANI_I/MXenų nanokompozitą ar tik GOx. Sąlygos: 4,7 ml 10 mmol·l⁻¹ PBS su 0,1 mol·l⁻¹ KCl (pH = 6) ir 0,3 ml 0,1 mol·l⁻¹ FMS. Naudota trijų elektrodų sistema: darbinis – stikliškosios anglies elektrodas modifikuotas 2 μl 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_{I/II} arba 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_I + 0,025 mg·ml⁻¹ MXenais ir / arba 2 μl 20 mg·ml⁻¹ GOx, pagalbinis – platinos (Pt) viela ir lyginamasis - Ag/AgCl₃ mol·l⁻¹ KCl elektrodas.

3.6 Elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio analizinių charakteristikų įvertinimas

Optimizavus elektrodo paviršiaus modifikavimą buvo vertinamos sukurto elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio analizinės charakteristikos. Pateiktuose rezultatuose (21 pav.) stebima tiesinė priklausomybė (toliau – TP) 0,1-5 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentracijų intervale. Naudojantis gauta tiesės lygtimi (21 pav.), 2 ir 3 lygtimis (žr. 2.12 skyrelį) apskaičiuoti biologinio jutiklio LOD ir LOQ. LOD reikšmė lygi 0,0107 mmol·l⁻¹, o LOQ – 0,0356 mmol·l⁻¹. Taip pat, naudojantis 4 lygtimi, apskaičiuotas elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio jautrumas – 85,82 μA·(mmol·l⁻¹)⁻¹·cm⁻².



21 pav. Elektros srovės stiprio pokyčio priklausomybės nuo gliukozės koncentracijos, naudojant PANI_I nanostruktūras. Sąlygos: 4,7 ml 10 mmol·l⁻¹ PBS su 0,1 mol·l⁻¹ KCl (pH = 6) ir 0,3 ml 0,1 mol·l⁻¹ FMS. Naudota trijų elektrodų sistema: darbinis – stikliškosios anglies elektrodas modifikuotas 2 μl 0,5 mg·ml⁻¹ PANI_I ir 2 μl 20 mg·ml⁻¹ GOx, pagalbinis – platinos (Pt) viela ir lyginamasis - Ag/AgCl_{3 mol·l⁻¹ KCl} elektrodas.

Sukurto elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio charakteristikos buvo lyginamos su kitais literatūroje rasta polianilino nanostruktūromis ar jų kompozitais paremtais gliukozės biologiniais jutikliais (2 lentelė). Šiame darbe pristatomo polianilino nanostruktūromis paremto biologinio gliukozės jutiklio jautrumas buvo 4,7 karto didesnis už PAA-VS-PANI/GPL-FePc-CH jutiklio jautrumą, 5,3 karto didesnis už PANI/PEO jutiklio jautrumą, 6,2 karto didesnis už PANI/AuNR jutiklio jautrumą, 1,2 karto didesnis už DGNS/Cys/PANI-AuNPs jutiklio jautrumą ir 1,9 karto mažesnis už TiO₂/PANI jutiklio jautrumą. Gauta PANI nanostruktūromis paremto gliukozės biologinio jutiklio LOD reikšmė buvo net 76,6 karto mažesnė nei PANI/PEO LOD reikšmė, 8,3 karto mažesnė nei PANI/rGO jutiklio LOD reikšmė, 3,2 karto mažesnė nei DGNS/Cys/PANI-AuNPs jutiklio LOD reikšmė, 2 kartus didesnė nei TiO₂/PANI jutiklio LOD reikšmė, 1,7 karto didesnė nei PAA-VS-PANI/GPL-FePc-CH jutiklio LOD reikšmė ir 1,8 karto didesnė nei PANI/AuNR jutiklio LOD reikšmė. Bendrai apžvelgus rezultatus, sukurto elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio charakteristikos yra tinkamos gliukozės koncentracijos nustatymui.

2 lentelė. Gliukozės biologinių jutiklių, paremtų polianilino nanostruktūromis ir jų kompozitais, palyginimas.

Darbinis elektrodas	LOD, mmol·l ⁻¹	LOQ, mmol·l ⁻¹	Jautrumas, μA·(mmol·l ⁻¹) ⁻¹ ·cm ⁻²	TP, mmol·l ⁻¹	Šaltinis
TiO ₂ /PANI	0,00533	-	163,14	0,02 – 0,14	[90]
PAA-VS-PANI/GPL-FePc-CH*	0,0064	-	18,11	1 – 20	[91]
PANI/PEO**	0,82	-	16,04	1 - 10	[92]
PANI/rGO***	0,089	0,3	-	0,5 - 50	[78]
PANI/AuNR****	0,0058	0,0176	13,8	0,0176 - 1	[93]
DGNS/Cys/PANI-AuNPs*****	0,034	-	72,0	0,05 - 1	[94]
PANI	0,0107	0,0356	85,82	0,1 - 5	Šis darbas

*PAA – poliakrilo rūgštis, VS-PANI – polianilinas su vinilo funkine grupe, GPL-FePc - geležies ftalocianinu funkcionalizuotos grafeno nanoplokštelės, CH – laidus hidrogelis;**PEO – poli(etileno oksidas);***rGO – redukuotas grafeno oksidas;****AuNR – aukso nanostrypeliai;*****DGNS – dendritinės aukso nanostruktūros, Cys – cisteinas, AuNPs – aukso nanodalelės.

3.7 Gliukozės koncentracijos nustatymas serume

Apskaičiavus sukurtą elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio charakteristikas, jutiklio veikimas buvo tikrinamas realiuose mėginiuose. Biologinio jutiklio paruošimas, gliukozės koncentracijos ir išgavos skaičiavimai aprašyti 2.13 skyrelyje. Elektrocheminių tyrimų sąlygos aprašytos 2.15 skyrelyje.

3 lentelė. Gliukozės koncentracijos 10 kartų praskiestame serume nustatymo rezultatai.

Mėginys	Pridėta gliukozės koncentracija, mmol·l ⁻¹	Nustatyta koncentracija, mmol·l ⁻¹	Išgava, %	Vidurkis, %
1	1,00	0,97	96,7	97,3 ± 0,81
2	1,00	0,97	96,9	
3	1,00	0,98	98,2	

Pateiktoje lentelėje (3 lentelė), galima matyti, kad į celę su serumu įlašinus 1 mmol·l⁻¹ gliukozės koncentraciją 1 ir 2 mėginiuose apskaičiuota koncentracija lygi 0,97 mmol·l⁻¹, o 3 mėginyje – 0,98 mmol·l⁻¹. Apskaičiuotas išgavos vidurkis lygus 97,3 ± 0,81 %. Gliukozės koncentracijos nustatymo prietaisų priimtumo kriterijai skiriasi priklausomai nuo šalies: Jungtinėse Amerikos valstijose – 98 ± 15 %, Europoje - 95 ± 15 %, Kanadoje, Brazilijoje, Kinijoje - 95 ± 15 % [95]. Taigi, sukurtas elektrocheminis gliukozės biologinis jutiklis yra tinkamas gliukozės koncentracijos nustatymui realiuose mėginiuose.

3.8 Elektroaktyvių medžiagų įtakos elektrocheminiui gliukozės biologiniui jutikliui nustatymas

Paskutiniame tyrimo žingsnyje buvo vertinama askorbo ir šlapimo rūgščių įtaka sukurtam elektrocheminiui gliukozės biologiniui jutikliui. Elektrodo paruošimas darbui ir jo modifikavimas aprašyti 2.14 skyrelyje, o elektrocheminių tyrimų sąlygos aprašytos 2.15 skyrelyje.

Į elektrocheminę celę įpylus $0,04 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ askorbo rūgšties, signalas pasikeitė per $11,0 \pm 0,9 \%$. Įpylus $0,05 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ šlapimo rūgšties signalas pasikeitė per $0,29 \pm 0,07 \%$. Fiziologinė askorbo rūgšties koncentracija žmogaus serume neviršija $0,14 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ koncentracijos, o šlapimo rūgšties koncentracija žmogaus serume yra iki $0,42 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ [94], [96]. Matavimai buvo atlikti 10 kartų skiestame serume, todėl svarbu paminėti, jog tikrinamos askorbo ir šlapimo rūgščių koncentracijos buvo atitinkamai 2,9 ir 1,2 karto didesnės, nei žmogaus serume. Į tai atsižvelgus, galima teigti, kad sukurtam elektrocheminiui gliukozės jutikliui elektroaktyvių medžiagų įtaka yra minimali ir jis yra tinkamas naudoti.

IŠVADOS

1. Sėkmingai susintetintos polianilino nanostruktūros. 1 sinteze susintetintos skirtingų, netaisyklingų formų PANI_I nanostruktūros, kurių ilgis buvo nuo 1,57 iki 2,98 μm . 2 sinteze susintetinti PANI_{II} nanožiogeliai, kurių plotis buvo $1,2 \pm 0,18 \mu\text{m}$.
2. Optimizuotos elektrodų paviršiaus modifikavimo sąlygos su PANI_I arba PANI_{II} nanostruktūromis arba PANI_I/MXenų nanokompozitu. Išsiaiškinta, kad geresni rezultatai gaunami, kuomet PANI nanostruktūrų ir GOx tirpalai ant elektrodo lašinami vienas po kito. Nustatyta, kad elektrodų paviršių modifikuojant PANI_I ar PANI_{II} nanostruktūromis, optimali jų koncentracija yra $0,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Elektrodų paviršių modifikuojant PANI_I/MXenų nanokompozitu geriausi rezultatai pasiekti naudojant $0,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ PANI_I su $0,025 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ MXenais.
3. Parinktos optimalios elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio paviršiaus modifikavimo sąlygos. Geriausi rezultatai buvo gauti ant elektrodo paviršiaus užlašinant $2 \mu\text{l}$ $0,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ PANI_I ir po to $2 \mu\text{l}$ $20 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ GOx.
4. Nustatytos elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio analizinės charakteristikos: aptikimo riba – $0,0107 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$, nustatymo riba – $0,0356 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$, jautrumas – $85,82 \mu\text{A} (\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1})^{-1} \text{ cm}^{-2}$. Tiesinės priklausomybės intervalas buvo nuo 0,1 iki $5 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$.
5. Patikrintas sukurto elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio veikimas serume. Gauta išgava lygi $97,3 \pm 0,81 \%$. Patikrinta elektroaktyvių medžiagų įtaka sukurtam elektrocheminiam gliukozės biologiniui jutikliui. Įpylus 2,9 karto didesnę nei žmogaus serume aptinkamą askorbo rūgšties koncentraciją, signalas pasikeitė per $11,0 \pm 0,9 \%$. Įpylus 1,2 karto didesnę nei žmogaus serume galimą šlapimo rūgšties koncentraciją, signalas pasikeitė per $0,29 \pm 0,07 \%$. Sukurtas biologinis jutiklis gali būti naudojamas gliukozės koncentracijai nustatymui realiuose mėginiuose.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

- [1] M. J. Hossain, M. Al-Mamun, ir M. R. Islam, „Diabetes mellitus, the fastest growing global public health concern: Early detection should be focused“, *Health Sci Rep*, t. 7, nr. 3, p. e2004, kovo 2024, doi: 10.1002/HSR2.2004.
- [2] „Diabetes“. Žiūrėta: [Interaktyvus]. Adresas: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- [3] M. Evans ir kt., „Risk Prediction of the Diabetes Missing Million: Identifying Individuals at High Risk of Diabetes and Related Complications“, *Diabetes Therapy*, t. 12, nr. 1, p. 87, saus. 2020, doi: 10.1007/S13300-020-00963-2.
- [4] A. D. Deshpande, M. Harris-Hayes, ir M. Schootman, „Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications“, *Phys Ther*, t. 88, nr. 11, p. 1254–1264, lapkr. 2008, doi: 10.2522/PTJ.20080020.
- [5] L. Johnston, G. Wang, K. Hu, C. Qian, ir G. Liu, „Advances in Biosensors for Continuous Glucose Monitoring Towards Wearables“, *Front Bioeng Biotechnol*, t. 9, p. 733810, rugpj. 2021, doi: 10.3389/FBIOE.2021.733810.
- [6] N. Bhalla, P. Jolly, N. Formisano, ir P. Estrela, „Introduction to biosensors“, *Essays Biochem*, t. 60, nr. 1, p. 1, birž. 2016, doi: 10.1042/EBC20150001.
- [7] S. Bhandari, „Polyaniline: Structure and Properties Relationship“, *Polyaniline Blends, Composites, and Nanocomposites*, p. 23–60, saus. 2018, doi: 10.1016/B978-0-12-809551-5.00002-3.
- [8] T. Nezakati, A. Seifalian, A. Tan, ir A. M. Seifalian, „Conductive Polymers: Opportunities and Challenges in Biomedical Applications“, *Chem Rev*, t. 118, nr. 14, p. 6766–6843, liep. 2018, doi: 10.1021/ACS.CHEMREV.6B00275.
- [9] A. H. Majeed ir kt., „A Review on Polyaniline: Synthesis, Properties, Nanocomposites, and Electrochemical Applications“, *Int J Polym Sci*, t. 2022, nr. 1, p. 9047554, saus. 2022, doi: 10.1155/2022/9047554.
- [10] M. Beygisangchin, S. A. Rashid, S. Shafie, A. R. Sadrolhosseini, ir H. N. Lim, „Preparations, Properties, and Applications of Polyaniline and Polyaniline Thin Films—A Review“, *Polymers (Basel)*, t. 13, nr. 12, p. 2003, birž. 2021, doi: 10.3390/POLYM13122003.
- [11] B. Xu, C. Zhi, ir P. Shi, „Latest advances in MXene biosensors“, *Journal of Physics: Materials*, t. 3, nr. 3, p. 031001, geg. 2020, doi: 10.1088/2515-7639/AB8F78.
- [12] A. M. Amani ir kt., „MXenes in biosensing: Enhancing sensitivity and flexibility – A review of properties, applications, and future directions“, *Sens Biosensing Res*, t. 47, p. 100732, vas. 2025, doi: 10.1016/J.SBSR.2024.100732.
- [13] „Diabetes | Type 1 Diabetes | Type 2 Diabetes | MedlinePlus“. [Interaktyvus]. Adresas: <https://medlineplus.gov/diabetes.html>
- [14] „What Is Diabetes? - NIDDK“. [Interaktyvus]. Adresas: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/diabetes/overview/what-is-diabetes>
- [15] „Diabetes WHO“. [Interaktyvus]. Adresas: https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1
- [16] „Diabetes Basics | Diabetes | CDC“. [Interaktyvus]. Adresas: <https://www.cdc.gov/diabetes/about/index.html>
- [17] A. M. Egan ir S. F. Dinneen, „What is diabetes?“, *Medicine*, t. 47, nr. 1, p. 1–4, saus. 2019, doi: 10.1016/J.MPMED.2018.10.002.

- [18] „Understanding Type 1 Diabetes | ADA“. [Interaktyvus]. Adresas: <https://diabetes.org/about-diabetes/type-1>
- [19] U. Chadha ir kt., „Recent progress and growth in biosensors technology: A critical review“, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, t. 109, p. 21–51, geg. 2022, doi: 10.1016/J.JIEC.2022.02.010.
- [20] H. A. Alhadrami, „Biosensors: Classifications, medical applications, and future prospective“, *Biotechnol Appl Biochem*, t. 65, nr. 3, p. 497–508, geg. 2018, doi: 10.1002/BAB.1621.
- [21] V. Naresh ir N. Lee, „A Review on Biosensors and Recent Development of Nanostructured Materials-Enabled Biosensors“, *Sensors 2021, Vol. 21, Page 1109*, t. 21, nr. 4, p. 1109, vas. 2021, doi: 10.3390/S21041109.
- [22] X. Huang, Y. Zhu, ir E. Kianfar, „Nano Biosensors: Properties, applications and electrochemical techniques“, *Journal of Materials Research and Technology*, t. 12, p. 1649–1672, geg. 2021, doi: 10.1016/J.JMRT.2021.03.048.
- [23] E. Janik-Karpinska ir kt., „Immunosensors-The Future of Pathogen Real-Time Detection“, *Sensors (Basel)*, t. 22, nr. 24, gruodž. 2022, doi: 10.3390/S22249757.
- [24] L. S. Liu, F. Wang, Y. Ge, ir P. K. Lo, „Recent Developments in Aptasensors for Diagnostic Applications“, *ACS Appl Mater Interfaces*, t. 13, nr. 8, p. 9329–9358, kovo 2021, doi: 10.1021/ACSAMI.0C14788.
- [25] S. Manoharan Nair Sudha Kumari ir X. Thankappan Suryabai, „Sensing the Future-Frontiers in Biosensors: Exploring Classifications, Principles, and Recent Advances“, *ACS Omega*, t. 9, nr. 50, p. 48918–48987, gruodž. 2024, doi: 10.1021/ACSOMEGA.4C07991.
- [26] M. S. Sumitha ir T. S. Xavier, „Recent advances in electrochemical biosensors – A brief review“, *Hybrid Advances*, t. 2, p. 100023, bal. 2023, doi: 10.1016/J.HYBADV.2023.100023.
- [27] K. Ramanathan ir B. Danielsson, „Principles and applications of thermal biosensors“, *Biosens Bioelectron*, t. 16, nr. 6, p. 417–423, 2001, doi: 10.1016/S0956-5663(01)00124-5.
- [28] K. Wang, X. Lin, M. Zhang, Y. Li, C. Luo, ir J. Wu, „Review of Electrochemical Biosensors for Food Safety Detection“, *Biosensors 2022, Vol. 12, Page 959*, t. 12, nr. 11, p. 959, lapkr. 2022, doi: 10.3390/BIOS12110959.
- [29] M. H. Hassan, C. Vyas, B. Grieve, ir P. Bartolo, „Recent Advances in Enzymatic and Non-Enzymatic Electrochemical Glucose Sensing“, *Sensors (Basel)*, t. 21, nr. 14, liep. 2021, doi: 10.3390/S21144672.
- [30] S. A. Pullano, M. Greco, M. G. Bianco, D. Foti, A. Brunetti, ir A. S. Fiorillo, „Glucose biosensors in clinical practice: principles, limits and perspectives of currently used devices“, *Theranostics*, t. 12, nr. 2, p. 493, 2022, doi: 10.7150/THNO.64035.
- [31] Y. Wang, H. Xu, J. Zhang, ir G. Li, „Electrochemical Sensors for Clinic Analysis“, *Sensors (Basel)*, t. 8, nr. 4, p. 2043, bal. 2008, doi: 10.3390/S8042043.
- [32] L. Fu, A. Yu, ir G. Lai, „Conductive hydrogel-based electrochemical sensor: A soft platform for capturing analyte“, *Chemosensors*, t. 9, nr. 10, spal. 2021, doi: 10.3390/CHEMOSENSORS9100282.
- [33] E. H. Yoo ir S. Y. Lee, „Glucose Biosensors: An Overview of Use in Clinical Practice“, *Sensors (Basel)*, t. 10, nr. 5, p. 4558, geg. 2010, doi: 10.3390/S100504558.
- [34] C. Song, J. Guo, Y. Wang, H. Xiang, ir Y. Yang, „Electrochemical Glucose Sensors: Classification, Catalyst Innovation, and Sampling Mode Evolution“, *Biotechnol J*, t. 19, nr. 10, p. e202400349, spal. 2024, doi: 10.1002/BIOT.202400349.
- [35] N. Mohamad Nor, N. S. Ridhuan, ir K. Abdul Razak, „Progress of Enzymatic and Non-Enzymatic Electrochemical Glucose Biosensor Based on Nanomaterial-Modified Electrode“,

- Biosensors* 2022, Vol. 12, Page 1136, t. 12, nr. 12, p. 1136, gruodž. 2022, doi: 10.3390/BIOS12121136.
- [36] S. S. Nemati, G. Dehghan, S. Rashtbari, T. N. Tan, ir A. Khataee, „Enzyme-based and enzyme-free metal-based glucose biosensors: Classification and recent advances“, *Microchemical Journal*, t. 193, p. 109038, spal. 2023, doi: 10.1016/J.MICROC.2023.109038.
 - [37] Q. Huang, J. Chen, Y. Zhao, J. Huang, ir H. Liu, „Advancements in electrochemical glucose sensors“, *Talanta*, t. 281, p. 126897, saus. 2025, doi: 10.1016/J.TALANTA.2024.126897.
 - [38] K. E. Toghill ir R. G. Compton, „Electrochemical Non-enzymatic Glucose Sensors: A Perspective and an Evaluation“, *Int J Electrochem Sci*, t. 5, nr. 9, p. 1246–1301, rugs. 2010, doi: 10.1016/S1452-3981(23)15359-4.
 - [39] A. A. Karyakin, „Glucose biosensors for clinical and personal use“, *Electrochem commun*, t. 125, p. 106973, bal. 2021, doi: 10.1016/J.ELECOM.2021.106973.
 - [40] M. N. Zafar, G. Safina, R. Ludwig, ir L. Gorton, „Characteristics of third-generation glucose biosensors based on *Corynascus thermophilus* cellobiose dehydrogenase immobilized on commercially available screen-printed electrodes working under physiological conditions“, *Anal Biochem*, t. 425, nr. 1, p. 36–42, birž. 2012, doi: 10.1016/J.AB.2012.02.026.
 - [41] K. Tian, M. Prestgard, ir A. Tiwari, „A review of recent advances in nonenzymatic glucose sensors“, *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, t. 41, p. 100–118, rugpj. 2014, doi: 10.1016/J.MSEC.2014.04.013.
 - [42] M. Govindaraj ir kt., „Current advancements and prospects of enzymatic and non-enzymatic electrochemical glucose sensors“, *Int J Biol Macromol*, t. 253, p. 126680, gruodž. 2023, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2023.126680.
 - [43] G. A. Naikoo ir kt., „Recent Advances in Non-Enzymatic Glucose Sensors Based on Metal and Metal Oxide Nanostructures for Diabetes Management- A Review“, *Front Chem*, t. 9, p. 748957, rugs. 2021, doi: 10.3389/FCHEM.2021.748957.
 - [44] Y. Cárdenas-Moreno, J. González-Bacerio, H. García Arellano, ir A. del Monte-Martínez, „Oxidoreductase enzymes: Characteristics, applications, and challenges as a biocatalyst“, *Biotechnol Appl Biochem*, t. 70, nr. 6, p. 2108–2135, gruodž. 2023, doi: 10.1002/BAB.2513.
 - [45] S. H. Khatami ir kt., „Glucose oxidase: Applications, sources, and recombinant production“, *Biotechnol Appl Biochem*, t. 69, nr. 3, p. 939–950, birž. 2022, doi: 10.1002/BAB.2165.
 - [46] J. A. Bauer, M. Zámocká, J. Majtán, ir V. Bauerová-Hlinková, „Glucose Oxidase, an Enzyme “Ferrari”: Its Structure, Function, Production and Properties in the Light of Various Industrial and Biotechnological Applications“, *Biomolecules* 2022, Vol. 12, Page 472, t. 12, nr. 3, p. 472, kovo 2022, doi: 10.3390/BIOM12030472.
 - [47] S. B. Bankar, M. V. Bule, R. S. Singhal, ir L. Ananthanarayan, „Glucose oxidase — An overview“, *Biotechnol Adv*, t. 27, nr. 4, p. 489–501, liep. 2009, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2009.04.003.
 - [48] K. Song ir kt., „Emerging glucose oxidase-delivering nanomedicines for enhanced tumor therapy“, *Journal of Controlled Release*, t. 381, p. 113580, geg. 2025, doi: 10.1016/J.JCONREL.2025.02.076.
 - [49] F. Wang ir kt., „Insights into the Structures, Inhibitors, and Improvement Strategies of Glucose Oxidase“, *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol. 23, Page 9841, t. 23, nr. 17, p. 9841, rugpj. 2022, doi: 10.3390/IJMS23179841.
 - [50] V. Leskovac, S. Trivić, G. Wohlfahrt, J. Kandrač, ir D. Peričin, „Glucose oxidase from *Aspergillus niger*: the mechanism of action with molecular oxygen, quinones, and one-electron

- acceptors“, *Int J Biochem Cell Biol*, t. 37, nr. 4, p. 731–750, bal. 2005, doi: 10.1016/J.BIOCEL.2004.10.014.
- [51] Y. Liao *ir kt.*, „Glucose oxidase: An emerging multidimensional treatment option for diabetic wound healing“, *Bioact Mater*, t. 44, p. 131–151, vas. 2025, doi: 10.1016/J.BIOACTMAT.2024.10.006.
- [52] C. M. Wong, K. H. Wong, *ir* X. D. Chen, „Glucose oxidase: Natural occurrence, function, properties and industrial applications“, *Appl Microbiol Biotechnol*, t. 78, nr. 6, p. 927–938, bal. 2008, doi: 10.1007/S00253-008-1407-4.
- [53] J. A. Bauer, M. Zámocká, J. Majtán, *ir* V. Bauerová-Hlinková, „Glucose Oxidase, an Enzyme “Ferrari”: Its Structure, Function, Production and Properties in the Light of Various Industrial and Biotechnological Applications“, *Biomolecules* 2022, Vol. 12, Page 472, t. 12, nr. 3, p. 472, kovo 2022, doi: 10.3390/BIOM12030472.
- [54] C. Quijada, „Special Issue: Conductive Polymers: Materials and Applications“, *Materials* 2020, Vol. 13, Page 2344, t. 13, nr. 10, p. 2344, geg. 2020, doi: 10.3390/MA13102344.
- [55] N. Hall, „Twenty-five years of conducting polymers“, *Chemical Communications*, nr. 1, p. 1–4, saus. 2003, doi: 10.1039/B210718J.
- [56] S. Sharma, P. Sudhakara, A. A. B. Omran, J. Singh, *ir* R. A. Ilyas, „Recent Trends and Developments in Conducting Polymer Nanocomposites for Multifunctional Applications“, *Polymers* 2021, Vol. 13, Page 2898, t. 13, nr. 17, p. 2898, rugpj. 2021, doi: 10.3390/POLYM13172898.
- [57] M. Gulam Sumdani *ir kt.*, „Recent advancements in synthesis, properties, and applications of conductive polymers for electrochemical energy storage devices: A review“, *Polym Eng Sci*, t. 62, nr. 2, p. 269–303, vas. 2022, doi: 10.1002/PEN.25859.
- [58] K. Namsheer *ir* C. S. Rout, „Conducting polymers: a comprehensive review on recent advances in synthesis, properties and applications“, *RSC Adv*, t. 11, nr. 10, p. 5659–5697, vas. 2021, doi: 10.1039/D0RA07800J.
- [59] H. Lu, X. Li, *ir* Q. Lei, „Conjugated Conductive Polymer Materials and its Applications: A Mini-Review“, *Front Chem*, t. 9, p. 732132, rugs. 2021, doi: 10.3389/FCHEM.2021.732132.
- [60] C. I. Awuzie, „Conducting Polymers“, *Mater Today Proc*, t. 4, nr. 4, p. 5721–5726, saus. 2017, doi: 10.1016/J.MATPR.2017.06.036.
- [61] R. Ravichandran, S. Sundarrajan, J. R. Venugopal, S. Mukherjee, *ir* S. Ramakrishna, „Applications of conducting polymers and their issues in biomedical engineering“, *J R Soc Interface*, t. 7 Suppl 5, nr. Suppl 5, spal. 2010, doi: 10.1098/RSIF.2010.0120.FOCUS.
- [62] B. Butoi, A. Groza, P. Dinca, A. Balan, *ir* V. Barna, „Morphological and Structural Analysis of Polyaniline and Poly(o-anisidine) Layers Generated in a DC Glow Discharge Plasma by Using an Oblique Angle Electrode Deposition Configuration“, *Polymers (Basel)*, t. 9, nr. 12, gruodž. 2017, doi: 10.3390/POLYM9120732.
- [63] P. K. Kalambate *ir kt.*, „Recent advances in MXene-based electrochemical sensors and biosensors“, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, t. 120, p. 115643, lapkr. 2019, doi: 10.1016/J.TRAC.2019.115643.
- [64] M. Khazaei, A. Ranjbar, M. Arai, T. Sasaki, *ir* S. Yunoki, „Electronic properties and applications of MXenes: a theoretical review“, *J Mater Chem C Mater*, t. 5, nr. 10, p. 2488–2503, kovo 2017, doi: 10.1039/C7TC00140A.
- [65] Y. Gogotsi *ir* B. Anasori, „The Rise of MXenes“, *ACS Nano*, t. 13, nr. 8, p. 8491–8494, rugpj. 2019, doi: 10.1021/ACSNANO.9B06394.

- [66] F. Seidi *ir kt.*, „MXenes Antibacterial Properties and Applications: A Review and Perspective“, *Small*, t. 19, nr. 14, p. 2206716, bal. 2023, doi: 10.1002/SMLL.202206716.
- [67] H. Wang *ir kt.*, „Clay-Inspired MXene-Based Electrochemical Devices and Photo-Electrocatalyst: State-of-the-Art Progresses and Challenges“, *Advanced Materials*, t. 30, nr. 12, kovo 2018, doi: 10.1002/ADMA.201704561.
- [68] A. Singh *ir kt.*, „A Comprehensive Review on the Synthesis and Properties of MXenes for Supercapacitor Applications“, *ACS Appl Energy Mater*, 2025, doi: 10.1021/ACSAEM.4C03194.
- [69] A. V. Mohammadi, J. Rosen, *ir* Y. Gogotsi, „The world of two-dimensional carbides and nitrides (MXenes)“, *Science (1979)*, t. 372, nr. 6547, birž. 2021, doi: 10.1126/SCIENCE.ABF1581.
- [70] Z. U. D. Babar, B. Della Ventura, R. Velotta, *ir* V. Iannotti, „Advances and emerging challenges in MXenes and their nanocomposites for biosensing applications“, *RSC Adv*, t. 12, nr. 30, p. 19590–19610, birž. 2022, doi: 10.1039/D2RA02985E.
- [71] A. Sinha *ir kt.*, „MXene: An emerging material for sensing and biosensing“, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, t. 105, p. 424–435, rugpj. 2018, doi: 10.1016/J.TRAC.2018.05.021.
- [72] Y. Gogotsi, „The Future of MXenes“, *Chemistry of Materials*, t. 35, nr. 21, p. 8767–8770, lapkr. 2023, doi: 10.1021/ACS.CHEMMATER.3C02491.
- [73] K. Phasuksom *ir* A. Sirivat, „Chronoamperometric detection of enzymatic glucose sensor based on doped polyindole/MWCNT composites modified onto screen-printed carbon electrode as portable sensing device for diabetes“, *RSC Adv*, t. 12, nr. 44, p. 28505, spal. 2022, doi: 10.1039/D2RA04947C.
- [74] R. Cardaña, B. Cercado, *ir* G. Buitrón, „Microbial Electrolysis Cell for Biohydrogen Production“, *Biomass, Biofuels, Biochemicals: Biohydrogen, Second Edition*, p. 159–185, saus. 2019, doi: 10.1016/B978-0-444-64203-5.00007-1.
- [75] M. N. Islam *ir* R. B. Channon, „Electrochemical sensors“, *Bioengineering Innovative Solutions for Cancer*, p. 47–71, saus. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-813886-1.00004-8.
- [76] „Constant Potential Chronoamperometry - PalmSens“. [Interaktyvus]. Adresas: <https://www.palmsens.com/knowledgebase-article/constant-potential-chronoamperometry/>
- [77] D. Jin *ir kt.*, „Enhancing the formation and capacitance properties of interfacial polymerized polyaniline nanofibers by introducing small alcohol molecules“, *Journal of Solid State Electrochemistry*, t. 22, nr. 4, p. 1227–1236, bal. 2018, doi: 10.1007/S10008-017-3866-Y.
- [78] A. Popov *ir kt.*, „Reduced Graphene Oxide and Polyaniline Nanofibers Nanocomposite for the Development of an Amperometric Glucose Biosensor“, *Sensors 2021, Vol. 21, Page 948*, t. 21, nr. 3, p. 948, vas. 2021, doi: 10.3390/S21030948.
- [79] Z. Liu, X. Zhang, S. Poyraz, S. P. Surwade, *ir* S. K. Manohar, „Oxidative template for conducting polymer nanoclips“, *J Am Chem Soc*, t. 132, nr. 38, p. 13158–13159, rugs. 2010, doi: 10.1021/JA105966C.
- [80] F. R. Passador *ir kt.*, „Thermal, mechanical and electromagnetic properties of LLDPE/PANI composites“, *Polymer Bulletin*, t. 74, nr. 7, p. 2701–2717, liep. 2017, doi: 10.1007/S00289-016-1862-5.
- [81] S. Sunderiya *ir kt.*, „Understanding the oxidation chemistry of Ti₃C₂T_x (MXene) sheets and their catalytic performances“, *Journal of Energy Chemistry*, t. 88, p. 437–445, saus. 2024, doi: 10.1016/J.JECHEM.2023.09.037.
- [82] C. E. Shuck *ir kt.*, „Scalable Synthesis of Ti₃C₂T_x MXene“, *Adv Eng Mater*, t. 22, nr. 3, p. 1901241, kovo 2020, doi: 10.1002/ADAM.201901241.

- [83] F. Arslan, S. Ustabas, ir H. Arslan, „An Amperometric Biosensor for Glucose Determination Prepared from Glucose Oxidase Immobilized in Polyaniline-Polyvinylsulfonate Film“, *Sensors (Basel)*, t. 11, nr. 8, p. 8152, 2011, doi: 10.3390/S110808152.
- [84] T. K. Mathew, M. Zubair, ir P. Tadi, „Blood Glucose Monitoring“, *Medical Devices and Systems*, p. 66-1-66–10, bal. 2023, doi: 10.5005/jp/books/12651_10.
- [85] „Mean fasting blood glucose“. [Interaktyvus]. Adresas: <https://www.who.int/data/gho/indicator-metadata-registry/imr-details/2380>
- [86] S. M. Dial, „Blood Glucose“, *Low-Cost Veterinary Clinical Diagnostics*, p. 72–78, saus. 1990, doi: 10.1002/9781119714521.ch7.
- [87] „Normal and Diabetic Blood Sugar Level Ranges“. [Interaktyvus]. Adresas: https://www.diabetes.co.uk/diabetes_care/blood-sugar-level-ranges.html
- [88] J. Wang ir kt., „Coral-like Ti3C2Tx/PANI Binary Nanocomposite Wearable Enzyme Electrochemical Biosensor for Continuous Monitoring of Human Sweat Glucose“, *Chemosensors*, t. 12, nr. 11, p. 222, lapkr. 2024, doi: 10.3390/CHEMOSENSORS12110222/S1.
- [89] K. A. Saraswathi, M. S. Bhargava Reddy, N. Jayarambabu, K. Venkateswara Rao, ir T. V. Rao, „Ti3C2Tx/Polyaniline Nanocomposite in a Noninvasive Disposable Enzyme Free Glucose Sensor“, *ACS Appl Nano Mater*, t. 7, nr. 11, p. 13110–13123, birž. 2024, doi: 10.1021/ACSANM.4C01623.
- [90] S. Majumdar ir D. Mahanta, „Deposition of an ultra-thin polyaniline coating on a TiO₂ surface by vapor phase polymerization for electrochemical glucose sensing and photocatalytic degradation“, *RSC Adv*, t. 10, nr. 30, p. 17387–17395, geg. 2020, doi: 10.1039/D0RA01571G.
- [91] H. Al-Sagur, K. Shanmuga sundaram, E. N. Kaya, M. Durmuş, T. V. Basova, ir A. Hassan, „Amperometric glucose biosensing performance of a novel graphene nanoplatelets-iron phthalocyanine incorporated conducting hydrogel“, *Biosens Bioelectron*, t. 139, p. 111323, rugpj. 2019, doi: 10.1016/J.BIOS.2019.111323.
- [92] B. Hansen, M. A. Hocevar, ir C. A. Ferreira, „A facile and simple polyaniline-poly(ethylene oxide) based glucose biosensor“, *Synth Met*, t. 222, p. 224–231, gruodž. 2016, doi: 10.1016/J.SYNTHMET.2016.10.028.
- [93] U. Tamer, A. İ. Seçkin, E. Temur, ir H. Torul, „Fabrication of Biosensor Based on Polyaniline/Gold Nanorod Composite“, *International Journal of Electrochemistry*, t. 2011, nr. 1, p. 869742, saus. 2011, doi: 10.4061/2011/869742.
- [94] N. German, A. Popov, A. Ramanavicius, ir A. Ramanaviciene, „A Platform for the Glucose Biosensor Based on Dendritic Gold Nanostructures and Polyaniline-Gold Nanoparticles Nanocomposite“, *Biosensors 2025, Vol. 15, Page 196*, t. 15, nr. 3, p. 196, kovo 2025, doi: 10.3390/BIOS15030196.
- [95] W. V. Gonzales, A. T. Mobashsher, ir A. Abbosh, „The Progress of Glucose Monitoring—A Review of Invasive to Minimally and Non-Invasive Techniques, Devices and Sensors“, *Sensors 2019, Vol. 19, Page 800*, t. 19, nr. 4, p. 800, vas. 2019, doi: 10.3390/S19040800.
- [96] M. Kuwabara, „Hyperuricemia, Cardiovascular Disease, and Hypertension“, *Pulse*, t. 3, nr. 3–4, p. 242–252, bal. 2016, doi: 10.1159/000443769.

SANTRAUKA

VILNIAUS UNIVERSITETAS CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS

EGITA BANEVIČIŪTĖ

Polianilino nanostruktūrų ir $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXenų taikymas elektrocheminiuose gliukozės biologiniuose jutikliuose

Cukrinis diabetas yra lėtinė liga, kuriai būdingas didelis gliukozės kiekis kraujyje dėl nepakankamos insulino gamybos arba ląstelių rezistencijos insulinui. Pagal pasaulio sveikatos organizacijos duomenis (PSO) cukriniu diabetu serga vis daugiau žmonių. 1990 metais nustatyta, kad šia liga sirgo 200 milijonai žmonių, o 2022 metais – 830 milijonai žmonių. Šiuo metu rinkoje yra nemažai patvirtintų gliukozės jutiklių, tačiau didelis jų poreikis ir svarba žmogaus sveikatai lemia, kad, esant galimybei, jų charakteristikas reikia nuolat tobulinti.

Šio darbo tikslas buvo sukurti polianilino nanostruktūromis ar jų nanokompozitu modifikuotą elektrocheminį gliukozės biologinį jutiklį.

Tyrimo metu buvo nustatyta, kad tarpfazine polimerizacija susintetintos polianilino nanostruktūros (PANI_I) buvo netaisyklingos ir skirtingų formų, o jų ilgio diapazonas buvo nuo 1,57 μm iki 2,98 μm . Chemine polimerizacija su cetiltrimetilamonio bromidu sintetintos PANI nanostruktūros (PANI_{II}) buvo nanožiogelių formos, kurių storis buvo lygus $1,2 \pm 0,18 \mu\text{m}$. Optimizuojant elektrodo paviršiaus modifikavimo sąlygas, išsiaiškinta, kad PANI nanostruktūrų ir gliukozės oksidazės tirpalus ant elektrodo paviršiaus lašinant vienas po kito yra gaunami geresni rezultatai, nei elektrodą modifikuojant su PANI nanostruktūrų ir GOx mišiniu. Nustatyta, kad elektrodų paviršių modifikuojant PANI_I ar PANI_{II} nanostruktūromis, optimali jų koncentracija yra $0,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$. Elektrodų paviršių modifikuojant $\text{PANI}_I/\text{MXenų}$ nanokompozitu geriausi rezultatai pasiekti naudojant $0,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ PANI_I su $0,025 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ MXenais mišinį. Lyginant skirtingomis PANI nanostruktūromis ar jų nanokompozitu su MXenais modifikuotų elektrodų rezultatus, nustatyta, kad geriausi rezultatai buvo gaunami stikliškosios anglies elektrodą modifikuojant $0,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ PANI_I nanostruktūromis ir $20 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ gliukozės oksidaze. Apskaičiuotos sukurto elektrocheminio gliukozės analizinės charakteristikos: LOD – $0,0107 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, LOQ – $0,0356 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, jautrumas – $85,82 \mu\text{A} (\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1})^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$. Tiesinė priklausomybė buvo stebima $0,1 - 5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ gliukozės koncentracijų intervale. Elektroaktyvių medžiagų įtakos elektrocheminio gliukozės biologinio jutiklio signalui tyrimas parodė, kad askorbo ir šlapimo rūgštys pasižymi nedidele įtaka registruojamiems signalams, bet sukurtas biologinis jutiklis yra tinkamas naudoti.

SUMMARY

VILNIUS UNIVERSITY
FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES

EGITA BANEVIČIŪTĖ

Application of Polyaniline Nanostructures and Ti₃C₂T_x MXenes in Electrochemical Glucose Biosensors

Diabetes mellitus is a disease characterized by high blood glucose levels due to insufficient insulin production or cellular resistance to insulin. According to the World Health Organization (WHO), the number of people with diabetes is increasing. In 1990, it was estimated that 200 million people had this disease, and in 2022, this number had increased to 830 million. Currently, there are a number of approved glucose sensors on the market, but their high demand and importance for human health mean that their characteristics need to be continuously improved.

The aim of this work was to develop an electrochemical glucose biosensor modified with polyaniline nanostructures or their nanocomposite.

The study found that polyaniline nanostructures synthesized by interfacial polymerization (PANI_I) were irregular and of different shapes, with a length range from 1.57 μm to 2.98 μm . PANI nanostructures synthesized by chemical polymerization with cetyltrimethylammonium bromide (PANI_{II}) were in the form of nanoclips with a thickness of $1.2 \pm 0.18 \mu\text{m}$. By optimizing the electrode surface modification conditions, it was found that drop-casting solutions of PANI nanostructures and glucose oxidase onto the electrode surface one after the other gives better results than modifying the electrode with a mixture of PANI nanostructures and GOx. It was found that when modifying the electrode surface with PANI_I or PANI_{II} nanostructures, their optimal concentration is $0.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$. When modifying the electrode surface with a PANI_I/MXene nanocomposite, the best results were achieved using a mixture of $0.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ PANI_I with $0.025 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ MXenes. Comparing the results of electrodes modified with different PANI nanostructures or their nanocomposite with MXenes, it was found that the best results were obtained when the glassy carbon electrode was modified with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ PANI_I nanostructures and $20 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ glucose oxidase. The analytical characteristics of the developed electrochemical glucose sensor were calculated: LOD – $0.0107 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, LOQ – $0.0356 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, sensitivity – $85.82 \mu\text{A} (\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1})^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$. Linear range was observed in the glucose concentration range of $0.1 - 5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. A study of the interferences of electroactive materials on the signal of an electrochemical glucose biosensor showed that ascorbic and uric acids have a minor influence on the recorded signals, but the developed biosensor is suitable for use.