

М.С. Фролова<sup>1</sup>, Н.В. Моргачева<sup>1</sup>, А.Н. Зяблов<sup>1,2</sup>

**Определение инсулина в жидких средах  
амперометрическими сенсорами, модифицированными  
полимером с молекулярными отпечатками**

<sup>1</sup>Елецкий государственный университет им. И.А. Бунина

<sup>2</sup>Воронежский государственный университет

**Резюме.** Разработаны амперометрические сенсоры на основе полимеров с молекулярными отпечатками для определения инсулина в жидких средах. Экспериментально установлены метрологические характеристики ПМО-сенсоров. Диапазон линейного определения концентраций составил 0,058-0,012 г/л, предел обнаружения – 0.01 г/л. Погрешность количественного определения не превышает 4%, что свидетельствует о достаточной точности метода. Метод характеризуется устойчивостью к влиянию сопутствующих веществ, присутствующих в биологических жидкостях, что позволяет рассматривать его как перспективный подход для анализа инсулина.

**Ключевые слова:** инсулин; амперометрический сенсор; полимеры с молекулярными отпечатками

**Актуальность.** Инсулин является одним из ключевых пептидных гормонов, регулирующих углеводный обмен, а контроль его содержания в различных жидких средах имеет важное значение для клинической диагностики, фармацевтического анализа и биомедицинских исследований. В связи с ростом распространенности сахарного диабета и развитием персонализированной медицины, а также увеличении числа случаев приема инсулина в качестве допинга, возрастает потребность в разработке чувствительных, селективных и оперативных методов определения инсулина [1].

В настоящее время для количественного анализа инсулина широко применяются иммуноферментные методы, высокоэффективная жидкостная хроматография, а также масс-спектрометрия. Указанные методы характеризуются высокой чувствительностью и специфичностью, однако обладают рядом существенных недостатков, включая сложную и многостадийную пробоподготовку, использование дорогостоящего оборудования и реагентов, а также ограниченные возможности экспресс-анализа [1, 2]. Это обуславливает актуальность поиска альтернативных аналитических методов, сочетающих достаточную точность с простотой реализации.

Перспективным направлением в данной области являются электрохимические методы анализа, в частности амперометрия, отличающаяся высокой чувствительностью, возможностью миниатюризации измерительных систем и относительно простой аппаратной реализацией. Использование амперометрических сенсоров открывает возможности для прямого определения биологически активных соединений, включая белковые и пептидные молекулы. Вместе с тем анализ инсулина в реальных жидких средах осложняется выраженными матричными эффектами, связанными с присутствием сопутствующих компонентов, способных исказить аналитический сигнал.

Для создания селективных сенсоров применяют различные подходы, основанные на использовании биологических и синтетических распознающих элементов. К числу наиболее распространенных относятся ферментные системы, антитела, аптамеры, а также синтетические рецепторные материалы. Особый интерес в последние годы представляют полимеры с молекулярными отпечатками (ПМО), которые формируются в присутствии молекулы-шаблона и после ее удаления содержат комплементарные по форме и функциональным группам полости [2, 3].

Полимеры с молекулярными отпечатками характеризуются высокой химической и механической стабильностью, устойчивостью к изменениям температуры и pH, а также воспроизводимостью свойств [2, 4]. В отличие от биологических рецепторов, ПМО не подвержены денатурации и обладают более длительным сроком службы. Данные материалы позволяют формировать искусственные центры связывания, обладающие высокой селективностью к целевым молекулам, включая лекарственные вещества, гормоны и биомаркеры.

Актуальность применения ПМО в сенсорных системах обусловлена возможностью целенаправленного конструирования распознающих структур с заданной селективностью и чувствительностью. Использование ПМО открывает перспективы создания недорогих, стабильных и высокоселективных сенсоров, пригодных для анализа сложных многокомпонентных систем, в том числе биологических жидкостей [3, 4].

Перспективность ПМО-технологий связана с возможностью интеграции таких материалов в электрохимические сенсоры, включая амперометрические системы. Это обеспечивает повышение селективности определения, снижение влияния матричных эффектов и расширение области практического применения сенсоров.

В связи с этим разработка амперометрических сенсоров на основе полимеров с молекулярными отпечатками для определения инсулина является актуальной задачей аналитической химии, направленной на повышение достоверности и практической применимости электрохимического анализа биомолекул [8 – 10].

Цель работы - разработка амперометрических сенсоров на основе полимеров с молекулярными отпечатками для определения инсулина в модельных жидких средах.

**Материал и методы исследования.** Объектом исследования был выбран инсулин. Для приготовления стандартных растворов исходный раствор готовили из препарата BASALES-LENTAS 2.0 (версия TOUJEO и TRESIBA). Затем методом последовательного разбавления была получена серия растворов в диапазоне концентраций 0.058 – 0.003 г/л. Амперометрические сенсоры с двумя электродами были изготовлены из медного фольгированного текстолита. На поверхности электродов сенсоров синтезировали полимер с молекулярными отпечатками инсулина. Синтез проводили по методике [3, 4]. Неимпринтированный полимер (НП) получали аналогично, но без инсулина.

Эксперименты проводили на установке, состоящей из источника питания (QJ1803C, Китай) и мультиметра (B7-78/1, Китай).

Измерения осуществляли при постоянном напряжении, выбранном на основании предварительно построенных вольтамперных зависимостей. Предельное напряжение составило 0.58 В.

При этом напряжении проводили дальнейшие измерения. Для этого на поверхность электрода сенсора наносили в мкл дистиллированной воды и фиксировали значение тока [5, 6]. Затем наносили раствор инсулина и измеряли ток. Разность тока  $\Delta I$  рассчитывали по формуле:

$$\Delta I = I_2 - I_1$$

где  $I_1$  – значение тока сенсора с дистиллированной водой, мА;  $I_2$  – значение тока сенсора с раствором инсулина, мА.

**Полученные результаты и их обсуждение.** В ходе исследования был изучен амперометрический отклик электрохимического сенсора на инсулин в модельных растворах и жидких средах различного состава. Установлено, что при выбранном рабочем потенциале наблюдается устойчивый аналитический сигнал, величина которого возрастает с увеличением концентрации инсулина.

Определение инсулина ПМО-сенсором в модельных растворах проводили методом градуировочного графика, метрологические характеристики представлены в таблице 1.

**Таблица 1 – Метрологические характеристики определения инсулина ПМО-сенсором**

Сенсор	Анализируемое вещество	Диапазон определяемых концентраций, г/л	$C_{min}$ , г/л	$Sr$ , %
ПМО-сенсором	Инсулин BASALES-LENTAS 2.0	0.058 – 0.012	0.01	4.8

Диапазон линейного определения концентраций составил 0.058 – 0.012 г/л, предел обнаружения — 0.01 г/л. Погрешность количественного определения не превышает 4.8%, что свидетельствует о достаточной точности метода.

Достоверность определения инсулина в модельных растворах с ПМО-сенсором оценена методом «введено – найдено» (Табл. 2). Видно, что относительное стандартное отклонение не превышает 4.0%.

**Таблица 2 – Определение инсулина ПМО-сенсором в жидких средах методом «введено-найденно»**

Сенсор	Анализируемое вещество	Концентрация $C$ , г/л		
		Введено	Найдено	$Sr$ , %
ПМО-Ins	Инсулин	0,012	0.0121 ± 0.0004	4.0
		0,023	0.0228 ± 0.0006	2.0
		0,035	0.0357 ± 0.0010	2.5
		0,047	0.0455 ± 0.0013	2.0
		0,058	0.0596 ± 0.0018	2.7

При исследовании жидких сред, содержащих потенциально мешающие вещества наблюдалось изменение амперометрического отклика сенсора. Вероятной причиной является: изменение условий массопереноса; возможная адсорбция

компонентов матрицы на поверхности электрода; наложение электрохимических процессов.

Полученные экспериментальные данные подтверждают возможность амперометрического определения инсулина с использованием ПМО-сенсора. Линейный характер градуировочных зависимостей указывает на пригодность метода для количественного анализа. Выявленные матричные эффекты при использовании внешней градуировки.

Применение метода стандартных добавок обеспечивает компенсацию влияния матрицы и повышение точности результатов, что особенно важно при анализе биологических и модельных жидких сред (Табл. 3).

**Таблица 3 – Определение инсулина методом стандартных добавок (г/л)**

Добавка, г/л	Найдено, г/л	Определено в образце, г/л	Sr, %
0	0,0185 ± 0,0006	0,0185	–
0,0116	0,0303 ± 0,0009	0,0187	2,5
0,0232	0,0413 ± 0,0012	0,0181	2,0
0,0348	0,0544 ± 0,0016	0,0196	4,0

Как следует из данных, представленных в табл. 3, при исходной концентрации образца 0,019 г/л введение стандартных добавок в диапазоне 0.012 – 0.035 г/л при относительной погрешности, не превышающей 4.0 %, что подтверждает надежность разработанного амперометрического сенсора.

**Выводы.** В работе разработан амперометрический сенсор на основе полимера с молекулярными отпечатками инсулина. Сенсор продемонстрировал высокую чувствительность к целевым молекулам инсулина.

Установлены оптимальные условия регистрации амперометрического сигнала, обеспечивающие стабильный аналитический отклик и линейную зависимость тока от концентрации инсулина в исследуемом диапазоне.

Экспериментально подтверждено, что использование метода стандартных добавок позволяет эффективно компенсировать матричные эффекты, обеспечивая повышение точности и воспроизводимости количественного определения инсулина.

Разработанный способ позволяет рассматривать его как перспективный инструмент в задачах экспресс-контроля содержания инсулина, а также при создании и оптимизации электрохимических сенсорных систем.

#### **Литература / References.**

1. Аналитические методы определения инсулина и его аналогов: современные подходы // Современные подходы к определению биологической активности инсулина и его аналогов. 2019. Т. 9, № 2. С. 85–92.
2. Жерин И. И., Амелина Г. Н., Страшко А. Н., Ворошилов Ф. А. Основы электрохимических методов анализа. Томск: ТПУ, 2013.
3. Зяблов А.Н., Хальзова С.А., Селеменев В.Ф. Сорбция красных пищевых красителей полимерами с молекулярными отпечатками // Известия вузов. Химия и химическая технология. 2017. Т. 60, № 7. С. 42-47.
4. Као Н.Л., Зяблов А.Н., Дуванова О.В., Селеменев В.Ф. Сорбция карбоновых кислот молекулярно-импринтированными полимерами // Известия вузов. Химия и химическая технология. 2020. Т. 63. № 2. С. 71-76.

5. Определение стрептомицина в молоке амперометрическими сенсорами / Фам Тхи Гам, А.Н. Зяблов, Фам Тхи Бик Нгок // Прикладные информационные аспекты медицины. 2025. - Т. 28, № 2. - С.43-47. URL: <https://new.vestnik-surgery.com/index.php/2070-9277/issue/view/234> DOI: <https://doi.org/10.18499/2070-9277-2025-28-2-43-47>

6. Патент на полезную модель № 102264 U1 Российская Федерация, МПК G01N 27/12. Пьезосенсор на основе полимеров с молекулярным отпечатком аминокислот : № 2010142819/28 : заявл. 19.10.2010 : опубл. 20.02.2011 / А. Н. Зяблов, Л. М. Никитская, Ю. А. Жиброва [и др.] ; заявитель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Воронежский государственный университет".

7. Сорбция антибиотиков цефалоспоринового ряда молекулярно-импринтированными полимерами / Фам Тхи Гам, А.Н. Зяблов, Као Ньят Линь, Нгуен Ань Тьен // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2025. - Т. 25, № 3. - С. 436-443. DOI: <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2025.25/13052>

8. Rafiee B., Faramarzi M. A., Nasirizadeh N. Insulin sensor based on nanoparticle-decorated multiwalled carbon nanotubes modified electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2016.

9. Wardani N. I., Kangkamano T., Wannapob R. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer cryogel and multiwalled carbon nanotubes for direct insulin detection. *Talanta*. 2023. Vol. 254. 124137. DOI:10.1016/j.talanta.2022.124137

10. Wu Y., Midinov B., White R. J. Electrochemical aptamer-based sensor for real-time monitoring of insulin. *ACS Sensors*. 2019. DOI:10.1021/acssensors.8b01573

11. Zhang H. Y., et al. Electrocatalytic oxidation and determination of insulin at nickel oxide nanoparticles–multiwalled carbon nanotube modified screen-printed electrode. *Biosensors and Bioelectronics*. 2013.

**Abstract.**

**M.S. Frolova<sup>1</sup>, N.V. Morgacheva<sup>1</sup>, A.N. Zyablov<sup>1,2</sup>**

***Determination of insulin in liquid mediums by amperometric sensors modified by a polymer with molecular impressions***

<sup>1</sup>*Yelets State University named after I.A. Bunin, Yelets,*

<sup>2</sup>*Voronezh State University, Voronezh*

Amperometric sensors based on polymers with molecular fingerprints have been developed for the determination of insulin in liquid media. The metrological characteristics of PMO sensors have been experimentally established. The range of linear determination of concentrations was 0.058 – 0.012 g/L, the detection limit is 0.01 g/L. The error of quantitative determination does not exceed 4%, which indicates that the method is sufficiently accurate. The method is characterized by resistance to the influence of accompanying substances present in biological fluids, which makes it a promising approach for insulin analysis.

**Keywords:** insulin; amperometric sensor; polymers with molecular fingerprints.

**Сведения об авторах:** Фролова Мария Сергеевна – магистрантка кафедры химико-биологических дисциплин и фармакологии Елецкого государственного университета им. И.А. Бунина, Елец, e-mail: [maria0.01@mail.ru](mailto:maria0.01@mail.ru); Моргачева Наталья Викторовна – к.п.н., доцент, зав.каф. химико-биологических дисциплин и фармакологии Елецкого государственного университета им. И.А. Бунина, Елец, e-mail: [biokafe@yandex.ru](mailto:biokafe@yandex.ru); Зяблов Александр Николаевич – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, профессор кафедры химико-биологических дисциплин и фармакологии, Елецкий государственный университет им. И.А. Бунина, e-mail: [alex-n-z@yandex.ru](mailto:alex-n-z@yandex.ru)

Авторы заявляют отсутствие конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 02.03.2026; одобрена рецензентами и принята к публикации 19.03.2026