

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ЛИПЕЦКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

Шинко Евгения Ивановна

**ПРИМЕНЕНИЕ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ИММУНОСЕНСОРОВ НА
ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ УГЛЕРОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ**

1.4.2. Аналитическая химия

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, профессор
Татьяна Николаевна Ермолаева

Липецк 2022

Оглавление

СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ	5
I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1. Общие сведения об углеродных наноматериалах	12
1.1 Углеродные нанотрубки. Строение и свойства	12
1.2 Синтез углеродных нанотрубок	15
1.3 Модификация и функционализация углеродных нанотрубок	16
2. Применение углеродных нанотрубок для создания сенсоров	22
2.1 Газовые сенсоры.....	23
2.2 Применение углеродных нанотрубок в биосенсорах.....	27
2.2.1 Электрохимические сенсоры.....	27
2.2.2 Оптические сенсоры	35
2.2.3 Гравиметрические сенсоры	37
II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	40
3. Реагенты, аппаратура, техника экспериментов	40
3.1 Объекты исследования, реагенты и иммунореагенты	40
3.2 Приборы и оборудование	44
3.3 Методики окисления и функционализации углеродных нанотрубок и формирования распознающего слоя	46
III РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	51
4. Исследование условий функционализации углеродных наноматериалов для применения в пьезоэлектрических иммуносенсорах	51
4.1. Выбор способа окисления углеродных нанотрубок.....	51
4.1.1 Изучение условий окисления углеродных наноматериалов	55

4.2 Активация поверхности углеродных нанотрубок. Карбоксилирование углеродных наноматериалов	57
4.3 Аминирование и тиолирование углеродных наноструктур	60
4.4 Фторирование углеродных нанотрубок «Таунит»	65
5. Изучение условий формирования распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора	68
5.1 Модификация поверхности золотого электрода сенсора	68
5.2 Влияние концентрации раствора углеродных нанотрубок и продолжительности отдельных стадий на характеристики распознающего слоя	69
5.3 Обоснование концентраций антител, обеспечивающих максимальный аналитический сигнал сенсора для определения антибиотиков	72
5.4 Обоснование оптимальной концентрации антибиотик-белковых конъюгатов	75
5.5 Оценка селективности определения лекарственных веществ	76
6. Определение лекарственных веществ с помощью пьезоэлектрических сенсоров на основе углеродных материалов	81
6.1 Изучение условий проведения анализа в проточно-инжекционном режиме	81
6.2 Изучение условий проведения анализа в статическом режиме.....	82
6.3 Разработка методик определения лекарственных веществ	84
7. Применение пьезоэлектрических сенсоров для определения лекарственных веществ в реальных объектах	91
IV. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	95
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	97
ПРИЛОЖЕНИЕ	127

СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

УНТ – углеродные нанотрубки

ОУНТ – однослойные углеродные нанотрубки

МУНТ – многослойные углеродные нанотрубки

ГХО – газофазное химическое осаждение

EDAC – N-этил-N'-(3- диметиламинопропил)карбодиимид гидрохлорид

BSA — бычий сывороточный альбумин

NHS – N-гидроксисукцинимид

DMF — диметилформаид

GA – глутаровый альдегид

PBS – фосфатный буферный раствор

УЗ – ультразвук

МДУ - максимально допустимый уровень

C_{min} – предел обнаружения

ПР, % – коэффициент перекрестного реагирования

ПИА – проточно-инжекционный анализ

ПИР – проточно-инжекционный режим

Условные обозначения определяемых соединений и иммунореагентов даны в главе II.

ВВЕДЕНИЕ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Одним из важнейших направлений современной аналитической химии является создание недорогих и доступных средств экспресс-контроля лекарственных веществ, используемых в ветеринарной практике для борьбы с инфекционными заболеваниями, в качестве стимуляторов роста, а также в пищевой продукции. Наиболее часто в мышечной ткани, молоке и меде обнаруживаются антибиотики (аминогликозиды, тетрациклины, фторхинолоны, полимиксины) и β -агонисты (рактопамин, кленбутерол, сальбутамол), содержание которых в пищевой продукции в РФ строго нормируется.

Для определения лекарственных веществ в настоящее время используют методы высокоэффективной жидкостной или газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором, характеризующиеся низким пределом обнаружения и высокой чувствительностью. Однако такие методы требуют применения дорогостоящего оборудования, сложной пробоподготовки, что повышает стоимость и сложность анализа. Альтернативу таким методам составляют биосенсоры, в частности иммуносенсоры, которые позволяют осуществлять экспрессное и селективное детектирование лекарственных веществ практически без предварительной пробоподготовки.

Пьезоэлектрические гравиметрические иммуносенсоры уже положительно зарекомендовали себя в экологическом мониторинге и пищевом анализе для определения как индивидуальных соединений, так и их суммарного содержания в различных пробах. Для определения лекарственных веществ на максимально допустимом и более низком уровне, регламентированном в РФ, актуальной проблемой остается расширение перечня детектируемых соединений, повышение чувствительности определения и снижение предела обнаружения аналитов. Эта проблема для гравиметрических сенсоров может быть решена за счет увеличения активной поверхности распознающего слоя, в том числе при применении наночастиц металлов, кремневых или углеродных наночастиц. Наиболее

перспективными наноматериалами являются углеродные нанотрубки, которые в настоящее время активно используются в электрохимических или оптических биосенсорах нового поколения, благодаря их сверхвысокой удельной поверхности, уникальным структурным, механическим, электронным и оптическим свойствам. Биосенсоры на основе УНТ могут быть функционализированы путем сопряжения нескольких компонентов, тем самым потенциально усиливая процессы распознавания и передачи сигнала, в отличие от моносопряженных биосенсорных систем. В то же время для использования на практике иммуносенсоров на базе УНТ пока не решено множество проблем. Это касается в том числе и пьезоэлектрических иммуносенсоров для определения лекарственных веществ в пищевых продуктах и биологических жидкостях. В частности, до сих пор не до конца решена проблема обеспечения устойчивости и высокой активности распознающего аффинного слоя на основе антител, антигенов или гаптен, а также выбора условий проведения анализа с применением пьезоэлектрических сенсоров на основе УНТ.

В связи с этим поиск новых подходов к созданию распознающего слоя на базе УНТ для расширения возможностей пьезоэлектрических сенсоров для определения лекарственных веществ в медицинских и пищевых объектах остается актуальной задачей аналитической химии.

Степень разработанности темы исследования. Включение УНТ в биосенсорные устройства позволило разработать чувствительные электрохимические биосенсоры для определения физиологически активных соединений, биомаркеров различных заболеваний, в том числе онкологических. Наиболее развиты амперометрические сенсоры на основе УНТ. Хорошо известно, что обработка кислотами приводит к образованию множества функциональных групп и перераспределению поверхностной энергии УНТ. Это сопровождается возникновением большого количества активных сайтов и повышением каталитической активности биомолекул. Однако до настоящего времени отсутствуют систематические исследования, связанные с особенностями

формирования устойчивого распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе УНТ.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы являлось определение эффективных условий подготовки углеродных нанотрубок и разработка на их основе пьезоэлектрических иммуносенсоров для высокочувствительного определения лекарственных веществ в пищевой продукции, биологических жидкостях и фармацевтических препаратах.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи:**

- оценить влияние ряда окислителей на образование активных функциональных групп на поверхности УНТ для эффективного ковалентного связывания со слоем модификатора и биореагентом;
- выявить закономерности формирования устойчивого распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе углеродных нанотрубок после активации карбоксильных групп, аминирования, фторирования, тиолирования, модифицирования тиолированных УНТ наночастицами золота;
- обосновать концентрации иммунореагентов, обеспечивающие максимальный сигнал иммуносенсора при определении аминогликозидных, фторхинолоновых антибиотиков, тетрациклина, полимиксина, колхицина и рактопамина;
- определить условия увеличения чувствительности определения антибиотиков с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора в статическом и проточно-инжекционном режиме, в прямом и конкурентном форматах иммуноанализа;
- апробировать разработанные пьезоэлектрические иммуносенсоры на основе УНТ в анализе модельных смесей лекарственных веществ и реальных объектов – биологических жидкостей, пищевых продуктов животного происхождения и фармацевтических препаратов.

Научная новизна.

Для повышения чувствительности определения лекарственных веществ в жидких средах с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора предложено включать в состав распознающего слоя многостенные углеродные нанотрубки, способствующие существенному увеличению поверхностной концентрации иммунореагентов (антител или антигенов).

Установлено, что активация углеродных нанотрубок посредством карбоксилирования, аминирования, фторирования и тиолирования способствует повышению эффективности связывания конъюгатов антибиотиков или антител с аффинным слоем на поверхности пьезоэлектрического иммуносенсора и повышению устойчивости распознающего слоя.

Проведённое систематическое исследование условий определения лекарственных веществ (антибиотики – аминогликозиды, тетрациклины, фторхинолоны, полимиксины и рактопамин) с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора на основе функционализированных углеродных нанотрубок в прямом или конкурентном форматах иммуноанализа, в статическом или проточно-инжекционном режиме показывает, что аналитические характеристики сенсора зависят не только от формата или режима анализа, но и от способа активации многостенных углеродных нанотрубок.

Показана возможность применения пьезоэлектрических иммуносенсоров для анализа реальных объектов – биологических жидкостей, пищевых продуктов животного происхождения и фармацевтических препаратов, установлены метрологические характеристики способов определения.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Разработаны и апробированы новые пьезоэлектрические иммуносенсоры на основе углеродных наноматериалов для высокочувствительного определения аминогликозидных, фторхинолоновых антибиотиков, тетрациклина, полимиксина, колхицина и рактопамина в модельных растворах и реальных объектах, в том числе фармацевтических препаратах, в объектах пищевой промышленности и биологических жидкостях.

Предложены способы получения биорецепторного покрытия иммуносенсора на основе гибридных углеродсодержащих материалов для высокочувствительного и селективного определения лекарственных веществ. Научная новизна способа определения фторхинолонов с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора подтверждена патентом РФ (патент № 2018122565).

Методология и методы исследования. Для решения поставленных задач использованы методы ИК-спектроскопии, атомно-силовой микроскопии и пьезокварцевого микровзвешивания. Аналитический сигнал сенсора регистрировали на измерительной установке CPNA-330 (ЗАО «ЭТНА», Россия) и установке, состоящей из проточной ячейки объемом 15-20 мкл, перистальтического насоса («KNAUER», Германия), цифрового модуля ДиСкоп («Бафика», Россия).

Положения, выносимые на защиту:

1. Углеродные нанотрубки, эффективно окисленные и функционализированные в условиях, установленных в результате исследований, образуют существенно более прочные ковалентные связи с подложкой и молекулами иммунореагентов.

2. Существенное увеличение чувствительности определения лекарственных веществ обеспечивается повышением концентрации сайтов распознавания на поверхности распознающего слоя пьезоэлектрического гравиметрического иммуносенсора на основе гибридных углеродсодержащих материалов.

3. Аналитические характеристики (диапазон определяемых концентраций аналитов и предел обнаружения) пьезоэлектрического иммуносенсора для определения лекарственных веществ зависят как от способа функционализации углеродных нанотрубок, так и от режима и формата иммуноанализа. В статическом режиме в прямом формате иммуноанализа наблюдается расширение линейного диапазона определяемых концентраций лекарственных веществ.

4. Способы определения фторхинолонов, аминогликозидов, полимиксина, тетрацилина, рактопамина и колхицина с помощью пьезоэлектрических иммуносенсоров на основе УНТ, позволяющие осуществлять селективное, экспрессное и высокочувствительное детектирование следовых концентраций лекарственных веществ в пищевых продуктах, биологических жидкостях и фармацевтической продукции с минимальной пробоподготовкой.

Степень достоверности подтверждается использованием современного аналитического оборудования, результатами статистической обработки экспериментальных данных, отсутствием систематической погрешности, а также хорошей воспроизводимостью результатов при анализе реальных объектов.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы представлены на следующих конференциях: IX международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2017); Всероссийских молодежных конференциях «Достижения молодых ученых: химические науки» (Уфа, 2017); Третьем съезде аналитиков России (Москва, 2017); Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология-2017» (Тула, 2017); XXI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019); VII Всероссийской школе-конференции молодых ученых «Органические и гибридные наноматериалы» (Иваново, 2019).

Личный вклад автора заключался в систематизации литературных данных, участии в общей постановке задач исследования, выполнении экспериментальных исследований, обработке и интерпретации полученных результатов, практической апробации разработанных способов анализа.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 статей в журналах, входящих в Перечень ВАК и индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, 7 тезисов докладов, получен 1 патент РФ.

Структура и объём диссертации.

Диссертационная работа изложена на 130 страницах печатного текста, включает 29 рисунков, 24 таблицы. Состоит из введения, обзора литературы,

экспериментальной части, 4 глав результатов и обсуждений, заключения, библиографического списка, включающего 247 ссылки на работы, приложения, в составе которого 4 рисунка.

Работа выполнялась при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («У.М.Н.И.К.») (договор №11559ГУ/2017 (код 0033770) от 22.05.2017) и гранта РФФИ и Липецкой области в рамках научного проекта № 20-43-480001.

I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Общие сведения об углеродных наноматериалах

Наноматериалы обладают уникальными свойствами, делающими их особенно привлекательными для биосенсорных приложений, поскольку позволяют существенно повысить чувствительность и снизить пределы обнаружения детектируемых соединений. Наиболее часто используются следующие наноматериалы:

- Нанотрубки, наноленты, наностержни (используются в основном в электрохимических и оптических сенсорах)
- Наночастицы, квантовые точки, нанокристаллы (в оптических, электрохимических, в частности иммуносенсорах)
- Наноразмерные пленочные структуры (в оптических, пьезоэлектрических сенсорах) [1-8].

1.1 Углеродные нанотрубки. Строение и свойства

Углеродные нанотрубки представляют собой аллотропную модификацию углерода протяжённой структуры в форме полого цилиндра диаметром в несколько десятков нанометров и длиной до нескольких сантиметров, которая занимает промежуточное положение между графитом и фуллеренами [9]. Нанотрубки были получены в виде побочных продуктов синтеза фуллерена. Сходство УНТ и фуллеренов было доказано при обнаружении фуллереноподобной полусферы на концах нанотрубок. Идеальную (бездефектную) углеродную нанотрубку можно представить, как единичный графеновый лист, свёрнутый в полый бесшовный цилиндр (однослойная углеродная нанотрубка; рисунок 1, а) либо несколько вложенных в друг друга графеновых цилиндров с межслоевым расстоянием 0,34-0,36 нм (многослойная углеродная нанотрубка; рисунок 1, б). Диаметры углеродных нанотрубок обычно составляют от 0,8 до 2 нм и от 5 до 20 нм, соответственно. Длина УНТ достигает нескольких сантиметров [10]. Межслоевое

расстояние в многослойных нанотрубках близко к расстоянию между слоями графена в графите, приблизительно 0,34 нм [9].

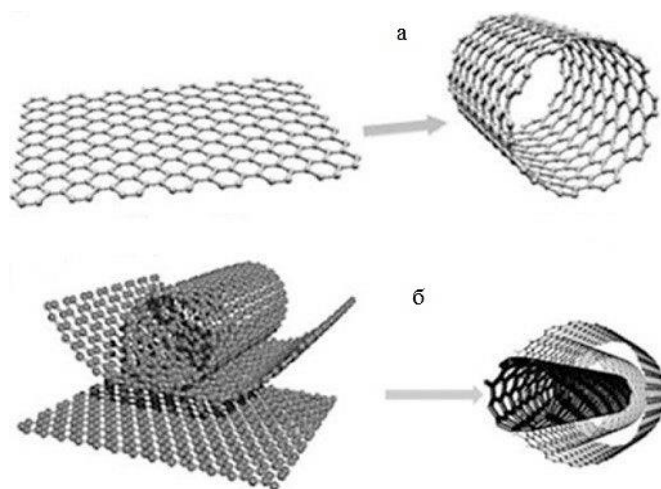


Рисунок 1 – Процесс свёртки графена с образованием структур УНТ: а – однослойная, б – многослойная

При сворачивании многослойной нанотрубки графеновые слои претерпевают множественное количество искривлений, приводящих к широкому разнообразию конфигураций и форм [11].

УНТ обладают совокупностью уникальных свойств, которые используются для решения разнообразных прикладных задач.

Механические свойства.

Экспериментально определены высокие значения прочности и упругости УНТ, кроме того, нанотрубки обладают отличной термической стабильностью. Высокие показатели прочности и упругости УНТ повышают долговечность электрохимических биосенсоров. Большая теплопроводность УНТ выгодна для сенсоров, требующих повышенной теплоотдачи [12].

Проводящие свойства.

Существует прямая зависимость между структурными и электронными свойствами: проводимость нанотрубки зависит от ориентации графитовой плоскости относительно оси нанотрубки. Большинство трубок – полупроводники, но есть и хорошие проводники и даже изоляторы. Однако однослойные УНТ могут,

в зависимости от их хиральности и диаметра, обладать как металлическими, так и полупроводниковыми свойствами. Таким образом, их электропроводность может изменяться в широких пределах.

Выраженная чувствительность электронных характеристик УНТ к присутствию на их поверхности радикалов или сорбированных молекул предполагает возможность создания высокочувствительного сверхминиатюрного сенсора, способного регистрировать малейшие количества различных веществ [13].

Капиллярные эффекты.

Исследования капиллярных явлений выявили связь между величиной поверхностного натяжения жидкости и потенциалом её вовлечения, вовнутрь канала нанотрубки. Было обнаружено, что проникновение жидкости вовнутрь канала нанотрубки возможно при условии, что ее поверхностное натяжение меньше 200 мН/м. Следовательно, для введения каких-либо веществ вовнутрь нанотрубок, необходимо использовать жидкости, которые обладают небольшим поверхностным натяжением. Кроме того, углеродные нанотрубки могут стать дешевым и доступным способом хранения газообразных веществ [14].

Оптические свойства.

Основные оптические свойства массивов УНТ сводятся к возможности пренебрежения эффектами туннелирования; необходимости учёта мультиполей высокого порядка; анизотропии по отношению к поляризации внешнего излучения. Оптические свойства меняются при легировании [15].

Сорбционные свойства.

Нанотрубка, представляется как поверхностная структура, следовательно, вся ее масса сконцентрирована на поверхности слоёв. Данное обстоятельство, обуславливает чрезвычайно развитую удельную поверхность УНТ, которая, предопределяет уникальность их сорбционных и электрохимических свойств [12].

Функционализация углеродных нанотрубок различными органическими молекулами обеспечивает их более селективное взаимодействие с сорбатами. УНТ активно сорбируют многие органические загрязнители окружающей среды, например, сульфамиды [16]. Кроме того, УНТ проявляют высокое сорбционное

средство к ионам тяжелых металлов (никелю, свинцу, меди) [17-18] и фторид-ионам [19]. Некоторые авторы считают, что углеродные нанотрубки со временем могут заметить активированный уголь при сорбционной очистке сточных вод [20].

1.2 Синтез углеродных нанотрубок

Синтез нанотрубок осуществляется различными способами:

- *Метод дугового разряда:* образование углеродных нанотрубок происходит в плазме дугового разряда при тепловом рассеивании графитового электрода, тлеющего в атмосфере инертного газа. Бесспорным преимуществом этого способа является применение простых установок, а также способность массового производства как многослойных, так и однослойных углеродных нанотрубок [21].

- *Метод лазерной абляции:* в атмосфере инертного газа, как правило, гелия, лазерным лучом при высокой температуре испаряют графитовую мишень. Образующиеся пары уносятся из высокотемпературной зоны, попадая на охлаждаемый коллектор, где и происходит формирование нанотрубок в результате конденсации углерода [22].

- *Химическое осаждение из газовой фазы:* метод представляет собой двухэтапный процесс. Стадия получения катализатора — первая стадия, после которой происходит фактический синтез нанотрубки. Обычно катализатор получают погружением, распылением, осаждением из паровой фазы и т. д. На следующей стадии происходит нагревание подложки в газообразной среде, обогащенной углеродом [23].

Кроме того, следует отметить и другие методы синтеза углеродных нанотрубок, которые применяются реже:

- 1) электродуговой метод в присутствии металлического катализатора [24];
- 2) получение из спирта [25];
- 3) химическое обращение твердого полимера в УНТ-содержащий материал [26] и т.д.

Однако выделить в чистом виде УНТ не позволяет ни один из распространенных существующих методов их получения. В качестве примесей в нанотрубках могут присутствовать фуллерены, аморфный углерод, графитизированные частицы, частицы катализатора. Применяют три группы методов очистки УНТ: разрушающие, неразрушающие и комбинированные [12].

Кроме того, используемые в настоящее время методы получения углеродных нанотрубок пока не позволяют синтезироваться УНТ с определёнными геометрическими параметрами – хиральность, диаметр, длина и число слоёв.

1.3 Модификация и функционализация углеродных нанотрубок

Основная проблема большинства методов синтеза заключается в том, что полученные образцы выглядят как неоднородные пучки закрытых нанотрубок с различным диаметром и хиральностью, которые вдобавок загрязнены металлическими и аморфными примесями [27].

Данные обстоятельства, а также химическая инертность и сильное Ван-дер-Ваальсовое взаимодействие между нанотрубками усложняют их использование. Поэтому важно модифицировать углеродные нанотрубки, чтобы максимизировать влияние нужных свойств, облегчить дезагрегацию и повысить их стабилизацию в различных средах [28]. В связи с чем, были разработаны множественные подходы, направленные на решение данной задачи. В настоящее время широкое применение находят способы нековалентной (физической) и ковалентной (химической) функционализации.

Нековалентная функционализация осуществляется путём стабилизации нанотрубок в водной или органической среде в результате комплексообразования с мицеллами, растворимыми полимерами или биомолекулами. Додecilсульфат натрия, triton X-100 и додecilбензолсульфонат натрия входят в группу типичных поверхностно-активных веществ, используемых для образования стабильных дисперсий. Эти реагенты имеют гидрофобное ядро, которое связывается с

поверхностью нанотрубки, что приводит к увеличению стабильности в различных гидрофильных растворителях и воде [29].

Химическая функционализация основана на ковалентном связывании функциональных групп с поверхностью УНТ. Существующие способы, как правило, приводят к открытию торцевых крышечек (фуллереноподобных полушариев), которые обладают большой реакционной способностью. Также происходит формирование функциональных групп на концах и в некоторой степени на боковых стенках нанотрубок, которые могут обладать реакционной способностью, вследствие наличия дефектов, полученных во время роста или непосредственно при модификации углеродных нанотрубок [30].

Реакции фторирования и окисления являются особенно востребованными при модификации УНТ. Фторированные УНТ характеризуются наличием С-Ф связей, которые на порядок слабее, чем, например, в алкилфторидах. Благодаря этому, атом фтора легко замещается на алкильную, гидроксильную и аминогруппы. Для осуществления реакции фторирования достаточно часто используют: ClF_3 , BrF_3 , IF_3 , разбавленный F_2 или его смесь с газообразным HF . Фторированные углеродные нанотрубки содержат на своей поверхности такие функциональные группы как $\equiv\text{CF}$, $>\text{CF}_2$ и $-\text{CF}_3$, которые идентифицируются посредством использования спектральных методов анализа [30-31]. В результате непродолжительной обработки углеродных нанотрубок парами водного раствора HF можно получить поверхность, содержащую около $\sim 8\%$ элементного фтора, при этом связи С-Ф носят полуионный характер, но с увеличением времени характер связывания изменяется до ковалентного.

Другой способ модификации УНТ — кипячение или ультразвуковое воздействие в присутствии окисляющих реагентов. В роли окисляющих реагентов используют: HNO_3 , $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$, KMnO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, H_2O_2 , O_3 и т.д. На поверхности УНТ образуются различные кислородсодержащие группы: $-\text{COOH}$; $-\text{C}=\text{O}$; $-\text{OH}$. Эти функциональные группы позволяют использовать углеродные нанотрубки в качестве прекурсоров для дальнейших химических реакций, таких как: этерификация, тиоляция, прививка полимеров и биомолекул [31]. Однако

окисление может по-разному влиять на различные углеродные нанотрубки, отличающиеся количеством графеновых слоев, геометрическими параметрами и формой.

Раствор азотной кислоты или его смеси с серной кислотой в соотношении 1:3 выступают в роли наиболее производительных модифицирующих агентов по количеству функциональных групп на поверхности нанотрубок. Стандартная методика предполагает кипячение УНТ с обратным холодильником в растворах кислот в промежутке от 6 до 24 часов [32-36]. Однако для сокращения времени проведения процесса, сохранения прочностных характеристик и повышения дезагрегации УНТ всё чаще окисление проводят в комбинации с ультразвуковой обработкой.

В работе [37] показано, что процесс модификации однослойных углеродных нанотрубок в смеси кислот $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (1:3) при ультразвуковом воздействии (рисунок 2) в течение двух часов способствует открытию торцевых крышечек. Кроме того, образуются дополнительные пустоты в боковых стенках.

Нанотрубчатые фрагменты длиной от 100 до 300 нм, концы и боковины которых содержат различные кислородсодержащие группы, преимущественно карбоксильные, являются конечными продуктами.

Изучена продолжительность кислотной модификации на многослойных углеродных нанотрубках с использованием смеси $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (1:3) [38]. Авторы обнаружили, что количество образующихся функциональных групп напрямую зависит от времени процесса окисления. Это значит, что, варьируя время процесса можно контролировать образование кислородсодержащих групп, сохранить исходную структуру и как следствие добиться высокой стабилизации УНТ в органических растворителях и воде.

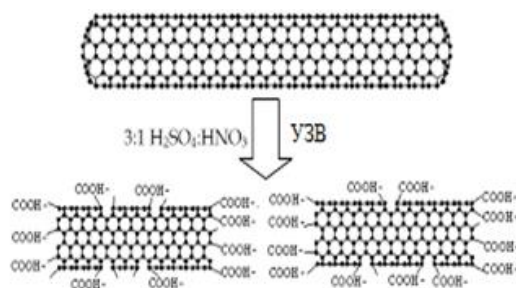


Рисунок 2 – Модификация УНТ в смеси кислот $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (1:3) при ультразвуковом воздействии

Изучена продолжительность кислотной модификации на многослойных углеродных нанотрубках (МУНТ) с использованием смеси $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (1:3) [38]. Авторы обнаружили, что количество образующихся функциональных групп напрямую зависит от времени процесса окисления. Это значит, что, варьируя продолжительность процесса можно контролировать образование кислородосодержащих групп, сохранить исходную структуру и как следствие добиться высокой стабилизации УНТ в органических растворителях и воде.

Для определения концентрации веществ можно функционализировать УНТ, присоединяя к ним необходимые радикалы (рисунок 3).

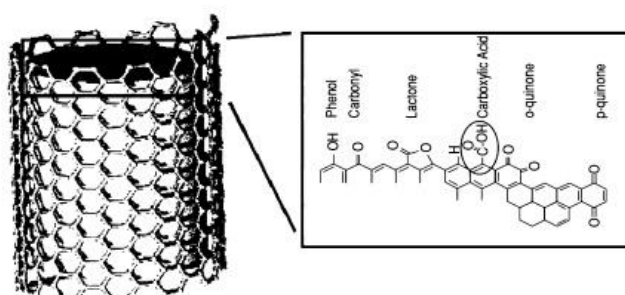


Рисунок 3 – Присоединение радикалов к УНТ

Присоединение возможно осуществлять двумя способами. Первый заключается в окислении с последующей заменой на другие какой-либо группы радикалов на открытом конце или же в местах дефектов трубки. Во втором – УНТ модифицируют с применением соответствующей реакции.

С помощью метода валентных связей объясняется возможность присоединения радикалов к углеродным нанотрубкам. Конфигурацию

электронных оболочек можно описать формулой $1s^22s^22p^2$, следовательно, в результате объединения двух р-орбиталей и s-орбитали образуются три sp^2 -гибридизованные орбитали графита. За слабое взаимодействие между слоями отвечают π -связи, а σ -связи – за сильную ковалентную связь между атомами, и углеродная нанотрубка может присоединять различные радикалы, при этом способны изменяться их оптические и электрические характеристики.

Существует несколько методов функционализации углеродных нанотрубок [39]:

- **Тиолирование.** Образование тиольных групп осуществляется восстановлением карбоксильных групп боргидридом натрия до гидроксильных при взаимодействии с хлористым тиоилом, дальнейшим замещением гидроксила на хлор и обработкой тиомочевинной и гидроксидом натрия (рисунок 4) [40];

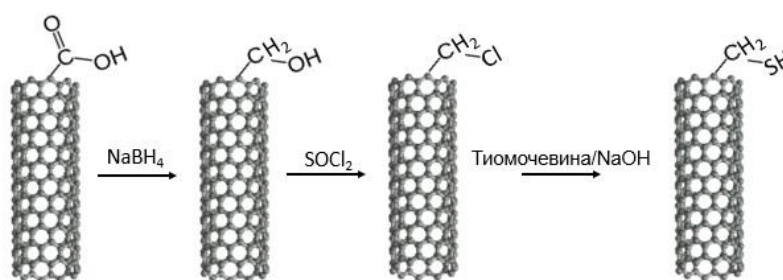


Рисунок 4 – Тиолирование углеродных нанотрубок

- **Силанизация.** Метод осуществляется путём взаимодействия окисленных углеродных нанотрубок с органосиланами. Последовательность протекающих при этом превращений представлена на рисунке 5 [41].

- **Амидирование и этерификация** (рисунок б) могут осуществляться как напрямую, так и с образованием более реакционноспособного хлорангида во время промежуточной стадии [42].

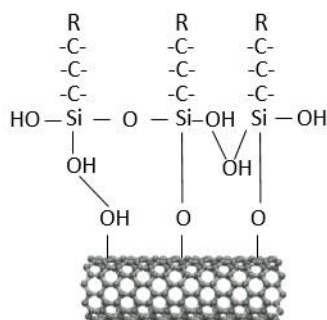
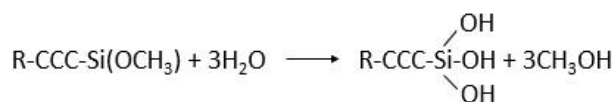


Рисунок 5 – Последовательность реакций силанизации на поверхности окисленных УНТ

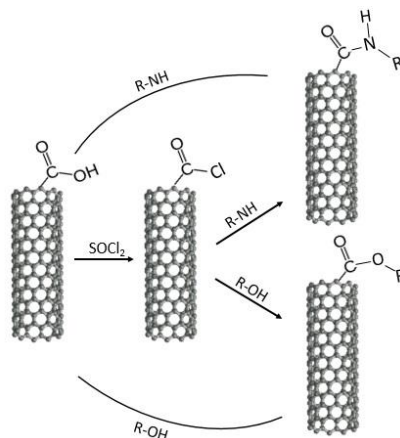


Рисунок 6 – Схема амидирования и этерификации окисленных УНТ

Во втором способе первоначально происходит реакция между хлористым тиоилом и окисленными углеродными нанотрубками [43], затем с алкиламинами, ариламинами, спиртами или производными аминокислот. Дициклогексилкарбодиимид в качестве дегидратирующего агента может быть использован вместо SOCl_2 [44].

В парах алкиламинов при пониженном давлении возможно газофазное прямое амидирование [45]. Амидирование и этерификация наиболее часто применяются для получения форм углеродных нанотрубок, растворимых в различных средах. Возможно повышение сродства УНТ как к неполярным, так и к

полярным жидкостям и матрицам в зависимости от природы радикала, который входит в состав прививаемого спирта или амина.

Кроме того, в настоящее время наблюдается увеличение спроса на функционализированные углеродные нанотрубки по сравнению с нативными. Это связано, в первую очередь с тем, что функционализация способствует более равномерному распределению УНТ в различных матрицах, что снижает их расходные нормы и делает применение УНТ экономически выгодным.

2. Применение углеродных нанотрубок для создания сенсоров

УНТ обладают уникальными физико-химическими свойствами поэтому область их применения достаточно велика. Они применяются как пористый материал в фильтрах и аппаратах химической технологии [46]; в роли носителей катализаторов [47]; в дисплеях и светодиодах (оптическое применение) [48-49]; как капсулы для хранения молекул, нанопипетки, термометры для нанообъектов (капиллярное применение) [12, 50-51]; в качестве наконечника в атомно силовых микроскопах, в роли укрепляющих добавок для конструкционных материалов, как материал для создания сверхпрочных длинных нитей (механическое применение) [51-53]; как добавки в полимеры [54] и т.п.

Малые размеры, прочность, деформационная упругость, высокая сорбционная активность, рекордное значение удельной поверхности, широкий диапазон электрических свойств, химическая стабильность – всё это делает УНТ перспективной основой для создания различных сенсоров [55-67].

Сенсоры, модифицированные углеродными нанотрубками, отличаются широким диапазоном габаритных размеров (от нескольких микрон до нескольких сантиметров), высокой чувствительностью определения, а также возможностью использовать один тип сенсора для измерения таких параметров как температура, давление и деформация без применения каких-либо дополнительных устройств [68].

Одним из главных применений УНТ в наноэлектронике является создание на

их основе сверхминиатюрных сенсоров, например, физических – предназначенных для определения физических величин [68-70]. Использование углеродных нанотрубок в качестве токопроводящих элементов в полимерном композите позволяет использовать непосредственное воздействие давления и температуры на проводимость такого датчика. Кроме того, разработаны физические сенсоры давления и деформации типа «искусственная кожа» на основе гибких пленок из углеродных нанотрубок [71].

Поскольку электрические параметры для каждой конкретной углеродной нанотрубки индивидуальны, то данные, полученные с помощью сенсора, в котором однослойная нанотрубка применяется как самостоятельный датчик, не могут считаться достоверными. Следовательно, наиболее предпочтительно использовать сенсоры на основе множества нанотрубок. В таком случае, рабочие характеристики приобретут стабильность, а размер устройства сохранится небольшим [72-73].

2.1 Газовые сенсоры

В настоящее время газовые сенсоры, созданные на основе различных углеродных наноматериалов, широко исследуются с целью создания приборов с низким энергопотреблением для детектирования различных газов с концентрацией на уровне $\sim 1 \text{ см}^3/\text{м}^3$. Одними из наиболее привлекательных наноматериалов для достижения данной цели стали углеродные нанотрубки, поскольку они обладают рядом уникальных свойств – трехмерной структурой с развитой удельной поверхностью, высокой электрической проводимостью, стабильностью, большой механической прочностью химической устойчивостью, прочностью и малыми размерами.

Кроме того, углеродные нанотрубки характеризуются пористым строением и высочайшей сорбционной способностью, что идеально для адсорбции и сохранения газов. Описанные свойства позволяют применять УНТ в газовых сенсорах сорбционного типа – наиболее многочисленной группе газовых датчиков [74]. Теоретические исследования и моделирование явления адсорбции газов

изложено в работах [75-76].

Чувствительные элементы газовых датчиков могут быть созданы на основе чистых углеродных нанотрубок, но чаще всего необходима их функционализация частицами различных веществ, в частности металлоксидными соединениями [77-80]. Нанотрубки способны повышать скорость каталитических реакций на поверхности оксида металла, изменять характер и величину электрической проводимости полупроводникового оксида. Благодаря введению УНТ в металлоксидный базовый материал или нанесению таких частиц на стенки нанотрубок, возрастает площадь поверхности таких наноконструкций. Кроме того, появляются дополнительные наноканавки в виде полых УНТ, что способствует диффузии газов [81].

Композиты на основе массивов УНТ и оксидов олова являются перспективным материалом при разработке чувствительных элементов газовых сенсоров, поскольку обладают хорошей чувствительностью к различным газам и парам органических соединений [82-83]. В работе [82] слои наноконструкций МУНТ/SnO_x формировали на слоях МУНТ, толщиной 10-20 мкм, двумя способами – осаждением оксидов олова из парогазовой фазы (CVD-метод) и магнетронным напылением (МН-метод) олова с последующим окислением (рисунок 7). Выяснено, что CVD-метод формирования наноконструкций перспективен для создания газочувствительных слоёв на основе УНТ, а МН-метод – для создания газовых наносенсоров на индивидуальных УНТ.

В работах [84-85] описаны газочувствительные сенсоры на основе наноконструкций МУНТ/SnO₂ на пары бутанола и пероксида водорода. Авторами показано, что наноконструктивы обеспечивают достаточно большой газовый отклик сенсора уже при близких к пороговым низким концентрациям целевого газа в воздухе. Минимальная зарегистрированная сенсорами концентрация пероксида водорода составила менее 1 см³/м³. Известны подобные газовые сенсоры полупроводникового типа, чувствительным элементом которых также являются наноконструктивы на основе углеродных нанотрубок и ZnO₂ [86], WO₃ [87], предназначенные для экологического мониторинга воздуха.

В газовых сенсорах для определения оксида азота (IV) на поверхности подложки методом электрофореза формировали цепочки из одностенных углеродных нанотрубок [88], что способствовало значительному повышению степени упорядоченности нанотрубок. Сенсоры характеризуются высокой воспроизводимостью и стабильностью.

Разработаны газовые сенсоры на основе углеродных нанотрубок, декорированных органическими полимерами: этилцеллюлозой, полипирролом, политиофеном, полианилином и др [75, 89], а также металлическими наночастицами: платина, палладий, золото, никель и др. [90-91]. Декорирование необходимо, поскольку подобные газовые сенсоры на основе не функционализированных УНТ обладают малой энергией адсорбции и большим временем восстановления. Это связано с тем, что количество молекул, детектируемых углеродными нанотрубками, весьма ограничено из-за больших энергий связи и переноса заряда.

В работе [92] углеродные нанотрубки выбраны одними из модификаторов поверхности газового пьезоэлектрического сенсора для определения токсикантов в природных водах повышенной солености. Подобный сенсор разработан и для определения содержаний нефтеуглеводородов в грунтах без предварительного пробоотбора и пробоподготовки [93]. Интервал измеряемых концентраций составляет 5-1000 мг/кг. Кроме того, разработан портативный детектор на основе пьезосенсоров, модифицированных углеродными нанотрубками, для определения содержания керосинов в грунтах [94]. Диапазон измеряемых концентраций керосина составил 5–600 мг/кг.

Авторами [95] изготовлены газовые гравиметрические сенсоры на основе окисленных углеродных нанотрубок для определения влажности воздуха. Датчики показали быстрое время отклика и восстановления (49 и 6 с), высокую чувствительность и воспроизводимость.

Представлен масс-чувствительный сенсор [96] (рисунок 7), модифицированный углеродными нанотрубками, для детектирования спиртов при комнатной температуре в режиме реального времени. Применялись сенсоры АТ-среза с собственной частотой колебаний 10 МГц, диаметром 10 мм и толщиной 0,1 мм, с алюминиевыми электродами диаметром 4 мм и толщиной 100 нм. В качестве подложки для УНТ применялся арахидат кадмия (CdA). Выяснено, что применение углеродных нанотрубок повышает чувствительность и воспроизводимость анализа.

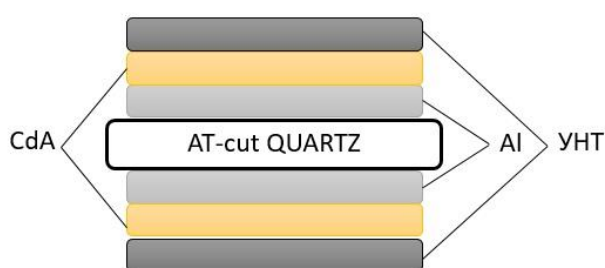


Рисунок 7 – Схема гравиметрического сенсора, модифицированного УНТ

Разработан пьезоэлектрический сенсор [97] для диагностики анаэробных инфекций человека. Показано, что наиболее чувствительными в отношении газомаркёров анаэробной инфекции человека – летучих жирных кислот – в частности уксусной и изовалериановой – являются сенсоры с плёнками метилового оранжевого с углеродными нанотрубками. Получена функциональная зависимость аналитического сигнала сенсора от числа углеродных атомов в нормальных алифатических кислотах, позволяющая прогнозировать сорбционное поведение неисследованных членов гомологического ряда.

Разработаны экспериментальные образцы акустоэлектронных химических сенсоров на базе кварцевых резонаторов с активными слоями на основе массивов углеродных нанотрубок и проверена их чувствительность к различным газам и парам [98]. Также показаны селективные и чувствительные гравиметрические сенсоры на основе углеродных нанотрубок, декорированных молекулами каликс[4]арена, на двуокись углерода [99].

Описаны газовые сенсоры ионизационного типа, на основе углеродных

нанотрубок, которые помогают решить проблему с низкой адсорбционной энергией [100-101]. Принцип действия таких датчиков основан на определении характеристик ионизации газа, полученных при столкновении газовых молекул с ускоренными электронами. С помощью подобных сенсоров удается идентифицировать газы с низкой адсорбционной энергией, поскольку отсутствует химическое взаимодействие и адсорбция между анализируемым газом и сенсорным элементом. Однако такие датчики обладают рядом недостатков: большими габаритами и высоким энергопотреблением.

Кроме того, на основе углеродных нанотрубок разработаны газовые сенсоры ёмкостного типа [102], регистрирующих увеличение ёмкости при поляризации адсорбированных молекул, и газовые сенсоры на основе смещения резонансной частоты [103], принцип действия которых основан на том, что при воздействии газов происходит изменение диэлектрической проницаемости чувствительного элемента с УНТ и, как следствие, сдвиг резонансной частоты.

2.2 Применение углеродных нанотрубок в биосенсорах

2.2.1 Электрохимические сенсоры

Наиболее широкое применение УНТ нашли в электрохимических сенсорах [104-111], поскольку они обладают высокой электрокаталитической активностью, стабильностью, большой удельной поверхностью, химической инертностью, хорошей проводимостью, высокой адсорбционной способностью, механической прочностью, широкой областью используемых напряжений и совместимостью с биомолекулами [112-116]. По конструкционным особенностям разработанные электрохимические сенсоры с УНТ можно разделить на три группы:

- сенсоры, выполненные из композитного материала, в состав которого входят углеродные нанотрубки;
- сенсоры на основе массива углеродных нанотрубок;
- традиционно применяемые электроды, на рабочую поверхность которых нанесены УНТ [117].

Сенсоры, относящиеся ко второй группе, наименее распространены, что связано со сложностью процедуры их создания, требующей специального технологического оборудования [118-119]. Однако с применением данных сенсоров возможно определять амперометрическим методом глюкозу и пероксид водорода [120], ацетаминофен [121] и др.

Сенсоры, относящиеся к первой группе, отличаются более простым способом их создания, который состоит в смешивании нескольких компонентов для изготовления композитного материала. При смешивании УНТ и минерального масла наноматериалы применяются в качестве проводящей добавки, которая, кроме того, улучшает адгезию в электроде. Представленные сенсоры обладают достаточно широкими аналитическими возможностями. С помощью таких химических сенсоров, методами вольтамперометрии и амперометрии, можно определять: гомоцистеин, цистеин, N-ацетилцистеин [122-123], дофамин [124]; ферментных биосенсоров: мочевую и аскорбиновую [114] кислоты (посредством включения в композитный материал глюкозооксидазы).

Для изготовления биосенсоров часто используют угольно-пастовые электроды, поскольку они характеризуются легкостью изготовления, низкой себестоимостью и многофункциональностью [125-129].

Несомненным преимуществом данного подхода в изготовлении электродов из УНТ является возможность регенерации с помощью полировки поверхности модифицированного электрода и отсутствие необходимости растворения углеродных наноматериалов. В работе [130] представлены пастообразные электроды в виде смеси УНТ с минеральным маслом и соответствующим энзимом – алкогольдегидрогеназой, лактатоксидазой, полифенолоксидазой – для определения спиртов, фенолов и молочной кислоты. Обычно пастой, содержащей УНТ, покрывают электроды из золота или стеклообразного углерода. Данный процесс происходит с помощью диспергирования углеродных нанотрубок в серной кислоте или фосфатном буферном растворе либо с помощью поверхностно-активного вещества.

Авторами [131] разработан биосенсор на основе угольно-пастовых электродов с использованием карбоксилированных углеродных нанотрубок и фермента глюкозооксидазы, иммобилизованных включением в гель бычьего сывороточного альбумина. Введение модифицированных УНТ в состав биораспознающей системы способствовало увеличению чувствительности определения глюкозы – нижняя граница определяемых содержаний составила 0,2 мМ, что превосходит известные аналоги и биосенсоры, не содержащие наноматериал. В работе [132] модифицированный наночастицами феррита меди с УНТ электрод из угольной пасты продемонстрировал высокую чувствительность, избирательность, высокую стабильность и воспроизводимость при определении дакарбазина. УНТ ускоряют перенос электронов между электродом и анализируемым раствором, а также увеличивают активную поверхность электрода. Кроме того, авторами отмечена техническая простота и быстрое изготовление данного химического сенсора. Представлен потенциометрический химический сенсор [133] с ион-селективным электродом для количественного определения алюминия в реальных образцах. Углеродные нанотрубки применялись для приготовления чувствительного элемента угольно-пастового электрода (рисунок 8).

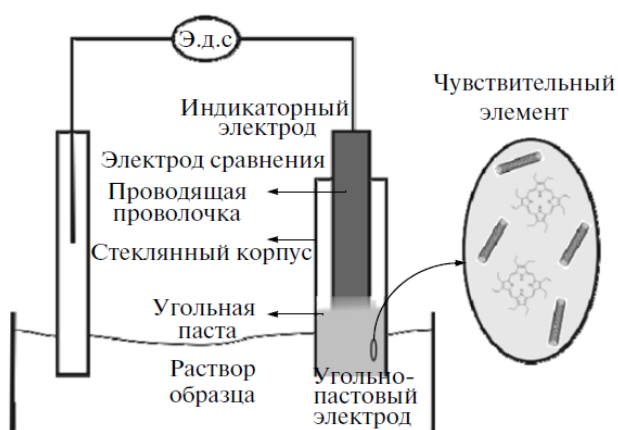


Рисунок 8 – Схематическое представление чувствительного элемента в угольно-пастовой матрице [133]

Выяснено, что при добавлении многостенных углеродных нанотрубок с ростом проводимости сенсора усиливается влияние окислительно-восстановительного процесса на потенциал угольно-пастового электрода.

Введение углеродных наноматериалов в покрытие из композиционного материала или полимера, наносимого на электрод, дает возможность определять различные электроактивные вещества при низком перенапряжении, которое способствует высокой селективности определения в сложных по составу матрицах. В работе [134] показано, что применение УНТ способствует увеличению сигнала глюкозооксидазного ферментного биосенсора на глюкозу более чем на порядок. Кроме того, изготовлены химические сенсоры для определения аминокислот [135], рутина [136] и гидразина [137]. Авторами установлено, что адсорбированные тонкие пленки гематоксилина на УНТ проявляют высокую каталитическую активность в отношении электроокисления гидразина.

Для индивидуального и одновременного определения ионов нитратов и нитритов авторами [138] был предложен электрохимический сенсор на основе платформы из УНТ, меди и восстановленного оксида графена. Для нитрит- и нитрат-ионов предел обнаружения составил 30 и 20 нМ, соответственно. Создан электрохимический сенсор для определения аминокислот и альбумина на основе композитов, содержащих углеродные нанотрубки и медные микрочастицы в минеральном масле [139]. Для улучшения метрологических характеристик в работе [140] при ферментативном определении глюкозы в волокна углеродных нанотрубок встраивали нанослои гидроксида никеля.

Третья группа электрохимических сенсоров обладает наиболее широкими аналитическими возможностями и является самой распространенной. Высокая популярность объясняется, во-первых, многообразием различных видов электродов, которые используют в качестве основы для создания таких сенсоров, а во-вторых, множеством технологических решений, используемых для нанесения УНТ на их поверхность [117].

Наиболее широко применяются способы нанесения углеродных наноматериалов на сенсор с помощью: N,N-диметилформамида [141-142],

поверхностно-активных веществ [143-144], хитозана [145], тиолов [146-147], белков [148-149], сенсоры с нанесением нанотрубок посредством электрополимеризации [150] и т.д. Амперометрические и вольтамперометрические химические сенсоры, на поверхность которых таким способом нанесены углеродные наноматериалы, позволяют определять гемоглобин [151], адреналин [112], морфин [152], тиоцитозин [153], резорцин [154], тирозин [155] и множество других химических соединений. Кроме того, разработаны подобные ферментные биосенсоры с применением холестеророксидаза и ацетилхолинэстеразы на холестерин [156] и ацетилхолин [157], соответственно.

В работе [158] предложены три различных способа нанесения углеродных нанотрубок на поверхность дискового стеклоуглеродного электрода: нанесение УНТ в виде суспензии с ионной жидкостью, осаждение УНТ из смеси с изоникотиновой кислотой в потенциодинамическом режиме и нанесение суспензии УНТ в этанольном растворе ионопроводящего полимера Нафион. Процесс формирования всех электродных покрытий контролировался методом циклической вольтамперометрии. Показано, что электроды с полученными покрытиями характеризуются сильно выраженными катионообменными свойствами по сравнению с немодифицированными электродами.

Показаны возможности и преимущества покрытия стеклоуглеродного электрода на основе многостенных углеродных нанотрубок [159-161]. Выяснено, что наноматериалы не только увеличивают стабильность и количество иммобилизованного фермента, но и улучшают каталитическую активность белка и ответ сенсора.

Описано электрохимическое поведение пленки комплексного соединения меди, иммобилизованной на поверхность стеклоуглеродного электрода, модифицированного многостенными углеродными нанотрубками [162]. Авторами установлено воспроизводимое поведение и высокая устойчивость во время электрохимического определения L-цистеина. Диапазон определяемых содержаний составил 0,5-100 мкМ, наименьшая определяемая концентрация – 0,1 мЕМ.

В статье [163] описан электрохимический иммуносенсор с использованием однослойных углеродных нанотрубок, диспергированных в матрице хитозана (получали обработкой ультразвуком 1 мг ОУНТ в 1 мл 0,1% хитозана в 1% уксусной кислоте), для получения ферментного биосенсора на галактозу с применением галактозидазы.

Печатные электроды крайне чувствительны к изменению окружения углеродных нанотрубок, что делает их чрезвычайно востребованными инструментами для детекции молекул. В работе [164] методом трафаретной печати разработаны химические сенсоры на основе углеродных материалов для потенциометрического определения додецилсульфата натрия в водных объектах. Установлено, что наименьший предел обнаружения ($2 \cdot 10^{-7}$ М) и время отклика (6 с) достигается при использовании планарного сенсора на основе углеродных нанотрубок и |CuSalen|ДДС.

Опубликована работа [165] по разработке бумажного электрохимического иммуносенсора на основе УНТ конъюгированных с антителами для определения патогенных микроорганизмов пищевого происхождения, предел обнаружения составил 13 КОЕ мл⁻¹, время анализа ~30 мин. Авторами [166-167] внедрена методика распознавания бактерий *E. coli*, *Salmonella* и *Campylobacter* методом анодной инверсионной вольтамперометрии с помощью многослойной иммунологической системы с применением многостенных УНТ, модифицированных путем обработки азотной кислотой при ультразвуковом воздействии, на которых проводили иммобилизацию антител к бактериям. Данная электроаналитическая система дает возможность снизить пределы обнаружения: 800 клеток/мл – для *E. coli*, 400 клеток/мл – для *Salmonella* и *Campylobacter*, линейный диапазон определяемых концентраций – $1 \cdot 10^3$ – $5 \cdot 10^5$ клеток/мл.

Конъюгирование наночастиц благородных металлов с другими наноматериалами являются привлекательной областью исследований в области нанобиотехнологий [168-170]. Кроме того, иммобилизация соединений переходных металлов на углеродных нанотрубках повышает каталитическую активность модифицированных поверхностей [171-175].

Разработаны биосенсоры с чрезвычайно высокой чувствительностью, что достигается за счет создания распознающего слоя на основе электростатически адсорбированных на многослойных углеродных нанотрубках положительно заряженных наночастиц золота [176-177]. В работе [176] гемоглобин проявляет свойства фермента и действует в качестве биокатализатора при восстановлении нитрита.

Авторы [178] представили амперометрические моноаминоксидазные биосенсоры на основе печатных графитовых электродов, модифицированных МУНТ, наночастицами золота и серебра. Диспергированные в диметилформамиде углеродные нанотрубки (1 мг/мл) наносили на рабочую поверхность электрода методом капельного испарения. Диапазон определяемых содержаний составил $5 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ М, нижняя граница определяемых концентраций – $8 \cdot 10^{-10}$ М. В работе [179] показано сочетание наноструктурированных углеродных материалов и наночастиц серебра в комбинации с гиперразветвленными полиэфирополиолами в составе ферментных биосенсоров. Наблюдалось улучшение аналитических и операционных характеристик моноаминоксидазных биосенсоров – расширение интервала рабочих концентраций и уменьшение нижней границы определяемых содержаний ($3 \cdot 10^{-9}$ М).

Особый интерес в электросенсорике представляют УНТ, модифицированные различными функциональными группами, в частности – карбоксильными, поскольку они позволяют существенно повысить скорость переноса электронов. В работе [180] исследовались электрохимические свойства сенсора, который представлял собой стеклоуглеродный электрод, покрытый однослойными углеродными нанотрубками, модифицированными карбоксильными группами. Данный химический сенсор продемонстрировал электрокаталитическое действие углеродных нанотрубок при окислении адреналина, дофамина и аскорбиновой кислоты.

Разработаны импедансные иммуносенсоры на основе УНТ для безметочного обнаружения антител к токсину холеры [181], толщина слоя УНТ, поверхность которых покрывали пленкой поли-N-винил-2-пирролидона в растворе соли при

ультразвуковой обработке, контролировалась лазерной микроскопией и электрохимическими методами.

Высокоорганизованная наноструктура углеродных нанотрубок и их способность ускорять электродные реакции способствуют их широкому применению для модификации ДНК-сенсоров [182-189]. Использование УНТ в таких сенсорах представляет значительный интерес, поскольку дает возможность прямого детектирования ДНК в отсутствие меток или индикаторов. В качестве аналитического сигнала в таких биосенсорах обычно используют ток окисления нуклеотидов [190]. Кроме того, применение в качестве подложки электрода, покрытого многостенными углеродными нанотрубками, дает дополнительные преимущества при регистрации специфических взаимодействий с участием ДНК, связанные с увеличением емкости поверхностного слоя в отношении биологических компонентов, а также с участием УНТ в медиаторном переносе электрона [191-192].

Методы модификации электрохимических сенсоров для детекции нуклеиновых кислот можно условно разделить на ковалентные, нековалентные и электростатические – в этом случае получают композит УНТ с аминокислотными полимерами или покрывают ими нанотрубки [193].

В работе [190] выяснено, что ДНК-сенсоры, на основе предварительно окисленных многостенных углеродных нанотрубок, обладают воспроизводимыми электрохимическими свойствами и могут применяться как для прямого детектирования ДНК, так и в качестве преобразователей при создании электрохимических ДНК-сенсоров. Предложены импедиметрические ДНК-сенсоры на основе электродов, модифицированных углеродными нанотрубками и поли(метиленовым синим) [194]. Представленные сенсоры позволяют проводить определение 10^{-9} – 10^{-6} М тромбина.

Применение УНТ в электрохимических сенсорах способствует существенному повышению чувствительности определений [114, 152, 155]. Кроме того, уменьшается время анализа [123] и происходит изменение электрических потенциалов, соответствующих протекающим окислительно-восстановительным

процессам [112, 154]. Для каждого вещества характерно своё изменение электрических потенциалов, в результате чего происходит разделение их сигналов при одновременном присутствии в пробе [195-196], что способствует повышению селективности определения.

2.2.2 Оптические сенсоры

Благодаря сверхминиатюрным размерам, полупроводниковым свойствам, хорошей электропроводности, высоким эмиссионным характеристикам и способности присоединять к себе химические радикалы углеродные нанотрубки нашли применение в оптических сенсорах. Однако в данных устройствах УНТ применяются значительно реже, чем в электрохимических.

Некоторые углеродные нанотрубки имеют свойства прямозонных полупроводников, следовательно, для них характерно явление рекомбинации электрон-дырочных пар, которое приводит к испусканию фотона. Такие УНТ обладают оптическими свойствами.

В работе [197] исследуется взаимодействие квазичастиц, состоящих из пары электрон-дырка в связанном состоянии, с фотонами, падающими на нанотрубку – экситонов. Показано, что возможно достичь деформации экситонов при воздействии падающего на нанотрубку света возможно в том случае, когда свет распространяется вдоль нанотрубки. Чтобы добиться такого эффекта, нанотрубки обрабатывают искусственно созданными ДНК, чтобы они не «слипались» друг с другом. После этого их заливают полимером, в котором они располагаются в одном направлении. Такой метод позволяет использовать нанотрубки в наносенсорах и биомедицинской диагностике.

В работе [198] сообщается о флуоресцентном химическом сенсоре для определения гипохлорита. Сенсор основан на комплексе европия, который ковалентно связан с ОСНТ. Авторами [199] разработан оптический сенсор на основе многостранных углеродных нанотрубок, модифицированных тиолами, для

высококочувствительного и селективного определения метанола, этанола, пропанола и бутанола.

Представлен [200] электрохемилюминисцентный сенсор, характеризующийся хорошей стабильностью и высокой чувствительностью в присутствии трипропиламина.

Углеродные нанотрубки также были испытаны в качестве чувствительного слоя для оптических датчиков относительной влажности на основе волоконных брэгговских решеток (ВБР). УНТ, нанесенные на вытравленную ВБР, обеспечивают самую высокую чувствительность измерения относительной влажности, которая составляет 31 пм/%. Однако стоимость таких датчиков относительно высока [201].

В работе [202] показана возможность применения углеродных нанотрубок для изготовления детектора инфракрасного излучения, установлена высокая чувствительность полученных сенсоров в ближней и средней области инфракрасного излучения.

Представлен оптический сенсор ближнего инфракрасного диапазона на основе однослойный углеродных нанотрубок для определения β -D-глюкозы [203]. Эмиссия электронов с УНТ наблюдается при абсорбировании биомолекул. Показаны два различных механизма передачи сигнала – тушение люминесценции и перенос заряда. Подобные флуоресцентные сенсоры на основе ОУНТ были разработаны для прямого селективного определения в реальном времени оксида азота (II) [204], глюкозы [205-206], ДНК [207] и двухвалентных ионов [208-209].

Создан оптический сенсор на основе поверхностного плазмонного резонанса [210], включающий подложку, металлическую плёнку, на которую нанесён тонкий промежуточный связующий слой из углеродных нанотрубок толщиной 0,3-2000 нм и адсорбированный на УНТ биоспецифический слой – слой из комплекса биологических молекул или слой молекул связывающего партнера анализируемого вещества. При работе такого биологического сенсора в качестве анализируемого вещества могут использовать молекулы протеинов, липидов, ДНК, РНК, вирусы, клетки, бактерии или токсины, а также химические модификации приведенных

веществ. Авторами установлено, что в сочетании с высокой биоспецифичностью достигается высокая чувствительность данного биосенсора, расширяется спектр применения устройства, осуществляется защита металлической плёнки от воздействия внешней среды, появляется возможность детектирования крупных биологических объектов.

Флуоресцентный сенсор на основе аптамера применялся для селективного распознавания микроцистинов на основе однослойных углеродных нанотрубок в качестве иммобилизаторов [211]. Метод зондирования был разработан для получения интенсивности флуоресценции в отсутствии и наличии микроцистинов. В оптимизированных условиях представленный аналитический подход показал высокую селективность по отношению к анализируемым веществам с пределом обнаружения 138 пМ.

В работе [212] представлены флуоресцентный оптический ДНК-биосенсор, модифицированный однослойными УНТ. Углеродные нанотрубки позволяют эффективно тушить флуоресценцию красителя, связанного с ДНК, что позволяет определять ион Hg^{2+} с высокой селективностью и чувствительностью.

В области оптики также актуальной задачей является создание пленок из углеродных нанотрубок. Такие плёнки могут быть применены в оптических приложениях ввиду необходимости создания покрытия с максимально высоким коэффициентом поглощения излучения, например, в качестве чувствительного элемента оптических сенсоров различного диапазона – ИК [213] и ТГц [214]. Существуют два способа создания таких пленок – химический (формирование необходимой структуры путём изменения физико-химических свойств УНТ) и физический (формирование необходимой структуры в процессе синтеза УНТ).

2.2.3 Гравиметрические сенсоры

Несмотря на широкий ряд достоинств гравиметрических сенсоров, применение углеродных нанотрубок в них наблюдается достаточно редко. Однако их рекордная величина удельной поверхности, а также совместимость с

биомолекулами, делают углеродные нанотрубки перспективной основой для создания сверхминиатюрных гравиметрических сенсоров. Авторами [215] выяснено, что при нанесении на поверхность кварцевых резонаторов тонкой пленки углеродных нанотрубок повышается добротность – мера отношения индуктивности сенсора к его сопротивлению по постоянному току – первых, что является чрезвычайно важным, поскольку добротность сенсора прямо пропорциональна его чувствительности.

Представлен пьезоэлектрический ДНК-биосенсор на основе углеродных нанотрубок для безметочного обнаружения генетически модифицированных микроорганизмов [216]. Нижняя граница определяемых содержаний составила 4 пМ.

Кроме того, существуют гравиметрические сенсоры, состоящие из одной углеродной нанотрубки, которая имеет двойную стенку для обеспечения однородных электрических свойств и повышенной жёсткости и источник напряжения постоянного тока, например, от батареи или солнечной батареи, подключаемый к электродам. В [217] сенсоры массы в виде наномеханических резонаторов использовались для взвешивания клеток, биомолекул и молекул газа. Резонатор представлял собой углеродную нанотрубку длиной ~ 150 нм, которая вибрирует с частотой почти 2 ГГц.

В работе [218] предложено использовать углеродную нанотрубку в качестве датчика, совершающего механические колебания. По мнению авторов, благодаря уникальным свойствам углеродных нанотрубок такой резонатор будет обладать сверхвысокой частотой работы, низким уровнем фазового шума высокой добротностью.

Представлен пьезоэлектрический иммуносенсор для определения иммуноглобулина класса G [219]. Платиновый электрод кварцевого резонатора модифицировали окисленными однослойными углеродными нанотрубками, после чего проводили активацию карбоксильных групп растворами EDAC и NHS. Также разработаны иммуносенсоры, модифицированные нанокompозитом, включающим гидроксипатит, поли-L-лизин и углеродные нанотрубки, для определения

опухолевого маркера СА 19-9 [220]. Диапазон определяемых концентрация составил 12,5-270,0 ЕД/мл.

* * *

Таким образом, обзор публикаций показал, что наноматериалы обладают множеством уникальных свойств, которые делают их привлекательными для биосенсорных приложений, поскольку позволяют существенно снизить пределы обнаружения детектируемых соединений и повысить чувствительность. В настоящее время благодаря сверхвысокой удельной поверхности, а также уникальным механическим, структурным, оптическим и электронным свойствам УНТ активно исследуются для применения в электрохимических, оптических и пьезоэлектрических сенсорах. Кроме того, сенсоры на основе УНТ могут быть функционализированы путем сопряжения нескольких компонентов, что приведет к усилению процессов распознавания и передачи сигнала.

Очевидно, что пьезоэлектрические иммуносенсоры на базе УНТ изучены недостаточно: не решено множество проблем, которые препятствуют их использованию на практике. В частности, это касается проблем создания устойчивого распознающего слоя, позволяющего осуществлять многократное измерение аналитического сигнала после регенерации, повышения поверхностной концентрации активных центров распознавания для определения широкого круга антибиотиков в продуктах питания, биологических жидкостях и фармацевтических препаратах.

II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3. Реагенты, аппаратура, техника экспериментов

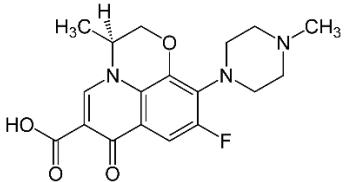
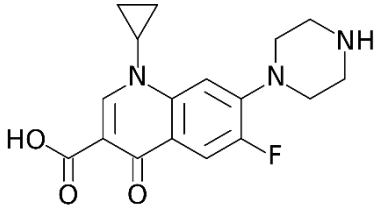
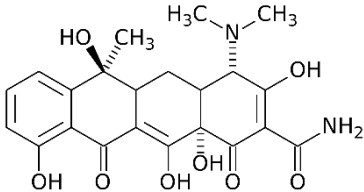
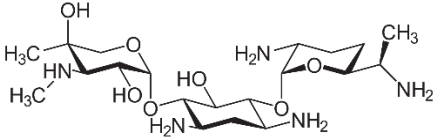
3.1 Объекты исследования, реагенты и иммунореагенты

В качестве объектов исследования выбраны фторхинолоновые антибиотики - левофлоксацин (**Lev**), ципрофлоксацин (**Cip**), аминогликозидные антибиотики - гентамицин (**Gent**), стрептомицин (**Str**), канамицин (**Kana**), тетрациклин (**Tetr**) («Sigma», США), полимиксин Е (**Poly**) («Кселлия Фармасьютикалс АпС», Дания), ациклический алкалоид колхицин (**Col**) (предоставлены Ерёмным С.А., МГУ им. М.В. Ломоносова), рактопамин (**Ract**) («Sigma-Aldrich», Великобритания) (таблица 1).

Для иммунохимического определения применяли поликлональные антитела к левофлоксацину - **Ab:Lev**, ципрофлоксацину – **Ab:Cip**, полимиксину - **Ab:Poly**, колхицину - **Ab:Col** (предоставлены Ерёмным С.А., МГУ им. М.В. Ломоносова), тетрациклину - **Ab:Tetr**, гентамицину - **Ab:Gent** («Abcam», Великобритания), стрептомицину - **Ab:Str**, канамицину - **Ab:Kana** (Королевский колледж, Великобритания) и моноклональные антитела к рактопамину **Ab:Ract** («Sigma-Aldrich», Великобритания).

При формировании распознающего слоя применялись многостенные углеродные нанотрубки, полученные в Институте проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов РАН (Черноголовка) методом каталитического пиролиза паров этанола при 400-550°C. В качестве катализаторов использовали железо (УНТ-1) и никель (УНТ-2). В последнем случае предкатализатором служил нитрат никеля, который непосредственно перед осаждением УНТ термически разлагали до металла [221]. Кроме того, применялись углеродные нанотрубки, полученные методом ГХО на Fe-Co катализаторе в Институте катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения РАН (ИК СО РАН) (г. Новосибирск) и предоставленные к.х.н. Кузнецовым В.Л., а также углеродный наноматериал «Таунит» производства ООО «НаноТехЦентр» (г. Тамбов) (таблица 2).

Таблица 1 – Объекты исследования

Название	Фармакологическая группа	Формула	Применение
Левифлоксацин	Хинолоны/ Фторхинолоны		Для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний (инфекции мочевыводящих путей, хронический бактериальный простатит, инфекции кожных покровов), бактериальных инфекций глаз
Ципрофлоксацин	Хинолоны/ Фторхинолоны		Для лечения инфекций: дыхательных путей, лор-органов, мочеполовой системы, желчного пузыря и желчевыводящих путей, кожи и мягких тканей, суставов и т.д.
Тетрациклин	Тетрациклины		Для лечения бактериальных инфекций: мочеполовых органов, кожи и мягких тканей, глаз, актиномикоза, сыпного тифа, сифилиса и т.д.
Гентамицин	Аминогликозиды		Для лечения инфекций: верхних и нижних дыхательных путей, костей и суставов, кожи и мягких тканей, абдоминальных инфекций, ожоговых инфекций, и т.д.

Окончание таблицы 1

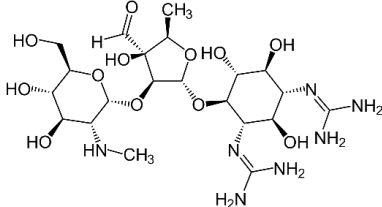
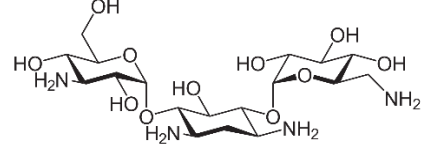
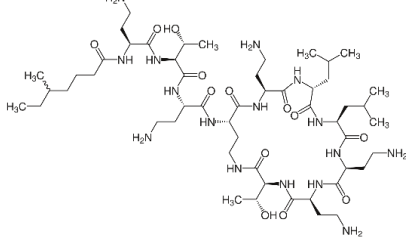
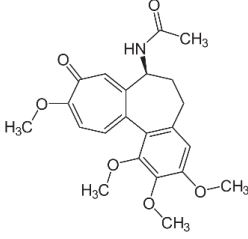
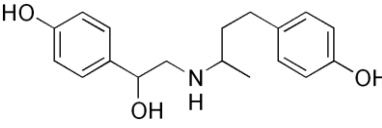
Стрептомицин	Аминогликозиды		Для лечения туберкулеза, венерической гранулемы, чумы, бактериального эндокардита, кишечных инфекций и инфекций мочевыводящих путей и т.д.
Канамицин	Аминогликозиды		Для лечения туберкулеза, инфекций ЖКТ, желчевыводящих путей, суставов, органов дыхания, кожи и мягких тканей и т.д.
Полимиксин Е (колистин)	Полимиксины		Для лечения инфекций: мочевыводящих путей, нозокомиальных, нижних дыхательных путей, менингита, сепсиса, хирургической патологии.
Колхицин	Средства, влияющие на обмен мочевой кислоты		Для лечения острого подагрического приступа, системной склеродермии, амилоидоза, болезни Бехчета.
Рактопамин	β -агонисты		В качестве кормовой добавки для увеличения мышечной массы у свиней и крупного рогатого скота, для снижения жира в мясе, улучшения конверсии корма.

Таблица 2 – Характеристики углеродных нанотрубок

УНТ	d, нм	L, мкм	S, м ² /г
M-1L (Новосибирск)	7,8	30-50	~360
M-2L (Новосибирск)	10	30-40	~240
«Таунит» (Тамбов)	20-50	≥ 2	≥ 160
1 (Черноголовка)	20-40	2-10	160-180
2 (Черноголовка)	50-80	2-10	160-180

Органические реактивы: этанол 96,4 % (х.ч., ОАО «Метафракс», Россия), диметилформамид (х.ч. «Mersk», Германия), ацетон (о.с.ч., «Química», Испания), толуол, пентан, ацетонитрил («ЭКОС-1», Россия). Для синтеза конъюгатов применяли бычий сывороточный альбумин («ПанЭко», Россия).

Для создания суспензий углеродных структур при проведении анализа методом ИК-спектроскопии использовали вазелиновое масло (ООО «ЮжФарм», Россия).

Неорганические реактивы: серная ($\rho = 1,836 \text{ г/см}^3$), соляная ($\rho = 1,198 \text{ г/см}^3$) и азотная ($\rho = 1,513 \text{ г/см}^3$) кислоты, хлорид натрия, гидроксид аммония, пероксид водорода, калий двухромовокислый, бромид калия, перманганат калия, сульфат аммония (х.ч., «Реахим», Россия), гидроксид натрия, железо (II) сернокислое 7-водное, калий надсернокислый, фтороводородная кислота («ЛАБТЕХ», Россия). Для приготовления регенерирующих растворов использовали тиоцианат калия (х.ч., «Реахим», Россия).

Фосфатный буферный раствор, pH = 7.2, готовили растворением 8,0145 г NaCl, 0,2012 г KCl, 2,864 г $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 0,204 г KH_2PO_4 в 1 л бидистиллированной воды, боратный буферный раствор, pH=8,0 – 0.95 г $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 1.00 г Na_3B 1 л бидистиллированной воды.

Для получения рецепторных покрытий использовали 2-амино-3-меркаптопропионовую кислоту (цистеин) и 2-меркаптоэтиламин (цистеамин).

3.2 Приборы и оборудование

В качестве физического преобразователя использовали пьезокварцевые резонаторы АТ-среза с собственной частотой колебаний $10 \text{ МГц} \pm 1 \text{ Гц}$ с золотыми электродами (диаметр 4 мм) (ЗАО «ЭТНА», Россия). Аналитический сигнал сенсора регистрировали в статическом режиме на измерительной установке СРНА-330 (ЗАО «ЭТНА», Россия) (рисунок 9), в проточно-инжекционном режиме на установке, состоящей из проточной ячейки объемом 15-20 мкл, обеспечивающей контакт с анализируемой пробой только одной стороны сенсора, на поверхности которого были иммобилизованы иммунореагенты, перистальтического насоса («КНАУЕР», Германия), цифрового модуля ДиСкоп («Бафика», Россия), дозатора и персонального компьютера (рисунок 10).

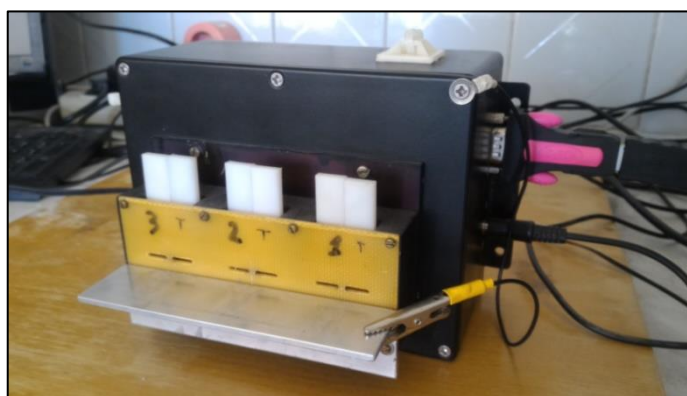


Рисунок 9 – Измерительная установка СРНА-330

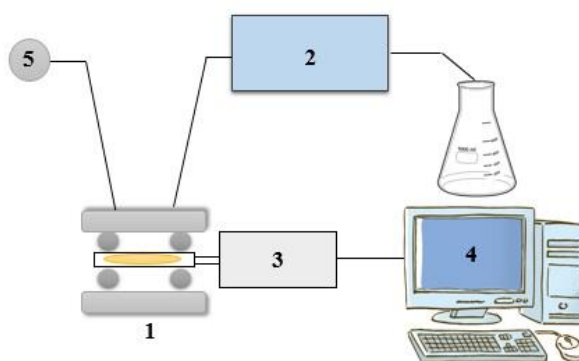


Рисунок 10 – Схема установки для проточно-инжекционного анализа:

1 – проточная ячейка, 2 – перистальтический насос, 3 – цифровой модуль ДиСкоп,
4 – персональный компьютер, 5 – дозатор

Микрокамерку с насосом и дозатором соединяли силиконовые трубки диаметром 0,16 мм. В качестве раствора-носителя использовали фосфатный буфер (рН=7.2).

Частота колебаний кварцевого резонатора связана с массой нанесенного на его поверхность покрытия с помощью уравнения Зауэрбрея (Sauerbrey):

$$\Delta f = -\frac{2f_0^2}{A\sqrt{\mu \cdot \rho_q}} \Delta m$$

где Δf – изменение частоты колебания пьезоэлектрического резонатора (Гц), f_0 – его собственная частота колебаний, A – площадь поверхности электродов, ρ_q – плотность кварца (2.65 г/см³), μ – модуль сдвига кварца (2.95*10¹¹ дин/см²) и Δm – изменение массы резонатора при нанесении покрытия или при связывании субстрата. Таким образом, масса биослоя (мкг) равна:

$$\Delta m_{\text{пл}} = 1,23 \cdot \Delta f'$$

Ультразвуковую обработку углеродных наноструктур осуществляли в ультразвуковой ванне («ПСБ-Галас», Россия).

При обработке УНТ для их осаждения, а также отделения надосадочной жидкости при пробоподготовке пищевых продуктов и биологических жидкостей применяли центрифугу («MPW», Польша).

Для сушки УНТ использовали сушильный шкаф SNOL 67/350 (Литва).

Взвешивание препаратов проводили на аналитических весах VIBRA HT-220SE (Япония) с точностью измерения массы $\pm 1 \times 10^{-4}$ г.

ИК-спектрометрические исследования окисленных УНТ и исходных наноматериалов осуществляли с применением ИК-спектрометра («Shimadzu I Raffinity-1», Япония).

Исследование морфологии поверхности электрода и распознающего слоя сенсора проводили с помощью атомного силового микроскопа SOLVER P47-Pro (ЗАО «Нанотехнология-МДТ», Зеленоград, Россия) в режиме прерывистого

контакта на воздухе с использованием кантилеверов NSGO 1/20 (Зеленоград, Россия), резонансной частотой сканирования в диапазоне 120–180 кГц. Получены 2D, 3D – изображения поверхности. Поверхность обрабатывали с помощью фильтров программы “NOVA”.

3.3 Методики окисления и функционализации углеродных нанотрубок и формирования распознающего слоя

Окисление УНТ проводили следующими способами:

Способ 1. УНТ (1 мг) обрабатывали ультразвуком в течение 1 часа, затем добавляли 1 мл раствора азотной кислоты ($\rho=1,513 \text{ г/см}^3$) и продолжали обработку УЗ в течение 1 часа; после чего при температуре 50°C обрабатывали еще 1 час с добавлением 1 мл серной кислоты ($\rho=1,836 \text{ г/см}^3$).

Способ 2. УНТ обрабатывали при 130°C 2 М раствором азотной кислоты ($\rho=1,513 \text{ г/см}^3$) до прекращения выделения паров NO₂. Затем 1 мг УНТ растворяли в 10 мл бидистиллированной воды и выдерживали в ультразвуковой ванне в течение 20 мин.

Способ 3. К УНТ (1 мг) добавляли 400 мкл 0,5 М раствора K₂Cr₂O₇. Полученную смесь обрабатывали УЗ в течение 4 ч при 80°C. Затем добавляли 600 мкл раствора HNO₃ ($\rho=1,513 \text{ г/см}^3$) и обрабатывали УЗ в течение 1 ч.

Способ 4. К 1 мг УНТ добавляли 5,24 мг KMnO₄ и 0,5 мл 0,5 М H₂SO₄. Реакционная масса обрабатывалась в ультразвуковой ванне в течение 4 ч при 40-45°C. Затем промывали УНТ дистиллированной водой и высушивали.

Способ 5. К 1 мг УНТ добавляли 750 мкл 0,2 М раствора K₂S₂O₈. Затем вводили 125 мкл H₂SO₄ ($\rho=1,836 \text{ г/см}^3$) и выдерживали 24 часа при 60°C.

Способ 6. К 1 мг УНТ добавляли 115 мкл толуола и выдерживали в УЗ-ванне в течение 45 мин. Полученную суспензию фильтровали, промывали пентаном, после чего высушивали при 80 °С. К сухому остатку добавили 300 мкл H₂O и выдерживали в УЗ-ванне 30 мин. После чего добавляли 100 мкл H₂O₂ (30%) и 0,5 г

$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (реактив Фентона), оставляли редакционную массу на 24 ч [222].

Способ 7. УНТ (1 мг) растворяли в 50 мкл 25% раствора аммиака и обрабатывали УЗ в течение 2 мин. Затем к полученной суспензии добавляли 50 мкл H_2O_2 (30%) и проводили обработку УЗ 3 часа при 20-22 °С.

Способ 8. К 1 мг УНТ добавляли 800 мкл смеси HNO_3 ($\rho=1,513 \text{ г/см}^3$) и H_2SO_4 ($\rho=1,836 \text{ г/см}^3$) кислот, взятых в соотношении 1:3, и обрабатывали УЗ в течение 3 ч при температуре 50°С.

Аминирование УНТ проводили следующими способами:

Способ 1. Предварительно карбоксилированные УНТ высушивали. Затем к УНТ добавляли 25%-ный раствор гидроксида аммония и выдерживали при температуре 30 °С в течение 5 мин.

Способ 2. Карбоксилированные УНТ высушивали, помещали в U-образную трубку и при медленном нагревании на водяной бане подвергали длительному воздействию парами аммиака.

Для тиолирования УНТ карбоксилированные трубки высушивали, помещали в эппендорф и добавляли 500 мкл 0,01% раствора цистеина. Затем обрабатывали ультразвуком в течение 2,5 ч при 90 °С.

Для фторирования УНТ «Таунит» навеску углеродного материала массой 1 г смешивали с 3 мл концентрированной HCl (36%, $\rho=1,179$) и выдерживали в течение 24 ч. Далее промывали дистиллированной водой и высушивали в сушильном шкафу при 55° С в течение 6 часов. Затем над 1 мг УНТ пропускали пары водного раствора HF (40%) при температуре 115° С в интервале от 30 до 60 мин.

Смеси, содержащие модифицированные УНТ, многократно центрифугировали и промывали водой до нейтральной реакции среды, после чего УНТ высушивали до постоянной массы и переводили в коллоидный раствор с помощью ДМФ.

Растворы углеродных нанотрубок и углеродного наноматериала разбавляли в соотношении 1:2 (500 мг/л), 1:5 (200 мг/л), 1:7 (144 мг/л), 1:10 (100 мг/л), 1:20 (50 мг/л) и УНТ подвергали ультразвуковой обработке в течение 40 мин.

Для проведения анализа методом ИК-спектроскопии 1 мг обработанных углеродных наноструктур высушивали при 110° С и смешивали с вазелиновым маслом.

Синтез антибиотик-белковых конъюгатов:

Антибиотик-белковые конъюгаты синтезировали методом карбодиимидной конденсации: к 5 мг BSA (0.07 мкмоль) в 2.5 см³ дистиллированной воды прибавляли 6 мкмоль антибиотика и 30 мг EDAC (156 мкмоль). Реакционную массу выдерживали 4 часа при комнатной температуре, а затем 16 часов при 4 °С. Конъюгаты очищали путём диализа против 0.2% раствора NaCl в воде в течение 7 дней, периодически меняя раствор (рисунок 11).

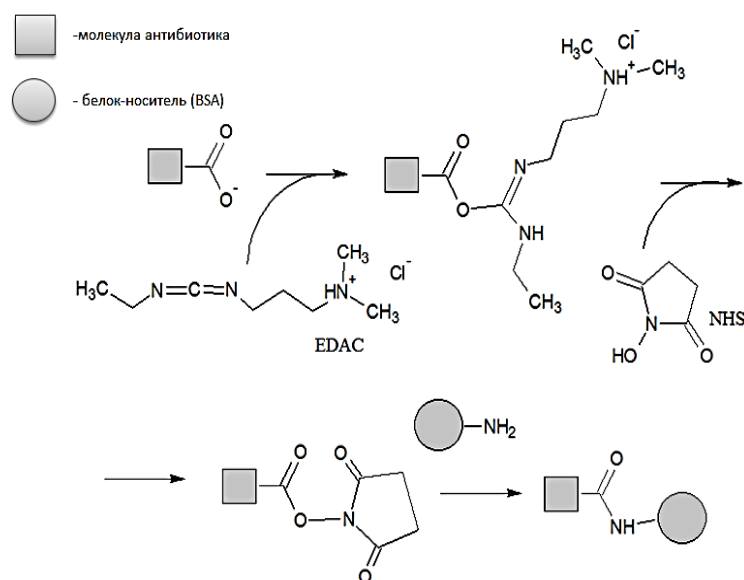


Рисунок 11 – Схема синтеза конъюгатов с бычим сывороточным альбумином методом карбодиимидной конденсации

Синтез наночастиц золота:

При синтезе в условиях микроволнового нагрева к раствору золотохлористоводородной кислоты (0,4 М) добавляли восстановитель боргидрид натрия (0,1 М) в соотношении 0,005/0,8, полученные растворы обрабатывали микроволновым излучением при частоте 2450 МГц в течение 20 с, мощность излучения 150 Вт [223].

Затем осуществляли иммобилизацию полученных частиц на тиолированных углеродных нанотрубках.

Подготовка сенсора и формирование распознающего слоя:

Для очистки сенсора применялись: 1 М раствор соляной кислоты, ацетон, этанол. После очистки сенсор высушивали в токе тёплого воздуха.

Способ 1. На поверхность очищенного резонатора нанесли 1 мМ раствор цистеина и выдержали при комнатной температуре в течение 90 мин.

Способ 2. На поверхность предварительно очищенного сенсора нанесли 5%-ный этанольный раствор цистеина и высушили при 80°C в сушильном шкафу в течение 20 мин.

На подготовленном сенсоре УНТ выдерживали в течение 24 ч при 4°C и затем проводили иммобилизацию антибиотик-белковых конъюгатов (конкурентный формат анализа) или антител к исследуемым веществам (прямой формат анализа). При проведении анализа в конкурентном формате на иммобилизованный конъюгат наносили 2,5-5% раствор GA и выдерживали 12-24 часа при 4 °C во влажной камере, после чего промывали.

Определение аналитов осуществляли в статическом и проточно-инжекционном режиме:

В статическом режиме на подготовленную поверхность сенсора наносили 5 мкл пробы и выдерживали до завершения реакции (15 мин). После этого сенсор промывали PBS от несвязавшихся биореагентов и высушивали в потоке теплого воздуха в течение 5 мин и измеряли аналитический сигнал.

Проточно-инжекционное определение аналитов осуществляли в конкурентном формате анализа, регистрируя снижение частоты колебаний сенсора (Δf) при образовании иммунокомплекса между антибиотик-белковым конъюгатом, иммобилизованным на поверхности электрода, и антителами к определяемым веществам, несвязавшимися с определяемым соединением в пробе. Измерительный цикл включал следующие этапы, описанные ранее [224]:

1 – пропускание через ячейку фосфатного буфера (1 мл) для стабилизации сигнала пьезоэлектрического сенсора;

2 – введение в поток анализируемой пробы (0,2 мл);

3 – пропускание буферного раствора (0,2 мл) для удаления не связавшихся в иммунный комплекс молекул аналита,

4 – ввод регенерирующего раствора (0,2 мл) (рисунок 14).

Исследовали влияние скорости потока раствора-носителя на величину Δf в интервале от 1 до 120 мкл/мин.

Регенерацию биослоя осуществляли, пропуская над поверхностью сенсора регенерирующий раствор KCNS (200 мкл, 0,003 М) или дозируя на поверхность сенсора 10 мкл раствора KCNS (0,003 М), способствующий диссоциации поверхностного иммунокомплекса.

III РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

4. Исследование условий функционализации углеродных наноматериалов для применения в пьезоэлектрических иммуносенсорах

Для получения устойчивого и чувствительного распознающего слоя на поверхность гравиметрического пьезоэлектрического иммуносенсора на основе углеродных материалов необходимо обеспечить их ковалентное связывание как с биомолекулами, так и со слоем модификатора, сформированным на металлическом электроде. Это может быть достигнуто путем окисления и функционализации поверхности углеродных материалов. Начальной стадией подготовки УНТ является жидкофазное окисление, приводящее к появлению активных функциональных групп, в частности карбоксильных, карбонильных и гидроксильных, и изменению морфологии поверхности материала. Кроме того, такой процесс способствует дезагрегации и повышению стабильности углеродных нанотрубок и материалов в растворе, что облегчает их точное дозирование при формировании распознающего слоя сенсора.

Характер и количество активных функциональных групп на поверхности углеродных материалов в существенной степени зависит от природы применяемого окислителя и условий проведения процесса окисления.

4.1. Выбор способа окисления углеродных нанотрубок

В качестве окисляющих агентов наиболее часто используют кислородсодержащие кислоты и смеси на их основе, а также такие окислители как KMnO_4 [225-228], $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ [229], $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ [230] и H_2O_2 [231-232], однако сравнительная оценка изменения поверхности УНТ при использовании таких систем ранее не проводилась. Согласно литературным данным, воздействие на углеродные наноструктуры окислителей проходит по схожему механизму: вначале происходит вскрытие фуллереновых колпачков, затем на открытых торцах и на областях первоначальных дефектов поверхности, так как они являются наиболее

реакционноспособными, образуются кислородосодержащие функциональные группы. Появление поверхностных функциональных групп снижает Ван-дер-Ваальсово взаимодействие между отдельными УНТ. Кроме того, повышается сродство их поверхности к растворителю – ДМФ, что способствует равномерному распределению наноструктур в растворе.

Рассмотрено изменение поверхностных характеристик углеродных наноматериалов (УНТ М-2L (Новосибирск), УНТ-1 (Черноголовка) и «Таунит» (Тамбов) при воздействии на них следующих окислителей (таблица 3).

Таблица 3 – Окислительные системы для обработки углеродного материала

№ системы	Окислительный агент	Е, В
1	$\text{HNO}_3, \text{H}_2\text{SO}_4$	+0,98
2	HNO_3	+0,98
3	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 + \text{HNO}_3$	+1,49
4	$\text{KMnO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$	+1,51
5	$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8 + \text{H}_2\text{SO}_4$	+2,19
6	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	+0,84
7	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{NH}_4\text{OH}$	+0,84
8	$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$	+0,98

Методом ИК-спектроскопии путем сопоставления спектров окисленных УНТ и наноматериалов до окисления выявлено существенное увеличение после окисления на поверхности углеродных материалов кислородсодержащих функциональных групп. Закономерности воздействия окислительных систем одинаковы для всех углеродных материалов (рисунок 12; рисунки 1-2, Приложение). Для регистрации ИК-спектров углеродных наноструктур использовали суспензию в вазелиновом масле (без компенсации спектра масла: 1380 см^{-1} , 1470 см^{-1} , $2800\text{-}3000 \text{ см}^{-1}$). В окисленных наноматериалах особое

внимание уделялось увеличению пика, отвечающего валентным колебаниям карбонильной группы $>C=O$ (1685 см^{-1}). Независимо от типа исследуемых углеродных материалов максимальное увеличение пика наблюдалось при применении окислительных систем 3, 5 и 8 (таблица 3), характеризующихся максимальными значениями окислительно-восстановительного потенциала. Кроме того, отмечается появление пика (964 см^{-1}), свидетельствующего о внеплоскостных деформационных колебаниях $-OH$ в карбоксильной группе. Далее по величине пиков, характерных для карбонильной группы, следуют системы 7, 4 и 6. В отличие от систем 6 и 7, система 4, характеризующаяся более высоким значением окислительно-восстановительного потенциала ($+1,51\text{ В}$), проявляет значительно меньшую активность. Это может быть связано с тем, что только примерно 10% перманганата калия идет на окисление поверхности углеродных наноматериалов, а остальная часть окислителя расходуется на окисление углерода до CO_2 или разлагается [233]. Поэтому при окислении $KMnO_4$ получены углеродные наноструктуры с невысокой степенью функционализации.

Косвенно методом пьезокварцевого микровзвешивания оценено увеличение поверхностной концентрации активных функциональных групп после окисления УНТ. Для этого на предварительно модифицированную цистеином поверхность электрода сенсора дозировали 2 мкл коллоидного раствора окисленных наноматериалов в ДМФ, выдерживали в течение 24 ч при $4^\circ C$, промывали дистиллированной водой и высушивали в токе тёплого воздуха до постоянной массы. После этого измеряли изменение частоты колебаний сенсора, связанное с увеличением массы рецепторного покрытия за счет связывания углеродных материалов с поверхностью модификатора (таблица 4).

Максимальное изменение частоты колебаний сенсора наблюдается при использовании УНТ, окисленных $K_2S_2O_8$, что свидетельствует о большем количестве поверхностных карбоксильных групп, связывающихся с аминогруппами модификатора, что совпадает с данными ИК-спектроскопии.

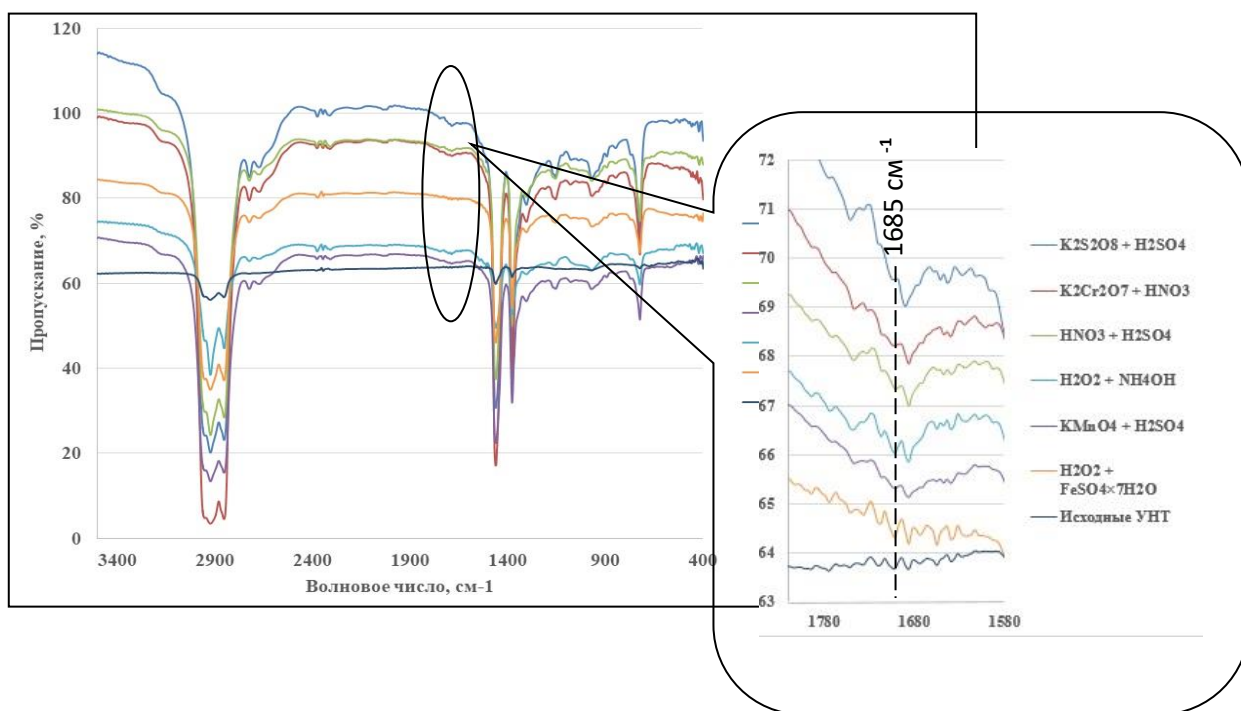


Рисунок 12 – ИК-спектры исходных и окисленных УНТ-1

Таблица 4 – Оценка эффективности воздействия окислительных систем на УНТ-1 (Черноголовка), УНТ М-1,2 (Новосибирск), УНТ «Таунит» (Тамбов)

Окислительная система	УНТ-1		УНТ М-Л2		«Таунит»	
	Δf , Гц	Δm , нг	Δf , Гц	Δm , нг	Δf , Гц	Δm , нг
1 - HNO ₃ , H ₂ SO ₄ *	-	-	-	-	-	-
2 - HNO ₃	-	-	-	-	-	-
3 - K ₂ Cr ₂ O ₇ + HNO ₃	6007	7389	5124	6303	1613	1984
4 - KMnO ₄ + H ₂ SO ₄	1801	2215	690	849	1168	1437
5 - K ₂ S ₂ O ₈ + H ₂ SO ₄	6855	8432	6610	8131	1796	2209
6 - H ₂ O ₂ + FeSO ₄ ·7H ₂ O	985	1212	532	654	1175	1445
7 - H ₂ O ₂ + NH ₄ OH	2120	2608	1103	1357	1087	1337
8 - HNO ₃ + H ₂ SO ₄ **	4000	4918	2353	2894	1456	1791

* последовательное добавление кислот

** одновременное добавление кислот

Высокое приращение массы также отмечено при применении углеродных материалов, окисленных $K_2Cr_2O_7$.

В тоже время, следует отметить, что использование для окисления УНТ смеси азотной и серной кислот, взятых в соотношении 3:1, позволяет закреплять на поверхности сенсора достаточно большое количество УНТ.

Методом пьезокварцевого микровзвешивания не удалось оценить эффективность окисления в системах 1 и 2 – при воздействии окислителей происходит слипание УНТ и образование взвеси, а при закреплении их на поверхности сенсора наблюдается срыв частотных колебаний. Невысокий прирост массы при применении окислительной системы 7 объясняется присутствием в углеродных наноматериалах остатков оксидных катализаторов (частиц переходных металлов), дезактивирующих пероксид водорода за счет его каталитического разложения, поэтому он не участвует в окислении поверхности УНТ.

Проведенные исследования показали, что при обработке углеродных материалов в системах 3, 5 и 8 происходит образование максимального количества активных функциональных групп. Однако требуются дополнительные исследования условий окисления (влияния температуры, продолжительности обработки) на поверхностную концентрацию функциональных групп.

4.1.1 Изучение условий окисления углеродных наноматериалов

Количество активных функциональных групп на поверхности углеродных наноструктур можно изменить, варьируя условиями процесса окисления, изменяя температуру и продолжительность обработки. Методом пьезокварцевого микровзвешивания исследовано влияние температуры окисления в диапазоне 70-90°C и времени контакта окислителя с поверхностью углеродного материала на массу поверхностного слоя, модифицированного окисленными углеродными наноматериалами. Было установлено, что температура обработки и ее

продолжительность зависят как от типа углеродного материала, так и применяемой окислительной системы (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние условий окисления УНТ на поверхностную концентрацию функциональных групп

Углеродные материалы	Температура, °С									t, ч
	70	80	90	70	80	90	70	80	90	
	$K_2Cr_2O_7 + HNO_3$			$K_2S_2O_8 + H_2SO_4$			$HNO_3 + H_2SO_4$			
УНТ-1	10532	7650	6766	11436	8067	5628	4917	2001	1723	2
	6450	7390	5400	8785	8432	4689	4899	2190	1698	4
	6413	6890	3002	5290	7986	4100	1097	678	425	6
УНТ М-2L	9004	7890	4679	12006	11076	3930	2890	1998	908	2
	5786	6310	4000	8411	8132	3279	2865	1004	456	4
	5600	4622	3926	7854	5785	2863	1567	678	162	6
«Таунит»	-	2511	867	-	2100	1897	1787	970	867	2
	1876	1984	896	2902	2207	1798	1699	674	593	4
	1800	1567	653	1608	1890	1722	1231	208	153	6

Окисление $K_2Cr_2O_7$ всех исследованных углеродных материалов более эффективно при температуре 80 °С в течение 2 ч, в тоже время при применении системы $K_2S_2O_8 + H_2SO_4$ и $HNO_3 + H_2SO_4$ более высокие приращения массы наблюдаются при 70 °С. Однако продолжительность обработки углеродных нанотрубок $K_2S_2O_8 + H_2SO_4$ составляет 4 часа, в то время как для обработки $HNO_3 + H_2SO_4$ достаточно 2 ч.

Следует отметить, что высокие значения массы подложки не всегда положительно влияют на характеристики сенсора, так как могут приводить к перегрузу и срыву частотных колебаний сенсора, как после иммобилизации биомолекул, так и при проведении анализа, особенно в конкурентном формате.

4.2 Активация поверхности углеродных нанотрубок.

Карбоксилирование углеродных наноматериалов

Несмотря на то, что при окислении УНТ образуется большое количество карбоксильных групп, для повышения эффективности связывания с биомолекулами требуется их активация. Следует отметить, что ковалентное связывание углеродных структур с аминокруппами антител или конъюгатов (рисунок 13) возможно даже без проведения активации карбоксильных групп, но при этом не удастся сформировать устойчивый распознающий слой, который может быть разрушен при проведении большого количества измерений в жидких средах.

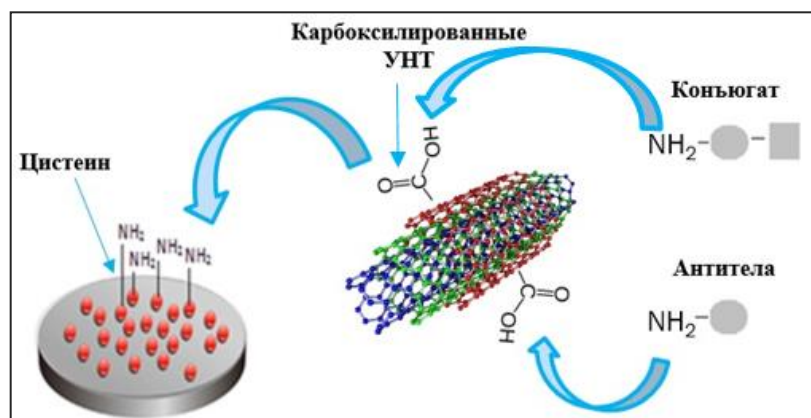


Рисунок 13 – Схема формирования распознающего слоя на основе карбоксилированных УНТ

В ходе исследования было изучено действие следующих активирующих смесей:

- 5 мг EDAC в 200 мкл ДМФ (26,2 мкмоль);
- 5 мг EDAC в 200 мкл воды (26,2 мкмоль);
- 5 мг EDAC + 5 мг NHS в 200 мкл ДМФ.

На поверхность слоя модификатора электрода сенсора, в качестве которого был использован цистеин или цистеамин, дозировали 2 мкл карбоксилированных УНТ, выдерживали в течение 24 ч при 4 °С, после чего сенсор промывали и высушивали до постоянной массы. Затем наносили 2 мкл активирующей смеси и

выдерживали при комнатной температуре в течение 90 мин. Далее на активированные углеродные наноструктуры иммобилизовали антитела к тетрациклину и регистрировали изменение частоты колебаний сенсора. Максимальное изменение частоты колебаний сенсора отмечается при активации наноструктур карбодиимидным методом – смесью EDAC/NHS в ДМФ (таблица 6).

Таблица 6 – Оценка качества активации различными активационными смесями

Углеродные материалы	Состав активационной смеси	N
УНТ-1	EDAC (водный раствор)	25
	EDAC+ДМФ	25
	EDAC+NHS+ДМФ	30
	Без активации	18
УНТ М-2L	EDAC (водный раствор)	32
	EDAC+ДМФ	30
	EDAC+NHS+ДМФ	34
	Без активации	18
«Таунит»	EDAC (водный раствор)	24
	EDAC+ДМФ	23
	EDAC+NHS+ДМФ	28
	Без активации	16

Схема процессов, происходящих при активации карбодиимидным методом, может быть представлена следующим образом: при взаимодействии карбоксильных групп на поверхности УНТ с аминогруппами слоя модификатора или аминогруппами белковых молекул иммунореагентов формируются прочные ковалентные связи (рисунок 14). Об этом свидетельствует также повышение значений N, т.е. распознающий слой сенсора может быть использован при проведении до 34 циклов измерения.

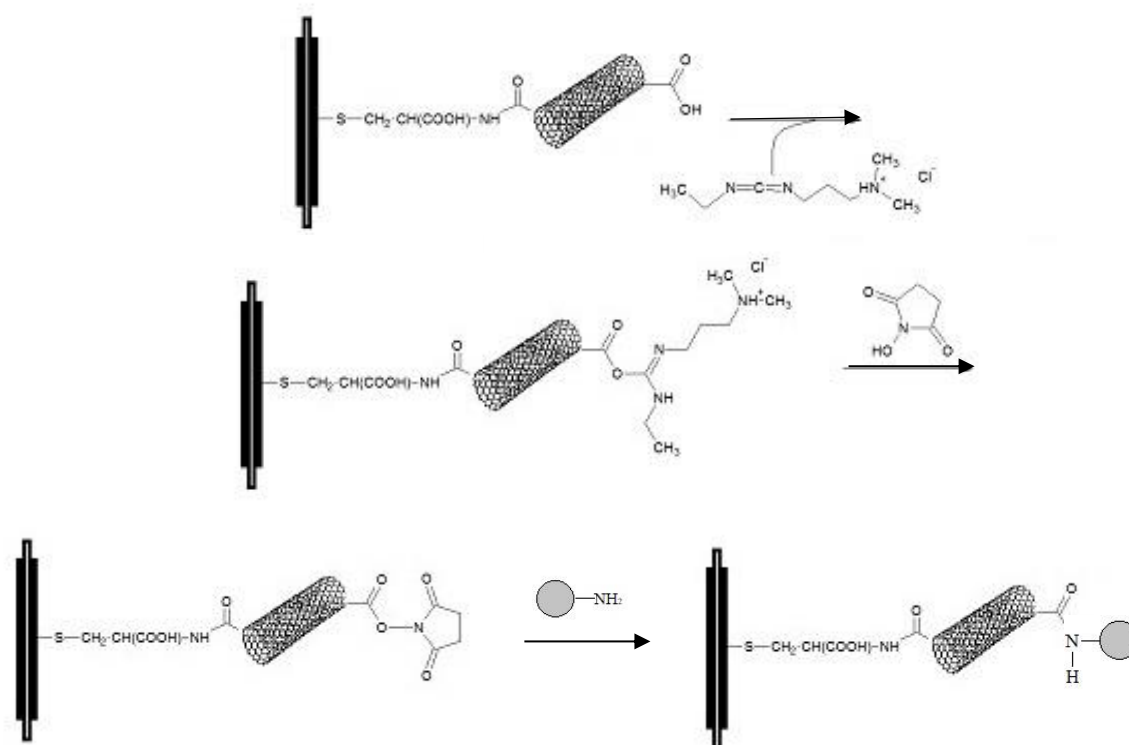


Рисунок 14 – Схема карбодиимидной активации

В случае же осуществления активации УНТ раствором EDAC в воде или ДМФ происходит образование высокореактивного и нестабильного производного ацилмочевины, что снижает образование возможных активных «сайтов» связывания на поверхности наноматериалов. Присутствие NHS в активационной смеси преобразует нестабильное производное ацилмочевины в более стабильный активный эфир, что обеспечивает образование устойчивой амидной связи между функциональными группами наноструктур и аминогруппой антител.

Немаловажным аспектом является продолжительность обработки поверхности слоя нанотрубок активирующими агентами. Раствор EDAC в присутствии NHS наносился на слой привитых нанотрубок и наноматериала по описанной выше методике и выдерживался в течение 30, 60, 90, 120 мин. Затем на активированные углеродные наноструктуры иммобилизовали антитела к тетрациклину. Оценка зависимости аналитического сигнала сенсора от времени активации наноматериалов проводилась методом пьезокварцевого микровзвешивания (рисунок 15).

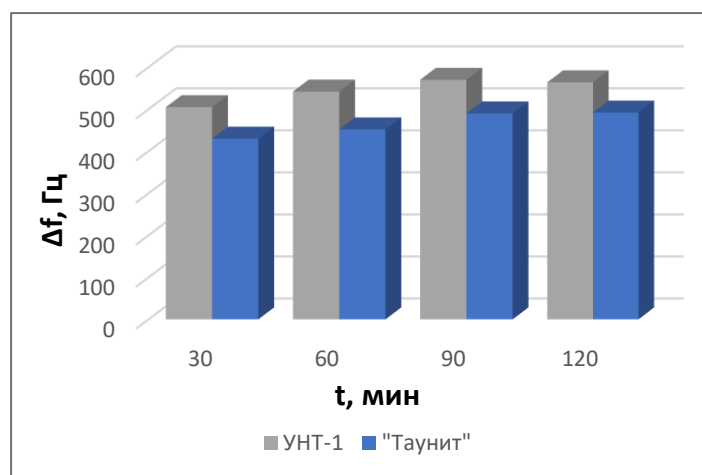


Рисунок 15 – Зависимость аналитического сигнала сенсора от продолжительности активации наноструктур

Полученные данные свидетельствуют о достижении максимальных значений аналитического сигнала сенсора при контакте активирующих агентов с поверхностью нанотрубок в течение 90 мин. Снижение продолжительности контакта до 30 или 60 мин не обеспечивает достаточной активации поверхности, а обработка в течение 120 мин не приводит к дальнейшему возрастанию сигнала.

4.3 Аминирование и тиолирование углеродных наноструктур

В целом, окисление может являться как отдельным способом функционализации, так и разновидностью предфункционализации перед вторичными превращениями или модифицированием поверхности УНТ. Углеродные наноструктуры чаще всего подвергают таким вторичным превращениям, как тиолирование [40], аминирование [234-237], этерификация [42] и силанизация [41].

Аминирование УНТ (рисунок 16) осуществлялось двумя способами – в парах аммиака и раствором гидроксида аммония. В первом случае предварительно окисленные углеродные нанотрубки помещали в U-образную трубку и пропускали над их поверхностью в течение 3 ч при температуре 40 °С пары аммиака, а во

втором – нанотрубки обрабатывались при температуре 30 °С в течение 5 мин 25%-ным раствором гидроксида аммония.

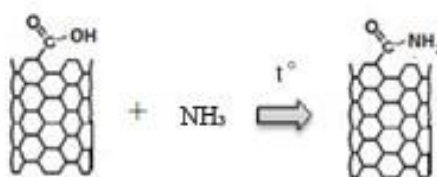


Рисунок 16 – Схема аминирования углеродных нанотрубок

Контроль за протеканием процесса аминирования осуществляли методом ИК-спектроскопии (рисунок 17).

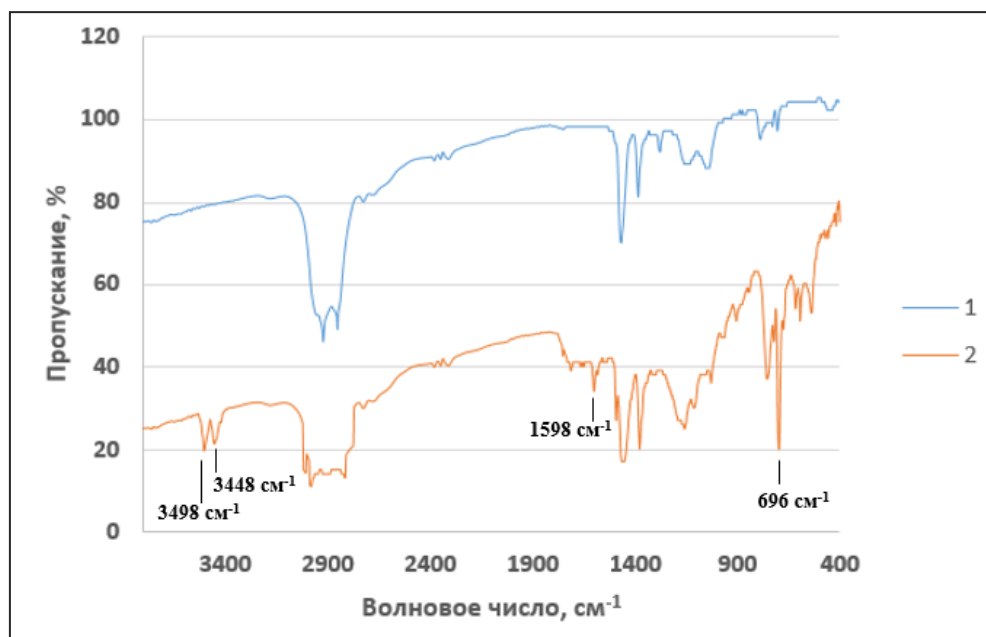


Рисунок 17 – ИК спектры аминированных УНТ: 1 – гидроксидом аммония, 2 – в парах аммиака

При сопоставлении ИК-спектров аминированных двумя способами УНТ отмечено, что при применении раствора гидроксида аммония процесс протекает более активно, о чем свидетельствует большая интенсивность линий поглощения – в области $\sim 3500 \text{ см}^{-1}$, обусловленное валентными колебаниями связи NH, а также в

областях 1650-1580 и 900-650 cm^{-1} , обусловленные плоскими и неплоскими деформационными колебаниями NH, соответственно.

Иммобилизацию аминированных углеродных нанотрубок на цистеиновую подложку осуществляли с применением кросс-реагента – глутарового альдегида. Ковалентное же связывание антибиотик-белкового конъюгата или антител с аминированными углеродными нанотрубками может происходить как непосредственно за счет связывания с карбоксильными группами белковых молекул, так и через молекулу глутарового альдегида (рисунок 18).

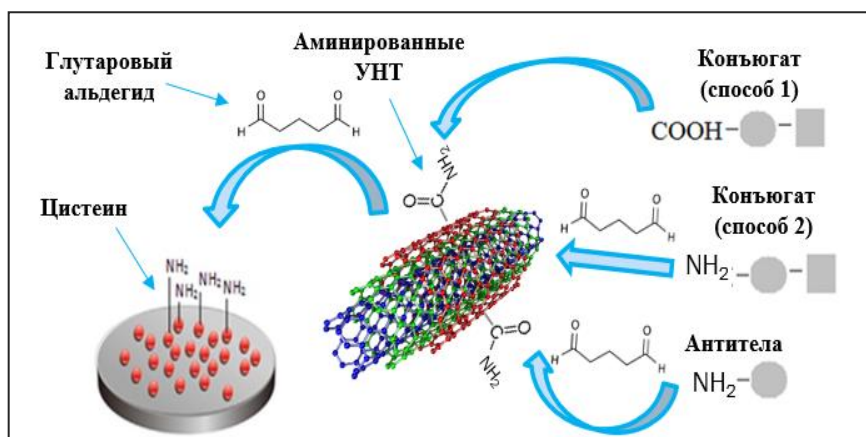


Рисунок 18 – Схема формирования распознающего слоя на основе аминированных УНТ

На цистеиновую подложку наносили 5 мкл свежеприготовленного 2,5% раствора ГА, затем через 15 мин – 2 мкл коллоидного раствора аминированных УНТ (144 мг/л) и выдерживали 24 ч при 4 °С. После чего сенсор промывали PBS, высушивали и дозировали 5 мкл раствора ципрофлоксацин-белкового конъюгата (способ 1) или 2,5% раствор ГА, а затем 5 мкл раствора ципрофлоксацин-белкового конъюгата (способ 2) и помещали иммуносенсор во влажную камеру на 24 ч. При определении ципрофлоксацина (200 нг/мл) на поверхность сенсора с иммобилизованными конъюгатами наносили 5 мкл предварительно подготовленного анализируемого раствора, через 15 мин промывали поверхность сенсора PBS от несвязавшихся реагентов, высушивали и измеряли аналитический сигнал.

Значение аналитического сигнала (Δf) сенсора с распознающим слоем, полученным через GA (таблица 7), существенно превышает аналогичную величину на слое, сформированном способом 1, что может свидетельствовать о более высокой концентрации антигенных детерминант в поверхностном слое и их доступности для взаимодействия в процессе анализа.

Таблица 7 – Влияние способа иммобилизации белкового конъюгата при определении ципрофлоксацина (0,2 мкг/мл) на аналитический сигнал сенсора

Способ иммобилизации ципрофлоксацин-белкового конъюгата	Δf, Гц	Δm, нг
Способ 1. Без GA	161	198,0
Способ 2. Через GA	207	254,6

В литературе описаны многостадийные способы функционализации УНТ тиольными группам [238-242]. Нами предложен новый способ тиолирования поверхности УНТ цистеином, который позволяет исключить стадию предварительной модификации поверхности золотого электрода этим реагентом, поскольку тиолированные углеродные материалы способны напрямую закрепляться на сенсоре за счет образования связей Au-S.

На поверхность золотого электрода сенсора наносили 2 мкл коллоидного раствора предварительно высушенных и диспергированных в диметилформамиде тиолированных УНТ (144 мг/л), затем дозировали 5 мкл раствора ципрофлоксацин-белкового конъюгата и выдерживали в течение 24 ч во влажной камере. Наблюдается образование прочных ковалентных связей между аминогруппами ципрофлоксацин-белкового конъюгата с карбоксильными группами УНТ (рисунок 19).

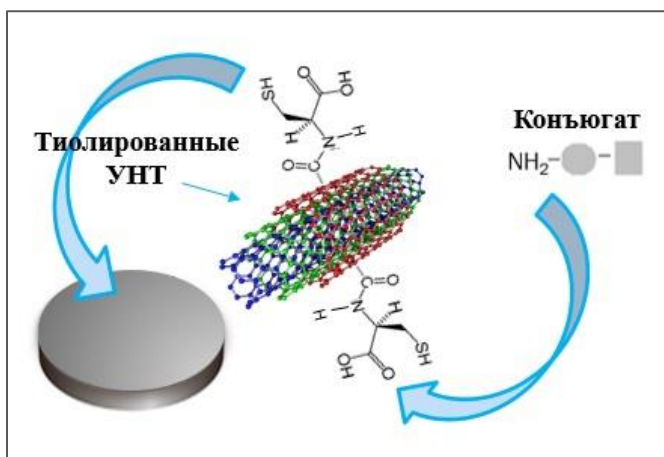


Рисунок 19 – Схема формирования распознающего слоя на основе тиолированных УНТ

Для повышения активной поверхности распознающего слоя предложено использовать наночастицы золота, которые позволяют не только увеличить концентрацию иммобилизованных биомолекул (антигенов или антител), но и их стерическую доступность для связывания с антителами в конкурентном формате иммуноанализа или молекулами аналита в прямом формате (рисунок 20).

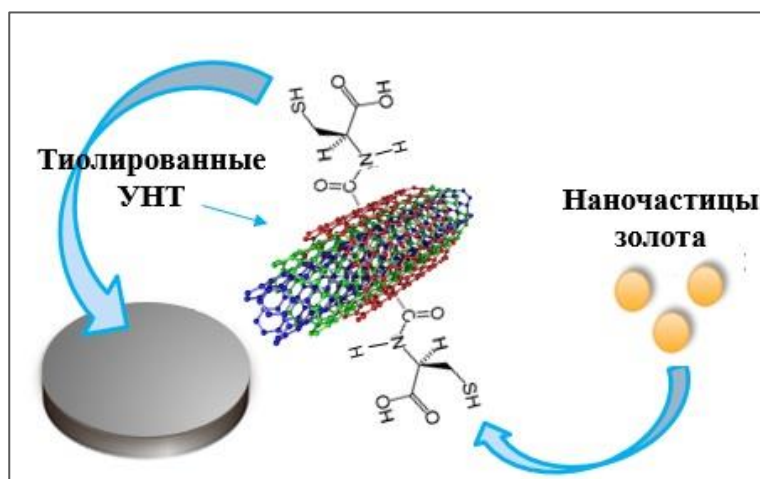


Рисунок 20 – Схема формирования распознающего слоя на основе тиолированных УНТ и наночастиц золота

Наночастицы золота ($d=4$ нм) были синтезированы путем восстановления золотохлористоводородной кислоты боргидридом натрия с применением

микроволнового нагрева. Затем осуществляли иммобилизацию полученных частиц на тиолированных углеродных нанотрубках.

4.4 Фторирование углеродных нанотрубок «Таунит»

Ещё одним примером модификации углеродных наноматериалов является галогенизация – взаимодействие УНТ с фтором [243]. Фторирование углеродных нанотрубок существенно уменьшает химическую инертность исходных систем и улучшает растворимость УНТ в различных растворителях [244-245]. Взаимодействие атомов фтора с УНТ происходит за счет ковалентного присоединения фтора к графеновым слоям углеродного каркаса без его разрушения. Обработку углеродного материала проводили парами водного раствора HF (40%) при температуре 115 °С в интервале от 30 до 60 мин, основываясь на проведенных ранее исследованиях других авторов [246].

Однако обработка поверхности данным агентом может быть реализована только после предварительного очищения наноструктур от металлических примесей, поскольку образуются фториды металлов, некоторые из которых плохо растворимы в воде, спирте или органических растворителях. Поэтому данный способ модификации проходил в два этапа: первый заключался в обработке наноматериала от загрязняющих примесей соляной кислотой (HCl, 36%) при комнатной температуре. При данной обработке также происходит одновременное удаление аморфных примесей.

Контроль за протеканием процесса фторирования осуществляли методом ИК-спектроскопии (рисунок 21).

После фторирования исследуемого образца парами водного раствора фтороводорода при 115 °С в течение 30 мин, на ИК-спектре (рисунок 21, (2)) присутствуют полосы поглощения, обусловленные колебаниями валентных связей C-F (1180 см⁻¹; 1140 см⁻¹; 1075 см⁻¹), которые носят преимущественно полуионный характер. Увеличивая время фторирования до 60 мин на ИК-спектре (рисунок 21, (3)), появляется ярко выраженный пик, описывающий присутствие ковалентной

связи С- F (670 см^{-1}), которая повышает возможность реализации химической реакции нуклеофильного замещения. Это в свою очередь является неоспоримым преимуществом для дальнейшего внедрения «Таунита» в иммуноанализ.

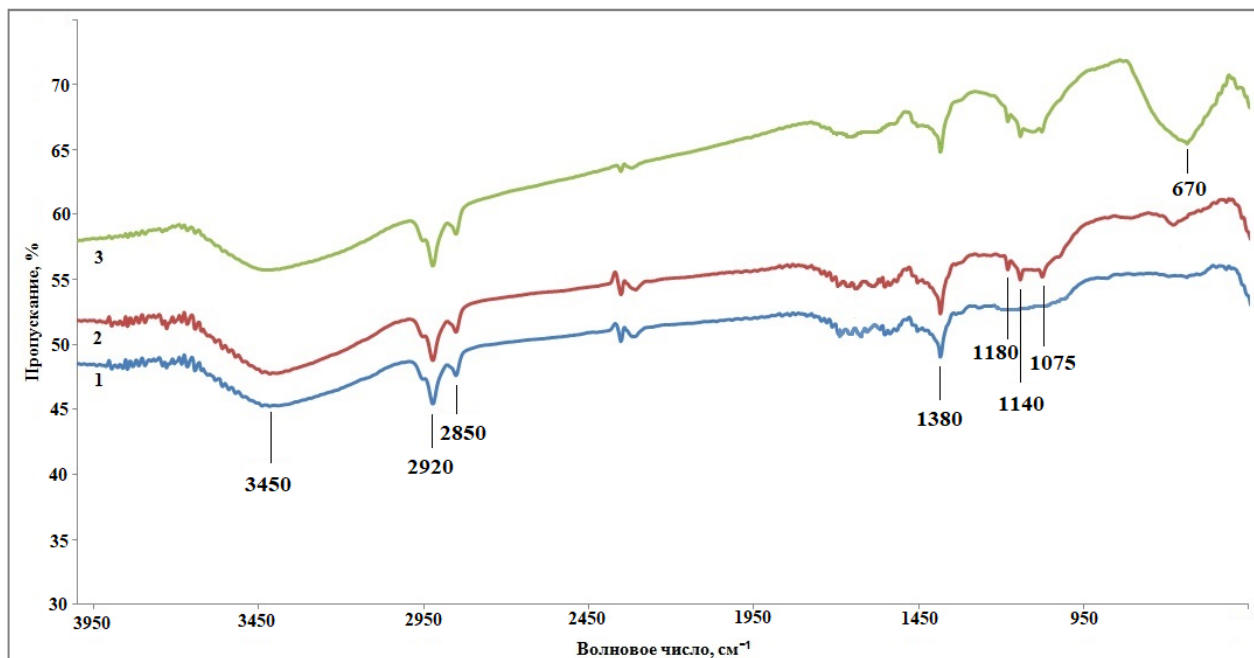


Рисунок 21 – ИК-спектры предварительно очищенного «Таунита» (1), фторированного в течение 30 мин (2), фторированного в течение 60 мин (3)

Для формирования распознающего слоя на основе фторированных УНТ на поверхность золотого электрода сенсора наносили 2 мкл цистеина и оставляли на 90 мин, затем дозировали 2 мкл коллоидного раствора УНТ (144 мг/л), выдерживали в течение 24 ч при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, после чего проводили иммобилизацию ципрофлоксацин-белкового конъюгата. Затем наносили 5 мкл предварительно подготовленного анализируемого раствора, через 15 мин промывали поверхность сенсора PBS и высушивали. После этого регистрировали изменение частотных колебаний сенсора, связанное с увеличением массы рецепторного покрытия за счет иммобилизации биомолекул с поверхностью углеродного наноматериала.

Сопоставление характеристик сенсоров на основе УНТ, активированных различными способами, при конкурентном определении ципрофлоксацина (200

нг/мл) показало, что карбоксилированные и фторированные УНТ более устойчивы в жидких средах (таблица 8).

Таблица 8 – Влияние способа активации поверхности УНТ на аналитический сигнал пьезоэлектрического сенсора

Способ модифицирования	Δf, Гц	N	Способ модифицирования	Δf, Гц	N
Карбоксилирование	625	35	Тиолирование	52	17
Аминирование (способ 1)	133	15	Тиолирование с наночастицами золота	107	15
Аминирование (способ 2)	207	20	Фторирование	74	32

Устойчивость распознающего слоя на основе аминированных и тиолированных УНТ существенно ниже, о чем свидетельствуют значения числа циклов измерений N. В тоже время при применении карбоксилированных и аминированных УНТ наблюдаются довольно высокие значения Δf , свидетельствующие о высокой концентрации поверхностных активных функциональных групп, в более значительной степени это проявляется для карбоксилированных УНТ.

Кроме того, отмечено, что модифицирование тиолированных УНТ наночастицами золота способствует увеличению активной поверхности распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора по сравнению со слоем на основе тиолированных углеродных наноматериалов без включения золотых наночастиц, о чем свидетельствуют значения Δf .

5. Изучение условий формирования распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора

5.1 Модификация поверхности золотого электрода сенсора

Перед нанесением на поверхность электрода сенсора углеродных наноматериалов необходимо предварительно активировать его поверхность модификатором, в качестве которого применяли 2-меркаптоэтиламин (цистеамин) и 2-амино-3-меркаптопропионовую кислоту (цистеин). Перспективность их использования связана с наличием в их молекулах атомов серы, связывающейся с золотом с образованием координационной связи. Кроме того, присутствующие в молекулах модификаторов терминальные аминокислотные группы позволяют образовывать связи с функциональными группами на поверхности углеродных нанотрубок. Таким образом выполняются требования, применяемые к рецепторному слою – устойчивость покрытия сенсора при работе в жидких средах, а также минимальная толщина и масса слоя [247].

Для создания распознающего слоя применяли способы 1 и 2, описанные на стр. 47, затем дозировали 2 мкл коллоидного раствора УНТ (144 мг/мл) и выдерживали в течение 24 ч при 4°C. Условия получения покрытия сенсора контролировались методом пьезокварцевого микровзвешивания (таблица 9).

Таблица 9 – Влияние природы модификатора поверхности электрода на характеристики пьезоэлектрического сенсора

Монослой	Вид углеродных материалов	Δm , нг	Δh , нм	N
2-Амино-3-меркаптопропионовая кислота	Карбоксилированные УНТ-1	35,00	1,22	35
	Карбоксилированный «Таунит»	1,20	0,040	30
2-Меркаптоэтиламин	Карбоксилированные УНТ-1	42,91	1,50	28
	Карбоксилированный «Таунит»	1,32	0,046	26

Установлено, что высокая адгезия монослоев позволяет осуществлять многократное использование сенсора после регенерации раствором KCNS (0,003 М) без существенного изменения массы биослоя (N = 26 - 35).

Полученные данные показывают, что рецепторные покрытия с подложкой на основе 2-амино-3-меркаптопропионовой кислоты обладают меньшей массой и толщиной, а также характеризуются большей устойчивостью, чем покрытия на основе 2-меркаптоэтиламина.

5.2 Влияние концентрации раствора углеродных нанотрубок и продолжительности отдельных стадий на характеристики распознающего слоя

Следующим этапом формирования распознающего слоя является обоснование концентрации коллоидных растворов углеродных наноструктур, наносимых на пьезоэлектрический сенсор, обеспечивающих максимальное увеличение удельной поверхности.

Изменяя концентрацию коллоидного раствора углеродных нанотрубок, можно управлять концентрацией поверхностных сайтов связывания. Первоначальная концентрация раствора диспергированных углеродных наноструктур составляла 1000 мг/л. Осуществляли последовательное разбавление исходных коллоидных растворов углеродных материалов, затем на цистеиновую подложку наносили 2 мкл полученных растворов, выдерживали 24 ч и методом пьезокварцевого микровзвешивания оценивали устойчивость слоя N (таблица 10).

Установлено, что при применении концентрации 144 мг/л всех углеродных материалов наблюдается формирование наиболее устойчивого слоя с максимальной концентрацией поверхностных сайтов распознавания. Использование коллоидных растворов с меньшей концентрацией УНТ снижает устойчивость распознающего слоя, а с большей концентрацией приводит к перегрузке пьезоэлектрического сенсора.

Таблица 10 – Влияние концентрации коллоидных растворов УНТ на характеристики пьезоэлектрического сенсора

Вид углеродных материалов	C, мг/л	Δf , Гц	N
Карбоксилированные УНТ-1	100	1732	21
	144	4000	27
	200	3997	20
	500	-	-
Карбоксилированный «Таунит»	100	1326	9
	144	1456	30
	200	1489	25
	500	-	-

Для определения оптимального времени связывания наноматериалов с подложкой за счет взаимодействия карбоксильных групп УНТ с аминогруппами модификатора 2 мкл растворов УНТ-1 и «Таунит» (144 мг/л) наносили на поверхность модифицированного сенсора и регистрировали частоту через 10, 24, 48 ч (рисунок 22).

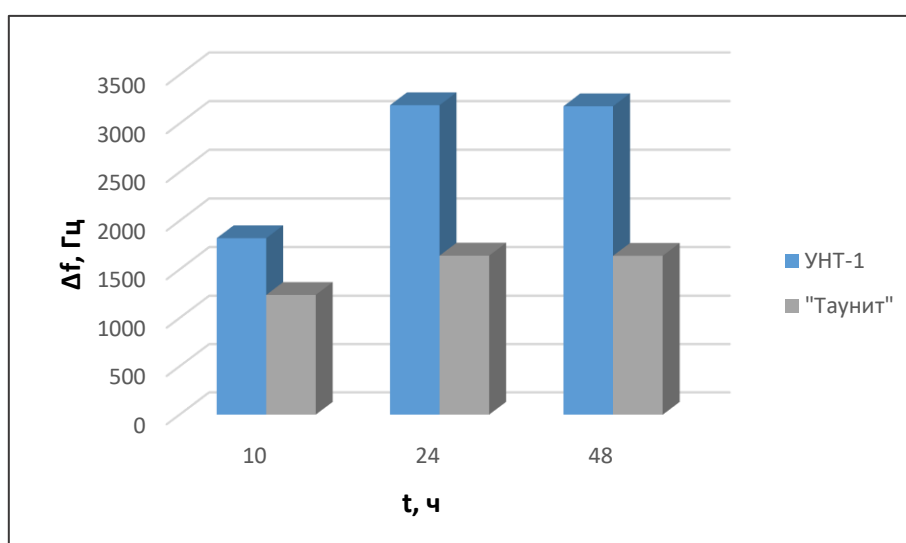


Рисунок 22 – Зависимость аналитического сигнала от продолжительности контакта УНТ с подложкой

Установлено, что устойчивый слой на поверхности электрода сенсора наблюдается при контакте УНТ с подложкой через 24 ч.

Исследовано двухкратное нанесение углеродных нанотрубок на поверхность сенсора по следующей методике: на предварительно сформированную цистеиновую подложку наносили 2 мкл углеродных наноматериалов с концентрацией 144 мг/мл, а затем повторяли эту операцию спустя 10, 15, 30, 45 и 60 мин, а также 24 ч. (таблица 11).

Таблица 11 – Характеристики второго слоя УНТ-1

Интервал между нанесением слоёв, мин	Δf, Гц	Δm, нг	Δh, нм
10	1365	1679	59
15	1449	1782	62
30	3197	3932	137
45	3302	4061	142
60	3311	4073	142
24*	4311	5302	185

* ч

Однако, следует отметить, что нанесение второго слоя УНТ-1 не существенно изменяет Δf по сравнению с первым слоем, что свидетельствует о полном заполнении поверхности электрода УНТ уже после однократной иммобилизации. При применении УНТ «Таунит», нанесенных в 2 слоя, отмечался постоянный срыв сигнала сенсора независимо от интервала перед нанесением 2 слоя.

5.3 Обоснование концентраций антител, обеспечивающих максимальный аналитический сигнал сенсора для определения антибиотиков

При разработке методик определения различных соединений с помощью массочувствительного пьезоэлектрического сенсора одним из важнейших этапов является выбор концентрации антител, который осуществляется на основе зависимости аналитического сигнала сенсора от степени разбавления поликлональных и моноклональных антител.

Прямой формат иммуноанализа осуществляется в одну стадию при контакте слоя антител с аналитом. При проведении анализа в данном формате электроды сенсора модифицировали сыворотками, содержащими поликлональные антитела. Концентрацию сыворотки определяли по максимуму насыщения сорбционного слоя (рисунок 23, рисунок 3, Приложение, таблица 12).

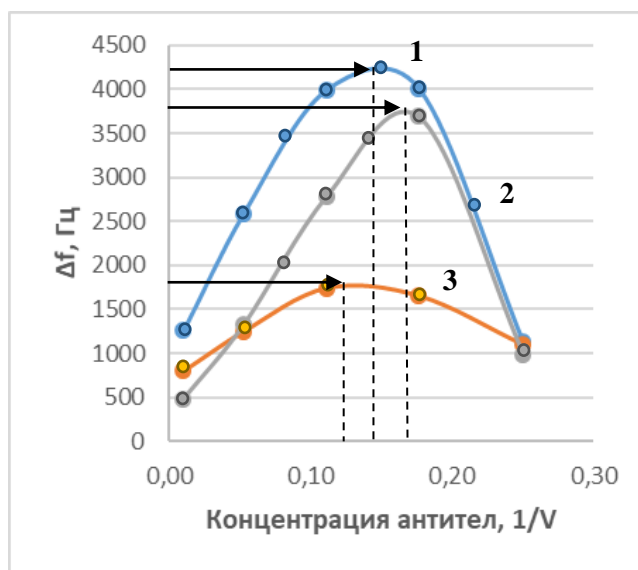


Рисунок 23 – Зависимость аналитического сигнала пьезоэлектрического сенсора от концентрации антител в прямом формате анализа (1-колхицин, 2-рактопамин, 3-полимиксин)

Таблица 12 – Оптимальная концентрация поликлональных антител в прямом формате иммуноанализа

Определяемое вещество	Концентрация сыворотки антител
Рактопамин	15:85
Тетрациклин	25:75
Левифлоксацин	15:85
Ципрофлоксацин	18:82
Полимиксин	11:89
Колхицин	13:87

Для проведения анализа по конкурентной схеме на поверхности сенсора иммобилизуют антибиотик-белковые конъюгаты на основе определяемого соединения. В анализируемую пробу, содержащую аналит, вводят фиксированное количество специфичных антител, которые могут связываться со свободным аналитом. Рабочей считается концентрация антител, соответствующая 50%-ному связыванию активных центров покрытия, так как она позволяет получить оптимальное соотношение активных центров на поверхности сенсора и числа не связавшихся в иммунокомплекс с определяемым соединением молекул антител.

Рабочую концентрацию антител определяли на линейном участке зависимости аналитического сигнала от концентрации антител (рисунок 24; рисунок 4, Приложение; таблица 13).

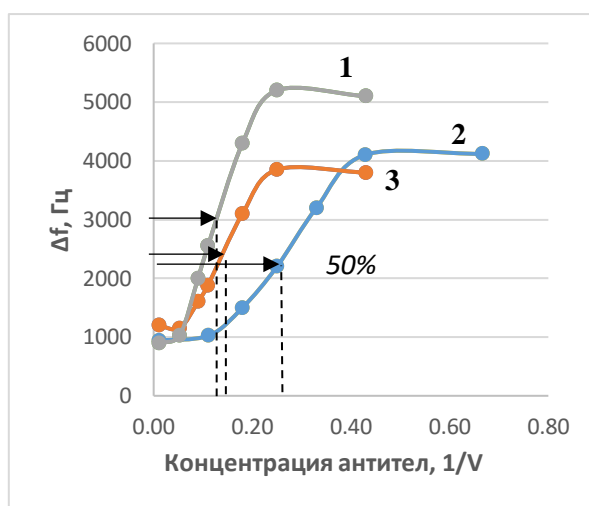


Рисунок 24 – Зависимость аналитического сигнала пьезоэлектрического сенсора от концентрации антител в конкурентном формате анализа (1- гентамицин, 2-канамицин, 3-стрептомицин)

Таблица 13 – Оптимальная концентрация поликлональных антител в конкурентном формате иммуноанализа

Определяемое вещество	Концентрация сыворотки антител
Левифлоксацин	14:86
Ципрофлоксацин	10:90
Полимиксин	10:90
Колхицин	10:90
Стрептомицин	13:87
Канамицин	20:80
Гентамицин	12:88

Использование концентраций антител, не отвечающих линейному участку зависимости в конкурентном формате иммуноанализа, приводит к искажению сигнала сенсора из-за неспецифического связывания (в области малых концентраций антител) и изменению массы покрытия (в области больших концентраций).

5.4 Обоснование оптимальной концентрации антибиотик-белковых конъюгатов

Одной из важных стадий в иммуноанализе является также стадия выбора концентрации антибиотик-белкового конъюгата. Конъюгаты разбавляли дистиллированной водой в различных соотношениях и иммобилизовали на сформированный на пьезоэлектрическом сенсоре слой углеродных материалов, после чего оценивали зависимость аналитического сигнала сенсора от степени разбавления конъюгата.

По максимальному значению аналитического сигнала пьезоэлектрического сенсора определяли оптимальные концентрации колхицин-, полимиксин-, левофлоксацин-, ципрофлоксацин-, стрептомицин-, канамицин- и гентамицин-белковых конъюгатов (таблица 14).

Таблица 14 – Концентрация антибиотик-белковых конъюгатов

Антибиотик	Антибиотик-белковый конъюгат	Концентрация
Левифлоксацин	Lev-BSA	35:65
Ципрофлоксацин	Cip-BSA	35:65
Полимиксин	Poly-BSA	50:50
Колхицин	Col-BSA	35:65
Стрептомицин	Str-BSA	20:80
Канамицин	Kana-BSA	20:80
Гентамицин	Gent-BSA	30:70

Представленные в таблице 16 разбавления антибиотик-белковых конъюгатов обеспечивают максимальное значение Δf при взаимодействии с иммобилизованными на пьезоэлектрическом сенсоре углеродными материалами, что свидетельствует о предельном связывании функциональных групп углеродных нанотрубок с конъюгатами. Применение более высоких или низких концентраций конъюгатов приводит к снижению плотности или доступности центров распознавания.

5.5 Оценка селективности определения лекарственных веществ

При применении поликлональных антисывороток для определения биологически активных соединений с применением иммуносенсоров необходимо проведение оценки перекрестных взаимодействий, поскольку антитела, содержащиеся в них, обладают сродством не только к детерминантам собственного иммуногена, но и к детерминантам его структурных аналогов.

Оценку селективности определения фармацевтических препаратов с помощью пьезоэлектрического сенсора осуществляли по коэффициентам перекрестного реагирования (CR, %) поликлональных антител:

$$CR, \% = 100 \times \frac{C_{\text{стр.ан.}}}{C_{\text{инд.соед.}}},$$

где $C_{\text{инд.соед.}}$, $C_{\text{стр. ан.}}$ – концентрация определяемого и перекрестно реагирующего вещества соответственно.

Возможность селективного определения аминогликозидных антибиотиков подтверждается высокими значениями коэффициентов перекрестного взаимодействия для определяемых соединений (100 %) и низкими (3-6 %) для структурных аналогов (таблица 15).

Таблица 15 – Значения коэффициентов перекрестного реагирования для аминогликозидов

Структурный аналог	Антитела, ПР %		
	Ab:Gent	Ab:Str	Ab:Kana
Гентамицин	100	4	6
Стрептомицин	5	100	3
Канамицин	5	3	100

Селективность антител, выработанных на фторхинолоны, тетрациклин и полимиксин, оценивали по способности связываться с родственными соединениями и лекарственными препаратами, применяемыми с ними совместно (таблица 16).

Таблица 16 – Значения коэффициентов перекрестного реагирования для фторхинолонов, полимиксина и тетрациклина

Лекарственное вещество	Антитела, ПР %			
	Ab:Lev	Ab:Cip	Ab:Tetr	Ab:Poly
Левифлоксацин	100	9	2	2
Ципрофлоксацин	12	100	2	1
Тетрациклин	1	1	100	1
Полимиксин	2	1	3	100

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о высокой специфичности поликлональных антител к левифлоксацину, ципрофлоксацину, тетрациклину и полимиксину. Рассчитанные значения ПР % для аналогов не превышают 12%, следовательно, они не мешают детектированию друг друга в сложных пробах.

5.6 Исследование морфологии поверхности слоёв на основе углеродных наноматериалов

Изучение морфологии и профиля поверхности исследуемых углеродных нанотрубок проводили с помощью атомно-силового микроскопа. Для анализа изменения профиля поверхности регистрировали послойное нанесение веществ на поверхность сенсора, а также сравнивали структуры различных карбоксилированных углеродных наноматериалов.

Характеристики полученных слоев показаны в таблице 17.

Таблица 17 – Морфология поверхности на основе карбоксилированных углеродных нанотрубок

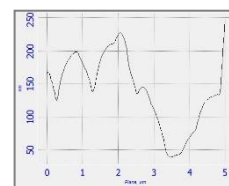
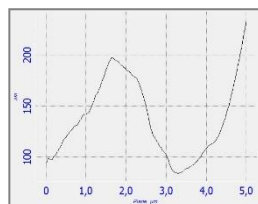
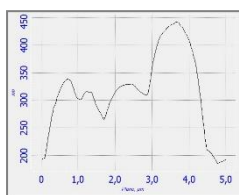
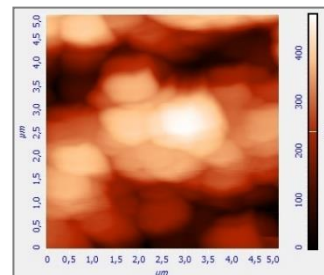
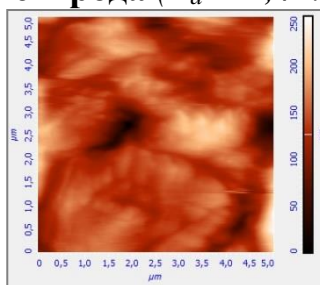
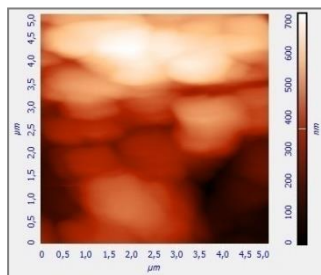
Изучаемая поверхность	Средняя шероховатость, нм	Максимальный перепад высот, нм
Поверхность золотого электрода	22,4	200
Цистеин	44,8	300
УНТ М-1L	45,9	479
УНТ М-2L	56,9	486
УНТ-2	83,0	400
УНТ-1	134,1	600
УНТ «Таунит»	87,8	495

На рисунке 25 представлены изображения послойного изменения поверхности сенсора при образовании плёнок цистеина и последующем формировании слоёв на основе углеродных наноматериалов.

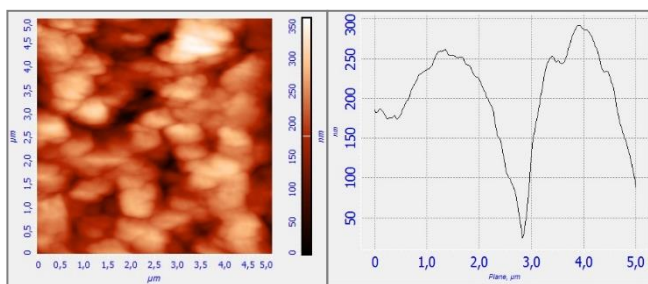
Поверхность золотого электрода ($R_a=22,4$ нм)

УНТ-1 ($R_a=134,1$ нм)

УНТ-2 ($R_a=83,0$ нм)

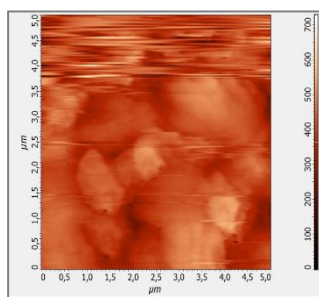


Цистеин ($R_a=44,8$ нм)



УНТ «Таунит» ($R_a=87,8$ нм)

УНТ М-2L ($R_a=56,9$ нм)



УНТ М-1L ($R_a=45,9$ нм)

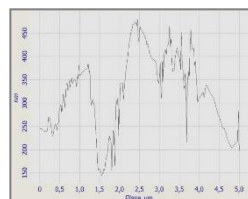
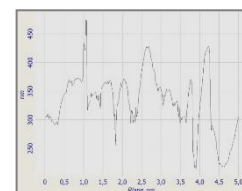
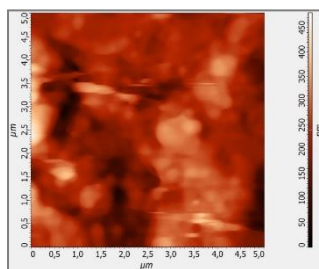
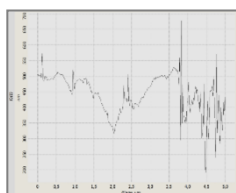
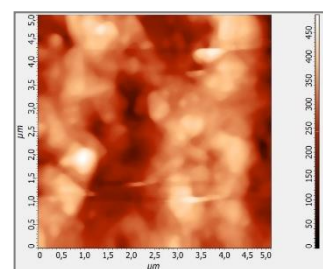


Рисунок 25 – Морфология поверхности золотого электрода, пленки цистеина и рецепторных слоев на основе различных углеродных материалов

Как видно из представленных данных, шероховатость поверхности значительно изменяется при нанесении каждого последующего слоя на поверхность пьезоэлектрического сенсора: с 22,4 нм для золотого покрытия сенсора до 45,9 - 134,1 нм для слоев на основе углеродных наноматериалов. По значениям средней шероховатости поверхности слоя сенсора на основе наноматериалов установлено образование однородного покрытия с равномерным распределением частиц.

При формировании слоёв на основе углеродных наноматериалов УНТ-1 и УНТ «Таунит» отмечается наибольшее возрастание шероховатости и появление равномерно расположенных выпуклых структур, способствующих увеличению общей площади поверхности и числа активных центров для присоединения рецепторных молекул, что в дальнейшем будет способствовать увеличению диапазона определяемых содержаний при определении лекарственных веществ. Кроме того, ранее было выяснено, что рецепторные слои на основе данных углеродных материалов обладают очень высокой устойчивостью (N до 35 циклов), что дает возможность рекомендовать их для применения в иммунохимических методах анализа.

6. Определение лекарственных веществ с помощью пьезоэлектрических сенсоров на основе углеродных материалов

6.1 Изучение условий проведения анализа в проточно-инжекционном режиме

При выполнении анализа в ПИР используют проточную ячейку малого объема, пропуская через нее буферный раствор. При этом определяемые соединения связываются с иммобилизованными на поверхности электрода рецепторными молекулами, образуя иммунореактивный комплекс, а несвязавшиеся компоненты уносятся с потоком раствора-носителя. Увеличение массы рецепторного слоя за счет образованного иммунного комплекса приводит к уменьшению частоты колебаний сенсора пропорционально концентрации аналита в пробе.

Поскольку лимитирующей стадией гетерогенной реакции является массоперенос реагирующих веществ в реакционную зону, для проведения экспрессного и высокочувствительного детектирования биологически активных соединений чрезвычайно важен выбор скорости потока раствора носителя.

Исследовано влияния скорости потока на величину Δf в интервале от 1 до 120 мкл/мин. Определение фторхинолонов в ПИР возможно при пропускании над поверхностью сенсора с подложкой на основе цистеина и иммобилизованных УНТ-1 со скоростью 50 мкл/мин (рисунок 26), поскольку в этом случае происходит максимальное комплиментарное взаимодействие между иммунореагентами и отмечается высокое значение аналитического сигнала.

Оптимальная скорость потока раствора-носителя одинакова для левофлоксацина и ципрофлоксацина, т.е. не зависит от строения, определяемого фторхинолона.

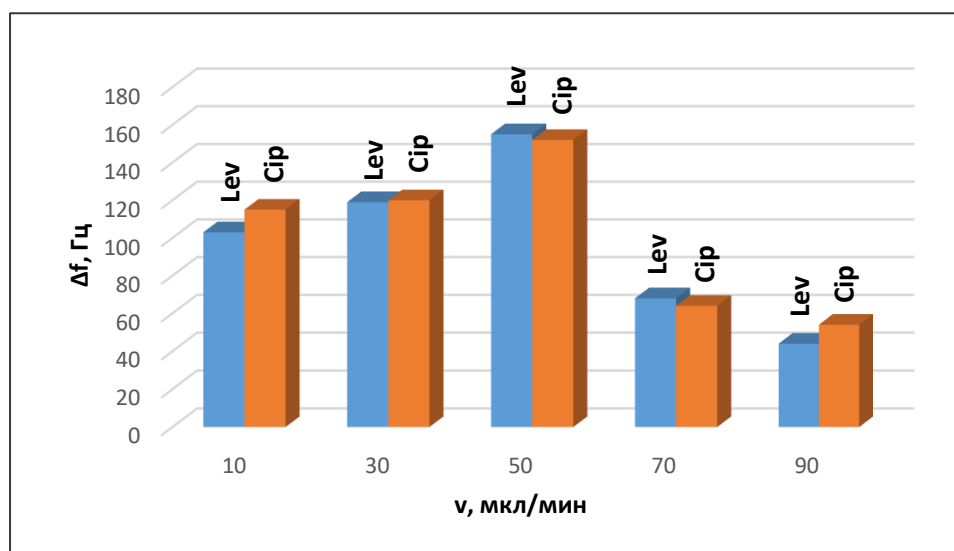


Рисунок 26 – Влияние скорости потока на величину аналитического сигнала сенсора

Возможность проведения измерений с более высокой скоростью потока раствора-носителя при использовании биослоя на УНТ, свидетельствует как о более высокой концентрации поверхностных «сайтов» распознавания, так и о стерической доступности иммобилизованных антибиотик-белковых конъюгатов для взаимодействия с антителами.

6.2 Изучение условий проведения анализа в статическом режиме

При проведении гравиметрического анализа в статическом режиме важнейшей стадией является высушивание сенсора с нанесенным покрытием до постоянной массы (рисунок 27).

После нанесения раствора наноматериалов сенсор промывается дистиллированной водой от несвязавшихся компонентов, а затем высушивается до постоянной массы для того, чтобы удалить воду с поверхности электрода. Сенсор сушили в потоке тёплого воздуха с температурой 30 °С в течение 2, 5, 10 мин.

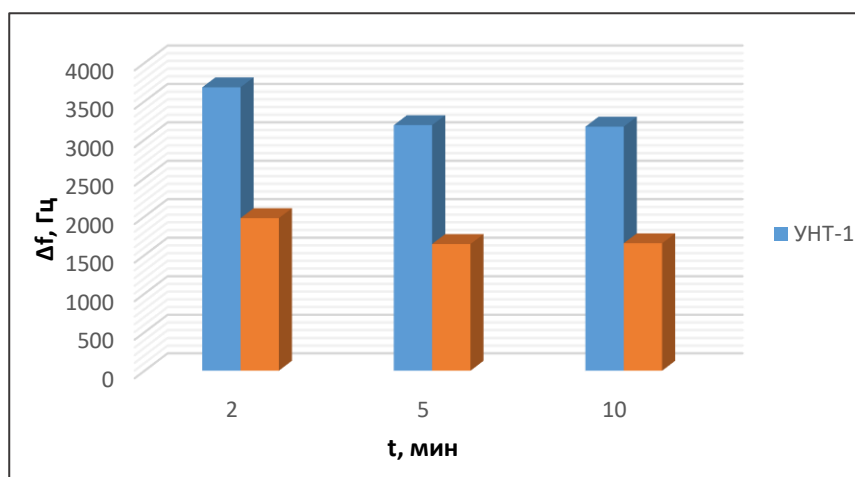


Рисунок 27 – Зависимость аналитического сигнала от времени высушивания слоя углеродных наноматериалов

Стабилизация показателей массы покрытия происходила после высушивания поверхности сенсора в течение 5 мин. Высушивание в течение 10 мин не приводит к снижению аналитического сигнала, а 2 мин недостаточно для полного удаления воды с поверхности электрода.

Поскольку аналитический сигнал сенсора зависит в том числе и от времени взаимодействия наносимых слоёв, изучали влияние продолжительности контакта раствора антител с поверхностью УНТ. Фиксированный объем раствора антител наносили на поверхность углеродных наноматериалов УНТ-1 и «Таунит», выдерживали во влажной камере и через 6, 12, 24, 48 ч регистрировали Δf (рисунок 28).

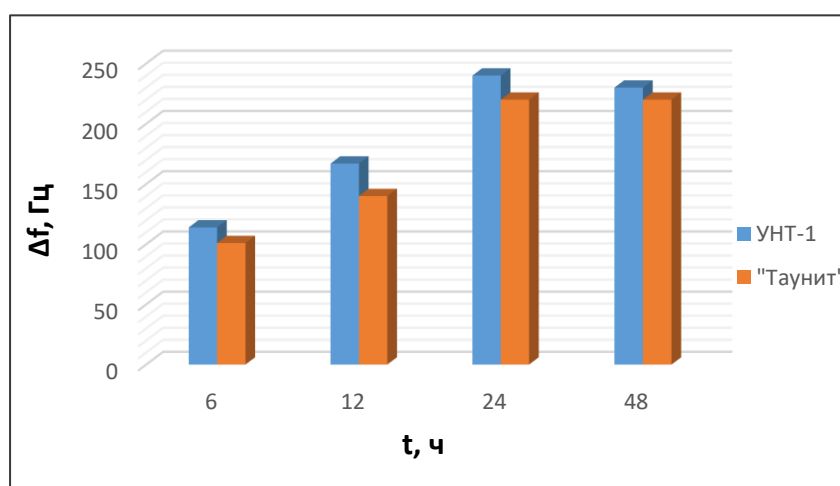


Рисунок 28 – Зависимость аналитического сигнала от продолжительности контакта раствора антител с УНТ

Было установлено, что выдерживание раствора антител на поверхности УНТ в течение 24 ч позволяет получать воспроизводимые результаты, более длительный контакт антител с рецепторным слоем не приводил к увеличению Δf .

6.3 Разработка методик определения лекарственных веществ

Для сопоставления результатов определения антибиотиков в прямом и конкурентном форматах, в проточно-инжекционном и статическом режимах анализа разработаны способы определения фторхинолонов – левофлоксацина и ципрофлоксацина – с применением распознающего слоя на основе карбоксилированных УНТ-1 (рисунок 29, таблица 18).

Таблица 18 – Сопоставление результатов определения фторхинолонов в прямом и конкурентном формате иммуноанализа в статическом и проточно-инжекционном режимах (P=0,95; n=3)

Анализируемое вещество	Диапазон определяемых содержаний, нг/мл	Анализируемое вещество	Диапазон определяемых содержаний, нг/мл
Статический режим		Проточно-инжекционный режим	
<i>Конкурентный формат иммуноанализа</i>			
Lev	10-350	Lev	30-450
Cip	10-370	Cip	40-490
<i>Прямой формат иммуноанализа</i>			
Lev	30-650	-	
Cip	25-670		

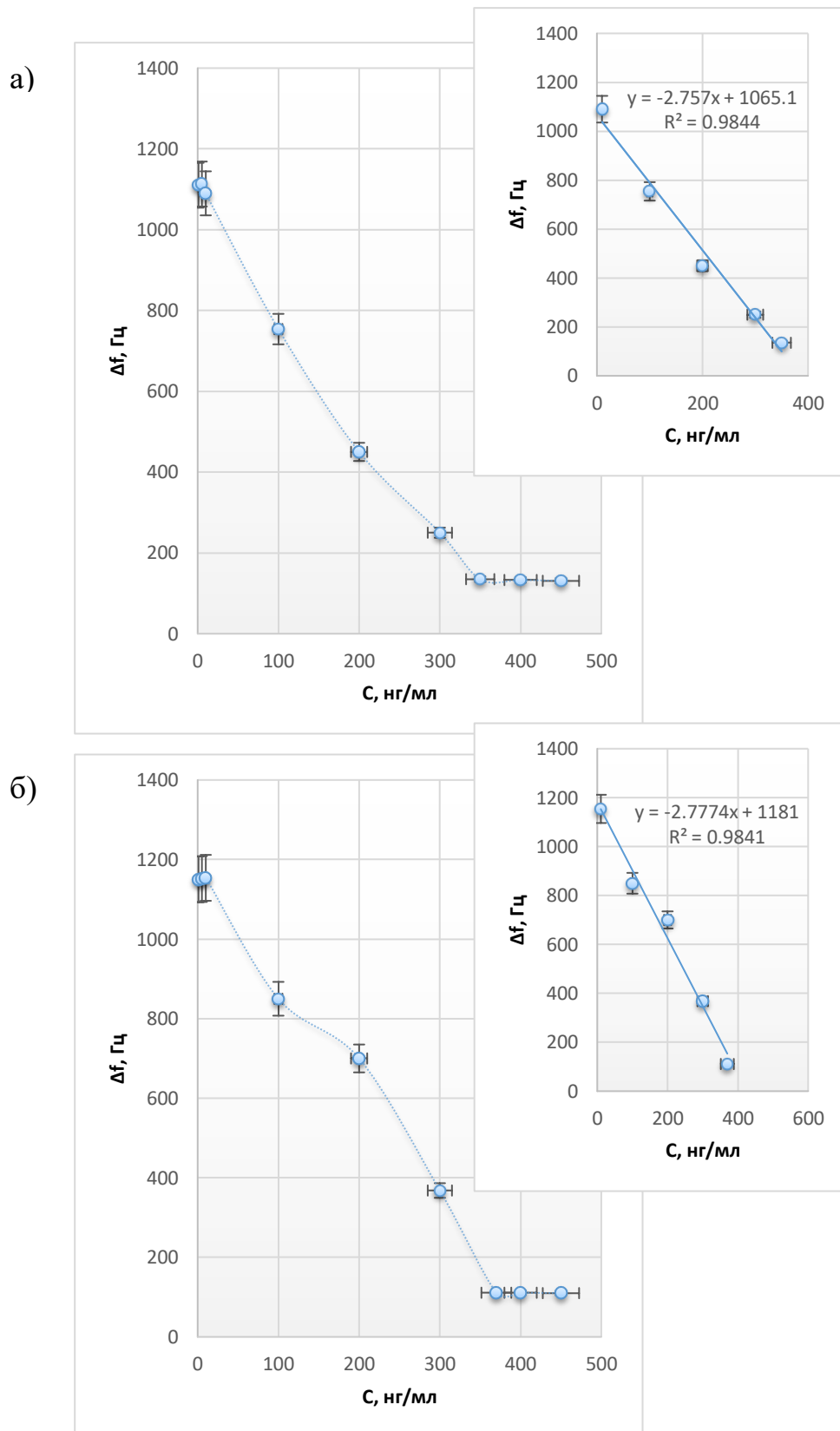


Рисунок 29 - Градуировочные графики для определения
 а) левофлоксацина и б) ципрофлоксацина с помощью пьезоэлектрического
 сенсора на основе УНТ-1 в статическом режиме в конкурентном формате анализа

Стандартные растворы анализируемых веществ для построения градуировочных графиков получали их растворением в бидистиллированной воде.

Показано, что минимальное значение C_{\min} достигается при проведении анализа в конкурентном формате как в статическом, так и в проточно-инжекционном режимах, однако при осуществлении измерений в статическом режиме в прямом формате иммуноанализа наблюдается существенное расширение диапазона определяемых содержаний. Кроме того, длительность анализа в проточно-инжекционном режиме не превышает 15 мин, в то время как для проведения анализа в статическом режиме необходимо примерно 30 мин.

Установлены метрологические характеристики способов определения гентамицина, стрептомицина, канамицина, полимиксина и колхицина в конкурентном формате иммуноанализа (таблица 19), а также полимиксина, рактопамина, колхицина и тетрациклина в конкурентном формате иммуноанализа (таблица 20).

Метрологические характеристики способов определения антибиотиков с применением пьезоэлектрического сенсора зависят не только от условий и формата проведения иммуноанализа, но и от способа функционализации УНТ, используемых при формировании распознающего слоя. Применение активированных УНТ позволяет осуществлять определение антибиотиков различных групп с высокой чувствительностью. При определении аминогликозидов наблюдается увеличение коэффициента чувствительности градуировочной функции при переходе от подложек на основе тиолированных УНТ к карбоксилированным и аминированным. Минимальный предел обнаружения канамицина достигается при применении пьезоэлектрических сенсоров на основе тиолированных УНТ, декорированных наночастицами золота.

Таблица 19 – Метрологические характеристики способов определения антибиотиков в конкурентном формате иммуноанализа (P=0,95; n=3)

Аналит	Способ активации УНТ-1	C_{min} , мкг/мл	Диапазон определяемых содержаний, мкг/мл	Уравнение градуировочной функции	R^2
Gent	Карбоксилированные УНТ-1	0,28	0,6-1,0	$y = -302x+442$	0,98
	Аминированные УНТ-1	0,23	0,3-0,8	$y = -910x+963$	0,99
Str	Карбоксилированные УНТ-1	0,19	0,3-1,1	$y = -500x + 644$	0,98
	Аминированные УНТ-1	0,17	0,2-0,7	$y = -847x + 751$	0,94
Poly	Карбоксилированные УНТ-1	0,06	0,09-0,4	$y = -82x+53$	0,94
Col	Карбоксилированные УНТ-1	6*	8-390*	$y = -89x+42^*$	0,98
Kana	Тиолированные УНТ-1	2*	5-60*	$y = -16x+1560^*$	0,95
	Тиолированные УНТ-1 с наночастицами золота	0,2*	1-75*	$y = -17x+2097^*$	0,97

* нг/мл

Таблица 20 – Метрологические характеристики способов определения антибиотиков в прямом формате иммуноанализа (P=0,95; n=3)

Аналит	Способ модификации наноматериала	C_{min}, мкг/мл	Диапазон определяемых содержаний, мкг/мл	Уравнение градуировочной функции	R²
Ract	Карбоксилированные УНТ-1	0,04*	0,1-22*	$y = 4,9x+52^*$	0,99
	Карбоксилированные УНТ-2	0,03*	0,1-25*	$y= 7,2x+86^*$	0,99
Col	Карбоксилированные УНТ-1	8*	10-465*	$y = 44x+4,4^*$	0,99
Tetr	Карбоксилированный «Таунит»	12*	25-450*	$y= 222x + 37$	0,97
	Фторированный «Таунит»	3*	5-400*	$y= 180x + 317$	0,99
Poly	Карбоксилированные УНТ-1	0,07	0,09-0,6	$y = 45x + 14$	0,98

* нг/мл

На основании проведенных исследований представлен протокол разработанных способов определения антибиотиков (Таблица 21).

Таблица 21 – Протокол разработанных способов определения антибиотиков с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора на основе УНТ

Процесс	Условия			
	<i>Карбоксили- рованные</i>	<i>Амини- рованные</i>	<i>Фтори- рованные</i>	<i>Тиоли- рованные</i>
Очищение электрода резонатора	Соляная кислота (1 М), ацетон, этанол			
Формирование слоя модификатора	Цистеин (1 мМ), 90 мин			-
Нанесение кросс-реагента	-	GA (2,5%), 5 мкл, 15 мин	-	-
Промывание; высушивание	Дистиллированная вода; поток воздуха 30 °С, 5 мин			-
Нанесение наноматериалов	Коллоидный раствор УНТ в ДМФ (144 мг/л), 2 мкл, 24 ч			
Промывание; высушивание	PBS; поток воздуха 30 °С, 5 мин			
Дополнительная стадия	<i>Активация:</i> Смесь 5 мг NHS + 5 мг EDAC в 200 мкл ДМФ, 2 мкл, 90 мин	GA (2,5%), 5 мкл, 15 мин	-	Раствор золотых наночастиц, 5 мкл, 60 мин, промывание, высушивание
Иммобилизация иммуно-реагентов	Антитела, 2 мкл / Антибиотик-белковый конъюгат, 5 мкл. Влажная камера, +4 °С, 24 ч			
<i>Выбор режима определения</i>	<i>ПИА</i>	<i>Статический</i>		
Промывание	PBS, 1 мл	PBS; высушивание: поток воздуха 30 °С, 5 мин		

Окончание таблицы 21

Нанесение определяемого вещества	Раствор антибиотика + антитела, 0,2 мл	Раствор антибиотика / раствор антибиотика + антитела, 5 мкл
Промывание	PBS, 1 мл	PBS; высушивание: поток воздуха 30 °С, 5 мин
Измерение аналитического сигнала		
Регенерация покрытия	KCNS (0,003 М), 200 мкл	KCNS (0,003 М), 10 мкл

В протоколе разработанных способов определения антибиотиков представлены последовательность и условия формирования устойчивого многослойного покрытия пьезоэлектрического сенсора на основе функционализированных углеродных материалов, способствующего чувствительному определению аналитов, а также этапы проведения измерительных циклов в проточно-инжекционном и статическом режимах и регенерации биослоя.

7. Применение пьезоэлектрических сенсоров для определения лекарственных веществ в реальных объектах

Разработаны методики определения фторхинолонов и аминогликозидов с помощью пьезоэлектрических сенсоров на основе карбоксилированных УНТ-1 в продуктах питания (таблица 22). Правильность определения аналитов контролировали методом «введено-найдено».

Подготовка проб к анализу осуществлялась следующим образом: *мёд* – посредством 3-х кратного разбавления дистиллированной водой; *молоко* – к образцу добавляли насыщенный раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и центрифугировали, для анализа использовали надосадочную жидкость; *говядина* – к гомогенизированному мясу добавляли 10 мл ацетонитрила и центрифугировали 5 мин (8000 об/мин), супернатант отделяли, выпаривали и полученный остаток растворяли в фосфатном буферном растворе.

Таблица 22 – Определение лекарственных веществ с помощью пьезоэлектрических иммуносенсоров в продуктах питания ($P=0,95$, $n=5$, $t_{\text{табл}}=2,78$)

Объект исследования	Анализируемое вещество	Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	S_r	$t_{\text{эксп}}$
Конкурентный формат анализа					
Молоко	Lev	50	49 ± 5	0,08	0,56
		100	101 ± 8	0,06	0,35
		200	201 ± 8	0,03	0,35
	Cip	50	49 ± 4	0,07	0,70
		100	102 ± 6	0,05	0,93
		200	205 ± 10	0,04	1,39
	Str	400	370 ± 40	0,09	2,09
		500	520 ± 30	0,05	1,85
		600	620 ± 70	0,09	0,79
	Gent	700	640 ± 80	0,10	2,09
		800	780 ± 50	0,05	1,11
		900	890 ± 30	0,03	0,93

Окончание таблицы 22

Мёд	Кана	20	19 ± 2	0,08	1,39
		50	51 ± 3	0,05	0,93
		90	93 ± 5	0,04	1,67
Прямой формат иммуноанализа					
Молоко	Lev	50	49 ± 2	0,03	1,39
		100	99 ± 5	0,04	0,56
		300	294 ± 11	0,03	1,52
	Cip	50	49 ± 6	0,10	0,46
		100	98 ± 6	0,05	0,93
		300	297 ± 15	0,04	0,56
Говядина	Ract	0,20	$0,19 \pm 0,02$	0,08	1,39
		5,0	$4,8 \pm 0,3$	0,05	1,85
		20	21 ± 2	0,08	1,39

Разработанные пьезоэлектрические иммуносенсоры на основе карбоксилированных УНТ-1 апробированы в прямом и конкурентном форматах иммуноанализа для детектирования полимиксина и колхицина в биологических жидкостях – слюне и плазме крови. Правильность определения аналитов контролировали методом «введено-найдено» (таблица 23).

Таблица 23 – Определение лекарственных веществ с помощью пьезоэлектрических иммуносенсоров в биологических жидкостях ($P=0,95$, $n=5$, $t_{\text{табл}}=2,78$)

Объект исследования	Анализируемое вещество	Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	S_r	$t_{\text{эсп}}$
Конкурентный формат иммуноанализа					
Плазма крови	Col	100	99 ± 4	0,03	0,70
		200	199 ± 17	0,07	0,16
		300	297 ± 8	0,02	1,04

Окончание таблицы 23

Слюна	Col	100	99 ± 5	0,04	0,56
		200	205 ± 8	0,03	1,74
		300	299 ± 7	0,02	0,40
Прямой формат иммуноанализа					
Плазма крови	Poly	100	99 ± 9	0,07	0,31
		200	204 ± 10	0,04	1,11
		500	498 ± 29	0,05	0,19
	Col	100	101 ± 5	0,04	0,56
		300	295 ± 7	0,02	1,99
		400	401 ± 30	0,06	0,09
Слюна	Poly	100	101 ± 4	0,03	0,70
		200	199 ± 15	0,06	0,19
		500	499 ± 37	0,06	0,08
	Col	100	99 ± 4	0,03	0,70
		300	299 ± 7	0,02	0,40
		400	407 ± 20	0,04	0,97

Подготовка проб биологических жидкостей к анализу осуществляли следующим образом:

Плазма крови: к образцам плазмы объемом 500 мкл добавляли 100 мкл 12% раствора хлорной кислоты и перемешивали, после чего центрифугировали при 6000 об/мин в течении 20 мин; *Слюна:* к образцам слюны прибавляли 0,2 мл этилового спирта и помещали в центрифугу на 10 мин при 6500 об/мин.

Разработанные иммуносенсоры на основе карбоксилированных УНТ-1 апробированы при анализе лекарственных форм (таблица 24).

Проведенные исследования показали, что установленные концентрации антибиотиков соответствуют заявленным характеристикам фирм-производителей.

Таблица 24 – Определение лекарственных веществ с помощью пьезоэлектрических иммуносенсоров в фармацевтических препаратах ($P=0,95$, $n=5$, $t_{\text{табл}}=2,78$)

Препарат	Определяемое соединение	Заявлено производителем, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	S_r	$t_{\text{эксп}}$
Левифлоксацин АО «ВЕРТЕКС»	Левифлоксацин	250	249±22	0,07	0,13
Ципрофлоксацин, ООО «ОЗОН»	Ципрофлоксацин	500	504±38	0,06	0,29

Применение теста Стьюдента показало отсутствие систематической погрешности и подтвердило правильность определения антибиотиков с применением разработанных пьезоэлектрических иммуносенсоров ($t_{\text{табл}}= 2,78 > t_{\text{эксп}}$).

Все разработанные способы определения лекарственных препаратов с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора, модифицированного углеродными наноматериалами, характеризуются высокой чувствительностью, селективностью и могут быть рекомендованы для определения антибиотиков в пищевых продуктах, биологических жидкостях и фармацевтических препаратах.

IV. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Обоснована перспективность применения многостенных углеродных нанотрубок при формировании распознающего слоя массчувствительного пьезоэлектрического иммуносенсора, способствующих существенному увеличению поверхностной концентрации распознающих компонентов – антител или антигенов. Методами ИК-спектроскопии и пьезокварцевого микровзвешивания установлено влияние способа окисления, температуры и продолжительности обработки наноматериалов окислителем на концентрацию кислородосодержащих функциональных групп, обеспечивающих образование прочных ковалентных связей УНТ со слоем модификатора электрода сенсора и иммунореагентом, и позволяющих существенно увеличить поверхностную концентрацию "сайтов связывания". Наибольшую эффективность показали окислительные системы: $K_2Cr_2O_7 + HNO_3$ (80°C, 2 ч), $K_2S_2O_8 + H_2SO_4$ (70°C, 4 ч) и $HNO_3 + H_2SO_4$ (70°C, 2 ч).

2. Показано, что с помощью функционализации поверхности УНТ (карбоксилирование, аминирование, тиолирование, фторирование) возможно образование более устойчивого распознающего слоя сенсора. Методом ИК-спектроскопии установлено образование устойчивых связей между поверхностными карбоксильными и аминогруппами углеродных материалов с амино- или карбоксильными группами иммунореагентов, а также с аминогруппами модификатора поверхности сенсора (цистеина) непосредственно или через глутаровый альдегид. Показано, что при тиолировании поверхности УНТ цистеином возможно исключить стадию предварительной модификации поверхности золотого электрода. Отмечено, что включение золотых наночастиц ($d=4$ нм), иммобилизованных на тиолированных углеродных материалах, способствует увеличению активной поверхности распознающего слоя сенсора и снижению предела обнаружения. Продемонстрировано, что максимальную устойчивость при работе в жидких средах проявляет распознающий слой,

сформированный на основе карбоксилированных и фторированных УНТ (35 и 32 циклов измерений в жидких средах).

3. Разработаны сенсоры для определения антибиотиков в статическом и проточно-инжекционном режимах, прямом и конкурентном формах иммуноанализа. Установлено, что наблюдается расширение линейного диапазона определяемых концентраций лекарственных веществ (30-650 и 25-670 нг/мл для Lev и Cip, 10-465 нг/мл и 0,09-0,6 мкг/мл для Col и Poly, соответственно) в статическом режиме в прямом формате иммуноанализа. Использование распознающего слоя на основе карбоксилированных УНТ позволяет проводить анализ в широком диапазоне определяемых содержаний, в то же время при применении распознающих слоев на основе аминированных, тиолированных и фторированных углеродных материалов наблюдается определение более низких концентраций. Показано, что с разработанные способы позволяют определять гентамицин, канамицин, стрептомицин, левофлоксацин, ципрофлоксацин, полимиксин и тетрациклин на МДУ и ниже, а рактопамин – с пределом обнаружения 0,04 нг/мл и диапазоном определяемых содержаний: 0,1-22 нг/мл.

4. Продемонстрирована возможность применения пьезоэлектрических иммуносенсоров на основе углеродных материалов для высокочувствительного и селективного определения аминогликозидных (гентамицин, канамицин, стрептомицин), фторхинолоновых (левофлоксацин, ципрофлоксацин) антибиотиков, полимиксина, тетрациклина, колхицина и рактопамина в пищевых продуктах, биологических жидкостях и фармацевтических препаратах. Разработанные методики характеризуются правильностью и высокой воспроизводимостью, поэтому могут быть использованы для систематического контроля за содержанием антибиотиков в биологических жидкостях, пищевых продуктах и фармацевтических препаратах.

Перспективы дальнейшей разработки темы связаны с комплексным изучением синтеза и включения в распознающий слой пьезоэлектрического иммуносенсора магнитных углеродных наноматериалов для сокращения времени подготовки сенсора к анализу и продления срока его службы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhao W.-R. Electrochemiluminescence solid-state imprinted sensor based on graphene/CdTe@ZnS quantum dots as luminescent probes for low-cost ultrasensing of diethylstilbestrol / W.-R. Zhao, T.-F. Kang, Y.-H. Xu, X. Zhang, H. Liu, A.-J. Ming, L.-P. Lu, S.-Y. Cheng, F. Wei // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2020. – Vol. 306. – No. 1. – P. 127563.
2. Rostami S. Enhanced LSPR performance of graphene nanoribbons-silver nanoparticles hybrid as a colorimetric sensor for sequential detection of dopamine and glutathione / S. Rostami, A. Mehdinia, R. Niroumand, A. Jabbari // *Analytica Chimica Acta*. – 2020. – No. 1120. – P. 11-23.
3. Abdel Rahman N. S. Fabrication and characterization of cellulose acetate-based nanofibers and nanofilms for H₂S gas sensing application / N. S. Abdel Rahman, Y. E. Greish, S. T. Mahmoud, N. N. Qamhieh, H. F. El-Maghraby, D. Zeze // *Carbohydrate Polymers*. – 2021. – No. 258. – P. 117643.
4. Alev O. Cu-doped ZnO nanorods based QCM sensor for hazardous gases / O. Alev, N. Sarıca, O. Özdemir, L. Ç. Arslan, S. Büyükköse, Z. Z. Öztürk // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2020. – Vol. 826. – No. 14. – P. 154177.
5. Molaei M. J. Principles, mechanisms, and application of carbon quantum dots in sensors: a review / M. J. Molaei // *Analytical Methods*. – 2020. – Vol. 12. – No. 10. – P. 1266–1287.
6. Li Z. High-sensitive sensor for the simultaneous determination of phenolics based on multi-walled carbon nanotube/NiCoAl hydrotalcite electrode material / Z. Li, H.-Y. Zeng, X.-J. Cao, H.-B. Li, Y.-W. Long, B. Feng, S.-B. Lv // *Microchim Acta*. – 2021. – Vol. 188. – No. 9. – P. 308.
7. Pushpanjali P. A. Development of carbon nanotube-based polymer-modified electrochemical sensor for the voltammetric study of Curcumin / P. A. Pushpanjali, J. G. Manjunatha, B. M. Amrutha, N. Hareesha // *Materials Research Innovations*. – 2020. – Vol. 25. – No. 7. – P. 412-420.

8. Parvaiz M. S. Modeling and simulation of carbon nanotube amino-acid sensor: A first-principles study / M. S. Parvaiz, K. A. Shah, H. Alrobei, G. N. Dar, F. A. Khanday, S. Muzaffar Ali Andrabi, R. Hamid // *Computational and Theoretical Chemistry*. – 2021. – No. 1204. – P. 113402.
9. ScienceDaily [Electronic resource] / Laboratory Grows World Record Length Carbon Nanotube. – Electronic data. – Los Alamos, N.M., 2004.
10. Булярский С.В. Углеродные нанотрубки: технология, управление свойствами, применение – М.: Стержень, 2011. – 439 с.
11. Fu K. Dispersion and solubilization of carbon nanotubes / K. Fu, Y. Sun // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2003. – No. 3. – P. 351-364.
12. Louie S. Electronic properties, junctions, and defects of carbon nanotubes / Steven G. Louie // *Carbon Nanotubes. Topics in Applied Physics*. – 2001. – No.80. – P. 113-145.
13. Hone J. Thermal properties of carbon nanotubes and nanotube-based material / J. Hone, M.C. Liaguno, M.J. Biercuk, A. T. Johnson, B. Batlogg, Z. Benes, J. E. Fischer // *Appl. Phys. A: Materials Science & Processing*. – 2002. – Vol. 74. – No. 3. – P. 339-343.
14. Елецкий А.В. Сорбционные свойства углеродные наноструктур / А.В. Елецкий // *УФН*. – 2004. – Т. 174. – №11. – С. 1191-1231.
15. Klingeler R. Carbon Nanotubes for Biomedical Application / R. Klingeler, R.B. Sim // Berlin, Heidelberg: Springer. – 2011. – 278 p.
16. Wang, X. Sorption of $^{243}\text{Am(III)}$ to Multiwall Carbon Nanotubes / X. Wang, C. Chen, W. Hu, A. Ding, D. Xu, X. Zhou // *Environmental Science & Technology*. – 2005. – Vol. 39. – No. 8. – P. 2856–2860.
17. Peng X. Carbon nanotubes-iron oxides magnetic composites as adsorbent for removal of Pb(II) and Cu(II) from water / X. Peng, Z. Luan, Z. Di, Z. Zhang, C. Zhu // *Carbon*. – 2005. – Vol. 43. – No. 4. – P. 880–883.
18. Chen C. Adsorption of Ni (II) from Aqueous Solution Using Oxidized Multiwall Carbon Nanotubes / C. Chen, X. Wang // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2006. – Vol. 45. – No. 26. – P. 9144–9149.

19. Li Y.-H. Competitive adsorption of Pb^{2+} , Cu^{2+} and Cd^{2+} ions from aqueous solutions by multiwalled carbon nanotubes / Y.-H. Li, J. Ding, Z. Luan, Z. Di, Y. Zhu, C. Xu, B. Wei // *Carbon*. – 2003. – Vol. 41. – No. 14. – P. 2787–2792.
20. Hussain C. M. Micropreconcentration units based on carbon nanotubes (CNT) / C. M. Hussain, S. Mitra // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2010. – Vol. 399. – No. 1. – P. 75–89.
21. Davis J. J. The immobilisation of proteins in carbon nanotubes / J. J. Davis, M. L. H. Green, H. A. O. Hill // *Inorg. Chim. Acta*. – 1998. – No. 272. – P. 261-266.
22. El-Brashy A. M. Spectrophotometric determination of some fluoroquinolone antibacterials by binary complex formation with xanthene dyes / A. El-Brashy, El-Sayed Metwally, El-Sepai F. A. // *IL FARMACO*. – 2004. – Vol. 59. – No.10. – P. 809–817.
23. Chen R. J. Noncovalent engineering of carbon nanotube surfaces by rigid, functional conjugated polymers / R. J. Chen, H. Liu, W. A. Weimer // *J. Am. Chem. Soc.* – 2002. – No. 124. – P. 9034-9035.
24. Beloglazova N. V. Design of a sensitive fluorescent polarization immunoassay for rapid screening of milk for cephalixin / N. Beloglazova, S. Eremin // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2015. – No. 28. – P. 8525-8532.
25. Karaeva A.P. Production of carbon nanofibers and nanotubes by catalytic pyrolysis of methane / A.P. Karaeva, V.Z. Mordkovich, V.F. Tretyakov // *Solid Fuel Chemistry*. – 2005. – Vol. 39. – No. 5. – P. 61-76.
26. Maruyama S. Low-temperature synthesis of high-purity single-walled carbon nanotubes from alcohol / S. Maruyama, R. Kojima, Y. Miyauchi, S. Chiashi, M. Kohno // *Chem. Phys. Lett.* – 2002. Vol. 360. – No. 3-4. – P. 229-234.
27. Erol O. Recent advances in bioactive 1D and 2D carbon nanomaterials for biomedical applications / O. Erol, I. Uyan, M. Hatip, C. Yilmaz, A. B. Tekinay, M. O. Guler // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. – 2018. – Vol. 14. – No. 7. – P. 2433-2454.
28. Naguib N. N. Effect of carbon nanofibre structure on the binding of antibodies / N. N. Naguib, Y. M. Mueller, P. M. Bojczuk // *Y. Nanotechnology*. – 2005. – No. 16. – P. 567-571.

29. Zhang L. A new label-free amperometric immunosensor for rubella vaccine / L. Zhang, R. Yuan, X. Huang // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2005. – No. 381. – P. 1036-1040.
30. Sinha N. Carbon nanotube-based sensors / N. Sinha, J. Ma, J.T.W. Yeow // *Journal of Nanoscience and Nanotechnology.* – 2006. – Vol. 6. – No 3. – P. 573-590.
31. Battigelli A. Endowing carbon nanotubes with biological and biomedical properties by chemical modifications / A. Battigelli, C. Ménard-Moyon, T. Da Ros, M. Prato, A. Bianco // *Advanced Drug Delivery Reviews.* – 2013. – Vol. 65. – No. 15. – P. 1899–1920.
32. Frankowiak J. C. Oxidation time effects of multiwalled carbon nanotubes on thermal, mechanical, and cure kinetics of epoxy-based nanocomposites / J. C. Frankowiak, R. H. Bello, L. A. F. Coelho // *Polymer Composites.* – 2020. - Vol. 41. – No. 1. – P. 25685.
33. Lee A. Functionalized carbon nanotube–cellulose nanocrystal (CNT–CNC) composite buckypaper via various methods for improved hydrophilicity performance and behavior / A. Lee, S. Beak, S. Lee, G. Kim, J. Noh, S. Huh, B. Choi, Y. Sung, H. Jeong // *Appl. Nanosci.* – 2021.
34. Yuliantoro H. Functionalization of single-walled carbon nanotubes with a HNO₃/H₂SO₄ mixture through different treatments: A DFT supported study / H. Yuliantoro, Y. Kusumastuti, A. Mindaryani, M. Handayani, Rochmadi // *AIP Conference Proceedings.* – 2021. – Vol. 2349. – No. 1. – P. 020071.
35. David M. E. Chemical Synthesis of Multi-Walled Carbon Nanotubes and Their Functionalization with Carboxylated Groups / M. E. David, R.-M. Ion, R. M. Grigorescu, L. Iancu, E. R. Andrei, R. Somoghi, A. N. Fronte, R. M. Stirbescu // *Proceedings.* – 2020. – Vol. 57. 0- No. 1. – P. 45-46.
36. Septiani N. L. W. Hollow Zinc Oxide Microsphere-Multiwalled Carbon Nanotubes Composites for Selective Detection of Sulfur Dioxide / N. L. W. Septiani, A. G. Saputro, Y. V. Kaneti, A. L. Maulana, F. Fathurrahman, H. Lim, Y. Yamauchi // *ACS Applied Nano Materials.* – 2020. – Vol. 3. – No. 9. – P. 8982–8996.

37. Jiang K. Protein immobilization on carbon nanotubes via a twostep process of diimide-activated amidation // K. Jiang, L. S. Schadler, R. W. S. X. Zhang // *J. Mater. Chem.* – 2004. – No. 14. – P. 37-39.
38. Yu X. Protein immunosensor using single-wall carbon nanotube forests with electrochemical detection of enzyme labels / X. Yu, S. N. Kim, F. Papadimitrakopoulos // *Mol. BioSyst.* – 2005. – No. 1. – P. 70-78.
39. Дьячкова Т. П., Ткачев А. Г. Методы функционализации и модифицирования углеродных нанотрубок / Т.П. Дьячкова, А.Г. Ткачев // М.: Издательский дом «Спектр». – 2013. – С. 10-13.
40. Lim J. K. Selective Thiolation of Single-walled Carbon Nanotubes / J. K. Lim, W. S. Yun, M. Yoon // *Synth. Met.* – 2003. – No. 139. – P. 521 – 527.
41. Velasco-Santos C. Chemical Functionalization of Carbon Nanotubes Through an Organosilane / C. Velasco-Santos, A. L. Martinez-Hernandez¹, M. LozadaCassou // *Nanotechnology.* – 2002. – No. 13. – P. 495 – 498.
42. Kim S. W. Surface Modifications for the Effective Dispersion of Carbon Nanotubes in Solvents and Polymers / S. W. Kim, T. Kim, Y. S. Kim // *Carbon.* – 2012. – No. 50. – P. 3-33.
43. Hung N. T. Functionalization and Solubilization of Thin Multiwalled Carbon Nanotubes / N. T. Hung, I. V. Anoshkin, A. P. Dementjev // *Inorganic Materials.* – 2008. – Vol. 44. – No. 3. – P. 219 – 223.
44. Sun Y.-P. Soluble Dendron-functionalized Carbon Nanotubes: Preparation, Characterization and Properties / Y.-P. Sun, W. Huang, Y. Lin // *Chem. Mater.* – 2001. – No. 13. – P. 2864-2869.
45. Basiuk E. V. Interaction of Oxidized Single-walled Carbon Nanotubes with Vaporous Aliphatic Amines / E. V. Basiuk, V. A. Basiuk, J.-G. Banuelos et al. // *J. Phys. Chem. B.* – 2002. – No. 10. – P. 1588–1597.
46. Hu X. Simultaneous decontamination of arsenite and antimonite using an electrochemical CNT filter functionalized with nanoscale goethite / X. Hu, Y. Liu, F. Liu, H. Jiang, F. Li, C. Shen, X. Fang, J. Yang // *Chemosphere.* – 2021. – Vol. 274. – P. 129790.

47. Gao Y. Oxidative desulfurization of model fuel in the presence of molecular oxygen over polyoxometalate based catalysts supported on carbon nanotubes / Y. Gao, R. Gao, G. Zhang, Y. Zheng, J. Zhao // *Fuel*. – 2018. – Vol. 224. – P. 261–270.
48. Sharma S. Alternative transparent conducting electrode materials for flexible optoelectronic devices / S. Sharma, S. Shriwastava, S. Kumar, K. Bhatt, C. C. Tripathi // *Opto-Electronics Review*. – 2018. – Vol. 26. – No. 3. – P. 223–235.
49. Park S. A review of fabrication and applications of carbon nanotube film-based flexible electronics / S. Park, M. Vosguerichian, Z. Bao // *Nanoscale*. – 2013. – Vol. 5. – No. 5. – P. 1727-1752.
50. Faginas-Lago N. Adsorption of Hydrogen Molecules on Carbon Nanotubes Using Quantum Chemistry and Molecular Dynamics / N. Faginas-Lago, D. Yeni, F. Huarte, Y. Wang, M. Alcamí, F. Martin // *The Journal of Physical Chemistry A*. – 2016. – Vol. 120. – No. 32. – P. 6451–6458.
51. Xu C. Developing thermal regulating and electromagnetic shielding textiles using ultra-thin carbon nanotube films / C. Xu, J. Zhao, Z. Chao, J. Wang, W. Wang, X. Zhang, Q. Li // *Composites Communications*. – 2020. – Vol. 21. – P. 100409.
52. Choi J. Evaluation of carbon nanotube probes in critical dimension atomic force microscopes / J. Choi, B. C. Park, S. J. Ahn, D.-H. Kim, J. Lyou, R. G. Dixson, N. G. Orji, J. Fu, T. V. Vorburger // *Journal of Micro/Nanolithography, MEMS, and MOEMS*. – 2016. – Vol. 15. – No. 3. – P. 034005.
53. Liu Q. Microstructure and mechanical property of multi-walled carbon nanotubes reinforced aluminum matrix composites fabricated by friction stir processing / Q. Liu, L. Ke, F. Liu, C. Huang, L. Xing // *Materials & Design*. – 2013. – No. 45. – P. 343–348.
54. Zhang S. Single-walled carbon nanotubes grafted with dextran as additive to improve separation performance of polymer membranes / S. Zhang, Q. Wang, D. Li, F. Ran // *Separation and Purification Technology*. – 2021. – Vol. 254. – P. 117584.
55. Akhmadishina K. F. Flexible biological sensors based on carbon nanotube films / K. F. Akhmadishina, I. I. Bobrinetskii, I. A. Komarov, A. M. Malovichko, V. K. Nevolin, V. A. Petukhov, A. V. Golovin, A. O. Zalevskii // *Nanotechnologies in Russia*.

– 2013. – Vol. 8. – No. 11–12. – P. 721—726.

56. Herrera-Herrera, A. V. Carbon nanotubes applications in separation science: A review / A. V. Herrera-Herrera, M. A. Gonzalez-Curbelo, J. Hernández-Borges, M. Á. Rodríguez-Delgado // *Analytica Chimica Acta*. – 2012. – No. 734. – P. 1– 30.

57. Jang D. Effect of carbonyl iron powder incorporation on the piezoresistive sensing characteristics of CNT-based polymeric sensor / D. Jang, H. N. Yoon, I. W. Nam, H. K. Lee // *Composite Structures*. – 2020. – Vol. 244. – P. 112260.

58. Piloto C. Room temperature gas sensing properties of ultrathin carbon nanotube films by surfactant-free dip coating / C. Piloto, F. Mirri, E. A. Bengio, M. Notarianni, B. Gupta, M. Shafiei, M. Pasquali, N. Motta // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2016. - No. 227. – P. 128—134.

59. Yanga N. Carbon nanotube based biosensors / N. Yanga, X. Chen // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2015. – No. 207. – P. 690–715.

60. Fama D.W.H. A review on technological aspects influencing commercialization of carbon nanotube sensors / D.W.H. Fama, Al. Palaniappan // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2011. – No. 157. – P. 1–7.

61. Regiart M. Ultra sensitive microfluidic immunosensor for determination of clenbuterol in bovine hair samples using electrodeposited gold nanoparticles and magnetic micro particles as bio-affinity platform / M. Regiart, M.A. Fernandez-Baldo, V.G. Spotorno, F.A. Bertolino, J. Raba // *Biosens. Bioelectron.* – 2013. – No. 41. – P. 211-217.

62. Yang P. A method for determination of glucose by an amperometric bienzyme biosensor based on silver nanocubes modified Au electrode / P. Yang, L. Wang, , Q. Wu, , Z. Chen, , X. Lin // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2014. – No. 194. – P. 71–78.

63. Sharma S. Modulating electron transfer properties of gold nanoparticles for efficient biosensing / S. Sharma, N. Gupta, S. Srivastava // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2012. – Vol. 37. – No. 1. – P. 30–37.

64. Lian W. A molecularly imprinted sensor based on β -cyclodextrin incorporated multiwalled carbon nanotube and gold nanoparticles-polyamide amine

dendrimer nanocomposites combining with water-soluble chitosan derivative for the detection of chlortetracycline / W. Lian, J. Huang, J. Yu, X. Zhang, Q. Lin, X. He, S. Liu // *Food Control*. – 2012. – Vol. 26. – No. 2. – P. 620–627.

65. Wang H. A silver–palladium alloy nanoparticle-based electrochemical biosensor for simultaneous detection of ractopamine, clenbuterol and salbutamol / H. Wang, Y. Zhang, H. Li, B. Du, H. Ma, D. Wu, Q. Wei // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2013. – No. 49. – P. 14–19.

66. He Y. A breathable, sensitive and wearable piezoresistive sensor based on hierarchical micro-porous PU@CNT films for long-term health monitoring / Y. He, L. Zhao, J. Zhang, L. Liu, H. Liu, L. Liu // *Composites Science and Technology*. – 2020. – Vol. 200. – P. 108419.

67. Porto L. S. Carbon nanomaterials: synthesis and applications to development of electrochemical sensors in determination of drugs and compounds of clinical interest / L. S. Porto, D. N. Silva, A. E. F. de Oliveira, A. C. Pereira, K. B. Borges // *Reviews in Analytical Chemistry*. – 2019. – Vol. 38. – No. 3. – P. 1-16.

68. Абдрахимов Р.Р. Сенсоры давления и температуры на основе суспензии эпоксидной смолы и углеродных нанотрубок / Р.Р. Абдрахимов, С.Б. Сапожников, В.В. Сеницин // *Вестник ЮУрГУ. Серия «Компьютерные технологии, управление, радиоэлектроника»*. – 2013. – Т. 13. – № 4. – С. 16-23.

69. Kanoun O. Review on Conductive Polymer/CNTs Nanocomposites Based Flexible and Stretchable Strain and Pressure Sensors / O. Kanoun, A. Bouhamed, R. Ramalingame, J. R. Bautista-Quijano, D. Rajendran, A. Al-Hamry // *Sensors*. – 2021. – Vol. 21. – No. 2. – P. 341.

70. Kalim B. CNTs/ZnO and CNTs/ZnO/Ag multilayers spray coated on cellulose fiber for use as an efficient humidity sensor / B. Kalim, M. T. Ansar, Z. Ullah, S. K. Abbas, S. Riaz, S. A. Siddiqi, S. Atiq // *Ceramics International*. – 2020. – Vol. 46. – No. 16. – P. 25593-25597.

71. Zhan Z. Paper/Carbon Nanotube-Based Wearable Pressure Sensor for Physiological Signal Acquisition and Soft Robotic Skin / Z. Zhan, R. Lin, V.-T. Tran, J. An, Y. Wei, H. Du, T. Tran, W. Lu // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2017. – Vol.

9. – No. 43. – P. 37921–37928.

72. Schroeder V. Carbon Nanotube Chemical Sensors / V. Schroeder, S. Savagatrup, M. He, S. Lin, T. M. Swager // *Chemical Reviews*. – 2018. – Vol. 119. – No. 1. – P. 599-663.

73. Darren J. Skin-like Pressure and Strain Sensors Based on Transparent Elastic Films of Carbon Nanotubes / J. Darren, M. Vosgueritchian, B. Tee // *Nature Nanotechnology*. – 2011. – No. 6. – P. 788–792.

74. Ghodrati M. Carbon nanotube field effect transistors–based gas sensors / M. Ghodrati, A. Mir, A. Farmani // *Nanosensors for Smart Cities*. – 2020. – P. 171–183.

75. Wang, Y. A Review of Carbon Nanotubes-Based Gas Sensors / Y. Wang, J.T.W. Yeow // *Journal of Sensors*. – 2009. – P. 1–24.

76. Goldoni A. Sensing gases with carbon tubes: a review of the actual situation / A. Goldoni, L. Petaccia, S. Lizzit, R. Larciprete // *J. Physics: Condensed Matter*. – 2010. – Vol. 22. – P. 0123001.

77. Ma D. Highly sensitive room-temperature NO₂ gas sensors based on three-dimensional MWCNTs networks on SiO₂ nanospheres / D. Ma, Y. Su, T. Tian, H. Yin, T. Huo, F. Shao, Z. Yang, N. Hu, Y. Zhang // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. – 2020. – Vol. 8. – No. 37. – P. 13915–13923.

78. Tabata H. Visible-Light-Activated Response Originating from Carrier-Mobility Modulation of NO₂ Gas Sensors Based on MoS₂ Monolayers / H. Tabata, H. Matsuyama, T. Goto, O. Kubo, M. Katayama // *ACS Nano*. – 2021. – Vol. 15. – No. 2. – P. 2542–2553.

79. Liu Y. Chemiresistive Gas Sensors Based on Hollow Heterojunction: A Review / Y. Liu, S. Xiao, K. Du // *Advanced Materials Interfaces*. – 2021. – Vol. 8. – No. 12. – P. 2002122.

80. Zhao Y. A Highly Sensitive and Room Temperature CNTs/SnO₂/CuO Sensor for H₂S Gas Sensing Applications / Y. Zhao, J. Zhang, Y. Wang, Z. Chen // *Nanoscale Res Lett*. – 2020. – Vol. 15. – No. 1. – P. 40-47.

81. Snow E. S. Chemical vapor detection using single-walled carbon nanotubes / E. S. Snow, F. K. Perkins, J. A. Robinson // *Chemical Society Reviews*. – 2006. – Vol. 35. – No. 9. – P. 790-798.

82. Болотов В.В. Механизмы формирования слоев нанокompозитов на основе многостенных углеродных нанотрубок и нестехеометрического оксида олова / В.В. Болотов, В.Е. Кан, П.М. Корусенко, С.Н. Несов, С.Н. Поворознюк, И.В. Пономарева, В.Е. Росликов, Ю.А. Стенькин, Р.В. Шелягин, Е.В. Князев // *ФТТ*. – 2012. – Т. 54. – Вып. 1. – С. 154-161.

83. Gupta S. Study of adsorption kinetics of pristine and SnO₂ functionalized carbon nanotubes as environment gas sensors for NO₂ and NH₃ gases / S. Gupta, A. Anand, Neeru, R. Kumar // *Materials Today: Proceedings*. – 2021. – Vol. 47. – No. 8. – P. 1651-1655.

84. Адамян З.Н. Исследование нанокompозитных толстоплёночных сенсоров паров бутанола / З.Н. Адамян, А.Г. Саюнц, Э.А. Хачатрян, В.М. Арутюнян // *Известия НАН Армении, Физика*. – 2016. – Т.51. – №2. – С.192-201.

85. Адамян З.Н. Исследование сенсоров паров перекиси водорода, изготовленных на основе углеродных нанотрубок, покрытых наночастицами двуокиси олова / З.Н. Адамян, А.Г. Саюнц, Э.А. Хачатурян, В.М. Аракелян, В.М. Арутюнян, В. Joost // *Известия НАН Армении, Физика*. – 2019. – Т.54. – №1. – С.75–84.

86. Kwon Y.J. Synthesis, characterization and gas sensing properties of ZnO-decorated MWCNTs / Y.J. Kwon, A. Mirzaei, S.Y. Kang, M.S. Choi, J.H. Bang, S.S. Kim, H.W. Kim // *Appl. Surf. Sci.* – 2017. – No. 413. – P. 242-252.

87. Гайдук Ю.С. Газовые датчики на основе композиции оксида вольфрама и многостенных углеродных нанотрубок / Ю.С. Гайдук, О.Г. Реутская, А.А. Савицкий, И.А. Таратын // *Приборы и методы измерений*. – 2016. – Т. 7, № 1. – С. 41–49.

88. Мишра П. Контролируемое формирование одностенных углеродных нанотрубок для газового сенсора NO₂ / П. Мишра, В.С. Павельев, И.А. Платонов, А.С. Москаленко, М.А. Щербак // *Актуальные проблемы радиоэлектроники и*

телекоммуникаций: материалы Всерос. науч.-техн. конф. / Министерство образования и науки Российской Федерации, Самарский национальный исследовательский университет им. С. П. Королева (Самарский университет). – 2016. – С. 157-158.

89. Das M. Polypyrrole and associated hybrid nanocomposites as chemiresistive gas sensors: A comprehensive review / M. Das, S. Roy // *Materials Science in Semiconductor Processing*. – 2021. – Vol. 121. – P. 105332.

90. Abe H. Response characteristics of a highly sensitive gas sensor using a titanium oxide nanotube film decorated with platinum nanoparticles / H. Abe, Y. Kimura, T. Ma, D. Tadaki, A. Hirano-Iwata, M. Niwano // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2020. – Vol. 321. – P. 128525.

91. Bensghaïer A. “Painted CNT”@Au nanoparticles: a nanohybrid electrocatalyst of direct methanol oxidation / A. Bensghaïer, V. Bhullar, N. Kaur, M. Lo , M. Bdiri , A. Mahajan , M. Chehimi // *Emergent mater.* – 2021. – Vol. 4. – P. 515–524.

92. Шуба А.А. Особенности определения токсикантов в природных водах повышенной солености методом пьезокварцевого микровзвешивания / А.А. Шуба, А.В. Никулина, В.В. Глушенкова, Е.А. Швенк // *Вестник ВГУИТ*. – 2015. - №2. – С.165-170.

93. Кочетова Ж.Ю. Экспресс-оценка загрязнения почв нефтепродуктами при техническом обслуживании машин / Ж.Ю. Кочетова, А.А. Кравченко, С.В. Верхов // тез. докл. Международной научно-практической конференции «Повышение эффективности использования мобильных энергетических средств в различных режимах движения». – 2017. – Воронеж. – С.328-331.

94. Кочетова Ж.Ю. Экспресс-оценка загрязнения грунтов керосином по сигналам пьезосенсора на основе многослойных углеродных нанотрубок / Ж.Ю. Кочетова, Т.А. Кучменко, О.В. Базарский // *ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 2. ХИМИЯ*. – 2017. – Т. 58. - № 1. – С. 28-35.

95. Qi P. High-Performance QCM Humidity Sensors Using Acidized-Multiwalled Carbon Nanotubes as Sensing Film / P. Qi, C. Zhao, R. Wang, T. Fei, T. Zhang // *IEEE Sensors Journal*. – 2018. – Vol. 18. – No. 13, P. 5278–5283.

96. Penza M. Alcohol detection using carbon nanotubes acoustic and optical sensors / M. Penza, G. Cassano, P. Aversa, F. Antolini, A. Cusano, A. Cutolo, L. Nicolais // *Applied Physics Letters*. – 2004. – Vol. 85. – No. 12. – P. 2379–2381.
97. Санина М.Ю. Применение экспресс- и тест-методов в анализе природных объектов / М.Ю. Санина // *Известия ВГПУ*. – 2013. – Т. 260, №1 - С. 258-262.
98. Сергейченко А. В. Акустоэлектронные химические сенсоры на основе массивов модифицированных углеродных нанотрубок: исследование экспериментальных образцов / А.В. Сергейченко, А.С. Чашинский, В.В. Баркалин, И.А. Таратын // *Доклады БГУИР*. – 2012. – С. 33-38.
99. Mermera Ö. Gas Sensing Properties of Carbon Nanotubes Modified with Calixarene Molecules Measured by QCM Techniques / Ö. Mermera, S. Okurb, F. Sümera, C. Özbek, S. Sayınd, M. Yılmazd // *Acta Physica Polonica*. – 2012. – Vol. 121. – No. 1. – P. 240-242.
100. Il'in O. Design of the gas sensor prototype with CNTs-based sensitive element and application of the FFT technique for gas identification / O. Il'in, N. Rudyk, M. Il'ina, A. Fedotov, A. Guryanov // *2020 Moscow Workshop on Electronic and Networking Technologies (MWENT)*. – 2020. – P. 1-4.
101. Rana M.M. A review on recent advances of CNTs as gas sensors / M.M. Rana, D.S. Ibrahim, M.R. Mohd Asyraf, S. Jarin, A. Tomal // *Sensor Review*. – 2017. – Vol. 37. – No. 2. – P. 127-136.
102. Bindra P. Capacitive gas and vapor sensors using nanomaterials / P. Bindra, A. Hazra // *J Mater Sci: Mater Electron*. – 2018. – Vol. 29. – No. 8. – P. 6129–6148.
103. Wu B. High-Performance Wireless Ammonia Gas Sensors Based on Reduced Graphene Oxide and Nano-Silver Ink Hybrid Material Loaded on a Patch Antenna / B. Wu, X. Zhang, B. Huang, Y. Zhao, C. Cheng, H. Chen // *Sensors*. – 2017. – Vol. 17. – No. 9. – P. 2070.
104. Mandal H. S. Carbon Nanotube Thin Film Biosensors for Sensitive and Reproducible Whole Virus Detection / H. S. Mandal, Z. Su, A. Ward, X. Tang. // *Theranostics*. – 2012. – Vol. 2. – No. 3. – P. 251-257.

105. Бабкина С.С. Биоаффинный способ определения катехоламинов с использованием амперометрического ДНК-сенсора / С.С. Бабкина, Н.А. Улахович, Э.П. Медянцева, А.Р. Гатаулина // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2020. – Т. 162, кн. 1. – С. 5–16.

106. Медянцева Э.П. Амперометрические L-цистеиндесульфгидразные биосенсоры на основе модифицированных графитовых печатных электродов для определения антидепрессантов / Э.П. Медянцева, Д.В. Брусницын Р.М. Варламова, М.А. Байбатарова, Г.К. Будников // Ученые записки Казанского университета. Естественные науки. – 2013. – Т. 155, кн.2. – С. 51-65.

107. Karimi F. Carbon Nanotubes for Amplification of Electrochemical Signal in Drug and Food Analysis; A Mini Review / F. Karimi, N. Zakariae, R. Esmaeili, M. Alizadeh, A. Tamadon // Current Biochemical Engineering. – 2020. – Vol. 6. – No. 2. – P. 114-119.

108. Beitollahi H. A Review on the Effects of Introducing CNTs in the Modification Process of Electrochemical Sensors / H. Beitollahi, F. Movahedifar, S. Tajik, S. Jahani // Electroanalysis. – 2018. – Vol. 31. – No. 7. – P. 1195-1203.

109. Medyantseva E.P. Hybrid Nanocomposites as Electrode Modifiers in Amperometric Immunosensors for the Determination of Amitriptyline / E.P. Medyantseva, D.V. Brusnitsyn, E.R. Gazizullina, R.M. Varlamova, O.A. Konovalova, H.C. Budnikov // J Anal Chem. – 2020. – Vol. 75. – P. 536–543.

110. Benjamin S. R. Enzymatic Electrochemical Biosensor Based on Multiwall Carbon Nanotubes and Cerium Dioxide Nanoparticles for Rutin Detection / S. R. Benjamin, R.S. Vilela, H.S. Camargo // Int. J. Electrochem. Sci. – 2018. – Vol. 13. – P. 563-586.

111. Li J. Stretchable and Transparent Electrochemical Sensor Based on Nanostructured Au on Carbon Nanotube Networks for Real-Time Analysis of H₂O₂ Release from Cells / J. Li, M. Jiang, M. Su, L. Tian, W. Shi, C. Yu // Analytical Chemistry. – 2021. – Vol. 93. – No. 17. – P. 6723–6730.

112. Salimi A. Abrasive immobilization of carbon nanotubes on a basal plane pyrolytic graphite electrode: application to the detection of epinephrine / A. Salimi, C.E. Banks, R.G. Compton // *Analyst*. – 2004. – Vol. 129. – No. 3. – P. 225-228.
113. Oliveira T. New Generation of Electrochemical Sensors Based on Multi-Walled Carbon Nanotubes / T. Oliveira, S. Morais // *Applied Sciences*. – 2018. – Vol. 8. – No. 10. – P. 1925.
114. Rubianes M.D. Carbon nanotubes paste electrode / M.D. Rubianes, G.A. Rivas // *Electrochem. Commun.* – 2003. – No. 5. – P. 689-694.
115. Lin X. Electrochemical non-enzymatic glucose sensors based on nano-composite of Co_3O_4 and multiwalled carbon nanotube / X. Lin, Y. Wang, M. Zou, T. Lan, Y. Ni // *Chinese Chemical Letters*. – 2019. – Vol. 30. – No. 6. – P. 1157-1160.
116. Beluomini M. A. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymer on nanostructured carbon materials: A review / M. A. Beluomini, J. L. da Silva, A. C. de Sá, E. Buffon, T. C. Pereira, N. R. Stradiotto // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2019. – Vol. 840. – P. 343-366.
117. Бузановский В.А. Электрохимические сенсоры с углеродными нанотрубками и их использование в биомедицинских исследованиях. Часть I: Сенсоры на основе массива углеродных нанотрубок. Сенсоры из композитного материала. Сенсоры с абразивным нанесением углеродных нанотрубок. Сенсоры с нанесением углеродных нанотрубок с помощью N, N-Диметилформаида, поверхностно-активных веществ, нафтона / В.А. Бузановский // *Биомедицинская химия*. – 2011. – Т. 57. – №6. – С. 12-31.
118. Balasubramanian K. Biosensors based on carbon nanotubes / K. Balasubramanian, M. Burghard // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2006. – Vol. 385. – P. 452–468.
119. Yang Y. A novel electrochemical sensor based on carbon nanotubes array for selective detection of dopamine or uric acid / Y. Yang, M. Li, Z. Zhu // *Talanta*. – 2019. – Vol. 201. – P. 295-300.

120. Lin Y. Glucose Biosensors Based on Carbon Nanotube Nanoelectrode Ensembles / Y. Lin, F. Lu, Y. Tu, Z. Ren // *Nano Letters*. – 2004. – Vol. 4. – No. 2. – P. 191–195.
121. Tu Y. Carbon Nanotubes Based Nanoelectrode Arrays: Fabrication, Evaluation and Application in Voltammetric Analysis / Y. Tu, Y. Lin, W. Yantasee, Z. Ren. // *Electroanalysis*. – 2005. – Vol. 17. – No. 1. – P. 79-84.
122. Chen G. Miniaturized Capillary Electrophoresis System with a Carbon Nanotube Microelectrode for Rapid Separation and Detection of Thiols / G. Chen, L. Y. Zhang, J. Wang // *Talanta*. – 2004. – No. 64. – P. 1018-1023
123. Lawrence N. S. Detection of homocysteine at carbon nanotube paste electrodes / N. S. Lawrence, R. P. Deo, J. Wang // *Talanta*. – 2004. – No. 63. – P. 443–449.
124. Antiochia R. Single-Wall Carbon Nanotube Paste Electrodes: a Comparison with Carbon Paste, Platinum and Glassy Carbon Electrodes via Cyclic Voltammetric Data / R. Antiochia, I. Lavagnini, F. Magno, F. Valentini, G. Palleschi // *Electroanalysis*. – 2004. – Vol. 16. – No. 17. – P. 1451–1458.
125. Jędrzak A. Carbon paste electrode based on functional GOx/silica-lignin system to prepare an amperometric glucose biosensor / A. Jędrzak, T. Rębiś, Ł. Kłapiszewski // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2018. – Vol. 256. – P. 176-185.
126. Tajik S. Developments and applications of nanomaterial-based carbon paste electrodes / S. Tajik, H. Beitollahi, F. G. Nejad, M. Safaei, K. Zhang, Q. Van Le, R. S. Varma, H. W. Jang, M. Shokouhimehr // *RSC Advances*. – 2020. – Vol. 10. – No. 36. – P. 21561–21581.
127. Abdel-Haleem F. M. Polyvinyl Chloride Modified Carbon Paste Electrodes for Sensitive Determination of Levofloxacin Drug in Serum, Urine, and Pharmaceutical Formulations / F. M. Abdel-Haleem, S. Mahmoud, N. E. T. Abdel-Ghani, R. M. El Nashar, M. Bechelany, A. Barhoum // *Sensors*. – 2021. – Vol. 21. – No. 9. – P. 3150.
128. Kumar M. ZnO/functionalized MWCNT and Ag/functionalized MWCNT modified carbon paste electrodes for the determination of dopamine, paracetamol and

folic acid / M. Kumar, B. E. Kumara Swamy, S. Reddy, W. Zhao, S. Chetana, V. Gowrav Kumar // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2019. – Vol. 835. – P. 96-105.

129. Чераги С. Вольтамперометрическое определения серебра с помощью нового пастового электрода, модифицированного многостенными углеродными нанотрубками / С. Чераги, М. А. Тахер, Х. Фазелирад // *ЭЛЕКТРОХИМИЯ*. – 2015. – Т. 51. - № 3. – С. 317–324.

130. Rubianes, M.D. Enzymatic Biosensors Based on Nanotubes Paste Electrodes / M.D. Rubianes, G.A. Rivas // *Electroanalysis*. – 2005. – Vol. 17, №1. – P. 73-78.

131. Илюхина А.С. Использование углеродных нанотрубок как основы ферментного биосенсора для определения глюкозы / А.С. Илюхина, А.С. Харьков, В.А. Арляпов // *Известия ТулГУ. Естественные науки*. – 2018. – Вып. 3. – С. 19-25.

132. Хасанпура Ф. Вольтамперометрический сенсор для определения дакарбазина на основе электрода из угольной пасты, модифицированного наночастицами феррита меди со структурой шинели и многостенными углеродными нанотрубками / Ф. Хасанпура, М. Таэя, М. Фуладгар // *ЭЛЕКТРОХИМИЯ*. – 2018. – Т. 54, № 1. – С. 82–90.

133. Солемани М. Октаэтилпорфириин – ионофор для потенциометрического сенсора на алюминий на основе угольно-пастового электрода / М. Солемани, М. Г. Афшар // *ЭЛЕКТРОХИМИЯ*. – 2014. – Т. 50, № 6. – С. 618–625.

134. Ткас J. The use of single walled carbon nanotubes dispersed in a chitosan matrix for preparation of a galactose biosensor / J. Ткас, J.W. Whittaker, T. Ruzgas // *Biosens Bioelectron*. – 2007. - Vol. 22. – P. 1820-1824.

135. Gutierrez F. A. Electrochemical sensor for amino acids and glucose based on glassy carbon electrodes modified with multi-walled carbon nanotubes and copper microparticles dispersed in polyethylenimine / F. A. Gutierrez, M. D. Rubianes, G. A. Rivas // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2016. – Vol. 765. – P. 16–21.

136. Xing R. A sensitive and reliable rutin electrochemical sensor based on palladium phthalocyanine-MWCNTs-Nafion nanocomposite / R. Xing, H. Yang, S. Li, J. Yang, X. Zhao, Q. Wang, S. Liu, X. Liu // *J Solid State Electrochem*. – 2017. – Vol. 21. – P. 1219–1228.

137. Zhao Z. Preparation and characterization of AuNPs/CNTs-ErGO electrochemical sensors for highly sensitive detection of hydrazine / Z. Zhao, Y. Sun, P. Li, W. Zhang, K. Lian, J. Hu, Y. Chen // *Talanta*. – 2016. – Vol. 158. – P. 283–291.

138. Bagheri H. Composite of Cu metal nanoparticles-multiwall carbon nanotubes-reduced graphene oxide as a novel and high performance platform of the electrochemical sensor for simultaneous determination of nitrite and nitrate / H. Bagheri, A. Hajian, M. Rezaei, A. Shirzadmehr // *Journal of Hazardous Materials*. – 2017. – No. 324. – P. 762–772.

139. Luque G.L. Electrochemical sensor for amino acids and albumin based on composites containing carbon nanotubes and copper microparticles / G.L. Luque, N.F. Ferreyra, G.A. Rivas // *Talanta*. – 2007. – No. 71. – P. 1282–1287.

140. Qian Q. Sensitive fiber microelectrode made of nickel hydroxide nanosheets embedded in highly-aligned carbon nanotube scaffold for nonenzymatic glucose determination / Q. Qian, Q. Hu, L. Li, P. Shi, J. Zhou, J. Kong, W. Huang // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2018. – No. 257. – P. 23–28.

141. Wang J. Carbon nanotube-modified glassy carbon electrode for adsorptive stripping voltammetric detection of ultratrace levels of 2,4,6-trinitrotoluene / J. Wang, S.B. Hocevar, B. Ogorevc // *Electrochem. Commun.* – 2004. – No. 6. – P. 176-179.

142. Wang L. Direct electrochemistry of catalase at a gold electrode modified with single-wall carbon nanotubes / L. Wang, J. Wang, F. Zhou // *Electroanalysis*. – 2004. – Vol. 16. – No. 8. – P. 627–632.

143. Wu K. The fabrication of a carbon nanotube film on a glassy carbon electrode and its application to determining thyroxine / K. Wu, X. Ji, J. Fei, S. Hu // *Nanotechnology*. – 2004. – Vol. 15. – No. 3. – P. 287–291.

144. Wu Y. Studies on electrochemical oxidation of azithromycin and its interaction with bovine serum albumin / Y. Wu, X. Ji, S. Hu // *Bioelectrochem.* – 2004. – No. 64. – P. 91-97.

145. Jiang L. Electrochemical oxidation behavior of nitrite on a chitosan-carboxylated multiwall carbon nanotube modified electrode / L. Jiang, R. Wang, X. Li, L. Jiang, G. Lu // *Electrochem. Commun.* – 2005. – No. 7. – P. 597-601.

146. Liu J.Q. Achieving Direct Electrical Connection to Glucose Oxidase using Aligned Single Walled Carbon Nanotube Arrays / J.Q. Liu, A. Chou, W. Rahmat, M.N. Paddon-Row, J.J. Gooding // *Electroanalysis*. – 2005. – No. 17. – P. 38-46.
147. Liu Z.F. Organizing single-walled carbon nanotubes on gold using a wet chemical self-assembling technique / Z.F. Liu, Z.Y. Shen, T. Zhu, S.F. Hou, L.Z. Ying, Z.J. Shi, Z.N. Gu // *Langmuir*. – 2000. – No. 16. – P. 3569–3573.
148. Lin Y. Protein-Affinity of Single-Walled Carbon Nanotubes in Water / Y. Lin, L. F. Allard, Y.-P. Sun // *The Journal of Physical Chemistry*. – 2004. – Vol. 108. – No. 12. – P. 3760-3764.
149. Karajanagi S. S. Protein-assisted solubilization of single-walled carbon nanotubes / S. S. Karajanagi, H. C. Yang, P. Asuri, E. Sellitto, J. S. Dordick, R. S. Kane // *Langmuir*. – 2006. – Vol. 22. – No. 4. – P. 1392–1395.
150. Guo M. Fabrication of polyaniline/carbon nanotube composite modified electrode and its electrocatalytic property to the reduction of nitrite / M. Guo, J. Chen, J. Li, B. Tao, S. Yao // *Anal. Chim. Acta*. – 2005. – No. 532. – P.71–77.
151. Zhao Q. Electrochemical study of tetra-phenyl-porphyrin on the SWNTs film modified glassy carbon electrode / Q. Zhao, Z.N. Gu, Q. K. Zhuang // *Electrochem Commun*. – 2004. – Vol. 6. – No. 1. – P.83–86.
152. Salimi A. Amperometric Detection of Morphine at Preheated Glassy Carbon Electrode Modified with Multiwall Carbon Nanotubes / A. Salimi, R. Hallaj, G.-R. Khayatian // *Electroanalysis*. – 2005. – Vol. 17. – No. 10. – P. 873–879.
153. Salimi A. Catalytic oxidation of thiols at preheated glassy carbon electrode modified with abrasive immobilization of multiwall carbon nanotubes: applications to amperometric detection of thiocytosine, L-cysteine and glutathione / A. Salimi, R. Hallaj // *Talanta*. – 2005. – Vol. 66. – No. 4. – P. 967–975.
154. Ding Y.-P. Direct simultaneous determination of dihydroxybenzene isomers at C-nanotube-modified electrodes by derivative voltammetry / Y.-P. Ding, W.-L. Liu, Q.-S. Wu, X.-G. Wang // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2005. – Vol. 575. – No. 2. – P. 275–280.

155. Zhang S. Fabrication of multi-wall carbon nanotube film on glassy carbon electrode surface and the determination of tyrosine / S. Zhang, W. Qu, W. Huang, Y. Wu // *J. Nanosci. Nanotech.* – 2004. – No. 4. – P. 553-557.

156. Qiaocui, S. An Electrochemical Biosensor with Cholesterol Oxidase/ Sol-Gel Film on a Nanoplatinum/Carbon Nanotube Electrode / S. Qiaocui, P. Tuzhi, Z. Yunu, C. F. Yang // *Electroanalysis.* – 2005. – Vol. 17. – No. 10. – P. 857–861.

157. Xu Z. Single-wall carbon nanotube-based voltammetric sensor and biosensor / Z. X, X. Chen, X. Qu, J. Jia, S. Dong // *Biosens Bioelectron.* – 2004. – No. 20. – P. 579-584.

158. Шпигун Л.К. Функционализированные углеродные нанотрубки как модифицирующие составляющие электродных покрытий для электрохимических сенсоров / Л.К. Шпигун, Н.А. Исаева, М.А. Сурано // *Изобретательство.* – 2012. – Т. XII. - № 7. – С. 17-28.

159. Xu S. Mediator less amperometric glucose biosensor based on horseradish peroxidase and glucose oxidase cross-linked to multiwall carbon nanotubes / S. Xu, H. Qi, S. Zhou // *Microchim. Acta.* – 2014. – Vol. 181. – P. 535–541.

160. Jerez-Masaquiza M. D. Electrochemical Sensor Based on Prussian Blue Electrochemically Deposited at ZrO₂ Doped Carbon Nanotubes Glassy Carbon Modified Electrode / M. D. Jerez-Masaquiza, L. Fernández, G. González, M. Montero-Jiménez, P. J. Espinoza-Montero // *Nanomaterials.* – 2020. – Vol. 10. – No. 7. – P. 1328.

161. Han Y. A Glucose Biosensor based on Horseradish Peroxidase and Glucose Oxidase Co-entrapped in Carbon Nanotubes Modified Electrode / Y. Han, G. Coucong, M. Longfei // *Int. J. Electrochem. Sci.* – 2017. – Vol. 12. – P. 4958 – 4969.

162. Азадбакт А. Изготовление высокочувствительного электрохимического сенсора на цистеин на основе электрода, модифицированного углеродными нанотрубками и комплексным соединением меди / А. Азадбакт, А. Р. Аббаси // *ЭЛЕКТРОХИМИЯ.* – 2013. – Т. 49, № 12. – С. 1256–1269.

163. Zare H.R. Hematoxylin multi-wall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode for electrocatalytic oxidation of hydrazine / H.R. Zare, N. Nasirizadeh // *Electrochim Acta.* – 2007. – No. 52. – P. 4153–4160.

164. Макарова Н.М. Планарные потенциометрические сенсоры на основе углеродных материалов для определения додецилсульфата натрия / Н. М. Макарова, Е. Г. Кулапина // ЭЛЕКТРОХИМИЯ. – 2015. – Т. 51, № 7. – С. 757–764.
165. Bhardwaj J. Development of a paper-based electrochemical immunosensor using an antibody-single walled carbon nanotubes bio-conjugate modified electrode for label-free detection of foodborne pathogens / J. Bhardwaj, S. Devarakonda, S. Kumar, J. Jang // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2017. – No. 253. – P. 115–123.
166. Viswanathan S. Electrochemical immunosensor for multiplexed detection of food-borne pathogens using nanocrystal bioconjugates and MWCNT screenprinted electrode / S. Viswanathan, C. Rani, J. A. Ho // *Talanta*. – 2012. – Vol. 94. – P. 315–319.
167. Xiao X. A square wave voltammetric method for the detection of microorganism populations using a MWNT-modified glassy carbon electrode / X. Xiao, G. Zhu, L. Liao, B. Liu // *Electrochimica Acta*. – 2012. – Vol. 74. – P. 105–110.
168. Fekry A. M. An electrochemical sensor for creatinine based on carbon nanotubes/folic acid/silver nanoparticles modified electrode / A. M. Fekry, S. A. Abdel-Gawad, R. H. Tammam, M. A. Zayed // *Measurement*. – 2020. – Vol. 163. – P. 107958.
169. Wu J. Reusable voltammetric immunosensor for sCD40L, a biomarker for the acute coronary syndrome, using a glassy carbon electrode modified with a nanocomposite consisting of gold nanoparticles, branched polyethylenimine and carboxylated multiwalled carbon nanotubes / J. Wu, J. He, Y. Zhang, Y. Zhao, Y. Niu, C. Yu // *Microchimica Acta*. – 2017. – Vol. 184. – No. 6. – P. 1837–1845.
170. Amaro M. Scano-magneto immunoassay based on carbon nanotubes/gold nanoparticles nanocomposite for Salmonella Typhimurium detection / M. Amaro, S. Oaew, W. Surareungcha // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2012. – Vol. 38. – P. 157–162.
171. Ratnam K. V. Nonenzymatic electrochemical sensor based on metal oxide, MO (M= Cu, Ni, Zn, and Fe) nanomaterials for neurotransmitters: An abridged review / K. V. Ratnam, H. Manjunatha, S. Janardan, K. C. Babu Naidu, S. Ramesh // *Sensors International*. – 2020. – Vol. 1. – P. 100047.

172. Atta N. F. Efficient electrochemical sensor for determination of H₂O₂ in human serum based on nano iron-nickel alloy/carbon nanotubes/ionic liquid crystal composite / N. F. Atta, S. A. Abdel Gawad, A. Galal, A. A. Razik, A. R. M. El-Gohary // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2021. – Vol. 881. – P. 114953.

173. Wang F. A Non-Enzymatic Sensor Based on Fc-CHIT/CNT@Cu Nanohybrids for Electrochemical Detection of Glucose / F. Wang, S. Hu, F. Shi, K. Huang, J. Li // *Polymers*. – 2020. – Vol. 12. – No. 10. – P. 2419.

174. Mahnashi M. H. Ultrasensitive and selective molecularly imprinted electrochemical oxaliplatin sensor based on a novel nitrogen-doped carbon nanotubes/Ag@cu MOF as a signal enhancer and reporter nanohybrid / M. H. Mahnashi, A. M. Mahmoud, K. Alhazzani, A. Z. Alanazi, A. M. Alaseem, M. M. Algahtani, M. M. El-Wekil // *Microchim Acta*. – 2021. – Vol. 188. – No. 4. – P. 124.

175. Nasraoui S. Electrochemical sensor for nitrite detection in water samples using flexible laser-induced graphene electrodes functionalized by CNT decorated by Au nanoparticles / S. Nasraoui, A. Al-Hamry, P. R. Teixeira, S. Ameer, L. G. Paterno, M. Ben Ali, O. Kanoun // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2021. – Vol. 880. – P. 114893.

176. Zhang L. Electrochemical nitrite biosensor based on the immobilization of hemoglobin on an electrode modified by multiwall carbon nanotubes and positively charged gold nanoparticle / L. Zhang, M. Yi // *Bioprocess Biosyst Eng*. – 2009. - Vol. 32. – P. 485–492.

177. Xiao T. Au and Au-Based nanomaterials: Synthesis and recent progress in electrochemical sensor applications / T. Xiao, J. Huang, D. Wang, T. Meng, X. Yang // *Talanta*. – 2019. – Vol. 206. – P. 120210.

178. Medyantseva E. Surface Modification of Electrodes by Carbon Nanotubes and Gold and Silver Nanoparticles in Monoaminoxidase Biosensors for the Determination of Some Antidepressants / E. Medyantseva, D. Brusnitsyn, R. Varlamova, A. Maksimov, O. Konovalova, H. Budnikov // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2017. – Vol. 72. – No. 4. – P. 362–370.

179. Медянцева Э.П. Гиперразветвленные полиэфирполиолы в составе амперометрических моноаминоксидазных биосенсоров на основе электродов, модифицированных наноматериалами, для определения антидепрессантов / Э. П. Медянцева, Д. В. Брусницын, Р. М. Варламова, О. И. Медведева, М. П. Кутырева, Н. А. Улахович, А. Н. Фаттахова, О. А. Коновалова, Г. К. Будников // Журнал прикладной химии. – 2017. – Т. 90. – №. 1. – С. 104-113.

180. Luo H. Investigation of the Electrochemical and Electrocatalytic Behavior of Single-Wall Carbon Nanotube Film on a Glassy Carbon Electrode / H. Luo, Z. Shi, N. Li, Z. Gu, Q. Zhuang // Analytical Chemistry. – 2001. – Vol. 73. – No. 5. – P. 915–920.

181. Palomar Q. Controlled carbon nanotube layers for impedimetric immunosensors: High performance label free detection and quantification of anti-cholera toxin antibody / Q. Palomar, C. Gondran, M. Holzinger, R. Marks, S. Cosnier // Biosensors and Bioelectronics. – 2017. – No. 97. – P. 177–183.

182. Abdul Rasheed P. Carbon nanostructures as immobilization platform for DNA: A review on current progress in electrochemical DNA sensors / P. Abdul Rasheed, N. Sandhyarani // Biosens. Bioelectron. – 2017. – Vol. 97. – P. 226–237.

183. Prakash J. Label-free rapid electrochemical detection of DNA hybridization using ultrasensitive standalone CNT aerogel biosensor / J. Prakash, A. Dey, S. Uppal, R. Alexander, A. Kaushal, H. S. Misra, K. Dasgupta // Biosensors and Bioelectronics. – 2021. – Vol. 191. – P. 113480.

184. Li W. Universal DNA detection realized by peptide based carbon nanotube biosensors / W. Li, Y. Gao, J. Zhang, X. Wang, F. Yin, Z. Li, M. Zhang // Nanoscale Advances. – 2019. – No. 2. – P. 717-723.

185. Hannah S. Developments in Micro and Nanoscale Sensors for Biomedical Sensing / S. Hannah, E. Blair, D. K. Corrigan // Current Opinion in Electrochemistry. – 2020. - Vol. 23. – P. 7-15.

186. Khechoyan D.G. Physical Adsorption of Single-Stranded DNA on Carbon Nanotube / D.G. Khechoyan, V.F. Morozov // J. Contemp. Phys. – 2021. – No. 56. – P. 65–68.

187. Han S. Label-Free and Ultrasensitive Electrochemical DNA Biosensor Based on Urchinlike Carbon Nanotube-Gold Nanoparticle Nanoclusters / S. Han, W. Liu, M. Zheng, R. Wang // *Analytical Chemistry*. – 2020. – Vol. 92. – No. 7. – P. 4780–4787.

188. Sun Y. Suspended CNT-Based FET sensor for ultrasensitive and label-free detection of DNA hybridization / Y. Sun, Z. Peng, H. Li, Z. Wang, Y. Mu, G. Zhang, S. Chen, S. Liu, G. Wang, C. Liu, L. Sun, B. Man, C. Yang // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2019. – Vol. 137. – P. 255-262.

189. Jiang H. Highly selective, reusable electrochemical impedimetric DNA sensors based on carbon nanotube/polymer composite electrode without surface modification / H. Jiang, E.-C. Lee // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2018. – Vol. 118. – P. 16–22.

190. Абдуллин Т.И. Электроды, модифицированные углеродными нанотрубками, для электрохимических ДНК-сенсоров / Т. И. Абдуллин, И. И. Никитина, Д. Г. Ишмухаметова, Г. К. Будников, О. А. Коновалова, М. Х. Салахов // *Журнал аналитической химии*. – 2007. – Т. 62, № 6. – С. 667–671.

191. Hianik T. QCM biosensors based on DNA aptamers and antibodies for rapid detection of prions / T. Hianik, A. Porfireva, I. Grman, G. E Evtugyn // *Protein Peptide Lett.* – 2009. – Vol. 16. – P. 363–367.

192. Hianik T. Aptabodies – new type of artificial receptors for detection proteins / T. Hianik, A. Porfireva, I. Grman, G. Evtugyn // *Protein Peptide Lett.* – 2008. – Vol. 15. – P. 799–805.

193. Апарцин Е.К. Электрохимические биосенсоры нуклеиновых кислот на основе углеродных нанотрубок / Е. К. Апарцин, Д. С. Новопашина, А. В. Окотруб, А. Г. Веньямина // *Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина*. – 2012. – Т. 10. - № 1. – С. 181-190.

194. Порфирьева А.В. Импедиметрический ДНК-сенсор на основе электродов, модифицированных углеродными нанотрубками, поли(метиленовым синим) и аптамером на тромбин / А.В. Порфирьева, Г.А. Евтюгин, М.А. Савельева, Г.К. Будников // *Ученые записки казанского государственного университета. Естественные науки*. – 2009. – Т. 151, кн. 4. – С. 19-28.

195. Atta N. F. Crown ether modified poly(hydroquinone)/carbon nanotubes based electrochemical sensor for simultaneous determination of levodopa, uric acid, tyrosine and ascorbic acid in biological fluids / N. F. Atta, A. Galal, A. R. El-Gohary // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2020. – Vol. 863. – P. 114032.
196. Yang S. A zeolitic imidazolate framework/carbon nanofiber nanocomposite based electrochemical sensor for simultaneous detection of co-existing dihydroxybenzene isomers / S. Yang, M. Yang, X. Yao, H. Fa, Y. Wang, C. Hou // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2020. – Vol. 320. – P. 128294.
197. Комаров Ф.Ф. Структурные и оптические свойства углеродных нанотрубок, выращенных методом декомпозиции углерода / Ф.Ф. Комаров, М.Л. Самцов, В.Б. Карпович, Е.Ю. Лещенко, И.К. Кирина // *Вестник БГУ. Сер. 1* – 2005. – № 3.
198. Wang Q. A targetable fluorescent sensor for hypochlorite based on a luminescent europium complex loaded carbon nanotube / Q. Wang, C. Tan, W. Cai // *Analyst*. – 2012. – Vol. 137. – No. 8. – P. 1872–1875.
199. Padigi S.K. Carbon nanotube based aliphatic hydrocarbon sensor / S.K. Padigi, R.K.K. Reddy, Sh. Prasad // *Biosensors Bioelectron*. – 2007. – Vol. 22. – P. 829—837.
200. Guo S. A novel sensitive solid-state electrochemiluminescence sensor material: Ru(bpy)₃²⁺ doped SiO₂@MWNTs coaxial nanocable / S. Guo, E. Wang // *Electrochemistry Communications*. – 2007. – Vol. 9. – No. 6. – P. 1252-1257.
201. Мисбахов Р.Ш. Адресный волоконно-оптический датчик для измерения относительной влажности в комплексных распределительных устройствах / Р.Ш. Мисбахов, А.Н. Васёв, А.Ж. Сахабутдинов, И.И. Нуреев, О.Г. Морозов, К.А. Липатников, А.А. Василец // *Радиостроение*. – 2020. – № 01. – С. 1–16.
202. Carmen Kar Man F. Design and fabrication of nano antenna for carbon nanotube intranet detector / F. Carmen Kar Man, N. Xi, B. Shanker // *8th IEEE Conference of Nanotechnology, IEEE-NANO*. – 2008. – P. 205–208.

203. Barone P. W. Near-infrared optical sensors based on single-walled carbon nanotubes / P. W. Barone, S. Baik, D. A. Heller, M. S. Strano // *Nature materials*. – 2004. – Vol. 4. – No. 1. – P. 86-92.

204. Kim J.-H. The rational design of nitric oxide selectivity in single-walled carbon nanotube near-infrared fluorescence sensors for biological detection / J.-H. Kim, D. A. Heller, H. Jin, P. W. Barone, C. Song, J. Zhang, L.J. Trudel, G.N. Wogan, S. R. Tannenbaum, M. S. Strano // *NATURE CHEMISTRY*. – 2009. – Vol. 1. – No. 6. – P. 473-481.

205. Barone P. W. In Vivo Fluorescence Detection of Glucose Using a Single-Walled Carbon Nanotube Optical Sensor: Design, Fluorophore Properties, Advantages, and Disadvantages / P. W. Barone, R. S. Parker, M. S. Strano // *Anal. Chem.* – 2005. – No. 77. – P. 7556-7562.

206. Barone P.W. Reversible control of carbon nanotube aggregation for a glucose affinity sensor / P. W. Barone, M. S. Strano // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2006. – No. 45. – P. 8138–8141.

207. Jeng E. S. Detection of DNA hybridization using the near-infrared band-gap fluorescence of single-walled carbon nanotubes / E. S. Jeng, A. E. Moll, A. C. Roy, J. B. Gastala, M. S. Strano // *Nano Lett.* – 2006. – No. 6. – P. 371–375.

208. Heller D. A. Optical detection of DNA conformational polymorphism on single-walled carbon nanotubes / D. A. Heller // *Science*. – 2006. – No. 311. – P. 508–511.

209. Jin H. Divalent ion and thermally induced DNA conformational polymorphism on single-walled carbon nanotubes / H. Jin // *Macromolecules* – 2007. – No. 40. – P. 6731–6739.

210. Биологический сенсор и способ создания биологического сенсора: пат. 2527699 РФ: / Ю.В. Стебунов, А.В. Арсенин // заявка 2013107267/15, 20.02.2013; опубликовано: 10.09.2014, Бюл. № 25.

211. Taghdisi S. M. A novel fluorescent aptasensor for ultrasensitive detection of microcystinLR based on single-walled carbon nanotubes and dapoxyl / S. M. Taghdisi,

N. M. Danesh, M. Ramezani, N. Ghows, S. A. Mousavi Shaegh, K. Abnous // *Talanta*. – 2017. – No. 166. – P. 187-192.

212. Zhang L. Carbon nanotube–DNA hybrid fluorescent sensor for sensitive and selective detection of mercury(II) ionw / L. Zhang, T. Li, B. Li, J. Li, E. Wang // *Chem. Commun.* – 2010. – No. 46. – P. 1476–1478.

213. Chen H. Development of Infrared Detectors Using Single Carbon-Nanotube-Based Field-Effect Transistors / H. Chen, N. Xi, K.W.C. Lai, C.K.M. Fung, R. Yang // *IEEE Transactions on Nanotechnology*. – 2010. – Vol. 9 – No. 5. – P. 582-589.

214. Hartmann R.R. Terahertz Science and Technology of Carbon Nanomaterials / R.R. Hartmann, J. Kono, M.E. Portnoi // *Nanotechnology*. – 2013. – P. 1-27.

215. Goyal A. Use of single-walled carbon nanotubes to increase the quality factor of an AT-cut micromachined quartz resonator / A. Goyal, S. Tadigadapa, A. Gupta, P. C. Eklund // *Applied Physics Letters*. – 2005. – Vol. 87. – No. 20. – P. 204102.

216. Liena T. T. N. Multi-wall carbon nanotubes (MWCNTs)-doped polypyrrole DNA biosensor for label-free detection of genetically modified organisms by QCM and EIS / T. T. N. Liena, T. D. L., V. T. H. Ana, T. V. Hoanga, D.T. Quangc, D. Q. Khieuc, T. Tsukaharad, Y. H. Lee, J.S. Kim // *Talanta*. – 2010. – No. 80. – P. 1164–1169.

217. Chaste J. A nanomechanical mass sensor with yoctogram resolution / J. Chaste, A. Eichler, J. Moser, G. Ceballos, R. Rurali, A. Bachtold // *Nature Nanotechnology*. – 2012. – Vol. 7. – No. 5. – P. 301–304.

218. Hunt B.D. Pattern-aligned carbon nanotube growth and tunable resonator apparatus / B.D. Hunt, F. Noca, M. E. Hoenk, L. Epp, D.J. Hoppe, R. S. Kowalcyk, D. S. Choi // *International Application No. PCT/US2002/010202*, 01.04.2002.

219. Yang Y. Carbon-Nanotube-Activated Pt Quartz-Crystal Microbalance for the Immunoassay of Human IgG / Y. Yang, Y. Zhu, Q. Chen, Y. Liu, Y. Zeng, F. Xu // *Small*. – 2009. – Vol. 5. – No. 3. – P. 351–355.

220. Ding Y. Poly-l-lysine/hydroxyapatite/carbon nanotube hybrid nanocomposite applied for piezoelectric immunoassay of carbohydrateantigen 19-9 / Y. Ding, J. Liu, X. Jin, H. Lu, G. Shen, R. Yu// *The Analyst*. – 2008. – Vol. 133. – No. 2. – P. 184–190.

221. Гражулене С.С. Исследование корреляций между физико-химическими свойствами углеродных нанотрубок и типом катализатора для их синтеза / С.С. Гражулене, А.Н. Редькин, Г.Ф. Телегин // Журнал аналитической химии. – 2012. – Т. 67. – №. 5. – Р. 479-484.

222. Bradley R. H. Surface studies of hydroxylated multi-wall carbon nanotubes / R. H. Bradley, K. Cassity, R. Andrews, M. Meier, S. Osbeck, A. Andreu, A. Crossley // Applied Surface Science. – 2012. – Vol. 258. – No. 11. – P. 4835–4843.

223. Воронежцева О.В. Иммунохимические методы определения аминогликозидных и тетрациклиновых антибиотиков, трициклических антидепрессантов / О.В. Воронежцева // Автореф. дис. к-та хим. наук. Воронеж. – 2011. – 13 с.

224. Калмыкова Е.Н. Разработка пьезокварцевых иммуносенсоров для проточно-инжекционного анализа высоко- и низкомолекулярных соединений / Е.Н. Калмыкова, Т.Н. Ермолаева, С.А. Еремин // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. – 2002. – Т. 43. – № 6. – С. 399-403.

225. Pelalak R. Lithographically Cut Multiwalled Carbon Nanotubes: Opening Caps, Controlling Length Distribution, and Functionalization / R. Pelalak, Z. Heidari // Journal of Dispersion Science and Technology. – 2014. – Vol. 35. – No. 6. – P. 808–814.

226. Dyachkova T. P. Some aspects of functionalization and modification of carbon nanomaterials / T. P. Dyachkova, A. V. Melezhyk, S. Yu. Gorsky, I. V. Anosova, A. G. Tkachev // Наносистемы: физика, химия, математика. – Т. 4. – №5. – С. 605–621.

227. Wang Y. Piezoresistive response of carbon nanotube composite film under laterally compressive strain / Y. Wang, S. Wang, M. Li, Y. Gu, Z. Zhang // Sensors and Actuators A: Physical. – 2018. – Vol. 273. – P. 140–146.

228. Alayan H. M. Growth and optimization of carbon nanotubes in powder activated carbon for an efficient removal of methylene blue from aqueous solution / H. M. Alayan, M. A. Alsaadi, M. K. AlOmar, M. A. Hashim // Environmental Technology. – 2019. – Vol. 40. – No. 18. – P. 2400–2415.

229. Zhou H. Study on the Chemical Modification of the Walls of Carbon Nanotubes by $K_2Cr_2O_7$ and HNO_3 / H. Zhou, T. Gu, D. Yang et al. // *Advanced Material Research*. – 2011. – Vol. 197–198. – P. 571 – 574.

230. Tserengombo B. The alkaline synthesizing method for improved thermal characteristics of CNT/alumina nanocomposite / B. Tserengombo, H. Jeong, A. Delgado, E. Dolgor, S. Kim // *Diamond and Related Materials*. – 2020. – Vol. 109. – P. 108082.

231. Zehua Q. Effective Chemical Oxidation on the Structure of Multiwalled Carbon Nanotubes / Q. Zehua, W. Guojian // *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. – 2012. – Vol. 12. – No. 1. P. 105–111.

232. Pacheco F. G. Comparative temporal analysis of multiwalled carbon nanotube oxidation reactions: Evaluating chemical modifications on true nanotube surface / F. G. Pacheco, A. A. C. Cotta, H. F. Gorgulho, A. P. Santos, W. A. A. Macedo, C. A. Furtado // *Applied Surface Science*. – 2015. – Vol. 357. – P. 1015–1023.

233. Дьячкова Т. П., Ткачев А. Г. Методы функционализации и модифицирования углеродных нанотрубок. – М.: Издательский дом «Спектр», 2013. – 57 с.

234. Дьячкова Т. Газофазное амидирование углеродных нанотрубок / Т. П. Дьячкова, В. Н. Дружинина // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – №6.

235. Amiri A. One-pot, efficient functionalization of multi-walled carbon nanotubes with diamines by microwave method // A. Amiri, S. Zeinali Heris // *Applied Surface Science*. – 2011. – Vol. 257. – P. 10261–10266.

236. Alam A. Surface amination of carbon nanoparticles for modification of epoxy resins: plasma-treatment vs. wet-chemistry approach / A. Alam, C. Wan, T. McNally // *European Polymer Journal*. – 2017. – Vol. 87. – P. 422–448.

237. Milowska K.Z. Functionalization of carbon nanotubes with $-CH_n$, $-NH_n$ fragments, $-COOH$ and $-OH$ groups / K.Z. Milowska, J.A. Majewski // *The Journal of Chemical Physics*. – 2013. – Vol. 138. – No. 19. – P. 194704.

238. Hadavifar M. Removal of mercury(II) and cadmium(II) ions from synthetic wastewater by a newly synthesized amino and thiolated multi-walled carbon nanotubes /

M. Hadavifar, N. Bahramifar, H. Younesi, M. Rastakhiz, Q. Li, J. Yu, E. Eftekhari // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.* – 2016. – Vol. 67. – P. 397–405.

239. Afrin R. Design and analysis of functional multiwalled carbon nanotubes for infrared sensors / R. Afrin, N.A. Shah, M. Abbas, M. Amin, A.S. Bhatti // *Sensors and Actuators A: Physical* – 2013. – P.142-148.

240. Hsu M.-H. Simple and highly efficient direct thiolation of the surface of carbon nanotubes / M.-H. Hsu, H. Chuang, F.-Y. Cheng, Y.-P. Huang, C.-C. Han, K.-C. Pao, C.-C. Chang // *RSC Adv.* – 2014. – Vol. 4. – No.28. – P. 14777–14780.

241. Hsu M.-H. Simple and highly efficient direct thiolation of the surface of carbon nanotubes / M.-H. Hsu, H. Chuang, F.-Y. Cheng, Y.-P. Huang, C.-C. Han, K.-C. Pao, S.-C. Chou, F.-K. Shieh, F.-Y. Tsai, C.-C. Lin, D.-S. Wug, C.-C. Chang // *RSC Adv.* – 2014. – Vol. 4. – No. 28. – P. 14777–14780.

242. Lee E.-K. Platinum single atoms dispersed on carbon nanotubes as reusable catalyst for Suzuki coupling reaction / E.-K. Lee, S.-A. Park, H. Woo, K. Hyun Park, D. W. Kang, H. Lim, Y.-T. Kim // *Journal of Catalysis.* – 2017. – No. 352. – P. 388–393.

243. Adamska M. Fluorination of Carbon Nanotubes – A Review / M. Adamska, U. Narkiewicz // *Journal of Fluorine Chemistry.* – 2017. – No. 200. – P. 179–189.

244. Mickelson T. Solvation of Fluorinated Single-Wall Carbon Nanotubes in Alcohol Solvents / T. Mickelson, I.W. Chiang, J.L. Zimmerman, P.J. Boul, J. Lozano, J. Liu, R.E. Smalley, R.H. Hauge, J.L. Margrave // *J. Phys. Chem. B.* – 1999. – Vol. 103. – P. 4318-4322.

245. Бржезинская М.М. Характеризация фторированных многостенных углеродных нанотрубок методом рентгеновской абсорбционной спектроскопии / М.М. Бржезинская, Н.А. Виноградов, В.Е. Мурадян, Ю.М. Шульга, Н.В. Полякова, А.С. Виноградов // *Физика твердого тела.* – 2008. – Т.50. – №3. – С. 565-571.

246. Nebogatikova N.A. Functionalization of graphene and few-layer graphene films in an hydrofluoric acid aqueous solution / N.A. Nebogatikova, I.V. Antonova, V.Y. Prinz, V. A. Volodin, D. A. Zatsepin, E. Z. Kurmaev, I. S. Zhidkov, S. O. Cholakh // *Nanotechnol Russia.* – 2014. – No. 9. – P. 51–59.

247. Ермолаева, Т.Н. Пьезокварцевые сенсоры: аналитические возможности и перспективы: монография / Т. Н. Ермолаева, Е.Н. Калмыкова. -Липецк: ЛГТУ, 2007. - 190 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ

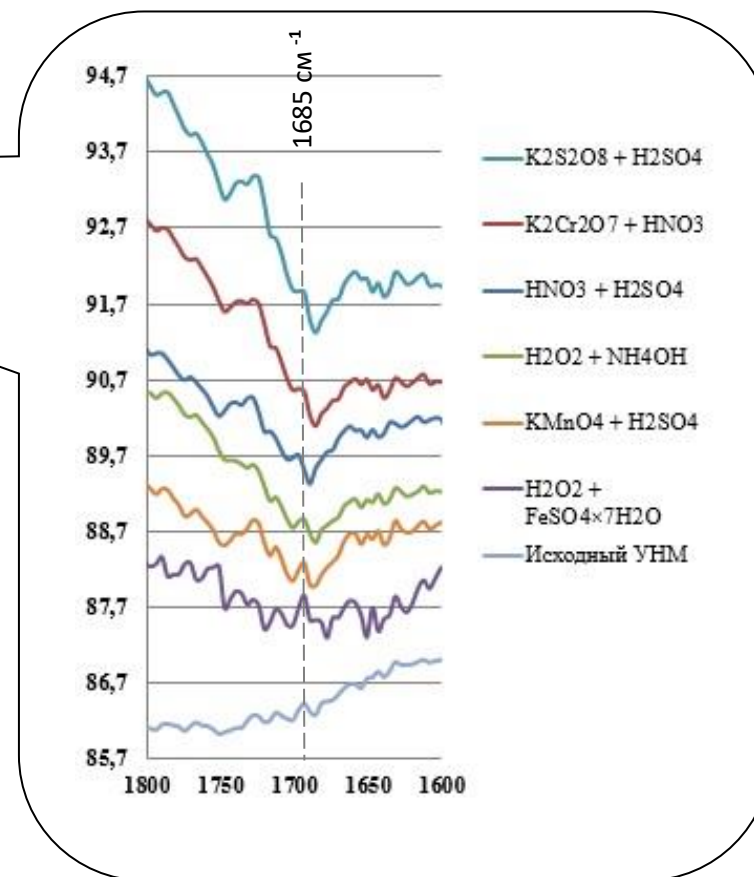
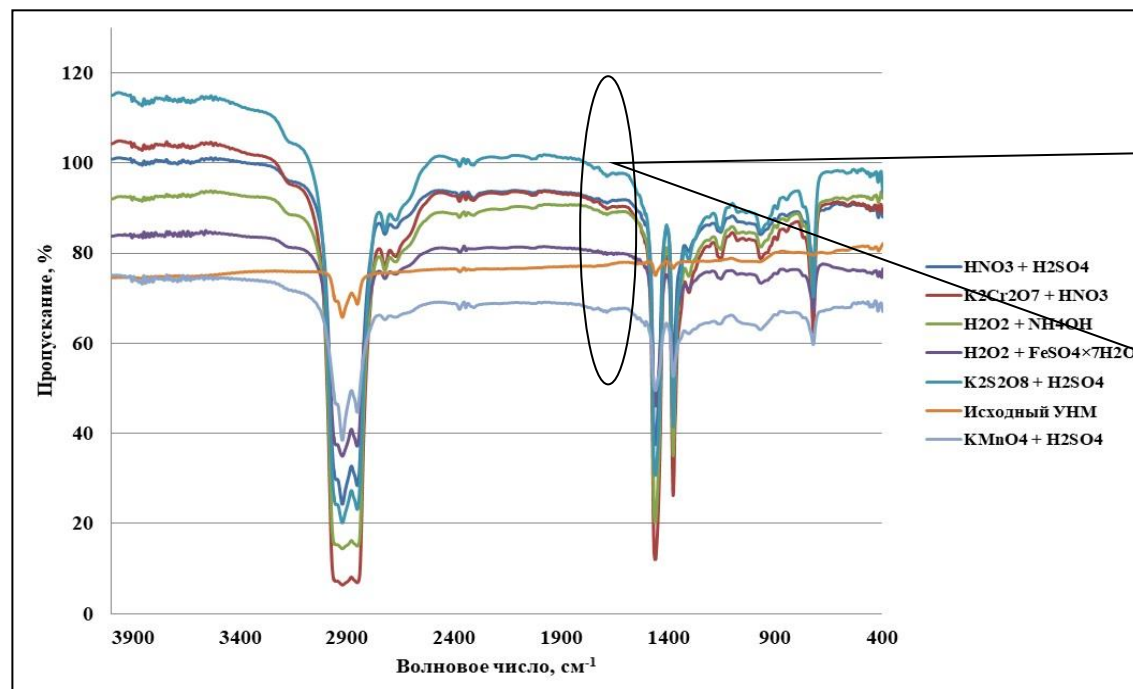


Рисунок 1 – ИК-спектры исходных и окисленных различными способами УНТ «Таунит»

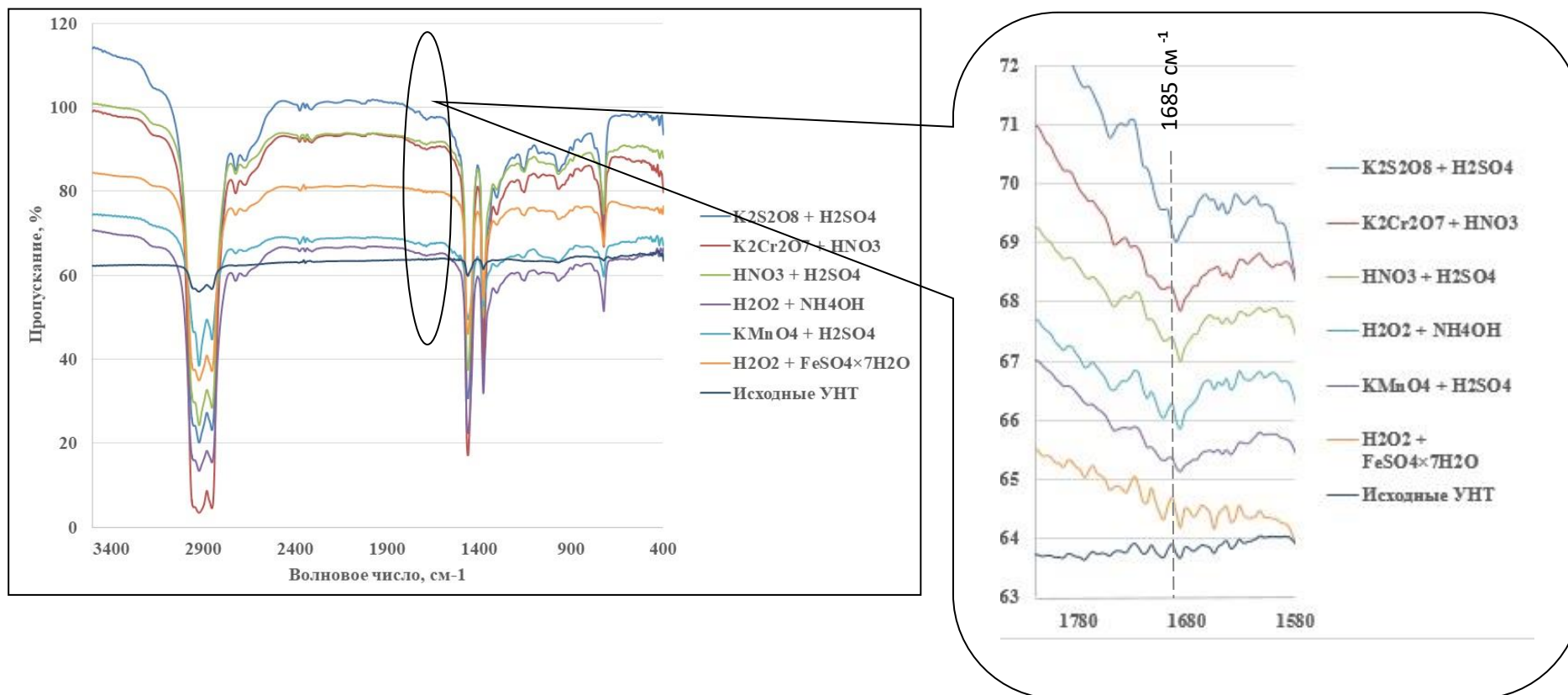


Рисунок 2 – ИК-спектры исходных и окисленных различными способами УНТ -1

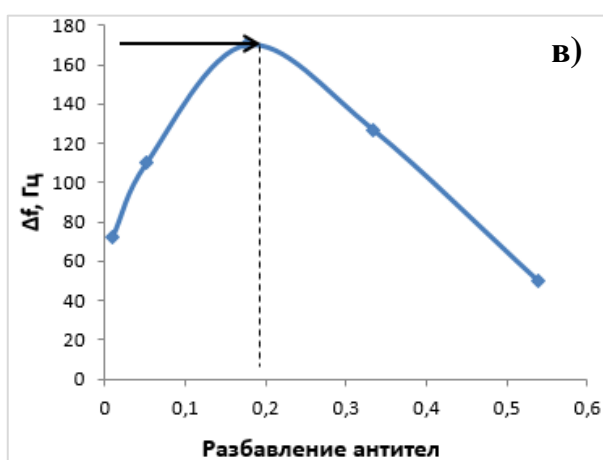
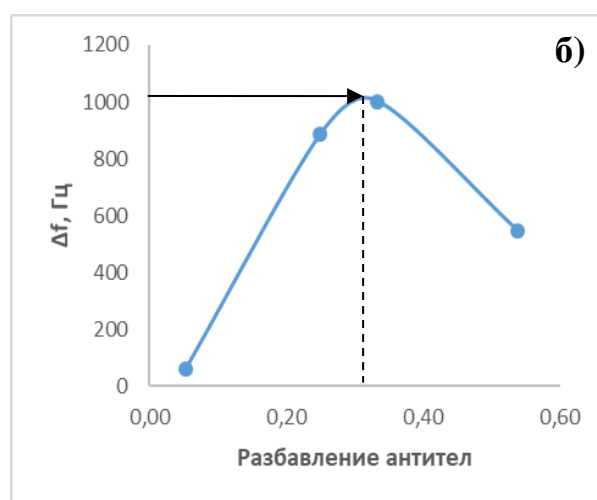
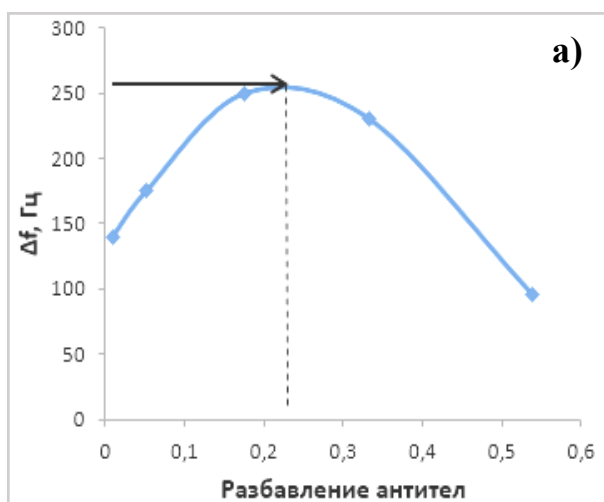


Рисунок 3 – Определение рабочей концентрации антител, отвечающей максимальному насыщению сорбционного слоя к: а) Cip, б) Tetr, в) Lev

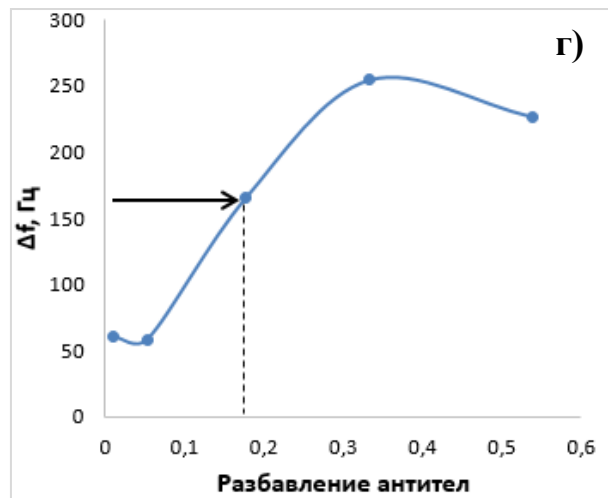
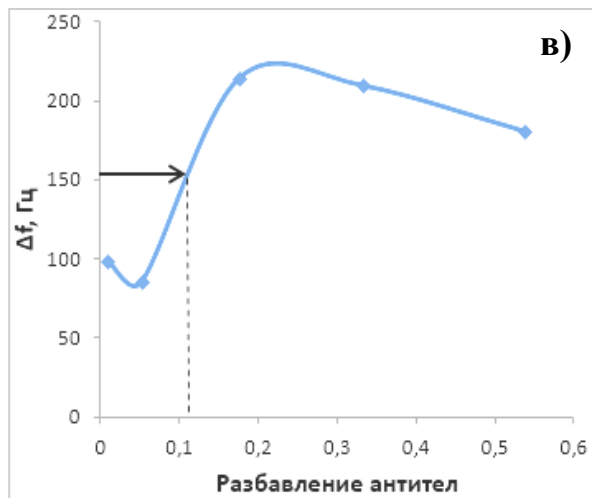
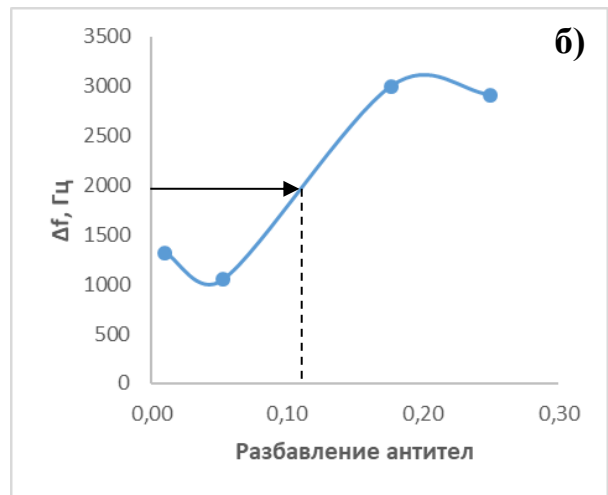
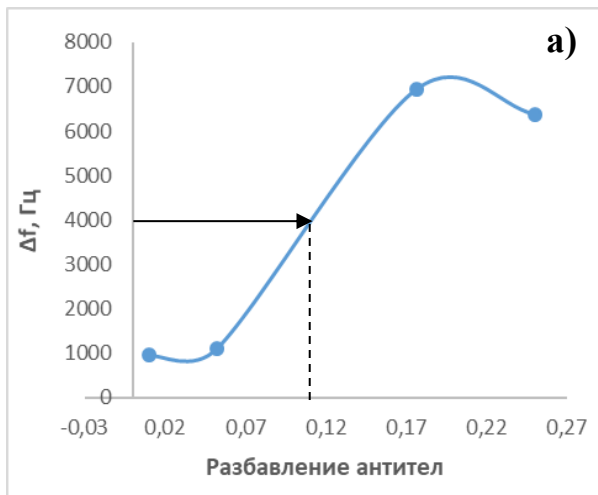


Рисунок 4 – Определение рабочей концентрации антител, отвечающей 50-% связыванию к: а) COL, б) Poly, в) Cip, г) Lev