

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

На правах рукописи



Бизина Екатерина Вячеславовна

**ПРИМЕНЕНИЕ МАГНИТНЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ В
ИММУНО- И ПМО-СЕНСОРАХ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ
И ПРИРОДНЫХ ТОКСИНОВ**

1.4.2. Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, профессор
Татьяна Николаевна Ермолаева

Липецк – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1. Применение наноматериалов в химической сенсорике	10
1.2. Комбинирование наноматериалов при разработке химических сенсоров.	13
2. Пьезоэлектрические сенсоры.....	15
2.1. Способы формирования распознающего слоя	15
2.2. Полимеры с молекулярными отпечатками в пьезоэлектрических сенсорах	17
2.3. Наноматериалы в пьезоэлектрических сенсорах	19
II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	26
3. Реагенты, аппаратура, техника эксперимента.....	26
3.1. Объекты исследования, реагенты и аппаратура	26
3.2. Техника эксперимента	29
3.2.1. Синтез МУНК.....	29
3.2.2. Формирование слоя на основе МУНК	30
3.2.3. Синтез белковых конъюгатов	31
3.2.4. Синтез полимеров с молекулярными отпечатками и формирование рецепторного слоя.....	31
3.2.5. Оценка качества рецепторного слоя	32
III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	34
4. Исследование условий формирования распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе магнитных углеродных нанокомпозитов	34
4.1. Синтез магнитных углеродных нанокомпозитов	34
4.1.1. Синтез магнитных наночастиц	35
4.1.2. Оценка влияния углеродных нанотрубок на характеристики слоя на основе магнитных углеродных нанокомпозитов	41
4.2. Создание распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе магнитных углеродных нанокомпозитов	44

4.3. Определение ципрофлоксацина, пенициллина G и аристолохиевой кислоты с помощью пьезоэлектрических иммуносенсоров на основе магнитных углеродных наноконпозитов.....	51
5. Разработка пьезоэлектрического сенсора с распознающим слоем на основе магнитных углеродных наноматериалов и полимеров с молекулярными отпечатками «ядро-оболочка» макролидных антибиотиков	59
5.1. Синтез полимеров с молекулярными отпечатками «ядро-оболочка»	59
5.1.1. Синтез ядер SiO ₂	63
5.1.2. Синтез полимерной оболочки методами свободнорадикальной и золь-гель полимеризации	64
5.2. Оптимизация условий определения макролидных антибиотиков с помощью пьезоэлектрических ПМО-сенсоров на основе магнитных углеродных наноконпозитов.....	71
6. Применение пьезоэлектрических иммуно- и ПМО-сенсоров на основе магнитных углеродных наноконпозитов для определения биологически активных соединений в продуктах питания	76
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	80
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	82

ВВЕДЕНИЕ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Разработка высокочувствительных и простых устройств для экспрессного определения высоко- и низкомолекулярных соединений является актуальной задачей современной аналитической химии. Благодаря возможности прямого измерения аналитического сигнала без необходимости введения специальных меток и отсутствия длительной пробоподготовки пьезоэлектрические сенсоры уже положительно зарекомендовали себя в анализе пищевой продукции, объектов окружающей среды и биологических сред.

Аналитическим сигналом гравиметрического пьезоэлектрического сенсора служит уменьшение частоты его колебаний при связывании определяемого соединения с распознающим слоем на поверхности электрода. Поэтому важнейшей задачей при разработке пьезоэлектрических сенсоров является формирование устойчивого рецепторного слоя, позволяющего проводить многократные измерения после регенерации, а также увеличение концентрации и поверхностной доступности активных «сайтов» связывания. Для получения распознающего слоя на поверхности электрода пьезоэлектрического сенсора, как правило, применяются многослойные покрытия с прочными связями между отдельными слоями, что требует значительных затрат времени и не всегда обеспечивает устойчивость слоя. Для повышения площади активной поверхности сенсора, влияющей на чувствительность определения, наиболее перспективно использование углеродных нанотрубок (УНТ), характеризующихся низкой массой и высокоразвитой поверхностью.

В последнее время при создании химических сенсоров используют магнитные наночастицы (МНЧ), позволяющие упростить процедуру формирования распознающего слоя под действием внешнего магнитного поля. Для пьезоэлектрических сенсоров такие исследования ранее практически не проводились. Поэтому очевидна перспективность использования при получении рецепторного слоя магнитных углеродных нанокomпозитов (МУНК),

представляющих собой комбинацию магнитных наночастиц и углеродных нанотрубок. Присутствие в составе нанокompозита УНТ может позволить существенно увеличить чувствительность определения аналитов, а применение МНЧ обеспечит возможность формирования распознающего слоя под действием внешнего магнитного поля. В качестве элементов распознавания могут выступать как биомолекулы, так и полимеры с молекулярными отпечатками (ПМО).

Предложенные подходы планируется реализовать при создании пьезоэлектрических иммуно- и ПМО-сенсоров для определения следовых концентраций антибиотиков (пенициллин G, ципрофлоксацин, эритромицин и азитромицин) и аристорохиевой кислоты.

Степень разработанности темы исследования. Магнитные углеродные нанокompозиты успешно применяются в качестве эффективных сорбентов для концентрирования и извлечения различных аналитов. Разработаны электрохимические и оптические сенсоры на основе МУНК. Однако в пьезоэлектрических сенсорах применение МНЧ и МУНК пока ограничено.

Целью данной работы являлось создание пьезоэлектрических иммуно- и ПМО-сенсоров с распознающим слоем на основе магнитных углеродных нанокompозитов, сформированным под действием внешнего магнитного поля, для определения остаточных концентраций антибиотиков и природных токсинов в пищевой продукции.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

- изучить влияние условий синтеза на размер МНЧ и оценить влияние состава МУНК на чувствительность определения антибиотиков и природных токсинов с помощью пьезоэлектрических сенсоров;
- обосновать новый способ формирования устойчивого распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на основе МУНК под действием внешнего магнитного поля для определения антибиотиков и природных токсинов в пищевой продукции;
- выявить условия синтеза полимеров с молекулярными отпечатками методом «ядро-оболочка», оценить возможность их применения в качестве

распознающих компонентов для формирования рецепторного слоя в пьезоэлектрических сенсорах;

- разработать способы определения антибиотиков в пищевых продуктах с помощью пьезоэлектрических сенсоров с распознающим слоем на основе ПМО и МУНК.

Научная новизна

Впервые показана возможность формирования распознающего слоя гравиметрических пьезоэлектрических иммуно- и ПМО-сенсоров на основе МУНК под действием внешнего магнитного поля. Оценено влияние размера МНЧ, соотношения концентраций УНТ:МНЧ в МУНК на характеристики распознающего слоя пьезоэлектрических иммуносенсоров для определения следовых концентраций антибиотиков и природных токсинов.

Предложен новый способ синтеза наносфер ПМО эритромицина и азитромицина методом «ядро-оболочка», заключающийся в формировании молекулярно импринтированной оболочки на поверхности наночастиц диоксида кремния путем свободнорадикальной полимеризации или золь-гель методом, что позволяет проводить определение макролидных антибиотиков в достаточно широком диапазоне концентраций.

Теоретическая и практическая значимость работы состоит в том, что:

1. Разработан новый способ формирования распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе МУНК для определения биологически активных соединений в жидких средах.

2. Предложен новый способ получения рецепторного слоя сенсора на основе наноструктур ПМО с отпечатками антибиотиков ряда макролидов, синтезированных методом «ядро-оболочка» в сочетании с МУНК для определения эритромициновых антибиотиков в продуктах питания.

3. Разработанные сенсоры апробированы при определении биологически активных соединений в продуктах питания. Практическая значимость способа определения ципрофлоксацина подтверждена патентом РФ (патент № 2783255).

Методы исследования. Для решения поставленных задач использованы методы сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии, ИК-спектрометрии, спектрофотометрии в УФ-области спектра и пьезокварцевого микровзвешивания. Регистрацию аналитического сигнала сенсора осуществляли на установке CPNA-330 (ЗАО «ЭТНА», Россия).

Положения, выносимые на защиту:

1. Способ формирования под действием внешних магнитных сил распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на основе магнитного углеродного нанокompозита, состоящего из углеродных нанотрубок и магнитных наночастиц различного размера, способствующий сокращению продолжительности подготовки сенсора к работе и повышению его устойчивости.

2. Результаты изучения влияния условий иммобилизации распознающих биомолекул и массы распознающего слоя на чувствительность определения ципрофлоксацина, пенициллина G и аристолохиевой кислоты с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора на базе магнитных углеродных нанокompозитов.

3. Результаты исследования влияния условий синтеза наночастиц полимеров с молекулярными отпечатками, полученных методом «ядро-оболочка» с ядрами диоксида кремния, и возможности их применения в распознающем слое пьезоэлектрического сенсора на основе магнитных углеродных нанокompозитов.

4. Способы определения следовых концентраций ципрофлоксацина, пенициллина G и аристолохиевой кислоты пьезоэлектрическими иммуносенсорами и антибиотиков макролидного ряда ПМО-сенсорами на основе магнитных углеродных нанокompозитов в пищевой продукции.

Степень достоверности. Достоверность полученных результатов подтверждена применением современного аналитического оборудования, результатами статистической обработки экспериментальных данных, отсутствием систематических погрешностей, а также хорошей воспроизводимостью результатов при анализе реальных объектов.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на следующих конференциях: V Всероссийской (заочной) молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки», Уфа, 2020; Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2021», Москва, 2021; VIII Всероссийской школе-конференции молодых ученых «Органические и гибридные наноматериалы», Иваново, 2021; XII International Conference on Chemistry for Young Scientists «Mendeleev 2021», Saint Petersburg, 2021; Всероссийском симпозиуме и школе-конференции молодых ученых «Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях», Севастополь, 2021; Международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития», Москва, 2021; Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», Москва, 2022; VII Всероссийской (заочной) молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки», Уфа, 2022; XXXII Российской молодежной научной конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения профессора А.А. Тагер, Екатеринбург, 2022; VII Всероссийском молодежном форуме «Наука будущего - наука молодых», Новосибирск, 2022; IV Съезде аналитиков России, Москва, 2022; Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2023», Москва, 2023; IX Всероссийской школе-конференции молодых ученых «Органические и гибридные наноматериалы» и Второй молодёжной школе для студентов, аспирантов и молодых ученых, Иваново, 2023.

Гранты. Диссертационная работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («У.М.Н.И.К.») (договор № 18323ГУ/2023 (код 0086570) от 02.08.2023 г.) и гранта РФФИ и Липецкой области в рамках научного проекта № 20-43-480001.

Личный вклад автора. Автор принимал участие в постановке цели и задач исследования, поиске и анализе литературных данных по тематике работы, планировании и непосредственном проведении экспериментальных

исследований, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций по теме исследования и формулировке выводов.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 статей в журналах, входящих в перечень ВАК и индексируемых в библиографических базах данных Web of Science, Scopus, 14 тезисов докладов, получен 1 патент РФ.

Структура и объем диссертации. Представленная диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 113 страницах машинописного текста и содержит 31 рисунок и 16 таблиц. Список литературы содержит 251 наименование.

I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Применение наноматериалов в химической сенсорике

В последние годы внимание исследователей направлено на получение и изучение наноразмерных материалов. Наноструктуры демонстрируют уникальное сочетание физических и химических свойств, которые находят применение в различных областях химии. Так, материалы на основе углерода получили широкое распространение в аналитической химии. Например, углеродные нанотрубки (УНТ), представляющие собой свернутый в цилиндр лист графена с диаметром в наноразмерном масштабе. Различают одностенные, формирующиеся путем скручивания одного слоя графена в бесшовный цилиндр, и многостенные УНТ свернутые из двух или более листов, коаксиально располагающихся вокруг центральной полости под действием Ван-дер-Ваальсовых сил [1]. УНТ обладают сверхвысокой площадью поверхности, механической прочностью, сверхлегкой массой, а также химической и термической стойкостью, что позволяет использовать их в качестве эффективных сорбентов для твердофазной экстракции [2–4], в электрохимии [5] и каталитических реакциях [6–8].

Отдельно следует упомянуть о применении УНТ в химической сенсорике. Функционализированные углеродные нанотрубки используются при создании газовых [9–11], электрохимических [12–14] и оптических [15–17] сенсоров. Как правило, применение углеродных нанотрубок связано с возможностью увеличения активной площади поверхности сенсора, что позволяет повысить чувствительность определения аналитов. Однако ввиду воздействия сил Ван-дер-Ваальса УНТ характеризуются высокой склонностью к агломерации. Функционализация нанотрубок повышает их растворимость и позволяет получить на поверхности УНТ различные функциональные группы. Методы функционализации принято делить на две подгруппы [18]:

- ковалентная – введение различных химических групп на боковые стенки или концы УНТ за счет ковалентных взаимодействий;

- нековалентная – адсорбция различных функциональных фрагментов на поверхности УНТ.

С помощью функционализации можно придать УНТ желаемые свойства, от которых зависит их последующее применение [19]. Ковалентная функционализация осуществляется за счет химической реакции между концевыми группами или сопряженными поверхностями УНТ. Преимущество этого метода заключается в обеспечении стабильного взаимодействия функциональных фрагментов с матрицей УНТ. Однако перестройка электронной конфигурации атомов углерода УНТ в местах присоединения от sp^2 -гибридизации к sp^3 -гибридизации снижает электронную делокализацию, тем самым нарушая электронные, оптические и собственные свойства систем. С другой стороны, нековалентная функционализация включает адсорбцию на поверхности УНТ мелких фрагментов или обертывание биомолекул и полимеров вокруг углеродных стенок. Метод нековалентной функционализации, как правило, мало влияет на присущие УНТ характеристики, однако физически адсорбированные фрагменты или покрытия демонстрируют меньшую стабильность.

Еще одним наноматериалом, удостоенным повышенного внимания исследователей в последние годы, являются магнитные наночастицы (МНЧ). Оксиды железа (Fe_2O_3 и Fe_3O_4) и ферриты ($MnFe_2O_4$ и $CoFe_2O_4$) наиболее часто используются для изготовления МНЧ из-за высоких магнитных свойств, биологической совместимости, низкой токсичности и простоты процесса их синтеза по сравнению с другими металлами и сплавами [20]. Магнитные свойства наночастиц зависят от большого количества различных факторов, к которым относятся: химический состав, тип кристаллической решётки и степень её дефектности, размер, форма и морфология частиц и т.д. Изменяя состав, форму и размер наночастиц, можно в некоторых пределах управлять магнитными свойствами материалов на их основе.

Так как свойства МНЧ сильно зависят от их размера, то необходимо использовать методы синтеза, которые позволяют получить частицы определённой величины. Наибольший супермагнетизм МНЧ демонстрируют при

размере частиц 10-20 нм, что соответствует их быстрому отклику при наложении магнитных полей [21].

Применение МНЧ находит большое количество направлений, среди которых такие как: пробоподготовка [22, 23], очистка вод [24, 25], лечение и диагностика заболеваний [26–28], маркировка и визуализация клеток [29, 30], тканевая инженерия [31, 32]. Важное значение магнитные наночастицы приобрели и при разработке химических сенсоров. Основное преимущество МНЧ заключается в способности равномерно распределяться по образцу, где происходит предварительное концентрирование вещества, с последующим сбором и выведением из пробы посредством магнитного поля [33].

Серьезные проблемы при конструировании химических сенсоров на основе МНЧ представляет агломерация частиц, вызванная их высокими магнитными свойствами. Для предотвращения агломерации МНЧ могут быть покрыты гидрофильными покрытиями, такими как полиэтиленгликоль, декстран или сахара [34]. Кроме того, МНЧ могут быть функционализированы с целью придания частицам дополнительных оптических, химических и электрохимических свойств, что позволяет усилить сигнал сенсора. Например, распространенным является покрытие МНЧ золотом, что позволяет защитить наноструктуры от коррозии [35], облегчить дальнейшую пришивку поверхностных функциональных групп [36, 37] и повысить оптические и проводящие свойства [36, 38].

Покрытие на основе серебра проявляет высокие плазмонные свойства, а также характеризуется сродством к аминно- и тиольным группам, что используется для рамановской спектроскопии [39]. Часто для покрытия МНЧ серебром предварительно получают тонкую оболочку на основе золота, так как в этом случае структуры более однородны [40, 41].

Также для предотвращения агломерации часто используют покрытие на основе SiO_2 , которое, к тому же, характеризуется легкостью дальнейшей функционализации и большей доступностью по сравнению с благородными металлами [42–44].

В химической сенсорике МНЧ используются для предварительного концентрирования и выделения аналита посредством его захвата функционализированными наночастицами и выведения из сложной по составу матрицы при воздействии магнитного поля [45–48]. После аналит может быть направлен непосредственно на сенсор, где произойдет его электрохимическое [49–52] или оптическое [53–55] определение.

1.2. Комбинирование наноматериалов при разработке химических сенсоров

Сочетание нескольких наноматериалов позволяет получить наноконпозиты, открывающие удивительные возможности. Так, поверхность УНТ, включая как одностенные, так и многостенные, может быть легко модифицирована наночастицами различного вида. Предложены сенсорные устройства на основе УНТ и наночастиц серебра [56] и оксида титана (IV) [57] для определения загрязнителей в газовой среде. Такая комбинация позволила снизить температуру детектирования, а также повысить диапазон определяемых концентраций ацетона и толуола. Разработаны электрохемилюминесцентные сенсоры на основе сочетания многостенных углеродных нанотрубок и наночастиц золота для высокочувствительного определения глюкозы и карциноэмбрионального антигена [58, 59]. Модифицирование УНТ наночастицами висмута позволило разработать электрохимические сенсоры для определения галловой и кофейной кислот [60, 61].

Весьма активно развивается направление по сочетанию УНТ и полимеров с молекулярными отпечатками (ПМО) в электрохимических сенсорах [62–66]. При этом происходит увеличение количества сайтов распознавания и проводимости сенсоров. Таким образом, сочетание наноматериалов и технологии импринтинга обеспечивает привлекательный подход к улучшению чувствительности и селективности сенсоров.

Отдельно стоит упомянуть о сочетании УНТ с МНЧ – магнитных углеродных наноконпозитах (МУНК). В настоящее время МУНК получили

широкое распространение в различных областях науки и техники, и, в зависимости от свойств конечных наноструктур, разработано большое количество способов синтеза композитов. Среди наиболее распространенных выделяют: метод заполнения [67, 68], синтез на основе матрицы [69, 70], химическое осаждение из паровой фазы [71, 72], гидротермальный [73, 74], метод пиролиза [75, 76], золь-гель метод [77, 78], детонационную реакцию [79, 80], самосборку [81, 82] и некоторые другие методы, такие как капиллярное воздействие, конденсированный электролиз, дуговой разряд [82, 83] электроспиннинг [84, 85], сонохимическое осаждение [86], микроэмульсионный [87] и электрохимический метод [88, 89] и импульсное лазерное облучение [90].

Углеродные нанотрубки, с закрепленными на их внешней поверхности магнитными наночастицами, показывают высокую адсорбционную способность углеродных композитов с удобным магнитным разделением. Разработаны сорбенты для твердофазной экстракции на основе МУНК [91, 92]. По сравнению с традиционными адсорбентами МУНК делают процесс разделения более простым и быстрым без необходимости проведения дополнительных процедур центрифугирования или фильтрации, а также позволяют избежать трудоемких операций прохода колонки, возникающих при традиционной твердофазной экстракции.

Уже предложены методы экстракции пиретроидов из образцов чая [93], микотоксинов и фосфорорганических пестицидов из молока [94, 95] некоторых красителей - кристаллического фиолетового, тионина, желтого В и метиленового голубого, из водных растворов [96], парабенов [97], а также ионов тяжелых металлов [98] и ароматических соединений [99]. В настоящее время активно исследуется возможность применения магнитных углеродных нанокомпозитов в химической сенсорике. На данный момент большинство исследований связано с разработкой электрохимических сенсоров. Это объясняется высокой электропроводящей способностью углеродного материала и возможностью магнитного управления нанокомпозитом, что позволяет существенно упростить процесс выделения и детектирования аналита [100–103].

2. Пьезоэлектрические сенсоры

2.1. Способы формирования распознающего слоя

Среди сенсорных систем гравиметрические пьезоэлектрические сенсоры занимают особое место. Эти устройства характеризуются высокой чувствительностью, экспрессностью, малой инерционностью, легкостью в эксплуатации и небольшим размером. Кроме того они позволяют наблюдать за биохимическими взаимодействиями в режиме реального времени без необходимости использования дополнительных меток [104, 105].

Аналитическим сигналом сенсора служит уменьшение частоты его колебаний, вызванное увеличением массы распознающего слоя вследствие образования химического комплекса на поверхности его электрода [106].

При формировании распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора необходимо учитывать несколько важных факторов: массу покрытия, количество и доступность «сайтов» распознавания, устойчивость и стабильность слоя. Создание тяжелого рецепторного слоя может привести к перегрузке сенсора при измерении его аналитического сигнала. Обратная ситуация может привести к закреплению недостаточного количества «сайтов» связывания на поверхности электрода сенсора, что приведет к низкой чувствительности определения аналита. Так же важно, чтобы формируемый слой был устойчивым, это позволит проводить регенерацию рецепторного слоя после цикла измерения без снижения свойств распознавания. Высокая стабильность рецепторного слоя гарантирует возможность использования сенсора в статических («dip and dry») и проточно-инжекционных условиях.

Для создания распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора используют иммобилизацию за счет неспецифического связывания, ковалентное закрепление рецепторных молекул, а также включение чувствительных элементов в полимер или гель [107].

Неспецифическое связывание является наиболее простым и быстрым способом закрепления биомолекул на поверхности электрода сенсора. Этот

процесс осуществляется за счет водородных связей или неспецифических взаимодействий. Слой, полученный таким образом, характеризуется небольшой плотностью, а также неустойчивостью и коротким сроком службы.

В случае ковалентной иммобилизации предполагается закрепление элементов распознавания за счет подложки - тонкой пленки кросс-линкера, активирующей поверхность электрода путем образования связи с металлом и содержащей активные группы, с которыми взаимодействуют иммобилизуемые впоследствии биомолекулы. Этот метод позволяет добиться плотного, высокоразвитого слоя, устойчивого при воздействии жидкостей. Последнее также является и недостатком, так как удаление такого покрытия приходится осуществлять с использованием агрессивных растворителей, зачастую разрушающих металлическое покрытие электрода сенсора.

Часто для создания распознающего слоя используются многослойные способы формирования, обеспечивающие образование прочных связей между отдельными слоями. Такой процесс включает создание на поверхности электрода самоорганизованного монослоя тиолов или силанов, электрогенерированных пленок, активацию их бифункциональным реагентом и иммобилизацию антител или белковых конъюгатов аналитов [108, 109]. При этом получение многослойного покрытия, как правило, занимает продолжительное время и не всегда гарантирует образование устойчивого слоя. Для увеличения площади активной поверхности сенсора, обеспечивающей высокую чувствительность определения, наиболее перспективно использование углеродных нанотрубок, характеризующихся низкой массой и сверхвысокой развитой поверхностью [110, 111]. Применение УНТ позволяет значительно увеличить концентрацию активных сайтов связывания, расположенных на поверхности электрода пьезоэлектрического сенсора без существенного увеличения массы распознающего слоя.

В работе [112] предложена методика увеличения удельной поверхности распознающего слоя за счет применения многостенных углеродных нанотрубок. Для образования прочных химических связей между слоями-модификаторами

производили обработку УНТ смесью кислот HNO_3 : H_2SO_4 в соотношении 1:3, что способствовало образованию карбоксильных групп на поверхности нанотрубок. Далее УНТ активировали карбодиимидным методом и производили формирование подложки на поверхности пьезоэлектрического сенсора для детектирования рактопомина в реальных объектах. Применение УНТ позволяет добиться снижения предела обнаружения рактопомина до 0,3 нг/мл и проводить определение в диапазоне 0,1–25 нг/мл. Кроме того, разработаны сенсоры для детектирования других антибиотиков, например фторхинолонов, полимиксина, колхицина и тетрациклина, как в конкурентном, так и в прямом форматах анализа [111, 113].

Однако использование нанотрубок подразумевает длительную подготовку сенсора к анализу, так как сначала необходимо активировать поверхность электрода посредством меркаптанов, после чего произвести закрепление УНТ, и только после можно приступать к иммобилизации распознающих биомолекул. За счет этого рецепторный слой формируется продолжительное время. А для разрушения взаимодействий, образуемых между слоями-модификаторами, зачастую требуется применение агрессивных растворителей, что сокращает срок службы пьезоэлектрического сенсора.

Решением этой проблемы может стать использование при создании рецепторного слоя сочетания магнитных наночастиц и углеродных нанотрубок, позволяющего формировать слой под действием внешнего магнитного поля, исключая необходимость создания прочных связей между электродом сенсора и элементами распознавания.

2.2. Полимеры с молекулярными отпечатками в пьезоэлектрических сенсорах

Элементами распознавания в пьезоэлектрических сенсорах могут выступать биомолекулы, такие как антитела, антигены и аптамеры, обеспечивающие высокую специфичность определения целевого анализита, а также полимеры с

молекулярными отпечатками, отличающиеся от природных молекул устойчивостью при воздействии органических растворителей и сильных электролитов [114]. Кроме того, сенсоры на основе ПМО характеризуются более длительным сроком хранения, чем аналогичные биосенсоры.

Полимеры с молекулярными отпечатками могут быть получены путем сополимеризации функционального мономера и кросс-мономера в присутствии молекул-шаблонов (темплатов), в качестве которых чаще всего выступает аналит. После удаления молекулы темплата в матрице полимера формируется отпечаток, соответствующий по форме и химической функциональности определяемой молекуле, которая может быть повторно селективно связана с ним [115, 116].

Каждый год публикуется много результатов новых исследований о применении ПМО в пьезоэлектрических сенсорах. При этом синтез ПМО осуществляется либо *in situ* на поверхности сенсора, либо путем иммобилизации предварительно синтезированных частиц полимеров на электроде с помощью полимерной или гелиевой матрицы [117–119]. Толщина полимерных пленок варьируется от 18 нм до 5 мкм. Для получения воспроизводимого и надежного аналитического сигнала необходимо контролировать толщину и свойства полимерного покрытия на поверхности сенсора [120].

Тремя наиболее распространенными областями применения пьезоэлектрических сенсоров на основе ПМО являются клиническая диагностика, мониторинг окружающей среды и контроль разделения энантиомеров. Разработаны сенсоры с распознающим слоем на основе ПМО для определения различных лекарственных препаратов [121–124], микотоксинов [125], трипсина [126], для распознавания заболеваний плодовых культур [127] и плодов [128].

В последнее время особое значение приобретают полимеры с молекулярными отпечатками, синтезированные методом «ядро-оболочка» [129]. В качестве ядра могут быть использованы полупроводниковые [130–133] и углеродные [134–136] квантовые точки, частицы с повышенной конверсией [137, 138], наночастицы золота и серебра [139–142], металлоорганические каркасы [143–145], магнитные наночастицы [146–148], SiO₂ [149–153]. Кроме того, в структурах

«ядро-оболочка» ядра могут быть полыми внутри [154–156]. Наиболее очевидным преимуществом таких гибридных материалов является то, что они объединяют желаемые химические и физические свойства органических и/или неорганических веществ в одну конечную структуру [157, 158].

Структура «ядро-оболочка» обеспечивает большую доступность сайтов связывания на поверхности ПМО, что значительно улучшает кинетику связывания при одновременном снижении сопротивления массопереносу молекулы-шаблона. Однако толщина оболочки ПМО и плотность сайтов связывания могут отличаться в зависимости от метода синтеза. Для этого сначала синтезируют подходящим методом (в зависимости от условий решаемой задачи) ядро, модифицируют его различными функциональными группами и покрывают тонкой импринтированной оболочкой [159]. Наиболее распространенными методами синтеза полимерной оболочки являются преципитационная, эмульсионная, золь-гель полимеризация и полимеризация с прививкой [160, 161].

Интеграция различных функциональных компонентов в качестве материалов ядра в ПМО, синтезированных методом «ядро-оболочка», может привести к созданию сенсоров для различных аналитических приложений. Так, предложены ПМО «ядро-оболочка» для оптических сенсоров: флуоресцентных [162–167], фосфоресцентных [168], хемилюминесцентных [169, 170], сенсоров поверхностного плазмонного резонанса [171–174], сенсоров комбинационного рассеяния [175, 176]. Так же широкое распространение такие структуры получили и для использования в электрохимических сенсорах [177–181].

2.3. Наноматериалы в пьезоэлектрических сенсорах

Наночастицы в пьезоэлектрических сенсорах уже долгое время используются в основном для амплификации аналитического сигнала. Это возможно за счет увеличения массы определяемого вещества. В работе [182] описана методика получения наночастиц золота, тиолированных меркаптопроизводными различного строения и их применение в

пьезоэлектрических сенсорах. Использование наночастиц в прямом формате анализа дает возможность снизить пределы обнаружения в 3 раза при детектировании антител к ДНК и в 10 раз при определении С-реактивного белка. Применение золотых наночастиц для определения стафилококкового энтеротоксина А с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора [183] позволило снизить предел обнаружения и увеличить диапазон определяемых концентраций. Предложено осуществлять усиление сигнала пьезоэлектрического сенсора с помощью золотых наночастиц для детектирования низких концентраций антигена ВИЧ-1 [184], а также простатспецифического антигена [185]. В работе [186] применяли пьезоэлектрический аптасенсор для определения арсенит-ионов. На поверхности электрода формировали самоорганизующийся монослой меркаптоэтиламина, а золотые наночастицы модифицировали аптамером арсенит-иона для усиления аналитического сигнала биосенсора. Так, арсенит-ион связывался сначала с монослоем меркаптоэтиламина, а при добавлении функционализированных наночастиц золота образовывались сложные «сэндвич»-структуры. Похожая стратегия предложена и для определения ионов Hg(II) и Pb(II) [187, 188].

Разработан способ детектирования диэтилстильбестрола с помощью пьезоэлектрического сенсора. Аналитический сигнал усиливался за счет наночастиц серебра, иммобилизованных на поверхности самоорганизованного слоя, и наночастиц золота, связанных с антителами к диэтилстильбестролу [189].

Усиления аналитического сигнала пьезоэлектрического сенсора может быть достигнуто при применении наночастиц и других видов. Так, например, для определения алкилбензилосульфонов [190] и бисфенола А [191] использовались наночастицы полистирольного латекса. Увеличение массы определяемых молекул при помощи полимерных наночастиц позволяет значительно повысить чувствительность определения, а также снизить предел обнаружения высоко- и низкомолекулярных соединений.

В настоящее время отсутствуют систематические исследования, посвященные применению МНЧ в пьезоэлектрических сенсорах [192]. В

литературе встречаются публикации, посвященные использованию магнитных наночастиц в пьезокварцевом детектировании, однако таких работ достаточно мало. Например, разработан пьезоэлектрический сенсор для определения вируса птичьего гриппа H5N1 [193]. Наночастицы в этом случае выступали в качестве элементов утяжеления, их магнитные свойства не задействовались.

Работа [194] посвящена определению сульфатвосстанавливающих бактерий (рис. 1). На поверхности магнитных наночастиц Fe_3O_4 получали оболочку диоксида кремния, после чего иммобилизовали молекулы ванкомицина. При внесении в образец, содержащий сульфатвосстанавливающие бактерии, ванкомицин связывался с пептидами, входящими в состав клеточной стенки бактерий и оканчивающимися на -D-Ala-D-Ala . Далее эту смесь наносили на поверхность пьезоэлектрического сенсора, под которым располагался магнит. Диапазон определяемых концентраций составил $1,8 \cdot 10^{-4}$ – $1,8 \cdot 10^{-7}$ КОЕ/мл.

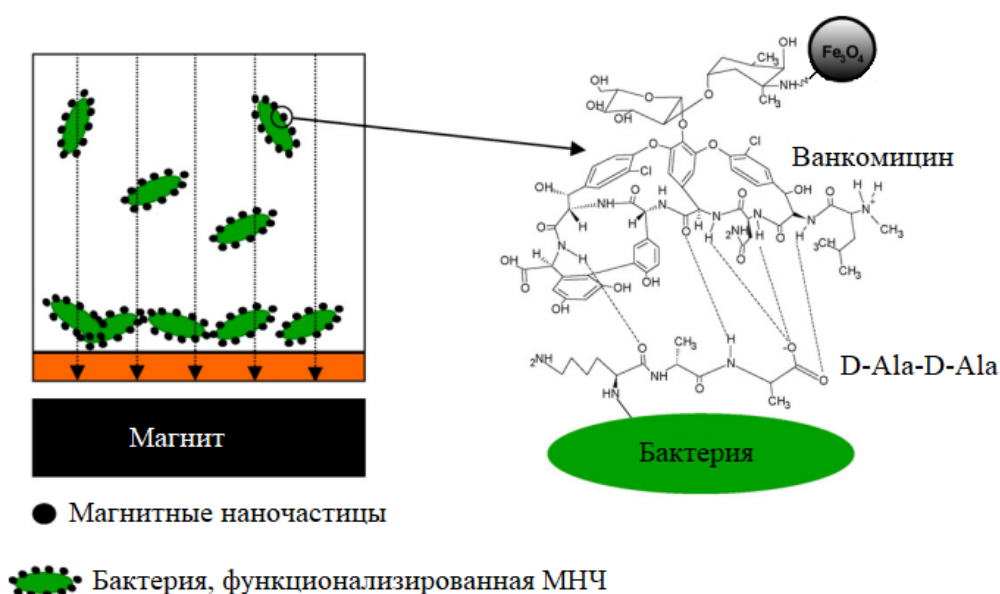


Рисунок 1 – Определение сульфатвосстанавливающих бактерий с помощью пьезоэлектрического сенсора

Сэндвич-анализ с использованием магнитных наночастиц предложен для определения С-реактивного белка [195]. Наночастицы Fe_3O_4 покрывали оболочкой SiO_2 , на их поверхности иммобилизовали первичные антитела к С-

реактивному белку. Наночастицы золота обрабатывали пероксидазой хрена, связанной с вторичными антителами. Далее происходило связывание первичных антител с аналитом, после чего к системе добавляли наночастицы золота, функционализированные вторичными антителами. Полученные структуры закрепляли на поверхности пьезоэлектрического сенсора. Формирование слоя происходило под действием внешнего магнитного поля. Воздействие H_2O_2 на образец приводило к образованию нерастворимого осадка на поверхности электрода ввиду окисления пероксидазы, что также способствовало увеличению аналитического сигнала сенсора.

Так же разработан пьезоэлектрический сенсор для определения *Escherichia coli* O157:H7 с применением магнитных наночастиц [196]. МНЧ были модифицированы первичными антителами к бактерии и вторичными антителами, связанными с биотином. Эти наночастицы вносили в образец, содержащий искомую бактерию, после выделения и промывки к раствору добавляли золотые наночастицы, меченые стрептавидином, и эту систему наносили на поверхность пьезоэлектрического сенсора (рис. 2). Предел обнаружения составил 23 КОЕ/мл, процедура обнаружения занимала 4 ч.

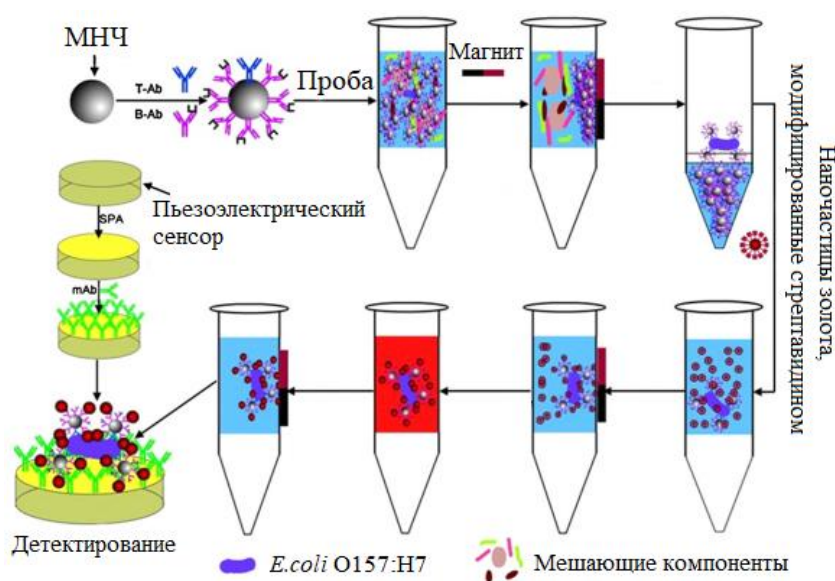


Рисунок 2 – Определение *Escherichia coli* O157:H7 с помощью пьезоэлектрического сенсора с применением магнитных наночастиц

Для детектирования иммуноглобулина G (Ig G), предложены два варианта применения МНЧ совместно с пьезоэлектрическим сенсором. В работе [197] разработана ячейка детектирования, позволяющая проводить определение в проточном режиме (рис. 3а). Для иммобилизации антител к Ig G на поверхности наночастиц Fe_3O_4 получали оболочку диоксида кремния и обрабатывали глутаровым альдегидом. Формирование распознающего слоя осуществляли под действием магнитного поля (рис. 3б). Недостатком данного метода является специальное устройство ячейки, в которой смена пьезоэлектрического сенсора вызывает затруднение, а также необходимость создания гибких выводящих контактов за пределами ячейки детектирования.

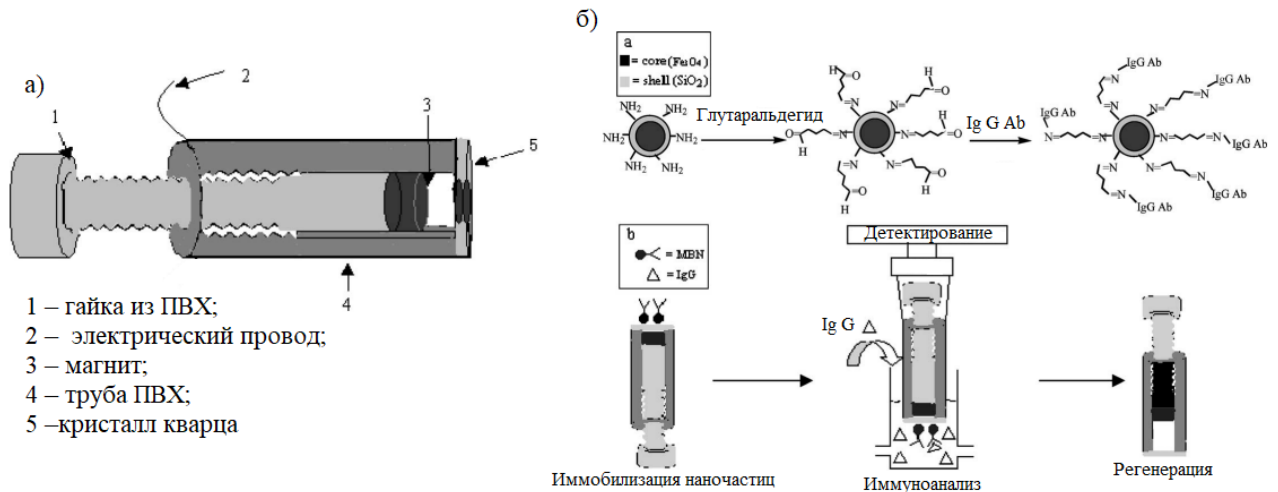


Рисунок 3 – Схема пьезоэлектрического биосенсора (а) и схема иммуноанализа (б)

Во втором варианте использовали составной композит, состоящий из нанокристаллов гидроксиапатита, наночастиц $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ и наночастиц золота [198]. На этих структурах закрепляли антитела к Ig G. Анализ проводили в проточно-инжекционном режиме.

Для определения афлатоксина B_1 также использовался проточно-инжекционный анализ [199]. Поверхность наночастиц модифицировали оболочкой SiO_2 , обрабатывали глутаровым альдегидом и иммобилизовали

антитела к афлатоксину В₁. Распознающий слой в ячейке детектирования удерживали под действием магнитного поля.

Кроме того, было предложено сочетание ПМО с МНЧ для создания распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора для определения красителя Судан I в пищевой продукции [200]. Однако магнитные наночастицы в этом случае использовались лишь в качестве усилителей аналитического сигнала, а магнитные свойства их не учитывались.

Исследования возможности применения магнитных углеродных нанокomпозитов в пьезоэлектрических сенсорах практически отсутствуют. В настоящее время известна лишь одна работа, посвященная этой теме [201]. Миоглобин определяли на распознающем слое, включающем наночастицы «ядро-оболочка» Fe₃O₄@Au и многостенные углеродные нанотрубки. На поверхности наночастиц Fe₃O₄@Au иммобилизовали антитела к миоглобину, УНТ обрабатывали функциональным мономером (поли(диаллилдиметиламмония хлорид) – PDDA), смешивали наноматериалы, вследствие чего получали композит. Формирование распознающего слоя происходило под действием внешнего магнитного поля. Пероксидаза хрена, присутствующая в растворе и связанная с вторичными антителами, вступала в окислительно-восстановительное взаимодействие с пероксидом водорода с образованием нерастворимого осадка, что увеличивало аналитический сигнал (рис. 4). Недостатком данного метода является сложность процедуры подготовки сенсора к анализу, а также отсутствие возможности регенерации рецепторного слоя сенсора для повторного использования.

Как показал анализ литературы, магнитные углеродные нанокomпозиты уже положительно зарекомендовали себя в химической сенсорике. Однако применение МУНК в пьезоэлектрических сенсорах пока ограничено. Имеются единичные работы, которые демонстрируют формирование прочного и устойчивого распознающего слоя.

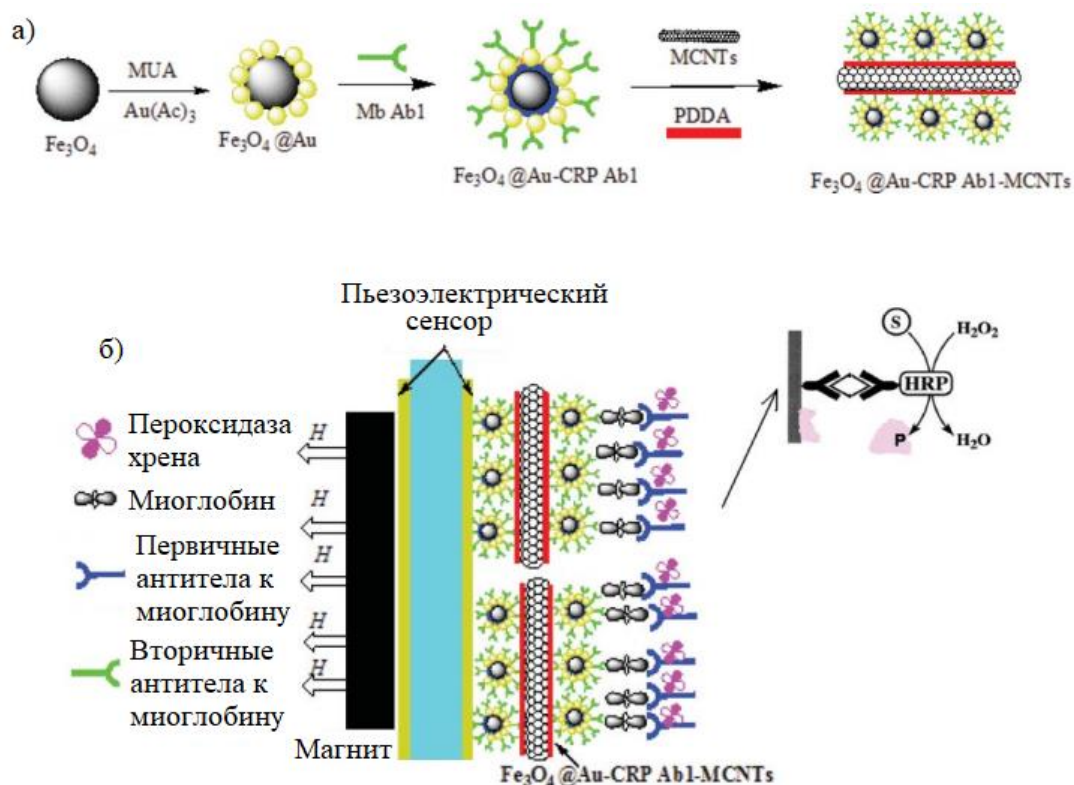


Рисунок 4 – Схема формирования нанокompозита (а) и иммуноанализа с помощью пьезоэлектрического сенсора (б)

Поскольку аналитическим сигналом пьезоэлектрического гравиметрического сенсора является изменение массы распознающего слоя за счет взаимодействия элементов распознавания с определяемым веществом, то важным этапом разработки сенсора является тщательное исследование процедуры создания слоя. Применение на этой стадии разработки сенсора МУНК с иммобилизованными на их поверхности иммунореагентами или частицами ПМО, обеспечит образование рецепторного слоя под действием внешнего магнитного поля. Синтез МУНК может быть проведен заранее, а применение его для формирования распознающего слоя после диспергирования в подходящем растворителе. Удаление такого покрытия осуществляется путем снятия магнитного воздействия и не потребует применения органических растворителей и растворов концентрированных кислот, разрушающих поверхность металлического электрода и сокращающих срок службы пьезоэлектрического сенсора.

II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3. Реагенты, аппаратура, техника эксперимента

3.1. Объекты исследования, реагенты и аппаратура

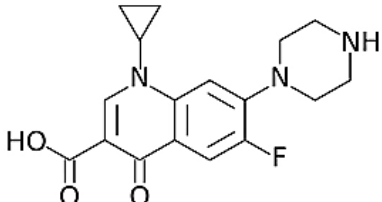
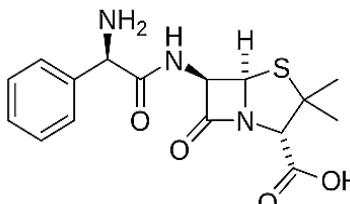
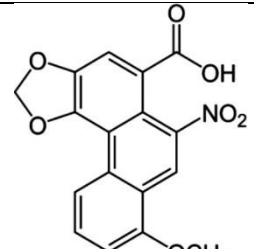
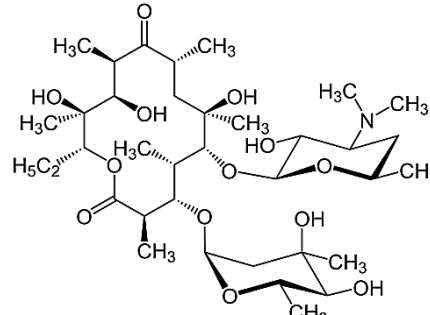
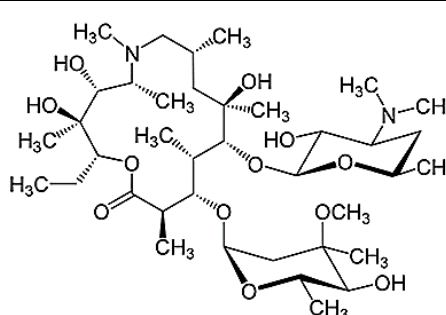
В качестве объектов исследования выбраны: ципрофлоксацин (**Цип**) («Sigma-Aldrich», США), пенициллин G (**Пен G**) («Биохимик», Россия), антибиотики макролидного ряда – эритромицин (**Эрт**) («Синтез», Россия) и азитромицин (**Азт**) («Производство медикоментов», Россия) (табл. 1). Аристолохиевая кислота (**АК**) и ее конъюгаты с бычьим сывороточным альбумином (**АК-БСА**) и овальбумином яичного белка (**АК-ОВА**) получены от профессора С.А. Еремина (МГУ им. М.В. Ломоносова).

Для иммунохимического исследования применяли: поликлональные антитела к ципрофлоксацину (**анти-Цип**) [202] и аристолохиевой кислоте (**анти-АК**), полученные от профессора С.А. Еремина (МГУ им. М.В. Ломоносова); пенициллину G (**анти-Пен G**) («Abcam», Великобритания).

Для синтеза магнитных углеродных нанокomпозитов использовали многостенные углеродные нанотрубки, отличающиеся внешним диаметром ($d_{\text{внешний}}$) и длиной (L), предоставленные Институтом проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов РАН (ИПТМ РАН) (г. Черноголовка) (УНТ₁: $d_{\text{внешний}} = 20 - 40$ нм, $L =$ несколько мкм) и Институтом катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения РАН (ИК СО РАН) (г. Новосибирск) (УНТ₂: $d_{\text{внешний}} = 10$ нм, $L = 1$ мкм; УНТ₃: $d_{\text{внешний}} = 7,8$ нм, $L = 40$ мкм; УНТ₄: $d_{\text{внешний}} = 10$ нм, $L = 35$ мкм). Для синтеза магнитных наночастиц применяли: $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaOH, 30%-ный раствор H_2O_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, HCl ($\rho = 1,198$ г/мл) и KCNS («Реахим», Россия), $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 25%-ный водный раствор, NaOH, NaCl и KCl («База №1 Химреактивов», Россия), малоновую кислоту («Вектон», Россия), N,N'-дициклогексилкарбодиимид (ДСС), 2-амино-3-меркаптопропановую кислоту (**цистеин**), N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)-карбодиимида гидрохлорид (**ЭДАК**) и N-

гидроксисукцинимид (N-ГС) («Sigma-Aldrich», США), ацетон и этанол («Química», Испания).

Таблица 1 – Исследуемые вещества

Название	Фармакологическая группа	Структурная формула
Ципрофлоксацин	Фторхинолоны	
Пенициллин G	β -лактамс	
Аристолохиевая кислота	<i>Aristolochiaceae</i>	
Эритромицин	Макролиды	
Азитромицин	Макролиды	

Для перевода МУНК в дисперсное состояние использовали диметилформамид (ДМФ) («Sigma», Германия) и Тритон X-100 («Sigma-Aldrich», США). Наносферы полимеров с молекулярными отпечатками антибиотиков получали методом «ядро-оболочка». Для синтеза ядер SiO_2 использовали тетраэтоксисилан (ТЭОС) («Компонент-Реактив», Россия), (3-аминопропил)триэтоксисилан (АПТЭС) («Sigma-Aldrich», США). Полимерную оболочку получали с применением в качестве функционального мономера метакриловой кислоты (МК) («Вектон», Россия), сшивающего мономер – этиленгликольдиметакрилата (ЭГДМА) («Aldrich Chemistry», США), инициатора полимеризации – азобисизобутиронитрила (АИБН) («Лабтех», Россия), порогенных растворителей – толуола (ТОЛ) и ацетонитрила (АЦН) («Acros Organics» Бельгия). Для гидрофобизации частиц применяли поливинилпирролидон (ПВП) («Aplichem GmbH», Германия) и олеиновую кислоту (ОК) («НеваРеактив», Россия). Для регенерации ПМО использовали уксусную кислоту («Компонент-Реактив», Россия).

В качестве сенсоров применяли пьезоэлектрические резонаторы АТ-среза диаметром 8 мм с собственной частотой колебаний 10 МГц, с золотыми электродами, расположенными по обе стороны кварца («ЭТНА», Россия). Регистрацию аналитического сигнала проводили на установке CPNA-330 («ЭТНА», Россия). Сенсор помещали в специально созданную ячейку над неодимовым магнитом (рис. 5).



Рисунок 5 – Ячейка детектирования

Для предотвращения агломерации наноматериалов осуществляли ультразвуковую обработку с помощью ультразвуковой ванны («ПСБ-Галас», Россия). При подготовке УНТ и МУНК, а также при пробоподготовке пищевых продуктов применяли центрифугу («MPW», Польша).

Размер и форму магнитных наночастиц на поверхности углеродных нанотрубок изучали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на электронно-ионном микроскопе Scios 2 DualBeam Thermo Scientific («Thermo Fisher Scientific», США) и электронно-ионном микроскопе TESCAN VEGA3 SBH («Tescan», Чехия). Поверхностную морфологию распознающего слоя исследовали методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) на сканирующем зондовом микроскопе SOLVER P47-PRO («Нанотехнология-МДТ», Россия). Поверхность обрабатывали с помощью фильтров программы «NOVA». Образование связей между конъюгатом аналита и МУНК, характер функциональных групп на поверхности частиц SiO_2 , а также связей, образующихся при синтезе ПМО контролировали методом ИК-спектроскопии (ИК-Фурье спектрометр Irapfinity-1, «Shimadzu», Япония). Соотношение темплата, функционального и сшивающего мономеров при синтезе ПМО было установлено спектрофотометрическим методом в УФ-области спектра (Флюорат - 02, «Панорама», Россия). Исследование магнитных характеристик наночастиц и нанокомпозита проводили с помощью вибрационного магнитометра EG&G Princeton applied research model 155.

3.2. Техника эксперимента

3.2.1. Синтез МУНК

В работе использовали МУНК, полученные следующими методами.

Метод соосаждения. Нанокомпозит МУНК₁ был получен путем иммобилизации магнитных наносфер Fe_3O_4 на поверхности углеродных нанотрубок по методике, описанной ранее [203]. Композит МУНК₁ получали в результате смешения 100 мг наночастиц Fe_3O_4 и 100 мг УНТ, активированных

смесью кислот ($\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4 - 1:3$) [112], с 30 мл деионизированной воды. Раствор перемешивали в течение 30 мин. Образующийся осадок удерживали с помощью неодимового магнита, надосадочную жидкость сливали, нанокompозит дважды промывали деионизированной водой. Смесь высушивали до постоянной массы.

Метод Фентона. Нанокompозит (МУНК_2) получали путем синтеза магнитных частиц Fe_2O_3 непосредственно на поверхности углеродных нанотрубок [204].

Для перевода МУНК в дисперсное состояние 1 мг МУНК вносили в 1 мл ДМФ (способы А и Б) или в 1 мл 1%-ого водного раствора Тритон Х-100 (способ В) и проводили ультразвуковую обработку в течение 1 ч (способы А и В) или 2 ч (способ Б), нагревая до 90°C в течение первых 15 мин.

3.2.2. Формирование слоя на основе МУНК

Перед формированием распознающего слоя поверхность электрода очищали с помощью 1 М раствора HCl , ацетона и этанола. Для иммобилизации конъюгатов антибиотиков и аристолохиевой кислоты на поверхности МУНК к 10 мкл дисперсии МУНК в растворе Тритон Х-100 добавляли 10 мкл активационной смеси (2,5 мг ЭДАК и 5 мг N-ГС в 200 мкл 1%-ного водного раствора Тритон Х-100) и оставляли на 20 мин при 25°C . Далее в систему вводили 10 мкл раствора конъюгата фиксированной концентрации и оставляли на 10-12 ч при температуре 4°C для получения устойчивого нанокompозита МУНК/конъюгат.

Сенсор помещался в специально разработанную ячейку детектирования над неодимовым магнитом, наносили 2 мкл раствора МУНК/конъюгат, оставляли на 90 мин при температуре 25°C , после чего промывали сенсор 200 мкл дистиллированной воды для удаления не связавшихся компонентов и высушивали в потоке воздуха с температурой 30°C .

3.2.3. Синтез белковых конъюгатов

Конъюгат ципрофлоксацина с бычьим сывороточным альбумином (БСА) («ПанЭко», Россия) синтезировали карбодиимидным методом: 5 мг БСА и 2 мг Цип растворяли в 2,5 мл дистиллированной воды и добавляли 30 мг ЭДАК. Реакционную смесь выдерживали 4 ч при 25°C, и 16 ч при 4°C. Очистку конъюгата осуществляли путем диализа смеси против дистиллированной воды в течение 4 сут, меняя воду каждые 24 ч.

Белковый конъюгат пенициллина G синтезировали по следующей методике: 50 мг Пен G, 45 мг N-ГС и 72 мг ДСС растворяли в 1 мл ДМФ и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, после чего выдерживали при 4°C 12 ч. Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием (4 мин, 8000 об/мин). Верхний слой жидкости объемом 0,5 мл отделяли и при перемешивании по каплям добавляли к раствору, содержащему 50 мг БСА в 3,5 мл 0,1 М карбонатного буфера (рН 9,5), смесь перемешивали в течение 3 ч при 25°C и оставляли на 12 ч при 4°C. После инкубации полученный раствор очищали диализом против фосфатного буфера (рН 7,2) в течение двух суток.

3.2.4. Синтез полимеров с молекулярными отпечатками и формирование рецепторного слоя

Получение ядер SiO₂ осуществляли по методу Штобера по методикам, отличающимся соотношением используемых реагентов и их количеством [205-208].

Полимерную оболочку синтезировали двумя методами:

Метод свободнорадикальной полимеризации (СРП): 0,06 г макролида растворяли в 18 мл смеси АЦН : ТОЛ (3 : 1 по объему). Вводили 0,1 ммоль МК, полученную смесь выдерживали 2 ч при 4°C для образования предполимеризационного комплекса темплат-мономер. Вносили 0,015 г частиц SiO₂ и 0,8 ммоль ЭГДМА, обрабатывали ультразвуком в течение 10 мин,

добавляли 0,0985 г АИБН, полученный раствор перемешивали при температуре 50°C. Образующиеся частицы SiO₂@ПМО высушивали до постоянной массы.

Золь-гель метод (ЗГМ) заключался в формировании поверхностных отпечатков макролида в оболочке диоксида кремния [209]. Для этого смешивали 0,6 мл ТЭОС, 9 мл этанола и 0,9 мл дистиллированной воды, вводили 0,4 мл 25 %-ный раствор аммиака и перемешивали на магнитной мешалке 1 ч при 25°C. Далее добавляли 0,3 мл АПТЭС (в качестве функционального мономера), 10 мг эритромицина (темплата) и 0,5 мл ТЭОС (сшивателя), перемешивали еще 1 ч. Частицы отделяли центрифугированием и промывали этанолом для удаления молекул темплата.

При синтезе неимпринтированных полимерных частиц (SiO₂@НИП) методами СРП и ЗГМ темплаты не использовались.

Синтез нанокompозитов ПМО/МУНК. Имобилизацию распознающих элементов (ПМО@SiO₂ и SiO₂@SiO₂) на поверхности МУНК осуществляли за счет физической сорбции, для этого 1 мг активированных МУНК и 1 мг ПМО вносили в 1 мл 1%-ого водного раствора Тритон Х-100, обрабатывали ультразвуком в течение 1 ч, нагревая смесь до 90°C в течение первых 15 мин.

Формирование рецепторного слоя на основе композитных материалов ПМО@SiO₂/МУНК и SiO₂@SiO₂/МУНК проводили путем дозирования 2 мкл суспензии на электрод сенсора, помещенный над неодимовым магнитом в ячейке детектирования.

3.2.5. Оценка качества рецепторного слоя

Распознающий слой на основе нанокompозитов характеризовали методом пьезокварцевого микровзвешивания, аналогично описанному в работах [124, 126]. В качестве аналитического сигнала использовали изменение частоты колебаний резонатора до и после нанесения суспензии нанокompозитов.

Массу покрытия рассчитывали по уравнению Зауэрбрея (1) [210]:

$$\Delta f = \frac{-2.3f_0^2 10^6 \Delta m}{A}, \quad (1)$$

где Δf – изменение частоты колебаний кристалла кварца, Гц; f_0 – собственная частота колебаний кристалла, 10 МГц; Δm – масса нанесенного на электрод покрытия, г; A – площадь поверхности электрода, 0,10066 см².

Устойчивость биослоя оценивали по числу циклов измерений (N), при котором аналитический отклик сенсора не претерпевал значительного изменения (менее 5%).

Влияние неспецифической поверхностной сорбции (2) учитывалось путем измерения аналитического сигнала сенсора $\Delta f_{\text{ан}}$ (Гц) относительно НИП:

$$\Delta f_{\text{ан}} = \Delta f_{\text{ПМО}} - \Delta f_{\text{НИП}}, \quad (2)$$

где $\Delta f_{\text{ПМО}}$ - сигнал сенсора при иммобилизации частиц ПМО, $\Delta f_{\text{НИП}}$ - при иммобилизации частиц НИП.

Массу удаленных ($\Delta m_{\text{ПМО}}$) и повторно встроенных молекул темплатов ($\Delta m_{\text{ВСТ}}$) определяли по разности между массой слоя ПМО до и после удаления темплатов (3). Определение молярной концентрации поверхностных отпечатков макролидов R (мкмоль/см²) на поверхности электрода сенсора осуществляли следующим образом:

$$R = \Delta m_{\text{ВСТ}} / S \times M, \quad (3)$$

где M – молярная масса темплата.

Селективность распознающего слоя рассчитывали по коэффициентам перекрестного реагирования (4):

$$CR, \% = \Delta f_{\text{меш}} / \Delta f_{\text{аналита}}, \quad (4)$$

где $\Delta f_{\text{аналита}}$ и $\Delta f_{\text{меш}}$ - аналитические сигналы сенсора в растворе аналита и мешающего вещества.

III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

4. Исследование условий формирования распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе магнитных углеродных нанокompозитов

Важнейшими характеристиками распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора являются:

- масса (высокая масса слоя приводит не только к сужению диапазона определяемых концентраций, но и может послужить причиной срыва аналитического сигнала сенсора);
- площадь активной поверхности, влияющая на концентрацию и доступность активных «сайтов» связывания, обеспечивающих чувствительность определения;
- устойчивость, позволяющая осуществлять регенерацию поверхности после каждого цикла измерения без существенного изменения свойств покрытия.

4.1. Синтез магнитных углеродных нанокompозитов

При формировании распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на основе МУНК, масса покрытия складывается из масс УНТ и МНЧ, закрепленных на их поверхности. Использование нанокompозита с МНЧ слишком большого размера может привести к чрезмерному утяжелению рецепторного слоя. Кроме того, необходимо учитывать, что максимальные магнитные свойства наблюдаются у МНЧ со средним диаметром 10–20 нм [211]. Поэтому в пьезоэлектрических сенсорах рекомендуется использовать МУНК, полученные на основе МНЧ минимального диаметра.

4.1.1. Синтез магнитных наночастиц

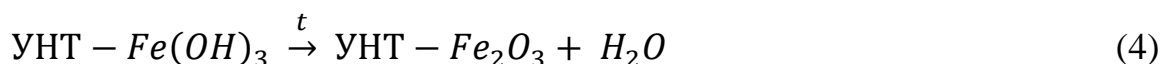
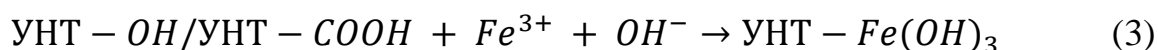
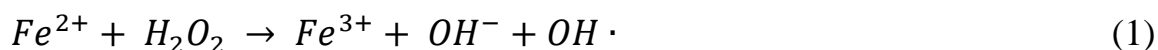
Среди оксидов железа γ - Fe_2O_3 (маггемит) и Fe_3O_4 (магнетит) проявляют наиболее высокие магнитные свойства, в связи с чем и были выбраны для создания МУНК. В качестве УНТ применяли углеродные нанотрубки, синтезированные в Черноголовке (УНТ₁).

Для исследования влияния способа синтеза МУНК на свойства покрытия на их основе использовали две методики формирования нанокompозитов: соосаждение солей Fe^{2+} и Fe^{3+} и метод Фентона. Основное отличие заключалось в способе закрепления МНЧ на поверхности УНТ. В первом случае предварительно синтезировали наночастицы Fe_3O_4 :



Свежеприготовленные растворы хлоридов железа (III) и (II) смешивали в соотношении 2:1, для этого в 100 мл деионизированной воды растворяли 11,7 г $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и 4,3 г $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Смесь помещали в колбу и перемешивали в течение 1 ч при 80°C в атмосфере аргона. Далее в колбу вносили 20 мл 25%-ного раствора гидроксида аммония для достижения pH 10 и охлаждали. Удерживая частицы магнитом, промывали их деионизированной водой и этанолом до pH 7, высушивали в сушильном шкафу при 60°C до постоянной массы. После чего производили их адсорбцию на поверхности УНТ.

При использовании метода Фентона МНЧ получали непосредственно на поверхности УНТ в четыре стадии:



Раствор Фентона готовили следующим образом: УНТ массой 0,15 мг вносили в 7,5 мл 0,5 М раствора $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и тщательно перемешивали в течение 10 мин до образования суспензии. Далее добавляли 37,5 мл 30%-ного

раствора H_2O_2 , перемешивали и оставляли на 12 ч. Надосадочную жидкость осторожно сливали и упаривали смесь при $80^\circ C$ досуха.

Двухвалентное железо окисляется пероксидом водорода до трехвалентного, при этом образуются гидроксильные радикалы и гидроксильные анионы [212, 213]. На 2 стадии УНТ подвергаются модификации гидроксильными радикалами. После чего (стадия 3), на окисленных УНТ за счёт гидроксильных и карбоксильных групп происходит адсорбция железа (III) [214, 215], что приводит к образованию УНТ – $Fe(OH)_3$ [216]. На последнем этапе наблюдается разложение $Fe(OH)_3$ на поверхности УНТ до наночастиц Fe_2O_3 , (стадия 4) [217, 218].

Исследование возможности уменьшения размеров частиц, входящих в состав МУНК, полученных методом Фентона, осуществляли путем сокращения концентрации сульфата железа в два ($C_{FeSO_4 \cdot 7H_2O} = 0,25 M$ – МУНК₃) и четыре ($C_{FeSO_4 \cdot 7H_2O} = 0,125 M$ – МУНК₄) раза.

Методом СЭМ оценивали размер МНЧ, закрепленных на внешней стенке УНТ. Было установлено, что в составе МУНК₁ (метод соосаждения) присутствуют магнитные наночастицы сферической формы со средним диаметром 64 ± 5 нм, равномерно распределенные на поверхности УНТ (рис. 6а). Применение метода Фентона, описанного в [204], приводило к формированию на поверхности УНТ близко расположенных магнитных частиц кубической формы (рис. 6б) с широким распределением по размерам ($d = 298 \pm 117$ нм) (рис. 7), что объясняется применением при синтезе сильного окислителя H_2O_2 , а также избыточной концентрацией ионов $[OH^-]$ относительно ионов $[Fe^{2+}]$ [219]. При снижении концентрации прекурсора железа (II) во время синтеза МУНК₃ наблюдалось уменьшение среднего диаметра частиц до 146 ± 97 нм, однако сохранялась кубическая форма частиц и их близкое расположение на поверхности УНТ. Уменьшение концентрации ионов железа в четыре раза (МУНК₄) способствовало получению наночастиц диаметром 80 ± 18 нм с формой, близкой к сферической (рис. 6в) [220–222].

Наноконпозиты МУНК₂ и МУНК₃ были исключены из дальнейшего исследования ввиду присутствия достаточно крупных магнитных частиц.

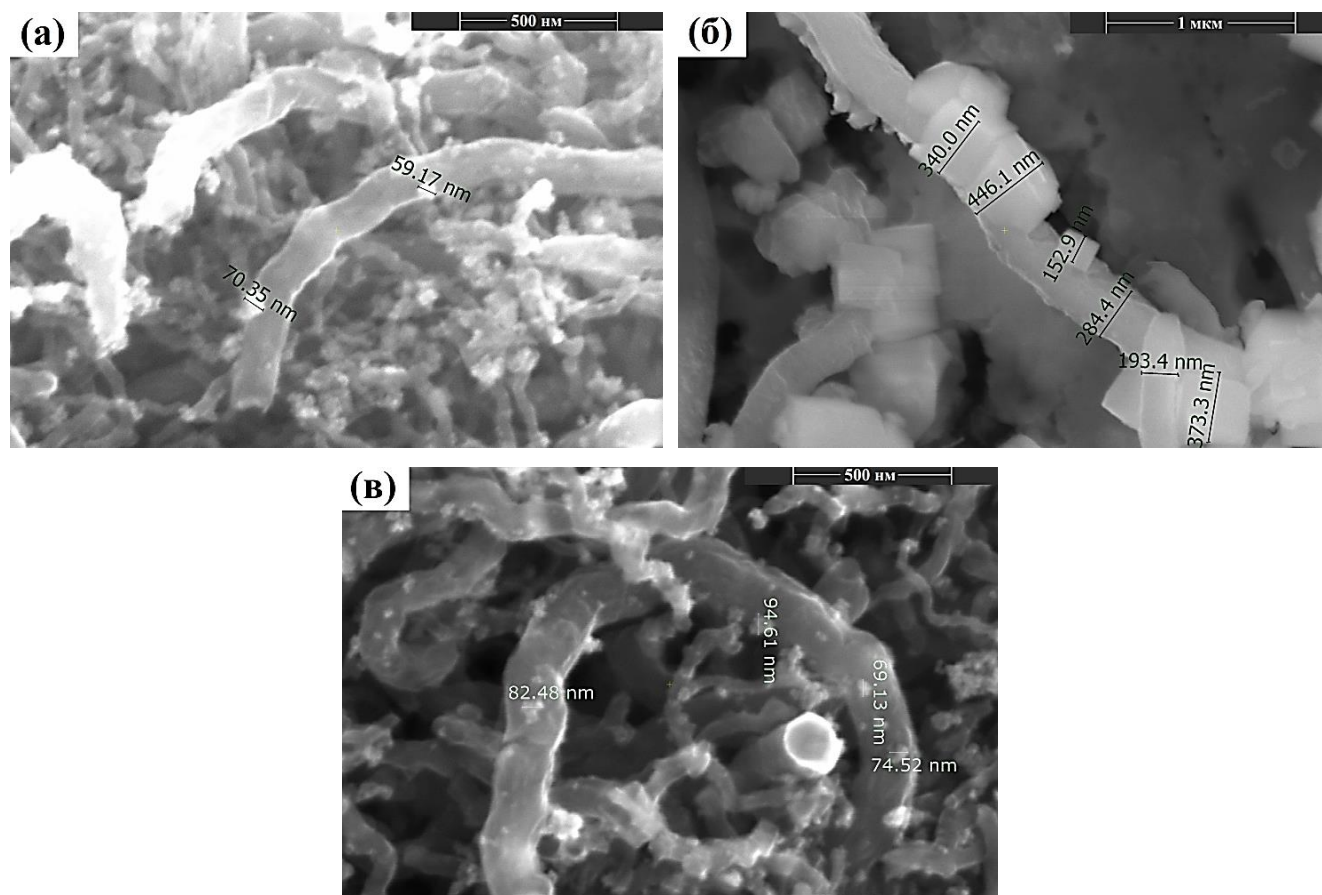


Рисунок 6 – СЭМ-изображения (а) МУНК₁, (б) МУНК₂ и (в) МУНК₄

Исследование магнитных характеристик наночастиц и наноконпозита проводили с помощью вибрационного магнитометра EG&G Princeton applied research model 155 на примере наночастиц Fe₃O₄ с диаметром 64 ± 5 нм, и МУНК₁ (соотношение УНТ:МНЧ в наноконпозите 1:1). Полученное значение удельной намагниченности насыщения для наночастиц магнетита (рис. 8а) (95 ем/г) соответствует табличной величине для монокристалла смешанного оксида железа (92 ем/г) [223].

Снижение удельной намагниченности насыщения для наноконпозита МУНК₁ относительно МНЧ связано с присутствием в составе МУНК диамагнитных углеродных нанотрубок (рис. 8б), однако наноконпозит сохраняет достаточно высокий уровень магнитных свойств. Добиться повышения значения

удельной намагниченности насыщения можно при уменьшении среднего диаметра МНЧ, закрепленных на внешней стенке УНТ, а также путем подбора соотношения УНТ:МНЧ для создания МУНК с максимальным магнитным откликом.

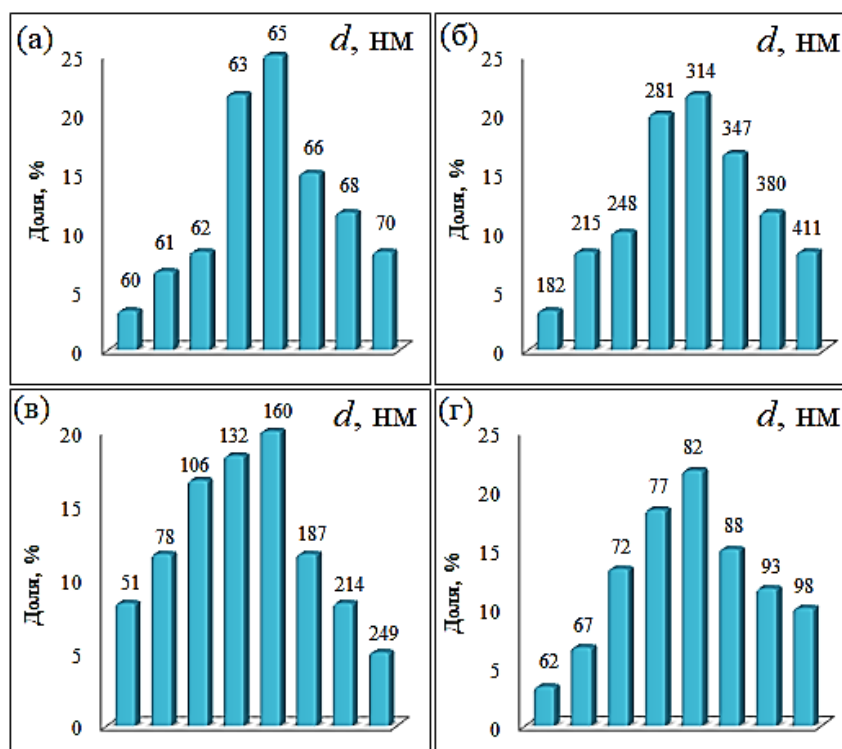


Рисунок 7 – Гистограммы распределения по размерам магнитных наночастиц, входящих в состав: (а) МУНК₁, (б) МУНК₂, (в) МУНК₃ и (г) МУНК₄

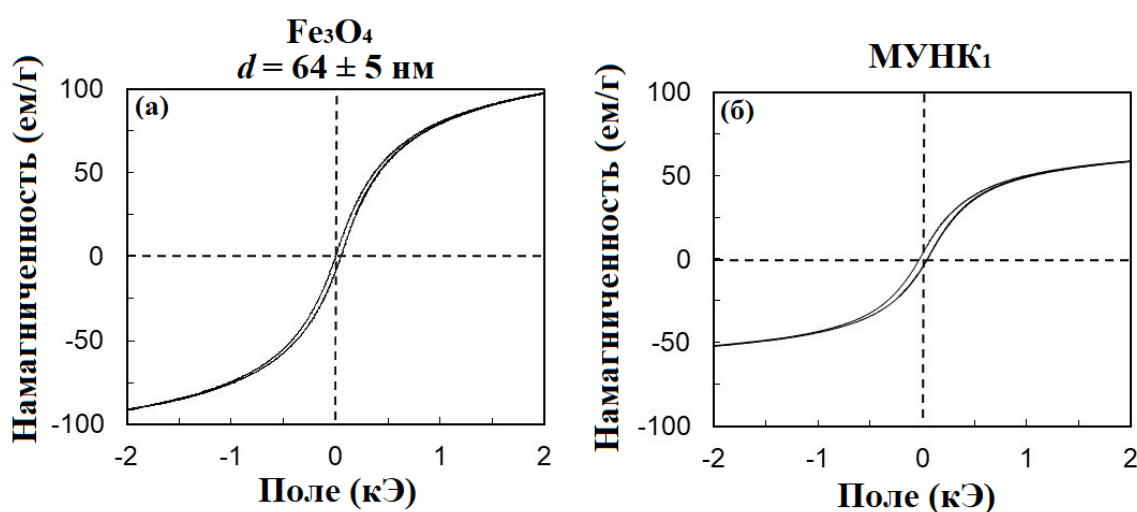


Рисунок 8 – Удельная намагниченность насыщения наночастиц Fe_3O_4 (а) и нанокompозита МУНК₁ (б)

Так как наноматериалы, полученные закреплением наночастиц, синтезированных методом соосаждения, продемонстрировали более воспроизводимые результаты при формировании покрытия пьезоэлектрического сенсора, следующим этапом исследования стало изучение возможности синтеза МУНК, в состав которых входят МНЧ меньшего среднего диаметра. Для этого на поверхности УНТ закрепляли наночастицы Fe_3O_4 , полученные при разных соотношениях ионов $\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}:\text{OH}^-$, pH реакционной среды, температуре и продолжительности ультразвуковой обработки – τ , ч (табл. 2).

Таблица 2 – Условия синтеза МНЧ

Способ	Соотношение ионов $\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}:\text{OH}^-$	pH среды	Температура, °C	τ , ч	Ссылка
1	2:1:6,5	7	80	1	[203]
2	2:1:6,5	7	80	14	[203]
3	2:1:37,5	4	80	1	[224]
4	2:1:6,5	7	70–90	1	[225]

Наночастицы отделяли от раствора при помощи магнита, промывали до pH 7 и высушивали при 60°C до постоянной массы. Средний диаметр МНЧ устанавливали методом СЭМ, а массу слоя регистрировали методом пьезокварцевого микровзвешивания (рис. 9).

Среди синтезированных магнитных наночастиц Fe_3O_4 наименьший диаметр и масса отмечены у полученных способом 3 ($d = 22 \pm 2$ нм, $\Delta m = 1,6 \pm 0,1$ мкг). Было установлено, что увеличение концентрации OH^- -групп при постоянном соотношении $\text{Fe}^{3+}:\text{Fe}^{2+}$ и ультразвуковая обработка по окончании синтеза способствуют уменьшению диаметра МНЧ (способ 3). Постепенное увеличение температуры синтеза от 70 до 90°C приводит к получению МНЧ небольшого

диаметра (способ 4, $d = 35 \pm 7$ нм, $\Delta m = 1,7 \pm 0,3$ мкг), но неоднородных по размеру. Использование таких частиц недопустимо в гравиметрических пьезоэлектрических сенсорах.

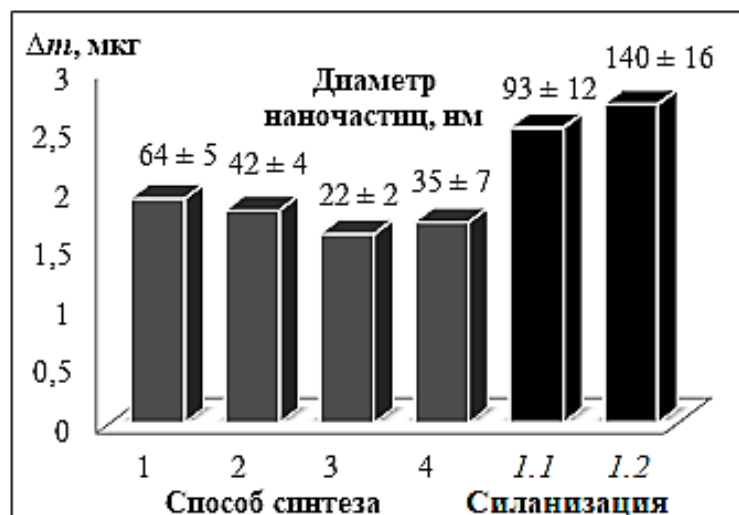


Рисунок 9 – Влияние способа синтеза и силанизации наночастиц на диаметр МНЧ и массу слоя на основе МУНК (табл. 2)

Образование ковалентной связи между углеродными нанотрубками и магнитными частицами, обеспечивающее более надежное закрепление, возможно при создании кремнеземной оболочки на поверхности МНЧ. Силанизацию осуществляли двумя способами:

Способ 1.1: наночастицы Fe_3O_4 массой 100 мг вносили в раствор, содержащий 200 мл этанола и 4 мл дистиллированной воды, обрабатывали ультразвуком в течение 1 ч. Далее вводили 40 мл АПТЭС и перемешивали 7 ч. Осадок отделяли центрифугированием (10000 об/мин), промывали до рН 7 и высушивали при 80°C до постоянной массы [226].

Способ 1.2: наночастицы Fe_3O_4 массой 300 мг помещали в колбу, содержащую 150 мл 0,05 М раствора NaOH, нагревали до 65°C в течение 5 ч и оставляли на ночь при комнатной температуре. Образующийся осадок активированных МНЧ отделяли при помощи магнита, промывали дистиллированной водой до рН 7 и высушивали до постоянной массы. Далее

проводили силанизацию магнитных частиц: 190 мг активированных МНЧ вносили в 96 мл этанола и подвергали ультразвуковой обработке в течение 10 мин. К полученной суспензии добавляли 111 мл АПТЭС и перемешивали в течение 20 ч. Органическую фазу удаляли, удерживая МНЧ при помощи магнита, осадок промывали водой до рН 7 и высушивали до постоянной массы [227].

Как показали результаты, силанизация с применением АПТЭС сопровождается формированием на поверхности МНЧ аминогрупп, которые связываются с карбоксильными группами УНТ с образованием пептидной связи. Отмечено, что синтез оболочки SiO_2 на поверхности наночастиц Fe_3O_4 (рис. 9) со средним диаметром 22 нм приводит к существенному увеличению размера МНЧ до 93 нм (способ 1.1) или 140 нм (способ 1.2). Соответственно происходит увеличение массы слоя МУНК на базе МНЧ, модифицированных АПТЭС, до $2,5 \pm 0,1$ мкг (способ 1.1) и до $2,7 \pm 0,2$ мкг (способ 1.2).

Для дальнейшего изучения были выбраны нанокомпозиты с МНЧ магнетита минимального размера $d = 22 \pm 2$ нм, обозначим их как МУНК_А, и силанизированными магнитными наночастицами $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$, обеспечивающими более высокую стабильность распознающего слоя ($d = 93 \pm 12$ нм) – МУНК_Б. Схемы формирования нанокомпозитов МУНК_А и МУНК_Б представлены на рис. 10.

4.1.2. Оценка влияния углеродных нанотрубок на характеристики слоя на основе магнитных углеродных нанокомпозитов

На характеристики рецепторного слоя пьезоэлектрического сенсора так же существенное влияние оказывает соотношение количества УНТ и МНЧ, входящих в состав МУНК. Для оценки влияния соотношения УНТ:МНЧ на свойства распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора был синтезирован ряд нанокомпозитов с разным соотношением УНТ:МНЧ – 1:1, 2:1, 3:1, 7:1 и 10:1 [21]. Наночастицы магнетита синтезировали методом соосаждения ($d = 22 \pm 2$ нм).

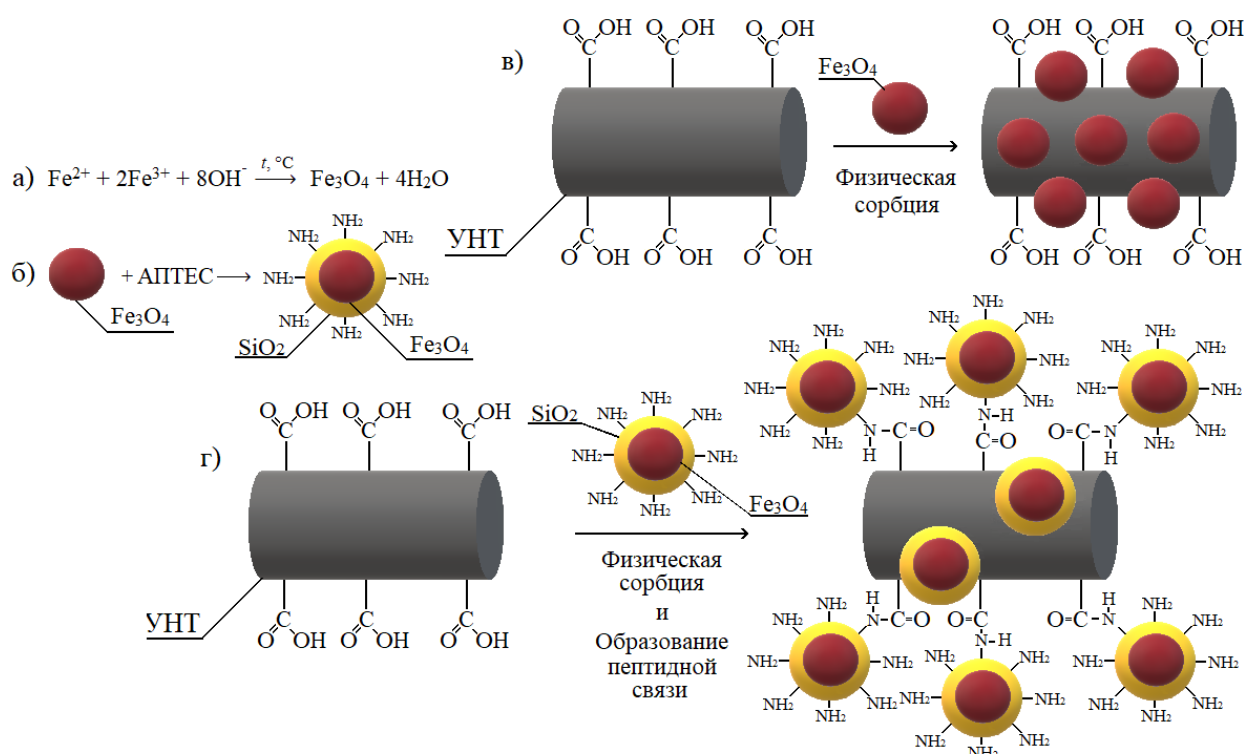


Рисунок 10 – Синтез методом соосаждения (а) и силанизация МНЧ (б), а также схема формирования МУНК на основе наночастиц Fe_3O_4 (в) и $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ (г)

Избыточная концентрация частиц Fe_3O_4 может не только послужить причиной срыва аналитического сигнала гравиметрического сенсора, но и привести к стерическим затруднениям при связывании МУНК с белковым конъюгатом аналита через поверхностные карбоксильные группы УНТ, и, соответственно, к уменьшению чувствительности определения целевого вещества. С другой стороны, недостаток МНЧ в составе МУНК уменьшает магнитные свойства, что приводит к тому, что под действием внешних магнитных сил формируется неустойчивое покрытие сенсора.

Методом пьезокварцевого микровзвешивания контролировали массу распознающего слоя на каждом этапе его формирования (табл. 3): масса чистого нанокompозита ($\Delta m_{\text{подложки}}$); МУНК_А с иммобилизованным белковым конъюгатом Пен G-БСА ($\Delta m_{\text{слоя}}$) и масса иммобилизованных биомолекул Пен G-БСА ($\Delta m_{\text{биомолекул}}$).

Таблица 3 – Влияние соотношения компонентов на массовые характеристики распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на основе магнитных углеродных нанокompозитов

Соотношение УНТ:МНЧ	$\Delta m_{\text{подложки}}$, МКГ	$\Delta m_{\text{слоя}}$, МКГ	$\Delta m_{\text{биомолекул}}$, МКГ	N
1:1	$1,49 \pm 0,32$	$1,96 \pm 0,35$	0,47	34
2:1	$1,60 \pm 0,04$	$2,11 \pm 0,09$	0,51	33
3:1	$1,68 \pm 0,09$	$2,21 \pm 0,04$	0,53	32
7:1	$1,31 \pm 0,39$	$1,77 \pm 1,21$	0,45	14
10:1	$1,17 \pm 0,19$	$1,49 \pm 0,12$	0,32	6

Применение МУНК с соотношениями УНТ:МНЧ 7:1 и 10:1 приводит к получению нестабильных покрытий, число повторных измерений для которых ограничивается 15 циклами, так как МНЧ не обеспечивают достаточно прочного удерживания МУНК на поверхности сенсора под действием магнитного поля. Кроме того, наблюдается уменьшение массы распознающих элементов, зафиксированных на поверхности сенсора. При использовании подложки на базе нанокompозита с соотношением УНТ:МНЧ равным 1:1, отмечается низкая воспроизводимость значений $\Delta m_{\text{подложки}}$ и $\Delta m_{\text{слоя}}$, что недопустимо для гравиметрического сенсора. В тоже время, покрытия на основе МУНК с соотношениями УНТ:МНЧ, равными 2:1 и 3:1, показали близкие характеристики. Однако для соотношения 3:1 наблюдалось максимальное количество доступных «сайтов» связывания, а также высокие магнитные свойства нанокompозита, обеспечивающие надежную фиксацию распознающего слоя на поверхности пьезоэлектрического сенсора под действием внешних магнитных сил. Поэтому для дальнейшего исследования был выбран нанокompозит с соотношением УНТ:МНЧ равным 3:1.

Большое влияние на характеристики распознающего слоя оказывают УНТ, входящие в состав нанокompозита. Длина, диаметр, структура – все это определяет массу рецепторного слоя, количество сайтов связывания и их

доступность для иммобилизации элементов распознавания. Для оценки влияния характеристик УНТ на свойства покрытия, методом пьезокварцевого микровзвешивания контролировали массу слоя на поверхности электрода сенсора, сформированного под действием внешнего магнитного поля, на основе МУНК и МУНК/АА-ОВА с разными видами УНТ, входящими в состав композитов (табл. 4). Для этого использовали УНТ, полученные в Новосибирске (УНТ₂, УНТ₃ и УНТ₄), отличающиеся длиной и внешним диаметром.

Таблица 4 – Влияние характеристик УНТ на массу подложки (МУНК) и распознающего слоя (МУНК/АК-ОВА), ($n = 5$; $P = 0,95$)

УНТ		Масса МУНК, мкг	Масса МУНК/АК-ОВА, мкг	N
$d_{\text{внешний}}$, нм	L , мкм			
10	1	$1,90 \pm 0,05$	$2,01 \pm 0,04$	31
7,8	40	$2,36 \pm 0,18$	$2,58 \pm 0,20$	23
10	35	$2,51 \pm 0,14$	$2,66 \pm 0,29$	17

Слой на базе УНТ длиной 1 мкм имеет минимальную массу и показывает высокую устойчивость ($N = 31$). Использование в МУНК нанотрубок большей длины сопровождается увеличением массы распознающего слоя МУНК/АК-ОВА и приводит к снижению его устойчивости и стабильности, т.к. формируется тяжелая неоднородная подложка МУНК [228].

4.2. Создание распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе магнитных углеродных нанокompозитов

На массу слоя МУНК, а также на устойчивость формируемого покрытия существенное влияние оказывает способ перевода нанокompозита в дисперсное состояние. Методом пьезокварцевого микровзвешивания оценено влияние размера наночастиц и способа перевода нанокompозита в дисперсное состояние на массу слоя, формируемого под действием магнитного поля, на поверхности

сенсора (табл. 5). Как показали экспериментальные данные, во всех случаях масса слоя на основе МУНК₄ ниже, несмотря на больший диаметр МНЧ, что связано с менее плотным расположением магнитных частиц на поверхности углеродных нанотрубок, приводящим к уменьшению количества закрепляемого на сенсоре наноматериала.

Таблица 5 – Влияние размера МНЧ и способа перевода МУНК в дисперсное состояние на массу распознающего слоя

Способ перевода в дисперсное состояние	МУНК ₁		МУНК ₄	
	Δm , мкг	s_r	Δm , мкг	s_r
А	$6,8 \pm 2,6$	0,24	$5,6 \pm 2,6$	0,29
Б	$4,2 \pm 1,1$	0,17	$2,7 \pm 1,6$	0,36
В	$1,9 \pm 0,1$	0,01	$0,7 \pm 0,1$	0,05

Применение для перевода МУНК в дисперсное состояние способов А и Б, основанных на использовании ДМФ и УЗ-обработки в течение 1 и 2 ч соответственно, приводит к получению слоя с высоким значением массы ($6,8 \pm 2,6$ и $4,2 \pm 1,1$ мкг соответственно), что объясняется недостаточной смачиваемостью нанокompозита ДМФ, сопровождающейся агрегацией частиц и образованием неоднородного слоя. Дисперсия на основе Тритон Х-100 (способ В) и УЗ-обработки в течение 1 ч демонстрирует высокую стабильность. Это связано с наличием в структуре Тритон Х-100 гидрофобных (4-третоктилфенол) групп, за счет которых ПАВ адсорбируются на поверхности УНТ, и гидрофильных фрагментов (из остатков оксида этилена), обеспечивающих хорошую смачиваемость наноматериала водой.

Ципрофлоксацин, пенициллин G и аристолохиевая кислота являются низкомолекулярными соединениями, поэтому их определение проводили в конкурентном формате иммуноанализа. После перевода МУНК в дисперсное

состояние к ним добавляли смесь, содержащую ЭДАК и N-ГС, это позволяло активировать карбоксильные группы на поверхности углеродных нанотрубок композита и увеличить эффективность связывания УНТ с биомолекулами. Далее в систему вводили белковый конъюгат аналита. Методом ИК-спектроскопии устанавливали характер связей, образующихся между функциональными группами, участвующими во взаимодействии. Для этого сравнивали ИК-спектры МУНК, конъюгата аналита и структур МУНК/конъюгат (рис. 11–13).

Иммобилизацию конъюгата Цип-БСА осуществляли на нанокompозитах МУНК₁ и МУНК₄ (рис. 11). Уширение и сдвиг пика карбоксильных групп в спектре МУНК₁/Цип-БСА относительно спектра МУНК₁ с 1740 см⁻¹ до 1760 см⁻¹ свидетельствует об их участии в образовании связей. Смещение положения и расширение пика аминогрупп в спектре МУНК₁/Цип-БСА (3345–3300 см⁻¹) по отношению к спектру Цип-БСА (3300 см⁻¹) подтверждает участие NH₂-группы конъюгата в формировании связей между Цип-БСА и карбоксильными группами МУНК₁. Кроме того, об участии Тритон X-100 в образовании устойчивой дисперсии свидетельствует уменьшение интенсивности пиков -С-Н (3030 см⁻¹) и -СН₃ (2970 см⁻¹) в спектре МУНК₁/Цип-БСА по сравнению со спектром МУНК₁, что объясняется способностью Тритон X-100 образовывать с молекулами белков комплексы с сохранением их активности и строения.

Для сравнения характеристик покрытий на основе наночастиц Fe₃O₄ и Fe₃O₄@SiO₂ исследовали связи, образующиеся между конъюгатом Пен G-БСА и композитами МУНК_А и МУНК_Б (рис. 12).

В случае МУНК_А (рис. 12а) значительное уширение и сдвиг пика карбоксильных групп в спектре МУНК_А/Пен G-БСА относительно спектра МУНК_А с 1720 см⁻¹ до 1800 см⁻¹ свидетельствует об их участии в образовании связей. О связывании конъюгата с нанокompозитом также говорит четкое проявление пика при 1496 см⁻¹ в спектре МУНК_А/Пен G-БСА, соответствующего пептидной связи. В спектре МУНК_Б/Пен G-БСА (рис. 12б) пик, отвечающий колебаниям группы С=О, смещается и вытягивается относительно спектра МУНК_Б (1705 см⁻¹ вместо 1655 см⁻¹). Пик амидной связи в спектре МУНК_Б (1485

см⁻¹) объясняется взаимодействием аминогрупп наночастиц Fe₃O₄@SiO₂ и карбоксильных групп УНТ. Его уширение в спектре наноконпозита МУНК_Б/Пен G-БСА указывает на образование связей между карбоксильными группами УНТ и белковым конъюгатом антибиотика. Присутствие в спектрах МУНК_Б и МУНК_Б/Пен G-БСА колебаний в области 1100 см⁻¹ свидетельствуют о наличии оболочки SiO₂ на поверхности наночастиц магнетита.

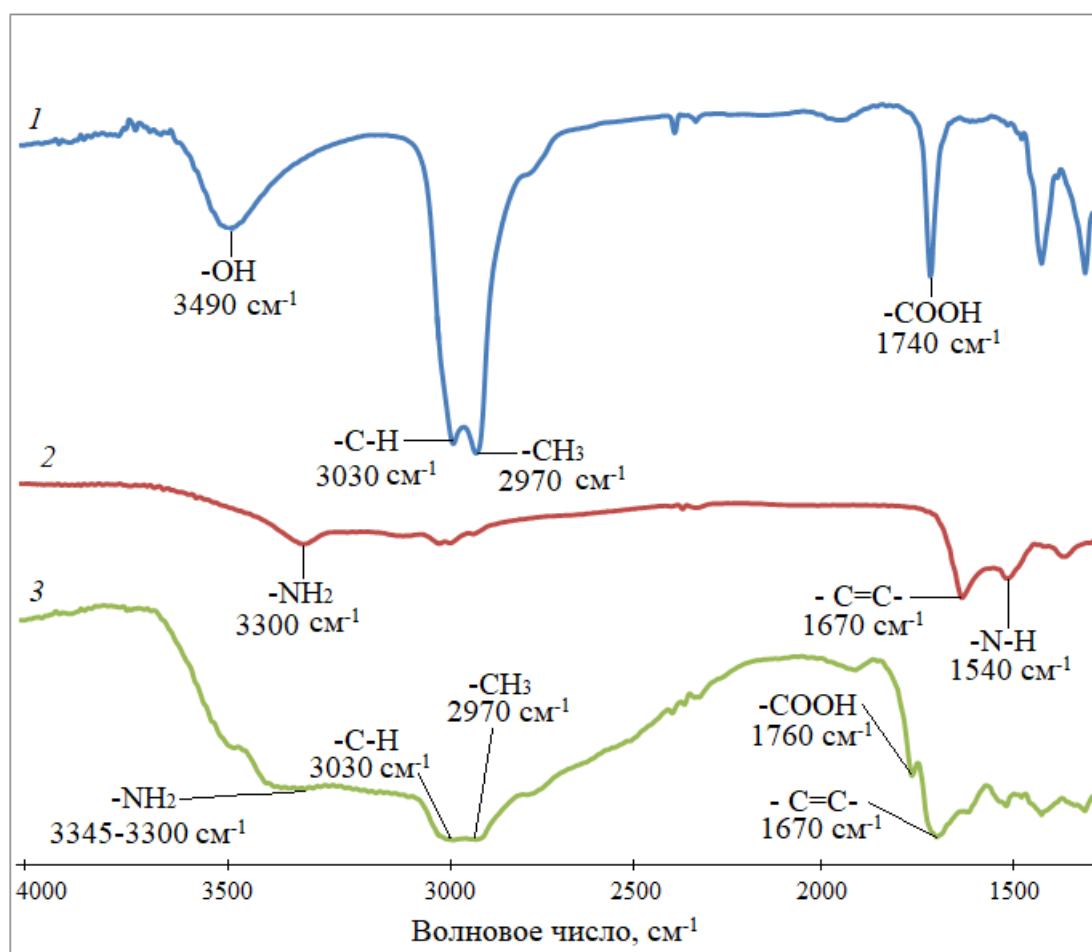


Рисунок 11 – ИК-спектры: 1 - МУНК₁, 2 - Цип-БСА, 3 - МУНК₁/Цип-БСА

Конъюгаты аристолохиевой кислоты закрепляли на поверхности МУНК, в состав которых входили УНТ₂. Образование связи в этом случае схоже с предыдущими вариантами. На рисунке 13 представлены ИК-спектры МУНК, конъюгата АК-ОВА и композита МУНК/АК-ОВА.

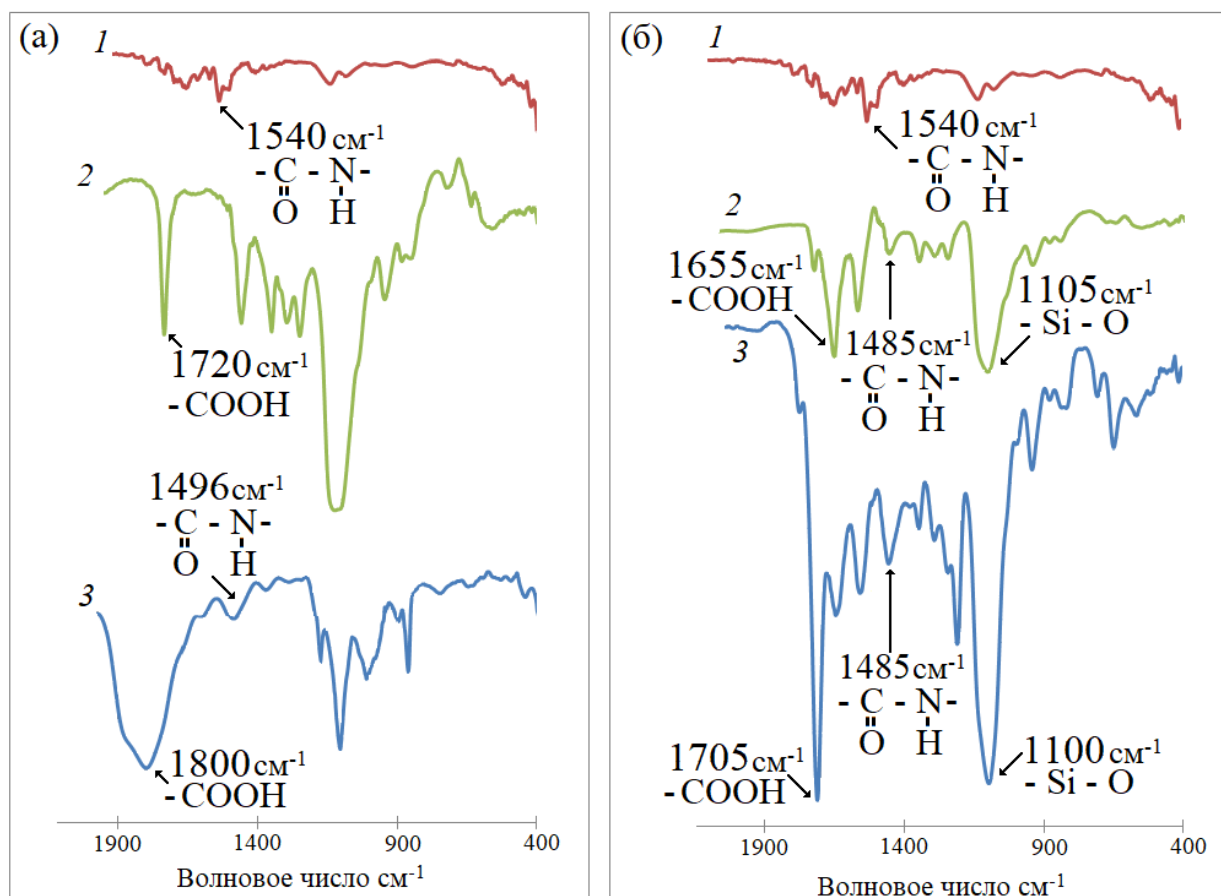


Рисунок 12 – ИК-спектры МУНК_А (а) и МУНК_Б (б):

1 – Пен G-БСА; 2 – МУНК; 3 – композит МУНК/Пен G-БСА

Смещение и уширение пика, характерного для карбоксильной группы, в ИК-спектре МУНК/АК-ОВА относительно ИК-спектра МУНК с 1710 до 1750 см⁻¹ свидетельствует об участии COOH-групп углеродных нанотрубок в образовании связи с молекулами конъюгата. Более четкое проявление серии пиков в области 3600-3400 см⁻¹ на спектре МУНК/АК-ОВА по сравнению со спектром АК-ОВА подтверждает связывание конъюгата с магнитным нанокомпозитом за счет аминогрупп белка. Так же, об успешном связывании композита с аристолохиевой кислотой говорит проявление пика -NO_2 в спектре МУНК/АК-ОВА, характерного для молекулы АК.

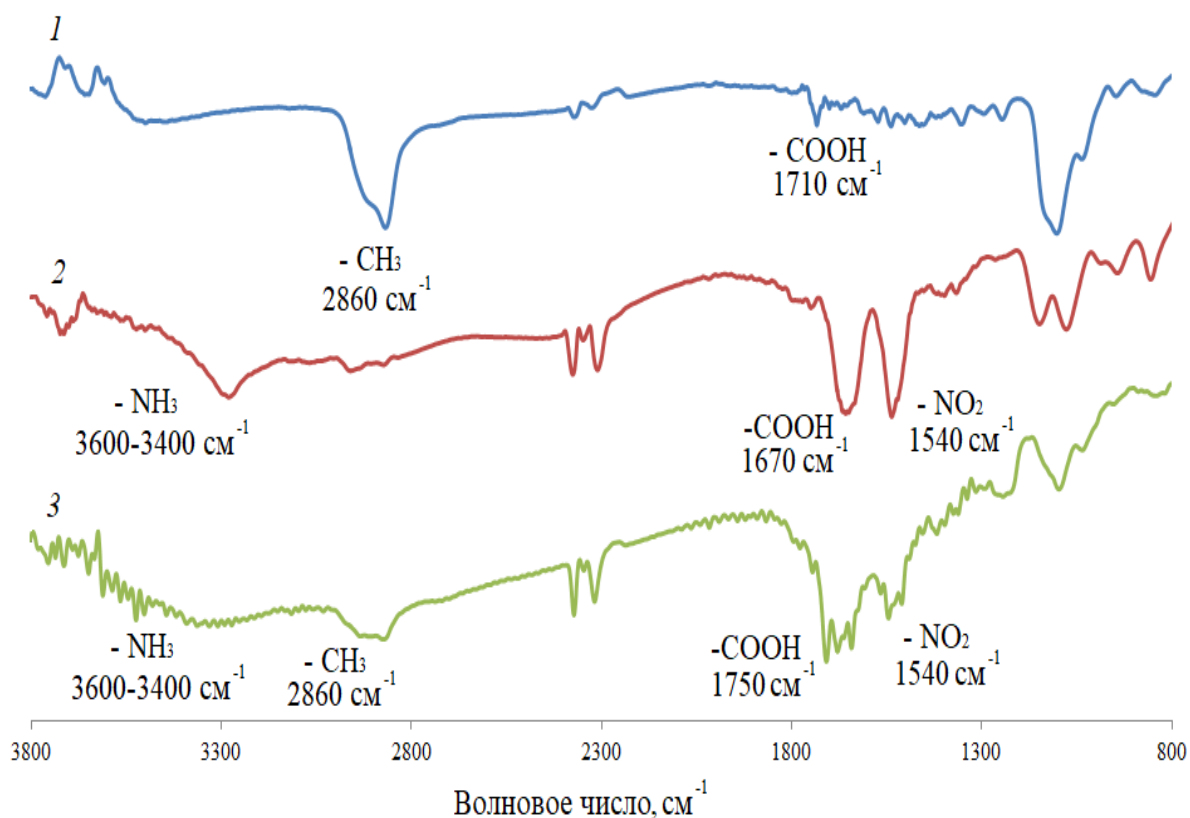


Рисунок 13 – ИК-спектры: 1 - МУНК; 2 - АК-ОВА ; 3 - МУНК/АК-ОВА

В конкурентном формате иммуноанализа белковые конъюгаты аналитов (Цип-БСА, Пен G-БСА, АК-БСА или АК-ОВА) иммобилизовали на поверхности пьезоэлектрического сенсора. Далее в пробу, содержащую определяемое вещество (Цип, Пен G, АК) вводили антитела (анти-Цип, анти-Пен G, анти-АК) и эту систему наносили на поверхность сенсора. По изменению аналитического сигнала устанавливали количество антител, не вступивших во взаимодействие с молекулами определяемого соединения в растворе пробы. Рабочую концентрацию белковых конъюгатов аналитов определяли по максимуму на графике зависимости аналитического сигнала сенсора от концентрации конъюгата (табл. б). Так же важен подбор концентрации антител, вводимых в пробу (рис. 14). Низкая концентрация может привести к неспецифическому связыванию с мешающими компонентами. В тоже время, превышение оптимального значения при выборе может сопровождаться перегрузкой сенсора при измерении аналитического сигнала, что также недопустимо. Поэтому рабочую концентрацию антител определяли на линейном участке зависимости

аналитического сигнала сенсора от концентрации антител, соответствующей 50%-ному связыванию с активными сайтами распознающего покрытия. Это позволяет достигнуть оптимального соотношения центров связывания на поверхности электрода сенсора и числа свободных антител, не вступивших в иммунохимическое взаимодействие с аналитом в пробе.

Таблица 6 – Выбор рабочих концентраций конъюгатов и разбавления первичных сывороток антител, соответствующего 50%-ному связыванию

Ципрофлоксацин	МУНК ₁	Конъюгат	0,25
		Антитела	0,16
	МУНК ₄	Конъюгат	0,43
		Антитела	0,47
Пенициллин G	МУНК _A	Конъюгат	0,67
		Антитела	0,25
	МУНК _B	Конъюгат	0,43
		Антитела	0,14
Аristoloxиевая кислота	МУНК/АК-БСА	Конъюгат	0,2
		Антитела	0,25
	МУНК/АК-ОВА	Конъюгат	0,3
		Антитела	0,25

Как видно из полученных результатов, применение в МУНК магнитных наночастиц меньшего диаметра сопровождается увеличением концентрации, иммобилизованного на поверхности сенсора конъюгата, а следовательно, количества активных «сайтов» связывания [229–231]. В случае формирования слоя на основе МУНК/конъюгат аristoloxиевой кислоты, отличие концентраций АК-БСА и АК-ОВА связано с различным строением молекул белков, входящих в состав конъюгатов (значения молекулярных масс составляет 66,5 и 45 кДа для БСА и ОВА соответственно) [232, 233].

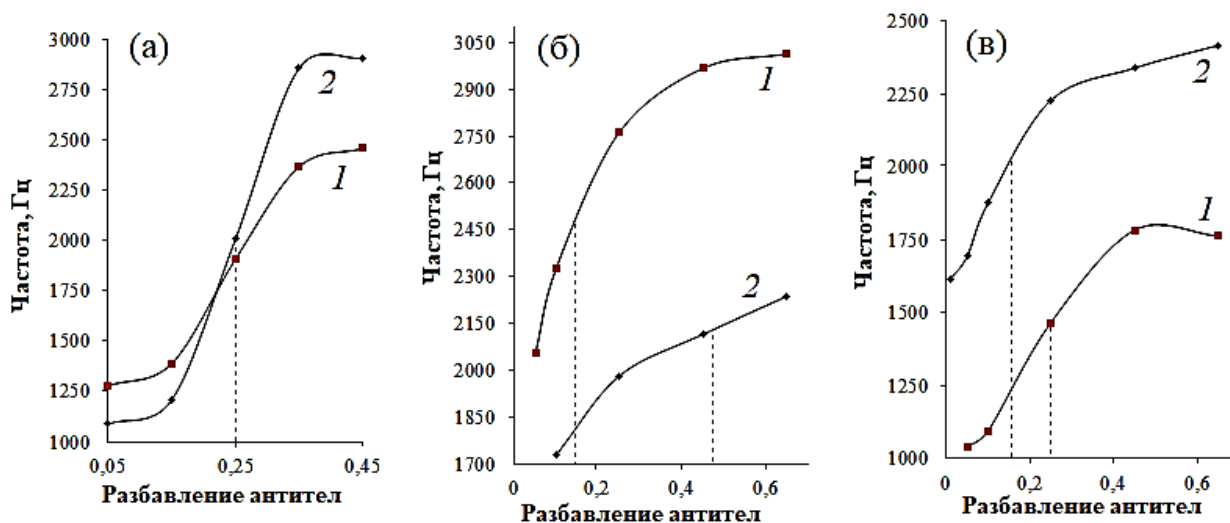


Рисунок 14 – Выбор разбавления первичной сыворотки антител при разработке методики определения: (а) Цип на МУНК₁ (1) и МУНК₄ (2); (б) Пен G на МУНК_А (1) и МУНК_Б (2); (в) АК-БСА (1) и АК-ОВА (2) на МУНК с УНТ₂

4.3. Определение ципрофлоксацина, пенициллина G и аристолохиевой кислоты с помощью пьезоэлектрических иммуносенсоров на основе магнитных углеродных нанокompозитов

Для проведения исследования использовали специально разработанную ячейку детектирования, в которой неодимовый магнит располагался под пьезоэлектрическим сенсором (рис. 15). Закрепление нанокompозитов осуществлялось под действием магнитных сил при нанесении дисперсии МУНК на поверхность электрода. Для построения градуировочных графиков на поверхность сенсора с распознающим слоем наносили модельный раствор, содержащий антитела с разбавлением, соответствующим 50%-ному связыванию, и раствор определяемого соединения переменной концентрации. После промывания дистиллированной водой от не связавшихся компонентов, сенсор высушивали до постоянной массы в потоке тёплого воздуха с температурой 30°C.

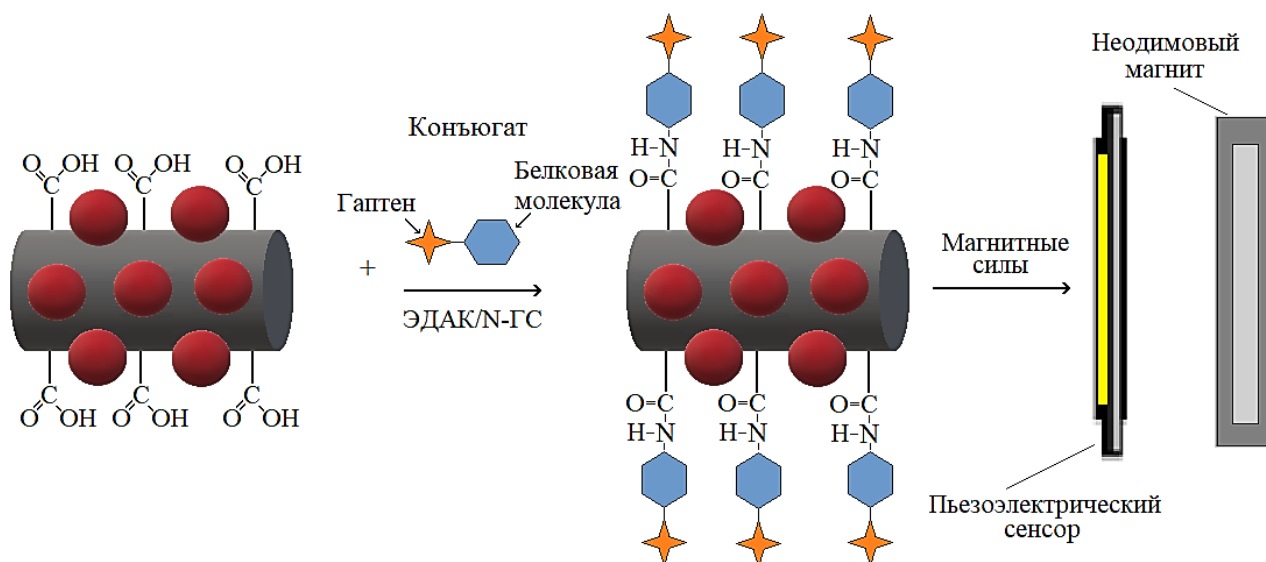


Рисунок 15 – Схема формирования распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе магнитных углеродных наноконкомпозитов под действием внешних магнитных сил

Было проведено сравнение результатов определения биологически активных соединений с помощью пьезоэлектрических сенсоров с рецепторными слоями на основе разных видов МУНК (табл. 7). Ципрофлоксацин определяли с применением МУНК₁ и МУНК₄ (рис. 16), пенициллин G – МУНК_А и МУНК_Б.

Для сопоставления результатов определения также приведены аналитические характеристики детектирования Пен G с помощью пьезоэлектрического сенсора с распознающим слоем на основе карбоксилированных УНТ₁, полученных в Черноголовке (рис. 17). Формирование покрытия в этом случае осуществляли следующим образом: в 1 мл ДМФ вносили 1 мг карбоксилированных углеродных нанотрубок и подвергали ультразвуковой обработке в течение 1 ч, после чего разбавляли раствор ДМФ в соотношении 1:7 (143 мкг/мл) и обрабатывали ультразвуком в течение еще 1 ч. Для иммобилизации белкового конъюгата пенициллина G на поверхность пьезоэлектрического сенсора помещали 2 мкл 1 мМ этанольного раствора цистеина и высушивали при температуре 25°C в течение 90 мин, после чего наносили 2 мкл раствора УНТ и оставляли при температуре 4°C на 24 ч. Сенсор промывали 200 мкл

дистиллированной воды, высушивали в потоке воздуха с температурой 30°C и производили активацию карбоксильных групп на поверхности УНТ с помощью 2 мкл активационной смеси, содержащей 2,5 мг ЭДАК и 5 мг N-ГС в 200 мл ДМФ. Выдерживали сенсор 90 мин при температуре 25°C и наносили 5 мкл белкового конъюгата Пен G-БСА, после чего помещали сенсор во влажную камеру при 4°C на 10–12 ч. Вновь промывали дистиллированной водой и сушили до постоянной массы [111]. Аристолохиевую кислоту определяли с использованием нанокompозита на основе УНТ₂ с разными конъюгатами: АК-БСА и АК-ОВА (рис. 18).

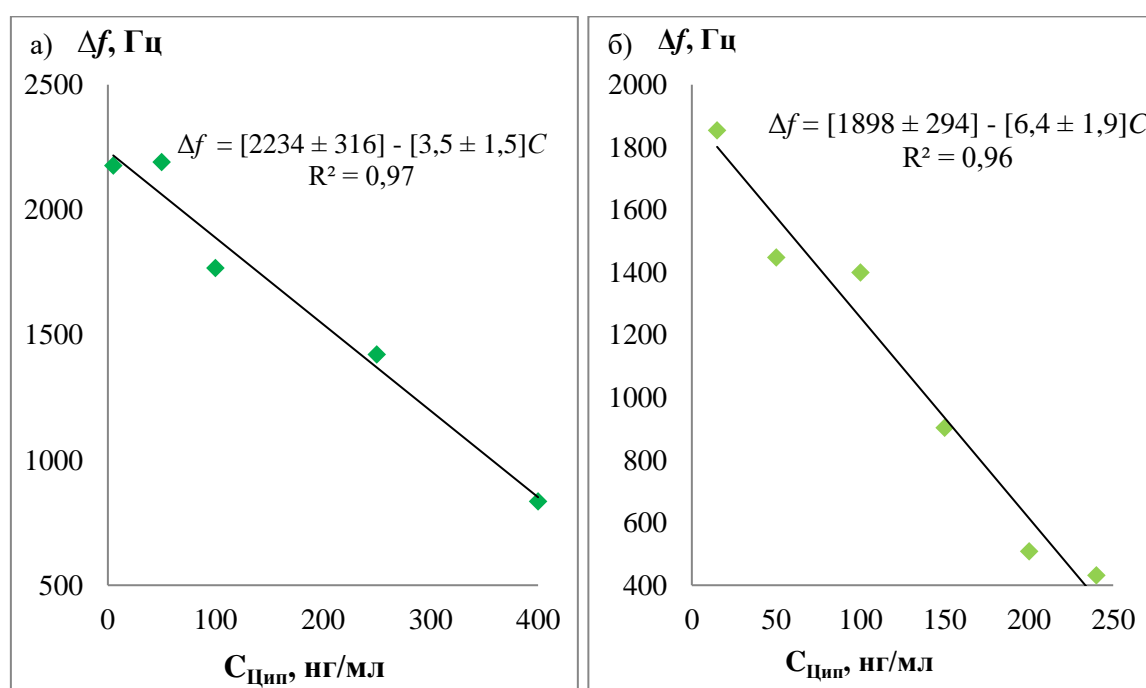


Рисунок 16 – Градуировочные графики определения Цип с помощью пьезоэлектрического сенсора на основе а) МУНК₁ и б) МУНК₄ в конкурентном формате иммуноанализа

Для построения градуировочных графиков на поверхность сенсора с распознающим слоем наносили модельный раствор, содержащий антитела с разбавлением, соответствующим 50%-ному связыванию, и раствор определяемого соединения переменной концентрации.

Таблица 7 – Аналитические характеристики пьезоэлектрических иммуносенсоров с распознающим слоем на основе МУНК для определения антибиотиков и аристолохиевой кислоты ($n = 3$; $P = 0,95$)

Аналит	Особенности распознающего слоя		Диапазон определяемых концентраций, нг/мл	C_{\min} , нг/мл
	Наноматериал	Составляющая		
Цип	МУНК ₁	Fe ₃ O ₄ (64 нм)	5–400	3,2
	МУНК ₄	Fe ₂ O ₃ (80 нм)	15–240	4,1
Пен G	МУНК _А	Fe ₃ O ₄ (22 нм)	5–450	3,1
	МУНК _Б	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ (93 нм)	10–300	3,8
	УНТ ₁	–	6–300	3,6
АК	МУНК/ АК-ОВА	УНТ ₂ ($d_{\text{внешний}} = 10$ нм, $L = 1$ мкм)	50–400	5,9
	МУНК/ АК-БСА		100–300	6,3

Наибольшим диапазоном определяемых содержаний Цип характеризуется сенсор с распознающим слоем на основе МУНК₁. Более узкий диапазон регистрируемых концентраций ципрофлоксацина при применении МУНК₄ объясняется меньшим количеством наноматериала, закрепленного на поверхности сенсора. Кроме того, распознающий слой на основе МУНК₁ более устойчив, его можно использовать в 33 циклах повторных измерений.

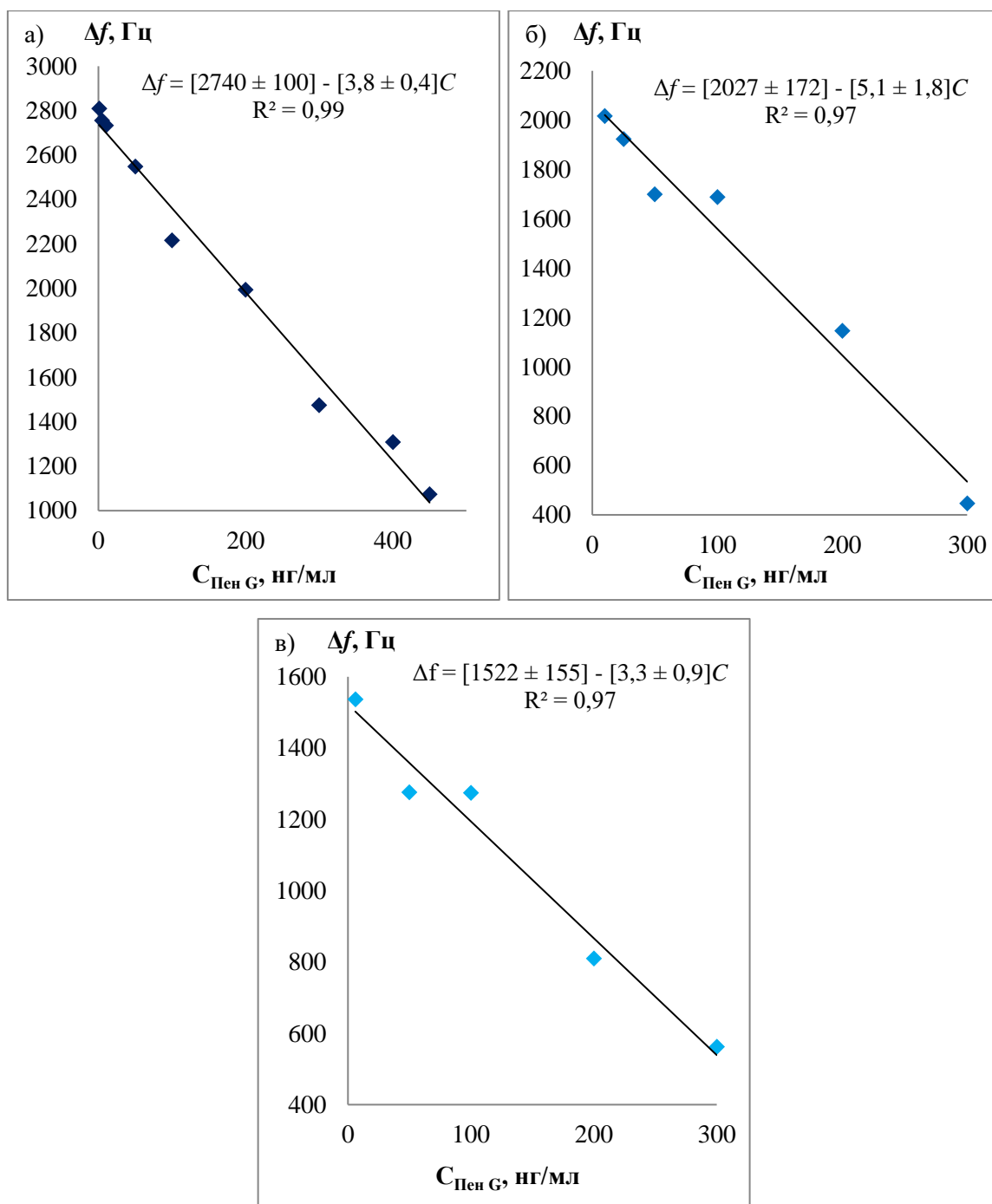


Рисунок 17 – Градуировочные графики определения Пен G с помощью пьезоэлектрического сенсора на основе а) МУНК_А, б) МУНК_Б и в) УНТ в конкурентном формате иммуноанализа

При определении пенициллина G наибольший диапазон детектируемых концентраций достигается при применении МУНК_А. Использование для формирования распознающего слоя, включающего магнитные частицы $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ (МУНК_Б), сопровождается сужением диапазона определяемых

содержаний из-за более низкой концентрации конъюгата Пен G на поверхности электрода сенсора. Применение распознающего слоя на базе УНТ приводит к увеличению продолжительности подготовки сенсора к анализу из-за необходимости послойного нанесения модификаторов для создания устойчивого слоя. Формирование подложки на основе МУНК_А под действием внешних магнитных сил позволяет упростить процедуру иммобилизации биомолекул на поверхности электрода пьезокварцевого сенсора [234].

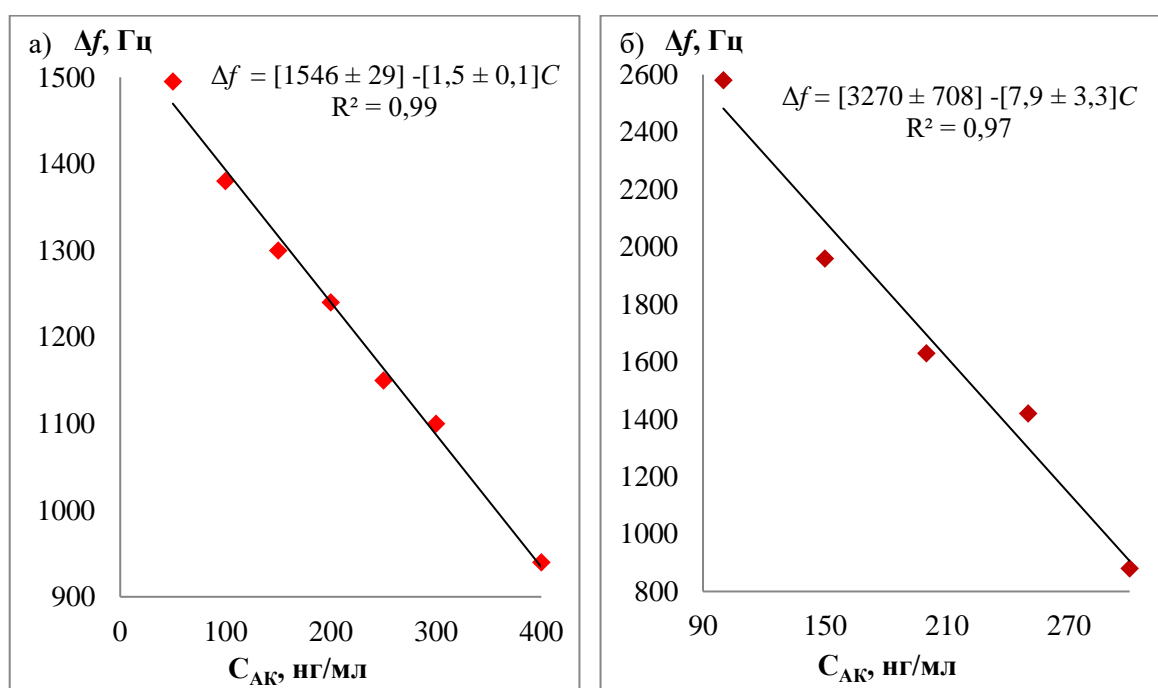


Рисунок 18 – Градуировочные графики определения аристолохиевой кислоты с помощью пьезоэлектрического сенсора на основе МУНК в конкурентном формате иммуноанализа: а) АК-ОВА и б) АК-БСА

При определении аристолохиевой кислоты в случае использования белкового конъюгата на основе АК-ОВА сигнал сенсора линеен в диапазоне 50–400 нг/мл, АК-БСА – 100–300 нг/мл. Использование для определения АК распознающего слоя МУНК/АК-ОВА сопровождается более широким диапазоном детектируемых концентраций и низким пределом обнаружения, чем при применении конъюгата МУНК/АК-БСА. Это связано с массой и объемом белковых молекул, входящих в состав конъюгатов аристолохиевой кислоты.

Более объемные молекулы БСА в структуре конъюгата АК-БСА создают стерические затруднения для связывания с антителами. Молекулы конъюгата АК-ОВА отличаются меньшим размером, что не затрудняет связывание с антителами [235].

Селективность иммуносенсоров на основе магнитных углеродных наноконструкций оценивали с помощью коэффициентов кросс-реактивности CR , % (табл. 8). Селективность определения Цип исследовали в присутствии других антибиотиков с помощью сенсора на основе МУНК₁. Влияние мешающих компонентов, входящих в состав растительного сырья, на определение аристолохиевой кислоты оценивали с использованием сенсора с распознающим слоем МУНК/АК-ОВА.

Таблица 8 – Оценка селективности определения ципрофлоксацина и аристолохиевой кислоты с помощью коэффициентов перекрестного реагирования

Аналит	Соединение для перекрестного реагирования	CR , %
Ципрофлоксацин	Ципрофлоксацин	100,0
	Энрофлоксацин	57,0
	Левифлоксацин	12,4
	Пенициллин G	1,6
	Канамицин	2,5
	Тетрациклин	4,5
Аристолохиевая кислота	Аристолохиевая кислота	100,0
	Мукофенольная кислота	3,0
	Танины	8,0
	Катехины	1,0
	Сорбиновая кислота	0,4

Анализ полученных данных показал, что определению ципрофлоксацина могут мешать присутствующие в аналитической пробе фторхинолоны

родственного строения при двукратном (энрофлоксацин) или десятикратном (левофлоксацин) избытке. Другие антибиотики практически не мешают определению целевого аналита даже при 20-кратном избытке.

Значения CR , % для всех мешающих соединений при определении аристолохиевой кислоты не превышают 8%, что свидетельствует о высокой специфичности поликлональных антител при определении АК с помощью пьезоэлектрического сенсора на основе магнитных углеродных нанокompозитов.

Как показали результаты исследования, применение МУНК позволяет существенно сократить продолжительность подготовки пьезоэлектрического сенсора к анализу [236]. По сравнению с послойным нанесением модификаторов при создании самоорганизующихся монослоев или подложки на основе УНТ время подготовки сократилось до 16 раз (с 24 до 1,5 ч). При этом сузился диапазон определяемых концентраций, а предел обнаружения снизился. Так, сенсор с распознающим слоем на основе УНТ для определения ципрофлоксацина [111] позволяет регистрировать аналит в диапазоне 25–670 нг/мл с пределом обнаружения 21 нг/мл. Использование УНТ при определении Пен G продемонстрировало диапазон 6–300 нг/мл, $C_{\min} = 3,6$ нг/мл. Сенсоры на базе МУНК характеризовались более низкими пределами обнаружения (3,2 и 3,1 нг/мл при определении Цип и Пен G соответственно). Количество повторных циклов измерения при этом сохранялось на высоком уровне (28 повторных циклов для УНТ, 33 цикла для МУНК).

5. Разработка пьезоэлектрического сенсора с распознающим слоем на основе магнитных углеродных наноматериалов и полимеров с молекулярными отпечатками «ядро-оболочка» макролидных антибиотиков

При синтезе ПМО методом «ядро-оболочка» наблюдается концентрирование отпечатков в довольно тонком слое, что ускоряет повторное связывание шаблона с полимером. В зависимости от цели решаемой задачи, в качестве ядер могут быть использованы различные наноматериалы. Достаточно распространен синтез ПМО-оболочки на поверхности магнитных наночастиц. Однако в случае пьезоэлектрических гравиметрических сенсоров важно учитывать массу частиц, на основе которых формируется распознающий слой.

5.1. Синтез полимеров с молекулярными отпечатками «ядро-оболочка»

Первым этапом исследования стало изучение возможности использования структур ПМО «ядро-оболочка» для создания рецепторного слоя пьезоэлектрического сенсора [237]. В качестве ядра использовали наночастицы Fe_3O_4 , а полимерную оболочку синтезировали методом свободнорадикальной полимеризации (рис. 19).

Синтез частиц магнетита осуществляли по методу соосаждения: 0,02 моль Fe^{2+} и 0,03 моль Fe^{3+} растворяли в 100 мл дистиллированной воды, вводили в раствор 2 мл олеиновой кислоты, подвергали УЗ-обработке в течение 20 мин. После чего по каплям добавляли 15 мл 25%-ного раствора аммиака, нагревали до 60°C при непрерывном перемешивании. Для поверхностной гидрофобизации частиц через 30 мин вводили по каплям еще 2 мл олеиновой кислоты и выдерживали систему 1 ч при 80°C . Полученный осадок отделяли при помощи магнита, промывали водой и этанолом до рН 7 и высушивали до постоянной массы.

Для синтеза полимерной оболочки 50 мг наночастиц растворяли с 1 мл толуола, вносили 0,1 моль шаблона (тетрациклина гидрохлорид) и 0,4 моль МК,

полученную смесь перемешивали в течение 1 ч и оставляли при 4°C на 1 ч. Далее вводили 2,5 моль ЭГДМА и 0,075 моль АИБН, обрабатывали УЗ-ком в течение 5 мин, и к полученной суспензии добавляли 6 мл водного раствора ПВП (25 мг/мл). Полимеризацию проводили при 60°C при постоянном перемешивании со скоростью 30 об/мин в течение 4 ч [228, 239]. По аналогичной методике были синтезированы неимпринтированные наночастицы ($\text{Fe}_3\text{O}_4@$ НИП), исключая этап внесения шаблона.

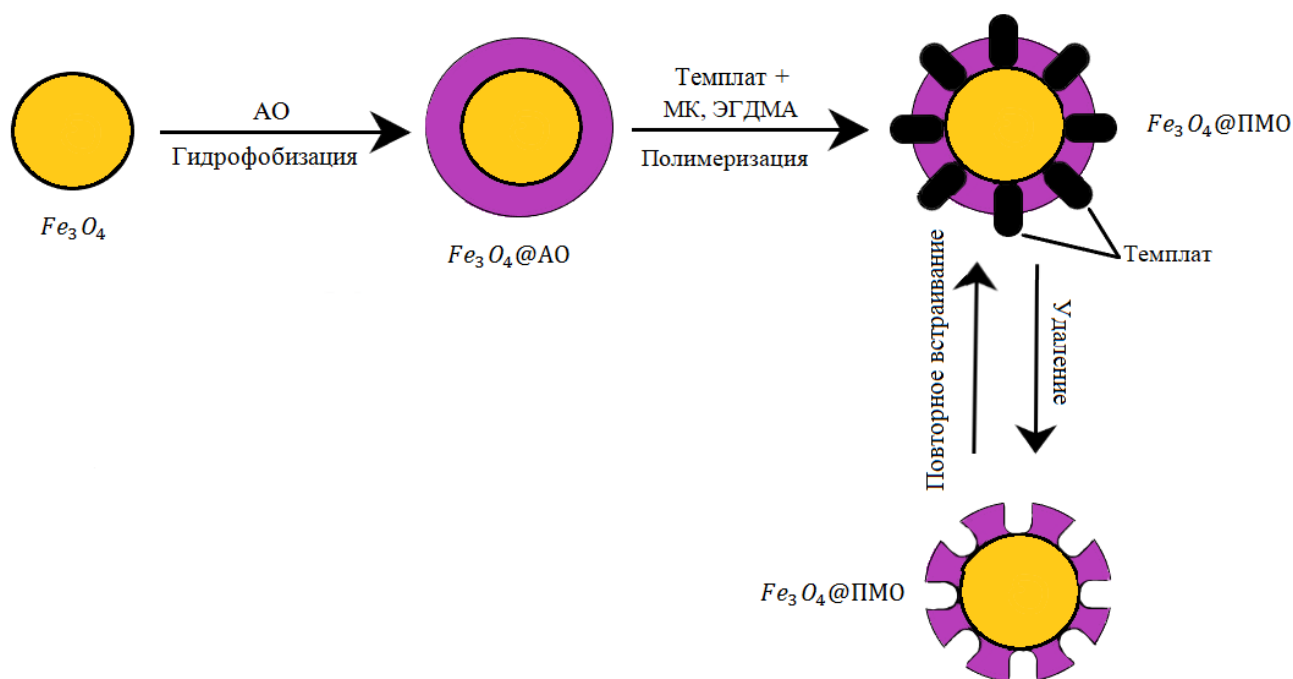


Рисунок 19 – Синтез частиц ПМО методом «ядро-оболочка» на основе ядер Fe_3O_4

Размер полученных частиц контролировали методом турбидиметрии, основанной на измерении интенсивности света, прошедшего через дисперсию наночастиц [240]. Было установлено, что средний радиус наночастиц магнетита составляет 65 ± 3 нм, частиц $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ ПМО – 93 ± 4 нм, а $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ НИП – 127 ± 6 нм. Таким образом, толщина полимерной оболочки составила 28 ± 5 нм для импринтированных частиц, и 62 ± 8 нм для неимпринтированных. Полученные результаты коррелируют с данными АСМ (рис. 20): $d(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 83 \pm 16$ нм, $d(\text{Fe}_3\text{O}_4@$ ПМО) = 111 ± 23 нм, и $d(\text{Fe}_3\text{O}_4@$ НИП) = 159 ± 51 нм.

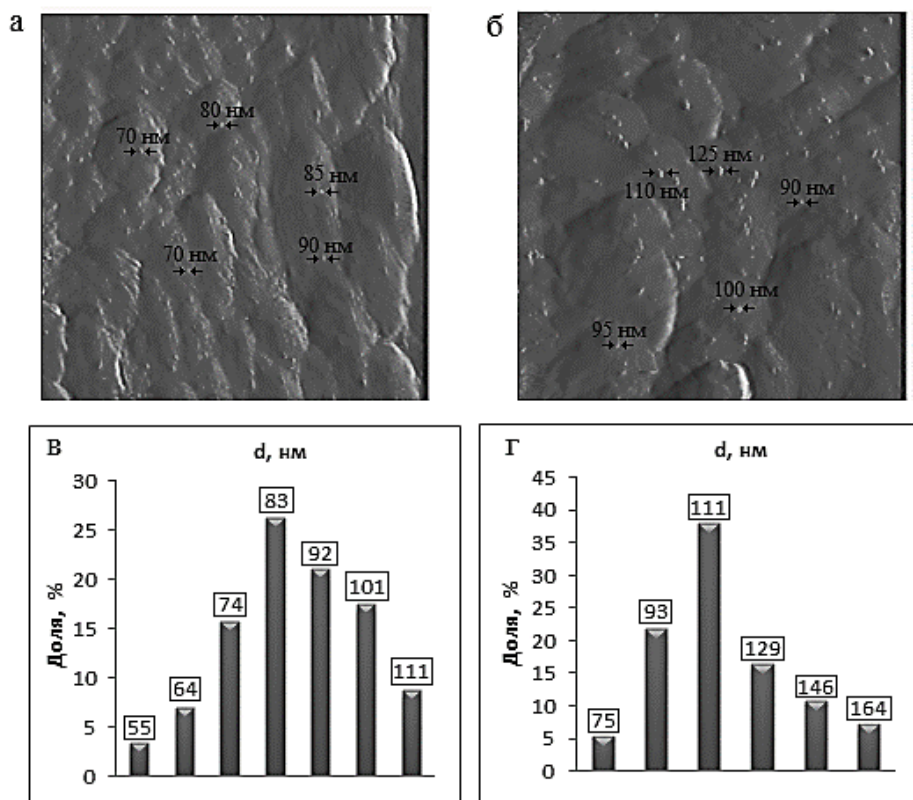


Рисунок 20 – АСМ-снимки наночастиц: (а) Fe₃O₄, (б) Fe₃O₄@ПМО и диаграммы распределения частиц по размерам: (в) Fe₃O₄, (г) Fe₃O₄@ПМО

Формирование распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора (рис. 21) осуществляли путем дозирования 3 мкл суспензии Fe₃O₄@ПМО на поверхность кристалла кварца, высушивания в потоке теплого воздуха (30°C) в течение 1 ч, промывания 200 мкл дистиллированной воды и высушивания до постоянной массы. Для регенерации слоя использовали смесь уксусной кислоты, этанола и дистиллированной воды, взятых в соотношении 1:6:100. Удаление темплата происходило за 10 мин, повторное встраивание наблюдалось в течение 6 мин.

Характеристики распознающего слоя оценивали методом пьезокварцевого взвешивания (табл. 9). Как показали полученные результаты, использование частиц ПМО «ядро-оболочка» с отпечатками тетрациклина позволяет определять аналит в диапазоне 16–275 мкг/мл с пределом обнаружения 5 мкг/мл. Однако рецепторный слой в этом случае характеризуется достаточно высокой массой (6,1 ± 1,1 мкг), что сопровождается низкой стабильностью аналитического сигнала. Кроме того, слой на основе Fe₃O₄@ПМО характеризуется низкой устойчивостью

к регенерации, выдерживает лишь 16 повторных циклов измерения. Поэтому было решено синтезировать частицы ПМО методом «ядро-оболочка» на основе более легких ядер, что позволило бы уменьшить массу слоя, а также обеспечило возможность сочетания таких структур с МУНК.

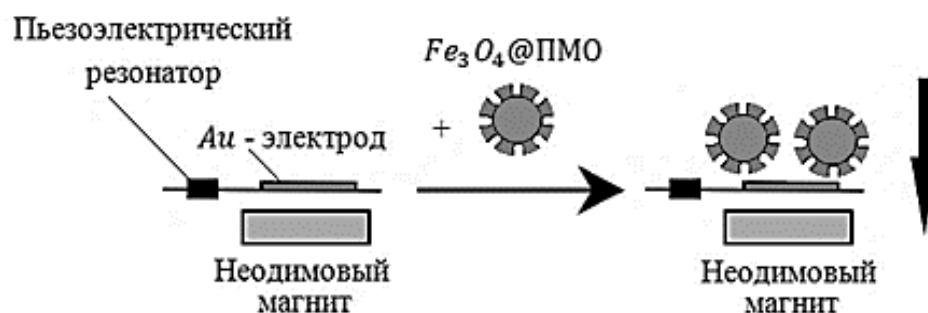


Рисунок 21 – Создание распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на основе частиц $Fe_3O_4@PMO$ под действием внешнего магнитного поля

Таблица 9 – Метрологические характеристики распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на основе частиц $Fe_3O_4@PMO$, сформированного под действием внешнего магнитного поля

Параметр	Величина
m_{PMO} , МКГ	$6,1 \pm 1,1$
$m_{\text{темплата}}$, МКГ	$1,2 \pm 0,5$
R , ммоль/см ²	$0,03 \pm 0,01$
Δm_{BC1} , МКГ	$0,6 \pm 0,3$
R_1 , ммоль/см ²	$0,014 \pm 0,006$
Δm_{BC2} , МКГ	$0,6 \pm 0,2$
R_2 , ммоль/см ²	$0,013 \pm 0,004$
Уравнение градуировочной функции	$\Delta f = 6,5C + 597$
Линейный диапазон функции, мкг/мл	16–275
R^2	0,97
Предел обнаружения, мкг/мл	5

5.1.1. Синтез ядер SiO₂

Было предложено использовать для формирования распознающего слоя частицы «ядро-оболочка» на основе более легких ядер SiO₂. Наночастицы кремнезема могут быть легко модифицированы, что позволит изменять и улучшать свойства ПМО на их основе [241]. Применение таких материалов позволит сократить стоимость анализа по сравнению с иммуносенсорами, а их комбинирование с МУНК сохранит возможность закрепление распознающего слоя под действием внешних магнитных сил. Размер и морфология частиц диоксида кремния, используемых в качестве ядер, во многом определяются соотношением реагентов во время синтеза. За основу были выбраны методики, обеспечивающие формирование частиц с активными функциональными группами на поверхности ядра [241, 207, 208]. Синтез ядер проводили по методу Штобера, включающему гидролиз и последующую конденсацию кремнийорганических соединений [242]. В работе использовали ТЭОС и АПТЭС, обеспечивающие формирование поверхностных активных гидроксильных и аминогрупп. Размер частиц SiO₂, синтезированных разными способами контролировали методом атомной силовой микроскопии (рис. 22).

Методом пьезокварцевого микровзвешивания было установлено влияние диаметра частиц SiO₂ на плотность и однородность слоя на поверхности магнитных углеродных наноконкомпозитов [243, 244]. Так частицы, синтезированные способами 2 и 3 и имеющие меньший диаметр (77 ± 3 нм и 53 ± 2 нм соответственно), располагались на поверхности МУНК более компактно, формируя однородный слой с достаточно большой площадью поверхности. При применении частиц большего диаметра (157 ± 7 нм и 148 ± 7 нм), полученных способами 1 и 4, на поверхности МУНК наблюдалось скопление крупных морфологически неоднородных структур, стерически затрудняющих взаимодействие с поверхностным слоем. Поэтому для последующего исследования выбраны наночастицы, синтезированные способами 2 и 3.

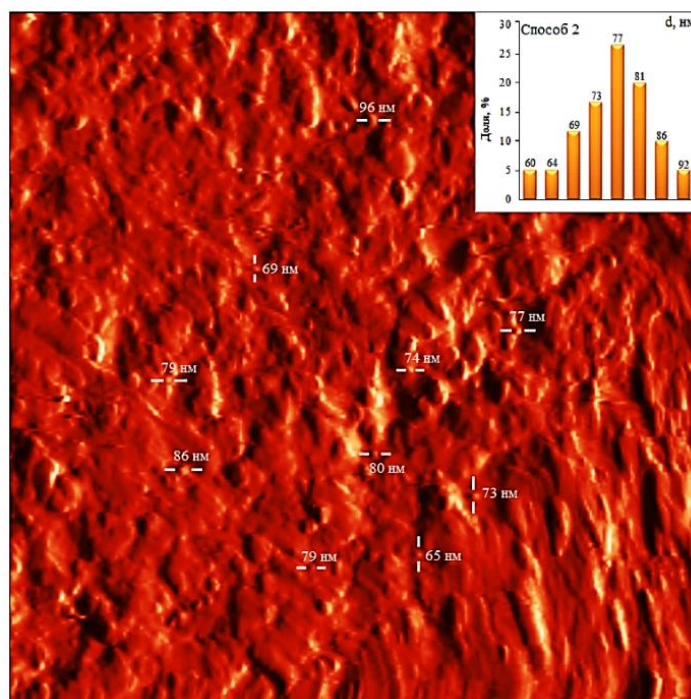


Рисунок 22 – АСМ-снимок частиц SiO₂, синтезированных способом 2, и гистограмма распределения размеров частиц

5.1.2. Синтез полимерной оболочки методами свободнорадикальной и золь-гель полимеризации

Синтез полимерной оболочки на поверхности ядер кремнезема проводили двумя способами: в первом случае на поверхности ядра диоксида кремния синтезировали полимерную оболочку методом свободнорадикальной полимеризации (СРП) – SiO₂@ПМО. Второй способ заключался в получении на поверхности ядра кремнезема оболочки золь-гель методом (ЗГМ) с применением силоксанов – SiO₂@SiO₂ (рис. 23). В роли шаблонов были выбраны макролидные антибиотики эритромицинового ряда (МКЭ): эритромицин и азитромицин.

При свободнорадикальной полимеризации метакриловую кислоту использовали в качестве функционального мономера, кросс-мономером выступал этиленгликольдиметакрилат, а для инициации применяли азобисизобутиронитрил, положительно зарекомендовавшие себя ранее [245–248]. Перед началом полимеризации проводили гидрофобизацию и стабилизацию синтезированных наночастиц SiO₂ олеиновой кислотой или раствором

поливинилпирролидона. Это способствовало снижению агломерации частиц, повышению их стабильности, а также образованию более надежных связей между полимерным слоем и ядром.

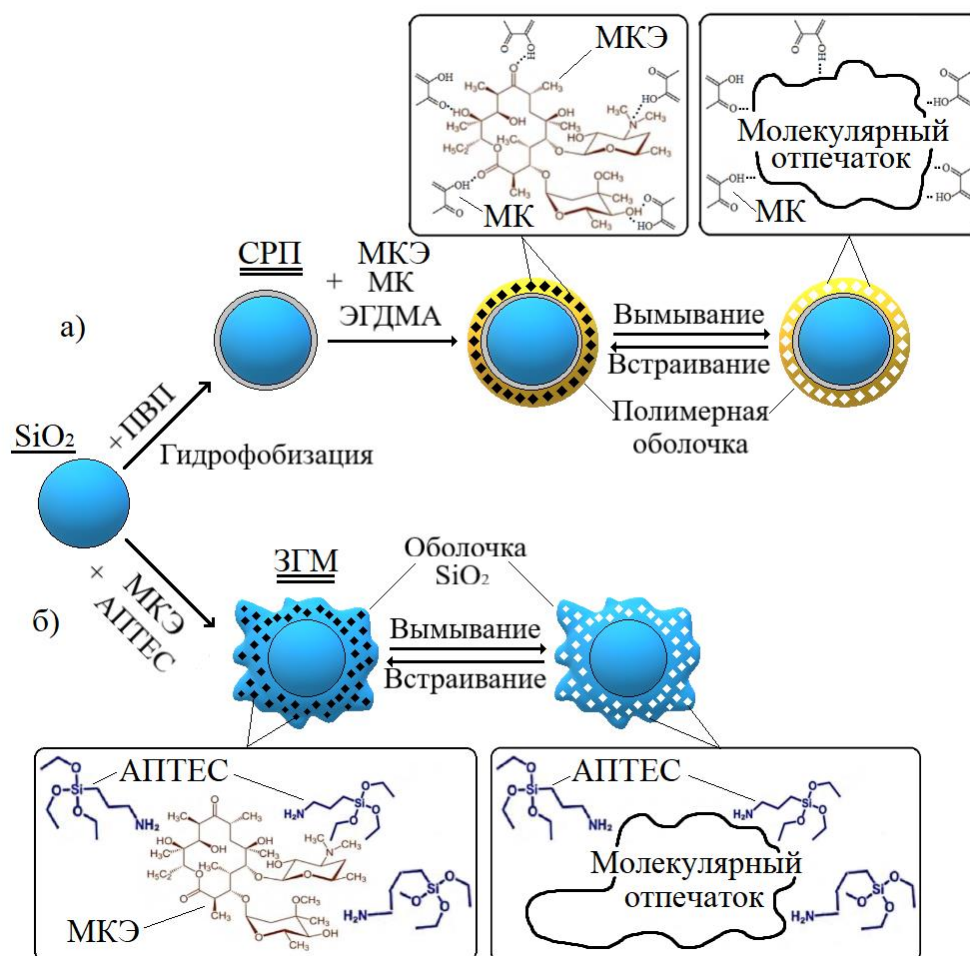


Рисунок 23 – Схема синтеза полимеров с молекулярными отпечатками «ядро-оболочка» свободнорадикальной полимеризацией (а) и золь-гель методом (б)

Было установлено, что применение олеиновой кислоты не приводит к положительному результату – наблюдалось слипание частиц, особенно сильно проявляющееся для образца, синтезированного способом 3.

Гидрофобизация частиц SiO_2 ПВП показала лучшие результаты и обеспечила получение светлых однородных структур. Методом ИК-спектроскопии подтверждено связывание ПВП с поверхностью SiO_2 (рис. 24). В спектре образцов, полученных способами 2 и 3 явно выражены деформационные колебания гетероциклического кольца с колебаниями связи C–N в максимуме при

1425 cm^{-1} . Пик сильной интенсивности наблюдается при 1670 cm^{-1} , отвечающий валентным колебаниям карбонильной группы в лактамном кольце пирролидона. Характерные полосы валентных колебаний кремний-кислородных группировок при 1098 cm^{-1} и 1100 cm^{-1} для частиц SiO_2 для способов 2 и 3 соответственно также отражены в спектре.

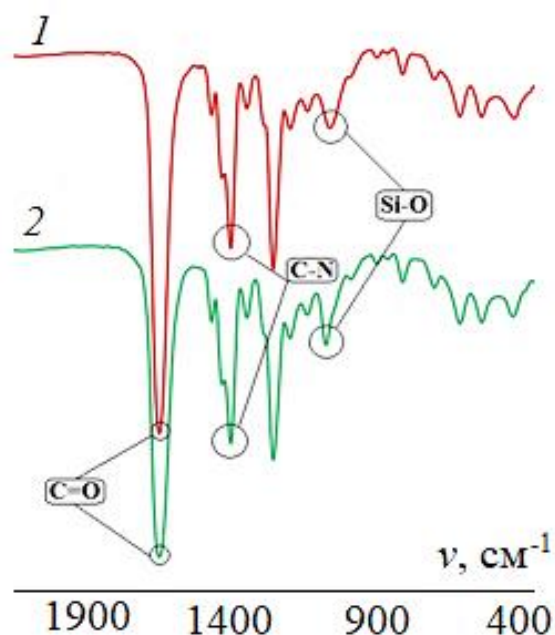


Рисунок 24 – ИК-спектры обработанных ПВП частиц SiO_2 , синтезированных: способом 2 – 1, способом 3 – 2

Большое влияние на количество и доступность поверхностных отпечатков оказывает выбор оптимального соотношения реагентов при синтезе полимерной оболочки. Соотношение темплат : функциональный мономер : кросс-мономер определяли спектрофотометрическим методом по максимуму на спектре поглощения в УФ-области (180–380 нм), варьируя количество реагентов в полимеризационной смеси (рис. 25).

На спектрах поглощения зарегистрированы максимальные значения оптической плотности при следующих мольных соотношениях темплат : функциональный мономер : кросс-мономер – для эритромицина 1 : 8 : 60, для

азитромицина 1 : 4 : 30. Разные соотношения реагентов при синтезе ПМО отдельных макролидов связаны с различиями в строении их молекул (рис. 26).

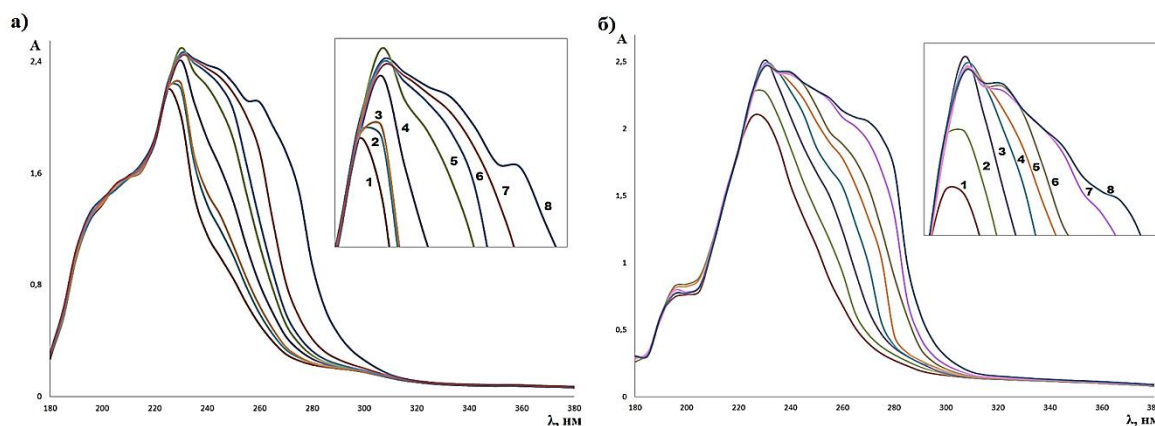


Рисунок 25 – Спектры поглощения темплат : МК, взятых в соотношениях:

1 – 1:1; 2 – 1:2; 3 – 1:4; 4 – 1:6; 5 – 1:8; 6 – 1:10; 7 – 1:20; 8 – 1:40,

а) эритромицин, б) азитромицин

Ввиду того, что на поверхности ядра из кремнезема возможна неспецифическая сорбция темплата, а молекулярные отпечатки формируются в тонком полимерном слое, дополнительно увеличена концентрация темплата, применяемая при синтезе ПМО. Так, количество частиц SiO_2 принималось равным 1, а число частей шаблона (по массе) варьировали в диапазоне от 1 до 5. Установлено, что максимальный сигнал на спектрах поглощения в УФ-области наблюдается при соотношении темплат : SiO_2 , равном 4 : 1 (рис. 27). Поэтому при синтезе оболочки методом СРП применяли полимеризационную смесь состава темплат : функциональный мономер : кросс-мономер 4 : 32 : 240 (для эритромицина) и 4 : 16 : 120 (для азитромицина).

Второй способ синтеза частиц «ядро-оболочка» заключался в последовательном синтезе сначала ядра, а далее оболочки диоксида кремния золь-гель методом. При взаимодействии ТЭОС с водой в присутствии гидроксида аммония образует этанол и смесь этоксисиланов, которые далее могут вступать в реакцию конденсации с ТЭОС или другими силанами с потерей спирта или воды. Дальнейший гидролиз этоксигрупп и последующая конденсация приводят к

сшиванию. Реакции гидролиза и конденсации протекают вместе в одном реакционном сосуде, что удобно и не требует гидрофобизации частиц SiO_2 , так как формирование ядра и поверхностной оболочки осуществляются с использованием одинаковых реактивов [249].

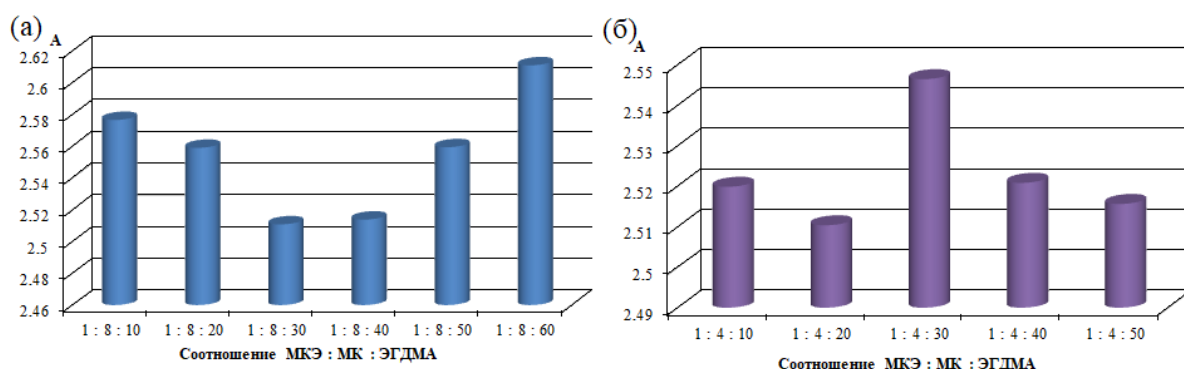


Рисунок 26 – Выбор соотношения реагентов при синтезе полимерной оболочки методом СРП для (а) эритромицина, (б) азитромицина

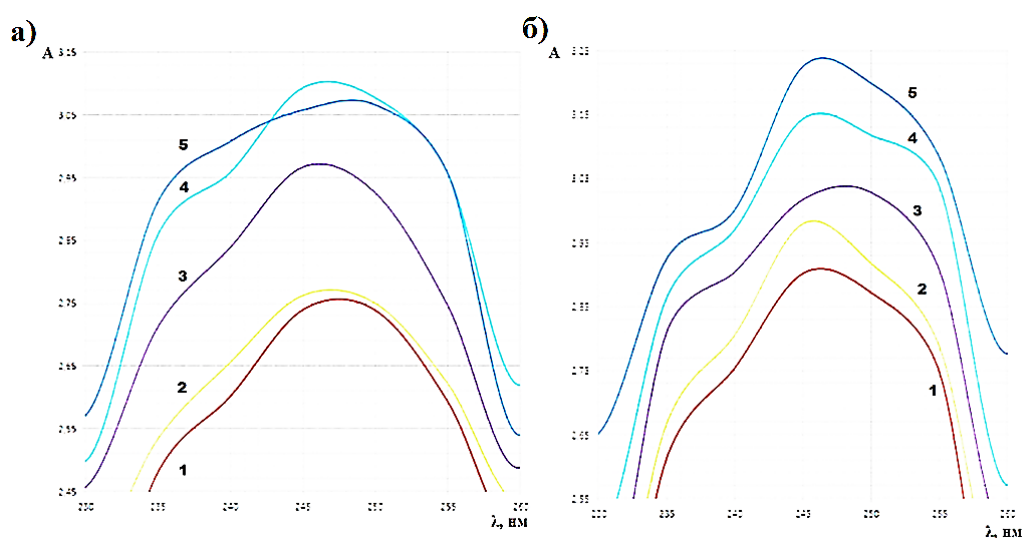


Рисунок 27 – Спектры поглощения а) темплат : SiO_2 , синтезированные способом 2 и б) темплат : SiO_2 , синтезированные способом 3, взятых в соотношении:

1 – 1:1; 2 – 2:1; 3 – 3:1; 4 – 4:1; 5 – 5:1

Сравнение ИК-спектров макролида и ПМО, полученных методом СРП на основе частиц SiO_2 , синтезированных способом 2 (рис. 28а) продемонстрировало смещение пика карбонильных групп в коротковолновую область с 1747 см^{-1} до 1722 см^{-1} , что указывает на образование водородных связей между метакриловой

кислотой (функциональным мономером) и молекулами темплата при формировании предполимеризационного комплекса. Также более высокая интенсивность пика $-C-OH$ в спектрах ПМО по сравнению с НИП говорит о присутствии карбонильной группы лактонного кольца макролидов в импринтованном полимере (988 см^{-1}). Было отмечено уширение этой полосы в спектрах ПМО по сравнению со спектром антибиотика, что подтверждает участие гидроксильных групп макролида в образовании водородных связей с функциональным мономером.

Подобные изменения в ИК-спектрах наблюдали и при формировании оболочки ЗГМ на поверхности ядер, синтезированных способом 2 (рис. 28б). На присутствие лактонного кольца макролида указывает пик 950 см^{-1} , характерный для антибиотиков данного ряда. Образование связей между темплатом и оболочкой подтверждено уширением и смещением полосы карбонильной группы с 1747 см^{-1} до 1706 см^{-1} по сравнению со спектром макролида. Сопоставление спектров сорбированной макролидом оболочки SiO_2 и десорбированной оболочки позволило доказать успешное удаление молекул темплата.

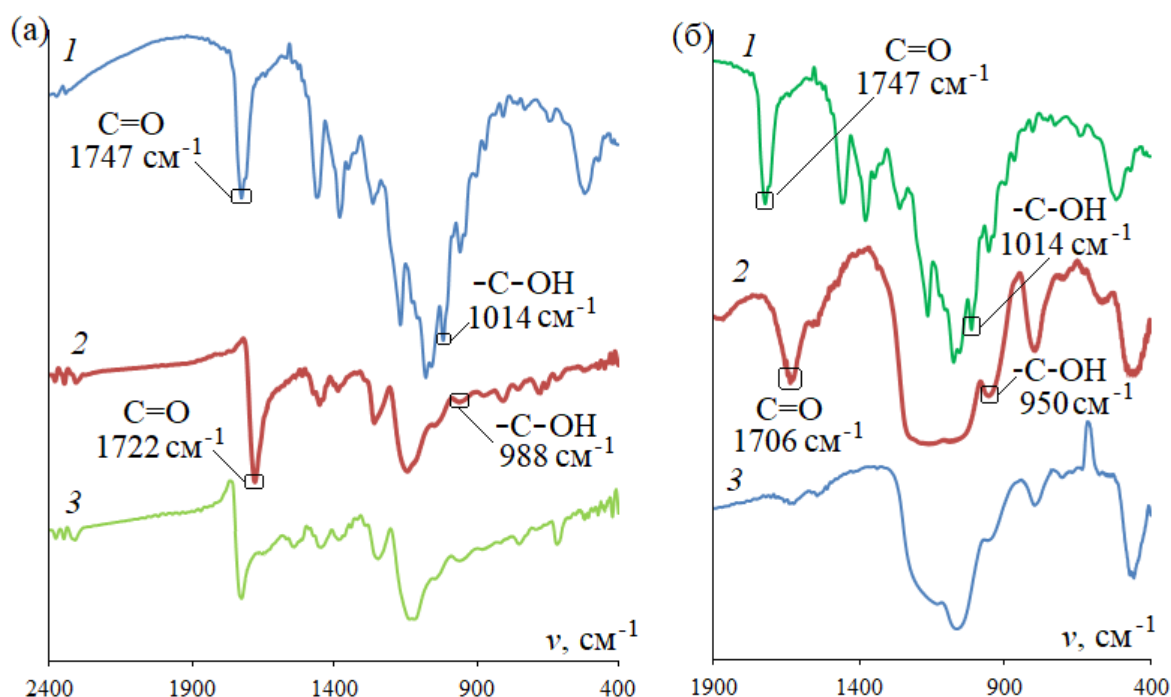


Рисунок 28 – ИК-спектры ПМО, на примере эритромицина, полученные методами СРП (а) и ЗГМ (б): 1 – антибиотик, 2 – ПМО, 3 – НИП

В случае наночастиц диоксида кремния, полученных способом 3 установлено, что на ИК-спектрах частиц ПМО не проявляются связи, характерные для молекул макролидов. Следовательно, оболочка на поверхности таких частиц не обеспечивает встраивание шаблона в структуру отпечатков. В связи с этим, наночастицы SiO_2 , полученные способом 3, были исключены из дальнейшего исследования.

Возможность повторного использования распознающего слоя на основе ПМО определяется правильным выбором регенерирующего раствора, который обеспечивает достаточно полное вымывание молекул шаблона из полимерной матрицы с сохранением структуры отпечатков. Так как молекулы макролидов характеризуются низкой растворимостью в воде, однако хорошо растворимы в полярных органических растворителях, была исследована возможность регенерации рецепторного покрытия с помощью: смеси этанол : ацетонитрил (1:3), смеси уксусная кислота : этанол (1:6) и чистого этанола (рис. 29).

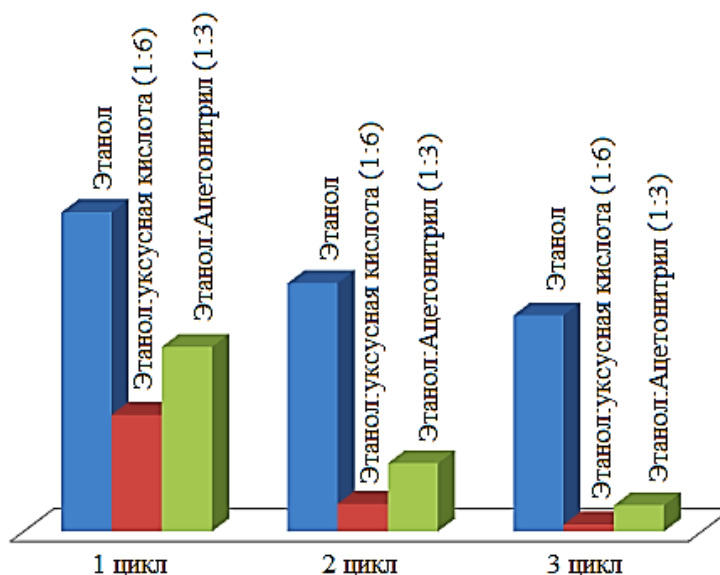


Рисунок 29 – Снижение массы распознающего слоя после 3 циклов обработки регенерирующими растворами

В результате исследования было выявлено, что применение смесей органических растворителей сопровождалось значительным разрушением

структуры полимерной оболочки как в случае частиц ПМО, синтезированных СРП, так и ЗГМ. Использование чистого этанола в качестве регенерирующего раствора приводило к более стабильной десорбции и последующей повторной сорбции молекул шаблонов в структуру полимерной матрицы частиц $\text{SiO}_2@PMO$ и $\text{SiO}_2@SiO_2$.

Для обеспечения наиболее полного удаления молекул темплатов из полимерной матрицы требуется определить время взаимодействия частиц ПМО с регенерирующим раствором. Так, при недостаточном времени контакта шаблон не будет удален в полной мере, а при слишком длительном воздействии может произойти нарушение структуры молекулярных отпечатков. Последующая повторная десорбция также требует определения оптимального времени контактирования ПМО с раствором, содержащим темплат. От этого будет зависеть продолжительность анализа, обеспечивающая высокую степень эффективности связывания шаблона со свободными отпечатками. Методом пьезокварцевого взвешивания установлено, что наиболее полное извлечение молекул эритромицина этанолом из полимерной матрицы $\text{SiO}_2@PMO$ происходило в течение 4 мин, а максимальное встраивание антибиотиков в сформированные отпечатки уже через 3 мин (рис. 30), что свидетельствует о высокой доступности отпечатков в структуре ПМО для молекул темплата. Продолжительность полного извлечения темплата из структуры $\text{SiO}_2@SiO_2$ составила 10 мин, тогда как, максимальное встраивание происходило за 6 мин, что свидетельствует о меньшей доступности отпечатков для молекул темплата в полимерной оболочке, полученной ЗГМ.

5.2. Оптимизация условий определения макролидных антибиотиков с помощью пьезоэлектрических ПМО-сенсоров на основе магнитных углеродных наноконпозитов

Иммобилизацию ПМО на МУНК осуществляли за счет адсорбции частиц на развитой поверхности УНТ, входящих в состав композитов. Для этого к

дисперсии МУНК добавляли $\text{SiO}_2@\text{ПМО}$ или $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ в растворе Тритон Х-100. После выдерживания системы при 25°C , наносили ее на поверхность пьезоэлектрического сенсора, под которым располагался неодимовый магнит (рис. 31).

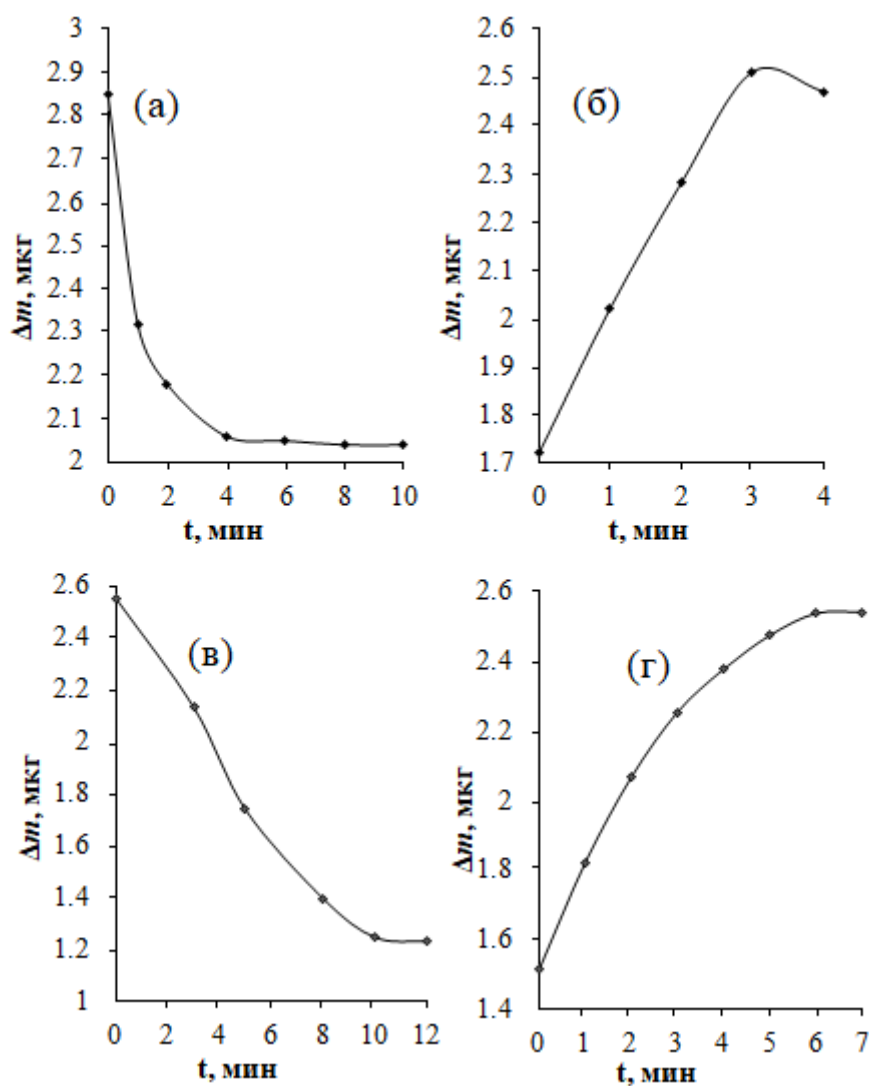


Рисунок 30 – Зависимость массы полимерной структуры от продолжительности десорбции молекул из частиц $\text{SiO}_2@\text{ПМО}$ (а) и $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ (в) и повторной сорбции из раствора эритромицина с концентрацией 40 мкг/мл для частиц $\text{SiO}_2@\text{ПМО}$ (б) и $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ (г)

Метрологические характеристики пьезоэлектрического сенсора на основе композитных наноматериалов представлены в таблице 10. При синтезе было отмечено, что масса антибиотиков, включенных в структуры $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ или

$\text{SiO}_2@\text{ПМО}$ ($m_{\text{темплата}}$, мкг), существенно превышает аналогичную характеристику, полученную при повторном встраивании (Δm_{BC1} и Δm_{BC2}), что объясняется частичным разрушением матрицы, прилегающей к отпечатку при первичной регенерации. Однако в результате последующих процедур десорбции – сорбции МКЭ в молекулярные отпечатки, значения масс повторно встроенных молекул темплатов, а также концентрации поверхностных отпечатков (R_1 и R_2) практически совпадают, что свидетельствует о формировании на поверхности частиц постоянного количества доступных отпечатков и устойчивости разработанного сенсора.

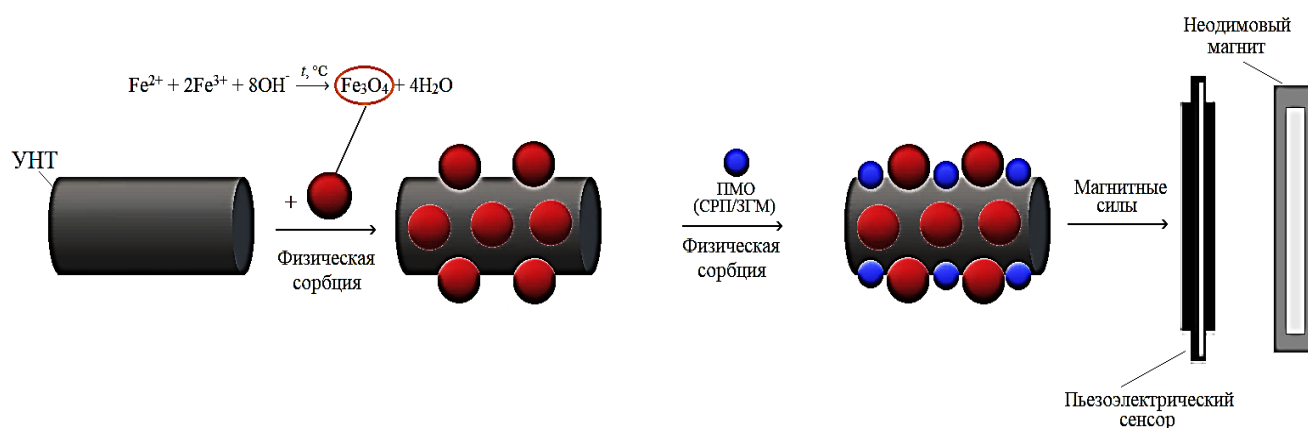


Рисунок 31 – Схема формирования распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на основе МУНК и ПМО «ядро-оболочка» под действием внешних магнитных сил

Установлено, что сенсор на основе ПМО@ SiO_2 /МУНК для определения азитромицина характеризуется линейностью в диапазоне 5–160 мкг/мл, а в случае эритромицина – 10–160 мкг/мл. В уравнении градуировочной зависимости эритромицина для сенсора на основе $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ /МУНК наблюдается увеличение верхней границы определяемых содержаний (20–400 мкг/мл), что свидетельствует о большей концентрации поверхностных отпечатков в оболочке, полученной ЗГМ.

Селективность сенсора [250] на основе молекулярно импринтированных частиц оценивали с помощью коэффициента кросс-реактивности CR , % (табл. 11).

Установлено, что молекулярно импринтированные частицы, синтезированные методами СРП и ЗГМ, обладают высокой селективностью относительно антибиотиков других классов. Однако значения CR , % для других макролидов превышают 70 и более %, это позволяет утверждать, что ПМО с отпечатками индивидуального макролида, могут быть использованы для суммарно определения антибиотиков эритромицинового ряда.

Таблица 10 – Характеристики сенсоров на основе ПМО@SiO₂/МУНК и SiO₂@SiO₂/МУНК ($n = 3$; $P = 0,95$)

Параметр	Покрытие на основе ПМО@SiO ₂ /МУНК		Покрытие на основе SiO ₂ @SiO ₂ /МУНК
	Азитромицин	Эритромицин	
$m_{\text{ПМО}}$, МКГ	$3,2 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,6$	$2,3 \pm 0,7$
$m_{\text{темплата}}$, МКГ	$1,6 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,4$
R , ммоль/см ²	$0,021 \pm 0,001$	$0,018 \pm 0,004$	$0,018 \pm 0,006$
$\Delta m_{\text{ВС1}}$, МКГ	$0,7 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,2$
R_1 , ммоль/см ²	$0,009 \pm 0,003$	$0,011 \pm 0,002$	$0,014 \pm 0,003$
$\Delta m_{\text{ВС2}}$, МКГ	$0,6 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,2$
R_2 , ммоль/см ²	$0,009 \pm 0,001$	$0,010 \pm 0,003$	$0,014 \pm 0,005$
Уравнение градуировочной функции	$\Delta f = 0,4C + 469$	$\Delta f = 0,6C + 385$	$\Delta f = 1,9C + 394$
Диапазон определяемых концентраций, МКГ/мл	5–160	10–160	20–400
Коэффициент корреляции	0,99	0,98	0,96
Предел обнаружения, МКГ/мл	2	2	3

Таблица 11 – Оценка селективности определения антибиотиков эритромицинового ряда с помощью пьезоэлектрических сенсоров с распознающим слоем на основе композитных наноматериалов

Темплат	Структура слоя	Аналит	CR, %
Эритромицин	ПМО@SiO ₂ /МУНК	Эритромицин	100
		Азитромицин	70
		Пенициллин G	12
		Тетрациклин	8
Азитромицин	ПМО@SiO ₂ /МУНК	Эритромицин	75
		Азитромицин	100
Эритромицин	SiO ₂ @SiO ₂ /МУНК	Эритромицин	100
		Азитромицин	84
		Пенициллин G	19
		Тетрациклин	15
Азитромицин	SiO ₂ @SiO ₂ /МУНК	Эритромицин	88
		Азитромицин	100

Более высокий предел обнаружения при использовании в качестве элементов распознавания ПМО «ядро-оболочка» по сравнению с ПМО, полученными методом преципитации (0,04 и 0,09 мкг/мл для пенициллина G и ампициллина соответственно) [126] и методом фотополимеризации (0,41, 0,40 и 0,41 для цефтазидима, цефтриаксона и цефатоксима соответственно) [226] объясняется формированием более однородного покрытия в случае преципитации и фотополимеризации. Однако применение ПМО@SiO₂/МУНК и SiO₂@SiO₂/МУНК позволяет избежать длительной и трудоемкой подготовки сенсора к анализу, включающей последовательное нанесение суспензии полимера и создание полимерной пленки. Также удаление покрытия на основе частиц «ядро-оболочка» и МУНК осуществляется снятием воздействия внешнего

магнитного поля и не сопровождается разрушением металлического покрытия электрода сенсора.

6. Применение пьезоэлектрических иммуно- и ПМО-сенсоров на основе магнитных углеродных нанокомпозитов для определения биологически активных соединений в продуктах питания

Разработанные сенсоры с распознающим слоем на основе магнитных углеродных нанокомпозитов апробированы при определении антибиотиков и аристолохиевой кислоты в продуктах питания. Методом «введено-найдено» оценена правильность определения Пен G с помощью иммуносенсора на основе МУНК_A в жидких средах. Отсутствие систематической погрешности в результатах анализа подтверждено с помощью критерия Стьюдента ($t_{\text{эксп}} < t_{\text{табл}}$). Значения s_r свидетельствуют о высокой прецизионности результатов анализа (табл. 12).

Таблица 12 – Проверка правильности определения пенициллина G ($t_{\text{табл}} = 2,1$, $n = 5$; $P = 0,95$)

Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	s_r	$t_{\text{эксп}}$
50	53 ± 1	0,02	2,0
100	101 ± 4	0,01	0,8
300	305 ± 8	0,01	1,9

Иммуносенсор с распознающим слоем на основе МУНК₁ апробирован при определении ципрофлоксацина в молоке и мясе (табл. 13). Пробоподготовка молока осуществлялась следующим образом: к 10 мл молока, предварительно разбавленного в 3 раза дистиллированной водой, добавляли 5 мл этанола и 2 мл насыщенного раствора сульфата аммония и подвергали центрифугированию в течение 3 мин (скорость 7000 об/мин). Экстракт использовали для анализа.

Пробоподготовка мяса: к 1 г измельченной мышечной ткани (свинина, мясо курицы) добавляли 20 мл фосфатного буферного раствора (рН 7,2), тщательно перемешивали, встряхивали в течение 1 ч и центрифугировали 10 мин на скорости 6000 об/мин. Экстракт использовали для анализа.

Установлено, что во всех пробах содержание ципрофлоксацина не превышает значение МДУ препарата (0,1 мг/кг) [251].

Таблица 13 – Результаты определения ципрофлоксацина в молоке и мясе ($n = 5$; $P = 0,95$)

Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	Рассчитано		S _r
		нг/мл	мкг/кг	
Молоко				
20,0	28,9 ± 1,8	8,8 ± 1,8	9,1 ± 1,8	0,05
50,0	58,6 ± 2,6	8,6 ± 2,6	8,8 ± 2,6	0,03
Свинина				
20,0	19,8 ± 1,1	0,5 ± 0,1	$(0,5 \pm 0,1) \cdot 10^{-3}$	0,04
50,0	48,9 ± 4,5	2,0 ± 0,7	$(2,0 \pm 0,7) \cdot 10^{-3}$	0,07

Иммуносенсор с распознающим слоем на основе МУНК/АК-ОВА, в состав которого входили УНТ₂, полученные в Новосибирске, апробирован при определении аристорохиевой кислоты в реальных объектах – двух образцах фиточая и биологически активной добавке для похудения (табл. 14–15).

Пробоподготовку образцов китайского чая для похудения «Летящая ласточка» проводили следующим образом: 1 пакетик чая (2 г) заливали 200 мл кипящей дистиллированной воды и выдерживали 3–5 мин.

Для осуществления пробоподготовки БАД «Плоский живот» таблетку препарата растворяли в 200 мл дистиллированной воды и отфильтровывали. Осадок дважды промывали этиловым спиртом для перевода аристорохиевой кислоты в раствор.

Таблица 14 – Результаты определения аristoloxиевой кислоты в образцах фиточая ($n = 5$; $P = 0,95$)

Фиточай	Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	s_r
«Оолонг усиленного действия»	100	98 ± 2	0,01
	150	149 ± 1	0,01
	250	247 ± 5	0,02
«Летящая ласточка фруктовый»	100	98 ± 2	0,02
	150	148 ± 1	0,01
	250	247 ± 2	0,01

В образцах фиточая АК не была обнаружена, что позволяет сделать вывод о безопасности данного продукта. Однако в БАД содержание аristoloxиевой кислоты составило 3 мкг/г. Концентрация АК, приводящая к тяжёлым формам раковых новообразований, составляет 184 мкг/г. Содержание аristoloxиевой кислоты в БАД не превышает данного значения, однако из-за того, что действие АК носит накопительный характер, применение препарата должно быть ограничено.

Таблица 15 – Результаты определения аristoloxиевой кислоты в БАД ($n = 5$; $P = 0,95$)

Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	Рассчитано, мкг/г	s_r
100,0	$112,0 \pm 0,9$	$3,2 \pm 0,3$	0,07
150,0	$161,8 \pm 1,4$	$3,1 \pm 0,4$	0,09
250,0	$262,2 \pm 1,0$	$3,3 \pm 0,3$	0,07

Разработанные ПМО-сенсоры на основе МУНК также апробированы при определении макролидов в свинине и курином мясе (табл. 16). Значения s_r свидетельствуют о высокой прецизионности результатов анализа.

Таблица 16 – Результаты определения эритромицина в мясе ($n = 5$; $P = 0,95$) методом «введено-найденно» с помощью сенсора с распознающим слоем на основе ПМО@SiO₂/МУНК

Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	s_r
Куриное мясо		
25	25 ± 1	0,02
50	51 ± 1	0,02
100	101 ± 3	0,03
Свинина		
25	32 ± 2	0,05
50	57 ± 2	0,03
100	108 ± 2	0,02

Таким образом, проведенные исследования показывают возможность применения МУНК для создания распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора под действием внешнего магнитного поля. При этом время формирования слоя сокращается по сравнению с традиционными многослойными способами с 24 до 1,5 ч [111]. В случае иммуносенсоров на основе МУНК наблюдается высокая чувствительность детектирования. Использование в качестве распознающих элементов ПМО в сочетании с МУНК сопровождается изменением диапазона регистрируемых концентраций и предела обнаружения. Это связано с утяжелением распознающего слоя ПМО/МУНК, а также наблюдается меньшая доступность сайтов распознавания по сравнению с иммуносенсорами.

Однако главными отличительными особенностями анализа в этом случае являются простота методика формирования рецепторного слоя, легкость его удаления, а также прочность получаемого покрытия (до 33 повторных циклов измерений после регенерации слоя в случае иммуносенсора и до 21 цикла для ПМО-сенсора). Такие сенсоры отличаются большей устойчивостью при хранении и эксплуатации, а удаление рецепторного слоя не сопровождается нарушением целостности металлического электрода сенсора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предложен новый способ формирования распознающего слоя гравиметрических пьезоэлектрических иммуно- и ПМО-сенсоров на основе магнитных углеродных композитов под действием внешнего магнитного поля, способствующий упрощению процедуры подготовки сенсора к работе и сокращению продолжительности подготовки сенсора к анализу. Оценено влияние размера, полученных различными способами магнитных наночастиц, и соотношения концентраций УНТ:МНЧ в нанокompозите на характеристики распознающего слоя пьезоэлектрических иммуносенсоров для определения следовых концентраций антибиотиков и природных токсинов. Наиболее стабильный и устойчивый слой был сформирован на основе нанокompозита, в состав которого входили магнитные наночастицы со средним диаметром 22 ± 2 нм и соотношением УНТ:МНЧ – 3:1.

2. Обоснованы условия высокочувствительного и селективного определения с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора антибиотиков (ципрофлоксацин, пенициллин G) и аристолохиевой кислоты. Предложен способ получения распознающего слоя, включающий диспергирование нанокompозита в 1%-ном водном растворе Тритон X-100, ультразвуковую обработку и иммобилизацию на поверхности композита иммунореагентов, позволяющий сократить продолжительность подготовки сенсора к анализу по сравнению с традиционными многослойными методами (с 24 до 1,5 ч). Показано, что разработанные сенсоры позволяют проводить определение следовых концентраций ципрофлоксацина, пенициллина G и аристолохиевой кислоты в диапазоне содержаний и пределом обнаружения: 5–400 и 3,2 нг/мл, 5–450 и 3,1 нг/мл, 50–400 и 5,9 нг/мл соответственно. Число повторных циклов измерения составило 33.

3. Синтезированы и охарактеризованы полученные методом «ядро-оболочка» полимеры с молекулярными отпечатками макролидов. Установлено, что применение ядер из диоксида кремния с оболочкой, сформированной

методами свободнорадикальной и золь-гель полимеризации, обеспечивает формирование плотного однородного распознающего слоя на базе магнитных углеродных наноконпозитов под действием внешнего магнитного поля. Применение полимеров с молекулярными отпечатками, полученных методом свободнорадикальной полимеризации, позволяет определять азитромицин и эритромицин в диапазоне 5–160 и 10–160 мкг/мл соответственно, с пределом обнаружения 2 мкг/мл; а синтезированных золь-гель методом – эритромицина в диапазоне 20–400 мкг/мл, $C_{\min} = 3$ мкг/мл.

4. Разработаны способы определения антибиотиков и природных токсинов с помощью пьезоэлектрических иммуно- и ПМО-сенсоров на основе магнитных углеродных наноконпозитов в пищевой продукции. ПМО-сенсоры характеризуются более узким диапазоном определяемых концентраций анализируемых соединений, что объясняется утяжелением распознающего слоя за счет наноструктур полимеров. Показана возможность применения разработанных сенсоров для определения биологически активных веществ в молоке, мясе, чае и биологически активных добавках к пище.

Перспективы дальнейшей разработки темы связаны с изучением возможности создания пьезоэлектрических сенсоров с распознающим слоем на основе МУНК с другими биомолекулами, используемыми в качестве элементов распознавания (аптамеры, антигены с высокой молекулярной массой), а также разных вариаций проведения анализа: прямой формат иммуноанализа, проточный и проточно-инжекционный анализ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Thostenson E.T. Advances in the science and technology of carbon nanotubes and their composites: a review / E.T. Thostenson, Z. Ren, T.-W. Chou // *Composites Science and Technology* – 2001. – Vol. 61. – P. 1899–1912.
2. Faraji M. Recent advances and trends in applications of solid-phase extraction techniques in food and environmental analysis / M. Faraji, Y. Yamini, M. Gholami // *Chromatographia*. – 2019. – Vol. 82. – P. 1207–1249.
3. Zhu B. Simultaneous determination of 131 pesticides in tea by on-line GPC-GC-MS/MS using graphitized multi-walled carbon nanotubes as dispersive solid phase extraction sorbent / B. Zhu, X. Xu, J. Luo, S. Jin, W. Chen, Z. Liu, C. Tian // *Food chemistry*. – 2019. – Vol. 276. – P. 202-208.
4. Büyüktiryaki S. Functionalized nanomaterials in dispersive solid phase extraction: Advances & prospects / S. Büyüktiryaki, R. Keçili, C. M. Hussain // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2020. – Vol. 127. – P. 115893–115907.
5. Liu Y. Prospects of an electroactive carbon nanotube membrane toward environmental applications / Y. Liu, G. Gao, C.D. Vecitis // *Accounts of Chemical Research*. – 2020. – Vol. 53. – № 12. – P. 2892–2902.
6. Wang Y. Environmental remediation applications of carbon nanotubes and graphene oxide: adsorption and catalysis / Y. Wang, C. Pan, W. Chu, A. K. Vipin, L. Sun // *Nanomaterials*. – 2019. – Vol. 9. – № 3. – P. 439–464.
7. Zhanga Q. Nitrogen dopants in nickel nanoparticles embedded carbon nanotubes promote overall urea oxidation / Q. Zhanga, F. MD. Kazima, S. Maa, K. Qub, M. Lia, Y. Wangc, H. Hua, W. Caia, Z. Yanga // *Applied Catalysis B: Environmental*. – 2021. – Vol. 280. – P. 119436–119444.
8. Saleh T.A. Carbon nanotube-incorporated alumina as a support for MoNi catalysts for the efficient hydrodesulfurization of thiophenes / T. A. Saleh // *Chemical Engineering Journal*. – 2021. – Vol. 404. – P. 126987–126997.

9. Liu B. A exible NO₂ gas sensor based on polypyrrole/nitrogen-doped multiwall carbon nanotube operating at room temperature / B. Liu, X. Liu, Z. Yuan, Y. Jiang, Y. Su, J. Ma, H. Tai // *Sensors and Actuators, B.* – 2019. – Vol. 295. – P. 86–92.
10. Husain A. Synthesis, characterization and ethanol sensing application of polythiophene/graphene nanocomposite / A. Husain, S. Ahmad, F. Mohammad // *Materials Chemistry and Physics.* – 2020. – Vol. 239. – P. 122324.
11. Hunter G. W. Editors' choicecritical review a critical review of solidstate gas sensors / G. W. Hunter, S. Akbar, S. Bhansali, M. Daniele, P. D. Erb, K. Johnson, C.-C. Liu, D. Miller, O. Oralkan, P. J. Hesketh, P. Manickam, R. L. V. Wal // *Journal of the Electrochemical Society.* – 2020. – Vol. 167. – P. 037570.
12. Alam A. U. Bisphenol A electrochemical sensor using graphene oxide and β -cyclodextrin-functionalized multi-walled carbon nanotubes / A. U. Alam, M. J. Deen. // *Analytical Chemistry.* – 2020. – Vol. 92. – P. 5532–5539.
13. Huang Q. Graphene quantum dots/multiwalled carbon nanotubes composite-based electrochemical sensor for detecting dopamine release from living cells / Q. Huang, X. Lin, L. Tong, Q.-X. Tong // *ACS Sustainable Chemistry and Engineering.* – 2020. – Vol. 8. – P. 1644–1650.
14. Arumugasamy S. K. Electrochemical sensor for detecting dopamine using graphene quantum dots incorporated with multiwall carbon nanotubes / S. K. Arumugasamy, S. Govindaraju, K. Yun // *Applied Surface Science.* – 2020. – Vol. 508. – P. 145294–145302.
15. Harvey J. D. HIV Detection via a Carbon Nanotube RNA Sensor / J. D. Harvey, H. A. Baker, M. V. Ortiz, A. Kentsis, D. A. Heller // *ACS Sensors.* – 2019. – Vol. 4. – P. 1236–1244.
16. Rasheed T. Carbon nanotubes-based cues: A pathway to future sensing and detection of hazardous pollutants / T. Rasheed, F. Nabeel, M. Adeel, K.1 Rizwan, M. Bilal, H. M.N. Iqbal // *Journal of Molecular Liquids.* – 2019. – Vol. 292. – P. 111425–111442.

17. Hendler-Neumark A. Fluorescent Single-Walled Carbon Nanotubes for Protein Detection / A. Hendler-Neumark, G. Bisker // *Sensors*. – 2019. – Vol. 19. – P. 5403–5419.
18. Karousis N. Current Progress on the Chemical Modification of Carbon Nanotubes / N. Karousis, N. Tagmatarchis // *Chemical Reviews*. – 2010. – Vol. 110. – P. 5366–5397.
19. Caoduro C. Carbon nanotube – protamine hybrid: evaluation of DNA cell penetration / C. Caoduro, R. Kacem, K. Boukari, F. Picaud, C.-H. Brachais, D. Monchaud, C. Borg, H. Boulahdour, T. Gharbi, R. Delage-Mourroux, E. Hervouet, M. Pudlo // *Carbon*. – 2016. – Vol. 96. – P. 742-752.
20. Ríos Á. Recent advances in magnetic nanomaterials for improving analytical processes / Á. Ríos, M. Zougagh // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2016. – Vol. 84. – P. 72–83.
21. Netto C.G.C.M. Superparamagnetic nanoparticles as versatile carriers and supporting materials for enzymes / C.G.C.M. Netto, H.E Toma, L.H. Andrade // *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. – 2013. – Vol. 85. – P. 71–92.
22. Materón E.M. Magnetic nanoparticles in biomedical applications: A review / E.M. Materón, C.M. Miyazaki, O. Carr, N. Joshi, P.H.S. Picciani, C.J. Dalmaschio, F. Davis, F.M. Shimizu // *Applied Surface Science Advances*. – 2021. – Vol. 6. – P. 100163.
23. Kuznetsova O.V. Toward a deeper and simpler understanding of serum protein-mediated transformations of magnetic nanoparticles by ICP-MS / O.V. Kuznetsova, M. Jarosz, B.K. Keppler, A.R. Timerbaev. // *Talanta*. – 2021. – Vol. 229. – P. 122287–122292.
24. Martinez-Boubeta C. Magnetic nanoparticles for water purification / C. Martinez-Boubeta, K. Simeonidis // *Nanoscale Materials in Water Purification*. – 2019. – Vol. 20. – P. 521–552.
25. Zhang Y. Ultrafast adsorption of heavy metal ions onto functionalized lignin-based hybrid magnetic nanoparticles / Y. Zhang, S. Ni, X. Wang, W. Zhang, L.

Lagerquist, M. Qin, S. Willför, C. Xu, P.Fatehi // *Chemical Engineering Journal*. – 2019. – Vol. 372. – P. 82–91.

26. Hosu O. Implication of magnetic nanoparticles in cancer detection, screening and treatment / O. Hosu, M. Tertis, C. Cristea // *Magnetochemistry*. – 2019. – Vol. 5. – P. 55–84.

27. Tong S. Magnetic iron oxide nanoparticles for disease detection and therapy / S. Tong, H. Zhu, G. Bao // 2019. – Vol. 31. – P. 86–99.

28. Alphanđéry E. Iron oxide nanoparticles for therapeutic applications / E. Alphanđéry // *Drug Discovery Today*. – 2020. – Vol. 25. – P. 141–149.

29. Wang Q. Artificially engineered cubic iron oxide nanoparticle as a high-performance magnetic particle imaging tracer for stem cell tracking / Q. Wang, X. Ma, H. Liao, Z. Liang, F. Li, J. Tian, D. Ling // *ACS Nano*. – 2020. – Vol. 14. – № 2. – P. 2053–2062.

30. Wu K. Magnetic particle spectroscopy: a short review of applications using magnetic nanoparticles / K. Wu, D. Su, R. Saha, J. Liu, V.K. Chugh, J.-P. Wang // *ACS Applied Nano Materials*. – 2020. – Vol. 3. – P. 4972–4989.

31. Li Z. Biological scaffolds assembled with magnetic nanoparticles for bone tissue engineering: A review / Z. Li, L. Xue, P. Wang, X. Ren, Y. Zhang, C. Wang, J. Sun // *Materials*. – 2023. – Vol. 16. – № 4. – P. 1429–1452.

32. Shabatina T.I. Magnetic nanoparticles for biomedical purposes: modern trends and prospects / T.I. Shabatina, O.I. Vernaya, V.P. Shabatin, M.Y. Melnikov // *Magnetochemistry*. – 2020. – Vol. 6. – № 3. – P. 30–48.

33. Gloag L. Advances in the application of magnetic nanoparticles for sensing / L. Gloag, M. Mehdipour, D.Chen, R.D. Tilley, J.J. Gooding // *Advanced Materials*. – 2019. – Vol. 31. – № 48. – P. 1904385–1904411.

34. Bobo D. Nanoparticle-based medicines: a review of FDA-approved materials and clinical trials to date / D. Bobo, K.J. Robinson, J. Islam, K.J. Thurecht, S.R. Corrie // *Pharmaceutical Research*. – 2016 – Vol. 33 – P. 2373–2387.

35. Silva S.M. Gold coated magnetic nanoparticles: preparation, surface modification for analytical and biomedical applications / S.M. Silva, R. Tavallaie, L.

Sandiford, R.D. Tilleya, J.J. Gooding // *Chemical Communications*. – 2016. – Vol. 52. – № 48. – P. 7528–7540.

36. Lentijo-Mozo S. Air- and Water-Resistant Noble Metal Coated Ferromagnetic Cobalt Nanorods / S. Lentijo-Mozo, R.P. Tan, C. Garcia-Marcelot, T. Altantzis, P.-F. Fazzini, T. Hungria, B. Cormary, J.R. Gallagher, J.T. Miller, H. Martinez, S. Schrittwieser, J. Schotter, M. Respaud, S. Bals, G.V. Tendeloo, C. Gatel, K. Soulantica // *ACS Nano*. – 2015. – Vol. 9. – P. 2892–2905.

37. Gooding J.J. The molecular level modification of surfaces: from self-assembled monolayers to complex molecular assemblies / J.J. Gooding, S. Ciampi // *Chemical Society Reviews*. – 2011. – Vol. 40. – P. 2704–2718.

38. Xu Z. Magnetic Core/Shell Fe₃O₄/Au and Fe₃O₄/Au/Ag Nanoparticles with Tunable Plasmonic Properties / Z. Xu, Y. Hou, S. Sun // *Journal of the American Chemical Society*. – 2007. – Vol. 129. – № 28. – P. 8698–8699.

39. Han B. Application of silver-coated magnetic microspheres to a sers-based optofluidic sensor / B. Han, N. Choi, K.H. Kim, D.W. Lim, J. Choo // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2011. – Vol. 115. – P. 6290–6296.

40. Chin S.F. Facile and green approach to fabricate gold and silver coated superparamagnetic nanoparticles / S.F. Chin, K.S. Iyer, C.L. Raston // *Crystal Growth & Design*. – 2009. – Vol. 9. – № 6. – P. 2685–2689.

41. Song D. Reusable nanosilver-coated magnetic particles for ultrasensitive SERS-based detection of malachite green in water samples / D. Song, R. Yang, C. Wang, R. Xiao, F. Long // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – P. 22870–22878.

42. Prabu D. One-step fabrication of amino-functionalized fe₃o₄@sio₂ core-shell magnetic nanoparticles as a potential novel platform for removal of cadmium (II) from aqueous solution / D. Prabu, P.S. Kumar, S. Indraganti, S. Sathish, J.A. Kumar, K.V. Anand // *Sustainability*. – 2022. – Vol. 14. – № 4. – P. 2290.

43. Lei Y. The preparation of core-shell Fe₃O₄@SiO₂ magnetic nanoparticles with different surface carboxyl densities and their application in the removal of methylene blue / Y. Lei, X. Zhang, X. Meng, Z. Wang // *Inorganic Chemistry Communications*. – 2022. – Vol. 139. – P. 109381.

44. Lin C.-R. Amino-functionalized $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ core-shell magnetic nanoparticles for dye adsorption / C.-R. Lin, O.S. Ivanova, D.A. Petrov, A.E. Sokolov, Y.-Z. Chen, M.A. Gerasimova, S.M. Zharkov, Y.-T. Tseng, N.P. Shestakov, I.S. Edelman // *Nanomaterials*. – 2021. – Vol. 11. – № 9. – P. 2371–2385.
45. Bagheri H. Preparation and characterization of magnetic nanocomposite of Schiff base/silica/magnetite as a preconcentration phase for the trace determination of heavy metal ions in water, food and biological samples using atomic absorption spectrometry / H. Bagheri, A. Afkhami, M. Saber-Tehrani, H. Khoshshafar // *Talanta*. – 2012. – Vol. 97. – P. 87–95.
46. Wierucka M. Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples / M. Wierucka, M. Biziuk // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2014. – Vol. 59. – P. 50–58.
47. Zhou K. Application of magnetic nanoparticles in petroleum industry: A review / K. Zhou, X. Zhou, J. Liu, Z. Huang // *Journal of Petroleum Science and Engineering*. – 2020. – Vol. 188. – P. 106943–106960.
48. Ajinkya N. Magnetic iron oxide nanoparticle (IONP) synthesis to applications: present and future / N. Ajinkya, X. Yu, P. Kaithal, H. Luo, P. Somani, S. Ramakrishna // *Materials*. – 2020. – Vol. 13. – P. 4644–4679.
49. Hanoglu S.B. Magnetic nanoparticle-based electrochemical sensing platform using ferrocene-labelled peptide nucleic acid for the early diagnosis of colorectal cancer / S.B. Hanoglu, E. Man, D. Harmanci, S.T. Ruzgar, S. Sanli, N.A. Keles, A. Ayden, B.G. Tuna, O. Duzgun, O.F. Ozkan, S. Dogan, F. Ghorbanizamani, H. Moulahoum, E.G. Celik, S. Evran, S. Timur // *Biosensors*. – 2022. – Vol. 12. – P. 736–753.
50. Villalonga M.L. Disposable electrochemical biosensors for *Brettanomyces bruxellensis* and total yeast content in wine based on core-shell magnetic nanoparticles / M.L. Villalonga, B. Borisova, C.B. Arenas, A. Villalonga, M. Arevalo-Villena, A. Sanchez, J.M. Pingarr'on, A. Briones-P'erez, R. Villalonga // *Sensors and Actuators, B: Chemical*. – 2019. – Vol. 279. – P. 15–21.

51. Mollarasouli F. Magnetic nanoparticles in developing electrochemical sensors for pharmaceutical and biomedical applications / F. Mollarasouli, E. Zor, G. Ozcelikay, S.A. Ozkan // *Talanta*. – 2021. – Vol. 226. – P. 122108–122131.

52. Ruiz de Eguilaz M. Electrochemical detection of viruses and antibodies: A mini review / M. Ruiz de Eguilaz, L.R. Cumba, R.J. Forster // *Electrochemistry Communications*. – 2020. – Vol. 116. – P. 106762–106768.

53. Kuwahata A. Magnetometer with nitrogen-vacancy center in a bulk diamond for detecting magnetic nanoparticles in biomedical applications / A. Kuwahata, T. Kitaizumi, K. Saichi, T. Sato, R. Igarashi, T. Ohshima, Y. Masuyama, T. Iwasaki, M. Hatano, F. Jelezko, M. Kusakabe, T. Yatsui, M. Sekino // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – P. 2483–2492.

54. Moyano A. Magnetic lateral flow immunoassays / A. Moyano, E. Serrano-Pertierra, M. Salvador, J.C. Martínez-García, M. Rivas, M.C. Blanco-López // *Diagnostics*. – 2020. – Vol. 10. – № 5. – P. 288.

55. Hou F. Magnetic fluid infiltrated microbottle resonator sensor with axial confined mode / F. Hou, X. Zhang, Z. Wang, L. Yang, W. Sun, Y. Yang, Y. Dong, Y. Huang, T. Wang // *IEEE Photonics Journal*. – 2020. – Vol. 12. – № 5. – P. 1–9.

56. Young S.-J. Multi-walled carbon nanotubes decorated with silver nanoparticles for acetone gas sensing at room temperature / S.-J. Young, Y.-H. Liu, Z.-D. Lin, K. Ahmed, MD N. I. Shiblee, S. Romanuik, P. K. Sekhar, T. Thundat, L. Nagahara, S. Arya, R. Ahmed, H. Furukawa, A. Khosla // *Journal of the Electrochemical Society*. – 2020. – Vol. 167 – P. 167519–167527.

57. Seekaew Y. Room temperature toluene gas sensor based on TiO₂ nanoparticles decorated 3D graphene-carbon nanotube nanostructures / Y. Seekaew, A. Wisitsoraat, D. Phokharatkul, C. Wongchoosuk // *Sensors and Actuators, B: Chemical*. – 2019. – Vol. 279. – P. 69–78.

58. Wang D. Sensitivity enhancement of cloth-based closed bipolar electrochemiluminescence glucose sensor via electrode decoration with chitosan/multi-walled carbon nanotubes/graphene quantum dots-gold nanoparticles / D. Wang, Y.

Liang, Y. Su, Q. Shang, C. Zhang // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2019. – Vol. 130. – P. 55–64.

59. Wang R. Gold nanoparticles-oxidized multi-walled carbon nanotubes as electrochemiluminescence immunosensors / R. Wang, Y. Huang, Y. Chi // *Analyst*. – 2022. – Vol. 147. – P. 3096–3100.

60. Madhusudhana. Bismuth-nanoparticles decorated multi-wall-carbon-nanotubes cast-coated on carbon paste electrode; an electrochemical sensor for sensitive determination of Gallic Acid at neutral pH / Madhusudhana, G. Manasa, A. K. Bhakta, Z. Mekhalif, R. J. Mascarenhas // *Materials Science for Energy Technologies*. – 2020. – Vol. 3. – P. 174–182.

61. Erady V. Carbon paste modified with Bi decorated multi-walled carbon nanotubes and CTAB as a sensitive voltammetric sensor for the detection of Caffeic acid / V. Erady, R. J. Mascarenhas, A. K. Satpati, A. K. Bhakta, Z. Mekhalif, J. Delhalle, A. Dhason // *Microchemical Journal*. – 2019. – Vol. 146. – P. 73–82.

62. Wardani N.I. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer cryogel and multiwalled carbon nanotubes for direct insulin detection / N.I. Wardani, T. Kangkamano, R. Wannapob, P. Kanatharana, P. Thavarungkul, W. Limbut // *Talanta*. 2023. – Vol. 254. – P. 124137.

63. Wu Y. Rapid recognition and determination of tryptophan by carbon nanotubes and molecularly imprinted polymer-modified glassy carbon electrode / Y. Wu, P. Deng, Y. Tian, Z. Ding, G. Li, J. Liu, Z. Zuberi, Q. He // *Bioelectrochemistry*. – 2020. – Vol. 131. – P. 107393–107415.

64. Amatatongchai M. Novel three-Dimensional molecularly imprinted polymer-coated carbon nanotubes (3D-CNTs@MIP) for selective detection of profenofos in food / M. Amatatongchai, W. Sroysee, P. Sodkrathok, N. Kesangam, S. Chairam, P. Jarujamrus // *Analytica Chimica Acta*. – 2019. – Vol. 1076. – P. 64–72.

65. Liu Z. Molecularly imprinted polymer decorated 3D-framework of functionalized multi-walled carbon nanotubes for ultrasensitive electrochemical sensing of Norfloxacin in pharmaceutical formulations and rat plasma / Z. Liu, M. Jin, H. Lu, J.

Yao, Xi. Wang, G. Zhou, L. Shui // *Sensors and Actuators, B.* – 2019. – Vol. 288. – P. 363–372.

66. Wang M. Preparation of an Electrochemical Sensor Based on Multi-Walled Carbon Nanotubes/Molecularly Imprinted Polymers for the Detection of Capsaicin in Gutter Oil by Differential Pulse Voltammetry / M. Wang, B. Gao, Y. Xing, X. Xiong // *International Journal of Electrochemical Science.* – 2020. – Vol. 15. – 8437–8449.

67. Korneva G. Carbon nanotubes loaded with magnetic particles / G. Korneva, H. Ye, Y. Gogotsi // *Nano Letters.* – 2005. – Vol. 5. – P. 879–884.

68. Xiang R. Encapsulation, compensation, and substitution of catalyst particles during continuous growth of carbon nanotubes / R. Xiang, G. Luo, W. Qian // *Advanced Materials.* – 2007. – Vol. 19. – P. 2360–2363.

69. Lee J. Simple synthesis of mesoporous carbon with magnetic nanoparticles embedded in carbon rods / J. Lee, S. Jin, Y. Hwang // *Carbon.* – 2005. – Vol. 43. – P. 2536–2543.

70. Liu Q. Synthesis of different magnetic carbon nanostructures by the pyrolysis of ferrocene at different sublimation temperatures / Q. Liu, Z-G. Chen, B. Liu // *Carbon.* – 2008. – Vol. 46. – P. 1892–1902.

71. Flahaut E. CCVD synthesis and characterization of cobalt-encapsulated nanoparticles / E. Flahaut, F. Agnoli, J. Sloan // *Journal of Materials Chemistry.* – 2002. – Vol. 14. – P. 2553–2558.

72. Wang Z. Characterization and magnetic properties of carbon-coated cobalt nanocapsules synthesized by the chemical vapor-condensation process / Z. Wang, C. Choi, B. Kim // *Carbon.* – 2003. – Vol. 41. – P. 1751–1758.

73. Caiulo N. Carbon-Decorated Fe-Pt Nanoparticles / N. Caiulo, C. Yu, K. Yu // *Advanced Functional Materials.* – 2007. – Vol. 17. – P. 1392–1396.

74. Xuan S. A facile method to fabricate carbon- encapsulated Fe₃O₄ core/shell composites / S. Xuan, L. Hao, W. Jiang // *Nanotechnology.* – 2007. – Vol. 18. – P. 35–39.

75. Ma C. Preparation of carbon-encapsulated metal magnetic nanoparticles by an instant pyrolysis method / C. Ma, B. Luo, H. Song // *New Carbon Materials*. – 2010. – Vol. 25. – P. 199–204.

76. Paraskevas I. Syntheses of carbon encapsulated magnetic Fe-Ni nanoparticle via decompositions of methane and benzene / I. Paraskevas, V. Caps, S. Tsang // *Carbon*. – 2006. – Vol. 44. – P. 820–823.

77. Wang Z. Facile synthesis of porous Fe₇Co₃/carbon nanocomposites and their applications as magnetically separable adsorber and catalyst support / Z. Wang, R. Liu, F. Zhao // *Langmuir journal*. – 2010. – Vol. 26. – P. 10135–10140.

78. Aberoumandi S. An update on clinical applications of nanoparticles in brain and retinal disease (CNS): a review / S. Aberoumandi, R. Khalilov, S. Davaran // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2017. – Vol. 2. – P. 125–142.

79. Luo N. Synthesis and characteristic of carbonencapsulated ferronickel nanoparticles by detonation decomposition of doping with nitrate explosive precursors / N. Luo, X. Li, Y. Sun // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2010. – Vol. 505. – P. 352–356.

80. Luo N. Synthesis and characterization of carbon- encapsulated iron/iron carbide nanoparticles by a detonation method / N. Luo, X. Li, X. Wang // *Carbon*. – 2010. – Vol. 48. – P. 3858–3863.

81. Gao C. Magnetic carbon nanotubes: synthesis by electrostatic selfassembly approach and application in biomanipulations / C. Gao, W. Li, H. Morimoto // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2006. – Vol. 110. – P. 7213–7220.

82. Sun X. Investigations on magnetic properties and structure for carbon encapsulated nanoparticles of Fe, Co, Ni / X. Sun, A. Gutierrez, M.J. Yacaman and others // *Materials Science and Engineering*. – 2000. – Vol. 286. – P. 157–160.

83. Qiu J. Preparation of carbon-coated magnetic iron nanoparticles from composite rods made from coal and iron powders / J. Qiu, Y. Li, Y. Wang // *Fuel Processing Technology*. – 2004. – Vol. 86. – P. 267–274.

84. Zhu Y. Multifunctional carbon nanofibers with conductive, magnetic and superhydrophobic properties / Y. Zhu, J. Zhang, J. Zhai // *Journal of Chemical Physics*. – 2006. – Vol. 7. – P. 336–341.

85. Chen I. Fabrication and characterization of magnetic cobalt ferrite/polyacrylonitrile and cobalt ferrite/ carbon nanofibers by electrospinning / I. Chen, C. Wang, C. Chen // *Carbon*. – 2010. – Vol. 48. – P. 604–611

86. Pol V. Sonochemical deposition of air-stable iron nanoparticles on monodispersed carbon spherules / V. Pol, M. Motiei, A. Gedanken // *Chemistry of Materials*. – 2003. – Vol. 15. – P. 1378–1384.

87. Hasanzadeh A. Development of doxorubicin – adsorbed magnetic nanoparticles modified with biocompatible copolymers for targeted drug delivery in lung cancer / A. Hasanzadeh, R. Khalilov, E. Abasi // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2017. – Vol. 2. – P. 5–21.

88. Wang L. Facile synthesis and electromagnetic wave absorption properties of magnetic carbon fiber coated with Fe–Co alloy by electroplating / L. Wang, F. He, Y. Wan // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2011. – Vol. 509. – P. 4726–4730.

89. Park K. Synthesis and characterization of magnetically active carbon nanofiber/iron oxide composites with hierarchical pore structures / K. Park // *Nanotechnology*. – 2008. – Vol. 19. – P. 455612–455618.

90. Park J. Synthesis of carbon-encapsulated magnetic nanoparticles by pulsed laser irradiation of solution / J. Park, S. Jeong, M. Jeong // *Carbon*. – 2008. – Vol. 46. – P. 1369–1377.

91. Zhao J. Ultrasound-assisted deep eutectic solvent as green and efficient media combined with functionalized magnetic multi-walled carbon nanotubes as solidphase extraction to determine pesticide residues in food products / J. Zhao, Z. Meng, Z. Zhao, L. Zhao // *Food chemistry*. – 2019. – Vol. 310. – P. 125863–125888.

92. Li W. Recent advances and applications of carbon nanotubes based composites in magnetic solid-phase extraction / W. Li, Y. Shi // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2019. – Vol. 118. – P. 652–665.

93. Gao L. Preparation of magnetic carbon nanotubes for separation of pyrethroids from tea samples / L. Gao, L. Chen // *Microchim Acta*. – 2013. – Vol. 180. – P. 423–430.

94. Zhao Y. Multi-mycotoxins analysis in liquid milk by UHPLC-Q-Exactive HRMS after magnetic solid-phase extraction based on PEGylated multi-walled carbon nanotubes / Y. Zhao, Y.-C. Yuan, X.-L. Bai, Y.-M. Liu, G.-F. Wu, F.-S. Yang, X. Liao // *Food Chemistry*. – 2020. – Vol. 305. – P. 125429–125437.

95. Campos do Lago A. Magnetic restricted-access carbon nanotubes for dispersive solid phase extraction of organophosphates pesticides from bovine milk samples / A. Campos do Lago, M.H.S. Cavalcanti, M. A. Rosa, A. T. Silveira, C. R. T. Tarley, E. C. Figueiredo // *Analytica Chimica Acta*. – 2020. – Vol. 102. – P. 11–23.

96. Madrakian T. Removal of some cationic dyes from aqueous solutions using magnetic-modified multi-walled carbon nanotubes / T. Madrakian, A. Afkhami, M. Ahmadi, H. Bagheri // *Journal of Hazardous Materials*. – 2011. – Vol. 196. – P. 109–114.

97. Ariffin M.M. Surfactant functionalisation of magnetic nanoparticles: A greener method for parabens determination in water samples by using magnetic solid phase extraction / M. M. Ariffin, A. H. M. Azmi, N. M. Saleh, S. Mohamad, S. K. M. Rozi // *Microchemical Journal*. – 2019. – Vol. 147. – P. 930–940.

98. Bystrzejewski M. Carbon-encapsulated magnetic nanoparticles as separable and mobile sorbents of heavy metal ions from aqueous solutions / M. Bystrzejewski, K. Pyrzyn' ska, A. Huczko, H. Lange // *Carbon*. – 2009. – Vol. 47. – P. 1189–1206.

99. Jin J. Magnetic Fe nanoparticle functionalized water-soluble multiwalled carbon nanotubules towards the preparation of sorbent for aromatic compounds removal / J. Jin, R. Li, H. Wang // *Chemical Communications*. – 2007. – Vol. 14. – № 4. – P. 386–388.

100. Jalal N.R. Polyethylenimine@Fe₃O₄@carbon nanotubes nanocomposite as a modifier in glassy carbon electrode for sensitive determination of ciprofloxacin in biological samples / N.R. Jalal, T. Madrakian, A. Afkhami, M. Ghamsari // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2019. – Vol. 833. – P. 281-289.

101. Chokkareddy R. An amino functionalized magnetite nanoparticle and ionic liquid based electrochemical sensor for the detection of acetaminophen / R. Chokkareddy, N. Thondavada, N. K. Bhajanthri, G. G. Redhi // *Analytical Methods*. – 2019. – Vol. 11. – P. 6204–6213.
102. Nejad F.G. Magnetic nanomaterials based electrochemical (bio)sensors for food analysis / F.G. Nejad, S. Tajik, H. Beitollahi, I. Sheikhshoae // *Talanta*. – 2021. – Vol. 228. – P. 122075–122098.
103. Agnihotri A.S. Transition metal oxides in electrochemical and bio sensing: A state-of-art review / A.S. Agnihotri, A. Varghese, M. Nidhin // *Applied Surface Science Advances*. – 2021. – Vol. 4. – P. 100072–100083.
104. Ермолаева Т.Н. Пьезокварцевые иммуносенсоры. Аналитические возможности и перспективы / Т.Н. Ермолаева, Е.Н. Калмыкова // *Успехи химии*. – 2006. – Т. 75, № 5. – С. 446–459.
105. Ермолаева Т.Н. Пьезокварцевые биосенсоры для анализа объектов окружающей среды, пищевых продуктов и для клинической диагностики / Т.Н. Ермолаева, Е.Н. Калмыкова, О.Ю. Шашканова // *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева)*. – 2008. – Т.52. – № 2. – С. 17–29.
106. Vaughan R.D. Piezoelectric sensor. Piezoelectric immunosensor / R.D. Vaughan, G.G. Guilbault // *Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors*. – 2007. – Vol. 5. – P. 237.
107. Skládal P. Piezoelectric Quartz Crystal Sensors Applied for Bioanalytical Assays and Characterization of Affinity Interactions / P. Skládal // *Journal of the Brazilian Chemical Society*. – 2003. – Vol. 14. – №. 4. – 491–502.
108. Tripathi A. Immobilization strategies / A. Tripathi, J.S. Melo // *Biomedical, bioengineering and environmental applications*. – 2021. – P. 666.
109. Karaseva N.A., Ermolaeva T.N. Piezoelectric immunosensors for the detection of individual antibiotics and the total content of penicillin antibiotics in foodstuffs / N.A. Karaseva, T.N. Ermolaeva // *Talanta*. – 2014. – Vol. 120. – P. 312.

110. Pohanka M. Overview of piezoelectric biosensors, immunosensors and DNA sensors and their applications / M. Pohanka // *Materials*. – 2018. – Vol. 11 – № 3. – P. 448.

111. Шукшина Е.И. Аффинные взаимодействия на поверхности пьезоэлектрического сенсора, модифицированного углеродными нанотрубками, при определении фторхинолонов / Е.И. Шукшина, О.В. Фарафонова, И.А. Шанин, С.С. Гражулене, С.А. Еремин, Т.Н. Ермолаева // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2018. – Т. 18. – № 3. – С. 394.

112. Фарафонова О.В. Поверхностные ансамбли на основе углеродных нанотрубок в пьезоэлектрическом иммуносенсоре для высокочувствительного определения рактопамина / О.В. Фарафонова, Е.И. Шукшина, С.С. Гражулене, Т.Н. Ермолаева // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2017. – Т. 17, № 4. – С. 548–556.

113. Шинко Е.И. Применение углеродных нанотрубок для повышения чувствительности определения антибиотиков с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора / Е.И. Шинко, О.В. Фарафонова, Т.Н. Ермолаева // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. – 2021. – Т. 87. – №12. – С. 11–16.

114. Poma A. Solid-Phase Synthesis of Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles with a Reusable Template – «Plastic Antibodies» / A. Poma, A. Guerreiro, M.J. Whitcombe, E.V. Piletska, A.P.F. Turner, S.A. Piletsky // *Advanced Functional Materials*. – 2013. – Vol. 23. – P. 2821.

115. Kupai J. Long-term stability and reusability of molecularly imprinted polymers / J. Kupai, M. Razali, S. Buyuktiryaki, R. Kecili, G. Szekely // *Polymer chemistry*. – 2017. – Vol. 8. – P. 666.

116. Sharma P.S. Bioinspired intelligent molecularly imprinted polymers for chemosensing: A mini review / P.S. Sharma, Z. Iskierko, A. Pietrzyk-Le, F. D'Souza, W. Kutner // *Electrochemistry Communications*. – 2015. – Vol. 50. – P. 81.

117. Wu A.-H. Synthesis of bilirubin imprinted polymer thin film for the continuous detection of bilirubin in an MIP/QCM/FIA system / A.-H. Wu, M.-J. Syu // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2006. – Vol. 21. – № 12. – P. 2345–2353.

118. Liu K. Application of a novel electrosynthesized polydopamine-imprinted film to the capacitive sensing of nicotine / K. Liu, W.Z. Wei, J.X. Zeng, X.Y. Liu, Y.P. Gao // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2006. – Vol. 385. – № 21. – P. 724–729.

119. Ling T.-R. Size-selective recognition of catecholamines by molecular imprinting on silica–alumina gel / T.-R. Ling, Y. Z. Syu, Y.-C. Tasi, T.-C. Chou, C.-C. Liu // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2005. – Vol. 21. – № 6. – P. 901–907.

120. Uludag Y. Piezoelectric sensors based on molecular imprinted polymers for detection of low molecular mass analytes / Y. Uludag, S.A. Piletsky, A.P.F. Turner, M.A. Cooper // *The Journal*. – 2007. – Vol. 247. – № 21. – P. 5471–5480.

121. Ermolaeva T.N. A Piezoelectric Sensor Based on Nanoparticles of Ractopamine Molecularly Imprinted Polymers / T. N. Ermolaeva, O. V. Farafonova, V. N. Chernyshova, A. N. Zyablov, N. V. Tarasova // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2020. – Vol. 75. – № 10. – P. 1270–1277.

122. Ермолаева Т.Н. Синтез и применение тонких пленок полимеров с молекулярными отпечатками сальбутамола в пьезоэлектрических сенсорах / Т.Н. Ермолаева, О.В. Фарафонова, О.И. Бессонов // *Журнал аналитической химии*. – 2019. – Vol. 74. – № 9. – P. 5–12.

123. Ермолаева Т.Н. Электрохимический синтез и сорбционные характеристики полимеров с молекулярными отпечатками кленбутерола и рактопамина / Т.Н. Ермолаева, О.В. Фарафонова, Е.В. Носикова // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2020. – Vol. 20. – № 2. – P. 223–230.

124. Karaseva N. Piezoelectric sensors using molecularly imprinted nanospheres for the detection of antibiotics / N. Karaseva, T. Ermolaeva, B. Mizaikoff // *Sensors and Actuators, B*. – 2016. – Vol. 225. – P. 199–208

125. Hua Y. Progress and challenges in sensing of mycotoxins using molecularly imprinted polymers / Y. Hua, Y. Ahmadi, C. Sonne, K.-H. Kim // *Environmental Pollution*. – 2022. – Vol. 305. – № 8. – P. 119218.

126. Karaseva N.A. Synthesis and application of molecularly imprinted polymers for trypsin piezoelectric sensors / N.A. Karaseva, B. Pluhar, E.A. Beliaeva, T.N. Ermolaeva, B. Mizaikoff // *Sensors and Actuators, B.* – 2019. – Vol. 280. – P. 272–279.

127. Wen T. Molecularly imprinted polymers-based piezoelectric coupling sensor for the rapid and nondestructive detection of infested citrus / T. Wen, Q. Nie, L. Han, Z. Gong, D. Li, Q. Ma, Z. Wang, W. He, L. Wen, H. Peng // *Food Chemistry.* – 2022. – Vol. 387. – P. 132905.

128. Ghatak B. Selective and sensitive detection of limonene in mango using molecularly imprinted polymer based quartz crystal microbalance sensor / B. Ghatak, S. B. Ali, H. Naskar, B. Tudu, P. Pramanik, S. Mukherji, R. Bandyopadhyay // *2019 IEEE International Symposium on Olfaction and Electronic Nose (ISOEN).* – 2019. – P. 1–3.

129. Dinc M. Recent advances on core-shell magnetic molecularly imprinted polymers for biomacromolecules / M. Dinc, C. Esen, B. Mizaikoff // *Trends in Analytical Chemistry.* – 2019. – Vol. 114. – P. 202–217.

130. Chen H. Quantum dots-enhanced chemiluminescence: Mechanism and application / H. Chen, L. Lin, H. Li, J.-M. Lin // *Coordination Chemistry Reviews.* – 2014. – Vol. 263–264. P. 89–100.

131. Wagner A.M. Quantum dots in biomedical applications / A.M. Wagner, J.M. Knipe, G. Orive, N.A. Peppas // *Acta Biomaterialia.* – 2019. – Vol. 94. – P. 44–63.

132. Shu J. Current Advances in Quantum-Dots-Based Photoelectrochemical Immunoassays / J. Shu, D. Tang // *Chemistry: An Asian Journal.* – 2017. – Vol. 12. – № 21. – P. 2780 – 2789.

133. Wu P. Ratiometric fluorescent, electrochemiluminescent, and photoelectrochemical chemo/biosensing based on semiconductor quantum dots / P. Wu, X. Hou, J.-J. Xu, H.-Y. Chen // *Nanoscale.* – 2016. – Vol. 8. – № 16. – P. 8427–8442.

134. Lin Y. Signal-On photoelectrochemical immunoassay for aflatoxin B1 based on enzymatic product-etching MnO_2 nanosheets for dissociation of carbon dots / Y. Lin, Q. Zhou, D. Tang, R. Niessner, D. Knopp // *Analytical Chemistry.* – 2017. – Vol. 89. – № 10. – P. 5637–5645.

135. Hao T. An eco-friendly molecularly imprinted fluorescence composite material based on carbon dots for fluorescent detection of 4-nitrophenol / T. Hao, X. Wei, Y. Nie, Y. Xu, Y. Yan, Z. Zhou // *Microchim Acta*. – 2016. – Vol. 183. – № 7. – P. 2197–2203.

136. Lin L. Metal ions doped carbon quantum dots: Synthesis, physicochemical properties, and their applications / L. Lin, Y. Luo, P. Tsai, J. Wang, X. Chen // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2018. – Vol. 103. – P. 87–101.

137. Tian J. A core-shell-structured molecularly imprinted polymer on upconverting nanoparticles for selective and sensitive fluorescence sensing of sulfamethazine / J. Tian, J. Bai, Y. Peng, Z. Qie, Y. Zhao, B. Ning, D. Xiao, Z. Gao // *Analyst*. – 2015. – Vol. 140. – № 15. – P. 5301–5307.

138. Guo T. Upconversion fluorescence metal-organic frameworks thermosensitive imprinted polymer for enrichment and sensing protein / T. Guo, Q. Deng, G. Fang, D. Gu, Y. Yang, S. Wang // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2016. – Vol. 79. – P. 341–346.

139. Johny J. Formation of Co–Au Core–Shell Nanoparticles with Thin Gold Shells and Soft Magnetic ϵ -Cobalt Cores Ruled by Thermodynamics and Kinetics / T. Guo, Q. Deng, G. Fang, D. Gu, Y. Yang, S. Wang // *Journal of Physical Chemistry*. – 2021. – Vol. 125. – № 17. – P. 9534–9549.

140. Park J.H. Electrochemical synthesis of core-shell nanoparticles by seed-mediated selective deposition / J.H. Park, S.-M. Jin, E. Lee, H.S. Ahn // *Chemical Science*. – 2021. – Vol. 12. – P. 13557–13563.

141. Chen D. High-dispersed catalysts of core-shell structured Au@SiO₂ for formaldehyde catalytic oxidation / D. Chen, J. Shi, H. Shen // *Journal Pre-proofs*. – 2020. – Vol. 385. – P. 123887–123939.

142. Cibaka-Ndaya C. Pd nanoparticles/Au@SiO₂ core-shell nanostructures for hydrogen sensing / C. Cibaka-Ndaya, N. Javahiraly, L. Roiban, T. Epicier, N. Boubiche, S. Valette, A. Saury, A. Brioude // *ACS Applied Nano Materials*. – 2023. – Vol. 6. – № 2. – P. 899–907.

143. Chen C. Hierarchical trimetallic Co-Ni-Fe oxides derived from core-shell structured metal-organic frameworks for highly efficient oxygen evolution reaction / C. Chen, Y. Tuo, Q. Lu, H. Lu, S. Zhang, Y. Zhou, J. Zhang, Z. Liu, Z. Kang, X. Feng, D. Chen // *Applied Catalysis B: Environmental*. – 2021. – Vol. 287. – P. 119953–119963.

144. Patil S.J. Co-metal–organic framework derived CoSe₂@MoSe₂ core–shell structure on carbon cloth as an efficient bifunctional catalyst for overall water splitting / S.J. Patil, N.R. Chodankar, S.-K. Hwang, P.A. Shinde, G.S.R. Raju, K.S. Ranjith, Y.S. Huh, Y.-K. Han // *Chemical Engineering Journal*. – 2022. – Vol. 429. – P. 132379–132388.

145. Jiang X. Magnetic metal-organic framework (Fe₃O₄@ZIF-8) core-shell composite for the efficient removal of Pb(II) and Cu(II) from water / X. Jiang, S. Su, J. Rao, S. Li, T. Lei, H. Bai, S. Wang, X. Yang // *Journal of Environmental Chemical Engineering*. – 2021. – Vol. 9. – № 5. – P. 105959–105971.

146. Calahorra-Rio L. Magnetic core-shell nanoparticles using molecularly imprinted polymers for zearalenone determination / L. Calahorra-Rio, M. Guadaño-Sánchez, T. Moya-Cavas, J.L. Urraca // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – № 23. – P. 8166.

147. Nerantzaki M. Biotinylated magnetic molecularly imprinted polymer nanoparticles for cancer cell targeting and controlled drug delivery / M. Nerantzaki, A. Michel, L. Petit, M. Garnier, C. Ménager, N. Griffete // *Chemical Communications*. – 2022. – Vol. 58. – P. 5642–5645.

148. Banan K. Nano-sized magnetic core-shell and bulk molecularly imprinted polymers for selective extraction of amiodarone from human plasma / K. Banan, F. Ghorbani-Bidkorbeh, H. Afsharara, D. Hatamabadi, B. Landi, R. Keçili, B. Sellergren // *Analytica Chimica Acta*. – 2022. – Vol. 1198. – P. 339548.

149. Dinali L.A.F. Mesoporous molecularly imprinted polymer core@shell hybrid silica nanoparticles as adsorbent in microextraction by packed sorbent for multiresidue determination of pesticides in apple juice / L.A.F. Dinali, H. Leijoto de Oliveira, L.S. Teixeira, W.d.S. Borges, K.B. Borges // *Food Chemistry*. – 2021. – Vol. 345. – P. 128745.

150. Soliman S.S. Point-of-care electrochemical sensor for selective determination of date rape drug «ketamine» based on core-shell molecularly imprinted polymer / S.S. Soliman, A.M. Mahmoud, M.R. Elghobashy, H.E. Zaazaa, G.A. Sedik // *Talanta*. – 2023. – Vol. 254. – P. 124151.

151. Wei X. A Core-Shell Spherical Silica Molecularly Imprinted Polymer for Efficient Selective Recognition and Adsorption of Dichlorophen / X. Wei, M. Yu, J. Guo // *Fibers and Polymers*. – 2019. – Vol. 20. – № 3. – P. 459–465.

152. Ruiz-Cordova G.A. Surface molecularly imprinted core-shell nanoparticles and reflectance spectroscopy for direct determination of tartrazine in soft drinks / G.A. Ruiz-Cordova, J.E.L. Villa, S. Khan, G. Picasso, M.D. Pilar Taboada Sotomayor // *Analytica Chimica Acta*. – 2021. – Vol. 1159. – P. 338443–338451.

153. Farooq S. Synthesis of core-shell magnetic molecularly imprinted polymer for the selective determination of imidacloprid in apple samples / S. Farooq, J. Nie, Y. Cheng, Z. Yan, S.A.S. Bacha, J. Zhang, R.A. Nahiyoon, Q. Hussain // *Journal of Separation Science*. – 2019. – Vol. 42. – P. 2455–2465.

154. Ji K. Preparation of hollow magnetic molecularly imprinted polymer and its application in silybin recognition and controlled release / K. Ji, X. Luo, L. He, S. Liao, L. Hu, J. Han, C. Chen, Y. Liu, N. Tan // *Journal Pre-proof*. – 2020. – Vol. 180. – P. 113036–113062.

155. Pupin R.R. Synthesis and evaluation of hollow porous molecularly imprinted polymer for selective determination of tetracycline / R.R. Pupin, M.D.P.T. Sotomayor // *Journal of Materials Science*. – 2022. – Vol. 157. – P. 17291–17303.

156. Chen M.-J. A hollow visible-light-responsive surface molecularly imprinted polymer for the detection of chlorpyrifos in vegetables and fruits / M.-J. Chen, H.-L. Yang, Y.-M. Si, Q. Tang, C.-F. Chow, C.-B. Gong // *Food Chemistry*. – 2021. – Vol. 355. – P. 129656.

157. Niu M. Core-shell nanoparticles coated with molecularly imprinted polymers: a review / M. Niu, C. Pham-Huy, H. He // *Microchimica Acta*. – 2016. – Vol. 183. – P. 2677–2695

158. Nagarale R.K. Progress in ionic organic-inorganic composite membranes for fuel cell applications / R.K. Nagarale, W. Shin, P.K. Singh // *Polymer chemistry*. – 2010. – Vol. 1. – P. 388–408.

159. Bhogal S. Core-Shell Structured Molecularly Imprinted Materials for Sensing Applications / Bhogal, K. Kaur, A. K. Malik, C. Sonne, S.S. Lee, K.-H. Kim // *Journal Pre-proof*. – 2020. – Vol. 133. – P. 116043–116136.

160. Wang Y.-Z. Epitope imprinted polymer nanoparticles containing fluorescent quantum dots for specific recognition of human serum albumin / Y.-Z. Wang, D.-Y. Li, X.-W. He, W.-Y. Li, Y.-K. Zhang // *Microchimica Acta*. – 2015. – Vol. 182. – № 7–8. – P. 1465–1472.

161. Li D.-Y. Thermo-sensitive imprinted polymer embedded carbon dots using epitope approach / D.-Y. Li, X.-M. Zhang, Y.-J. Yan, X.-W. He, W.-Y. Li, Y.-K. Zhang // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2016. – Vol. 79. – P. 187–192.

162. Yang Q. Strategies of molecular imprinting-based fluorescence sensors for chemical and biological analysis / Q. Yang, J. Li, X. Wang, H Peng, H. Xiong, L. Chen // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2018. – Vol. 112. – P. 54–71.

163. Jalili R. Bio-inspired molecularly imprinted polymer-green emitting carbon dot composite for selective and sensitive detection of 3-nitrotyrosine as a biomarker / R. Jalili, M. Amjadi // *Sensors and Actuators, B*. – 2018. – Vol. 255. – P. 1072–1078.

164. Zhang D. Rapid detection of tryptamine by optosensor with molecularly imprinted polymers based on carbon dots-embedded covalent-organic frameworks / D. Zhang, Y. Wang, W. Geng, H. Liu // *Sensors and Actuators, B*. – 2019. – Vol. 285. – P. 546–552.

165. Xu L. Carbon dots embedded metal-organic framework@molecularly imprinted nanoparticles for highly sensitive and selective detection of quercetin / L. Xu, M. Pan, G. Fang, S. Wang // *Sensors and Actuators, B*. – 2019. – Vol. 286. – P. 321–327.

166. Yang J. Development of fluorescence sensing material based on CdSe/Zns quantum dots and molecularly imprinted polymer for the detection of carbaryl in rice

and chinese cabbage / J. Yang, Z. Z. Lin, H. P. Zhong, X. M. Chen, Z. Y. Huang // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2015. – Vol. 63. – № 20. – P. 4966–4972.

167. Yang J. Determination of leucomalachite green in fish using a novel MIP-coated QDs probe based on synchronous fluorescence quenching effect / J. Yang, Z. Z. Lin, H. P. Zhong, X. M. Chen, Z. Y. Huang // *Sensors and Actuators, B*. – 2017. – Vol. 252. – P. 561–567.

168. Dan L. Mn-doped ZnS quantum dot imbedded two-fragment imprinting silica for enhanced room temperature phosphorescence probing of domoic acid / L. Dan, H. F. Wang // *Analytical chemistry*. – 2013. – Vol. 85. – № 10. – P. 4844–4848.

169. F. Lu Flow injection chemiluminescence sensor based on core-shell magnetic molecularly imprinted nanoparticles for determination of chrysoidine in food samples / F. Lu, M. Sun, L. Fan, H. Qiu, X. Li, C. Luo // *Sensors and Actuators, B*. – 2012. – Vol. 173. – P. 591–598.

170. Lu F. Flow injection chemiluminescence sensor using core-shell molecularly imprinted polymers as recognition element for determination of dapsone / F. Lu, J. Yang, M. Sun, L. Fan, H. Qiu, X. Li, C. Luo // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2012. – Vol. 404. – № 1. – P. 79–88.

171. Özkan A. Enhanced surface plasmon resonance (SPR) signals based on immobilization of core-shell nanoparticles incorporated boron nitride nanosheets: Development of molecularly imprinted SPR nanosensor for anticancer drug, etoposide / A. Özkan, N. Atar, M.L. Yola // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2019. – Vol. 130. – P. 293–298.

172. Chen B. Molecularly imprinted sol-gel/Au@Ag core-shell nano-urchin localized surface plasmon resonance sensor designed in reflection mode for detection of organic acid vapors / B. Chen, H. Guo, C. Liu, L. Shang, X. Ye, L. Chen, C. Feng, K. Hayashi // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2020. – Vol. 169. – P. 112639–112646.

173. Li C. Novel electrochemical-surface plasmon resonance (EC-SPR) sensor for amphetamine-type stimulants detection based on molecularly imprinted strategy / C. Li, D. Han, Z. Liang, F. Han, W. Fu, W. Wang, D. Han, Y. Wang, L. Niu // *Sensors and Actuators, B*. – 2022. – Vol. 369. – P. 132258.

174. Esen C. Surface Plasmon Resonance Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymers / C. Esen, S.A. Piletsky // *Plasmonic Sensors and their Applications*. – Chap. 13. – P. 221–236.

175. Ma J. An overview on molecular imprinted polymers combined with surface-enhanced Raman spectroscopy chemical sensors toward analytical applications / J. Ma, M. Yan, G. Feng, Y. Ying, G. Chen, Y. Shao, Y. She, M. Wang, J. Sun, L. Zheng, J. Wang, A.M.A. El-Aty // *Talanta*. – 2021. – Vol. 225. – P. 122031–122045.

176. Guo H. Preparation of SiO₂@Ag@molecular imprinted polymers hybrid for sensitive and selective detection of amoxicillin using surface-enhanced Raman scattering / H. Guo, X. Ren, X. Song, X. Li // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2023. – Vol. 291. – P. 122365.

177. Ahmad O.S. Molecularly imprinted polymers in electrochemical and optical sensors / O.S. Ahmad, T.S. Bedwell, C. Esen, A. Garcia-Cruz, S.A. Piletsky // *Trends in biotechnology*. – 2019. – Vol. 37. – № 3. – P. 294–309.

178. Metwally M.G. Application of molecularly imprinted polymers in the analysis of waters and wastewaters / M.G. Metwally, A.H. Benhawry, R.M. Khalifa, R.M. El Nashar, M. Trojanowicz // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – № 21. – P. 6515.

179. Pathak P.K. Functionalized nitrogen doped graphene quantum dots and bimetallic Au/Ag core-shell decorated imprinted polymer for electrochemical sensing of anticancerous hydroxyurea / P.K. Pathak, A. Kumar, B.B. Prasad // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2019. – Vol. 127. – P. 10–18.

180. Shu J. Recent advances in photoelectrochemical sensing: from engineered photoactive materials to sensing devices and detection modes / J. Shu, D. Tang // *Analytical Chemistry*. – 2020. – Vol. 92. – P. 363–377.

181. Zhou Q. Recent advances in photoelectrochemical biosensors for analysis of mycotoxins in food / Q. Zhou, D. Tang // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2020. – Vol. 124. – P. 115814–115826.

182. Шашканова О.Ю. Усиление аналитического сигнала пьезокварцевого иммуносенсора с помощью наночастиц золота: дис. канд. хим. наук: 02.00.02 / Шашканова Ольга Юрьевна; ВГУ. – Воронеж, 2010. – С. 145.

183. Фарафонова О.В. Пьезокварцевый иммуносенсор на основе наночастиц золота для прямого и экспрессного определения стафилококкового энтерогена А / О.В. Фарафонова, Х.С. Шихалиев, Т.Н. Ермолаева // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6. – С.721.

184. Ly T.N. Detection of HIV-1 antigen by quartz crystal microbalance using gold nanoparticles / T.N. Ly, S. Park, S.J. Park // Sensors and Actuators, B. – 2016. – Vol. 237. – P. 452–458.

185. Kwak J. Highly sensitive piezoelectric immunosensors employing signal amplification with gold nanoparticles / J. Kwak, S.S. Lee // Nanotechnology. – 2019. – Vol. 30. – P. 445502–445508.

186. Yuan M. Piezoelectric arsenite aptasensor based on the use of a self-assembled mercaptoethylamine monolayer and gold nanoparticles / M. Yuan, Q. Zhang, Z. Song, T. Ye, J. Yu, H. Cao, F. Xu // Microchimica Acta. – 2019. – Vol. 186. – № 5. – P. 1–8.

187. Dong Z.-M. Quartz crystal microbalance aptasensor for sensitive detection of Mercury(II) based on signal amplification with gold nanoparticles / Z.-M. Dong, G.-C. Zhao // Sensors. – 2012. – Vol. 12. – № 6. – P. 7080–7094.

188. Yuan M. Aptasensor for Lead(II) based on the use of a quartz crystal microbalance modified with gold nanoparticles / M. Yuan, Z. Song, J. Fei, X. Wang, F. Xu, H. Cao, J. Yu // Microchimica Acta. – 2017. – Vol. 184. – 5. – P. 1397–1007.

189. Liu X. Rapid high-throughput detection of diethylstilbestrol by using the arrayed langasite crystal microbalance combined with gold nanoparticles through competitive immunoassay / X. Liu, Y. Hu, X. Sheng, Y. Peng, J. Bai, Q. Lv, H. Jia, H. Jiang, Z. Gao // Sensors and Actuators, B. – 2017. – Vol. 247. – P. 245–253.

190. Дергунова Е.С. Новые методы определения биологически активных соединений, основанные на иммунохимических реакциях на поверхности пьезокварцевых сенсоров: дис. канд. хим. наук: 02.00.02 / Дергунова Елена Сергеевна; ВГУ. – Воронеж, 2007. – С. 117.

191. Дергунова Е.С. Проточно-инжекционное определение бисфенола А в объектах окружающей среды с помощью пьезокварцевого иммуносенсора

[Текст]/ Е.С. Дергунова, Т.Н. Ермолаева// Инженерные науки – защите окружающей среды. Всерос. студ. науч-техн. школы-конф. сб. трудов. – Тула. 2006. – С. 136–140.

192. Slimani Y. Magnetic nanosensors and their potential applications / Y. Slimani, E. Hannachi // *Nanosensors for Smart Cities. Micro and Nano Technologies. Chapter 9 – Magnetic nanosensors and their potential applications.* – 2020. – P. 143–155.

193. Li D. A nanobeads amplified QCM immunosensor for the detection of avian influenza virus H5N1 / D. Li, J. Wang, R. Wang, Y. Li, D. Abi-Ghanem, L. Berghman, B. Hargis, H. Lu // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2011. – Vol. 26. – P. 4146–4154.

194. Wan Y. Determination of sulphate-reducing bacteria based on vancomycin-functionalised magnetic nanoparticles using a modification-free quartz crystal microbalance / Y. Wan, D. Zhanga, B. Hou // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2010. – Vol. 25. – P. 1847–1850.

195. Zhou J. Ultratrace detection of C-reactive protein by a piezoelectric immunosensor based on Fe₃O₄@SiO₂ magnetic capture nanoprobe and HRP-antibody co-immobilized nano gold as signal tags / J. Zhou, N. Gan, T. Li, H. Zhou, X. Li, Y. Cao, L. Wang, W. Sang, F. Hu // *Sensors and Actuators, B.* – 2013. – Vol. 178. – P. 494–500.

196. Shen Z.-Q. QCM immunosensor detection of Escherichia coli O157:H7 based on beacon immunomagnetic nanoparticles and catalytic growth of colloidal gold / Z.-Q. Shen, J.-F. Wang, Z.-G. Qiu, M. Jin, X.-W. Wang, Z.-L. Chen, J.-W. Li, F.-H. Cao // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2011. – Vol. 26. – № 7. – P. 3376–3381.

197. Li J. Piezoelectric immunosensor based on magnetic nanoparticles with simple immobilization procedures / J. Li, X. He, Z. Wu, K. Wang, G. Shen, R. Yu // *Analytica Chimica Acta.* – 2003. – Vol. 481. – № 2. – P. 191–198.

198. Zhang Y. A reusable piezoelectric immunosensor using antibody-adsorbed magnetic nanocomposite / Y. Zhang, H. Wang, B. Yan, Y. Zhang, J. Li, G. Shen, R. Yu // *Journal of Immunological Methods.* – 2008. – Vol. 332. – P. 103–111.

199. Wang L. Biomolecule-functionalized magnetic nanoparticles for flow-through quartz crystal microbalance immunoassay of aflatoxin B1 / L. Wang, X.-X. Gan // *Bioprocess and Biosystems Engineering*. – 2009. – Vol. 32 – № 1. – P. 109–116.

200. Zhao C. A piezoelectric magnetic molecularly imprinted surface sensor for the detection of Sudan I / C. Zhao, G. Jia, W. Lu, Q. Gong // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2017. – Vol. 710. – P. 711–716.

201. Gan N. A novel signal-amplified immunoassay for myoglobin using magnetic coreshell Fe₃O₄@Au- multi walled carbon nanotubes composites as labels based on one piezoelectric sensor / N. Gan, L. Wang, T. Li, W. Sang, F. Hu, Y. Cao // *Integrated Ferroelectrics*. – 2013. – Vol. 144. – P. 29–40.

202. Шанин И.А. Разработка непрямого твердофазного иммуноферментного анализа для детектирования левовращающего стереоизомера офлоксацина (левофлоксацина) в молоке / И.А. Шанин, Т.Д.Т. Нгуен, С.А. Еремин // *Вестник Московского университета*. – 2014. – Т. 55. – № 3. – С. 180.

203. Гражулене С.С. Магнитный сорбент на основе магнетита и модифицированных углеродных нанотрубок для извлечения некоторых токсичных элементов / С.С. Гражулене, Н.И. Золотарева, А.Н. Редькин, Н.Н. Шилкина, А.А. Митина, А.М. Колесникова // *Журнал прикладной химии*. – 2018. – Т. 91. – № 11. – С. 1642.

204. Yu F. Magnetic carbon nanotubes synthesis by Fenton's reagent method and their potential application for removal of azo dye from aqueous solution / F. Yu, J. Chen, L. Chen, J. Huai, W. Gong, Z. Yuan, J. Wang, J. Ma // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2012. – Vol. – 378. – P. 175.

205. Liu Y.N. Preparation and application of solid phase extraction of di(2-ethylhexyl)phthalate surfaces imprinted polymers / Y.N. Liu, Z. Zhang, M. Zhang // *Chinese journal of applied chemistry*. – 2013. – Vol. 30. – № 3. – P. 316.

206. Liu S.M. Direct synthesis of monodisperse hollow molecularly imprinted polymers based on unfunctionalized SiO₂ for the recognition of bisphenol A / S.M. Liu, M.X. Wei, X. Fu, X.B. Zhang // *Chinese journal of chemical physics*. – 2018. – Vol. 31. – № 2. – P. 229.

207. Prasad B. Molecularly imprinted polymer-based core-shell (solid vs hollow) @ pencil graphite electrode for electrochemical sensing of certain anti-HIV drugs / B. Prasad, K. Singh / *Sensors and Actuators, B.* – 2017. – Vol. 224. – P. 167–174.

208. Гендриксон О.Д., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Молекулярно импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе // *Успехи биологической химии.* – 2006. – Т. 46. – С. 149.

209. Yu D. Dummy molecularly imprinted mesoporous silica prepared by hybrid imprinting method for solid-phase extraction of bisphenol A / D. Yu, X. Hu, S. Wei, Q. Wang, C. He, S. Liu // *Journal of Chromatography A.* – 2015. – Vol. 1396. – P. 17.

210. Sauerbrey G. Verwendung von schwingquarzen zur wigung diinner schichten und zur mikrowigung / G. Sauerbrey / *Zeitschrift fiir Physik.* – 1959. – Vol. 55. – P. 206.

211. Нартова Ю.В. Массочувствительные иммуносенсоры для определения хлорацетанилидных гербицидов / Ю.В. Нартова, С.А. Еремин, Т.Н. Ермолаева // *Журнал аналитической химии.* – 2008. – Т. 63. – № 12. – С. 1302.

212. Dabek L. Chemical regeneration of spent activated carbon by using Fenton reaction / L. Dabek, E. Ozimina, A. Picheta-Oles // *Przemysl Chemiczny.* – 2011. – Vol. 90. – № 10. – P. 1909–1916.

213. Liao Q. Physicochemical and Engineering Aspects / Q. Liao, J. Sun, L. Gao // *Colloids and Surfaces.* – 2009. – Vol. 345. – P. 95–100.

214. Stafiej A. Adsorption of heavy metal ions with carbon nanotubes / A. Stafiej, K. Pyrzynska // *Separation and Purification Technology.* – 2007. – Vol. 58 – P. 49–52.

215. Xu Y.J. Characterization and use of functionalized carbon nanotubes for the adsorption of heavy metal anions / Y.J. Xu, R. Arrigo, X. Liu, D.S. Su // *New Carbon Materials.* – 2011. – Vol. 26. – P. 57–62.

216. Xu D. Removal of Pb(II) from aqueous solution by oxidized multiwalled carbon nanotubes / D. Xu, X.L. Tan, C.L. Chen, X.K. Wang // *Journal of Hazardous Materials.* – 2008. – Vol. 154. – P. 407–416.

217. Kang Y.S. Synthesis and characterization of nanometer-size Fe_3O_4 and $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ / Y.S. Kang, S. Risbud, J.F. Rabolt, P. Stroeve // *Chemistry of Materials*. – 1996. – Vol. 8 – P. 2209–2211.
218. Qiu C.X. Solid-phase synthesis of nanophase $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ particle / C.X. Qiu, J.S. Jiang, Z.J. Zhao, X.L. Yang // *International Journal of Inorganic Materials*. – 2001. – Vol. 16. – P. 957–964.
219. Verges A. Uniform and water stable magnetite nanoparticles with diameters around the monodomain–multidomain limit / A. Verges, R. Costo, G. Roca, J. Marco, G. Goya, C. Serna, M. Morales // *Journal of Physics D: Applied Physics*. – 2008. – Vol. 41. – P. 134003-134013.
220. Бизина Е.В. Новые подходы к формированию распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора / Е.В. Бизина, Т.Н. Ермолаева // *Достижения молодых ученых: химические науки: тезисы докладов V Всероссийской (заочной) молодежной конференции*. – г. Уфа. – 2020. – С. 177–179.
221. Бизина Е.В. Изучение условий формирования распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на базе магнитных углеродных нанокомпозитов / Е.В. Бизина, О.В. Фарафонова, Т.Н. Ермолаева // «Органические и гибридные наноматериалы» VIII Всероссийская школа-конференция молодых ученых. – Иваново. – 2021. – С. 96–100.
222. Farafonova O.V. The application of magnetic nanocomposites in piezoelectric sensors for determining pollutants in the environment and food / O.V. Farafonova, E.V. Bizina, T.N. Ermolaeva // XII International Conference on Chemistry for Young Scientists «Mendeleev 2021». – Saint Petersburg. – 2021. – P. 60.
223. Таблицы физических величин / Под ред. И.К. Кикоина. М.: Атомиздат. – 1976.
224. Wang J. Amino-functionalized $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ core–shell magnetic nanomaterial as a novel adsorbent for aqueous heavy metals removal / J. Wang, S. Zheng, Y. Shao, J. Liu, Z. Xu, D. Zhu // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2010. – Vol. 349. – P. 293.

225. Singh S. Surface engineered magnetic nanoparticles for removal of toxic metal ions and bacterial pathogens / S. Singh, K.C. Barick, D. Bahadur // *Journal of Hazardous materials*. – 2011. – Vol. 192. – P. 1539.

226. Eguílaz M. Designing electrochemical interfaces with functionalized magnetic nanoparticles and wrapped carbon nanotubes as platforms for the construction of high-performance bienzyme biosensors / M. Eguílaz, R. Villalonga, P. Yanez-Sedeno, J.M. Pingarron // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2011. – Vol. 83. – P. 7807.

227. Mikhaylova M. BSA immobilization on amine-functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles / M. Mikhaylova, D.K. Kim, C.C. Berry, A. Zagrodni, M. Toprak, A.S.G. Curtis, M. Muhammed // *Chemistry of Materials*. – 2004. – Vol. 16. – № 12. – P. 2344.

228. Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Ермолаева Т.Н. Изучение условий формирования распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на базе магнитных углеродных нанокompозитов // «Органические и гибридные наноматериалы» IX Всероссийская школа-конференция молодых ученых и «Водородные и металлургические энерготехнологии» Вторая молодежная школа для студентов, аспирантов и молодых ученых. – Иваново. – 2023. – С. 68–72.

229. Бизина Е.В., Ермолаева Т.Н. Пьезоэлектрический иммуносенсор на основе магнитных углеродных композитов для определения пенициллина // *Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2021», секция «Химия»*. – Москва. – 2021. – С. 13.

230. Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Ермолаева Т.Н. Применение магнитных углеродных нанокompозитов при формировании распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора для определения ципрофлоксацина и пенициллина G // *Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», секция «Химия»*. – Москва. – 2022. – С. 18.

231. Бизина Е.В. Применение магнитных углеродных нанокompозитов для определения ряда антибиотиков // *Тезисы докладов VII Всероссийского*

молодежного форума «Наука будущего - наука молодых». – Новосибирск. – 2022. – С. 302.

232. Полосина А.А., Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Ермолаева Т.Н. «Разработка способа определения аристолохиевой кислоты с помощью пьезоэлектрических сенсоров» / Тезисы докладов, представленных на IV Съезде аналитиков России. – Москва. – 2022. – С. 506.

233. Полосина А.А., Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Ермолаева Т.Н. «Разработка пьезоэлектрического иммуносенсора на основе магнитных углеродных нанокompозитов для определения аристолохиевой кислоты в растительном сырье» / Тезисы докладов XXXII Российской молодежной научной конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения профессора А.А. Тагер. – Екатеринбург. – 2022. – С. 133.

234. Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Ермолаева Т.Н. Пьезоэлектрические сенсоры для определения антибиотиков в объектах окружающей среды // Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях. Всероссийский симпозиум и школа-конференция молодых ученых. – Севастополь. – 2021. – С. 199–200.

235. Бизина Е.В. Определение аристолохиевой кислоты с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора на основе магнитных углеродных нанокompозитов / Е.В. Бизина, А.А. Полосина, О.В. Фарафонова, С.А. Еремин, Т.Н. Ермолаева // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2023. – Т. 89. – № 8. – С. 23–30.

236. Пат. 2783255 Российская Федерация. Покрытие пьезоэлектрического сенсора на основе магнитных углеродных нанокompозитов [Текст] / Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Ермолаева Т.Н.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «ЛГТУ» – 2022100313; заявл. 11.01.2022; опубл. 10.11.2022.

237. Бизина Е.В. Синтез и применение магнитных молекулярно импринтированных тетрациклином полимерных наночастиц в пьезоэлектрическом сенсоре / Е.В. Бизина, О.В. Фарафонова, Н.В. Тарасова, Т.Н.

Ермолаева // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2021. – Т. 21. – № 2. – С. 177.

238. Kong X. Synthesis and characterization of the core–shell magnetic molecularly imprinted polymers (Fe_3O_4 @MIPs) adsorbents for effective extraction and determination of sulfonamides in the poultry feed / X. Kong, R. Gao, X. He, L. Chen, Y. Zhang // *Journal of Chromatography A*. – 2012. – Vol. 1245. – P. 8–16.

239. Turiel E. Surface modified-magnetic nanoparticles by molecular imprinting for the dispersive solid-phase extraction of triazines from environmental waters / E. Turiel, M. Díaz-Álvarez, A. Martín-Esteban // *Separation Science*. – 2020. – Vol. 43. – № 16. – P. 3304–3314.

240. E.V. Bizina, O.V. Farafonova, T.N. Ermolaeva. Magnetic mip tetracycline nanoparticles – synthesis and application in piezoelectric sensors // International congress «Biotechnology: state of the art and perspectives». The proceedings of International congress «Biotechnology: state of the art and perspectives». – Moscow. – 2021. – P. 43–44.

241. Бизина Е.В. Пьезоэлектрический иммуносенсор на основе магнитных углеродных наноконкомпозитов для определения ципрофлоксацина / Е.В. Бизина, О.В. Фарафонова, Н.И. Золотарева, С.С. Гражулене, Т.Н. Ермолаева // *Журнал аналитической химии*. – 2022. – Т. 77. – № 4. – С. 375.

242. Бизина Е.В. Применение магнитных углеродных наноконкомпозитов при формировании распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора для определения пенициллина G / Е.В. Бизина, О.В. Фарафонова, Н.И. Золотарева, С.С. Гражулене, Т.Н. Ермолаева // *Журнал аналитической химии*. – 2023. – Т. 78. – № 4. – С. 1.

243. Ефросинина А.В., Бизина Е.В., Ермолаева Т.Н. «Синтез микрочастиц полимеров с молекулярными отпечатками азитромицина методом «ядро-оболочка» для применения в сенсорике» / Достижения молодых ученых: химические науки: тезисы докладов VII Всероссийской (заочной) молодежной конференции. – Уфа. – 2022. – С. 167–168.

244. Бизина Е.В., Ефросинина А.В., Ермолаева Т.Н. Пьезоэлектрический сенсор на основе многостенных углеродных нанотрубок, наночастиц магнетита и молекулярно импринтированных полимеров «ядро-оболочка» для определения макролидных антибиотиков // Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2023», секция «Химия». – Москва. – 2023. – С 11.

245. Ермолаева Т.Н., Фарафонова О.В., Бессонов О.И. Синтез и применение наночастиц полимеров с молекулярными отпечатками сальбутамола в распознающем слое пьезоэлектрического сенсора. / Т.Н. Ермолаева, О.В. Фарафонова, О.И. Бессонов // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2019. – Т. 19. – № 6. – С. 682.

246. Ермолаева Т.Н. Пьезоэлектрический сенсор на основе наночастиц полимеров с молекулярными отпечатками рактопамина / Т.Н. Ермолаева, О.В. Фарафонова, В.Н. Чернышова, А.Н. Зяблов, Н.В. Тарасова // Журнал аналитической химии. – 2020. – Т. 75. – № 10. – С. 898.

247. Ермолаева Т.Н. Микро- и наночастицы полимеров с молекулярными отпечатками – синтез, характеристика и применение в пьезоэлектрических сенсорах / Т.Н. Ермолаева, В.Н. Чернышова, О.И. Бессонов // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2015. – Т. 15. – № 3. – С. 345.

248. Фарафонова О.В. Синтез методом фотополимеризации и применение тонких пленок полимеров с молекулярными отпечатками для молекулярного распознавания цефалоспоринов / О.В. Фарафонова, А.Ю. Потанина, Н.В. Тарасова, Т.Н. Ермолаева // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2018. – Т. 18. – № 4. – С. 495–504.

249. Бизина Е.В. Нанокompозиты на основе многосенных углеродных нанотрубок, наночастиц магнетита и молекулярно импринтированных полимеров «ядро-оболочка» в пьезоэлектрических сенсорах для определения макролидных антибиотиков / Е.В. Бизина, О.В. Фарафонова, Н.И. Золотарева, С.С. Гражулене, Т.Н. Ермолаева // Журнал аналитической химии. – 2023. – Т. 78. – № 11. – С. 1032–1042.

250. Бизина Е.В., Ефросинина А.В., Ролдугина А.С., Фарафонова О.В., Ермолаева Т.Н. «Применение магнитных углеродных нанокompозитов при формировании распознающего слоя пьезоэлектрического аффинного сенсора для определения антибиотиков» / Тезисы докладов, представленных на IV Съезде аналитиков России. 26–30 сентября 2022 г. – г. Москва. М.: ОНТИ ГЕОХИ РАН. – 2022 г. – С. 127.

251. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13 февраля 2018 г. N 28 «О максимально допустимых уровнях остатков ветеринарных лекарственных средств (фармакологически активных веществ), которые могут содержаться в переработанной пищевой продукции животного происхождения, в том числе в сырье, и методиках их определения». <https://docs.cntd.ru/document/556522984> (20.06.2021 г.)