

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Воронеж – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Липецкий государственный технический университет»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Ермолаева Татьяна Николаевна

Официальные оппоненты: **Апяри Владимир Владимирович**, доктор химических наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», химический факультет, кафедра аналитической химии, научно-исследовательская лаборатория концентрирования, главный научный сотрудник

Доронин Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», институт химии, кафедра аналитической химии и химической экологии, профессор

Ведущая организация Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

Защита состоится «07» февраля 2024 года в 16 часов 00 мин. на заседании диссертационного совета 24.2.288.07 по химическим наукам при Воронежском государственном университете по адресу: 394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1, ауд. 439.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Воронежского государственного университета и на сайте <http://www.science.vsu.ru>.

Автореферат разослан «08» декабря 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Столповская Н.В.

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 наноконкомпозитов (МУНК), представляющих собой комбинацию магнитных наночастиц и углеродных нанотрубок. Присутствие в составе наноконкомпозита 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 наноконкомпозиты 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 наноконструкций, 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 аристорохииевой 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 аристорохииевой 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Состоит из двух разделов. В первом разделе систематизированы общие сведения о применении УНТ и МНЧ в химических сенсорах, представлен обзор наиболее известных методов синтеза МУНК, а также применение нанокомпозитов в аналитической химии. Во втором разделе кратко охарактеризованы пьезоэлектрические сенсоры, способы формирования распознающего слоя на поверхности металлического электрода, а также перспективы применения МУНК при разработке пьезоэлектрических сенсоров.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов исследования выбраны: ципрофлоксацин (**Цип**), пенициллин G (**Пен G**), макролидные антибиотики эритромицинового ряда (**МКЭ**) – эритромицин (**Эрт**) и азитромицин (**Азт**). 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 и аристолохиевой кислоте, полученные от профессора С.А. Еремина (МГУ им. М.В. Ломоносова); пенициллин G («Abcam», Великобритания).

Для синтеза МУНК использовали многостенные УНТ, отличающиеся внешним диаметром ($d_{\text{внешний}}$) и длиной (L), предоставленные Институтом проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов РАН (ИПТМ РАН) (г. Черноголовка) (УНТ₁: $d_{\text{внешний}} = 30$ 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 МНЧ 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), N -этил- N' -(3-диметиламинопропил)-карбодиимида гидрохлорид (**ЭДАК**) и N -гидроксисукцинимид (**Н-ГС**) («Sigma-Aldrich», США), ацетон и этанол («Química», Испания). Размер и форму наночастиц изучали методом сканирующей электронной микроскопии (**СЭМ**) на электронно-ионном микроскопе Scios 2 DualBeam Thermo Scientific («Thermo Fisher Scientific», США) и методом атомно-силовой микроскопии на сканирующем зондовом микроскопе SOLVER P47-PRO (ЗАО «Нанотехнология-МДТ», Россия).

В качестве сенсоров использовали пьезоэлектрические резонаторы АТ-среза диаметром 8 мм с собственной частотой колебаний 10 МГц, с золотыми электродами, расположенными по обе стороны кварца (ЗАО «ЭТНА», Россия). Регистрация аналитического сигнала проводилась на установке CPNA-330 (ЗАО «ЭТНА», Россия). Сенсор помещался в ячейку детектирования над неодимовым магнитом (рис. 1).



Рисунок 1 – Ячейка детектирования пьезоэлектрического сенсора на основе МУНК

Для перевода МУНК в дисперсное состояние использовали диметилформамид (**ДМФ**) («Sigma», Германия) и Тритон X-100 («Sigma-Aldrich», США).

Наноструктуры 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 мономера – этиленгликольдиметакрилата (**ЭГДМА**) («Aldrich Chemistry», США), инициатора полимеризации – азобисизобутиронитрила (**АИБН**) («Лабтех»,

Россия), порогенных растворителей – толуола и ацетонитрила («Acros Organics» Бельгия). Для гидрофобизации частиц применяли поливинилпирролидон (ПВП) («Aplichem GmbH», Германия).

Образование связей между конъюгатами анализируемых соединений и МУНК, характер функциональных групп на поверхности частиц SiO_2 , а также связей, образующихся при синтезе ПМО контролировали методом ИК-спектроскопии (ИК-Фурье спектрометр Irtiffinity-1 («Shimadzu», Япония)). Соотношение темплата, функционального и сшивающего мономеров было установлено спектрофотометрическим методом в УФ-области спектра («Флюорат - 02 – Панорама», Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Исследование условий формирования распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе МУНК

Для стабильной работы пьезоэлектрического иммуносенсора необходимо сформировать устойчивый распознающий слой, который позволит осуществлять многократные измерения аналитического сигнала после регенерации. Для упрощения процесса создания распознающего слоя, а также сокращения подготовки сенсора к анализу предложено использовать МУНК, так как присутствующие в составе нанокompозита УНТ способствуют увеличению площади активной поверхности распознающего слоя сенсора, а МНЧ позволяют проводить формирование рецепторного покрытия под действием внешних магнитных сил.

Синтез МУНК

На массу и устойчивость распознающего слоя пьезоэлектрического гравиметрического сенсора на основе МУНК существенное влияние оказывает размер магнитных частиц на поверхности УНТ. Для получения МУНК использовали два метода: формирование магнитных наночастиц Fe_2O_3 на поверхности УНТ₁ непосредственно во время их синтеза (метод Фентона) и синтез Fe_3O_4 в растворе с дальнейшим закреплением на поверхности УНТ₁ (метод соосаждения).

Методом сканирующей электронной микроскопии установлен размер МНЧ на поверхности УНТ. Показано, что применение метода Фентона, приводило к формированию на поверхности УНТ близко расположенных МНЧ кубической формы (рис. 2а) с широким распределением по размерам ($d = 298 \pm 117$ нм). Это объясняется применением при синтезе сильного окислителя H_2O_2 , а также избыточной концентрацией ионов $[\text{OH}^-]$ относительно ионов $[\text{Fe}^{2+}]$.

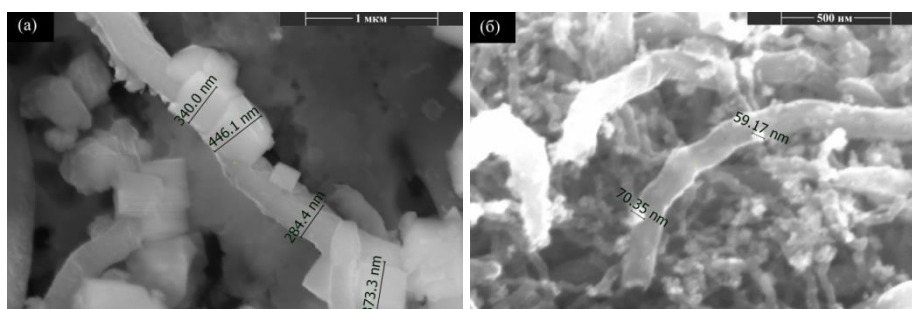


Рисунок 2 – СЭМ-изображения МУНК: синтезированных методом Фентона (а) и методом соосаждения (б)

Так как в результате синтеза МУНК методом соосаждения были получены сферические МНЧ ($d = 64 \pm 5$ нм), равномерно распределенные на поверхности УНТ (рис. 2б), изучили возможность формирования МНЧ меньшего среднего диаметра. Варьируя условия синтеза, установили, что наименьший средний диаметр МНЧ ($d = 22 \pm 2$ нм, $\Delta m = 1,6 \pm 0,1$ мкг) достигается при соотношении ионов $\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}:\text{OH}^-$ равном 2:1:37,5; pH и температуре реакционной среды 4 и 80°C соответственно и УЗ-обработке в течение 1 ч.

Образование ковалентной связи между УНТ и МНЧ, обеспечивающее более надежное закрепление, возможно при создании кремнеземной оболочки на поверхности наночастиц Fe_3O_4 (рис. 3). Показано, что обработка МНЧ АПТЕС приводит к увеличению среднего диаметра частиц, сопровождающемуся утяжелением массы распознающего слоя ($d = 93 \pm 12$ нм, $\Delta m = 2,5 \pm 0,1$ мкг).

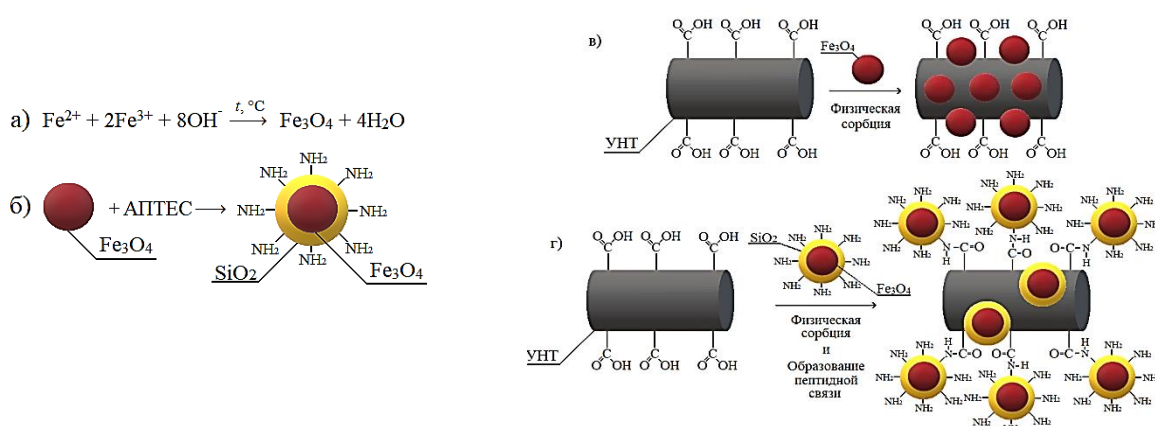


Рисунок 3 – Синтез (а) и силанизация МНЧ (б) и схема формирования МУНК на основе наночастиц Fe_3O_4 (в) и $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ (г)

Для исследования влияния соотношения компонентов, входящих в состав МУНК на характеристики формируемого покрытия, методом пьезокварцевого микровзвешивания оценена масса распознающего слоя на каждом этапе его формирования (табл. 1): масса МУНК ($\Delta m_{\text{МУНК}}$); масса нанокompозита с иммобилизованным белковым конъюгатом Пен G-БСА ($\Delta m_{\text{слоя}}$) и масса иммобилизованных биомолекул Пен G-БСА ($\Delta m_{\text{биомолекул}}$).

Таблица 1 – Влияние соотношения компонентов на массовые характеристики покрытия

Соотношение УНТ:МНЧ	$\Delta m_{\text{МУНК}}$, мкг	$\Delta m_{\text{слоя}}$, мкг	$\Delta m_{\text{биомолекул}}$, мкг	<i>N</i>
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

Для МУНК с соотношением УНТ:МНЧ равным 3:1 наблюдается максимальное количество доступных «сайтов» связывания, а также высокие магнитные свойства, обеспечивающие надежную фиксацию распознающего слоя на поверхности пьезоэлектрического сенсора под действием внешних магнитных сил.

Установлена зависимость массы рецепторного слоя от характеристик применяемых УНТ – длины, диаметра и структуры. Методом пьезокварцевого микровзвешивания оценивали массу слоя на основе МУНК и МУНК/АК-ОВА, закрепленного на поверхности пьезоэлектрического сенсора под действием внешнего магнитного поля (табл. 2).

Таблица 2 – Влияние характеристик УНТ (Новосибирск) 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 ± 0,05	2,01 ± 0,04	31
7,8	40	2,36 ± 0,18	2,58 ± 0,20	23
10	35	2,51 ± 0,14	2,66 ± 0,29	17

Покрытие на базе УНТ длиной 1 мкм имеет минимальную массу и показывает высокую устойчивость (число повторных циклов измерения $N = 31$). Использование в МУНК УНТ большей длины увеличивает массу распознающего слоя МУНК/АК-ОВА и приводит к снижению его устойчивости и стабильности, т.к. формируется тяжелая неоднородная подложка МУНК.

Создание распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе МУНК

Для получения воспроизводимых результатов при формировании слоя на основе МУНК на поверхности пьезоэлектрического сенсора, нанокompозиты переводили в дисперсное состояние, используя следующие способы: 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.

Методом пьезокварцевого микровзвешивания оценено влияние способа перевода нанокompозита в дисперсное состояние на массу слоя на поверхности сенсора (табл. 3). Рецепторный слой, полученный при применении суспензии на основе Тритон Х-100 (способ В) показал наибольшую стабильность, что связано с наличием в его структуре гидрофобных (4-третоктилфенол) групп, за счет которых ПАВ адсорбируются на поверхности УНТ, и гидрофильных фрагментов (из остатков оксида этилена), обеспечивающих хорошую смачиваемость наноматериала водой.

Таблица 3 – Зависимость массы слоя от способа перевода МУНК в дисперсное состояние

Способ перевода в дисперсное состояние	МУНК, синтезированные по методу Фентона		МУНК, синтезированные соосаждением солей Fe^{2+} и Fe^{3+}	
	Δm , мкг	s_f	Δm , мкг	s_f
А	6,8 ± 2,6	0,24	5,6 ± 2,6	0,29
Б	4,2 ± 1,1	0,17	2,7 ± 1,6	0,36
В	1,9 ± 0,1	0,01	0,7 ± 0,1	0,05

Перед иммобилизацией молекул белковых конъюгатов (Цип-БСА, Пен G-БСА, АК-БСА или АК-ОВА) предварительно активировали карбоксильные группы на поверхности

МУНК смесью, содержащей 2,5 мг ЭДАК и 5 мг N-ГС в 200 мкл 1%-ного водного раствора Тритон X-100. К 10 мкл дисперсии МУНК добавляли 10 мкл активационной смеси и оставляли на 20 мин при 25°C. В систему вводили раствора конъюгата определяемого соединения фиксированной концентрации и оставляли на 10–12 ч при температуре 4°C для получения устойчивого нанокомпозита МУНК/конъюгат (рис. 4).

Перед формированием слоя поверхность электрода сенсора последовательно очищали 1 М раствором соляной кислоты, ацетоном и этанолом. Наносили 2 мкл раствора МУНК/конъюгат, оставляли на 90 мин на воздухе при 25°C, после чего промывали сенсор 200 мкл дистиллированной воды для удаления не связавшихся компонентов и высушивали в потоке теплого воздуха.

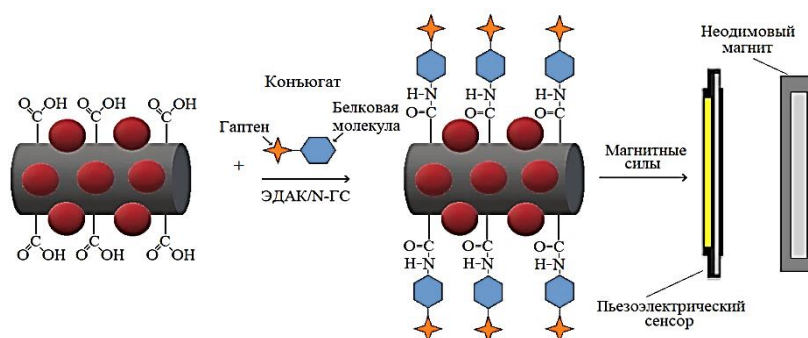


Рисунок 4 – Схема формирования рецепторного слоя

Установлены аналитические характеристики пьезоэлектрических иммуносенсоров с распознающим слоем на основе МУНК для определения антибиотиков и аристолохиевой кислоты (табл. 4).

Более широкий диапазон определяемых концентраций и более низкий предел обнаружения АК при применении конъюгата на основе АК-ОВА по сравнению с АК-БСА связаны с массой и объемом белковых молекул, входящих в состав конъюгатов аристолохиевой кислоты. Молекулы конъюгата АК-ОВА отличаются меньшим размером, что не затрудняет их связывание с антителами.

Таблица 4 – Аналитические характеристик пьезоэлектрических иммуносенсоров с распознающим слоем на основе МУНК для определения антибиотиков и аристолохиевой кислоты ($n = 3$; $P = 0,95$)

Конъюгат	Распознающий слой	C_{\min} , нг/мл	Диапазон определяемых содержаний, нг/мл	Уравнение градуировочного графика	R^2
Цип-БСА	МУНК	3,2	5–400	$\Delta f = [2234 \pm 316] - [3,5 \pm 1,5]C$	0,97
Пен G-БСА	МУНК	3,1	5–450	$\Delta f = [2740 \pm 100] - [3,8 \pm 0,4]C$	0,99
АК-ОВА	МУНК/АК-ОВА	5,9	50–400	$\Delta f = [1546 \pm 29] - [1,5 \pm 0,1]C$	0,99
АК-БСА	МУНК/АК-БСА	6,3	100–300	$\Delta f = [3270 \pm 708] - [7,9 \pm 3,3]C$	0,97

Формирование подложки на основе МУНК под действием внешних магнитных сил позволяет упростить процедуру иммобилизации биомолекул на поверхности электрода

пьезокварцевого сенсора. При этом время подготовки сенсора к анализу сокращается в 16 раз по сравнению с покрытием на основе УНТ (с 24 ч до 1,5 ч). Кроме того, удаление распознающего слоя не требует применения агрессивных растворителей, что позволяет продлить срок службы сенсора.

Разработка пьезоэлектрического сенсора с распознающим слоем на основе МУНК и ПМО «ядро-оболочка» макролидных антибиотиков

Наиболее часто в пьезоэлектрических сенсорах в качестве элементов распознавания применяют биомолекулы. Однако их неустойчивость при хранении, воздействии органических растворителей, а также сложность получения стимулирует поиски «синтетических» антител, в качестве которых выступают полимеры с молекулярными отпечатками, имеющие ряд несомненных достоинств по сравнению с природными рецепторами.

Синтез ПМО методом «ядро-оболочка»

Синтез ПМО включал создание ядер SiO_2 и формирование полимерной оболочки методом свободнорадикальной полимеризации (СРП) - SiO_2 @ПМО или золь-гель методом (ЗГМ) с применением силоксанов - SiO_2 @ SiO_2 (рис. 5). В роли шаблонов были выбраны макролидные антибиотики эритромицинового ряда (МКЭ): эритромицин и азитромицин.

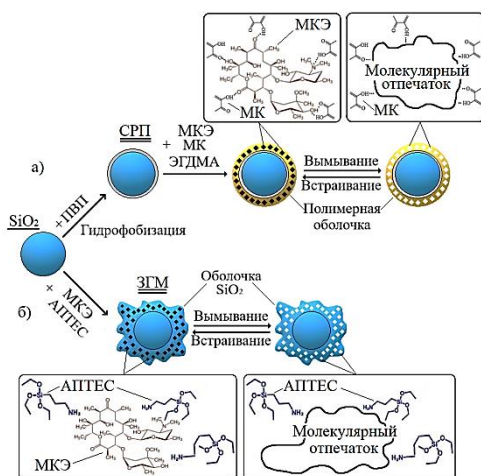


Рисунок 5 – Синтез наноструктур ПМО макролидов на примере эритромицина с применением СРП и ЗГМ

Ядра диоксида кремния по методу Штобера получали путем гидролиза и последующей конденсации кремнийорганических соединений. Методом атомной силовой микроскопии оценивали средний диаметр полученных ядер. Установлено, что частицы, с наименьшим диаметром (77 ± 3 нм), располагаются на поверхности МУНК компактно, формируя однородный слой с достаточно большой площадью поверхности.

Синтез ПМО методом СРП требует предварительной гидрофобизации ядер SiO_2 , поскольку применяемые функциональный и кросс-мономер имеют гидрофобную природу. Гидрофобизацию осуществляли путем воздействия раствора ПВП с целью повышения связи полимерного слоя с ядром, снижения агрегации частиц и повышения их стабильности.

Для синтеза полимерной оболочки на поверхности гидрофобизованных ядер SiO_2 0,06 г макролида растворяли в 18 мл порогенного растворителя – смеси ацетонитрила : толуола (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 SiO_2 и 0,8 ммоль ЭГДМА, обрабатывали ультразвуком, добавляли инициатор полимеризации АИБН (0,0985 г) и полученный раствор непрерывно перемешивали при температуре 50°C . Смесь выпаривали досуха, полученные частицы промывали $\text{SiO}_2@$ ПМО последовательно этанолом и дистиллированной водой до pH 7 и высушивали до постоянной массы.

Важным условием синтеза являлся выбор оптимального соотношения реагентов в полимеризационной смеси, обеспечивающих максимальное количество доступных поверхностных отпечатков. Соотношение темплат : функциональный мономер, а также темплат : функциональный мономер : кросс-мономер определяли с учетом максимумов на спектрах поглощения в УФ-области (180–380 нм), варьируя количество реагентов в полимеризационной смеси (рис. 6).

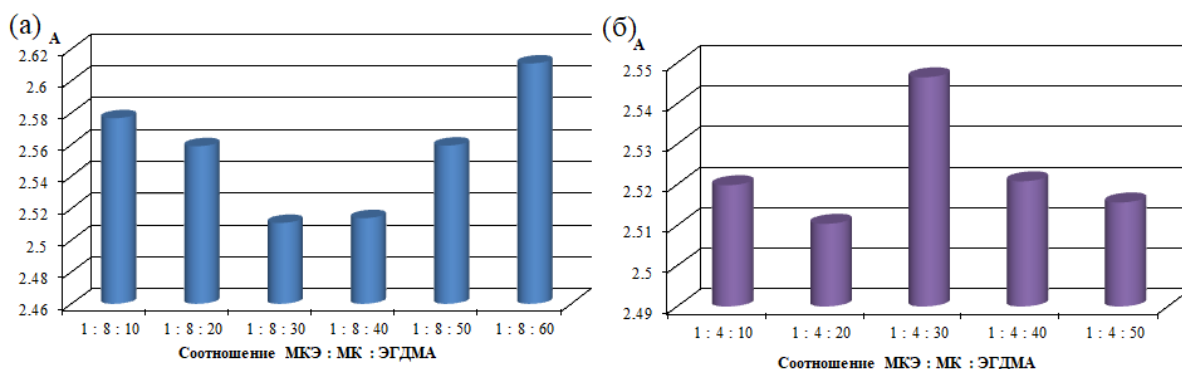


Рисунок 6 – Выбор соотношения реагентов при синтезе полимерной оболочки методом СРП для (а) эритромицина и (б) азитромицина

Ввиду возможной неспецифической сорбции темплата на поверхности ядра кремнезема, предварительно рассчитано соотношение темплат : SiO_2 для синтеза ПМО. Установлено, что максимальный сигнал на спектрах поглощения в УФ-области наблюдается при соотношении темплат : SiO_2 , равном 4 : 1. 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). Разные соотношения реагентов при синтезе ПМО отдельных макролидов объясняются различным строением молекул.

При синтезе ПМО золь-гель методом последовательно формируются сначала ядра, а далее оболочка диоксида кремния. 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 , добавляли 0,3 мл АПТЕС (функционального мономера), 10 мг эритромицина (темплата) и 0,5 мл ТЭОС (кросс-мономера), перемешивали еще 1 ч. Частицы отделяли центрифугированием и промывали этанолом для удаления молекул темплата. При взаимодействии ТЭОС с водой в присутствии гидроксида аммония образуется 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 конденсация приводят к сшиванию. Реакции гидролиза и

конденсации протекают последовательно в одном реакционном сосуде, что удобно и не требует гидрофобизации частиц SiO_2 .

Сопоставление ИК-спектров антибиотика, сорбированной молекулами макролида оболочки, а также неимпринтированного полимера (НИП) (рис. 7) доказывает образование водородных связей между функциональными мономерами и молекулами темплата как в случае СРП, так и ЗГМ.

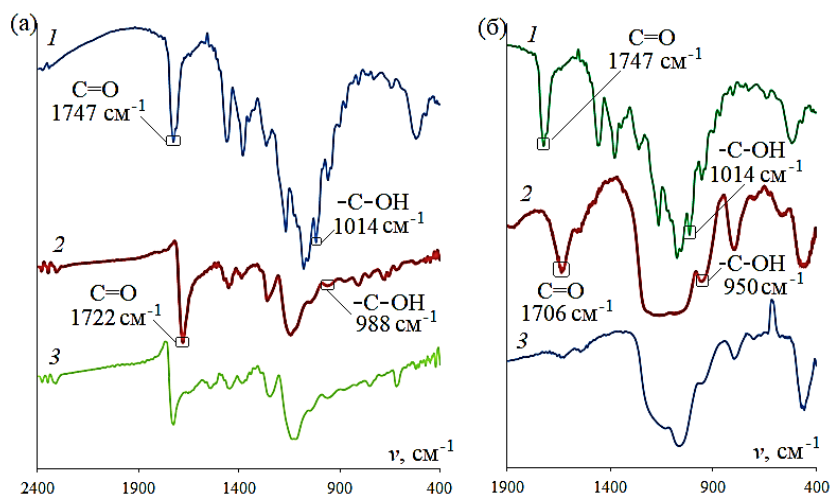


Рисунок 7 – ИК-спектры ПМО макролидов на примере эритромицина, полученных методами СРП (а) и ЗГМ (б): 1 – МКЭ, 2 – ПМО, 3 – НИП

Оптимизация условий определения макролидных антибиотиков с помощью пьезоэлектрических ПМО-сенсоров на основе МУНК

Иммобилизацию распознающих элементов ($\text{SiO}_2@$ ПМО и $\text{SiO}_2@$ SiO_2) на поверхности МУНК осуществляли за счет физической сорбции, для этого 1 мг активированных МУНК и 1 мг наноструктур ПМО вносили в 1 мл 1%-ого водного раствора Тритон Х-100 и обрабатывали ультразвуком в течение 1 ч, нагревая смесь до 90°C в течение 15 мин.

Формирование рецепторного слоя на основе композитных материалов ($\text{SiO}_2@$ ПМО/МУНК и $\text{SiO}_2@$ SiO_2 /МУНК) проводили путем дозирования 2 мкл дисперсии на электрод сенсора, помещенного над неодимовым магнитом в специально разработанной ячейке детектирования.

Для многократного использования распознающего слоя гравиметрического пьезоэлектрического сенсора на основе наноструктур ПМО важно проводить регенерацию, обеспечивающую удаление максимального количества молекул темплата из молекулярных отпечатков и сохраняющую устойчивую структуру полимера. Экспериментальные данные показали, что применение смеси ацетонитрил : этанол (3 : 1) и уксусная кислота : этанол (1 : 6) приводит к значительным разрушениям структуры полимера уже после первого цикла регенерации. В случае применения этанола возможно добиться удовлетворительных результатов десорбции и повторной сорбции молекул макролидов.

Методом пьезокварцевого микровзвешивания установлено, время полного извлечения молекул эритромицина этанолом из полимерной матрицы $\text{SiO}_2@$ ПМО, которое составило 4 мин, а максимальное встраивание антибиотиков в сформированные отпечатки – 3 мин (рис. 8), что свидетельствует о высокой доступности отпечатков в структуре ПМО для молекул темплата. Продолжительность полного извлечения темплата из структуры $\text{SiO}_2@$ SiO₂ составила 10 мин, тогда как, максимальное встраивание происходило за 6 мин, что связано с меньшей доступностью отпечатков для молекул темплата в полимерной оболочке, полученной ЗГМ.

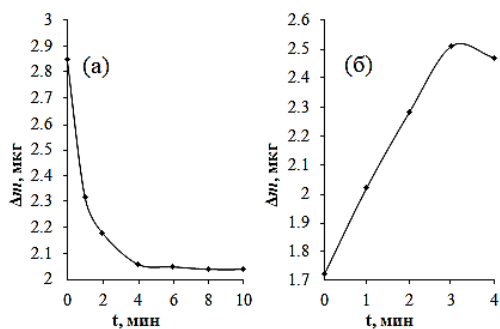


Рисунок 8 – Изменение массы полимерных структур на примере $\text{SiO}_2@$ ПМО в зависимости от продолжительности десорбции (а) и сорбции (б) из раствора эритромицина с концентрацией 40 мкг/мл

Метрологические характеристики пьезоэлектрических сенсоров на основе композитных наноматериалов представлены в таблице 5. При синтезе было отмечено, что масса антибиотиков, включенных в структуры $\text{SiO}_2@$ SiO₂ или $\text{SiO}_2@$ 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 структур постоянного количества доступных отпечатков и устойчивости разработанного сенсора.

Установлено, что сенсор на основе $\text{SiO}_2@$ ПМО/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 $\text{SiO}_2@$ SiO₂/МУНК наблюдается увеличение верхней границы определяемых содержаний (20–400 мкг/мл), что свидетельствует о большей концентрации поверхностных отпечатков в оболочке, полученной ЗГМ.

Селективность сенсора на основе молекулярно импринтированных частиц оценивали с помощью коэффициентов кросс-реактивности CR , % (табл. 6).

Установлено, что молекулярно импринтированные структуры, 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 суммарного определения антибиотиков эритромицинового ряда.

Таблица 5 – Характеристики сенсоров на основе $\text{SiO}_2@\text{ПМО/МУНК}$ и $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2/\text{МУНК}$ ($n = 3$; $P = 0,95$)

Параметр	Покрытие на основе $\text{SiO}_2@\text{ПМО/МУНК}$		Покрытие на основе $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2/\text{МУНК}$
	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	2	2	3

Таблица 6 – Оценка селективности определения МКЭ с помощью пьезоэлектрических сенсоров с распознающим слоем на основе композитных наноматериалов

Темплат	Покрытие	Аналит	CR, %
Эритромицин	$\text{SiO}_2@\text{ПМО/МУНК}$	Эритромицин	100
		Азитромицин	70
		Пенициллин G	12
		Тетрациклин	8
Азитромицин	$\text{SiO}_2@\text{ПМО/МУНК}$	Эритромицин	75
		Азитромицин	100
Эритромицин	$\text{SiO}_2@\text{SiO}_2/\text{МУНК}$	Эритромицин	100
		Азитромицин	84
		Пенициллин G	19
		Тетрациклин	15
Азитромицин	$\text{SiO}_2@\text{SiO}_2/\text{МУНК}$	Эритромицин	88
		Азитромицин	100

Применение пьезоэлектрических иммуно- и ПМО-сенсоров на основе МУНК для определения биологически активных соединений в продуктах питания

Методом «введено-найдено» оценена правильность определения Пен G с помощью иммуносенсора на основе МУНК 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. 7).

Таблица 7 – Проверка правильности определения Пен G ($t_{\text{табл}} = 2,1$, $n = 5$; $P = 0,95$)

Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	s_r	$t_{\text{эксп}}$
50,0	52,5 ± 1,0	0,02	2,0
100,0	100,5 ± 3,9	0,01	0,8
300,0	304,6 ± 7,5	0,01	1,9

Разработанные иммуносенсоры апробированы при определении ципрофлоксацина в молоке и мясе (табл. 8), а также аристолохиевой кислоты в двух образцах фиточая и биологически активной добавке для похудения (табл. 9–10).

Таблица 8 – Результаты определения Цип 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

Установлено, что во всех пробах содержание ципрофлоксацина не превышает значение МДУ препарата (0,1 мг/кг). Значения s_r свидетельствуют о высокой воспроизводимости результатов измерений.

Таблица 9 – Результаты определения АК 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 аристолохиевой кислоты составило 3,2 мкг/г. Концентрация АК, приводящая к тяжёлым формам раковых новообразований, составляет 184 мкг/г. Содержание аристолохиевой кислоты в БАД не

превышает данного значения, однако из-за того, что действие АК носит накопительный характер, применение данного препарата должно быть ограничено.

Таблица 10 – Результаты определения АК в БАД ($n = 5$; $P = 0,95$)

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

Пьезоэлектрические сенсоры с распознающим слоем на основе ПМО/МУНК апробированы при определении макролидов в свинине и курином мясе (табл. 11). Значения s_r свидетельствуют о высокой воспроизводимости результатов измерений.

Таблица 11 – Результаты определения эритромицина в мясе ($n = 5$; $P = 0,95$) методом «введено-найдено» при помощи сенсора с распознающим покрытием на основе SiO₂@ПМО/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

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 аристоклохиевой 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 нанокомпозиатов 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 нанокомпозиатов 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.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. **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.177–186.

2. **Бизина Е.В.** Пьезоэлектрический иммуносенсор на основе магнитных углеродных нанокомпозиатов 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. 375–383.

3. **Бизина Е.В.** Применение магнитных углеродных нанокompозитов 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. 354–364.

4. **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.

5. **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.

Тезисы докладов:

6. **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.

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

8. **Бизина Е.В.** Изучение условий формирования распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на базе магнитных углеродных нанокompозитов / Е.В. Бизина, О.В. Фарафонова, Т.Н. Ермолаева // Органические и гибридные наноматериалы: VIII Всероссийская школа-конференция молодых ученых. – Иваново. – 2021. – С. 96–100.

9. 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.

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

11. **Bizina E.V.** Magnetic mip tetracycline nanoparticles – synthesis and application in piezoelectric sensors / E.V. Bizina, O.V. Farafonova, T.N. Ermolaeva // 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.

12. **Бизина Е.В.** Применение магнитных углеродных нанокompозитов при формировании распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора для определения

ципрофлоксацина и пенициллина G / Е.В. Бизина, О.В. Фарафонова, Т.Н. Ермолаева // *Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», секция «Химия».* – Москва. – 2022. – С. 18.

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

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

15. **Бизина Е.В.** Применение магнитных углеродных наноконпозитов для определения ряда антибиотиков // *Тезисы докладов VII Всероссийского молодежного форума «Наука будущего - наука молодых».* – Новосибирск. – 2022. – С. 302.

16. **Бизина Е.В.** Применение магнитных углеродных наноконпозитов при формировании распознающего слоя пьезоэлектрического аффинного сенсора для определения антибиотиков / Е.В. Бизина, А.В. Ефросинина, А.С. Ролдугина, О.В. Фарафонова, Т.Н. Ермолаева // *Тезисы докладов, представленных на IV Съезде аналитиков России.* – Москва. – 2022. – С. 127.

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

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

19. **Бизина Е.В.** Применение наноконпозитов на основе многостенных углеродных нанотрубок, наночастиц магнетита и молекулярно импринтированных полимеров "ядро-оболочка" в пьезоэлектрических сенсорах для определения макролидных антибиотиков / Е.В. Бизина, А.В. Ефросинина, Т.Н. Ермолаева // *«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.

Патенты РФ:

20. 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.

Автор выражает искреннюю признательность и благодарность своему научному руководителю д.х.н. проф. Татьяне Николаевне Ермолаевой, а также к.х.н. Ольге Вячеславовне Фарафоновой за постоянное внимание к работе и поддержку на всех этапах ее выполнения.

Автор выражает благодарность д.х.н. проф. Ерёмину С.А. (МГУ им. М.В. Ломоносова), д.х.н. проф. Гражулене С.С., к.х.н. Золотаревой Н.И. (Институт проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов РАН, Черноголовка), д.х.н. проф. Коваленко Г.А. (Институт катализа СО РАН, Новосибирск) за предоставленные реагенты и помощь в проведении исследований.

Автор выражает искреннюю благодарность выпускникам и студентам кафедры химии Липецкого государственного технического университета Полосиной А.А. и Ефросининой А.В. за помощь в проведении экспериментальных исследований и анализе литературных данных.