

УДК 543.05:543.5

НАНОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ МНОГОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК, НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА И МОЛЕКУЛЯРНО ИМПРИНТИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ “ЯДРО–ОБОЛОЧКА” В ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СЕНСОРАХ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАКРОЛИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ

© 2023 г. Е. В. Бизина^{а, *}, А. В. Ефросинина^а, О. В. Фарафонова^а,
Н. И. Золотарева^б, С. С. Гражулене^б, Т. Н. Ермолаева^а

^аЛипецкий государственный технический университет
ул. Московская, 30, Липецк, 398055 Россия

^бИнститут проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов Российской академии наук
ул. Академика Осипьяна, 6, Черноголовка, 142432 Россия

*e-mail: katarina.bizina1821@mail.ru

Поступила в редакцию 17.03.2023 г.

После доработки 07.04.2023 г.

Принята к публикации 10.04.2023 г.

Разработан пьезоэлектрический сенсор с распознающим слоем на основе магнитных углеродных наноконкомпозитов, включающих многостенные углеродные нанотрубки, магнитные наночастицы Fe_3O_4 и наносферы полимеров с молекулярными отпечатками эритромицина и азитромицина, полученные методом “ядро–оболочка”. В качестве ядер использовали частицы диоксида кремния, на поверхности которых путем свободнорадикальной полимеризации или золь–гель методом синтезировали молекулярно импринтированную макролидами оболочку. Частицы SiO_2 получали по методу Штобера, варьируя соотношение реагентов во время синтеза. Размер ядер и наночастиц полимеров с молекулярными отпечатками (ПМО) определяли методом атомно-силовой микроскопии, а плотность и однородность слоя на поверхности магнитных углеродных наноконкомпозитов (МУНК) – методом пьезокварцевого микровзвешивания. Спектрофотометрическим методом установлено оптимальное соотношение реагентов (темплат : функциональный мономер : кросс-мономер) во время синтеза наноструктур “ядро–оболочка” путем свободнорадикальной полимеризации. Золь–гель методом формировали на поверхности ядра диоксида кремния тонкую оболочку SiO_2 с отпечатками антибиотика на основе кремнийорганических соединений, используемых при синтезе ядра. Формирование распознающего слоя сенсора осуществляли под действием внешнего магнитного поля. Зависимость аналитического сигнала сенсора на основе ПМО@ SiO_2 /МУНК от концентрации линейна в диапазоне 5–160 мкг/мл для азитромицина и 10–160 мкг/мл для эритромицина, а с распознающим слоем на основе SiO_2 @ SiO_2 /МУНК в интервале концентраций 20–400 мкг/мл для эритромицина.

Ключевые слова: пьезоэлектрический сенсор, молекулярно импринтированные полимеры “ядро–оболочка”, многостенные углеродные нанотрубки, магнитные наночастицы, магнитные углеродные наноматериалы, макролидные антибиотики.

DOI: 10.31857/S0044450223110038, EDN: MQSLEW

Пьезоэлектрические гравиметрические сенсоры положительно зарекомендовали себя для определения токсикантов в сложных по составу смесях с высокой чувствительностью и селективностью практически без предварительной пробоподготовки [1–4]. Наиболее часто в пьезоэлектрических сенсорах в качестве элементов распознавания применяют антитела, антигены и аптамеры, обладающие высокой специфичностью взаимодействия и позволяющие получать информацию о ходе биохимической реакции практически в режиме реального времени [5–8]. Однако их неустойчивость при хранении, воздействии органических растворителей и высоких концентраций электролитов, а

также сложность получения [9] стимулирует поиски “синтетических” антител, в качестве которых могут выступать полимеры с молекулярными отпечатками (ПМО), имеющие ряд несомненных достоинств по сравнению с природными рецепторами. 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 [10, 11]. Однако в настоящее время отсутствуют стандартные процедуры получения ПМО с необходимыми характеристиками.

Полимеры с молекулярными отпечатками могут быть получены методом блочной полимеризации и использоваться после измельчения и просеивания [12, 13]. Однако более широкое применение в сенсорике находят импринтированные полимеры регулярной формы, особенно в наноразмерной области [14, 15]. У наночастиц ПМО наблюдаются более высокие отношения площади поверхности к объему, поэтому отпечатки более доступны для шаблонов, что способствует улучшению кинетики повторного связывания с молекулами темплатов. Следует отметить наиболее популярные способы синтеза наночастиц ПМО, такие как микро- и миниэмульсионная полимеризация, метод преципитации, метод “ядро–оболочка” (core–shell, core–shell by grafting), осуществляемый в два этапа [16–20]. На первом этапе формируют ядро сферической формы, а на втором синтезируют тонкослойную полимерную оболочку с отпечатками молекул аналита. В этом случае отпечатки концентрируются в довольно тонком слое, что ускоряет повторное связывание шаблона с ПМО. В качестве ядер используют магнитные наночастицы Fe_3O_4 , наночастицы хитозана, активированные бусинки полистирола, квантовые точки, наночастицы SiO_2 [21–23]. Для синтеза оболочки чаще всего используют микроэмульсионную и свободнорадикальную полимеризацию (СРП), а также золь–гель метод (ЗГМ) [24, 25]. Проведенное ранее исследование по применению в качестве ядер частиц Fe_2O_3 показало, что высокая масса частиц ПМО способствовала сужению диапазона определяемых концентраций аналита с помощью гравиметрического пьезоэлектрического сенсора [26].

Важнейшее значение при разработке пьезоэлектрических сенсоров имеет способ формирования распознающего слоя. Ранее нами предложено получать распознающий слой иммуносенсора на основе магнитных углеродных нанокомпозитов (МУНК) под действием внешнего магнитного поля [27].

Присутствующие в нанокомпозите углеродные нанотрубки (УНТ) способствовали увеличению удельной площади поверхности электрода, т.е. позволяли размещать большее количество распознающих молекул, а магнитные частицы (МНЧ) – существенно сократить и упростить процедуру подготовки пьезоэлектрического сенсора к анализу. При формировании рецепторного покрытия пьезоэлектрического сенсора на основе наночастиц ПМО необходимо ограничивать массу частиц полимеров, чтобы не утяжелять распознающий слой. Более перспективно использование в качестве распознающих структур ПМО, полученные методом “ядро–оболочка”, на основе легких ядер SiO_2 , которые можно различным образом модифицировать, изменяя и улучшая тем самым их свойства [28]. Это позволит уменьшить стоимость анализа, увеличить диапазон определяемых содержаний аналита, но при этом сохранит возможность закрепления распознающего слоя под действием магнитных сил.

Цель работы – изучение условий синтеза частиц полимеров с молекулярными отпечатками макролидов методом “ядро–оболочка” с ядрами диоксида кремния и возможности их применение в распознающем слое пьезоэлектрического сенсора на основе магнитных углеродных нанокомпозитов для определения антибиотиков в жидких средах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и оборудование. Для синтеза полимеров с молекулярными отпечатками использовали: функциональный мономер – метакриловую кислоту (МК) (Вектон, Россия), сшивающий мономер – этиленгликольдиметакрилат (ЭГДМА) (Aldrich Chemistry, США), инициатор полимеризации – азобисизобутиронитрил (Лабтех, Россия). В качестве темплатов применяли макролиды эритромицинового ряда (схема 1): эритромицин (Синтез, Россия), азитромицин (Производство медикоментов, Россия).

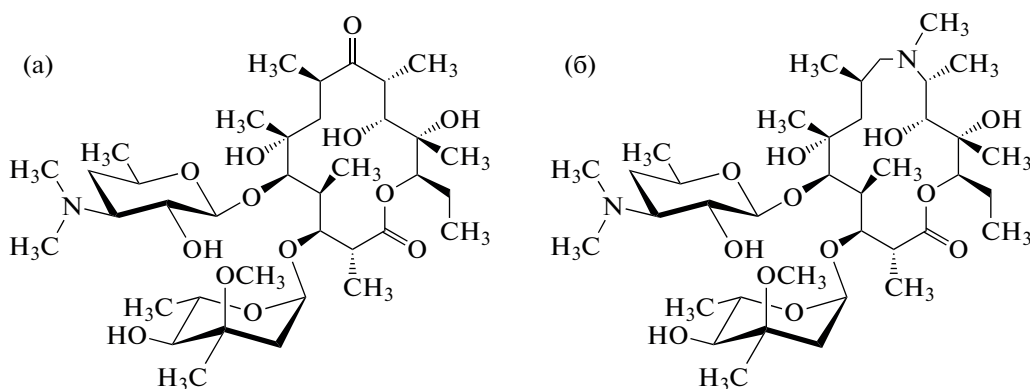


Схема 1. Структурные формулы эритромицина (а) и азитромицина (б).

Таблица 1. Соотношение реагентов при синтезе ядер диоксида кремния

Способ синтеза	ТЭОС, мл	АПТЕС, мл	P-p NH ₃ , мл	Этанол, мл	Литература
1	1.5	1.5	0.2	—	[29]
2	18	—	36	182	[30]
3	5	—	9	80	[27]

Растворители: ацетонитрил, толуол (Вектон, Россия), этанол (Экос1, Россия), уксусная кислота (НеваРеактив, Россия), ацетон (98%, Qumica, Испания), соляная кислота (плотность 1.198 г/см³, НеваРеактив, Россия). Для перевода частиц в дисперсное состояние применяли Тритон X-100 (Sigma-Aldrich, США). Для синтеза наносфер SiO₂ использовали тетраэтоксисилан (ТЭОС) (Компонент-Реактив, Россия), (3-аминопропил)триэтоксисилан (АПТЕС) (Sigma-Aldrich, США), 25%-ный водный раствор NH₃ (Химреактивснаб, Россия). Гидрофобизацию полученных частиц SiO₂ осуществляли поливинилпирролидоном (Aplichem GmbH, Германия).

Для повторного встраивания в ПМО применяли растворы макролидных антибиотиков в этиловом спирте с концентрацией 40 мкг/мл. Для построения градуировочных зависимостей использовали растворы с концентрациями 0.1, 0.5, 5, 10, 20, 40, 100, 160, 200, и 400 мкг/мл, полученные разбавлением концентрированного раствора этиловым спиртом.

Поверхностную морфологию наночастиц изучали методом атомно-силовой микроскопии (сканирующий зондовый микроскоп Solver P47-PRO ЗАО “Нанотехнология-МДТ”, Россия) в полу-контактном режиме на воздухе со скоростью сканирования 1.34 Гц. Методом ИК-спектроскопии устанавливали характер функциональных групп на поверхности частиц SiO₂ (ИК-фурье спектрометр Irtaffinity-1, Япония), а также характер связей, образующихся при синтезе ПМО путем свободно-радикальной полимеризации и золь–гель методом.

В качестве сенсоров использовали пьезоэлектрические резонаторы АТ-среза диаметром 8 мм с собственной частотой колебаний 10 МГц, с золотыми электродами, расположенными по обе стороны от кварцевой пластины (ЗАО “ЭТНА”, Россия). Аналитический сигнал регистрировали на установке CPNA-330 (“ЗАО ЭТНА”, Россия).

Соотношение темплата, функционального и сшивающего мономеров устанавливали спектрофотометрическим методом в УФ-области спектра (Флюорат-02-Панорама, Россия).

Синтез наночастиц с молекулярными отпечатками. Применяли две методики синтеза наночастиц со структурой “ядро–оболочка”: в первом случае на поверхности ядра диоксида кремния синтезировали полимерную оболочку методом СРП —

SiO₂@ПМО. Второй способ заключался в получении на поверхности ядра кремнезема оболочки золь–гель методом с применением силоксанов — SiO₂@SiO₂ (рис. 1).

Синтез ядер SiO₂ осуществляли по методу Штобера. Для работы выбрали описанные в литературе методики, отличающиеся соотношением реагентов во время синтеза (табл. 1).

Синтез полимерной оболочки методом свободно-радикальной полимеризации требует предварительной гидрофобизации ядра SiO₂. Для этого 0.3 г наночастиц SiO₂ вносили в 50 мл водного раствора поливинилпирролидона (60 мг/мл) и перемешивали магнитной мешалкой при 25°C в течение 12 ч. Полученные частицы отделяли, промывали до pH 7 и высушивали при 70°C до постоянной массы [31]. Для синтеза полимерной оболочки на поверхности гидрофобизованных ядер диоксида кремния 0.06 г макролида растворяли в 18 мл порогенного растворителя — смеси ацетонитрил–толуол (3 : 1, по объему). Далее вводили 0.1 ммоль МК, полученную смесь выдерживали 2 ч при 4°C для образования предполимеризационного комплекса темплата–мономер. Вносили 0.015 г частиц SiO₂ и 0.8 ммоль ЭГДМА, обрабатывали ультразвуком в течение 10 мин, добавляли инициатор полимеризации азобисизобутиронитрил (0.0985 г) и полученный раствор непрерывно перемешивали при температуре 50°C. Образующиеся частицы SiO₂@ПМО высушивали до постоянной массы.

Золь–гель метод заключался в формировании поверхностных отпечатков макролида в оболочке диоксида кремния [32]. Для этого смешивали 0.6 мл ТЭОС, 9 мл этанола и 0.9 мл дистиллированной воды, вводили 0.4 мл 25%-ного раствора аммиака и перемешивали магнитной мешалкой 1 ч при 25°C. Далее добавляли 0.3 мл АПТЕС (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 темплата не использовали.

Синтез композитных наноматериалов и формирование рецепторного слоя. В работе использовали магнитные углеродные нанокompозиты, описанные в работе [27]. Наночастицы Fe₃O₄ иммобили-

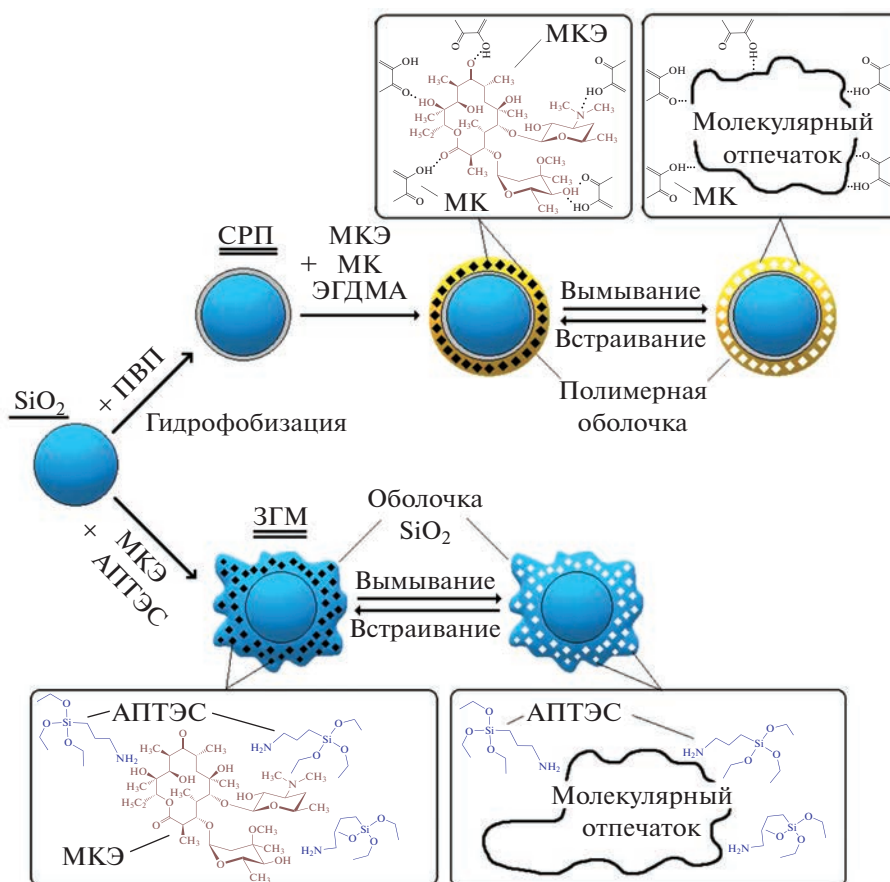


Рис. 1. Синтез наночастиц с молекулярными отпечатками макролидов на примере эритромицина с применением свободно-радикальной полимеризации и золь–гель метода.

зовали на поверхности многостенных углеродных нанотрубок, синтезированных в Институте проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов РАН, Черноголовка [33]. Соотношение УНТ–МНЧ выбирали методом пьезокварцевого микровзвешивания [34] с учетом массы покрытия, так как перегрузка приводит к срыву аналитического сигнала сенсора, а уменьшение количества МНЧ в композите – к снижению прочности связывания с сенсором под действием внешнего магнитного поля. Установлено, что оптимальным является соотношение 3 : 1. Перевод в дисперсное состояние осуществляли по схеме, предложенной ранее [35]: 1 мг МУНК вносили в 1 мл 1%-ного водного раствора Тритона X-100 и подвергали ультразвуковой обработке в течение 1 ч.

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

Рецепторный слой на основе композитных материалов ($\text{ПМО@SiO}_2/\text{МУНК}$ и $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2/\text{МУНК}$) формировали путем дозирования 2 мкл дисперсии на предварительно очищенный 1 мМ раствором соляной кислоты, ацетоном и этанолом электрод сенсора, помещенный над неодимовым магнитом в ячейке детектирования, описанной в работе [27].

Оценка качества рецепторного покрытия. Распознающий слой на основе композитов $\text{ПМО@SiO}_2/\text{МУНК}$ или $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2/\text{МУНК}$ характеризовали методом пьезокварцевого микровзвешивания, аналогично описанному в работах [16, 17]. В качестве аналитического сигнала использовали изменение частоты колебаний резонатора до и после нанесения дисперсии нанокompозитов, а также до и после десорбции и сорбции молекул темплатов.

Массу распознающего покрытия $\Delta m_{\text{ПМО}}$ (мкг) рассчитывали на основании уравнения Зауэрбрея: $\Delta m_{\text{ПМО}} = (S\Delta F)/(2.3 \times 10^6 F_0^2)$, где $\Delta F = F_1 - F_2$ (F_1 – частота колебаний чистого сенсора, Гц; F_2 – частота колебаний сенсора с пленкой ПМО, Гц); F_0 – собственная частота колебаний кристалла

кварца, МГц; S — площадь поверхности электрода (0.10066 см^2). Влияние неспецифической поверхностной сорбции учитывали путем измерения аналитического сигнала сенсора $\Delta F_{\text{ан}}$ (Гц) относительно НИП: $\Delta F_{\text{ан}} = \Delta F_{\text{ПМО}} - \Delta F_{\text{НИП}}$. 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. Молярную концентрацию поверхностных отпечатков макролидов R (мкмоль/см^2) на поверхности электрода сенсора определяли следующим образом: $R = \Delta m_{\text{ВСТ}}/SM$, где M — молярная масса темплата.

Селективность распознающего слоя рассчитывали по коэффициентам перекрестного реагирования: $CR, \% = \Delta F_{\text{меш}}/\Delta F_{\text{аналита}}$, где $\Delta F_{\text{аналита}}$ и $\Delta F_{\text{меш}}$ — аналитические сигналы сенсора в растворах аналита и мешающего вещества.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез частиц полимеров с молекулярными отпечатками макролидов методом “ядро—оболочка”. *Синтез ядер.* Размер и морфология частиц диоксида кремния, используемых в качестве ядер, во многом определяются соотношением реагентов во время синтеза. За основу выбрали методики, обеспечивающие формирование частиц с активными функциональными группами на поверхности ядра [28–30]. Синтез ядер проводили по методу Штобера, включающему гидролиз и последующую конденсацию кремнийорганических соединений [36]. Применяемые в работе ТЭОС и АПТЕС обеспечивали формирование поверхностных активных гидроксильных и аминогрупп (табл. 1). Средние диаметры синтезированных ядер SiO_2 устанавливали методом атомно-силовой микроскопии (рис. 2).

Методом пьезокварцевого микровзвешивания установили влияние диаметра частиц SiO_2 на плотность и однородность слоя на поверхности магнитных углеродных нанокомпозитов. Так, частицы, синтезированные способом 2 и имеющие меньший диаметр ($77 \pm 3 \text{ нм}$), располагаются на поверхности МУНК более компактно, формируя однородный слой с достаточно большой площадью поверхности. При применении частиц большего диаметра (157 ± 7 и $148 \pm 7 \text{ нм}$), полученных способами 1 и 3, на поверхности МУНК наблюдается скопление крупных морфологически неоднородных структур, стерически затрудняющих взаимодействие с поверхностным слоем.

Синтез полимерной оболочки проводили свободнорадикальной полимеризацией или золь—гель методом. В первом случае вследствие применения при получении оболочки гидрофобных функционального и кросс-мономеров проводили предварительную гидрофобизацию наносфер SiO_2

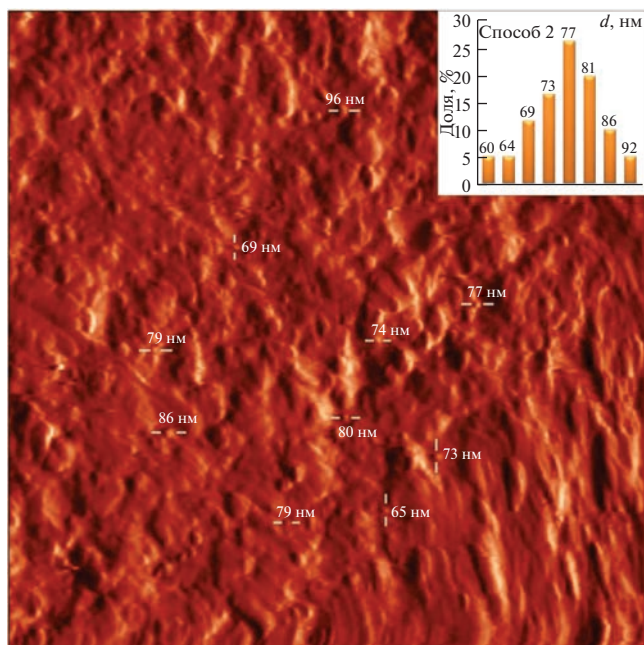


Рис. 2. АСМ-снимок частиц SiO_2 , синтезированных по способу 2, и гистограмма распределения размеров частиц.

раствором поливинилпирролидона с целью повышения связи полимерного слоя с ядром, снижения агрегации частиц и повышения их стабильности. При синтезе полимерной оболочки ЗГМ гидрофобизацию не проводили, так как этапы формирования ядра и поверхностной оболочки осуществлялись последовательно с использованием одинаковых реагентов.

При синтезе ПМО методом СРП в качестве функционального и кросс-мономеров применяли МК и ЭГДМА, положительно зарекомендовавшие себя ранее [18–20]. Важным условием успешного синтеза является выбор соотношения реагентов в полимеризационной смеси, обеспечивающих максимальное количество доступных поверхностных отпечатков. Оптимальное соотношение темплат : функциональный мономер, а также темплат : функциональный мономер : кросс-мономер определяли с учетом максимумов в спектрах поглощения в УФ-области (180–380 нм), варьируя количество реагентов в полимеризационной смеси (рис. 3).

В спектрах поглощения зарегистрировали 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, вероятно, с различиями в строении их молекул. Ввиду того, что на поверхности ядра из кремнезема возможна неспецифическая сорбция темплата, а молекуляр-

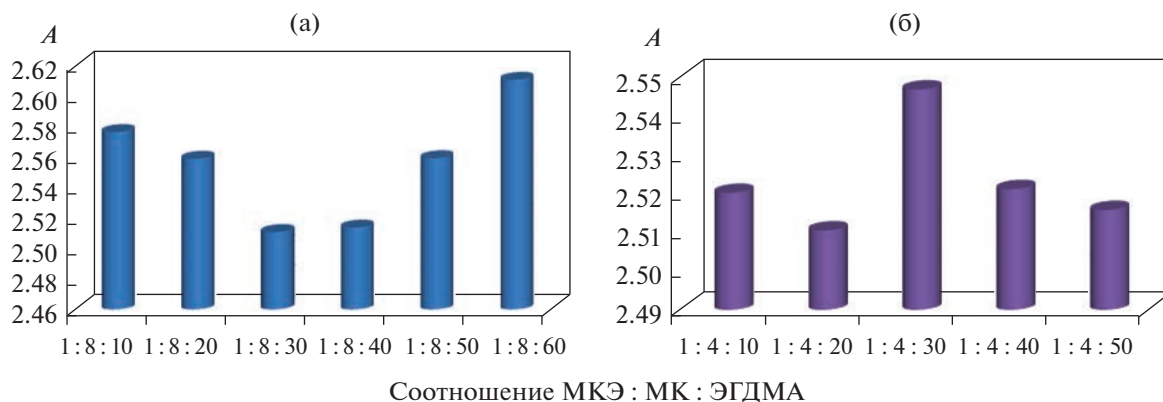


Рис. 3. Выбор соотношения реагентов при синтезе полимерной оболочки методом свободнорадикальной полимеризации для (а) эритромицина, (б) азитромицина.

ные отпечатки формируются в тонком полимерном слое, дополнительно увеличена концентрация темплата, применяемая при синтезе ПМО. Установили, что максимальный сигнал в 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).

Сравнение ИК-спектров макролида и ПМО, полученных методом СРП (рис. 4а) продемонстрировало смещение пика карбонильных групп в коротковолновую область с 1747 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 $-\text{C}-\text{OH}$ в спектрах ПМО по сравнению с НИП говорит о присутствии карбонильной группы лактонного кольца макролидов в импринтованном полимере (988 см^{-1}). 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 (рис. 4б). 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 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.

Характеристика аффинного пьезоэлектрического сенсора на основе композитных наноматериалов.

Для многократного использования распознающего слоя гравиметрического пьезоэлектрического сенсора на основе наночастиц ПМО важно проводить регенерацию, обеспечивающую удаление максимального количества молекул темплата из молекулярных отпечатков и устойчивую структуру полимера. В связи с тем, что макролиды в целом обладают незначительной растворимостью в воде, но легко растворимы в этаноле, ацетоне и некоторых других полярных органических растворителях, изучили возможность применения в качестве регенерирующих растворов этанола; смеси этанол–ацетонитрил (1 : 3); смеси уксусная кислота–этанол (1 : 6). Экспериментальные данные показали, что применение смесей ацетонитрил–этанол и уксусная кислота–этанол приводит к значительным разрушениям структуры полимера уже после первого цикла регенерации. Только применение этанола позволяет добиться удовлетворительных результатов десорбции и повторной сорбции молекул макролидов.

Важнейшей характеристикой является продолжительность контакта рецепторного слоя на основе частиц ПМО с регенерирующим раствором, обеспечивающим максимально полное удаления и последующее встраивание молекул антибиотиков. Методом пьезокварцевого микровзвешивания установили, что полное извлечение молекул эритромицина этанолом из полимерной матрицы SiO_2 @ПМО происходит в течение 4 мин, а максимальное встраивание антибиотиков в сформированные отпечатки уже через 3 мин (рис. 5), что свидетельствует о высокой доступности отпечатков в структуре ПМО для молекул темплата. Продолжительность полного извлечения темплата из структуры SiO_2 @ SiO_2 составляет 10 мин, тогда как, максимальное встраивание происходит за 6 мин, что свидетельствует о меньшей доступности

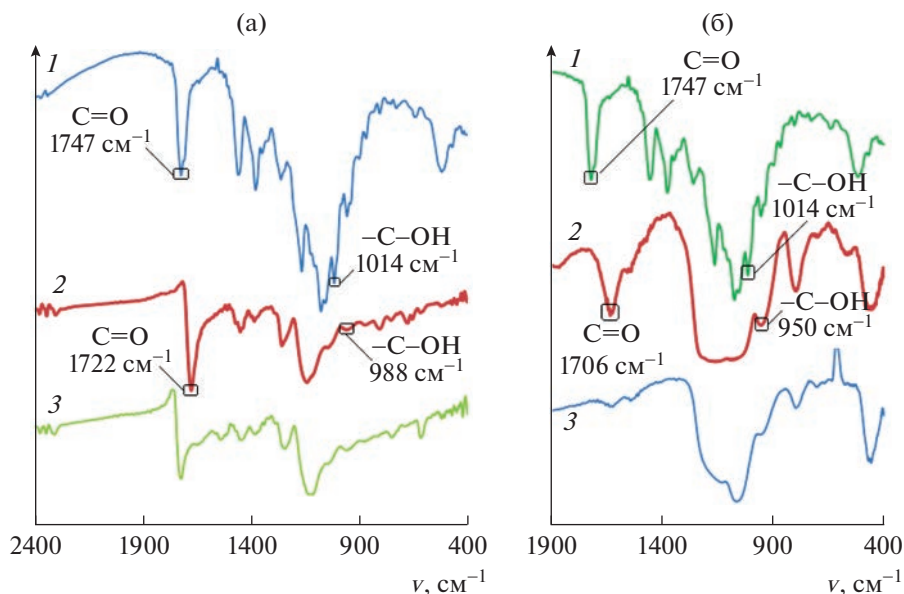


Рис. 4. ИК-спектры полимеров с молекулярными отпечатками макролидов на примере эритромицина, полученных методами свободнорадикальной полимеризации (а) и золь–гель методом (б): 1 – антибиотик, 2 – полимер с молекулярными отпечатками, 3 – неимпринтированный полимер.

отпечатков для молекул темплата в полимерной оболочке, полученной золь–гель методом.

Аналитические характеристики пьезоэлектрического сенсора на основе композитных наноматериалов представлены в табл. 2. Отмечено, что при синтезе масса антибиотиков ($m_{\text{темплата}}$, мкг), включенных в структуры $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ или $\text{SiO}_2@\text{ПМО}$, 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 антибиотиков 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.

Установили, что сигнал сенсора на основе $\text{ПМО}@\text{SiO}_2/\text{МУНК}$ линеен в диапазоне 5–160 мкг/мл для азитромицина и 10–160 мкг/мл для эритромицина. Для сенсора на основе $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2/\text{МУНК}$ наблюдается увеличение верхней границы определяемых содержаний эритромицина до 400 мкг/мл, что свидетельствует о более высокой концентрации поверхностных отпечатков в оболочке, полученной золь–гель методом.

Разработанные сенсоры апробированы при определении макролидов в свинине и курином мясе (табл. 3). Установлено, что во всех пробах со-

держание антибиотиков не превышает максимально допустимого уровня препаратов (0.2 мг/мл) [37]. Значения s_r свидетельствуют о высокой воспроизводимости результатов измерений.

Селективность сенсора на основе молекулярно импринтированных частиц оценивали с помощью коэффициента кросс-реактивности CR (%) (табл. 4). Установили, 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, что позволяет утверждать, что ПМО с отпе-

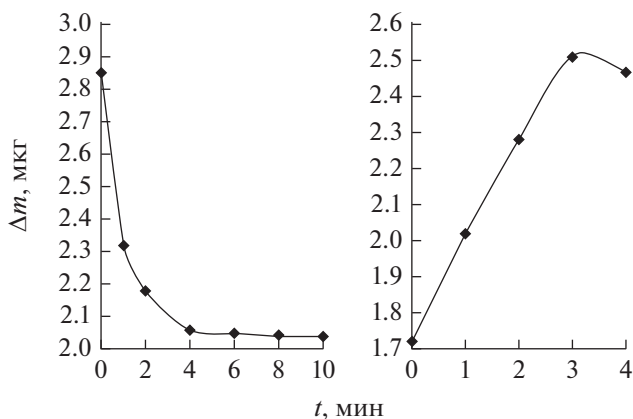


Рис. 5. Изменение массы полимерных структур на примере $\text{SiO}_2@\text{ПМО}$ в зависимости от продолжительности десорбции (а) и сорбции (б) из раствора эритромицина с концентрацией 40 мкг/мл.

Таблица 2. 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 ± 0.3	3.0 ± 0.6	2.3 ± 0.7
$m_{\text{темплата}}$, МКГ	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.3	1.3 ± 0.4
R , ммоль/см ²	0.021 ± 0.001	0.018 ± 0.004	0.018 ± 0.006
Δm_{BC1} , МКГ	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.2	1.1 ± 0.2
R_1 , ммоль/см ²	0.009 ± 0.003	0.011 ± 0.002	0.014 ± 0.003
Δm_{BC2} , МКГ	0.6 ± 0.2	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.2
R_2 , ммоль/см ²	0.009 ± 0.001	0.010 ± 0.003	0.014 ± 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	0.5	0.5	5

чатками индивидуального макролида могут быть использованы для определения суммы антибиотиков эритромицинового ряда.

Сенсоры на основе магнитных углеродных нанокмпозитов и полимеров с молекулярными отпечатками, синтезированных СРП- и ЗГМ-методами, могут быть рекомендованы для определения суммы макролидов в присутствии других антибиотиков в жидких средах.

Таблица 3. Результаты (мкг/мл) определения эритромицина в мясе методом введено—найденно при помощи сенсора с распознающим покрытием на основе ПМО@SiO₂/МУНК ($n = 5$, $P = 0.95$)

Введено	Найдено	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

Предложена методика формирования рецепторного слоя пьезоэлектрического сенсора на основе магнитных углеродных нанокмпозитов с молекулярно импринтированными полимерами “ядро—оболочка” для определения макролидных антибиотиков в жидких средах. Установлено влияние диаметра ядер SiO₂ на плотность и однородность слоя на поверхности магнитных углеродных нанокмпозитов. Отмечено, что сенсор на основе ПМО, синтезированных методом свободнорадикальной полимеризации, характеризуется линейной зависимостью аналитического сигнала от концентрации аналита в диапазоне 5–160 мкг/мл для азитромицина и 10–160 мкг/мл для эритромицина. Результаты определения макролидов с помощью пьезоэлектрического сенсора с покрытием на основе ПМО@SiO₂/МУНК не уступают по чувствительности известному способу анализа методом ВЭЖХ-УФ с предварительной твердофазной экстракцией [38] ($c_{\min} = 0.45$ мкг/мл) и вольтамперометрическому методу [39] ($c_{\min} = 1.4$ мкг/мл). Разработанные пьезоэлектрические сенсоры позволяют определять макролиды в более широком диапазоне содержаний. При применении ПМО, полученных золь—гель методом, повышается верхняя граница определяемых содержаний до 400 мкг/мл. Сенсоры апробированы при определении макролидов в свинине и курином мясе.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Липецкой области в рамках научного про-

Таблица 4. Оценка селективности определения антибиотиков эритромицинового ряда с помощью пьезоэлектрических сенсоров с распознающим слоем на основе композитных наноматериалов

Темплат	Покрывание	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

екта № 20-43-480001. В ИПТМ РАН работа выполнена в рамках Госзадания 075-01304-23-00.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Guliy O.I., Zaitsev B.D., Smirnov A.V., Karavaeva O.A., Borodina I.A. Prospects of acoustic sensor systems for antibiotic detection // *Biosens. Bioelectron.* 2022. V. 12. Article 100274.
- Skládal P. Piezoelectric biosensors // *Trends Anal. Chem.* 2016. V. 79. № 5. P. 127.
- Ермолаева Т.Н., Калмыкова Е.Н., Шашканова О.Ю. Пьезокварцевые биосенсоры для анализа объектов окружающей среды, пищевых продуктов и клинической диагностики // *Рос. хим. журн.* 2008. Т. 52. № 2. С. 17. (Ermolaeva T.N., Kalmykova E.N., Shashkanova O.Y. Piezoquartz biosensors for the analysis of environmental objects, foodstuff and for clinical diagnostic // *Russ. J. Gen. Chem.* 2008. V. 78. № 12. P. 2430.)
- Chauhan R., Singh J., Solanki P.R., Basu T., O'Kennedy R., Malhotra B.D. Electrochemical piezoelectric reusable immunosensor for aflatoxin B1 detection // *Biochem. Eng. J.* 2015. V. 103. № 15. P. 103.
- Gupta B.K., Yadav A., Koch P., Mishra P. Piezoelectric biosensors. principle, techniques, and their application in food analysis // *Biosens. Food Safety Qual.* 2022. P. 10.
- Zhang J., Zhang X., Wei X., Xue Y., Wan H., Wang P. Recent advances in acoustic wave biosensors for the detection of disease-related biomarkers: A review // *Anal. Chim. Acta.* 2021. V. 1164. Article 338321.
- Гулий О.И., Зайцев Б.Д., Алсоевэиди А.К.М., Караваева О.А., Ловцова Л.Г., Бородин И.А. Биосенсорные системы для определения антибиотиков // *Биофизика.* 2021. Т. 66. № 4. С. 657. (Guliy O.I., Karavaeva O.A., Lovtsova L.G., Zaitsev B.D., Borodina I.A., Alsowaidi A.K.M. Biosensor systems for antibiotic detection // *Biophysics.* 2021. V. 66. № 4. P. 555.)
- Алсоевэиди А.К.М., Караваева О.А., Гулий О.И. Методы и подходы для определения антибиотиков // *Антибиотики и химиотерапия.* 2022. Т. 67. № 1–2. С. 53–61.
- Poma A., Guerreiro A., Whitcombe M.J., Piletska E.V., Turner A.P.F., Piletsky S.A. Solid-phase synthesis of molecularly imprinted polymer nanoparticles with a reusable template – “Plastic antibodies” // *Adv. Funct. Mater.* 2013. V. 23. P. 2821.
- Kupai J., Razali M., Buyuktiryaki S., Kecili R., Szekely G. Long-term stability and reusability of molecularly imprinted polymers // *Polym. Chem.* 2017. V. 8. P. 666.
- Sharma P.S., Iskierko Z., Pietrzyk-Le A., D'Souza F., Kutner W. Bioinspired intelligent molecularly imprinted polymers for chemosensing: A mini review // *Electrochem. Commun.* 2015. V. 50. P. 81.
- Refaat D., Aggour M.G., Farghali A.A., Mahajan R., Wiklander J.G., Nicholls I.A., Piletsky S.A. Strategies for molecular imprinting and the evolution of MIP nanoparticles as plastic antibodies-synthesis and applications // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 24. P. 6304.
- He J.X., Pan H.Y., Xu L., Tang R.Y. Application of molecularly imprinted polymers for the separation and detection of aflatoxin // *J. Chem. Res.* 2020. V. 45. № 5. P. 1.
- Ma J., Yan M., Feng G., Ying Y., Chen G., Shao Y., She Y., Wang M., Sun J., Zheng L., Wang J., El-Atyde A.M.A. An overview on molecular imprinted polymers combined with surface-enhanced Raman spectroscopy chemical sensors toward analytical applications // *Talanta.* 2021. V. 225. Article 122031.
- Thobakgale L., Ombinda-Lembumba S., Mthunzi-Kufa P. Chemical sensor nanotechnology in pharmaceutical drug research // *Nanomaterials.* 2022. V. 12. № 15. P. 2688.
- Karaseva N., Ermolaeva T., Mizaiakoff B. Piezoelectric sensors using molecularly imprinted nanospheres for the detection of antibiotics. // *Sens. Actuators B: Chem.* 2016. V. 225. P. 199.

17. Karaseva N.A., Pluhar B., Mizaiakoff B., Beliaeva E.A., Ermolaeva T.N. Synthesis and application of molecularly imprinted polymers for trypsin piezoelectric sensors. // *Sens. Actuators B: Chem.* 2019. V. 280. P. 272.
18. Ермолаева Т.Н., Фарафонова О.В., Бессонов О.И. Синтез и применение наночастиц полимеров с молекулярными отпечатками салбутамола в распознающем слое пьезоэлектрического сенсора // Сорбционные и хроматографические процессы. 2019. Т. 19. № 6. С. 682.
19. Ермолаева Т.Н., Фарафонова О.В., Чернышова В.Н., Зяблов А.Н., Тарасова Н.В. Пьезоэлектрический сенсор на основе наночастиц полимеров с молекулярными отпечатками рактопамина // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 10. С. 898. (Ermolaeva T.N., Farafonova O.V., Chernyshova V.N., Zyablov A.N., Tarasova N.V. A piezoelectric sensor based on nanoparticles of ractopamine molecularly imprinted polymers // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 10. P. 1270.)
20. Ермолаева Т.Н., Чернышова В.Н., Бессонов О.И. Микро- и наночастицы полимеров с молекулярными отпечатками — синтез, характеристика и применение в пьезоэлектрических сенсорах // Сорбционные и хроматографические процессы. 2015. Т. 15. № 3. С. 345.
21. Shi J., Zhang X., Zhang Q., Yang P. Ultrasensitive and highly selective detection of bisphenol A using core-shell magnetic molecularly imprinted quantum dots electrochemiluminescent probe // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2022. V. 108. P. 379.
22. Malik S., Khan A., Rahman G., Ali N., Khan H., Khan S., Sotomayor M.D.P.T. Core-shell magnetic molecularly imprinted polymer for selective recognition and detection of sunset yellow in aqueous environment and real samples // *Environ. Res.* 2022. V. 212. Part A. Article 113209.
23. Yun G., Koo K.M., Kim Y. Chemiresistor type formaldehyde sensor using polystyrene/polyaniline core-shell microparticles // *Polymer.* 2021. V. 215. Article 123389.
24. Ladj R., Bitar A., Eissa M.M., Fessi H., Mugnier Y., Le Dantec R., Elaissari A. Polymer encapsulation of inorganic nanoparticles for biomedical applications // *Int. J. Pharm.* 2013. V. 458. P. 230.
25. Бакеева И.В., Морозова И.В. Современные нанокompозитные материалы — органо-неорганические гибридные гели. Учебное пособие. М: Издательско-полиграфический центр (ИПЦ МИТХТ), 2006. С. 40.
26. Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Тарасова Н.В., Ермолаева Т.Н. Синтез и применение магнитных молекулярно импринтированных тетрациклином полимерных наночастиц в пьезоэлектрическом сенсоре // Сорбционные и хроматографические процессы. 2021. Т. 21. № 2. С. 177.
27. Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Золотарева Н.И., Гражулене С.С., Ермолаева Т.Н. Пьезоэлектрический иммуносенсор на основе магнитных углеродных нанокompозитов для определения ципрофлоксацина // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. № 4. С. 375. (Bizina E.V., Farafonova O.V., Zolotareva N.I., Grazhulene S.S., Ermolaeva T.N. A piezoelectric immunosensor based on magnetic carbon nanocomposites for the determination of ciprofloxacin // *J. Anal. Chem.* 2022. V. 77. № 4. P. 375.)
28. 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.
29. Liu Y.N., Zhang Z., Zhang M. Preparation and application of solid phase extraction of di(2-ethylhexyl)phthalate surfaces imprinted polymers // *Chinese J. Appl. Chem.* 2013. V. 30. № 3. P. 316.
30. Liu S.M., Wei M.X., Fu X., Zhang X.B. Direct synthesis of monodisperse hollow molecularly imprinted polymers based on unfunctionalized SiO₂ for the recognition of bisphenol A // *Chinese J. Chem. Phys.* 2018. V. 31. № 2. P. 229.
31. Huang Y., Li F., Qiu L., Lin F., Lai Z., Wang S., Lin L., Zhu Y., Wang Y., Jiang Y., Chen X. Enchanting the stability of CH₃NH₃PbBr₃ nanoparticles using double hydrophobic shells of SiO₂ and polyvinylidene fluorid // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2019. V. 11 № 29. P. 1.
32. Yu D., Hu X., Wei S., Wang Q., He C., Liu S. Dummy molecularly imprinted mesoporous silica prepared by hybrid imprinting method for solid-phase extraction of bisphenol A // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1396. P. 17.
33. Гражулене С.С., Золотарева Н.И., Редькин А.Н., Шилкина Н.Н., Митина А.А., Ходос И.И. Сорбционные свойства магнитного композита на основе модифицированных углеродных нанотрубок в зависимости от условий синтеза // Журн. прикл. химии. 2020. Т. 93. № 1. С. 66. (Grazhulene S.S., Zolotareva N.I., Red'kin A.N., Shilkina N.N., Mitina A.A., Khodos I.I. sorption properties of a magnetic composite based on modified carbon nanotubes: Influence of the synthesis conditions // *Russ. J. Appl. Chem.* 2020. V. 93. № 1. P. 57.)
34. 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. Электронная версия: <http://www.analystscongress.ru/iv/Shared%20Documents/2022-IVСъездАП-Тезисы-v9.pdf> (20.04.2023).
35. Бизина Е.В., Фарафонова О.В., Золотарева Н.И., Гражулене С.С., Ермолаева Т.Н. Применение магнитных углеродных нанокompозитов при формировании распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора для определения пенициллина G. // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 4. С. 1. (Bizina E.V., Farafonova O.V., Zolotareva N.I., Grazhulene S.S., Ermolaeva T.N. The use of magnetic carbon nanocomposites in the formation of a recognition layer of a piezoelectric immunosensor for the determination of penicillin G. // *J. Anal. Chem.* 2023. V. 78. № 4. P. 514.)

36. *Blaaderen, A., Geest J.V., Vrij A.* Monodisperse colloidal silica spheres from tetraalkoxysilanes: Particle formation and growth mechanism // *J. Colloid Interface Sci.* 1992. V. 154. № 2. P. 481.
37. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13 февраля 2018 г. № 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 методах их определения”. <https://docs.cntd.ru/document/556522984> (20.06.2021)
38. *Song S., Wu A., Shi X., Li R., Lin Z., Zhang D.* Development and application of molecularly imprinted polymers as solid-phase sorbents for erythromycin extraction // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. V. 390. P. 2141.
39. *Vajdle O., Guzsányi V., Škoric D., Csanádi J., Petkovic M., Avramov-Ivic M., Kónya Z., Petrovic S., Bobrowski A.* Voltammetric behavior and determination of the macrolide antibiotics azithromycin, clarithromycin and roxithromycin at a renewable silver – Amalgam film electrode // *Electrochim. Acta.* 2017. V. 229. P. 334.