



УДК 543.068.8: 543.63: 543.645

Пьезокварцевые сенсоры на основе полимеров с молекулярными отпечатками - формирование распознающего слоя на поверхности электрода сенсора

Ермолаева Т.Н., Чернышова В.Н., Чеснокова Е.В., Бессонов О.И.

Липецкий государственный технический университет, Липецк

Поступила в редакцию 8.12.2014 г.

В статье обсуждены результаты использования полимеров с молекулярными отпечатками как специфических распознающих материалов в пьезокварцевых сенсорах, предназначенных для определения микро- и макромолекул в жидких средах. Основное внимание было уделено рассмотрению технологии формирования распознающего слоя ПМО непосредственно на поверхности электрода сенсора. Более подробно были описаны способы получения молекулярно импринтированных пленок методами фотополимеризации, электрополимеризации, покрытия при вращении и сэндвич-методом. Показано, что при формировании пленок ПМО методом электрополимеризации наиболее часто используются полимеры на основе полипиррола, полифенилендиамина и политиофенов. Также проведен анализ современных способов поверхностного импринтинга, в частности, акцентировано внимание на методе софт литографии, предназначенном для формирования слоя для распознавания макромолекул и биоаналитов.

Ключевые слова: пьезокварцевый сенсор, полимеры с молекулярными отпечатками, распознающий слой сенсора, фотополимеризация, электрополимеризация, spin-coating, sandwich-casting, поверхностный импринтинг, софт литография.

Piezoelectric sensors on the basis of molecularly imprinted polymers. Formation of the recognizing layers on surface of the sensors electrode

Ermolaeva T.N., Chernyshova V.N., Chesnokova E.V., Bessonov O.I.

Lipetsk State Technical University, Lipetsk

This article presents and discusses the results of using molecularly imprinted polymers as specific recognizing materials in the piezoelectric sensors intended for the detection micro- and macromolecules in liquid solutions. The main attention was paid to considering the technology of the formation of the recognizing MIP layer directly. In particular in more detail ways for the preparation of molecularly imprinted films by the photopolymerization, electropolymerization, spin-coating and the sandwich-casting methods were discussed. The influence on the nature of functional and cross-monomers, the initiator of polymerization and the design of the template on the structure and the distinguishing properties of MIP films is shown. When forming MIP films by the electropolymerization method, polymers on the basis of polypyrrole, polyphenylenediamine and polythiophene, the synthesis of which is described in more detail, are applied most frequently. The mechanism of imprinting template molecules in a polymer matrix is described. Conditions for the electrochemical synthesis of thiophene derivatives with different structures, ensuring high constants of re-binding the surface imprint and a high specificity of molecular recognition of the target analyte are also discussed in detail. Also, modern methods of superficial imprinting were analyzed, in

particular the method of soft lithography for the formation of the recognition layer for macromolecules and bioanalytes was paid special attention to.

Keywords: piezoelectric sensor, molecularly imprinted polymers, recognizing layer, photopolymerization, electropolymerization, spin-coating, sandwich-casting, superficial imprinting, soft lithography

Введение

Одной из главных проблем в дизайне современных биосенсоров, предназначенных для анализа жидких сред, является выбор распознающего материала.

Сокращенные обозначения: АВАН - 2,2-азобис(2-амидинопропан) гидрохлорид; 4-АВА - 4-Аминомасляная кислота; АСВА - 4,4-азобис(циановалериановая кислота); АІВN - 2,2-азобис(изобутиролнитрил); АА - актиламид; АМРN - 2,2-азобис (2-метилпропионитрил); An –анилин; o-AP –o-аминофенол; n-AP – n-аминофенол; L-Asp - L-аспарагиновая кислота; biTh – бис(битиофены); DMAEMA - N,N-диметиламиноэтилметакрилат; DA – допамин; DEAEM - 2-(диэтиламино)этилметакрилат; DMAPMA - 3-диметиламинопропилметакриламид; DVB - дивинилбензен; EGDA – этиленгликольдиакрилат; EGDMA – этиленгликольдиметакрилат; L-FA – L-глутаминовая кислота; MAA – метакриловая кислот; MMA – метилметакрилат; MBSC - N,N-метиленбисакриламид; Py – пиррол; PPy – полипиррол; TRIM – триметилпропантриметакрилат; o-PD - o-фенилендиамин; 4-VP – винилпиридин; [(TBA)ClO₄] – тетра-п-бутиламмония перхлорат; QCM –кварцевого кристалла микробаланс.

характеризующегося сопоставимыми с природными рецепторами характеристиками. Биомиметические элементы распознавания, такие, как антитела, антигены, иммуноглобулины, ферменты и аптамеры, наиболее часто применяемые при формировании рецепторного слоя пьезокварцевых аффинных сенсоров, характеризуются высокой специфичностью и позволяют получать информацию о протекании биохимической реакции в растворах практически в режиме реального времени. Однако сложность получения природных рецепторов, их неустойчивость при хранении, воздействии органических растворителей и высоких концентраций электролитов стимулирует поиски синтетических антител, в качестве которых могут выступать полимеры с молекулярными отпечатками (ПМО), имеющие ряд несомненных достоинств по сравнению с биомолекулами [1-3].

Пристальное внимание исследователей к ПМО связано с их уникальными свойствами обеспечивать высокую селективность молекулярного распознавания одного вида целевых молекул в присутствии множества других соединений близкого строения. К их несомненным достоинствам относятся методическая простота получения (в отличие, например, от выработки антител к низкомолекулярным соединениям, являющейся многостадийным и длительным процессом), высокая воспроизводимость синтезов. Кроме того, ПМО стабильны в агрессивных средах и при резком изменении условий эксплуатации и могут быть синтезированы к фактически любому веществу -неорганическим ионам, наркотикам, нуклеиновым кислотам, белкам, клеткам и даже супертоксичным соединениям, для которых, например, поликлональные антитела получены быть не могут.

Синтез ПМО осуществляется в присутствии молекул темплатов, в роли которых чаще всего выступают определяемые соединения, оставляющие свои «отпечатки» в синтезированном полимере (рис.1).

Полимеры с молекулярными отпечатками, на поверхности которых сформированы поры определенного размера с комплементарно расположенными функциональными группами, способны специфически распознавать молекулы «шаблона» и впоследствии связывать их подобно антителам. ПМО получают ковалентным, не ковалентным или металл-ион-медиаторным способами при поперечном сшивании реагентов [4,5]. У нековалентного синтеза существует важнейшее преимущество, позволяющее осуществлять быстрое и обратимое взаимодействие между полимером и темплатом. Следует отметить, что общих

правил для выбора технологии полимеризации, дизайна молекулы шаблона, применяемых функционального и кросс-мономеров, природы растворителя не существует. Все эти условия выбираются индивидуально.

Наиболее подробно изучен способ блочной полимеризации ПМО [4,5]. Полимеры, синтезированные таким способом, после предварительного измельчения и фракционирования, обрабатывают подходящим растворителем или смешивают с поливинилхлоридом и наносят в виде тонкого слоя на поверхность электрода сенсора [6]. Такой прием характеризуется высокой трудоемкостью и продолжительностью, плохо совместим со свойствами физического преобразователя сенсора, что объясняет меньшее применение ПМО в сенсорах по сравнению с другими областями аналитической химии.

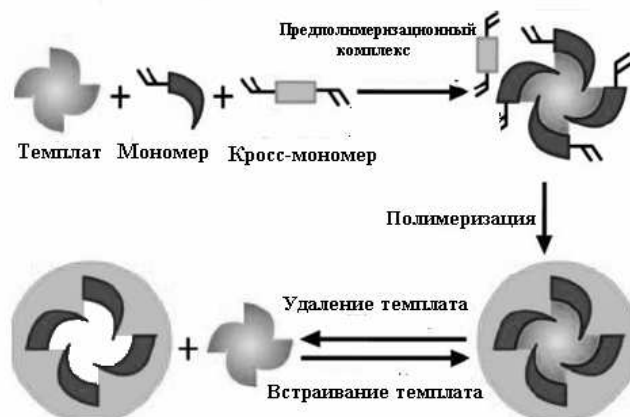


Рис.1. Схематическое представление принципа молекулярного импринтинга

В данном обзоре представлено современное состояние исследований в области разработки пьезокварцевых сенсоров на основе полимеров с молекулярными отпечатками для определения макро- и микромолекул в жидких средах. Наиболее часто на основе ПМО получают распознающий слой сенсора, при взаимодействии которого с определяемым соединением происходит увеличение присоединенной массы [7-10]. Акцентировано внимание на перспективных методах синтеза импринтированных полимерных пленок непосредственно на поверхности электрода сенсора и методах поверхностного импринтинга.

Формирование распознающих слоев ПМО непосредственно на поверхности электрода пьезокварцевого сенсора

Для получения пленок молекулярно импринтированных полимеров на поверхности электрода сенсора наибольшее распространение получили способ фотополимеризации [11-21] (табл.1), покрытие при вращении (spin-coating) [22-30], сэндвич-метод (sandwich-casting) [31, 32]), а также способы термоиндуцированного разделения фаз [33], послойного депонирования (layer-de-layer deposition) [34], электрополимеризация [35,36], смешанные подходы, основанные на нанотехнологиях [37-40]. Однако проблемы синтез полимерных пленок в сочетании с сенсорами до сих пор остаются ключевыми в ПМО-технологии [2, 41].

Как правило, при получении пленок молекулярно импринтированного полимера **методом фотополимеризации** на поверхность электрода сенсора дозируется раствор, содержащий смесь функционального и кросс-мономеров, темплат и инициатора полимеризации, а затем осуществляется полимеризация под

действием УФ-излучения. Далее молекулы темплата удаляются с поверхности пленки ПМО с помощью подходящего растворителя (рис.2).

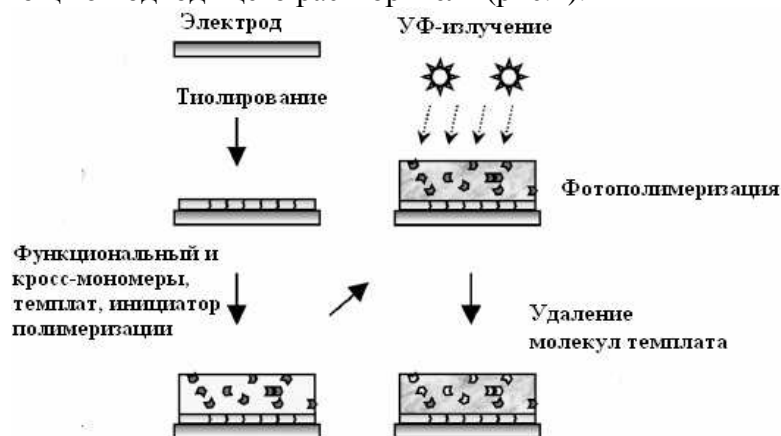


Рис.2. Схема формирования распознающего слоя на основе ПМО методом фотополимеризации

Таблица 1. Пьезокварцевые сенсоры на основе молекулярно импринтированных пленок, сформированных методом фотополимеризации

№ п/п	Функциональный мономер/кросс агент/инициатор	Темплат	Диапазон определяемых концентраций	Лит
1	4-VP / DVB /бензофенон	α -Билирубин	0.45-11.0 мг/ мл	[12]
2	4-VP / DVB /бензофенон	Бисфенол-А	100–600 ppb	[13]
3	MAA/ EGDMA AIBN	Атразин	1–10 мкМ	[14]
4	MAA/DVB/ AIBN	Креатинин	25–600 мкМ	[15]
5	DEAEM/MBSC/ACVA	Домоёвая кислота	2-300 мг/л	[16]
6	MAA/EGDA/ AIBN	Глюкоза	0.07–8 мМ	[17]
7	MMA/ EGDA/ AIBN	L-ментол	0.1–1 мг/л	[18]
8	MMA / TRIM/АВАН	Пропранолол	0.1–4 мМ	[19]
9	MAA/ EGDA/ AIBN	Терпены		[20]
10	AA/ EGDA/ AIBN	Вирус табачной мозаики	100 нг/мл–1 мг/мл	[21]

Получили развитие два подхода. В первом поверхность сенсора предварительно тиолируют для создания активных групп и улучшения адгезии отпечатанного полимера к металлическому электроду [12,13,16, 17, 19, 20] (иногда также проводят иммобилизацию инициатора полимеризации или темплата на поверхности самоорганизованного монослоя), а во втором пленку формируют непосредственно на поверхности электрода без любой активации.

Сэндвич-метод (sandwich-casting) отличается только тем, что полимерную смесь помещают между тонкой кварцевой пластиной и электродом сенсора, что способствует равномерному распределению раствора по поверхности электрода и предотвращает окисление кислородом, а затем проводят фотополимеризацию.

В **«spin-coating»-способе** формирование распознающего слоя осуществляют при вращении сенсора с постоянной скоростью, что способствует получению на поверхности электрода пленки одинаковой толщины (табл.2). Здесь возможно два варианта: в первом при постоянной скорости вращения сенсора вначале образуется приповерхностный слой раствора на основе темплата, инициатора полимеризации,

функционального и кросс – мономеров, который затем полимеризуется при облучении светом УФ-диапазона или при нагревании. Во втором на вращающийся сенсор наносится покрытие на основе частиц ПМО, синтезированных методом блочной полимеризации, с цианоакриловым эфиром (поливиниловым спиртом, поливинилхлоридом) в подходящем растворителе [42].

Наилучшие результаты при синтезе пленок ПМО были отмечены при применении в качестве функциональных мономеров MMA, MMA, AA и 4-VP, что объясняется их способностью к образованию водородных или координационных связей с молекулой шаблона. Применяемые при синтезе кросс-мономеры (EGDMA, TRIM и DVB) играют важную роль для обеспечения стабильности «сайтов» импринтинга, сохранения способности полимера к молекулярному распознаванию. В качестве инициаторов фотополимеризации, как правило, выступают AIBN, бензофенон или ацетофенон, а порогенных растворителей - диметилформамид, полярный растворитель, часто используемый в том случае, если разрабатываемый сенсор предназначен для анализа водных сред.

Пьезокварцевые сенсоры на основе распознающих слоев, полученных методами фотополимеризации, «spin-coating» или сэндвич - методами, характеризуются высокой чувствительностью (табл. 1, 2) и селективностью при определении низкомолекулярных соединений. Это может быть связано с более высокой концентрацией поверхностных «сайтов» распознавания микромолекул по сравнению с макромолекулами на поверхности импринтированного полимерного слоя, а также с лучшей стерической доступностью отпечатков для повторного связывания.

Селективность является решающим аспектом практического применения сенсоров. Достаточно высокая селективность молекулярного распознавания ПМО-пьезокварцевых сенсоров после удаления молекул темплата объясняется как формированием 3D-структуры, так и комплементарным расположением функциональных групп мономера вокруг темплата при синтезе. Например, использование 4-VP и МАА в качестве функциональных мономеров позволяет осуществлять высокочувствительное и селективное определение парацетамола [27] в присутствии соединений родственной структуры. Применение метода импедансной спектроскопии не выявило изменений вязкоэластичных свойств ПМО-пленки во время работы сенсора.

Датчик был стабилен и показал хорошую воспроизводимость результатов как при анализе модельных растворов, так и при определении парацетамола в биологических жидкостях [27].

Исключительную селективность проявляют и ПМО с молекулярными отпечатками относительно объемных молекул, например, стероидов [25]. Сенсор на нандролон (используемый в качестве допинга в спортивных состязаниях) с высокой специфичностью распознает аналит в присутствии тестостерона и эристерона (до 2 ppm), имеющих родственное строение и отличающихся только на одну метильную группу. Альтернативным способом повышения селективности детектирования с помощью ПМО-сенсоров является использование эффекта поддерживающей жидкой мембраны (SLM), что демонстрируется при определении кофеина и ванилина в пищевых продуктах [43, 44]. Авторы предложили перед ПМО сенсором размещать поддерживающую жидкую мембрану, представляющую собой трехфазную систему с органической фазой, контактирующей с двумя водными.

Таким образом, мешающее влияние посторонних компонентов существенно уменьшается, поскольку они не пропускаются мембраной в ячейку QCM-детектирования. Органическая фаза закрепляется на пористой гидрофобной

мембране. Техника SLM может быть представлена как комбинация двухступенчатой жидкость-жидкостной экстракции и диализа, что дает множество преимуществ по сравнению с другими методами выделения, традиционно используемыми для предварительной пробоподготовки при определении следовых концентраций. Кроме существенного увеличения селективности при использовании SLM достигается и высокая степень концентрирования аналита, а также предотвращается контакт с органическими растворителями [43].

Таблица 2. Пьезокварцевые сенсоры на основе молекулярно импринтированных пленок, сформированных «spin-coating»- или сэндвич-методами

№ п/п	Метод	Функциональный мономер/кросс агент/инициатор	Темплат	Диапазон определяемых концентраций	Лит.
1	Spin-coating	DMAPMA/TEGDMA/CHP-TMEDA	Альбумин	60–100 ppm	[22]
2	Spin-coating	MAA/EGDA/ AIBN	Кофеин	10^{-9} -1 мг/мл	[23]
3	Spin-coating	MAA/EGDA/ AIBN	Эпинефрин	$5 \cdot 10^{-8}$ - $2 \cdot 10^{-5}$ М	[24]
4	Spin-coating	MAA/EGDA/ AIBN	Нандролон	0–0.1 мг/л	[25]
5	Spin-coating	MAA/EGDA/ AIBN	Ниацинамид	$5 \cdot 10^{-9}$ - $5 \cdot 10^{-6}$ М	[26]
6	Spin-coating	MAA или 4-VP/ EGDA/ AIBN	Парацетамол	$5 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ М	[27]
7	Spin-coating	MAA/EGDA/ AMPN	Фенацетин	$5 \cdot 10^{-8}$ - $5 \cdot 10^{-4}$ М	[28]
8	Spin-coating	MAA/EGDA/ AIBN	Фенобарбитал	$9 \cdot 10^{-8}$ - $5 \cdot 10^{-5}$ М	[29]
9	Spin-coating	MAA/EGDA/ AIBN	Ванилин	1.3–65 мкМ	[30]
10	Sandwich casting	AM /TRIM/ AIBN	L-триптофан	$8.8 \cdot 10^{-3}$ -4.5 мМ	[31]
11	Sandwich casting	DMAEMA / EGDMA/ AIBN	β -индолилуксусная кислота	5–100 мкМ	[32]

Следует отметить, что ПМО-сенсор, предназначенный для работы в водных растворах, не должен набухать или сжиматься, что может приводить к изменению конфигурации молекулярного отпечатка и нарушать стабильность его работы. К недостаткам описанных выше способов формирования пленок ПМО следует отнести невысокую воспроизводимость массы и степени импринтинга от партии к партии, поскольку трудно управлять толщиной пленки во время синтеза полимера. Повторяемость характеристик покрытий, полученных такими способами, составляет примерно 9%. Продолжительность формирования распознающего слоя возрастает в случае необходимости получения на поверхности золотого электрода сенсора самоорганизованных монослоев тиолов (до 24 час), активации поверхности. Кроме того, селективность и кинетика процессов связывания аналита с ПМО сильно зависят от длины цепочки линейного тиола, используемого при получении самоорганизованных монослоев - если они слишком короткие, снижается возможность молекулярного распознавания целевого аналита, а если слишком длинные, то они могут своими гибкими цепями заблокировать сайты распознавания.

Оптимальными свойствами поэтому обладают системы на основе додекантиола [45] и тетрадекантиола [46].

Использование техники **электрополимеризации** обеспечивает получение ультратонких молекулярно импринтированных пленок непосредственно на поверхности электрода сенсора [36]. Электросинтезированные покрытия характеризуются высокой химической стабильностью, высокой адгезией к поверхности электрода. Применение метода электрополимеризации позволяет существенно повысить надежность получения слоя с воспроизводимыми характеристиками, сократить продолжительность получения покрытия и упростить процедуру анализа. Электросинтез ПМО, как правило, осуществляется методом циклической вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала. Свойства пленок ПМО, как и в методе фотополимеризации, существенно зависят от природы функционального мономера и его концентраций в реакционной смеси, дизайна молекулы темплата. Важную роль играет природа и концентрация фонового электролита, влияющего на морфологию поверхности полимерного слоя и скорость пленкообразования.

Наиболее привлекательными свойствами обладают электрогенерированные пленки ПМО на основе полипиррола (табл. 3), поскольку они могут быть получены на поверхности различных металлических электродов и использованы в нейтральной области рН. При положительных потенциалах полипиррол подвергается сверхокислению и этот процесс зачастую рассматривается как нежелательный, приводящий к потере электропроводимости и выделению допированных молекул. Однако пленки на основе сверхокисленного полипиррола могут работать в режиме молекулярного сита при обмене ионами [47]. Первое успешное применение сверхокисленных пленок полипиррола, импринтированных глутаминовыми кислотами, было продемонстрировано при разработке сенсора для энантиоселективного определения анионных темплатов, в частности L- и D глутаминовых кислот [47, 48] (рис. 3). Удаление молекулы темплата из полимерного слоя и последующее повторное связывание основывалось на кислотно-щелочном равновесии глутаминовой кислоты.

Таблица 3. Пьезокварцевые ПМО-сенсоры на основе электрогенерированных пленок полипиррола

№	Темплат	Условия получения	Ссылка
1.	L-GA	0.5 М Ру, 1.0 М L-GA в 0.1 М NaOH (рН 6.9) ; сверхокисленный полипиррол получен при развертке потенциала -0.3 - +1.0 В (или +1.4 В) со скоростью 40 мВ/с, плотность тока 50 нА/см ² . Затем в пленку сверхокисленного полипиррола была темплантирована L-GA	[47]
2.	L-Asp	0.2 М Ру, 0.5 М L-Asp в 1М NaOH (рН 11); гальваностатический режим, плотность тока 0.01 мА/см ²	[49]
3.	DA	10 ⁻² М Ру, 0,1 М LiClO ₄ и 10 ⁻³ М DA; циклическая вольтамперометрия, развертка потенциала -0.6-1.2 В со скоростью 10 мВ/с, 4 цикла; регенерация - 0,1 М фосфатный буфер (рН 7,4)	[55]
4.	Кофеин	200 мМ Ру, 20 мМ кофеина, рН 7; гальваностатический режим, плотность тока 4 мА/см ² ; регенерация - вода-уксусная кислота (1:10); 2-10 мин	[52]

Такая же схема, базирующаяся на использовании сверхокисленного полипиррола, была реализована при разработке ПМО сенсоров для

энантиоселективного распознавания L-аспарагиновой кислоты [49], L-триптофана [50] и L-аланина [51].

Механизм импринтинга отличается при применении в качестве темплатов нейтральных молекул (кофеина, додецилсульфата натрия, допамина) [52-54]. В этом случае взаимодействие между молекулами темплата с PPy происходит по традиционной схеме за счет образования водородных связей или ионных взаимодействий (рис. 4).

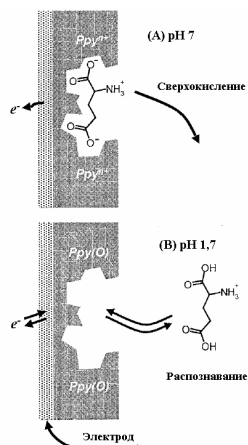


Рис. 3. Схема энантиселективного поглощения L-глутаминовой кислоты пленкой сверхокисленного полипиррола: (А) – удаление L-GA и формирование отпечатка сверхокислением; (В) - селективное поглощение и выделение L-GA [47]

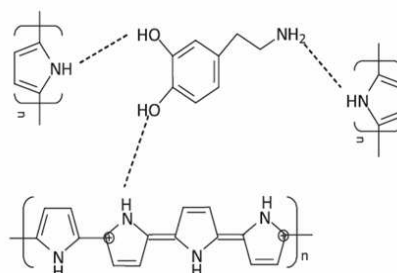


Рис. 4. Схема формирования связей в ПМО между молекулой допамина и полипирролом

Компактные и устойчивые распознающие слои пьезокварцевых ПМО-сенсоров могут быть получены в водных буферных растворах при различных значениях pH (наиболее часто в ацетатном буфере) методом циклической вольтамперометрии на основе гомо- и сополимеров о-фенилендиамин. Для повышения адгезии электросинтезированного слоя поверхность электрода тщательно очищается. Так, например, поверхность золотого электрода сенсора для определения 4-АВА полировали Al_2O_3 (0,3 мкм), обрабатывали ультразвуком в дистиллированной воде, а затем очищали методом циклической вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала (-0.20-1.50 В) в 0.5 моль/л H_2SO_4 [56]. Формирование отпечатков 4-АВА обеспечивалась за счет образования водородных связей между гидроксильной и амино-группами темплата с полимером (рис.5).

Аналогично происходит формирование ПМО глюкозы, DL-фенилаланина, сорбитола [35, 57, 58]. ПМО-сенсоры проявляли высокую чувствительность, селективность и воспроизводимость аналитического сигнала при определении этих соединений.

Электросинтез ПМО на основе сополимеров о-фенилендиамин способствует улучшению структуры распознающего слоя сенсора и упрощению технологии удаления молекул темплата с поверхности пленки. Так, сополимер о-фенилендиамин с анилином, взятый в соотношении 1:40, синтезированный в присутствии сульфата атропина, характеризуется высокой однородностью распределения поверхностных отпечатков, а повторное нековалентное связывание атропина удовлетворительно описывается уравнением изотермы Лэнгмюра [59].

Огромный потенциал электрохимического импринтинга продемонстрировали функциональные мономеры на основе производных бис (битиофенов) (табл.5), проявляющие высокие комплексообразующие свойства по отношению к целевым анализам при создании высокочувствительных сенсоров на соединения, содержащие аминогруппу (гистамин [60], меламина [61], аденин [62], допамин [63]).

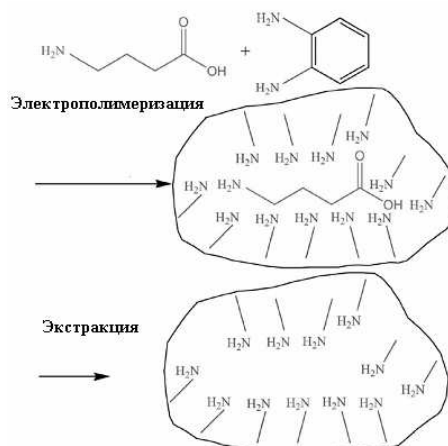


Рис. 5. Схема формирования ПМО 4-АВА на основе о-фенилендиамина

Подготовка распознающего слоя для определения гистамина включала две последовательные электрохимические полимеризации, выполненные методом циклической вольтамперометрии в присутствии (ТВА)ClO₄ в ацетонитриле. Сначала для предотвращения электроокисления гистамина на поверхности Pt-электрода был электрогенерирован слой поли(битиофена), а затем уже на этом слое в присутствии гистамина был электросинтезирован сополимер на базе двух производных битиофена, содержащих такие заместители, как 18-краун – 6 и диоксиборинан [60]. Для экстрагирования гистамина из полимерной матрицы применялся 0.01 М раствор NaOH. По аналогичной технологии на поверхности Pt-электрода в ацетонитриле были электросинтезированы пленки ПМО аденина [62] и допамина [63]. На рис. 6 приведена схема взаимодействия допамина с «сайтом» распознавания полимера.

Электросинтез ПМО меламина осуществлялся в менее полярном растворителе - фосфоний-фосфатной ионной жидкости [тригексил (тетрадецил) фосфониум - трис (пентафлуорэтил) трифлуорофосфат], способствующей стабилизации структуры предполимеризационного комплекса, а использование в качестве кросс-мономера 3,3'-бис[2,2'-бис(2,2'-битиофен-5-ол)] тианафтена увеличивало значение константы связывания аналита с полимерной матрицей при повторном связывании [61]. Как правило, практически для всех сенсоров на основе bTth предварительно синтезировались функциональные мономеры. Например, для сенсора, предназначенного для определения фолиевой кислоты [64], предварительно синтезировали функциональный мономер на основе дендрона бис(тертиофена), который далее использовался в электрохимическом синтезе ПМО.

Электросинтезированные ПМО на основе фенола, его производных или ациламида в пьезокварцевых сенсорах используются относительно редко. Исключением могут быть только покрытия на основе о- или п-аминофенола [67, 68], формирующие в ходе электросинтеза в структуре полимера отпечатки вследствие образования водородных связей между аминогруппой полимера и функциональными группами темплата (табл.6), что было подтверждено ИК-спектроскопическими исследованиями.

Таблица 4. Пьезокварцевые ПМО-сенсоры на основе пленок гомо – и сополимеров о-фенилендиамина

№	Темплат	Условия получения	Ссылка
1.	4-АВА	5 мМ о-PD и 0,2 М в фосфатном буфере (рН=5.8) и 0,10 мМ 4-АВА; циклическая вольтамперометрия (0–0.8 В) со скоростью 50 мВ/с; 10 циклов; регенерация - дистиллированная вода, в течение 48 ч	[56]
2.	DL-Фенилаланин	0.01 М о-PD и 0,02 М DL-фенилаланин в 0,1 М ацетатном буферном растворе (рН 6,0); циклическая вольтамперометрия (0.1-0.8 В), скорость сканирования 50 мВ/с, 20 циклов; регенерация – 0.01 М раствор CH ₃ COOH (5 раз) и 0,1 М ацетатный буфер (рН 6,0) (3 раза)	[57]
3.	Глюкоза, сорбитол	5 мМ о-PD и 20 мМ глюкозы (сорбитола) в ацетатном буфере (рН 5.2); циклическая вольтамперометрия (0.0-0.8 В), скорость сканирования 50 мВ/сек, 20 циклов (30 циклов); Pt- электрод	[35, 58]
4.	Сульфат атропина	<u>Сополимер о-PD и An</u> 4 мМ о-PD, 0.16 М анилина, 0.1 М H ₂ SO ₄ и 0.02 М сульфата атропина; циклическая вольтамперометрия (-0.1–0.8 В), скорость сканирования 50 мВ/сек; регенерация дистиллированной водой (1 ч), затем 15 мин 0.1 М H ₂ SO ₄	[59]

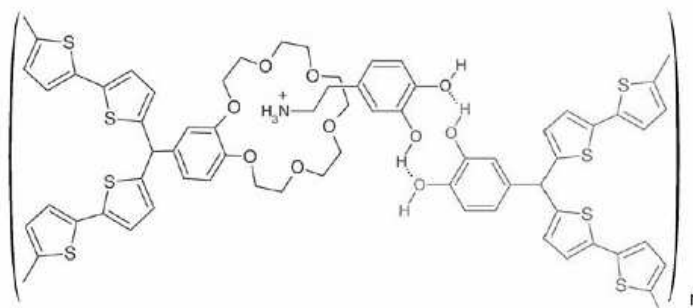


Рис. 6. Структурная формула, показывающая взаимодействие допамина с распознающим «сайтом» ПМО

Тонкие пленки на основе электрополимеризованного полиакриламида, импринтированного L-гистидином (или D-гистидином) [69], исследованные методом импедансной спектроскопии, проявляют селективность по отношению к молекулам темплата и могут использоваться в биомиметических сенсорах для высокоспецифичного распознавания L-гистидина и хирального разделения энантиомеров.

Ультратонкие импринтированные слои ПМО также могут быть получены на основе сополимеров анилина с ди- или тригидроксibenзолами. Так, для получения пленок ПМО цефотаксима предложен полимер на основе анилина и гидрохинона [70], проявляющий высокую селективность по отношению к цефотаксиму в присутствии других антибиотиков β-лактамной группы.

Таблица 5. Пьезокварцевые ПМО-сенсоры на основе производных тиофена

№	Полимерная матрица ПМО	Темплат	Ссылка
1	2	3	5
1.	Полибистиофен - сополимер поли(бис(2,2'-битиенил)-5,5-диметил-2-фенил-[1,3,2]диоксаборинанметана) и бис(2,2'-битиенил)-бензо-[18-краун-6] метана	Гистамин, аденин	[60, 62]
2.	Политиофен – сополимер поли(бис(2,2'-битиенил)-бензо-[18-краун-6]метана и 3,3'-бис[2,2'-бис(2,2'-битиофен-5-ил)] тионафтена	Меламин	[61]
3.	Полибистиофен - сополимер поли(мезо-(3,4-дигидроксифенил)-бис(2,2'-битиенил)метана и бис(2,2'-битиенил)-бензо-[18-краун-6] метана ⁰	Допамин	[63]
4.	Политиофен [основе дендрона бис(тертиофена (G1 ЗТОН))]	Фолиевая кислота	[64]
5.	Политиофен на основе 3-тиофенмалоновой кислоты (G03T-COOH)	Тербутилазин	[65]
6.	Политиофен на основе 3-тиофенмалоновой кислоты (G03T-COOH)	Пинаколил метилфосфонат	[66]

Таблица 6. Пьезокварцевые ПМО-сенсоры на основе электрогенерированных пленок о- и п-аминофенола, анилина, акриламида

№	Темплат	Условия получения	Ссылка
Полиаминофенол			
1.	Допамин (DA)	0.01 M DA, 0.02 M о-AP и 0.1 M NaClO ₄ (pH 5,5); циклическая вольтамперометрия (-0.20–1.20 В), скоростью сканирования 100 мВ/с, 30 циклов; регенерация – 0.5 M H ₂ SO ₄ в течение 12 ч	[67]
2.	Пенициллин G	0.3 M п-AP, 0.1 M H ₂ SO ₄ , 0.03 M резорцина; циклическая вольтамперометрия (-0.2-1.25 В), 1 цикл	[68]
Полиакриламид			
3.	L-гистидин (D-гистидин)	1 mM AA, 0.04 M MBSC, 0.2 M NaNO ₃ , 0.01 M Na ₂ S ₂ O ₈ и 0.02 M L- или D – гистидина; циклическая вольтамперометрия (-0.4-1.4 В), скорость сканирования 50 мВ/с, 20 циклов; регенерация – 0.1 M HCl, дистиллированная вода	[69]
Полианилин			
4.	Цефотаксим	0.2 M An, 0.01 M гидрохинона, 1 M цефотаксима, 0.3 M HClO ₄ ; циклическая вольтамперометрия (-0.2÷+1.4 В), 3 цикла	[70]

Формирование распознающих слоев сенсора методом поверхностного импринтинга

Стратегия получения пленочных покрытий на основе ПМО «объемными» методами (например, методом фотополимеризации) не всегда приемлема при импринтировании объемных аналитов, таких, как живые клетки и микроорганизмы, поскольку увеличивает время получения аналитического отклика и дрейф аналитического сигнала. Кроме того, равномерное распределение объемных аналитов по толщине ПМО слоя затрудняет его регенерацию. Эти осложнения могут быть преодолены с появлением специальной технологии, известной как

поверхностный импринтинг [71,72]. Формирование распознающего слоя на поверхности полимерного или золь-гель материала способом поверхностного импринтинга позволяет осуществлять специфическое распознавание макромолекул или биоаналитов. Поверхность полимера геометрически и химически подгоняется под структуру аналита [73], что способствует обратимому и быстрому связыванию и удалению с поверхности «отпечатка» целевой молекулы. Поверхностно отпечатанные полимеры были широко исследованы для различных типов аналитов от микроорганизмов и клеток [74, 75] до белков и высокомолекулярных соединений [76]. Следует отметить исследования, посвященные разработке массочувствительных дивайсов на основе поверхностного импринтинга слоев на основе полиуретана или полученных методом золь-гель технологии, выполненные F. Dickert и сотрудниками [77-79], предназначенные для определения объемных биомолекул, в том числе вируса табачной мозаики [21], трипсина [80], вирусов, клеток [81]. Очевидно, что пьезокварцевые сенсоры на основе поверхностно импринтированных ПМО позволяют осуществлять надежное детектирование объемных молекул по прямому приращению массы распознающего слоя сенсора. И хотя поверхностно отпечатанные слои могут показывать более низкую чувствительность по сравнению с распознающими материалами, полученными другими способами, из-за сокращенного количества структурно адаптированных центров связывания, тем не менее, техника поверхностное импринтинга имеет некоторое преимущество перед другим технологиями синтеза. Главное ее достоинство связано с одинаково хорошим потенциалом для макро- и наноразмерных аналитов, например, гербицидов [82].

Среди современных способов поверхностного импринтинга следует выделить метод софт литографии [83], являющийся многообещающим инструментом для приготовления слоев для распознавания живых клеток и микроорганизмов [84], белков [85] и других макромолекул. Кроме того, в стратегии печатания важным является технология синтеза, влияющая на возможность повторного связывания с аналитом [86].

Метод софт литографии или штамповки был предложен Bain и Whitesides для микро- и наноразмерного копирования. Это удобный и эффективный метод для микро- и нанофабрикации, основанный на самосборке при получении реплик. Софт литография не требует использования дорогостоящих реагентов или специализированного оборудования, применяет мягкие полимерные штампы, чтобы отпечатать молекулы или биоконпоненты на твердое основание и получить сайты распознавания размером от 30 нм до 100 мкм [87]. В софт литографии биоотпечатанные оттиски получают при надавливании подходящего шаблона на слой полимеризованного материала, размещенного на поверхности пьезокварцевого преобразователя (рис. 7).

Предварительно получают штамп, закрепляя аналиты (микроорганизмы или макромолекулы) на гладкой подложке при определенной температуре и влажности воздуха. Впоследствии шаблон при получении отпечатков выдерживают в соприкосновении с полимером в течение фиксированного времени, достаточного для образования поверхностно импринтированных структур [88], совпадающих по размеру с шаблоном и имитирующим его структурные и геометрические особенности в синтетический материал, что гарантирует высокую селективность и специфичность распознавания. Способ софт литографии позволяет не только воспроизводить особенности широкого перечня биореагентов и макромолекул, но также позволяет получать информацию об обратимых не ковалентных взаимодействиях между функциональными группами ПМО и поверхностными

группами аналита.



Рис. 7. Схема формирования распознающего слоя способом софт литографии

Качество поверхностного импринтинга напрямую связано со свойствами и дизайном поверхности штампа, природой материала подложки. Например, живые клетки должны быть плотно упакованы, чтобы достичь высокой поверхностной концентрации отпечатков. Обычно иммобилизацию клеток проводят за счет самоорганизации на поверхности штампа, добиваясь получения непрерывного слоя [89], принимая во внимание природу шаблона и его поверхностную структуру. Использование стеклянных подложек и более высокого механического давления возможно при изготовлении штампов частиц, имеющих твердую структуру (например, вирусов табачной мозаики [90]). С другой стороны, чтобы отпечатать относительно более мягкие эритроциты или другие биоразновидности, имеющие хрупкую структуру, рекомендуется относительно более эластичный материал полидиметилсилоксан [91].

Отпечатанный слой поверхности полимера может выборочно распознавать целевой аналит вследствие геометрического соответствия или не ковалентного взаимодействия. На распознающие свойства можно влиять, регулируя полярность полимера, его состав и методологию импринтинга. Матрица полимера на основе функционального мономера и высокие концентрации кросс - линкера обеспечивают геометрическую стабильность и жесткость отпечатка, сохраняющего форму и не разрушающегося после удаления шаблона. Так, полимерные матрицы на основе полиуретана, имеющие трехмерную структуру, хорошо сохраняют жесткость, а также вследствие образования водородных связей между полимером и биомолекулами способствуют специфическому распознаванию аналита. Оптимальные свойства импринтированной поверхности также достигаются за счет учета влияния полярности полимера и свойств биоаналита [92].

В настоящее время технология софт литографии относится к наиболее часто используемым методам поверхностного импринтинга. В течение последних лет появляются новые варианты поверхностного импринтинга, прокладывающие путь к будущему успеху в коммерциализации биомиметических датчиков для распознавания биологически важных аналитов, оперативного контроля качества пищи, биомедицинской диагностики [93].

Заключение

Анализ публикаций за последние десять лет показывает, что научное направление, связанное с разработкой и применением пьезокварцевых ПМО-сенсоров, вызывает растущий интерес исследователей во всем мире. Относительно низкая стоимость в сочетании с высокой чувствительностью делает пьезокварцевые сенсоры на основе полимеров с молекулярными отпечатками реальной альтернативой датчикам на основе антител или аптамеров. В тоже время, дальнейшего развития требуют такие проблемы, как совершенствование способов синтеза ПМО, способных эффективно функционировать в воде, улучшение соотношения между специфическими и неспецифическими взаимодействиями с поверхностью полимера.

Кроме того, для повышения качества ПМО-сенсоров требуется развитие сотрудничества между аналитиками и полимерщиками, аналитиками и инженерами, разрабатывающими датчики. Этот мультидисциплинарный подход был бы очень полезен для решения настоящих проблем во многих областях применения.

*Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ
(№09-03-97566 и № 13-03-97505)*

References

- Piletsky S., Turner A. Molecular imprinting of polymers. Georgetown, Texas: Landes Bioscience, 2006, 208 p.
- Ye L., Haupt K. Anal. Bioanal. Chem, 2004, Vol. 378, pp. 1887-1897.
- Dickert F.L., Lieberzeit P., Tortschanoff M. Sensors and Actuators B, 2000, Vol. 65, pp. 186-189.
- Sellergren B. Molecularly Imprinted Polymers Man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry. Amsterdam: Elsevier, 2001, 557 p.
- Wulff G. Angew. Chem. Int. Ed. Engl, 1995, Vol. 34, pp. 1812-1832.
- Yaqub S., Latif U., Dickert F.L. Sensors and Actuators B, 2011, Vol. 160, pp. 227-233.
- Baggiani C., Anfossi L., Giovannoli C. Analyst, 2008, Vol. 133, pp. 719-30.
- Uludag Y., Piletsky S.A., Turner A.P.F et al. FEBS Journal, 2007, Vol. 274, pp. 5471-5480.
- Piacham T., Josell A., Arwin H. et al. Chim. Acta, 2005, Vol. 536, pp. 191-196.
- Cao L., Zhou X. C., Li S.F.Y. Analyst, 2001, Vol. 126, pp. 184-188.
- Gültekin A., Karanfil G., Sönmezoğlu S. et al. Materials Science and Engineering C, 2014, Vol. 42, pp. 436-442.
- Wu A.H., Syu M.J. Biosens. Bioelectron, 2006, Vol. 21, pp. 2345-2353.
- Tsuru N., Kikuchi M., Kawaguchi H. et al. Thin Solid Films, 2006, Vol. 499, pp. 380-385.
- Shoji R., Takeuchi T., Kubo I. Anal. Chem, 2003, Vol. 75, No. 18, pp. 4882-4886.
- Panasjuk-Delaney T., Mirsky V.M., Wolfbeis O.S. Electroanalysis, 2002, Vol. 14, pp. 221-224.
- Lotierzo M., Henry O.Y.F., Piletsky S.A. et al. Biosens. Bioelectron, 2005, Vol. 20, No. 11, pp. 2197-2202.
- Malitesta C, Losito I, Zambonin PG, Anal Chem, 1999, Vol. 71, pp. 1366-1370.
- Percival A.J., Stanley S., Galle M. et al. Anal. Chem, 2001, Vol. 73, pp. 4225-4228.
- Piacham T., Josell A., Arwin H. et al. Anal. Chim. Acta, 2005, Vol. 536, pp. 191-196.
- Kikuchi M., Tsuru N., Shiratori S. et al. Adv. Mater, 2006, Vol. 7, pp. 156-161.
- Dickert F.L., Bindeus O.H.R., Mann K.J. et al. Bioanal. Chem, 2004, Vol. 378, No 8, pp. 1929-1934.
- Lin T.Y., Hub C.H., Chou T.C. Biosens. Bioelectron, 2004, Vol. 20, pp. 75-81.
- Ebarvia B.S., Sevilla F.B. Sensors and Actuators B, 2005, Vol. 107, No 2, pp. 782-790.
- Liang C., Peng H., Zhou A. et al. Chim. Acta, 2000, Vol. 415, pp. 135-141.

25. Percival A.J., Stanley S., Braithwaite A. et al. *Analyst*, 2002, Vol. 127, No 8, pp. 1024-1026.
26. Zhang Z., Li H., Liao H. et al. *Sensors and Actuators B*, 2005, Vol. 105, No 2, pp. 176-182.
27. Tan Y., Zhou Z., Wang P. et al. *Talanta*, 2001, Vol. 55, No 2, pp. 337-347.
28. Tan Y., Peng H., Liang C. et al. *Sensors and Actuators B*, 2001, Vol.73, No 2-3, pp.179-184.
29. Peng H., Liang C., He D. et al. *Anal. Lett.*, 2000, Vol. 33, pp.793-808.
30. Avila M., Zougagh M., Escarpa A. et al. *Talanta*, 2007, Vol. 72, No 4, pp.1362-1369.
31. Liu F., Liu X., Ng S.C. et al. *Sensors and Actuators B*, 2006, Vol.113, No 1, pp. 234-240.
32. Kugimiya A., Takeuchi T. *Electroanalysis*, 1999, Vol. 11, pp. 1158-1160.
33. Lee M.-H., Thomas J. L., Tseng H.-Y. et al. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2011, Vol.3, pp. 3064-3071.
34. Shi F., Liu Z., Wu G. et al. *Adv. Funct. Mater*, 2007, Vol. 17, No 11, pp. 1821-1827.
35. Malitesta C., Losito I., Zambonin P.G. *Anal. Chem*, 1999, Vol.71, No 7, pp. 1366-1370.
36. Malitesta C., Mazzotta E., Picca R. et al. *Anal. Bioanal. Chem*, 2011, Vol. 402, pp.1827-1846.
37. Pérez-Moral N., Mayes A.G. *Bioseparation*, 2002, Vol.10, pp.287-299.
38. Vandeveld F., Belmont A.-S., Pantigny J. et al. *Adv. Mater*, 2007, Vol. 19, No 21, pp. 3717-3720.
39. Tokonami S., Shiigi H., Nagaoka T. *Anal. Chim. Acta*, 2009, Vol. 641, No 1, pp.7-13.
40. Willner I., Willner B., Tel-Vered R. *Electroanalysis*, 2011, Vol. 23, pp. 13-28.
41. Avila M., Zougagh M., Rios A. *Trends in Analytical Chemistry*, 2008, Vol. 27, No 1, pp. 54-65.
42. Arenas L.F., Ebarvia B.S., Sevilla F.B. *Anal. Bioanal. Chem*, 2010, Vol. 397, No 7, pp. 3155-3158.
43. Zougagh M., Rios A., Valcarcel M. *Anal. Chim. Acta*, 2005, Vol. 539, No 1, pp. 117-124.
44. Avila M., Zougagh M., Escarpa A. et al. *Talanta*, 2007, Vol. 72, No 4, pp. 1362-1369.
45. AOAC International, *Official Methods of Analysis*, 15th Edition, AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, 1990, 758 p.
46. Mirsky V., Hirsch T., Piletsky S.A. et al. *Angew. Chem*, 1999, Vol. 38, No 8, pp.1108-1110.
47. Deore B., Chen Z., Nagaoka T. *Anal. Chem*, 2000, Vol. 72, No 17, pp.3989-3994.
48. Deore B., Chen Z., Nagaoka T. *Anal. Sci*, 1999, Vol. 15, No 9, pp.827-828.
49. Syritski V., Reut J., Menaker A. et al. *Electrochim. Acta*, 2008, Vol. 53, No 6, pp. 2729-2736.
50. Kong Y., Zhao W., Yao S. et al. *J. Appl. Polym. Sci*, 2010, Vol.115, No 4, pp.1952-1957.
51. Shiigi H., Yakabe H., Kishimoto M. et al. *Microchim. Acta*, 2003, Vol. 143, pp.155-162.
52. Ebarvia B.S., Cabanilla S., Sevilla F. *Talanta*, 2005, Vol. 66, No 1, pp.145-152.
53. Ebarvia B.S., Sevilla F. in *proc. Asian Conf. Sensors Int. Conf. New Tech. Pharm. Biomed. Res.*, 2005, Kuala Lumpur, Malaysia, pp. 34-38.
54. Albano D.R., Sevilla F. *Sensors and Actuators B*, 2007, Vol. 121, pp. 129-134.
55. Maouchea N., Guergouri M., Gam-Derouich S. et al. *J. Electroanal. Chem*, 2012, Vol. 685, pp.21-27.
56. Zheng X., Lin R., Zhou X. et al. *Anal. Methods*, 2012, Vol. 4, pp. 482-487.
57. Peng H., Zhang Y., Zhang J. et al. *Analyst*, 2001, Vol.126, No 2, pp. 189-194.
58. Feng L., Liu Y., Tan Y. et al. *Biosens. Bioelectron*, 2004, Vol. 19, No 11, pp. 1513-1519.
59. Peng H., Liang C., Zhou A. et al. *Anal. Chim. Acta*, 2000, Vol. 423, No 2, pp. 221-228.
60. Pietrzyk A., Suriyanarayanan S., Kutner W. et al. *Anal. Chem*, 2009, Vol. 81, No 7, pp. 2633-2643.
61. Pietrzyk A., Suriyanarayanan S., Kutner W. et al. *Anal. Chem*, 2009, Vol. 81, No 24, pp. 10061-10070.
62. Pietrzyk A., Suriyanarayanan S., Kutner W. et al. *Biosens. Bioelectron*, 2010, Vol. 25, No 11, pp. 2522-2529.
63. Pietrzyk A., Suriyanarayanan S., Kutner W. et al. *Bioelectrochemistry*, 2010, Vol. 80, No 1, pp. 62-72.
64. Apodaca D.C., Pernites R.B., Ponnappati R.R. et al. *Appl Mater Interfaces*, 2011, Vol. 3, No 2, pp. 191-203.
65. Chen J., Xu G.-R., Bai L.-Y. et al. *Int. J. Electrochem. Sci*, 2012, Vol. 7, pp.9812-9824.

66. Vergara A.V., Pernites R.B., Pascua S. et al. *J. Pol. Sci. A*, 2012, Vol. 50, No 4, pp. 675-685.
67. Li J., Zhao J., Wei X. *Sensors and Actuators B*, 2009, Vol. 140, No 2, pp. 663-669.
68. Karaseva N.A., Soboleva I.G., Ermolaeva T.N. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2013, Vol. 13, No 1, pp. 5-9.
69. Liao H., Zhang Z., Nie L. et al. *Biochem. Biophys. Methods*, 2004, Vol. 59, No 1, pp. 75-87.
70. Karaseva N.A., Soboleva I.G., Ermolaeva T.N. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2011, Vol. 11, No 1, pp. 56-61.
71. Hayden O., Dickert F.L. *Adv. Mater.*, 2001, Vol. 13, No 19, pp. 1480-1483.
72. Yoshida M., Uezu K., Goto M. et al. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2000, Vol. 78, No 4, pp. 695-703.
73. Jenik M., Seifner A., Krassnig S. et al. *Biosens. Bioelectron.*, 2009, Vol. 25, pp. 9-14.
74. Lieberzeit P.A., Gazda-Miarecka S., Halikias K. et al. *Sensors and Actuators B*, 2005, Vol. 111-112, pp. 259-263.
75. Mujahid A., Dickert F. in book: Lee S.-W., Kunitake T. *Handbook of molecular imprinting - advanced sensor applications*. Singapore: Pan Stanford Publishing, 2012, pp. 527-570.
76. Ge Y., Turner A.P.F. *Trends in Biotechnology*, 2008, Vol. 26, No 4, pp. 218-224.
77. Dickert F.L., Hayden O. *Anal. Chem.*, 2002, Vol. 74, No 6, pp. 1302-1306.
78. Lieberzeit P.A., Dickert F.L. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2008, Vol. 391, No 5, pp. 1629-1639.
79. Dickert F.L., Hayden O., Bindeus R. et al. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, Vol. 378, No 8, pp. 1929-1934.
80. Hayden O., Haderspock C., Krassnig S. et al. *Analyst*, 2006, Vol. 131, No 9, pp. 1044-1050.
81. Hayden O., Bindeus R., Haderspock C. et al. *Sensors and Actuators B*, 2003, Vol. 91, No 1-3, pp. 316-319.
82. Xu S., Li J., Chen L.J. *Mater. Chem.*, 2011 Vol. 21, pp. 4346-4351.
83. Kane R.S., Takayama S., Ostuni E. et al. *Biomaterials*, 1999, Vol. 20, No 23, pp. 2363-2376.
84. Ferreira GNM, Da-Silva A-C, Tome B. *Trends Biotechnol.*, 2009, Vol. 27, pp. 689-97.
85. Bossi A., Bonini F., Turner A.P.F. et al. *Biosens. Bioelectron.*, 2007, Vol. 22, No 6, pp. 1131-1137.
86. Hillberg A.L., Tabrizian M. *IRBM*, 2008, Vol. 29, No 2-3, pp. 89-104.
87. Whitesides G.M., Ostuni E., Takayama S. et al. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 2001, Vol. 3, pp. 335-373.
88. Mujahid A., Dickert F. in book: Carrara S. *Nano-bio-sensing*. New York: Springer, 2011. pp. 45-82.
89. Dickert F.L., Hayden O., Bindeus R. et al. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, Vol. 378, No 8, pp. 1929-1934.
90. Dickert F.L., Lieberzeit P., Gazda-Miarecka S. et al. *Sensors and Actuators B*, 2004, Vol. 100, No 1-2, pp. 112-116.
91. Lieberzeit P., Glanznig G., Jenik M. et al. *Sensors*, 2005, Vol. 5, No. 12, pp. 509-518.
92. Dickert FL, Hayden O, Lieberzeit P. et al. *Synth Met.*, 2003; Vol. 65, No 9, pp. 138-142.
93. Mujahid A., Iqbal N., Afzal A. *Biotechnol Adv.*, 2013, Vol. 31, No 8, pp. 1435-1447.

Ермолаева Татьяна Николаевна – д.х.н., профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Липецкий государственный технический университет», Липецк

Чернышова Вероника Николаевна - студентка, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Липецкий государственный технический университет», Липецк

Ermolaeva Tatyana N. – doctor of chemistry, professor, Federal government budgetary of higher education «Lipetsk State Technical University», Lipetsk, etn@stu.lipetsk.ru

Chernyshova Veronika N. - student, Federal government budgetary of higher education «Lipetsk State Technical University», Lipetsk

Чеснокова Екатерина Викторовна - студентка, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Липецкий государственный технический университет», Липецк

Бессонов Олег Игоревич – студент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Липецкий государственный технический университет», Липецк

Chesnokova Ekaterina V. - student, Federal government budgetary of higher education «Lipetsk State Technical University», Lipetsk

Bessonov Oleg I. – student, Federal government budgetary of higher education «Lipetsk State Technical University», Lipetsk