



УДК 543.068.8: 620.3:544.77.023.5

Микро- и наночастицы полимеров с молекулярными отпечатками – синтез, характеристика и применение в пьезокварцевых сенсорах

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

Липецкий государственный технический университет, Липецк

Поступила в редакцию 28.02.2015 г.

В обзоре рассмотрены различные методологии синтеза микро- и наносфер полимеров с молекулярными отпечатками химических соединений и биомолекул. Обсуждены достоинства и недостатки методов суспензионной и эмульсионной полимеризации и пути их дальнейшего развития. Акцентировано внимание на таких наиболее популярных способах синтеза наночастиц ПМО, как микро- и миниэмульсионная полимеризация, метод precipitation, новых методах синтеза «ядро-оболочка» (core-shell, core-shell by grafting), позволяющих получать монодисперсные фракции частиц. Представлены результаты изучения особенностей синтеза сферических частиц ПМО методами «core-shell» и «core-shell by grafting» полимеризации. Обсуждены способы применения наночастиц ПМО в пьезокварцевых сенсорах.

Ключевые слова: микро- и наночастицы ПМО, синтез наночастиц, precipitation, суспензионная, эмульсионная, микроэмульсионная, миниэмульсионная полимеризации, «ядро-оболочка» полимеризация, пьезокварцевый сенсор

Micro- and nanoparticles molecularly imprinted polymers – synthesis, the characteristic and application in the piezoelectric sensors

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

Lipetsk State Technical University, Lipetsk

In the review various methodologies of synthesizing micro- and nanospheres of molecularly imprinted polymers (MIPs) of chemical compounds and biomolecules are considered. The advantages and disadvantages of suspension and emulsion polymerization and the ways of their further development are discussed. The attention is focused on the most popular methods of synthesizing MIP nanoparticles such as micro- and miniemulsion polymerization, the precipitation method, new methods of synthesizing (core-shell and core-shell by grafting), making it possible to obtain monodisperse fractions of particles. It is shown that the MIP synthesis reaction is a labor-intensive process depending on the nature and concentration of the functional and cross-monomers, the initiator, the temperature and duration of polymerization, the presence or absence of a magnetic field and even the volume of the polymerization mixture. The results of studying the features of the synthesis of spherical MIP particles by the methods of the «core-shell» and «core-shell by grafting» polymerization are presented. The methods may use magnetic nanoparticles of Fe_3O_4 as the core when obtaining an imprinted surface; these particles make it possible to carry out an effective magnetic division of complex samples. Methods are described of increasing the compatibility of MIP with aqueous media, including the ones obtained in using the hydrophilic monomers and water as a pore-forming solvent in the synthesis. Methods of applying MIP nanoparticles in the piezoelectric sensors are discussed. It is shown that the inclusion of nanoparticles in the structure of the recognizing layer increases the surface area and the

concentration of the available binding sites on the surface of a piezoelectric sensor, leads to the improvement of kinetic characteristics of heterogeneous affinity reactions and the expansion of the range of the detected contents .

Keywords: piezoelectric sensor, molecularly imprinted polymers, micro- and nanoparticles, suspension, emulsion, micro- and miniemulsion polymerization, precipitation method, core-shell and core-shell by grafting polymerization

Введение

В настоящее время для создания диагностических средств наибольшее применение находят антитела, позволяющие с высокой чувствительностью и селективностью распознавать различные химические соединения и биомолекулы в сложных по составу средах. К сожалению, антитела не могут производиться в крупном масштабе [1], они характеризуются относительно невысокой стабильностью, имеют короткий срок годности, высокую стоимость и проблемы с иммобилизацией [2-4]. Кроме того, выработка антител к небольшим молекулам требует предварительно синтезировать конъюгаты низкомолекулярных соединений с белковыми молекулами. И наконец, трудно получить антитела к таким молекулам, как иммунодепрессанты или токсины из-за их неблагоприятного эффекта на иммунную реакцию [5].

Поэтому в последнее время появилась тенденция к замене естественных антител их синтетическими аналогами - полимерами с молекулярными отпечатками (ПМО), обещающими неплохие перспективы в области аналитической химии. ПМО могут быть синтезированы сополимеризацией функционального и кросс-мономеров в присутствии молекулы шаблона (темплата), в качестве которого чаще всего выступает аналит. После удаления молекул шаблона в 3D матрице полимера формируется отпечаток, отвечающий по размеру, форме и химической функциональности аналиту, который может вновь с ним селективно связываться [6-8].

В отличие от биомолекул, ПМО стабильны в области низких и высоких значений pH, при изменении давления и температуры (8-180°C). Они имеют более низкую стоимость, чем антитела, легче получаются, могут быть синтезированы для широкого диапазона веществ и использоваться и в органических, и в водных средах. Однако до сих пор отсутствуют стандартные процедуры получения ПМО с необходимыми характеристиками. Наиболее известны два метода формирования молекулярных отпечатков – метод Вульфа, основанный на образовании обратимых ковалентных связей между молекулами шаблона и функциональными мономерами [8] и нековалентных взаимодействиях, предложенный Мосбахом [9].

Например, в ковалентном импринтинге шаблоны обычно образуют ковалентные связи с такими мономерами, как 4-винилфенилборная кислота или 4-винилбензиламин. Извлечение шаблона после полимеризации происходит при разрыве ковалентной связи, а при повторном связывании вновь образуется та же самая ковалентная связь. Вследствие большей стабильности ковалентных связей такие ПМО имеют более гомогенное распределение отпечатков. Однако перечень молекул шаблонов для ковалентного импринтинга ограничен, поскольку должно обеспечиваться быстрое и обратимое взаимодействие с функциональным мономером. Кроме того, очень трудно достичь термодинамического равновесия из-за сильного ковалентного связывания и медленного закрепления и удаления шаблона.

У нековалентного импринтинга таких ограничений нет. В соответствующем растворителе формируются комплексы мономера и шаблона за счет образования водородных связей, ионных или π - π взаимодействий, сил Ван-дер-Ваальса и т.д. После полимеризации и удаления шаблона функционализованная полимерная матрица может вновь образовывать те же самые нековалентные связи с шаблоном, таким образом, перечень применяемых шаблонов значительно расширяется [10]. В настоящее время нековалентный импринтинг является наиболее популярной и общей стратегией синтеза ПМО, хотя и для него существует ряд до сих пор нерешенных проблем, таких, как «утечка» шаблона, несовместимость с водными средами, невысокая связывающая способность и медленное перемещение массы.

Стратегия полуковалентного импринтинга является модификацией ковалентного и нековалентного, в которой шаблон взаимодействует с функциональным мономером в процессе полимеризации ковалентно, а повторно связывается за счет нековалентных взаимодействий [11]. Шаблон после полимеризации, как правило, удаляется через гидролиз кросс-реагента, связывающего матрицу полимера [12]. Такой подход позволяет получать ПМО с однородными отпечатками и снижает влияние кинетического фактора при повторном встраивании молекулы шаблона.

ПМО могут быть получены методом блочной полимеризации и использоваться после измельчения и просеивания. В результате частицы ПМО, как правило, имеют неправильную форму и размер порядка 5-50 мкм. К сожалению, получение частиц ПМО этим способом занимает много времени и вызывает потерю материала. Отпечатанные места разнородны и поэтому такие частицы проявляют сродство к молекулам близкого строения и демонстрируют невысокую селективность. Кроме того, реакции блочной полимеризации протекают с выделением тепла, поэтому в объеме при увеличении температуры может происходить вскипание растворителя и повышение давления, что может являться причиной взрыва и образования полостей неконтролируемого размера [13]. Поэтому внимание исследователей было акцентировано на получении импринтированных полимеров регулярной формы, особенно в наноразмерной области [14].

У наночастиц ПМО наблюдаются более высокие отношения площади поверхности к объему, поэтому отпечатки более легкодоступны для шаблонов, что способствует улучшению кинетики повторного связывания [15]. Кроме того, наночастицы ПМО легко остаются в растворе, поэтому их более просто дозировать, что повышает надежность при их применении в анализе [16]. Это создает предпосылки для широкого внедрения наночастиц ПМО в аналитическую практику в качестве заменителей антител [17], в капиллярном электрофорезе [18] и в сенсорах различной природы [19,20].

В данном обзоре рассмотрены различные методологии синтеза микро- и наносфер ПМО, показаны достоинства и недостатки отдельных методов. Акцентировано внимание на таких наиболее популярных способах синтеза наночастиц ПМО, как микро- и миниэмульсионная полимеризация, метод преципитации, новых методах синтеза «ядро-оболочка» (core-shell, core-shell by grafting), показаны достоинства и недостатки описанных методов синтеза. Приведены пока немногочисленные примеры применения наночастиц ПМО в пьезокварцевых сенсорах в прямом и конкурентном формате анализа, показаны перспективы данной области исследования.

Реактивы для молекулярного импринтинга

Реакции синтеза ПМО являются достаточно сложными процессами, зависящими от природы и концентрации функционального и кросс-мономеров, инициатора, температуры и продолжительности полимеризации, присутствия или отсутствия магнитного поля и даже объема полимеризационной смеси [13].

К молекуле шаблона предъявляют следующие требования – отсутствие функциональных групп, участвующих или предотвращающих полимеризацию, высокая стабильность во время синтеза, наличие функциональных групп, образующих неспецифические связи с функциональным мономером. Большинство шаблонов, применяемых к настоящему времени в молекулярном импринтинге, относится к широко распространенным поллютантам (эндокринные деструкторы, фармацевтические препараты, токсичные металлические ионы и т.д. [21-24]).

Мономеры должны содержать группы, обеспечивающие формирование комплекса с шаблоном за счет ковалентных или нековалентных взаимодействий. Сила взаимодействий между шаблоном и мономером и стабильность предполимеризационного комплекса определяет аффинность ПМО [25,26] и селективность последующего распознавания молекул шаблона [27]. Выбор функционального мономера и оптимальной технологии формирования стабильного комплекса с шаблоном осуществляется с применением современных методов структурных исследований (ЯМР [28-30], УФ-спектроскопия [31,32], Фурье-ИК-спектроскопия [33]) и компьютерного моделирования [34]. Обычно в качестве функциональных мономеров используют метакриловую кислоту, акриловую кислоту, 2- или 4-винилпиридин, акриламид, трифторметакриловую кислоту и 2-гидроксиэтилметакрилат (рис. 1). Наиболее часто в качестве "универсального" функционального мономера используется МАА, легко образующая водородные связи и проявляющая ионные взаимодействия с молекулами разнообразных шаблонов. В то же время постоянно проводится поиск новых функциональных мономеров, адаптированных к синтезу ПМО. Так, например, вызвало интерес применение в качестве мономеров β -циклодекстринов (β -CDs) – циклических олигосахаридов с гидрофильными внешними группами и гидрофобными внутренними [35], которые могут формировать комплексы с шаблоном посредством образования водородных связей, сил Ван-дер-Ваальса, гидрофобных или электростатических взаимодействий. β -CDs были использованы в качестве функциональных мономеров или со-мономеров для синтеза наночастиц ПМО холестерина [36], билирубинов [37], циклобарбитала [38].

Молярное соотношение между шаблоном и функциональным мономером в процессе существенно влияет на свойства ПМО - более низкие молярные отношения снижают количество молекулярных отпечатков в полимерах вследствие уменьшения числа образуемых комплексов мономер - шаблон, а сверхвысокие продуцируют более высокое неспецифическое связывание, уменьшая селективность распознавания молекул шаблона [39]. Поэтому для повышения степени молекулярного импринтинга требуется оптимизация молярного отношения шаблон: мономер в полимеризационной смеси.

Роль кросс-мономера сводится к фиксированию функциональных групп мономеров вокруг молекулы шаблона и формированию прочного поперечно сшитого полимерного каркаса, обеспечивающего после удаления шаблонов сформированные отпечатки, идентичные ему по форме, размеру и расположению функциональных групп. Таким образом, кросс-реагент оказывает глубокое влияние на селективность и связывающую способность ПМО. Поэтому, если концентрация

кросс-мономера в полимеризационной смеси мала, то в ПМО отсутствуют отпечатки стабильной конфигурации из-за недостаточной степени поперечного связывания, а сверхвысокие концентрации сокращают количество отпечатков на единицу массы ПМО [39]. Обычно используются следующие кросс-мономеры - EGDMA, TRIM, МВАА, DVB и др. (рис.1).

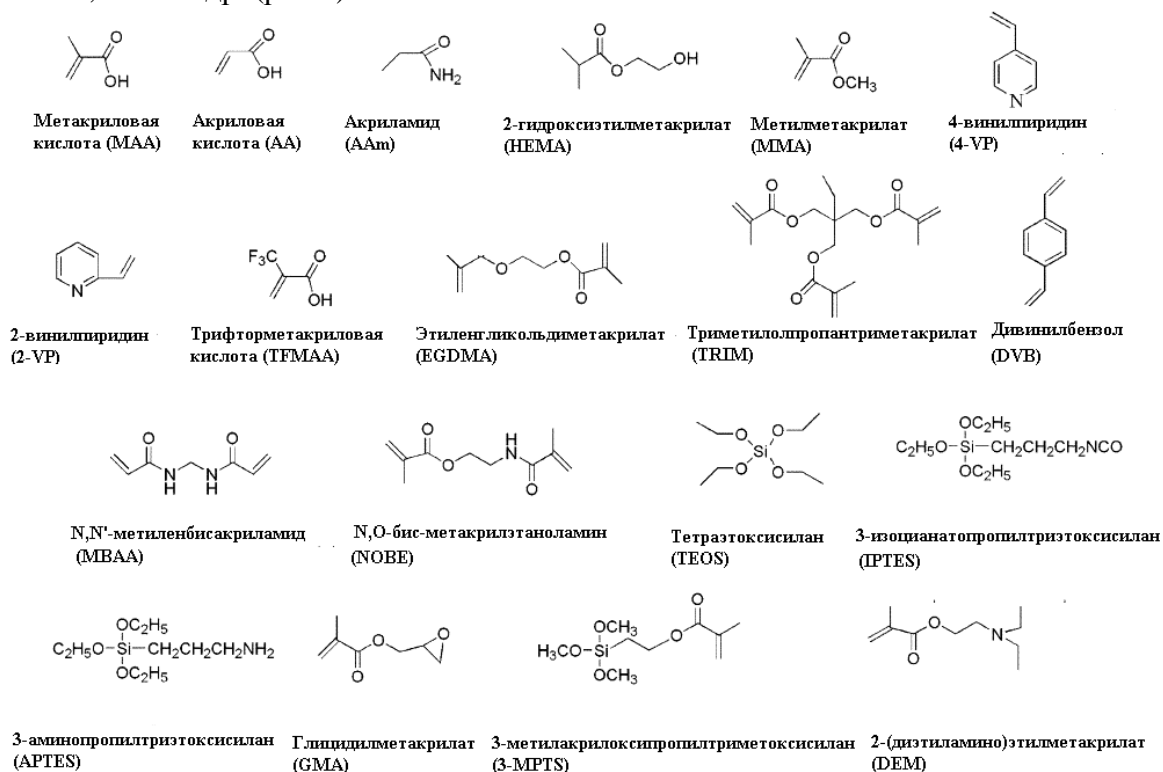


Рис. 1. Структурные формулы функциональных и кросс-мономеров

Порогенный растворитель так же играет важную роль при синтезе ПМО, влияя на порообразование и прочность сцепления между функциональными мономерами и шаблонами, свойства и морфологию полимера, особенно для систем с нековалентными взаимодействиями [39]. Апротонные и неполярные органические растворители, такие, как толуол, ацетонитрил и хлороформ, часто используются для нековалентной полимеризации, чтобы добиться высокой эффективности импринтинга. Однако известно, что ПМО, полученные в органических растворителях, плохо работают в водных растворах из-за «растворения памяти», поэтому важной проблемой исследования ПМО является развитие условий получения совместимых с водой молекулярно импринтированных полимеров.

Классификация гетерогенных методов синтеза нано- и микрочастиц ПМО

Классификация современных гетерогенных методов синтеза частиц ПМО учитывает следующие критерии: исходный состав полимеризационной смеси, кинетику и механизм формирования, форму и размер полимерных частиц [40]. У каждого способа существует набор положительных и отрицательных характеристик с точки зрения их использования как искусственных антител и имитаторов ферментов. В табл. 1 показано влияние методологии синтеза молекулярно импринтированных наносфер ПМО на их размер и дисперсность.

Суспензионная полимеризация – один из наиболее изученных методов синтеза частиц ПМО микрометрового диапазона [41,42]. В этом методе в качестве дисперсионной фазы выступает вода, а включение в систему сурфактанта обеспечивает стабилизацию капель гидрофобной фазы мономера. Размер синтезируемых полимерных частиц определяется температурой полимеризации, соотношением объемов водной фазы и мономера, природой сурфактанта и мономера, инициатора полимеризации. Наиболее часто в качестве мономера используется поливиниловый спирт или поливинилпирролидон, инициатором служит 2,2-азо-бис-изобутиролнитрил (AIBN) или пероксид бензоила.

Как правило, формирование частиц ПМО методом суспензионной полимеризации основано на ковалентном импринтинге, поскольку использование водной дисперсионной среды делает невозможным образование водородных связей между молекулами мономера и шаблона. Нековалентный импринтинг возможен во фторуглеродах, не смешивающихся, как и вода, с большинством мономеров и растворителей, но не склонных к образованию водородных связей. Недостатком метода суспензионной полимеризации является достаточно высокая полидисперсность синтезируемых частиц, кроме того, большая часть молекул шаблона находится в объеме полимера, что делает невозможным их извлечение. Частицы, полученные данным методом, обычно применяют в капиллярном электрофорезе [40], для заполнения колонок в жидкостной хроматографии [41] и создания мембран [42]. Однако относительно большой размер частиц ограничивает их применение в биосенсорах.

Метод эмульсионной полимеризации, и в большей степени его разновидности, продолжают оставаться в числе наиболее распространенных методов синтеза микро- и наночастиц ПМО. Шаблон, функциональный и кросс - мономеры обычно вводятся в дисперсионную среду (водную или неводную), содержащую инициатор полимеризации и сурфактант, в концентрациях, превышающих критическую концентрацию мицеллообразования. Образующиеся мицеллы солюбилизируют мономеры и шаблон и внутри них происходит процесс полимеризации с образованием частиц ПМО. Меняя условия получения эмульсионной системы, можно регулировать механизм образования частиц ПМО, их диаметр и дисперсность. В работе [43] продемонстрированы возможности получения монодисперсных наночастиц ПМО диаметром 100 нм в неводных эмульсиях (рис.2). Такой подход преодолевает главные недостатки эмульсионной полимеризации в системах масло в воде и вода в масле, поскольку не применяется вода. Использование неионогенного, полимерного эмульгатора позволяет формировать монодисперсные наночастицы ПМО, характеристики которых превосходят свойства частиц, полученных при эмульсионной полимеризации в воде.

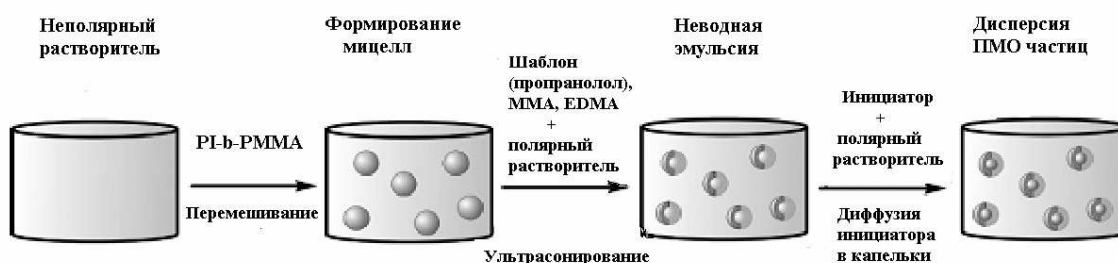


Рис. 2. Синтез импринтированных частиц в неводных эмульсиях

Миниэмульсионная полимеризация явилась шагом вперед в стратегии синтеза монодисперсных наночастиц ПМО [44,45]. Серьезное различие между

миниэмульсионной и эмульсионной полимеризацией заключается в том, что в первом случае мономерные капли полимеризуются прямо в дисперсионной среде, тогда как во втором полимеризация происходит в мицелле и нуждается в транспортировке через дисперсионную среду. Получение устойчивых микро- и миниэмульсий с однородным распределением размера капель дисперсной фазы при синтезе частиц ПМО объясняется также использованием наряду с поверхностно-активным стабилизатором эмульсии со-ПАВ, подавляющим диффузионные процессы в непрерывной фазе, что позволяет осуществлять термодинамический контроль за процессом полимеризации в «нанореакторе». Как правило, в такой эмульсии капли дисперсной фазы состоят из гидрофобного кросс-мономера, а функциональный мономер растворен в водной дисперсионной среде, поэтому, чтобы предотвратить процессы гомополимеризации функционального мономера в водной фазе, применяют инициаторы полимеризации гидрофобной природы. Введение в систему специального осмотического гидрофобного агента (гексадекан, тетрадекан) или реагента, выполняющего роль и осмотического агента и со-ПАВ (гексадеканол), препятствует процессу оствальдского созревания капель (перетеканию мономера из мелких капель в крупные) и позволяет получать частицы, почти совпадающие по размерам с коллоидными каплями [45].

В большинстве случаев в качестве сурфактанта используется додецилсульфат натрия и поливиниловый или цетиловый спирт, как со-ПАВ, а при импринтинге белковых макромолекул предпочтительно использование поливинилового спирта, позволяющего сохранять нативную конформацию белка при взаимодействии с мицеллами [46, 47]. Для ограничения размера капель мономера до 50-300 нм рекомендуются современные методы гомогенизации (ультрасонирование, техника высокого давления).

Таблица 1. Влияние метода синтеза ПМО на размер наносфер ПМО

Метод синтеза	Размер частиц ПМО	Шаблон	Лит.
Преципитация	100 нм–2.5 мкм	S-пропранолол	[17]
	50–100 нм	Левофлоксацин или фторхинолон	[51]
	50–80 нм	Зопиклон	[52]
	450 нм	Ди-(2-этилгексил)фталат	[59]
	400 нм–3 мкм	17β-эстрадиол	[60]
Эмульсионная	100–200 нм	Бенсульфурон-метил	[61]
	50–200 нм	Тетрациклин	[53]
Миниэмульсионная	180–250 нм	Карбамазепин	[54]
	240–250 нм	L –Фенилаланина анирид или L –Фенилаланин	[55]
Микроэмульсионная	40–100 nm	Прометацин	[56]
Core-shell	76 nm	Холестерин	[43]
	480 nm	17β-эстрадиол Гемоглобин	[57] [58]

В методе миниэмульсионной полимеризации применяется как ковалентный, так и нековалентный или полуквалентный импринтинг. Селективное распознавание углеводов является одной из наиболее важных проблем в биоорганической химии. В этой связи хотелось бы отметить способ получения молекулярно импринтированных наносфер при сочетании полуквалентного импринтинга и одностадийного

миниэмульсионного метода с использованием полимеризуемого поверхностно-активного шаблона, который приводит к созданию частиц ПМО с улучшенной аффинностью и селективностью к углеводам по сравнению с полимерами, синтезируемыми блочной полимеризацией [48] (рис.3). Отличительной особенностью данного типа импринтинга является ковалентное связывание шаблона с поверхностью полимера за счет сложноэфирной связи (после сополимеризации), что позволяет усилить устойчивость предполимеризационного комплекса. Поверхностно-активные свойства способствуют тому, что молекулы шаблона располагаются на границе водной и органической фазы при стабилизации миниэмульсии [49, 50]. Это позволяет получать отпечатки только на поверхности полимерных частиц.

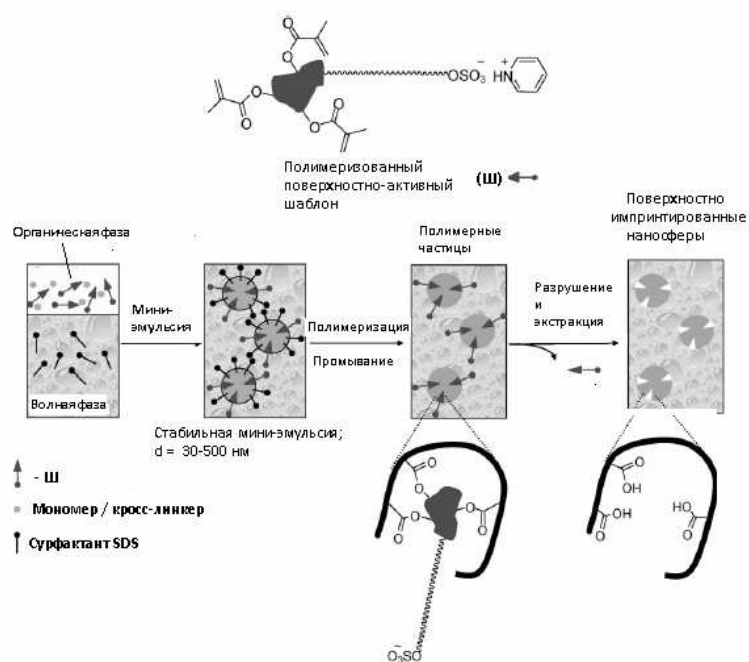


Рис. 3. Получение наносфер ПМО методом полуковалентного поверхностного импринтинга и миниэмульсионной полимеризации [48]

Метод преципитации является одним из наиболее простых и экспрессных способов получения сферических частиц ПМО с высокой степенью гомогенности и выхода продукта (> 85%), удобным расположением «сайтов» связывания. Получение наночастиц происходит в одностадийном процессе, в ходе которого возможно контролировать размер и генерировать высококачественные однородные импринтированные наносферы. В методе преципитации при постоянном перемешивании смеси шаблона, функционального и кросс-мономеров в избытке порогенного растворителя с инициатором полимеризации при нагревании происходит формирование олигомеров, содержащих молекулы шаблона, функциональный и кросс-мономер и укрупнение частиц за счет захвата других олигомеров, находящиеся в смеси. После достижения полимерными частицами критического размера наблюдается их осаждение под действием сил гравитации (рис.4). Полученные методом преципитации полимерные сферы вследствие поперечной сшивки линейных цепочек кросс-мономером защищены от агрегации за счет сил поверхностного натяжения, а не вследствие применения ПАВ-стабилизаторов, которые при такой методике синтеза практически не используются.

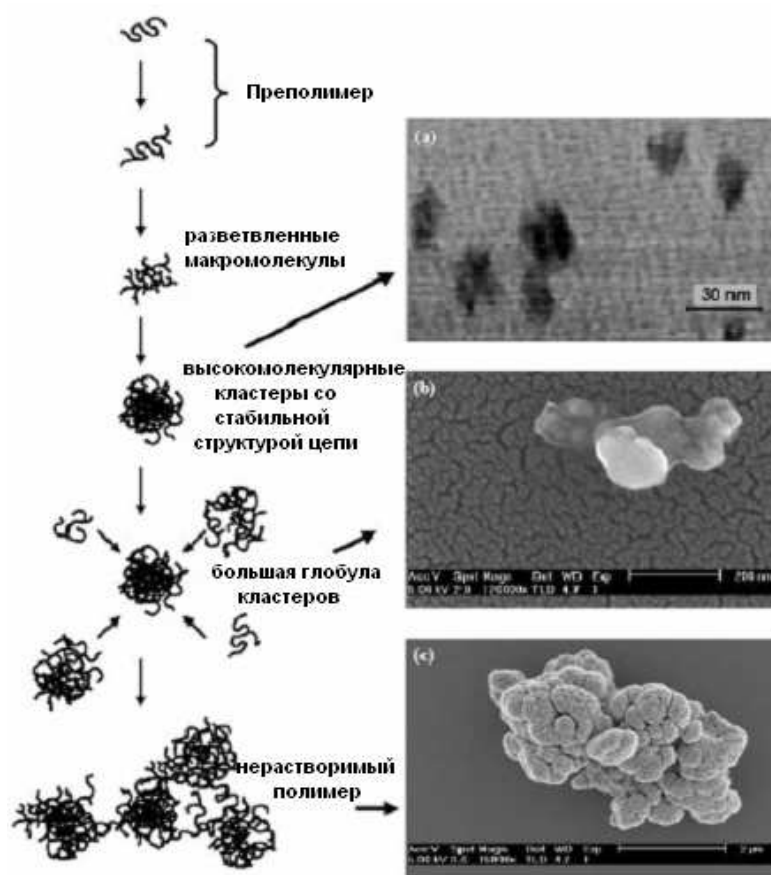


Рис. 4. Механизм получения полимерных частиц методом преципитации [2]

Размер, дисперсность и степень импринтинга частиц ПМО определяются природой функционального и кросс-мономеров, порогенного растворителя и условиями синтеза. Изменяя температуру полимеризационной смеси, можно влиять на кинетику отдельных стадий синтеза и стабильность предполимеризационного комплекса за счет увеличения либо уменьшения кинетической энергии системы. Например, диаметр частиц на основе МАА/TRIM, полученных методом преципитации, снижался от нескольких микрометров до нанометров при увеличении температуры с 4 до 83°C [62, 63].

Управлять размером частиц ПМО возможно путем изменения скорости перемешивания (увеличение скорости перемешивания приводит к образованию сферических частиц большего размера [17]) или степени разбавления полимеризационной смеси. В сильно разбавленных растворах во время полимеризации образуется меньше олигомеров и, следовательно, поглощаются меньшие количества функционального мономера и кросс-реакта, что замедляет рост частиц [64, 65]. Интересно, что даже в идентичных условиях синтеза, размер и дисперсность ПМО отличаются от неотпечатанных полимеров (НИП) [64, 66], что может быть объяснено влиянием шаблон на роста цепи полимера при формировании комплексов с функциональным мономером и на процесс связывания комплексов кросс-реактом [67]. Например, молекулярно импринтированные порозином наночастицы однородны, в то время как неимпринтированные существенно различаются по размерам. Аналогичные закономерности выявлены и при синтезе частиц, импринтированных другими соединениями (гербициды линурон и изопротурон) [68].

Отмечено также влияние на морфологию частиц природы применяемого мономера. При синтезе частиц ПМО никотина с применением МАА-co-DVB и TFMAA-co-DVB было установлено [62], что в первом случае образуются монодисперсные наносферы, тогда как во втором частицы были подобны гелю.

Наибольшей проблемой метода преципитации является необходимость применения больших объемов порогенного растворителя, что снижает рентабельность синтеза и приводит к загрязнению окружающей среды. Для сокращения объемов растворителя было предложено использовать смесь минерального масла и толуола как порогена и ультрафиолетовое излучение для инициирования начала синтеза, что приводило к получению монодисперсных фракций частиц ПМО, характеризующихся более высокой селективностью и связывающей способностью по сравнению с полученными традиционными способами преципитации [69].

Для снижения продолжительности синтеза частиц ПМО пропранолола было рекомендовано применять осаждение дистилляцией (DPP) [70], что сокращало время синтеза до 3 час, в отличие от классических методов продолжительностью 24 ч. В качестве порогенного растворителя был рекомендован ацетонитрил, отгоняемый на последней стадии полимеризации.

Полимеризация «ядро-оболочка» («Core-Shell»). Свойства генерируемых частиц ПМО могут быть улучшены в результате использования двухступенчатой эмульсионной «Core-Shell» полимеризации, включающей подготовку частиц латекса в отсутствие эмульгатора и затем смешивании их с мономерами и шаблоном, образующим раковину (отпечаток) на поверхности частицы. Таким образом, во-первых, достигается сферическая форма ядра и повышается степень дисперсности синтезируемых частиц ПМО, имеющих однородную морфологию поверхности. Во-вторых, молекулярные отпечатки концентрируются в довольно тонком слое, что ускоряет повторное связывание шаблона с ПМО [71, 72]. Такой подход был успешно продемонстрирован при создании монодисперсных частиц ПМО (диаметром 76 нм и удельной площадью поверхности 82 м²/г) для определения холестерина [73], характеризующихся высокой степенью импринтинга.

Недавно был предложен способ синтеза сферических частиц ПМО ядро-оболочка методом преципитации (core-shell MIP microspheres by precipitation polymerization) [74]. Процесс полимеризации также двухстадийный: на первом этапе происходит образование ядер на основе полимеризованного DVB, а на втором - синтез молекулярно импринтированной оболочки (рис.5) на поверхности «ядер» в соответствии со схемой, показанной на рис. 6.

На практике для повышения связывающей способности наночастиц ПМО и улучшения кинетических характеристик при повторном связывании с молекулами шаблона [76] широкое применение получили методы поверхностного импринтинга (core-shell by grafting): иммобилизация молекул шаблона [77], применение инициатора для поддержки матрикса [78], комбинированный поверхностный импринтинг (контролируемый синтез в условиях радикального инициирования - CLRP [79]). В качестве ядер при получении импринтированной поверхности используются наночастицы активированного кварца [80, 81], магнитные наночастицы Fe₃O₄ [82], хитозан [83], активированные бусинки полистирола [80], квантовые точки (QDs) [84]. Наиболее многообещающие свойства имеют гели кварца, стабильные в кислой среде, и особенно наночастицы Fe₃O₄, которые могут быть использованы для эффективного магнитного разделения сложных образцов [85].

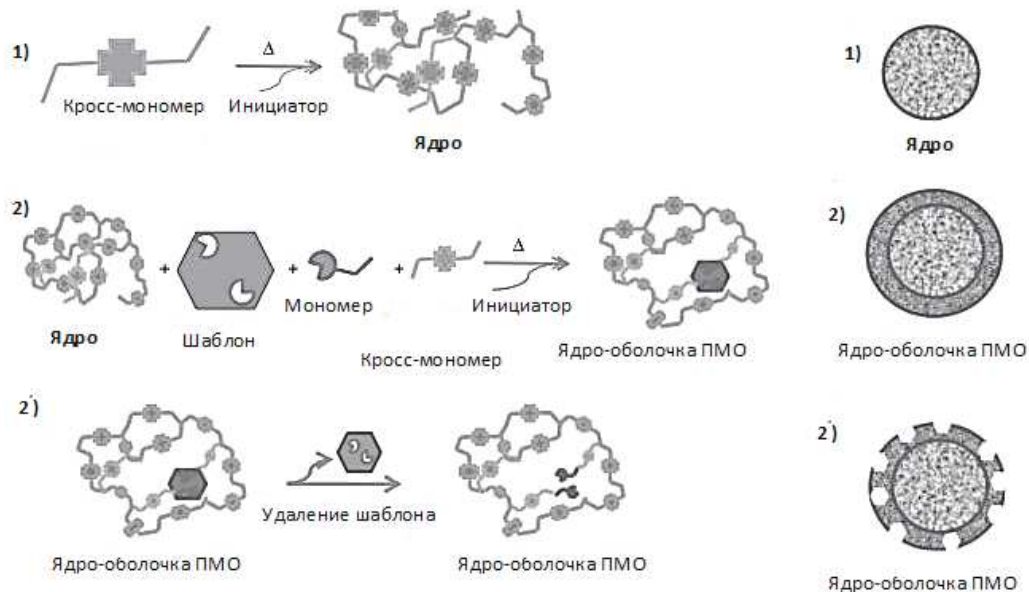


Рис. 5. Схема получения ядро-оболочка ПМО микросфер на основе метода преципитации [75]

Обычно подготовка покрытых ПМО магнитных наночастиц, таких как Fe_3O_4 , включают три последовательных этапа (рис.6): (1) подготовку наночастиц Fe_3O_4 ; (2) поверхностную гидрофобизацию Fe_3O_4 с целью улучшения полимеризации на поверхности частицы (TEOS, олеиновая кислота, полиэтиленгликоль или поливиниловый спирт); (3) синтез отпечатанной поверхности магнитных наночастиц с использованием золь-гель процесса или свободной радикальной полимеризации.

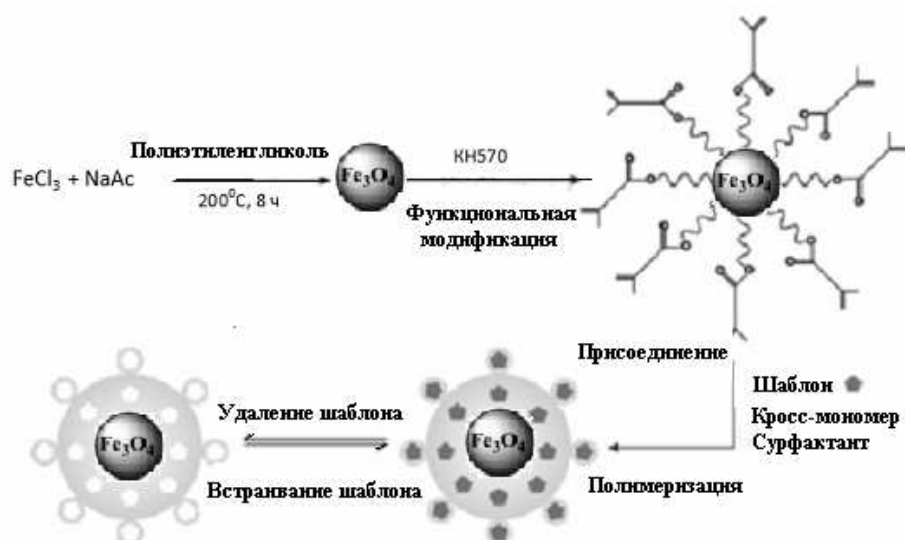


Рис. 6. Схематическое представление получения магнитных импринтированных наночастиц [86]

Например, в работе [82] описан процесс получения импринтированных наночастиц для разделения эстеронов. После закрепления целевой молекулы магнитные наночастицы ПМО могут быть легко отделены от других реагентов при

помощи внешнего магнитного поля, что более удобно и экономично по сравнению с центрифугированием и фильтрацией и невозможно, например, для импринтированных частиц кварца, хитозана или полистирола.

Таблица 2. Синтез магнитных наносфер ПМО методом «ядро-оболочка» («core-shell by grafting»)

Шаблон	Функциональный / кросс-мономер	Инициатор/ растворитель	Условия полимеризации	Лит.
Дикофол; ДДТ	ММА, ПВП/EGDMA	AIBN/Вода, Tol	1) полимериз. смесь – перемешивание (600 об/мин), 1 час. T 4°C; 2) полимеризационная смесь + «ядра»(Fe ₃ O ₄) – ультразвук (5 мин), T 60°C, 24 ч.	[87]
4-Хлорфенол	ММА/DVB	AIBN/ACN	1)ядра (Fe ₃ O ₄) + ММА + шаблон в ацетонитриле - ультразвук (T 25°C., 15 мин); 2) DVB+ AIBN – ультразвук (15 мин.); 3) продувка N ₂ ,перемешивание, T 60°C, 24 ч.	[88]
Тетрациклин	ММА/EGDMA	PMDETA, CuCl, EBiB/ ПАВ: 1.5% вод. р-р Твин 20	1) «ядра (Fe ₃ O ₄)»+KH570 (силанизирующий агент)+мономер, продувка N ₂ (30 мин); 2) + PMDETA+ CuCl (в атмосфере N ₂ , T 60°C) + EBiB, 4 ч.	[89]

Новые технологии синтеза микро- и наночастиц ПМО

Наряду с описанными выше стратегиями синтеза были экстенсивно изучены новые технологии полимеризации в режиме “живых” цепей, например, контролируемого синтеза в условиях радикального инициирования (CLRP), осуществляемого с передачей цепи по механизму присоединения - фрагментации (RAFT), псевдоживой радикальной сополимеризации в присутствии инициаторов (алкилтиокарбаматы, фенилазотрифенилметан и др.), атомов металлов (металлоорганических соединений, главным образом, галогенидов переходных элементов (ATRP) или нитроксидов (NMP), обеспечивающие получение привлекательных и конкурентоспособных молекулярно импринтированных частиц с низкой полидисперсностью, фиксированной молекулярной массой и функциональностью [90]. CLRP - полимеризация включает на ранних стадиях термодинамически контролируемый процесс образования коротких цепей и более медленный их рост в дальнейшем по механизму обычной свободно радикальной полимеризации. Это значительно улучшает соответствие между ростом и темпами релаксации цепи, что приводит к образованию гомогенной сети полимера с узким распределением цепи по длине. Преимущества CLRP-метода синтеза наночастиц ПМО по сравнению перед обычной радикальной полимеризацией продемонстрированы в следующих публикациях [91-94].

Методы псевдоживой радикальной полимеризации получили развитие и при поверхностном импринтинге. В работе [95] предложен новый способ графтинга пленок ПМО на кварцевых частицах, содержащих на поверхности инициаторы свободных радикалов. Позже, этими же авторами был предложен метод, основанный на применении фотоинифертов [96].

В настоящее время наибольшее применение среди методов CLRP получила технология RAFT, позволяющая упростить процесс синтеза наночастиц ПМО, свободных от загрязнений металлическими катализаторами, используемыми в ATRP. Кроме того, этот метод совместим с классическими технологиями, применяемыми при получении частиц ПМО, такими, как суспензионная полимеризация [96] и поверхностный импринтинг [91, 97], используемый, например, для создания тонких пленок ПМО с помощью метода RAFT для определения анилида L-фенилаланина. Z. Chen с соавторами [98] описали общий протокол подготовки поверхностно импринтированных 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4-D) наносфер с помощью RAFT сополимеризации 4-VP и EDMA на частицах кварца, а G. Pan и др. [99] показали возможности суспензионной RAFT полимеризации для получения монодисперсных фракций полимерных наночастиц, импринтированных 2,4-D.

Повышение совместимости ПМО с водными средами. ПМО, синтезированные в органическом растворителе, неудовлетворительно приспособлены к работе в водных средах, потому что вода может нарушить водородную связь, сформированную между шаблоном и функциональным мономером. Однако на практике наиболее востребованы ПМО, способные к работе в полярных растворителях, в том числе в водных растворах.

Для улучшения работы ПМО в водных средах были развиты различные подходы. Одна из стратегий базируется на использовании двухступенчатого метода извлечения методом жидкость-жидкостной экстракции и одноступенчатого - микрожидкостной экстракции [100], позволяющей снизить расход растворителей и усилить селективность извлечения из ПМО в водных образцах. Такой подход имеет большой потенциал для расширения диапазона применения ПМО при анализе биологических сред и экологических проб. Повышение селективности извлечения по сравнению с чистыми водными растворами объясняется применением водно-органических фаз.

Вторая стратегия базируется на развитии совместимых с водой ПМО, в который используются гидрофильные мономеры, такие как НЕМА, b-CDs [98 - 101] и вода в качестве порогенного растворителя. Например, совместимый с водой ПМО для селективного извлечения и разделения ципрофлоксацина, полученный в водно-метанольном растворе, продемонстрировал более высокие степени извлечения целевого компонента из водных проб [99]. Была достигнута высокая степень распознавание аналитов в водных растворах с помощью ПМО с гидрофильной модификацией поверхности, осуществляемой в два этапа [62,102]. На рис. 7 показан процесс синтеза ПМО с ограниченным доступом (Restricted access material, RAM-MIP).

В качестве функционального со-мономера был выбран глицидилметакрилат, так как в его молекуле кислород связан с двумя углеродными атомами, что снижает способность к образованию водородных связей. Кроме того, эпоксидное кольцо, сформированное глицидилметакрилатом, повышает гидрофильность импринтированных частиц, уменьшая гидрофобные взаимодействия и, следовательно, увеличивая совместимость ПМО наночастицы с водой.

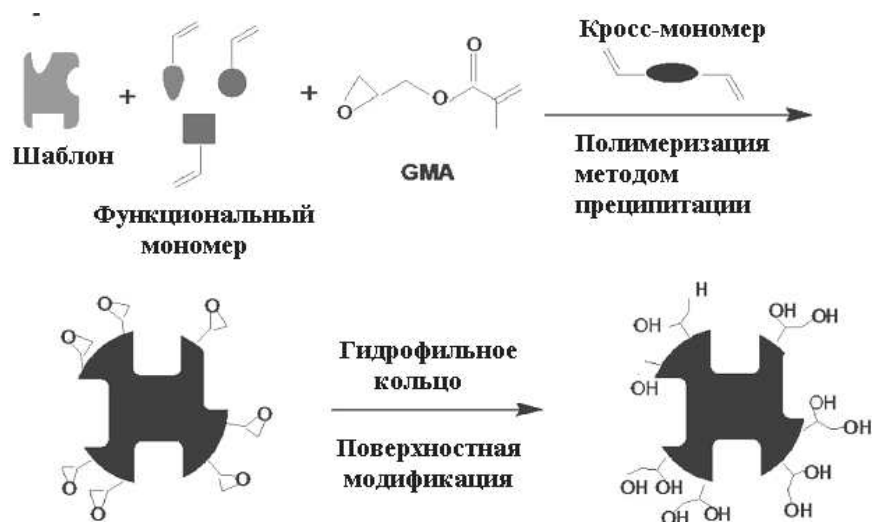


Рис. 7. Схематическая иллюстрация метода RAM-MIP [106]

Авторы работы [11] предложили изобретательный подход для синтеза «core-shell» структурированных гидрофильных молекулярно импринтированных наночастиц с помощью метода дистилляционной преципитации, где гидрофобное ядро содержало импринтированные пропранололом сайты связывания, а гидрофильная оболочка не была импринтирована. Гидрофильная оболочка была привита к ядру путем сополимеризации через двойную связь мономеров гидрофильного слоя. Таким образом при применении гидрофильных core-shell-наночастиц уменьшалась неспецифическая адсорбция белковых молекул, в то время как маленькие органические молекулы могли связываться с распознающими сайтами на поверхности ядра. Такой подход создает многообещающие перспективы для биоанализа.

Применение микро- и наночастиц в пьезокварцевых сенсорах

Пьезокварцевые гравиметрические сенсоры являются универсальными устройствами, обеспечивающими высокочувствительное определение различных соединений в жидких средах [103-105]. Одной из главных областей применения ПМО в пьезокварцевых сенсорах является создание тонкопленочного распознающего слоя непосредственно на поверхности электрода [105-107]. Дальнейшее развитие ПМО-сенсоров связано с применением наночастиц фиксированного размера с поверхностными отпечатками определяемых соединений, что может влиять на увеличение как чувствительности детектирования, так и селективности по сравнению с импринтированными тонкопленочными покрытиями. Включение наночастиц в состав распознающего слоя увеличивает площадь поверхности, что обеспечивает большее количество доступных связывающих участков и, в конечном счете, приводит к улучшению кинетических характеристик аффинных реакций, протекающих на поверхности сенсора, расширению диапазона определяемых содержаний.

Это наглядно продемонстрировано в работе [108], посвященной созданию сенсора для определения лизозима. Монослой из наночастиц ПМО, диаметром 50 нм, синтезированных методом эмульсионной полимеризации формировали путем дозирования раствора наносфер на поверхность золотого электрода сенсора и высушивания при 37°C в течение 6 час. Молекулы шаблона удаляли 1 М раствором

NaCl. Предел обнаружения лизоцима был снижен до 1.2 нг/мл. Для изучения специфичности распознающего слоя использовался альбумин. Пьезокварцевый сенсор продемонстрировал высокую чувствительность и селективность при определении лизоцима в яичном белке и водных растворах, диапазон линейности градуировочной функции составил 460-1500 нг/мл и 0.2–1500 мг/мл соответственно [108].

Другое интересное применение наночастиц ПМО описано в работе [109]. В качестве шаблона при синтезе наночастиц был использован целевой пептид, соединенный с жирными кислотами с переменной длиной цепи. Полученные наночастицы, синтезированные методом обратной микроэмульсионной полимеризации, показали, подобно антителам, высокую аффинность к гидрофильному пептиду в диапазоне концентраций 90-900 нМ.

Для создания ПМО-сенсора для определения 17β -эстрадиола на поверхности золотого электрода закрепляли импринтированные наночастицы [110]. Селективность сенсора была оценена путем сравнения связывающей способности распознающего слоя с 17β -эстрадиолом, стигмастеролом и холестерином. Аналитический сигнал сенсора линеен в широком диапазоне концентраций ($3.67 \cdot 10^{-9}$ М– $3.67 \cdot 10^{-12}$ М). Нижняя граница определяемых содержаний и предел обнаружения 17β -эстрадиола составляют $2.04 \cdot 10^{-12}$ М и $613 \cdot 10^{-15}$ М соответственно. Сенсор на основе импринтированных наночастиц показал высокую стабильность при хранении, возможность надежного многократного использования и экономическую целесообразность.

Следует отметить положительные характеристики пьезокварцевого сенсора на основе наносфер ПМО фолиевой кислоты, закрепленных на поверхности электрода с помощью сополимеров метакрилата и акрилвинилпирролидона [111], в частности, более быстрый аналитический отклик и высокое сродство к аналиту по сравнению с тонкопленочными импринтированными полимерными слоями.

Таблица 3. Применение наночастиц ПМО для определения низко- и высокомолекулярных соединений с помощью пьезокварцевого сенсора

№ п/п	Аналит	Диапазон определяемых содержаний	Лит.
1	17β -эстрадиол	$3.67 \cdot 10^{-9}$ М– $3.67 \cdot 10^{-12}$ М	[110]
2	Фолиевая кислота	1–30 ppm	[111]
3	Лизоцим	460-1500 нг/мл (яичный белок) 0.2–1500 мг/мл (водный раствор)	[108]
4	Пептид	90-900 нМ	[109]

Наряду с наночастицами ПМО, синтезированными методами эмульсионной, мини- и микроэмульсионной полимеризации широкое применение получили наносферы, полученные методом преципитации. В работе [112] показано использование в пьезокварцевых сенсорах наночастиц ПМО на основе сополимера МАА и ТМРТМ для определения R- и S-пропанола. Наночастицы были иммобилизованы в виде тонкого слоя на поверхности электрода сенсора с помощью этилентерефталата. Морфология поверхности распознающего слоя сенсора, изученная методом атомной зондовой микроскопии, показала высокую плотность импринтированных наночастиц, в отличие от неимпринтированных. Изучение размера импринтированных и неимпринтированных частиц методом динамического рассеяния света выявило, что неотпечатанные частицы превышают размер наночастиц ПМО примерно в два раза, что было связано с влиянием молекулы

шаблона, как на диаметр образующегося ядра, так и на рост частиц во время полимеризации, причем установлено более эффективное влияние S-пропанолаола по сравнению с R - пропанолаолом.

В статье [113] показано применение в пьезокварцевых сенсорах наносфер, импринтированных пептидом мелиттином (Мэл) из токсина пчелы. В качестве мономеров при синтезе наночастиц диаметром 10-100 нм в водной среде в присутствии невысоких концентраций сурфактанта были использованы акриламиды (N-изопропилакриламид, акриламидом, акриловая кислота, N-(3-аминопропил) метакриламида гидрохлорид, N-трет-бутилакриламид и N,N'-метиленабисакриламид, как кросс-мономер). Преимуществом такого подхода является исключение органического растворителя и нагревания, которые могут привести к денатурации белковых молекул.

Дальнейшее применение наночастиц, полученных методом преципитации в пьезокварцевых сенсорах, было представлено в [114]. В качестве молекул шаблона было предложено использовать иммуноглобулины, т.е. естественные антитела, отпечатанные в наночастицах полимера и затем примененные для печати на предварительно полимеризированной матрице на поверхности сенсора. Для синтеза наночастиц в качестве функциональных мономеров применялись поливинилпирролидон и метакриловая кислота, кросс-мономер N,N'-(1,2-дигидрокси этилен)-бис-акриламид в ацетонитриле. После подготовки наночастиц и удаления молекул шаблона они были использованы в качестве штампов для получения отпечатков, сохраняющих биологическую функциональность, в полиуретане, предварительно полимеризованном на поверхности электрода сенсора. Авторы показали, что аналитический сигнал таким образом подготовленного сенсора в 6 раз превышает аналогичную величину по сравнению с естественными аналогами из-за большой площади поверхности, обеспеченной наночастицами ПМО.

Высокочувствительный и селективный пьезокварцевый сенсор для детектирования эндосульфана в питьевой воде и молоке [115] был изготовлен с применением наносфер ПМО, синтезированных в среде азота методом преципитации с применением МАА и EGDMA в ацетонитриле при 60⁰С. Для формирования распознающего слоя наносферы ПМО смешивались с поливинилхлоридом. Линейный диапазон градуировочного графика составляет 10-40 нг/мл и 40-1280 нг/мл в молоке и питьевой воде соответственно. Сенсор устойчив в течение 6 месяцев и позволяет осуществлять определение эндосульфана в присутствии его структурных аналогов.

Применение пьезокварцевых сенсоров на основе наночастиц ПМО не ограничивается приведенными примерами. Высокая селективность, связанная со свойствами поверхностно импринтированных полимерных частиц, и чувствительность детектирования, определяемая применяемым физическим преобразователем, может служить хорошей базой для развития ПМО-сенсоров.

В приведенных выше примерах рассмотрен прямой формат анализа, в то же время для определения небольших по массе молекул более предпочтительен конкурентный формат [116]: к анализируемой пробе, содержащей детектируемое соединение, добавляют фиксированное количество частиц ПМО, концентрация которых известна, и после связывания их в анализируемом растворе с аналитом, проба контактирует с пьезокварцевым сенсором, на поверхности электрода которого иммобилизован аналит, например, в виде конъюгата с белковой молекулой. Сигнал сенсора регистрируется при взаимодействии наночастиц ПМО с белковым конъюгатом аналита. Аналитический сигнал при этом обратно пропорционален концентрации определяемого соединения в пробе. К настоящему времени

конкурентный формат анализа с применением наночастиц ПМО более широко используется только для определения низкомолекулярных соединений с помощью оптических или электрохимических сенсоров [117]. Так, для оптических сенсоров конкурентный метод может быть основан на конкурентном связывании между шаблоном и его меченым флуоресцентной меткой аналогом [118, 119]. Недостатком этого подхода является частичное рассеивание света на полимерных частицах.

Пьезокварцевые гравиметрические сенсоры лишены такого недостатка, однако их возможности для детектирования в конкурентном формате низкомолекулярных соединений ранее изучались слабо [120]. В то же время можно прогнозировать перспективность использования синтетических антител (наночастицы ПМО) для конкурентного определения низкомолекулярных аналитов в жидких средах [121], поскольку в этом случае не требуется применение различных меток, возможно наблюдение за процессом взаимодействия между определяемым соединением, иммобилизованным на поверхности сенсора, и наночастицей МИП, практически в режиме реального времени.

Заключения и перспектива

В текущем обзоре рассмотрены актуальные проблемы синтеза и исследования свойств полимерных молекулярно импринтированных частиц микро- и нанометрового диапазона, Обсуждены достоинства и недостатки различных методов полимерного синтеза, выявлены факторы, влияющие на дисперсность синтезируемых фракций частиц ПМО, однородность и доступность отпечатков для повторного связывания. Несмотря на большой объем публикаций в этой области, до настоящего времени существует ряд нерешенных проблем, препятствующих широко масштабному внедрению наночастиц ПМО в аналитическую практику, таких, как повышение гомогенности поверхности наночастиц, их сродства к целевому аналиту, например, за счет синтеза в водных растворах. Необходимо решить серьезную проблему, связанную с возможно полным удалением молекул шаблона после синтеза и повторного связывания. Ну и наконец, процесс замены естественных антител их синтетическими аналогами в значительной степени тормозится отсутствием рентабельных технологий получения наночастиц ПМО для крупномасштабного производства. Дальнейшее развитие аналитических методов, в частности, химической сенсорики с применением наночастиц ПМО позволит существенно повысить качество рутинного анализа, его экспрессность и надежность.

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

References

1. Lavignac N., Allender C.J., Brain K.R. *Anal. Chim. Acta*, 2004, Vol. 510, pp. 139-145.
2. Poma A., Turner A.P.F., Piletsky S.A. *Trends Biotechnol*, 2010, Vol. 28, pp. 629-637.
3. Poma A., Guerreiro A., Whitcombe M.J. et al. *Adv. Funct. Mater*, 2013, Vol. 23, pp. 2821-2827.
4. Omersel J., Žager U., Kveder T. et al. *J. Immunoassay Immunochem*, 2010, Vol. 31, No 1, pp. 45-59.
5. Alexander C., Andersson H.S., Andersson L.I. et al. *J. Mol. Recogn*, 2006, Vol. 19, pp. 106-180.

6. Guan G., Liu B., Wang Z., Zhang Z. *Sensors*, 2008, Vol. 8, pp. 8291-8320.
7. Piletsky S.A., Turner A.P.F. in book: Piletsky S., Turner A. Molecular imprinting of polymers. Georgetown, Texas: Landes Bioscience, 2006, pp. 64-79.
8. Wulff G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1995, Vol. 34, pp. 1812-1832.
9. Mosbach K. *Trends Biochem. Sci.*, 1994, Vol. 19, pp. 9-14.
10. Fang C., Yi C., Wang Y. et al. *Biosens. Bioelectron.*, 2009, Vol. 24, pp. 3164-3169.
11. Iqbal N., Lieberzeit P. A. in book: Li S., Ge Y., Piletsky S.A., Lunec J. *Molecularly Imprinted Sensors: Overview and Applications*. Amsterdam: Elsevier, 2012, pp.195-237.
12. Cheong S.H., McNiven S., Rachkov A. et al. *Macromolecules*, 1997, Vol. 30, pp. 1317-1322.
13. Piletska, E.V. Guerreiro A., Whitcombe M.J. et al. *Macromolecules*, 2009, Vol. 42, pp. 4921-4928.
14. Ye L., Mosbach K. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 2002, Vol. 723, pp. 51-59.
15. Tokonami S., Shiigi H., Nagaoka T. *Anal. Chim. Acta*, 2009, Vol. 641, pp. 7-13.
16. Ge Y., Turner A.P.F. *Chem. Eur. J.*, 2009, Vol. 15, pp. 8100-8107.
17. Yoshimatsu K. Reimhult K., Krozer A., Mosbach K. Sode K., Ye L. *Anal. Chim. Acta*, 2007, Vol. 584, pp.112-121.
18. Nilsson C., Birnbaum S., Nilsson S. *J. Chromatogr. A*, 2007, Vol. 1168, pp. 212-224.
19. Piletsky S.A., Turner A.P.F. in book: Ligler F.S., Rowe Taitt C.A. *Optical Biosensors: Today and Tomorrow*. Amsterdam: Elsevier Science B.V. 2008, pp. 543-581.
20. Reimhult K., Yoshimatsu K., Risveden K., Chen S., Ye L., Krozer A. *Biosens. Bioelectron.*, 2008, Vol. 23, pp. 1908 -1914.
21. Celiz M. D., Aga D. S., Colon L. A. *Microchem. J.*, 2009, Vol. 92, No. 2, pp. 174 - 179.
22. Matsui J., Takayose M., Akamatsu K. et al. *Analyst*, 2009, Vol. 134, pp. 80-86.
23. Zhang Y., Liu R., Hu Y., Li G. *Anal. Chem.*, 2009, Vol. 81, pp. 967-976.
24. Jiang X., Tian W., Zhao C. et al. *Talanta*, 2007, Vol. 72, pp. 119-125.
25. Shamsipur M., Fasihi J., Khanchi A. et al. *Anal. Chim. Acta*, 2007, Vol. 599, pp. 294-301.
26. Koohpaei A.R., Shahtaheri S.J., Ganjali M.R. et al. *Talanta*, 2008, Vol. 75, pp. 978-986.
27. Zhang H.T., Song T., Zong F.L. et al. *J. Mol. Sci.*, 2008, Vol. 9, pp. 98-106.
28. Sun Z., Schüssler W., Sengl M. et al. *Anal. Chim. Acta*, 2008, Vol. 620, pp. 73-81.
29. Malosse L., Palmas P., Buvat P. et al. *Macromolecules*, 2008, Vol. 41, pp. 7834-7842.
30. Ansell R.J., Wang D. *Analyst*, 2009, Vol. 134, pp. 564-576.
31. Li Y., Yang T., Qi X. et al. *Anal. Chim. Acta*, 2008, Vol. 624, pp. 317-325.
32. Luo W., Zhu L., Yu C. et al. *Anal. Chim. Acta*, 2008, Vol. 618, pp. 147-156.
33. Molinelli A., O'Mahony J., Nolan K. et al. *Anal. Chem.*, 2005, Vol. 77, pp. 5196-5204.
34. Herdes C., Sarkisov L. *Langmuir*, 2009, Vol. 25, pp. 5352-5359.
35. Ng S.M., Narayanaswamy R. *Sens. Actuators B*, 2009, Vol. 139, pp. 156-165.
36. Soares C.M.F., Zanin G.M., Moraes F.F. et al. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.*, 2007, Vol. 57, pp. 79-82.
37. Yang Y., Long Y., Cao Q. et al. *Anal. Chim. Acta*, 2008, Vol. 606, pp. 92-97.
38. Hoshina K., Horiyama S., Matsunaga H., Haginaka J. *J. Chromatogr. A*, 2009, Vol. 1216, pp. 4957-4962.
39. Chen L., Xuab S., Lia J. *Chem. Soc. Rev.*, 2011, Vol. 40, pp. 2922-2942.
40. Perez-Moral N., Mayes A. *Bioseparation*, 2002, Vol. 10, pp. 287-299.
41. Shoji R., Takeuchi T., Kubo I. *Anal. Chem.*, 2003, Vol. 75, No 18, pp. 4882-4886.
42. Panasyuk-Delaney T., Mirsky V.M., Wolfbeis O.S. *Electroanalysis*, 2002, Vol. 14, pp. 221-224.
43. Flores A., Cunliffe D., Whitcombe M.J., Vulfson E.N. *Journal of Applied Polymer Science*, 2000, Vol. 77, pp. 1841-1850.
44. Geckeler K.E., Nishide H. *Advanced Nanomaterials*. Weinheim: Wiley-VCH, 2010, 906 p.
45. Vaihinger D., Landfester K., Kräuter I. et al. *Macrom. Chem. Phys.*, 2003, Vol. 203, pp. 1965-1973.
46. Tan C.J., Wangrangsimakul S., Bai R., Tong Y.W. *Chem. Mater.*, 2008, Vol. 20, pp. 118-127.
47. Curcio P., Zandanel C., Wagner A. et al. *Macromol. Biosci.*, 2009, Vol. 9, pp. 596-604.
48. Markowitz M.A., Deng G., Gaber B.P. *Langmuir*, 2000, Vol. 16, pp. 6148-6155.
49. Markowitz M.A., Deng G., Gaber B.P. *Langmuir*, 2000, Vol. 16, pp. 1759-1765.

50. Xiao P., Dudal Y., Corvini P.F.X. et al. *React. Funct. Polym*, 2012, Vol. 72, pp. 287-293.
51. Liu X., Wei Z.H., Huang Y.P. et al. *J. Chromatogr. A*, 2012, Vol. 1264, pp. 137-142.
52. Dai J., Pan J., Xu L. et al. *J. Hazard. Mater*, 2012, Vol. 205-206, pp. 179-188.
53. Esfandyari-Manesh M., Javanbakht M., Dinarvand R., Atyabi F. *J. Mater. Sci. Mater. Med*, 2012, Vol. 23, pp. 963-972.
54. Lehmann M., Dettling M., Brunner H., Tovar G.E.M. *J. Chromatogr. B*, 2004, Vol. 808, pp. 43-50.
55. Alizadeh T., Ganjali M.R., Akhoundian M. *Int. J. Electrochem. Sci*, 2012, Vol. 7, pp. 7655-7674.
56. Ma J., Yuan L., Ding M. et al. *Biosens. Bioelectron*, 2011, Vol. 26, pp. 2791-2795.
57. Li L., He X.W., Chen L.X., Zhang Y. *Sci. China Ser. B*, 2009, Vol. 52, pp. 1402-1411.
58. Lai J.P., Yang M.L., Niessner R., Knopp, D. *Anal. Bioanal. Chem*, 2007, Vol. 389, pp. 405-412.
59. Wei S., Molinelli A., Mizaikoff B. *Biosens. Bioelectron*, 2006, Vol. 21, pp. 1943-1951.
60. Yao Q., Zhou Y. *J. Inorg. Organomet Polym. Mater*, 2009, Vol. 19, pp. 466-472.
61. Yoshimatsu K., LeJeune J., Spivak D.A., Ye L. *Analyst*, 2009, Vol. 134, pp. 719-724.
62. Yang K., Berg M. M., Zhao C., Ye L. *Macromolecules*, 2009, Vol. 42, pp. 8739-8746.
63. Zamora O., Paniagua E.E., Cacho C. et al. *Anal. Bioanal. Chem*, 2009, Vol. 393, pp. 1745-1753.
64. Yang M., Gu W., Sun L. et al. *Talanta*, 2010, Vol. 81, pp. 156-161.
65. Beltran A., Marcé R.M., Cormack P.A.G., Borrull F. *J. Chromatogr. A*, 2009, Vol. 1216, pp. 2248-2253.
66. Cacho C., Turiel E., Martin-Esteban A. et al. *J. Chromatogr. B*, 2004, Vol. 802, pp. 347-353.
67. Tamayo F.G., Casillas J.L., Martin-Esteban A. *J. Chromatogr. A*, 2005, Vol. 1069, pp. 173-181.
68. Sambe H., Hoshina K., Moaddel R. et al. *J. Chromatogr. A*, 2006, Vol. 1134, pp. 88-94.
69. Jin Y., Jiang M., Shi Y. et al. *Anal. Chim. Acta*, 2008, Vol. 612, pp. 105-113.
70. Tan C.J., Tong Y.W. *Anal. Chem.*, 2007, Vol. 79, pp. 299-306.
71. Hoshina K., Horiyama S., Matsunaga H., Haginaka J. *J. Chromatogr. A*, 2009, Vol. 1216, pp. 4957-4962.
72. Perez N., Whitcombe M.J., Vulfson E.N. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2000, Vol. 77, pp. 1851-1859.
73. Barahona F., Turiel E., Cormack P.A.G., Martin-Esteban A. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 2010, Vol. 48, pp. 1058-1066.
74. Barahona F., Turiel E., Cormack P.A.G., Martin-Esteban A. *J. Sep. Sci.*, 2011, Vol. 34, pp. 217-224.
75. Gao D, Zhang Z., Wu M. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, Vol. 129, pp. 7859-7866.
76. Yang H., Zhang S., Tan F. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, Vol. 127, pp. 1378-1379.
77. Qin L., He X., Zhang W. et al. *J. Chromatogr. A*, 2009, Vol. 1216, pp. 807-814.
78. Wang H., Zhou W., Yin X. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, Vol. 128, pp. 15954-15955.
79. Li Y., Li X., Li Y. et al. *Biomaterials*, 2009, Vol. 30, pp. 3205-3211.
80. He C., Long Y., Pan J. et al. *Talanta*, 2008, Vol. 74, pp. 1126-1131.
81. Wang X., Wang L., He X. et al. *Talanta*, 2009, Vol. 78, pp. 327-332.
82. Wang H., He Y., He X. et al. *J. Sep. Sci.*, 2009, Vol. 32, pp. 1981-1986.
83. Wang H., He Y., Ji T. et al. *Anal. Chem.*, 2009, Vol. 81, pp. 1615-1621.
84. Hu Y., Liu R., Zhang Y., Li G. *Talanta*, 2009, Vol. 79, pp. 576-582.
85. Matsui J., Takayose M., Akamatsu K. et al. *Analyst*, 2009, Vol. 134, pp. 80-86.
86. Yan H., Cheng X., Sun N. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, Vol. 61, pp. 2896-2901.
87. Changa L., Chena S., Li X. *Applied Surface Science*, 2012, Vol. 258, pp. 6660-6664.
88. Dai J., Pan J., Xu L. et al. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, Vol. 205-206, pp. 179-188.
89. An Z., Shi Q., Tang W. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, Vol. 129, pp. 14493-14499.
90. Titirici M., Borje S. *Chem. Mater.*, 2006, Vol. 18, pp. 1773-1779.
91. Wei X., Li X., Husson S. *Biomacromolecules*, 2005, Vol. 6, pp. 1113-1121.
92. Boonpangrak S., Whitcombe M.J., Prachayasittikul V. et al. *Biosens. Bioelectron.*, 2006, Vol. 22, pp. 349-354.

93. Southard G.E., Houten K.A.V., Edward W.O. *Anal. Chim. Acta*, 2007, Vol. 581, pp. 202-207.
94. Sulitzky C., Rückert B., Hall A. J. et al. *Macromolecules*, 2002, Vol. 35, pp. 79-91.
95. Pan G., Zu B., Guo X. et al. *Polymer*, 2009, Vol. 50, pp. 2819-2825.
96. Lu C., Zhou W., Han B. et al. *Anal. Chem.*, 2007, Vol. 79, pp. 5457-5461.
97. Chen Z., Cui H., Hales K. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, Vol. 127, pp. 8592-8593.
98. Kyaas G. Z., Bikiaris D. N., Lazaridis N. *Chem. Eng. J.*, 2009, Vol. 149, pp. 263-272.
99. Sun H., Qiao F. *J. Chromatogr. A*, 2008, Vol. 1212, pp. 1-9.
100. Yan H., Row K. H. and Yang G. *Talanta*, 2008, Vol/ 75, pp.227-232.
101. Benito-Pen'a E., Martins S., et al. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, Vol/393, 235-245.
102. Puoci F., Lemma F., Cirillo G. et al. *Eur. Polym. J.*, 2009, Vol. 45, pp. 1634-1640.
103. Ermolaeva, T.N., Kalmykova, E.N., P'ezokvartsevye sensory: Analiticheskie vozmozhnosti i perspektivy (Piezoelectric Quartz Crystal Sensors: Analytical Potential and Prospects), Lipetsk: Lipetsk. Gos. Tekh. Univ., 2007. 190 p./
104. Ermolaeva T.N., Kalmykova E.N., Shashkanova O.Y., *Russian Journal of General Chemistry*, 2008, Vol. 78, No 12, pp. 2430-2444.
105. Bondarevskii A.S., Soboleva I.G., Ermolaeva T.N., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2010, Vol. 10, No 3, pp. 378-384.
106. Karaseva N.A., Soboleva I.G., Ermolaeva T.N., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2013, Vol. 13, No 1, pp. 5-9.
107. Zhibrova Yu.A., Zyablov A.N., Shcheglova N.A. et al. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2008, Vol. 8, No 4, pp. 686-688.
108. Sener G., Ozgur E., Yilmaz E et al. *Biosens. Bioelectron*, 2010, Vol. 26, pp. 815-821.
109. Zeng Z., Hoshino Y., Rodriguez A. et al. *Nano*, 2010, Vol. 4, pp. 199-204.
110. Ozgur E., Yilmaz E., Şener G. et al. *Environ. Prog. Sustain. Energy*, 2012, Vol. 32, pp. 1164-1169.
111. Hussain M., Iqbal N., Lieberzeit P.A. *Sens. Actuators B: Chem*, 2013, Vol. 176, pp. 1090-1095.
112. Reimhult K., Yoshimatsu K., Risveden K. et al. *Biosens. Bioelectron*, 2008, Vol. 23, pp. 1908-1914.
113. Hoshino Y., Kodama T., Okahata Y., Shea K.J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, Vol. 130, pp. 15242-15243.
114. Schirhagl R., Lieberzeit P.A., Blaas D., Dickert F.L. *Advan. Mater.*, 2010, Vol. 22, pp. 2078-2081.
115. Liu N., Han J., Liu Z., Qu L., Gao Z. *Anal. Methods*, 2013, Vol. 5, pp. 4442-4447.
116. Ermolaeva T.N., Kalmykova E.N. *Russian Chemical Reviews*, Vol. 75, No 5, pp. 397-414.
117. Piletsky S., Turner A. *Molecular imprinting of polymers*. Georgetown, Texas: Landes Bioscience, 2006, 208 p.
118. Moreno-Bondi C.M., Navarro-Villoslada F., Benito-Pena E., Urraca L.J. *Current Analytical Chemistry*, 2008, Vol. 4, No 4, pp. 316-340.
119. Piletsky S.A., Piletskaya E.V., El'skaya A.V. et al. *Analytical Letters*, 1997, Vol. 30, pp. 445-455.
120. Karaseva N.A., Chernyshova V.N., Ermolaeva T.N. XXIV vserossiiskay konferentsiya molodykh uchenykh «Problems of theoretical and experimental chemistry», Ekaterinburg, 2014, pp. 25-26.
121. Ansell R.J. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed Life Sci*, 2004, Vol. 804, pp. 151-165.

Ермолаева Татьяна Николаевна – д.х.н., профессор, 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

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

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

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

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