



УДК 543.068.8:543.63

Поверхностные ансамбли на основе углеродных нанотрубок в пьезоэлектрическом иммуносенсоре для высокочувствительного определения рактопамина

Фарафонова О.В.¹, Шукшина Е.И.¹, Гражулене С.С.², Ермолаева Т.Н.¹¹Липецкий государственный технический университет, Липецк²Институт проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов РАН, Черноголовка

Поступила в редакцию 5.04.2017 г.

Изучены условия формирования распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора на основе углеродных нанотрубок для высокочувствительного определения рактопамина в прямом формате иммуноанализа. Показано, что предварительная обработка углеродных нанотрубок концентрированными азотной и серной кислотами, а также активация карбоксильных групп карбодиимидным методом обеспечивают их прочное связывание с аминок группами подложки на основе 2-меркаптоэтиламина и аминок группами моноклональных антител к рактопамину, применяемых в качестве распознающих элементов сенсора. Установлены концентрации коллоидных растворов двух видов углеродных нанотрубок в диметилформамиде, обеспечивающие максимальные значения концентрационной чувствительности пьезоэлектрического сенсора при определении рактопамина. Диапазон определяемых содержаний рактопамина с помощью пьезоэлектрического сенсора составляет (нг/см³) 0.09-25, предел обнаружения 0.03.

Ключевые слова: пьезоэлектрический иммуносенсор, поверхностные ансамбли, моноклональные антитела, рактопамин, многостенные углеродные нанотрубки.

Surface assemblies based on carbon nanotubes in a piezoelectric immunosensor for the highly sensitive determination of ractopamine

Farafonova O.V.¹, Shukshina E.I.¹, Grazhulene S.S.², Ermolaeva T.N.¹¹Lipetsk State Technical University, Lipetsk²Institute of Microelectronics and High Purity Materials, RAS technology, Chernogolovka

The article proposes piezoelectric immunosensors based on surface ensembles of multi-walled carbon nanotubes (CNTs) for the determination in a direct format of an immunoassay of trace concentrations of ractopamine banned to be used in the Russian Federation as a feed additive to increase the productivity of livestock and a fat-burning agent for producing lean meat, Content on the health of consumers. The conditions for the formation of a recognition layer of a piezoelectric sensor based on carbon nanotubes for the highly sensitive determination of ractopamine in direct immunoassay format have been studied. The recognition layer was formed in several stages, including the modification of the sensor electrode by 2-mercaptoethylamine, the formation of ensembles based on multi-walled carbon nanotubes, and the immobilization of monoclonal antibodies to ractopamine on their surface. Preliminary treatment of carbon nanotubes with concentrated nitric and sulfuric acids, as well as activation of carboxyl groups by carbodiimide method, provides their strong binding to amino groups of a substrate based on 2-mercaptoethylamine and amino groups of monoclonal antibodies to ractopamine used as recognition elements of the sensor. The concentra-

tions of colloidal solutions of two types of carbon nanotubes in dimethylformamide are established, which ensure maximum values of the concentration sensitivity of the piezoelectric sensor when determining ractopamine. The increase in the concentration of CNTs at the stage of formation of the recognition layer leads to a simbiatic change in the mass and thickness of the film coating, in the case of using colloidal solutions of CNTs with a concentration of 500 mg/dm^3 , the oscillation of the sensor oscillations is observed. The maximum value of S_c was noted when using solutions of CNT 1 and CNT-2 100 mg/dm^3 and 144 mg/dm^3 , respectively. The influence of concentration of monoclonal antibodies used in the immobilization stage was studied. The choice of the working concentration of antibodies was carried out at the maximum saturation of the sorption layer, with the concentration of monoclonal antibodies equal to 3.2 ng/cm^3 , the limiting density of the active binding sites on the surface of the sensor electrode is reached. Surface topography is estimated by atomic force microscopy, a significant increase in the average arithmetic roughness R_a of the CNT-based recognition layer as compared to the substrate based on 2-mercaptoethylamine is established, which indicates the possibility of placing more detectable molecules of monoclonal antibodies on the sensor electrode. The range of detectable contents of ractopamine by means of a piezoelectric sensor is (ng/cm^3) 0.09-25, the detection limit is 0.03.

Keywords: piezoelectric immunosensor, surface ensembles, monoclonal antibodies, ractopamine, multiwalled carbon nanotubes.

Введение

В качестве аналитического сигнала пьезоэлектрического иммуносенсора выступает увеличение массы распознающего слоя при взаимодействии с определяемым соединением (прямой формат иммуноанализа) или антителами к нему (конкурентный формат иммуноанализа) [1]. Для получения распознающего слоя сенсора применяются, как правило, многостадийные способы, включающие модификацию поверхности электрода электрогенерированными пленками полимеров или самоорганизованными монослоями тиолов (силанов) [2-9], активацию бифункциональным реагентом и иммобилизацию антител или белковых конъюгатов аналита. Высокая адгезия слоя к поверхности металлического электрода сенсора обеспечивает сохранение постоянного значения массы при длительной эксплуатации в жидкости и определяется характером подложки, а чувствительность детектирования зависит от концентрации и пространственной доступности поверхностных «сайтов» связывания. Для повышения чувствительности пьезоэлектрического иммуносенсора при формировании распознающего слоя предложено использовать различные наноконпозиаты [10], применение которых, например, позволило проводить определение простатического специфического антигена на уровне пмоль/дм^3 [11].

Для детектирования низкомолекулярных соединений с помощью пьезоэлектрического сенсора обычно используется конкурентный формат иммуноанализа, недостатком которого является узкий линейный диапазон определяемых содержаний, необходимость синтеза и очистки гаптен-белкового конъюгата [12], иммобилизуемого на поверхности его электрода. Определение низкомолекулярных соединений в прямом формате требует применения распознающего слоя с высокой поверхностной концентрацией «сайтов» связывания, позволяющей проводить регистрацию присоединенной массы в ходе иммунохимической реакции на уровне 10^{-12} г . Увеличение удельной поверхности распознающего слоя возможно при применении многостенных углеродных нанотрубок.

Целью настоящего исследования являлась разработка пьезоэлектрического иммуносенсора на основе поверхностных ансамблей многостенных углеродных нанотрубок (УНТ) для определения в прямом формате иммуноанализа следовых концентраций рактопамина, запрещенного к использованию в РФ в качестве кормовой добавки для повышения продуктивности животноводства и жиросжигающего средства для получения постного мяса, вследствие негативного воздействия остаточных содержаний на здоровье потребителей.

Эксперимент

Реагенты. Рактопамина гидрохлорид, моноклональные антитела к рактопамину («Sigma-Aldrich»); органические растворители – этанол, 96%, ацетон, диметилформамид (ДМФ) («Química», Испания); неорганические реактивы: соляная ($\rho=1.198$ г/см³) серная ($\rho=1.8356$ г/см³), азотная ($\rho=1.513$ г/см³) кислоты. Фосфатный буферный раствор (PBS, pH 7.2), готовили растворением в 1 дм³ дистиллированной воды следующих реагентов (г): NaCl (8.0); KCl (0.2); Na₂HPO₄·12H₂O (2.9); KH₂PO₄ (0.2).

В работе использовали два вида многостенных углеродных нанотрубок, полученных в Институте проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов РАН, (Черноголовка) методом каталитического пиролиза паров этанола при 400-550°C. В качестве катализаторов использовали железо (УНТ-1), а также никель (УНТ-2). В случае никеля предкатализатором служил нитрат никеля, который непосредственно перед осаждением УНТ термически разлагали до металла. При каталитическом разложении паров этанола УНТ осаждались на поверхности катализатора, который после синтеза отмывали кислотами. После отмывки катализатора образцы промывали дважды деионированной водой, высушивали, просеивали через сито [13].

Для формирования распознающего слоя использовали: 2-меркаптоэтиламин; N-гидроксисукцинимид (NHS), N-этил-N'-(3-диметиламинопропил) карбодиимид гидрохлорид (EDAC) («Sigma-Aldrich»).

Подготовка углеродных нанотрубок. К 1 мг УНТ добавляли 2 см³ смеси концентрированных азотной и серной кислот в соотношении 1:3 и обрабатывали ультразвуком в течение 1 ч при температуре 30–50 °С, далее центрифугировали и промывали водой до нейтрального значения pH [14]. Полученную взвесь высушивали до постоянной массы. Углеродные нанотрубки растворяли в воде в следующих пропорциях: 1:2 (500 мг/дм³), 1:5 (200 мг/дм³), 1:7 (144 мг/дм³), 1:10 (100 мг/дм³), 1:20 (50 мг/дм³), добавляли диметилформамид для перевода в коллоидное состояние и обрабатывали ультразвуком (ультразвуковая ванна «ПСБ-Галас», Россия) в течение 40 мин. Активацию наночастиц осуществляли карбодиимидным методом [15]. Выбор растворов для активации УНТ осуществляли по значению оптической плотности с учетом реакции активных атомов азота с нингидрином: 2 мг нанотрубок помещали в микропробирку с 1 см³ 5%-ного спиртового раствора нингидрина и в течение 5 мин обрабатывали ультразвуком, затем реакцию смесь в течение 10 мин нагревали при 100°C, после чего центрифугировали и измеряли оптическую плотность при длине волны 570 нм.

Подготовка сенсора и проведение измерений. В качестве сенсора использовали пьезокварцевые резонаторы АТ - среза с собственной частотой колебания 10 МГц с электродами диаметром 10 мм (ЗАО «ЭТНА», Россия). Исследования проводили на установке, описанной ранее [12], состоящей из схемы возбуждения, перистальтического насоса К-120 (Knauer, Германия), частотного модуля «ДиСкоп» («Бафика», Москва) и ПК.

Для формирования подложки на предварительно обезжиренную поверхность электрода сенсора наносили каплю 5%-ого этанольного раствора 2-меркаптоэтиламина, высушивали при 80°C в сушильном шкафу в течение 20 мин, а затем на сенсор помещали 2 мкл карбоксилированных УНТ, проводили активацию с помощью EDAC (5 мг) и смеси EDAC (2.5 мг) и NHS (5 мг) и в течение 90 мин наносили 5 мкл антител к рактопамину, выдерживали 12 ч при 4°C во влажной камере, после чего распознающий слой промывали и высушивали.

В качестве аналитического сигнала сенсора использовали уменьшение частоты колебаний сенсора (Δf) при увеличении массы распознающего слоя (Δm) за счет образования гетерогенного иммунотетрамера: $\Delta f = k \cdot \Delta m$.

Качество полученных покрытий оценивали по следующим параметрам [5]:

- массе биослоя (мкг), рассчитанной по уравнению:

$$\Delta m_{nl} = 1,23 \cdot \Delta f',$$

- толщине распознающего слоя, нм

$$\Delta h = 0,043 \cdot \Delta f',$$

где $\Delta f'$ разность частот колебания сенсора до и после иммобилизации,

- числу устойчивых циклов измерений N (аналитический сигнал не снижается более чем на 5%),

- концентрационной чувствительности (S_c , Гц·см³/мкг) сенсора, показывающей изменение частоты колебаний иммуносенсора:

$$S_c = \frac{\Delta f}{C},$$

где C – концентрация рактопамина в пробе, мкг/см³.

Изучение морфологии поверхности распознающего слоя осуществляли с помощью атомного силового микроскопа SOLVER P47-Pro (ЗАО «Нанотехнология-МДТ», Зеленоград, Россия).

Обсуждение результатов

Распознающий биослой пьезоэлектрического иммуносенсора должен иметь хорошую адгезию к поверхности металлического электрода, что влияет на устойчивость его сигнала при многократном применении в жидких средах, высокую поверхностную концентрацию и равномерное расположение «сайтов» распознавания по всей площади электрода, минимальную массу и толщину. Изучены условия создания распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора для высокочувствительного определения рактопамина в прямом формате иммуноанализа. Формирование распознающего слоя осуществляли в несколько стадий, включающих модификацию электрода сенсора 2-меркаптоэтиламином, образование ансамблей на основе многостенных углеродных нанотрубок и иммобилизацию на их поверхности моноклональных антител к рактопамину (рис. 1).

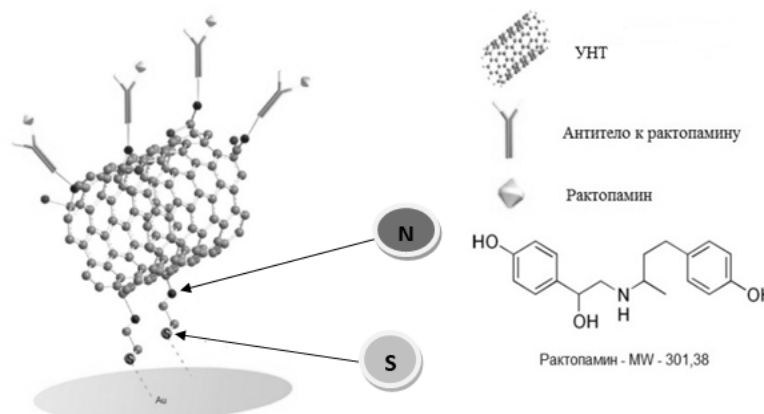


Рис. 1. Схема иммобилизации антител к рактопамину на подложке из 2-меркаптоэтиламина и УНТ

Для этого было необходимо изучить:

- условия активации карбоксильных групп многостенных углеродных нанотрубок УНТ-1 и УНТ-2 для повышения эффективности связывания как с аминокруппами подложки, так и с моноклональными антителами к рактопамину;
- влияние концентрации коллоидных растворов УНТ и моноклональных антител на характеристики распознающего слоя сенсора;
- изменение морфологии поверхности распознающего слоя сенсора на основе углеродных нанотрубок;
- возможность пьезоэлектрического иммуносенсора для определения рактопамина в прямом формате иммуноанализа.

Ранее было установлено, что предварительная модификация золотого электрода пьезоэлектрического сенсора 2-меркаптоэтиламиноом, обеспечивающим высокую адгезию к поверхности золотого электрода за счет образования координационных связей между атомами серы и Au, способствует формированию плотного и легкого покрытия с высокой концентрацией поверхностных аминокрупп [4]. Увеличение удельной поверхности сенсора может быть достигнуто за счет формирования ансамблей на основе многостенных углеродных нанотрубок, способствующих благодаря возникновению 3D граничного слоя существенному возрастанию его связывающей способности, что особенно важно при определении соединений с молекулярной массой < 500 Да в прямом формате иммуноанализа. Для повышения устойчивости распознающего слоя предложено осуществлять ковалентное связывание УНТ с аминокруппами подложки и белковыми молекулами антител после их обработки смесью активных серной и азотной кислот, приводящей к образованию на их поверхности карбоксильных групп, и последующей активации последних карбодии-мидным методом [17].

Выбор состава раствора для активации УНТ осуществляли с учетом оптической плотности, пропорциональной концентрации нингидрина, израсходованной на реакцию с активными атомами азота после обработки углеродных нанотрубок водным и спиртовым растворами EDAC, или EDAC/NHS в этиловом спирте. Эффективность активации оценивали по величине S , ммоль/г, показывающей удельное содержание активных атомов азота на поверхности УНТ (табл. 1), рассчитанной по методике, описанной в [15, 16]. Более высокая концентрация активных групп азота отмечается при использовании EDAC/NHS для обоих типов углеродных нанотрубок.

Таблица 1. Удельное содержание активных атомов азота на поверхности УНТ ($n=3$; $P=0.95$)

№	Тип активации	S , ммоль/г	
		УНТ-1	УНТ-2
1	EDAC/NHS (спирт)	0.24	0.27
2	EDAC (водн)	0.09	0.09
3	EDAC (спирт)	0.11	0.13

На характеристики распознающего слоя пьезоэлектрического сенсора также существенное влияние оказывает концентрация моноклональных антител, применяемая на стадии иммобилизации. Выбор рабочей концентрации антител осуществляли по максимуму насыщения сорбционного слоя (рис. 2). Таким образом, при применении на стадии иммобилизации концентрации моноклональных антител, равной 3.2 нг/см^3 , достигается предельная плотность активных «сайтов» связывания на поверхности электрода сенсора.

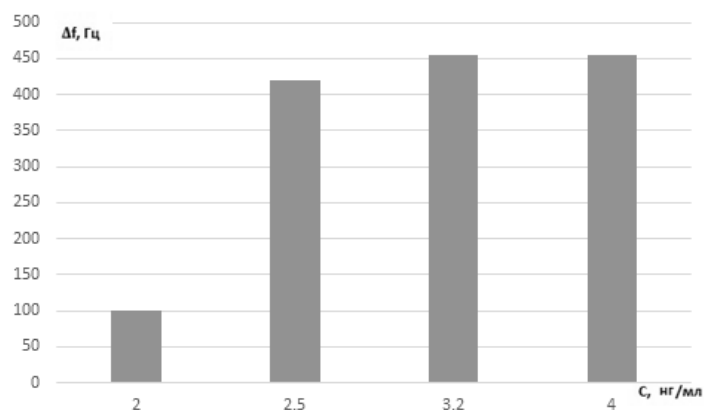


Рис. 2. Зависимость сигнала сенсора от концентрации антител

Для выбора концентрации УНТ, обеспечивающей максимальную удельную поверхность, измеряли аналитический сигнал сенсора при его контакте с раствором рактопамина с концентрацией 10 нг/см^3 (табл. 2). Увеличение концентрации УНТ на стадии формирования распознающего слоя приводит к симбатному изменению массы и толщины пленочного покрытия, в случае использования коллоидных растворов УНТ с концентрацией 500 мг/дм^3 наблюдается срыв колебаний сенсора. Максимальное значение S_c отмечено при использовании растворов УНТ 1 и УНТ-2 100 мг/дм^3 и 144 мг/дм^3 соответственно.

Таблица 2. Влияние концентрации УНТ на характеристики пьезоэлектрического сенсора для определения рактопамина ($P=0.95$; $n=5$) (Сантител 3.2 нг/см^3)

Вид УНТ	$C, \text{ мг/дм}^3$	$\Delta m, \text{ мкг}$	$\Delta h, \text{ нм}$	$S_c, \text{ Гц} \cdot \text{ см}^3/\text{мкг}$
УНТ-1	50	20.01	0.70	155
	100	23.15	0.8	504
	144	26.13	0.91	368
	200	42.91	1.50	204
	500	-	-	-
УНТ-2	50	25.45	0.89	204
	100	40.78	1.43	232
	144	67.45	2.36	692
	200	116.28	4.07	505
	500	-	-	-

При оценке топографии поверхности методом атомно силовой микроскопии установлено существенное увеличение средней арифметической шероховатости R_a распознающего слоя на основе УНТ по сравнению с подложкой на базе 2-меркаптоэтиламина (рис. 3), что свидетельствует о возможности размещения на электроде сенсора большего количества распознающих молекул моноклональных антител.

Пьезоэлектрические иммуносенсоры применены для определения рактопамина в модельных растворах в прямом формате анализа (табл. 3). Следует отметить более широкий диапазон определяемых содержаний по сравнению с конкурентным методом определения рактопамина и более низкий предел обнаружения [18]. Распознающий слой сенсора проявляет устойчивость в жидких средах, что позволяет осуществлять до 36-37 циклов измерения на одном покрытии.

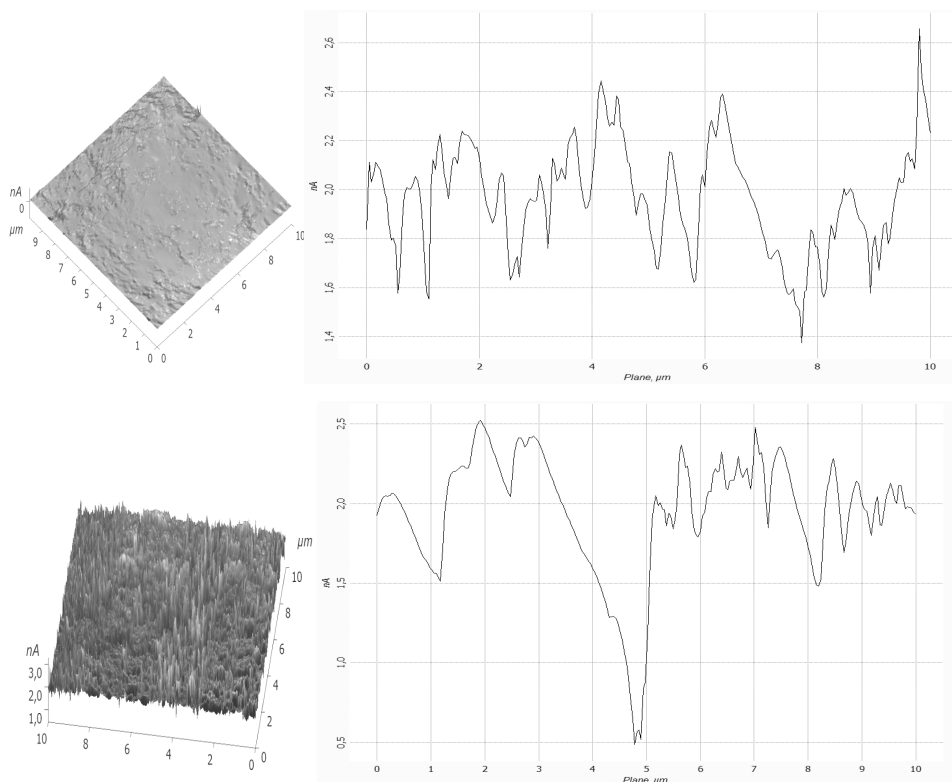


Рис. 3/ Морфология и профиль поверхности слоя 2-меркаптоэтиленамина до ($R_a=83\text{nm}$) и после ($R_a=331\text{nm}$) нанесения УНТ-2

Таблица 3. Метрологические характеристики определения рактопамина в прямом формате анализа ($P=0.95$; $n=3$)

УНТ	C_{\min} , нг/см ³	Диапазон определяемых содержаний, нг/см ³	Уравнение градуировочно- го графика	R^2	N
УНТ-1	0.04	0.1-22	$y = 4.9x + 50.6$	0.99	36
УНТ-2	0.03	0.1-25	$y = 7.2x + 86.4$	0.99	37

При применении УНТ-1 и УНТ-2 сенсоры демонстрируют практически одинаковые C_{\min} и диапазоны определяемых содержаний. Однако в случае УНТ-2 отмечается более высокий коэффициент чувствительности при определении рактопамина, это связано с условиями синтеза на никелевом катализаторе. Ранее установлено, что трубки, полученные данным способом, обладают максимальной способностью к модификации и, соответственно, максимальной сорбционной ёмкостью. Разработанные сенсоры могут быть рекомендованы для определения рактопамина в реальных объектах.

Список литературы

1. Blanca J., Munoz P., Morgado M., Mendez N. et al. // *Anal. Chim. Acta*. 2005. Vol. 529. pp. 199-205.
2. Ермолаева Т.Н., Калмыкова Е.Н. // *Успехи химии*. 2006. Т. 75. № 5. С. 445-459.
3. Khan M. Z. H., Harkin-Jones E. // *Cogent Engineering*. 2016. Vol. 3. pp. 1-18. <http://dx.doi.org/10.1080/23311916.2016.1170097>
4. Фарафонова О.В., Шихалиев Х.С., Ермолаева Т.Н. // *Современные проблемы науки и образования*. 2012. № 6. С. 721.
5. Калмыкова Е.Н., Мелихова Е.В., Еремин С.А., Ермолаева Т.Н. // *Антибиотики и химиотерапия*. 2004. Т. 49. № 1. С. 8-13.

6. Blanca J., Munoz P., Morgado M., Mendez N. et al. // *Anal. Chim. Acta.* 2005. Vol. 529. pp. 199 – 205.
7. Elliott C.T., Thompson C.S., Arts C.J., Crooks S.R. // *Analyst.* 1998. Vol. 123. pp 1103-1107.
8. Turberg M.E., Rodewald J.M., Coleman M.R. // *J. Chromatogr. Biomed. Appl.* 1996. Vol. 675. No 2. pp. 279-285.
9. Wang J.P., Li X.W., Zhang W., Shen J.Z. // *Chromatographia.* 2006. Vol. 64. pp. 613-617.
10. Белякова Н.В., Нечаева Л.С., Бутырская Е.В., Шапошник В.А. и др. // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2016. Т. 16. № 4. С. 526-532.
11. Chen H., Huang J., Fam D.W.H., Tok A.I.Y. // *Bioengineering.* 2016. Vol. 3. No 23. pp. 1-10. doi:10.3390/bioengineering3040023
12. Ермолаева Т.Н., Воронежцева О.В. // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2011. Т. 1. № 1. С. 68-76.
13. Гражулене С.С., Редькин А.Н., Телегин Г.Ф. // *Журнал аналитической химии.* 2012. Т. 67. № 5. С. 479-484.
14. Варламова Р.М., Медянцева Э.П., Хамидуллина Р.Р., Будников Г.К. // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки.* 2016. Т. 158. кн. 3. С. 351-368.
15. Palaniappana Al., Goha W.H., Yildiza U.H., Swarnalathab B. et al. // *Sensors and Actuators B.* 2012. Vol. 161. pp 689-696.
16. Ahammad A.J.S., Lee J-J., Rahman Md.A. // *Sensors.* 2009. Vol. 9. pp 2289-2319. doi:10.3390/s90402289.
17. Gromov A., Dittmer S., Svensson J., Nerushev O. et al. // *J. Mater. Chem.* 2005. Vol. 15. No 15. pp. 3334-3339.
18. Васильев С.В., Попова М.В., Фарафонова О.В., Карасева Н.А. и др. // *Современные проблемы науки и образования.* 2014. № 1. С. 444.

References

1. Blanca J., Munoz P., Morgado M., Mendez N et al., *Anal. Chim. Acta.* 2005, Vol. 529, pp. 199-205.
2. Ermolaeva T.N., Kalmykova E.N., *Uspekhi khimii*, 2006, Vol. 75, No 5, pp. 445-459.
3. Khan M.Z.H., Harkin-Jones E., *Cogent Engineering*, 2016, Vol. 3, pp. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1080/23311916.2016.1170097>
4. Farafonova O.V., Shikhaliev Kh.S., Ermolaeva T.N., *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 2012, No 6, pp. 721.
5. Kalmykova E.N., Melikhova E.V., Eremin S.A., Ermolaeva T.N., *Antibiotiki i khimioterapiya*, 2004, Vol. 49, No 1, pp. 8.
6. Blanca J., Munoz P., Morgado M., Mendez N. et al., *Anal. Chim. Acta.*, 2005, Vol. 529, pp. 199-205.
7. Elliott C.T., Thompson C.S., Arts C.J., Crooks S.R., *Analyst*, 1998, Vol. 123, pp 1103-1107.
8. Turberg M.E., Rodewald J.M., Coleman M.R., *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 1996, Vol. 675, No 2, pp. 279-285.
9. Wang J.P., Li X.W., Zhang W., Shen J.Z., *Chromatographia*, 2006, Vol. 64, pp. 613-617.
10. Belyakova N.V., Nechaeva L.S., Butyrskaya E.V., Shaposhnik V.A. et al., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2016, Vol. 16, No 4, pp. 526-532.
11. Chen H., Huang J., Fam D.W.H., Tok A.I.Y., *Bioengineering*, 2016, Vol. 3, No 23, pp. 1-10. doi:10.3390/bioengineering3040023
12. Ermolaeva T.N., Voronezhhtseva O.V., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2011, Vol. 1, No 1, pp. 68-76.
13. Grazhulene S.S., Red'kin A.N., Telegin G.F., *Zhurnal analiticheskoi khimii*, 2012, Vol. 67, No 5, pp. 479-484.
14. Varlamova R.M., Medyantseva E.P., Khamidullina R.R., Budnikov G.K., *Uchen. zap. Kazan. un-ta. Ser. Estestv. nauki.*, 2016, Vol. 158, kn. 3, pp. 351-368.
15. Palaniappana Al., Goha W.H., Yildiza U.H., Swarnalathab B. et al., *Sensors and Actuators B*, 2012, Vol. 161, pp 689-696.
16. Ahammad A.J.S., Lee J-J., Rahman Md.A., *Sensors*, 2009, Vol. 9, pp 2289-2319. doi:10.3390/s90402289.
17. Gromov A., Dittmer S., Svensson J., Nerushev O. et al., *J. Mater. Chem.*, 2005, Vol. 15, No 15, pp. 3334-3339.
18. Vasil'ev S.V., Popova M.V., Farafonova O.V., Karaseva N.A. et al., *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 2014, No 1, pp. 444.

Ермолаева Татьяна Николаевна – профессор кафедры химии, д.х.н., Липецкий государственный технический университет, Липецк

Гражулене Светлана Степановна - главный научный сотрудник, д. х. н., Институт проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов РАН, Черниголовка

Фарафонова Ольга Вячеславовна – доцент кафедры химии, к.х.н., Липецкий государственный технический университет, Липецк

Шукшина Евгения Ивановна – аспирант кафедры химии, Липецкий государственный технический университет, Липецк.

Ermolaeva Tatyana N. - prof., grand Ph.D (chemistry), department of chemistry, Lipetsk State Technical University, Lipetsk, e-mail: etn@stu.lipetsk.ru

Grazhulene Svetlana S. - chief researcher, grand Ph.D (chemistry), Institute of Microelectronics Technology and High-Purity Materials, Russian Academy of Sciences, Chernigolovka, e-mail: grazhule@impt-hpm.ac.ru

Farafonova Olga V. - associate prof., Ph.D. (chemistry), department of chemistry, Lipetsk State Technical University, Lipetsk, e-mail: farafonova.ov@mail.ru

Shukshina Evgenia I. – the postgraduate student, department of chemistry, Lipetsk State Technical University, Lipetsk.