

DOI: <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2023-89-8-23-30>

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АРИСТОЛОХИЕВОЙ КИСЛОТЫ С ПОМОЩЬЮ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ИММУНОСЕНСОРА НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ

© Екатерина Вячеславовна Бизина^{1*}, Анна Андреевна Полосина¹,
Ольга Вячеславовна Фарафонова¹, Сергей Александрович Еремин²,
Татьяна Николаевна Ермолаева¹

¹ Липецкий государственный технический университет, Россия, 398600, г. Липецк, ул. Московская, стр. 30,
*e-mail: katarina.bizina1821@mail.ru

² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, стр. 1.

*Статья поступила 25 апреля 2023 г. Поступила после доработки 2 июня 2023 г.
Принята к публикации 22 июня 2023 г.*

Представлена методика определения аристолохиевой кислоты (АА) в пищевой продукции с использованием пьезоэлектрического иммуносенсора, в качестве распознающего слоя которого служили магнитные углеродные наноконпозиты (МУНК) с иммобилизованными на их поверхности белковыми конъюгатами АА. Изучены способы синтеза магнитных ядер Fe_3O_4 и их закрепление на поверхности многостенных углеродных нанотрубок (УНТ). Методом ИК-спектроскопии установлено, что формирование распознающего слоя сенсора происходит вследствие образования ковалентных связей между аминогруппами конъюгатов АА и карбоксильными группами УНТ. Определены концентрации белковых конъюгатов на основе овальбумина (OVA) и бычьего сывороточного альбумина (BSA) (0,3 и 0,2 мг/мл) и степень разбавления антител (0,25), обеспечивающие оптимальные характеристики пьезоэлектрического иммуносенсора. Установлены метрологические характеристики определения АА предложенным способом: диапазон определяемых содержаний и предел обнаружения АА при применении пьезоэлектрического иммуносенсора с распознающим слоем на основе МУНК/АА-OVA и МУНК/АА-BSA составляют (нг/мл): 50 – 400 и 10; 100 – 300 и 50 соответственно. Сенсор апробирован при определении АА в образцах китайского фиточая и БАД для похудения. В чае кислота не обнаружена, а в БАД ее содержание составляет 3,2 мкг/г.

Ключевые слова: аристолохиевая кислота; пьезоэлектрический иммуносенсор; магнитные наноконпозиты; многостенные углеродные нанотрубки; магнитные наночастицы.

DETERMINATION OF ARISTOLOCHIC ACID USING A PIEZOELECTRIC IMMUNOSENSOR BASED ON MAGNETIC CARBON NANOCOMPOSITES

© Ekaterina V. Bizina^{1*}, Anna A. Polosina¹, Olga V. Farafonova¹,
Sergey A. Eremin², Tatyana N. Ermolaeva¹

¹ Lipetsk State Technical University, 30, Moskovskaya ul. , Lipetsk, 398600, Russia; *e-mail: katarina.bizina1821@mail.ru

² M. V. Lomonosov Moscow State University, 1, Leninskiye Gory, Moscow, 119991, Russia.

Received April 25, 2023. Revised June 2, 2023. Accepted June 22, 2023.

A technique for the determination of aristolochic acid (AA) in food products using a piezoelectric immunosensor is presented. Magnetic carbon nanocomposites (MCNC) were used as the recognition layer of the sensor, on the surface of which protein conjugates of AA were immobilized. Abstract-Methods for the synthesis of Fe_3O_4 magnetic nuclei and their attachment to the surface of multi-walled carbon nanotubes (CNTs) have been studied. Using IR spectrometry, it was found that the formation of the recognition layer of the sensor occurs due to the formation of covalent bonds between the amino groups of AA conjugates and carboxyl groups of CNTs. The concentrations of protein conjugates based on ovalbumin (OVA) and bovine serum albumin (BSA) (0.3 and 0.2 mg/ml) and the degree of antibody dilution (0.25) were determined, which provide optimal characteristics of the piezoelectric immunosensor. The metrological characteristics of the method for determining AA have been established. The range of determined concentrations of AA and the limit of detection when using a piezoelectric immunosensor with a recognition layer based on MUNA/AA-OVA and MUNA/AA-BSA are (ng/ml): 50 – 400 and 10; 100 – 300 and 50, respectively. The sensor has been tested in the determination of AA in samples of Chinese herbal

tea and dietary supplements for weight loss. No acid was found in tea, and in dietary supplements, the acid content is 3.2 µg/g.

Keywords: aristolochic acid; piezoelectric immunosensor; magnetic nanocomposites; multi-walled carbon nanotubes; magnetic nanoparticles.

Введение

Аristolохиевая кислота (АА) — действующий компонент многолетних трав и древесных лиан семейства кирказоновых, который обладает мочегонными и тонизирующими свойствами, а также антиинфекционным воздействием на мочевыделительную систему. Однако в 90-х годах прошлого века было установлено, что наряду с благотворным воздействием на организм АА при регулярном употреблении вызывает злокачественные новообразования и заболевания токсической интерстициальной нефропатией (арistolохиевой нефропатией) [1 – 3]. По этой причине АА в продуктах питания и лекарственных средствах запрещена более чем в 20 странах мира, в том числе и в России (с 2008 г.). Несмотря на это в Азии АА в микроконцентрациях до сих пор используют в качестве компонента биологически активных добавок (БАД) для похудения, противопаразитарных препаратов и средств против бессонницы [4, 5]. Ее появление возможно и в других странах, поскольку БАД не всегда проходят токсикологическую экспертизу при пересечении границы. Поэтому весьма актуальной задачей является разработка методики определения АА в БАД и растительном сырье.

В настоящее время для определения АА используют хроматографические методы анализа, в частности, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), обеспечивающую низкий предел обнаружения и широкий диапазон определяемых содержаний АА [6 – 9]. Однако подобный анализ требует продолжительной пробоподготовки, что стимулирует появление новых более экспрессных методик определения АА.

Все чаще для определения следовых концентраций аналитов в пище, растительном сырье и биологических жидкостях применяют пьезоэлектрические иммуносенсоры, характеризующиеся высокой чувствительностью и селективностью, связанной с природой распознающих молекул. Пьезоэлектрические гравиметрические иммуносенсоры позволяют проводить прямое определение целевых аналитов в пробе без применения специальных меток в присутствии больших количеств мешающих компонентов [10 – 14]. Для повышения чувствительности определения разработаны различные приемы, обеспечивающие увеличение площади поверхности сенсора, например, путем применения магнитных углеродных наноконструкций (МУНК) — многостенных углеродных нанотрубок (УНТ), модифицирован-

ных магнитными наночастицами (МНЧ) Fe_3O_4 . Применение магнитных углеродных наноконструкций способствует не только увеличению площади активной поверхности распознающего слоя сенсора, но и позволяет осуществлять формирование рецепторного слоя под действием внешних магнитных сил [15, 16].

Цель работы — разработка пьезоэлектрического иммуносенсора с распознающим слоем на основе магнитных углеродных наноконструкций для определения аristolохиевой кислоты в растительном сырье и биологически активных добавках.

Экспериментальная часть

В работе использовали следующие реагенты: янтарную кислоту ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$) («Реахим», Россия), раствор аristolохиевой кислоты в метаноле, конъюгаты аristolохиевой кислоты на основе альбумина яичного белка (OVA) — АА-OVA и бычьего сывороточного альбумина (BSA) — АА-BSA, поликлональные антитела к аristolохиевой кислоте (anti-AA) (МГУ им. М. В. Ломоносова). Селективность определения АА оценивали с применением мукофенольной кислоты, танина («ЛенРеактив», Россия), сорбиновой кислоты и резорцина («Реахим», Россия). Использовали следующие неорганические соединения: кристаллогидраты хлоридов двух- и трехвалентного железа ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), кристаллогидрат сульфата двухвалентного железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), гидроксид натрия (NaOH) («Реахим», Россия); аммиак водный ($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 25 %-ный раствор) («База № 1 Химреактивов», Россия), азотную ($\rho = 1,513 \text{ г/см}^3$) и серную ($\rho = 1,836 \text{ г/см}^3$) кислоты («Реахим», Россия). Перевод магнитных углеродных наноконструкций в дисперсное состояние осуществляли с помощью Triton X-100 (Sigma-Aldrich, США). Для активации карбоксильных групп МУНК использовали смесь, включающую N-гидроксисукцинимид (NHS) и N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорид (EDAC) (Sigma-Aldrich, США). Очистку поверхности золотого электрода пьезоэлектрического сенсора проводили с использованием соляной кислоты ($\rho = 1,198 \text{ г/см}^3$) («Реахим», Россия), ацетона и этилового спирта (Quimica, Испания).

Для предотвращения агломерации магнитных углеродных наноконструкций применяли УЗ-ванну («ПСБ-Галас», Россия). Для определения размеров и формы синтезированных магнитных наночастиц использовали сканирующий

зондовый микроскоп Solver P47-PRO («Нанотехнология-МДТ», Россия).

Образование химических связей между конъюгатами АА и магнитными углеродными нанокompозитами контролировали с использованием ИК-Фурье спектрометра Itraffinity (Shimadzu, Япония). Для регистрации ИК-спектров композиты наносили на пластину из кристаллического кремния «КЭС-0,01» («ПРОМТЕХ», Россия).

В качестве сенсоров применяли пьезоэлектрические резонаторы АТ-среза диаметром 8 мм и собственной частотой колебаний 10 МГц с золотыми электродами, расположенными по обе стороны кварцевой пластины (ЗАО «ЭТНА», Россия). Регистрацию аналитического сигнала проводили с использованием прибора CPNA-330 (ЗАО «ЭТНА», Россия) после нанесения на распознающий слой анализируемого раствора, промывания от несвязавшихся компонентов и высушивания до постоянной массы.

Массу покрытия рассчитывали по уравнению Зауэрбрея [17]:

$$\Delta f = - \frac{2,3 f_0^2 \cdot 10^6 \Delta m}{A},$$

где Δf — изменение частоты колебаний кристалла кварца, Гц; f_0 — собственная частота колебаний кристалла, 10 МГц; Δm — масса нанесенного на электрод покрытия, г; A — площадь поверхности электрода, 0,10066 см².

Устойчивость биослоя оценивали по числу повторных циклов измерений (N), при котором аналитический сигнал сенсора не отличался более чем на 5 %.

Синтез магнитных углеродных нанокompозитов. Предварительно получали магнитные наночастицы Fe₃O₄, синтезированные различными способами по методу соосаждения с применением солей железа (II, III) и растворов щелочей (NaOH или NH₃ · H₂O) [18 – 21] (табл. 1).

Для синтеза МУНК использовали многостенные углеродные нанотрубки, предоставленные Институтом катализа им. Г. К. Борескова (СО РАН, Новосибирск, Россия). Активацию УНТ проводили путем их обработки смесью HNO₃ и H₂SO₄ (3:1) в соответствии с методом, описанным в работе [22].

Магнитные углеродные нанокompозиты получали согласно методике [16]: смешивали 300 мг МНЧ и 100 мг УНТ и диспергировали в 30 мл дистиллированной воды в течение 30 мин. Полученный магнитный углеродный нанокompозит выделяли при помощи неодимового магнита и высушивали до постоянной массы.

Для перевода магнитных углеродных нанокompозитов в дисперсное состояние навеску МУНК массой 1 мкг вносили в 1 %-ый водный раствор Triton X-100 (1 мл) и подвергали ультразвуковой обработке в течение 1 ч, нагревая до 90 °С в течение первых 15 мин [15].

Формирование иммуноаффинного слоя. Так как молекула АА обладает небольшой молекулярной массой, определение проводили в конкурентном формате иммуноанализа. Для активации карбоксильных групп на поверхности УНТ использовали 1 %-ный водный раствор Triton X-100 объемом 200 мкл, содержащий EDAC и NHS массой 2,5 и 5 мг соответственно. К 10 мкл дисперсии нанокompозита добавляли 10 мкл активационной смеси, оставляли на 20 мин, после чего вносили 10 мкл белкового конъюгата АА. Полученную дисперсию выдерживали 12 ч при температуре 4 °С.

Для формирования распознающего слоя золотой электрод сенсора очищали 1 mM раствором соляной кислоты, ацетоном и спиртом, помещали в ячейку детектирования над неодимовым магнитом [15] и наносили 2 мкл дисперсии нанокompозита на основе МУНК и белкового конъюгата АА. Сенсор выдерживали при температуре 20 – 25 °С в течение 90 мин, затем промывали 200 мкл дистиллированной воды и сушили в потоке теплого воздуха до постоянной массы.

Селективность распознающего покрытия оценивали по коэффициентам перекрестного реагирования (ПР, %):

$$\text{ПР} = (\Delta f_{\text{меш}} / \Delta f_{\text{цел}}) \cdot 100,$$

где $\Delta f_{\text{меш}}$, $\Delta f_{\text{цел}}$ — аналитический сигнал сенсора при определении мешающего и целевого соединения соответственно, Гц.

Пробоподготовка. Пробоподготовку образцов китайского чая для похуждения «Летающая лас-

Таблица 1. Условия получения МНЧ

Table 1. Conditions for obtaining MNP

Номер способа	1	2	3	4
Соли Fe ²⁺ и Fe ³⁺	FeCl ₂ · 4H ₂ O, FeCl ₃ · 6H ₂ O	FeSO ₄ · 7H ₂ O, FeCl ₃ · 6H ₂ O	FeCl ₂ · 4H ₂ O, FeCl ₃ · 6H ₂ O	FeCl ₂ · 4H ₂ O, FeCl ₃ · 6H ₂ O
Осадитель	NH ₃ · H ₂ O	NaOH	NaOH	NH ₃ · H ₂ O
Способ внесения осадителя	Единовременно	Единовременно	По каплям	Единовременно
t , °С	80	25	80	90
pH	7	7	9	7

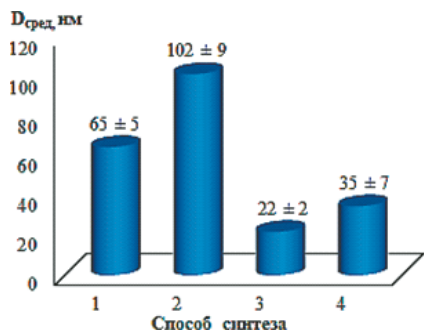


Рис. 1. Зависимость диаметра МНЧ от способа синтеза
Fig. 1. Dependence of MNP diameter on the synthesis method

точка» проводили следующим образом: 1 пакетик чая (2 г) заливали 200 мл кипящей дистиллированной воды и выдерживали 3 – 5 мин.
Для осуществления пробоподготовки БАД «Плоский живот» таблетку препарата растворяли в 200 мл дистиллированной воды и отфильтровывали осадок, который дважды промывали этиловым спиртом для перевода АА в раствор.

Обсуждение результатов

Формирование распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе магнитных углеродных нанокompозитов. Чувствительность определения с помощью пьезоэлектрического гравиметрического иммуносенсора существенно зависит от массы распознающего слоя. Использование тяжелого распознающего слоя может привести к сужению диапазона определяемых концентраций аналита и даже к срыву аналитического сигнала сенсора, поэтому в пьезоэлектрических иммуносенсорах рекомендовано использовать МУНК, полученные с применением МНЧ минимального диаметра. Такие МНЧ проявляют высокие магнитные свойства [23], что обеспечивает устойчивость распознающего слоя, полученного под действием внешнего магнитного поля. Минимальный диаметр синтезированных нами МНЧ (способ 3) составляет 22 ± 4 нм (рис. 1). Диаметр МНЧ, полученных способами 1

Таблица 2. Характеристики УНТ и значения массы подложки (МУНК) и распознающего слоя (МУНК/АА-ОВА) (n = 5; P = 0,95)

УНТ		Масса МУНК, мкг	Масса МУНК/АА-ОВА, мкг	N
d, нм	l, мкм			
10	1	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,0	31
7,8	40	2,4 ± 0,2	2,6 ± 0,2	23
10	35	2,5 ± 0,1	2,7 ± 0,3	17

и 2, в два и более раз превышает диаметр частиц, синтезированных способом 3, что приводит к сужению диапазона определяемых содержаний АА, а МНЧ, полученные способом 4, существенно различаются по размеру и поэтому непригодны для применения в пьезоэлектрических сенсорах.
Масса распознающего слоя также зависит от характеристик применяемых УНТ — длины, диаметра и структуры. Методом пьезокварцевого микровзвешивания оценивали массу слоя на основе МУНК и МУНК/АА-ОВА, закрепленного на поверхности пьезоэлектрического сенсора под действием внешнего магнитного поля (табл. 2).
Покрытие на базе УНТ длиной 1 мкм имеет минимальную массу и характеризуется высокой устойчивостью (N = 31). Использование в МУНК УНТ большей длины сопровождалось увеличением массы распознающего слоя МУНК/АА-ОВА и приводило к снижению его стабильности, так как МНЧ, расположенные на поверхности нанотрубок, не обеспечивали надежного закрепления магнитных нанокompозитов.
В качестве распознающих молекул применяли белковые конъюгаты АА — АА-BSA и АА-ОВА, иммобилизацию которых на поверхности МУНК осуществляли за счет образования ковалентных связей между активированными карбоксильными группами углеродных нанотрубок и аминоклуппами молекул белков (рис. 2). Методом ИК-спектроскопии контролировали образование связей путем сравнения ИК-спектров МУНК, конъюгата АА — АА-ОВА и нанокompозита МУНК/АА-ОВА (рис. 3).
Смещение и уширение пика, характерного для карбоксильной группы, в ИК-спектре МУНК/АА-ОВА относительно ИК-спектра МУНК с 1710 до 1750 см⁻¹ свидетельствуют об участии СООН-групп углеродных нанотрубок в образовании связи с молекулами конъюгата. Более четкое проявление серии пиков в области 3600 – 3400 см⁻¹ на спектре МУНК/АА-ОВА по сравнению со спектром АА-ОВА подтверждает связывание конъюгата с магнитным нанокompозитом за счет аминоклупп белка. Об успешном связывании композита с АА также свидетельствует проявление пика –NO₂ в спектре МУНК/АА-ОВА, характерного для молекулы АА. Существенное уменьшение интенсивности пика при 2860 см⁻¹ в спектре МУНК/АА-ОВА по сравнению со спектром МУНК связано с образованием комплексных соединений белковых молекул с Triton X-100.
Разработка методики определения аристолохиевой кислоты с помощью пьезоэлектрического сенсора. Концентрация конъюгата, иммобилизуемого на поверхности электрода, влияет на чувствительность определения АА с использованием пьезоэлектрического сенсора. Рабочие

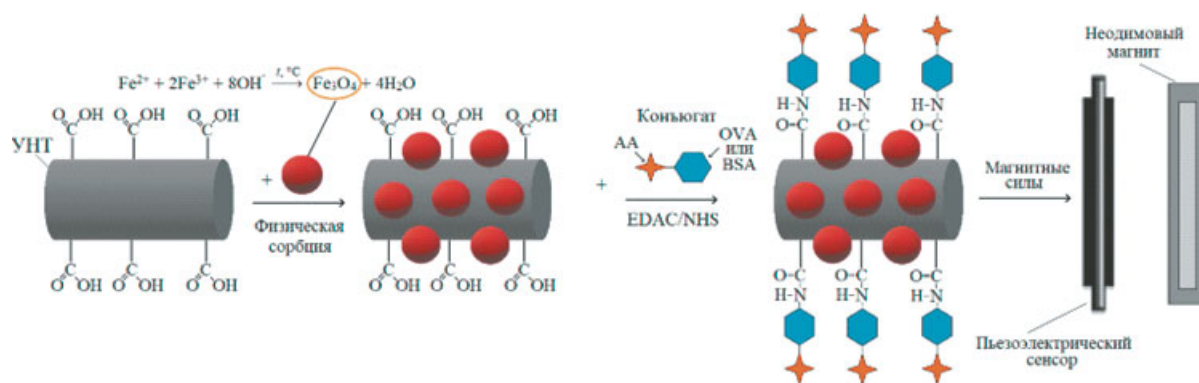


Рис. 2. Схема формирования рецепторного слоя

Fig. 2. Scheme of the formation of the receptor layer

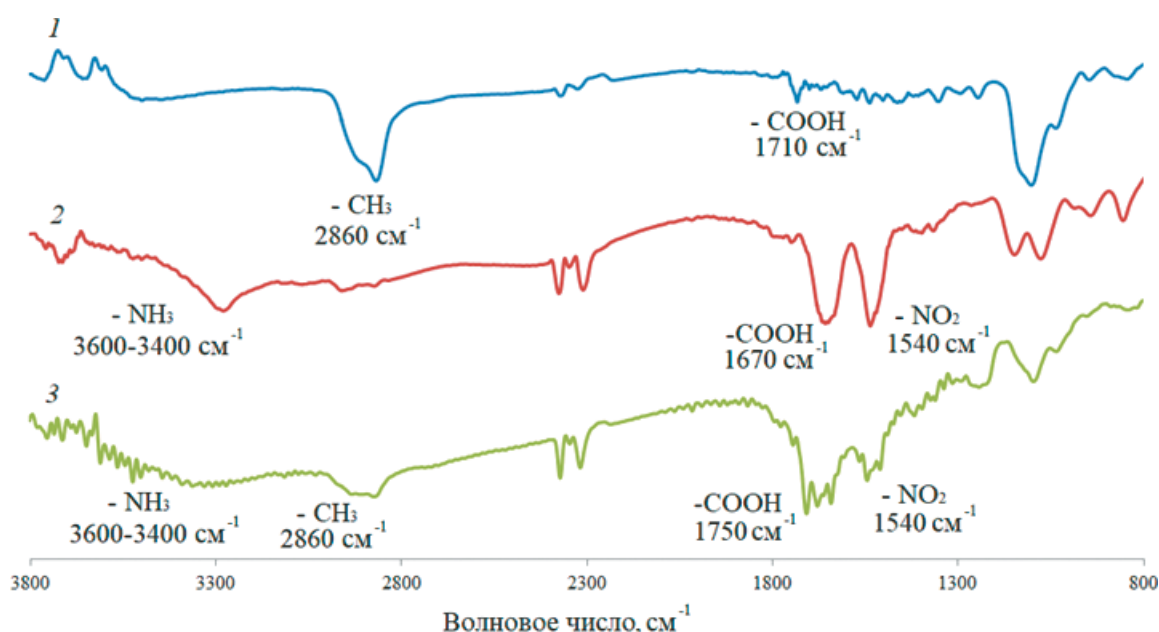


Рис. 3. ИК-спектры: 1 — МУНК; 2 — АА-ОВА; 3 — МУНК/АА-ОВА

Fig. 3. IR-spectra: 1 — MUNC; 2 — AA-OVA; 3 — MUNC/AA-OVA

концентрации АА-BSA и АА-ОВА определяли по максимуму на графике зависимости изменения частоты колебаний кварцевой пластины сенсора от концентрации соответствующего конъюгата, нанесенного в составе смеси МУНК/конъюгат на поверхность электрода сенсора (рис. 4, а).

Концентрации АА-BSA и АА-ОВА составили 0,2 и 0,3 ммоль/л соответственно. Различие концентраций конъюгатов АА-BSA и АА-ОВА связа-

но со значениями молекулярных масс молекул белка, составляющих 66,5 и 45 кДа для BSA и OVA соответственно. Концентрацию антител (разбавление антисыворотки), соответствующую 50 %-ному связыванию, определяли на линейном участке графической зависимости аналитического сигнала сенсора от разбавления антител. Значение разбавления составило 0,25 как для конъюгата на основе BSA, так и OVA (см. рис. 4, б).

Таблица 3. Аналитические характеристики определения АА ($n = 3$; $P = 0,95$)Table 3. Analytical characteristics of the determination of AA ($n = 3$; $P = 0.95$)

Конъюгат АА	$C_{\min}$, нг/мл	Диапазон определяемых концентраций, нг/мл	Уравнение градуировочной зависимости	R^2
АА-ОВА	10	50 – 400	$\Delta f = -1,54c + 1550$	0,99
АА-BSA	50	100 – 300	$\Delta f = -7,87c + 3283$	0,97

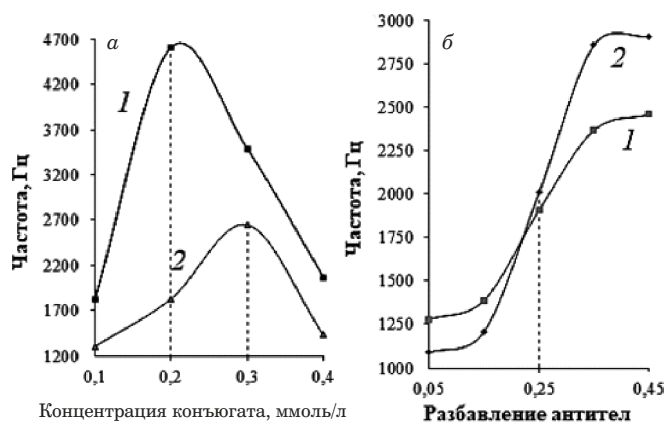


Рис. 4. Зависимость аналитического сигнала сенсора от концентрации конъюгата (а) и разбавления антител (б): 1 — AA-BSA; 2 — AA-OVA

Fig. 4. Dependence of the sensors signal on the concentration of conjugate (a) and dilution of primary antibody serum (b): 1 — AA-BSA; 2 — AA-OVA

Установлены аналитические характеристики пьезоэлектрического сенсора с распознающим покрытием на базе МУНК (табл. 3). В случае использования белкового конъюгата на основе

AA-OVA сигнал сенсора линеен в диапазоне 50 – 400 нг/мл, AA-BSA — 100 – 300 нг/мл.

Определение AA с распознающим слоем МУНК/AA-OVA характеризуется более широким диапазоном определяемых концентраций и низким пределом обнаружения по сравнению с использованием конъюгата МУНК/AA-BSA.

Селективность иммуносенсора на основе магнитных углеродных нанокомпозитов оценивали с помощью коэффициента кросс-реактивности (ПР, %) при детектировании целевого аналита и соединений, входящих в состав травяной матрицы фиточая и БАД — мукофенольной и сорбиновой кислот, танинов и катехинов (табл. 4). Значения ПР для всех мешающих соединений не превышают 8 %, что свидетельствует о высокой специфичности определения AA с помощью пьезоэлектрического сенсора на основе магнитных углеродных нанокомпозитов.

Сенсор апробирован при определении AA в реальных объектах — двух образцах фиточая и биологически активной добавке для похудения (табл. 5, 6).

Таблица 4. Коэффициенты перекрестного реагирования поликлональных антител (концентрация аналитов — 200 нг/мл)

Table 4. Cross-reactivity coefficients of polyclonal antibodies (analyte concentration — 200 ng/ml)

Соединение для перекрестного реагирования	Структурная формула соединения	ПР, %
Аристолохиевая кислота		100
Мукофенольная кислота		3
Танины		8
Катехины		1
Сорбиновая кислота		0,4

Таблица 5. Результаты определения аристолохиевой кислоты в образцах фиточая ($n = 5$; $P = 0,95$)**Table 5.** The results of the determination of aristolochic acid in herbal tea samples ($n = 5$; $P = 0.95$)

Фиточай	Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	S_r
«Оолонг усиленного действия»	100	98 ± 2	0,01
	150	149 ± 1	0,01
	250	247 ± 5	0,02
«Летящая ласточка фруктовый»	100	98 ± 2	0,02
	150	148 ± 1	0,01
	250	247 ± 2	0,01

Таблица 6. Результаты определения аристолохиевой кислоты в БАД ($n = 5$; $P = 0,95$)**Table 6.** The results of the determination of aristolochic acid in dietary supplements ($n = 5$; $P = 0.95$)

Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	Рассчитано, мкг/г	S_r
100	112 ± 1	3 ± 0	0,07
150	162 ± 1	3 ± 1	0,09
250	263 ± 1	3 ± 0	0,07

В образцах фиточая АА не обнаружена, что позволяет сделать вывод о безопасности данного продукта. Однако в БАД содержание АА составило 3 ± 1 мкг/г. Концентрация АА, приводящая к тяжелым формам раковых новообразований, составляет 184 мкг/г. Содержание АА в БАД не превышает данного значения, однако из-за того, что действие АА носит накопительный характер, применение данного препарата должно быть ограничено.

Заключение

Разработан способ определения АА с помощью пьезоэлектрического сенсора с распознающим покрытием на базе МУНК. Диапазон определяемых содержаний и предел обнаружения составили 50 – 400 и 10 нг/мл соответственно для АА-OVA и 100 – 300 и 50 нг/мл для АА-BSA. Сенсор апробирован при определении АА в образцах китайского фиточая и БАД для похудения. В образцах чая АА не обнаружена, в БАД ее содержание составило 3 ± 1 мкг/г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wang X., Giusti A., Ny A., De Witte P. A. Nephrotoxic effects in zebrafish after prolonged exposure to aristolochic acid / *Toxins*. 2020. Vol. 12. N 4. P 217 – 235. DOI: 10.3390/toxins12040217
2. Nie W., Lv Y., Yan L., et al. Prediction and Characterisation of the System Effects of Aristolochic Acid: A Novel Joint Network Analysis towards Therapeutic and Toxicological Mechanisms / *Sci. Rep.* 2015. Vol. 5. P 17646 – 17658. DOI: 10.1038/srep17646
3. Xu D., Zhao X., Yin L. Aristolochic acid i-induced hepatotoxicity in tianfu broilers is associated with oxidative-stress-mediated apoptosis and mitochondrial damage / *Animals*. 2021. Vol. 11. N 12. P 3437 – 3449. DOI: 10.3390/ani11123437
4. Al-Barham M. B., Al-Jaber H. L., Al-Qudah M. A., Abu Zarga M. H. New aristolochic acid and other chemical constituents of *Aristolochia maurorum* growing wild in Jordan / *Nat. Prod. Res.* 2017. Vol. 31. N 3. P 245 – 252. DOI: 10.1080/14786419.2016.1226833

5. Rebhan K., Ertl I. E., Shariat S. F., et al. Aristolochic acid and its effect on different cancers in uro-oncology / *Curr. Opin. Urol.* 2020. Vol. 30. N 5. P 689 – 695. DOI: 10.1097/MOU.0000000000000806
6. Jadot I., Declèves A.-E., Nortier J., Caron N. An Integrated View of Aristolochic Acid Nephropathy: Update of the Literature / *Int. J. Mol. Sci.* 2017. Vol. 18. N 2. P 297 – 320. DOI: 10.3390/ijms18020297
7. Guo W., Shi Z., Zhang J., et al. Analysis of aristolochic acid I in mouse serum and tissues by using magnetic solid-phase extraction and UHPLC-MS/MS / *Talanta*. 2021. Vol. 235. P 122774 – 122782. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122774
8. Zhang J., Wang Y., Sun Y., et al. QuEChERS pretreatment combined with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of aristolochic acids I and II in Chinese herbal patent medicines / *RSC Adv.* 2020. Vol. 10. N 42. P 25319 – 25324. DOI: 10.1039/D0RA03200J
9. Li W., Chan C.-K., Wong Y.-L., et al. Cooking methods employing natural anti-oxidant food additives effectively reduced concentration of nephrotoxic and carcinogenic aristolochic acids in contaminated food grains / *Food Chem.* 2018. Vol. 264. P 270 – 276. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.05.052
10. Karaseva N. A., Ermolaeva T. N. Piezoelectric immunosensors for the detection of individual antibiotics and the total content of penicillin antibiotics in foodstuffs / *Talanta*. 2014. Vol. 120. P 312 – 317. DOI: 10.1016/j.talanta.2013.12.018
11. Зяблов А. Н., Шаповалова А. А. Определение остаточных количеств цефотаксима в жидких средах с использованием пьезоэлектрического сенсора / *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2022. Т. 88. № 2. С. 15 – 21. DOI: 10.26896/1028-6861-2022-88-2-15-20
12. Алсовэйдн А. К. М., Караваяева О. А., Гулий О. И. Методы и подходы для определения антибиотиков / *Антибиотики и химиотерапия*. 2022. Т. 67. № 1 – 2. С. 53 – 61. DOI: 10.37489/0235-2990-2022-67-1-2-53-61
13. Ву Хоанг Иен, Зяблов А. Н. Применение МИП-сенсоров для определения консервантов в безалкогольных напитках / *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2022. Т. 88. № 8. С. 10 – 16. DOI: 10.26896/1028-6861-2022-88-8-10-16
14. Guliy O. I., Karavaeva O. A., Lovtsova L. G., et al. Biosensor systems for antibiotic detection / *Biophysics*. 2021. Vol. 66. N 4. P 555 – 564. DOI: 10.1134/S0006350921040060
15. Бизина Е. В., Фарафонова О. В., Золотарева Н. И. и др. Пьезоэлектрический иммуносенсор на основе магнитных углеродных наноконструкций для определения ципрофлоксацина / *Журн. аналит. химии*. 2022. Т. 77. № 4. С. 375 – 383. DOI: 10.31857/S0044450222040041

16. Бизина Е. В., Фарафонова О. В., Золотарева Н. И. и др. Применение магнитных углеродных нанокомпозитов при формировании распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора для определения пенициллина G / Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 4. С. 354 – 364. DOI: 10.31857/S0044450223040060
17. Sauerbrey G. Verwendung von Schwingquarzen zur Wigung dünner Schichten und zur Mikrowigung / Zeitschrift für Physik. 1959. Vol. 55. P. 206 – 222. DOI: 10.1007/BF01337937
18. Гражулене С. С., Золотарева Н. И., Редькин А. Н. и др. Магнитный сорбент на основе магнетита и модифицированных углеродных нанотрубок для извлечения некоторых токсичных элементов / Журн. прикл. химии. 2018. Т. 91. № 11. С. 1642 – 1648. DOI: 10.1134/S0044461818110154
19. Rana S., Barick K. C., Hassan P. A. Stimuli Responsive Carboxyl PEGylated Fe₃O₄ Nanoparticles for Therapeutic Applications / J. Nanofluids. 2015. Vol. 4. N 4. P. 421 – 427. DOI: 10.1166/jon.2015.1183
20. Wang J., Zheng S., Shao Y. Amino-functionalized Fe₃O₄@SiO₂ core-shell magnetic nanomaterial as a novel adsorbent for aqueous heavy metals removal / J. Colloid Interface Sci. 2010. Vol. 349. N 1. P. 293 – 299. DOI: 10.1016/j.jcis.2010.05.010
21. Singh S., Barick K. C., Bahadur D. Surface engineered magnetic nanoparticles for removal of toxic metal ions and bacterial pathogens / J. Hazard. Mater. 2011. Vol. 192. P. 1539 – 1547. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.06.074
22. Шинко Е. И., Фарафонова О. В., Шестопалов К. В., Ермолаева Т. Н. Активация углеродных нанотрубок для повышения эффективности аффинного взаимодействия на поверхности пьезоэлектрического сенсора при определении антибиотиков / Сорбционные и хроматографические процессы. 2019. Т. 19. № 3. С. 334 – 343. DOI: 10.17308/sorpchrom.2019.19/750
23. Netto C. G. C. M., Toma H. E., Andrade L. H. Superparamagnetic nanoparticles as versatile carriers and supporting materials for enzymes / J. Mol. Catal. B Enzym. 2013. Vol. 85. P. 71 – 92. DOI: 10.1016/j.molcatb.2012.08.010
8. Zhang J., Wang Y., Sun Y., et al. QuEChERS pretreatment combined with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of aristolochic acids I and II in Chinese herbal patent medicines / RSC Adv. 2020. Vol. 10. N 42. P. 25319 – 25324. DOI: 10.1039/D0RA03200J
9. Li W., Chan C.-K., Wong Y.-L., et al. Cooking methods employing natural anti-oxidant food additives effectively reduced concentration of nephrotoxic and carcinogenic aristolochic acids in contaminated food grains / Food Chem. 2018. Vol. 264. P. 270 – 276. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.05.052
10. Karaseva N. A., Ermolaeva T. N. Piezoelectric immunosensors for the detection of individual antibiotics and the total content of penicillin antibiotics in foodstuffs / Talanta. 2014. Vol. 120. P. 312 – 317. DOI: 10.1016/j.talanta.2013.12.018
11. Zyablov A. N., Shapovalova A. A. Determination of residual amounts of cefotaxime in liquid media using a piezoelectric sensor / Zavod. Lab. Diagn. Mater. 2022. Vol. 88. N 2. P. 15 – 21 [in Russian]. DOI: 10.26896/1028-6861-2022-88-2-15-20
12. Alsoveydi A. K. M., Karavaeva O. A., Guliy O. I. Methods and approaches for the determination of antibiotics / Antibiot. Khimioter. 2022. Vol. 67. N 1 – 2. P. 53 – 61 [in Russian]. DOI: 10.37489/0235-2990-2022-67-1-2-53-61
13. Vu Hoang Yen, Zyablov A. N. The use of MIP sensors for the determination of preservatives in soft drinks / Zavod. Lab. Diagn. Mater. 2022. Vol. 88. N 8. P. 10 – 16 [in Russian]. DOI: 10.26896/1028-6861-2022-88-8-10-16
14. Guliy O. I., Karavaeva O. A., Lovtsova L. G., et al. Biosensor systems for antibiotic detection / Biophysics. 2021. Vol. 66. N 4. P. 555 – 564. DOI: 10.1134/S0006350921040060
15. Bizina E. V., Farafonova O. V., Zolotareva N. I., et al. A piezoelectric immunosensor based on magnetic carbon nanocomposites for the determination of ciprofloxacin / J. Anal. Chem. 2022. Vol. 77. N 4. P. 458 – 465 [in Russian]. DOI: 10.31857/S0044450222040041
16. Bizina E. V., Farafonova O. V., Zolotareva N. I., et al. The use of magnetic carbon nanocomposites in the formation of a recognition layer of a piezoelectric immunosensor for the determination of penicillin G. / J. Anal. Chem.. 2023. Vol. 78. N 4. P. 488 – 496. DOI: 10.1134/S1061934823040068
17. Sauerbrey G. Verwendung von Schwingquarzen zur Wigung dünner Schichten und zur Mikrowigung / Zeitschrift für Physik. 1959. Vol. 55. P. 206 – 222. DOI: 10.1007/BF01337937
18. Grazhulene S. S., Zolotareva N. I., Redkin A. N., et al. Magnetic sorbent based on magnetite and modified carbon nanotubes for the extraction of some toxic elements / Russ. J. Appl. Chem. 2018. Vol. 91. N 11. P. 1849 – 1855. DOI: 10.1134/S0044461818110154
19. Rana S., Barick K. C., Hassan P. A. Stimuli Responsive Carboxyl PEGylated Fe₃O₄ Nanoparticles for Therapeutic Applications / J. Nanofluids. 2015. Vol. 4. N 4. P. 421 – 427. DOI: 10.1166/jon.2015.1183
20. Wang J., Zheng S., Shao Y. Amino-functionalized Fe₃O₄@SiO₂ core-shell magnetic nanomaterial as a novel adsorbent for aqueous heavy metals removal / J. Colloid Interface Sci. 2010. Vol. 349. N 1. P. 293 – 299. DOI: 10.1016/j.jcis.2010.05.010
21. Singh S., Barick K. C., Bahadur D. Surface engineered magnetic nanoparticles for removal of toxic metal ions and bacterial pathogens / J. Hazard. Mater. 2011. Vol. 192. P. 1539 – 1547. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.06.074
22. Shinko E. I., Farafonova O. V., Shestopalov K. V., Ermolaeva T. N. Activation of carbon nanotubes for increasing the affinity interaction efficiency on the surface of a piezoelectric sensor for determining antibiotics / Sorption and chromatographic processes. 2019. Vol. 19. N 3. P. 334 – 343 [in Russian]. DOI: 10.17308/sorpchrom.2019.19/750
23. Netto C. G. C. M., Toma H. E., Andrade L. H. Superparamagnetic nanoparticles as versatile carriers and supporting materials for enzymes / J. Mol. Catal. B Enzym. 2013. Vol. 85. P. 71 – 92. DOI: 10.1016/j.molcatb.2012.08.010
1. Wang X., Giusti A., Ny A., De Witte P. A. Nephrotoxic effects in zebrafish after prolonged exposure to aristolochic acid / Toxins. 2020. Vol. 12. N 4. P. 217 – 235. DOI: 10.3390/toxins12040217
2. Nie W., Lv Y., Yan L., et al. Prediction and Characterisation of the System Effects of Aristolochic Acid: A Novel Joint Network Analysis towards Therapeutic and Toxicological Mechanisms / Sci. Rep. 2015. Vol. 5. P. 17646 – 17658. DOI: 10.1038/srep17646
3. Xu D., Zhao X., Yin L. Aristolochic acid i-induced hepatotoxicity in tianfu broilers is associated with oxidative-stress-mediated apoptosis and mitochondrial damage / Animals. 2021. Vol. 11. N 12. P. 3437 – 3449. DOI: 10.3390/ani11123437
4. Al-Barham M. B., Al-Jaber H. L., Al-Qudah M. A., Abu Zarga M. H. New aristolochic acid and other chemical constituents of *Aristolochia maurorum* growing wild in Jordan / Nat. Prod. Res. 2017. Vol. 31. N 3. P. 245 – 252. DOI: 10.1080/14786419.2016.1226833
5. Rebhan K., Ertl I. E., Shariat S. F., et al. Aristolochic acid and its effect on different cancers in uro-oncology / Curr. Opin. Urol. 2020. Vol. 30. N 5. P. 689 – 695. DOI: 10.1097/MOU.0000000000000806
6. Jadot I., Declèves A.-E., Nortier J., Caron N. An Integrated View of Aristolochic Acid Nephropathy: Update of the Literature / Int. J. Mol. Sci. 2017. Vol. 18. N 2. P. 297 – 320. DOI: 10.3390/ijms18020297
7. Guo W., Shi Z., Zhang J., et al. Analysis of aristolochic acid I in mouse serum and tissues by using magnetic solid-phase extraction and UHPLC-MS/MS / Talanta. 2021. Vol. 235. P. 122774 – 122782. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122774

REFERENCES