

Г.В. Дорожинська¹, В.П. Маслов², Г.В. Дорожинський²

ЗАСТОСУВАННЯ ПЛАЗМОНІКИ ДЛЯ АНАЛІЗУ ПОЛІДИСПЕРСНИХ СИСТЕМ (ОГЛЯД)

Сучасні сенсорні технології мають переваги порівняно з іншими класичними методами аналізу рідинних та газових середовищ, зокрема, швидкий аналіз і малий об'єм досліджуваної проби, висока чутливість, можливість виявляти аналізовану речовину у полідисперсному середовищі за рахунок специфічності сенсора. Плазмоніка є одним з провідних наукових напрямків, який активно застосовується в сенсорних технологіях для розробки високочутливих аналітичних приладів та систем. Прецизійні аналітичні прилади на основі ППП застосовуються для досліджень в харчовій, хімічній, фармацевтичній промисловості, в сільському господарстві, в медицині, екології. Проте інтерпретація результату вимірювання дещо ускладнюється при аналізі складних полідисперсних систем та присутності інтерферента (речовини, яка міститься в досліджуваному зразку та відрізняється від аналізованого компонента) у зразку, який впливає на величину сигналу сенсора. Тому постає необхідність дослідження, зокрема, рідких полідисперсних систем з використанням моделей наближених середовищ та використанням додаткових технологій підвищення специфічності до аналізованого компонента за допомогою застосування рецепторних поверхонь. В огляді наведено інформацію про сучасний стан досліджень полідисперсних систем на прикладі молока – одного з найпоширеніших харчових продуктів. Чутливі, швидкі та ефективні системи кількісного визначення та моніторингу відіграють ключову роль для визначення шкідливих домішок в молочних продуктах. Необхідність виявлення антибіотиків з мінімальною концентрацією в продуктах харчування, зокрема в молочній сировині, які є складними полідисперсними системами, є важливою науковою проблемою. Такі вимоги породжують потребу в розробці надійних високочутливих аналітичних методів. Крім того, існує величезний попит на експресні аналітичні пристрої для виявлення залишків антибіотиків у зразках молока на фермі перед відправленням сировини на завод, оскільки після відправлення безпосередньо на заводі у разі виявлення антибіотиків бракується велика партія молока, що призводить до надмірних витрат.

Ключові слова: поверхневий плазмонний резонанс, сенсор, селективність, полідисперсна система, молоко, антибіотики.

1. ВСТУП

Із розширенням переліку шкідливих речовин та ускладненням аналізу багатокомпонентних середовищ виникає необхідність аналізу наявності окремих сполук в досліджуваних середовищах високочутливими та селективними методами. Найоптимальнішим варіантом для цього є експресні аналітичні прилади, в основу яких входять високочутливі оптичні сенсори.

Переважає більшість досліджуваних середовищ не є однокомпонентними, гомогенними та однорідними, коли об'єкти мають однаковий розмір, форму або масу. Об'єкти можуть мати будь-яку форму хімічної дисперсії, таку, як частинки в колоїді або полімерні макромолекули в розчині.

Актуальною задачею для будь-якого аналізу з використанням сенсорів є виокремлення з безлічі сигналів, які несуть різну інформацію, виділяти корисні сигнали чи сигнали з наперед заданими параметрами. Таким чином, при аналізі багатокомпонентного середовища необхідно максимально виключати вплив інтерферентів. Його присутність у зразку впливає на величину сигналу сенсора. Такими речовинами є додаткові речовини в зразку, які реагують із рецептором; речовини, висока концентрація яких викликає зміни у системі порівняння (наприклад, дифузійний потенціал); речовини, що реагують із аналізом, зменшуючи його концентрацію; речовини, що реагують із чутливим елементом, блокуючи його для молекул аналіту [1].

Для мінімізації неспецифічної взаємодії застосовують біосенсори, в яких зазвичай використовують принцип взаємодії антитіло-антиген (імуносенсори), рецептор-ліганд, молекулярний імпринтинг. Перевагою таких сенсорів є те, що будь-яка сполука може бути

виявлена за рахунок високої специфічності та селективності, якщо існують специфічні антитіла чи молекули. Після взаємодії на поверхні перетворювача фізичні властивості поверхні змінюються через формування комплексу речовин чи біооб'єктів, що проявляється у зміні показника заломлення, маси, щільності і товщини нанорозмірного шару.

Визначення оптичних характеристик досліджуваного середовища та підбір селективного шару сенсора необхідно здійснювати, виходячи з кінцевої задачі аналізу. Розрізняють два типи селективності – рівноважну та кінетичну, що базуються на специфічній взаємодії аналіту із рецептором селективного шару. Додатковим типом селективності є селективність на фізичних явищах взаємодії молекул із електростатичним чи електромагнітним полем [1]. Відстань між частинками впливає на взаємодію, особливо коли довжина зв'язків становить в межах кількох нанометрів. Існує також принцип розпізнавання форми “lock-and-key”, що застосовується для молекулярного розпізнавання [2].

Для моніторингу специфічних взаємодій перспективними є сенсори на основі явища поверхневого плазмонного резонансу (ППР) [3, 4], оскільки вони надають можливість вимірювання низьких концентрацій досліджуваних речовин в режимі реального часу та здатні селективно реагувати на аналіт в досліджуваному середовищі за рахунок введення додаткових нанорозмірних чутливих шарів. ППР-сенсори складаються з фізичного перетворювача та чутливого елемента, що містить нанорозмірний металевий шар, який є середовищем виникнення поверхневих плазмонів та реагує на зміну в досліджуваному середовищі [5]. Перпендикулярне провідній поверхні електромагнітне поле затухає за експонентою в міру віддалення від неї. За допомогою ППР-сенсорів можна контролювати оптичні параметри досліджуваного середовища (діелектрика), яке контактує з поверхнею чутливого елемента. Прецизійні аналітичні прилади на основі ППР застосовуються для досліджень в харчовій, хімічній, фармацевтичній промисловості, в сільському господарстві, в медицині, екології [6, 7].

Сучасні конструкції існуючих ППР-сенсорів та створення на їхній основі високочутливих інформаційно-вимірювальних систем для аналізу полідисперсних систем є актуальним завданням. Підвищення точності, чутливості та селективності вимірювання дає можливість додатково розширити області застосування приладів на основі ППР.

2. МЕТОДИ АНАЛІЗУ ПОЛІДИСПЕРСНИХ СИСТЕМ ЗА ДОПОМОГОЮ ППР-СЕНСОРІВ

Існуючі методи контролю параметрів таких полідисперсних систем, як суспензії та емульсії, дозволяють визначити розміри наночастинок та розподіл їх за розмірами [8, 9]. До основних параметрів таких систем відносяться концентрація та дисперсність. Найбільше практичне застосування отримали методи контролю дисперсності, засновані на застосуванні розсіювання світлового потоку, оптичної та електронної мікроскопії, ультразвукової та електроакустичної спектрометрії, ядерного магнітного резонансу та ін. Більшість з цих методів є лабораторними, вимагають значних витрат часу та підготовки досліджуваних зразків речовини [10]. Для визначення концентрації колоїдних розчинів застосовують методи фотометрії, мікроскопії та метод дегідратації суспензії. Такі методи мають суттєві недоліки: низьку чутливість та точність виміру, а процедура дегідратації потребує руйнування суспензії.

Тому альтернативним методом визначення параметрів полідисперсних систем є оптичний метод ефективних середовищ на основі поверхневого плазмонного резонансу, який застосовує модель гетероструктури. Ця модель складається з рідкої матриці та дисперсного наповнювача, який може бути як в твердій фазі, так і в рідкій фазі, причому його густина відрізняється від густини рідкої матриці. При відомих значеннях відносної діелектричної проникності матриці та наповнювача можна визначити відсотковий склад гетероструктури.

Найпоширенішими підходами для опису такої системи є межі Вінера [11], підходи Максвелла-Гарнетта [12] та Бруггемана [13]. Для такої моделі вводиться поняття ефективного середовища з ефективною діелектричною проникністю, значення якої знаходиться в межах між значеннями діелектричних проникностей матриці та наповнювача [11]. В роботі [14] описано граничні значення ефективної відносної діелектричної проникності моделі шаруватої структури. Оскільки у водній суспензії наночастинки наповнювача розташовані хаотично, даний підхід застосовується лише для визначення діапазону можливих значень ефективного показника суспензії. Більш ефективними підходами є підходи Максвелла-Гарнетта та Бруггемана, які описують середовища з хаотичним розташуванням наповнювача у матриці. Головною умовою застосування підходу Максвелла-Гарнетта [12] є малий розмір a наночастинок порівняно з відстанню між ними b і, як наслідок, їхня мала об'ємна концентрація f в основній масі речовини (рис. 1).

Середовище у межах моделі Максвелла-Гарнетта має діелектричну проникність, що пов'язані з проникностями компонент виразом (1). Модель з урахуванням підходу Бруггемана [13] застосовується у разі, якщо об'ємні частки компонент f_1 і f_2 перебувають у співвідношенні від 1/3 до 2/3, тобто великих концентрацій:

$$\frac{\varepsilon - \varepsilon_2}{\varepsilon + 2\varepsilon_2} = f \frac{\varepsilon_1 - \varepsilon_2}{\varepsilon_1 + 2\varepsilon_2}, \quad (1)$$

де f – об'ємна частка наночастинок у досліджуваному середовищі;

ε – відносна діелектрична проникність досліджуваного середовища;

ε_1 і ε_2 – відносні діелектричні проникності матеріалу наночастинок та матриці відповідно.

Для визначення параметрів полідисперсних суспензій порівнюють теоретичні та експериментальні характеристики відбиття при ППР, за якими визначають відносні діелектричні проникності як наночастинок, так і матриці. Теоретичні характеристики відбиття розраховують, використовуючи формули Френеля та математичний формалізм матриць розсіювання Джонса [14], як функції кута падіння монохроматичного р-поляризованого світла з певною довжиною хвилі на поверхню плазмон-несучого шару зі сторони призми.

В роботі [15] автори досліджували водну суспензію з наночастинками алмазів та встановили залежність чутливості ППР-сенсора від концентрації наповнювача. Чутливість ППР-сенсора в діапазоні концентрацій наноалмазів суспензії від 2 до 50 мкг/мл змінювалась від 840 кут.хв·мкг⁻¹·мл до 1007 кут. хв·мкг⁻¹·мл. Зростання чутливості автори пояснювали збільшенням ефективної діелектричної проникності в зоні загасаючого поля поверхневого плазмону при збільшенні концентрації наночастинок на поверхні чутливого елемента сенсора. На думку авторів цієї роботи, експериментальні результати добре узгоджувалися з математичною моделлю суспензії з урахуванням підходу Максвелла-Гарнетта і математичного формалізму матриць розсіювання Джонса (відносна похибка визначеної концентрації становила не більше 5%).

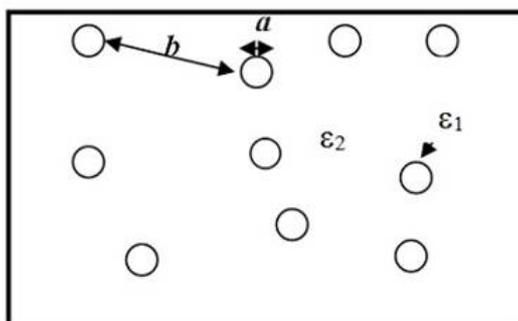


Рис.1. Модель полідисперсного середовища для підходів Максвелла-Гарнетта і Бруггемана.

Методи ефективних середовищ можуть застосовуватись для дослідження неоднорідних суспензій та шарів живих клітин. У роботі [16] досліджували на поверхні золота ембріональні клітини лінії RBL-2H3 та HEK-293 та було виявлено зсув резонансного кута внаслідок впливу препаратів, що стимулюють активність клітин. Автори роботи [17] досліджували клітини нирок на поверхні золота та вплив на них осмотичного тиску навколишнього розчину. Також науковці досліджували непрозорі суспензії вільних клітин крові – еритроцитів. Наприклад, у роботі [18] описаний підхід з використанням ППР для контролю процесів згортання крові та контролю адгезії тромбоцитів. Автори [19] продемонстрували можливість застосування ППР для кількісного визначення групи крові. Автори роботи [20] досліджували полідисперсне середовище різної щільності: щільної суспензії (еритроцити після центрифугування) і слабкої суспензії (цільна кров). Кількісний розрахунок діелектричної проникності як в об'ємі суспензії, так і поблизу межі розділу «метал-суспензія», виконували на основі теорії ефективного середовища Бруггемана. В цій роботі було показано, що наявність зважених частинок у розчині неминуче призводить до виникнення проміжного шару з градієнтом діелектричної проникності між поверхнею золота та об'ємом суспензії, в результаті чого резонансний кут зсувається в бік зменшення. В роботі [21] доведено перспективність одночасного вимірювання зсуву не тільки резонансного кута, а також і критичного, для дослідження клітинних шарів для контролю еластичності мембран еритроцитів, а також цитоплазми інших клітин, які вирощені на поверхні золота. На думку авторів, такі дослідження відкривають деякі перспективи контролю життєвих процесів клітин *in situ*.

Останнім часом підвищується інтерес до застосування резонансних явищ та ефекту порушеного повного відбиття для контролю каламутних (латексних) середовищ – суспензій розсіювальних частинок, еритроцитів, бактерій, живих клітин на поверхні скла, молока і т.п. [22-25].

3. ППР-СЕНСОРИ ДЛЯ АНАЛІЗУ МОЛОКА

Варто зазначити, що оскільки молоко є складною системою, це робить звичайні методи аналізу менш надійними та достовірними. Молоко – це полідисперсна система, компоненти якої мають різний ступінь дисперсності. Так, жир знаходиться у вигляді суспензії в охолодженому молоці та у вигляді емульсії в теплом молоці; білкові речовини (казеїн) та частина солей - у колоїдному розчині; інша частина солей та цукор – у вигляді розчинів. Дисперсійним середовищем для частини солей та цукру є вода, для білків (казеїну) – розчин солей, для жиру – молочна плазма, розчин казеїну. При аналізі однієї фази чи компонента в молоці зазвичай невідомий вплив інтерферентів чи відносного вмісту інших фаз, а також їхніх оптичних властивостей. Тому це актуальна проблема, яку необхідно розглядати більш детально.

Молочну продукцію часто фальсифікують: замінюють складові молока (молочний жир, білок, лактозу та ін.). Оскільки ціна молочної продукції прямо залежить від вмісту молочного жиру в ній, то його часто замінюють чи частково замінюють на жири іншого походження. Деякі домішки є шкідливими та впливають на здоров'я людини: сечовина, формалін, детергенти, сульфат амонію, борна кислота, каустична сода, бензойна кислота, саліцилова кислота, перекис водню, цукор та меламін. Цукор, крохмаль, сульфатні солі, комерційна сечовина та кухонна сіль додаються для збільшення вмісту сухих речовин без врахування вмісту жиру. Сульфат амонію додають для збільшення густини розведеного молока. Формалін, саліцилова, бензойна кислоти та перекис водню діють як консерванти – збільшують строк зберігання молока [26].

Для збільшення вмісту білка додають меламін та комерційну сечовину. Меламін багатий азотом, і він порівняно дешевий. Додавання його в некондиційне або розбавлене водою молоко створює видимість високого вмісту білка, який в аналізах визначають за

вмістом азоту. В КНР мав місце скандал, спричинений додаванням виробниками до молока меламіну, через що отруїлися тисячі дітей та частина загинула [27]. Розвиток сечокам'яної хвороби у тварин, які тривалий час споживають меламін (штучні корми), також пов'язують з цією речовиною [28]. Тому необхідно розробляти та впроваджувати високочутливі методи виявлення фальсифікації молока та молочної продукції.

За ДСТУ 2661:2010 існують технічні вимоги до питного молока, а саме: фізико-хімічні (масова частка жиру та білка, кислотність, густина, чистота, наявність фосфатази та пероксидази), мікробіологічні (кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів, бактерії групи кишкової палички, патогенні мікроорганізми), органолептичні показники, вимоги до вмісту токсинів та мікотоксинів (свинець, кадмій, миш'як, ртуть, мідь, цинк, афлатоксини), вимоги до вмісту антибіотиків та гормональних препаратів, пестицидів та радіонуклідів. Методи визначення наявності пероксидази й фосфатази (лужної та кислої), наприклад, флюорометричний, фотометричні методи, полягають у використанні специфічних хімічних реактивів для виявлення активних ферментів у молоці після його пастеризації, оскільки присутність ферментів вказує на недостатню пастеризацію.

ППР-сенсори можна використовувати для підвищення безпеки молочної продукції. Основними цілями для аналізу методом ППР є специфічність біосенсорного аналізу та найнижча межа виявлення. Отримані результати в роботі [29] чітко демонструють можливе застосування методу ППР для виявлення домішок у молоці за допомогою системи призма/золото/зразок. Автори [30] запропонували підхід для швидкого біоаналізу з використанням плазмонної матриці зі срібними нанооболонками для виявлення поживних речовин і токсинів у складних зразках біологічної емульсії на прикладі молока. Лактоза та меламін були розчинені в деіонізованій воді шляхом поступових розведень для визначення межі виявлення (LOD). Стандартну лактозу змішували із сіллю (NaCl, 0,5 М) і бичачим сироватковим альбуміном (BSA, 5 мг/мл) для дослідження ефективності виявлення в комплексних зразках. У сире коров'яче молоко додавали меламін у концентрації 0,5 нг/мкл. Також автори [31] розробили портативний імунний сенсор на основі ППР для виявлення меламіну. Прямий імуноаналіз за допомогою цього сенсора займав лише 15 хвилин і мав межу виявлення 0,02 мкг/мл. Розроблено [32] аптасенсор поверхневого плазмонного резонансу для виявлення бруцельозу (*Brucella melitensis*) у зразках молока. За допомогою ППР-сенсора з використанням графену [33] було виявлено різні типи естрогенів у молоці.

ВИЯВЛЕННЯ АНТИБІОТИКІВ У ЗРАЗКАХ МОЛОКА

Масове та незаконне використання антибіотиків у ветеринарії неминуче призводить до наявності їхніх залишків у харчових продуктах тваринного походження (молоці та м'ясі), що загрожує здоров'ю людини. Надмірне використання антибіотиків може сприяти розвитку резистентності, що призводить до зниження їхньої ефективності лікування хвороб людей або тварин. Для запобігання негативному впливу залишків антибіотиків, присутніх у молоці, на здоров'я споживачів, багато країн встановили максимальні ліміти залишків (MRL). Розроблені мікробіологічні тести для визначення залишків антибіотиків у молоці (Shenzhen Bioeasy Biotechnology Co., Ltd.).

До методів ідентифікації антибіотиків належать: метод УФ-спектрофотометрії, поляриметрії, рідинної хроматографії, фотоколориметрії, інші хімічні методи аналізу, мікробіологічні аналізи та методи імунологічного аналізу. Усі ці методи мають різні обмеження, які ускладнюють розширення виявлення антибіотиків за межами лабораторії. Потрібний швидкий, специфічний і чутливий метод, який можна використовувати в польових умовах і, зокрема, на всіх етапах виробництва молока. На відміну від інших методів, які зазвичай використовуються для виявлення антибіотиків в молоці, метод на

основі ППР [34] – експресний, високочутливий, крім того, розроблені прилади можуть використовуватись в польових умовах [35].

Моделльні сполуки з чотирьох основних груп антибіотиків: аміноглікозиди (неоміцин, гентаміцин, канаміцин і стрептоміцин), сульфаніаміди, феніколи (хлорамфенікол) і фторхінолони (енрофлоксацин) були виявлені за допомогою ППР-сенсора у буфері та в 10-кратному розведенні молока [34]. У [36] дослідженні розроблено високоселективний та експресний ППР-сенсор, придатний для багаторазового використання для виявлення сульфаніамідних антибіотиків. Як рецептор використовувався диметакрилатний полімер метакрилової кислоти-2-гідроксіетилметакрилату-етиленгліколю з відбитком сульфаметоксазолу. Значення межі виявлення (LOD) і межі кількісного визначення (LOQ) становили 1,1 нг/л для LOD 3,4 нг/л для LOQ.

Глікопептидні антибіотики відомі як засіб лікування інфекцій, викликаних грампозитивними бактеріями. Вживання молочних продуктів, забруднених цими залишками антибіотиків, призводить до алергічних реакцій та резистентності до цих антибіотиків. У роботі [37] розроблено наноструктури з використанням молекулярного імпринтингу для створення синтетичних рецепторів високої спорідненості для з'єднання з ППР-сенсором (рис. 2) для аналізу глікопептидних антибіотиків у зразках молока з межею детектування 4,1 нг/мл.

Дослідження перехресної чутливості з іншими фармацевтичними препаратами показали високу специфічність імпринтованих наноструктур щодо ванкоміцину. Спорідненість між рецепторним шаром, утвореним наномолекулярним імпринтингом, і цільовою молекулою (константа дисоціації: $1,8 \cdot 10^{-9}$ М) була вищою, ніж у природних рецепторів та інших синтетичних рецепторів. Щоб перевірити точність методу, дослідження також проводили з відомою кількістю ванкоміцину, яка була попередньо визначена в молоці. Синтетичні рецептори були здатні виявляти ванкоміцин в діапазоні 10–1000 нг/мл з високою чутливістю та вибірковістю за допомогою оптичного сенсора.

Були розроблені біосенсорні імунотести [38] для антибіотиків на прикладі хлорамфеніколу із встановленою максимальною межею залишку в досліджуваних зразках молока. Наявність хлорамфеніколу в продуктах харчування заборонено через його серйозні вторинні ефекти. Аналіз базувався на зв'язуванні поліклональних антитіл з іммобілізованим антибіотиком на чутливому елементі. Як і в тестах ELISA, антитіла впливали на результати аналізу.

Для виявлення антибіотиків (з межею детектування від 0,30 мкг/л для фторхінолонів, 0,29 мкг/л для сульфаніамідів і 0,26 мкг/л для хлорамфеніколів) в зразках молока було розроблено портативний шестиканальний ППР-біосенсор [39] на основі золотої дифракційної решітки (рис. 3). Чутливий елемент функціоналізували гаптенізованими білками за допомогою попередньо сформованого змішаного самоорганізованого моношару (SAM). Зразки молока розбавляли водою і фільтрували через фільтр з полівініліденфториду (PVDF).

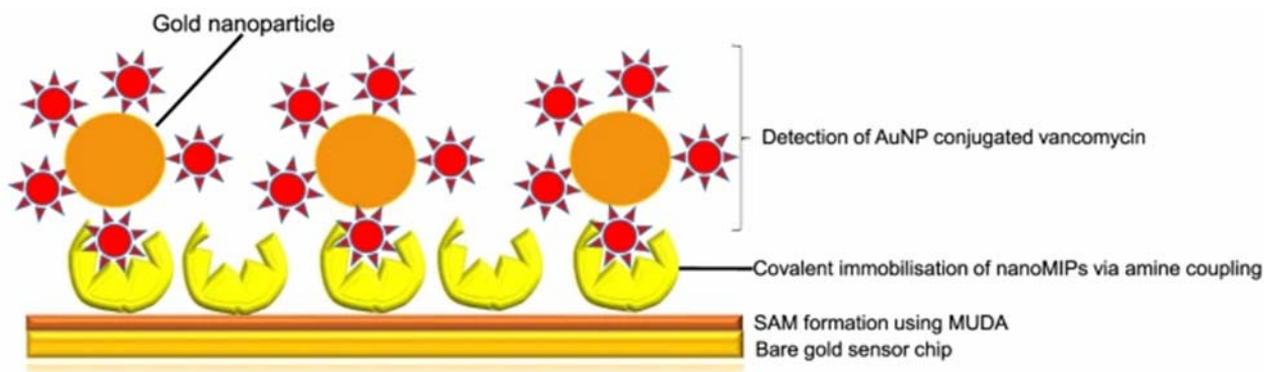


Рис. 2. Схема зв'язування глікопептидних антибіотиків на прикладі ванкоміцину на чутливій поверхні ППР-сенсора з синтетичними афінними наноструктурованими рецепторами [37].

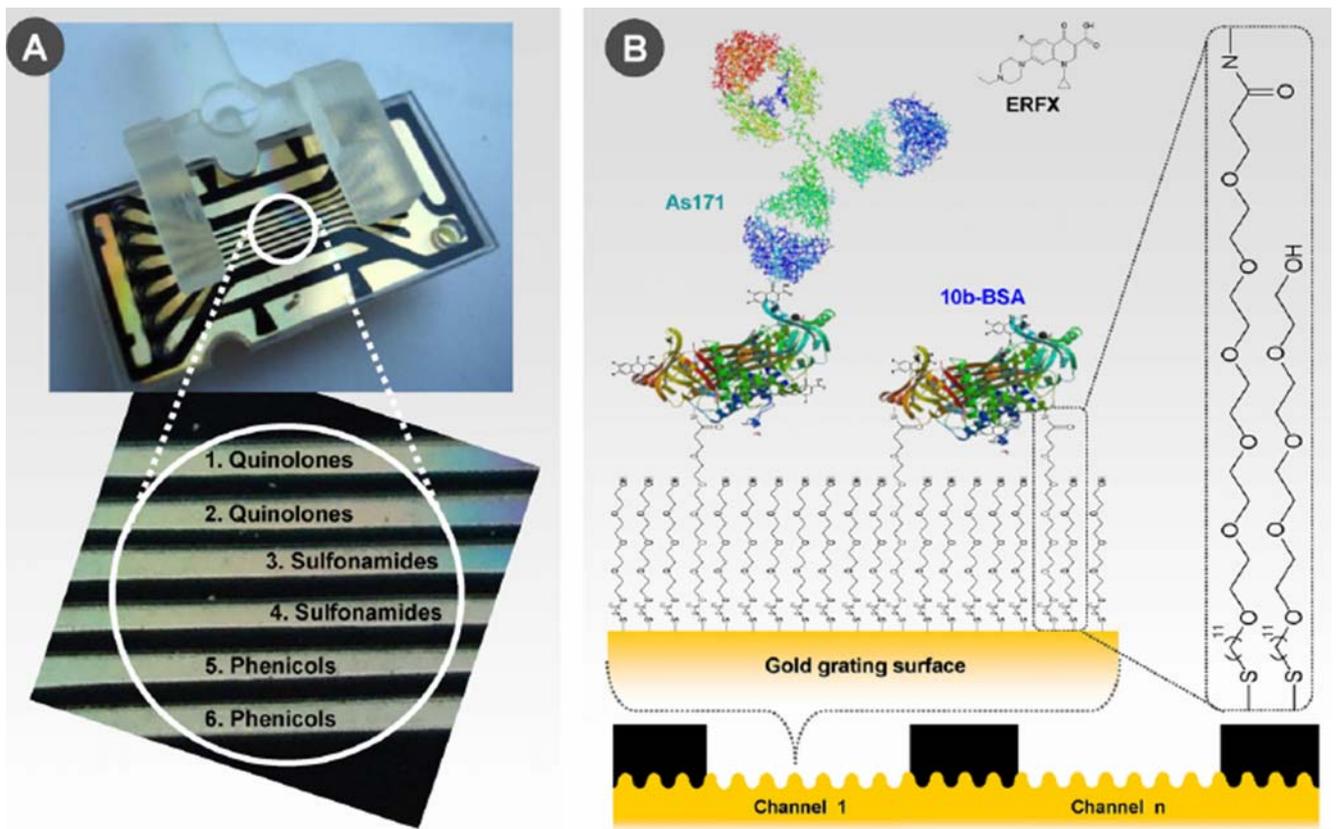


Рис. 3. Чутливий елемент ППР-сенсора з проточною коміркою для аналізу хінолонів, сульфаніламідів та феніколів (А). Схема виявлення фторхінолонів (В) [39].

За допомогою ППР-сенсорів досліджували вміст бета-лактамічних антибіотиків в молоці. У роботі [40] проаналізовано можливість виявлення бета-лактамінів за рахунок використання антитіл, які використовували для вимірювання максимальної межі залишку ферментативного субстрату, що залишився. Обидва аналізи виявили різні концентрації бета-лактамінів на рівні нижче європейських максимальних меж залишку (MRL), межа виявлення для пеніциліну становила 1,2 мкг/кг.

Автори [41] визначали бензилпеніциліновий антибіотик у водних і молочних розчинах за допомогою ППР-сенсора (рис. 4) з використанням синтетичного полімеру з молекулярним відбитком рецепторів на оксиді графену. Виявлення бензилпеніциліну проводилося в діапазоні концентрацій 1–100 ppb бензилпеніциліну з лінійною кореляцією 0,9665 і межею виявлення 0,021 ppb. Аналіз селективності показав, що ППР - сенсор дозволив виявити молекули бензилпеніциліну в 8,16 разів селективніше, ніж амоксицилін, і в 14,04 разів селективніше, ніж ампіцилін. Було оцінено зразки молока з додаванням і без додавання бензилпеніциліну, а для підтвердження були проведені експерименти з високоефективною рідинної хроматографії.

Такі антибіотики, як бензилпеніцилін і цефалоспорин, є найпоширенішими сполуками, що використовуються в ветеринарії. Зокрема, молекула бензилпеніциліну була кон'югована з білковим носієм для імунізації кролика та поліклональними антитілами [42]. Було встановлено, що межа виявлення розробленого аналізу становить 8,0 пМ, що є значно нижчим, ніж MRL нормативної межі ЄС, яка встановлена на рівні 12 нМ.

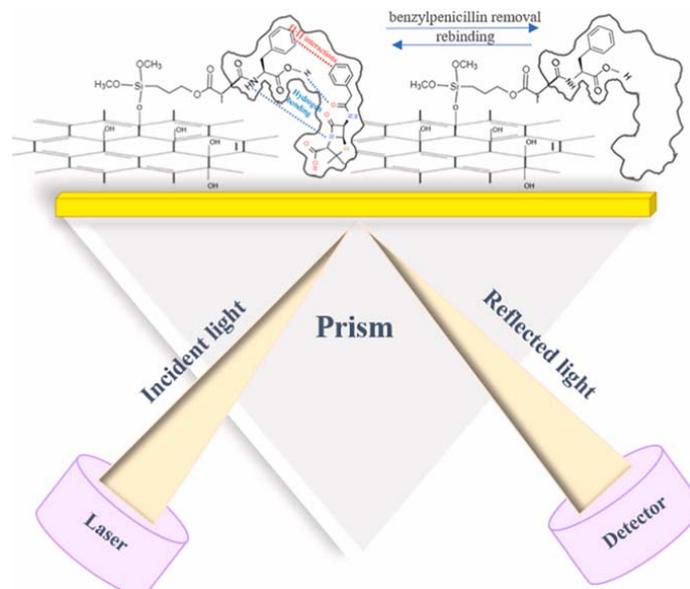


Рис. 4. ППР-сенсор з оксидом графену для виявлення антибіотиків [41].

В рамках європейського науково-дослідного проекту було розроблено поверхнево - функціоналізований опто-плазмонічний сенсорний модуль «Moloko» [43]. Біофункціоналізація поверхні сенсорного модуля «Moloko» здійснювалась мікромасивами полімерів. Для селективної іммобілізації на кожному каналі сенсора було реалізовано мікрофлюїдний пристрій. Зразки білка для біофункціоналізації розбавляли в буфері для іммобілізації до 150 мкг/мл. Використовували альбумін білкової сироватки (BSA), іммобілізований на опорних каналах. Визначали вміст лактоферину та стрептоміцину в молоці.

Необхідність визначити мінімальну концентрацію антибіотиків в продуктах харчування, зокрема, в молочній сировині, які є складними полідисперсними системами, є вимогою сьогодення. Такі вимоги породжують потребу в розробці надійних високочутливих аналітичних методів. Крім того, існує величезний попит на експресні аналітичні пристрої для виявлення залишків антибіотиків у зразках молока на фермі перед відправленням сировини на завод, оскільки після відправлення безпосередньо на заводі у разі виявлення антибіотиків бракується велика партія молока, що призводить до надмірних витрат.

4. ВИСНОВКИ

Високоточний та експресний фізико-хімічний аналіз є основною метою біоаналізу та біодіагностики. Для досягнення цієї мети використовують біосенсори, зокрема, оптичні на основі ППР. Для виявлення обраних окремих складових в аналіті важлива селективність різних хімічних груп. Методи аналізу за допомогою ППР - сенсорів у рідких середовищах базуються на визначенні показника оптичного заломлення середовища, оптичному поглинанні. ППР-сенсори мають високу чутливість до зміни показника оптичного заломлення досліджуваного середовища.

Застосування сенсорів на основі явища поверхневого плазмонного резонансу з додатковим селективним шаром можна використовувати для покращення визначення оптичних характеристик досліджуваного складного полідисперсного середовища та підвищення достовірності отриманих результатів вимірювання.

Дослідження полідисперсних систем, зокрема, рідких гетерогенних середовищ на прикладі молока, є важливою задачею. Фальсифікація молока є серйозною проблемою, яка загрожує громадській безпеці в сучасному світі. Для виявлення домішок на якісному рівні

можна використовувати різні хімічні реакції, але вони часто довготривалі та дорогі. З іншого боку, аналіз домішок в молоці можна здійснити за допомогою високочутливого методу ППР, який використовується для дослідження поверхневих взаємодій. У зв'язку з розширенням переліку небезпечних домішок в молочній продукції необхідно також актуалізувати стандарти та вимоги до такої продукції для підвищення її якості. Залишки антибіотиків у харчових продуктах, воді та навколишньому середовищі сприяють утворенню стійких до антибіотиків штамів бактерій, порушуючи екологічний баланс, і спричиняють серйозні проблеми зі здоров'ям. З цих причин виявлення залишків антибіотиків має вирішальне значення для захисту здоров'я людини. На молочних фермах стандартні тести виконуються за кілька днів, тоді як малогабаритні ППР - сенсори дозволяють експресно перевірити безпечність молока (наявність антибіотиків та інших шкідливих компонентів), запобігти спалахам харчових отруєнь (наприклад, стафілококові ентеротоксини), перевірити здоров'я корів (рівень лактоферину).

Сенсорні технології пропонують очевидні переваги порівняно з іншими методами - швидкий аналіз, висока чутливість систем для аналізу дозволяють виявляти аналізовану речовину у полідисперсному середовищі з використанням додаткових технологій підвищення специфічності та методами наближених ефективних середовищ.

H.V. Dorozinska, V. P. Maslov, G. V. Dorozinsky

APPLICATION OF PLASMONICS FOR THE ANALYSIS OF POLYDISPERSE SYSTEMS

Modern sensor technologies have advantages compared to other classical methods of analysis of liquid and gas environments, in particular, fast analysis and a small volume of the analyzed sample, high sensitivity, the ability to detect the analyzed substance in a polydisperse environment due to the specificity of the sensor. Plasmonics is one of the leading scientific directions, which is actively used in sensor technologies for the development of highly sensitive analytical devices and systems. Precision analytical devices based on SPR are used for research in the food, chemical, pharmaceutical industry, agriculture, medicine, and ecology. However, the interpretation of the measurement result is somewhat complicated when analyzing complex polydisperse systems and the presence of an interferent in the sample, which affects the value of the sensor signal. Therefore, there is a need to study, in particular, liquid polydisperse systems using models of approximate environments and using additional technologies to increase the specificity of the analyzed component by using receptor surfaces. The review provides information on the current state of polydisperse systems research using the example of milk - one of the most common food products. Sensitive, fast and efficient quantification and monitoring systems play a key role in the determination of harmful impurities in dairy products. The need to detect antibiotics with a minimum concentration in food products, in particular in dairy raw materials, which are complex polydisperse systems, is an important scientific problem. Such requirements give rise to the need to develop reliable, highly sensitive analytical methods. In addition, there is a huge demand for rapid analytical devices to detect antibiotic residues in milk samples on the farm before the raw material is sent to the factory, because after sending directly to the factory, in case of antibiotic detection, a large batch of milk is missing, which leads to excessive costs.

Keywords surface plasmon resonance, sensor, selectivity, polydisperse system, milk, antibiotics.

1. Фершал М.В. Аналітичні сенсорні системи: навчальний посібник. Ужгород: Вид-во УжНУ «Говерла». 2022. 220 с.
2. Музика К., Рожицький М. Синтетичні антимеламін-рецептори на базі молекулярно імпринтованих полімерів для ферментного псевдоімуноаналізу. *Сенсорна електроніка та мікросистемні технології*. 2015. **12**, №2. С.48-56.
3. Дорожинський Г. В., Маслов В. П., Ушенін Ю. В. Сенсорні прилади на основі поверхневого плазмонного резонансу: Монографія. К. НТУУ «КПІ». 2016. С.264.
4. Homola J., Yee S. and Gauglitz G. Surface plasmon resonance sensors: review. *Sensors and Actuators B*. 1999. **54**. P.3-15.

5. Войтович И. Д. Сенсоры на основе плазмонного резонанса: принципы, технологии, применения. К.: Сталь. 2011.
6. Hsu S.-H., Lin Y.-Y., Lu S.-H., Tsai I.-F., Lu Y.-T., Ho H.-T. Mycobacterium tuberculosis DNA Detection Using Surface Plasmon Resonance Modulated by Telecommunication Wavelength. *Sensors*. 2014. **14**. P. 458-467.
7. Dorozinsky G.V., Liptuga A.I., Gordienko V.I., Maslov V.P., Pidgorny V.V. Diagnostics of motor oil quality by using the device based on surface plasmon resonance phenomenon. *Scholars Journal of Engineering and Technology*. 2015. **3**. P.372-374.
8. Aubin J., Ferrando M., Jiricny V. Current methods for characterising mixing and flow in microchannels. *Chemical Engineering Science*. 2010. **65**, № 6. P. 2065–2093.
9. Merkus H.G. Particle Size Measurements: Fundamentals, Practice, Quality. Springer. 2009. 533 p.
10. Кутя В. М. Аналіз методів і засобів контролю дисперсності емульсій. *Вісник інженерної академії України*. 2013. № 3-4. С. 242-247.
11. Wiener O. Abhanl. math-phys. Kl. Sachs. Wiss. 1912. **32**. P.509.
12. Garnett J.M. Colours in metal glasses, in metallic films, and in metallic solutions. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A. Containing Papers of a Mathematical or Physical Character*. 1905. **76**, № 511. P. 237 – 288.
13. Bruggeman V.D. Berechnung verschiedener physikalischer Konstanten von heterogenen Substanzen, Dielektrizitätskonstanten und Leitfähigkeiten der Mischkörper aus isotropen Substanzen. *Annalen der Physik*. 1935. **416**, №7. P. 636 – 664.
14. Azzam R. M. A., Bashara N. M. Ellipsometry and Polarized Light. Amsterdam: North-Holland. 1987. 583 p.
15. Dorozinska H.V., Dorozinsky G.V., Maslov V.P. Promising method for determining the concentration of nano-sized diamond powders in water suspensions. *Functional Materials Journal*. 2018. **25**, №1. P.158-164. DOI: <https://doi.org/10.15407/fm25.01.1>.
16. Yanase Y., Suzuki H., Tsutsui T., Hiragun T., Kameyoshi Y., Hide M. The SPR signal in living cells reflects changes other than the area of adhesion and the formation of cell constructions. *Biosensors and Bioelectronics*. 2007. **22**. P. 1081–1086.
17. Baumgarten S., Robelek R. Surface plasmon resonance (SPR) sensors for the rapid, sensitive detection of the cellular response to osmotic stress *Sensors and Actuators B*. 2011. **156**. P.798– 804.
18. Hansson K.M., Johansen K., Wettero J., et al. Surface plasmon resonance detection of blood coagulation and platelet adhesion under venous and arterial shear conditions. *Biosens. Bioelectron*. 2007. **23**. P. 261–268.
19. Quinn J. G., O'Kennedy R., Smyth M., Moulds J, Frame T. Detection of blood group antigens utilising immobilized antibodies and surface plasmon resonance. *Journal of Immunological Methods*. 1997. **206**, №1-2. P. 87-96.
20. Gridina N., Dorozinsky G., Khristosenko R., Maslov V., Samoylov A., Ushenin Yu., Shirshov Yu. Surface plasmon resonance biosensor. *Sensors & Transducers Journal*. 2013. **149**, №2. P.60-68.
21. Shirshov Yu.M., Kostyukevych K.V., Khristosenko R.V., Gridina N.Ya., Kostyukevych S.A., Samoylov A.V., Ushenin Yu.V. Optical control of the interface between gold surface and blood cell samples. *Optoelectron. Semicond. Tech*. 2021. **56**. P. 134-155.
22. Jaaskelainen A. J., Peiponen K.-E., Rätty J. A., Dairy J. On Reflectometric Measurement of a Refractive Index of Milk. *Journal of Dairy Science*. 2001. **84**, №1. P. 38-43.
23. Vikinge T. P., Hansson K. M., Benesch J, Johansen K, Ranby M, Lindahl T. L. Blood plasma coagulation studied by surface plasmon resonance. *J Biomed Optics*. 2000. **5**. P. 51–56.
24. Mazumdar S. D., Barlen B., Kämpfer P., Keusgena M. Surface plasmon resonance (SPR) as a rapid tool for serotyping of Salmonella. *Biosensors and Bioelectronics*. 2010. **25**. P. 967–971.
25. Robelek R., Wegener J. Label-free and time-resolved measurements of cell volume changes by surface plasmon resonance (SPR) spectroscopy. *Biosensors and Bioelectronics*. 2010. **25**. P. 1221–1224.
26. Крижак Л. М., Калініна Г. П. Проблеми ідентифікації та виявлення фальсифікації молочних продуктів. IX Міжнародна науково-практична інтернет-конференція. Полтава. Збірник тез. 2022. С. 52-55.
27. Ingelfinger J.R. Melamine and the global implications of food contamination. *N. Engl. J. Med*. **359**, №26. 2008. P.2745–2748.
28. Brown C., Jeong K.S., Poppenga R.H. [et al.]. Outbreaks of renal failure associated with melamine and cyanuric acid in dogs and cats in 2004 and 2007. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2007. №19. P. 525–531.
29. Sharma S., Paliwal A., Bassi M., Tomar M., Gupta V., Gulati S. Investigation of Adulteration in Milk using Surface Plasmon Resonance. *ECS Journal of Solid State Science and Technology*. 2021. **10**,9. P. 091004.
30. Wu S., Qian L., Huang L. et al. A Plasmonic Mass Spectrometry Approach for Detection of Small Nutrients and Toxins. *Nano-Micro Lett*. 2018. **10**, №52. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40820-018-0204-6>.
31. Wu H., Li H., Chua F.Z., Li S.F. Rapid detection of melamine based on immunoassay using portable surface plasmon resonance biosensor. *Sensors Actuators B Chem*. 2013. **178**. P. 541-546, 10.1016/j.snb.2012.12.089.
32. Dursun A. D., Borsa B. A., Bayramoglu G., Arica M. Y., Ozalp V. C. Surface plasmon resonance aptasensor for Brucella detection in milk. *Talanta*. 2022. **239**. P. 123074.

33. Qu L., Bai J., Peng Y. et al. Detection of Three Different Estrogens in Milk Employing SPR Sensors Based on Double Signal Amplification Using Graphene. *Food Anal. Methods*. 2021. **14**. P. 54–65. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01852-x>.
34. Rebe Raz S., Bremer M.G., Haasnoot W., Norde W. Label-free and multiplex detection of antibiotic residues in milk using imaging surface plasmon resonance-based immunosensor. *Anal Chem*. 2009. **81**, №18. P.7743-9. DOI: 10.1021/ac901230v.
35. Klestova Z. S., Voronina A. K., Yushchenko A. Y., et al. Surface plasmon resonance method for detection chicken infectious bronchitis coronavirus. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical P*.
36. Kurç Ö., Türkmen D. Molecularly Imprinted Polymers Based Surface Plasmon Resonance Sensor for Sulfamethoxazole Detection. *Photonic Sens*. 2022. **12**. P. 220417. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13320-022-0658-5>.
37. Altintas Z. Surface plasmon resonance based sensor for the detection of glycopeptide antibiotics in milk using rationally designed nanoMIPs. *Sci Rep*. 2018. **8**. P. 11222. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29585-2>.
38. Gaudin V., Maris P. Development of a Biosensor-based Immunoassay for Screening of Chloramphenicol Residues in Milk, Food and Agricultural Immunology. 2001. **13**, №2. P.77-86. DOI: 10.1080/09540100120055648.
39. Fernandez F., Hegnerova K., Piliarik M., et al. A label-free and portable multichannel surface plasmon resonance immunosensor for on site analysis of antibiotics in milk samples. *Biosensors & Bioelectronics*. 2010. **26**, №4. P. 1231-1238. DOI: 10.1016/j.bios.
40. Gustavsson E, Degelaen J, Bjurling P, Sternesjö A. Determination of beta-lactams in milk using a surface plasmon resonance-based biosensor. *J Agric Food Chem*. 2004. **52**, №10. P. 2791-6. DOI: 10.1021/jf0344284. .
41. Celik O., Saylan Y., Göktürk I., Yılmaz F., Denizli A. A surface plasmon resonance sensor with synthetic receptors decorated on graphene oxide for selective detection of benzylpenicillin. *Talanta*. 2022. **253**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123939>.
42. Pennacchio A., Varriale A., Esposito M.G., Scala A., Marzullo V.M., Staiano M., D'Auria S. A Rapid and Sensitive Assay for the Detection of Benzylpenicillin (PenG) in Milk. *PLoS One*. 2015. **10**, №7. P: e0132396. DOI: 10.1371/journal.pone.0132396.
43. Prosa M., Bolognesi M., Fornasari L., Grasso G., Lopez-Sanchez L., Marabelli F., Toffanin S. Nanostructured Organic/Hybrid Materials and Components in Miniaturized Optical and Chemical Sensors. *Nanomaterials*. 2020. **10**. P. 480.

¹Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут
імені Ігоря Сікорського»,
просп. Перемоги, 37, 03056 Київ, Україна

Отримано 22.08.2022

²Інститут фізики напівпровідників
ім. В.С. Лашкарьова НАН України
41, проспект Науки,
03680 Київ, Україна
E-mail: annakushnir30@ukr.net