

## ПРИМЕНЕНИЕ ЗОЛОТЫХ НАНОСТЕРЖНЕЙ В СОЧЕТАНИИ С МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ ДЛЯ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОХРАТОКСИНА А

© 2024 г. К. В. Серебренникова<sup>1</sup>, Л. В. Баршевская<sup>1</sup>, А. В. Жердев<sup>1</sup>, Б. Б. Дзантиев<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха Федерального исследовательского центра “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, Россия

\*E-mail: dzantiev@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 23.11.2023 г.

После доработки 23.11.2023 г.

Принята к публикации 11.12.2023 г.

Исследовано повышение чувствительности иммунохроматографического анализа (ИХА), достигаемое при использовании золотых наностержней, модифицированных 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной кислотой). Полученный наномаркер позволяет количественно определять целевой аналит методами колориметрии и спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР). Объектом исследования выбран один из широко распространенных микотоксинов — охратоксин А (ОТА). После функционализации золотых наностержней антивидовыми антителами ГКР-активную метку использовали для выявления иммунных комплексов, образовавшихся в аналитической зоне в результате конкурентного взаимодействия между свободным ОТА и конъюгатом гаптен–белок за центры связывания специфических антител. После проведения ИХА измеряли интенсивность ГКР 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной кислоты). В оптимизированных условиях предел обнаружения ОТА в колориметрическом режиме детекции составил 1.7 нг/мл, а при регистрации результатов ИХА методом спектроскопии ГКР — снизился до 33 пг/мл.

DOI: 10.56304/S199272232360099X

### ВВЕДЕНИЕ

В современной практике крайне востребованы аналитические системы, сочетающие простоту проведения, скорость и высокую чувствительность. Одним из простых в реализации методов является иммунохроматографический анализ (ИХА) [1, 2], не требующий дорогостоящего оборудования, а его результаты можно получить в течение 10–15 мин. Принцип метода заключается во взаимодействии реагентов, заранее нанесенных на различные участки мультимембранного композита, с образованием меченого иммунного комплекса, регистрация которого проводится визуально или инструментально исходя из свойств используемого маркера [3, 4]. В качестве иммунохроматографических маркеров используют главным образом различные виды наночастиц, что позволяет объединять быстрые взаимодействия на их поверхности в ходе движения потока жидкости вдоль мультимембранного композита и высокочувствительное выявление непосредственно в зоне связывания. Разработаны системы ИХА на основе наночастиц благородных металлов [5], квантовых точек [6], нанозимов [7],

магнитных [8], а также наночастиц [9], регистрируемых фото- [10] и флуориметрическими методами [11], методом спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) [12, 13] и другими методами [14, 15]. Инструментальная регистрация маркеров обеспечивает более чувствительный ИХА по сравнению с визуальной и позволяет трансформировать его в количественный метод.

В представленной работе предложена высокочувствительная аналитическая система, объединяющая ИХА со спектроскопией ГКР. Спектроскопия ГКР является перспективным оптическим методом, основанным на многократном усилении комбинационного рассеяния (КР) молекул вблизи металлических поверхностей [16]. Для реализации аналитической системы были получены золотые наностержни, модифицированные 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной кислотой) (ДТНБ) и антивидовыми антителами, благодаря чему результаты ИХА с их использованием можно регистрировать методами колориметрии и спектроскопии ГКР. 5,5'-Дитиобис-(2-нитробензойная кислота) обладает выраженным спектром

КР [17]. Выбор золотых наностержней обусловлен усилением локального электромагнитного поля вокруг поверхности наночастиц вследствие продольного и поперечного поверхностного плазмонного резонанса при падении световой волны на поверхность металла [18, 19]. При этом, изменяя размер синтезируемых золотых наностержней, можно изменять положение спектральных пиков поверхностного плазмонного резонанса в широком диапазоне частот, от видимой до ближней ИК-области [20]. Ранее было показано, что усиление КР в результате взаимодействия металлических наночастиц с репортерными молекулами позволяет снизить предел обнаружения целевых аналитов в ИХА [21–23].

Целевым аналитом являлся охратоксин А (ОТА) – вторичный метаболит плесневых грибов родов *Aspergillus* и *Penicillium* [24]. ОТА контаминирует многие злаки, бобы, кофе, фрукты, специи, хлеб и вино, а благодаря устойчивости к термообработке встречается в продуктах животного происхождения (молоко и мясо) [25, 26]. ОТА обладает канцерогенным, тератогенным, нефротоксическим и мутагенным действием, что делает его крайне опасным для человека [27]. Поэтому востребована разработка высокочувствительных методов выявления и определения содержания ОТА.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Химические реагенты и материалы.* В работе использовали следующие реагенты: бычий сывороточный альбумин (БСА) (Boval Biosolutions, США), золотохлористоводородная кислота ( $\text{HAuCl}_4$ ), Твин-20, конъюгат охратоксин А–БСА (ОТА–БСА), боргидрид натрия ( $\text{NaBH}_4$ ), нитрат серебра ( $\text{AgNO}_3$ ), 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота) (Sigma-Aldrich, США), аскорбиновая кислота (АК) (ICN Biomedical, США), цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ) (MP Biologicals, США), гидроксид натрия (NaOH) (Химмед, Россия), ортопиримидилдисульфид сукцинимидилового эфира полиэтиленгликоля (OPSS-PEG-NHS), метокси-ПЭГ-тиол (mPEG-SH) (Creative PEGWorks, США), моноклональные антитела мышей против охратоксина А (мАТ–ОТА) (Пушино-тест, Россия), охратоксин А (Fluka, Германия), антитела к к-цепи иммуноглобулинов мыши (BioXCell, США). Все остальные реагенты имели квалификацию ЧДА и выше.

Комплектация иммунохроматографических тест-полосок включала в себя рабочую нитроцеллюлозную мембрану марки 90CNPН, стекловолоконную мембрану для конъюгата РТ-Р5, мем-

брану для пробы GFB-R7L, впитывающую мембрану AP-045 и пластиковую подложку L-P25 (Advanced Microdevices, Индия).

*Синтез золотых наностержней* проводили согласно методике [28] с небольшими изменениями. На первом этапе готовили раствор зародышей: в 7.5 мл 0.1 М ЦТАБ вносили 250 мкл 0.01 М  $\text{HAuCl}_4$ . Затем к этой смеси добавляли 600 мкл охлажденного льдом 0.01 М  $\text{NaBH}_4$  в дистиллированной воде и 100 мкл 0.1 М NaOH. Раствор зародышей перемешивали в течение 5 мин при комнатной температуре до достижения коричневого цвета.

На втором этапе к 2 мл 0.01 М  $\text{HAuCl}_4$  добавляли 9.5 мл 0.1 М ЦТАБ и 120 мкл 4 мМ  $\text{AgNO}_3$ , после чего раствор приобретал коричнево-желтый цвет. В полученную смесь далее по каплям вносили 500 мкл 0.1 М АК; раствор становился бесцветным. На последнем этапе 10 мкл раствора зародышей добавляли к приготовленной смеси, перемешивали несколько секунд и оставляли при комнатной температуре на 3 ч. Полученный препарат золотых наностержней центрифугировали 2 раза при 7000 g в течение 10 мин при 28°C, осадок ресуспендировали в воде и хранили при комнатной температуре.

*Синтез ГКР-активного конъюгата золотых наностержней с антителами.* В целях функционализации наностержней репортерной молекулой для комбинационного рассеяния света в 10 мл раствора наночастиц вносили 10 мкл 1 мМ ДТНБ в этаноле и инкубировали в течение ночи при комнатной температуре и постоянном перемешивании.

Последующий синтез проводили по методике [29] с изменениями. 10 мкл OPSS-PEG-NHS в концентрации 2 мг/мл вносили в 500 мкл раствора антител к к-цепи иммуноглобулинов мыши (100 мкг/мл) в карбонатном буфере (100 мМ, pH 9.3) и инкубировали 40 мин при комнатной температуре. Полученный раствор центрифугировали с использованием микроцентрифужных пробирок Amicon 30 K при 10 000 g и 4°C в течение 10 мин в карбонатном буфере. Процедуру центрифугирования повторяли 3 раза.

Далее 10 мкл раствора модифицированных антител с концентрацией 1 мг/мл вносили в 1 мл раствора золотых наностержней с ДТНБ и инкубировали 1 ч при комнатной температуре. В полученную смесь добавляли 20 мкл водного раствора mPEG-SH (1 мМ), оставляли на 20 мин и центрифугировали при 7000 g и 28°C в течение 10 мин. Осадок ресуспендировали в воде и повторяли процедуру центрифугирования еще 1 раз. Конеч-

ный осадок ресуспендировали в 50 мМ фосфатном буфере, содержащем 1% сахарозы, 0.05% Твин-20, 0.2% БСА и 0.1% mPEG-SH.

**Характеристика золотых наностержней методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ).** Снимки препаратов наночастиц получали методом ПЭМ с помощью электронного микроскопа CX-100 (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ и увеличении 33 000. Фотографии сканировали и анализировали (количество частиц для анализа составило 100 шт.) с помощью программы “Image Tool” (UTHSCSA, США).

**Изготовление иммунохроматографических тест-полосок.** Конъюгат золотых наностержней с антителами (ЗНС–АТ) ( $OD_{608} = 2.0$ ) наносили на мембрану для конъюгата РТ–R5 из расчета 13 мкл на 1 см мембраны. Для формирования аналитической зоны на рабочую нитроцеллюлозную мембрану 90CNPН наносили раствор ОТА–БСА (1 мг/мл) в 50 мМ фосфатном буфере (ФБ), pH 7.4, с помощью диспенсера IsoFlow (Image Technology, USA). После нанесения реагентов мембраны высушивали в течение суток при 20–22°C и фиксировали на пластиковой подложке L-R25. Полученные мультимембранные композиты нарезали на тест-полоски шириной 4 мм с помощью резака Index Cutter-1 (A-Point Technologies, USA). Нарезку и упаковку в зип-пакеты проводили при 20–22°C в специальном помещении с относительной влажностью воздуха не более 30%. Упакованные тест-полоски хранили при комнатной температуре.

**Иммунохроматографическое определение охратоксина А.** Для проведения анализа в лунки микропланшета вносили по 25 мкл ФБ с содержанием ОТА в концентрациях 0.02–25 нг/мл. К этим же растворам добавляли 25 мкл МАТ–ОТА (конечная концентрация 750 нг/мл) в ФБ, содержащем 1% детергента Твин-20. Далее в полученную смесь вносили тест-полоски, инкубировали 10 мин и помещали на горизонтальную поверхность.

**Регистрация и обработка результатов ИХА.** После проведения анализа получали изображения тест-полосок с использованием сканера Canon Lide 90 при разрешении 600 dpi без дополнительного контрастирования. Снимки анализировали с помощью программного обеспечения Total Lab software (Nonlinear Dynamics, Newcastle, UK). Интенсивность окрашивания аналитических зон представлена в одних и тех же относительных единицах для всех данных.

После высыхания тест-полосок регистрировали спектры ГКР света из 10 точек в середине аналитической линии с использованием спектрометра с микроскопом серии NS200 (NANOSCOPE Systems, Inc., Daejeon, South Korea). Все спектры были получены в одинаковых условиях: источник возбуждения настроен на длину волны 785 нм,

мощность лазера – 10%, время экспозиции – 20 с. Объектив 10× (NA = 0.46) использовали для фокусировки лазерного пятна на поверхности тест-полоски.

**Получение градуировочных кривых и расчет параметров ИХА.** Зависимости интенсивности сигнала – окрашивания или КР при  $1325\text{ см}^{-1}$  – в аналитической зоне (y) от концентрации антигена в пробе (x) аппроксимировали с помощью программы Origin версии 9.0 (OriginLab, Northampton, MA, USA) с использованием четырехпараметрической сигмоидной функции

$$y = (a - b) / [1 + (x/c)^d] + b,$$

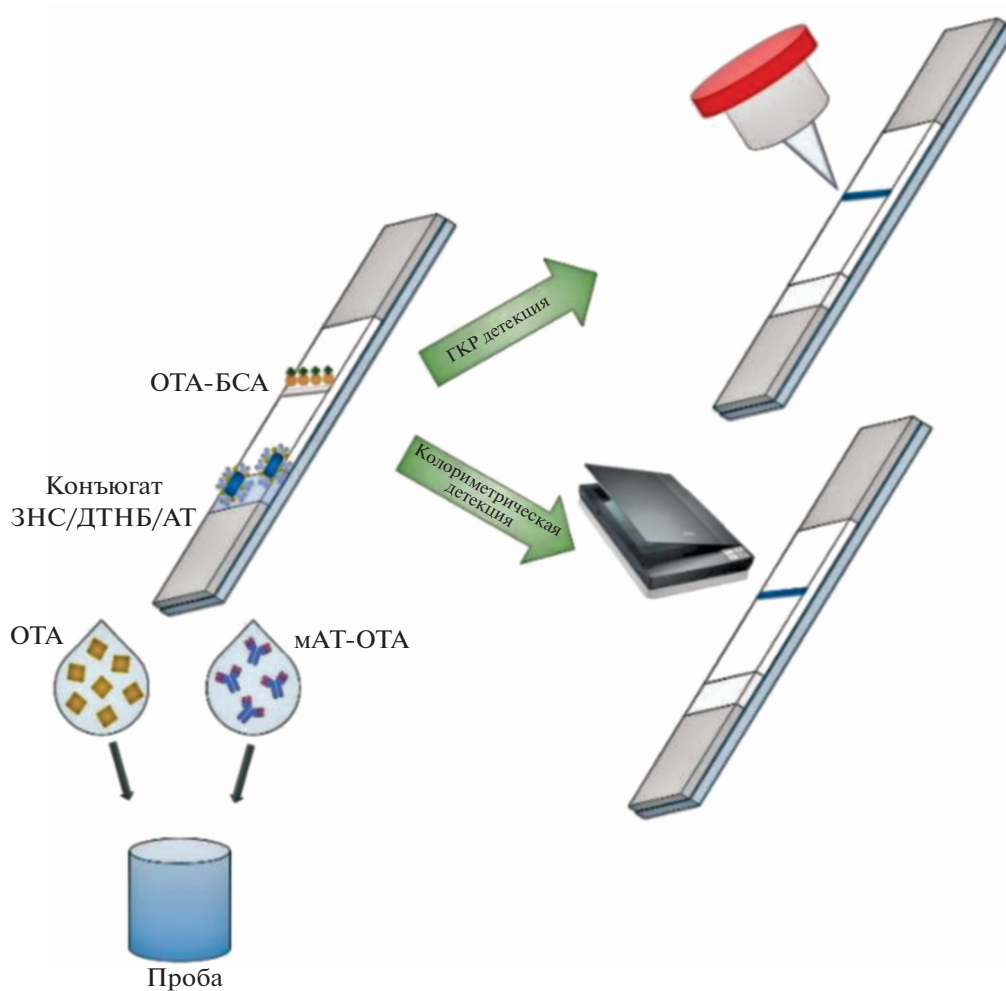
где  $a$  – максимальный сигнал,  $b$  – минимальный сигнал,  $c$  (или  $IC_{50}$ ) – точка перегиба, концентрация антигена, ингибирующая 50% связывания антител,  $d$  – наклон кривой в точке  $c$ .

Визуальным пределом обнаружения являлась концентрация антигена, соответствующая исчезновению наблюдаемого невооруженным глазом окрашивания в аналитической зоне. Инструментальный предел обнаружения рассчитывали по концентрационной зависимости с использованием критерия трех стандартных отклонений разницы между сигналами для проб, содержащих и не содержащих аналит [30].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Принцип ИХА в сочетании со спектроскопией ГКР.** В работе была реализована непрямая схема конкурентного ИХА охратоксина А, в которой меченым препаратом являлся конъюгат функционализированных ДТНБ золотых наностержней и антивидовых антител (рис. 1). Такая схема анализа обеспечивает разделение стадий конкурентного взаимодействия антител с детектируемым антигеном в пробе и на мембране, а также выявление образовавшихся специфических иммунных комплексов с помощью конъюгата антивидовых антитела–наночастицы [31–33].

В аналитической зоне тест-полоски иммобилизовали конъюгат ОТА–БСА, а потенциально содержащую ОТА пробу инкубировали с раствором и МАТ–ОТА, погружая затем тест-полоску в эту смесь. В отсутствие ОТА в пробе специфические антитела связывались с ЗНС–Ат, иммобилизованными на мембране для конъюгата, и комплекс перемещался в аналитическую зону, где связывался с конъюгатом ОТА–БСА. В присутствии ОТА в пробе специфические антитела связывали аналит, и окрашивания в аналитической зоне не наблюдалось. После ИХА регистрировали окрашивание либо спектры ГКР в аналитической зоне.



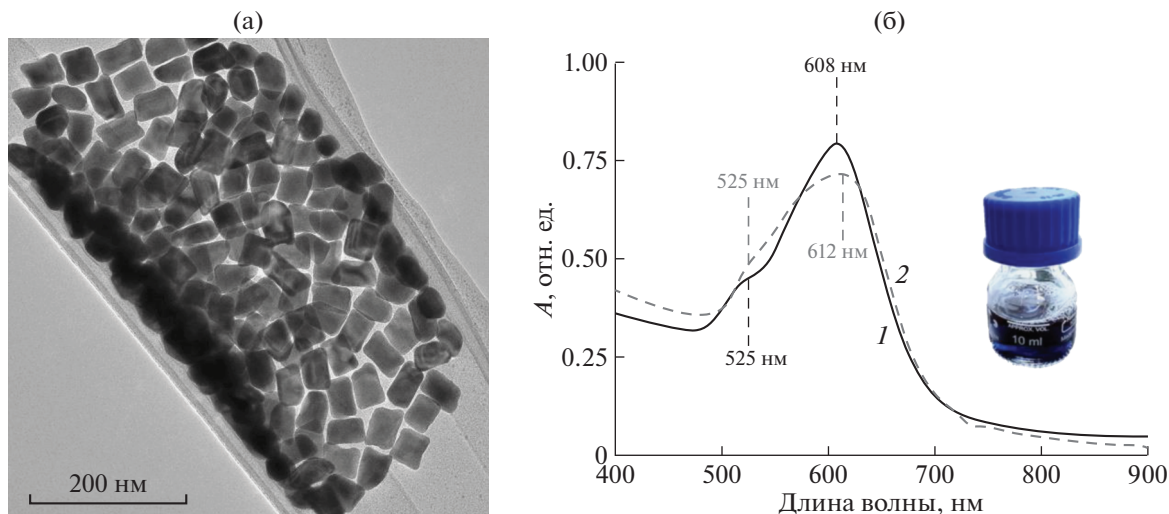
**Рис. 1.** Реализуемая схема ИХА с двумя вариантами инструментальной детекции.

*Характеристика ГРП-активной метки и иммуноконъюгата на ее основе.* На рис. 2 приведено ПЭМ-изображение золотых наностержней. Согласно данным ПЭМ длина, ширина и соотношение сторон ЗНС  $50.3 \pm 5.2$ ,  $25.4 \pm 4.6$  нм и 2 соответственно. В спектре поглощения ЗНС имеются два пика — 525 и 608 нм, соответствующие поперечному и продольному плазмонным резонансам [34, 35]. После связывания ДТНБ с поверхностью золотых наностержней наблюдали сдвиг пика поглощения от 608 к 612 нм, связанный с тиолированием поверхности [36].

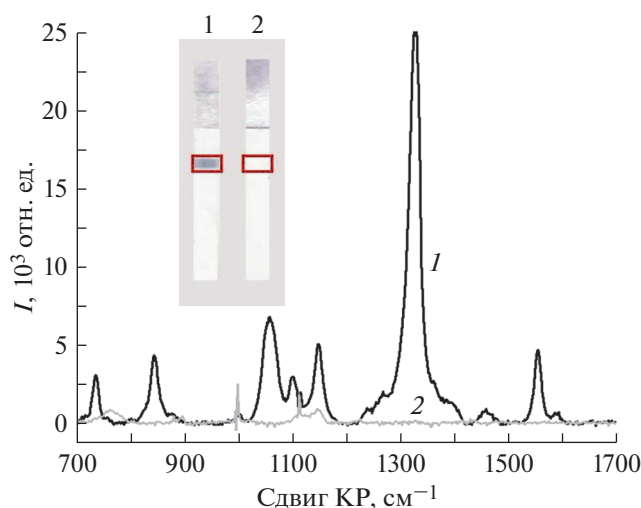
Для оценки специфического и неспецифического связывания функционализированных антителами наночастиц были сопоставлены ГРП-спектры, получаемые в результате их связывания мАТ-ОТА и ОТА-БСА в аналитической зоне соответственно. На спектре КР, полученном в результате специфического связывания (рис. 3, 1), наблюдались полосы при 1050, 1325 и 1555  $\text{см}^{-1}$ , соответствующие данным спектра ДТНБ [37].

Максимальный пик в области 1325  $\text{см}^{-1}$ , связанный с симметричным растяжением нитрогруппы ДТНБ, использовали в качестве аналитического сигнала для количественного определения ОТА. Спектр 2 на рис. 3 демонстрирует отсутствие сигнала ГРП в этой области, т.е. ЗНС-АТ не связывается неспецифически с конъюгатом ОТА-БСА.

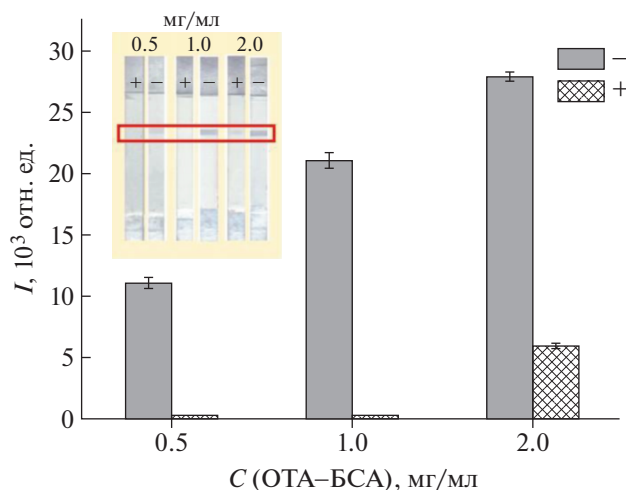
*Оптимизация ИХА в сочетании со спектроскопией ГРП.* Для достижения минимального предела обнаружения ОТА при реализации ИХА в сочетании со спектроскопией ГРП были оптимизированы концентрации реагентов на тест-полоске и в растворе. На первом этапе концентрацию конъюгата ОТА-БСА, иммобилизованного в аналитической зоне тест-полоски, варьировали от 0.5 до 2 мг/мл. Оптимальное сочетание интенсивности КР при 1325  $\text{см}^{-1}$  в аналитической зоне и чувствительности выявления ОТА было достигнуто при использовании конъюгата ОТА-БСА в концентрации 1 мг/мл (рис. 4). Увеличение концентрации ОТА-БСА в аналитической зоне до 2 мг/мл



**Рис. 2.** ПЭМ-изображение ЗНС (а), спектр поглощения ЗНС (б): 1 – исходных ЗНС, 2 – модифицированных ДТНБ. Вставка – фотография ЗНС после синтеза.



**Рис. 3.** Спектры КР, полученные после связывания ЗНС–АТ в аналитической зоне: с антителами к ОТА (1) и ЗНС–АТ с конъюгатом ОТА–БСА (2). Вставка – тест-полоски с выделенными прямоугольниками аналитическими зонами (1 – связывание ЗНС–АТ с антителами к ОТА, 2 – с конъюгатом ОТА–БСА).



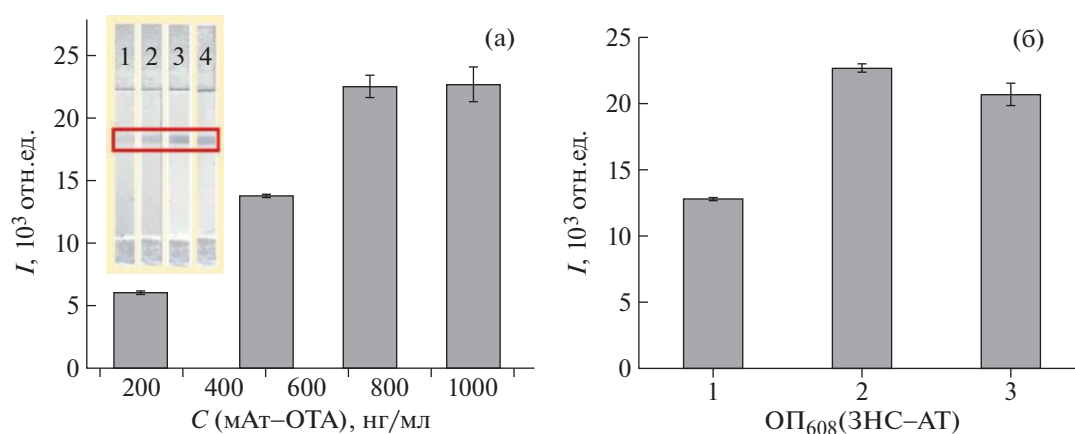
**Рис. 4.** Зависимость интенсивности пика  $1325\text{ см}^{-1}$  на спектре ГКР в аналитической зоне от концентрации ОТА–БСА. Вставка – тест-полоски: + – в присутствии ОТА (25 нг/мл), – – в отсутствие ОТА. Выделена область аналитических зон на тест-полосках.

приводило к появлению окрашивания аналитической зоны тест-полоски (вставка на рис. 4) в присутствии 25 нг/мл и регистрируемому сигналу ГКР, что снижало чувствительность определения ОТА.

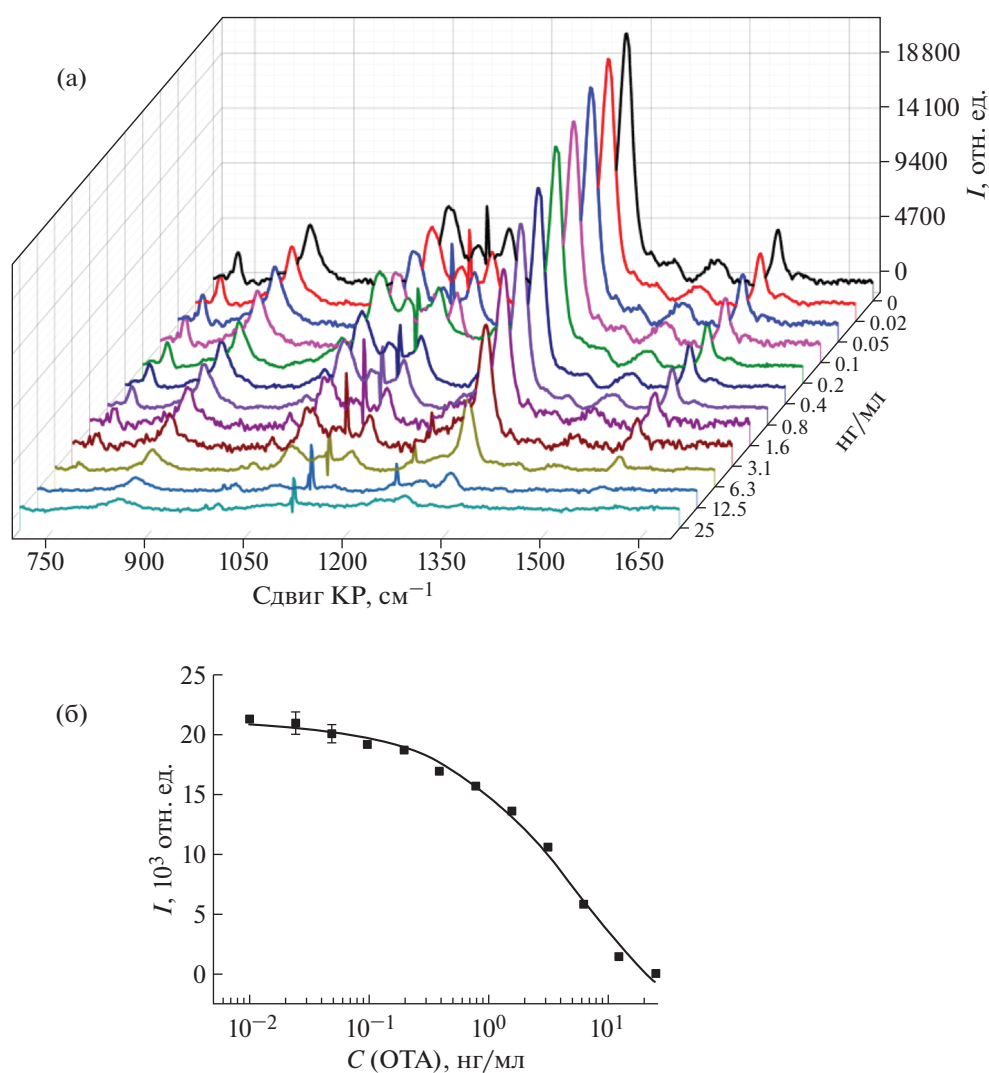
Влияние концентрации добавляемых специфических антител на сигнал ГКР исследовали в отсутствие ОТА. При повышении концентрации МАТ–ОТА до 750 нг/мл наблюдалось увеличение окрашивания аналитической зоны (вставка на рис. 5а) и сигнала ГКР при  $1325\text{ см}^{-1}$  (рис. 5). Дальнейшее увеличение содержания специфиче-

ских антител не приводило к изменениям сигнала, поэтому в работе использовали МАТ–ОТА в концентрации 750 нг/мл. Варьирование ЗНС–АТ в диапазоне концентраций, соответствующих  $OP_{608} = 1.0\text{--}3.0$  (рис. 5б), показало, что оптимальна иммобилизация конъюгата на мембране в количестве, соответствующем  $OP_{608} = 2$ .

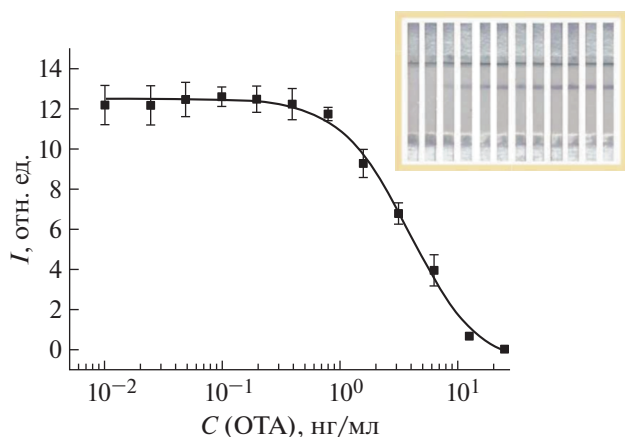
Таким образом, следующие условия были установлены как оптимальные для ИХА с регистрацией ГКР-сигнала: концентрация ОТА–БСА в аналитической зоне тест-полоски – 1 мг/мл,



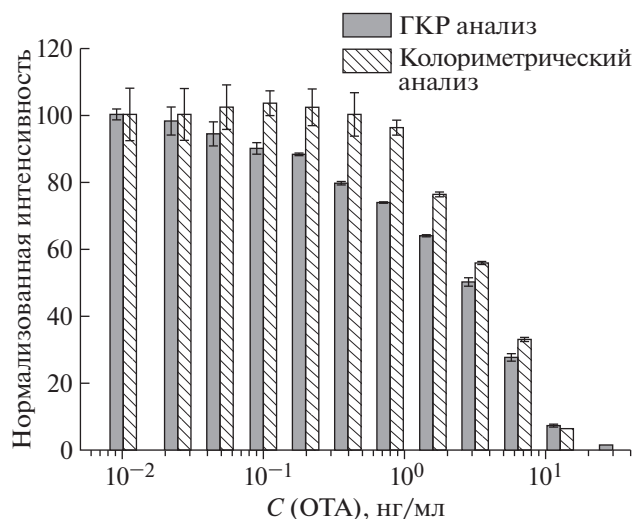
**Рис. 5.** Зависимость ГКР-сигнала в аналитической зоне от концентрации МАТ–ОТА (а). Вставка – тест-полоски в отсутствие аналита при концентрациях МАТ–ОТА: 1 – 200, 2 – 500, 3 – 750, 4 – 1000 нг/мл, прямоугольником выделено расположение аналитических зон. Зависимость ГКР-сигнала в аналитической зоне от концентрации ЗНС–АТ (б).



**Рис. 6.** Спектры КР, полученные для разных концентраций ОТА (а). Зависимости интенсивности пика  $1325\text{ см}^{-1}$  от концентрации ОТА, полученные для ИХА с детекцией ГКР (б).



**Рис. 7.** Калибровочная зависимость интенсивности колориметрического сигнала в аналитической зоне от концентрации ОТА. Вставка — тест-полоски после определения ОТА (диапазон концентраций 0–25 нг/мл с шагом 2) методом ИХА.



**Рис. 8.** Зависимости нормализованной интенсивности сигнала в аналитической зоне от концентрации ОТА, полученные для ИХА с колориметрической и ГКР-детекцией.

мАТ–ОТА в пробе — 750 нг/мл, концентрация ЗНС–АТ, соответствующая ОП<sub>608</sub> = 2.

**Аналитические характеристики ИХА ОТА с регистрацией спектров ГКР.** Для оценки чувствительности разработанной тест-системы были приготовлены стандартные растворы ОТА с концентрациями в диапазоне 0–25 нг/мл и после проведения ИХА получены спектры ГКР аналитической зоны. Как видно из рис. 6а, с увеличением концентрации ОТА снижалась интенсивность пика при 1325 см<sup>-1</sup>. Калибровочная зависимость интенсивности пика 1325 см<sup>-1</sup> от концентрации ОТА представлена на рис. 6б. Рабочий диапазон ИХА с детекцией ГКР-сигнала составил от 0.89 до 39.16 нг/мл с пределом обнаружения 33 пг/мл.

На рис. 7а показаны соответствующие цифровые изображения тест-полосок. Обработка изображений показала, что ИХА с оптической детекцией позволяет определять ОТА в диапазоне концентраций 1.51–9.85 нг/мл с пределом обнаружения 1.7 нг/мл (рис. 7б).

На рис. 8 приведено сравнение результатов, получаемых при непрямой схеме ИХА с оптической и ГКР-детекцией, представленное как концентрационные зависимости ИХА–ОТА, нормализованные относительно сигналов в отсутствие аналита. Для высоких концентраций ОТА (более 2 нг/мл) результаты ИХА с различными методами детекции сравнимы. Однако в низких концентрациях (до 1 нг/мл) обнаружение аналита было только при реализации ИХА с ГКР-детекцией. Достигнутый предел обнаружения (33 пг/мл) ниже установленных норм по содержанию ОТА в пищевой продукции (2–20 мкг/кг) [38, 39]. Таким образом, применение ГКР-активной метки с ре-

гистрацией спектров КР в аналитической зоне тест-полоски позволило повысить чувствительность определения ОТА в 50 раз. Полученный результат согласуется с опубликованными ранее работами, в которых переход от колориметрической к ГКР-детекции в конкурентном ИХА приводил к снижению предела обнаружения целевого аналита на 1–4 порядка [40–43].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для количественного высокочувствительного определения ОТА реализована непрямая схема ИХА в сочетании со спектроскопией ГКР. В разработанной системе используется универсальный конъюгат меченых ДТНБ золотых наностержней с антивидами антителами, а проба предварительно инкубируется со специфическими антителами. Это позволяет снизить недостатки обычного конкурентного ИХА: независимо варьировать концентрацию маркера и специфических антител, а также увеличивать длительность взаимодействия антиген–антитело. Благодаря сочетанию непрямой схемы ИХА и регистрации сигнала ГКР-молекулы ДТНБ, усиленного на поверхности золотых наностержней, обеспечивается определение ОТА в низких концентрациях. Достигнутый предел обнаружения (33 пг/мл) дает возможность значительно разбавлять пробы перед тестированием, устраняя влияние компонентов матрикса, и контролировать превышение установленных норм по максимально допустимому содержанию ОТА в пищевой продукции.

Оптические измерения проводили на базе Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН (№ 506694).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-74-20155).

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Di Nardo F., Chiarello M., Cavallera S. et al.* // *Sensors*. 2021. V. 21. № 15. Article 5185.
2. *Sadeghi P., Sohrabi H., Hejazi M. et al.* // *Trends Anal. Chem.* 2021. V. 145. Article 116460.
3. *Bahadır E.B., Sezgentürk M.K.* // *Trends Anal. Chem.* 2016. V. 82. P. 286.
4. *Urusov A.E., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.* // *Biosensors*. 2019. V. 9. № 3. Article 89.
5. *Chen X., Ding L., Huang X. et al.* // *Theranostics*. 2022. V. 12. № 2. P. 574.
6. *Fang B., Xiong Q., Duan H. et al.* // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 157. Article 116754.
7. *Calabria D., Calabretta M.M., Zangheri M. et al.* // *Sensors*. 2021. V. 21. № 10. Article 3358.
8. *Moyano A., Serrano-Pertierra E., Salvador M. et al.* // *Diagnostics*. 2020. V. 10. № 5. Article 288.
9. *Mirica A.C., Stan D., Chelcea I.C. et al.* // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022. V. 10. Article 922772.
10. *Kim J., Shin M.S., Shin J. et al.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. № 11. Article 9600.
11. *Wu Y., Sun J., Huang X. et al.* // *Trends Food Sci. Technol.* 2021. V. 118. P. 658.
12. *Wang L., Wang X., Cheng L. et al.* // *Biosens. Bioelectron.* 2021. V. 189. Article 113360.
13. *Khlebtsov B., Khlebtsov N.* // *Nanomaterials*. 2020. V. 10. № 11. Article 2228.
14. *Cheng, J., Yang G., Guo J. et al.* // *Analyst*. 2022. V. 147. № 4. P. 554.
15. *Nguyen V.T., Song S., Park S. et al.* // *Biosens. Bioelectron.* 2020. V. 152. Article 112015.
16. *Ilyas A., Dyussupova A., Sultangaziyev A. et al.* // *Talanta*. 2023. V. 265. Article 124818.
17. *Rong Z., Xiao R., Xing S. et al.* // *Analyst*. 2018. V. 143. № 9. P. 2115.
18. *Liu J., He H., Xiao D. et al.* // *Materials*. 2018. V. 11. № 10. Article 1833.
19. *Fu G., Sun D.W., Pu H. et al.* // *Talanta*. 2019. V. 195. P. 841.
20. *Wang A.X., Kong X.* // *Materials*. 2015. V. 8. № 6. P. 3024.
21. *Tian R., Ren Y., Wang T. et al.* // *Anal. Chim. Acta*. 2023. V. 1257. Article 341152.
22. *Yin L., You T., El-Seedi H. et al.* // *Food Chem.* 2022. V. 396. Article 133707.
23. *Shan J., Shi L., Li Y. et al.* // *Trends Food Sci. Technol.* 2023. V. 140. Article 104149.
24. *Wang L., Wang Q., Wang S. et al.* // *Curr. Res. Food Sci.* 2022. V. 5. P. 1539.
25. *Malir F., Ostry V., Pfohl-Leszkowicz A. et al.* // *Toxins*. 2016. V. 8. № 7. Article 191.
26. *Li X., Ma W., Ma Z. et al.* // *Molecules*. 2021. V. 26. № 22. Article 6928.
27. *Petzinger, Ziegler* // *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2000. V. 23. № 2. P. 91.
28. *Benešová M., Bernatová S., Mika F. et al.* // *Biosensors*. 2023. V. 13. № 2. Article 182.
29. *Khlebtsov B.N., Bratashov D.N., Byzova N.A. et al.* // *Nano Res.* 2019. V. 12. № 2. P. 413.
30. *Uhrovčík J.* // *Talanta*. 2014. V. 119. P. 178.
31. *Bartosh A.V., Urusov A.E., Petrakova A.V. et al.* // *Food Agric. Immunol.* 2020. V. 31. № 1. P. 653.
32. *Willemssen L., Wichers J., Xu M. et al.* // *Biosensors*. 2022. V. 12. № 9. Article 735.
33. *Zha C., An X., Zhang J. et al.* // *Anal. Methods*. 2022. V. 14. № 7. P. 708.
34. *Zhao Z., Chen X., Zuo J. et al.* // *Nano Res.* 2022. V. 15. № 2. P. 1327.
35. *González-Rubio G., Kumar V., Llombart P. et al.* // *ACS Nano*. 2019. V. 13. № 4. P. 4424.
36. *Tezcan T., Hsu C.H.* // *RSC Adv.* 2020. V. 10. № 56. P. 34290.
37. *Zheng Z., Xu K., Lu F. et al.* // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2023. V. 30. № 12. P. 34636.
38. Commission regulation (EU) 2022/1370 of 5 August 2022 amending Regulation (EC) № 1881/2006 as regards maximum levels of ochratoxin A in certain food-stuffs.
39. СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов.
40. *Shi Q., Huang J., Sun Y. et al.* // *Microchim. Acta*. 2018. V. 185. № 2. Article 84.
41. *Lin L.K., Stanciu L.A.* // *Sens. Actuators B Chem.* 2018. V. 276. P. 222.
42. *Fu X., Chu Y., Zhao K. et al.* // *Microchim. Acta*. 2017. V. 184. № 6. P. 1711.
43. *Li X., Yang T., Song Y. et al.* // *Sens. Actuators B Chem.* 2019. V. 283. P. 230.