

Квантовые точки на основе CdSe: синтез, модификация поверхности, перспективы применения

Гофтман В.В., Сперанская Е.С., Горячева И.Ю.

Саратовский Государственный Университет им. Н.Г. Чернышевского,

Институт химии, кафедра общей и неорганической химии

goftman@bk.ru

Уникальные оптические свойства квантовых точек (КТ) делают их перспективным материалом для применения в самых различных областях. В частности, ведутся разработки по использованию КТ в светоизлучающих диодах, дисплеях [1, 2], лазерах [3-6], солнечных батареях [7-9]. Кроме того, они могут быть сконъюгированы с биомолекулами за счёт ковалентного связывания между группами лигандов, покрывающих КТ, и функциональными группами биомолекул [10]. В таком виде они применяются в качестве флуоресцентных меток в самых разных приложениях биоанализа – от иммунохимических тест-методов до визуализации тканей и отслеживания лекарственных веществ в организме [11-13]. Применение КТ в биоанализе на сегодняшний день является одной из перспективных областей применения люминесцирующих нанокристаллов. Такие уникальные характеристики КТ, как зависимость цвета эмиссии от размера, высокая фотостабильность, широкие спектры поглощения делают их идеальными флуорофорами для сверхчувствительной, многоцветной детекции биологических объектов и медицинской диагностики, требующей регистрации нескольких параметров одновременно [14, 15].

Полупроводниковые КТ представляют собой нанокристаллы, размеры которых по всем трём направлениям меньше радиуса экситона Бора для данного материала [11, 12]. В таких объектах наблюдается размерный эффект: оптические свойства, в частности ширина запрещенной зоны (а, соответственно, и длина волны испускания) и коэффициент экстинкции, зависят от размеров наночастиц и их формы [6, 14]. Вследствие столь значительного пространственного ограничения, КТ обладают уникальными оптическими и химическими характеристиками [12, 14]:

- Высокая фотостабильность, которая позволяет многократно увеличивать мощность возбуждаемого излучения и длительно наблюдать за поведением флуоресцентной метки в реальном времени [11, 15].
- Широкий спектр поглощения – благодаря чему КТ с разным диаметром могут быть одновременно возбуждены источником света с длиной волны 400 нм (или другой), при этом длина волны эмиссии этих образцов изменяется в диапазоне 490 – 590 нм (цвет флуоресценции от голубого до оранжево-красного) [14].
- Симметричный и узкий (ширина пика на полувысоте не превышает 30 нм) пик флуоресценции КТ упрощает процесс получения разноцветных меток [11, 12].
- Яркость свечения КТ настолько высока, что они оказываются детектируемыми как единичные объекты с помощью флуоресцентного микроскопа [16, 17].

Для использования КТ в биоанализе к ним предъявляют требования, связанные с водорастворимостью и биосовместимостью (поскольку неорганическое ядро в воде не растворимо), а также с четким распределением частиц по размерам, их стабильностью при хранении. Для придания КТ водорастворимых свойств существует несколько подходов при синтезе: либо синтезируют КТ непосредственно в водной фазе [18]; либо полученные в органических растворителях КТ затем переводят в водные растворы путем модификации лигандного слоя, покрывающего КТ [14, 17, 19].

Синтез в водных растворах позволяет получить гидрофильные КТ, однако по ряду характеристик, таких как квантовый выход флуоресценции, распределение частиц по размерам и стабильность во времени, они существенно уступают полупроводниковым КТ, полученным в органических фазах [18]. Таким образом, для применения в качестве

биометок КТ чаще всего синтезируют при высоких температурах в органических растворителях по методике, впервые применённой в 1993 г. научной группой Муррея и др. [20]. Основной принцип синтеза – впрыскивание растворов прекурсоров металла Cd и халькогена Se в нагретый до высоких температур координационный растворитель. С увеличением времени процесса происходит смещение спектра поглощения в длинноволновую область, что свидетельствует о росте кристаллов CdSe.

Ядра CdSe имеют невысокую яркость флуоресценции – их квантовый выход (КВ), как правило, не превышает 5%. Для повышения КВ и фотостабильности, флуоресцирующие ядра CdSe покрывают слоем более широкозонного полупроводника со схожими структурой и составом, который пассивирует поверхность ядра, тем самым значительно повышая КВ флуоресценции [12, 15]. Схожая кристаллическая структура оболочки и ядра – необходимое условие, иначе не будет происходить равномерного наращивания, а разница в структурах может приводить к дефектам на границе фаз. Для покрытия ядер селенида кадмия используют более широкозонные полупроводники, такие как сульфид цинка, сульфид кадмия, селенид цинка. Однако сульфид цинка, как правило, наращивают только на небольших ядрах селенида кадмия (при $d(\text{CdSe}) < 3$ нм). Согласно [21], наращивание оболочки ZnS на ядрах CdSe большего диаметра затруднительно из-за большой разницы в параметрах кристаллических решёток CdSe и ZnS. Поэтому при наращивании ZnS непосредственно на ядрах CdSe диаметром более ~3 нм между ядром и сульфидом цинка помещают промежуточный слой – наращивают оболочку селенида цинка или сульфида кадмия, которые имеют промежуточные между CdSe и ZnS параметры кристаллической решётки и величину запрещённой зоны [22].

Выделяют два основных подхода для перевода гидрофобных КТ в водные растворы: метод замены лигандов и покрытие амфифильными молекулами [12, 14, 17]. Кроме того, часто отдельной категорией выделяют покрытие КТ оболочкой оксида кремния [23].

Метод замены лигандов. По методу замены лигандов гидрофобные молекулы, покрывающие КТ в органических средах, замещают на гидрофильные (рис. 1) [24]. Как правило, гидрофобные лиганды связываются с атомами металлов поверхности КТ через карбоксильные, оксофосфониевые и amino-группы. Поскольку тиольная группа имеет наибольшее сродство к поверхности КТ, большинство гидрофильных лигандов, применяемых в этом

методе, содержат именно эту группу [14, 25]. Очевидным недостатком данных точек является их устойчивость только в средах с невысокой ионной силой и $\text{pH} > 7$. Другим недостатком КТ, покрытых тиокислотами, является их низкая стабильность во времени из-за легкости окисления тиольных групп до дисульфидных, которые, в свою очередь, не связываются с поверхностными атомами КТ, и нанокристаллы выпадают в осадок. Кроме того, было показано [23], что замена гидрофобных лигандов на меркаптопроизводные может приводить к падению КВ, поскольку тиольная группа при контакте с флуоресцирующим ядром вызывает снижение интенсивности флуоресценции.

Метод покрытия гидрофобных КТ амфифильными молекулами. Амфифильные молекулы, используемые для покрытия КТ, имеют гидрофобные (как правило, углеводородные) цепи для связи с лигандами, изначально покрывающими КТ, и

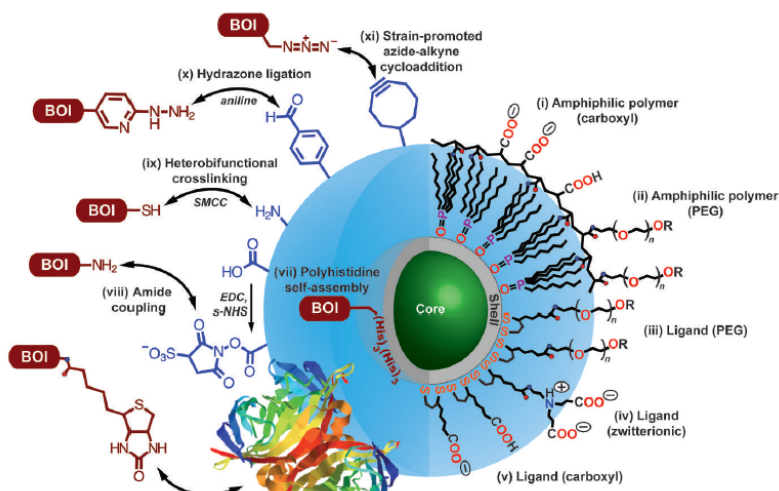


Рис.1. Обзор методов гидрофилизации КТ с помощью различных агентов и методик [24].

гидрофильные группы (например, карбоксильные), благодаря которым КТ стабилизируются в водном растворе и через которые КТ связываются с биомолекулами (рис. 1.) [23]. Было показано, что использование полимерных амфифильных молекул вместо низкомолекулярных реагентов приводит к образованию гораздо более стабильных во времени растворов КТ, поскольку одна полимерная молекула образует сразу много связей с одной КТ [26]. Важно подчеркнуть, что исходные



Рис.2. Схема установки для синтеза КТ.

лиганды остаются на поверхности КТ, то есть в процессе гидрофилизации непосредственная поверхность КТ остаётся нетронутой, а это приводит к тому, что яркость флуоресценции практически не падает после перевода КТ в воду.

Метод покрытия оксидом кремния. Покрытие оксидом кремния включает в себя замену исходных гидрофобных лигандов на молекулы силиконизирующих агентов, таких как меркаптопропилтрис(метилокси)силан, поли(винил)пироллидон, которые затем сшиваются с образованием оболочки оксида кремния вокруг КТ [27]. Для улучшения стабильности и биосовместимости в слой оксида кремния вводят ПЭГ-цепочки. Растворы КТ, покрытые оксидом кремния, отличаются высокой фотостабильностью и устойчивостью при хранении [23].

В связи с вышесказанным, важным представляется оптимизация следующих этапов получения и применения КТ: синтез ядер селенида кадмия заданной структуры, размера и цвета свечения люминесценции, покрытие их оболочками с целью достижения и сохранения максимальной интенсивности люминесценции, оптимизация состава полимера для покрытия КТ.

Реактивы для синтеза и модификации квантовых точек {оксид кадмия (CdO , 99,99%), селен (Se , 99,99%), сера (S , 99%), ацетат цинка ($\text{Zn}(\text{OAc})_2$, 99,99%), олеиновая кислота (ОК, $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$, 90%), триоктилфосфин (ТОФ, $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7]_3\text{P}$, 90%), олеиламин (ОЛА, 70%), октадециламин (ОДА, 97%), октадецен-1 (ОДЕ, $\text{C}_{18}\text{H}_{36}$, 90%), полималеиновый ангидрид – октадецен (ПМАО, $M \sim 30000 - 40000$ г/моль), кумарин-2, родамин 6G, этанол (безводный)} были заказаны из *Sigma-Aldrich*; толуол, бутанол, ацетон, хлороформ – марки чда; полиэфирамин Джеффамин M1000 (*Huntsman*).

Использовали трехгорлую колбу с магнитной мешалкой, помещенную в колбонагреватель (рис. 2). В одно из отверстий помещали термопару, соединенную с термоконтроллером и колбонагревателем. Другое отверстие закрывала резиновая мембрана, через которую происходило инъектирование растворов. В третье отверстие подавали аргон.

Спектры поглощения измеряли на спектрофотометре *SHIMADZU 1800* с шагом 1 нм в кювете $l = 1$ см. Спектры фотолюминесценции измеряли на спектрофлуориметре *Perkin Elmer LS55*. Изображения получали с помощью ТЭМ *FEI Morgagni 268(D)* (разрешение 0,45 нм).

1. Синтез ядер CdSe

Все процессы проводили при постоянном интенсивном перемешивании и в инертной атмосфере аргона.

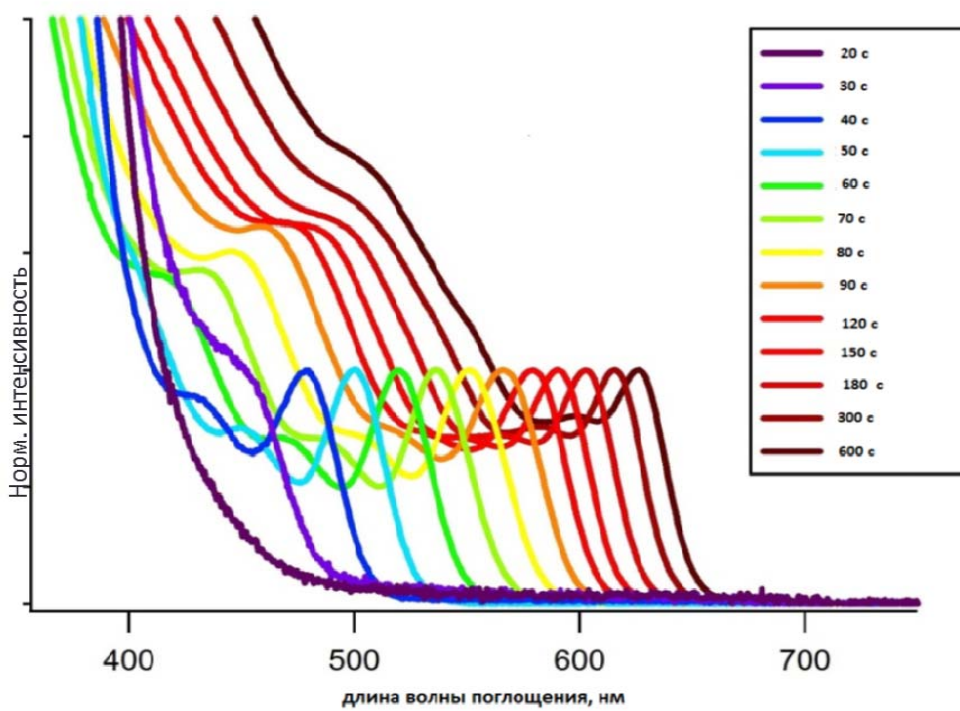


Рис. 3. Спектры поглощения серии аликвот наночастиц CdSe.

С целью определения момента остановки реакции производили градуировку прекурсоров. Для этого предварительно проводили синтез частиц по описанной выше методике. После инъекции прекурсора Se в реакционную среду, каждые 10 секунд отбирали миниаликвоты раствора и помещали их в толуол. Снимали спектры поглощения каждой аликвоты (рис. 3). Строили графики зависимости длины волны максимума поглощения (λ , соответственно, и размера частиц) от времени синтеза. Выбирали необходимый размер наночастиц и соответствующее ему время синтеза и останавливали реакцию в этот момент.

Далее производили очистку полученных ядер от избытка прекурсоров и растворителя. Для определения концентрации снимали спектр поглощения раствора.

По эмпирической формуле рассчитывали диаметр частиц [16]:

$$D = (1.6122 \times 10^{-9})\lambda^4 - (2.6575 \times 10^{-6})\lambda^3 + (1.6242 \times 10^{-3})\lambda^2 - (0.4277)\lambda + 41.57,$$

где λ – длина волны максимума поглощения.

Далее, учитывая рассчитанный диаметр и сферическую форму частицы, получали концентрацию раствора в молях. Таким образом, были получены ядра CdSe с размерами от 2 до 6 нм. Относительный КВ синтезированных КТ составлял не более 1.5 %. Для определения относительного КВ в качестве красителя с известным КВ брали кумарин 2 (раствор в безводном этаноле, КВ 94% при $\lambda_{\text{возбужд}}=365$ нм).

2. Синтез квантовых точек CdSe/ZnS типа ядро – оболочка с зеленым цветом свечения.

Синтез ядер CdSe, стабилизированных ОК, осуществляли по методике, описанной в [15]. Прекурсор Cd (0,1 М раствор олеата Cd в ОДЕ) нагревали

до $T=270$ °С и затем в

него максимально быстро впрыскивали приготовленный прекурсор Se (0,1М раствор Se в ОД), засекая время. Реакцию останавливали в нужный момент, помещая колбу в

холодную воду.

Отдельно готовили прекурсоры Zn и S. Раствор S в ОД (0,1M) получали растворением рассчитанной навески

порошка S в ОД при 80°C, а прекурсор

цинка – растворением ацетата цинка в

ОЛА и ОД ($V_{Zn}/V_{ОЛА} = 1:8$) при 120°C.

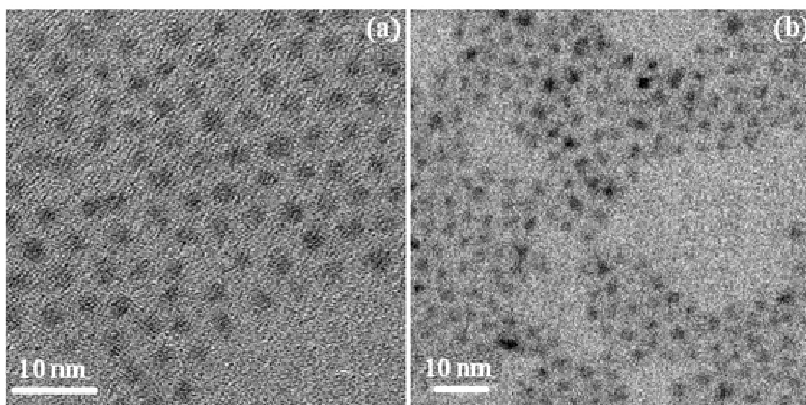


Рис. 4. Изображения, полученные ТЭМ: *a* – частицы CdSe, *b* – частицы CdSe/ZnS.

Для наращивания оболочек ZnS на ядра CdSe использовали следующую схему. В колбу помещали раствор ядер CdSe и рассчитанные количества прекурсоров Zn и S (расчет производили, учитывая параметры кристаллической решетки CdSe и ZnS и форму наночастиц). Начинали ступенчатый нагрев реакционной смеси. Далее её охлаждали и производили высаживание полученных частиц CdSe/ZnS. Выделенный осадок сушили в вакуумном эксикаторе и растворяли в толуоле.

Результат: получены КТ структуры CdSe/ZnS с высоким КВ (до 60 %) с положением пика эмиссии от 520 нм до 550 нм в зависимости от размера исходных ядер и количества оболочек ZnS. Охарактеризована морфология поверхности этих структур (рис. 4). Хорошо видно, что исходные КТ CdSe имеют сферическую форму и однородны по размеру. КТ структуры ядро – оболочка менее однородны, однако сферическая форма кристаллов сохраняется.

3. Синтез квантовых точек CdSe/CdS/ZnS типа ядро – оболочка с желтым, оранжевым, красным цветом свечения.

Ядра CdSe покрывали слоями CdS и ZnS по следующему методу. Сначала готовили необходимые растворы прекурсоров S, Cd, Zn по методикам, описанным выше. Далее 20 мл ОД смешивали с 4,5 г

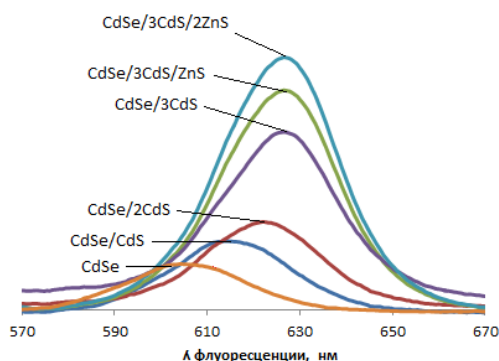


Рис. 5. Спектры флуоресценции КТ по мере наращивания слоев CdS и ZnS.

ОДА и нагревали до 100°C в течение часа до тех пор, пока ОДА полностью не растворится в ОД. В колбу добавляли рассчитанное количество ядер CdSe в толуоле.

Температуру повышали до 225°C. Проводили поочередное медленное впрыскивание

прекурсоров Cd и S для наращивания оболочки CdS, а затем прекурсоров Zn и S для наращивания оболочки ZnS. Между добавлением каждого раствора выдерживали время, необходимое для формирования оболочки – 10 минут. После проведения реакции колбу

охлаждали, добавляли небольшое количество хлороформа, чтобы раствор оставался жидким ($T_{пл} \text{ОДА} = 54^{\circ}\text{C}$). Производили высаживание частиц CdSe/CdS/ZnS. Полученный

осадок сушили в вакуумном эксикаторе и растворяли в толуоле.

Результат: наращивание оболочек приводит к значительному увеличению яркости флуоресценции КТ и сильному смещению положения максимума пика эмиссии в красную область спектра (рис. 5). Относительный КВ для КТ структуры CdSe/3CdS/2ZnS составлял 50% (по сравнению с красителем кумарин 2).

4. Гидрофилизация поверхности путём покрытия амфифильными полимерами. Приготовление полимера.

Для покрытия КТ за основу были взяты поли(малеиновый ангидрид – октадецен 1) с молекулярной массой 30000 – 50000 г/моль (ПМАО, Aldrich) и Джеффамин M1000 с молекулярной массой 1000 г/моль.

Известно, что для повышения стабильности водных растворов КТ и уменьшения неспецифического взаимодействия с биомолекулами, необходимо ввести в лигандный слой на поверхности КТ ПЭГ-фрагменты [28]. Для этой цели использовали Джеффамин M1000 (рис. 6.) – полиэфир, основу которого составляют пропиленовые и этиленовые звенья, связанные оксигруппой, с концевой аминогруппой [23, www.huntsman.com]. Соотношение этиленовых и пропиленовых групп определяет гидрофильность данного полимера. В Джеффамине M1000 преобладают этиленовые звенья, что приводит к хорошей растворимости в воде.

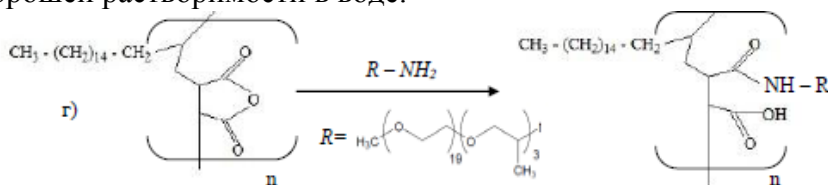


Рис. 6. Схема синтеза амфифильного полимера.

Для приготовления амфифильного полимера в колбу помещали порошок ПМАО, добавляли хлоро-форм до получения раствора с концентрацией 0.01 г/мл.

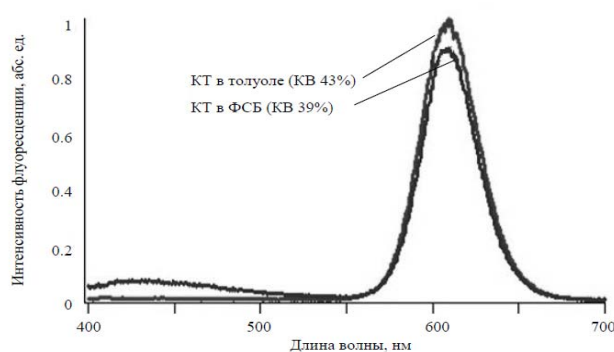


Рис. 7. Спектры флуоресценции КТ в толуоле и ФСБ.

Стоит заметить, что ПМАО в нашем случае не растворялся в хлороформе при комнатной температуре, ультразвуковая обработка также не приводила к его растворению. Для приготовления полимера раствор ПМАО смешивали с раствором Джеффамина M1000 в хлороформе, концентрация ПМАО в конечном растворе составляла 0.004 г/мл. Смесь оставляли на магнитной мешалке на ночь.

Гидрофилизация поверхности КТ.

КТ в хлороформе добавляли к раствору полимера ПМАО-Джеффамин M1000, смесь оставляли на магнитной мешалке на ночь. Затем к смеси добавляли водный раствор щелочи, и начинали медленно испарять хлороформ [39]. Воспроизводимо КТ переходили в воду при испарении хлороформа с использованием водоструйного насоса, который создаёт вакуум. При этом хлороформ удаляется медленно и равномерно.

Как видно из рис. 7, яркость при переводе в воду практически не падает. По-видимому ПЭГ-цепи создают дополнительный барьер между поверхностью КТ и окружающей средой. После перевода в воду смещения пика флуоресценции не происходит. Полученные КТ устойчивы в буферных растворах, кроме того, они устойчивы и в кислых средах за счет стерического отталкивания объёмных ПЭГ-фрагментов.

Таким образом, оптимизированы методики получения квантовых точек структуры ядро – оболочка CdSe/ZnS и CdSe/CdS/ZnS с длиной волны максимума флуоресценции в интервале 520 – 650 нм (рис. 8) и относительным квантовым выходом не менее 40%. Разработаны методики перевода КТ из органического растворителя в водные растворы. При этом КТ, покрытые полиэтиленгликольсодержащим полимером, сохраняют до 90% яркости флуоресценции. Растворы таких КТ стабильны в широком интервале рН (3.8÷13).



Рис. 8. Полученные КТ.

Перспективы использования полученных КТ.

КТ – достаточно новый тип меток, применяемых для визуальной и инструментальной детекции результатов **иммунохимического анализа**. Как было отмечено ранее, уникальные оптические свойства КТ позволяют использовать один источник возбуждения для получения эмиссии различных цветов от КТ разного размера. Это создаёт перспективы для применения КТ для одновременного определения нескольких аналитов.

КТ CdSe/ZnS ядро/оболочка были использованы как люминесцентные метки в твёрдофазном иммуноанализе (*fluorescence-linked immunosorbent assay FLISA*) для определения аналитов в различных объектах, в частности: сульфаметазина [28] и энрофлоксацина [29] в курином мясе, хлорпирифоса в питьевой воде [30], поверхностных белков *Listeria monocytogenes* [31], одновременного определения препаратов дексаметазона, гентамицина, клоназепама, ацетата медроксипрогестерона и цефтиофура [32]. Введение КТ в состав микросфер усиливает интенсивность их люминесценции и упрощает биокоњуирование [33].

Применение КТ в качестве меток в иммунохроматографическом анализе в научной литературе описано впервые в 2010 году для определения трихлоропиридинола [34], белковых маркеров церулоплазмина [35] и антигена сифилиса [36]. Сравнение чувствительности иммунохроматографических тестов при использовании одинаковых иммунореагентов показало, что визуально детектируемый предел обнаружения в случае КТ CdTe (при возбуждении УФ-лампой) был в 10 раз ниже, чем при использовании наночастиц золота [36, 37]. Аналогично, сравнение чувствительности определения бензо[а]пирена в питьевой воде колоночным иммунофильтрационным тест-методом продемонстрировало пределы обнаружения 5, 5 и 25 нг/л в случае применения в качестве меток КТ, пероксидазы хрена и наночастиц золота, соответственно. При этом использование наночастиц в качестве меток позволило проводить определение в 4 стадии, на одну стадию меньше, чем в случае фермента [38].

В связи со столь немногочисленными примерами, интересной перспективой применения гидрофильных КТ является их использования в качестве флуоресцентных меток в иммунохимических методах анализа таких аналитов, как *микотоксины* – вторичных метаболитов, продуцируемых плесневыми грибами [40]. Токсичность некоторых микотоксинов проявляется при крайне низких концентрациях, поэтому важно быстро и точно определять их наличие в самых разных видах питания и кормов, что

позволят сделать иммунохимические тест-методы анализа с визуальным детектированием с использованием КТ в качестве флуоресцентных биометок.

Работы выполнены при частичной поддержке РФФИ (проект 12-03-91167-ГФЕН_а).

ЛИТЕРАТУРА

1. <http://optics.org/news/3/6/9>
2. <http://www.techweekeurope.co.uk/news/quantum-dots-pave-way-for-flexible-displays-49352>
3. V.I. Klimov, A.A. Mikhailovsky, S. Xu, A. Malko, J.A. Hollingsworth, C.A. Leatherdale, H.-J. Eisler, M.G. Bawendi. // *Science*. 2000. V.290. P. 314 – 317.
4. C. Dang, J. Lee, C. Breen, J.S. Steckel, S. Coe-Sullivan, A. Nurmikko. // *Nature Nanotechnology*. 2012. V. 7. P. 335 – 339.
5. M. Zhang, A. Banerjee, C.-S. Lee, J.M. Hinckley, P. Bhattacharya. // *Appl. Phys. Lett.* 2011. V. 98. P. 221104-3.
6. *Quantum Dots: research, technology and applications*. Ed. by R.W. Knoss. Nova Science Publishers, Inc. New York. 2008.
7. N. Zhao, T. P. Osedach, L.-Y. Chang, S.M. Geyer, D. Wanger, M.T. Binda, A.C. Arango, M.G. Bawendi, V. Bulovic // *ACS Nano*. 2010. V. 4. P. 3743 – 3752.
8. J. Chen, J.L. Song, X.W. Sun, W.Q. Deng, C.Y. Jiang, W. Lei, J.H. Huang, R.S. Liu. // *Applied physics letters*. 2009. V. 94. P. 153115-3.
9. N. Tessler, V. Medvedev, M. Kazes, S. Kan, U. Banin. // *Science*. 2002. V. 295. P. 1506 – 1513.
10. G.T. Hermanson. *Bioconjugate techniques*, Second edition. Academic Press, Inc. 2008. P. 485 – 497.
11. В.А. Олейников, А.В. Суханова, И.Р. Набиев. // *Российские нанотехнологии*. 2007. Т.2. №1-2. С.160 – 173.
12. J. Drbohlavova, V. Adam, R. Kizek, J. Hubalek. // *Int. J. Mol. Sci.* 2009. V. 10. P. 656 – 673.
13. W.C.W. Chan, S.M. Nie. // *Science*. 1998. V. 281. P. 2016 – 2018.
14. W.W. Yu. // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2008. V. 8. P. 1571 – 1581.
15. R. Gill, M. Zayats, I. Willner // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008. V. 47. P. 7602 – 7625.
16. W.W. Yu, L. Qu, W. Guo, X. Peng. // *Chem. Mater.* 2003. V. 15. P. 2854 – 2860.
17. *Semiconductor nanocrystal quantum dots: synthesis, assembly, spectroscopy and applications*. Ed. by A.L. Rogach. Springer. New York. 2008. P. 311 – 347.
18. F. Zan, J. Ren. // *Luminescence*. 2010. V. 25. № 5. P. 378 – 383.
19. W.W. Yu, E. Chang, R. Drezek, V.L. Colvin // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2006. V. 348. P. 781 – 786.
20. C.B. Murray, D.J. Norris, M.G. Bawendi. // *J. Am. Chem. Soc.* 1993. V. 115. P. 8706 – 8715.
21. M.A. Hines, P. Guyot-Sionnest // *J. Phys. Chem.* 1996. V. 100. P. 468 – 471.
22. P. Reiss, M. Protière, L.Li. // *Small*. 2009. V. 5. P. 154 – 168.
23. E.E. Lees, T.-L. Nguyen, A.H.A. Clayton, P. Mulvaney // *ACS Nano*. 2009. V. 3. P. 1121 – 1128.
24. E. Petryayeva, W. Russ Algar, Igor L. Medintz. // *Applied Spectroscopy*. 2013. V. 67. P. 215 – 252.
25. D.M. Willard, L.L. Carillo, J. Jung, A.V. Orden. // *Nano Lett.* 2001. V. 1. P. 469 – 474.
26. M. Bruchez, M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A.P. Alivisatos. // *Science*. 1998. V. 281. P. 2013 – 2016.
27. S.G. Ding, J.X. Chen, H.Y. Jiang, J. He, W.M. Shi, W.S. Zhao, J.Z. Shen. // *J. Agric. Food Chem.* 2006. V. 54. P. 6139 – 6142.
28. C.J. Lin, R.A. Sperling, J.K. Li, T.-Y. Yang, P.-Y. Li, M. Zanella, W.H. Chang, W.J. Parak. // *Small*. 2008. V. 4. P. 334 – 341.

29. J.X. Chen, X. Fei, H.Y. Jiang, Y. Hou, Q.X. Rao, P.G. Guo, S.G. Ding. // *Food Chem.* 2009. V. 113. P. 1197 – 1201.
30. Y.P. Chen, B.A. Ning, N. Liu, Y. Feng, Z. Liu, X.Y. Liu, Z.X. // *J. Environ. Sci. Health. B.* 2010. V. 45. P. 508 – 515.
31. E. Tully, S. Hearty, P. Leonard, R. O’Kennedy. // *Int. J. of Biol. Macromolecules.* 2006. V. 39. P. 127 – 134.
32. C.F. Peng, Z.K. Li, Y.Y. Zhu, W. Chen, Y. Yuan, L.Q. Liu, Q.S. Li, D.G. Xu, R.R. Qiao, L. Wang, S.F. Zhu, Z.G. Jin, C.L. Xu. // *Biosens. Bioelectron.* 2009. V. 24. P. 3657 – 3662.
33. Q. Ma, C. Wang, X.G. Su. // *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2008. V. 8. P. 1138 – 1149.
34. Z. Zou, D. Du, J. Wang, J.N. Smith, C. Timchalk, Y. Li, Y. Lin. // *Anal. Chem.* 2010. V. 82. P. 5125 – 5133.
35. Z. Li, Y. Wang, J. Wang, Z. Tang, J.G. Pounds, Y. Lin. // *Anal. Chem.* 2010. V. 82. P. 7008 – 7014.
36. H. Yang, D. Li, R. He, Q. Guo, K. Wang, X. Zhang, P. Huang, D. Cui // *Nanoscale Res. Lett.* 2010. V. 5. P. 875 – 881.
37. Y. Bai, C. Tian, X. Wei, Y. Wang, D. Wang, X. Shi. // *RSC Advances.* 2012. V. 2. P. 1778 – 1781.
38. N.V. Beloglazova, I.Y. Goryacheva, R. Niessner, D. Knopp. // *Microchim Acta.* 2011. V. 175. P. 361 – 367.
39. W.W. Yu, E. Chang, J.C. Falkner, J.Y. Zhang, A.M. Al-Somali, C.M. Sayes, J. Johns, R. Drezek, V.L. Colvin // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 129. P. 2871 – 2879.
40. E.M. Bindera, L.M. Tanb, L.J. Chinb, J. Handla, J. Richard.// *Animal Feed Science and Technology.* 2007. V. 137. P. 265 – 282.