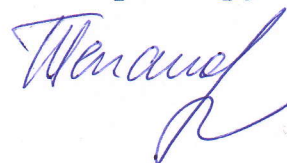


На правах рукописи



Тепанов Александр Александрович

**АДСОРБЦИОННАЯ ИММОБИЛИЗАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ
СЕРЕБРА: ЗАКОНОМЕРНОСТИ И ПРИМЕНЕНИЕ В
ХИМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ**

02.00.04 – физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва 2015

Работа выполнена в лаборатории химии поверхности кафедры химии нефти и органического катализа Химического факультета ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель:

Кудринский Алексей Александрович,
кандидат химических наук, научный сотрудник

Официальные оппоненты:

Сигейкин Геннадий Иванович,
доктор химических наук, старший научный сотрудник, научный советник ФГБУН Межведомственный центр аналитических исследований в области физики, химии и биологии при Президиуме Российской академии наук (МЦАИ РАН)

Паренаго Олег Павлович,

доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУН Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук (ИНХС РАН)

Ведущая организация:

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН)

Защита состоится 18 декабря 2015 года в 15 часов на заседании диссертационного совета Д 501.001.90 по химическим наукам при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Химический факультет МГУ, аудитория 446.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27.

Автореферат диссертации размещен на сайте Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова: <http://www.chem.msu.ru/>

Автореферат разослан октября 2015 года

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 501.001.90,
кандидат химических наук, доцент



Шилина М.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Наноструктурированные слои серебра, закрепленные на соответствующих подложках-носителях, находят применение в качестве катализаторов окисления, бактерицидных покрытий, а также в химическом анализе для создания высокоэффективных подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР-спектроскопии) и рецепторных элементов химических сенсоров. Для формирования таких слоев используют различные методы, в частности, напыление, электрохимическое осаждение, пропитку волокон и тканей и др. К числу наиболее универсальных методик создания двумерных серебряных слоев относится адсорбция наночастиц (НЧ) серебра из их коллоидного раствора на какой-либо подложке – адсорбционная иммобилизация. Использование этой методики, в принципе, позволяет управлять степенью заполнения поверхности частицами, равномерностью и однородностью их расположения, то есть теми характеристиками, которые существенно влияют на возможности практического применения таких наноструктурированных систем. При использовании различных исходных зольей можно варьировать размеры частиц, а также наносить одновременно с НЧ другие необходимые компоненты: бактерицидные вещества, аналитические реагенты, стабилизаторы, фотосенсибилизирующие вещества, что немаловажно для практики.

Тем не менее, к настоящему времени сравнительно хорошо изучены адсорбционные свойства только НЧ серебра, стабилизированных цитратом натрия. Это существенно ограничивает возможности целенаправленного использования адсорбционной иммобилизации для создания слоев НЧ, особенно, содержащих дополнительные компоненты, находящих применение в вышеуказанных областях. В связи с этим особую актуальность приобретает задача выявления закономерностей адсорбционной иммобилизации наночастиц серебра, стабилизированных различными типами соединений: анионными поверхностно-активными веществами (ПАВ), катионными ПАВ, неионогенными ПАВ и полимерами – на подложках различных типов: оксидных материалах, металлах, полимерных органических материалах.

Цель работы и постановка задач. Цель работы состояла в систематическом исследовании факторов, влияющих на формирование упорядоченных слоев наночастиц серебра при нанесении их методом адсорбционной иммобилизации из

золей на поверхностях различных подложек, и изучении возможности применения таких слоев в ряде методов химического анализа.

Для этого в работе решались следующие задачи:

- получение агрегативно устойчивых золей НЧ серебра, стабилизированных различными типами стабилизирующих соединений – анионными ПАВ, катионными ПАВ, неионогенными ПАВ и полимерами;
- исследование влияния свойств НЧ (заряд, агрегативная устойчивость) на процесс их адсорбции на поверхности подложек различной химической природы: кремниевых (с поверхностью, модифицированной 3-аминопропилтриэтоксисиланом и 3-меркаптопропилтриметоксисиланом) и серебряных;
- исследование изменения свойств поверхности подложек при адсорбции НЧ;
- установление зависимости между свойствами слоев НЧ, адсорбированных на кремниевых (с модифицированной поверхностью) и серебряных подложках (состав, степень заполнения поверхности наночастицами, число межчастичных контактов, число контактов частица-поверхность), и эффективностью таких слоев в увеличении эффективного сечения комбинационного рассеяния (КР) тиохолина;
- создание подложек для количественного определения тиохолина методом спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР);
- разработка объемного рецепторного слоя микромеханических сенсоров на основе адсорбированных наночастиц серебра.

Выбор объектов исследования. Закономерности адсорбции НЧ серебра были изучены, в основном, на кремниевых подложках, которые могут служить хорошей моделью оксидных носителей, поскольку на воздухе кремний покрыт слоем оксида. Оксидные подложки относятся к наиболее универсальным, поэтому закономерности адсорбции наночастиц серебра целесообразно изучать, в первую очередь, на таких материалах. Тем не менее, определенное внимание было уделено и металлическим носителям, на примере серебра, а также поверхностям аморфного углерода и оксида графена.

Возможности практического применения обнаруженных закономерностей формирования слоев НЧ были продемонстрированы на примере решения ряда насущных задач химического анализа, в частности, создания подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния и рецепторных слоев химических сенсоров. Для оценки чувствительности рецепторного слоя на основе

НЧ серебра в микромеханических сенсорах в качестве модельного определяемого соединения был выбран олигонуклеотид



с введенной в него концевой HS-группой на полиэтиленоксидной ножке. Этот олигонуклеотид можно использовать также и в качестве аналитического реагента, поскольку он способен селективно связывать один из ключевых белков системы свертывания крови – тромбин. Результаты изучения связывания 5'-HS-T...C-3' с рецепторным слоем на основе НЧ серебра могут быть в дальнейшем использованы для создания сенсора для определения тромбина в сыворотке крови.

Для оценки возможности применения подложек с иммобилизованными НЧ в ГКР-спектроскопии в качестве модельного анализируемого соединения в работе использовали тиохолин. Определение концентрации тиохолина, генерируемого при ферментативном гидролизе субстрата бутирилтиохолина человеческими ферментами холинэстеразами – широко распространенная методика оценки активности соответствующих ферментов.

Научная новизна. Впервые проведено систематическое исследование закономерностей адсорбционной иммобилизации НЧ серебра из зольей, стабилизированных различными типами соединений – анионными ПАВ, катионными ПАВ, неионогенными ПАВ и полимерами – на поверхностях кремниевых и серебряных носителей (подложек).

Получены ранее неизвестные данные, характеризующие адсорбционные свойства поверхностей кремния, модифицированных 3-аминопропилтриэтоксисиланом (3-АПТЭС) и 3-меркаптопропилтриметоксисиланом (3-МПТМС), поверхностей серебра и оксида графена по отношению к наночастицам серебра.

Впервые обнаружено, что основное влияние на степень заполнения поверхности подложек наночастицами оказывает заряд сорбируемых НЧ, характеризующийся абсолютным значением ξ -потенциала; при этом заряд поверхности подложки не оказывает существенного влияния.

Показано, что наибольшая степень заполнения поверхности подложек наночастицами достигается при снижении их ξ -потенциала, то есть при проведении сорбции в условиях нарушенной агрегативной устойчивости зольей. Установленные закономерности иммобилизации проявляются не только для поверхностей различной химической природы, но и в случае осаждения других

серебросодержащих частиц (в работе показано на примере композитных частиц Ag/AgCl).

Обнаружено, что адсорбция НЧ на поверхности кремния, модифицированной 3-МПТМС, сопровождается изменением поверхностного напряжения на 0,114 Н/м. Теоретические расчеты показали, что существенный вклад в изменение поверхностного напряжения вносит электростатическое взаимодействие наночастиц с заряженной поверхностью подложки, в то время как влияние межчастичных взаимодействий существенно меньше.

Проведено систематическое исследование влияния характеристик слоя сорбированных наночастиц на интенсивность проявления эффекта ГКР тиохолина. Проведена оценка вклада различных составляющих в усиление сигнала комбинационного рассеяния тиохолина. Получены ранее неизвестные данные о КР тиохолина в местах контакта серебряных наночастиц между собой и с поверхностью подложек, серебряных и кремниевых. Показано, что эффективное сечение КР тиохолина прямо пропорционально числу межчастичных контактов и не зависит от числа контактов частица-подложка.

Практическая значимость. Разработаны универсальные подходы к иммобилизации НЧ, позволяющие целенаправленно создавать на подложках различной химической природы слои НЧ с требуемой морфологией. Универсальность предложенного метода состоит в возможности создания адсорбционных слоев как серебряных, так и серебросодержащих наночастиц на подложках различной химической природы: кремнии, серебре, аморфном углероде, оксиде графена.

На основе исследованных закономерностей иммобилизации НЧ серебра разработан принципиально новый подход к созданию высокочувствительных объемных рецепторных слоев микромеханических сенсоров. Сорбция НЧ серебра на кремниевую поверхность рецепторного элемента – кантилевера - позволила значительно (на 3 порядка) увеличить чувствительность сенсора.

Предложенные подложки для ГКР-спектроскопии на основе иммобилизованных НЧ серебра, стабилизированных полимером полигексаметиленбигуанидом (PHMB), обладают высокой чувствительностью (предел обнаружения модельного определяемого соединения – тиохолина – составил 200 нМ) и воспроизводимостью усиления сигнала КР (отклонение в значении интенсивности для характеристических полос тиохолина

не более 10% для разных подложек, приготовленных одинаковым способом) и поэтому могут быть применены для анализа реальных биологических объектов, в частности, сыворотки крови.

Автор выносит на защиту:

- Закономерности адсорбции НЧ серебра из широкого набора золей, стабилизированных различными типами ПАВ и полимерами, на поверхностях кремниевых и серебряных носителей (подложек) в присутствии электролитов и изопропилового спирта при различной температуре и интенсивности ультразвукового воздействия;
- Результаты измерения поверхностного напряжения в процессе сорбции наночастиц серебра на поверхности кремния, модифицированной 3-МПТМС, и их интерпретацию;
- Данные о влиянии характеристик слоя сорбированных наночастиц на интенсивность проявления эффекта ГКР тиохолина, а также установленную зависимость КР тиохолина от числа межчастичных контактов на поверхности;
- Результаты определения тиохолина методом спектроскопии ГКР с помощью предложенных подложек на основе иммобилизованных наночастиц серебра.

Апробация работы и публикации. Опубликовано 6 печатных работ, в том числе 2 статьи и 4 тезиса докладов на российских и международных конференциях. Результаты работы были представлены на следующих конференциях: XI Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов» (Москва, 16-19 сентября 2014 г.); V Международная конференция «От наноструктур, наноматериалов и нанотехнологий к nanoиндустрии» (Ижевск, 2-3 апреля 2015 г.); XXII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов», секция «Химия» (Москва, 13-17 апреля 2015 г.), 16th European Conference on the Spectroscopy of biological molecules (Бохум, Германия, 6-10 сентября 2015 г.).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальных методик, результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы. Диссертация изложена на 141 странице, содержит 49 рисунков и 10 таблиц. Список цитируемой литературы состоит из 211 наименований.

Краткое содержание работы

Введение. Во введении обоснована актуальность работы, сформулированы цель и задачи исследования, показаны научная новизна и практическая значимость исследования.

Глава 1. Обзор литературы. Обзор литературных данных включает в себя 3 раздела. *В первом разделе* обсуждаются получение и свойства водных золей НЧ серебра и особенности адсорбции НЧ на поверхности различных подложек. Указывается, что закономерности адсорбции НЧ с различным типом стабилизации практически не изучены. Поскольку для закрепления НЧ на подложке требуется ее предварительное модифицирование HS- и NH₂-группами, *во втором разделе* рассматриваются способы модифицирования поверхности кремния и серебра – двух наиболее распространенных типов носителей. *В третьем разделе* рассмотрены примеры применения иммобилизованных НЧ для решения ряда задач химического анализа. Показано, что, несмотря на значительный прогресс в области создания микромеханических сенсоров, задача создания высокочувствительных рецепторных слоев для таких сенсоров не может считаться решенной. Также рассмотрены различные аспекты применения НЧ серебра для создания подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР). Отмечается особая актуальность задачи создания высокочувствительных подложек, эффективно и воспроизводимо усиливающих сигнал КР определяемого соединения. На основании описанных фактов формулируются цель и задачи исследования.

Глава 2. Экспериментальная часть. В этом разделе представлены сведения об использованных в работе реактивах, подложках и оборудовании, а также описаны экспериментальные методики и задействованные в ходе выполнения работы методы исследования.

НЧ серебра получали в водной среде восстановлением нитрата серебра боргидридом натрия при интенсивном перемешивании в присутствии веществ-стабилизаторов (таблица 1). Концентрации реагентов подбирались таким образом, чтобы получить агрегативно устойчивые золи НЧ с концентрацией по металлу ~ 50 мкг/мл. Характеристики полученных золей наночастиц серебра представлены в таблице 2.

Закономерности иммобилизации полученных НЧ изучались на поверхностях кремниевых и серебряных подложек. Поверхности кремниевых пластин

предварительно очищали, гидроксильировали и затем модифицировали с помощью 3-аминопропилтриэтоксисилана (3-АПТЭС) и 3-меркаптопропил-триметоксисилана (3-МПТМС), обеспечивающих создание на поверхности тонкого слоя NH₂- и HS-групп соответственно. Подложки выдерживали в золях НЧ, после чего промывали. Дополнительно для проверки универсальности разрабатываемых подходов к иммобилизации НЧ использовались такие подложки, как углерод и оксид графена. Поверхности углерода и оксида графена перед сорбцией НЧ выдерживали в концентрированной HCl.

Таблица 1. Стабилизаторы дисперсий наночастиц серебра

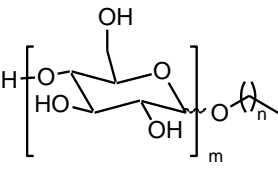
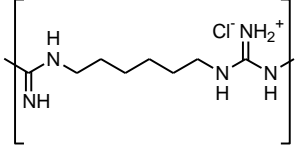
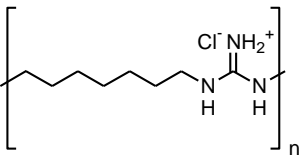
Тип стабилизатора	Название	Структурная формула
Анионные	Цитрат натрия	$\text{Na}^+ {}_3(\text{OOCCH}_2)_2\text{C}(\text{COO}^-)\text{OH}$
	α -олефинсульфонат натрия (AOS)	$\text{RCH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_n\text{SO}_3\text{Na}$, $n = 14-18$
	Додецилсульфат натрия (SDS)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4\text{Na}$
	Сульфэтоксилат додеканоат натрия (SLES)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SO}_4\text{Na}$
Катионное ПАВ	Дидецилдиметиламмоний хлорид (Arquad 2.10-80)	$\text{C}_{20}\text{H}_{42}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{Cl}^-$
Неионогенное ПАВ	Алкилполиглизозид (АПГ 0810)	 $m = 4-5, n = 7-10$
Полимеры	Полигексаметиленбигуанид (PHMB)	 $n = 8-20$
	Полигексаметиленгуанидин (PHMH)	 $n = 12-50$

Таблица 2. Характеристики полученных золь наночастиц серебра

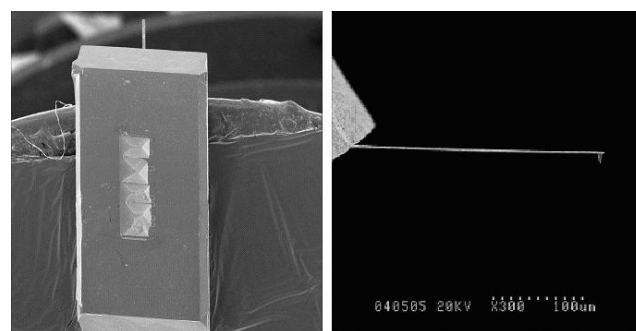
Стабилизатор	ξ -потенциал, мВ ($\pm 1,5$ мВ)	Средние диаметры НЧ, нм (данные ПЭМ и DLS)	Диапазон распределения, нм	$c_{\min}(\text{KCl})^*$, М
Цитрат натрия	-30	8	5-23	0,02
AOS	-48	8	6-20	0,07
SDS	-41	10	7-20	0,07
SLES	-46	8	4-17	0,11
АПГ 0810	-18	12	9-25	0,76
Arquad	+49	10	4-15	3
PHMB	+46	7	5-20	0,11
PHMH	+39	4	2-6	0,02

* $c_{\min}(\text{KCl})$ – минимальная концентрация хлорида калия, добавленного в золь, при которой частицы серебра коагулируют.

Разработанные в ходе выполнения работы подходы к иммобилизации НЧ серебра были применены для создания объемных рецепторных слоев микромеханических сенсоров. Для контроля процессов создания рецепторного слоя на основе НЧ серебра, а также для изучения работы микромеханического сенсора с таким чувствительным слоем использовали микромеханический детектор «Биоскан» (ООО «Академия биосенсоров», Россия).

В качестве чувствительного элемента в устройстве «Биоскан» были использованы кремниевые кантилеверы CSG01S производства НИИФП (Государственный Научно-исследовательский институт Физических проблем имени Ф.В. Лукина, Россия). Кантилеверы CSG01S представляют собой микроскопическую консоль, закрепленную одним концом на массивном основании (рисунок 1).

С одной стороны консоль покрыта тонким слоем золота.



А

Б

Рисунок 1. Типичный вид кантилевера: А) вид сверху; Б) вид сбоку.

Спектры поглощения золей НЧ Ag регистрировали с помощью двулучевого спектрофотометра Shimadzu UV-1800. Изучение распределения по размерам НЧ в золях и измерение их ξ -потенциалов осуществляли на анализаторе Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Англия). Микрофотографии НЧ получали на просвечивающем электронном микроскопе Leo 912 AB Omega (Leo Ltd., Германия) (к.ф.-м.н. С.С. Абрамчук). Распределение НЧ по размерам рассчитывали на основе полученных микрофотографий с помощью программы ImageJ 1.48v. Анализ поверхности образцов НЧ Ag проводили на рентгеновском фотоэлектронном спектрометре LAS – 3000 (Riber, Франция) с полусферическим анализатором ОРХ–150 во ФГУП ЦНИГРИ (к.х.н. Ю.В. Щегольков). Толщину слоя модификаторов на поверхности кремниевых пластин измеряли с помощью спектрального эллипсометра «Эльф» (ЗАО «Концерн «Наноиндустрия») в ОАО «Технопарк Слава» (к.ф.-м.н. И.А. Чмутин). Исследования профиля поверхности кремниевых пластин проводили на атомно-силовом микроскопе ФемтоСкан Онлайн (Центр Перспективных технологий, Россия). Микрофотографии образцов получали на сканирующем электронном микроскопе Carl Zeiss Supra 40 на Физическом факультете МГУ (студент 5 курса И.В. Божьев). Обработку микрофотографий СЭМ осуществляли с помощью программы ImageJ 1.48v. Статистически значимыми считались данные, полученные от более чем 2000 частиц. Рентгенофазовый анализ НЧ серебра проводили на рентгеновском дифрактометре Дрон-3 с CuK_α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) излучением анода на кафедре неорганической химии Химического факультета МГУ (к.х.н. Ф.М. Спиридонов). Спектры ГКР тиохолина регистрировали с помощью спектрометра InnoRam (BWTech) с лазером 785 нм на кафедре химической энзимологии (аспирант Н.Л. Нечаева).

Глава 3. Обсуждение результатов

Модифицирование поверхности кремниевых подложек

Для обеспечения возможности закрепления НЧ Ag поверхности кремниевых подложек модифицировали с помощью 3-АПТЭС и 3-МПТМС. По данным эллипсометрии, для поверхностей, модифицированных 3-АПТЭС, толщина слоя модификатора составила $0,75 \pm 0,15$ нм, по данным атомно-силовой микроскопии (АСМ) – $0,8 \pm 0,1$ нм, для поверхностей, модифицированных 3-МПТМС, толщина слоя составила, соответственно $0,9 \pm 0,1$ нм (эллипсометрия) и $0,8 \pm 0,1$ нм (АСМ), что соответствует длине одной молекулы модификатора (около 0,7 нм).

Поскольку 3-МПТМС обладает меньшей реакционной способностью по сравнению с 3-АПТЭС, взаимодействие меркаптосилана с гидроксильной поверхностью кремниевых пластин проводили при нагревании до 80-90°C.

Иммобилизация наночастиц серебра на поверхности кремниевых и серебряных подложек

При погружении кремниевых пластин с модифицированной поверхностью в золь металла происходит закрепление его частиц на поверхности. Полноту протекания процесса иммобилизации – степень заполнения поверхности – оценивали, рассчитывая, какую часть полной площади поверхности кремниевой пластины занимают металлические ядра НЧ.

НЧ, стабилизированные цитратом натрия, при адсорбции из золя на NH_2 -группах образуют однородное равномерное покрытие (рисунок 2), степень заполнения поверхности наночастицами составляет около 30%. При этом размеры частиц и их распределение при сорбции практически не отличаются от таковых в исходном золе.

Применение такой методики для иммобилизации НЧ, стабилизированных молекулами ПАВ и полимеров, в большинстве случаев не позволяет заполнить поверхность частицами более чем на 1%. По всей видимости, это связано с электростатическим отталкиванием диффузных слоев ионов, окружающих НЧ не только в растворе, но и в адсорбированном состоянии. Количественно это отталкивание характеризуется ξ -потенциалом (таблица 2). Для частиц, стабилизированных цитратом натрия, значение ξ -потенциала соответствует пороговому значению ± 30 мВ, при котором коллоидные системы начинают терять устойчивость к агрегации, поэтому отталкивание стабилизирующих слоев невелико. Как результат, такие НЧ образуют плотный слой при иммобилизации (рисунок 2А). Частицы, покрытые молекулами катионного ПАВ Arquad 2.10-80, отличаются большим абсолютным значением ξ -потенциала, и, электростатические силы отталкивания между частицами, по-видимому, практически не позволяют им закрепиться на поверхности.

Таким образом, для увеличения степени заполнения поверхности НЧ адсорбцию следует проводить в условиях нарушенной агрегативной устойчивости золь. Этого можно добиться введением коагулянтов, например, электролитов.

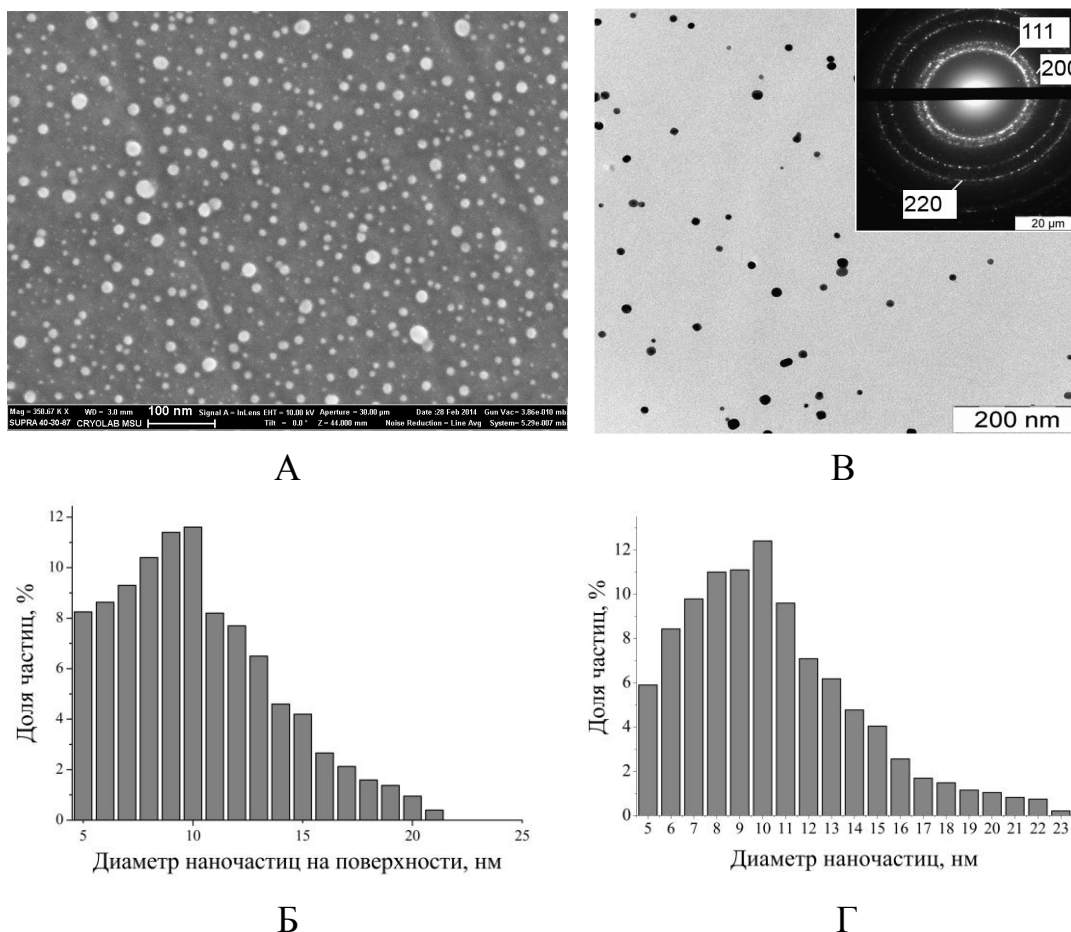


Рисунок 2. А) Микрофотография СЭМ НЧ Ag, стабилизированных цитратом натрия, иммобилизованных на NH_2 -модифицированной поверхности кремния; Б) гистограмма распределения иммобилизованных НЧ по размерам; В) микрофотография ПЭМ и электронная микродифрактограмма НЧ, стабилизированных цитратом натрия; Г) гистограмма распределения НЧ Ag по размерам в золе, стабилизированном цитратом натрия.

Добавление хлорида калия в золи серебра при адсорбции приводит к увеличению количества адсорбированных НЧ (рисунок 3). Это коррелирует с уменьшением ξ -потенциала: для наночастиц, стабилизированных РНМВ, его значение уменьшается от +46 мВ до +17 мВ при введении 0,08 М KCl.

Для предотвращения образования крупных агрегатов частиц сорбцию в присутствии хлорид-ионов целесообразно проводить при концентрациях KCl, несколько меньших порогового значения $c_{\min}(\text{KCl})$, соответствующего коагуляции частиц. Схожим влиянием на сорбционные свойства наночастиц в ряде случаев обладает также изопропиловый спирт, понижающий агрегативную устойчивость золя.

Адсорбция в присутствии хлорид-ионов приводит к закреплению на поверхности, помимо одиночных НЧ, агрегатов частиц с размерами около 90-100 нм с неравномерным распределением по поверхности. Для практического использования двумерных слоев наночастиц в ряде случаев необходима именно равномерность таких слоев, в частности, минимизация количества агрегатов. Дезагрегация агломератов частиц может быть достигнута с помощью ультразвуковой (УЗ) обработки. Стабилизированные анионными ПАВ SDS и SLES наночастицы оказываются нечувствительны к ультразвуковой обработке. В остальных случаях она, в сочетании с использованием хлорида калия, способствует формированию плотного и, одновременно, равномерного слоя НЧ на кремнии (рисунок 4).

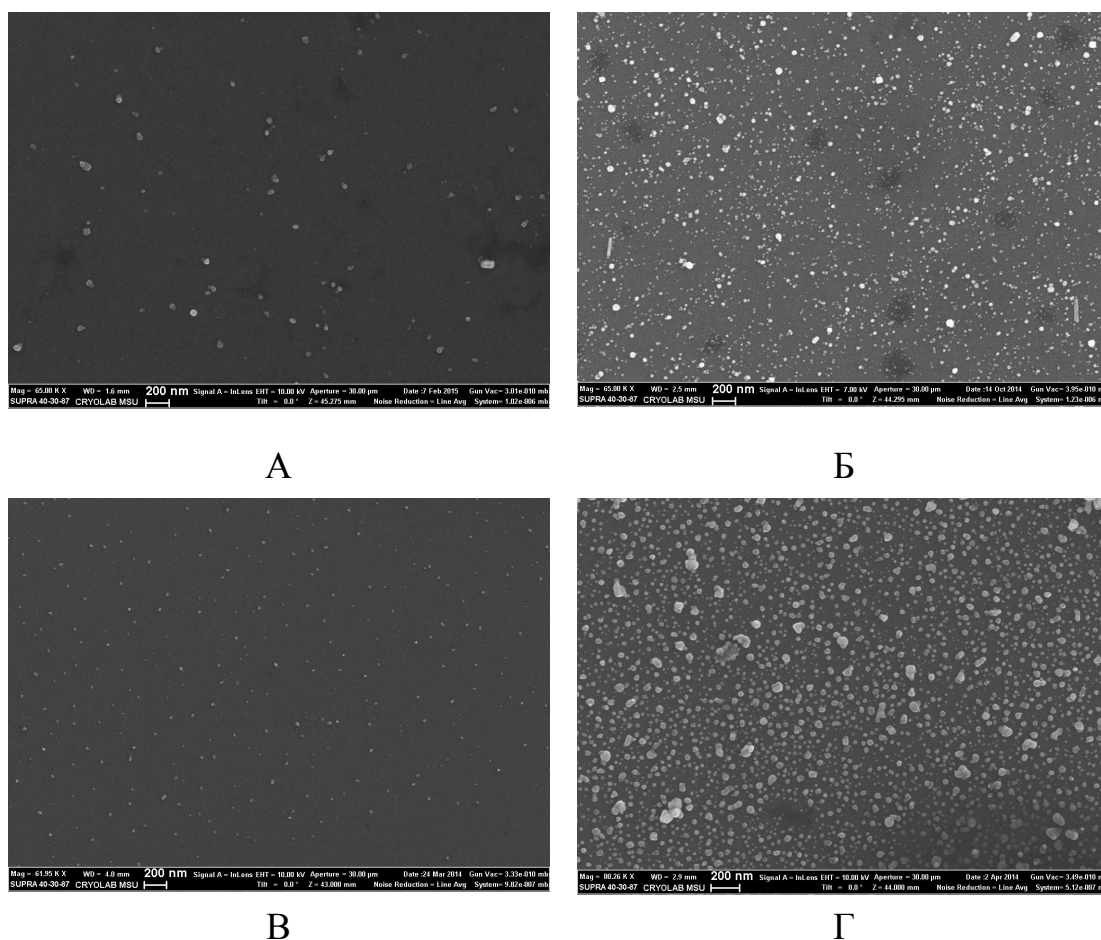


Рисунок 3. Микрофотографии СЭМ НЧ Ag, иммобилизованных на NH₂-модифицированной поверхности кремния: А) частиц, стабилизированных АПГ 0810; Б) частиц, стабилизированных АПГ 0810, иммобилизованных в присутствии 0,7 М KCl; В) частиц, стабилизированных РНМВ; Г) частиц, стабилизированных РНМВ, иммобилизованных в присутствии 0,08 М KCl.

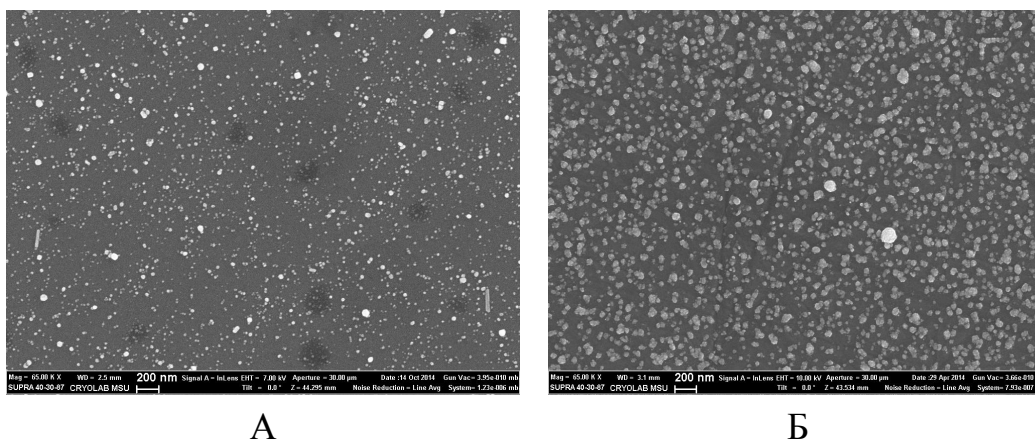


Рисунок 4. Микрофотографии СЭМ стабилизированных АПГ 0810 наночастиц серебра, иммобилизованных на NH₂-модифицированной поверхности Si: А) в присутствии 0,7 М KCl; Б) в присутствии 0,7 М KCl и при УЗ-обработке (120 Вт, 35 кГц, 1 час).

Другим фактором, напрямую влияющим на процесс адсорбции НЧ, является температура. При повышении температуры до 80-90°C наблюдается образование конгломератов НЧ на поверхности и увеличение степени заполнения. Нагревание уменьшает агрегативную устойчивость частиц золя вследствие диссоциации комплекса стабилизатора с серебром, что приводит к «отрыву» стабилизирующей оболочки от поверхности металла. Наиболее ярко это проявляется при нагревании золь, стабилизированных анионным ПАВ SLES и полимерами PHMB и PHMH.

Таким образом, дестабилизация золь является фактором, способствующим адсорбции НЧ Ag из золь на модифицированной поверхности кремния. В большинстве случаев сорбция НЧ в условиях нарушенной агрегативной устойчивости золь позволяет добиться формирования достаточно плотного – до степени заполнения 20% – слоя наночастиц, несущих на себе стабилизаторы разных типов (таблица 3). При замене NH₂-модифицированных поверхностей кремния на HS-модифицированные выявленные закономерности иммобилизации наночастиц серебра сохраняются (таблица 4).

В частности, наблюдается увеличение степени заполнения поверхности наночастицами при добавлении KCl в процессе адсорбции наночастиц. Таким образом, электростатическое отталкивание между частицами является важнейшим фактором, препятствующим адсорбции НЧ, в то время как электростатическое взаимодействие частиц с поверхностью подложки практически не влияет на степень заполнения поверхности наночастицами при адсорбции.

Таблица 3. Заполнение NH₂-модифицированной поверхности кремния Si <100> НЧ серебра при иммобилизации, данные СЭМ (в скобках приведена концентрация KCl, М)

Условия проведения иммобилизации	20°C	20°C, в присутствии KCl (с _{KCl})	80°C	20°C, в присутствии KCl, УЗ-обработка
Стабилизатор	Степень заполнения, %			
Цитрат Na	30	*	*	*
AOS	1	3 (0,07)	1	18 (0,07)
SDS	3	13 (0,07)	3	3 (0,07)
SLES	2	21 (0,1)	22	2 (0,1)
АПГ 0810	1	7 (0,7)	1	20 (0,7)
Arquad 2.10-80	1	4 (2,8)	1	4 (2,8)
PHMH	1	7 (0,02)	5	5 (0,02)
PHMB	1	17 (0,08)	23	15 (0,08)

* Не определялась.

Таблица 4. Заполнение HS-модифицированной поверхности кремния Si <100> НЧ серебра при иммобилизации, данные СЭМ (в скобках приведена концентрация KCl, М)

Условия проведения иммобилизации	20°C	20°C, в присутствии KCl	80°C	20°C, в присутствии KCl, УЗ-обработка
Стабилизатор	Степень заполнения, %			
Цитрат Na	30	*	*	*
AOS	3	13 (0,07)	2	17 (0,07)
SDS	1	8 (0,07)	5	3 (0,07)
SLES	1	23 (0,1)	19	11 (0,1)
АПГ 0810	3	12 (0,7)	6	26 (0,7)
Arquad 2.10-80	1	3 (2,8)	6	4 (2,8)
PHMH	1	8 (0,02)	6	5 (0,02)
PHMB	2	21 (0,08)	21	14 (0,08)

* Не определялась.

Использование металлических подложек, в отличие от кремниевых, не всегда требует предварительного модифицирования для последующей сорбции НЧ. Такой подход может быть реализован, например, при использовании в качестве стабилизаторов таких соединений, как полимеры РНМВ и РНМН. Молекулы этих соединений за счет имеющихся в их составе атомов азота иминных и аминогрупп выступают как связующие агенты между подложкой и частицами. Поверхность серебра заполняется НЧ, стабилизированными РНМВ, при их адсорбции в присутствии КСl в гораздо большей степени, нежели при иммобилизации в отсутствие хлорид-ионов. Типичные микрофотографии СЭМ серебряных подложек с иммобилизованными НЧ представлены на рисунке 5. На поверхности серебряной подложки после сорбции НЧ присутствуют как одиночные НЧ, так и конгломераты, состоящие из большого количества близко расположенных частиц.

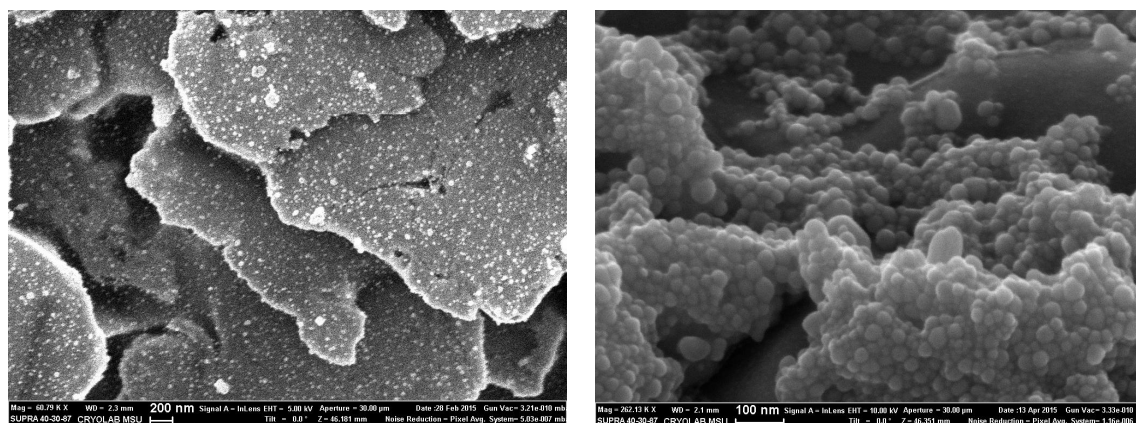


Рисунок 5. Микрофотографии СЭМ серебряной подложки с иммобилизованными в присутствии 0,08 М КСl наночастицами серебра, стабилизированными РНМВ.

Разработанная методика создания привитых слоев НЧ Ag является достаточно универсальной и может быть распространена не только на другие типы подложек (в частности, углерод и оксид графена), но и на другие типы НЧ, содержащих в своем составе серебро. Так, в работе дополнительно была исследована иммобилизация композитных частиц Ag/AgCl. Эти частицы представляют собой основу – хлорид серебра – в которую инкапсулированы частицы металла. Частицы Ag/AgCl при иммобилизации в присутствии хлорид-ионов и при ультразвуковой обработке образуют привитый слой со степенью заполнения, близкой к количественной (рисунок б). Разработанные подходы к адсорбции НЧ Ag с различным типом стабилизации могут быть реализованы при

создании систем, используемых в химическом анализе. В настоящей работе привитые слои НЧ, полученные методом адсорбции из золь, использовались для улучшения аналитических характеристик микромеханических сенсоров и в создании подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния.

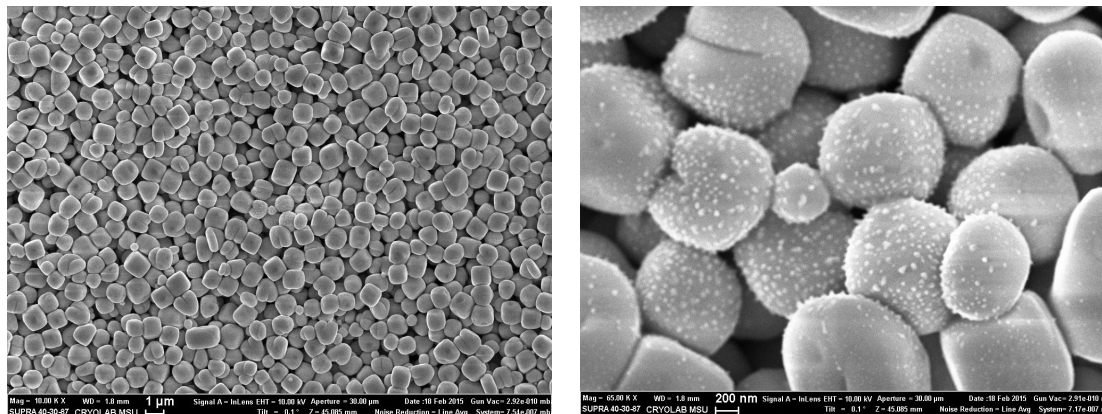


Рисунок 6. Картины СЭМ частиц композита Ag/AgCl, адсорбированного на NH₂-модифицированной поверхности Si в присутствии 2 М KCl при УЗ-обработке (120 Вт, 35 кГц, 1 час).

Объемный дизайн рецепторного слоя микромеханических сенсоров

Для создания объемного рецепторного слоя микромеханического сенсора на поверхность чувствительного элемента – кантилевера – по разработанной методике были иммобилизованы НЧ, стабилизированные цитратом натрия.

Измеряемый микромеханическим сенсором сигнал вызван разностью механических напряжений на противоположных сторонах чувствительного элемента, возникающей из-за различия в химической природе противоположных сторон кантилевера. Если же необходимо выделить вклад специфической химической реакции аналита с аналитическим реагентом, нанесенным на одну из сторон консоли, то обычно в измерительную ячейку помещают кантилевер сравнения, который готовят к проведению измерений так же, как и основной кантилевер, но реагент на поверхность консоли не наносят.

Закрепление НЧ (рисунок 7) осуществляли за счет прочного связывания с функциональной HS-группой 3-МПТМС, в свою очередь, ковалентно закрепленного на кремниевой поверхности кантилевера. Для хемосорбции наночастиц на поверхности консоли, покрытой HS-группами, после нанесения 3-МПТМС кантилевер выдерживали в золе НЧ, стабилизированном цитратом натрия, в течение 1 ч. Сорбция НЧ сопровождается значительным изменением

поверхностного напряжения, что может быть связано с электростатическим отталкиванием одноименно заряженных НЧ на поверхности.

Теоретические расчеты показали, что поверхностное напряжение σ , создаваемое на кремниевой поверхности кантилевера при электростатическом отталкивании адсорбированных НЧ, составляет $\sigma \approx 0,03$ Н/м. В то же время рассчитанная на основании экспериментально регистрируемого при адсорбции НЧ изгиба кантилевера величина поверхностного напряжения $\Delta\sigma$ равна $0,114 \pm 0,01$ Н/м в результате взаимодействия частиц между собой существенно меньше.

Таким образом, электростатические взаимодействия НЧ с поверхностью вносят достаточно существенный вклад в изгиб кантилевера в процессе адсорбции НЧ, в то время как изменение поверхностного напряжения в результате взаимодействия частиц между собой существенно меньше. Хемосорбцию модельного определяемого олигонуклеотида 5'-HS-T...C-3' изучали с использованием микромеханического детектора «Биоскан». В измерительную ячейку помещали основной кантилевер, обработанный последовательно 2-меркаптоэтанолом, 3-МПТМС и НЧ, и кантилевер сравнения, обработанный 2-меркаптоэтанолом и 3-МПТМС. Затем в ячейку вводили раствор 5'-HS-T...C-3' с концентрацией 1 мкМ в буферном растворе и в течение 2 ч регистрировали величину деформации каждого кантилевера.

Введение раствора 5'-HS-T...C-3' сопровождалось резкой деформацией консоли рабочего кантилевера (рисунок 8). За 60 минут аналитический сигнал достиг 1250 нм, что существенно превышает средний размах фоновых колебаний кантилевера в жидкости – 1 нм. Аналитический сигнал модельного микромеханического сенсора, в котором рецепторный слой рабочего кантилевера не содержал наночастицы серебра, в присутствии раствора 5'-HS-T...C-3' с концентрацией 1 мкМ не превышал 1 нм. Таким образом, разработанный сенсор с

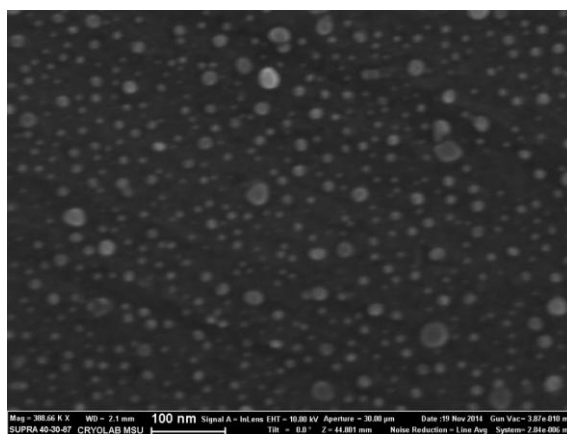


Рисунок 7. Микрофотография СЭМ кремниевой поверхности кантилевера, покрытой 3-МПТМС и НЧ серебра, стабилизированными цитратом натрия (время сорбции наночастиц – 60 мин).

объемным дизайном рецепторного слоя по чувствительности превосходит микромеханический сенсор традиционного типа более чем на три порядка.

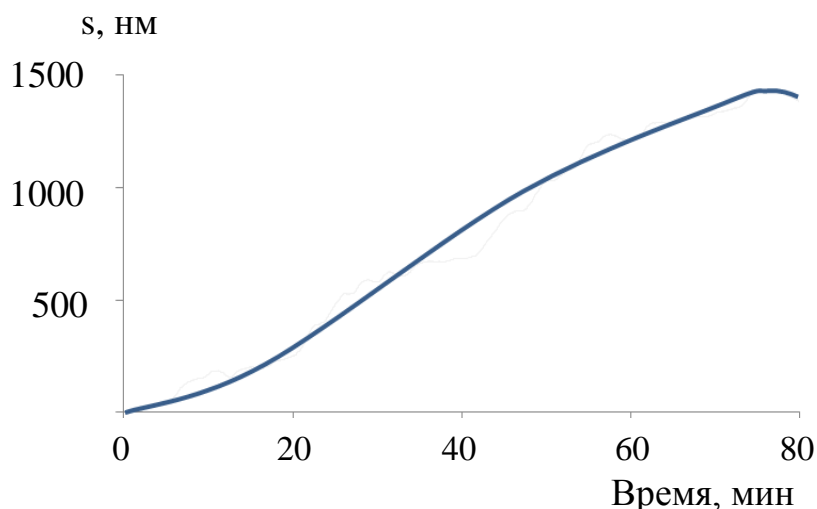


Рисунок 8. Изгибание консоли кантилевера, несущего наночастицы серебра, по отношению к изгибанию консоли кантилевера сравнения (s) при сорбции 5`-HS-T...C-3` из раствора с концентрацией 1 мкМ.

Наблюдаемый

огромный отклик сенсора с объемным рецепторным слоем на основе НЧ Ag вызван тем, что в процессе сорбции достаточно большие молекулы 5`-HS-T...C-3` встраиваются между близко расположенными наночастицами, что, в свою очередь, приводит к появлению значительных по величине механических напряжений, вызывающих изгиб консоли.

Применение наночастиц серебра, иммобилизованных на поверхности кремниевых и серебряных подложек, для определения тиохолина с помощью ГКР-спектроскопии

В качестве подложек для ГКР-обнаружения тиохолина использовали как кремниевые, так и серебряные подложки с адсорбированными на них НЧ Ag. Смесь продуктов ферментативного гидролиза бутирилтиохолина, содержащую тиохоллин и масляную кислоту, наносили на поверхности подложек, сушили при 60°C и затем регистрировали спектры КР с полученных образцов. Масляная кислота не мешала обнаружению тиохолина, так как полосы в ее спектре КР не перекрываются с полосами в спектре КР тиохолина.

Среди всех исследованных кремниевых подложек с иммобилизованными НЧ наиболее эффективно усиливают сигнал КР тиохолина подложки, на которых были сорбированы НЧ, стабилизированные РНМВ (рисунок 9), при этом эффект усиления не связан с влиянием HS-модифицированной подложки, а обусловлен исключительно влиянием сорбированных НЧ, поскольку не было обнаружено сигнала КР от тиохолина, нанесенного на аналогичную подложку без НЧ. Гораздо

более заметное увеличение интенсивности сигнала в спектре КР тиохолина наблюдается при использовании серебряных подложек. Было установлено, что интенсивность сигнала КР тиохолина, нанесенного на серебряные подложки с адсорбированными НЧ, стабилизированными полимером РНМВ, по крайней мере, в 10 раз выше по сравнению с интенсивностью сигнала КР тиохолина, нанесенного на необработанные подложки (рисунок 9), и в 10^3 раз больше интенсивности сигнала тиохолина от кремниевых подложек с адсорбированными наночастицами.

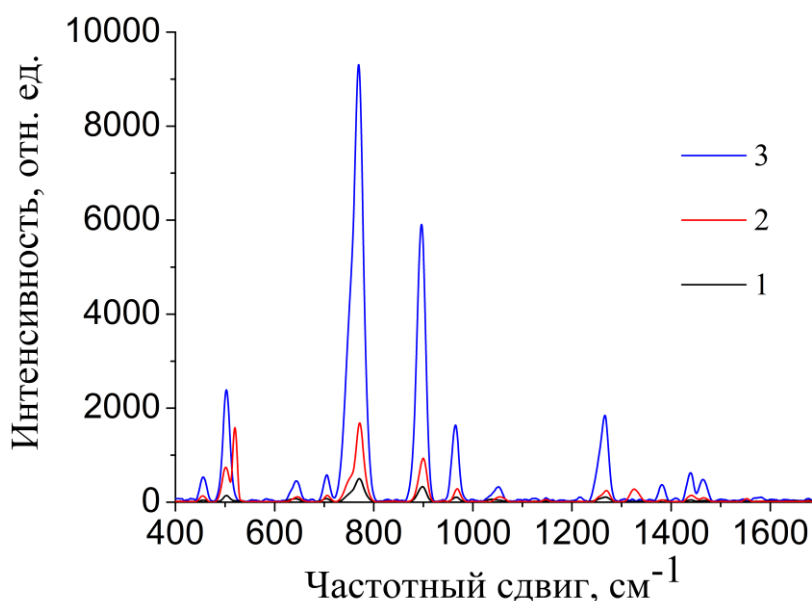


Рисунок 9. Спектры КР тиохолина, нанесенного: 1) на поверхности серебряных подложек; 2) на HS-модифицированные поверхности кремния с иммобилизованными НЧ, стабилизированными РНМВ; 3) на поверхности серебряных подложек с иммобилизованными НЧ, стабилизированными РНМВ (770 см^{-1} и 1267 см^{-1} – характеристические полосы тиохолина).

Обнаруженное различие в эффективности двух типов используемых подложек можно объяснить, приняв во внимание природу эффекта ГКР. При попадании молекул тиохолина в области контакта НЧ между собой и с поверхностью подложки напряженность электромагнитного поля превышает таковую для поля, создаваемого изолированной частицей, в результате чего интенсивность КР резко увеличивается. Для НЧ, закрепленных на кремниевой поверхности, число межчастичных контактов серебро-серебро гораздо меньше, нежели в случае использования серебряных подложек (таблица 5), поэтому наблюдаемое увеличение интенсивности сигнала тиохолина от серебряных

подложек с адсорбированными частицами гораздо выше. Интенсивность сигнала КР, таким образом, пропорциональна числу межчастичных контактов на поверхности, при этом взаимодействие частиц с подложкой практически не оказывает влияния на сигнал КР тиохолина.

Отличие в интенсивностях сигнала КР тиохолина, нанесенного на подложки из разных партий, не превышает 10%. Интенсивность полос при 770 см^{-1} и 1267 см^{-1} , соответствующих валентным колебаниям тиохолина, пропорциональна его концентрации в диапазоне $200\text{ нМ} - 40\text{ мМ}$. Использование серебряных подложек с иммобилизованными НЧ позволяет надежно определять тиохоллин в концентрациях вплоть до 200 нМ .

Таблица 5. Зависимость усиления сигнала КР тиохолина от числа контактов серебро-серебро на подложке

Число зон контакта Ag-Ag, шт./мкм ²	Si-подложка	Ag-подложка	Отношение Si/Ag
Частица-частица	90	580	0,16
Подложка-частица	0	640	0
Всего зон контакта	90	1220	0,07
Интенсивность КР, ед.	1300	9200	0,14

Выводы

1. Установлено, что при адсорбции наночастиц серебра, стабилизированных различными типами соединений – анионными поверхностно-активными веществами (ПАВ), катионными ПАВ, неионногенными ПАВ и полимерами полигексаметиленгуанидином и полигексаметиленбигуанидом – на поверхностях кремния, модифицированных 3-аминопропилтриэтоксисиланом и 3-меркаптопропилтриметоксисиланом, и серебра основное влияние на степень заполнения поверхности подложек наночастицами серебра оказывает заряд сорбируемых наночастиц, характеризующийся абсолютным значением ξ -потенциала; при этом заряд поверхности подложки не оказывает существенного влияния.
2. Установлено, что степень заполнения поверхности кремниевых и серебряных подложек наночастицами серебра и композитными частицами Ag/AgCl увеличивается при снижении их ξ -потенциала, то есть при проведении сорбции в условиях нарушенной агрегативной устойчивости зольей.
3. Обнаружено, что адсорбция наночастиц серебра на поверхности кремния, модифицированной 3-МПТМС, сопровождается изменением поверхностного напряжения на 0,114 Н/м. Показано, что существенный вклад в изменение поверхностного напряжения вносит электростатическое взаимодействие наночастиц с заряженной поверхностью подложки, в то время как влияние межчастичных взаимодействий существенно меньше.
4. При изучении спектров комбинационного рассеяния (КР) тиохолина на слоях наночастиц серебра, адсорбированных на серебряных подложках и модифицированных поверхностях кремния, было обнаружено, что интенсивность сигнала КР тиохолина, нанесенного на серебряные подложки с иммобилизованными наночастицами, стабилизированными полимером полигексаметиленбигуанидом, в 10 раз больше интенсивности сигнала КР тиохолина с серебряных подложек без наночастиц, и в 10^3 раз больше интенсивности сигнала КР тиохолина от кремниевых подложек с иммобилизованными наночастицами. Показано, что эффективное сечение комбинационного рассеяния тиохолина прямо пропорционально числу межчастичных контактов и не зависит от числа контактов частица-подложка.
5. Предложен принципиально новый способ увеличения чувствительности микромеханических сенсоров за счет введения наночастиц серебра в рецепторный

слой при иммобилизации. На примере обнаружения олигонуклеотида 5'-HS-T(CH₂CH₂O)₆GTGACGTAGGTTGGTGTGGTTGGGGCGTCAC-3' показано, что введение наночастиц серебра в рецепторный слой позволяет увеличить аналитический сигнал сенсора более чем в 1000 раз.

6. Предложен новый тип подложек для определения тиохолина с помощью спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) на основе серебряных подложек с иммобилизованными наночастицами серебра, стабилизированными полигексаметиленбигуанидом (PHMB). Предел обнаружения тиохолина с использованием предложенных подложек составляет 200 нМ.

Основные результаты диссертационной работы изложены в следующих статьях и тезисах докладов:

1. Тепанов А.А., Крутяков Ю.А., Лисичкин Г.В. Электрический разряд в жидкости как метод получения высокодисперсных материалов на основе металлов 1В группы. // Российский химический журнал - 2012. - Т. 56. - №. 5-6. - С. 18-29.

2. Макарик А.Ю., Тепанов А.А., Колесов Д.В., Кудринский А.А., Лисичкин Г.В. Объемный дизайн рецепторного слоя микромеханических сенсоров с использованием наночастиц серебра. // Российские нанотехнологии – 2015. – Т. 10. - № 7-8. – С. 35-42.

3. Тепанов А. А. Влияние ультразвуковой обработки на формирование адсорбционных слоев наночастиц серебра на поверхности кремния. // Материалы XI Российской ежегодной конференции молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов» (с международным участием) (Москва, 16-19 сентября 2014 г.). - С. 418-419.

4. Тепанов А.А., Кудринский А.А. Закономерности адсорбционной иммобилизации наночастиц серебра из водных дисперсий на модифицированную поверхность кремния. // Материалы V Международной конференции «От наноструктур, наноматериалов и нанотехнологий к nanoиндустрии» (Ижевск, 2-3 апреля 2015 г.). - С. 190.

5. Тепанов А.А., Жеребин П.М., Климов А.И. Сорбционная иммобилизация нанокompозита Ag/AgCl на кремниевых подложках. // Материалы XXII

Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов», секция «Химия» (Москва, 13-17 апреля 2015 г.).

6. Teranov A.A., Nechaeva N.L., Prokopkina T.A., Kudrinskiy A.A., Kurochkin I.N., Lisichkin G. V. SERS-detection of submicromolar concentrations of enzymatically generated thiocholine at immobilized Ag nanoparticles stabilized with polymeric guanidines. // 16th European Conference on the Spectroscopy of biological molecules (Бохум, Германия, 6-10 сентября 2015 г.). Abstract book. – P. 215-216.

Автор выражает искреннюю благодарность заведующему лабораторией химии поверхности Химического факультета МГУ д.х.н. Г.В. Лисичкину за всестороннюю помощь и поддержку; руководителю Технологического центра коллективного пользования ОАО «Технопарк Слава», канд. физ.-мат. наук И.А. Чмутину за помощь в проведении эллипсометрических измерений и интерпретации полученных результатов; канд. физ.-мат. наук С.С. Абрамчуку (Химический факультет МГУ) за исследование наночастиц серебра с помощью просвечивающей электронной микроскопии; канд. физ.-мат. наук Ю.В. Щеголькову (ЦНИГРИ) за проведение исследований наночастиц методом РФЭС и интерпретацию полученных результатов; студенту 5 курса Физического факультета МГУ И.В. Божьеву и канд. физ.-мат. наук, н.с. отдела микроэлектроники НИИЯФ имени Д.В. Скобельцына МГУ С.А. Евлашину за исследование образцов с помощью сканирующей электронной микроскопии; аспиранту кафедры наноматериалов Факультета наук о материалах МГУ А.В. Сидорову и аспирантке лаборатории постгеномной химии кафедры химической энзимологии Химического факультета МГУ Н.Л. Нечаевой за помощь в проведении и интерпретации результатов ГКР-исследований.