

Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова
Химический факультет
Кафедра химии нефти и органического катализа
Лаборатория химии поверхности

На правах рукописи

Тепанов Александр Александрович

Адсорбционная иммобилизация наночастиц серебра:
закономерности и применение в химическом анализе

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

02.00.04 – Физическая химия

Научный руководитель: к.х.н. А.А. Кудринский

Москва – 2015

Оглавление

Введение	5
1. Обзор литературы	12
1.1. Получение, свойства наночастиц серебра и особенности их иммобилизации на поверхностях различных носителей	13
1.2. Модифицирование поверхностей кремниевых и серебряных подложек	26
1.2.1. Подготовка поверхности кремния и оксида кремния к химическому модифицированию	26
1.2.2. Общие подходы к модифицированию поверхности оксида кремния	29
1.2.3. Модифицирование поверхности оксида кремния 3-аминопропилтриэтоксисиланом	32
1.2.4. Модифицирование поверхности оксида кремния 3-меркаптопропилтриметоксисиланом	37
1.2.5. Модифицирование поверхности серебряных подложек	39
1.3. Применение иммобилизованных наночастиц серебра в химическом анализе	41
1.3.1. Создание чувствительных элементов химических сенсоров	41
1.3.2. Создание подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР)	47
2. Экспериментальная часть	57
2.1. Реагенты и материалы	57
2.2. Экспериментальные методики	58
2.2.1. Получение агрегативно устойчивых золь наночастиц серебра	58
2.2.2. Подготовка и модифицирование поверхностей кремниевых подложек	60
2.2.3. Иммобилизация наночастиц серебра на поверхности кремниевых и металлических подложек	60

2.2.4. Проведение измерений с использованием микромеханического сенсора	61
2.2.5. Получение тиохолина	64
2.2.6. Подготовка образцов для ГКР-определения тиохолина	65
2.3. Методы исследования	65
2.3.1. Оптическая спектроскопия	65
2.3.2. Динамическое светорассеяние (DLS)	65
2.3.3. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ)	65
2.3.4. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (РФЭС)	66
2.3.5. Эллипсометрия	66
2.3.6. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)	67
2.3.7. Атомно-силовая микроскопия (АСМ)	68
2.3.8. Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия (EDX)	68
2.3.9. Рентгенофазовый анализ (РФА)	68
2.3.10. Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния (ГКР)	68
3. Обсуждение результатов	69
3.1. Получение агрегативно устойчивых золь наночастиц серебра	69
3.2. Модифицирование поверхности кремниевых подложек	75
3.3. Иммобилизация наночастиц серебра на поверхности кремниевых и серебряных подложек	80
3.4. Применение иммобилизованных слоев наночастиц серебра в химическом анализе	96
3.4.1. Объемный дизайн рецепторного слоя микромеханических сенсоров	97
3.4.2. Применение наночастиц серебра, иммобилизованных на поверхности кремниевых и серебряных подложек, для определения тиохолина с помощью ГКР-спектроскопии	108
3.4.2.1. Получение тиохолина	108
3.4.2.2. Проведение измерений	109
4. Основные выводы и результаты	117

Благодарности	119
5. Список литературы	120

Введение

Наноструктурированные слои серебра, закрепленные на соответствующих подложках-носителях, активно используются 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 могут использоваться различные методы: напыление, электрохимическое осаждение, пропитка волокон и тканей и др. Каждый из этих методов имеет свои ограничения, достоинства и недостатки.

К числу наиболее универсальных методик создания двумерных серебряных слоев, наряду с напылением, относится адсорбция наночастиц 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 частицами серебра другие необходимые компоненты, в частности, бактерицидные вещества, аналитические реагенты, стабилизаторы, фотосенсибилизирующие вещества, что немаловажно для практики.

Тем не менее, к настоящему времени сравнительно хорошо изучены адсорбционные свойства только наночастиц серебра, стабилизированных цитратом натрия. Это существенно ограничивает возможности целенаправленного использования адсорбционной иммобилизации для создания слоев наночастиц серебра, 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.

Наиболее часто среди неорганических носителей наночастиц серебра используют оксиды, в частности, оксид кремния. Меньшее распространение получили металлические подложки, в основном, золотые и серебряные. Следует отметить, что некоторые носители, например, кремний и многие металлы, чрезвычайно легко окисляются в присутствии кислорода, на воздухе они покрываются естественным слоем оксида. Как следствие, нанесение слоев серебра на такие подложки аналогично нанесению на оксидные материалы.

Таким образом, оксидные подложки относятся к наиболее универсальным. Как следствие, закономерности нанесения наночастиц серебра целесообразно изучать, в первую очередь, на таких материалах. Органические полимерные носители, в целом, менее термически стабильны и менее устойчивы к окислению, чем оксидные, что налагает существенные ограничения на применение органических подложек.

С другой стороны, золи наночастиц металлов в целом и серебра в частности – весьма обширный класс дисперсных систем. Поскольку такие коллоидные растворы термодинамически неустойчивы, получить золи наносеребра, обладающие достаточной устойчивостью к агрегации, можно, лишь вводя в систему стабилизатор, препятствующий протеканию коагуляции. Высокой эффективностью стабилизации золь серебра характеризуются поверхностно-активные вещества (ПАВ) и некоторые полимеры, не являющиеся ПАВ; именно золи серебра, стабилизированные ПАВ и такими полимерами, уже широко используются в медицине, промышленности, сельском хозяйстве.

В связи с этим, основной целью работы было систематическое исследование факторов, влияющих на формирование упорядоченных слоев наночастиц серебра

при нанесении их методом адсорбционной иммобилизации из золей с различным типом стабилизации на поверхности различных подложек.

Закономерности сорбции наночастиц серебра были изучены, в основном, на неорганических носителях – кремниевых подложках. Тем не менее, определенное внимание было уделено и металлическим носителям – на примере серебра. Закономерности сорбции наночастиц из золей на эти подложки были изучены на примере коллоидных растворов серебра, стабилизированных ПАВ наиболее распространенных классов – катионными, анионными и неионогенными ПАВ. Кроме того, использовали и золи, стабилизированные органическими полимерами – полигуанидинами.

Таким образом, при выполнении работы были охвачены наиболее распространенные и наиболее перспективные типы как подложек, так и золей серебра.

Возможности практического применения обнаруженных закономерностей ормирования слоев наночастиц серебра были продемонстрированы на примере решения ряда насущных задач химического анализа, а именно, создания подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) и рецепторных слоев химических сенсоров.

Научная новизна.

Впервые проведено систематическое исследование закономерностей адсорбционной иммобилизации наночастиц серебра из золей, 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 (НЧ) серебра. Впервые обнаружено, что основное влияние на степень заполнения поверхности подложек

наночастицами оказывает заряд сорбируемых наночастиц, 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 наночастиц серебра 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 (КР) 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 наночастиц серебра, позволяющие целенаправленно создавать на подложках различной химической природы слои наночастиц 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 наночастиц серебра разработан принципиально новый подход к созданию высокочувствительных объемных рецепторных слоев микромеханических сенсоров. Сорбция наночастиц серебра на кремниевую поверхность рецепторного элемента – кантилевера - позволила значительно (на 3 порядка) увеличить чувствительность сенсора.

Предложенные подложки для ГКР-спектроскопии на основе иммобилизованных наночастиц 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.

Методология и методы диссертационного исследования.

Наночастицы серебра и поверхности на их основе были исследованы и охарактеризованы совокупностью физических и физико-химических методов (оптическая спектроскопия, рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, просвечивающая и сканирующая электронные микроскопии, рентгеновская дифракция, эллипсометрия, атомно-силовая микроскопия, спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния).

Закономерности иммобилизации полученных наночастиц серебра изучались на поверхностях кремниевых и серебряных подложек, наиболее часто применяющихся в химическом анализе. Полноту протекания процессов иммобилизации в различных условиях оценивали, рассчитывая, какую часть полной поверхности подложек занимают металлические ядра наночастиц. Расчет проводили на основании данных сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

Обработку микрофотографий СЭМ осуществляли с помощью программы ImageJ 1.48v. Статистически значимыми считались данные, полученные от более чем 2000 частиц.

Разработанные в ходе выполнения работы подходы к иммобилизации наночастиц серебра были применены для создания объемных рецепторных слоев микромеханических сенсоров. Для контроля процессов создания рецепторного слоя на основе наночастиц 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» можно использовать коммерчески доступные кантилеверы для атомно-силовой микроскопии.

Для оценки возможности применения подложек с иммобилизованными наночастицами в ГКР-спектроскопии в качестве модельного анализируемого соединения в работе использовали тиохолин.

Автор выносит на защиту:

- Закономерности адсорбции наночастиц 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.

Достоверность полученных результатов обеспечивается применением современных релевантных экспериментальных методов, соответствующих поставленным задачам диссертационного исследования, а также отсутствием противоречий между полученными результатами и положениями физической и коллоидной химии, нашедшими применение в работе.

Личный вклад автора.

Лично автором были выполнены анализ и обобщение имеющихся в литературе данных по теме диссертационного исследования, постановка цели и задач работы; получение, исследование коллоидно-химических свойств и характеристика наночастиц серебра; исследование условий иммобилизации полученных наночастиц на подложках различных типов; проведение измерений с помощью разработанного микромеханического сенсора; подготовка подложек для определения тиохолина методом спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) и проведение измерений; обработка, интерпретация и анализ экспериментальных данных, полученных с привлечением вышеупомянутых методов исследования; сформулированы общие положения, выносимые на защиту, выводы.

Апробация работы.

Основные результаты диссертационного исследования 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.).

1. Обзор литературы

Основной целью настоящей работы является систематическое исследование факторов, влияющих на формирование двумерных упорядоченных слоев наночастиц серебра при нанесении их методом адсорбционной иммобилизации из зольей на поверхности двух наиболее распространенных классов подложек, применяющихся в химическом анализе – кремниевых и металлических. Такие слои могут быть использованы для создания подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР), а также, в перспективе, для направленного дизайна поверхности и аналитических характеристик химических сенсоров, в частности микромеханических. Надежное закрепление наночастиц серебра на поверхности возможно при создании системы прочных ковалентных, например Ag-S- , или координационных, например $\text{Ag}\cdots\text{NH}_2-$, связей, что, в свою очередь, требует предварительного создания на поверхности носителя слоя соответствующих функциональных групп.

Из этого следует, что, по-видимому, методы создания слоев наночастиц серебра на поверхности различных минеральных носителей могут быть в значительной степени унифицированы при условии использования в качестве подложек для нанесения наносеребра носителей, предварительно модифицированных молекулами, несущими функциональные NH_2- и SH- группы. Методы создания таких подложек целесообразно рассмотреть на примере минерального носителя с наиболее развитой на текущий момент химией поверхности – оксида кремния.

Из кремния изготавливают рецепторные элементы ряда сенсоров. Также этот материал, наряду с серебром и золотом, широко используется в качестве материала подложек при изучении и практическом использовании эффекта ГКР. Поэтому представляется необходимым также рассмотреть методы подготовки поверхности кремния к созданию слоя функциональных групп.

В связи с вышеизложенными фактами, в обзоре литературы основное

внимание уделено:

- получению, стабилизации и свойствам наночастиц серебра и особенностям их иммобилизации на поверхностях различных носителей;
- методам подготовки и модифицирования поверхностей кремниевых и серебряных подложек;
- достижениям и перспективам в области использования слоев иммобилизованных наночастиц серебра для улучшения аналитических характеристик микромеханических сенсоров и создания подложек для ГКР-спектроскопии.

1.1. Получение, свойства наночастиц серебра и особенности их иммобилизации на поверхностях различных носителей

Наиболее широко используемый в настоящее время метод получения наночастиц серебра заключается в восстановлении солей серебра – нитрата [1], перхлората [2, 3] или ацетата [4] – в водной [5-7] или водно-органической фазе [8, 9] различными соединениями: боргидридом натрия [7, 10], спиртами [5, 11], гидроксиламином [6, 12], углеводами [13], кверцетином [14], альдегидами [15, 16], гидразином [17], N,N-диметилформамидом [18, 19], аскорбиновой кислотой [20] – в присутствии веществ-стабилизаторов. Роль последних состоит в обеспечении агрегативной устойчивости частиц серебра в растворе за счет стерических (полимеры, неионогенные поверхностно-активные вещества (ПАВ); рисунок 1А) либо электростатических взаимодействий (заряженные ПАВ, рисунок 1Б). В ряде случаев упомянутые два фактора могут действовать совместно, как, например, в случае стабилизации наноструктур серебра заряженными полимерами (в частности, пептидами и тиополиэтиленгликолем [21], полигексаметиленбигуанидом [7]). Иногда стабилизирующее соединение может участвовать также в процессе восстановления ионов Ag^+ (такой эффект был изучен, в частности, для цитрата натрия в работе [22]).

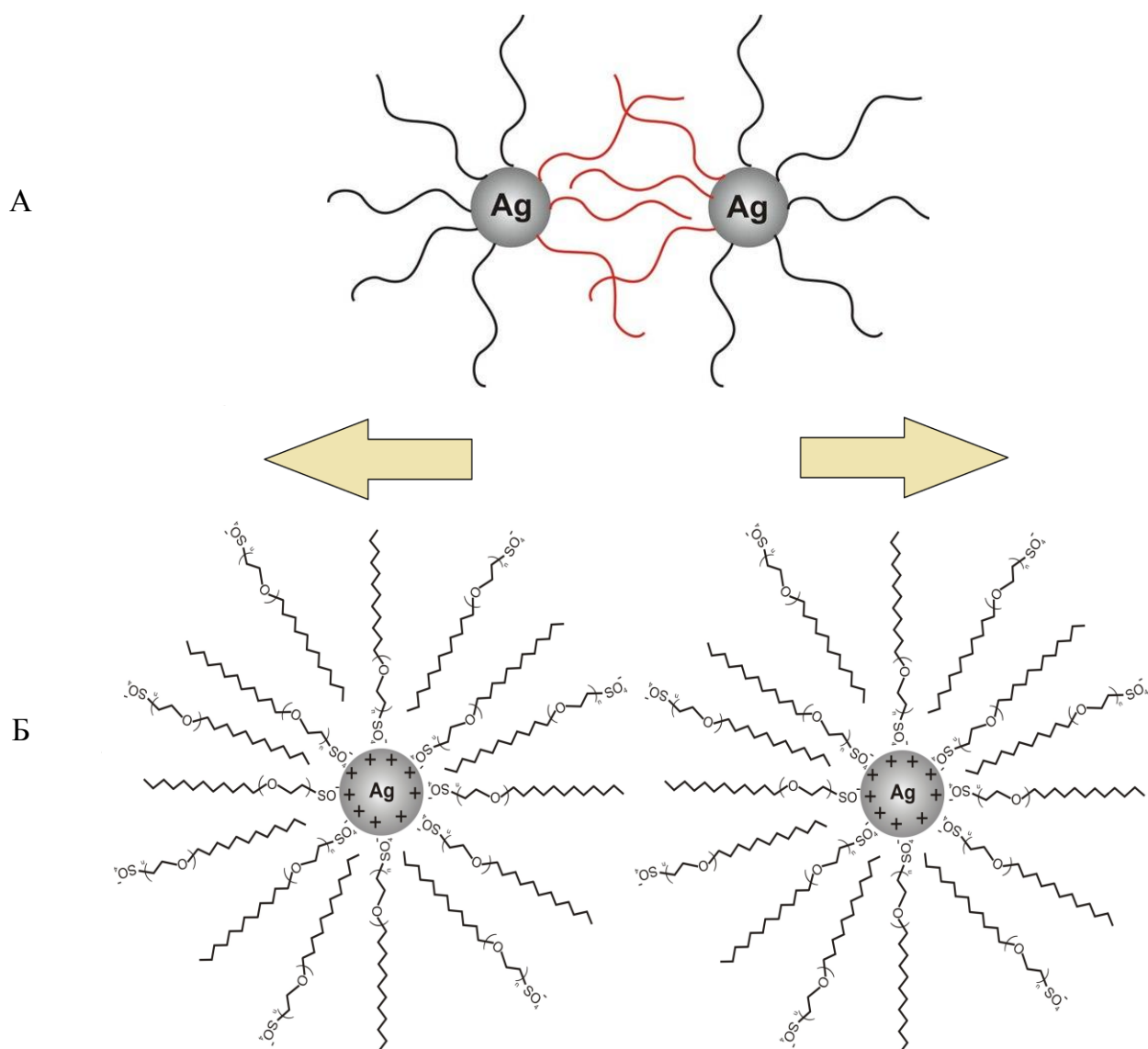


Рисунок 1. Механизмы стабилизации наночастиц серебра в растворе: А) – стерические взаимодействия; Б) – электростатическое отталкивание.

Процесс образования наночастиц серебра в растворе описывается в литературе двумя основными моделями. Согласно одной из них [23], в начальный момент времени одновременно образуется большое количество частиц, которые затем растут за счет восстановления ионов Ag^+ на их поверхности; при этом их число не меняется и агрегации уже образовавшихся частиц также не происходит ввиду наличия в системе стабилизатора. Эта модель гетерогенного зародышеобразования является весьма упрощенной и не объясняет ряд экспериментальных фактов, в частности, потерю агрегативной устойчивости полученными золями наночастиц серебра со временем. Она удовлетворительно

описывает лишь начальную короткую стадию процесса, следующую за добавлением восстановителя в раствор. Так, образование большого количества кластеров атомов серебра доказано при изучении восстановления перхлората серебра боргидридом натрия [24]. Не учитывает эта модель также и кинетические особенности процесса: молекулы стабилизатора способны взаимодействовать с частицами серебра в течение определенного промежутка времени, который имеет большую продолжительность, нежели момент превращения ионов серебра в атомы, поэтому агрегация кластеров за это время ничем не ограничивается. Описанная теория, таким образом, представляется неполной и должна рассматривать не только «восстановительный» механизм укрупнения частиц, но и «агрегационный».

Более детальный механизм образования наночастиц серебра предложен авторами [2, 3]. Согласно этому механизму, в начальный момент времени после добавления восстановителя в систему, содержащую ионы Ag^+ , образуются агрегаты, состоящие из нескольких атомов и ионов серебра [25]. Затем эти кластеры укрупняются до частиц, содержащих около 100-200 атомов Ag, после чего их рост происходит уже за счет преимущественно восстановления ионов серебра [26] на поверхности кластеров. В зависимости от содержания стабилизатора в системе также в той или иной степени протекает и агрегация кластеров в более крупные частицы. Избыток стабилизирующего соединения может приводить к потере наночастицами агрегативной устойчивости – такой эффект, в частности, выявлен для цитрата натрия [2]. Таким образом, на основе второй из описанных моделей могут быть наиболее полно рассмотрены факторы, действительно влияющие на характеристики образующихся наночастиц серебра.

Механизмы роста металлических наночастиц при их образовании в двухфазных водно-органических системах достоверно не установлены и обсуждаются лишь в редких работах [27]. Это связано с участием в процессе восстановления ионов Ag^+ , помимо восстановителя и стабилизатора, дополнительного компонента, а именно межфазного переносчика (чаще всего –

четвертичной алкиламмонийной соли, содержащей длинный (C_8 и далее) углеводородный радикал) [9]. Поэтому при кинетическом описании процесса необходимо учитывать взаимодействие частиц серебра с межфазным переносчиком и характерные особенности распределения образующихся наночастиц между фазами, что значительно усложняет задачу. Авторы [28] предположили, что на первой стадии в органической фазе образуются крупные кластеры, которые далее претерпевают распад до более мелких частиц.

Описанные выше исследования механизмов образования и роста наночастиц серебра в растворах стали возможны во многом благодаря особым оптическим свойствам этих частиц. Наночастицы серебра в растворе обладают интенсивной характеристической полосой поглощения в видимом или прилегающем к нему УФ-диапазоне ($\lambda \approx 400$ нм, [29], рисунок 2).

Причиной появления этой полосы – полосы так называемого поверхностного плазмонного резонанса – является взаимодействие электромагнитного поля падающего светового луча с электронами проводимости серебряных частиц [30]. При совпадении частоты колебаний световой волны с собственной частотой колебаний электронов, локализованных вблизи поверхности наночастиц, наблюдается резонансное увеличение поглощения и рассеяния света.

Положение, интенсивность и форма характеристической полосы поглощения частиц серебра зависят от их размеров и формы, типа стабилизации и свойств окружающей жидкой среды [31]. С увеличением диаметра частиц возрастает интенсивность поглощения; наблюдается также уширение пика и его сдвиг в длинноволновую область [30, 32]. В ряде случаев, однако, отмечен и противоположный эффект, в частности, при хемосорбции на поверхности частицы [33]. Увеличение ширины полосы поглощения наночастиц и ее сдвиг в красную область спектра свидетельствуют также и о наличии на поверхности наночастиц окисленного слоя оксида серебра [15, 34].

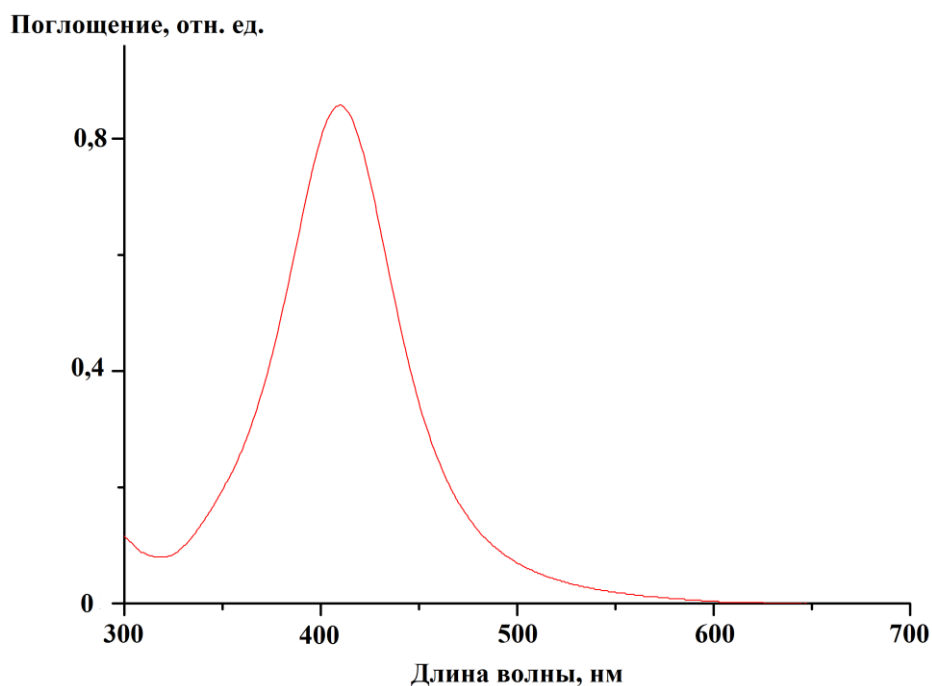


Рисунок 2. Спектр поглощения золей наночастиц серебра (концентрация по металлу ≈ 50 мкг/мл), полученных при восстановлении нитрата серебра боргидридом натрия в присутствии цитрата натрия как стабилизатора.

В длинноволновой области также проявляется и поглощение асферических частиц [35]. Вследствие различия собственных частот колебаний электронов вдоль осей симметрии таких частиц в спектрах поглощения проявляются несколько полос поверхностного плазмонного резонанса. Так, для частиц цилиндрической формы при взаимодействии их с электромагнитной волной резонансные колебания электронов проводимости вдоль оси цилиндра проявляются в виде полосы поглощения в длинноволновой области; поперечные колебания проявляются в коротковолновом диапазоне. Форма полосы при этом отличается несимметричностью в противоположность таковой для сферических наночастиц.

Вероятность образования частиц анизотропной формы при восстановлении ионов Ag^+ невелика ввиду их термодинамической неустойчивости. Рост таких структур может быть реализован в устойчивых мицеллярных средах различной геометрии: сферических, цилиндрических, ламеллярных, кубических и т.п. [36, 37]. Так, авторы [37] восстанавливали соединения серебра гидразином в водной

среде, содержащей октиламин и амиламин. В силу пространственных ограничений, связанных со строением мицеллярной водно-органической среды, процесс роста наночастиц пространственно ограничен. В результате получают анизотропные плоские наночастицы серебра толщиной 10-80 нм. Аналогичный подход реализован также в работе [38].

Таким образом, на основании описанных исследований можно заключить, что среда, в которой проводится получение наночастиц серебра, оказывает значительное влияние на их оптические свойства. Стоит отметить, что дополнительные полосы в спектрах поглощения характерны не только для анизотропных частиц серебра, но также и для сферических наночастиц диаметром более 50 нм. Наночастицы серебра проявляют также и нелинейно-оптические свойства [39, 40].

Спектроскопия поглощения представляет собой удобный инструмент для исследования изменения размерных характеристик наночастиц серебра со временем. Так, протекающие в растворе процессы укрупнения металлических частиц отражаются в уширении пика плазмонного поглощения, уменьшении его интенсивности и сдвиге в длинноволновую область. Дальнейшее увеличение размеров наночастиц приводит к появлению дополнительных полос поглощения.

Рассмотрим основные факторы, влияющие на агрегативную устойчивость наночастиц в водном растворе. Как уже обсуждалось выше, получение частиц серебра проводят в присутствии стабилизирующих соединений – полимеров и ПАВ. Их функция сводится к снижению избытка энергии на границе раздела наночастица/водная среда, что в конечном итоге препятствует укрупнению частиц; соответственно, сохраняются их размер и оптические свойства в течение длительного времени. Эффективность стабилизирующего действия зависит как от концентрации стабилизатора в растворе, так и от его природы.

Механизм взаимодействия молекул широко используемых в настоящее время заряженных ПАВ – катионных и анионных – с поверхностью серебряных наночастиц достоверно не установлен. Авторы [41, 42] предположили, что он

состоит в образовании двойного слоя из молекул (рисунок 3). Молекулы первого (внутреннего) слоя непосредственно связаны с поверхностью наночастицы и ориентированы полярными группами к ее поверхности. Молекулы внешнего слоя связаны с гидрофобными фрагментами внутреннего слоя за счет дисперсионных взаимодействий; при этом в водную фазу ориентированы гидрофильные группы молекул ПАВ. За счет диссоциации молекул заряженных ПАВ вокруг описанной бислоевой структуры образуются диффузные слои ионов, электростатическое отталкивание которых вносит определяющий вклад в обеспечение агрегативной устойчивости наночастиц (рисунок 1Б, [24]).

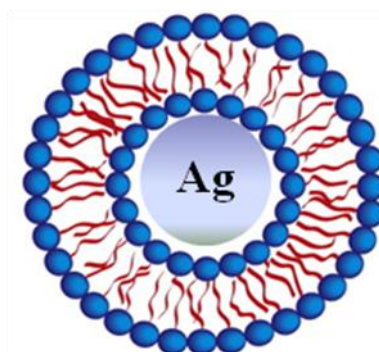


Рисунок 3. Схематическое изображение структуры стабилизирующего слоя ПАВ на поверхности наночастиц серебра.

Количественным параметром, характеризующим стабильность частиц в растворе, может служить величина ξ -потенциала. Согласно [43], при абсолютных значениях ξ -потенциала, меньших 30 мВ, наноструктуры оказываются неустойчивыми к агрегации. Чем больше значение этого параметра, тем соответственно стабильнее образующиеся наночастицы. Тип заряда на поверхности стабилизированных частиц определяется исключительно внешним слоем стабилизатора. Так, в присутствии цитрата натрия формируются наночастицы с отрицательно заряженной поверхностью [44].

Поскольку электростатические взаимодействия являются главной составляющей стабилизации частиц в описываемом случае, перераспределение электрического заряда в водной среде может существенно нарушать их

агрегативную устойчивость. Авторы [44] исследовали влияние концентрации цитрата натрия на стабильность образующихся в его присутствии наночастиц серебра и выявили, что при больших концентрациях цитрата натрия происходит агрегация частиц. Избыточное количество цитрата натрия увеличивало ионную силу раствора, что, в свою очередь, дестабилизировало диффузный слой вокруг частиц. Концентрация стабилизатора, таким образом, представляет собой немаловажный фактор при обеспечении стабильности наноструктур серебра.

Иной механизм стабилизации ([45], рисунок 1А) реализуется в водных средах, содержащих неионогенные ПАВ или полимеры, например, олеат полиоксиэтилена моносorbitана (Tween-80), использованный в работах [46, 47], полигексаметиленбигуанид (PHMB) ([7], рисунок 4).

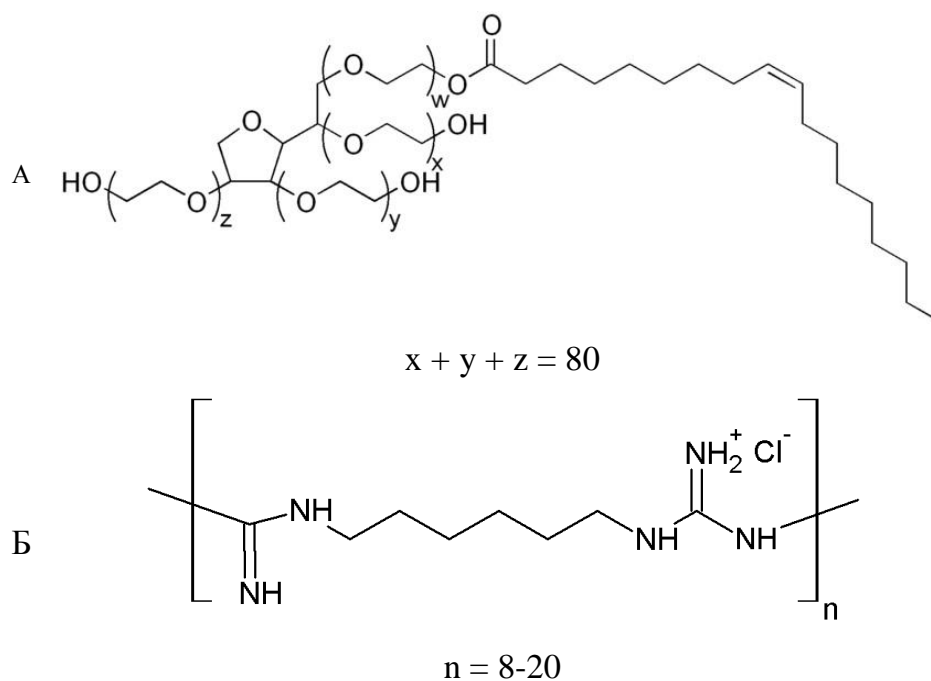


Рисунок 4. Структуры А) неионогенного ПАВ Tween-80 и Б) полимерного стабилизирующего соединения PHMB.

Молекулы полимеров взаимодействуют с поверхностью наночастиц лишь частично за счет своих гидрофильных групп; часть этих гидрофильных групп остается свободной и определяет заряд наночастицы (рисунок 5). На стабилизирующее действие полимеров влияют как ионная сила раствора (этот

фактор определяет число заряженных групп в молекулах полимера и их конформацию), так и свойства окружающей жидкой среды, в частности, вязкость и концентрация несвязанных форм полимера. Авторы [21] получили золи наночастиц серебра, устойчивые в 2 М растворе NaCl при всех pH в диапазоне 1-14, при стабилизации их пептидом Cys-Ala-Leu-Asp-Asp и тиополиэтиленгликолем.

В противоположность этому, неионогенные ПАВ нечувствительны к ионной силе раствора. Это связано с тем, что связь атомов кислорода этоксильных групп молекул ПАВ с поверхностью наночастиц носит координационный характер и слабо зависит от заряда поверхности, а везикулярная структура стабилизирующего слоя обеспечивает лиофилизацию поверхности наночастиц, практически не зависящую от ионной силы дисперсионной среды. Увеличение ионной силы раствора может привести к дестабилизации наночастиц за счет уменьшения растворимости ПАВ (высаливание).

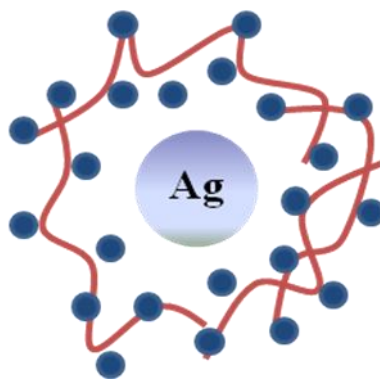


Рисунок 5. Схематическое изображение стабилизирующего слоя на поверхности наночастиц серебра, образованного молекулами неионогенных ПАВ и полимеров.

Содержание ионов в растворе, очевидно, может быть изменено не только за счет изменения концентрации стабилизатора, но и добавлением в систему электролитов. Кинетическим исследованиям процессов агрегации в золях наночастиц серебра, происходящих при добавлении ионов Cl^- и NO_3^- , посвящены работы [48, 49]. Авторы [48] исследовали методом динамического светорассеяния

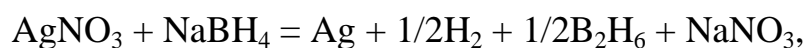
(DLS) изменение со временем среднего размера наночастиц серебра, полученных при восстановлении комплекса $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ мальтозой в присутствии анионных стабилизаторов - цитрата натрия, додецилсульфата натрия (SDS) – и неионогенного ПАВ полиоксиэтиленсорбитана моноолеата (Tween-80), при добавлении NaCl , NaNO_3 и CaCl_2 . Наряду с агрегацией, при добавлении хлорида натрия к золю наночастиц, стабилизированных цитрат-анионом или SDS, наблюдалось также «растворение» наночастиц – уменьшение первоначального размера $82 \pm 1,6$ нм. Это связано с перестройкой слоя оксида серебра на поверхности наночастиц (рисунок б) с последующим «размыванием» их металлического ядра. Авторы отмечают, что в отсутствие ионов Na^+ и Cl^- в растворе растворение слоя оксида не происходит ввиду сильной адсорбции ионов Ag^+ на поверхности частиц. Добавление же NaCl увеличивает растворимость внешнего слоя наночастицы серебра за счет изменения ионной силы, а также из-за вытеснения ионов серебра из приповерхностного слоя. Отмечается также, что цитрат-анион ввиду своих восстановительных свойств также способствует уменьшению размеров частиц за счет протекающего на поверхности кластеров процесса $\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}^0$.

В отличие от цитрата натрия и SDS, для которых добавление электролита сильно снижает их активность как стабилизаторов наночастиц, Tween-80 эффективно препятствует растворению наночастиц по описанному выше механизму, а также и агрегации за счет стерических взаимодействий. Частицы, стабилизированные Tween-80, показали устойчивость при изменении ионной силы раствора.



Рисунок 6. Схематическое изображение процессов окисления поверхности наночастиц и растворения слоя оксида [48].

В настоящее время наиболее широко используемым восстановителем ионов Ag^+ до наночастиц является боргидрид натрия NaBH_4 [50]. Его применение позволяет воспроизводимо получать наночастицы серебра с узким распределением по размерам и хорошей агрегативной устойчивостью. Так, средний размер частиц, образовавшихся при восстановлении ионов серебра в присутствии SDS, составил 15 нм; диапазон размеров частиц – 10-20 нм [51]. Авторы [52] использовали в качестве прекурсора коллоидные частицы AgI ; при этом средний диаметр образовавшихся в присутствии 3-меркаптопропансульфокислоты наночастиц составил 17 нм. Боргидрид-анион, подобно цитрат-аниону, выполняет также функцию стабилизатора [53], поэтому возможно получение наночастиц серебра в отсутствие каких-либо ПАВ или полимерных соединений [54]. Присутствие боргидрида натрия в растворе оказывает, таким образом, влияние и на агрегативную устойчивость образующихся при восстановлении в растворе наноструктур серебра. Так, увеличение концентрации боргидрида сказывается не только на скорости восстановления ионов серебра, протекающего, согласно [53], по схеме



но и способствует уменьшению среднего размера образующихся наночастиц.

Авторы [54] получили частицы серебра размером $13,5 \pm 2,6$ нм.

Восстановление боргидридом натрия применяется не только в водной, но и в органической фазе, где боргидрид также проявляет высокую реакционную способность, превосходящую таковую у многих других традиционно используемых восстановителей. Так, авторы [55] восстанавливали нитрат серебра с помощью NaBH_4 в этаноле в присутствии 2-меркаптоэтансульфокислоты. Полученные наночастицы серебра имели размер 2,5-5 нм.

К недостаткам использования NaBH_4 в качестве восстанавливающего агента можно отнести тот факт, что он частично разлагается в водной среде, поэтому для реакции с ионами Ag^+ берут, как правило, его 2-3х-кратный избыток [22].

Агрегативно устойчивые наночастицы серебра с узким распределением по размерам находят применение в качестве антимикробных и противовирусных препаратов [56, 57]. Особый характер распространения электромагнитного поля вблизи поверхности таких частиц обуславливает также их использование для увеличения эффективного сечения комбинационного рассеяния света молекулами, адсорбированными на их поверхности (эффект гигантского комбинационного рассеяния (ГКР), [50, 58]).

Очень часто на практике возникает необходимость иммобилизации предварительно полученных наночастиц серебра на каком-нибудь носителе. Обычно адгезия наночастиц к твердым поверхностям очень мала, поэтому для иммобилизации используются специальные методики. Для закрепления наночастиц на носителе применяют бифункциональные молекулы, один конец которых связывается с поверхностью носителя, а другой конец взаимодействует с наночастицами посредством электростатического либо химического связывания с формированием упорядоченного слоя наночастиц. Для различных подложек могут быть подобраны различные бифункциональные модификаторы. Так, для иммобилизации наночастиц благородных металлов используют молекулы, содержащие HS-группу или атомы азота с неподеленной электронной парой. Такой подход был впервые использован авторами [59] (рисунок 7). Поверхность

стеклянных пластин сначала модифицируют либо амино-, либо тиогруппами и затем выдерживают в золях наночастиц в течение определенного времени [59, 60]. Для лучшего связывания бифункциональных молекул модификаторов с поверхностью стекла или кремния последние должны быть предельно гидроксигированы [61].

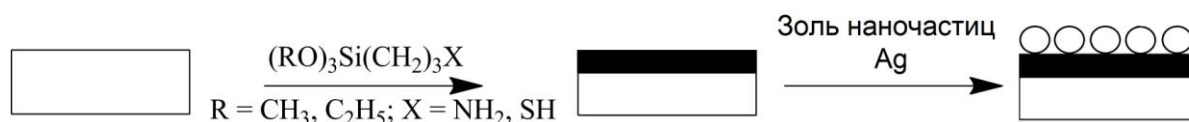


Рисунок 7. Схема иммобилизации наночастиц серебра на поверхности стекла [59].

Поверхности кремния и стекла наиболее часто используются как носители для иммобилизации наночастиц. Однако это далеко не единственный тип носителей. Так, авторы [62] в качестве подложек для наночастиц серебра использовали серебряные пластины, модифицированные 1,10-фенантролином. Связывание наночастиц с поверхностью носителя в этом случае осуществляется за счет взаимодействия атомов азота молекул фенантролина с поверхностью, как серебряного носителя, так и наночастиц. Аналогичным связующим действием обладает также и поливинилпиридин, примененный авторами [63].

Закономерности процесса иммобилизации наночастиц на модифицированных поверхностях носителей не могут считаться изученными ввиду очень малого количества сведений, представленных в литературе. Так, подавляющее большинство исследований так или иначе связаны с наночастицами серебра, стабилизированными цитратом натрия [60, 64-66]. Для таких наночастиц серебра, в частности, имеются данные по кинетике иммобилизации на модифицированной поверхности стекла [67]. Иммобилизация наночастиц серебра, стабилизированных ПАВ и полимерами, на поверхности носителей практически не изучена. Отсутствуют сведения о влиянии типа стабилизации наночастиц на плотность формирующихся при их сорбции слоев. Также неясно, какие именно факторы определяют в конечном итоге морфологию привитых слоев наночастиц.

Анализ имеющихся в настоящее время научных работ показывает, что для получения водных дисперсий наночастиц серебра с узким распределением частиц по размерам целесообразно использовать метод восстановления нитрата серебра боргидридом натрия. Такой подход позволяет воспроизводимо получать частицы небольших размеров, агрегативно устойчивые в течение длительного времени. При этом стоит отметить, что закономерности иммобилизации наночастиц серебра, стабилизированных ПАВ и полимерами, на поверхности различных носителей практически не изучены. Так, отсутствуют сведения о влиянии типа стабилизации наночастиц на плотность формирующихся при их сорбции слоев. Также неясно, какие именно факторы определяют в конечном итоге морфологию привитых слоев наночастиц. Практически все сведения по иммобилизации наночастиц, имеющиеся в литературе, относятся к наночастицам серебра, стабилизированным цитрат-анионами.

1.2. Модифицирование поверхностей кремниевых и серебряных подложек

1.2.1. Подготовка поверхности кремния и оксида кремния к химическому модифицированию

Стадия подготовки поверхности кремния к модифицированию оказывает огромное влияние на весь последующий процесс функционализации и использование полученных подложек. Задача создания на подложке равномерного покрова функциональных групп или адсорбционного слоя не может быть решена без создания подходящего для этого состояния поверхности, характеризующегося химической и физической однородностью, а также отсутствием примесей.

Поверхность кремния при хранении на воздухе покрывается естественным слоем оксида толщиной 3-5 нм, поэтому с химической точки зрения является идентичной таковой для кремнезема.

Присутствующий на поверхности оксида кремния кислород, связанный с

кремнием, находится преимущественно в виде двух реакционноспособных групп: силанольной и силоксановой (рисунок 8, [68, с. 25]).



Рисунок 8. Строение основных реакционноспособных групп на поверхности кремнезема: А) – силанольной; Б) – силоксановой.

Основное практическое значение для дальнейшего модифицирования имеют химически более активные силанольные группы. Их активность обусловлена тем, что протон силанольной группы имеет слабокислый характер [68, с. 25]. Проведение реакций модифицирования силоксановых структур требует дополнительно предварительного раскрытия цикла.

Поверхностные Si–ОН-группы обычно связаны водородными связями с молекулами воды, сорбированными из воздуха, что сильно снижает их реакционную способность. При нагревании силанольные группы способны конденсироваться в силоксановые, отщепляя воду. Этот процесс является обратимым, поэтому для решения конкретных практических задач представляется возможным подобрать режим термической обработки, при котором физически связанная вода, затрудняющая химические превращения силанольных групп, удалялась бы с поверхности, но при этом сохранялось бы достаточное количество силанольных групп. Стоит отметить, что, в отличие от кремнезёмов, в которых очень велики суммарная площадь пор и, соответственно, доля заключенной в них воды, монолитный кремний практически не содержит пор, поэтому для удаления сорбированной из воздуха воды с его поверхности достаточно нагревания до 100-120°C; для кремнезёмов эта температура гораздо выше и может составлять 400-500°C [68, с. 28].

В основе химического модифицирования поверхности оксида кремния лежит активация силанольных групп. Наряду с вышеописанной термической обработкой, активирующей имеющиеся ОН-группы, возможно также целенаправленное разрушение силоксановых структур и, как следствие, увеличение степени гидроксирования поверхности. Этого можно добиться выдерживанием исходного носителя в растворах минеральных кислот [69-71]. Если наличие локальных неоднородностей поверхности является критичным для дальнейших операций, естественный слой оксида убирают с последующим «наращиванием» нового [72, 73].

Наиболее распространенные методы подготовки поверхности кремния к химическому модифицированию детально рассмотрены в работах [73] и [74]. Немаловажную роль, как отмечают авторы, играет очистка поверхности от примесей, которые могут повлиять на дальнейшее модифицирование.

Для удаления органических пленок применяется обработка подложек горячей смесью дистиллированной воды, H_2O_2 и $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ с объемным соотношением 5:1:1 соответственно (так называемая смесь «RCA standard clean 1», [74]) в течение 30-40 минут при температуре около 75-80°C. Для грубо загрязненных подложек применяют горячую смесь концентрированной H_2SO_4 и H_2O_2 («пиранья») в различных объемных соотношениях: 2:1 [73], 7:3 [75, 76], 4:1 [77, 78]. Обработку ведут в течение 40-60 минут при температурах 80-100°C. Предварительно поверхность может быть промыта ацетоном [79], метанолом [70], изопропанолом или дихлорэтаном при ультразвуковой обработке [80, 81], смесью дихлорэтана, метанола и ацетона [82], этанола и ацетона [83].

С помощью описанных процедур удается не только очистить кремний от органических соединений, физически или химически связанных с поверхностным слоем, но и увеличить степень его гидроксирования.

Обработанная таким образом поверхность неоднородна по толщине, толщина первоначального слоя оксида на ней может быть увеличена вследствие окисления связей оксида с органическими соединениями. Ввиду этого поверхность кремния

часто подвергают травлению с помощью раствора HF. Для этого подложку помещают на 15-60 секунд в 1% водный раствор HF. Такая обработка, как отмечается в работах [72, 73], является достаточной для удаления слоя оксида.

Необходимо отметить, что обновленная кремниевая поверхность на воздухе практически сразу же окисляется, при этом отсутствие контроля на этой стадии влечет за собой получение неравномерного по толщине слоя SiO₂. Создание равномерно гидроксильной поверхности оксида осуществляют путем обработки кремния горячей смесью дистиллированной воды, перекиси водорода и соляной кислоты (или гидроксида аммония) с объемным соотношением H₂O_{дист.}:H₂O₂:HCl 6:1:1 (так называемая смесь «RCA standard clean 2», [74]) в течение 10-30 минут при 75-80°C. При этом также удаляются примесные ионы Na⁺, K⁺, Al³⁺, Fe³⁺, Mg²⁺. Авторы [84] и [85] применяли альтернативный метод: поверхность кремния обрабатывали в УФ-озонаторе в течение 30-45 минут.

Все описанные стадии обработки подложек должны сопровождаться промыванием в дистиллированной воде и высушиванием при температуре 100-120°C.

В результате проведения такой подготовки может быть получена предельно гидроксильная поверхность, которая содержит 4,6-4,9 Si-OH-групп/нм² [68, с. 26]. Состояние поверхностного слоя до и после обработки может быть охарактеризовано с помощью ИК-спектроскопии. Так, поверхностные силанольные группы характеризуются поглощением при 3745-3750 см⁻¹ [68, с. 27].

1.2.2. Общие подходы к модифицированию поверхности оксида кремния

Если подготовка поверхности кремнеземов и кремния является достаточно унифицированным процессом, то варианты непосредственно модифицирования отличаются огромным разнообразием как модифицирующих веществ, так и методов и условий «прививки» молекул модификаторов к поверхности. Как было упомянуто выше, химическому модифицированию подвергаются главным образом силанольные группы.

Систематическое изучение химических свойств Si–ОН-групп на поверхности оксида кремния берет свое начало в работах Р. Айлера [86]. Исторически первыми исследованными реакциями силанольных групп были их химические взаимодействия со спиртами [87]. В настоящее время спектр исследованных реакций нуклеофильного замещения с участием гидроксогрупп поверхности необычайно широк и включает в себя реакции со спиртами [88], кислотами [86, с. 1127], ангидридами и хлорангидридами кислот [89], полимерами [90], кремнийорганическими соединениями [91, 92]. Полученные материалы находят применение в качестве катализаторов, сорбентов, стационарных фаз для хроматографии.

В том случае, когда целевой привитый слой не может быть создан на поверхности оксида кремния в одну стадию, а к этому приводит, в частности, несовместимость между собой многих важнейших функциональных групп, используют так называемый метод поверхностной сборки: на первой стадии на поверхности закрепляют относительно простое соединение с группой, не реагирующей с оксидом кремния; на второй стадии эту группу вводят в дальнейшие превращения.

Взаимодействие силанольных групп с молекулами спиртов, ангидридов и хлорангидридов – это нуклеофильное замещение у атома кремния; оно, поэтому, может быть значительно интенсифицировано при введении в состав модификатора таких функциональных групп, как амино- и карбоксильные. Стоит отметить, что в тех условиях, при которых протекают описанные взаимодействия, карбоксильные и аминогруппы с оксидом кремния не взаимодействуют, это обстоятельство в ряде случаев оказывается полезным при получении слоя функциональных –NH₂ или –COOH-групп на поверхности.

В настоящее время для создания привитых слоев на поверхности оксида кремния наиболее широко используются кремнийорганические модификаторы X_{4-n}SiR_n, где X – –Cl, –OR, –OCOR – активная группа, вступающая в реакции с силанольными группами. В ходе реакции с поверхностью такие соединения

образуют систему связей Si-O-Si-C, обладающую высокой термической и гидролитической стабильностью. Химическая активность кремнийорганических модификаторов обусловлена высокой реакционной способностью связей кремния с атомами более электроотрицательных элементов – кислорода, хлора, азота. В то же время инертность связей Si-C обеспечивает стабильность остальной части молекулы. В состав радикала молекул модификатора могут быть введены различные группировки атомов, способные к дальнейшим превращениям и/или обеспечивающие требуемые характеристики модифицированной поверхности. Благодаря этому факту, а также упомянутой высокой реакционной способности кремнийорганических соединений, представляется возможным варьировать в широких пределах экспериментальные условия модифицирования для качественного изменения свойств поверхностного слоя в нужном направлении.

Наиболее часто используют модификаторы, содержащие хлорсилильные и алкоксисилильные группировки. Связи Si-Cl являются более реакционноспособными, поэтому набор функциональных групп, совместимых с ними, ограничивается нитрильной, амидной, сложноэфирной, галогенметильной и нитрогруппой. Образующийся в ходе прививки хлороводород за счет протонирования силанольных групп может существенно снижать их активность в реакциях нуклеофильного замещения, в связи с этим в реакционную систему дополнительно вводят амины либо пиридин [93]. Для более эффективного связывания хлорсиланов с поверхностью оксида кремния используют избыток модифицирующего соединения. Проведение реакции в жидкой среде позволяет значительно уменьшить температуру реакции с 250°C в газовой фазе до 95°C при использовании органических растворителей – гексана, изооктана, бензола, толуола, ксилола, пиридина [93].

Более удобны в синтетическом плане модификаторы, содержащие в качестве уходящей группы –OR или –OCOR, поскольку такие реагенты могут иметь в своем составе амино-, эпокси- и другие более сложные функциональные части. Взаимодействие этих модификаторов с поверхностью оксида кремния протекает

сравнительно медленно и может быть использовано для контролируемого получения равномерных по толщине слоев на поверхности кремния.

1.2.3. Модифицирование поверхности оксида кремния 3-аминопропилтриэтоксисиланом

Традиционно для создания на поверхности оксида кремния слоя аминогрупп используют коммерчески доступный модификатор 3-аминопропилтриэтоксисилан (3-АПТЭС).

Присутствующая в структуре 3-АПТЭС (рисунок 9) и других аминоалкоксисиланов аминогруппа обладает каталитическим влиянием на реакции модификатора с Si–ОН-группами поверхности кремнеземов, за счет чего этот тип модификаторов, по сравнению с остальными силанами, обладает повышенной реакционной способностью.

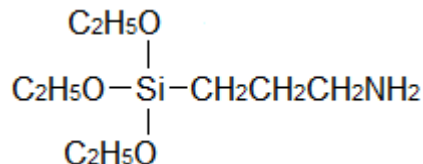


Рисунок 9. Строение молекулы 3-аминопропилтриэтоксисилана (3-АПТЭС).

Вследствие основного характера аминогруппы легко протонируются ($\text{pK}_a = 10,8$ для первичной аминогруппы), что проявляется в быстрой адсорбции молекул аминосиланов на поверхности кремнеземов за счет образования водородных связей с силанольными группами или другими аминогруппами [94]. Далее на поверхности происходит катализируемая аминогруппой конденсация активной – Si–OR группы модификатора с силанольными группами с образованием силоксановых связей. Для других силанов образование силоксановых связей требует предварительного частичного гидролиза алкоксигрупп или добавления амина в реакционную смесь.

Эффективность 3-АПТЭС в качестве модификатора обусловлена, по всей

видимости, присущей всем аminosиланам высокой реакционной способностью, а также тем, что молекулы 3-АПТЭС сохраняют свою активность и стабильность даже в гидролизованной или диссоциированной форме.

Проведение реакции 3-АПТЭС с кремнием в газовой фазе [75, 95, 96] позволяет получить монослойное покрытие и позволяет провести процесс без присутствия в системе воды, о негативном влиянии которой на реакционные силанольные группы уже говорилось выше. К недостаткам такого метода следует отнести высокую температуру, необходимую для осуществления реакции с поверхностными силанольными группами (около 100°C), а также большой расход реагентов.

Если в первом подходе модификатором является непосредственно молекула 3-АПТЭС и количество примесей пренебрежимо мало, то при проведении модифицирования кремниевой поверхности этим аminosиланом из жидкой среды [97] необходимо учитывать информацию о том, какое состояние имеют молекулы модификатора в реакционном объеме и какова их реакционная способность. Так, в водной среде, по данным авторов [97-99], молекулы 3-АПТЭС представляют собой гидролизованные олигомеры, в которых силанольные группы прочно связаны водородными связями с аминогруппами с образованием циклических структур (рисунок 10, [100]), что придает молекулам модификатора в растворе дополнительную стабильность. Аминогруппы, по-видимому, оказывают каталитическое действие в реакциях гидролиза [99].

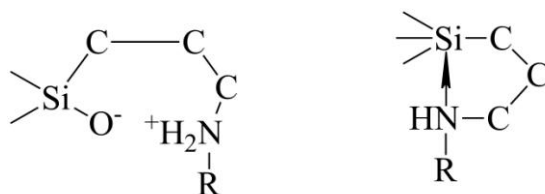


Рисунок 10. Циклические структуры, имеющиеся, по данным ИК Фурье-спектроскопии, в водных растворах 3-АПТЭС [100].

В условиях нейтрального pH аминогруппы находятся преимущественно в

виде $-\text{NH}_2$, то есть реализуется взаимодействие $-\text{Si}-\text{OH}\cdots\text{NH}_2$ вместо $-\text{Si}-\text{O}^-\cdots\text{NH}_3^+$ [98]. При увеличении или уменьшении pH конформация молекул 3-АПТЭС в водных растворах изменяется [101]: в среде с низким pH аминогруппы практически полностью протонированы. В щелочной среде присутствуют депротонированные молекулы 3-АПТЭС. Авторы [101] отмечают, что наибольшей реакционной способностью обладают именно упомянутые выше циклические структуры (рисунок 10).

Поверхностные силанольные группы обладают большей кислотностью, чем силанольные группы гидролизованных молекул 3-АПТЭС, поэтому взаимодействие с Si–OH-группами поверхностного слоя термодинамически предпочтительнее, чем внутримолекулярные взаимодействия. Стоит отметить, что аминогруппы, способствующие протеканию реакций гидролиза 3-АПТЭС, также катализируют реакции присоединения к Si–OH-группам поверхности оксида кремния, поэтому поверхностные слои модификатора, нанесенные из водных растворов, отличаются рыхлостью, неравномерностью по толщине и частично полимеризованы, в присутствии атмосферной влаги происходит их гидролитическая полимеризация до силоксанов [70, 76, 98]. Внешняя часть слоев, осажденных из водных растворов, гидролизована и легко смывается водой, в то время как пленка в пределах 6 нм толщиной сильно связана с поверхностью и гидролизована не полностью (рисунок 11, [75, 102]).

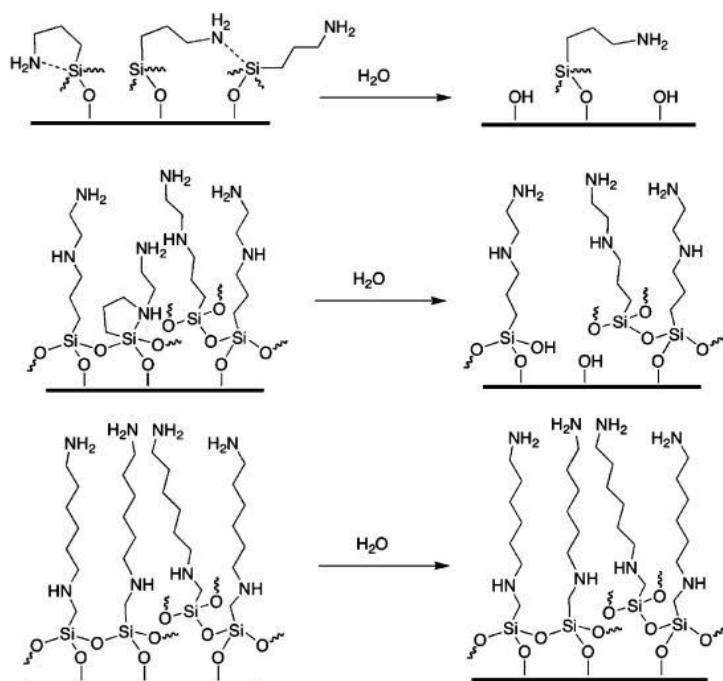


Рисунок 11. Схема гидролиза привитых слоев 3-АПТЭС [75].

Таким образом, можно заключить, что модифицирование из водных растворов вызывает неконтролируемый гидролиз и полимеризацию 3-АПТЭС, что отражается в получении разупорядоченного невоспроизводимого покрытия [97].

В смесях вода – органический растворитель [81, 103] влияние процессов гидролиза на структуру и морфологию образующегося на поверхности оксида кремния слоя модификатора также значительно. По-видимому, кислотность используемого растворителя вносит определяющий вклад в гидролиз молекул 3-АПТЭС, процесс модифицирования поверхности кремния и морфологию привитого слоя. Так, в работе [82] показано, что поверхностный слой, полученный при модифицировании оксида кремния из безводного гексана, отличается большей гомогенностью и однородностью по толщине, нежели аналогичный слой, привитый из смеси ацетон:вода 5:1 об., при одной и той же концентрации модификатора $1,2 \cdot 10^{-2}$ М. Привитые слои с аналогичными характеристиками были получены при модифицировании из толуола [72, 75-78, 83, 84, 105], ксилола [79], циклогексана [106], хлороформа [107], этанола [109], гексана [69], метанола [109].

Для лучшего контроля за эффективностью протекания реакции 3-АПТЭС с силанольными группами используют сухие органические растворители. Авторы [70] указывают, что структура пленки 3-АПТЭС сложна и включает молекулы в различных конформациях, а также молекулы, по-разному ориентированные по отношению к поверхности. Степень заполнения поверхности и структура привитого слоя чрезвычайно чувствительны к экспериментальным условиям, таким как время реакции, температура, природа растворителя, содержание воды в растворителе и концентрация аminosилана.

На первой стадии взаимодействия 3-АПТЭС с поверхностью при осаждении из сухих органических растворителей (например, толуола) в течение нескольких секунд образуется монослой молекул модификатора, химически связанный с силанольными группами за счет силоксановых связей [94]. Толщина такого слоя составляет около 0,7-0,8 нм [97]. Последующие слои сначала самоорганизуются на поверхности вследствие физической адсорбции, а затем постепенно образуют ковалентные связи; при надлежащих условиях осаждения более «высокие» слои могут быть смыты до монослоя или субмонослоя. Этот процесс может длиться от нескольких минут до нескольких часов. Во время отжига модифицированных поверхностей привитые молекулы 3-АПТЭС в первом слое претерпевают конформационные изменения, кроме того, часть силанольных групп образует силоксановые связи, и, если по таким силанольным группам были посредством водородных связей координированы аминогруппы, то происходит высвобождение $-NH_2$ -групп (рисунок 12, [97]).

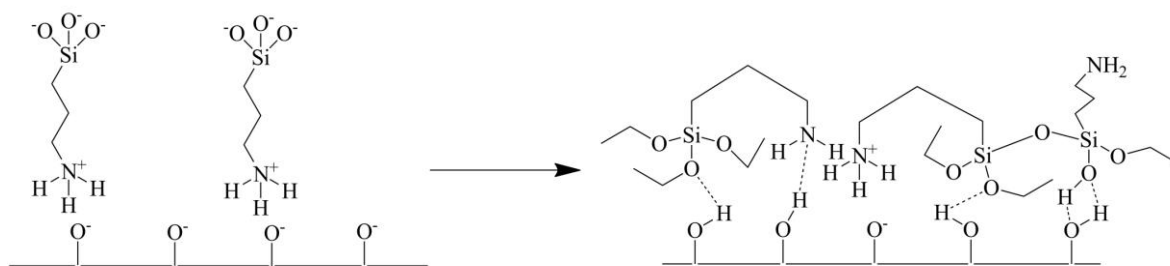


Рисунок 12. Конформационные изменения в привитом на поверхности кремния слое 3-АПТЭС при термической обработке [97].

Итак, при осаждении модификатора в безводных условиях, после осаждения, промывания и отжига можно получить монослой 3-АПТЭС, в котором каждая молекула образует одну или две ковалентные связи с поверхностью SiO_2 , оставляя одну или две гидроксильные группы доступными для связывания с соседними молекулами.

Использование органических растворителей, таким образом, предпочтительнее. Подавляющее большинство исследователей используют для модифицирования растворы 3-АПТЭС в толуоле. Общая схема модифицирования, позволяющая получать равномерный однородный тонкий слой модификатора на поверхности оксида кремния, состоит в выдерживании поверхности в растворе 3-АПТЭС в толуоле с концентрацией не более 0,4% об. в течение 1-30 минут с последующим промыванием толуолом и отжигом при температуре 100-120°C. Авторы [97] показали, что осаждение 3-АПТЭС из толуола сопровождается образованием на поверхности кремния плотной структуры, подобной сетке.

1.2.4. Модифицирование поверхности оксида кремния 3-меркаптопропилтриметоксисиланом

Как свидетельствуют имеющиеся литературные данные, кремнийорганические модификаторы, имеющие в своем составе $-\text{SH}$ -группу, используют для модифицирования гораздо реже аminosиланов. По всей видимости, это обусловлено меньшей реакционной способностью таких соединений в реакциях с силанольными группами, так как водородные связи между тиогруппами и силанольными группами поверхности чрезвычайно слабы [110]. Кроме того, $-\text{SH}$ -группы не оказывают каталитического влияния на процессы электрофильного замещения у силанольных групп. Стоит отметить также, что использование таких модификаторов осложняется их окислением в присутствии кислорода воздуха с образованием дисульфидных связей и, в конечном итоге, полимерных структур. Для предотвращения этого реакции таких модификаторов, как 3-меркаптопропилтриметоксисилан (3-МПТМС), структура

которого показана на рисунке 13, с силанольными группами проводят в инертной атмосфере [111, 112]. Альтернативный подход заключается в добавлении в реакционную среду при модифицировании из жидкой фазы восстановителей: 2-меркаптоэтанола [113] либо трис(2-карбокsetил)фосфина (ТСЕР) [114].

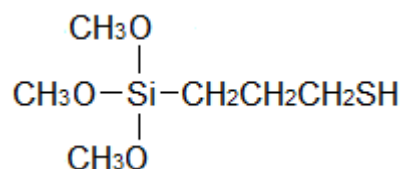


Рисунок 13. Строение молекулы 3-меркаптопропилтриметоксисилана (3-МПТМС).

Эти методы позволяют в ходе модифицирования получать равномерный тонкий слой –SH-групп на поверхности оксида кремния, однако сохранение функциональности поверхностного слоя ввиду упомянутых окислительных процессов требует также хранения подложек в инертной атмосфере либо немедленного использования. Тем не менее, несмотря на трудности получения, кремнеземы с SH-модифицированной поверхностью довольно часто находят применение для сорбирования и детектирования ионов тяжелых металлов [115] и, как предполагается, могут быть применены для закрепления на поверхности частиц серебра или золота.

В растворах 3-МПТМС – наиболее часто используемого кремнийорганического модификатора с концевой SH-группой – процессы гидролиза молекул в водных и водно-органических смесях протекают в меньшей степени, чем гидролиз аminosиланов, отчасти ввиду отсутствия каталитического эффекта аминогрупп. Если аminosиланы, как упоминалось выше, в водных средах образуют шести- и семичленные кольца за счет взаимодействия аминогрупп с гидролизованными алкоксигруппами, то в растворах 3-МПТМС такие взаимодействия отсутствуют.

Модифицирование 3-меркаптопропилтриметоксисиланом из растворов в

сухих органических растворителях в целом описывается теми же закономерностями, что и для аminosиланов [110, 116, 117], однако, ввиду относительно низкой реакционной способности, протекает медленнее. С одной стороны, это способствует лучшему контролю за протеканием реакций на поверхности, с другой стороны, влечет за собой дополнительные трудности с воспроизводимостью получаемого покрытия ввиду отмеченной выше окислительной полимеризации. В работе [110] показано, что хорошо упорядоченные слои 3-МПТМС на поверхности оксида кремния можно получить, если концентрация модификатора в растворе (как правило, в толуоле) не превышает $5 \cdot 10^{-3}$ М.

1.2.5. Модифицирование поверхности серебряных подложек

Для модифицирования поверхностей таких металлов, как золото и серебро, наиболее часто используют тиолы [118]. При этом на поверхности образуется монослой практически нерастворимого в обычных растворителях алкилтиолата соответствующего металла. Тиолы могут реагировать не только с оксидной пленкой (которая на благородных металлах образуется лишь на отдельных участках поверхности), но и непосредственно с металлом. При использовании бифункциональных молекул поверхность металла можно функционализировать для дальнейшего применения, например, для иммобилизации наночастиц. Активность тиолов в реакциях с серебром зависит от длины их молекулы. Так, наибольшей активностью обладает этандитиол.

Тиолы и их производные неудобны в обращении ввиду их легкой окисляемости, поэтому, несомненно, актуальной является разработка методов модифицирования другими типами модификаторов. Сведения о применении к модифицированию поверхности серебра других соединений встречаются в литературе крайне редко и не могут считаться достаточными. Можно предположить, что молекулы соединений, содержащих атомы азота с неподеленной электронной парой, могут связываться с серебряной поверхностью

за счет образования координационных связей.

На основании вышеизложенных фактов можно заключить, что для сорбции наночастиц поверхность кремния должна быть предварительно функционализирована HS- и NH₂-группами. Эти группы обладают высокой аффинностью к серебру и поэтому обеспечивают прочное закрепление наночастиц этого металла на поверхности носителей.

Модифицирование подготовленной оксидной поверхности 3-аминопропилтриэтоксисиланом и 3-меркаптопропилтриметоксисиланом предпочтительно осуществлять из растворов в толуоле с концентрацией не более 0,4 % об. Такие условия обеспечивают воспроизводимое получение однородного тонкого, близкого к монослою, гидролитически стабильного покрытия с NH₂- и HS-группами. Время выдерживания поверхности в растворах модификаторов, достаточное для закрепления тонкого слоя, составляет около 30 минут, при больших временах выдерживания происходит образование полислоев.

Перед созданием слоя функциональных групп поверхность кремния необходимо предварительно подготовить. Предпочтительным способом обработки можно признать последовательное выдерживание носителя:

а) в горячей смеси дистиллированной воды, H₂O₂ и NH₃·H₂O с объемным соотношением 5:1:1 соответственно в течение 30-40 минут при температуре около 75-80°C для удаления органических пленок;

б) в 1% водном растворе HF в течение 15-60 секунд для удаления естественного слоя оксида;

в) в горячей смеси дистиллированной воды, перекиси водорода и соляной кислоты с объемным соотношением H₂O_{дист.}:H₂O₂:HCl 6:1:1 в течение 10-30 минут при 75-80°C для создания равномерно гидроксिलированной поверхности.

1.3. Применение иммобилизованных наночастиц серебра в химическом анализе

1.3.1. Создание чувствительных элементов химических сенсоров

Химический сенсор – это компактное аналитическое устройство, которое избирательно реагирует на протекание химической реакции определяемого вещества на поверхности рецепторного элемента. Для придания сенсору селективности поверхность рецептора сенсорного элемента зачастую покрывают аналитическим реагентом, специфически взаимодействующим с определяющим веществом.

Микромеханические сенсоры представляют собой новый и активно развивающийся класс химических сенсоров. Они регистрируют реакцию определяемого вещества с аналитическим реагентом путем детектирования механических деформаций рецептора [119, стр. 1] – чувствительного элемента, на поверхности которого протекает реакция. Величина таких деформаций может быть измерена с помощью подходящего прецизионного датчика и может служить количественным показателем изменения свойств поверхности в результате, например, протекания химического процесса, что можно использовать для определения скорости реакции или количества прореагировавших веществ.

Основной составной частью микромеханических устройств является кантилевер (рисунок 14, [120]) – упругая консоль из кремния или нитрида кремния, закрепленная одним концом на массивном основании. Консоль способна упруго изгибаться под действием сил, приложенных к ее поверхности. По измеренному значению изгиба можно рассчитать величину и направление силы, действующей на кантилевер.

Величину изгиба консоли чаще всего измеряют с помощью оптической системы детектирования. Для этого на верхнюю поверхность кантилевера наносят хорошо отражающее свет покрытие, обычно тонкий (5-20 нм) слой золота [121]. На зеркальную поверхность консоли под углом направляют луч лазера так, чтобы

отраженный луч попал в оптический детектор (рисунок 15).

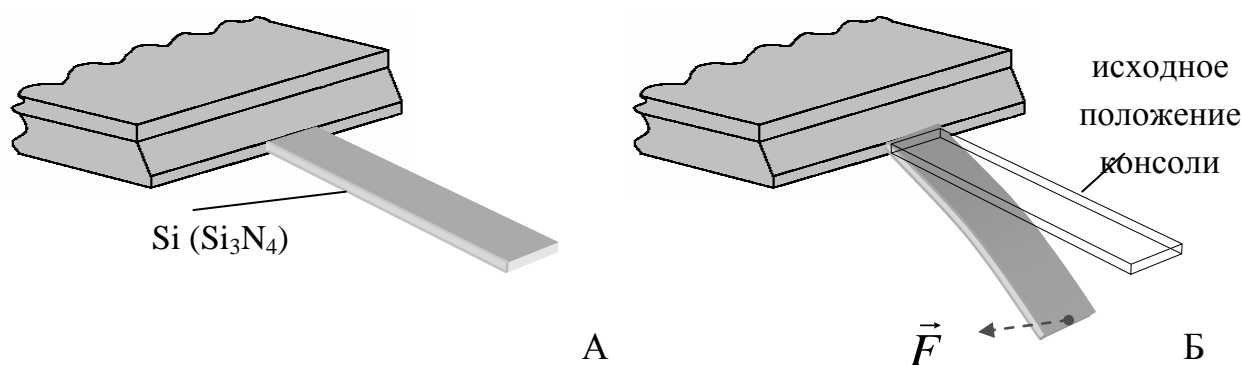


Рисунок 14. Схематическое изображение: А) кантилевера, на который не действуют внешние силы, и Б) кантилевера, изогнутого под действием силы \vec{F} , приложенной к концу консоли.

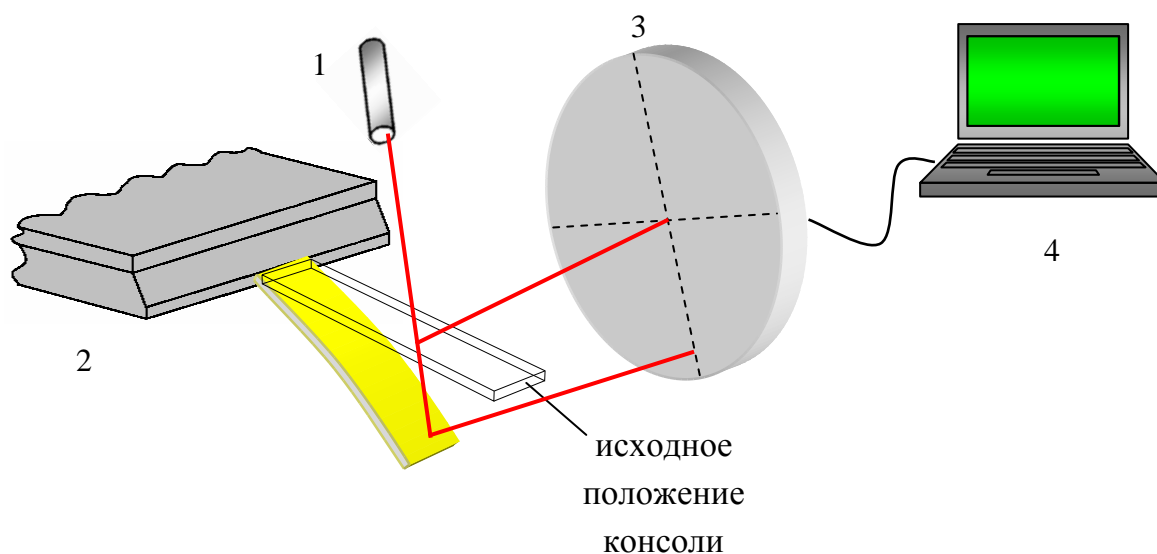


Рисунок 15. Принцип действия оптической системы детектирования изгиба кантилевера (1 – лазер, 2 – кантилевер, 3 – оптический детектор, 4 – система обработки сигнала).

При изгибе консоли или при ее кручении световое пятно, образованное отраженным лучом, смещается, что может быть зарегистрировано оптическим детектором. Зная геометрическое расположение лазера, консоли и детектора

и/или произведя предварительную калибровку системы детектирования, можно определить смещение той точки кантилевера, на которую был направлен лазер, а затем рассчитать радиус кривизны консоли и величину проекции силы, приложенной к консоли, в вертикальной плоскости.

Разрешающая способность лазерной системы детектирования может достигать 0,01 нм, что теоретически позволяет измерять силы величиной 10-100 пН (в зависимости от материала и размеров кантилевера), сравнимые с силами взаимодействия отдельных атомов и молекул между собой [120]. Необходимым условием использования оптической системы детектирования изгиба является прозрачность среды, в которой находится кантилевер.

На величину деформаций чувствительного элемента оказывают влияние только те силы межмолекулярного взаимодействия, которые приложены к его поверхности. Таким образом, взаимодействие иммобилизованных молекул реагента с частицами, находящимися в растворе, не оказывает значимого влияния на аналитический сигнал. Для его возникновения нужны только те силы, которые возникают между частицами, связанными с поверхностью жестко, а именно механически жестко. Поэтому для создания рецепторного слоя микромеханических сенсоров обычно используют ковалентную иммобилизацию аналитических реагентов.

Несмотря на низкие пределы обнаружения известных микромеханических сенсоров, существуют аналитические задачи, требующие повышения чувствительности таких аналитических устройств. Для этого часто используют метки, усиливающие отклик, например, наночастицы металлов. К недостаткам таких сенсоров следует отнести трудоемкость пробоподготовки при проведении серийных анализов, связанную с необходимостью введения метки.

В ряде работ для повышения чувствительности микромеханических сенсоров было предложено использовать наночастицы благородных металлов в качестве силовых элементов. Кроме того, использование наночастиц позволяет увеличить площадь поверхности рецепторного элемента микромеханических сенсоров.

Так, авторы [122] разработали методы чувствительного обнаружения биомаркеров белка с использованием кремниевых микрокантилеверов и многофункциональных гибридных наночастиц серебра. Фотокаталитические гибридные наночастицы с оболочкой TiO_2 были синтезированы с использованием сольвотермического процесса. После функционализации гибридных наночастиц и кремниевой консоли антителами (рисунок 16) были использованы магнитные наночастицы для отделения целевых биомаркеров от сыворотки крови человека. Изменения резонансной частоты колебаний кантилевера были дополнительно усилены с помощью фотокаталитической реакции восстановления серебра. Показано, что интерлейкин-6, интерферон- γ , и альфа-фетопротеин можно селективно обнаружить с помощью массивов из восьми кремниевых микрокантилеверов, тогда как кантилеверы сравнения показали незначительные изменения частоты. Продолжительность одновременного анализа трех антигенов составляет 1 ч при чувствительности обнаружения 10^{-13} г/мл.

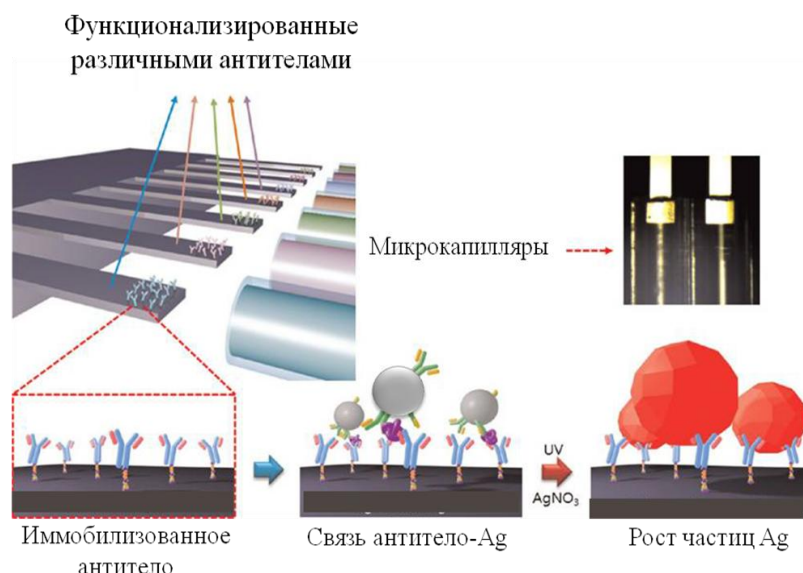


Рисунок 16. Функционализация гибридных наночастиц и кремниевой консоли антителами [122].

Микромеханические сенсоры с нанесенными наночастицами также могут быть использованы для детектирования специфических последовательностей

ДНК [123]. Реакции гибридизации приводят к присоединению наночастиц золота, которые, в свою очередь, являются нуклеирующими агентами для присоединения наночастиц серебра (рисунок 17). Рост частиц серебра приводит к обнаруживаемому сдвигу частоты (рисунок 18) за счет увеличения эффективной массы микрокантилевера.

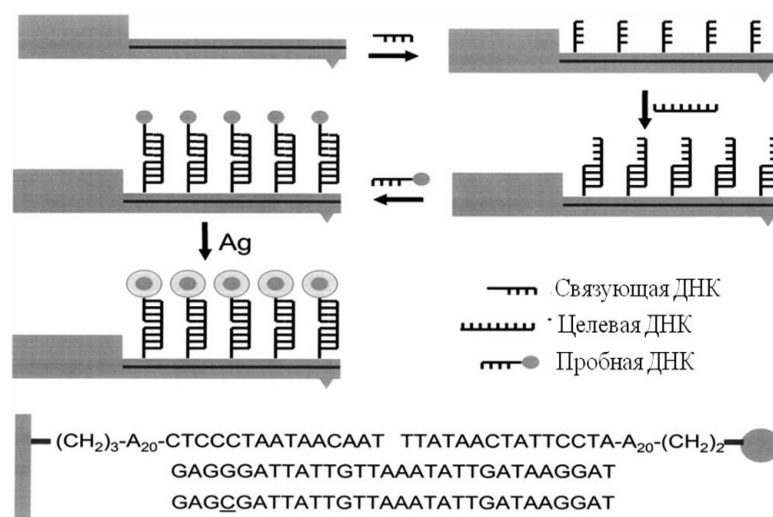


Рисунок 17. Схема модифицирования микрокантилевера специфическими последовательностями ДНК и дальнейший рост наночастиц серебра [123].

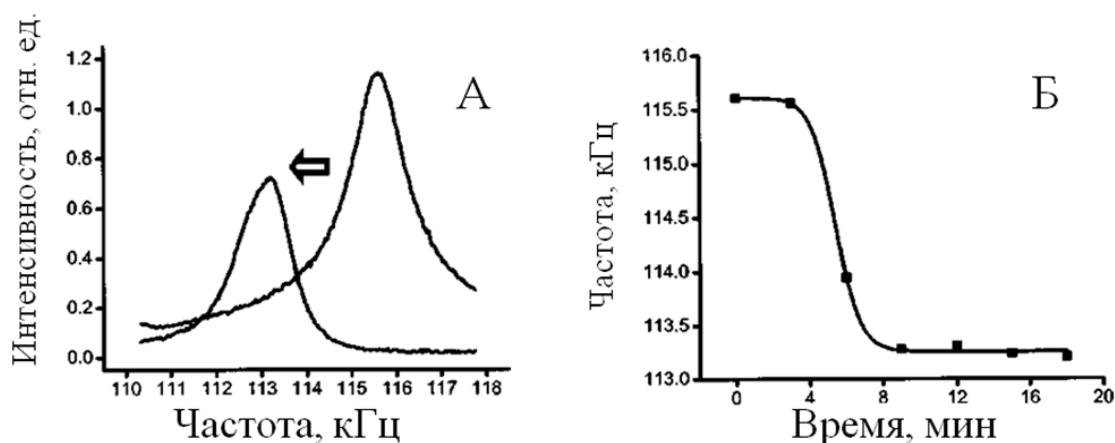


Рисунок 18. А) Смещение максимума резонансной частоты колебаний кантилевера. Б) Зависимость резонансной частоты колебаний кантилевера от времени [123].

Такой подход позволил авторам [123] обнаружить целевую последовательность ДНК с концентрацией 0,5 нМ.

Как и для других типов химических сенсоров, величина аналитического сигнала микромеханических сенсоров определяется количеством реагента, закрепленного на поверхности чувствительного элемента, поэтому переход от мономолекулярного по толщине рецепторного слоя к объемной пленке, содержащей большее количество реагента, должен способствовать увеличению чувствительности сенсора. Такой путь развития микромеханических сенсоров выбрали авторы работ [124-128], предложившие иммобилизовать реагент в толще полимерной пленки, закрепленной на одной стороне консоли. К сожалению, такое решение оказалось пригодным только для определения низкомолекулярных веществ, так как использование пленок затрудняет диффузию определяемого вещества к молекулам аналитического реагента; кроме того, набухание пленки само по себе способно вызвать деформацию консоли, а также уменьшает эффективность передачи механических напряжений к поверхности чувствительного элемента.

В связи с этим, в силу специфики микромеханических сенсоров, представляется перспективным создание для них таких объемных рецепторных слоев, которые сочетали бы пористость, низкую набухаемость и жесткость крепления к поверхности для обеспечения эффективной передачи механических напряжений. Таким требованиям вполне удовлетворяют объемные рецепторные слои на основе наночастиц серебра, полученные путем ковалентного закрепления наночастиц на поверхности консоли микромеханического сенсора. Однако работы, в которых такие рецепторные слои были бы использованы для решения конкретных аналитических задач, в литературе отсутствуют.

1.3.2. Создание подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР)

Явление гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) заключается в огромном (в 10^5 - 10^6 раз) возрастании эффективного сечения комбинационного рассеяния (КР) света молекулами, адсорбированными на поверхности серебра, золота или меди [129]. Этот эффект был открыт в 1974 году при регистрации спектров КР пиридина, адсорбированного на шероховатой поверхности серебряных электродов [130], и первоначально связывался исключительно с увеличением площади поверхности подложки за счет нанесения неровностей и, следовательно, с увеличением числа сорбированных молекул. Позже было установлено, что основной вклад в наблюдаемое усиление сигнала КР вносит именно поверхность [131, 132], причем наибольший эффект вне зависимости от типа адсорбированных молекул дает серебро.

В основе явления ГКР лежат два механизма - электромагнитный, связанный с увеличением напряженности локального электромагнитного поля вблизи поверхности, и «химический», реализующийся при образовании новых возбужденных состояний комплекса молекула-металл [133-136]. Электромагнитное усиление возникает при взаимодействии световой волны (как падающей, так и рассеянной) с подложкой. При этом в серебряных структурах возникает поверхностный плазмонный резонанс (ППР) [137-140]. Возбуждение поверхностных плазмонов вызывает усиление локальных электрических полей вокруг металлических наноструктур, приводя к увеличению интенсивности излучения возбуждения и рассеянного излучения. Локальные поля могут быть усилены в гораздо большей степени, когда соседние наноструктуры взаимодействуют друг с другом на расстояниях порядка 1-2 нм [141]. Интенсивность и частота ППР зависят от длины волны падающего лазерного излучения, морфологии подложки и окружающей среды [142, 143]. Описанный эффект является дальнедействующим и не зависит от свойств исследуемых молекул. Модель электромагнитного усиления не учитывает наблюдающуюся на

практике зависимость усиления КР от структуры адсорбированных молекул.

Эта зависимость учитывается в так называемых «химических» моделях ГКР. Если адсорбированная молекула химически взаимодействует с поверхностью металла, то под воздействием электромагнитной волны в ней происходит резонансное возбуждение новых электронных состояний с переносом заряда, формирующихся за счет образования комплекса адсорбата и кластеров серебра на поверхности [144-146]. Этот эффект является короткодействующим и проявляется на молекулярном уровне.

Экспериментально регистрируемое усиление КР, которое на определенных высокоэффективных участках поверхности может достигать 10^{10} [147], по-видимому, представляет собой сочетание этих двух механизмов [148-150]. В настоящее время ГКР является одним из наиболее чувствительных аналитических методов. Он обладает высокой спектральной разрешающей способностью и чувствительностью к детальной картине молекулярного окружения поверхности. Гигантское усиление сигнала КР на поверхности металла может быть использовано для детектирования малого числа молекул и обнаружения очень слабых линий [129]. Главная характеристика ГКР, которая делает его уникальным по сравнению с другими методами, позволяющими «увидеть» отдельные молекулы, состоит в том, что сигнал КР содержит информацию о валентных колебаниях исследуемого вещества, что обеспечивает большую специфичность по сравнению с такими методами, как, например, флуоресцентная спектроскопия. Обнаружение отдельных молекул с помощью ГКР [151, 152] стимулировало дальнейшее развитие областей его практического применения в исследовании поверхности, аналитической химии, биохимии, медицине [153-166].

Одновременно совершенствовались и системы для обнаружения соединений этим методом [167, 168]. С момента открытия эффекта гигантского комбинационного рассеяния методы подготовки подложек для него прошли в своем развитии следующие стадии:

1) подложки с нерегулярным расположением неровностей на поверхности,

полученные электрохимическими методами;

2) наночастицы металла (серебра или золота) в золях с широким распределением по размерам, полученные методами «мокрой» химии или методом лазерной абляции;

3) наночастицы с контролируемой формой и размером, полученные методом химического синтеза;

4) наноструктурированные подложки с большой удельной поверхностью, контролируемым размером, формой и расстоянием между частицами, полученные методами адсорбционной иммобилизации, литографии или темплатными методами.

Подложки для ГКР на основе наноструктур стали изготавливать сразу после открытия эффекта, что было обусловлено прежде всего широкими возможностями для оптимизации параметров, влияющих на интенсивность усиленного сигнала КР, а именно размера, формы и расположения металлических наноструктур [169, 170]. В частности, простейшая методика ГКР-исследований состоит в использовании непосредственно золь, к которым добавлено исследуемое вещество [50]. Эти золи довольно легко получить при восстановлении солей металла в водном растворе различными восстановителями в присутствии ПАВ. Теоретические расчеты показывают, что усиление комбинационного рассеяния одной наночастицы золота составляет около 10^3 - 10^4 , а для частицы серебра может достигать 10^6 - 10^7 [171]. Так, авторами [172] и [173] было показано, что при длине волны возбуждающего излучения 647 нм наибольшее усиление сигнала КР наблюдается на частицах серебра с диаметром около 200 нм и наночастицах золота с диаметром около 60 нм.

Наночастицы серебра и золота в агрегированном состоянии могут обеспечить весьма значительное усиление сигнала КР, вплоть до чувствительности к одиночным молекулам определяемого вещества (аналита) [151, 152], что, по-видимому, связано с суперпозицией электромагнитных полей от большого количества наночастиц, составляющих агрегаты. Высокая концентрация молекул

аналита или некоторых солей (таких как NaCl) будет способствовать образованию агрегатов в золе и соответственно увеличению эффекта ГКР [151, 174].

Следует отметить, что в системе, состоящей из большого количества наночастиц, усиление интенсивности КР молекул ананта зависит не только от размера, формы наночастиц и расстояния между ними, но также от поляризации лазерного излучения. Таким образом, экспериментально наблюдаемый сигнал является усредненным от наночастиц и агрегатов наночастиц с различным усиливающим эффектом, что приводит к плохой воспроизводимости коэффициента усиления ГКР в системах с агрегированными наночастицами.

Воспроизводимость анализа может быть значительно улучшена, если проводить закрепление наночастиц серебра (иммобилизацию) на поверхности некоторых типов твердых подложек. Как уже отмечалось, для иммобилизации наночастиц используются бифункциональные молекулы, один конец которых связывается с поверхностью носителя, а другой конец взаимодействует с наночастицами посредством электростатического либо химического связывания с формированием упорядоченного слоя наночастиц. Для различных подложек могут быть подобраны различные бифункциональные модификаторы.

На активность получаемых подложек в усилении КР будут оказывать влияние, таким образом, не только природа носителя и наночастиц, но и природа функциональных групп на поверхности, время выдерживания носителей с модифицированной поверхностью в золе наночастиц, а также тип стабилизатора, который был использован при получении наночастиц. Эти факторы позволяют регулировать свойства подложки для достижения большего коэффициента усиления КР с лучшей воспроизводимостью, нежели у частиц в золях. Так, максимальный эффект ГКР, полученный для наночастиц серебра, сорбированных на стекле, на 2-3 порядка величины превосходит таковой для монослоя объемного металла, осажденного на стекло при напылении [60, 175]. Средний коэффициент усиления, полученный для иммобилизованных наночастиц, изменяется от 10^4 [176, 177] до 10^7 [178-180].

Во время синтеза наночастиц серебра в реакционную среду обычно добавляют стабилизаторы для предотвращения их агрегации. Однако присутствие стабилизаторов может приводить к большему отталкиванию между наночастицами и препятствовать образованию плотного слоя наночастиц на поверхности при иммобилизации. В результате этого локальное усиление электромагнитного поля между частицами будет мало, что, в свою очередь, будет сказываться на коэффициенте усиления КР [181]. Если взаимодействие молекул аналита с поверхностью наночастиц слабое, регистрируемый сигнал ГКР от них будет сильно интерферировать с сигналом молекул стабилизатора. Это неприемлемо при использовании подложки для обнаружения низких концентраций веществ, в частности, биологически активных соединений. Вероятно, поэтому для создания таких подложек используются наночастицы серебра, стабилизированные цитратом натрия: цитрат-анионы образуют очень лабильную тонкую стабилизирующую оболочку с небольшим абсолютным значением эффективного электрического заряда. Для стабилизаторов других типов в литературе практически отсутствуют сведения о способах преодоления электростатического отталкивания иммобилизованных наночастиц и, соответственно, увеличения эффективности создаваемых на их основе подложек.

Частично эта проблема может быть решена при дальнейшем «наращивании» иммобилизованных наночастиц за счет химических или электрохимических методов [182]. Достоинство такого подхода состоит в возможности контролировать оптические свойства подложки за счет варьирования расстояния между наночастицами.

Главное препятствие на пути дальнейшего развития метода ГКР состоит в получении эффективных подложек, воспроизводимо усиливающих сигнал КР молекул широкого круга аналитов. Даже малые изменения в подготовке подложки, а они обычно не могут быть хорошо проконтролированы, могут приводить к значительному разбросу в значениях коэффициента усиления, определяемого при каждом новом измерении. Этот недостаток долгое время не

позволял использовать ГКР для количественных измерений, хотя применение ГКР для качественного определения примесей интенсивно развивалось в нескольких направлениях, от биосенсоров [164] до электрохимических исследований [165, 166]. В последние годы, благодаря многочисленным исследованиям наноматериалов и их практически значимых свойств, создание подложек на основе наночастиц стало более «контролируемым», и метод ГКР стал применяться для количественного анализа [167, 183, 184], в том числе и биообъектов [185-187].

В настоящее время к подложкам для гигантского комбинационного рассеяния предъявляются следующие требования:

- 1) подложка должна обеспечивать значительное усиление сигнала КР. Путем контроля размера наночастиц, иммобилизованных на носителе, и расстояния между ними можно добиться совпадения частот поверхностного плазмонного резонанса, возникающего в наноструктурах серебра, и падающего лазерного излучения, что, в свою очередь, приводит к росту интенсивности в спектрах КР определяемых веществ;
- 2) разброс значений коэффициента усиления КР, получаемых с различных участков подложки, не должен превышать 20 %. Для этого наночастицы на поверхности носителя должны быть расположены упорядоченно;
- 3) подложка должна иметь хорошую стабильность и воспроизводимость. Эффект усиления КР должен сохраняться даже после долгого срока хранения. Кроме того, отклонение в значениях коэффициента усиления должно быть менее 20 % для различных подложек, подготовленных одинаковым способом;
- 4) подложка должна быть достаточно чистой для того, чтобы ее можно было применять для исследования не только аналитов, сильно взаимодействующих с поверхностью, но также для слабо взаимодействующих аналитов или неизвестных соединений.

В настоящее время не представляется возможным получить подложки, обладающие одновременно всеми вышеперечисленными свойствами. В

зависимости от назначения подложек некоторые из указанных выше требований для них могут быть несущественными. К примеру, в количественном анализе при использовании подложек крайне важна однородность и воспроизводимость сигнала ГКР исследуемого соединения, в то время как в анализе примесей ключевое значение имеют максимальная чувствительность подложек и поддерживаемый ими коэффициент усиления. Чувствительность и чистота подложек необходимы в анализе биообъектов ввиду их сложности для обеспечения правильной трактовки обнаруженных спектральных линий.

Анализ имеющихся в настоящее время научных работ показывает, что для получения водных дисперсий наночастиц серебра с узким распределением частиц по размерам целесообразно использовать метод восстановления нитрата серебра боргидридом натрия. Такой подход позволяет воспроизводимо получать частицы небольших размеров, агрегативно устойчивые в течение длительного времени.

Подбор эффективных стабилизаторов и их оптимальных концентраций для формирования стабильных наноструктур серебра должен осуществляться с учетом рассмотренных аспектов стабилизации. Для получения наночастиц серебра были выбраны следующие стабилизаторы:

➤ анионные:

цитрат натрия, додецилсульфат натрия (SDS), α -олефинсульфонат натрия (AOS), сульфэтоксилат додеканоат натрия (SLES);

➤ катионные:

хлорид дидецилдиметиламмония («Arquad 2.10-80»);

➤ неионогенные:

алкилполиглицозид АПГ-0810;

➤ полимерные:

гидрохлорид полигексаметиленбигуанида (PHMB), гидрохлорид полигексаметиленгуанидина (PHMH).

Контроль агрегативной устойчивости полученных золей наночастиц серебра

осуществлялся с помощью оптической спектроскопии. Размеры наночастиц определялись с помощью метода динамического светорассеяния (DLS) и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Состояние поверхности наночастиц исследовалось с помощью рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС).

Анализ имеющихся в литературе данных свидетельствует о том, что иммобилизация наночастиц серебра, стабилизированных ПАВ и полимерами, на поверхности различных носителей практически не изучена. Так, отсутствуют сведения о влиянии типа стабилизации наночастиц на плотность формирующихся при их сорбции слоев. Также неясно, какие именно факторы определяют в конечном итоге морфологию привитых слоев наночастиц. Практически все сведения по иммобилизации наночастиц, имеющиеся в литературе, относятся к наночастицам серебра, стабилизированным цитрат-анионами.

Поэтому в настоящей работе будут исследованы закономерности иммобилизации полученных наночастиц серебра с различным типом стабилизации на поверхности двух классов подложек - кремниевых и серебряных. При этом из анализа имеющихся в литературе данных можно заключить, что для сорбции наночастиц поверхность кремния должна быть функционализирована HS- и NH₂-группами. Эти группы обладают высокой аффинностью к серебру и поэтому обеспечивают прочное закрепление наночастиц этого металла на поверхности носителей. Эффективность модифицирования может быть проконтролирована с помощью метода эллипсометрии и атомно-силовой микроскопии (АСМ), а также с помощью результатов дальнейшей иммобилизации наночастиц серебра на подготовленных подложках.

Кроме того, перед созданием слоя функциональных групп поверхность кремния необходимо предварительно подготовить, а именно очистить от примесей органических соединений и гидроксилить.

Дополнительно представляется необходимым изучить закономерности иммобилизации наночастиц серебра на поверхности серебряных подложек, так

как такие носители также находят применение в химическом анализе.

Кремниевые и серебряные подложки с иммобилизованными наночастицами серебра исследовались с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

Анализ имеющихся литературных данных показал, что иммобилизованные наночастицы серебра могут быть применены для создания чувствительных рецепторных слоев микромеханических сенсоров и подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР). Для оценки чувствительности рецепторного слоя на основе наночастиц серебра в микромеханических сенсорах в качестве модельного определяемого соединения был выбран олигонуклеотид 5'-HS-T(CH₂CH₂O)₆GTGACGTAGGTTGGTGTGGTTGGGGCGTCAC-3' (5'-HS-T...C-3'; G, T, A, C – азотистые основания гуанин, тимин, аденин и цитозин соответственно) с введенной в него концевой HS-группой на полиэтиленоксидной ножке. Этот олигонуклеотид можно использовать также и в качестве аналитического реагента, поскольку он способен весьма селективно связывать один из ключевых белков системы свертывания крови – тромбин. В связи с этим результаты изучения связывания 5'-HS-T...C-3' с рецепторным слоем на основе наночастиц серебра могут быть в дальнейшем использованы для создания сенсора для определения тромбина в сыворотке крови.

Для оценки возможности применения подложек с иммобилизованными наночастицами 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. Холинэстеразы выполняют важнейшие функции в человеческом организме. Так, ацетилхолинэстераза (АХЭ) участвует в передаче нервного импульса, катализирующего гидролиз нейромедиатора ацетилхолина [188, 189], бутирилхолинэстераза (БХЭ) действует как стехиометрический акцептор

органосфатов [190, 191]. Аномально низкие значения активности холинэстераз могут быть вызваны анемиями [192], дерматомиозитами [193], интоксикацией органосфатами [194, 195], в то время как высокие значения могут указывать на нефротический синдром [196].

2. Экспериментальная часть

2.1. Реагенты и материалы

Для получения наночастиц серебра использовались нитрат серебра (Реахим, 99 %), боргидрид натрия (Acros Organics, 99 %), дигидрат цитрата натрия (Sigma Aldrich, ≥ 99 %), α -олефинсульфонат натрия (AOS, TNJC, 97 %), додецилсульфат натрия (SDS, ЗАО НПО Экрос, 99 %), алкилполиглицозид АПГ 0810 (LLC Fenchem, 95 %), хлорид дидецилдиметиламмония (Arquad 2.10-80, Akzo Nobel, 80 % раствор в изопропанол), сульфоэтоксилат додеканоат натрия (SLES, Hansa, 70 % раствор в воде), гидрохлорид полигексаметиленбигуанида (PHMB, Arch, 20 % водный раствор) и гидрохлорид полигексаметиленгуанидина (PHMH, Институт эколого-технологических проблем, 97 %). Для приготовления рабочих растворов во всех экспериментах использовалась бидистиллированная вода.

Для очистки и модифицирования поверхности кремния использовались азотная кислота (ООО Сигма Тек, хч), пероксид водорода (ООО Баум-Люкс, хч), гидроксид аммония (ООО Сигма Тек, осч), фтористоводородная кислота (ООО Баум-Люкс, хч), серная кислота (ООО Сигма Тек, хч), толуол (ООО Баум-Люкс, хч), 3-аминопропилтриэтоксисилан (3-АПТЭС, Acros Organics, 99 %) и 3-меркаптопропилтриметоксисилан (3-МПТМС, Merck, ≥ 95 %).

В экспериментах по иммобилизации наночастиц серебра использовали нанокompозит Ag/AgCl (размер частиц 40-70 нм), хлорид калия (Acros Organics, 99+ %), изопропиловый спирт (ИПС, ЗАО «Завод синтетического спирта», 99,8 %) и гидроксид калия (Acros Organics, 99 %).

В исследованиях, основанных на применении микромеханического сенсора, использовали 2-меркаптоэтанол (Acros Organics, 99 %), метанол (99,8 %, Sigma-Aldrich) и олигонуклеотид (HS-dT)(Spacer18)GTGACGTAGGTTG-GTGTGGTTGGGGCGTCAC (молярная масса 9710, 22,9 ОЕ/мл, ЗАО Синтол).

Для получения тиохолина и определения его концентрации использовали бутирилхолинэстеразу из плазмы лошади (БХЭ, ЕС 3.1.1.8, активность 264 ед/мг,

Sigma), йодид бутирилтиохолина (Sigma, США), бромид холина (Sigma, США), фосфатный солевой буфер (0,1 М, pH 7,0) и 5,5'-дитиобис(2-нитробензойную) кислоту (Sigma, USA).

Все реагенты использовали без предварительной очистки.

В работе в качестве подложек были использованы пластины недопированного кремния Si <100> размером 0,6 x 0,6 см², напечатанные серебряные электроды (подложки), а также углерод и оксид графена.

2.2. Экспериментальные методики

2.2.1. Получение агрегативно устойчивых зольей наночастиц серебра

Получение наночастиц серебра в водной среде осуществляли путем восстановления нитрата серебра боргидридом натрия при интенсивном перемешивании [29]. Для обеспечения агрегативной устойчивости зольей в процессе их получения добавляли стабилизирующие соединения, охватывающие самые распространенные классы стабилизаторов, а именно анионные поверхностно-активные вещества (ПАВ), катионные ПАВ, неионогенные ПАВ и полимеры (таблица 1). Концентрации реагентов подбирались таким образом, чтобы получить стабильные золи наночастиц серебра с концентрацией по металлу ~ 50 мкг/мл (таблица 2). Боргидрид добавляли в систему в двукратном мольном избытке по отношению к нитрату серебра; мольное соотношение серебро/стабилизатор во всех случаях составляло 1:1.

Таблица 1. Стабилизаторы, использованные в процессах получения наночастиц серебра

Тип стабилизатора	Название	Структурная формула
Анионные	Цитрат натрия	$\text{Na}^+_3(\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{COO}^-)\text{OH}-\text{CH}_2\text{COO}^-)$

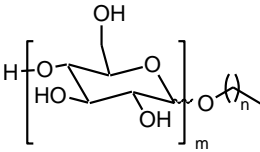
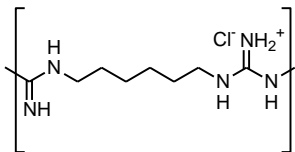
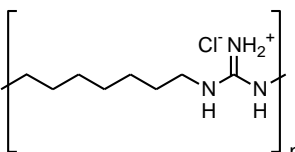
	α -олефинсульфонат натрия (AOS)	$RCH=CH-(CH_2)_nSO_3Na$, $n = 14-16$ или $14-18$
	Додецилсульфат натрия (SDS)	$CH_3(CH_2)_{11}SO_4Na$
	Сульфэтоксилат додеканоат натрия (SLES)	$CH_3(CH_2)_{11}(OCH_2CH_2)_nSO_4Na$
Катионное ПАВ	Дидецилдиметиламмоний хлорид (Arquad 2.10-80)	$C_{20}H_{42}N^+(CH_3)_2Cl^-$
Неионогенное ПАВ	Алкилполигликозид (АПГ 0810)	 $m = 4-5, n = 7-10$
Полимеры	Полигексаметиленбигуанид (PHMB)	 $n = 8-20$
	Полигексаметиленгуанидин (PHMH)	 $n = 12-50$

Таблица 2. Массы реагентов, использованных при получении наночастиц серебра

Реагент	Масса, г
Нитрат серебра	0,0159
Боргидрид натрия	0,0070
Цитрат натрия	0,0471
AOS	0,1041
SDS	0,1025
SLES	0,3000
Arquad 2.10-80	0,2669
АПГ 0810	0,4201

PHMB	0,3752
PHMH	0,1832

2.2.2. Подготовка и модифицирование поверхностей кремниевых подложек

Очистка и гидроксिलирование поверхности кремния. Пластины кремния перед модифицированием обрабатывали последовательно: смесью концентрированной H_2SO_4 и 30 % H_2O_2 (объемное соотношение 7:3) при $100^\circ C$ в течение 45 минут, 1 % об. раствором HF в течение 1 минуты, смесью концентрированного NH_4OH , 30 % H_2O_2 и дистиллированной воды (объемное соотношение 1:1:6) при $80^\circ C$ в течение 40 минут. После каждой указанной стадии пластины тщательно промывали дистиллированной водой. По окончании обработки кремниевые пластины высушивали в сушильном шкафу при $110^\circ C$ в течение 30 минут.

NH_2 -модифицирование поверхности кремния. Кремниевые пластины выдерживали в свежеприготовленном 0,1 % об. растворе 3-аминопропилтриэтоксисилана (3-АПТЭС) в толуоле в течение 30 минут, после чего промывали тщательно толуолом и высушивали в сушильном шкафу при $120^\circ C$ в течение 40 минут.

HS-модифицирование поверхности кремния. Кремниевые пластины опускали в свежеприготовленный 0,1 % об. раствор 3-меркаптопропилтриметоксисилана (3-МПТМС) в толуоле и выдерживали при $80^\circ C$ в течение 30 минут, после чего промывали последовательно толуолом, изопропанолом, дистиллированной водой и незамедлительно использовали для иммобилизации наночастиц серебра.

2.2.3. Иммобилизация наночастиц серебра на поверхности кремниевых и металлических подложек

Пластины кремния с модифицированной поверхностью выдерживали в золях наночастиц серебра в различных условиях (добавление KCl, изопропилового

спирта, повышенная температура, ультразвуковая обработка), после чего промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе.

Серебряные подложки выдерживали в золях наночастиц серебра в присутствии хлорида калия, после чего промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе.

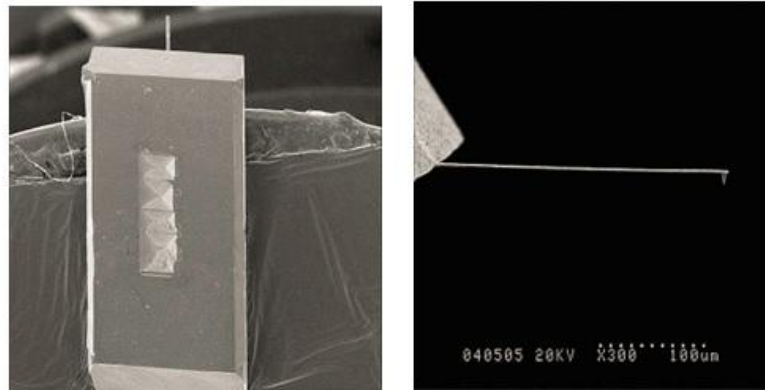
Дополнительно для проверки универсальности разрабатываемых подходов к иммобилизации наночастиц использовались такие подложки, как углерод и оксид графена. Поверхности углерода и оксида графена перед сорбцией наночастиц выдерживали в концентрированной HCl.

2.2.4. Проведение измерений с использованием микромеханического сенсора

Для контроля процессов создания рецепторного слоя на основе наночастиц 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» можно использовать коммерчески доступные кантилеверы для атомно-силовой микроскопии. В работе были использованы кремниевые кантилеверы CSG01S (таблица 3) 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 19). С одной стороны консоль покрыта тонким слоем золота.

Таблица 3. Характеристики кантилеверов CSG01S

Длина консоли, мкм	350 ± 5
Ширина консоли, мкм	35 ± 3
Толщина консоли, мкм	$2,0 \pm 0,3$
Резонансная частота колебаний, кГц	10 ± 4
Константа упругости, Н/м	0,03 (от 0,01 до 0,08)



А

Б

Рисунок 19. Типичный вид консоли микромеханического сенсора: А) вид сверху; Б) вид сбоку.

Механическая часть установки «Биоскан» (рисунок 20) включает держатель для закрепления чувствительного элемента – кантилевера, держатель для закрепления кантилевера сравнения, два лазера системы оптического детектирования деформации консолей, систему линз и видеокамеру для определения величины изгиба консоли, тefлоновую проточную измерительную ячейку объемом 200 мкл, накрытую сверху уплотняющей силиконовой прокладкой и гидрофобизованным покровным стеклом.

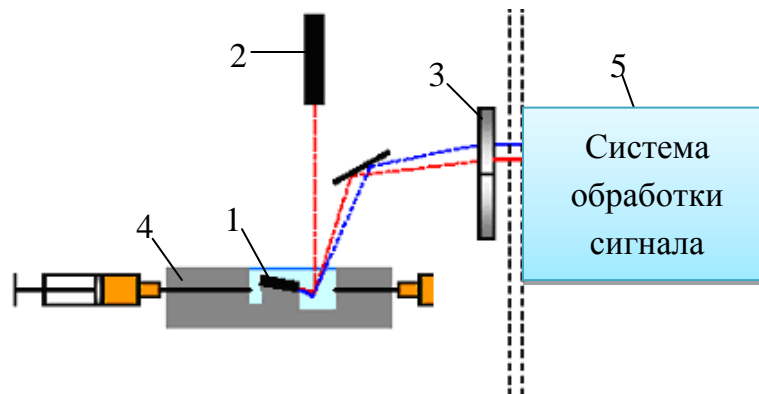


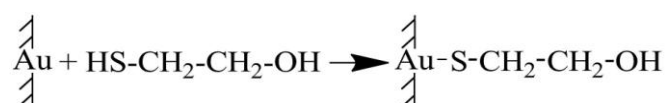
Рисунок 20. Принципиальная схема микромеханического детектора «Биоскан», 1 – кантилевер, закрепленный в тefлоновом держателе; 2 – лазер, направленный на отражающую поверхность кантилевера в область незакрепленного конца консоли; 3 – видеокамера; 4 – проточная тefлоновая измерительная ячейка; 5 – система обработки сигнала.

Перед проведением измерений в держателе закрепляют кантилевер и, при необходимости, кантилевер сравнения так, чтобы золотая отражающая поверхность консоли была расположена рядом с лазером. Затем регулируют положение лазеров так, чтобы луч каждого из них был направлен точно на конец консоли соответствующего кантилевера. Лучи, отраженные от слоя золота, через систему линз попадают в видеокамеру. При изгибании консолей их незакрепленные концы смещаются, изменяется положение отраженных лучей на фоточувствительном элементе видеокамеры. Получаемое изображение передается в компьютер, где соответствующее программное обеспечение на основе данных предварительно проведенной калибровки рассчитывает смещение по вертикали незакрепленного конца консоли. Эта величина характеризует деформацию чувствительного элемента микромеханического сенсора и прямо пропорциональна разности поверхностных напряжений на противоположных сторонах кантилевера.

Погрешность определения разности поверхностных напряжений на противоположных сторонах кантилевера, ввиду колебаний температуры, давления и механических колебаний жидкости при погружении кантилевера в жидкость, составляла 0,5 мН/м. Обработку сигнала осуществляли с помощью программного комплекса Femtoscan Online v. 2.2.91 (Центр перспективных технологий, Россия).

Иммобилизация наночастиц серебра на поверхности кантилевера. Каждый новый кантилевер перед помещением в измерительную ячейку очищали, обрабатывая его горячей смесью равных объемов концентрированной серной кислоты H_2SO_4 и 30%-ного водного раствора перекиси водорода и затем многократно промывая дистиллированной водой.

Перед иммобилизацией наночастиц кантилевер обрабатывали 10%-ным раствором 2-меркаптоэтанола в метаноле



для создания на золотой поверхности консоли покрова гидроксильных групп,

инертных по отношению к реагентам, применявшимся в дальнейшем при закреплении наночастиц серебра на кремниевой поверхности кантилевера, затем промывали метанолом и дистиллированной водой, высушивали.

На следующем этапе для создания покрова меркаптогрупп на кремниевой поверхности консоли кантилевер обрабатывали 1 % об. раствором 3-МПТМС в толуоле в течение 30 минут, промывали толуолом, высушивали.

Для иммобилизации наночастиц кантилевер, несущий слой HS-групп, обрабатывали коллоидным раствором наночастиц серебра, стабилизированных цитратом натрия, с концентрацией по серебру 50 мкг/мл, в течение 1 ч, затем промывали дистиллированной водой и высушивали.

2.2.5. Получение тиохолина

Раствор тиохолина был получен энзиматическим гидролизом йодида бутирилтиохолина. Для этого 22,6 мг йодида бутирилтиохолина растворяли в 600 мкл фосфатного солевого буфера и добавляли 400 мкл раствора бутирилтиохолинэстеразы ($c = 0,1$ мг/мл) в аналогичном буфере. Смесь инкубировали в течение 1 часа.

Концентрацию тиохолина определяли по методу Элмана [197]. Ранее полученный раствор тиохолина разбавляли в 40 раз фосфатным буфером, после чего 10 мкл полученной смеси вносили в ячейку планшетного спектрофотометра xMark (BioRad, USA), содержащую 180 мкл фосфатного солевого буфера, с последующим добавлением 10 мкл 5 мМ раствора 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной) кислоты. Далее спектрофотометрически измеряли оптическую плотность раствора при 405 нм. Концентрацию тиохолина рассчитывали по уравнению

$$c = A/\epsilon_{405}d,$$

где A – оптическая плотность, ϵ_{405} – коэффициент поглощения 5-тио-2-нитробензоат-иона при 405 нм, равный 13,3 мл/мкмоль*см, и d – длина оптического пути, равная 0,6 см.

2.2.6. Подготовка образцов для ГКР-определения тиохолина

Для определения тиохолина с помощью спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) каплю раствора тиохолина с известной концентрацией наносили на поверхности подложек, после чего высушивали при 60°C.

2.3. Методы исследования

2.3.1. Оптическая спектроскопия

Для регистрации спектров поглощения дисперсий наночастиц серебра в видимой области и контроля их агрегативной устойчивости использовали двулучевой спектрофотометр Shimadzu UV-1800 и кварцевые кюветы с длиной оптического пути 10 мм. Спектры регистрировали в диапазоне 300-700 нм, в качестве образца сравнения использовали бидистиллированную воду.

2.3.2. Динамическое светорассеяние (DLS)

Изучение распределения по размерам наночастиц серебра в золях осуществляли на анализаторе Zetasizer Nano ZS с интегрированным He-Ne лазером с мощностью 4 мВ и длиной волны 633 нм (Malvern Instruments Ltd., Англия). Измерение ξ -потенциалов проводили путем наложения электрического поля на кювету с дисперсией наночастиц серебра с использованием методики, основанной на лазерной доплеровской анемометрии.

2.3.3. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ)

Микрофотографии наночастиц серебра получали на просвечивающем электронном микроскопе Leo 912 AB Omega (Leo Ltd., Германия) с рабочим ускоряющим напряжением 100 кВ. Образцы готовили нанесением 1-2 мкл золя на

покрытую формваром медную сетку ($d = 3,05$ мм), которую затем сушили на воздухе в течение 5-10 мин. Распределение наночастиц по размерам рассчитывали на основе полученных микрофотографий с помощью программы ImageJ 1.48v.

2.3.4. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (РФЭС)

Анализ поверхности образцов наночастиц серебра проводили на рентгеновском фотоэлектронном спектрометре (РФЭС) LAS – 3000 (Riber, Франция), оснащенный полусферическим анализатором ОРХ – 150. Для возбуждения фотоэлектронов использовали немонахроматизированное рентгеновское излучение алюминиевого анода ($AlK\alpha = 1486,6$ эВ) при напряжении на трубке 12 кВ и токе эмиссии 20 мА. Рабочее давление в камере спектрометра составляло 10^{-11} мм рт. ст. Калибровку фотоэлектронных пиков проводили по линии углерода C 1s с энергией связи ($E_{св}$) 285 эВ. Обработку экспериментальных кривых осуществляли путем их представления в виде суперпозиции функций Гаусса со стандартным вычитанием фона по методу Ширли.

2.3.5. Эллипсометрия

Для измерения толщины слоя модификаторов, нанесенных на поверхность кремниевых пластин, использовали спектральный эллипсометр «Эльф» производства ЗАО «Концерн «Наноиндустрия» со следующими техническими характеристиками: спектральный диапазон длин волн 380 – 1050 нм, спектральное разрешение 2,5 нм, воспроизводимость и стабильность при измерении эллипсометрических параметров Ψ и Δ в указанном спектральном диапазоне длин волн не хуже 0,010, толщины – не хуже 0,1 нм, показателя преломления – 0,005; диапазон устанавливаемых углов падения: 45° – 90° с интервалом 50° ; диапазон измеряемых толщин: 0,1 нм – 5 мкм, диаметр светового

луча: 200 мкм. Типичное время измерения на одной длине волны составляет 0,5-2 сек. Дискретность измерений – до 400 точек на спектр.

Перед измерением образцов кремния с модифицированной поверхностью были предварительно измерены оптические свойства – коэффициент преломления и коэффициент отражения – подложки с чистой (немодифицированной поверхностью). Эти данные использовались при дальнейшем построении модели образца. Определение толщины привитого слоя проводили на основе трехслойной модели кремний/оксид кремния/слой модификатора и показателей преломления, равных соответственно 3,858, 1,462 [198] и 1,465 [199]. При расчете использовались данные с различных участков образца.

Определение толщины слоя модификаторов проводилось исходя из спектральной зависимости эллипсометрических углов в предположении, что дисперсия коэффициента преломления слоя каждого из использованных в работе модификаторов является нормальной. В этом случае программное обеспечение прибора позволяет аппроксимировать коэффициент преломления упрощенной формулой Зельмейера:

$$n(\lambda)^2 = n_0^2 + 1 / (1 - \lambda_0^2 / \lambda^2)$$

где n_0 - значение показателя преломления на бесконечной длине волны; λ_0 – длина волны, на которой n равно бесконечности.

2.3.6. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

Микрофотографии образцов получали на сканирующем электронном микроскопе Carl Zeiss Supra 40 с предельным разрешением 3-4 нм (апертура 30 мкм, датчик InLens) с рабочим ускоряющим напряжением 10 кВ. Морфология образцов определялась в режиме вторичных электронов SEI. Изображения областей, подвергавшихся элементному анализу, выполнялись в режиме обратно-рассеянных электронов QBSD (режим материального контраста). Обработку микрофотографий SEM осуществляли с помощью программы ImageJ 1.48v.

Статистически значимыми считались данные, полученные от более чем 2000 частиц.

2.3.7. Атомно-силовая микроскопия (АСМ)

Исследования профиля поверхности кремниевых пластин проводили на атомно-силовом микроскопе ФемтоСкан Онлайн (Центр Перспективных технологий, Россия). Измерения проводили в контактной моде с помощью кантилеверов NSG01 (НИИФП).

2.3.8. Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия (EDX)

Элементный микроанализ (EDX) поверхностей кремниевых подложек проводили на растровом микроскопе JEOL JSM-7600F с ускоряющим напряжением 15 кВ и с разрешением до 1 нм (ФГБНУ «Технологический институт сверхтвердых и новых углеродных материалов ТИСНУМ», г. Троицк).

2.3.9. Рентгенофазовый анализ (РФА)

Рентгенофазовый анализ наночастиц серебра проводили на рентгеновском дифрактометре Дрон-3 с CuK_α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) излучением анода.

2.3.10. Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния (ГКР)

Спектры гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) тиохолина регистрировали с помощью спектрометра InnoRam фирмы BWTech с лазером 785 нм (мощность лазера 350 мВт, диапазон измерения от 64 до 3011 см^{-1} с разрешением 4 см^{-1}). Измерения спектров тиохолина проводили на 10 % мощности.

3. Обсуждение результатов

3.1. Получение агрегативно устойчивых золь наночастиц серебра [200]

Получение наночастиц серебра в водной среде осуществляли согласно описанной в экспериментальной части методике. Агрегативную устойчивость полученных золь контролировали с помощью спектроскопии поглощения. Средний диаметр и распределение по размерам наночастиц серебра были определены методами динамического светорассеяния (DLS, в водных растворах) и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ, в высушенных образцах).

По мере добавления боргидрида натрия к смеси нитрата серебра и стабилизатора в водной среде раствор во всех случаях менял цвет от бледно-желтого до бурого. Полученные золи наночастиц серебра представляют собой агрегативно устойчивые прозрачные или слабо опалесцирующие жидкости, обладающие интенсивной полосой поглощения при $\lambda \approx 400 \pm 15$ нм (рисунок 21), обусловленной поверхностным плазмонным резонансом [30].

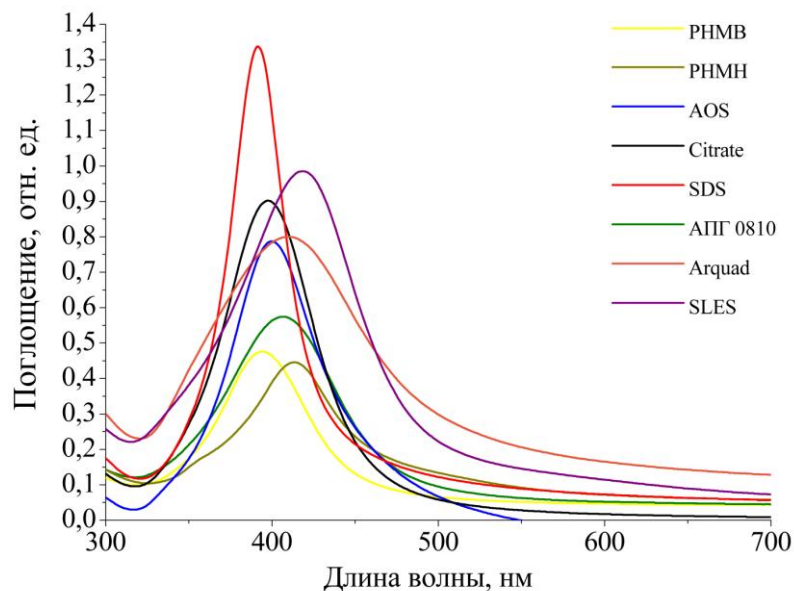


Рисунок 21. Спектры поглощения золь наночастиц серебра с различным типом стабилизации, зарегистрированные сразу после получения (концентрация металла 50 мкг/мл; разбавление в 10 раз).

Положение полосы свидетельствует о нековалентном взаимодействии молекул стабилизаторов с поверхностью металла [201]. Форма полосы во всех случаях соответствует сферическим наночастицам. В спектрах поглощения отсутствуют другие полосы, поэтому можно заключить, что в золях нет агрегатов размером более 50 нм; в частности, отсутствуют структуры несферической формы. Такие полосы также не проявляются в спектрах поглощения со временем. Для примера на рисунке 22 показано, как меняются спектры поглощения зольей наночастиц серебра, стабилизированных АПГ 0810. Можно отметить незначительное снижение интенсивности характеристической полосы поглощения и одновременно сохранение ее формы и ширины на полувысоте, что свидетельствует об агрегативной устойчивости полученных зольей.

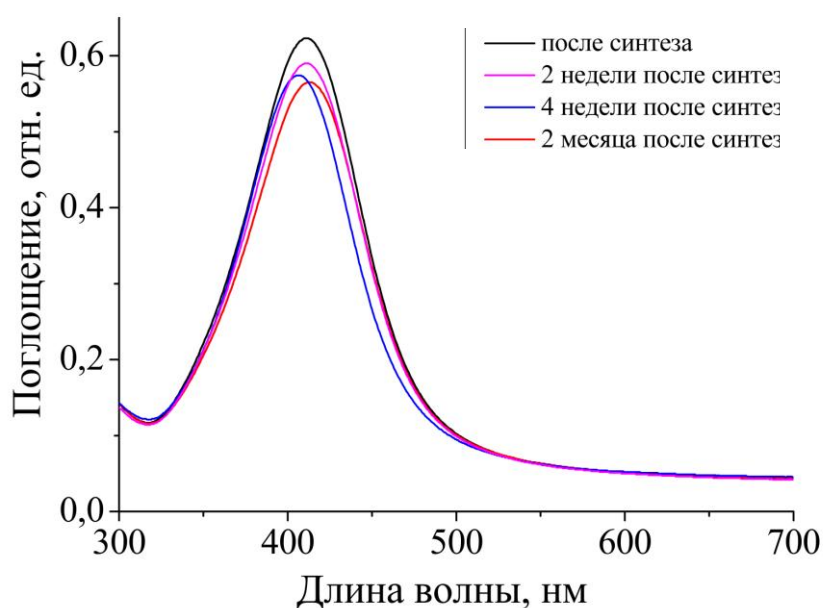
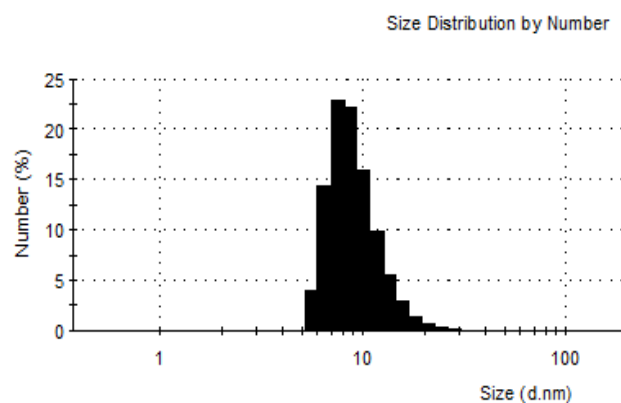
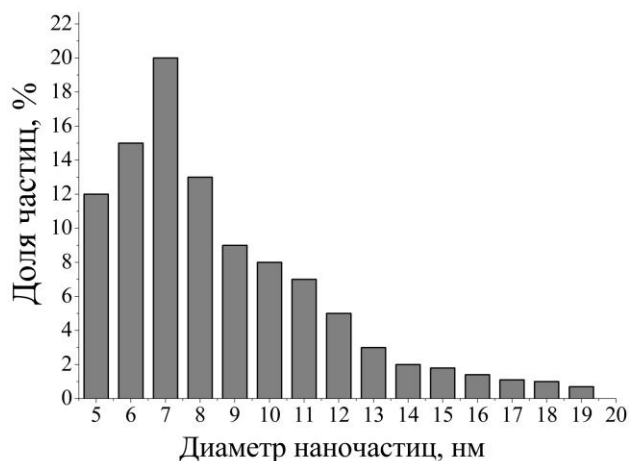


Рисунок 22. Изменение со временем спектра поглощения наночастиц серебра, стабилизированных АПГ 0810 (концентрация металла 50 мкг/мл, разбавление в 10 раз).

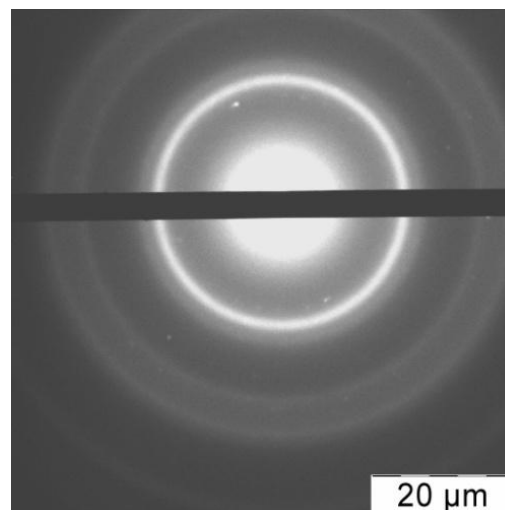
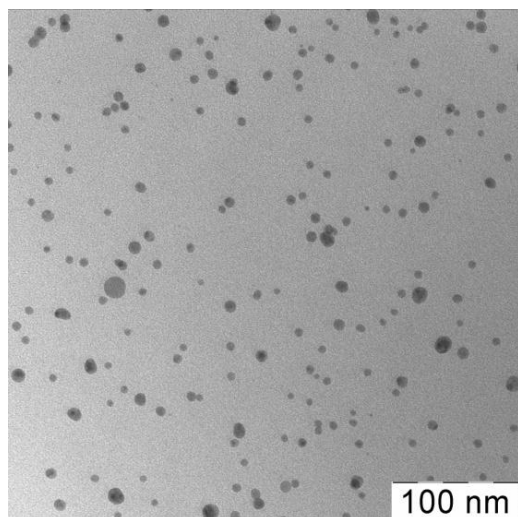
Распределения частиц по размерам в полученных золях, определенные на основании обработки результатов ПЭМ и динамического светорассеяния (DLS), хорошо согласуются. Так, на рисунке 23 представлены данные для частиц серебра, стабилизированных полигексаметиленбигуанидом (PHMB).

Типичная для всех исследованных золей микродифрактограмма (рисунок 23Г) свидетельствует о том, что наночастицы, хорошо видные на микрофотографии ПЭМ, образованы кристаллическим серебром. Данные электронной микродифракции находятся в соответствии с результатами рентгенофазового анализа (РФА) (рисунок 24).



А

Б



В

Г

Рисунок 23. Гистограммы распределения наночастиц по размерам, полученные: А) обработкой снимков ПЭМ, Б) методом DLS; В) микрофотография ПЭМ, Г) электронная микродифрактограмма наночастиц серебра, стабилизированных РНМВ.

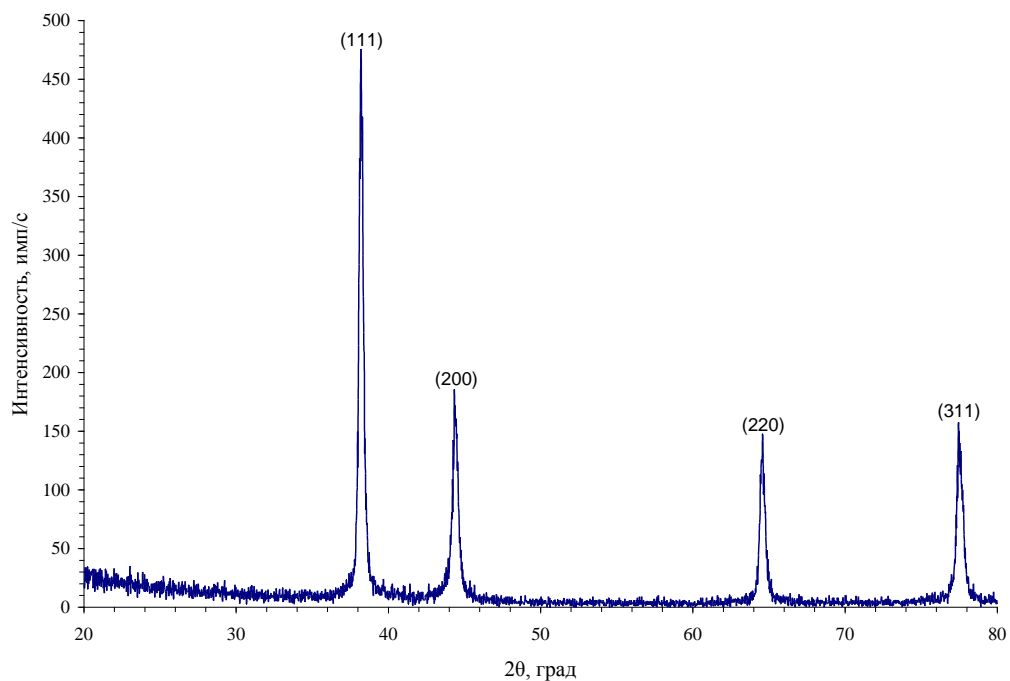


Рисунок 24. Рентгеновская дифрактограмма скоагулированных наночастиц серебра, стабилизированных PHMB.

Размеры частиц серебра в золях с различным типом стабилизации, определенные методами ПЭМ и DLS, а также ξ -потенциалы и значения $c_{\min}(\text{KCl})$ – минимальной концентрации хлорида калия, добавленного в золь, при которой частицы серебра коагулируют – для всех полученных коллоидных растворов серебра представлены в таблице 4.

Хорошо известно, что абсолютное значение ξ -потенциала может использоваться в качестве показателя устойчивости коллоидных систем. Чем выше абсолютное значение ξ -потенциала, тем больше разность потенциалов между дисперсионной средой и скользящим слоем наночастицы и, как следствие, величина заряда на поверхности наночастицы, что приводит к усилению электростатического отталкивания между частицами. Величина ξ -потенциала $\pm (30-40)$ мВ соответствует хорошей стабильности коллоидных систем, $\pm (10-30)$ мВ умеренной стабильности. Таким образом, если ξ -потенциал по абсолютной величине превышает 30 мВ, система может считаться устойчивой.

Таблица 4. Характеристики полученных золей наночастиц серебра

Стабилизатор	ξ -потенциал, мВ ($\pm 1,5$ мВ)	Средние диаметры наночастиц, нм	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

Механизмы стабилизации наночастиц серебра в золях, а также состояние их поверхности (наличие молекул стабилизатора, непосредственно связанных с поверхностью; степень окисленности металла) были исследованы с помощью рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС). Так, на рисунке 25 представлены спектры РФЭС (различные области спектра) для наночастиц серебра, стабилизированных PHMB. На спектре Ag3d (рисунок 25А) различимы полосы с энергиями 368,3 эВ ($\text{Ag}3d_{5/2}$) и 374,0 эВ ($\text{Ag}3d_{3/2}$), которые соответствуют энергиям связи электронов внутренних оболочек металлического серебра [202]. Аналогичные полосы наблюдаются в спектрах РФЭС частиц с другими типами стабилизации.

В структуре полимера PHMB (Таблица1) можно выделить атомы углерода с различными степенями окисления, соответствующими наличию алифатической и иминной групп. Полоса, соответствующая энергии связи электрона С 1s оболочки, была представлена в виде суперпозиции двух пиков (рисунок 25Б). Пик с наибольшей интенсивностью (энергия связи 285,1 эВ) может отвечать алифатическому углероду, что находится в хорошем соответствии с данными [203]. Пик с меньшей интенсивностью (энергия связи 288,0 эВ) отвечает

иминному углероду [203].

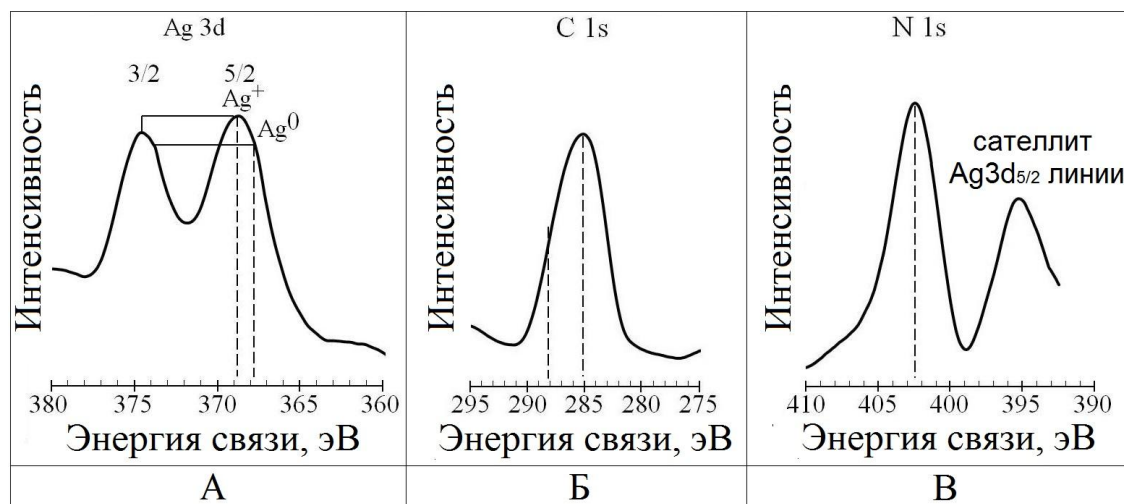


Рисунок 25. Спектры РФЭС наночастиц серебра, стабилизированных РНМВ: А) полоса Ag3d; Б) полоса C 1s; В) полоса N 1s.

Полоса N 1s перекрывается с сателлитом 3d-фотоэлектронов серебра, поэтому интерпретация данных в этой области становится затруднительной. Представляется возможным сделать лишь качественный вывод о наличии сигнала в области энергий 400-405 эВ, соответствующего наличию азота (рисунок 25В).

Таким образом, при восстановлении нитрата серебра боргидридом натрия в водном растворе при интенсивном перемешивании в присутствии стабилизаторов получены агрегативно устойчивые в течение длительного времени наночастицы серебра с узким распределением частиц по размерам. В зависимости от типа используемого стабилизатора (или ПАВ) выявлены механизмы стабилизации наночастиц. Определены значения ξ -потенциалов и выявлена устойчивость частиц к добавлению хлорид-ионов.

Далее в работе были исследованы закономерности иммобилизации полученных наночастиц на поверхностях двух наиболее распространенных классов подложек, применяющихся в химическом анализе – кремниевых и металлических.

3.2. Модифицирование поверхности кремниевых подложек

Поскольку свойства кремниевой поверхности хорошо изучены и разработаны эффективные методы их целенаправленного изменения при модифицировании различными соединениями, кремний широко используется для создания подложек.

На необработанной поверхности кремния наночастицы серебра не закрепляются, поэтому необходимо ее модифицирование функциональными группами NH_2 - и HS -, обладающими высокой аффинностью к серебру. Анализ представленных в литературе данных показал, что наиболее широко для этой цели применяются кремнийорганические соединения 3-аминопропилтриэтоксисилан (3-АПТЭС) и 3-меркаптопропилтриметоксисилан (3-МПТМС). На настоящем этапе исследований были изучены условия модифицирования, при которых на поверхности кремния формируется равномерный тонкий слой функциональных NH_2 - и HS -групп.

Известно, что чем лучше очищена кремниевая поверхность и чем выше степень ее гидроксирования, тем активнее она в реакциях с кремнийорганическими соединениями. Эффективность подготовки поверхности контролировали с помощью результатов последующего модифицирования. Контроль «прививки» модификаторов осуществляли с помощью методов эллипсометрии и атомно-силовой микроскопии (АСМ). Эти методы позволяют оценить среднюю толщину слоя модификатора на поверхности кремния и ее изменение на различных участках поверхности.

На первой стадии инструментом гидроксирования поверхности пластин недопированного кремния $\text{Si} \langle 100 \rangle$ была выбрана обработка концентрированной HNO_3 в течение 30 минут. Далее пластины промывали последовательно дистиллированной водой, изопропанолом и толуолом и модифицировали 1 % об. раствором 3-АПТЭС в толуоле в течение 1 часа. Однако обработанная таким образом поверхность оказалась малоактивной при ее дальнейшем

модифицировании, поэтому азотная кислота была заменена на смесь H_2SO_4 (конц) и 37% H_2O_2 («пиранья») в соотношении 1:1. По новой методике кремниевые пластины выдерживали в этой смеси при 80-100°C в течение 30 минут, промывали тщательно дистиллированной водой и высушивали в сушильном шкафу при 120°C в течение 30 минут, после чего промывали толуолом и модифицировали 0,1% об. (по данным [97], получение тонких слоев 3-АПТЭС на поверхности кремния возможно из растворов с объемной концентрацией не более 0,4 %) раствором 3-АПТЭС в различных растворителях: толуоле, изопропанол, смеси 1:1 об. изопропанол/вода, воде - в течение 30 минут. Далее пластины кремния промывались несколько раз соответствующим растворителем, высушивались в сушильном шкафу при 120°C в течение 30 минут и затем хранились в эксикаторе.

Данные эллипсометрии для образцов кремния с модифицированной поверхностью, полученной в различных условиях, представлены в таблице 5. Толщина привитого слоя 3-АПТЭС рассчитывалась согласно описанной в экспериментальной части процедуры на основании эллипсометрических констант и длин волн, представленных в литературе.

Эллипсометрические данные свидетельствуют о том, что в описанных экспериментальных условиях (0,1% об. раствор 3-АПТЭС, время выдерживания пластин кремния в модифицирующем растворе 30 минут) наиболее тонкий слой наносится из толуола, что подтверждает качественные выводы, сделанные на основании литературных данных. Однако привитый слой по толщине соответствует приблизительно 3-4 молекулам 3-АПТЭС, поэтому его толщина может быть уменьшена путем дальнейшего варьирования экспериментальных условий.

Таблица 5. Толщина слоя 3-АПТЭС, нанесенного на поверхность кремния из различных растворителей (концентрация 3-АПТЭС 0,1% об., время выдерживания 30 минут), данные эллипсометрии

Растворитель	Длина волны измерения, нм	Толщина слоя 3-АПТЭС, нм
Толуол	540	2,16 ± 0,1
	633	2,16 ± 0,1
Изопропанол	540	6,6 ± 0,1
	633	5,7 ± 0,1
Смесь изопропанол/вода (1:1 об.)	540	19,6 ± 0,1
	633	19,7 ± 0,1
Вода	540	17,1 ± 0,1
	633	15,5 ± 0,1

Последующие эксперименты проводились с растворами 3-АПТЭС в толуоле. Кремниевые пластины перед модифицированием опускали в раствор «пирани» с объемным соотношением $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{конц.})}/\text{H}_2\text{O}_2$ 7:3 при 100°C на 45 минут. Далее пластины выдерживали в течение 1 минуты в 1% растворе HF, а затем помещали в смесь 1:1:6 об. $\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}$ на 30 минут при 80°C. После каждой стадии обработки пластины тщательно промывались дистиллированной водой. Обработка фтороводородной кислотой необходима для удаления с поверхности слоя дегидратированного оксида. По окончании обработки пластины высушивали в сушильном шкафу при 120°C в течение 30-40 минут.

Для модифицирования использовали свежеприготовленный 0,1% об. раствор 3-АПТЭС в толуоле. Раствор модификатора до реакции модифицирования был приведен в равновесие. Пластины выдерживали в растворе модификатора в течение 30 минут, после чего тщательно промывали толуолом и высушивали в

сушильном шкафу при 120°C в течение 40 минут.

Измерение толщины привитого слоя 3-АПТЭС на подготовленных образцах проводилось с помощью эллипсометрического анализа на длине волны 540 нм, так как при этом экспериментальный результат дает хорошее соответствие с результатами, рассчитанными теоретической аппроксимацией. Как свидетельствуют данные, представленные в таблице 6, в описанных выше условиях удалось привить на поверхность кремния однородный по толщине слой 3-АПТЭС. Измеренная эллипсометрически толщина этого слоя приблизительно соответствует длине одной молекулы 3-АПТЭС (0,7 нм, по данным [97]).

Таблица 6. Толщина пленки 3-АПТЭС, нанесенной на поверхность кремния из толуола (концентрация 3-АПТЭС 0,1% об., время выдерживания 30 минут)

Образец	Толщина пленки 3-АПТЭС, нм
1	0,75 ± 0,15 нм
2	0,7 ± 0,1 нм

Исследование идентичных образцов методом АСМ позволило получить более детальную информацию о рельефе поверхности (рисунок 26). Стоит отметить, что средняя толщина привитого к поверхности слоя совпадает при измерении обоими методами; их совокупность, таким образом, может служить достоверным способом оценки эффективности модифицирования.

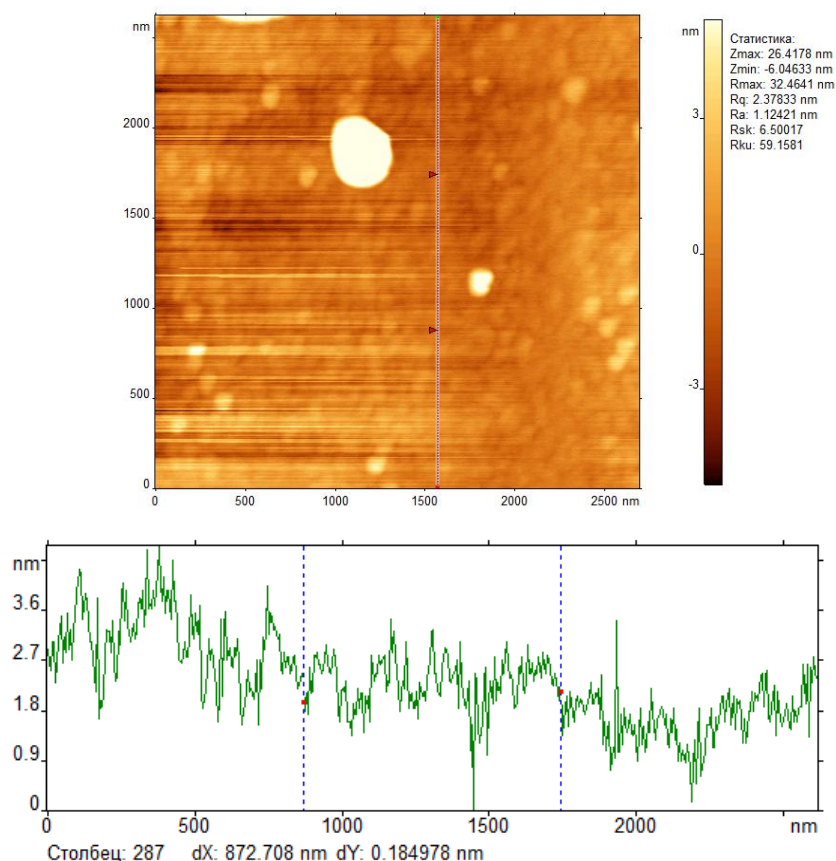


Рисунок 26. Рельеф поверхности кремния Si <100>, обработанной 0,1% об. раствором 3-АПТЭС в толуоле в течение 30 минут, по данным АСМ (вверху) и профилограмма вдоль выделенной линии (внизу).

Описанная методика была применена к модифицированию кремниевой поверхности с помощью 3-МПТМС. В таблице 7 представлены данные по толщине нанесенного в аналогичных условиях покрытия. В отличие от 3-АПТЭС, полученный слой более толстый и неоднородный по толщине. Кроме того, среднее значение его толщины различно для каждого из образцов, подготовленных при одних и тех же условиях. По всей видимости, 3-МПТМС является менее реакционноспособным в реакциях с силанольными группами на поверхности кремния. Обнаруженные перепады высот привитого слоя меркаптосилана на различных участках поверхности кремния обусловлены дефектами подложками, а также тем, что HS-группы молекул модификатора легко окисляются с образованием дисульфидных связей –S-S- .

Таблица 7. Толщина слоя 3-МПТМС, нанесенного из толуола (концентрация 3-МПТМС 0,1 % об., время модифицирования 30 минут; измерения на длине волны 627 нм), данные эллипсометрии

Образец	Толщина пленки 3-МПТМС, нм
1	0,47 ± 0,1 нм, 1,15 ± 0,1 нм, 2,9 ± 0,1 нм, 3,8 ± 0,1 нм
2	4,5 ± 0,1 нм, 5,5 ± 0,1 нм, 6,9 ± 0,1 нм

В связи с этим при работе с 3-МПТМС использовали нагревание до 80-90°C, позволяющее увеличить эффективность модифицирования. Кроме того, для предотвращения окисления созданного на поверхности кремния слоя HS-групп модифицированные пластины использовали незамедлительно после получения.

Примененные подходы к модифицированию поверхностей кремниевых пластин позволяют, таким образом, закреплять тонкие равномерные слои HS- и NH₂-групп, необходимых для дальнейшей иммобилизации наночастиц.

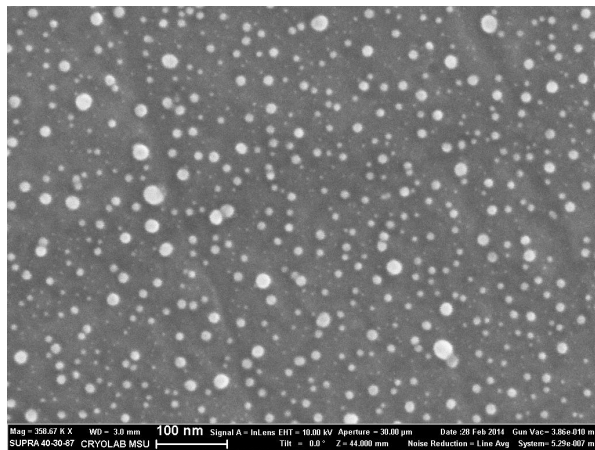
3.3. Иммобилизация наночастиц серебра на поверхности кремниевых и серебряных подложек [204-206]

В работе исследовались закономерности иммобилизации наночастиц серебра с различным типом стабилизации на поверхностях двух наиболее распространенных классов подложек, применяющихся в химическом анализе – кремниевых (с функционализированной NH₂- или HS-группами поверхностью) и металлических. В работе были использованы серебряные подложки. Использование металлических подложек, в отличие от кремниевых, не всегда требует предварительного модифицирования для последующей сорбции наночастиц. Это обусловлено тем, что ионы или молекулы стабилизирующих соединений, связанные с поверхностью наночастиц серебра, в одинаковой степени могут связываться и с поверхностью серебряной подложки.

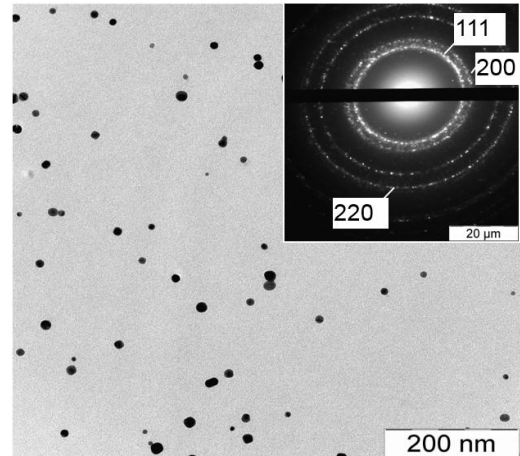
Поскольку серебро обладает высокой аффинностью к HS- и NH₂-группам, при погружении кремниевых пластин с модифицированной поверхностью в золь

металла происходит закрепление его частиц на поверхности.

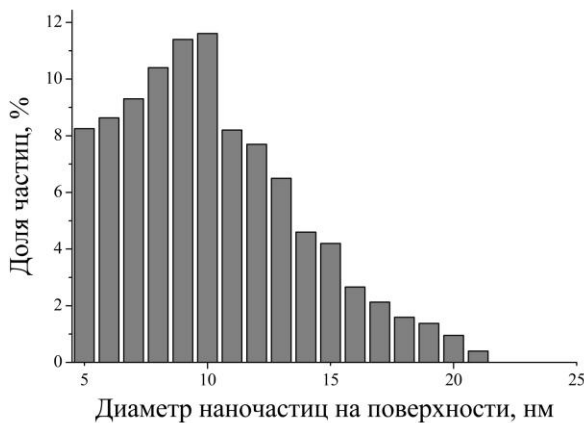
Так, наночастицы серебра, стабилизированные цитратом натрия, при иммобилизации из золя на NH_2 -группах образуют однородное равномерное покрытие (рисунок 27).



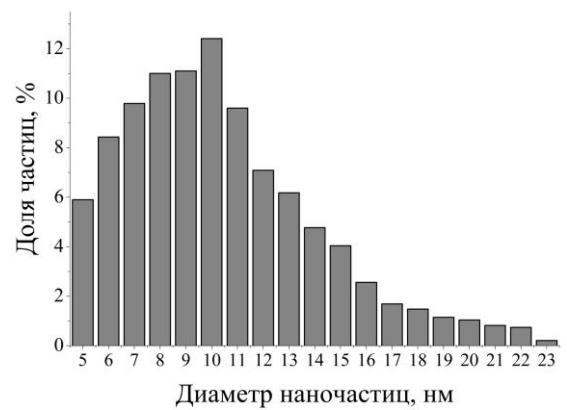
А



В



Б



Г

Рисунок 27. А) Микрофотография СЭМ наночастиц серебра, стабилизированных цитратом натрия, иммобилизованных на NH_2 -модифицированной поверхности кремния; Б) гистограмма распределения иммобилизованных частиц по размерам; В) микрофотография ПЭМ и электронная микродифрактограмма наночастиц серебра, стабилизированных цитратом натрия; Г) гистограмма распределения частиц серебра по размерам в золе, стабилизированном цитратом натрия.

Полноту протекания процесса иммобилизации оценивали, рассчитывая, какую часть полной поверхности кремниевой пластины занимают металлические ядра наночастиц. Рассчитанная на основании микрофотографий СЭМ степень заполнения поверхности наночастицами, стабилизированными цитратом натрия, составляет около 30 %. При этом размеры частиц и их распределение при иммобилизации практически не изменяются по сравнению с таковыми в исходном золе (рисунок 27 В, Г). Указанная степень заполнения поверхности наночастицами достигается в течение 1-2 часов (рисунок 28). Химическое состояние поверхности сорбированных наночастиц серебра, по данным РФЭС, соответствует нулевой степени окисления.

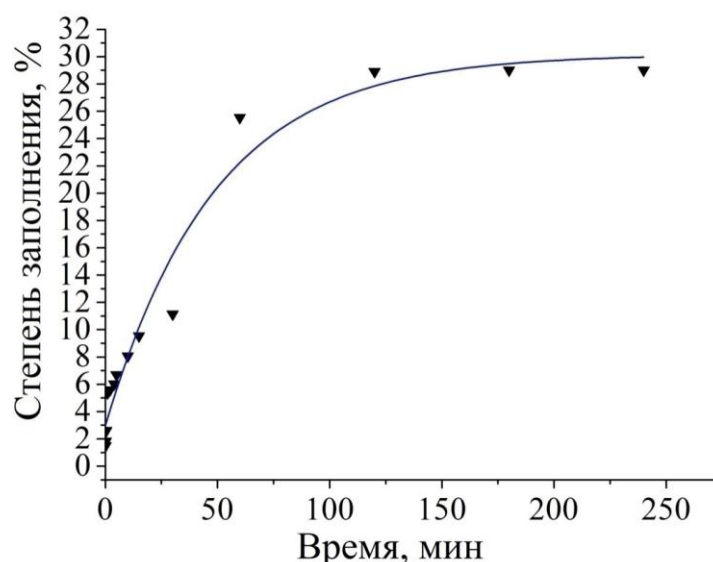


Рисунок 28. Изменение со временем степени заполнения NH_2 -модифицированной поверхности кремния наночастицами серебра, стабилизированными цитрат-анионом.

Применение такой методики для иммобилизации наночастиц, стабилизированных поверхностно-активными веществами (ПАВ) и полимерами, в большинстве случаев не позволяет заполнить поверхность частицами более чем на 1 %. Так, на рисунке 29 представлена микрофотография СЭМ аминированной поверхности кремния, на которой сорбированы частицы, стабилизированные

катионным ПАВ Arquad 2.10-80.

В этих условиях на кремнии закрепляется лишь небольшое количество частиц, расстояние между которыми многократно превышает их размеры. По всей видимости, это связано с электростатическим отталкиванием диффузных слоев ионов, окружающих наночастицы не только в растворе, но и в иммобилизованном состоянии, даже после промывания подложек.

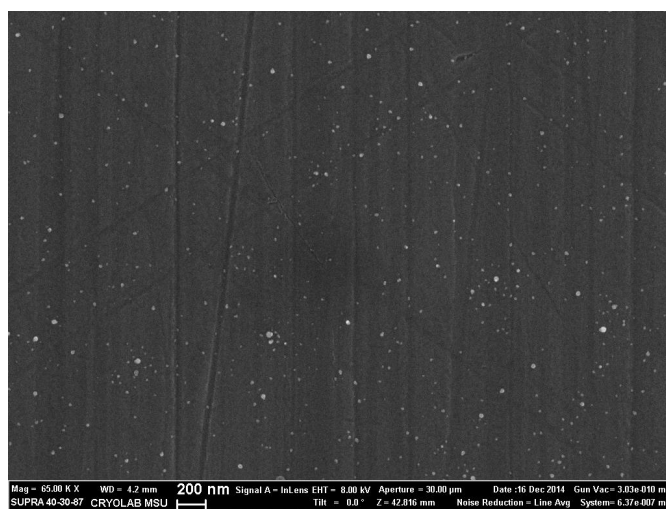


Рисунок 29. Микрофотография СЭМ стабилизированных Arquad 2.10-80 наночастиц серебра, иммобилизованных на NH₂-модифицированной поверхности кремния.

Количественно это отталкивание характеризуется ξ -потенциалом (таблица 4). Для частиц, стабилизированных цитратом натрия, значение ξ -потенциала соответствует пороговому значению ± 30 мВ, при котором коллоидные системы начинают терять устойчивость к агрегации [43], поэтому отталкивание стабилизирующих слоев невелико. Как результат, такие наночастицы образуют плотный слой при иммобилизации (рисунок 27А). Для зольей, содержащих неионогенное ПАВ АПГ 0810, ξ -потенциал имеет меньшее по модулю значение, но частицы оказываются более стабильными ввиду образования структурно-механического барьера из молекул полимерного ПАВ и большого количества координационных связей серебра и этоксигрупп. Частицы, покрытые молекулами

Arquad 2.10-80, отличаются большим абсолютным значением ξ -потенциала, и, следовательно, электростатические силы отталкивания между частицами практически не позволяют им закрепиться на поверхности.

Таким образом, для увеличения степени заполнения поверхности наночастицами необходимо, по крайней мере, частично разрушить связь стабилизатора с поверхностью частицы. Для этого адсорбцию следует, по-видимому, проводить в условиях пониженной коагуляционной устойчивости зольей. Этого можно добиться введением коагулянтов, например электролитов. Увеличение ионной силы в коллоидных растворах наночастиц серебра способствует сжатию диффузных слоев ионов вокруг частиц и уменьшает значение их ξ -потенциала. Кроме того, добавление ионов, специфически сорбирующихся на поверхности серебра, например хлорид-ионов, приводит к вытеснению молекул стабилизатора с поверхности наночастиц и дополнительно способствует коагуляции зольей.

Данные Таблица4 свидетельствуют о том, что даже низкие концентрации хлорид-иона вызывают дестабилизацию большинства полученных зольей наночастиц серебра. Наименьшей устойчивостью к хлориду калия обладают наночастицы, стабилизированные цитратом натрия и положительно заряженным полимером РНМН. Низкая устойчивость зольей с анионными стабилизаторами связана с перезарядкой хлорид-ионом поверхности металлического ядра наночастиц; на отрицательно заряженной поверхности отрицательно заряженные (в диссоциированном состоянии) молекулы стабилизатора не удерживаются, что приводит к потере агрегативной устойчивости дисперсий даже в присутствии очень малых количеств хлорид-иона (Таблица4).

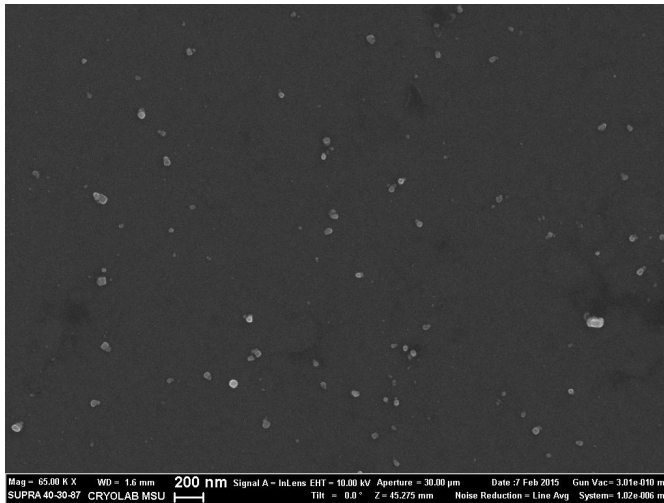
Золи, стабилизированные катионным ПАВ Arquad 2.10-80, сохраняют стабильность в присутствии большого избытка хлорид-ионов, так как последние, отрицательно заряжая поверхность металлического ядра частицы, усиливают электростатическое взаимодействие между положительно заряженными гидрофильными группами молекул стабилизатора и отрицательно заряженной

поверхностью серебра.

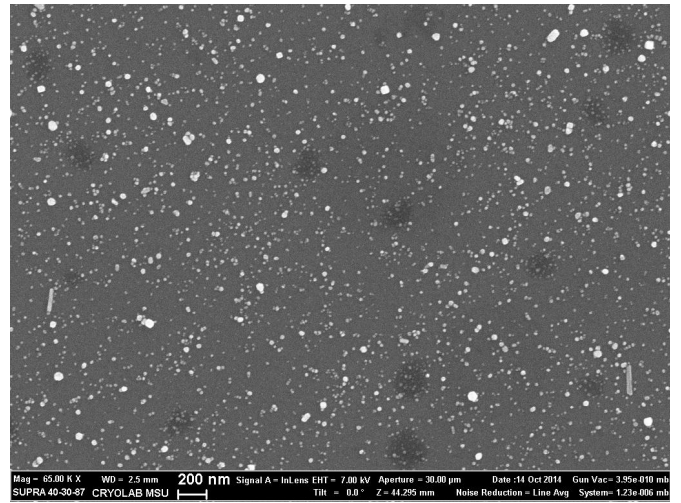
Введение хлорида калия в концентрации, меньшей $c_{\min}(\text{KCl})$, не приводит к коагуляции, но уменьшает абсолютную величину ξ -потенциала, что должно способствовать уменьшению стабильности частиц в растворе. Так, добавление хлорида калия в золи серебра при иммобилизации приводит к увеличению количества адсорбированных наночастиц (рисунок 30). Это коррелирует с уменьшением ξ -потенциала: для наночастиц, стабилизированных РНМВ, его значение уменьшается от +46 мВ до +17 мВ при введении 0,08 М КСl. При добавлении хлорида калия уменьшается электростатическое отталкивание между частицами, а также между частицами и поверхностью, что приводит к сокращению расстояния между ними в иммобилизованном состоянии – на кремнии.

Для предотвращения образования крупных агрегатов частиц – «черни» – сорбцию в присутствии хлорид-ионов целесообразно проводить при концентрациях хлорида калия, несколько меньших порогового значения $c_{\min}(\text{KCl})$, соответствующего коагуляции частиц.

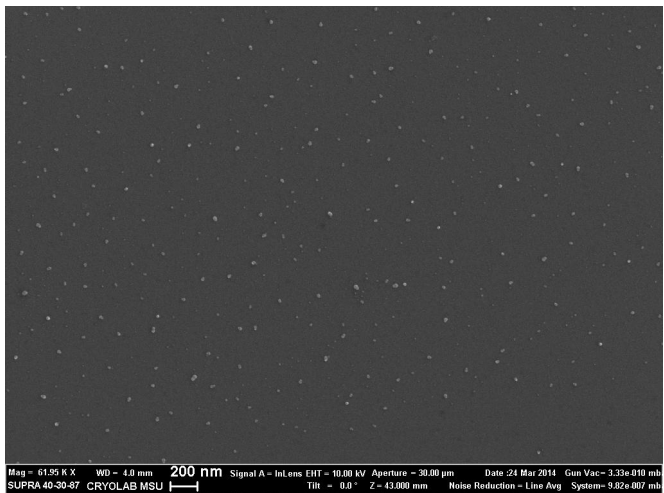
Иммобилизация в присутствии хлорид-ионов может приводить к закреплению на поверхности, помимо одиночных наночастиц, агрегатов частиц с размерами около 90-100 нм с неравномерным распределением по поверхности. Для примера на рисунке 31 представлена типичная микрофотография СЭМ наночастиц, сорбированных из зольей, стабилизированных SDS, в присутствии 0,07 М КСl. При сравнении с данными таблицы 4 видно, что размер частиц значительно увеличивается вследствие агрегации.



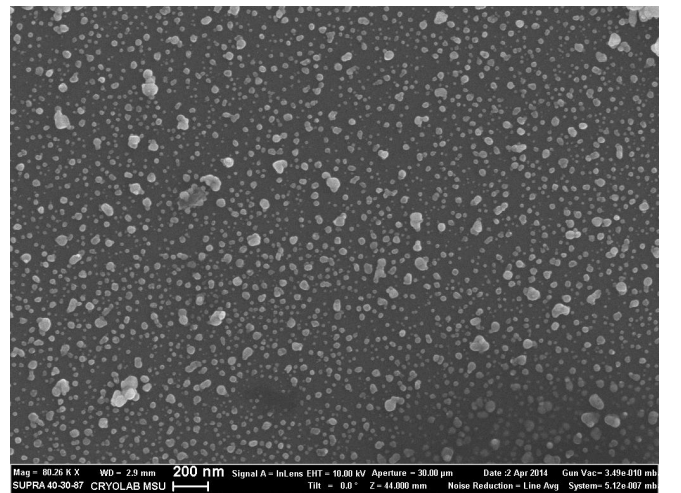
А



Б



В



Г

Рисунок 30. Микрофотографии СЭМ наночастиц серебра, иммобилизованных на NH_2 -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 .

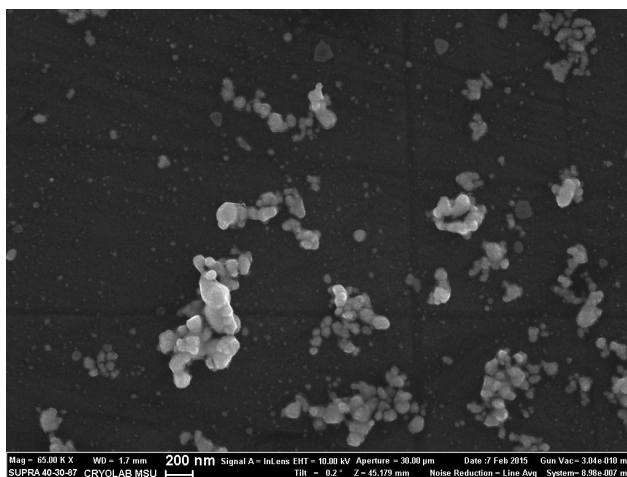


Рисунок 31. Микрофотография СЭМ NH_2 -модифицированной поверхности кремния с иммобилизованными в присутствии 0,07 М КСl наночастицами серебра, стабилизированными SDS.

Схожим влиянием на сорбционные свойства наночастиц в ряде случаев обладает также изопропиловый спирт. Добавление спирта в золь наночастиц приводит к снижению диэлектрической проницаемости раствора, что в свою очередь, уменьшает толщину ионных оболочек, окружающих наночастицы. Часть ионов при этом образует ионные пары, уменьшая таким образом электрический заряд мицеллы и, следовательно, электростатическое отталкивание между наночастицами, что способствует падению коагуляционной устойчивости золя.

Стоит отметить, что введение хлорид-ионов в исходные золи не влияет на окислительное состояние поверхности частиц. Так, на рисунке 32 представлен спектр РФЭС для иммобилизованных наночастиц серебра, стабилизированных РНМВ. В спектре присутствуют две полосы с энергиями 368,1 эВ ($3d_{5/2}$) и 374,0 эВ ($3d_{3/2}$), соответствующие металлическому серебру. Полученные для иммобилизованных частиц спектры идентичны спектрам, зарегистрированным от наночастиц в золях, стабилизированных РНМВ (рисунок 25). Такая закономерность наблюдается и для частиц с другими использованными типами стабилизации.

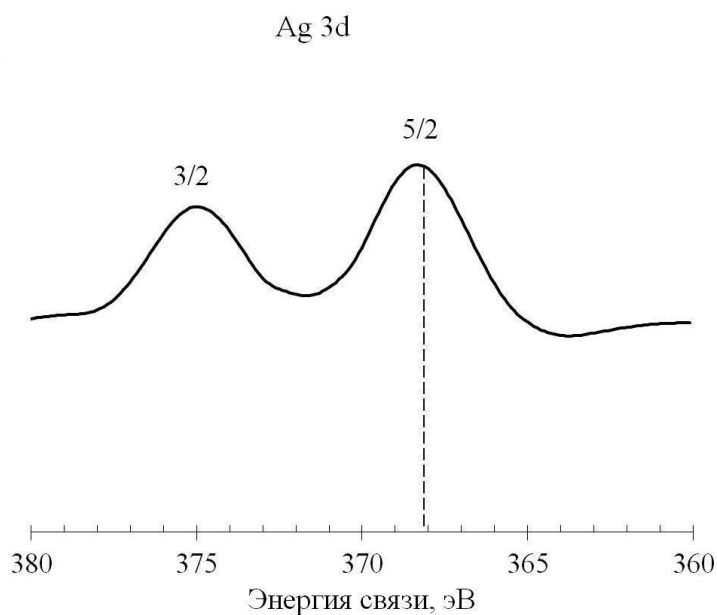


Рисунок 32. Спектр РФЭС Ag3d стабилизированных РНМВ наночастиц серебра, иммобилизованных в присутствии 0,08 М КСl на NH₂-модифицированной поверхности кремния.

Для практического использования двумерных слоев наночастиц часто оказывается необходимой именно равномерность таких слоев, в частности, минимизация количества агрегатов. Дезагрегация агломератов частиц может быть достигнута с помощью ультразвуковой (УЗ) обработки. В ряде случаев она, в сочетании с использованием хлорида калия, способствует формированию плотного и, одновременно, равномерного слоя наночастиц серебра на кремнии (рисунок 33).

Влияние ультразвуковой обработки, тем не менее, неодинаково выражено при сорбции разных наночастиц серебра. Так, стабилизированные анионными ПАВ SDS и SLES наночастицы оказываются нечувствительны к ультразвуковой обработке даже в условиях коагуляционной неустойчивости в присутствии КСl. Таким образом, дестабилизация золь является фактором, способствующим сорбции наночастиц серебра из золь на функционализированной поверхности кремния.

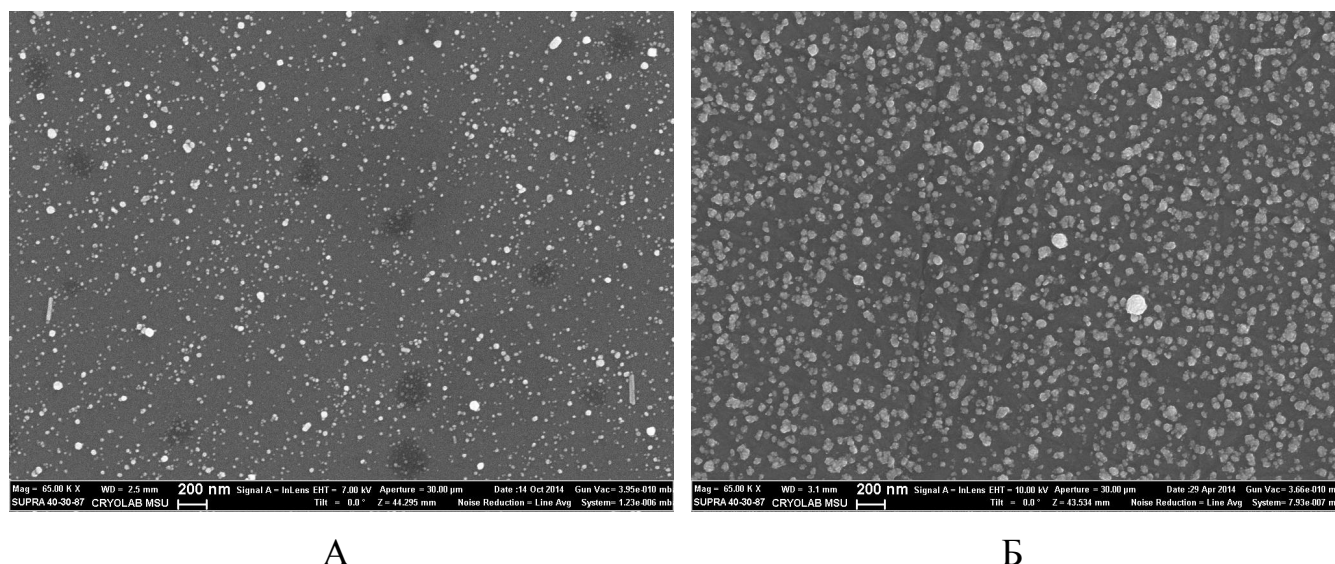


Рисунок 33. Микрофотографии СЭМ стабилизированных АПГ 0810 наночастиц серебра, иммобилизованных: А) в присутствии 0,7 М КСl; Б) в присутствии 0,7 М КСl и при УЗ-обработке (120 Вт, 35 кГц, 1 час).

Другим фактором, изученным в работе и напрямую влияющим на процесс иммобилизации наночастиц, является температура. При повышении температуры наблюдается образование конгломератов наночастиц серебра на поверхности и увеличение степени заполнения. По всей видимости, 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 зольей, стабилизированных анионным ПАВ SLES и полимерами РНМВ и РНМН.

В таблице 8 обобщены данные по степеням заполнения NH_2 -модифицированной поверхности кремния наночастицами. В большинстве случаев сорбция наночастиц в условиях пониженной коагуляционной устойчивости позволяет добиться формирования достаточно плотного – до степени заполнения 20% – слоя наночастиц, несущих на себе стабилизаторы разных типов.

Таблица 8. Заполнение NH_2 -модифицированной поверхности кремния Si <100> наночастицами серебра при иммобилизации, данные СЭМ (в скобках приведена концентрация KCl, M)

Условия проведения иммобилизации	20° С	20° С, в присутствии KCl	80 °С	20° С, 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.

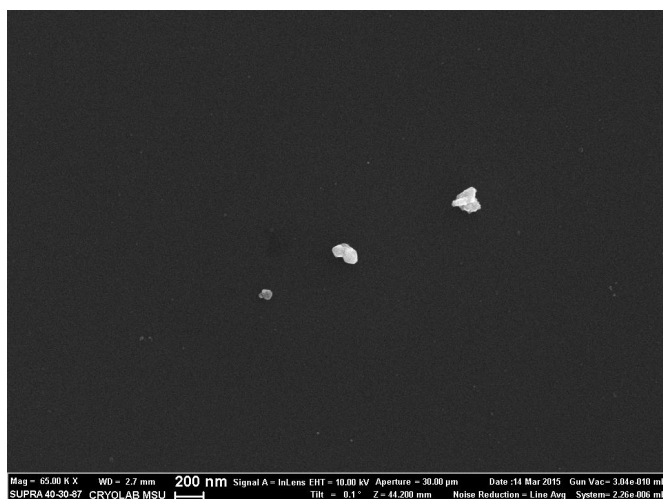
При замене NH_2 -модифицированных поверхностей кремния на HS-модифицированные выявленные закономерности иммобилизации наночастиц серебра сохраняются (таблица 9). В частности, наблюдается увеличение степени заполнения поверхности наночастицами при добавлении хлорида калия в модифицирующий золь в процессе иммобилизации (рисунок 34).

На основании полученных данных можно заключить, что электростатическое отталкивание между частицами является важнейшим фактором, препятствующим иммобилизации наночастиц, в то время как электростатическое взаимодействие частиц с поверхностью подложки практически не влияет на степень заполнения поверхности наночастицами при сорбции.

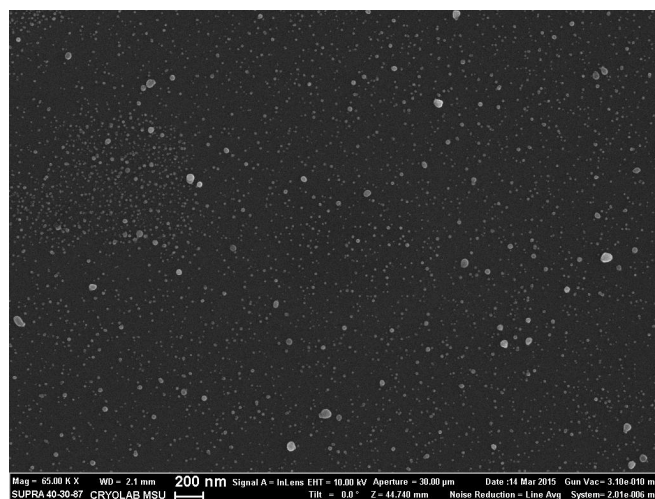
Таблица 9. Заполнение HS-модифицированной поверхности кремния Si <100> наночастицами серебра при иммобилизации, данные СЭМ (в скобках приведена концентрация KCl, M)

Условия проведения иммобилизации	20° С	20° С, в присутствии KCl		80° С	20° С, 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)
Arquard 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.



А



Б

Рисунок 34. Микрофотографии СЭМ стабилизированных AOS наночастиц серебра, иммобилизованных на HS-модифицированной поверхности кремния: А) в отсутствие KCl; Б) в присутствии 0,07 М KCl.

Для подтверждения последнего факта дополнительно проводили иммобилизацию наночастиц серебра, стабилизированных катионным ПАВ Arquad 2.10-80, в присутствии гидроксида калия (рисунок 35). Концентрацию гидроксида калия подбирали таким образом, чтобы HS-модифицированная поверхность кремния заряжалась отрицательно за счет диссоциации тиольных групп, но при этом не происходило деструкции слоя оксида кремния на подложке. Видно, что увеличение концентрации гидроксид-ионов в золе наночастиц не приводит к сколько-нибудь значимому изменению степени заполнения поверхности наночастицами.

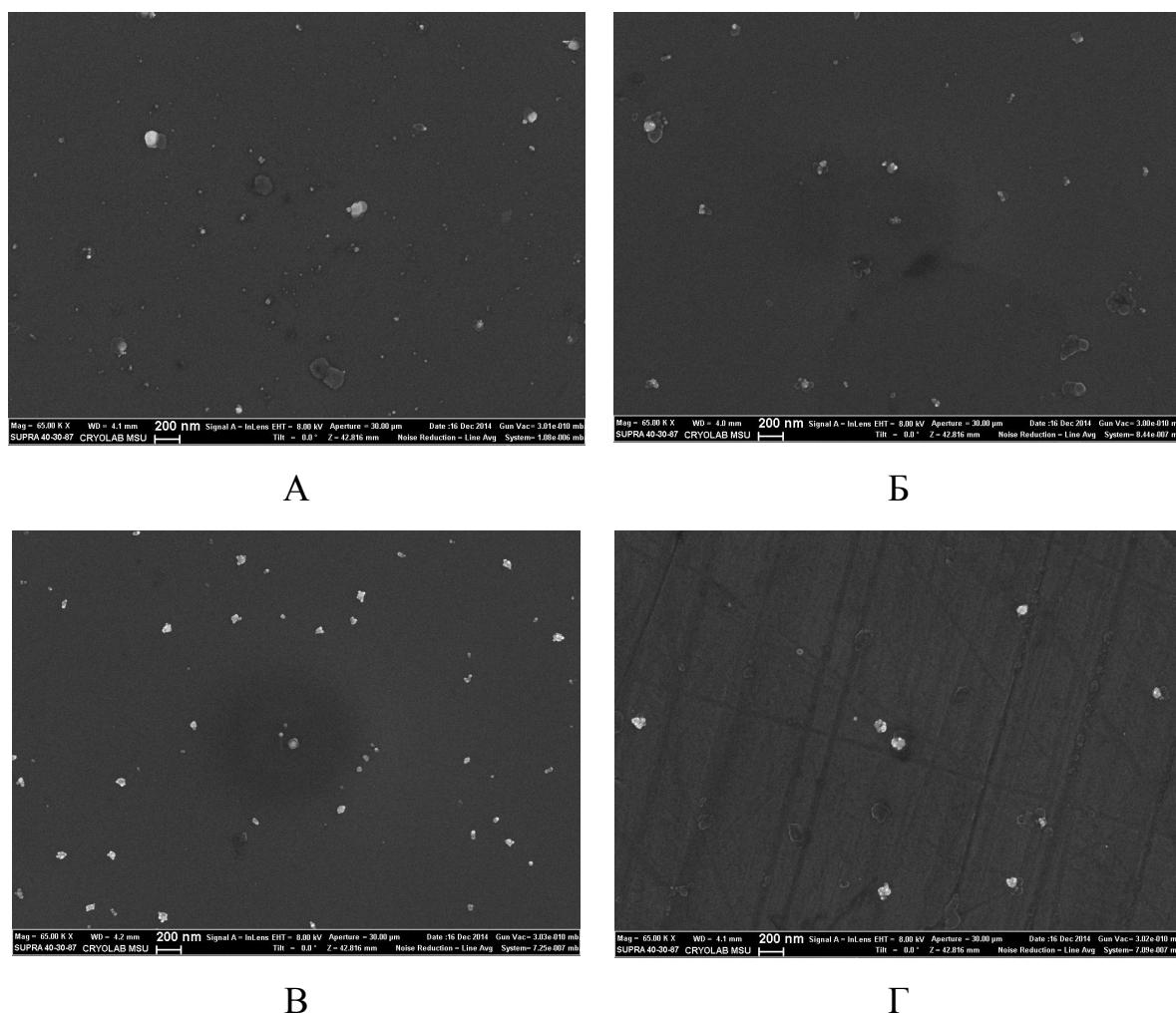


Рисунок 35. Микрофотографии СЭМ стабилизированных Arquad 2.10-80 наночастиц серебра, иммобилизованных на HS-модифицированной поверхности кремния в присутствии: А) 0,23 М КОН; Б) 0,42 М КОН; В) 0,71 М КОН; Г) 1,25 М КОН.

Разработанный общий подход к адсорбционной иммобилизации наночастиц серебра различных типов с различным химическим составом поверхности на поверхности кремниевых подложек достаточно универсален и может быть применен к металлическим подложкам, в частности, серебряным. Как уже отмечалось, при проведении иммобилизации наночастиц серебра на поверхности серебряных подложек предварительного модифицирования в ряде случаев можно избежать. Такой подход может быть реализован, например, при использовании в качестве стабилизаторов наночастиц таких соединений, как полимеры РНМВ и РНМН. Молекулы этих соединений за счет имеющихся в их составе атомов азота имино- и аминогрупп выступают как связующие агенты между подложкой и частицами.

В ходе выполнения работы было установлено, что поверхность серебра заполняется наночастицами, стабилизированными РНМВ, при их иммобилизации в присутствии хлорида калия в гораздо большей степени, нежели при иммобилизации в отсутствие хлорид-ионов. Типичные микрофотографии СЭМ серебряных подложек с иммобилизованными наночастицами серебра представлены на рисунке 36. На поверхности серебряной подложки после сорбции наночастиц и многократного промывания присутствуют как одиночные наночастицы, так и конгломераты, состоящие из большого количества близко расположенных частиц.

Такой характер распределения иммобилизованных наночастиц по поверхности серебряной подложки наблюдается, если проводить сорбцию при добавлении хлорида калия в концентрациях, не превышающих концентрацию $c_{\min}(\text{KCl})$, соответствующую порогу коагуляции золя наночастиц. При $c(\text{KCl}) > c_{\min}(\text{KCl})$ на поверхности в ходе иммобилизации формируются крупные кристаллические образования серебра с размерами более 100 нм (рисунок 37). При этом количество наночастиц, имеющих меньший размер, и степень заполнения поверхности уменьшаются.

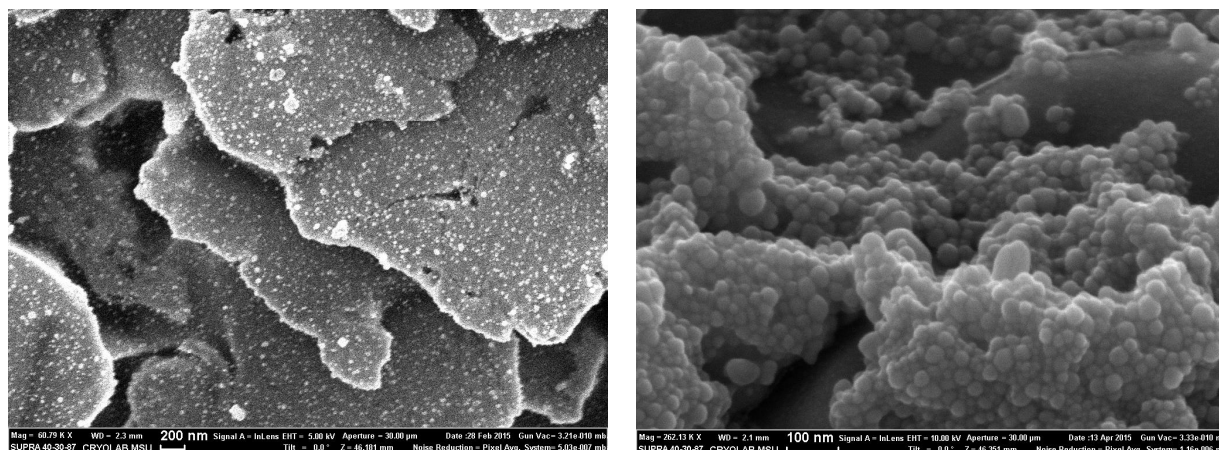
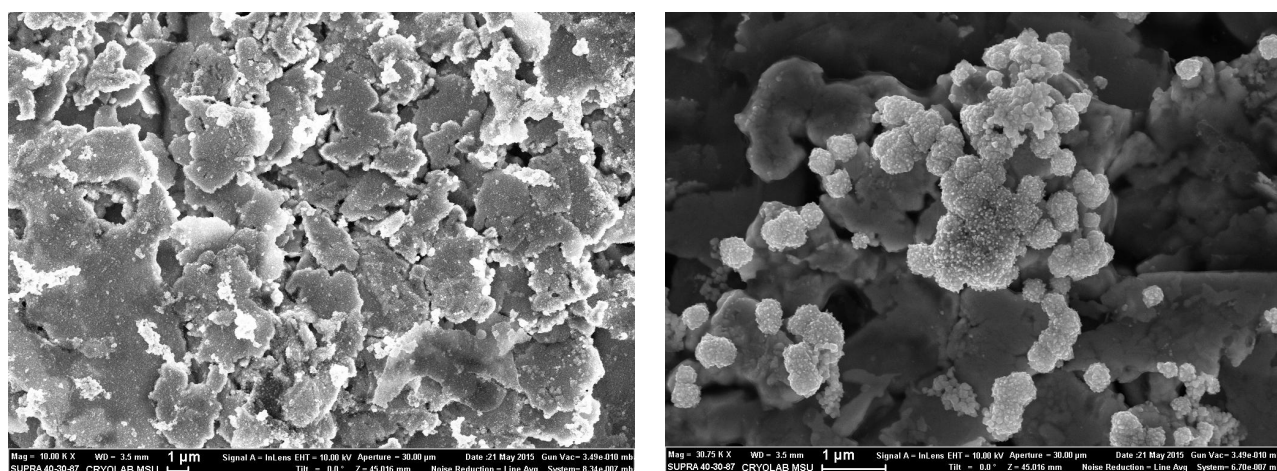


Рисунок 36. Микрофотографии СЭМ серебряной подложки с иммобилизованными в присутствии 0,08 М наночастицами серебра, стабилизированными РНМВ.



А

Б

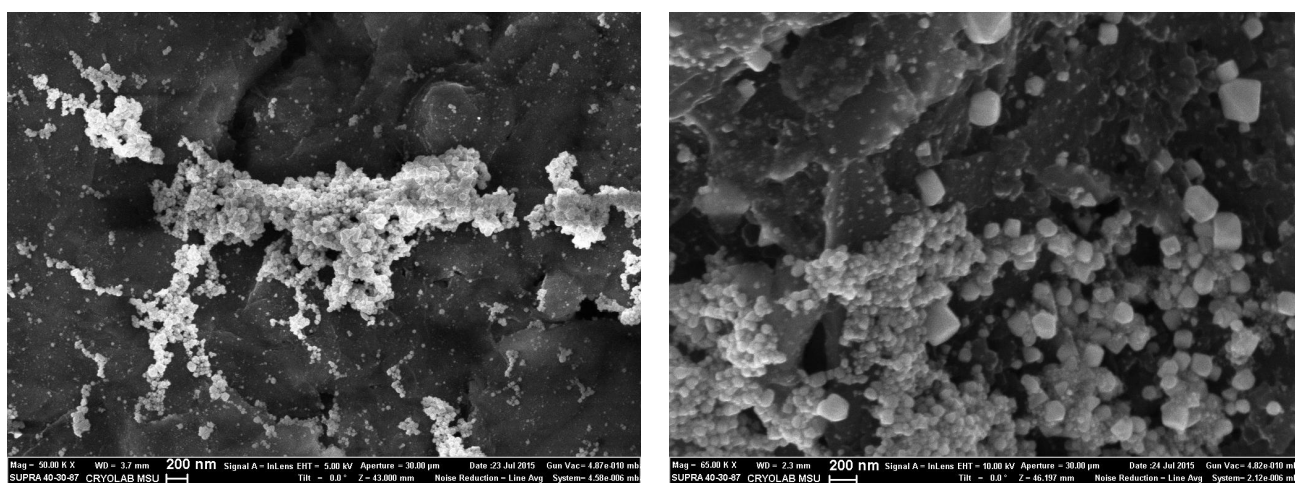
Рисунок 37. Микрофотографии СЭМ серебряной подложки со стабилизированными РНМВ наночастицами серебра, иммобилизованными: А) в присутствии 0,08 М КСl ($c(\text{KCl}) < c_{\text{min}}(\text{KCl})$); Б) в присутствии 0,13 М КСl ($c(\text{KCl}) > c_{\text{min}}(\text{KCl})$).

Аналогичная картина наблюдается также при использовании таких подложек, как углерод и оксид графена (рисунок 38).

Разработанная методика иммобилизации наночастиц может быть адаптирована также и для других типов наночастиц, 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 заполнению, близкой к количественной (рисунок 39).

Одновременно с иммобилизацией, по-видимому, происходит и перекристаллизация основы AgCl из раствора хлорида калия на подложку. Этим объясняется рост изначального размера частиц композита (более 200 нм в диаметре на подложке против 40-70 нм в исходном материале).



А

Б

Рисунок 38. Микрофотографии СЭМ стабилизированных РНМВ наночастиц серебра, иммобилизованных в присутствии 0,08 М КСl: А) на поверхности оксида графена; Б) на поверхности углерода.

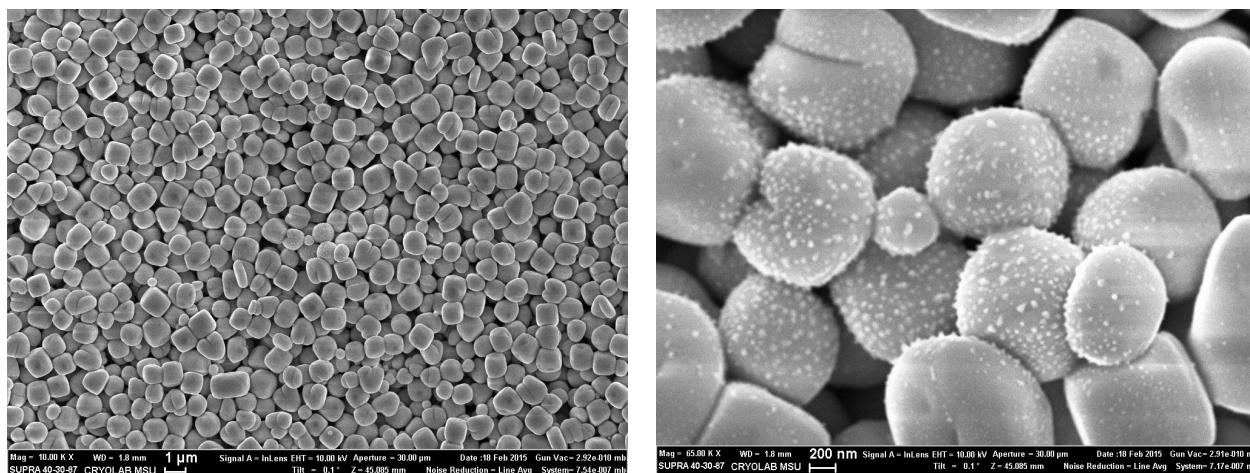


Рисунок 39. Микрофотографии СЭМ частиц композита Ag/AgCl , иммобилизованного на NH_2 -модифицированную поверхность Si в присутствии 2 М KCl при УЗ-обработке (120 Вт, 35 кГц, 1 час).

Таким образом, были исследованы закономерности адсорбционной иммобилизации наночастиц серебра на поверхности различных подложек. Установлено, что для получения плотных слоев наночастиц с большой степенью заполнения иммобилизацию наночастиц серебра, стабилизированных молекулами ПАВ и полимеров, необходимо проводить в условиях пониженной коагуляционной устойчивости золь. Показано, что хлорид-ионы за счет специфической сорбции вытесняют молекулы стабилизатора с поверхности частиц и способствуют, таким образом, коагуляции золь. Уменьшение агрегативной устойчивости золь серебра через изменение заряда поверхности частиц позволяет целенаправленно создавать на поверхности подложек слои наночастиц серебра с различными структурными характеристиками.

3.4. Применение иммобилизованных слоев наночастиц серебра в химическом анализе [207-208]

Разработанные подходы к сорбции наночастиц серебра с различным типом стабилизации могут быть реализованы при создании систем, используемых в химическом анализе. В настоящей работе привитые слои наночастиц, полученные

методом адсорбционной иммобилизации из золей, использовались для улучшения аналитических характеристик микромеханических сенсоров и в создании подложек для гигантского комбинационного рассеяния (ГКР).

3.4.1. Объемный дизайн рецепторного слоя микромеханических сенсоров

В настоящей работе для создания объемного рецепторного слоя микромеханического сенсора на поверхность чувствительного элемента микромеханического сенсора – кантилевера – были иммобилизованы наночастицы серебра, стабилизированные цитратом натрия. Поскольку поверхность серебра обладает высокой аффинностью к меркаптогруппам, можно достаточно легко ковалентно закрепить на поверхности таких наночастиц огромный ряд известных аналитических реагентов, включая, например, белки и нуклеиновые кислоты. Сенсор с рецепторным слоем на основе наночастиц серебра можно использовать и для прямого определения соединений, содержащих HS-группу или дисульфидную связь.

Для контроля процессов создания рецепторного слоя на основе наночастиц 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» можно использовать коммерчески доступные кантилеверы для атомно-силовой микроскопии. В работе были использованы кремниевые кантилеверы CSG01S (Таблица 3) производства НИИФП (Государственный Научно-исследовательский институт Физических проблем имени Ф.В. Лукина, Россия).

Кантилеверы CSG01S имеют два типа химически неэквивалентных поверхностей: золотой отражающий слой и кремниевую основу. Создание объемных структур на золотой поверхности может существенно ухудшить ее отражающую способность, и, как следствие, точность измерения деформации консоли кантилевера, поэтому рецепторный слой в процессе изготовления

сенсора создавали на кремниевой поверхности консоли.

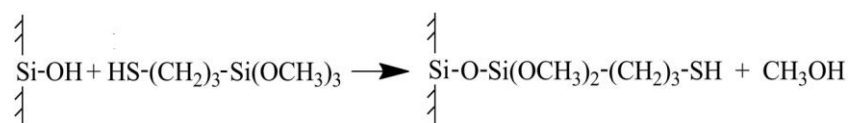
Связь частицы серебра с поверхностью рецептора должна быть достаточно жесткой. Закрепление наночастиц осуществляли за счет прочного связывания с функциональной HS-группой 3-меркаптопропилтриметоксисилана (3-МПТМС), в свою очередь, ковалентно закрепленного на кремниевой поверхности. Для иммобилизации использовали разработанные ранее в ходе выполнения работы подходы. В связи с необходимостью обеспечения эффективной передачи механических напряжений от наночастиц к консоли «прививку» меркаптосилана к поверхности консоли проводили в условиях, обеспечивающих создание тонкого и, в то же время, однородного по толщине слоя 3-МПТМС.

При протекании на любой из сторон кантилевера химической реакции или сорбционных процессов, или их совокупности, на поверхности изменяется величина поверхностных напряжений. Если поверхности противоположных сторон консоли химически различаются, то механические напряжения на этих поверхностях изменяются по-разному. В этом случае изменение поверхностных напряжений на одной стороне не компенсируется соответствующим изменением на другой стороне, и на консоль начинает действовать дополнительная сила, под действием которой консоль упруго изгибается. При достижении определенной величины изгиба эта сила компенсируется силой упругости, стремящейся вернуть консоль в исходное положение, и деформирование прекращается. В процессе изгибания незакрепленный конец консоли смещается. По величине его смещения с использованием законов, описывающих упругую деформацию твердых тел, можно рассчитать величину силы, вызвавшей изгиб, и разность усредненных значений поверхностного напряжения на противоположных сторонах консоли.

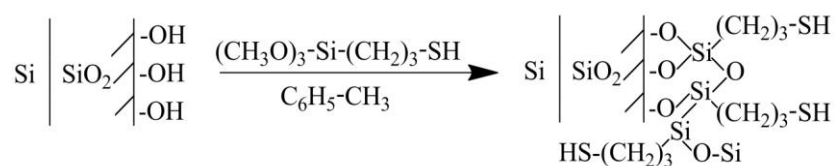
Таким образом, измеряемый микромеханическим сенсором сигнал всегда вызван разностью механических напряжений на противоположных сторонах чувствительного элемента. Если же необходимо выделить вклад специфической химической реакции определяемого вещества с аналитическим реагентом, нанесенным на одну из 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. Использованный в работе микромеханический детектор «Биоскан» позволяет проводить такие измерения.

Для закрепления 3-МПТМС на кремниевой поверхности кантилевер с предварительно заблокированной меркаптоэтанолом золотой поверхностью обрабатывали толуольным раствором силана



В присутствии даже небольших количеств воды триалкоксисиланы склонны к полимеризации



поэтому для получения слоя определенной толщины необходимо тщательно контролировать время проведения реакции.

Для определения зависимости толщины слоя 3-МПТМС, образующегося на кремниевой поверхности, от продолжительности обработки модификатором, образцы выдерживали в растворе силана различное время, затем определяли толщину покрытия, а также содержание серы на поверхности образцов.

По данным элементного микроанализа поверхности, скорость накопления серы на начальном этапе реакции близка к постоянной (рисунок 40), при этом сера, а, значит, и 3-МПТМС, распределяется на поверхности достаточно равномерно.

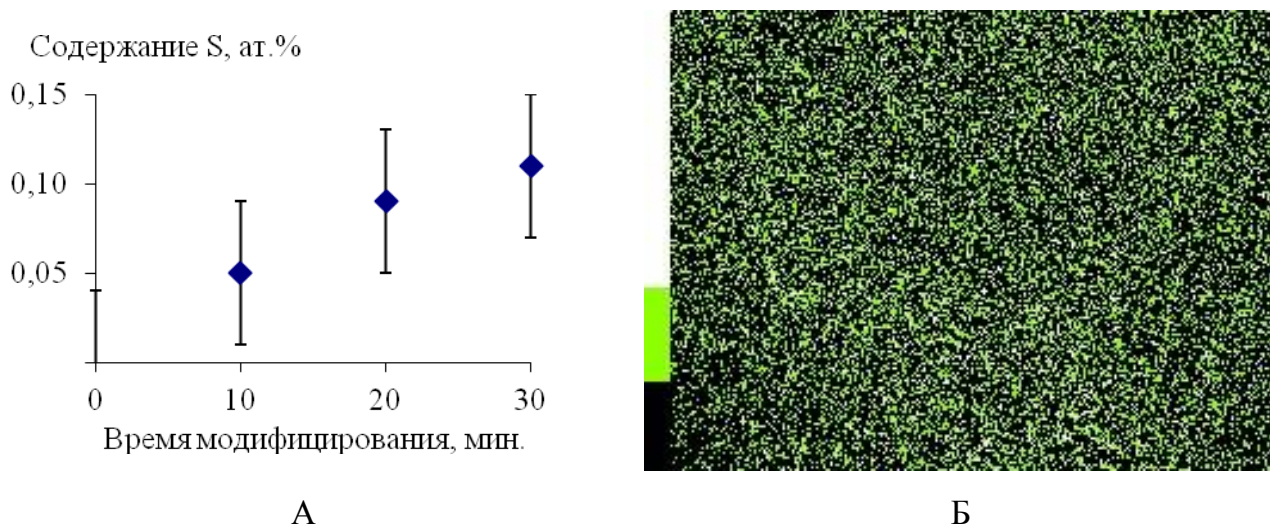


Рисунок 40. Результаты обработки кремниевой поверхности кантилевера 1%-ным раствором 3-МПТМС в толуоле: А) накопление серы на поверхности с течением времени, Б) распределение серы по поверхности после обработки раствором силана в течение 20 минут.

Толщину слоя модификатора определяли для образцов, выдержанных в растворе 3-МПТМС в течение 30 минут, двумя методами: с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) и эллипсометрией. Результаты применения обоих методов согласуются друг с другом. По данным АСМ толщина слоя модификатора составила $1,6 \pm 0,4$ нм, по данным эллипсометрии – $1,0 \pm 0,2$ нм. Это позволяет оценить скорость нарастания слоя 3-МПТМС – $2,5 \pm 0,5$ нм/час.

Таким образом, для создания на кремниевой поверхности кантилевера слоя 3-МПТМС с толщиной, близкой к длине молекулы 3-МПТМС (около 1 нм), требуется 20-30 минут. В дальнейшем кантилеверы перед иммобилизацией наночастиц серебра обрабатывали этим алкоксисиланом в течение 30 минут. При меньшем количестве модификатора слой не может быть однородным, так как вещества недостаточно для полного заполнения поверхности, при большей толщине слоя ухудшается эффективность передачи механических напряжений к поверхности консоли.

Для осуществления хемосорбции наночастиц серебра на поверхности консоли, покрытой HS-группами, после нанесения 3-МПТМС кантилевер

выдерживали в золе серебра, стабилизированном цитратом натрия, в течение 1 ч.

По данным АСМ, ПЭМ и СЭМ, после проведения такой обработки наночастицы серебра занимают около 30 % поверхности (рисунок 41), при этом слой состоит преимущественно из отдельно расположенных наночастиц, агрегаты практически отсутствуют, распределение частиц, находящихся на поверхности, по размеру соответствует распределению по размеру частиц в дисперсии.

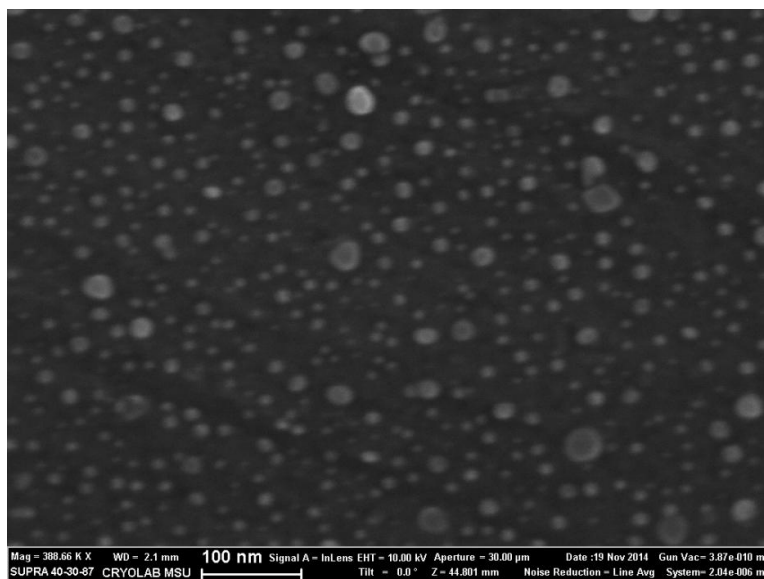


Рисунок 41. Микрофотография СЭМ кремниевой поверхности кантилевера, покрытой 3-меркаптопропилтриметоксисиланом и наночастицами серебра, стабилизированными цитратом натрия (время сорбции наночастиц – 60 мин).

По-видимому, одноименный заряд частиц эффективно препятствует агрегации и в водном коллоидном растворе, и на поверхности. Полученный слой наночастиц достаточно прочно связан с поверхностью консоли – не смывается с поверхности при многократном промывании водой.

При проведении аналогичной обработки немодифицированной кремниевой поверхности, как следует из данных АСМ и СЭМ, наночастицы серебра на поверхность практически не сорбируются, поэтому переход частиц на поверхность, покрытую 3-МПТМС, связан исключительно с ковалентным взаимодействием серебра с HS-группами.

Выявленные закономерности иммобилизации наночастиц серебра,

стабилизированных цитратом натрия, на HS-модифицированную кремниевую поверхность кантилевера аналогичны ранее изученным закономерностям сорбции на модифицированных поверхностях кремниевых пластин.

Сорбция наночастиц серебра, стабилизированных цитрат-анионом, на кремниевой поверхности кантилевера, модифицированной 3-МПТЭС, сопровождается значительным изменением поверхностного напряжения, что может быть связано с электростатическим отталкиванием одноименно заряженных наночастиц на поверхности.

Для проверки этого предположения был оценен вклад электростатического взаимодействия в изменение поверхностного напряжения.

Наночастицы, находящиеся на поверхности кантилевера, взаимодействуют с другими наночастицами, а также с заряженной поверхностью кантилевера, покрытой силанольными группами. В этом случае сила, действующая на отдельную частицу, складывается из силы действия остальных частиц F_{q-q} и силы, действующей со стороны поверхности F_{q-p} :

$$F = F_{q-q} + F_{q-p}$$

Аналогичное выражение справедливо и для поверхностного напряжения. Элементарная сила электростатического взаимодействия, действующая на отдельную частицу со стороны заряженного участка поверхности, ограниченного координатами (x, φ) , $(x + dx, \varphi)$, $(x, \varphi + d\varphi)$, $(x + dx, \varphi + d\varphi)$ в полярной системе координат может быть представлена в виде:

$$F(x, \varphi) = \frac{q_q}{4\pi\epsilon_0 x^2} (\rho_q + \rho_n) x dx d\varphi,$$

где q_q – средний заряд наночастицы; ρ_q – плотность заряда поверхности, обусловленная наличием наночастиц; ρ_n – плотность заряда поверхности, обусловленная наличием силанольных групп; ϵ – диэлектрическая проницаемость среды, для воды $\epsilon = 81$ при 20°C ; ϵ_0 – электрическая постоянная, $8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м.

Вклад взаимодействия наночастицы с этим участком поверхности в суммарное поверхностное напряжение, действующее вдоль оси $\varphi=0$, будет равен:

$$\sigma(x, \varphi) = \frac{F(x, \varphi)}{x} \cos \varphi = \frac{q_c}{4\pi\epsilon\epsilon_0 x^3} (\rho_c + \rho_n) x \cos \varphi dx d\varphi$$

Проинтегрировав это выражение, можно рассчитать вклад электростатических взаимодействий в итоговое поверхностное напряжение:

$$\begin{aligned} \sigma(x, \varphi) &= \frac{F(x, \varphi)}{x} = \int_{R_c - \pi/2}^{\infty} \int_{-\pi/2}^{\pi/2} \frac{q_c}{4\pi\epsilon\epsilon_0 x^3} (\rho_c + \rho_n) x \cos \varphi dx d\varphi = \int_{R_c}^{\infty} \frac{q_c}{4\pi\epsilon\epsilon_0 x^2} (\rho_c + \rho_n) (-\sin \varphi) dx \Big|_{-\pi/2}^{\pi/2} = \\ &= \int_{R_c}^{\infty} -\frac{2q_c}{4\pi\epsilon\epsilon_0 x^2} (\rho_c + \rho_n) = -\frac{q_c}{2\pi\epsilon\epsilon_0} \left(-\frac{1}{R_c}\right) (\rho_c + \rho_n) \Big|_{R_c}^{\infty} = \frac{q_c}{2\pi\epsilon\epsilon_0 R_c} (\rho_c + \rho_n) \end{aligned}$$

где

$$\rho_c = \frac{q_c}{S_c} = \frac{q_c}{\frac{\sqrt{3}}{2} d_{c-c}^2};$$

S_c - площадь, приходящаяся на частицу; d_{c-c} - среднее расстояние между двумя частицами; $R_{НЧ}$ – средний радиус наночастиц.

Исходя из значения ζ -потенциала ($-29,1 \pm 0,5$ мВ) и гидродинамического радиуса наночастиц был оценен заряд единичной наночастицы, окруженной слоем противоионов. Исходя из зависимости потенциала заряженной сферы ψ от расстояния до центра сферы r :

$$\psi = \frac{q}{4\pi\epsilon\epsilon_0 r},$$

средний заряд q наночастиц серебра, стабилизированных цитрат-ионом, составляет $q = 7e$, где e – заряд электрона.

Верхний предел плотности заряда кремниевой поверхности, модифицированной 3-МПТЭС, был рассчитан на основании данных [118, с. 92-93] о поверхностной концентрации силанольных Si–ОН групп оксида кремния – до 3 шт./нм². Если учесть, что $r_{Ка}$ силанольных групп составляет 6-7 [118, с. 92-93], а $r_{Н}$ золь наночастиц 7,6, то силанольные группы будут практически полностью диссоциированы. В этом случае плотность заряда кремниевой поверхности составит не более 3 е/нм².

Исходя из данных о распределении наночастиц на поверхности, была оценена плотность заряда, создаваемая на поверхности наночастицами – $2 \cdot 10^{-4}$ е/нм².

На основании этих данных была рассчитана сила электростатического взаимодействия, действующая на единичный участок кантилевера, и поверхностное напряжение σ , создаваемое этой силой, $\sigma \approx 0,03$ Н/м.

Изгибание – следствие различных процессов, протекающих на обеих сторонах кантилевера, поэтому результирующий сигнал является отображением процессов, происходящих на поверхности. Чтобы определить разность сил поверхностного напряжения на обеих сторонах кантилевера, использовали формулу Стоуни, которая связывает отклонение конца балки кантилевера δ с приложенным механическим напряжением σ :

$$\delta = \frac{3\sigma(1-\nu)}{E} \left(\frac{L}{t}\right)^2$$

где ν – коэффициент Пуассона (0,27 для данного кантилевера), E – модуль Юнга ($8 \cdot 10^{11}$ Па), L – длина балки, и t – толщина балки кантилевера.

Значение $\Delta\sigma$ составило $0,114 \pm 0,01$ Н/м.

Таким образом, рассчитанная величина изменения поверхностного напряжения в процессе сорбции наночастиц серебра составляет 0,114 Н/м. Это позволяет сделать вывод о том, что электростатические взаимодействия наночастиц с поверхностью вносят достаточно существенный вклад в изгиб кантилевера в процессе сорбции, в то время как изменение поверхностного напряжения в результате взаимодействия частиц между собой существенно меньше.

В работе в качестве модельного определяемого вещества для оценки чувствительности микромеханического сенсора с рецепторным слоем на основе наночастиц серебра был выбран олигонуклеотид



(5`-HS-T...C-3`)

с введенной в него концевой HS-группой на полиэтиленоксидной ножке. Этот олигонуклеотид можно использовать также и в качестве аналитического реагента, поскольку он способен весьма селективно связывать один из ключевых белков системы свертывания крови – тромбин. В связи с этим результаты изучения связывания 5`-HS-T...C-3` с рецепторным слоем на основе наночастиц серебра могут быть в дальнейшем использованы для создания сенсора для определения тромбина в сыворотке крови.

Хемосорбцию 5`-HS-T...C-3` изучали с использованием микромеханического детектора «Биоскан». В измерительную ячейку помещали основной кантилевер, обработанный последовательно 2-меркаптоэтанолом, 3-МПТМС и дисперсией наночастиц серебра, 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 на основе трис-(гидроксиметил)-метиламина (TRIS) – 10 мМ TRIS, 40 мМ KCl, 10 мМ NaN₃, pH 7,4 – и в течение 2 ч регистрировали величину деформации каждого кантилевера, а именно, величину смещения незакрепленного конца консоли основного кантилевера – $d_{очн}$ и величину смещения незакрепленного конца консоли кантилевера сравнения – $d_{ср}$. Аналитическим сигналом (s) такого сенсора, созданного для моделирования прямого определения вещества с меркаптогруппой, служила разность откликов кантилеверов – $s = d_{очн} - d_{ср}$. Использование величины s позволяет нивелировать вклад процессов, происходящих на золотой поверхности кантилеверов, в деформацию консолей и вычленивать вклад ковалентного связывания 5`-HS-T...C-3` с наночастицами серебра.

Введение раствора 5`-HS-T...C-3` сопровождалось резкой деформацией консоли рабочего кантилевера (рисунок 42). За 60 минут аналитический сигнал достиг 1250 нм, что существенно превышает средний размах фоновых колебаний кантилевера в жидкости – 1 нм.

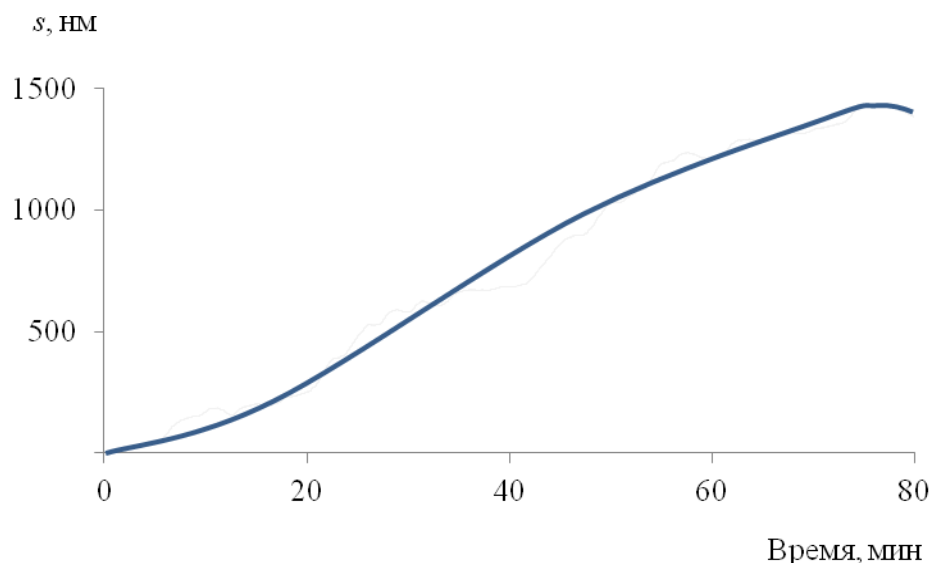


Рисунок 42. Изгибание консоли кантилевера, несущего наночастицы серебра, по отношению к изгибанию консоли кантилевера сравнения (s) при сорбции 5'-HS-T...C-3' из раствора с концентрацией 1 мкМ.

Для того чтобы оценить влияние присутствия наночастиц серебра в рецепторном слое на чувствительность сенсора, был изготовлен модельный микромеханический сенсор с традиционным «плоскостным» дизайном рецепторного слоя. В измерительную ячейку помещали кантилевер сравнения, предварительно обработанный 2-меркаптоэтанолом, и рабочий кантилевер, в котором поверхность золота не была заблокирована. Затем в ячейку вводили 1 мкМ раствор 5'-HS-T...C-3' в буферном растворе на основе TRIS и регистрировали аналитический сигнал s . Оказалось, что разница отклонений незакрепленных концов консолей этих кантилеверов не превышала средний размах фоновых колебаний кантилеверов, несмотря на то, что HS-группы связываются с поверхностью золота практически так же прочно, как и с поверхностью серебра. Связь Au-S прочна и инертна, поэтому замещение 2-меркаптоэтанола на поверхности кантилевера сравнения на 5'-HS-T...C-3' требует гораздо большего времени [209, 210], чем время наблюдения за откликом сенсора. Таким образом, наблюдаемое поведение этого сенсора связано с низкой чувствительностью рецепторного слоя к сорбции модельного определяемого

вещества 5'-HS-T...C-3'.

Итак, разработанный сенсор с объемным дизайном рецепторного слоя по чувствительности превосходит микромеханический сенсор традиционного типа более чем в тысячу раз.

Можно предположить, что это связано с большей площадью поверхности рецепторного слоя на основе наночастиц: чем больше поверхность, тем больше участков связывания определяемого вещества, но площадь поверхности сферической частицы всего в 4 раза больше площади участка, который она занимает, находясь на подложке. Следовательно, этот фактор не является ключевым в усилении сигнала микромеханического сенсора.

Наблюдаемый огромный отклик сенсора с объемным рецепторным слоем на основе наночастиц серебра, по всей видимости, вызван тем, что в процессе сорбции достаточно большие молекулы 5'-HS-T...C-3' встраиваются между близко расположенными наночастицами серебра, что, в свою очередь, приводит к появлению значительных по величине механических напряжений, вызывающих изгиб консоли. Средний диаметр молекул 5'-HS-T...C-3' составляет около 2 нм без учета гидратации, среднее расстояние между соседними частицами на поверхности – 15 нм (рисунок 41). Учитывая то, что и частицы серебра, и молекулы олигонуклеотида заряжены и в растворе окружены слоем молекул воды и противоионов, внедрение 5'-HS-T...C-3' между наночастицами должно существенно исказить распределение электростатических взаимодействий в приповерхностном слое, что, в свою очередь, приведет к изменению величин механических напряжений на поверхности.

Таким образом, использование иммобилизованных слоев наночастиц серебра позволяет кардинально (как минимум, на 3 порядка) увеличить чувствительность микромеханических сенсоров. Кроме того, возможность варьирования размеров наночастиц на поверхности, а также расстояния между ними открывает перспективы для адаптации микромеханических сенсоров с объемным рецепторным слоем к аналитическому определению широкого круга соединений.

Все это, несомненно, делает метод иммобилизации наночастиц серебра из золей ценным инструментом создания высокочувствительных аналитических систем.

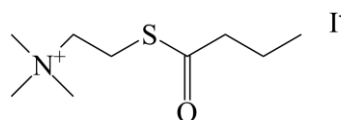
3.4.2. Применение наночастиц серебра, иммобилизованных на поверхности кремниевых и серебряных подложек, для определения тиохолина с помощью ГКР-спектроскопии

Двумерные слои наночастиц серебра, полученные при их сорбции из золей, могут быть использованы также и для создания подложек для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР). Этот мощный аналитический инструмент обнаружения веществ, в частности биологических соединений, позволяет идентифицировать соединения в низкой концентрации вплоть до обнаружения одиночных молекул [152, 211]. Несмотря на это, с момента открытия эффекта гигантского комбинационного рассеяния в 1974 году остро стоит проблема создания металлических систем, эффективно, воспроизводимо и стабильно усиливающих сигнал комбинационного рассеяния (КР).

В качестве модельного анализируемого соединения в работе использовали тиохолин. Для ГКР-обнаружения тиохолина использовали как кремниевые, так и серебряные подложки с иммобилизованными на них по разработанной методике наночастицами серебра.

3.4.2.1. Получение тиохолина

Раствор тиохолина получали гидролизом йодида бутирилтиохолина



согласно методике, приведенной в экспериментальной части.

Получаемая в ходе гидролиза смесь содержит тиохолин и масляную кислоту. Концентрацию тиохолина определяли по методу Элмана, суть которого –

образование окрашенного 5-тио-2-нитробензоат-иона при реакции тиохолина с 5,5'-дителиобис(2-нитробензойной) кислотой (рисунок 43).

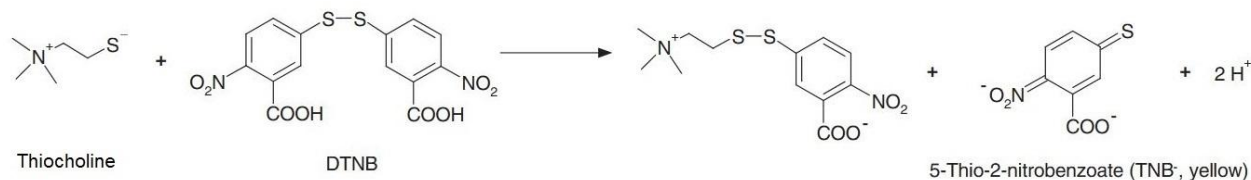


Рисунок 43. Схема образования 5-тио-2-нитробензоат-иона.

Концентрацию этого иона рассчитывали по уравнению

$$c = A/\varepsilon_{405}d,$$

где A – оптическая плотность раствора, ε_{405} – коэффициент поглощения 5-тио-2-нитробензоат-иона при 405 нм, равный 13,3 мл/мкмоль*см, и d – длина оптического пути, равная 0,6 см. Реакция, схема которой изображена на рисунке 43, является быстрой и стехиометрической. Степень превращения бутирилтиохолина в ходе описанных процессов составляет около 100 %.

3.4.2.2. Проведение измерений

Смесь продуктов ферментативного гидролиза бутирилтиохолина, содержащую тиохоллин и масляную кислоту, наносили на поверхности подложек, сушили при 60°C и затем регистрировали спектры комбинационного рассеяния (КР) с полученных образцов. Масляная кислота не мешает обнаружению тиохолина, так как полосы в спектре КР этой кислоты не перекрываются с полосами в спектре КР тиохолина.

Среди всех исследованных кремниевых подложек с иммобилизованными наночастицами наиболее эффективными для усиления сигнала КР тиохолина оказались подложки, на которых были сорбированы наночастицы, стабилизированные полимером РНМВ (рисунок 44). При этом эффект усиления не связан с влиянием HS-модифицированной подложки, а обусловлен

исключительно влиянием сорбированных наночастиц, поскольку не было обнаружено сигнала КР от тиохолина, нанесенного на аналогичную подложку, но без наночастиц.

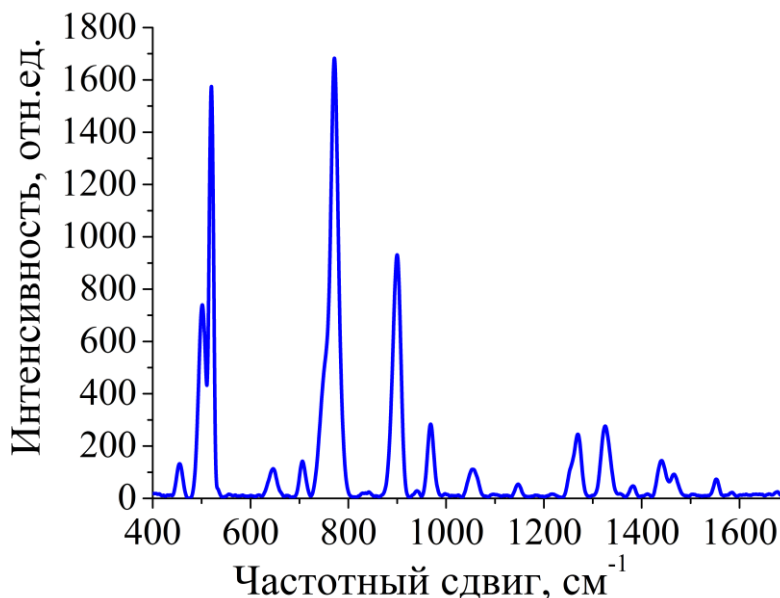


Рисунок 44. Спектры КР тиохолина, нанесенного на HS-модифицированные поверхности кремния с иммобилизованными наночастицами серебра, стабилизированными РНМВ (770 см^{-1} и 1267 см^{-1} – характеристические полосы тиохолина).

Гораздо более заметное увеличение интенсивности сигнала в спектре КР тиохолина наблюдается при использовании серебряных подложек с иммобилизованными наночастицами. Было установлено, что интенсивность сигнала КР тиохолина, нанесенного на серебряные подложки с иммобилизованными наночастицами серебра, стабилизированными полимером РНМВ, по крайней мере, в 10 раз выше по сравнению с интенсивностью сигнала КР тиохолина, нанесенного на необработанные подложки (рисунок 45).

Несколько меньшим, но все же значительным (по сравнению с усилением сигнала тиохолина, наблюдаемого на кремниевых подложках) эффектом обладают подложки с иммобилизованными наночастицами, стабилизированными РНМН (рисунок 46).

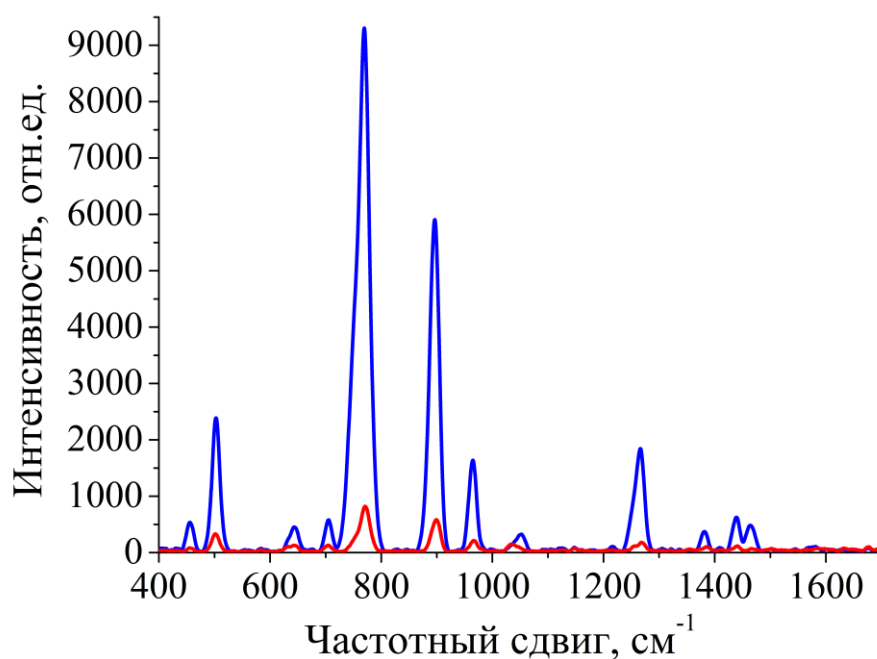


Рисунок 45. Спектры ГКР тиохолина ($c = 40 \mu\text{M}$), нанесенного на серебряные подложки (красная линия) и серебряные подложки с иммобилизованными наночастицами серебра, стабилизированными РНМВ.

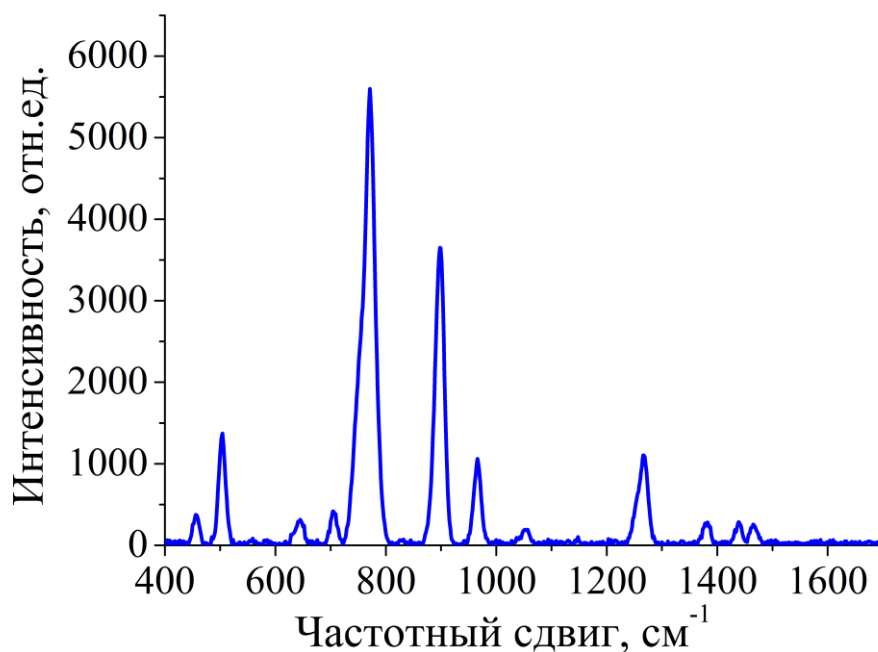


Рисунок 46. Спектр ГКР тиохолина ($c = 40 \mu\text{M}$), нанесенного на серебряные подложки с иммобилизованными наночастицами серебра, стабилизированными РНМН.

Обнаруженное различие в эффективности двух типов используемых подложек можно объяснить, приняв во внимание природу эффекта ГКР. При взаимодействии падающего электромагнитного излучения с серебряной поверхностью возникают колебания электронов в приповерхностном слое, вследствие чего напряженность электромагнитного поля рядом с поверхностью увеличивается на несколько порядков. В области контакта наночастиц между собой и с поверхностью подложки напряженность электромагнитного поля превышает таковую для поля, создаваемого изолированной частицей, за счет суперпозиции полей от нескольких металлических поверхностей. При попадании молекул тиохолина в такие области интенсивность КР резко увеличивается, что и наблюдается на практике. Однако для наночастиц, закрепленных на кремниевой поверхности, число межчастичных контактов серебро-серебро, приводящих к увеличению напряженности электрических полей, гораздо меньше, нежели в случае использования серебряных подложек (таблица 10), поэтому наблюдаемое увеличение интенсивности сигнала тиохолина от серебряных подложек с иммобилизованными частицами гораздо выше. При этом взаимодействие частиц с подложкой практически не оказывает влияния на сигнал КР тиохолина.

Таблица 10. Зависимость усиления сигнала КР тиохолина от числа контактов серебро-серебро на подложке

Число зон контакта Ag-Ag, шт./мкм ²	Подложка		Отношение Si/Ag
	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

Для того чтобы исключить из рассмотрения влияние молекул полимеров РНМН и РНМВ, стабилизирующих наночастицы серебра и вместе с ними наносимых на поверхности серебряных подложек, были зарегистрированы спектры КР тиохолина, нанесенного на серебряные подложки, обработанные растворами полимеров без наночастиц. При этом концентрации РНМН и РНМВ использовались такие же, как и при получении наночастиц. Так, КР молекул РНМВ при длине волны возбуждающего излучения 785 нм практически не усиливается (рисунок 47). Интенсивность сигнала КР РНМВ, нанесенного на поверхность серебряной подложки, не превышает интенсивности сигнала КР тиохолина; кроме того, полосы в спектре РНМВ не накладываются на полосы в спектре тиохолина.

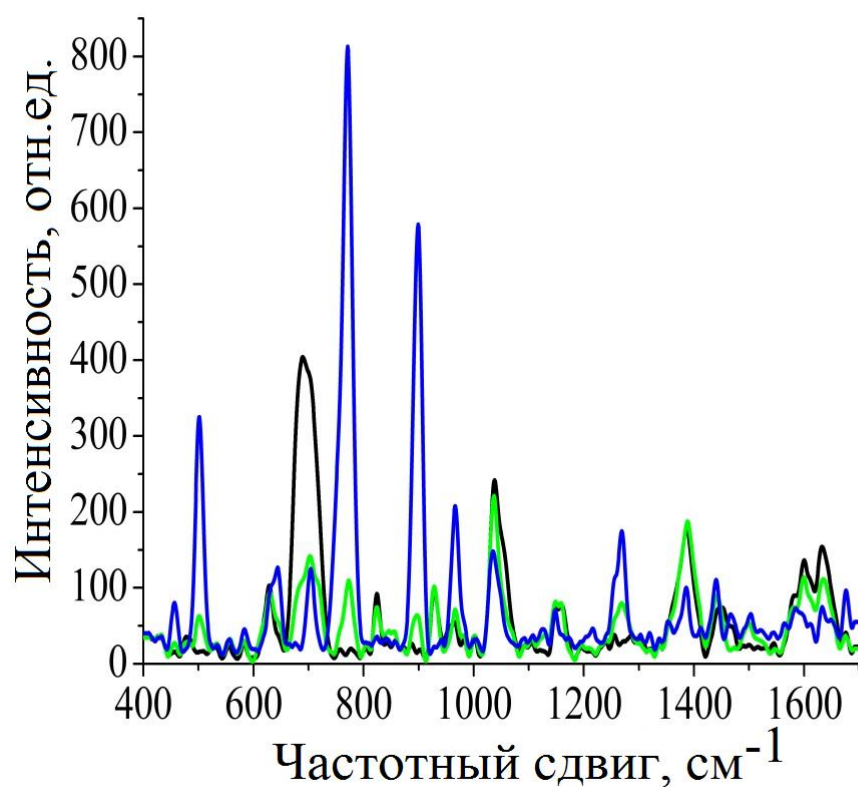


Рисунок 47. Спектры КР тиохолина, нанесенного на серебряные подложки (синяя линия), на серебряные подложки, обработанные раствором РНМВ (зеленая линия); спектр РНМВ, нанесенного на серебряные подложки (черная линия).

Таким образом, можно утверждать, что молекулы РНМВ (а также РНМН) не мешают обнаружению тиохолина, и наблюдаемый эффект усиления интенсивности сигнала КР тиохолина связан с присутствием на поверхности иммобилизованных наночастиц серебра, стабилизированных РНМВ.

Серебряные подложки с иммобилизованными наночастицами серебра позволяют обнаруживать тиохоллин с хорошей воспроизводимостью. Так, на рисунке 48 показано изменение со временем спектров КР тиохолина, нанесенного на подложки, приготовленные в разное время по одной методике. Отличие в интенсивностях сигнала КР тиохолина, нанесенного на подложки из разных партий, не превышает 10 %. Со временем интенсивность спектра снижается не более чем на 10 %.

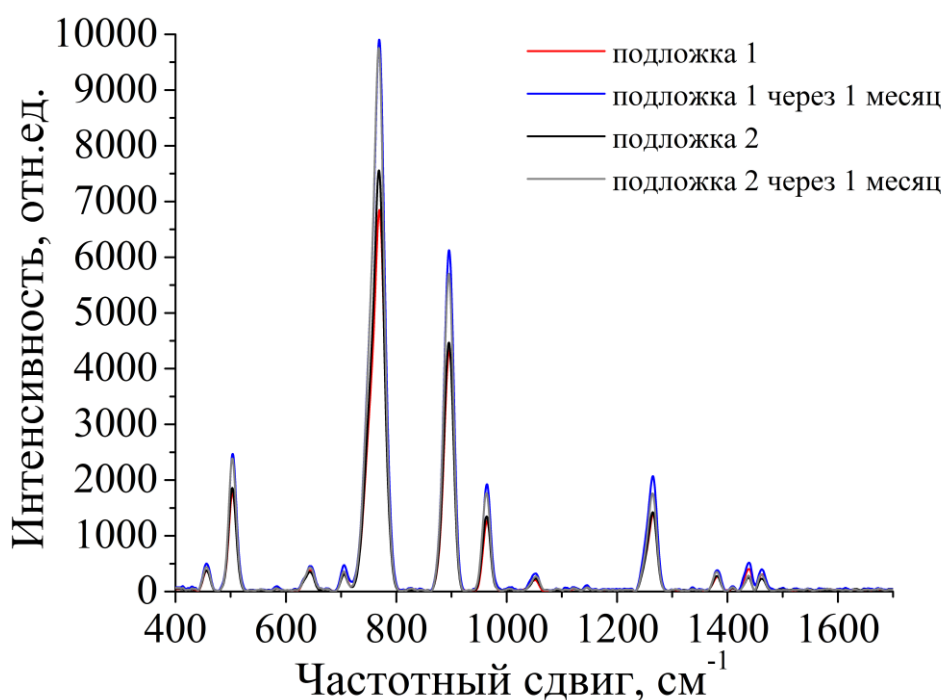


Рисунок 48. Изменение со временем спектров КР тиохолина ($c = 40 \mu\text{M}$), нанесенного на серебряные подложки с иммобилизованными наночастицами серебра, стабилизированными РНМВ, подготовленные в разное время.

Указанные факты делают возможным, наряду с качественным определением тиохолина, также и его количественное обнаружение. В качестве внутреннего стандарта при количественном анализе тиохолина методом ГКР был выбран

холин, так как его характеристическая полоса при 714 см^{-1} в спектре КР не накладывается на характеристические полосы тиохолина. На рисунке 49 представлены спектры КР тиохолина, нанесенного на серебряные подложки с иммобилизованными наночастицами из растворов с различными концентрациями, нормированные на интенсивность сигнала холина при 714 см^{-1} . Видно, что интенсивность полос при 770 см^{-1} и 1267 см^{-1} , соответствующих валентным колебаниям тиохолина, возрастает пропорционально его концентрации. Использование серебряных подложек с иммобилизованными наночастицами позволяет надежно определять тиохоллин в концентрации 200 нМ .

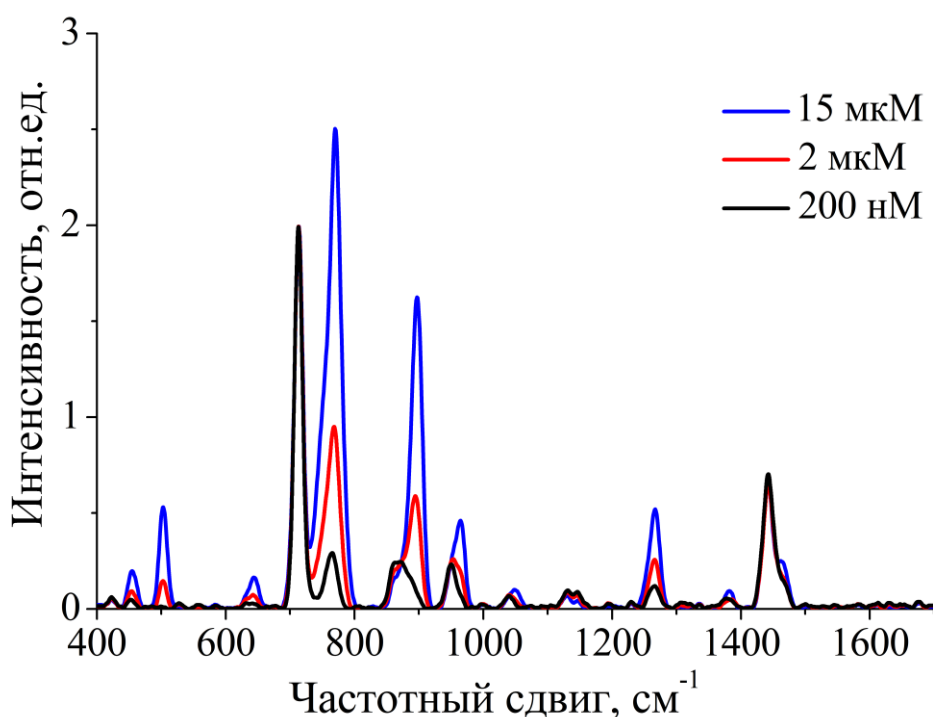


Рисунок 49. Нормированные спектры КР тиохолина, нанесенного из растворов с различной концентрацией на серебряные подложки с иммобилизованными наночастицами серебра, стабилизированными РНМВ.

Эффективность серебряных подложек в усилении КР тиохолина, а также, несомненно, и ряда других биологических соединений, может быть увеличена за счет подбора оптимальных условий для иммобилизации наночастиц серебра и выбора стабилизаторов для них, не мешающих обнаружению требуемых веществ при последующем анализе.

Таким образом, слои наночастиц серебра на поверхности кремниевых и серебряных подложек, сформированные при адсорбционной иммобилизации наночастиц из золь, могут быть использованы для создания высокоэффективных подложек для ГКР. Применение такого метода позволяет, как обсуждалось выше, управлять структурными характеристиками формирующихся слоев наночастиц, а, значит, и эффективностью создаваемых на его основе подложек.

4. Основные выводы и результаты

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 золей.
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 10^4 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.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность 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 экобиокатализа кафедры химической энзимологии Химического факультета МГУ Н.Л. Нечаевой за помощь в проведении и интерпретации результатов ГКР-исследований.

5. Список литературы

1. Pillai Z. S., Kamat P. V. What factors control the size and shape of silver nanoparticles in the citrate ion reduction method? // *Journal of Physical Chemistry B* – 2004. - V. 108. - P. 945-951.
2. Henglein A., Giersig M. Formation of colloidal silver nanoparticles: capping action of citrate. // *Journal of Physical Chemistry B* – 1999. - V. 103. - P. 9533-9539.
3. Van Hyning D. L., Zukoski C. F. Formation mechanisms and aggregation behavior of borohydride reduced silver particles. // *Langmuir* – 1998. - V. 14. - P. 7034-7046.
4. Li Y., Wu Y., Ong B. S. Facile Synthesis of silver nanoparticles useful for fabrication of high-conductivity elements for printed electronics. // *Journal of the American Chemical Society* - 2005. - V. 127. - N. 10. P. 3266-3267.
5. Sun Y., Xia Y. Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. // *Science* - 2002. - V. 298. - P. 2176-2179.
6. Leopold N., Lendl B. A new method for fast preparation of highly surface-enhanced Raman scattering (SERS) - active silver colloids at room temperature by reduction of silver nitrate with hydroxylamine hydrochloride. // *Journal of Physical Chemistry B* - 2003. - V. 107. P. 5723-5727.
7. Ashraf S., Akhtar N., Ghauri M. A., Rajoka M. I., Khalid Z. M., Hussain I. Polyhexamethylene biguanide functionalized cationic silver nanoparticles for enhanced antimicrobial activity. // *Nanoscale Research Letters* - 2012. - P. 267-274.
8. Manna A., Imae T., Iida M., Hisamatsu N. Formation of silver nanoparticles from a N-hexadecylethylenediamine silver nitrate complex. // *Langmuir* - 2001. - V. 17. - P. 6000-6004.
9. Sandhyarani N., Resmi M. R., Unnikrishnan R., Vidyasagar K., Ma S., Antony M. P., Selvam G. P., Visalakshi V., Chandrakumar N., Pandian K., Tao Y.-T., Pradeep T. Monolayer-protected cluster superlattices: structural, spectroscopic, calorimetric, and conductivity studies. // *Chemistry of Materials* - 2000. - V. 12. - P. 104-113.

10. Song K. C., Lee S. M., Park T. S., Lee B. S. Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. // *Korean Journal of Chemical Engineering* - 2009. - V. 26. - N. 1. - P. 153-155.
11. Wang X., Zhuang J., Peng Q., Li Y. A general strategy for nanocrystal synthesis. // *Nature* - 2005. - V. 437. - P. 121-124.
12. Canameres M. V., Garcia-Ramos J. V., Gomez-Varga J. D., Domingo C., Sanchez-Cortes S. Comparative study of the morphology, aggregation, adherence to glass, and surface-enhanced Raman scattering activity of silver nanoparticles prepared by chemical reduction of Ag^+ using citrate and hydroxylamine. // *Langmuir* - 2005. - V. 21. - P. 8546-8553.
13. Panigrahi S., Kundu S., Ghosh S. K., Nath S., Pal T. General method of synthesis for metal nanoparticles. // *Journal of Nanoparticle Research* - 2004. - V. 6. - P. 411-414.
14. Egorova E. M., Revina A. A. Synthesis of metallic nanoparticles in reverse micelles in the presence of quercetin. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* - 2000. - V. 168. - P. 87–96.
15. Yin Y., Li Z.-Y., Zhong Z., Gates B., Xia Y., Venkateswaran S. Synthesis and characterization of stable aqueous dispersions of silver nanoparticles through the Tollens process. // *Journal of Materials Chemistry* - 2002. - V. 12. - P. 522-527.
16. Steve Hsu L.-C., Wu R.-T. Synthesis of contamination-free silver nanoparticle suspensions for micro-interconnects. // *Materials Letters* - 2007. - V. 61. - P. 3719-3722.
17. Nersisyan H. H., Lee J. H., Son H. T., Won C. W., Maeng D. Y. A new and effective chemical reduction method for preparation of nanosized silver powder and colloid dispersion. // *Materials Research Bulletin* - 2003. - V. 38. - P. 949–956.
18. Pastoriza-Santos I., Liz-Marza L. M. Formation and stabilization of silver nanoparticles through reduction by N,N-dimethylformamide. // *Langmuir* - 1999. - V. 15. - P. 948-951.
19. Wang Y., Yang Q., Shan G., Wang C., Du J., Wang S., Li Y., Chen X., Jing X., Wei Y. Preparation of silver nanoparticles dispersed in polyacrylonitrile nanofiber film spun by electrospinning. // *Materials Letters* - 2005. - V. 59. - P. 3046 – 3049.

20. Sondi I., Goia D. V., Matijević E. Preparation of highly concentrated stable dispersions of uniform silver nanoparticles. // *Journal of Colloid and Interface Science* - 2003. - V. 260. - P. 75–81.
21. Doty R. C., Tshikhudo T. R., Brust M., Fernig D. G. Extremely stable water soluble Ag nanoparticles. // *Chemistry of Materials* - 2005. - V. 17. - P. 4630-4635.
22. Lee P. C., Meisel D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. // *Journal of Physical Chemistry* - 1982. - V. 86. - P. 3391-3395.
23. Kim S., Zukoski C. A model of growth by hetero-coagulation in seeded colloidal dispersions. // *Journal of Colloid and Interface Science* - 1990. - V. 139. - P. 198-212.
24. Van Hyning D. L., Klemperer W. G., Zukoski C. F. Silver nanoparticle formation: predictions and verification of the aggregative growth model. // *Langmuir* - 2001. - V. 17. - P. 3128-3135.
25. Xiong Y., Washio I., Chen J., Sadilek M., Xia Y. Trimeric clusters of silver in aqueous AgNO₃ solutions and their role as nuclei in forming triangular nanoplates of silver. // *Angewandte Chemie International Edition* - 2007. - V. 46. - P. 4917-4921.
26. Meisel D. Catalysis of hydrogen production in irradiated aqueous solutions by gold sols. // *Journal of the American Chemical Society* - 1979. - V. 101. - P. 6133-6135.
27. Крутяков Ю. А. Синтез, люминесцентные и антибактериальные свойства наночастиц серебра. // Дисс. ... канд. хим. наук: 02.00.11. М., 2008. – 144 с.
28. He S., Yao J., Xie S., Pang S., Gao H. Investigation of passivated silver nanoparticles. // *Chemical Physics Letters* - 2001. - V. 343. - P. 28-32.
29. Evanoff D. D., Chumanov G. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays. // *ChemPhysChem* - 2005. - V. 6. - P. 1221-1231.
30. Moores A., Goettmann F. The plasmon band in noble metal nanoparticles: an introduction to theory and applications. // *New Journal of Chemistry* - 2006. - V. 30. - P. 1121-1132.
31. Kamat P. V. Photophysical, photochemical and photocatalytic aspects of metal nanoparticles. // *Journal of Physical Chemistry B* - 2002. - V. 106. - P. 7729-7744.

32. Tiggesbaumker J., Koller L., Lutz H. O., Meiwesbroer K. H. Giant resonances in silver-cluster photofragmentation. // *Chemical Physics Letters* - 1992. - V. 190. - P. 42-47.
33. Cai W., Hofmeister H., Rainer T., Chen W. Optical properties of Ag and Au nanoparticles dispersed within the pores of monolithic mesoporous silica. // *Journal of Nanoparticle Research* - 2001. - V. 3. - P. 441-451.
34. Chen M., Wang L.-Y., Han J.-T., Zhang J.-Y., Li Z.-Y., Qian D.-J. Preparation and study of polyacrylamide-stabilized silver nanoparticles through a one-pot process. // *Journal of Physical Chemistry B* - 2006. - V. 110. - P. 11224-11231.
35. Wiley B., Sun Y., Mayers B., Xia Y. Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: the case of silver. // *Chemistry - A European Journal* - 2005. - V. 11 - N. 2. - P. 454-463.
36. Liu J.; Kim A.Y., Wang L. Q., Palmer B. J., Chen Y. L., Bruinsma P., Bunker B. C., Exarhos G. J., Graff G. L., Rieke P. C., Fryxell G. E., Virden J. W., Tarasevich B. J., Chick L. A. Self-assembly in the synthesis of ceramic materials and composites. // *Advances in Colloid and Interface Science* - 1996. - V. 69. - N. 1-3. - P. 131-180.
37. Yener D. O., Sindel J., Randall C. A., Adair J. H. Synthesis of nanosized silver platelets in octylamine-water bilayer systems. // *Langmuir* - 2002. - V. 18. - N. 22. - P. 8692-8699.
38. Yu D., Yam V. W.-W. Controlled synthesis of monodisperse silver nanocubes in water. // *Journal of the American Chemical Society* - 2004. - V. 126. - N. 41. - P. 13200-13201.
39. Jin R., Jureller J. E., Kim H. Y., Scherer N. F. Correlating second harmonic optical responses of single Ag nanoparticles with morphology. // *Journal of the American Chemical Society* - 2005. - V. 127. - N. 36. - P. 12482-12483.
40. Podlipensky A., Lange J., Seifert G., Graener H., Cravetchi I. Second-harmonic generation from ellipsoidal silver nanoparticles embedded in silica glass. // *Optics Letters* - 2003. - V. 28. - N. 9. - P. 716-718.

41. Mafune F., Kohno J., Takeda Y., Kondow T., Sawabe H. Structure and stability of silver nanoparticles in aqueous solution produced by laser ablation. // *Journal of Physical Chemistry B* - 2000. - V. 104. - N. 35. - P. 8333-8337.
42. Chen Y.-H., Yeh C.-S. Laser ablation method: use of surfactants to form the dispersed Ag nanoparticles. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* - 2002. - V. 197. - P. 133–139.
43. Cosgrove T. *Colloid science principles, methods and applications*. // Blackwell Publishing Ltd: Department of Chemistry, University of Bristol, Bristol, UK - 2005.
44. Henglein A. Electrochemical reactions of some organic free radicals at colloidal silver in aqueous solution. // *Journal of Physical Chemistry* - 1980. - V. 84. - P. 3461-3467.
45. Hunter R. J. *Double Layer Interaction and Particle Coagulation*. // In *Foundations of Colloid Science*, 2nd ed. Oxford University Press. New York - 2001. - P. 635.
46. Panacek A., Kolar M., Vecerova R., Pucek R., Soukupova J., Krystof V., Hamal P., Zboril R., Kvitek L. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. // *Biomaterials* - 2009. - V. 30. - P. 6333–6340.
47. Soukupova J., Kvitek L., Panacek A., Nevecna T., Zboril R. Comprehensive study on surfactant role on silver nanoparticles (NPs), prepared via modified Tollens process. // *Materials Chemistry and Physics* - 2008. - V. 111. - P. 77–81.
48. Li X., Lenhart J. J., Walker H. W. Aggregation kinetics and dissolution of coated silver nanoparticles. // *Langmuir* - 2012. - V. 28. - P. 1095–1104.
49. Huynh K. A., Chen K. L. Aggregation kinetics of citrate and polyvinylpyrrolidone coated silver nanoparticles in monovalent and divalent electrolyte solutions. // *Environmental Science and Technology* - 2011. - V. 45. - P. 5564–5571.
50. Creighton J. A., Blatchford C. G., Albrecht M. G. Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. // *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2* - 1979. - V. 75. - P. 790-798.

51. Lee S. M., Song K. C., Lee B. S. Antibacterial activity of silver nanoparticles prepared by a chemical reduction method. // *Korean Journal of Chemical Engineering* - 2010. - V. 27. - N. 2. - P. 688-692.
52. Li X., Zhang J., Xu W., Jia H., Wang X., Yang B., Zhao B., Li B., Ozaki Y. Mercaptoacetic acid-capped silver nanoparticles colloid: formation, morphology, and SERS activity. // *Langmuir* - 2003. - V. 19. - P. 4285-4290.
53. Solomon S. D., Bahadory M., Jeyarajasingam A. V., Rutkowsky S. A., Boritz C. Synthesis and study of silver nanoparticles. // *Journal of Chemical Education* - 2007. - V. 84. - N. 2. - P. 322-325.
54. Kim J. S., Kuk E., Yu K. N., Kim J.-H., Park S. J., Lee H. J., Kim S. H., Park Y. K., Park Y. H., Hwang C.-Y., Kim Y.-K., Lee Y.-S., Jeong D. H., Cho M.-H. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* - 2007. - V. 3. - P. 95 – 101.
55. Zou X., Bao H., Guo H., Zhang L., Qi L., Jiang J., Niu L., Dong S. Mercaptoethane sulfonate protected, water-soluble gold and silver nanoparticles: Syntheses, characterization and their building multilayer films with polyaniline via ion–dipole interactions. // *Journal of Colloid and Interface Science* - 2006. - V. 295. - P. 401–408.
56. Panacek A., Kvitek L., Prucek R., Kolar M., Vecerova R., Pizurova N., Sharma V. K., Nevecna T., Zboril R. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. // *Journal of Physical Chemistry B* - 2006. - V. 110. - P. 16248-16253.
57. Sondi I., Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. // *Journal of Colloid and Interface Science* - 2004. - V. 275. - P. 177–182.
58. Uppitsch M. E. Observation of surface enhanced Raman spectra by adsorption to silver colloids. // *Chemical Physical Letters* - 1980. - V. 74. - P. 125-127
59. Freeman R. G., Grabar K. C., Allison K. J., Bright R. M., Davis J. A., Guthrie A. P., Hommer M. B., Jackson M. A., Smith P. C., Walter D. G., Natan M. J. Self-assembled

metal colloid monolayers: an approach to SERS substrates. // *Science* - 1995. - V. 267. - P. 1629-1632.

60. Fan M., Brolo A. G. Silver nanoparticles self assembly as SERS substrates with near single molecule detection limit. // *Physical Chemistry Chemical Physics* - 2009. - V. 11. - P. 7381-7389.

61. Grabar K. C., Freeman R. G., Hommer M. B., Natan M. J. Preparation and characterization of Au colloid monolayers. // *Analytical Chemistry* - 1995. - V. 67. - P. 735–743.

62. Muniz-Miranda M., Pergolese B., Bigotto A., Giusti A. Stable and efficient silver substrates for SERS spectroscopy. // *Journal of Colloid and Interface science* - 2007. - V. 314. - Iss. 2. - P. 540-544.

63. Daniels J. K., Chumanov G. Nanoparticle–mirror sandwich substrates for surface-enhanced Raman scattering. // *Journal of Physical Chemistry B* - 2005. - V. 109. - Iss. 38. - P. 17936–17942.

64. Flores C. Y., Miñan A. G., Grillo C. A., Salvarezza R. C., Vericat C., Schilardi P. L. Citrate-capped silver nanoparticles showing good bactericidal effect against both planktonic and sessile bacteria and a low cytotoxicity to osteoblastic cells. // *Applied Materials and Interfaces* - 2013. - V. 5. - P. 3149–3159.

65. Pristiniski D., Tan S., Erol M., Du H., Sukhishvili S. In situ SERS study of Rhodamine 6G adsorbed on individually immobilized Ag nanoparticles. // *Journal of Raman spectroscopy* - 2006. - V. 37. - P. 762–770.

66. Maruyama Y., Futamata M. Anion induced SERS activation and quenching for R6G adsorbed on Ag nanoparticles. // *Chemical Physics Letters* - 2007. - V. 448. - P. 93–98.

67. Park S.-H., Jung-Hyuk I., Jun-Wan I., Byung-Hoon C., Jae-Ho K. Adsorption kinetics of Au and Ag nanoparticles on functionalized glass surfaces. // *Microchemical Journal* - 1999. - V. 63. - P. 71–91.

68. Лисичкин Г. В., Кудрявцев Г. В., Сердан А. А., Староверов С. М., Юффа А. Я. Модифицированные кремнеземы в сорбции, катализе и хроматографии. // М.: Химия, 1986. - 247 с.

69. Porte-Durrieu M. C., Labrugere C., Villars F., Lefebvre F., Dutoya S., Guette A., Bordenave L., Baquey C. Development of RGD peptides grafted onto silica surfaces: XPS characterization and human endothelial cell interactions. // *Journal of Biomedical Materials Research* - 1999. - V. 46. - N. 3. - P. 368-375.
70. Heiney P. A., Gruneberg K., Fang J. Structure and Growth of Chromophore-Functionalized 3-(Aminopropyl)-triethoxysilane Self-Assembled on Silicon. // *Langmuir* - 2000. - V. 16. - P. 2651-2657.
71. Fang J., Chen M.-S., Shashidhar R. Structural Changes in Self-Assembled Monolayers Induced by Photodimerization: A Scanning Force Microscopy Investigation. // *Langmuir* - 2001. - V. 17. - P. 1549-1551.
72. Pasternack R. M., Amy S. R., Chabal Y. J. Attachment of 3-(Aminopropyl)-triethoxysilane on Silicon Oxide Surfaces: Dependence on Solution Temperature. // *Langmuir* - 2008. - V. 24. - P. 12963-12971.
73. Kern W. Handbook of semiconductor wafer cleaning technology. Science, Technology, and Applications. // Noyes Publications, Park Ridge, New Jersey, U.S.A - 1993.
74. Kern W. The Evolution of Silicon Wafer Cleaning Technology. // *Journal of the Electrochemical Society* - 1990. - V. 137. - N. 6. - P. 1887-1892.
75. Zhu M., Lerum M. Z., Chen W. How to prepare reproducible, homogeneous, and hydrolytically stable aminosilane-derived layers on silica. // *Langmuir* - 2012. - V. 28. - P. 416-423.
76. Kurth D. G., Bein T. Thin films of (3-aminopropyl)-triethoxysilane on aluminum oxide and gold substrates. // *Langmuir* - 1995. - V. 11. - P. 3061-3067.
77. Flink S., Van Veggel F. C. J. M., Reinhoudt D. N. Functionalization of self-assembled monolayers on glass and oxidized silicon wafers by surface reactions. // *Journal of Physical Organic Chemistry* - 2001. - V. 14. - P. 407-415.
78. Zhang F., Srinivasan M. P. Self-assembled molecular films of aminosilanes and their immobilization capacities. // *Langmuir* - 2004. - V. 20. - P. 2309-2314.

79. Zhang H., He H.-X., Wang J., Mu T., Liu Z.-F. Force titration of amino group-terminated self-assembled monolayers using chemical force microscopy. // *Applied Physics A* - 1998. - V. 66. - P. 269-271.
80. Martin H. J., Schulz K. H., Bumgardner J. D., Walters K. B. XPS study on the use of 3-aminopropyltriethoxysilane to bond chitosan to a titanium surface. // *Langmuir* - 2007. - V. 23. - P. 6645-6651.
81. Benters R., Niemeyer C. M., Wöhrle D. Dendrimer-activated solid supports for nucleic acid and protein microarrays. // *Chembiochem* - 2001. - V. 2. - P. 686-694.
82. Simon A., Cohen-Bouhacina T., Porte M. C., Aime J. P., Baquey C. Study of two grafting methods for obtaining a 3-aminopropyltriethoxysilane monolayer on silica surface. // *Journal of Colloid and Interface Science* - 2002. - V. 251. - P. 278-283.
83. Wang A., Tang H., Cao T., Salley S.O., Simon Ng K. Y. In vitro stability study of organosilane self-assembled monolayers and multilayers. // *Journal of Colloid and Interface Science* - 2005. - V. 291. - P. 438-447.
84. Hooper A. E., Werho D., Hopson T., Palmer O. Evaluation of amine- and amide-terminated self-assembled monolayers as 'Molecular glues' for Au and SiO₂ substrates. // *Surface and Interface Analysis* - 2001. - V. 31. - P. 809-814.
85. Li D. C., Yang P. H., Lu M. S. C. CMOS open-gate ion-sensitive field-effect transistors for ultrasensitive dopamine detection. // *IEEE Transactions on Electron Devices* - 2010. - V. 57. - N. 10. P. 2761-2767.
86. Айлер Р. Химия кремнезема. // М.: Мир, 1982.
87. Джигит О. М., Киселев А. В., Микос-Авгуль Н. Н., Щербакова К. Д. Отравление и возрождение поверхности силикагеля при адсорбции паров. // *Доклады АН СССР* - 1950. - т. 70. - N. 3. - С. 441-444.
88. Неймарк И. Е. Синтетические минеральные адсорбенты и носители катализаторов. // Киев. Наукова думка - 1982. – 216 с.
89. Deuel H., Wartmann J., Hutschneker K., Schobinger U., Gudel C. Organische Derivate des Silikagels mit Si-O-C Bindung I. // *Helvetica Chimica Acta* - 1959. - V. 42. - N. 4. - P. 1160-1165.

90. Majors R. E., Hopper M. J. Studies of siloxane phases bonded to silica gel for use in high performance liquid chromatography. // *Journal of Chromatographic Science* - 1974. - V. 12. - N. 11. - P. 767-778.
91. Стрелко В. В., Каниболоцкий В. А. Классификация реакций с участием поверхности дисперсных кремнеземов и исследование процессов замещения водорода, связанного с поверхностными атомами кремния. // *Коллоидный журнал* - 1971. - Т. 33. - N. 5. - С. 750-756.
92. Юрьев В. П., Салимгареева И. М. Реакция гидросилилирования олефинов. // Москва. Наука - 1982. - 224 с.
93. Little C. J., Dale A. D., Whatley J. A. Optimization of reaction conditions for the preparation of chemically bonded supports. // *Journal of Chromatography* - 1979. - V. 171. - P. 431-434.
94. Pantano C. G., Wittberg T. N. XPS analysis of silane coupling agents and silane-treated E-glass fibers. // *Surface and interface analysis* - 1990. - V. 15. - P. 498-501.
95. Vaidya A. A., Norton M. L. DNA Attachment chemistry at the flexible silicone elastomer surface: toward disposable microarrays. // *Langmuir* - 2004. - V. 20. - P. 11100-11107.
96. Chen C.-F., Tzeng S.-D., Lin M.-H., Gwo S. Electrostatic assembly of gold colloidal nanoparticles on organosilane monolayers patterned by microcontact electrochemical conversion. // *Langmuir* - 2006. - V. 22. - P. 7819-7824.
97. Vandenberg E. T., Bertilsson L., Liedberg B., Uvdal K., Erlandsson R., Elwing H., Lundstrom I. Structure of 3-Aminopropyltriethoxysilane on silicon oxide. // *Journal of Colloid and Interface science* - 1991. - V. 147. - N. 1. - P. 103-118.
98. Boerio F. J., Armogan L., Cheng S. Y. The structure of γ -Aminopropyltriethoxysilane Films on Iron Mirrors. // *Journal of Colloid and Interface Science* - 1980. - V. 73. - P. 416-424.
99. Ishida H., Chiang C.-H., Koenig J. L. The structure of aminofunctional silane coupling agents: 1. γ -Aminopropyltriethoxysilane and its analogues. // *Polymer* - 1982. - V. 23. - P. 251-257.

100. Interfaces in Polymer Matrix Composites. // Ed E.P. Plueddemann. In a series «Composite Materials: Vol G», (Eds L.J. Brautman and R.H. Krock. Academic Press. New York - 1974.
101. Vansant E. F., Van der Voort P., Vrancken K. C. Characterization and chemical modification of the silica surface. // Elsevier. The Netherlands - 1995.
102. Culler S. R., Ishida H., Koenig J. L. Structure of silane coupling agents adsorbed on silicon powder. // Journal of Colloid and Interface Science - 1985. - V. 106. - P. 334-346.
103. Chua J. H., Chee R.-E., Agarwal A., Wong S. M., Zhang G.-J. Label-free electrical detection of cardiac biomarker with complementary metal-oxide semiconductor-compatible silicon nanowire sensor arrays. // Analytical Chemistry - 2009. - V. 81. - P. 6266-6271.
104. Sekar M. M. A., Hampton P. D., Buranda T., Lopez G. P. Multifunctional monolayer assemblies for reversible direct fluorescence transduction of protein-ligand interactions at surfaces. // Journal of the American Chemical Society - 1999. - V. 121. - P. 5135-5141.
105. Kim J., Seidler P., Wan L. S., Fill C. Formation, structure, and reactivity of amino-terminated organic films on silicon substrates. // Journal of Colloid and Interface Science - 2009. - V. 32. - P. 114-119.
106. Bascorn D. W. Structure of silane adhesion promoter films on glass and metal surfaces. // Macromolecules - 1972. - V. 5. - N. 6. - P. 792-798.
107. Hong H.-Gi, Jiang M., Sligar S. G., Bohn P. W. Cysteine-specific surface tethering of genetically engineered cytochromes for fabrication of metalloprotein nanostructures. // Langmuir - 1994. - V. 10. - P. 153-158.
108. Cui Y., Wei Q. Q., Park H. K., Lieber C. M. Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species. // Science - 2001. - V. 293. - N. 5533. - P. 1289-1292.

109. Enders D., Nagao T., Nakayama T., Aono M. In situ surface-enhanced infrared absorption spectroscopy for the analysis of the adsorption and desorption process of Au nanoparticles on the SiO₂/Si surface. // *Langmuir* - 2007. - V. 23. - P. 6119-6125.
110. Hu M., Noda S., Okubo T., Yamaguchi Yu., Komiyama H. Structure and morphology of self-assembled 3-mercaptopropyltrimethoxysilane layers on silicon oxide. // *Applied Surface Science* - 2001. - V. 181. - P. 307-316.
111. Finocchio E., Macis E., Raiteri R., Busca G. Adsorption of trimethoxysilane and of 3-mercaptopropyltrimethoxysilane on silica and on silicon wafers from vapor phase: an IR study. // *Langmuir* - 2007. - V. 23. - N. 5. P. 2505-2509.
112. Li Z., Chen Y., Li X., Kamins T. I., Nauka K., Williams R. S. Sequence-specific label-free DNA sensors based on silicon nanowires. // *Nanoletters* - 2004. - V. 4. - N. 2. - P. 245-247.
113. Stevens R., Stevens L., Price N. C. The stabilities of various thiol compounds used in protein purifications. // *Biochemical Education* - 1983. - V. 11. - N. 2. - P. 70.
114. Ruegg U. T., Rudinger J. Reductive cleavage of cystine disulfides with tributylphosphine. // *Methods in Enzymology* - 1977. - V. 47. - P. 111-116.
115. Luo L. B., Jie J. S., Zhang W. F., He Z. B., Wang J. X., Yuan G. D., Zhang W. J., Wu L. C. M., Lee S. T. Silicon nanowire sensors for Hg²⁺ and Cd²⁺ ions. // *Applied Physics Letters* - 2009. - V. 94. - N. 19. - P. 1-3.
116. Bhatia S. K., Shriver-Lake L. C., Prior K. J., Georger J. H., Calvert J. M., Bredehorst R., Ligler F. S. Use of thiol-terminated silanes and heterobifunctional crosslinkers for immobilization of antibodies on silica surfaces. // *Analytical Biochemistry* - 1989. - V. 178. - P. 408-413.
117. Gauthier S., Aime´ J. P., Bouhacina T., Attias A. J., Desbat B. Study of grafted silane molecules on silica surface with an atomic force microscope. // *Langmuir* - 1996. - V. 12. - P. 5126-5137.
118. Лисичкин Г. В., Фадеев А. Ю., Сердан А. А., Нестеренко П. Н., Мингалев П. Г., Фурман Д. Б. Химия привитых поверхностных соединений. // М.: Физматлит, 2003. - С. 118-119

119. Elwenspoek M., Wiegerink R. Mechanical microsensors. // Springer. Berlin-Heidelberg, 2001. - 295 с.
120. Кудринский А. А. Формирование и физико-химические свойства привитых рецепторных слоев микромеханических и пьезокварцевых сенсоров. // Дисс. ... канд. хим. наук.: 02.00.04, М., 2009 – 138 с.
121. Binnig G., Quate C., Gerber C. Atomic force microscope. // Physical Review Letters - 1986. - V. 56. - P. 930-933.
122. Joo J., Kwon D., Yim C., Jeon S. Highly sensitive diagnostic assay for the detection of protein biomarkers using microresonators and multifunctional nanoparticles. // ACS Nano - 2012. - V. 6. - Iss. 5. - P. 4375–4381.
123. Su M., Li S., Dravid V. P. Microcantilever resonance-based DNA detection with nanoparticle probes. // Applied Physics Letters - 2003. - V. 82. - Iss. 20. - P. 3562-3564.
124. Pinnaduwege L. A., Boiadjev V., Hawk J. E., Thundat T. Sensitive detection of plastic explosives with self-assembled monolayer-coated microcantilevers. // Applied Physics Letters - 2003. - V. 83. - Iss. 7. - P. 1471-1473.
125. Datskos P. G., Lavrik N. V., Sepaniak M. J. Detection of explosive compounds with the use of microcantilevers with nanoporous coatings. // Sensor Letters - 2003. - V. 1. - Iss. 1. - P. 25-32.
126. Liu K., Ji H.-F. Detection of Pb^{2+} using a hydrogel swelling microcantilever sensor. // Analytical Sciences - 2004. - V. 20. - Iss. 1. - P. 9-11.
127. Zhang Y., Ji H.-F., Brown G. M., Thundat T. Detection of CrO_4^{2-} using a hydrogel swelling microcantilever sensor. // Analytical Chemistry - 2003. - V. 75. - Iss. 18. - P. 4773-4777.
128. Ji H.-F., Yan X., McShane M. J. Experimental and theoretical aspects of glucose measurement using a microcantilever modified by enzyme-containing polyacrylamide. // Diabetes Technology & Therapeutics - 2005. - V. 7. - Iss. 6. - P. 986-995.
129. Емельянов В. И., Коротеев Н. И. Эффект гигантского комбинационного рассеяния света молекулами, адсорбированными на поверхности металла. // Успехи физических наук - 1981. - Т. 135. - Вып. 2. С. 345-361.

130. Fleischmann M., Hendra P. J., McQuillan A. J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. // *Chemical Physics Letters* - 1974. - V. 26. - Iss. 2. - P. 163-166.
131. Jeanmaire D. L., Vanduyne R. P. Surface Raman spectroelectrochemistry. Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. // *Journal of Electroanalytical Chemistry* - 1977. - V. 84. - P. 1–20.
132. Albrecht M. G., Creighton J. A. Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. // *Journal of the American Chemical Society* - 1977. - V. 99. - P. 5215–5217.
133. Chang K., Furtak T. E. Surface enhanced Raman scattering. // Plenum Press, New York, 1982.
134. Набиев И. Р., Ефремов Р. Г., Чуманов Г. Д. Гигантское комбинационное рассеяние и его применение к изучению биологических молекул. // *Успехи физических наук* - 1988. - Т. 154. - Вып. 3. - С. 459-496.
135. Otto A., Mrozek I., Grabhorn H., Akemann W. Surface-enhanced Raman scattering. // *Journal of Physics: Condensed Matter* - 1992. - V. 4. - P. 1143–1212.
136. Moskovits M. Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective. // *Journal of Raman Spectroscopy* - 2005. - V. 36. - Iss. 6-7. - P. 485–496.
137. Moskovits M. Surface roughness and the enhanced intensity of Raman scattering by molecules adsorbed on metals. // *Journal of Chemical Physics* - 1978. - V. 69. - P. 4159-4161.
138. Hexter R. M., Albrecht M. G. Metal surface Raman spectroscopy: theory. // *Spectrochimica Acta Part A – Molecular and Biomolecular Spectroscopy* - 1979. - V. 35. - P. 233-251.
139. Moskovits M. Surface-enhanced spectroscopy. // *Reviews of modern physics* - 1985. - V. 57. - P. 783–828.
140. Gersten J. I. Electromagnetic theory of enhanced Raman scattering by molecules adsorbed on rough surfaces. // *Journal of Chemical Physics* - 1980. - V. 73. - P. 3023–3037.

141. Hao E., Schatz G. C. Electromagnetic fields around silver nanoparticles and dimers. // *Journal of Chemical Physics* - 2004. - V. 120. - P. 357-366.
142. Hulteen J. C., Van Duyne R. P. Nanosphere lithography: A materials general fabrication process for periodic particle array surfaces. // *Journal of Vacuum Science&Technology A* - 1995. - V. 13. - P. 1553–1558.
143. Willets K. A., Van Duyne R. P. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. // *Annual Review of Physical Chemistry* - 2007. - V. 58. - P. 267–297.
144. Gersten J. I., Birke R. L., Lombardi J. R. Theory of enhance I light scattering from molecules adsorbed at the metal-solution interface. // *Physical Review Letters* - 1979. - V. 43. - P. 147–150.
145. Burstein E., Chen Y. J., Chen C. Y., Lundquist S., Tosatti E. Giant Raman scattering by adsorbed molecules on metal surfaces. // *Solid State Communications* - 1979. - V. 29. - P. 567–570.
146. Otto A. Surface-enhanced Raman scattering: «classical» and «chemical» origins. // In: Cardona M, Guntherodt G. eds. - *Light scattering in solids IV*. Springer, Berlin, 1984. - P. 289–418.
147. Ru E. C. L., Blackie E., Meyer M., Etchegoin P. G. Surface enhanced Raman scattering enhancement factors: a comprehensive study. // *Journal of Physical Chemistry C* - 2007. - V. 111. - P. 13794-13803.
148. Lombardi J. R., Birke R. L., Lu T. H., Xu J. Charge-transfer theory of surface enhanced Raman spectroscopy. // *Journal of Chemical Physics* - 1986. - V. 84. - P. 4174.
149. Rubim J. C., Corio P., Ribeiro M. C. C., Matz M. Contribution of resonance Raman scattering to the surface-enhanced Raman effect on electrode surfaces – a description using the time dependent formalism. // *Journal of Physical Chemistry* - 1995. - V. 99. - P. 15765-15774.

150. Lombardi J.R., Birke R.L. Time-dependent picture of the charge-transfer contributions to surface Raman spectroscopy. // *Journal of Chemical Physics* - 2007. - V. 126. - Iss. 24. - P. 244709.
151. Kneipp K., Wang Y., Kneipp H., Perelman L. T., Itzkan I., Dasari R., Feld M. S. Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS). // *Physical Review Letters* - 1997. - V. 78. - P. 1667-1670.
152. Nie S. M., Emery S. R. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. // *Science* - 1997. - V. 275. - P. 1102-1106.
153. Tian Z. Q. (ed. - Surface enhanced Raman spectroscopy. // *Journal of Raman Spectroscopy* - 2005. - V. 36. - P. 465–747.
154. Brown R. J. C., Wang J., Tantra R., Yardley R. E., Milton M. J. T. Electromagnetic modelling of Raman enhancement from nanoscale substrates: a route to estimation of the magnitude of the chemical enhancement mechanism in SERS. // *Faraday Discussions* - 2006. - V. 132. - P. 1–340.
155. Graham D., Goodcare R. (eds. - Surface-enhanced Raman spectroscopy. // *Chemical Society Reviews* - 2008. - V. 37. - P. 873–1076.
156. Camden J. P., Dieringer J. A., Zhao J., Van Duyne R. P. Controlled plasmonic nanostructures for surface-enhanced spectroscopy and sensing. // *Accounts of Chemical Research* - 2008. - V. 41. - P. 1653-1661.
157. Baker G. A., Moore D. S. Progress in plasmonic engineering of surface-enhanced Raman-scattering substrates toward ultra-trace analysis. // *Analytical and Bioanalytical Chemistry* - 2005. - V. 382. - P. 1751-1770.
158. Porter M. D., Lipert R. J., Siperko L. M., Wang G., Narayanan R. SERS as a bioassay platform: fundamentals, design, and applications. // *Chemical Society Reviews* - 2008. - V. 37. - P. 1001-1011.
159. Liu S. Q., Tang Z. Y. Nanoparticle assemblies for biological and chemical sensing. // *Journal of Materials Chemistry* - 2010. - V. 20. - P. 24-35.
160. Drachev V. P., Shalaev V. M. Surface-enhanced Raman scattering: physics and applications. // *Topics in Applied Physics* - 2006. - V. 103. - P. 351-366.

161. Rubim J. C. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) on silver electrodes as a technical tool in the study of the electrochemical reduction of cyanopyridines and in quantitative analysis. // *Journal of Electroanalytical Chemistry* - 1987. - V. 220. - P. 339-350.
162. Sheng R. S., Ni F., Cotton T. M. Determination of purine bases by reversed-phase high-performance liquid chromatography using real-time surface-enhanced Raman spectroscopy. // *Analytical Chemistry* - 1991. - V. 63. - P. 437-442.
163. Carron K., Mullen K., Lanouette M., Angersbach H. Selective-Ultratrace Detection of Metal Ions with SERS. // *Applied Spectroscopy* - 1991. - V. 45. - P. 420-423.
164. Vo Dinh T. SERS chemical sensors and biosensors: new tools for environmental and biological analysis. // *Sensors and Actuators B-Chemical* - 1995. - V. 29. - P. 183-189.
165. Brolo A. G., Irish D. E., Smith B. D. Applications of surface enhanced Raman scattering to the study of metal-adsorbate interactions. // *Journal of Molecular Structure* - 1997. - V. 405. - P. 29-44.
166. Wu D. Y., Li J. F., Ren B., Tian Z. Q. Electrochemical surface-enhanced Raman spectroscopy of nanostructures. // *Chemical Society Reviews* - 2008. - V. 37. - P. 1025-1041.
167. Bell S. E. J., Sirimuthu N. M. S. Quantitative surface-enhanced Raman spectroscopy. // *Chemical Society Reviews* - 2008. - V. 37. - P. 1012-1024.
168. Reilly T. H., Chang S. H., Corbman J. D., Schatz G. C., Rowlen K. L. Quantitative evaluation of plasmon enhanced Raman scattering from nanoaperture arrays. // *Journal of Physical Chemistry C* - 2007. - V. 111. - P. 1689-1694.
169. Kelly K., Coronado E., Zhao L., Schatz G. The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment. // *Journal of Physical Chemistry B* - 2003. - V. 107. - P. 668-677.
170. Pettinger B., Wenning U., Wetzal H. Surface plasmon-enhanced Raman scattering frequency and angular resonance of Raman scattered light from pyridine on

gold, silver and copper electrodes. // *Surface Science* - 1980. - V. 101. - Iss. 1-3. P. 409-416.

171. Wang D. S., Chew H., Kerker M. Surface enhanced Raman scattering (SERS) by molecules adsorbed at spherical particles. // *Applied Optics* - 1980. - V. 19. - P. 2256–2257.

172. Emery S. R., Haskins W. E., Nie S. M. Direct observation of size-dependent optical enhancement in single metal nanoparticles. // *Journal of the American Chemical Society* - 1998. - V. 120. - P. 8009–8010.

173. Krug J. T., Wang G. D., Emony S. R., Nie S. Efficient Raman enhancement and intermittent light emission observed in single gold nanocrystals. // *Journal of the American Chemical Society* - 1999. - V. 121. - P. 9208–9214.

174. Keating C. D., Kovaleski K. M., Natan M. J. Protein: colloid conjugates for surface enhanced Raman scattering: stability and control of protein orientation. // *Journal of Physical Chemistry B* - 1998. - V. 102. - P. 9404–9413.

175. Andrade G. F. S., Fan M. K., Brolo A. G. Multilayer silver nanoparticles-modified optical fiber tip for high performance SERS remote sensing. // *Biosensors & Bioelectronics* - 2010. - V. 25. - Iss. 10. - P. 2270-2275.

176. Kaminska A., Inya-Agha O., Forster R. J., Keyes T. E. Chemically bound gold nanoparticle arrays on silicon: assembly, properties and SERS study of protein interactions. // *Physical Chemistry Chemical Physics* - 2008. - V. 10. - P. 4172-4180.

177. Cerf A., Molnar G., Vieu C. Novel approach for the assembly of highly efficient SERS substrates. // *Applied Materials & Interfaces* - 2009. - V. 1. - Iss. 11. - P. 2544-2550.

178. Toderas F., Baia M., Baia L., Astilean S. Controlling gold nanoparticle assemblies for efficient surface-enhanced Raman scattering and localized surface plasmon resonance sensors. // *Nanotechnology* - 2007. - V. 18. - P. 255702.

179. Fang C., Agarwal A., Ji H., Karen W.Y., Yobas L. Preparation of a SERS substrate and its sample-loading method for point-of-use application. // *Nanotechnology* - 2009. - V. 20. - P. 405604.

180. Wei A., Kim B., Sadtler B., Tripp S. L. Tunable surface-enhanced Raman scattering from large gold nanoparticle arrays. // *ChemPhysChem* - 2001. - V. 2. – P. 743-745.
181. Grabar K. C., Smith P. C., Musick M. D., Davis J. A., Walter D. G., Jackson M. A., Guthrie A. P., Natan M. J. Kinetic control of interparticle spacing in Au colloid-based surfaces: rational nanometer-scale architecture. // *Journal of the American Chemical Society* - 1996. - V. 118. - P. 1148–1153.
182. Brown K. R., Natan M. J. Hydroxylamine seeding of colloidal Au nanoparticles in solution and on surfaces. // *Langmuir* - 1998. - V. 14. - Iss. 4. - P. 726–728.
183. Ackermann K. R., Henkel T., Popp J. Quantitative online detection of low-concentrated drugs via a SERS microfluidic system. // *Chemphyschem* - 2007. - V. 8. - P. 2665–2670.
184. Jarvis R. M., Johnson H. E., Olembe E., Panneerselvam A., Malik M. A., Afzaal M., O'Brien P., Goodacre R. Towards quantitatively reproducible substrates for SERS. // *Analyst* - 2008. - V. 133. - P. 1449–1452.
185. Evanoff D. D., Heckel J., Caldwell T. P., Christensen K. A., Chumanov G. Monitoring DPA release from a single germinating *Bacillus subtilis* endospore via surface-enhanced Raman scattering microscopy. // *Journal of the American Chemical Society* - 2006. - V. 128. - P. 12618–12619.
186. Jarvis R. M., Law N., Shadi L. T., O'Brien P., Lloyd J. R., Goodacre R. Surface-Enhanced Raman Scattering from Intracellular and Extracellular Bacterial Locations. // *Analytical Chemistry* - 2008. - V. 80. - P. 6741–6746.
187. Qian X. M., Zhou X., Nie S. M. Surface-enhanced Raman nanoparticle beacons based on bioconjugated gold nanocrystals and long range plasmonic coupling. // *Journal of the American Chemical Society* - 2008. - V. 130. - P. 14934–14935.
188. Rosenberry T. Acetylcholinesterase. // *Alton M Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* - 2006. - V. 43. - P. 103-218.

189. Marrs T. Toxicology of organophosphate nerve agents, chemical warfare agents. // Marrs T, Maynard R and Sidell F Toxicology and Treatment. New York: Wiley - 2007. - P. 191-221.
190. Bajgar J. Biological monitoring of exposure to nerve agents. // British Journal of Industrial Medicine - 1992. - V. 49. - P. 648-653.
191. Wilson B., Henderson J. Blood esterase determinations as markers of exposure. // Reviews of Environmental Contamination and Toxicology - 1992. - V. 128. - P. 55-69.
192. Bey T., Sullivan J., Jr, Walter F. Organophosphate and carbamate insecticides. Clinical environmental health and toxic exposures. // Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins - 2001. - P. 1046-1057.
193. Reigart J., Roberts J. Recognition and management of pesticide poisoning. // Washington, DC, U.S. Environmental Protection Agency, 1999.
194. Zejli H., Hidalgo-Hidalgo de Cisneros J., Naranjo-Rodriguez I., Liu B., Tamsamani K., Marty J. Alumina sol-gel/sonogel-carbon electrode based on acetylcholinesterase for detection of organophosphorus pesticides. // Talanta - 2008. - V. 77. - Iss. 1. - P. 217-221.
195. Zhang L., Zhang A., Du D., Lin Y. Biosensor based on Prussian blue nanocubes/reduced graphene oxide nanocomposite for detection of organophosphorus pesticides. // Nanoscale - 2012. - V. 4. - Iss. 15. - P. 4674-4679.
196. Clark R. Insecticides: organic phosphorus compounds and carbamates. // Goldfrank L, Flomenbaum N, Lewin N, Howland M, Hoffman R and Nelson L Goldfrank's Toxicological Emergencies. New York: McGraw-Hill Professional 7th edn - 2002. - P. 1346-1360.
197. Ellman G., Courtney K., Andres V., Jr, Featherstone R. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. // Biochemical Pharmacology - 1961. - V. 7. - P. 88-95.
198. Fadeev A. Y., McCarthy T. J. Self-assembly is not the only reaction possible between alkyltrichlorosilanes and surfaces: monomolecular and oligomeric covalently

- attached layers of dichloro- and trichloroalkylsilanes on silicon. // Langmuir - 2000. - V. 16. - P. 7268-7274.
199. Howarter J. A., Youngblood J. P. Optimization of silica silanization by 3-aminopropyltriethoxysilane. // Langmuir - 2006. - V. 22. - P. 11142-11147.
200. 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. - N. 5-6. - С. 18-29.
201. Henglein A. Physicochemical properties of small metal particles in solution: «microelectrode» reactions, chemisorption, composite metal particles, and the atom-to-metal transition. // Journal of Physical Chemistry - 1993. - V. 97. - P. 5457-5471.
202. Kumar A., Joshi H., Pasricha R., Mandale A.B., Sastry M. Phase transfer of silver nanoparticles from aqueous to organic solutions using fatty amine acids. // Journal of Colloid and Interface Science - 2003. - V. 264. - P. 396-401.
203. Beamson G., Briggs D. High Resolution XPS of Organic Polymers: the Scienta ESCA300 Database. // New-York. J. Wiley&Sons, 1992.
204. 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). - 2014. - С. 418-419.
205. 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». – 2015. - С. 190.
206. 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». – 2015.

207. 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.

208. Тепанов А. А., 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. Abstract book. – 2015. -P. 215-216.

209. Schlenoff J. B., Li M., Ly H. Stability and self-exchange in alkanethiol monolayers. // Journal of the American Chemical Society - 1995. - V. 117. - P. 12528-12536.

210. Tencer M., Nie H.-Y., Berini P. A contact angle and ToF-SIMS study of SAM-thiol interactions on polycrystalline gold. // Applied Surface Science - 2011. - V. 257. - P. 4038-4043.

211. Blackie E., Le Ru E., Etchegoin P. Single-molecule surface-enhanced Raman spectroscopy of nonresonant molecules. // Journal of the American Chemical Society - 2009. - V. 131. - Iss. 40. - P. 14466–14472.