

УДК 543.424.2;535.016

## УСИЛЕНИЕ ЭФФЕКТА ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ НА ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПЛЕНКАХ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ С ФАСЕТЧАТОЙ СТРУКТУРОЙ

И.Н. Курочкин<sup>1</sup>, И.А. Рыжиков<sup>2</sup>, А.К. Сарычев<sup>2</sup>, К.Н. Афанасьев<sup>2</sup>, И.А. Будашов<sup>1</sup>, М.В. Седова<sup>2</sup>, И.А. Богинская<sup>2</sup>, С.В. Амионов<sup>3</sup>, Е.В. Коростылев<sup>2</sup>, А.Н. Лагарьков<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Институт теоретической и прикладной электродинамики РАН; e-mail: sarychev\_andrey@yahoo.com; <sup>3</sup>физический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова)

Исследованы возможности использования нового диэлектрического метаматериала на основе диоксида церия в целях дополнительного усиления сигнала гигантского комбинационного рассеяния и создания нового поколения сенсорных материалов. Созданный метаматериал включает в свой состав пленки диоксида церия с фасетчатой структурой и иммобилизованные на их поверхности плазмонные наночастицы. Достигнуто дополнительное усиление (более чем в 200 раз) сигнала гигантского комбинационного рассеяния. Рассмотрены вопросы применения нового материала для высокочувствительного биохимического и иммунологического анализов.

**Ключевые слова:** гигантское комбинационное рассеяние, диоксид церия, метаматериалы, фасетчатые структуры, биосенсоры, иммуноанализ.

В последнее десятилетие достаточно четко обозначился положительный тренд в развитии высокочувствительных и одновременно быстродействующих и экономически привлекательных сенсорных систем для определения химических и биологических агентов, влияющих на состояние окружающей среды и безопасное существование человека, животных и растений. В этом отношении весьма привлекательно выглядят достижения в плазмонике, нанотехнологиях, создании метаматериалов и оптики, которые при комплексном использовании позволяют существенным образом увеличивать оптический сигнал и тем самым обеспечивать регистрацию даже единичных молекул и молекулярных комплексов.

Многочисленными исследованиями было показано [1–3], что плазмонные наноантенны, состоящие из металлических наночастиц, обладают очень важным свойством концентрировать электромагнитное поле. Кроме того, на сегодняшний день известно, что диэлектрические среды со случайным распределением показателя преломления и неравномерной шероховатой поверхностью обеспечивают неоднородное распределение максимумов интенсивности поля в проходящем и отраженном свете [4]. Эти явления могут быть использованы для увеличения чувствительности линейной и нелинейной спектроскопии. Поскольку сигнал комбинационного рассеяния пропорционален четвертой степени локального электрического поля в

плазмонных метаматериалах, а современные металлические наноантенны позволяют получать усиление поля в сто и тысячу раз, можно ожидать, что сигнал комбинационного рассеяния будет усилен в  $10^8$ – $10^{12}$  раз [5]. Объединение плазмонных наноантен и диэлектрических сред со случайным распределением показателя преломления и неравномерной шероховатостью позволяет надеяться на дополнительное многократное усиление сигнала комбинационного рассеяния [6]. Изучению возможностей такого типа структур в целях создания высокочувствительных сенсорных систем и посвящена настоящая работа. В представленном исследовании рассмотрено необычное свойство новых материалов на основе фасеточных структур диоксида церия и иммобилизованных на их поверхности наночастиц золота дополнительно усиливать сигнал гигантского комбинационного рассеяния.

### Материалы и методы

Для проведения экспериментов использовали следующие реактивы: NEPES фирмы («Carl Roth GmbH», Германия), KI (Уральский завод химреактивов, Россия), ДТНБ (5,5'-Дитиобис(2-нитробензойная кислота)) фирмы «Sigma» (США), золотохлористоводородная кислота 30%-й раствор в HCl («Aldrich», США), ПДДА (полидиметилдиаллиламмония хлорид) с молекулярной массой

200 000–350 000, 20%-й раствор в воде («Aldrich», США), ПЭГ (полиэтиленгликоль) со средней молекулярной массой 20 000 («Serva», Германия), НЕРЕС (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота) фирмы «Sigma» (США), Трис (Трис(гидроксиэтил)метиламин) фирмы «Sigma», США), цитрат натрия («Merck», Германия), бриллиантовый зеленый (ЗАО «Обновление», г. Новосибирск, Россия). Все реактивы имели марку не ниже «х.ч.» и использовались без предварительной очистки. Все растворы готовили на деионизованной воде, удельное сопротивление которой составляет не менее 18,2 МОм·см, полученной с помощью системы очистки воды «Milli-Q» («Millipore Corporation», США).

Для центрифугирования растворов использовали центрифугу «Biofuge A» («Heraeus Sepatech GmbH», ФРГ).

Для изготовления пленок с фасеточной структурой на основе диоксида церия использовали метод электронно-лучевого испарения в вакууме на подложки из поликора, которые были предварительно промыты изопропиловым спиртом и подвергнуты ионной чистке в вакуумной камере (давление в камере 1·10<sup>-2</sup> Торр) ионным пучком (ток в пучке 150 мА, напряжение 1,5 кВ) в течение 15 мин. Для обеспечения адгезии СеО<sub>2</sub> методом электронно-лучевого испарения в вакууме на подложках был сформирован подслои алюминия толщиной 100–150 нм. При нанесении алюминия ток в электронном пучке составлял 100 мА, напряжение 8 кВ. Алюминий испаряли из специального тугоплавкого тигля, изготовленного из диборидкарбидтитана. Оксид церия испаряли из таблетированного оксида церия высокой степени чистоты, помещенного в охлаждаемый водой медный тигль. При испарении ток в пучке составлял 30 мА, напряжение 8 кВ. Контроль толщины напыляемых пленок осуществляли с помощью системы оптического контроля интерференционных максимумов и минимумов пропускания на длине волны 900 нм на образцах-свидетелях стекла. Расстояние от тигля до подложек составляло 450 мм.

Золь наночастиц золота (НЧЗ) получали методом цитратного восстановления [7]. Измерение размера НЧЗ в растворе проводили методом анализа траекторий наночастиц с использованием прибора «Nanosight LM10» («Nanosight Ltd.», Великобритания) в конфигурации HS-B (высокочувствительная камера «Andor Luca», лазерный источник с длиной волны 405 нм мощностью 45 мВт). Образцы золь золотых наночастиц разводили в 1000 раз 10 мМ трис буфером (рН 8,1), обеспечивая оптимальную для измерения

концентрации частиц кислотность. Измерения проводили как минимум в шести повторах с последующей статистической обработкой. Средний размер частиц раствора НЧЗ составил 56 нм, стандартное отклонение SD = 1 нм.

Для приготовления ГКР-активной метки НЧЗ обрабатывали ДТНБ. В результате такой обработки происходила ковалентная фиксация тионитробензойной кислоты (ТНБ) на поверхности НЧЗ за счет тиоловых групп, образующихся в ходе гидролиза ДТНБ. Таким образом, на выходе образуется конъюгат НЧЗ с ТНБ (НЧЗ–ТНБ). Для осуществления описанного выше процесса исходный золь НЧЗ разбавляли в два раза раствором ДТНБ в НЕРЕС (5 мМ, рН 8 при 25°C). Инкубацию НЧЗ с ДТНБ проводили в течение суток при комнатной температуре. Затем в инкубационную смесь добавляли раствор ПЭГ в воде (10 мг/мл) до концентрации 0,5 мг/мл и инкубировали в течение 30 мин. Центрифугировали (1 300 об/мин, 10 мин), выливали на осадочную жидкость, ресуспендировали осадок в воде с ПЭГ (0,5 мг/мл) до концентрации наночастиц, равной начальной. Максимум спектра поглощения золя смещается с 534 до 540 нм.

Иммобилизацию НЧЗ на поверхности фасетчатых структур диоксида церия проводили по методике [8] с некоторыми модификациями. Для этого фасетчатые структуры инкубировали в растворе ПДДА (10 мг/мл) с KI (20 мМ) в воде (готовится за сутки до использования) в течение 20 мин в ячейках 96-луночных полистирольных планшет. Затем промывали водой (3 раза по 300 мкл в ячейках 96-луночных полистирольных планшет) и высушивали струей воздуха. Далее конъюгат НЧЗ–ТНБ в воде (оптическая плотность ~0,1) инкубировали с фасетчатыми структурами, модифицированными ПДДА, в течение 1 ч при комнатной температуре в ячейках из пленки Parafilm (поверхность подложек располагалась горизонтально). Затем промывали водой (3×300 мкл) и высушивали струей воздуха.

Спектры поглощения измеряли на планшетном спектрофотометре «Mark™ Microplate Spectrophotometer» («Bio-Rad Laboratories», США).

Спектры КР регистрировали на спектрометре «Alpha 500R» («WITec», Германия), сопряженного с инвертированным конфокальным микроскопом с объективом EC Epiplan-Neofluar 100×/0,9 DIC ∞/0 («Carl Zeiss», Германия) с численной апертурой NA = 0,9, лазерным источником WITec 532 нм (60 мВт) и системой регистрации сигнала Andor CCD-камера.

Регистрацию сигналов гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) на поверхности фасеточ-

ных структур диоксида церия проводили с использованием спектрометра «innoRam BWS445(B-785S)» («B&WТек Inc.», США), облучение образца проводили в еpi-конфигурации с использованием 20-кратного объектива ( $NA = 0,4$ ) и лазерного источника 785 нм (29 мВт). Сигнал ГКР регистрировали на полосах стоксового сдвига тионитробензойной кислоты [9] 326, 1060, 1338 и 1558  $\text{см}^{-1}$ , время накопления сигнала 1,5 с. Итоговую интенсивность сигналов рассчитывали как среднее арифметическое величин 10 сигналов в разных точках образца после вычитания базовой линии.

Исследование поверхности и сколов фасетчатых структур на основе диоксида церия проводили методом сканирующей электронной микроскопии с использованием прибора «Supra-40» («Carl Zeiss», Германия) при ускоряющем напряжении 10 кВ и прибора «Quanta» (FEI) соответственно.

Исследования поверхности фасетчатых структур методом атомно-силовой микроскопии проводили с использованием атомно-силового микроскопа «Solver ProM» фирмы «NT MDT» (Россия) в полуконтактной моде.

### Результаты и их обсуждение

Исследование структуры получаемых пленок диоксида церия методом сканирующей электронной микроскопии (рис. 1) показало, что получаемые пленки имеют своеобразную фасетчатую структуру с характерным размером фасеток (2–3 мкм) при этом каждая фасетка отделена от соседней вертикальной трещиной толщиной 1–2 нм и по периметру обрамлена бордюром. Детальное исследование полученных фасетчатых структур диоксида церия при разной их толщине было проведено методом атомно-силовой микроскопии. Это исследование позволило выявить общие элементы, характеризующие структуру получаемых пленок. На рис. 2 представлена схема, отражающая основные элементы фасеток: наноразмерные (несколько десятков нм) овальной формы (1), формирующие более крупные агломераты (2) с характерными размерами от 300 до 700 нм, которые и формируют фасетку. Характерные размеры указанных элементов, а также высота обрамляющего фасетку бордюра при разной толщине получаемых фасетчатых структур приведены в табл. 1, где показано, что средний размер наноструктур 1 не изменяется с ростом толщины фасетчатых пленок в диапазоне 800–2400 нм и составляет величину порядка 25–32 нм. И только при толщине фасетчатых пленок 2800 нм эта величина

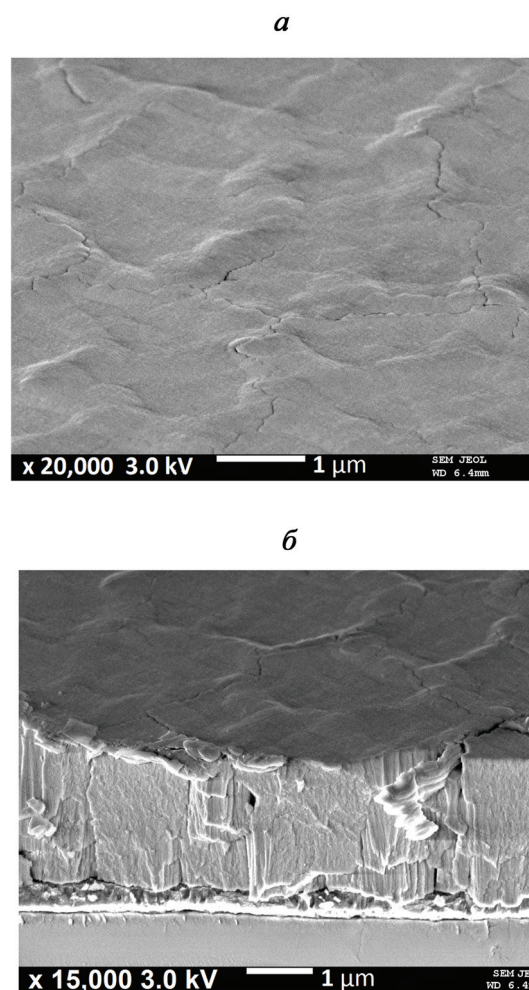


Рис. 1. Полученные методом сканирующей электронной микроскопии изображения фасетчатых структур на основе диоксида церия: *a* – общий вид, *б* – скол

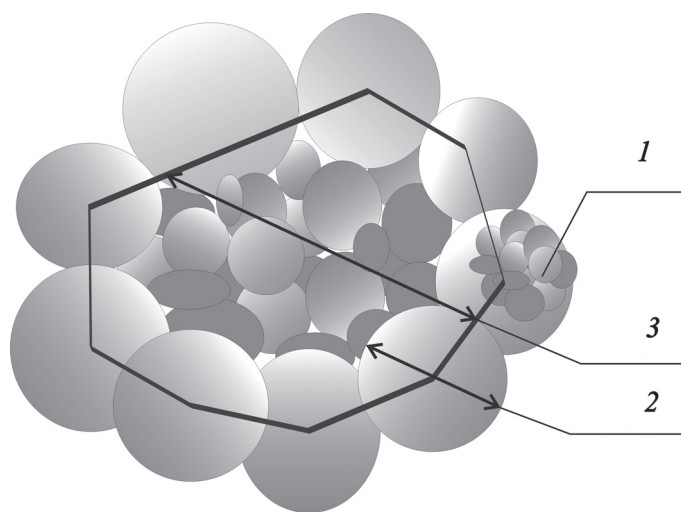


Рис. 2. Схема расположения структурных элементов фасетчатых пленок на основе диоксида церия

Т а б л и ц а 1

**Размеры элементов фасетчатых структур при разной толщине пленок диоксида церия**

Толщина пленки, нм	Высота бордюра, нм	Размер фасетки, мкм	Размер агломератов, мкм	Размер наноразмерных образований, нм
800	29±4	1,3±0,1	0,32±0,03	28±2
1200	50±7	1,5±0,1	0,37±0,04	29±4
1600	118±17	2,0±0,1	0,45±0,04	32±4
2000	126±15	2,5±0,3	0,57±0,04	23±3
2400	105±24	2,3±0,3	0,60±0,05	25±4
2800	128±19	2,8±0,2	0,65±0,06	75±7

возрастает практически в три раза (до 75 нм). Эффективный размер агломератов 2 монотонно растет с увеличением толщины фасетчатых пленок. Размеры фасеток и высота бордюров также имеют тенденцию к росту с увеличением толщины пленок, имея при этом локальные минимумы при толщине 2400 нм.

Полученные фасеточные структуры фактически представляют набор диэлектрических резонаторов. Можно ожидать, что при внешней засветке в системе диэлектрических резонаторов будут возбуждаться коллективные электромагнитные моды, увеличивающие напряженность поверхностного электрического поля. Увеличение напряженности электрического поля приведет, в свою очередь, к усилению сигнала комбинационного рассеяния, который пропорционален четвертой степени величины напряженности

локального поля. Другими словами, достаточно увеличить локальное поле в десять раз, чтобы получить эффект гигантского комбинационного рассеяния. Таким образом, можно прогнозировать проявление нелинейных оптических эффектов на поверхности полученных фасетчатых структур и, в частности, дополнительного усиления сигналов комбинационного и гигантского комбинационного рассеяния.

Исследования оптических изображений и распределения по поверхности пленок сигнала комбинационного рассеяния фасетчатых структур диоксида на стоксовой частоте  $456\text{ см}^{-1}$  (рис. 3) показали, что сигналы отражения света и комбинационного рассеяния распределены по поверхности пленки неравномерно. В случае оптического изображения (рис. 3, а) области более интенсивного отражения фактически коррели-

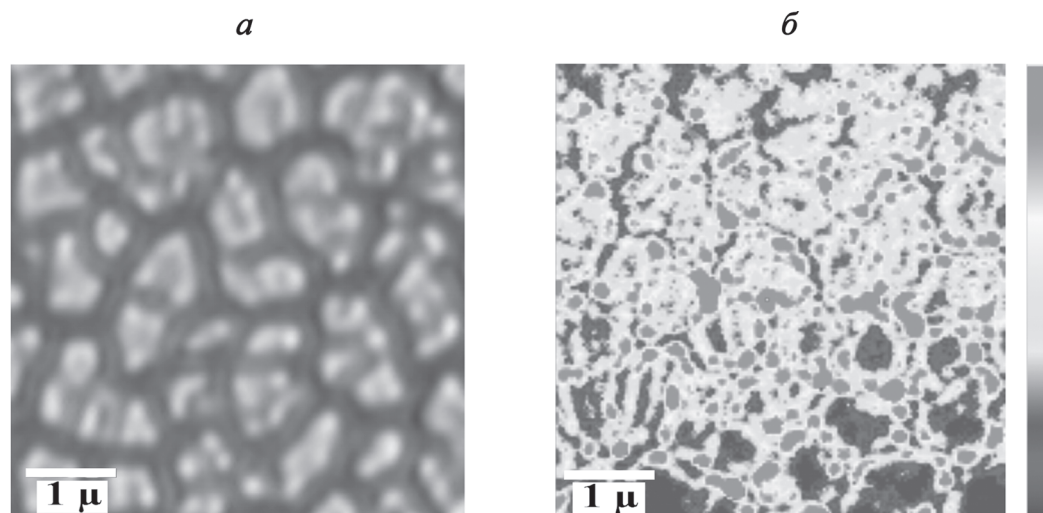


Рис. 3. Распределение оптических сигналов по поверхности фасетчатых структур на основе диоксида церия: а – оптическое изображение, б – распределение интенсивности сигнала комбинационного рассеяния при  $456\text{ см}^{-1}$

руют с распределением агломератов, при этом интенсивные сигналы комбинационного рассеяния при облучении лазерным источником с длиной волны 532 нм сосредоточены в основном в области бордюров.

Таким образом, полученные фасетчатые структуры диоксида церия обеспечивают неоднородное распределение максимумов интенсивности поля в проходящем и отраженном свете, что позволяет надеяться на эффект дополнительного усиления сигнала гигантского комбинационного рассеяния от плазмонных нанополостей (наночастиц металлов). Для этого на поверхности диоксида церия были иммобилизованы конъюгаты НЧЗ–ТНБ. Иммобилизацию проводили с использованием метода электростатической адсорбции полиэлектролитов. Типичные изображения таких структур, полученные с использованием сканирующей электронной микроскопии, приведены на рис. 4. Хорошо видно, что НЧЗ распределены неравномерно и в ряде случаев образуют разнообразные агрегаты. Для пленок диоксида церия разной толщины были оценены доли поверхности, занимаемые НЧЗ. Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что доля поверхности диоксида церия, занятой НЧЗ, колеблется в диапазоне от 1 до 8%. Величина сигналов ГКР, нормированных на количество НЧЗ на поверхности фасетчатых структур, при стоксовых сдвигах 326, 1060 и 1338 см<sup>-1</sup> на пленках разной толщины приведены на рис. 5. Видно, что величина ГКР сигнала заметно колеблется и имеет абсолютный максимум при толщине пленки диоксида церия 2400 нм. Дополнительная нормировка ГКР-сигналов на величину сигнала при толщине пленки 2800 нм (рис. 6) позволяет оценить степень дополнительного усиления сигнала ГКР при разной толщине и на разных полосах стоксового сдвига. Из данных, представленных на рис. 6 видно, что происходит максимальное дополнительное уси-

Таблица 2

Доля поверхности фасетчатых структур, занятой НЧЗ, для пленок диоксида церия разной толщины

Толщина пленки, нм	Доля поверхности, занятой НЧЗ, %
90	5.7±0.7
200	5.8±0.7
300	4.6±0.7
400	3.8±0.7
500	1.3±0.7
600	3.7±0.8
700	2.3±1.1
800	4.5±1.2
1200	7.7±4.6
1600	6.0±3.7
2000	5.2±0.6
2400	2.3±1.1
2800	2.1±2.7

ление ГКР-сигнала более чем в 200 раз. Можно также отметить, что это дополнительное усиление зависит от величины стоксового сдвига. Другими словами, выбор соответствующей толщины фасетчатой структуры диоксида церия позволяет селективно усиливать (выделять) сигналы комбинационного рассеяния определенных молекулярных группировок.

Таким образом, создан новый метаматериал на основе фасетчатых структур диоксида церия и иммобилизованных на его поверхности НЧЗ. Новый материал обеспечивает дополнительное усиление ГКР сигнала в 200 и более раз.

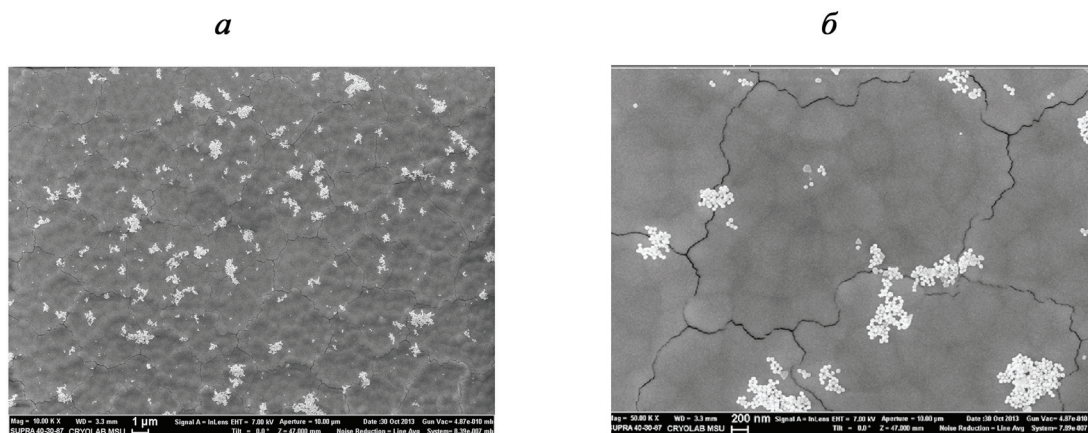


Рис. 4. СЭМ изображения фасетчатых структур диоксида церия после иммобилизации конъюгатов НЧЗ–ТНБ

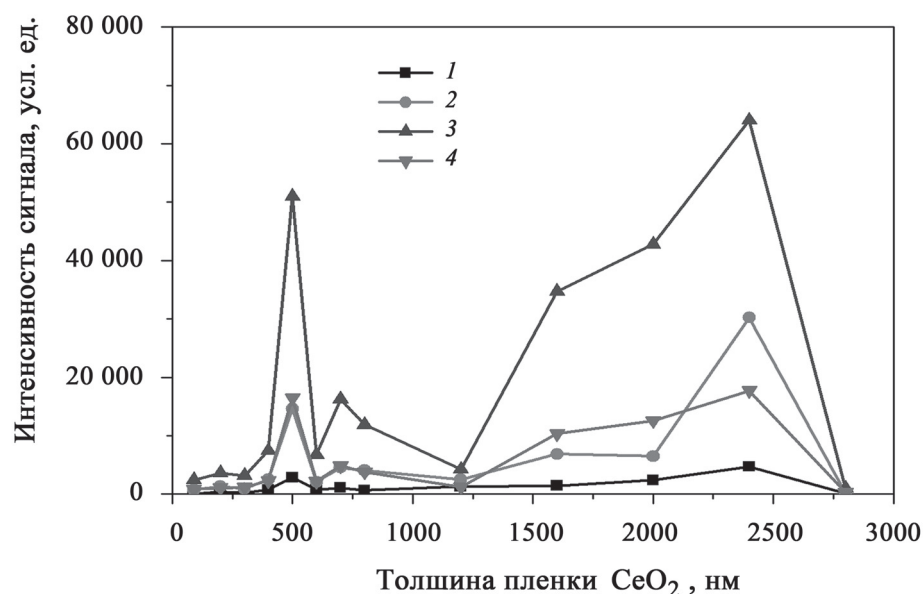


Рис. 5. Величины сигналов ГКР от конъюгатов НЧЗ–ТНБ на фасетчатых структурах разной толщины и при разных полосах стоксового сдвига,  $\text{см}^{-1}$  (1 – 326, 2 – 1060, 3 – 1338, 4 – 1558). Сигналы нормированы на количество НЧЗ на поверхности

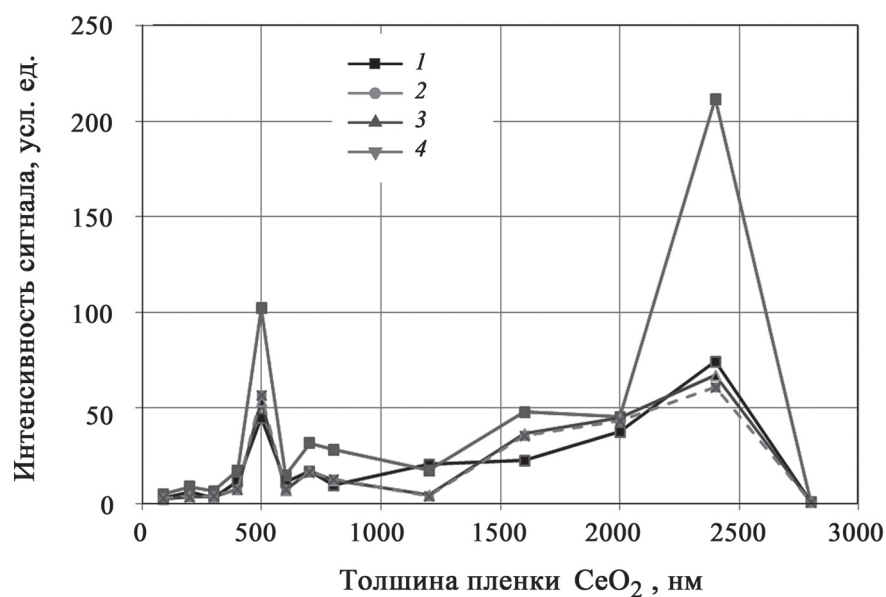


Рис. 6. Величины сигналов ГКР от конъюгатов НЧЗ–ТНБ на фасетчатых структурах разной толщины и при разных полосах стоксового сдвига,  $\text{см}^{-1}$  (1 – 326, 2 – 1060, 3 – 1338, 4 – 1558). Сигналы нормированы на количество НЧЗ на поверхности и на величину соответствующего сигнала при толщине пленки 2800 нм

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Moskovits M.* // *Rev. Mod. Phys.* 1985. Vol. 57. P. 783.
2. *Brouers F., Blacher S., Lagarkov A.N., Sarychev A.K., Gadenne P., Shalaev V.M.* // *Phys. Rev. B.* 1997. Vol. 55. P. 13234.
3. *Sarychev A.K.* // *Tutorials in Complex Photonic Media* (SPIE Press Monograph Vol. PM194). Eds. M.A. Noginov, G. Dewar, M.W. McCall, N.I. Zheludev. Washington, 2009. Chapter 13. P. 397.
4. *Laser Speckle and Related Phenomena.* Ed. By J.C. Dainty, Berlin, Heidelberg, N.Y., 1975.
5. *Sarychev A.K., Shalaev V.M.* *Electrodynamics of Metamaterials.* Singapore, New Jersey, London, 2007.
6. *Kurochkin I.N., Sarychev A.K., Ruzhikov I.A., Budashov I.A., Maklakov S.S., Boyarintsev S.O., Lagarkov A.N.* // *Portable Biosensing of Food Toxicants and Environmen-*

- tal Pollutants. Edited by D.P. Nikolelis, T. Varzakas, A. Erdem, G-P. Nikolelis. Boca Raton, London, New York, 2014. Chapter 4. P. 97.
7. *Turkevich J., Stevenson P.S., Hiller J.* // Discuss. Faraday Soc. 1955. Vol. 11. P. 55.
8. *Gromova M.S., Sigolaeva L.V., Fastovets M.A., Evtushenko E.G., Babin I.A., Pergushov D.V., Amitonov S.V., Eremenko A.V., Kurochkin I.N.* // Soft Matter. 2011. Vol. 7. P. 7404.
9. *Tamer U., Boyaci I.H., Temur E., Zengin A., Dincer I., Elerman Y.* // J. Nanopart. Res. 2011. Vol. 13. P. 3167.

Поступила в редакцию 10.10.14

## ENHANCEMENT OF SERS SIGNAL USING OF NEW MATERIAL BASED ON CERIUM DIOXIDE FACET DIELECTRIC FILMS

I.N. Kurochkin<sup>1</sup>, I.A. Ryzhikov<sup>2</sup>, A.K. Sarychev<sup>2</sup>, K.N. Afanasiev<sup>2</sup>, I.A. Budashov<sup>1</sup>, M.V. Sedova<sup>2</sup>, I.A. Boginskaya<sup>2</sup>, S.V. Amitonov<sup>3</sup>, E.V. Korostilev<sup>2</sup>, A.N. Lagarkov<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University; <sup>2</sup>Institute for Theoretical and Applied Electromagnetics, The Russian Academy of Science; <sup>3</sup>Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University)

**In this paper we investigated the possibility of the facet structures, based on cerium dioxide for the purpose of increasing the intensity of the SERS signal. During the studies a new metamaterial was developed. The metamaterial is based on the facet cerium dioxide films and plasmonic nanoparticles that are immobilized on its surface. The new metamaterial provides additional SERS signal amplification factor more than 200. Thus developed material offers the prospect of increasing the sensitivity and selectivity of biochemical and immunological analysis.**

**Key words:** Surface Enhancement Raman Scattering, cerium dioxide, metamaterials, facet structure, biosensors, immunoassay.

**Сведения об авторах:** Курочкин Илья Николаевич – профессор химического факультета МГУ, докт. хим. наук (ikur@genebee.msu.su); Рыжиков Илья Анатольевич – зав. лабораторией № 4 Института теоретической и прикладной электродинамики РАН, канд. техн. наук (panosom@mail.ru); Сарычев Андрей Карлович – глав. науч. сотр. Института теоретической и прикладной электродинамики РАН, профессор, докт. физ.-матем. наук (sarychev\_andrey@yahoo.com); Афанасьев Константин Николаевич – ст. науч. сотр. Института теоретической и прикладной электродинамики РАН, (kavacuum@mail.ru); Будашов Игорь Анатольевич – вед. инженер химического факультета МГУ, канд. биол. наук (budashov@gambler.ru); Седова Марина Владимировна – вед. науч. сотр. Института теоретической и прикладной электродинамики РАН, канд. техн. наук (panosom@mail.ru); Богинская Ирина Анатольевна – науч. сотр. Института теоретической и прикладной электродинамики РАН, канд. техн. наук (i.boginskaya@bk.ru); Амитонов Сергей Владимирович – аспирант Физического факультета МГУ (sam-msu@yandex.ru); Коростылев Евгений Владимирович – аспирант Московского физико-технического института (государственного университета) (golavl.itachi@gmail.com); Лагарков Андрей Николаевич – директор Института теоретической и прикладной электродинамики РАН, академик, докт. физ.-матем. наук (itae@itae.ru).