

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники


**ВЛИЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНОГО ПЛАЗМОННОГО
РЕЗОНАНСА НА ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
ДОКСИЦИКЛИНА С ЕВРОПИЕМ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

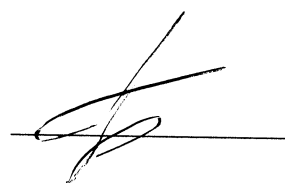
студентки 2 курса 254 группы
направления 03.04.02 «Физика»
физического факультета

Данилиной Татьяны Григорьевны

Научный руководитель
профессор, д.ф.- м.н., профессор


В.И. Кочубей

Зав. кафедрой
д.ф.- м.н., профессор


В.В. Тучин

Саратов 2017

Введение

Актуальность работы: характерной чертой металлических наночастиц серебра является сильное и специфическое взаимодействие с электромагнитным излучением. Оптические свойства наночастиц зависят от их характеристик (размер, форма, состав, адсорбционные слои) и окружения наночастиц, пространственного упорядочения. Спектры поглощения и рассеяния наночастиц металлов размером более 2 нм содержат интенсивную и широкую полосу в видимой, ближней УФ- и ИК- областях, полосу поверхностного плазмонного резонанса (ППР) или полосу резонанса Ми. Наночастицы серебра имеют наибольшую интенсивность полосы ППР. У золота и меди она намного меньше. Серебро имеет самый большой коэффициент экстинкции среди наночастиц металлов. Повышенный интерес к наночастицам серебра вызван также особенностями биологического действия, которые радикально отличаются от свойств этого же вещества в макроскопических дисперсиях.

Особый интерес представляет изучение влияния поверхностного плазмонного резонанса наночастиц серебра на флуориметрические свойства биологически активных веществ и их комплексов с РЗЭ, которое может быть использовано в разработке наносенсоров для определения антибиотиков, антиоксидантов, антикоагулянтов и др. физиологически активных веществ в объектах окружающей среды, пищевых продуктах и лекарственных препаратах.

Цель работы: изучение влияния наночастиц серебра на флуориметрические свойства доксициклина и его комплекса с европием и разработка флуориметрической методики определения антибиотика в лекарственном препарате.

Задачи работы:

1. Синтез наночастиц серебра и характеристика их морфологических свойств;
2. Влияние наночастиц серебра на флуориметрические свойства доксициклина;
3. Модификация наночастиц серебра ионами европия и влияние модифицированных наночастиц на флуориметрические свойства доксициклина;
4. Разработка флуориметрической методики определения доксициклина в лекарственных препаратах.

Научная новизна:

экспериментально доказано участие переноса энергии ППР наночастиц серебра в усилении интенсивности сенсibilизированной флуоресценции ионов европия в его комплексе с доксициклином;

разработана флуориметрическая методика определения доксициклина в лекарственном препарате «ДОКСИЦИКЛИН», производства ООО «Озон», основанная на измерении флуоресценции, усиленной наночастицами серебра.

Научная значимость работы: предложен подход к повышению интенсивности флуоресценции, основанный на переносе энергии ППР от наночастиц серебра к флуоресцирующей молекуле доксициклина. Использование уникальных свойств наночастиц серебра и редкоземельных элементов позволяет значительно (до 10 и более раз) повысить интенсивность люминесценции и понизить предел обнаружения определяемого антибиотика.

Структура ВКР и объем: магистерская выпускная квалификационная работа состоит из введения, четырех глав, выводов, списка используемых

источников (состоящего из 59 наименований) и техники безопасности. Материалы работы изложены на 57 страницах, содержащих 16 рисунков и 4 таблиц.

Основная часть

Глава 1 Обзор литературы представлена в виде двух подразделов:

1.1. Получение наночастиц металлов и 1.2. Влияние поверхностного плазмонного резонанса наночастиц благородных металлов на флуоресцентные свойства молекул и комплексов.

В разделе 1.1.1 представлены физические методы получения наночастиц серебра.

В разделе 1.1.2 представлены химические методы получения синтеза наночастиц серебра.

В Главе 2 дано описание объектов и методов исследования, методика получения наночастиц серебра.

В Главе 3 Результаты и обсуждения приведены данные экспериментальной работы.

Раздел 3.1 посвящен изучению морфологических свойств наночастиц серебра и их влияние на флуоресцентные свойства доксициклина.

Средний размер полученных наночастиц серебра по данным ПЭМ 20 ± 2 нм оставался постоянным в течение 30 суток, величина ζ -потенциала $-50,0$ мВ обеспечивала высокую стабильность дисперсии системы (рисунок 2, рисунок 3). Полоса поверхностного плазмонного резонанса (ППР) в течение первых суток претерпевала батохромные (на 20-25 нм) и гиперхромные (в 5 раз) изменения (рисунок 1). Свойства наночастиц серебра практически не изменялись в течение месяца.

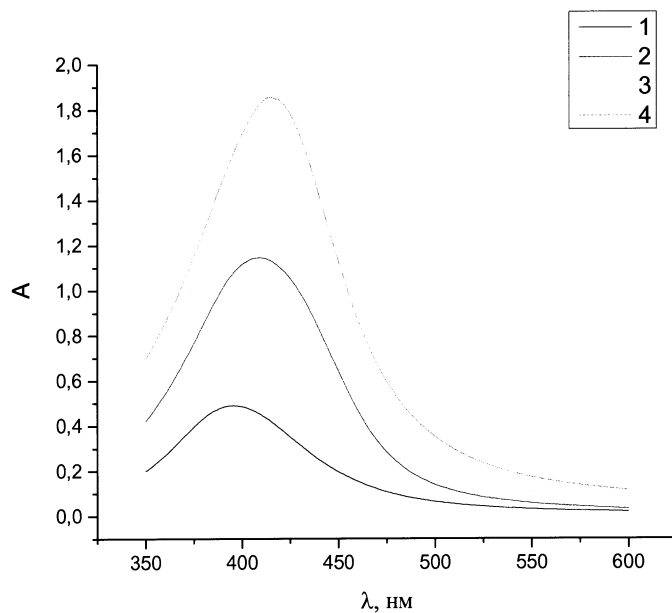


Рисунок 1. Спектры поглощения наночастиц серебра стабилизированных цитратом. 1 - через 20 минут после синтеза, 2 - через 24 часа, 3 - через 14 суток, 4 - через месяц. $C_{HCl} = 3,8 \cdot 10^{-7} M$, $\lambda_{возб.} = 390 \text{ нм}$.

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 45,21	Peak 1: 37,88	72,0	12,67
PdI: 0,101	Peak 2: 5,170	18,5	1,654
Intercept: 0,786	Peak 3: 1,319	9,5	0,3933
Result quality : Refer to quality report			

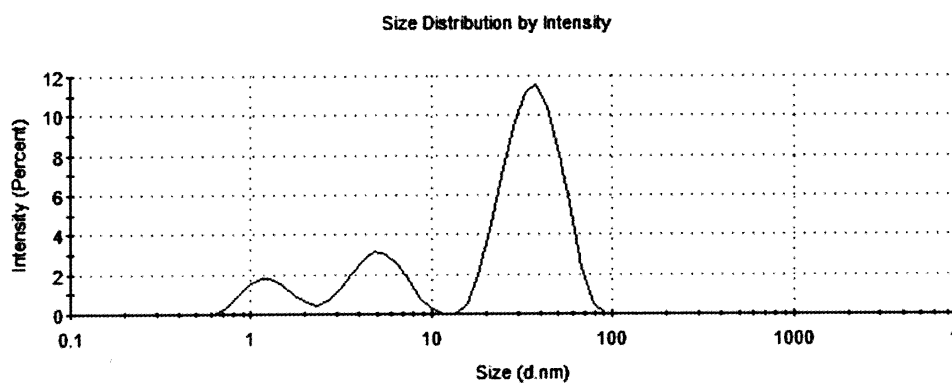


Рисунок 2. Распределение частиц по вкладу в общую интенсивность рассеянного света, нм позволяет установить наличие крупных частиц или агрегатов.

		Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)	
Z-Average (d.nm):	13,81	Peak 1:	50,33	57,8	16,81
Pdl:	0,580	Peak 2:	2,170	21,6	0,2998
Intercept:	0,706	Peak 3:	10,01	18,4	2,153
Result quality : Refer to quality report					

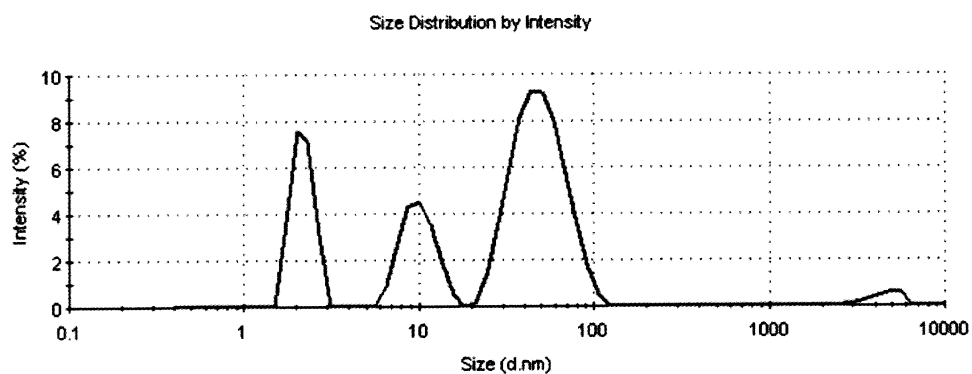


Рисунок 3. Распределение частиц по вкладу в общую интенсивность рассеянного света, нм.

Разделе 3.2 посвящен синтезу и изучению морфологических свойств наночастиц серебра модифицированных ионами европия. Показано, что увеличение сигнала сенсibilизированной флуоресценции наблюдается только в присутствии модифицированных ионом европия наночастиц серебра в 100 раз (рисунок 4).

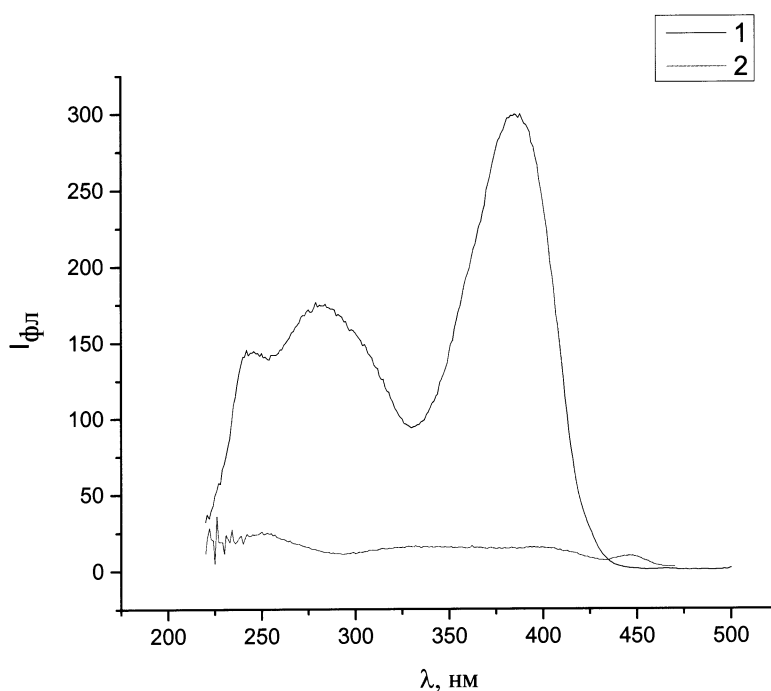


Рисунок 4. Спектр возбуждения комплекса Eu^{3+} -ДЦ и ДЦ.
 $C_{\text{НЧ}} = 5.0 \cdot 10^{-7} \text{M}$, $C_{\text{ДЦ}} = 1.0 \cdot 10^{-6} \text{M}$, $C_{\text{Eu}^{3+}} = 1.2 \cdot 10^{-5} \text{M}$, $\text{pH} = 9$, $\lambda_{\text{фл}} = 615 \text{нм}$,
 $\lambda_{\text{возб}} = 397 \text{нм}$.

В разделе 3.3 описывается зависимость времени жизни флуоресценции комплекса ДЦ- Eu^{3+} в присутствии и в отсутствии наночастиц серебра. Установлено, что введение добавок коллоидных растворов наночастиц серебра к раствору доксицилина не вызывает изменений в спектрах флуоресценции антибиотика, несмотря на то, что наблюдается значительное перекрывание спектров возбуждения доксицилина и ППР наночастиц серебра (рисунок 5).

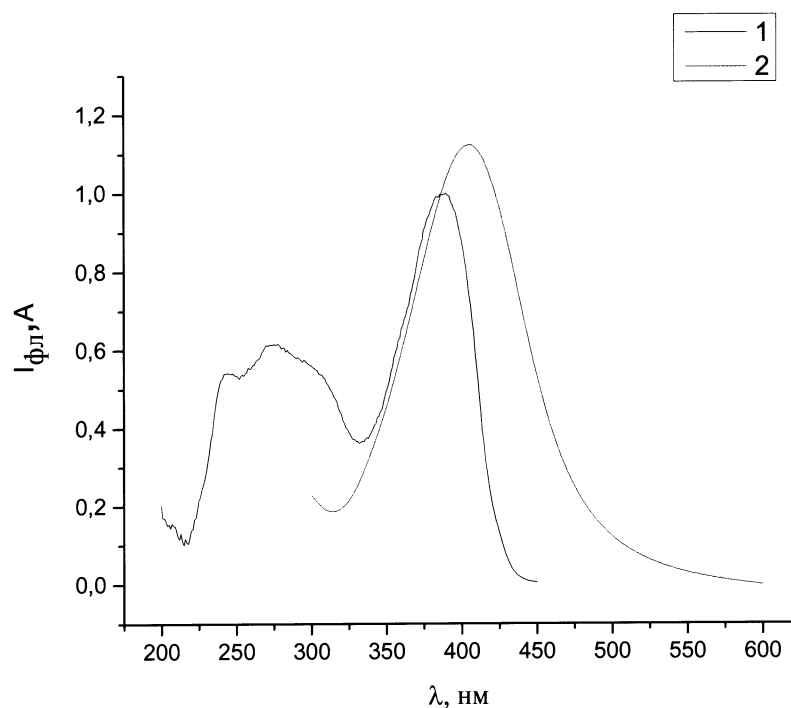


Рисунок 5. Перекрывание спектров поверхностного плазмонного резонанса наночастиц серебра (1) со спектром поглощения доксициклина (2).

$C_{Нч} = 3,8 \cdot 10^{-7}$ М, $C_{ДЦ} = 10^{-5}$ М, ААБ рН = 9, $\lambda_{\text{возб.}} = 390$ нм.

Доксициклин обладает слабовыраженными флуоресцентными свойствами ($\lambda_{\text{возб}} = 390$ нм, $\lambda_{\text{фл}} = 520$ нм, рисунок 6.). Ожидаемое усиление собственной флуоресценции доксициклина не наблюдается ввиду большого расстояния между наночастицами серебра и молекулами доксициклина.

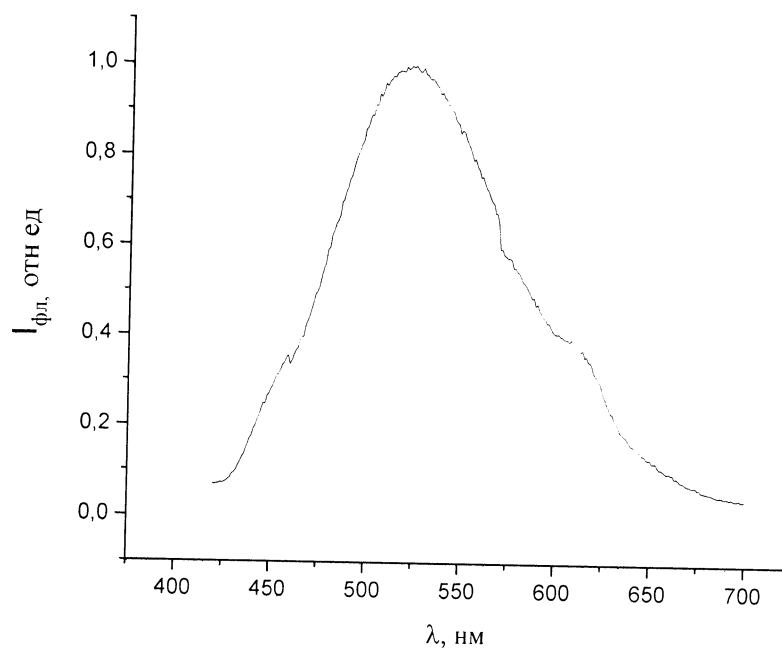


Рисунок 6. Спектр флуоресценции доксициклина в отсутствие и в присутствии наночастиц серебра. $C_{ДЦ} = 10^{-5}M$, ААБ рН = 9, $\lambda_{возб.} = 390$ нм.

Установлено, что в присутствии наночастиц серебра время жизни флуоресценции комплексов европия с доксициклином возрастает в 2 раза. В таблице 1 приведены значения время жизни флуоресценции.

Таблица 1

Система	τ , мс
Eu^{3+} -ДЦ	71.4 ± 15.6
Eu^{3+} -ДЦ-НЧ	142 ± 16.7

В разделе 3.4 приведены Оптимальные условия получения максимальной флуоресценции. Описание условий конкретизировано в подразделе 3.4.1 влияние кислотности среды на интенсивность флуоресценции ДЦ в присутствии модифицированные наночастиц серебра и

в подразделе 3.4.2 влияние концентрации наночастиц серебра, а также в подразделе 3.4.3 построение градуировочной зависимости для определения антибиотика в присутствии модифицированные наночастиц серебра.

В четвертой главе описана методика определения содержания ДЦ в лекарственном препарате «Доксициклин», производства ООО «Озон». Для определения использовали метод градуировочного графика. Представлены результаты определения доксициклина в лекарственном препарате. Правильность определения контролировали методом «введено – найдено». Погрешность определения – $S_r=0.11$, диапазон определяемых концентраций $5 \cdot 10^{-8}$ - $6 \cdot 10^{-5}$ М. Предел обнаружения (3σ) составляет $2 \cdot 10^{-8}$ М.

Заключение

1. Синтезированы наночастицы серебра и изучены их морфологические свойства.

2. Установлено, что в присутствии наночастиц серебра, модифицированных ионами европия, сигнал флуоресценции доксициклина увеличивается в 100 раз, время жизни флуоресценции – в 2 раза.

3. Найдены оптимальные условия получения максимального сигнала сенсibilизированной флуоресценции комплекса доксициклина в присутствии модифицированных наночастиц серебра.

4. Разработана флуориметрическая методика определения доксициклина в лекарственном препарате «ДОКСИЦИКЛИН», производства ООО «Озон», основанная на измерении флуоресценции, усиленной наночастицами серебра.