

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра материаловедения, технологии
и управления качеством

**СИНТЕЗ И ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГКР-МЕТОК НА ОСНОВЕ
ЗОЛОТЫХ НАНОСТЕРЖНЕЙ С ПОВЕРХНОСТНОЙ И ВНУТРЕННЕЙ
ЛОКАЛИЗАЦИЕЙ РЕПОРТЕРНЫХ МОЛЕКУЛ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студентки магистратуры 2 курса 209 группы
направления 22.04.01 «Материаловедение и технологии материалов»
профиль «Материаловедение фармацевтического и медицинского назначения»
факультета нано- и биомедицинских технологий

Кушнерук Снежаны Алексеевны

Научный руководитель
доцент кафедры инноватики
на базе АО САПКОН-
НЕФТЕМАШ, к.ф.-м.н.

должность, уч. степень, уч. звание

Консультант
с.н.с. лаборатории
нанобиотехнологии ИБФРМ
РАН, к.ф.-м.н.

должность, уч. степень, уч. звание

Зав. кафедрой
д.ф.-м.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание

подпись, дата

Д.Н. Браташов

инициалы, фамилия

В.А. Ханадеев

инициалы, фамилия

С.Б. Вениг

инициалы, фамилия

Саратов 2020

Введение. В течение последних лет произошёл резкий рост количества исследований, посвященных применению плазмонно-резонансных (ПР) наноструктур для детектирования молекул с использованием спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) или, согласно англоязычной литературе, surface-enhanced Raman scattering (SERS) [1]. За счёт высокого усиления электромагнитного поля внутри нанометровых зазоров и вблизи острых наноразмерных шероховатостей, которые получили название «горячих точек» («hot spots»), спектроскопия комбинационного рассеяния (КР, или Raman Scattering) стала мощным инструментом исследования [2]. Одним из направлений развития приложений ГКР стало использование так называемых «ГКР-меток» («SERS-tags») [3], которые состоят из металлических наночастиц и адсорбированных на них КР-активных молекул-репортёров («Raman reporters»). Благодаря значительному усилению сигнала КР от молекул-репортёров такие метки имеют большой потенциал для использования в биомедицинских применениях и, в частности, в биоимиджинге. При оптимальном выборе положения плазмонного резонанса наночастиц, репортёрных молекул и длины волны облучающего лазера такие метки имеют более сильный оптический отклик по сравнению с флуоресцирующими молекулами и квантовыми точками [4]. Для максимального увеличения интенсивности сигнала гигантского комбинационного рассеяния необходимо настроить плазмонный резонанс наночастиц на длину волны лазера, который используется для возбуждения сигнала комбинационного рассеяния. По этой причине исследователи стараются изготовить для приложений гигантского комбинационного рассеяния такие наночастицы, плазмонный резонанс которых будет настроен на длину волны, близкую к длине волны возбуждения. ГКР-метки имеют выраженные характерные пики в спектре комбинационного рассеяния. Благодаря локализации КР-репортерных молекул на поверхности или внутри наночастиц благородных металлов, такие наноструктуры демонстрируют высокое усиление ГКР-сигнала.

Для ГКР-меток с инкорпорированными молекулами предполагается, что молекулы-репортеры комбинационного рассеяния находятся в тонком зазоре между металлическими ядром и оболочкой. При этом сильное электромагнитное поле внутри зазора приводит к значительному усилению их ГКР-сигнала.

Целью выпускной квалификационной работы является синтез и исследование оптических свойств ГКР-меток на основе золотых наностержней с поверхностной и внутренней локализацией репортёрных молекул.

На основе поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- синтез образцов золотых наностержней, имеющих форму цилиндра с закруглёнными концами;

- получение образцов наностержней с настройкой плазмонного резонанса в диапазоне длин волн 700-900 нм в спектре экстинкции с помощью метода контролируемого травления;

- синтез ГКР-меток на основе данных наностержней путём адсорбции молекул нитрофенола на поверхности наностержней;

- проведение измерения сигнала гигантского комбинационного рассеяния для синтезированных ГКР-меток и исследование зависимости интенсивности данного ГКР-сигнала от спектральной настройки плазмонного резонанса наностержней;

- синтез двухслойных ГКР-меток на основе золотых наностержней с золотой и серебряной оболочкой и с инкорпорированными молекулами-репортёрами;

- исследование морфологических и оптических свойств синтезированных двухслойных ГКР-меток;

- исследование ГКР-свойств синтезированных ГКР-меток и влияние наличия детектируемого зазора на усиление сигнала гигантского комбинационного рассеяния;

- синтез двухслойных ГКР-меток с инкорпорированными КР-репортерными молекулами на основе золотых наностержней с различной толщиной золотой оболочки и исследование их оптических свойств;

- исследование зависимости ГКР-сигнала данных двухслойных ГКР-меток на основе золотых наностержней в зависимости от толщины золотой оболочки.

Новизна выпускной работы заключается в следующем:

1) Благодаря предложенной в работе схеме синтеза золотых наностержней с разным значением плазмонного резонанса они имели одинаковую форму и числовую концентрацию.

2) Благодаря быстрому и медленному синтезу были получены двухслойные ГКР-метки с золотой и серебряной оболочкой. Изменяя параметры синтеза, предоставляется возможность контролировать образование зазоров в случае двухслойных ГКР-меток с золотой оболочкой и ее отсутствие в случае с серебряной оболочкой.

3) С помощью метода контролируемого травления впервые было проведено исследование зависимости ГКР-сигнала от толщины золотой оболочки ГКР-меток.

Дипломная работа занимает 70 страницы, имеет 36 рисунков и 1 таблицу.

Обзор составлен по 120 информационным источникам.

Во введении рассматривается актуальность работы, устанавливается цель и выдвигаются задачи для достижения поставленной цели.

Первый раздел состоит из литературного обзора, который состоит из 6 подразделов: 1) общее понятие эффекта гигантского комбинационного рассеяния и основной вариант его использования; 2) общее представление о метках на основе гигантского комбинационного рассеяния (ГКР-метках), а также преимущества их использования в измерении сигналов ГКР; 3) строение ГКР-меток; 4) оптические свойства ГКР-меток на основе золотых наностержней; 5) эффективность и преимущества применения ГКР-меток типа $\text{Au}@PM@Au$ с несферическими ядрами в измерениях ГКР-сигнала; 6)

использование двухслойных ГКР-меток типа Au@Ag со встроенными КР-репортерными молекулами в ГКР-спектроскопии.

Второй раздел выпускной работы содержит перечень химических реактивов, которые применялись при проведении серии экспериментов, использованное оборудование, методику измерений при проведении экспериментов, которая включает в себя измерение спектров экстинкции образцов, подготовку образцов для получения ПЭМ изображений, а так же измерение спектров КР и ГКР. Так же в данном разделе описаны синтез ГКР-меток на основе золотых наностержней с различным спектральным положением плазмонного резонанса, синтез золотых наностержней, используемых в качестве ядер для двухслойных ГКР-меток с золотой и серебряной оболочкой, синтез двухслойных ГКР-меток с золотой оболочкой с последующим их травлением.

В третьем разделе представлены результаты и обсуждение проделанных экспериментов и измерений различных ГКР-меток.

Основное содержание работы

Для изучения зависимости ГКР-сигнала от плазмонных свойств была проведена характеристика золотых наностержней. Изначально были синтезированы исходные образцы золотых наностержней (ЗНС) по методу Мюррея [5].

Спектры экстинкции исходного коллоидного раствора ЗНС, а также травленных ЗНС с ПР на 899 нм, 788 нм и 700 нм представлены на рисунке 1 (1), (2), (3), (4). Из рисунка 2 (1) видно, что максимум пика ПР ЗНС находится в области 916 нм, а оптическая плотность равна 0.8 при измерении в 2 мм кювете. После проведения контролируемого травления исходного образца ЗНС с настройкой ПР на различные длины волн получили травленные ЗНС с ПР на 899 нм с оптической плотностью, равной 0,65 (рисунок 1 (2)). После травления ЗНС с ПР на 889 нм получили смещение максимума ПР в сторону более коротких длин волн на 788 нм (рисунок 1 (3)). Оптическая плотность составляет 0,47. Спектр поглощения последнего образца травленных ЗНС на

рисунке 1 (4). Длина волны максимума плазмонного резонанса в спектре постепенно сокращается и составляет 700 нм, а оптическая плотность – 0,26.

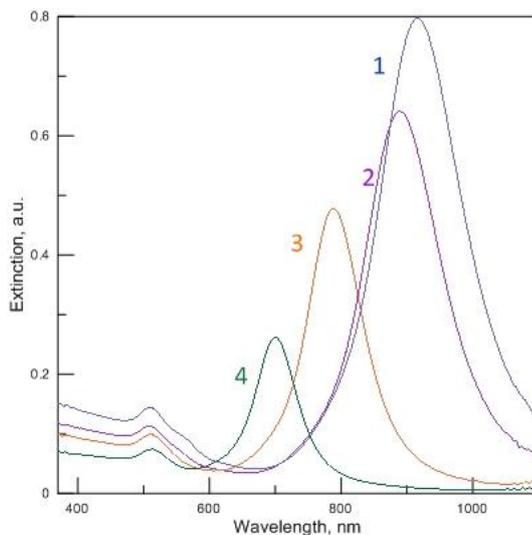


Рисунок 1 – Спектры экстинкции (1) исходного коллоидного раствора золотых наностержней (916 нм), синтезированных по методу Мюррея; (2) травленных золотых наностержней с ПР на 889 нм; (3) травленных золотых наностержней с ПР на 788 нм; (4) травленных золотых наностержней с ПР на 700 нм

По данным ПЭМ средняя длина исходного образца ЗНС составляет 105.2 ± 7.4 нм, а ширина – 22.6 ± 1.2 нм. Стержни имеют форму цилиндров с закругленными концами (рисунок 2, а) с низким содержанием побочных продуктов. Средний размер травленных золотых наностержней с ПР на 889 нм составляет 100.8 ± 7.8 нм в длину и 23.1 ± 1 нм в ширину. С увеличением времени травления длина ЗНС стремительно уменьшается, при этом их форма сохраняет вид цилиндра с закругленными концами (рисунок 2, б). У травленных ЗНС с ПР на 788 нм (рисунок 2, в) происходит резкое уменьшение средней длины ЗНС: 81.8 ± 7.9 нм, а ширина – 23.0 ± 1.3 нм. На ПЭМ фото (рисунок 2, г) представлены золотые наностержни с длиной 66.3 ± 4.0 нм, а ширина так же не меняется по сравнению с предыдущим образцом – 22.9 ± 1.5 нм. Длина ЗНС стремительно уменьшается.

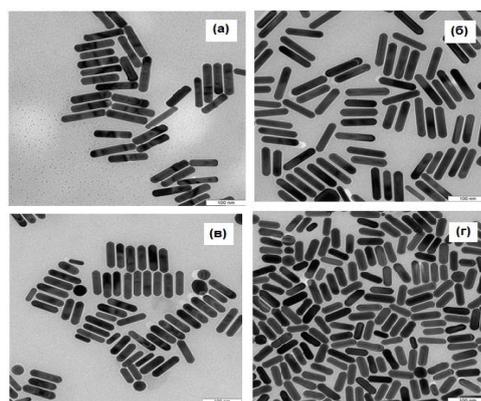


Рисунок 2 – (а) ПЭМ фото ЗНС с максимумом ПР на 916 нм, (б) максимумом ПР на 889 нм, (в) с максимумом ПР на 788 нм, (г) с максимумом ПР на 700 нм

Получены характерные пики нитротиофенола (НТФ) для всех образцов, независимо от положения плазмонных пиков ЗНС (рисунок 3). При настройке ПР золотых наностержней на 889 нм интенсивность данного пика равна 150 относительных единиц, ЗНС с ПР на 788 нм – 2400, величина пика ЗНС с ПР на 700 – 1740. наиболее выраженный пик наблюдается для золотых наностержней с плазмонным резонансом на 788 нм. Это можно объяснить тем, что пик ПР этого образца ЗНС соответствует длине волны облучающего лазера. Интенсивность пика ГКР для образца ЗНС с ПР на 889 нм в 1,59 раз меньше. В случае настройки ПР наностержней на 700 нм интенсивность пика ниже в 1,38 раз. Данный экспериментальный результат является интересным, поскольку существующая теория предсказывает падение ГКР-сигнала более чем в 10 раз при такой отстройке ПР от длины волны облучающего лазера.

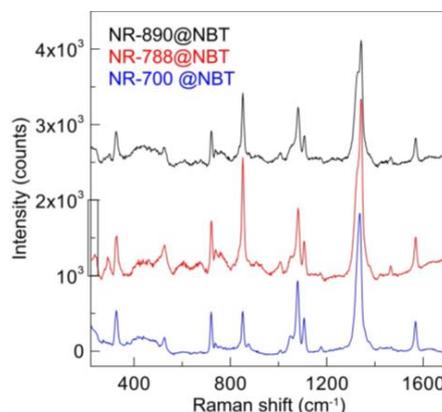


Рисунок 3 – ГКР-спектры молекул НТФ, адсорбированных на травленных образцах ЗНС

Золотые наностержни в качестве ядра для двухслойных ГКР-меток с золотой и серебряной оболочкой получали по методу восстановления золота на золотых зародышах с использованием мягких матриц (метод Эль-Сайеда [6]).

По данным ПЭМ фото, средняя длина золотых наностержней – $41,1 \pm 6,8$ нм, диаметр – $10,9 \pm 2,1$ нм (рисунок 4, а). Окончательная форма двухслойных ГКР-меток с золотой оболочкой – сферическая (рисунок 4, б), его средний диаметр – $44,6 \pm 5,3$ нм. Быстрый синтез ГКР-меток с серебряной оболочкой привел к образованию несферических частиц со средней длиной $42,8 \pm 6,8$ нм и средней шириной $29,3 \pm 5,1$ нм (рисунок 4, в). Медленный рост золотой оболочки ГКР-меток привел к образованию наночастиц со средней длиной $82,9 \pm 6,8$ нм и средней шириной $45,5 \pm 5,2$ нм (рисунок 4, г). После формирования золотой оболочки путем увеличения скорости синтеза получили ГКР-метки, средняя длина которых составила $84,2 \pm 8,9$ нм, средняя ширина составила $58,9 \pm 6,1$ нм (рисунок 4, д). Как видно из рисунка 4 (б, в) золотые наностержни хорошо видны внутри ГКР-метки с серебряной оболочкой. В случае быстрого синтеза ГКР-метки с золотой оболочкой ЗНС также видны внутри метки благодаря наличию тонкого металлического зазора (рисунок 4, д). В случае медленного роста золотой оболочки, зазора не наблюдается (рисунок 4, г). Отчетливый зазор между ЗНС и оболочкой наблюдается в случае быстрого синтеза золотой оболочки (рисунок 4, г).

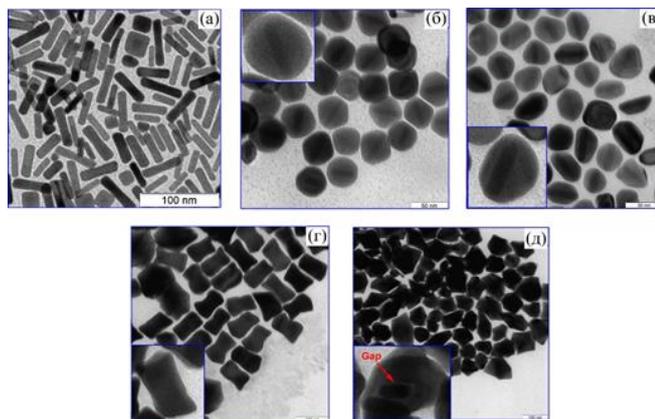


Рисунок 4 – ПЭМ изображения исходных золотых наностержней (а) и двуслойных ГКР меток с серебряной оболочкой полученные методом медленного (б) и быстрого (в) синтеза. Двуслойные ГКР-метки с серебряной оболочкой, полученные методом медленного (г) и быстрого (д) синтеза

Коэффициент усиления ГКР сигнала не зависит от наличия зазора между ядром и оболочкой наноматрешки. Для наноматрешек с серебряной оболочкой коэффициент усиления сигнала был меньше в обоих случаях синтеза (рисунок 5).

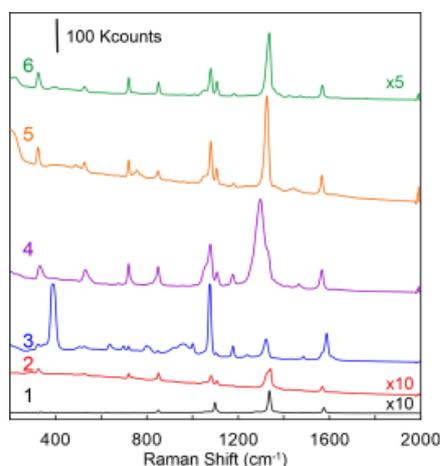


Рисунок 5 – Спектр комбинационного рассеяния 100 мМ раствора НБТ (1) и спектры ГКР для золотых наностержней, покрытых молекулами НТФ (2), а также ГИМ с серебряной оболочкой, синтезированной по быстрому (3) и медленному (6) методу. Спектры ГКР для ГИМ с золотой оболочкой, синтезированной по быстрому (4) и медленному (5) методу. ГКР спектры нормированы на концентрацию наночастиц.

Золотые наностержни для синтеза ГИМ с золотой оболочкой получали так же по методу Эль-Сайеда.

Как видно из рисунка 6, в спектре экстинкции наблюдается полоса ППР ЗНС с максимумом в области 777 нм и оптической плотностью 0,928 в 2 мм кювете. Максимум плазмонного резонанса в спектре поглощения золотых наностержней после покрытия БДТ не изменяет своего спектрального положения по сравнению со спектром поглощения исходных ЗНС. После нанесения золотой оболочки на ЗНС, покрытых БДТ ПР смещается до 600 нм, что согласуется с положением ПР для крупных золотых наночастиц. При травлении ГИМ небольшим количеством ЗХВК ПР в спектре поглощения немного смещается в сторону более коротких длин волн. Впоследствии при травлении большим количеством ЗХВК длина волны максимума плазмонного резонанса в спектре продолжает постепенно сокращаться. Следовательно, происходит уменьшение толщины золотой оболочки ГИМ. В случае добавления очень большого количества ЗХВК происходит разрушение золотой оболочки, ПР в спектре становится наименее выраженным.

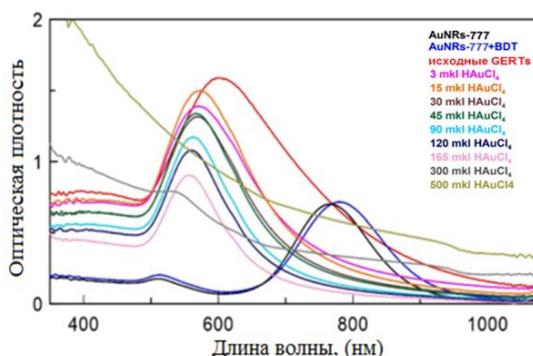


Рисунок 6 – Спектры экстинкции исходных ЗНС, ГИМ и травленных ГИМ

Как видно из рисунка 7 максимальное усиление ГКР-сигнала наблюдается при средней толщине золотой оболочки. При уменьшении толщины золотой оболочки в результате травления интенсивность ГКР-сигнала от молекул БДТ постепенно уменьшается. Однако, при травлении минимальным количеством ЗХВК, которая приводит к сглаживанию оболочки и не вызывает значительного изменения ее толщины, ГКР-сигнал от ГИМ практически не изменяется. Отсюда можно заключить, что внешняя форма золотой оболочки не влияет на усиление сигнала ГКР.

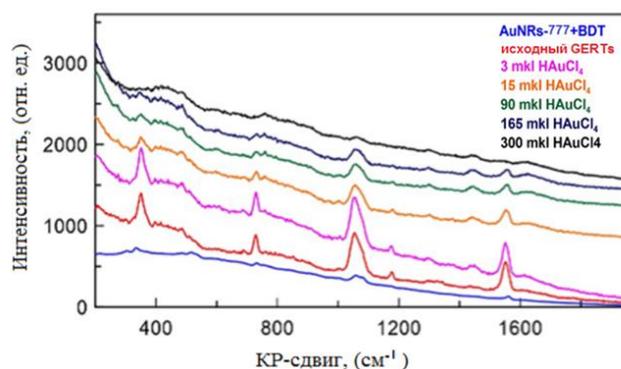


Рисунок 7– ГКР-спектры ЗНС, ГИМ и травленных ГИМ

Заключение. Для синтеза золотых наностержней с одинаковой формой и с настройкой плазмонного резонанса в диапазоне от 916 до 700 нм был использован метод Мюррея. Для травления с сохранением толщины и числовой концентрации стержней использовался метод контролируемого травления вдоль длинной оси стержней. была получена линейка образцов наностержней с постоянной толщиной и числовой концентрацией. Величина ГКР-сигнала слабо зависит от настройки плазмонного резонанса наностержней. Даже для настройки ПР одного из образцов наностержней на длину волны облучающего лазера (785 нм) интенсивность сигнала изменялась менее, чем в два раза по сравнению с другими образцами.

Были синтезированы двухслойные ГКР-метки с золотой и серебряной оболочкой с использованием в качестве ядер золотых наностержней, покрытых молекулами НТФ. Изменяя параметры синтеза, проводили медленный и быстрый рост золотой и серебряной оболочек. Было установлено, что, изменяя параметры синтеза с образованием золотых оболочек, можно получать двухслойные ГКР-метки с четко детектируемым зазором в случае быстрого синтеза и без зазора в случае медленного. В случае с двухслойной ГКР-меткой с серебряной оболочкой скорость синтеза не влияет на образование зазора. Таким образом, можно предположить, что отсутствие зазора является характерной чертой таких ГКР-меток. Для ГКР-меток с золотой оболочкой было установлено, что наличие или отсутствие зазора не влияет на коэффициент усиления ГКР-сигнала. Вероятно, чтобы понять механизм ГКР-

сигнала для таких наноструктур, нельзя ограничиваться только электромагнитной теорией.

Было обнаружено, что с уменьшением толщины золотой оболочки происходит постепенное снижение интенсивности сигнала гигантского комбинационного рассеяния. Изначально оболочка имела угловатую форму, а при травлении минимальным количеством ЗХВК её форма сглаживается, а ГКР сигнал остается на том же уровне. Отсюда можно сделать важный вывод, что наружная форма золотой оболочки не влияет на усиление сигнала гигантского комбинационного рассеяния от ГКР-меток с инкорпорированными репортерными молекулами. По мере продолжения травления форма оболочки приближается к сферической, и ГКР сигнал постепенно уменьшается. При сильном травлении ГКР-метки разрушаются, а ГКР сигнал от них исчезает.

Список использованных источников

1 Cialla, D. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): progress and trends/ D. Cialla // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2012. – V. 403. – P. 7-54.

2 Pavan Kumar, G. V. Hot spots in Ag core-Au shell nanoparticles potent for surface-enhanced Raman scattering studies of biomolecules / G. V. Pavan Kumar // *J. Phys. Chem. C.* – 2007. – V. 111. – P. 4388-4392.

3 Alvarez-Puebla, R. A. Traps and cages for universal SERS detection / R. A. Alvarez-Puebla, L. M. Liz-Marzan // *Chem. Soc. Rev.* – 2012. – V. 41, № 1. – P. 43-51.

4 Allgeyer, E. S. Optical signal comparison of single fluorescent molecules and Raman active gold nanostars / E. S. Allgeyer, A. Pongan, M. Browne, M. D. Mason // *Nano Lett.* – 2009. – V. 9. – P. 3816-3819.

5 Ye, X. Using binary surfactant mixtures to simultaneously improve the dimensional tunability and monodispersity in the seeded growth of gold nanorods / X. Ye, Ch. Zheng, J. Chen, Y. Gao, C. B. Murray // *Nano Lett.* – 2013. – V. 13. – P. 765-771.

6 Nikoobakht, B. Surface-enhanced Raman scattering studies on aggregated gold nanorods / B. Nikoobakht, M. A. El-Sayed // J. Phys. Chem. A. – 2003. – V. 107. – P. 3372-3378.