

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

на правах рукописи

ГУСЕЛЬНИКОВА ОЛЬГА АНДРЕЕВНА

**Методы и подходы к созданию сенсоров для детектирования
биологически активных веществ и экотоксикантов с использованием
спектроскопии комбинационного рассеяния**

Специальность: 02.00.02 - Аналитическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
кандидат химических наук
Постников Павел Сергеевич

Томск – 2019

Оглавление

1. Литературный обзор.....	12
1.1. Современные взгляды на механизм процесса модификации поверхностей с использованием диазониевых солей.....	12
1.1.1 Механизм модификации поверхностей ароматическими солями диазония.....	12
1.1.2 Природа связи привитых органических слоев и исследование их структуры.....	15
1.2 Методы и подходы к модификации поверхностей с использованием диазониевых солей.....	23
1.2.1 Электрохимические методы модификации.....	23
1.2.2 Модификация материалов, обладающих восстановительными свойствами.....	31
1.2.3 Модификация поверхностей в щелочных и восстановительных средах.....	34
1.2.4 Реакции фото-индуцированной модификации поверхности.....	37
1.2.5 Плазмон-индуцированная модификация поверхностей с использованием диазониевых солей.....	39
1.3 Плазмон индуцированные превращения органических веществ.....	45
1.3.1. Первая плазмон-индуцированная реакция: Димеризация п-амино(нитро)тиофенола.....	45
1.3.2. Плазмон-индуцированная полимеризация.....	48
2. Методы получения и трансформации органических функциональных групп на поверхности тонких пленок золота: путь к созданию сенсоров нового поколения.....	54
2.1. Обоснование выбора плазмон-активного субстрата.....	55
2.2. Поверхностная модификация плазмон-активных 0D- и 2D-наноматериалов с использованием арендиазоний тозилатов.....	58
2.3 Дизайн сенсорных систем на основе плазмон-активных решеток золота.....	79
2.3.1 Модификация липофильными солями диазония для обнаружения липидов и маркеров заболеваний.....	80
2.3.2 Дизайн SERS платформы на основе модифицированных плазмон-активных золотых решеток с помощью реакций ацилирования.....	92
2.3.3 Иммобилизация пористых металл-органических каркасов для обнаружения органофосфатных пестицидов.....	142
2.3.4 Прививка меркаптоянтарной кислоты на поверхность золотой решетки для детектирования ионов ртути (тиол-ин присоединение).....	156
2.4 Превращения органических функциональных групп на поверхности золотых решеток под действием плазмона.....	168
2.4.1 Плазмон-индуцированное селективное восстановление тройных связей на золотых/палладиевых решетках с 4-этинилфенильными группами.....	168
2.4.2 Плазмон-индуцированная нитроксид-опосредованная полимеризация на золотых решетках.....	178
3. Экспериментальная часть.....	194

3.1 Растворители, реагенты и материалы.....	194
3.2 Инструментальные методы исследования.....	195
3.3 Методы оценки работы сенсора.....	200
3.4 Методы получения материалов.....	200
3.5 Методы проведения плазмон-индуцированных реакций.....	208
Выводы.....	213
Список сокращений.....	214
Список используемой литературы.....	216
Приложение 1.....	255

Общая характеристика работы

Актуальность исследования.

Создание новых простых и экспрессных сенсоров и сенсорных систем для распознавания и определения БАВ и токсикантов является актуальным разделом аналитической химии. Данной тематике посвящено сравнительно небольшое число работ, причем, в большинстве случаев применяют различные способы создания сенсоров, основанных на эффекте ГКР света с применением новых модифицированных композитных материалов. Разработка плазмон-активных функциональных материалов все больше и больше становится одной из наиболее важных областей в химии поверхностей, органической и аналитической химии. Особую роль в данном вопросе занимают сенсорные платформы, основанные на эффекте гигантского комбинационного рассеивания (ГКР). Несмотря на широкий диапазон существующих ГКР сенсорных систем, большинство из них не отличаются хорошей воспроизводимостью и не обладают достаточно высокой чувствительностью детектирования. Для создания эффективных сенсоров, которые бы отличались чувствительностью, воспроизводимостью и селективностью, активно разрабатываются как технологии получения плазмон-активных субстратов, так и подходы к специфической функционализации поверхностей.

На сегодняшний день огромным вызовом является разработка эффективных методов трансформации органических функциональных групп, приводящих к созданию распознающего органического слоя. Новым подходом в данной области является использование плазмонного возбуждения в качестве стимула для инициирования химических превращений. Несмотря на то, что данный подход может позволить открыть новые возможности в химии поверхностей, на сегодняшний день существует лишь ограниченное число подобных превращений. Поэтому, крайне

актуальным является разработка новых методов и подходов к созданию сенсоров с высокой чувствительностью и воспроизводимостью с помощью функционализации плазмон-активных поверхностей и подходящих для применения при определении биологически активных веществ и экотоксикантов в комбинации с портативными Рамановскими спектрометрами.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (гранты РНФ-16-13-10081, РНФ-17-73-20066); Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ р_мол_а 18-43-703016); а также в рамках программы повышения конкурентоспособности ВИУ НИ ТПУ.

Целью работы является разработка методов и подходов к созданию сенсоров на основе органических функциональных групп на поверхности плазмон-активных материалов для детектирования биологически активных веществ и экотоксикантов с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния.

Для решения поставленных целей необходимо решить следующие **задачи**:

1. Разработать простые и эффективные методы ковалентной модификации 2D и 0D размерных материалов на основе золота, включая упорядоченные структуры с использованием АДТ в водных средах, а также методы вторичной трансформации органических функциональных групп
2. Исследовать влияния прививки специфических органических функциональных групп на поверхности золотых упорядоченных решеток на селективность и чувствительность полученных сенсоров
3. Разработать комплекс методов вторичных трансформаций органических функциональных групп на поверхности плазмон активных золотых решеток и разработать дизайн высокочувствительных и селективных сенсорных систем, основанных на эффекте ГКР свет .

4. Разработать новые способы детектирования Рамановской спектроскопией как экологических значимых загрязнителей, так и биологически релевантных молекул с использованием сенсоров на основе поверхностно-модифицированных золотых решеток и провести оценку LOD определяемых компонентов
5. Исследовать трансформации органических функциональных групп на поверхности золотых решеток при возбуждении плазмон-поляритона
6. Разработать чувствительные и селективные методики определения ионов тяжелых металлов, азо-красителей и пестицидов, а также некоторых биологически релевантных молекул (олигонуклеотидов, маркеров заболеваний и др.) с использованием разработанных сенсоров на основе поверхностно-модифицированных золотых решеток методом спектроскопии комбинационного рассеяния (Рамановской спектроскопии).

Научная новизна:

1. Предложены реакции ковалентной модификации 2D и 0D наноразмерных материалов на основе золота с использованием АДТ в водных средах.
2. Для создания сенсоров разработан комплекс методов вторичных трансформаций органических функциональных групп на поверхности плазмон активных золотых решеток. Предложен дизайн высокочувствительных и селективных сенсорных систем, основанных на эффекте ГКР света и показана возможность детектирования азо-красителей, тяжёлых металлов, маркеров заболеваний, пестицидов, гликопротеина, а также для определения комплиментарности олигонуклеотидов и дискриминации хиральных аминов.
3. Впервые предложены способы детектирования биологически активных веществ и экотоксикантов SERS методом с использованием

сенсоров на основе поверхностно-модифицированных золотых решеток и проведена оценка LOD определяемых компонентов.

Практическая значимость:

1. Разработаны чувствительные и селективные методики определения ионов тяжелых металлов, азо-красителей и пестицидов, а также некоторых биологически релевантных молекул (олигонуклеотидов, маркеров заболеваний и др.) с использованием разработанных сенсоров на основе поверхностно-модифицированных золотых решеток методом спектроскопии комбинационного рассеяния (Рамановской спектроскопии).

2. Разработаны методы экспресс дискриминации хиральных аминов на основе поверхностно модифицированных золотых решеток с использованием метода измерения угла смачивания с использованием мобильного телефона без дополнительных реактивов.

3. Предложен способ оценки антибактериальных свойств золотых нанозвездочек от освещения и химического состава органических функциональных групп.

Апробация.

Отдельные части работы докладывались и обсуждались на Международных научно-практических конференциях таких как 7th International Conference “Nanoparticles, nanostructured coatings and microcontainers: technology, properties, applications (Томск, Россия, 2016), 5th World Congress on Materials Science and Engineering (Аликанте, Испания, 2016), The 17th European Conference on Composite Materials (Мюнхен, Германия, 2016), Eurosensors 2017 (Париж, Франция, 2017), European Advanced Materials Congress (Стокгольм, Швеция, 2017), 7th EuCheMS Chemistry Congress (Ливерпуль, Англия, 2018), 4th International Congress on Biomaterials and Biosensors (Турция, Олудениз, 2019).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 статей с импакт фактором >1 , тезисов, 6 докладов.

Объем и структура работы. Работа изложена на 256 страницах, содержит 91 рисунок, 30 схем и 21 таблицу. Состоит из 3 глав, выводов и списка литературы из 302 наименований.

Положения, выносимые на защиту:

-Методы ковалентной модификации 2D и 0D нано размерных материалов на основе золота с использованием АДТ в водных средах.

-Комплекс методов вторичных трансформаций органических функциональных групп на поверхности плазмон-активных золотых решеток для дальнейшего применения в качестве сенсоров.

-Сенсорные системы, обладающие высокой чувствительностью, и селективностью, основанные на эффекте ГКР света для детектирования азокрасителей, тяжёлых металлов, маркеров заболеваний, пестицидов, гликопротеина, а также для анализа.

Введение

Значение материалов на основе металлов в современной науке сложно переоценить. Металлы являются одними из самых распространённых материалов на сегодняшний день как в области наук о материалах, так и в технологических процессах благодаря их высокой прочности, долговечности, проводимости и химической стойкости [1-5]. Поэтому они нашли широкое применение в различных областях: начиная от строительных материалов [6], закаливания электроникой [7], созданием имплантов [8], сенсорных систем [9] и других областей [10, 11]. Однако, для практического использования данных материалов, особенно в специфических областях, необходимо тонко управлять свойствами металлических поверхностей [12-14]. Поверхностная модификация — это процесс изменения состава поверхности материала, его структуры и морфологии с сохранением его объёмных и механических свойств. Поверхностная модификация металлов органическими функциональными группами способствует приданию целого ряда специфических свойств, таких как биосовместимость, гидрофильность/гидрофобность, биорепеллентность/биоадгезивность, зарядовых характеристик и так далее.

На сегодняшний день существует ряд методов для модификации поверхности металлов. Однако, условно их можно разделить на те, которые приводят к образованию ковалентной связи между поверхностью и органическими функциональными группами, и неспецифические или нековалентные методы модификации [15]. Классическим примером нековалентных методов модификации является самосборка органических молекул на поверхности металлов [16-18]. Данный подход является привлекательным для формирования органических слоев через образование слабых электростатических или гидрофобных связей, обуславливающих адгезию органических молекул. Наиболее часто используемыми реагентами являются органофосфонаты, карбоновые кислоты, тиолы, дисульфиды и т.д.

[19, 20]. Однако, существует целый ряд ограничений для их повсеместного распространения: умеренная стабильность (термическая, химическая и механическая) [21, 22] и обратимость модификации, что ограничивает их использование в агрессивных или биологических жидкостях из-за возможности их замещения на другие молекулы.

Ковалентная модификация поверхности, в отличие от нековалентных взаимодействий, позволяет получать химически стойкие в различных условиях материалы [24-26]. Процесс модификации может легко контролироваться с помощью методов инициирования, что сопровождается высокой степенью синтетической гибкости для введения широкого ряда функциональных групп для дальнейших трансформаций или взаимодействия с требуемыми средами [27, 28]. Широкий круг методов создания ковалентной связи с поверхностью берет свое начало как из классической органической, так и неорганической химии. Однако, одним из решающих шагов в развитии технологии и химии поверхностной модификации являлось открытие реакции ковалентной модификации с использованием ароматических солей диазония (АСД) [29]. Материалы, полученные с использованием АСД нашли широкое применение в качестве самоочищающихся и супергидрофобных покрытий [36], катализаторов [37], сенсорных систем (электрохимических, оптических и др.) [38] и материалов для тераностики и наномедицины [39].

Создание сенсорных систем является одной из наиболее привлекательных областей науки, где комбинация достижений в области разработки наноматериалов, последних тенденции в области дизайна сенсоров и АСД позволила получить удивительные результаты [34, 35]. Таким образом, использование диазониевой поверхностной химии для создания «распознающего» слоя привело к созданию уникальных систем для обнаружения широкого ряда аналитов – от ионов металлов до биомолекул [35]. Стоит отметить, что для сенсорного применения чрезвычайно важным являются преимущества диазониевой модификации: высокая стабильность,

возможность контроля роста органического слоя, возможность прививки широкого круга «распознающих» молекул.

1. Литературный обзор

1.1. Современные взгляды на механизм процесса модификации поверхностей с использованием диазониевых солей

Реакция ковалентной модификации поверхности с использованием диазониевых солей была открыта Ж. Пинсоном в 1994 году [29] в ходе электролиза раствора 4-нитробензолдиазоний тетрафторбората в ацетонитриле на стеклоуглеродном электроде (схема 1)

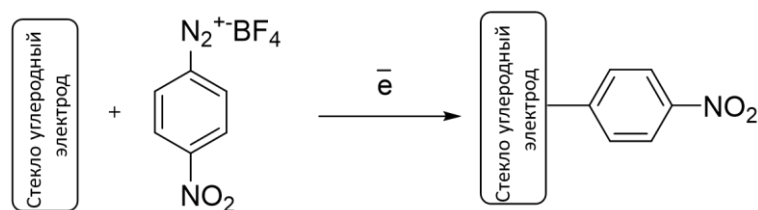


Схема 1. Схема модификации стеклоуглеродного электрода АСД

С момента этого открытия, поверхностная химия диазониевых солей начала развиваться с поразительной скоростью [24, 30-32]. Несмотря на то, что с каждым годом появляется все больше исследований по данной тематике, полученные достижения уже можно считать феноменальными. Этот универсальный метод поверхностной модификации привлек внимание множества ученых, которые разработали процессы модификации широкого ряда различных субстратов с использованием самых разнообразных подходов [24, 32-34]. В дальнейшем огромное количество исследований было посвящено детальным исследованиям механизмов данных процессов и структуры полученных материалов.

1.1.1 Механизм модификации поверхностей ароматическими солями диазония

Основные воззрения на механизм процесса связаны с высокой реакционной способностью диазокатионов в реакциях восстановления с образованием радикальных частиц (Схема 2) [24]. Практически все процессы модификации начинаются с генерации активных органических радикалов в

результате взаимодействия с электроном или гомолиза связи N_2^+ -анион. Экспериментально протекание данного процесса было зафиксировано с использованием ЭПР-спектроскопии [36]. В дальнейшем, радикалы вступают в реакцию с поверхностью с образованием ковалентной связи. Наиболее интересными являются вторичные реакции на поверхности материала. Так, образование полифениленовых слоев может протекать через атаку арильных радикалов или диазокатионов на уже привитые фениленовые группы [37]. Например, радикал атакует уже привитую фенильную группу **2** с образованием циклогексадиенильного радикала **3** по реакции **III**. После этого могут осуществляться два сценария дальнейшего роста пленки: радикал **3** может прореагировать с арильным радикалом (путь А) или диазокатионом (путь Б). Путь А через реакции **IV** и **V** приводит к полифенильному слою **5**. Реакция **IV** представляет собой электронный обмен, приводящий к повторному окислению циклогексадиенильного радикала и восстановлению диазокатиона. В то время как образование азо-связей (путь В) начинается с атаки циклогексадиенильного радикала **3** самим диазокатионом. Реакция (**VI**) приводит к образованию радикального катиона **6**, который легко восстанавливается (**VII**) с образованием продукта **7**.

Реакция (VIII) включает повторное окисление циклогексадиена; движущей силой этой реакции является восстановление ароматичности и вытеснение двух заместителей. В качестве альтернативы, реакции (VII) и (III), приводящие к 6-8, представляют собой реакцию двух диазониевых солей с 6 и образования 8, двух фенильных радикалов, двух молекул азота и двух протонов.

Арильные радикалы, образовавшиеся в реакции (IV) и, (VII) + (VIII), теперь могут атаковать фенильные группы, как показано в реакции (III), что приводит к росту цепи за счет реакций (II) + (III) + (IV) + (V) или (II) + (III) + (VI) + (VII) + (VIII) + (IX). Реакции (IV) и (VII) + (VIII) отвечают за цепной механизм. Этот механизм объясняет не только рост полифениленовых слоев, но и появление азо-связей [38].

1.1.2 Природа связи привитых органических слоев и исследование их структуры

Для более точного понимания и контроля процесса диазониевой модификации АСД, необходимо ответить на вопрос о природе связи между металлической поверхностью и привитыми фениленовыми слоями. В случае модификации углеродных поверхностей, образование связей С-С протекает по схеме 3:

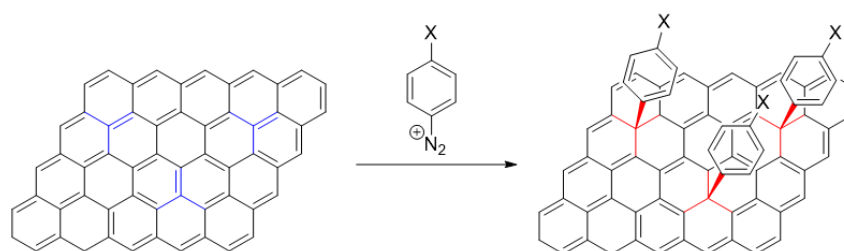


Схема 3. Схема модификации углеродных поверхностей с использованием АСД

Если в данном случае образование новых ковалентных связей выглядит логично, что неоднократно доказывалось в экспериментах [39, 40], то в случае модификации поверхности металлов, данный вопрос до недавнего времени стоял остро. Принимая во внимание низкую стабильность связи С-Met, многие исследователи сомневались в ее существовании. Пролить свет на данную проблему удалось лишь в 2011 году группе Проф. McDermott, исследовались вопросы модификации одного из самых инертных металлов - золота [41]. Авторы провели исследования взаимодействия 4-нитробензолдiazоний тетрафторбората (НБДТ) и коммерчески доступных наночастиц золота размером 40 нм методами спектроскопии комбинационного рассеивания. На спектрах гигантского комбинационного рассеивания света (SERS) очевидно появление новой полосы колебания после взаимодействия НЧ золота и соли диазония в области 412 см^{-1} . Данная полоса отсутствует на спектре соли диазония и немодифицированных НЧ. Авторы показали, что появление нового пика наблюдалось и в случае использования солей диазония, и с другими заместителями (для

нитроазобензолдиазония 410 см^{-1} и 410 см^{-1} для диазопроизводного ацетофенона) (Рисунок 1). Наиболее близкой частотой колебания обладала связь Au-C на 375 см^{-1} для цианидов золота [42], благодаря чему авторы предположили, что полоса в исследуемых образцах соответствует связи Au- C_{Ar} для привитых фенильных слоев (412 см^{-1}).

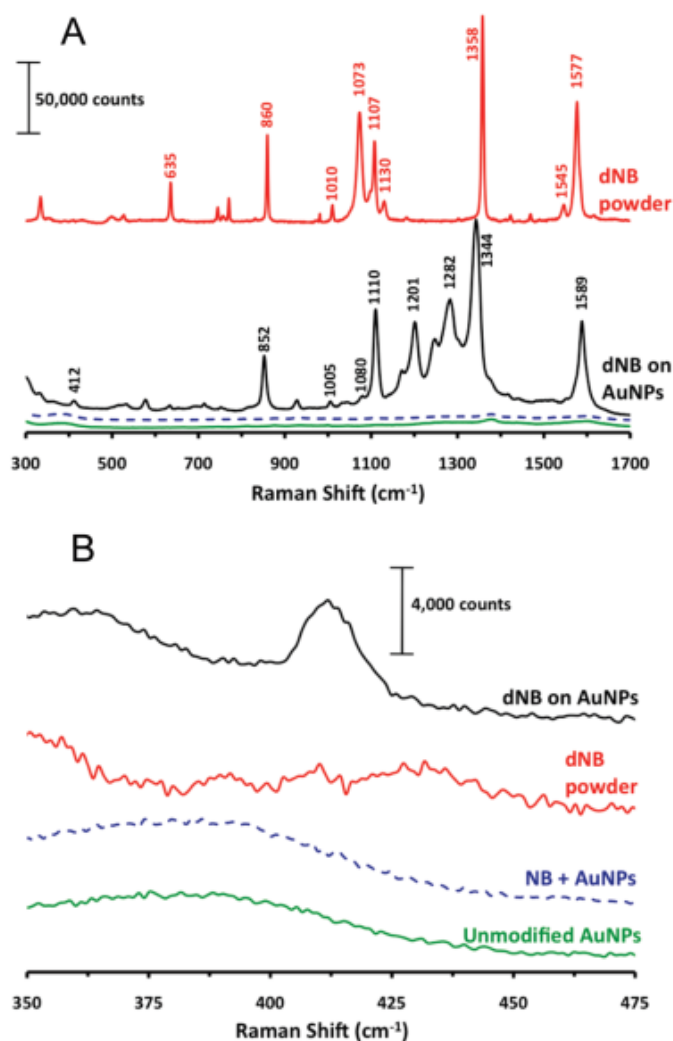


Рисунок 1. (А) Рамановский спектр порошка НБДТ и SERS спектров золотых НЧ модифицированных 4-нитробензолдиазоний тетрафторборатом, В) Увеличенная область спектров золотых НЧ модифицированных НБДТ (черный), порошка НБДТ (красный), НЧ золота смешанных с нитробензолом (синий) и немодифицированных НЧ (зеленый)

Сравнение экспериментально полученных спектров гигантского рассеивания света с данными квантово-химических расчетов методом функционала плотности (DFT) доказали наличие ковалентных связей Au-C.

В дальнейшем полученные данные были подтверждены и в работах Депау, где была обнаружена ковалентная связь Au-C с алкильным радикалом на поверхности [22]. С использованием расчетных методов была оценена прочность связи Au-C_{Alk} – 14.2 кДж/моль, что является значительной величиной, предопределяющей прочность связывания ОФГ с поверхностью [43].

Таким образом, авторы еще раз подтвердили теорию о ковалентном характере взаимодействий органических слоев с поверхностью металла и установили, что именно диазокатионы участвуют в процессе модификации поверхности золота, что приводит к ранее известной прочности и стабильности полифениленовых слоев за счет образования связей Met-C на примере золота.

Тем не менее, согласно механизму процесса, иммобилизация ОФГ не завершается образованием мономолекулярного слоя. Как было показано ранее на Схеме 2, структура органических слоев представляет собой полифениленовые полимерные цепи, длина которых определяется методом модификации. Структурные характеристики органических функциональных групп изучалась целым рядом исследователей с использованием современных спектроскопических подходов [21, 22, 36, 38].

Современный арсенал методов для изучения структуры, химического состава и свойств привитых органических функциональных групп является достаточно широким, однако, не один метод по отдельности не способен дать полный ответ о структуре слоя.

Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (XPS)

XPS является одним из основных спектроскопических методов для изучения структуры и химического состава (количественного и качественного) органических слоев на поверхности [44, 45]. С точки зрения исследования diazonиевой модификации, XPS позволяет сделать вывод о присутствии азо-мостиков в структуре слоя, а также оценить количество функциональных групп на поверхности (Рисунок 2).

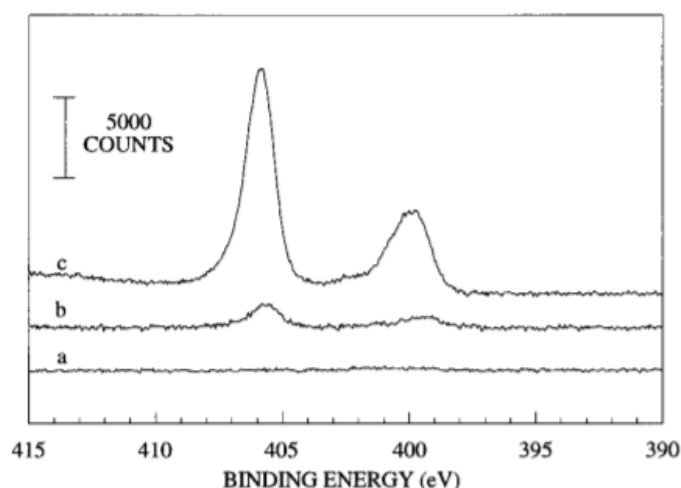


Рисунок 2. Область N 1s XPS спектра для а) стеклоуглеродного электрода, (b) стеклоуглеродного электрода вымоченного в 5 mM (4-нитробензол)дiazоний тетрафторборате, 0.1 M NBu₄- BF₄/ацетонитриле, и (c) стеклоуглеродного электрода модифицированного в аналогичных условиях при наложении потенциала -0.7 V в течении 240 секунд. American Chemical Society© doi 10.1039/b406228k

Не менее важным является возможность определения толщины органического слоя на поверхности. XPS имеет небольшую глубину проникновения (порядка 4-40 нм), что позволяет оценить толщину по падению интенсивностей пиков, отвечающих за основной материал [31].

ИК и Рамановская спектроскопия

ИК-спектроскопия является стандартным средством для характеристики органических материалов [46], поэтому она и получила свое распространение для исследования органических пленок на металлических и других поверхностях, где специфические полосы поглощения могут быть

использованы для идентификации молекулярных связей, в том числе, в редких случаях, и для количественной оценки концентрации функциональных групп [47, 48].

В тоже время, Рамановская спектроскопия измеряет неупруго рассеянный свет, который исходит от модулированной (посредством фононов или молекулярных колебаний) поляризации материала. Данный факт используется для измерений ультратонких пленок, где условия резонансного комбинационного рассеяния или поверхностного комбинационного рассеяния (SERS) могут усиливать обнаруженный сигнал [49, 50].

При использовании обих методик, вибрационные сигнатуры могут дать прямой доступ к молекулярной структуре привитых ОФГ. Кроме того, эти техники позволяют с лёгкостью продемонстрировать тот факт, что соль диазония не адсорбировалась на поверхности по отсутствию полос колебания, отвечающих за диазо-группу, которые должны находиться в области $2300\text{--}2130\text{ см}^{-1}$ [29, 30].

Циклическая вольтамперметрия (CVA)

Циклическая вольтамперметрия является весьма ценным методом для оценки плотности ОФГ на поверхности [51, 52]. Модификация поверхностей проводящих металлов, в особенности электродов, приводит к образованию весьма плотных полислоев ОФГ, что выражается в падении сигнала от известных редокс-пар при использовании данных материалов в качестве электродов [51]. Очевидно, что данный метод применим лишь для проводящих материалов, способных выступать в качестве электрода в электрохимической ячейке.

УФ-Вид спектроскопия (УФ-Вид)

УФ-Вид спектроскопия является менее распространённым методом для анализа структуры и свойств модифицированных поверхностей. В первую

очередь это связано с низкими концентрациями ОФГ, недостаточными для появления характеристичных пиков, соответствующих $\pi \rightarrow \pi^*$ переходам в аренах. Регистрация же более интенсивных пиков зачастую затруднена из-за поглощения основного материала.

Тем не менее, УФ-спектроскопия является важным инструментом в изучении процессов модификации плазмон-активных материалов (различных НЧ и тонких пленок металлов), где смещение максимума плазмонного резонанса определяется изменением диэлектрической константы среды в результате прививки ОФГ [41, 53].

Смачиваемость

Угол смачивания воды (а также других жидкостей) является крайне чувствительным параметром для 2D поверхностей. Как известно, угол смачивания является функцией морфологии поверхности и ее химического состава [54]. Изменение химического состава в процессе модификации критическим образом влияет на поверхностную энергию, что неизбежно отражается на изменении угла смачивания. В силу простоты и дешевизны данного подхода, метод определения угла смачивания позволяет в кратчайшие сроки доказать присутствие функциональных групп на поверхности и, косвенным образом, оценить плотность упаковки ОФГ.

Например, прививка фторсодержащих или алифатических длинноцепочечных заместителей приводит к ярко выраженному росту угла смачивания воды [36, 55], в то время как прививки полярных заместителей, таких как $-\text{COOH}$ или $-\text{NH}_2$, приводит к гидрофилизации поверхности [56]. Таким образом, по изменению угла смачиваемости можно сделать вывод о успешности процесса модификации, а также предложить потенциальные области применения материала.

Атомно-силовая микроскопия (AFM)

Модификация планарных поверхностей приводит к значительным изменениям в морфологии, физико-химических и механических свойствах поверхности [55]. По этой причине микроскопия, в особенности атомно-силовая и сканирующая туннельная, являются незаменимыми методами при исследовании структуры и свойств модифицированных поверхностей и ОФГ. Микроскопические подходы позволяют наблюдать изменения поверхности, в том числе и морфологии, адгезии, деформации после модификации [57-58]. Особое внимание уделяется AFM в прямом методе определения толщины слоя ОФГ после нанесения рисок на поверхности с последующим профилированием [59]. В данном случае по изменению толщины пленки после модификации можно сделать вывод об эффективной толщине органической пленки.

Зачастую, для конкретных применений, возможно использование энергодисперсионной спектроскопии (EDX) [60], TOF-SIMS (времяпролетной ионной масс-спектрометрии) [61], эллипсометрии [34], спектроскопии молекулярно-кругового дихроизма [62], флуоресцентной спектроскопии [63].

Тем не менее, в настоящий момент не существует методов или подходов, способных полностью охарактеризовать структуру органических пленок на поверхности. По этой причине, полноценное исследование структуры ОФГ возможно лишь при использовании комплексного подхода, учитывающего основные дескрипторы, полученные различными методами.

В целом, применение описанных подходов является необходимым и достаточным комплексом экспериментальных процедур для описания состояния различных поверхностей (углерод, кремний, металлы) и ОФГ, иммобилизованных на них (присутствие ароматических групп с различными заместителями в составе соли диазония, толщина пленки и количество слоев, присутствие азо-мостиков, плотность модификации и поверхностные свойства полученных материалов).

Стоит отметить, что основным фактором, влияющим на структуру привитого органического слоя, являются метод проведения модификации или способ активации реакции модификации [24, 64]. В целом, могут быть активированы как сами АСД, так и модифицируемая поверхность [24]. Ароматические соли диазония могут быть активированы широким рядом методов приводящих к образованию органических пленок на модифицируемой поверхности. Далее будут рассмотрены различные методы модификации металлических и оксидных поверхностей в зависимости от метода активации соли диазония, структура образовавшихся слоев и дальнейшие применение полученных материалов.

1.2 Методы и подходы к модификации поверхностей с использованием диазониевых солей

1.2.1 Электрохимические методы модификации

Традиционно, электрохимические методы модификации поверхности являются хронологически первыми в реакциях функционализации поверхностей, начиная с работ Пинсона [29]. Метод представляет собой простое электрохимическое восстановление диазокатионов при наложении потенциала на проводящие материалы [65]. Этот метод является достаточно простым для применения в различных масштабах и ограничен лишь проводимостью субстратов. Ароматическая соль диазония (в концентрациях 1-10 мМ) растворяется в апротонном растворителе с добавлением электролитов (чаще всего ацетонитрил с добавлением тетрабутиламмоний тетрафторбората) или в водно-кислотных средах (например, 0.1 М серная кислота) [66, 67] (Схема 4). В качестве катода используется проводящий образец, который и подвергается модификации. Потенциал катода устанавливается на значения, соответствующие потенциалу восстановления соли диазония или ниже. Не менее важным является время процесса, определяющего толщину органического слоя на поверхности. После проведения реакции образец промывается в ультразвуковой бане для удаления адсорбированных продуктов реакции [67].

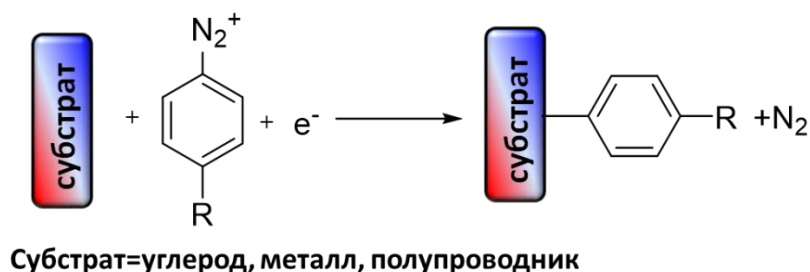


Схема 4. Схема электрохимической модификации углерода, полупроводников и металлов с использованием ароматических солей диазония

Для более детального понимания химизма электрохимической модификации стоит рассмотреть механизм данного процесса. На рисунке 3 приведена типичная вольтамперограмма процесса взаимодействия 4-нитробензолдiazоний сульфат в ацетонитриле с добавлением 0.1 М NBu_4BF_4 с стеклоуглеродным электродом [31].

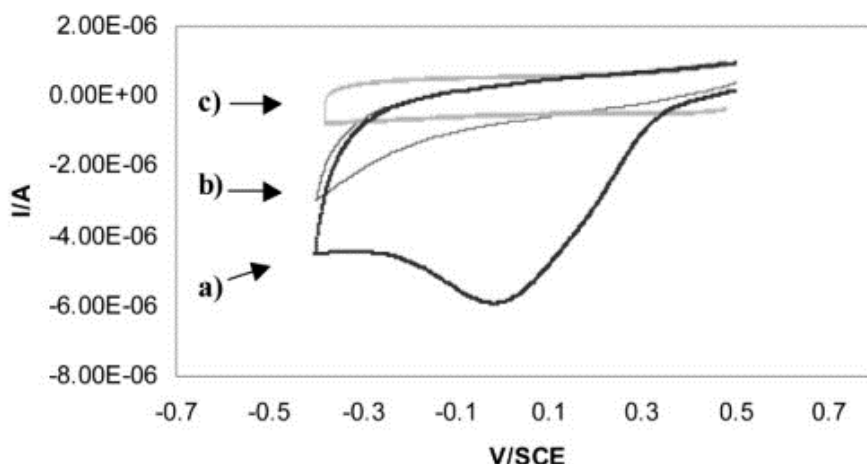


Рисунок 3. Вольтампераграмма снятая с стеклоуглеродного электрода в ацетонитриле с 2 мМ раствором 4-нитробензолдiazоний сульфата и 0,1 М NBu_4BF_4 © The Royal Society of Chemistry 2005 (DOI: 10.1039/B406228K)

На вольтамперограмме обнаруживается широкий необратимый пик восстановления диазокатиона $E_p = -0.02$ V/SCE. Уже на повторном измерении наблюдается практически полное подавление пика, что указывает на полную блокировку поверхности органическими функциональными группами. Достаточно низкие значения катодного потенциала восстановления являются характеристичными для солей диазония, так, например, 4-нитронафталиндiazоний тетрафторборат имеет потенциал восстановления $E_p = -0.37$ V/SCE, а 4-метилбензолдiazоний тетрафторборат $E_p = -0.18$ V/SCE [65].

Данный механизм обуславливает процессы модификации стеклоуглерода [65, 68], однако, данные рассуждения могут быть применены и к металлическим поверхностям с небольшими дополнениями. Для того,

чтобы создать связь металл-углерод, поверхность металла не должна содержать на поверхности оксидную пленку, поэтому чаще всего требуется тщательная полировка поверхности и промывка бескислородными растворителями и немедленное проведение процессов модификации. Другое отличие от углеродных поверхностей связано с протеканием процессов окисления самих металлов. Так, например, при электрохимической модификации железа пик восстановления 4-нитробензолдiazоний катиона не наблюдается, так как его восстановление происходит при потенциале более положительном, чем окисление металла [69]. Однако, это может иметь и практическое применение: значение необходимого для модификации потенциала для каждой конкретной diaзониевой соли может быть определено в реакциях электрохимической модификации стеклоуглерода.

Известно, что в классическом виде, электрохимическое восстановление АСД на различных проводящих поверхностях приводит к образованию полифениленовой пленки, ковалентно связанной с поверхностью [64]. Механизм модификации может описываться путями **VII**, **VIII** и **IX** (Схема 2), а структура описываемых слоев неоднократно доказывалась в работах [37, 70, 71]. Присутствие азо-мостиков в структуру слоя было доказано методами XPS, ИК-спектроскопии, TOF-SIMS [37, 70]. Наиболее интересным аспектом реакций модификации поверхности металлов солями diaзония является возможность контроля количества привитых функциональных групп, что может быть использовано для создания целого ряда полезных материалов для практического применения.

Методы электрохимической модификации могут быть успешно применены для создания специфических паттернов на поверхности с использованием ОФГ. Например, нашим коллективом показана возможность формирования высокоупорядоченных органических слоев на поверхности тонких пленок металлов с использованием двустадийного метода,

включающего нанесение полистирольных микросфер с последующей электрохимической модификацией (схема 5) [72].

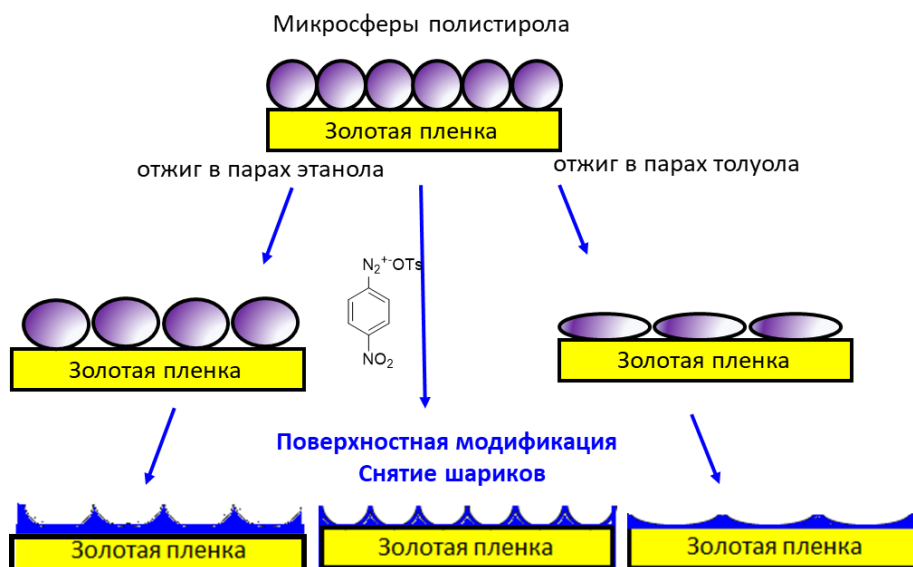


Схема 5. Создание высокоупорядоченных органических слоев на поверхности тонких пленок золота с использованием электрохимической модификации

Стоит отметить, что подобный паттерн практически невозможно получить с использованием методов спонтанной модификации в виду низкой толщины слоя ОФГ.

Методы электрохимической модификации не ограничиваются созданием специфических поверхностных паттернов. Одним из основных применений электрохимической модификации является создание сенсорных систем для различных аналитических методов. Например, не так давно был предложен дизайн мультифункционального сенсора, представляющего собой золотой электрод модифицированный двумя солями диазония (4-нитробензолдиазоний тетрафторборатом и диазопроизводным фенилборпинаколата) по схеме 6 [73]:

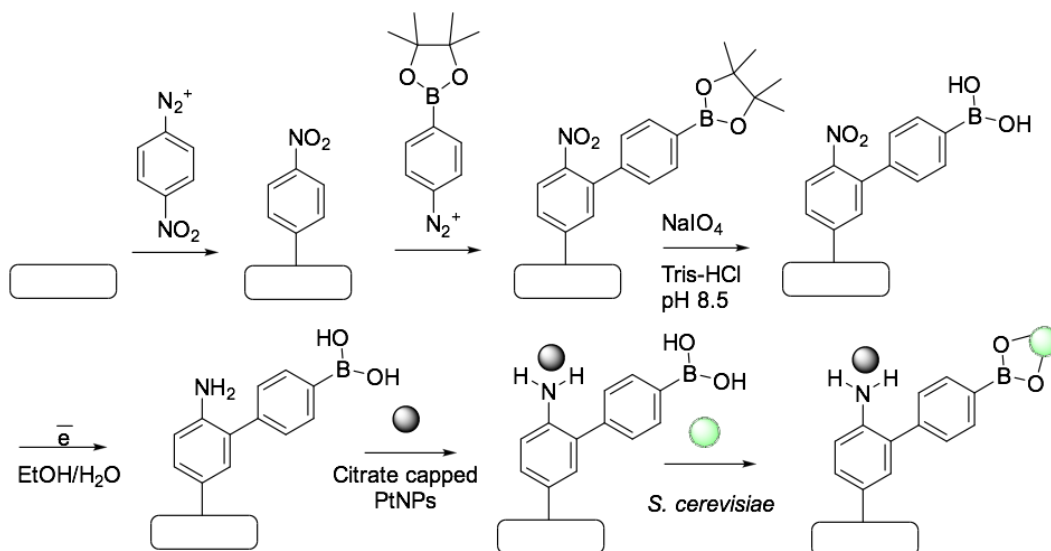


Схема 6. Схема получения мультифункционального сенсора с использованием двойной модификации АСД

Активация привитых пленок проводилась восстановлением нитро группы до amino и связыванием с НЧ платины, а также снятием гидролизом пинаколата для связывания с дрожжевыми клетками. Авторы обнаружили влияние метода электрохимического нанесения солей диазония на поверхностные свойства пленки: более толстый 4-нитрофениленовый слой блокировал дальнейшую прививку фенилбороновой кислоты и приводил к большей загрузке НЧ и электрохимической дезактивации сенсора. При оптимальном подборе условий, модифицированная пленка может оставаться электрохимически активной для дальнейшего использования в качестве сенсора. Описанные мультифункциональные пленки, которые сохраняют проводимость для последующих электрохимических измерений, являются потенциальными субстратами для электрохимических и / или оптических платформ для исследований клеток, геномного и протеомного анализа и биодетектирования.

Не менее интересным примером электрохимической модификации является создание флуоресцентного сенсора на основе оксида цинка. Авторы предложили простой метод модификации поверхности ZnO путем

электрохимической прививки 4-нитрофенильных радикалов с последующим восстановлением нитрогрупп для связывания с нуклеотидами по схеме 7 [74].

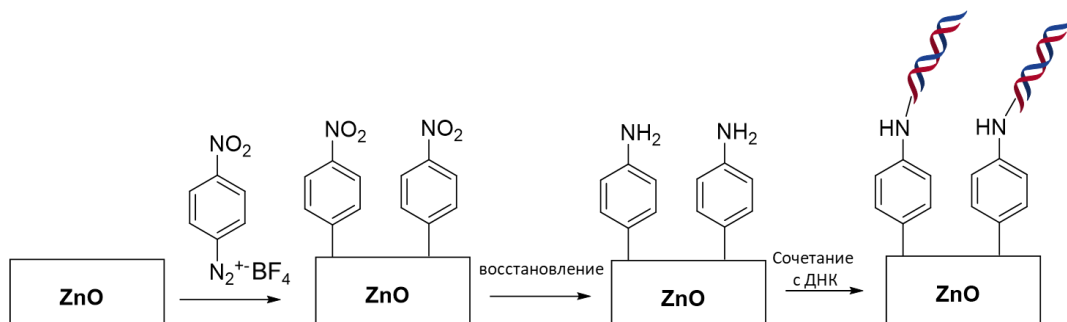


Схема 7. Схема получения сенсора для определения комплиментарности ДНК с использованием АСД

Результаты флуоресцентных измерений показывают, что разработанный сенсор обладает улучшенными характеристиками благодаря электрохимической ковалентной модификации по сравнению с материалами, полученными методами нековалентной модификации. Функционализированный биосенсор обладает способностью различать последовательности с четырьмя основаниями, несовпадающие с одним основанием, и комплементарные последовательности ДНК.

Еще одним интересным примером является создание сенсора, работающего на основе поверхностного плазмонного резонанса с привитыми ОФГ, снижающими неспецифическую адсорбцию аналита (Схема 8) [75].

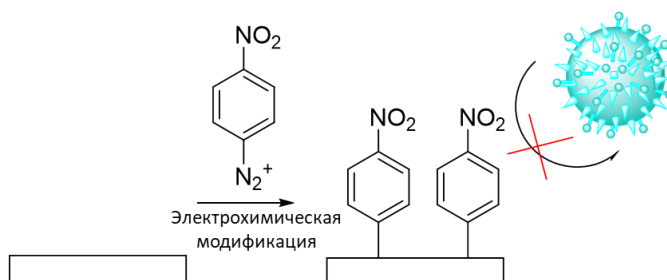


Схема 8. Схема получения и работы сенсора, работающего на основе поверхностного плазмонного резонанса и его биоотталкивающих свойств

Авторы исследовали влияние заместителя в структуре АСД на неспецифическую адсорбцию бычьего сывороточного альбумина и

установили, что 4-фенилаланин в качестве заместителя показал наиболее ярко выраженные свойства для предотвращения неспецифической биоадсорбции.

Электрохимическая модификация может использоваться и для создания бифункциональных органических слоев, содержащих различные функциональные группы. Так, группа Chuang, показала возможность получения смешанных слоев на поверхности золотого электрода для электрохимического детектирования металло- β -лактамаза (NDM) - кодирующего гена [76]. Они синтезировали два новых ароматический амина N- (4-аминобензоил) -N' - (4-алеймидобензоил) -1,2-этилендиамин (AME) и 3 - ((4-аминофенил) диметиламмоний) пропан-1-сульфонат для дальнейшей электрохимической модификации золотого электрода (схема 9).

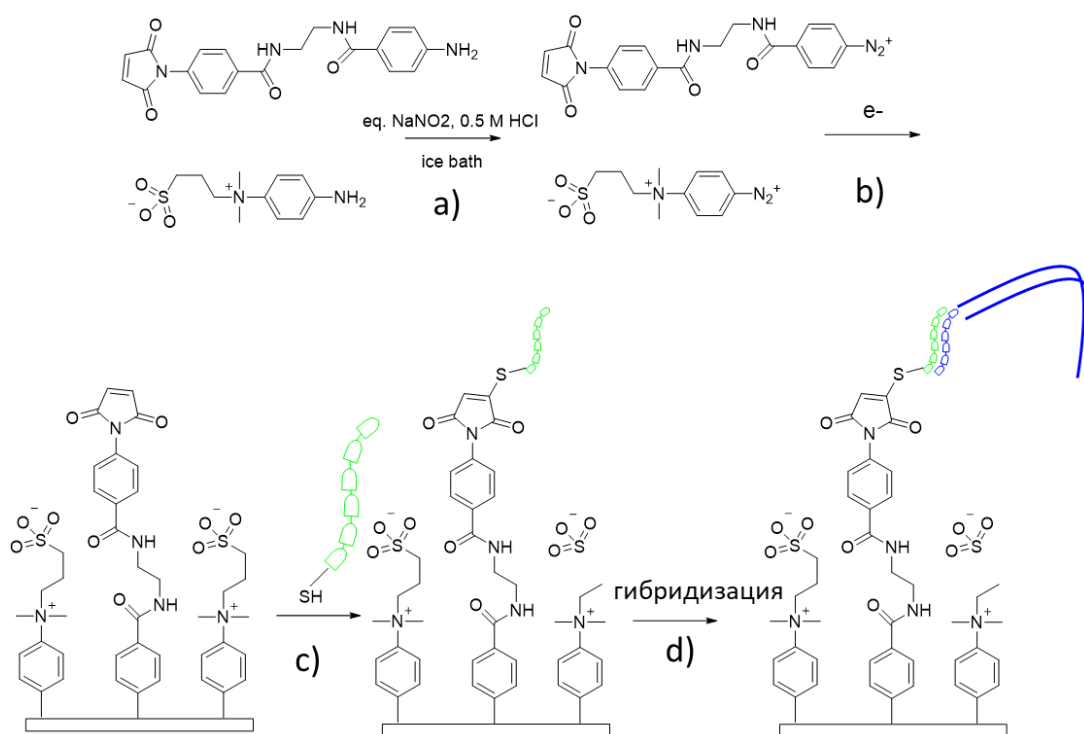


Схема 9. Схема получения сенсора: а) Диазотирование; б) электрохимическое восстановление диазокатиона, с) иммобилизация тиол-ДНК; d) образование распознающей биомолекулярной системы для обнаружения целевой ДНК

Для создания центров селективного связывания фрагментов ДНК авторами использовались методы вторичной модификации ОФГ на

поверхности через тиол-ен сочетание с малеимидным фрагментом. Данная реакция оставляла незатронутыми остатки сульфокислот, необходимых для снижения неспецифической адсорбции. Сенсорные свойства определялись не только количеством функциональных групп доступных для вторичной функционализации, но и барьерным эффектом, зависящим от метода диазотирования и параметров электрохимического восстановления.

Стоит отметить, что электрохимическая модификация может быть использована для модификации металлических электродов [77], пленок оксидов металла [78], полупроводников [79], проводящих полимеров [80], углеродсодержащих материалов [81]. Таким образом, на сегодняшний день электрохимический метод модификации является самой распространённой методикой для прививки ОФГ на поверхность проводящих поверхностей.

1.2.2 Модификация материалов, обладающих восстановительными свойствами

В случае, если субстрат, подвергающийся модификации, обладает восстановительными способностями, ароматический радикал может быть сгенерирован на поверхности без использования дополнительных физических стимулов [24].

Ряд переходных металлов, например железо и медь, способны восстанавливать соли диазония [68]. Таким образом, 4-нитрофениленовые слои могут быть получены на поверхности меди, железа, никеля и цинка путем простого погружения их в раствор соли диазония [82]. Процесс пришивки органических слоев согласуется с окислительно-восстановительными реакциями: модификация проходит более эффективно на цинке, чем на железе и на никеле, что соответствует электродвижущей силе данных металлов: $Zn < Fe < Ni$ [83]. На некоторых металлах, процесс модификации является затруднительным из-за использования солей диазония с более высоким потенциалом восстановления. Так, раствор бензолдиазоний тетрафторбората в ацетонитриле реагирует с широким рядом металлов (Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Ga, In, Mg, Li, Na, или Zn) с выделением азота, свидетельствующем о восстановлении соли диазония [83, 84].

Восстановление диазониевых солей металлами в процессе модификации подтверждается и экспериментальными исследованиями. В случае реакции с медью, с использованием методов ИК-спектроскопии и рентгеноструктурного анализа фиксировалась высокая концентрация комплекса $[Cu(N_2C_6H_5)(NC - CH_3)_3]^{3+}$, подтверждающая участие поверхности в генерации ароматического радикала [85] (Схема 10).

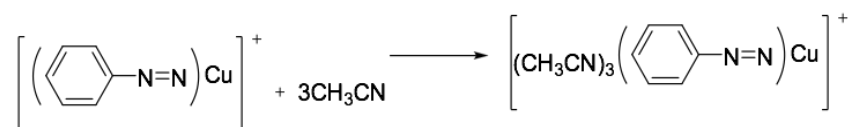


Схема 10. Схема образования комплекса с медью в процессе модификации

На стеклоуглеродном электроде механизм реакции модификации протекает по восстановительному пути в случае использования легко восстанавливаемых АСД 4-нитро-, 4-трифтор- или 4-бромбензолдiazониевых солей ($E_p = +0.20, -0.34, -0.35$ V vs SCE), которые могут спонтанно реагировать с поверхностью [86]. Однако, в случае использования АСД полученных из диэтил, аминодифенил, трифенил анилинов ($E_p = -0.42, -0.35$ and -0.45 V), описанные особенности указывают на механизм переноса электрона и на образование арильного радикала на промежуточной стадии [87, 88].

Так французским исследователем Deniau было доказано, что спонтанная прививка соли diaзония на поверхность золота с помощью простого погружения золотого субстрата в раствор соли diaзония в нормальных условиях ведет к образованию очень тонкой полифениленовой пленки толщиной около 2 фениленовых слоев независимо от типа используемой соли и заместителей [22]. Описанный им механизм согласуется с ранее предложенным на Схеме 2. Первый путь включает в себя прямую реакцию диазокатиона с поверхностью золота и образование фрагментов типа 8. Другие фенильные группы спонтанно прививаются к поверхности благодаря разложению соли diaзония под действием солнечного света или прививаются к уже образовавшимся фенильным слоям. Присутствие азомостиков, по их мнению, может быть отнесено к результату реакции азосочетания. Таким образом, авторы еще раз подтвердили общепринятые суждения о ковалентном характере связей и установили, что именно диазокатионы участвуют в процессе спонтанной модификации поверхности золота.

Однако, в некоторых случаях, когда субстрат обладает не ярко-выраженными восстановительными свойствами, сложно отличить два различных метода: восстановление субстратом и спонтанное

дediaзонирование. Однако, оба метода можно отнести к условно спонтанным методам модификации поверхности с использованием солей диазония.

Реакции спонтанной модификации металлических поверхностей неоднократно использовалась для создания функциональных материалов. Так, например, Mangeney описал оригинальный подход для создания сенсорной системы для детектирования фолиевой кислоты с использованием спонтанной модификацией золотых наностержней солью диазония для дальнейшей полимеризации [89]. На первой стадии проводилась ковалентная прививка бифункционального инициатора 2-(фенокси)этилдиэтилкарбамадитионатбензолдиазоний хлорида содержащего N,N-диэтилдитиокарбамат для активации поверхностно иницированной фотоионизационной полимеризации в присутствии фолиевой кислоты (Схема 11).

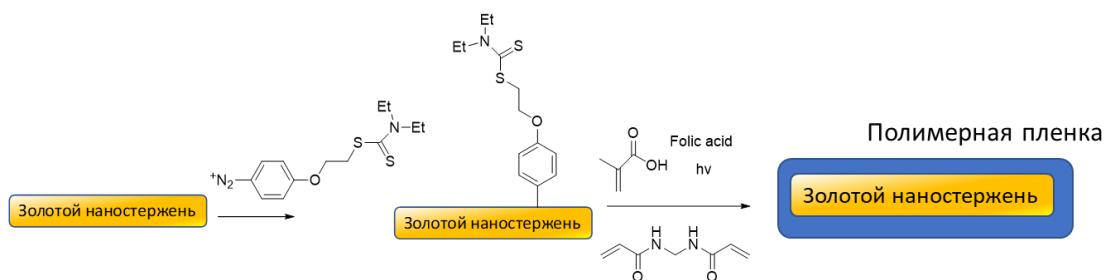


Схема 11. Схематическое изображение синтеза полимеров с молекулярными отпечатками на основе поверхностно-модифицированных наностержней золота

Плазмонные свойства золотых наностержней позволили детектировать фолиевую кислоту в микромолярных концентрациях, а молекулярные отпечатки позволили существенно повысить селективность процесса.

Спонтанные методы модификации получили свое наибольшее распространение для модификации наночастиц металлов, которые могут быть использованы в качестве оптических (колориметрических, на основе поверхностного плазмонного резонанса или поверхностно-усиленной Рамановской спектроскопии) сенсоров [35, 89-91]. Образование тонких пленок в случае спонтанных реакций позволяет проводить вторичные

трансформации на поверхности НЧ без значительного влияния на оптические свойства.

1.2.3 Модификация поверхностей в щелочных и восстановительных средах

Принимая во внимание простоту восстановления АСД, можно ожидать, что реакции поверхностной модификации могут быть с успехом инициированы добавками восстанавливающих агентов или использованием восстановительных сред. В качестве восстановительных агентов чаще всего используются порошок железа и цинка [92], аскорбиновая кислота [93] а также достаточно распространены различные борогидриды щелочных металлов [94, 95]. Так, одна из пионерских работ в этой области была опубликована группой Mirkhalaf, где приводится *in situ* метод получения модифицированных наночастиц золота и платины путем восстановления соли диазония с алифатическими заместителями в двухфазной системе [96] (схема 12).

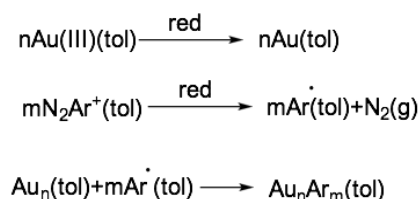


Схема 12. Схема модификации золотых НЧ.

При синтезе ноль-валентных НЧ железа с использованием NaBH_4 *in situ* модификация с использованием арендиазоний тозилатов приводит к росту 10 нм полифениленовой пленки с рекордным количеством ОФГ 1.23 ммоль/г [94]. Было предположено, что столь высокая концентрация ОФГ является следствием образования диазотатов в основной среде, легко подвергающихся разложению с образованием активных фенильных радикалов.

Подход *in situ* модификации НЧ металлов в процессе их получения нашел свое применения и в процессах синтеза НЧ платины, золота, магнетита [96-98]. Такие реакции часто проводят в щелочных средах с целью образования малостабильных диазотатов, которые более склонны к гомолитическим превращениям. Так, например, наночастицы оксида железа Fe_3O_4 были модифицированы арильными группами при использовании 2-гидроксиэтилбензолдiazоний тетрафторбората при $\text{pH}=9$, при одновременном формировании самих НЧ [98] (схема 13).

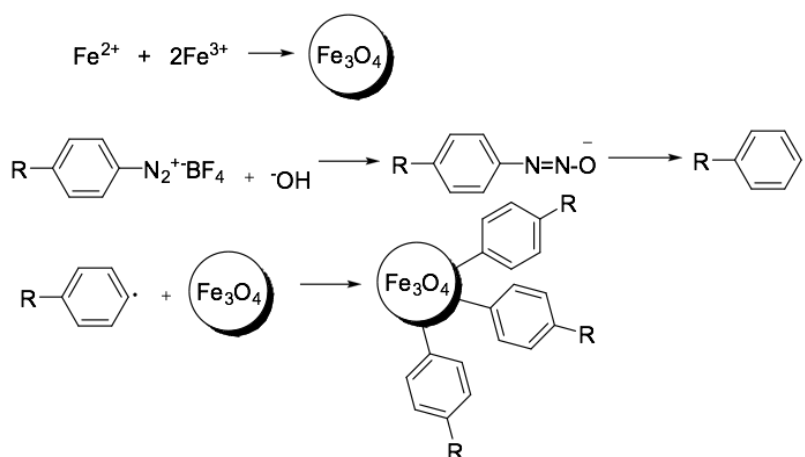


Схема 13. Схема модификации НЧ оксида железа в щелочной среде

Стоит отметить, что при использовании химических восстановительных агентов и основных сред, наблюдается радикальный механизм роста полифениленового слоя, что чаще всего приводит к достаточно толстым и плотно-упакованным органическим слоям [96-98].

Одним из самых ярких примеров является дизайн магнитной системы для распознавания бисфенола А. При получении магнитных наночастиц Fe_3O_4 авторы проводили модификацию с использованием соли диазония, содержащей инициатор для фото-полимеризации [99] (схема 14).

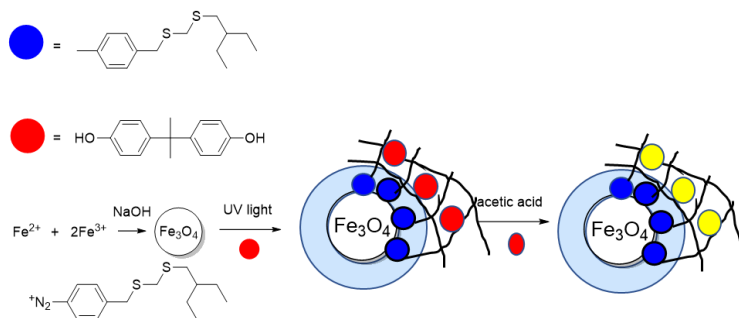


Схема 14. Схема получения сенсора для детектирования бисфенола А на основе модифицированных НЧ

На следующей стадии авторами был проведен синтез полимеров с молекулярными отпечатками бисфенола А в качестве молекулы-матрицы непосредственно на поверхности наночастиц. Разработанная методика получения композитного материала открывает новые возможности для быстрого извлечения следовых количеств бисфенола А.

Еще одним интересным примером использования восстановительных сред является создание электрического датчика для детектирования NO_2 на основе восстановленного оксида графена (RGO) [100]. Авторы также проводили *in situ* модификацию с использованием 4-сульфобензолдiazониевой соли с восстановлением оксида графена с последующим связыванием НЧ серебра. Авторы подчеркнули влияние diaзониевой модификации на свойства сенсора: привитые $-\text{SO}_3\text{H}$ группы, находящихся на краях пластинок RGO обеспечивали минимальное влияние на структуру графена с одновременным увеличением гидрофильности. Полученная структура обладает высокой чувствительностью к изменениям окружающей среды для детектирования NO_2 .

Таким образом, можно сделать вывод, что использование восстановительных сред и агентов получило широкое распространение при проведении *in situ* процессов модификации НЧ металлов, что позволило существенно упростить процедуру получения функциональных материалов.

1.2.4 Реакции фото-индуцированной модификации поверхности

Как уже неоднократно отмечалось ранее, поверхностная модификация солями диазония протекает через образование радикалов на поверхности материалов [22, 29, 37]. Логичным развитием методов модификации является использование света для инициирования радикальных превращений диазониевых солей. Вместе с тем, главным фактором, влияющим на процессы образования радикалов из диазониевых солей, является энергия кванта света. Как известно [101], диазо-группа является сильным электроноакцептором, что способствует сдвигу максимума поглощения в коротковолновую область. По этой причине для модификации поверхности используется облучение ближним ультрафиолетом.

Данный подход был использован Dong в работах по модификации оксида индия-олова с использованием 4-(2-(4-пиридинил)этинил)бензолдиазониевой соли [102] по схеме 15.

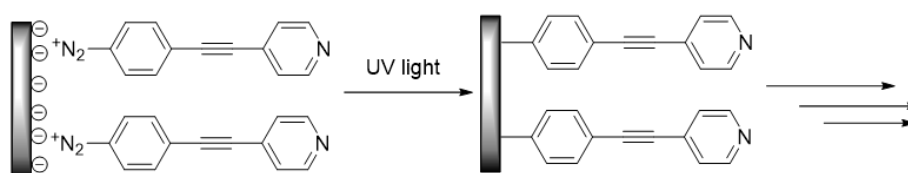


Схема 15. Схема модификации оксида индия-олова с использованием АСД под действием УФ света

Использование ультрафиолетового излучения не всегда является оправданным в силу высокой деструктивности такого для материалов и необходимости использования высокомоощных источников света. По этой причине, исследователями проводился целенаправленный поиск методов модификации с использованием видимого света.

Впервые данный подход был использован в 2011 году в работах Pinson [103], где авторы использовали облучение светом с длиной волны 254 нм медных, железных и золотых электродов, погруженных в раствор солей диазония. Pinson и его группа показали, что при использовании облучения

видимым светом не наблюдается модификация поверхности, однако добавление фотокатализатора ведет к образованию комплекса переноса заряда и образованию арильного радикала, который ответственен за росте полифениленового слоя (схема 16).

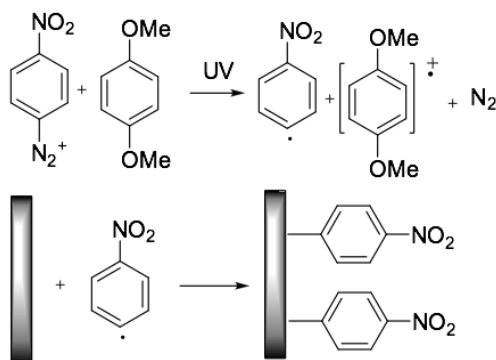


Схема 16. Схема модификации поверхности солями диазония с 1,4-диметоксибензолом под действием света

С использованием методов ИК-спектроскопии и AFM авторы показали, что органическая пленка на поверхности аналогична по структуре слоям ОФГ, и представляет собой неупорядоченный полифениленовый слой, характерный для процессов электрохимической модификации. Однако, в отличие от электрохимической модификации, процессы фотоиницирования позволяют прививать ОФГ на поверхность непроводящих субстратов, таких как полимеры.

Позднее было показано, что структура слоя ОФГ зависит от типа применяемых фото-катализаторов. Например, $Ru(bipy)_3^{2+}$ или eosin Y позволяют при минимальных нагрузках получать более тонкие и упорядоченные пленки при облучении видимым светом [104].

Очевидным плюсом использования фото-иницируемой модификации поверхности является возможность паттернинга поверхностей ОФГ. Например, данный подход был применен для получения пространственно разделённых и упорядоченных полинитрофениленовых слоев на поверхность золота с использованием $Ru(bpy)_3(PF_6)_2$ в качестве фото-катализатора [105].

Пространственный контроль процесса модификации достигался с использованием методов коллоидной литографии. Фото-индуцируемая модификация поверхности с нанесенными полистирольными микросферами с последующим растворением микросфер позволила создать поры различного размера, зависящего от параметров освещения (схема 17).

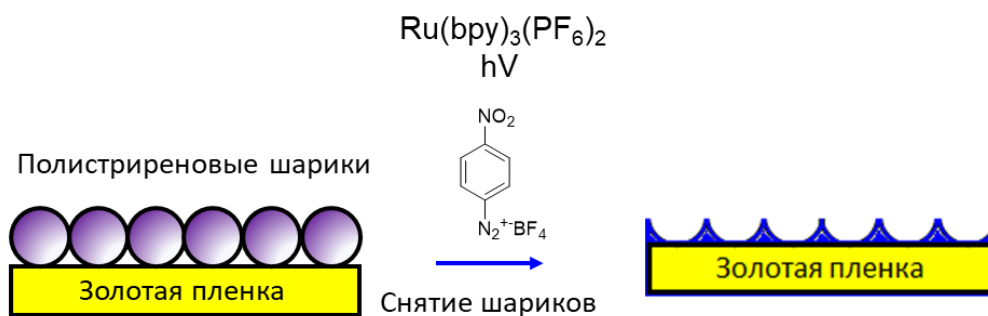


Схема 17. Получение пространственно разделенных паттернов ОФГ, полученных фотохимическим восстановлением АСД

Кроме того, с использованием данного подхода может быть получена бифункциональная поверхность в виду возможности повторной модификации с использованием тиолов.

К сожалению, данный метод не получил широкого распространения для модификации поверхности металлов, явно уступая по распространению электрохимическим подходам. Вместе с тем, активация солей диазония светом стала незаменимым методом в получении поверхностно-модифицированных полимеров и других непроводящих материалов [106, 107].

1.2.5 Плазмон-индуцированная модификация поверхностей с использованием диазониевых солей

Одним из самых интересных методов модификации поверхностей, по нашему мнению, является плазмон-индуцируемое разложение диазониевых солей. Данный метод был открыт сравнительно недавно и является закономерным развитием химии плазмонного катализа.

Плазмоном принято называть коллективные осцилляции электронного газа в металлах, возбуждаемые внешней электромагнитной волной на границе металл-диэлектрик [108, 109]. Как было показано в недавних исследованиях, локализованный плазмонный резонанс способен вступать во взаимодействие с окружающим веществом и оказывать колоссальное влияние на химические превращения [108].

Поверхностный плазмонный поляритон (ППП) является уникальным оптическим свойством, связанным с некоторыми металлическими наноматериалами (например, Au, Ag, Cu и др) и является свойством, непосредственно связанным с размерными характеристиками материала [110, 111]. Локализованное ППП-возбуждение металлической наночастицы можно визуализировать как электромагнитное поле, связанное с когерентным колебанием электронного газа в проводящей среде. Резонансное оптическое возбуждение поверхностных плазмонов создает энергетические горячие «носители», которые могут участвовать в фотохимических реакциях [112, 113] (Рисунок 4).

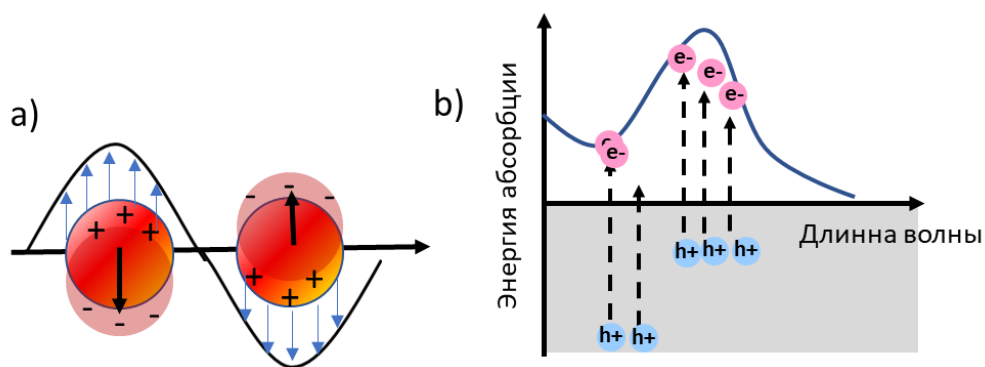


Рисунок 4. Локализованное возбуждение плазмонного резонанса на сферических НЧ.

(а) Когерентное локализованное колебание электронного облака, вызванное электромагнитным полем. (б) Генерация горячих носителей и соответствующий спектр поглощения плазмон-активных металлов (e^- и h^+ представляют собой горячие электроны и дырки, которые, соответственно, генерируются после дефазировки поверхностного плазмонного резонанса).

При возбуждении ППП колебание свободных электронов быстро гасится и приводит к генерации высокоэнергетических «горячих» электронов и дырок (рис. 4b), причем процесс проходит в временном интервале от 1 до 100 фемто секунд [112-114]. «Горячие» электроны, генерируемые плазмоном, могут непосредственно взаимодействовать с молекулами, адсорбированными или ковалентно привитыми на поверхности металла.

Механизм плазмон-индуцированных реакций

На сегодняшний день существуют несколько основных теорий, описывающих механизмы плазмон индуцированных реакции. Kim и его команда описали все 3 возможные механизма на примере плазмон-индуцированной диссоциации диметилсульфида на поверхности серебра и меди [115] (рисунок 5).

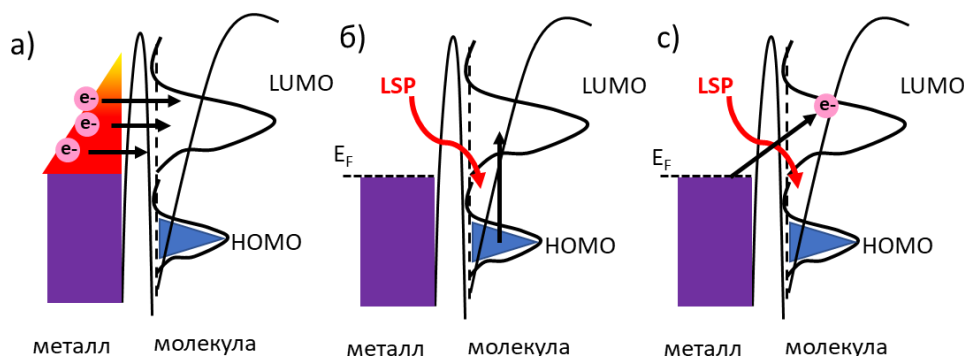


Рисунок 5. Механизмы возбуждения плазмон-индуцированных химических реакций.

(А) Механизм непрямого переноса горячих электронов. Горячие электроны (e^-), генерируемые в результате безизлучательного распада локализованного плазмонного резонанса взаимодействуют с органическим субстратом с образованием аниона. (Б) Механизм прямого внутримолекулярного возбуждения. Локализованный плазмонный резонанс вызывает переход электрона с ВЗМО на НСМО. (С) Механизм передачи заряда.

Электроны резонансно переносятся из металла в молекулу.

А) Путь реакции, основанный на непрямом механизме переноса горячего электрона

В рамках данного механизма плазмон-катализируемые превращения объясняются в рамках концепции переноса электронов на соответствующую НСМО органической молекул. Горячие носители, электроны и дырки, формируются с помощью безизлучательного распада локализованного поверхностного резонанса [116, 117]. Далее горячие электроны переносятся на органический субстрат с образованием переходных отрицательных ионов.

Б) Путь реакции, основанный на прямом внутримолекулярном механизме возбуждения.

Как показано на Рис. 5Б энергия локализованного поверхностного резонанса способна возбуждать внутримолекулярный перенос электрона с ВЗМО на НСМО, что приводит к переходному состоянию и дальнейшим превращениям.

С) Путь реакции основан на механизме переноса заряда.

В механизме переноса заряда электроны с низкой удельной энергией резонансно переносятся из металла на НСМО органического субстрата, что приводит к образованию отрицательно заряженных ионов (рис. 5С).

Тем не менее, истинный механизм плазмон-катализируемых превращений окончательно не подтвержден и в литературе продолжают споры о влиянии тех или иных факторов на механизм процесса [118-120]. Несмотря на это уже можно с уверенностью утверждать, что плазмонный катализ является революционным методом для инициации органических реакций. Конечно же, реакции поверхностной модификации плазмон-активных материалов не избежали данного тренда.

Описанные выше методы впервые использовала группа Mangeney в 2016 году. Они продемонстрировали, что плазмон-активные нанополосы (состоящие из золотых НЧ) могут быть ковалентно модифицированы диазониевыми солями действием плазмонного резонанса при облучение лазером He-Ne ($\lambda_{inc} = 633$ нм) (Рисунок 6) [121]. Подтверждением плазмонной природы модификации служил тот факт, что наибольшая толщина

полифениленовой пленки наблюдалась в области с максимумом концентрации плазмона на поверхности.

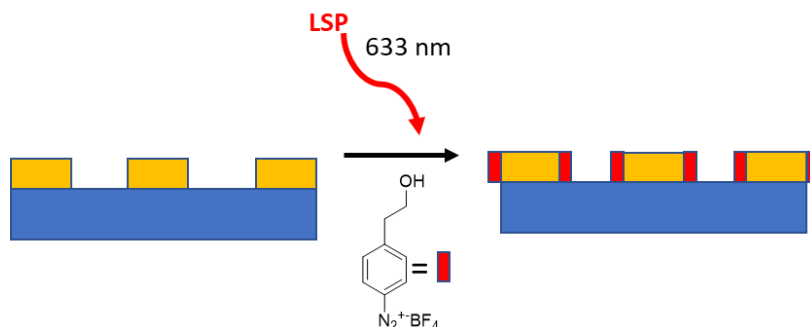


Рисунок 6. Схематическое изображение процесса плазмон-индуцированной модификации нанополос золота с использованием солей диазония

Данный подход отличается рядом преимуществ: процесс модификации занимает всего секунды и, в отличие от методов, использующих УФ, или освещение видимым светом, толщина привитых пленок достигает 30 нм даже при использовании низких концентраций солей диазония. Кроме того, существует возможность пространственного контроля модификации, так как реакция происходит предпочтительно в зонах максимального усиления локального электромагнитного поля.

Позднее была показана возможность локальной модификации поверхности золотых наностержней с помощью плазмон инициированной модификации с использованием АСД [122] (Рисунок 7). Авторы использовали анизотропию плазмонных свойств для селективной модификации боковых поверхностей и краевых зон. Данный подход к функционализации заключался в пространственно селективном возбуждении плазмона в зависимости от поляризации света лазера.

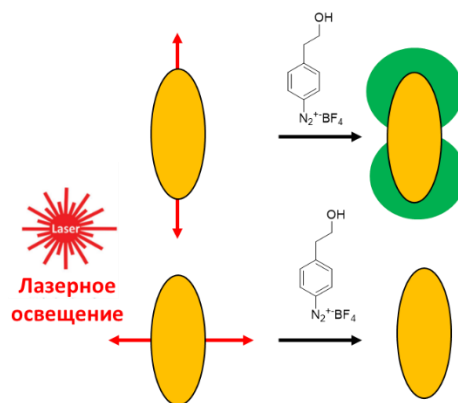


Рисунок 7. Схема региоселективной поверхностной функционализации наностержней золота при плазмонном возбуждении поляризованным светом.

Данный метод так же предоставляет возможность прививки специфических молекул на отдельные области наностержней для использования их в области сенсорики.

Однако, данная область только начинает свое развитие, поэтому данные о точном механизме реакции и влиянии плазмонного резонанса на структуру привитых органических слоев еще не получены и представляют широкий интерес для научного сообщества. Стоит отметить, что плазмонное инициирование химических реакций не ограничивается поверхностной модификацией, а активно используется и развивается для широкого круга превращений, начиная от получения водорода [123-124] с помощью плазмон-инициируемого расщепления воды до окисления спиртов [125], селективного восстановления органических функциональных групп [126] и реакций кросс-сочетания [127].

1.3 Плазмон индуцированные превращения органических веществ

1.3.1. Первая плазмон-индуцированная реакция: Димеризация *p*-амино(нитро)тиофенола.

Плазмонный катализ представляет собой новый тренд в органической химии, ассоциированный с наноматериалами на основе металлов. В настоящее время данный подход находит все большее применение в реакциях селективной трансформации органических функциональных групп [122-127].

История развития плазмон-индуцированного катализа для органических реакций началась с исследования реакции димеризации молекул 4-аминотиофенола (РАТР), привитых на плазмон-активную поверхность [128, 129]. РАТР является одной из модельных молекул для исследования фундаментальных вопросов в области SERS, благодаря достаточно сильному усилению Рамановского сигнала органических молекул на модифицированных поверхностях и четко различимых пиках в спектрах. Плазмон-активную поверхность (чаще всего Au, Ag) модифицируют с использованием РАТР, где тиольная группа связывается за счет хемосорбционных взаимодействий. Затем, в зависимости от типа плазмон-активного субстрата происходит освещение модифицированного образца источником света с длиной волны, соответствующей плазмонному резонансу [130, 131] (Схема 18).

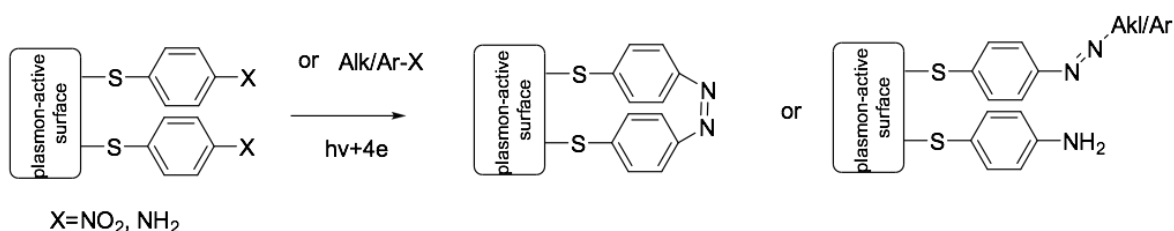


Схема 18. Схема реакции димеризации молекул 4-аминотиофенола на плазмон-активных поверхностях

Далее, происходит взаимодействие двух соседних молекул РАТР или в реакционную среду может вводиться вторая молекула амина, в результате которого происходит образование 4,4-димеркаптоазобензола на поверхности. Стоит отметить, что аналогичным образом в данную реакцию может вступать 4-нитрофенол и другие нитропроизводные в качестве реагента для образования 4,4-димеркаптоазобензола (DMAВ) [132, 133].

Несмотря на то, что точный механизм процесса еще не был установлен и до сих пор обсуждается, на сегодняшний день механизм переноса горячих электронов получил наибольшее распространение [130, 131]. Считается, что механизм данного превращения связан с генерацией горячих электронов на поверхности металла, которые запускают процесс сочетания РАТР до DMAВ.

Очевидно, что самым информативным методом изучения данного процесса является снятие SERS спектров в зависимости от времени реакции, так как изначально наблюдаются пики РАТР, которые в процессе реакции трансформируются в пики, характерные для азо-продукта реакции DMAВ (1143, 1390, and 1432 cm^{-1}). Таким образом, появление этих трех полос поглощения использовалось в качестве экспериментального доказательства прохождения реакции [134-137]. Кроме того, метод XPS может быть использован для исследования реакции плазмон-активируемой димеризации, так как деконволюция пика N1s позволяет различить нитро, амина и азо соединения [131, 135].

Благодаря огромному количеству работ, посвященных исследованию влияния pH, длины волны и мощности источника облучения, типа плазмон-активного субстрата, окружающей атмосферы на димеризацию РАТР, данную реакцию можно считать модельной для более глубокого исследования механизма плазмон-индуцированных реакций [130-137].

Одним из фундаментальных работ посвященных димеризации 4-нитрофенола, вызывающих особый интерес, является работа Lin, который

продемонстрировал пример использования композита на основе оксида графена и наночастиц Ag (GO@Ag) в качестве платформы для плазмон индуцированной реакции образования азо-мостиков с рядом нитросоединений [138] (Схема 19).

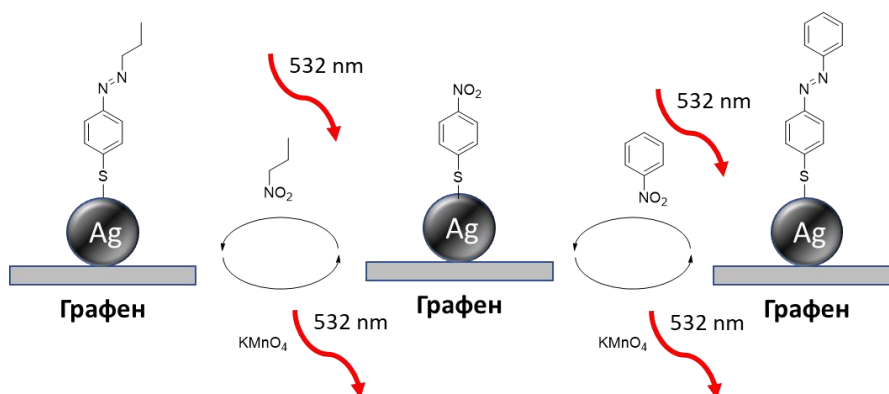


Схема 19. Схематическое изображение плазмон-индуцированной химической реакции на НТФ на модифицированном Ag@GO

Авторами было обнаружено, что под действием облучения длинами волн 532 или 633 нм, молекулы п-нитротифенола на поверхности Ag@GO могут вступать в реакцию с такими нитросоединениями, как нитробензол или 1-нитропропан с образованием азо-соединений. Стоит отметить, что авторы впервые показали, что окисление образовавшихся азо-соединений с использованием KMnO_4 приводит к диссоциации двойной связи $\text{N}=\text{N}$, скорость которой может быть увеличена с использованием лазерного освещения, и азо-соединения могут быть окислены до исходных нитросоединений. Разработанный метод позволяет получать функциональные азо-соединения на поверхности металлов, которые могут быть использованы для создания сенсорных систем.

Однако, как отмечалось ранее, на сегодняшний день реакция димеризации РАТР является по большей степени модельной, поэтому внимание ученых переключилось на поиск новых превращений, которые могут быть реализованы под действием плазмонного резонанса, а также исследование возможностей плазмонного катализа для органической химии и

поверхностных превращений. На сегодняшний день известны плазмон-индуцированные реакции окисления спиртов и алкилтиофенолов [125, 131], разложения воды [123,124], сочетания по Сузуки [127], а также различные виды полимеризации [139-143].

1.3.2. Плазмон-индуцированная полимеризация

Одной из наиболее интересных и пока еще малоизученных областей плазмон-индуцированного катализа является локализованная и контролируемая полимеризация. Данный тип превращений может открыть новые методы и подходы к созданию функциональных плазмон-активных субстратов.

Первым примером, демонстрирующим, что использование эффекта плазмонного резонанса может приводить к росту нанометровых пленок полимера на плазмон-активных субстратах является работа группы Sorrege, в которой открыто явление плазмон-индуцированной свободно-радикальной полимеризации [144]. В качестве субстрата он использовал коллоидные серебряные НЧ размером 60 нм с максимумом плазмонного резонанса на 460 нм, нанесенные на amino-функционализированную стеклянную подложку (Рисунок 8).

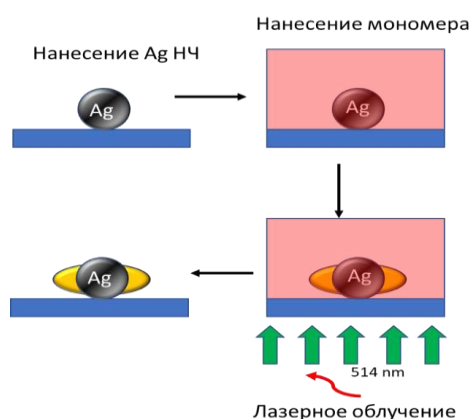


Рисунок 8. Плазмон-индуцированная свободно-радикальная полимеризация на серебряных НЧ

Далее использовалась трехкомпонентная смесь: сенсibilизирующего красителя (Eosin Y), метилдиэтанолamina и триакрилата пентаэритрита (PETIA). Для облучения использовался лазер с длиной волны 514 нм, поскольку она перекрывает как спектр поглощения Eosin Y, так и плазмонный резонанс серебряных НЧ. Поверхностный плазмонный резонанс отдельных наночастиц серебра использовался в качестве оптического источника для локальной инициации реакции полимеризации. В качестве доказательства плазмон-активной природы процесса авторы показали, что полимеризация на серебряных НЧ определяется фотохимическими параметрами. В частности, обнаруживалось, что химическая кинетика специфична для используемой длины волны, соответствующей максимуму плазмонного резонанса НЧ, а также, что толщина образующейся пленки строго зависит от времени освещения и используемой мощности лазера. Таким образом, авторы впервые показали возможность роста пленки полимера на плазмон-активных НЧ под действием лазерного облучения и открыли путь к исследованию других видов плазмон-индуцированной полимеризации.

Стоит отметить, что иногда плазмон может оказывать положительное влияние на процессы полимеризации без иницирующего эффекта. Таким примером является работа группы Murakoshi, которая показала, как плазмон влияет на пространственно-селективное осаждение проводящего полимера пиррола на тонкой пленке золотых НЧ, нанесенных на электроды из TiO₂ при электрохимической полимеризации [142]. Авторы использовали кластеры золотых НЧ размером 100 нм (Рисунок 9).

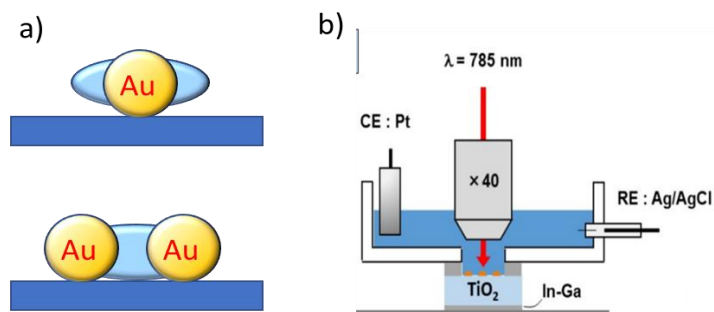


Рисунок 9. а) рост полимера на золотых НЧ, б) Схематичное изображение установки для плазмон-индуцированной полимеризации

Полимеризация проводилась в электрохимической ячейке с использованием 10 mM раствора пиррола при наложении потенциалов в диапазоне -0.9 - +0.5 В. Конфокальный Рамановский микроскоп с длиной волны 785 нм использовался в качестве источника света и, одновременно, для кинетических исследований полимеризации.

После освещения на поверхности наночастиц образовывалась пленки полипиролла, рост которого фиксировался методами SERS и XPS. Авторами было обнаружено, что в зависимости от прилагаемого потенциала, варьируется интенсивность Рамановских пиков.

По данным AFM, SEM было показано, что в случае, когда полимеризация проходила на изолированных НЧ, полипиролл образуется на обеих сторонах НЧ параллельно поляризации лазерного пучка от Рамановского спектрометра. В случае нескольких агломератов НЧ, находящихся рядом, рост полимера наблюдался преимущественно в щелях между НЧ. Места роста полимера соответствуют локализации электромагнитного поля на золотых НЧ, что доказывает важную роль локализованного поверхностного резонанса в процессе полимеризации. Результаты данного исследования являются экспериментальным доказательством локализации активных центров в плазмон-индуцированных фотоэлектрохимических реакциях.

Совсем недавно Baumberg продемонстрировал возможность плазмон-индуцированной полимеризации различных мономеров на золотых НЧ [140]. Авторы наносили золотые или серебряные НЧ на золотые пленки предварительно модифицированные тиофенолом, затем сверху были нанесены мономеры с последующим облучением лазером на длине волны 630 нм с одновременной регистрацией спектров.

Авторы утверждают, что в процессе лазерного освещения золотых НЧ, возбужденные горячие носители имеют энергию <2 eV, которая является недостаточной для прямого запуска полимеризации через перенос энергии электромагнитным полем. Поэтому они предположили радикальный механизм процесса, реализуемый путем переноса горячих электронов для образования радикальной системы Au–C–C•, которая далее и инициирует рост полимерной цепи по схеме 19.



Схема 19. Механизм прохождения радикальной плазмон-индуцированной полимеризации

Стоит отметить, что в данной работе использовалась двухкомпонентная система золотой подложки и НЧ для достижения и использования эффекта локализованного плазмонного резонанса, что значительно ограничивает применимость метода.

Описанный метод позволяет контролировать и отслеживать рост полимера в реальном времени. Идеальный контроль над толщиной оболочки полимерного слоя, а также пространственно разрешенного роста полимера был достигнут путем изменения времени освещения, длины волны и используемых мономеров [25-26]. Кроме того, авторы показали, что данный метод является универсальным, что доказывает плазмонный механизм

реакции посредством переноса «горячих» электронов с поверхности НЧ на молекулы мономеров.

Позднее авторы показали, что плазмон-индуцированная полимеризация способна не только точно контролировать толщину и состав полимерных покрытий, но также регулировать местоположение и ориентацию роста полимера, на что сильно влияет поляризация лазера и распределение его интенсивности вокруг НЧ [139]. Авторами были использованы аналогичные экспериментальные условия. Для изменения поляризации лазерного луча были использованы линейный поляризатор и полуволновая пластина, которые были помещены перед линзой объектива. Предложенный подход полимеризации, не только открывает новые возможности в нанотехнологиях для создания функциональных устройств, но также открывает множество путей применения полимеров на наноразмерном уровне.

Позднее впервые была показана возможность проведения плазмон-индуцированной полимеризации путём обратимого присоединения и фрагментирования (RAFT) на поверхности золотых периодических структур [143] (Схема 20).

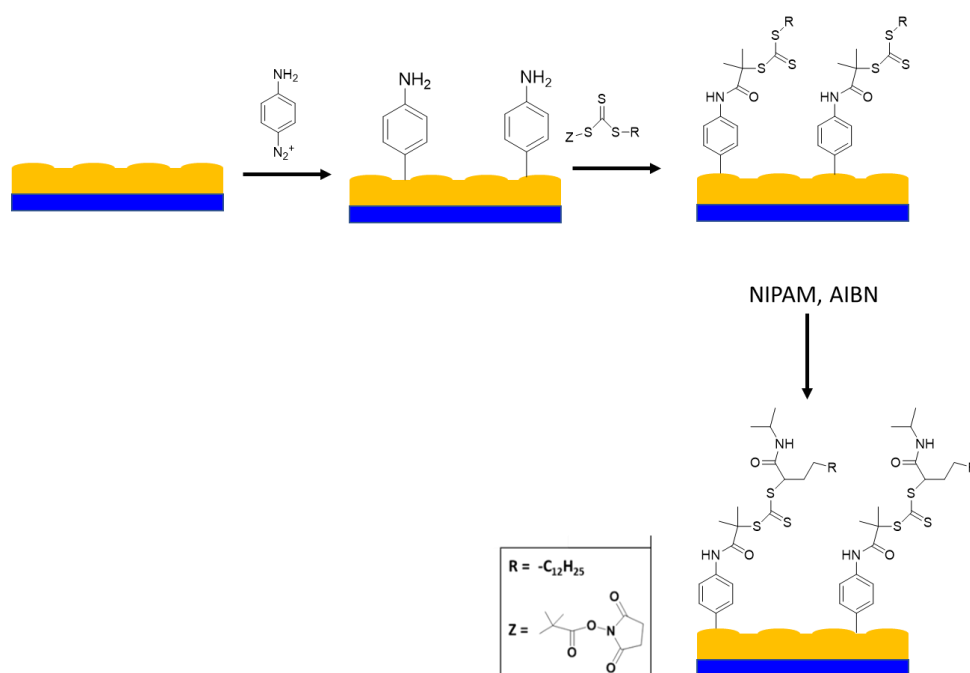


Схема 20. Схематическое изображение RAFT-полимеризации NIPAm на плазмон-активной золотой решетке

Поверхность золотой решетки, которая была промодифицирована для ковалентной прививки RAFT агента, была погружена в раствор мономера NIPAm и инициатора полимеризации азобисизобутиронитрила с последующим облучением светом с длиной волны, соответствующего максимуму плазмонного резонанса решетки.

Снятие спектров SERS и XPS во времени указывают на само ограничивающуюся природу плазмон-индуцированного роста полимера PNIPAm, а, именно, реакция проходит до формирования определенной толщины полимера и останавливается, несмотря на значительный избыток инициатора полимеризации и мономера в реакционной среде. Любое отклонение от оптимальных условий возбуждения ППП (например, использование противоположной поляризации света) приводит к остановке полимеризации или ее значительному замедлению. Настоящие результаты обеспечивают основу для проведения дальнейших экспериментов по плазмонному катализу в целом и предлагают новый способ получения ультратонких полимерных пленок с определенным размером.

История плазмон-катализируемых превращений только начинает уверенное развитие, на сегодняшний день показан достаточно узкий круг трансформаций, которые могут происходить под действием плазмонного резонанса.

2. Методы получения и трансформации органических функциональных групп на поверхности тонких пленок золота: путь к созданию сенсоров нового поколения

Данное исследование посвящено дизайну и разработке сенсорных систем на основе периодических 2D-структур на основе золота, решению фундаментальных задач поверхностной модификации металлических поверхностей и трансформации функциональных групп для создания функциональных материалов, в частности для разработки сенсорных систем. На сегодняшний день существует широкий круг различных аналитических техник, которые условно можно разделить на хроматографические, спектроскопические, электрохимические и иммуноферментные. Мы обратили наше внимание на метод поверхностно-усиленной Рамановской спектроскопии (SERS) благодаря его удобству, простоте и высокому потенциалу применения в различных областях науки и техники [145, 146]. Метод SERS берет свое начало от эффекта комбинационного рассеивания света, который широко применяется для анализа органических веществ различного происхождения [147]. В общем, суть метода сводится к анализу изменений частоты падающего излучения в результате неупругого рассеяния света, соответствующих различиям в уровнях колебательных энергий органических функциональных групп. Таким образом, спектроскопия комбинационного рассеивания позволяет визуализировать частоты колебаний связей различных функциональных групп и является методом идентификации и структурных исследований органических веществ.

Тем не менее, спектроскопия КРС в классическом варианте проигрывает общепринятой инфракрасной спектроскопии по нескольким параметрам [147, 148]. Во-первых, стоимость прибора для КРС значительно выше, но данный метод не дает должную чувствительность детектирования. Во-вторых, метод КРС ограничен для флуоресцентных образцов, а также может наблюдаться

нагрев образца и как результат его разложение. Данные особенности КРС долгое время ограничивали его применение [149].

Однако, возможность усиления сигнала в 10^4 - 10^5 раз в случае адсорбции молекул аналита на шероховатых плазмон-активных подложках из благородных металлов дала новый виток развитию КРС в виде поверхностно-усиленной Рамановской спектроскопии (SERS) [147, 148, 150]. В настоящее время SERS сенсорные системы были признаны одним из наиболее перспективных методов благодаря высокой чувствительности, короткому времени анализа, надежности результатов и возможности применения в широком диапазоне областей, возможности проведения многокомпонентного анализа, а также появлению коммерчески доступных, надежных, портативных Рамановских спектрометров [147, 148, 150, 151]. Непрерывное совершенствование дизайна плазмон-активных сенсоров, методов измерения и анализа делает метод SERS одним из самых распространённых в аналитическом сообществе.

Не смотря на значительный потенциал SERS, некоторые ключевые проблемы остаются нерешенными, например, снижение минимальной определяемой концентрации (LOD) до уровня пригодного для реального применения, разработка достаточно простой процедуры подготовки SERS субстрата, а также воспроизводимость SERS сигнала [152]. Низкая воспроизводимость может быть также вызвана неоднородным распределением молекул аналита на SERS подложке. Для того, чтобы решить выше поставленные задачи, в первую очередь стоит обратить свое внимание на выбор плазмон-активного субстрата.

2.1. Обоснование выбора плазмон-активного субстрата

Одними из наиболее распространённых, до недавнего времени, плазмон-активных субстратов для детектирования являются наночастицы благородных металлов (золота, серебра) различных форм и размеров, которые обладают одним из самых высоких коэффициентов усиления

сигнала (10^4 и выше) [153-155]. Несомненно, ультравысокие коэффициенты усиления выгодны для обнаружения низких концентраций целевых молекул. Однако, зависимость фактора усиления от формы, размера и других параметров приводит к чрезвычайно низкой воспроизводимости Рамановского сигнала [156]. Кроме того, выделенные НЧ не всегда удобны для осуществления процессов детектирования в виду необходимости тщательного диспергирования, а суспензии НЧ часто недостаточно стабильны и склонны к агломерации [157, 158].

Для того, чтобы метод ГКР мог быть использован для количественного определения целевых аналитов, интенсивность Рамановского сигнала должна быть воспроизводима без значительных потерь фактора усиления плазмон-активного субстрата. Наиболее выгодным решением данной проблемы стали 2D периодические субстраты, где усиление электрического поля происходит не только локально, но и равномерно распределяется по поверхности благодаря поверхностному плазмон-поляритону [159, 160].

Поэтому, в качестве плазмон-активной подложки нами выбраны периодические решетки золота. Основы метода их получения совсем недавно были разработаны нашими коллегами из Университета Химии и Технологии (г. Прага, Чешская Республика) [161-163]. В основе метода лежит лазерная абляция сшитых полимеров (Su-8) эксимерным лазером под углом в 45 градусов, сопровождающаяся образованием решетчатого паттерна на поверхности. В дальнейшем, на полученные решетки наносятся тонкие слои золота (20-25 нм) посредством вакуумного или магнетронного напыления (Рис. 10).

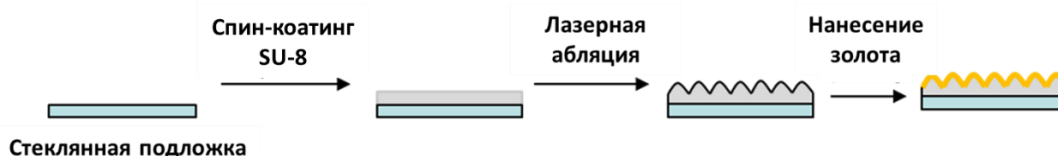


Рисунок 10. Схема получения плазмон-активных упорядоченных решеток

Предлагаемый подход позволяет достичь воспроизводимые результаты даже при получении крупных партий подложек. Разработанные решетки имеют максимум плазмонного резонанса в области 780 нм, высокий фактор усиления, сравнимый даже с наночастицами благородных металлов. Вместе с тем, крайне низкая селективность взаимодействия с аналитами существенно ограничивает применение данных объектов в науке и технологии.

Как было показано ранее, данная проблема может быть успешно решена с использованием методов поверхностной модификации, позволяющих получить практически любые органические функциональные группы [35]. Однако, до недавнего времени, модификация тонких (до 20-30 нм) пленок металлов систематически не исследовалась. Принимая во внимание относительно низкую стабильность данных материалов, используемые методы модификации должны быть максимально не деструктивными.

Исходя из данных соображений, мы поставили перед собой цель разработать методы и подходы к созданию эффективных сенсорных систем на основе упорядоченных плазмон-активных решёток золота и исследовать их применимость для детектирования широкого круга социально-значимых аналитов. Для достижения поставленной цели нам было необходимо решить ряд задач, первостенной из которых является разработка метода поверхностной модификации тонких золотых пленок (<25 нм) для прививки органических функциональных групп.

Одним из наиболее распространённых методов модификации плазмон-активных поверхностей является использование тиолов [19, 20], однако, существуют серьезные ограничения использования данного метода: умеренная стабильность привитых функциональных групп (механическая и термическая), невозможность регулировки толщины слоя, обратимость и возможность замещения другими тиолами [21, 22].

Как было показано ранее в литературном обзоре, отличной альтернативой является использование диазониевой химии в виду высокой

реакционной способности АСД и образования ковалентных связей с поверхностью субстрата [29-38]. Поверхностная химия АСД хорошо зарекомендовала себя для модификации широкого спектра материалов, включая металлические подложки (золото, серебро, железо, медь, цинк, никель и т.д.) [24, 35, 64]. Однако, большинство работ посвящено функционализации электродов или «цельных» металлов с помощью спонтанной или электрохимической модификации. Именно поэтому на первом этапе выполнения диссертационного исследования нами были разработаны базовые методы модификации 2D- и 0D-материалов с использованием АСД.

2.2. Поверхностная модификация плазмон-активных 0D- и 2D-наноматериалов с использованием арендиазоний тозилатов

На сегодняшний день тема диазониевой модификации поверхности золотых пленок освещена лишь ограничено. Известны примеры модификации золотых пленок (50-150 нм) с помощью спонтанной реакции с 4-нитробензолдиазоний тетрафторборатом [22], а также электрохимическая модификация 100 нм пленки золота в растворе ацетонитрила, содержащий АСД или алкилиодиды [164]. Однако, систематических исследований в этой области не проводилось.

В качестве диазониевых солей нами были выбраны арендиазоний тозилаты (АДТ), так как обладают рядом преимуществ перед классическими солями диазония, такие как взрывобезопасность, стабильность при хранении и отличную растворимость в широком ряде растворителей и воде [165, 166]. Последнее свойство является особенно предпочтительным так как позволяет проводить и спонтанную, и электрохимическую модификацию в воде без добавления дополнительных агентов или электролитов. Также АДТ уже проявили себя как прекрасные агенты для модификации углеродных материалов [167-169], НЧ железа [94, 170] и полимеров (поли (3,4-

этилендиокситиофен) полистиролсульфоната, поливинилиденфторида: полиметилметакрилата, полимолочной кислоты) [30, 80, 171-173].

Для проведения процессов модификации мы получили тонкие пленки золота на поверхности стеклянных пластинок с использованием метода магнетронного напыления. В качестве АДТ нами были выбраны 4-нитробензолдiazоний тозилат (ADT-NO₂), 4-(гептадекафтороктил)бензолдiazоний тозилат (ADT-C₈F₁₇), 4-аминобензолдiazоний тозилат (ADT-NH₂) и 4-карбоксибензолдiazоний тозилат (ADT-COOH). ADT-NO₂ была выбрана в качестве модельного соединения из-за большого массива данных о использовании подобных соединений, в то время как ADT-C₈F₁₇ исходя из предположения, что модификация вызовет максимально видимые изменения в поверхностных свойства пленок. ADT-NH₂ и ADT-COOH использовались, в свою очередь, в качестве примеров [174].

Для детального изучения процесса и оценки структуры и свойств органических функциональных групп на поверхности мы использовали два принципиальных подхода к поверхностной модификации – электрохимический и спонтанный (Схема 21).

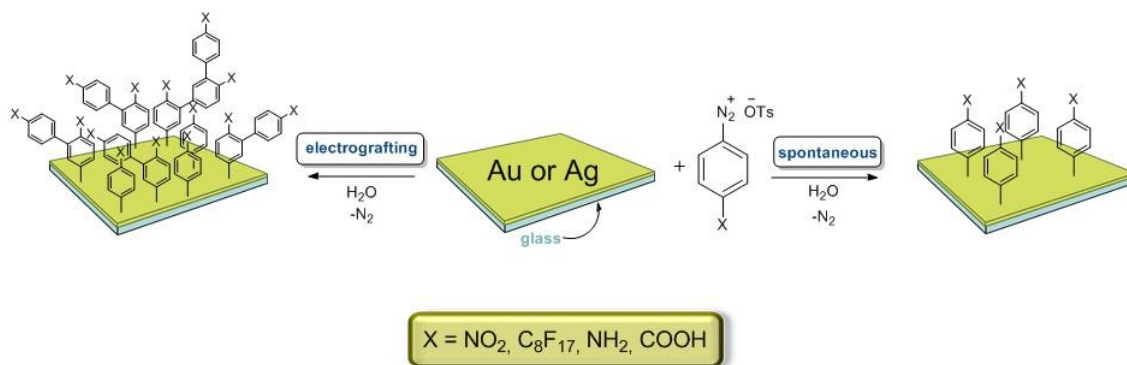


Схема 21. Схематическое изображение процесса ковалентной модификации плазмон-активных пленок с использованием АДТ

Спонтанная модификация проводилась путем погружения золотых пленок в 1мМ свежеприготовленный раствор АДТ в деионизованной воде на 10 минут (для ADT-C₈F₁₇ использовался раствор вода/этанол 3/1). В то время

как электрохимическая модификация проводилась в 1мМ свежеприготовленного раствора АДТ без добавления электролитов при наложении потенциала -2 В в течение 10 минут с использованием платинового электрода. После модификации образцы промывались водой, этанолом и ацетоном для удаления побочных продуктов восстановления АДТ в результате взаимодействия с металлической поверхностью. После проведения процесса модификации, поверхностный состав и свойства полученных функционализированных пленок систематически изучались с использованием современных физико-химических методов анализа.

Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (XPS).

Изменения поверхностной концентрации элементов после прививки функциональных групп были изучены методом XPS. Основные результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Поверхностная концентрации элементов, рассчитанная по результатам исследования XPS под углом 9° для тонких пленок золота и серебра, модифицированных ADT-NO₂ и ADT-C₈F₁₇

Номер	Образец	Поверхностная относительная концентрации элементов (at. %)					
		C(1s)	O(1s)	Au(4f)	Ag(3d)	N(1s)	F(1s)
1	Prist Au	32.0	15.8	52.2	-	-	-
2	Au-NB-sp	43.0	10.3	45.3	-	1.5	-
3	Au-NB-el	61.4	26.0	4.8	-	7.8	-
4	Au-CF-sp	37.5	11.7	33.4	-	-	17.4
5	Au-CF-el	44.3	9.6	4.0	-	-	42.1

На исходных образцах наблюдалось присутствие следовых количеств углерода и кислорода, указывающий на несовершенство металлических пленок, что типично для субстратов, полученных методом магнетронного распыления (таблица 1, строка 1) [175]. После проведения процессов модификации мы наблюдали появление новых сигналов и изменение интенсивности исходных пиков, которые хорошо согласуются с ранее опубликованными результатами [22, 35].

Как и следовало ожидать, процессы электрохимической модификации (таблица 1, строки 3, 5) приводили к большему увеличению концентрации углерода, азота и фтора по сравнению со спонтанной модификацией (строки 2,4) Модификация с использованием ADT-NO₂ привела к появлению нового пика N1s. Удивительным было то, что мы не наблюдали характерного пика на 400 эВ, соответствующего диазо связи -N=N-, что свидетельствует о отсутствии прямого взаимодействия диазо-катионов или радикалов с привитыми группами (Таблица 1, строки 2, 3). Подобные эффекты наблюдались и в случае ADT-C₈F₁₇: содержание функциональных групп в случае электрохимической модификации было существенно больше, чем в случае спонтанной.

Мы обратили внимание на интересную закономерность – при прочих равных условиях только в случае ADT-NO₂ электрохимическая модификация приводила почти к 5-кратному увеличению количества органических функциональных групп (ОФГ) по сравнению с спонтанной. В случае же ADT-C₈F₁₇ различия были не столь ярко выражены и при использовании электрохимического процесса количество функциональных групп увеличивалось лишь в 1,5 раза. Данный факт заслуживает дальнейшего рассмотрения с точки зрения толщины образующегося слоя.

Исследование толщины органических пленок с помощью атомно-силовой микроскопии (AFM) и исследование морфологии и механических свойств

Толщина привитых органических слоев была измерена с помощью так называемого скрэтч-теста, заключающегося в царапании поверхности образца и последующей атомно-силовой микроскопии (AFM) для изучения профиля пленки в месте царапины.

Представленные значения толщин пленок являются средним значением из 16 измерения полученных исходя из 3 царапин и измерения их профилей. Шероховатость поверхности металлических пленок позволила измерить толщину с точностью не менее 0.2 нм (Рисунок 11).

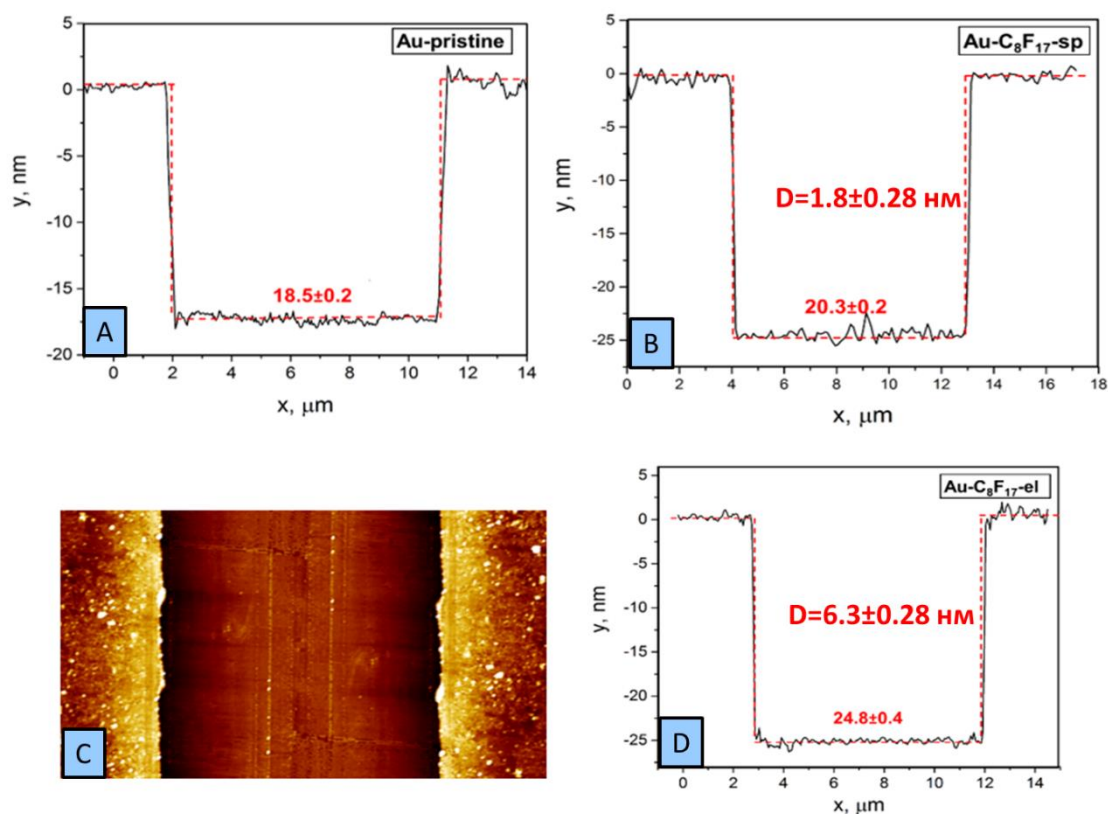


Рисунок 11. AFM профиль толщины пленок, модифицированной спонтанно и электрохимически ADT-C₈F₁₇

В Таблице 2 приведены изменения толщины исходных, спонтанно и электрохимически модифицированных ADT-NO₂ и ADT-C₈F₁₇ тонких пленок золота.

Таблица 2. Результаты скрэтч-теста и последующей атомно-силовой микроскопии на золотых пленках после спонтанной и электрохимической модификации с использованием ADT-NO₂ и ADT-C₈F₁₇ (*различие в толщине пленки между модифицированным и немодифицированным образцом).

	Образец	Толщина (нм)	Δ^* (нм)	Размер молекулы (нм)	Приблизительное количество слоев
1	Prist Au	18.5±0.18	-	-	-
2	Au-CF-sp	20.3±0.2	1.8	1.6	1.1
3	Au-CF-el	24.8±0.15	6.3	1.6	4.0
4	Au-NB-sp	20.4±0.2	1.9	0.8	2.4
5	Au-NB-el	25.6±0.18	7.1	0.8	8.9

Значение толщины органических пленок после модификации в комбинации с известными значениями геометрических размеров молекул позволило нам определить количество привитых молекул и сделать вывод в моно или полифениленовой структуре органического слоя. Так, при размере молекулы нитробензола ≈ 0.8 нм, органическая пленка, полученная методом спонтанной модификации, имеет мультислойную структуру, состоящую из 2-3 нитрофениленовых звеньев. После спонтанной модификации с использованием ADT-C₈F₁₇ наблюдается рост пленки близкой к мономолекулярной (размеры 4-(гептадецилфтороктил)бензола ≈ 1.6 нм) (Таблица 2, строка 2). Образование монофениленового слоя может быть объяснено стерически затрудненной атакой первого слоя привитых 4-(гептадецилфтороктил)фенильных групп, данный эффект является типичным для «крупных» молекул. Поэтому, даже электрохимическая модификация с

использованием ADT-C₈F₁₇ приводит к образованию тонкой полифениленовой плёнки (не более 4 молекул) (Таблица 2, строка 3). В случае электрохимической прививки ADT-NO₂ мы наблюдали прививку 8 фениленовых слоев нитробензола (7.1 ± 0.3 нм), что хорошо согласуется с ранее опубликованными данными (Таблица 2, строка 5).

Немаловажными свойствами 2D поверхностей являются также морфология и механические свойства поверхности. Данная информация также может быть получена методами AFM. Морфология поверхности включает в себя характеристики поверхности: размер структуры, форму и пространственную организацию. Адгезия на наноуровне часто характеризуется простыми измерениями, при которых кантилевер AFM контактирует с поверхностью с периодической амплитудой, а сила измеряется посредством отклонения кантилевера от начального состояния. В то время как деформация определяется тем, как образец деформируется при приближении кантилевера к поверхности [176].

Морфология поверхности, адгезия и деформация были изучены на наноразмерном уровне с использованием метода AFM. Наши исследования проводились на модифицированных золотых поверхностях с привитыми группами -C₆H₄-C₈F₁₇, результаты которых представлены на Рисунке 12.

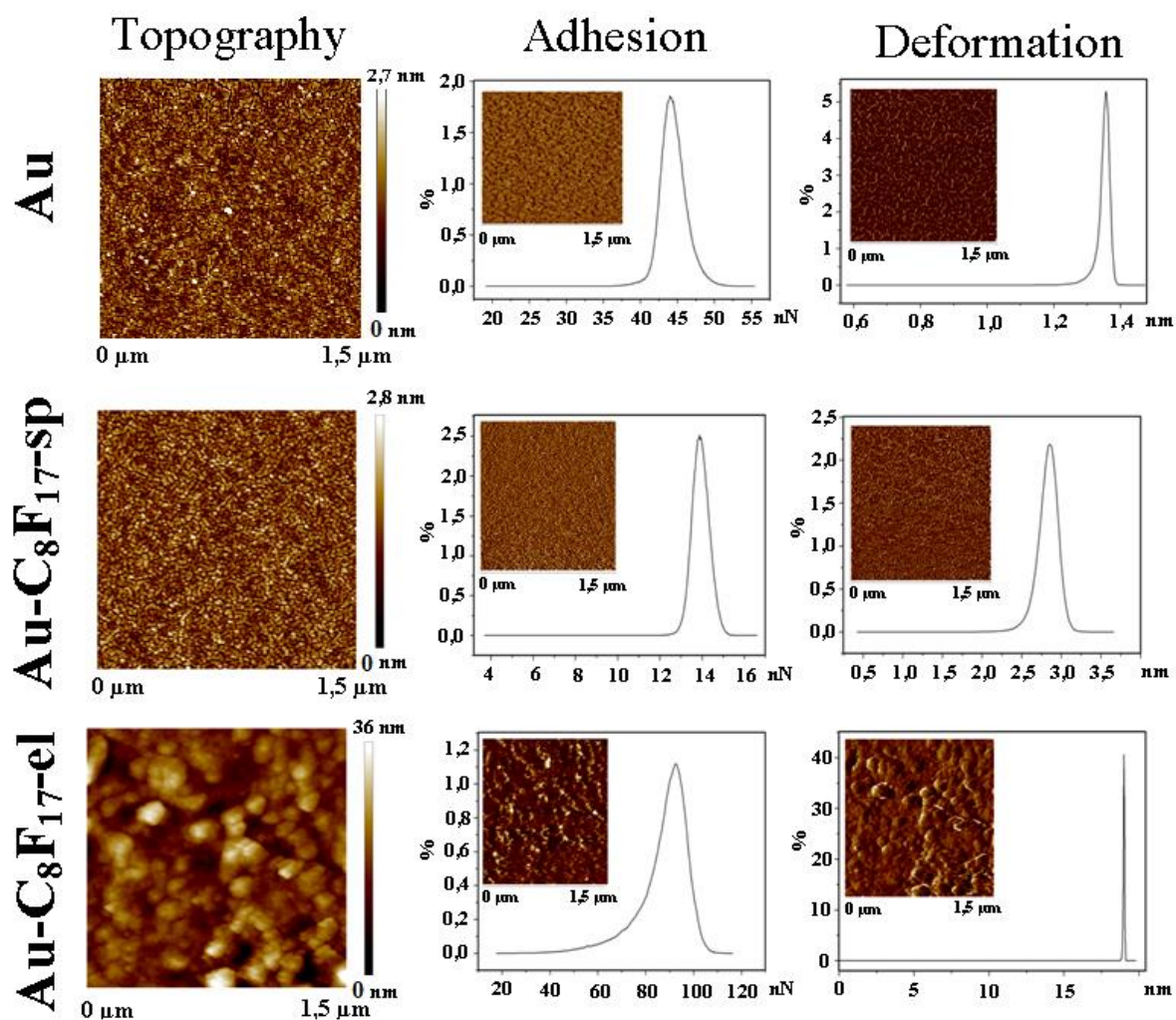


Рисунок 12. Поверхностная морфология и механические свойства золотых пленок модифицированных ADT-C₈F₁₇

Очевидно, что нанесение металлических пленок методом магнетронного распыления приводит к образованию известной кластерной структуры с узким распределением механических и адгезионных свойств. Спонтанная модификация практически не изменяет морфологию поверхности, но влияет на механические свойства поверхности: адгезия значительно снизилась, а деформация увеличилась. Электрохимическая модификация поверхности золота, в свою очередь, привела к значительным изменениям свойств поверхности: на AFM-изображениях фиксируются изменения морфологии и значительный рост адгезии. Источником повышенной адгезии и увеличения поверхностной деформации являются перфторалкильные цепочки, эффективно взаимодействующие с кантилевером.

Циклическая вольтамперометрия (CVA)

Плотность упаковки ОФГ на поверхности пленок была оценена с помощью циклической вольтамперометрии (CVA) с использованием раствора гексацианоферрата (II) (Рис. 13). На кривых CVA, измеренных на пленках чистого золота, наблюдаются положительные и отрицательные пики, расположенные на 0,33 В, которые относятся к окислению и восстановлению Fe (II) / Fe (III).

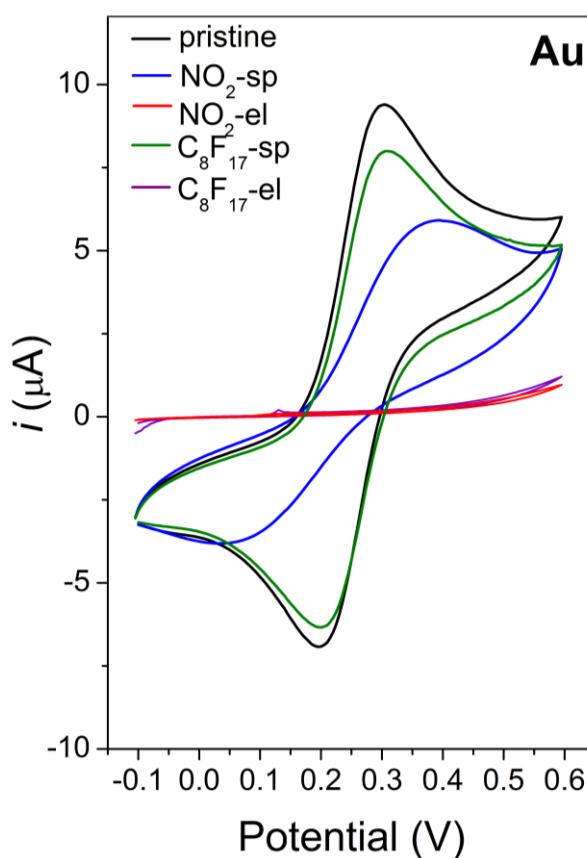


Рисунок 13. Циклические вольтамперограммы, измеренные на тонких золотых пленках с ковалентно модифицированной поверхностью: тонкие пленки Au и Ag, модифицированные ADT-NO₂ и ADT-C₈F₁₇ посредством спонтанной (-sp) или электрохимической (-el) прививки.

После прививки ADT-NO₂ по спонтанному механизму пик становится менее выраженным из-за частичной блокировки поверхности привитыми ОФГ. В случае электрохимической модификации, пики, связанные с переходом Fe(II) / Fe(III), полностью исчезали, указывая на полную блокировку поверхности и потерю проводимости пленки. Ситуация была

аналогичной в случае модификации с использованием ADT-C₈F₁₇, привитой электрохимически, пик окисления / восстановления Fe (II) / Fe (III) аналогичным образом подавлялся. Спонтанная модификация поверхности ADT-C₈F₁₇ не приводила к полному подавлению пика, что указывает на менее плотную упаковку функциональных групп, что согласуется с данными, полученными в предыдущих экспериментах. Таким образом, исходя из данных XPS, AFM, CVA можно утверждать, что предложенный процесс модификации золотых пленок приводит к успешной прививке ОФГ как в случае спонтанной, так и электрохимической модификации.

Смачиваемость

После подтверждения процесса модификации на примере ADT-NO₂ и ADT-C₈F₁₇ была изучена возможность прививки различных «активных» ОФГ (ADT-NH₂ и ADT-COOH). Хорошо известно, что прививка солей диазония может значительно влиять на свойства поверхности, что выражается в изменении угла смачиваемости различных растворителей [56]. Поверхностная смачиваемость (угол контакта смачивания водой) измерялась в зависимости от типа привитых ОФГ, и результаты представлены на Рисунке 14.

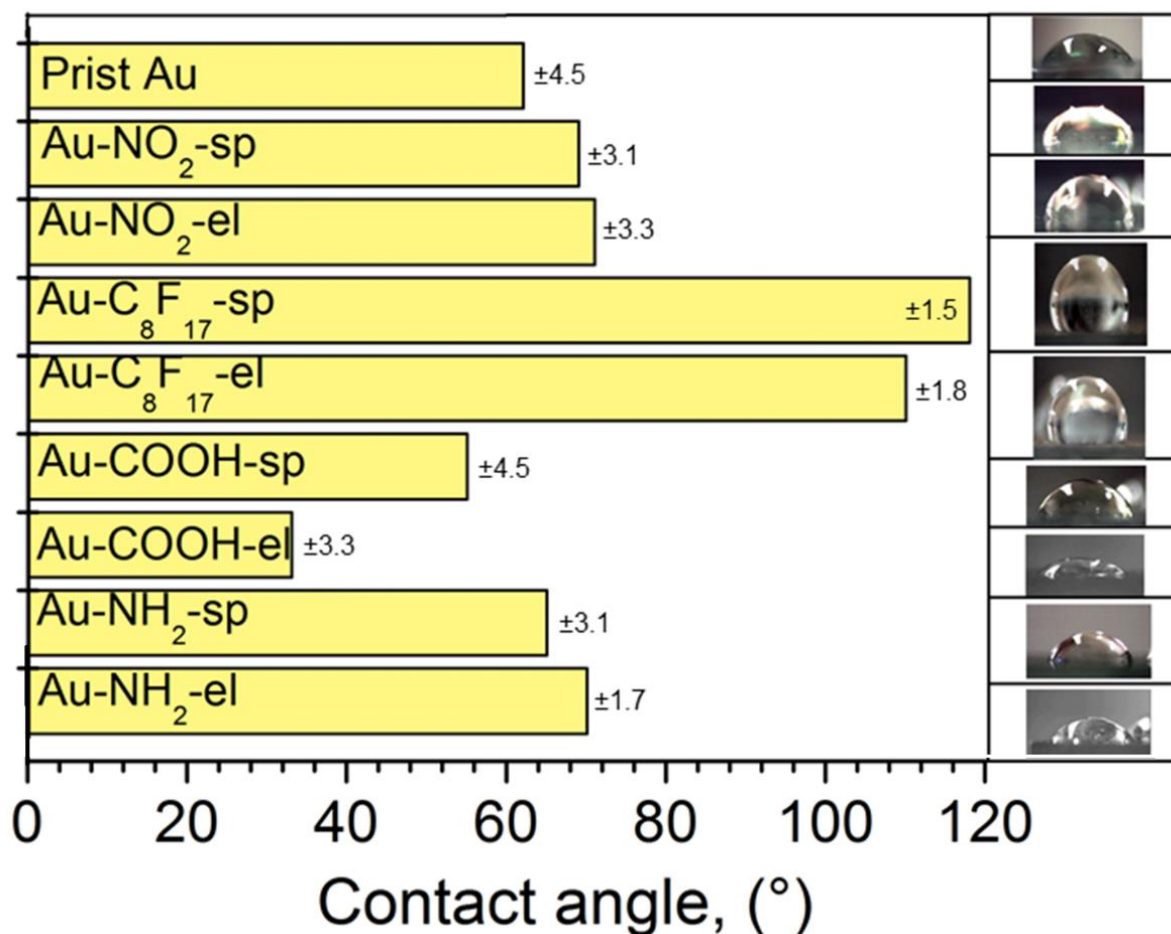


Рисунок 14. Смачиваемость золотых пленок модифицированных различными АДТ

Как и следовало ожидать, присутствие карбоксильных групп на поверхности золота уменьшает угол контакта с водой до 55 ° для спонтанной и до 33 ° при электрохимической модификации. Полученные результаты хорошо согласуются с опубликованными ранее [22, 56, 64]. При последующей модификации с использованием АДТ угол смачиваемости увеличился за счет прививки более гидрофобных, по сравнению с -COOH, групп (нитро, амина). Данная тенденция была также продемонстрирована в нескольких работах [21, 38, 49]. В случае прививки ADT-C₈F₁₇ были получены неожиданные результаты: прививка значительно увеличила угол контакта с водой, но более выраженный эффект был достигнут в случае спонтанной прививки, в отличие от данных, опубликованных в работе [56].

Этот факт можно объяснить распределением привитых арильных слоев - неоднородная структура спонтанно привитого ADT- C_8F_{17} может быть дополнительным фактором, влияющим на угол смачивания. В целом, все наблюдаемые углы смачивания, измеренные после модификации, согласуются с ранее опубликованными данными и тенденциями [21, 22, 38, 49, 56, 64]. Кроме того, мы предполагаем, что изменения углов контакта зависят не только от природы присоединяемых радикалов, но и от количества ОФГ, их распределения и метода, используемого для модификации поверхности металла.

Оптические свойства материалов

Наконец, оптические свойства модифицированных пленок были изучены с использованием УФ-спектроскопии и Рамановской спектроскопии. Результаты измерений УФ представлены на рисунке 15.

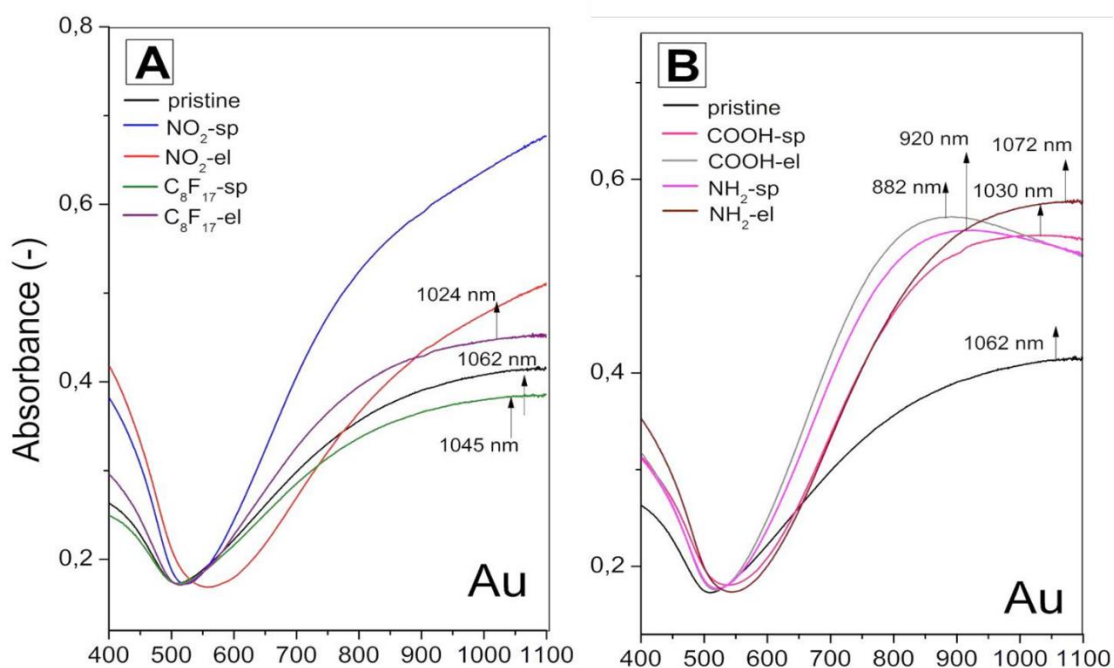


Рисунок 15. УФ-спектры тонких золотых пленок, модифицированных различными АДТ спонтанным и электрохимическим методом.

Хорошо известно, что положение максимума плазмонного резонанса зависит от диэлектрической проницаемости среды, окружающей

металлические наноструктуры, а именно от электронной плотности в наноструктуре и функции рассеяния электронов на границе металл / диэлектрик. В случае золотой пленки (Рис. 30) пик плазмонного резонанса находится в ближнем ИК-диапазоне, что типично для кластерной структуры напыленного слоя золота [177]. Модификация поверхности золота смещает положение плазмонного пика в сторону больших длин волн. Сдвиг был более выраженным в случае электрохимической модификации, что является отражением значительного изменения диэлектрической проницаемости среды.

Не менее важным оптическим свойством тонких пленок золота является способность усиливать Рамановский сигнал. Спектры комбинационного рассеяния позволили проанализировать и подтвердить наличие соответствующих ОФГ на поверхности пленок (Рис. 16).

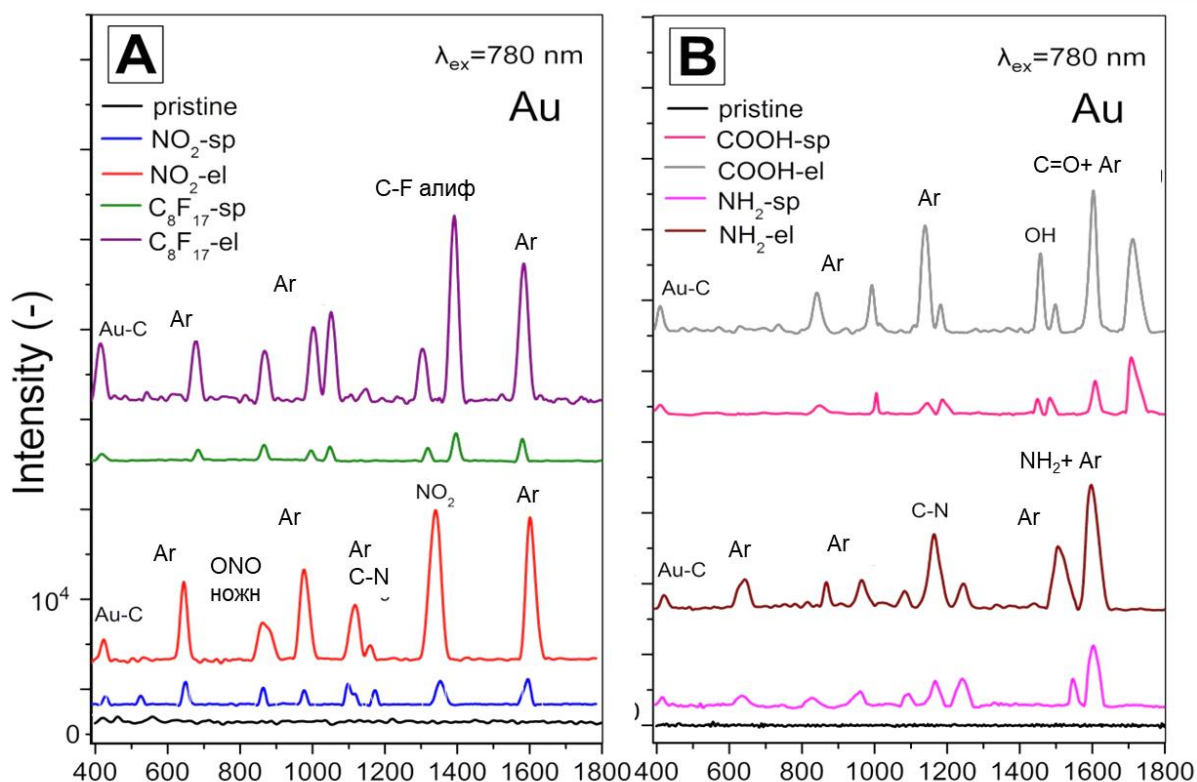


Рисунок 16. Рамановские спектры золотых пленок, модифицированных различными АДТ спонтанным и электрохимическим методом.

Принимая во внимание УФ спектры модифицированного золота (рис. 30), была выбрана длина волны возбуждения, близкая к максимум плазмонного резонанса - 780 нм. Спектры немодифицированных металлических пленок не показали каких-либо значительных сигналов, что говорит о отсутствии специфических ОФГ. После спонтанной и электрохимической модификации золота на спектрах появились ожидаемые сигналы привитых ОФГ (рис. 16). Подробное соотнесение пиков представлено в Таблице 3. Ярко выраженная природа пиков на рисунке 16 указывает на значительное усиление сигнала комбинационного рассеяния ОФГ из-за значительной фокусировки энергии в приповерхностном объеме после фотон-плазмонного перехода. Следует также отметить, что полоса низкой интенсивности примерно при 400 см^{-1} соответствует ковалентной связи Au-C, которая также наблюдалась на 433 см^{-1} [41, 42]. Ее присутствие указывает на ковалентное связывание ОФГ с поверхностью металла.

Таблица 3. Положение Рамановских пиков на золотых пленках, модифицированных АДТ

ADT-NO ₂	
Значение	Волновое число, см^{-1}
Колебания Au-C	433
Колебания бензольного кольца (Ar)	630-650
ONO ножничные + Колебания бензольного кольца (Ar)	850-865
C-H i плоскостные деформационные колебания	1020-1055
колебания C-N + Колебания бензольного кольца (Ar)	1100-1280
NO ₂ симметричные колебания	1330-1410
Колебания бензольного кольца (Ar)	1570-1600
ADT -C ₈ F ₁₇	
Колебания Au-C	433

Колебания бензольного кольца (Ar)	630-690
Колебания бензольного кольца (Ar)	850-865
C-H i плоскостные деформационные колебания	1010-1090
Колебания бензольного кольца (Ar)	1020-1170
C-F алифатические колебания	1305-1460
Колебания бензольного кольца (Ar)	1610-1700
ADT-NH ₂	
Колебания Au-C	433
Колебания бензольного кольца (Ar)	630-650
Колебания бензольного кольца (Ar)	820-1100
Колебания C-N	1150-1250
Колебания бензольного кольца (Ar)	1450-1550
Деформационные колебания NH ₂ , Колебания бензольного кольца (Ar)	1600
Колебания бензольного кольца (Ar)	1570-1600
ADT-COOH	
Колебания Au-C	433
Колебания бензольного кольца (Ar)	820-1010
Деформационные колебания O-H	1140-1550
Колебания C=O, Колебания бензольного кольца (Ar)	1600
Колебания C=O	1710

Таким образом, нами были разработаны методы модификации тонких золотых пленок с использованием АДТ с различными органическими функциональными группами с использованием спонтанного и электрохимического метода. Была продемонстрирована возможность изменения толщины органического слоя, изменения поверхностного заряда и смачиваемости, в частности, полной блокировки поверхности или изменения

адгезивных свойств поверхностей. Спонтанная реакция создает тонкие, приблизительно мономолекулярные слои пленок органических соединений и может быть использована в области датчиков SPR или SERS. Электрохимическая модификация дает более толстый слой органических соединений на поверхности золота и может найти применение в области перестраиваемых плазмонных устройствах или лазеров.

Исследование поверхностной модификации 0D объектов на примере золотых нанозвездочек

Логичным шагом в изучении процессов поверхностной модификации плазмон-активных объектов является апробация метода на других субстратах. Именно поэтому мы решили испытать метод спонтанной модификации поверхности золота на 0D-объектах с близким положением полосы плазмонного резонанса. В качестве объекта исследования нами были выбраны золотые нанозвездочки [178], максимум плазмонного резонанса которых 668 нм, что наиболее близко к соответствующим параметрам планарного золота.

Очевидно, что метод электрохимической модификации не применим к наночастицам, поэтому нами был использован лишь метод спонтанной прививки ОФГ с использованием водных растворов АДТ.

Схематическое изображение процесса синтеза и модификации AuMs приведено на Рисунке 17.

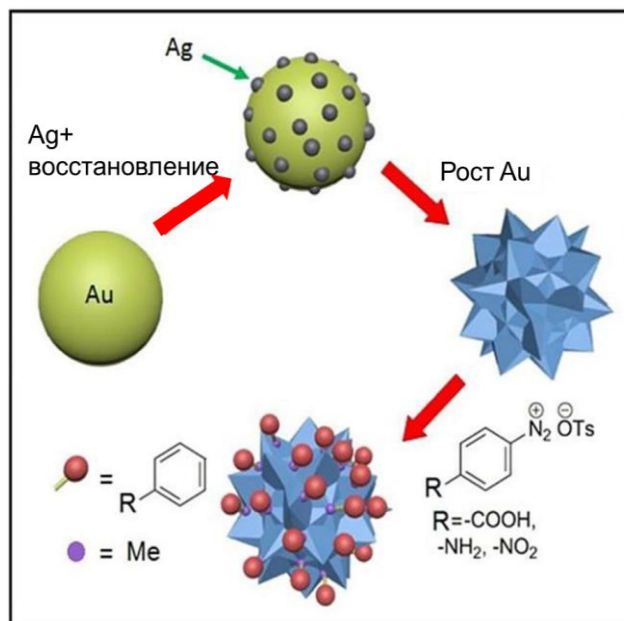


Рисунок 17. Синтез поверхностно-модифицированных золотых AuMs с использованием АДТ

AuMs были синтезированы в водном растворе при комнатной температуре в соответствии с описанной ранее процедурой [179]. Образование пиков на поверхности золота объясняется наличием ионов серебра, которые вызывают анизотропный рост золота в форме игл. Форма и распределение размеров AuMs были исследованы с использованием SEM и ТЕМ. ТЕМ-анализ (рис. 18b) выявил пиковидные кристаллы в форме звезды. Распределение размеров AuMs лежит в диапазоне 30–60 нм, что типично для этого типа AuNP.

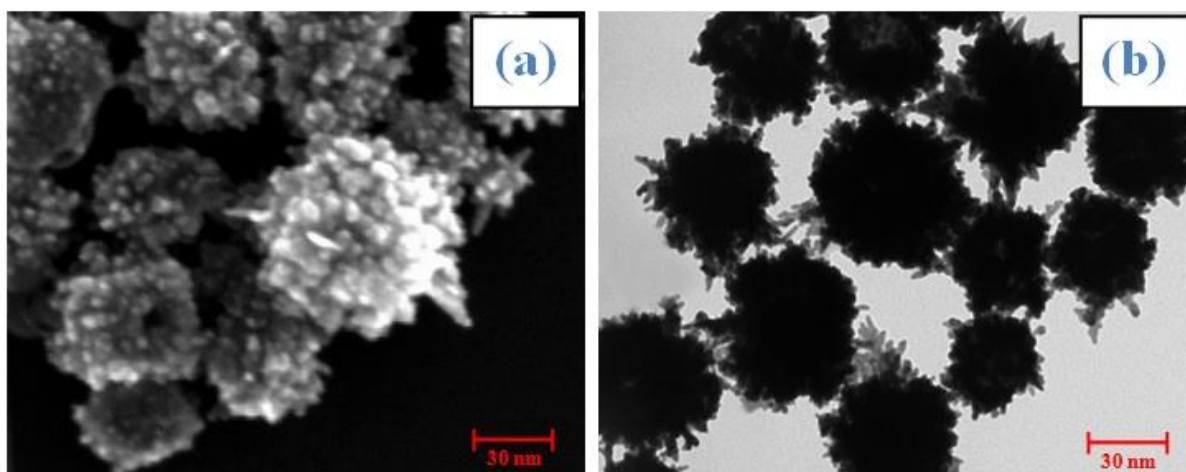


Рисунок 18. SEM (a) и TEM (b) изображения модифицированных AuMs

Полученные AuMs были модифицированы несколькими АДТ с целью изменения поверхностного заряда AuMs и введения новых функциональных групп. Модификацию поверхности наночастиц проводили взаимодействием свежеприготовленной суспензии AuMs с водными растворами ADT-NO₂, ADT-NH₂, ADT-COOH при комнатной температуре. После добавления раствора солей диазония в суспензию AuMs наблюдалось выделение азота, что мы связываем с успешным прохождением процесса модификации. Подтверждение прививки ОФГ на поверхность AuMs было проведено с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния и SEM-EDX. Результаты анализа SEM-EDX представлены на Рисунке 19.

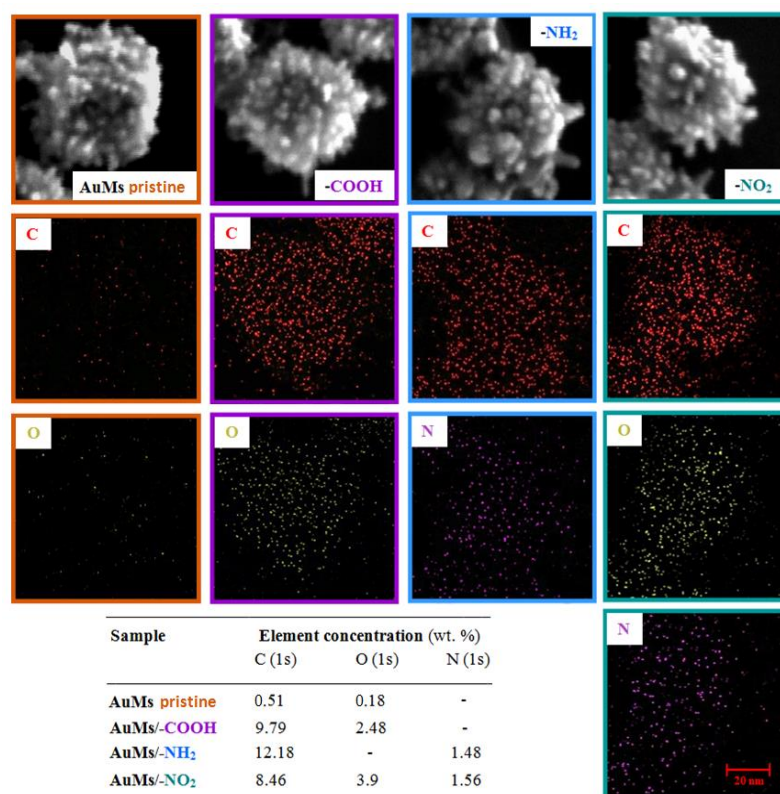


Рисунок 19. Данные SEM-EDX модифицированных AuMs. Концентрации органических элементов приведены в таблице.

Следует отметить, что на немодифицированных AuMs были обнаружены только незначительные концентрации органических элементов, обусловленные неспецифической сорбцией газов на поверхности. Данные SEM показывают, что после модификации не было обнаружено существенных изменений формы и размера AuMs (Рисунок 34). EDS-анализ подтвердил наличие ОФГ на поверхностях AuMs с пространственным распределением, коррелирующим с физическим положением AuMs на SEM-изображениях. Значения соотношения элементов коррелируют с составом привитых ОФГ.

Успешная прививка органических функциональных групп также была доказана методом Рамановской микроскопии (Рис. 20). Так как AuMs содержат большое количество «горячих» точек, ожидалось значительное усиление Рамановского сигнала.

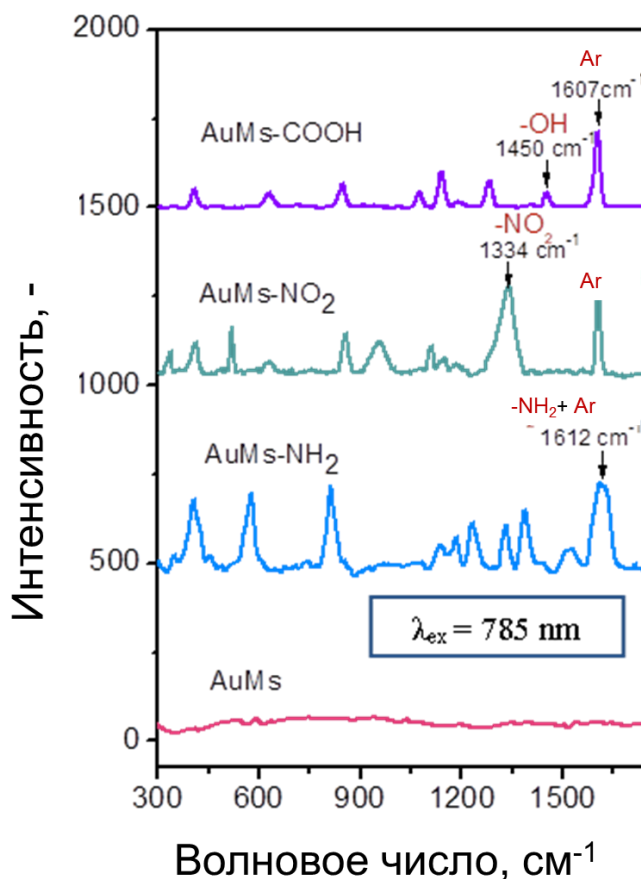


Рисунок 20. Рамановские спектры AuMs до и после модификации с использованием АДТ

Из рисунка 20 видно, что был получен отличный SERS ответ с хорошим отношением сигнал / шум. В частности, SERS спектры указывают на присутствие всех привитых ОФГ: 4-нитрофенильных ($-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 4-аминофенильных ($-\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$) и 4-карбоксифенильных ($-\text{C}_6\text{H}_4\text{COOH}$). Характерные полосы колебаний для всех привитых ОФГ соответствуют литературным данным [24, 174]. Следует также подчеркнуть, что дополнительный пик на 400 см^{-1} появляется для всех функционализированных AuMs и подтверждает образование ковалентной связи между ОФГ и золотом.

УФ-спектры немодифицированных и модифицированных наночастиц AuMs в водных растворах показаны на Рисунке 21:

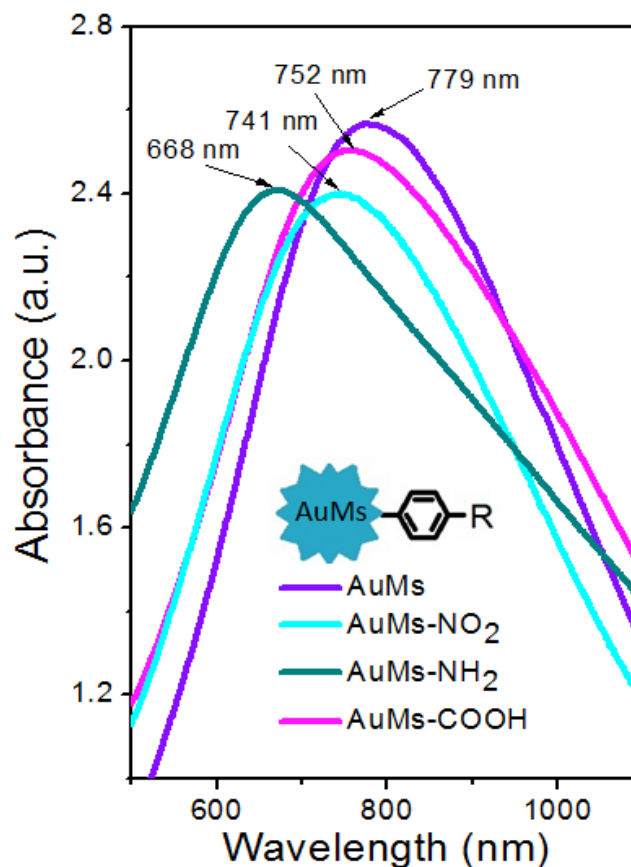


Рисунок 21. УФ-спектры немодифицированных и модифицированных с помощью АДТ AuMs

Максимум плазмонного резонанса немодифицированных НЧ находится на волновой длине 779 нм. В отличие от планарных пленок золота, максимум плазмонного резонанса смещается в сторону более низких длин волн после модификации, что связано с размером частиц и характером возбуждения плазмона.

Принимая во внимание широкую применимость НЧ золота в биомедицине как *in vivo* и *in vitro* средств для визуализации и анализа клеток, тканей и органов, интересным является применение модифицированных частиц [180, 181]. Нами было обнаружено, что полученные модифицированные AuMs обладают антимикробной активностью, меняющейся в зависимости от типа привитых ОФГ, а также факт усиления антимикробной активности под действием освещения с длинной волны,

соответствующей максимуму плазмонного резонанса. Результаты данных исследований изложены в приложении 1.

Разработанные методы ковалентной модификации тонких золотых пленок и наночастиц были использованы нами для разработки и создания сенсоров на основе плазмон-активных решеток золота (Раздел 2.2).

2.3 Дизайн сенсорных систем на основе плазмон-активных решеток золота.

Прививка специфических молекул/агентов для увеличения аффинитета к целевому аналиту является одним из фундаментальных аспектов для создания эффективных сенсорных систем и позволяют решить вышеупомянутые проблемы использования метода SERS [35]. Молекулы, увеличивающие аффинитет могут улучшить работу сенсора за счет следующих факторов: они предоставляют необходимую степень селективности, что приводит к прекоцентрированию аналита возле поверхности SERS-активного субстрата, что позволяет снизить минимальную определяемую концентрацию, также как и избавиться от необходимости очистки концентрированных образцов; также они способны упростить методологию использования сенсора или позволить использовать менее дорогостоящие субстраты; кроме того, существует возможность прививки сразу нескольких агентов для увеличения аффинитета, что позволит детектировать несколько целевых аналитов одновременно.

Модель SERS сенсора может быть представлена как схема, состоящая из 3 частей: плазмон-активная структура, которая является источником SERS сигнала; молекула линкер, которая позволит привить целевые молекулы для увеличения аффинитета к целевому аналиту и сами молекулы, отвечающие за молекулярное распознавание аналита (Рис. 22) [35].

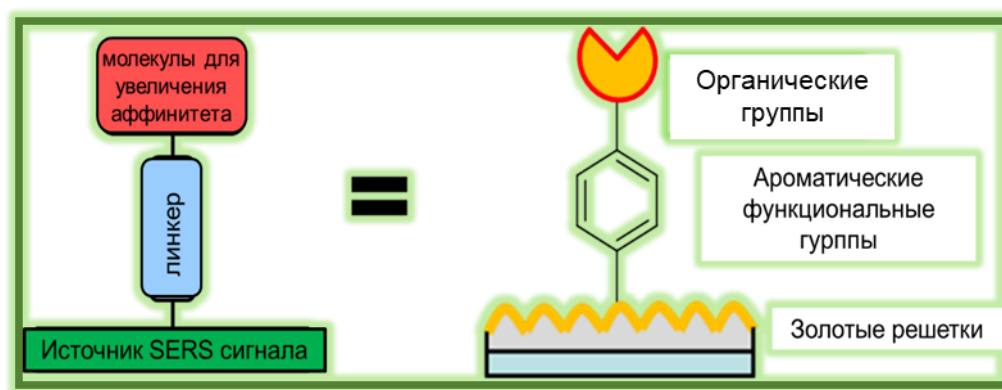


Рисунок 22. Принципиальная схема SERS сенсорной системы

Как было описано ранее, в качестве источника сигнала нами используются упорядоченные золотые решетки, способные к возбуждению поверхностного плазмон-поляритона. В качестве молекулы «линкера» нами были выбраны АДТ [165], использование которых позволяет прививать широкий ряд функциональных групп. Для получения на поверхности молекул для увеличения аффинитета к целевому аналиту в теории может быть осуществлен синтез АСД с целевыми лигандами. К сожалению, зачастую для создания эффективной сенсорной системы требуются довольно специфические молекулы и синтез таких производных не выгоден как экономически, так и с точки зрения временных затрат. Стоит отметить, что подход вторичных трансформаций к созданию сенсоров является предпочтительным, поэтому в данном разделе также будут описаны разработанные методы вторичной функционализации привитых на поверхность ОФГ.

2.3.1 Модификация липофильными солями диазония для обнаружения липидов и маркеров заболеваний

В качестве самого простого примера использования диазониевой модификации для создания сенсора нами были использованы АДТ с

алифатическими линейными заместителями различной длины. Предполагалось, что увеличение липофильности поверхности приведет к увеличению аффинитета сенсора к липофильным маркерам сердечно-сосудистых заболеваний (β -ситостерол и сквален [182]).

Другим важным вопросом, который должен быть решен во время разработки SERS сенсора, — это подход к модификации, спонтанный или под действием стимула [174]. Нами были апробированы два варианта модификации: спонтанная и электрохимическая прививка (Схема 22).

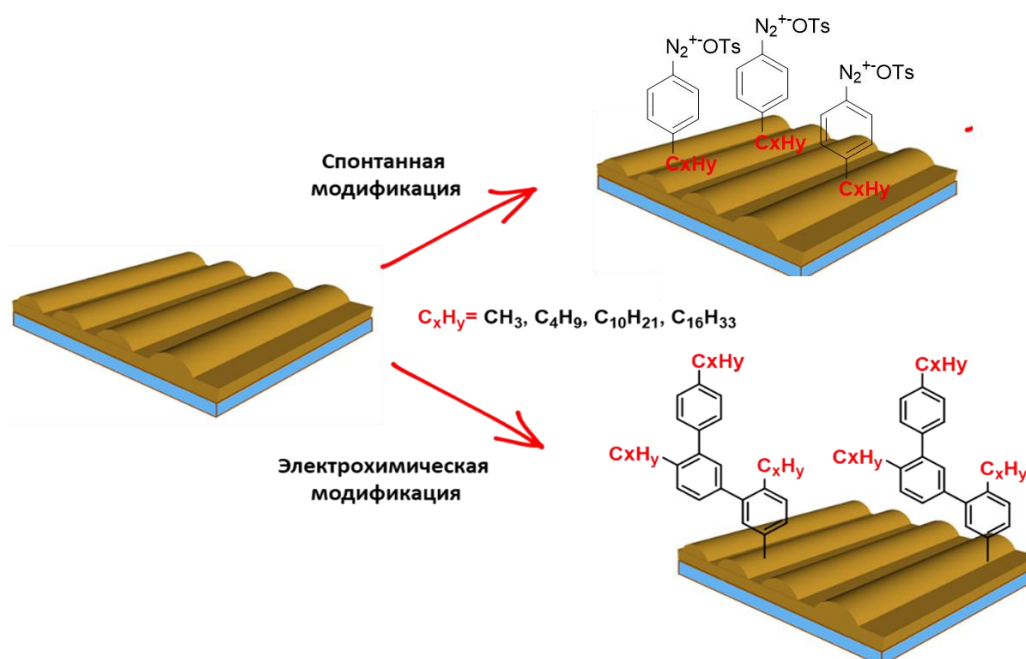


Схема 22. Схема спонтанной и электрохимической модификации золотых пленок с использованием АДТ с алифатическими хвостами

После снятия Рамановских спектров золотых решеток, модифицированных спонтанным методом, можно заметить, что АДТ адсорбируются на поверхности без образования ковалентной связи Au-C в диапазоне $400\text{--}450\text{ см}^{-1}$ [41, 42], что также подтверждается наличием полосы колебания, соответствующей связи $\text{N}\equiv\text{N}$ на $2200\text{--}2300\text{ см}^{-1}$ (Рис. 23).

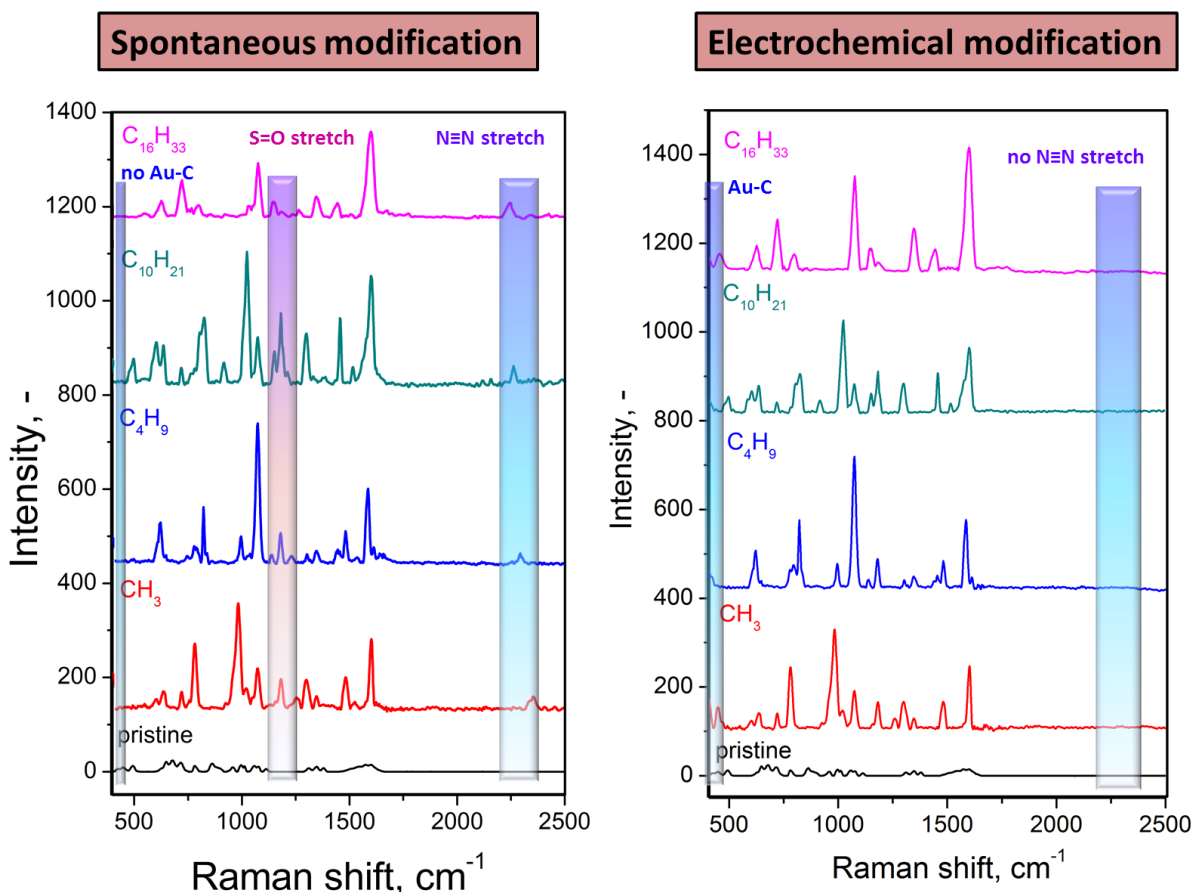


Рисунок 23. SERS-спектры золотых решеток, модифицированных ADT-CH₃, ADT-C₄H₉, ADT-C₁₀H₂₁, ADT-C₁₆H₃₃, спонтанно (слева) и электрохимически (справа)

Мы предполагаем, что при спонтанной модификации наблюдается образование смешанного слоя, сочетающего в себе как ковалентную прививку диазониевых солей, так и неспецифическую сорбцию диазониевых солей за счет липофильных фрагментов (рисунок 23).

Однако, в случае электрохимической модификации, наблюдалось появление связей Au-C и исчезновение связи N≡N (согласно Рамановским спектрам). Кроме того, измерения угла смачиваемости показали, что в случае спонтанной модификации разница угла контакта между не модифицированным золотом и модифицированным даже с использованием ADT-C₁₆H₃₃ не превышала 10 ° (Рис. 24).

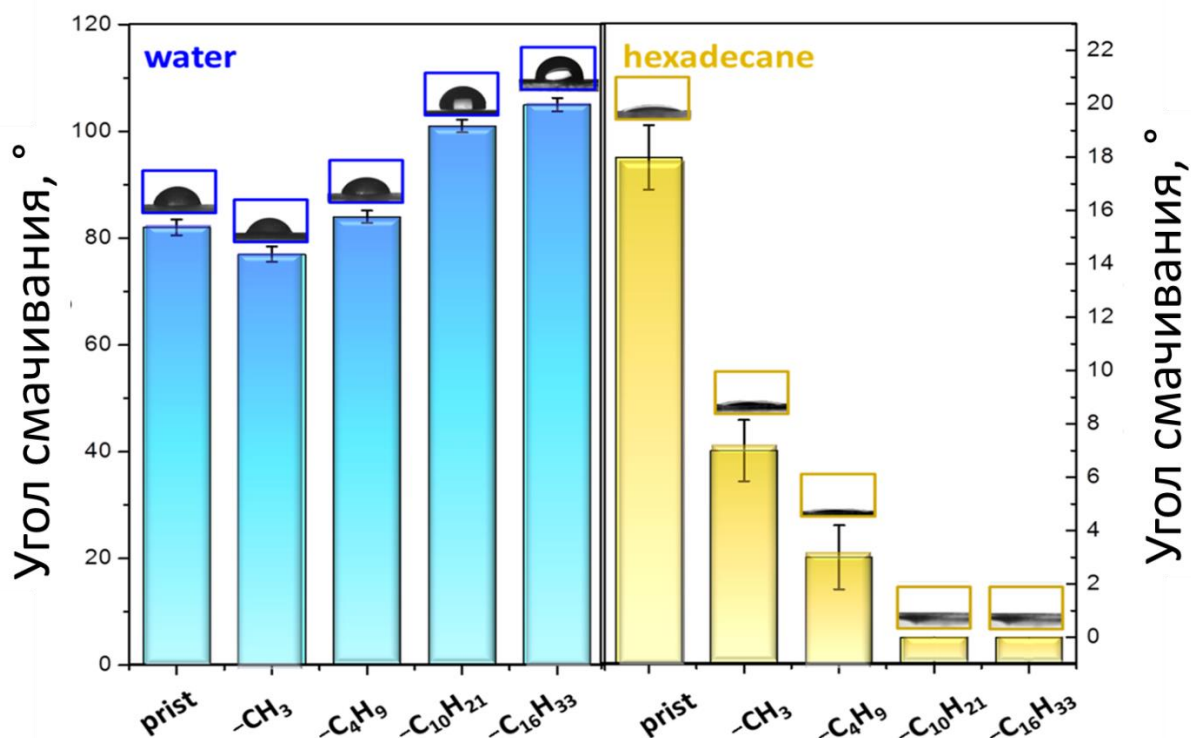


Рисунок 24. Угол смачивания воды и гексадекана на золотых решетках, модифицированных ADT-CH₃, ADT-C₄H₉, ADT-C₁₀H₂₁, ADT-C₁₆H₃₃

Напротив, после электрохимической модификации мы наблюдали постепенное увеличение угла контакта с ростом углеродной цепи в структуре ОФГ до 103 °. Поэтому для детектирования липофильных соединений был выбран электрохимический метод модификации.

Подтверждение пришивки ОФГ проводилось путем снятия XPS спектров с золотых решеток до и после diazonиевой модификации. Изменения поверхностной концентрации элементов после прививки функциональных групп являются прямым доказательством наличия алкилфенильных групп на поверхности. Как видно из результатов XPS, представленных в Таблице 4, можно сделать вывод о том, что концентрация углерода постепенно увеличивается с удлинением алифатической цепи в структуре АДТ. Так, модификация с использованием ADT-CH₃ приводит к увеличению концентрации на 53.5 % одновременно с падением пика золота (Таблица 3, строка 2).

Таблица 4. Поверхностная концентрации элементов, рассчитанная по результатам исследования XPS для золотых решеток, модифицированных липофильными АДТ

№	Образец	Поверхностная относительная концентрации элементов (at. %)		
		C	N	Au
1	немодифицированный	32.9	-	67.1
2	-CH ₃	90.4	4.1	5.5
3	-C ₄ H ₉	97.7	2.2	0.1
4	-C ₁₀ H ₂₁	98.7	1.3	-
5	-C ₁₆ H ₃₃	98.8	1.2	-

Еще более значительный рост концентрации углерода был обнаружен после использования АДТ-C₄H₉ (Таблица 4, строка 3), причем концентрация золота падала до пределов обнаружения метода XPS. Дальнейшая прививка АДТ-C₁₀H₂₁ и АДТ-C₁₆H₃₃ приводит к почти одинаковым значениям концентрации углерода, в то время как пик золота исчезает (Таблица 4, строки 4,5). Процедура модификации также приводит к появлению пиков азота, что связано с образованием азо-мостиков [37]. Почти одинаковые концентрации углерода и отношения C/N в случаях использования АДТ-C₁₀H₂₁ и АДТ-C₁₆H₃₃ указывают на то, что длинные углеродные цепи частично блокируют рост многослойной органической пленки.

После проведения электрохимической модификации, результаты Рамановской спектроскопии (рисунок 23) показывают появление основных характеристических пиков для ароматического кольца в областях 1580-1600, 990-1090, 510-710 см⁻¹ и алифатических цепей 1355-1400, 1050-1070, 720-860 см⁻¹. Была обнаружено, что с увеличением длины алифатической цепи увеличивается интенсивность пиков СН, СН₂, СН₃ (730-770 и 1300-1400 см⁻¹), в то время как интенсивность пиков, ответственных за ароматическое кольцо остается практически постоянной. Также Рамановский сигнал на 400-450 см⁻¹ подтверждает образование ковалентной связи Au-C [41, 42].

Измерения наномеханических свойств были проведены методом AFM для оценки морфологии поверхности. Морфология немодифицированных и модифицированных решеток представлена на Рисунке 25.

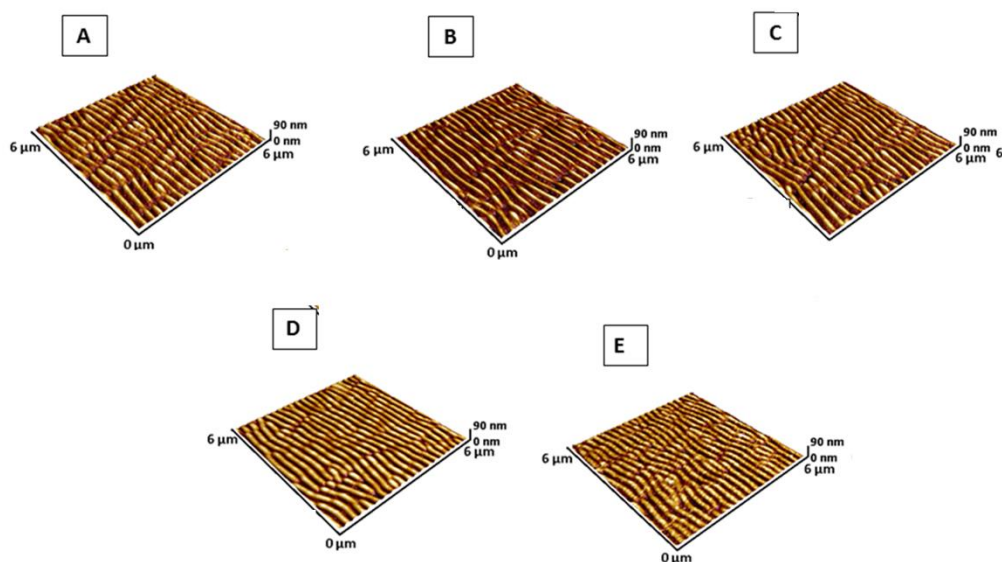


Рисунок 25. AFM-измерения A – немодифицированной решетки и после прививки B - ADT-CH₃, C - ADT-C₄H₉, D - C₁₀H₂₁, E - C₁₆H₃₃

Немодифицированная золотая решетка представляет собой хорошо упорядоченную периодическую структуру с параметрами, подходящими для эффективного возбуждения и распространения ППП на 785 нм. Электрохимическая модификации ADT-CH₃ золота практически не влияла на морфологию поверхности решетки. В этом случае взаимодействие с β -ситостеролом также не оказывало существенного влияния на морфологию поверхности. Аналогично, после прививки ADT-C₄H₉ изменений в морфологии поверхности практически не наблюдалось, но дальнейшее взаимодействие функционализированного субстрата SERS с раствором β -ситостерола привело к небольшому изменению морфологии поверхности - решетка стала более размытой.

Модификация ADT-C₁₀H₂₁ и ADT-C₁₆H₃₃ оказала более значительное влияние на морфологию поверхности (рис. 25). Кроме того, после взаимодействия этих образцов с раствором аналита, появляются

дополнительные особенности структуры, свидетельствующие о видимом захвате целевых молекул. Кроме того, в случае прививки ADT-C₁₆H₃₃ также наблюдались очевидные изменения амплитуды решетки, которые могут негативно влиять на возбуждение ППП [162].

Поверхностные функциональные свойства были протестированы с целью оценки возможного взаимодействия модифицированной поверхности SERS сенсора с целевыми липофильными соединениями. Нами были получены значения угла смачиваемости с использованием полярной воды и липофильного гексадекана (Рис. 24). В случае использования воды наблюдались незначительные изменения: постепенный рост угла смачиваемости после прививки ADT-C₄H₉, ADT-C₁₀H₂₁ и ADT-C₁₆H₃₃.

Более выраженные изменения свойств поверхности наблюдались в случае использования гексадекана. Не модифицированные золотые решетки показывают умеренную липофильную природу – угол смачиваемости 98°.

Однако, даже после прививки самой короткой алифатической цепи угол смачивания уменьшился на 7°. Дальнейшее увеличение длины углеродных цепей приводит к уменьшению СА приблизительно до 30 ° в случае ADT - C₄H₉ и до 0 ° для функциональных групп ADT -C₁₀H₂₁ и ADT -C₁₆H₃₃. Можно сделать вывод, что модификация золотых решеток липофильными АДТ приводит к образованию суперолеофильных поверхностей.

В качестве модельных аналитов нами были выбраны липофильные маркеры развития гипергликемии и диабета 2 типа: β-ситостерол и сквален [182, 183].

SERS детектирование β-ситостерола и сквалена с использованием модифицированных решеток

После исследований поверхностных свойств, нами была оценена возможность использования липофильных решеток для детектирования целевых аналитов: β-ситостерола и сквалена. Предварительная оценка SERS спектров показала, что наибольшим потенциалом обладают золотые решетки,

модифицированные ADT- C_4H_9 и ADT- $C_{10}H_{21}$. Результаты SERS детектирования β -ситостерола модифицированными субстратами (ADT- C_4H_9 и ADT- $C_{10}H_{21}$) в диапазоне концентраций 10 мкМ - 5 мМ представлены на Рисунке 26.

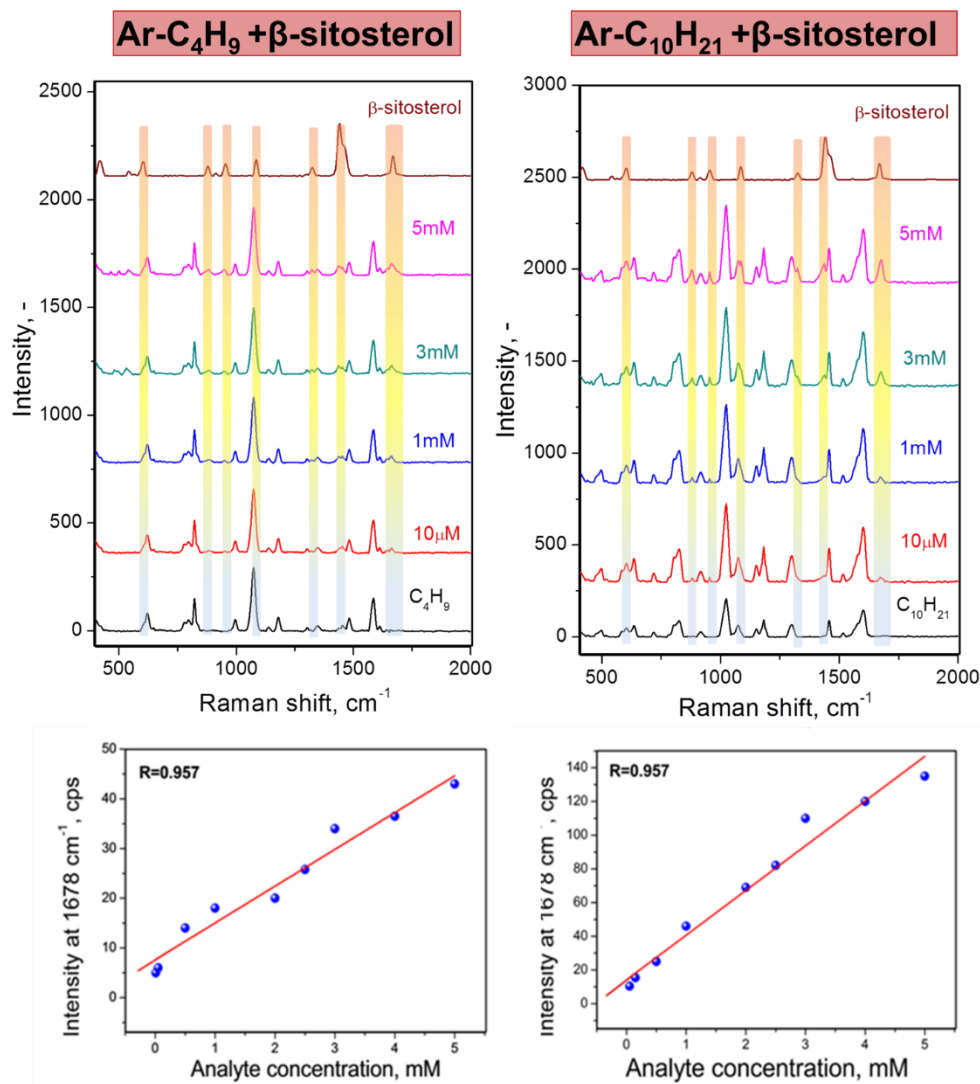


Рисунок 26. Определение β -ситостерола в различных концентрациях на решетках, модифицированных ADT- C_4H_9 (слева) и ADT- $C_{10}H_{21}$ (справа), и соответствующие зависимости интенсивности SERS пика от концентрации аналита.

Сравнение SERS спектров модифицированных решеток со спектром β -ситостерола выявило перекрывание некоторых Рамановских сигналов, поэтому далее они использованы не были. Неперекрывающиеся пики были выбраны в качестве характеристичных для количественного определения β -

ситостерола. Из сравнения левой и правой части Рисунка 44 (слева) видно, что идентификация пиков характерных для β -ситостерола осуществляется более простым образом в случае SERS субстрата модифицированного ADT- $C_{10}H_{21}$. В этом случае характерные пики, расположенные на 602 см^{-1} (C-O-H деформации, CH_2 маятниковые колебания); 880 см^{-1} (CH_2 колебания, =CH внеплоскостные деформации); 955 см^{-1} (колебания ароматического кольца); 1090 см^{-1} (колебания C-O); 1324 см^{-1} (CH_3 симм деформации); 1440 см^{-1} (CH_2 ножничные вибрации, OH колебания); 1678 см^{-1} (C=C колебания) ясно визуализируются даже в случае низкой концентрации аналита.

Менее информативные результаты были получены в случае использования ADT- C_4H_9 – было возможно установить только присутствие аналита в высоких концентрациях. Нижняя часть Рисунка 26 показывает зависимость интенсивности Рамановского сигнала от концентрации аналита. Линейная зависимость интенсивности пика от абсолютного значения концентрации наблюдалась в случае обеих поверхностей, и анализируемые вещества хорошо обнаруживались до концентраций 10 мкМ. Согласно медицинским исследованиям маркеров холестерина, такие молекулы, как β -ситостерол и сквален, представлены в микромолярных концентрациях в организме человека, и повышение их уровня может указывать на патологию метаболизма холестерина [182, 184].

Подобная процедура детектирования была применена для апробации детектирования сквалена на модифицированных решетках (рисунок 27).

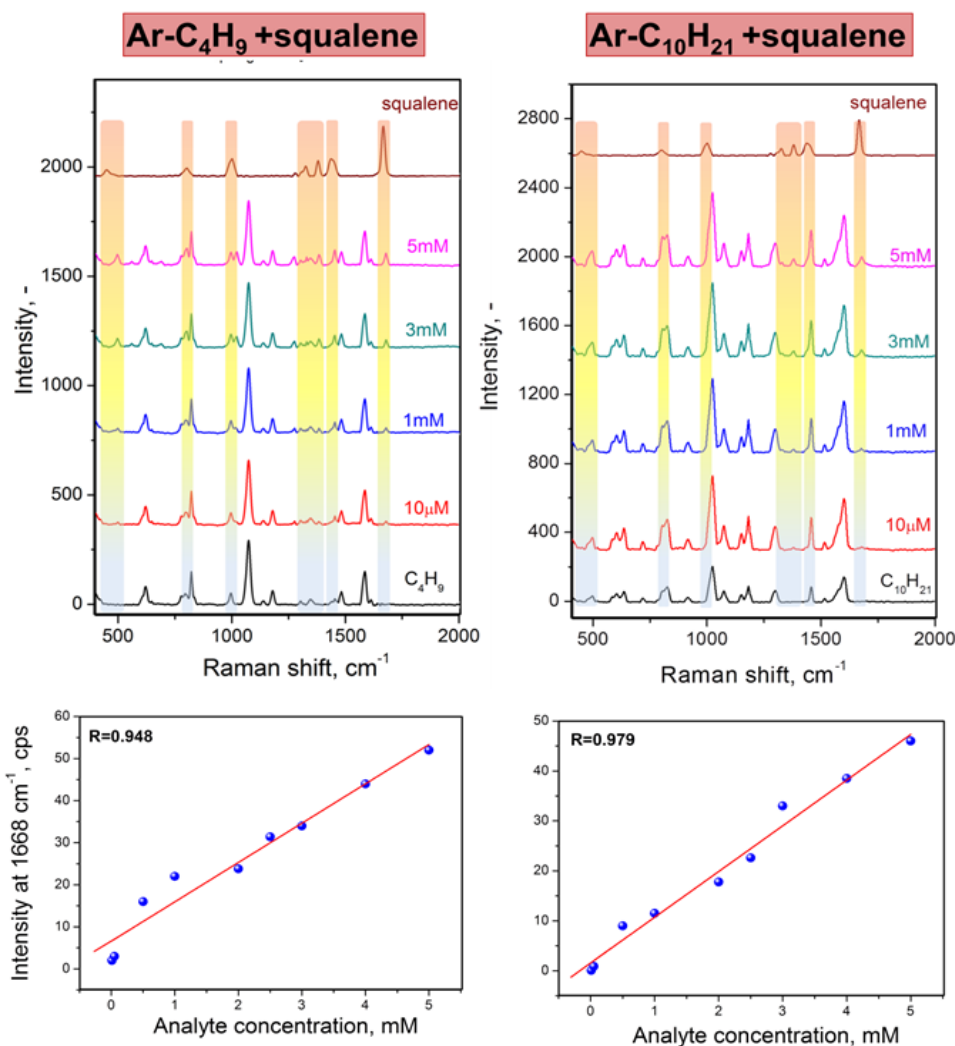


Рисунок 27. Определение сквалена в различных концентрациях на решетках, модифицированных ADT-C₄H₉ (слева) и ADT-C₁₀H₂₁ (справа), и соответствующие зависимости интенсивности SERS пика от концентрации аналита.

Сравнение Рамановских спектров показывает, что сквален также имеет несколько характеристичных сигналов, положение которых отличается от пиков модифицированных решеток и которые могут служить в качестве маркерных сигналов для количественного детектирования. В частности, пики на 448 см⁻¹ (деформации углеродной цепи); 802 см⁻¹ (CH внеплоскостные деформации, CH₂ маятниковые); 995 см⁻¹ (C=CH деформации); 1380 см⁻¹ (CH₃ симм деформации); 1436 см⁻¹ (CH₂ ножничные, CH₃ несимм деформации); 1668 см⁻¹ (C=C колебания). Тщательный анализ SERS-спектров сквалена

показывает, что оба субстрата пригодны для его распознавания. Зависимость интенсивностей пиков от концентрации сквалена в аналитическом растворе представлена в нижней части Рисунка 27. В обоих случаях наблюдалось линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации.

Для использования SERS-сенсоров в аналитических исследованиях они должны обеспечить детекцию определяемого компонента с высокой степенью воспроизводимостью (Рисунок 28).

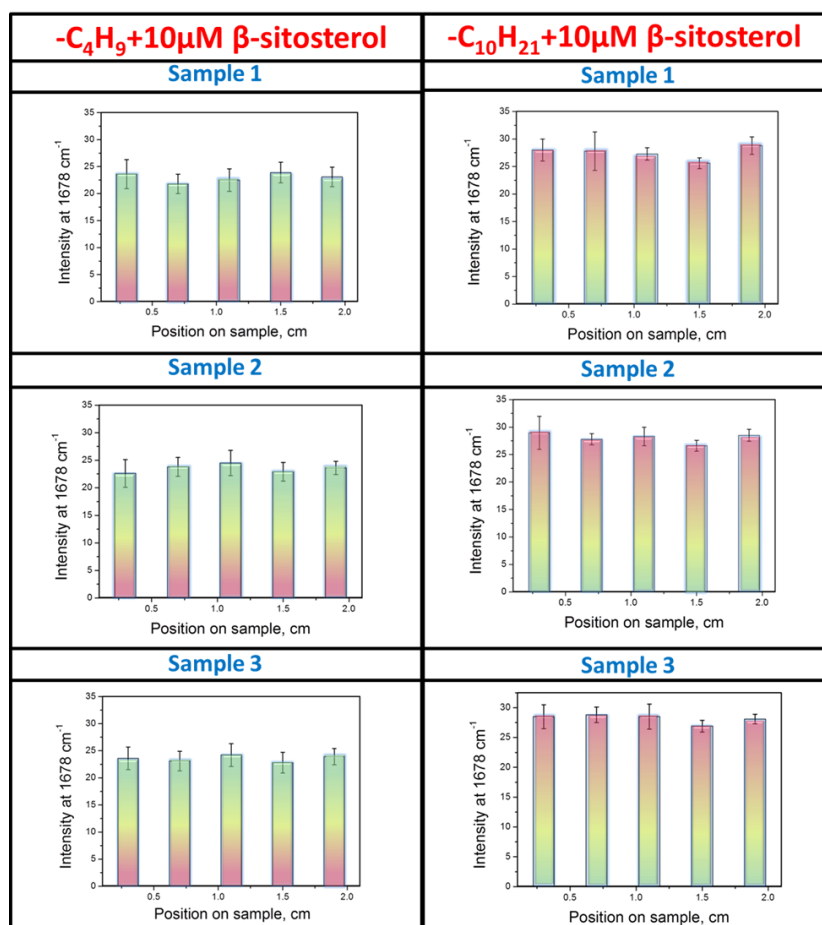


Рисунок 28. Исследование воспроизводимости SERS сигнала на функционализированных решетках (с помощью ADT-C₄H₉ и ADT-C₁₀H₂₁) при детектировании β-ситостерола: изменение интенсивности пика 1678 см⁻¹ (C = C) вдоль поверхности образца и между разными образцами.

Для оценки воспроизводимости использовали тестовую статистику Кохрена, используя данные опытов, полученных в соответствии с методикой, описанной в экспериментальной части диссертации. SERS измерения

проводились на 5 линиях на одном образце, где сигнал снимался в пяти точках вдоль каждой линии (Табл.5)

Таблица 5. Результаты тестовой статистики Кохрена

Интенсивность 10μМ β- ситостерола на 1678 см ⁻¹	ADT-C ₁₀ H ₂₁			ADT-C ₄ H ₉		
	Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 1	Образец 2	Образец 3
	28,9	22,6	23,6	28	29,0	28,5
	27,8	23,8	23,1	27,8	27,8	28,8
	28,3	24,5	24,2	27,3	28,3	28,5
	26,6	22,9	22,8	25,6	26,6	26,9
	28,5	23,6	23,9	28,8	28,5	28,1
СКО, %	3,238	2,268	1,308	5,68	3,238	2,232
S_i^2	0,809	0,56	0,32	1,4	0,809	0,55
S1 _г , %	0,75			0,96		
S1 _г , %	2,72			1,03		
G _{набл.} (n=5, p=0,95)	0,316					

В случае β-ситостерола в качестве маркера был выбран пик на 1678 см⁻¹, и было измерено его отклонение по всей активной области субстрата (Рис. 28).

Для совокупности из 6 стандартных отклонений S_i^2 , рассчитанных исходя из 5 результатов исследований 6 образцов должно выполняться условие $G_{набл.} \leq G_{табл.}$ ($G_{набл.}$ значение критерия Кохрена, полученное по результатам наблюдений и $G_{табл.}$ табличные значения критерия Кохрена).

Сравнив полученное при расчете значение критерия Кохрена с критическим (табличным) можно сделать вывод, что все измерения обеспечивают одинаковую воспроизводимость результатов.

Подводя итог данному разделу диссертационного исследования можно с уверенностью утверждать, что модификация поверхности золотых решеток специфическими функциональными группами приводит к увеличению чувствительности сенсора в широких пределах концентраций. Однако, для дальнейшего развития данной технологии необходима разработка методов трансформации функциональных групп на поверхности с целью придания аффинитета к нужным анализам.

2.3.2 Дизайн SERS платформы на основе модифицированных плазмон-активных золотых решеток с помощью реакций ацилирования

Как было отмечено ранее вторичные трансформации поверхностных функциональных групп является одним из приоритетных методов для создания эффективных сенсорных систем. На наш взгляд, наиболее эффективными с точки зрения вторичных трансформаций являются $-\text{COOH}$ и $-\text{NH}_2$ группы, иммобилизованные на поверхности. Простота образования амидных связей с использованием современных методов органического синтеза, равно как и коммерческая доступность основных реагентов для их образования, делают данные группы практически универсальными субстратами для дальнейшего дизайна сенсорных систем.

Одним из удобных методов трансформации поверхностных групп является карбодиимидная активация карбоксильной группы с последующим взаимодействием с аминами или NHS-эфирами (Схема 23) [185, 186]. Карбодиимидные соединения являются наиболее популярными и универсальными реагентами для сочетания с карбоновыми кислотами. Наиболее легкодоступными и часто используемыми карбодиимидами являются водорастворимые EDC для использования в водных средах и нерастворимые в воде DCC для органических растворителей.

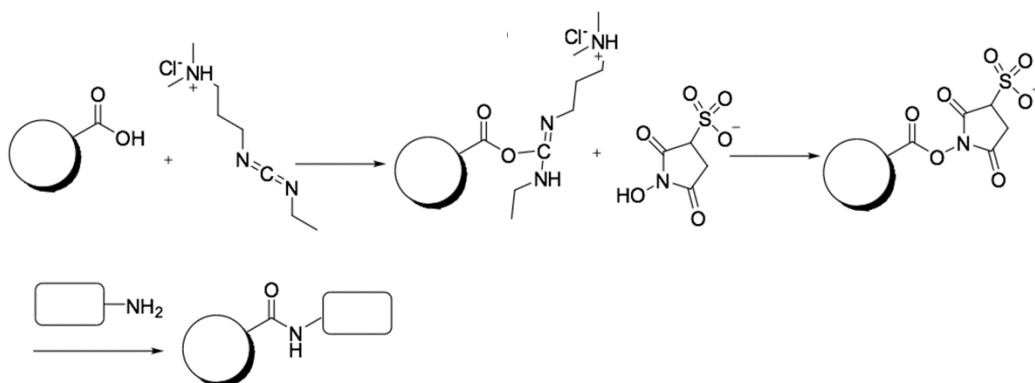


Схема 23. Механизм реакции сочетания с использованием EDC с образованием амидов

Ранее нами были разработаны методы ковалентной модификации тонких пленок с использованием 4-амино- и 4-карбоксибензолдиазоний тозилатов [174]. Мы решили использовать данные подходы и для функционализации золотых решеток.

Постановка задач и обоснования выбора функциональных групп

Опасности, связанные с присутствием загрязнителей окружающей среде [187], представляют собой одну из наиболее важных проблем безопасности и здравоохранения здоровья человека. Поэтому, на сегодняшний день чрезвычайно актуальным является разработка методов обнаружения различного рода загрязнителей окружающей среды, которые условно можно разделить на органические и неорганические [188]. Анализ современной литературы позволил разработать несколько умозрительных концепций для дизайна SERS-сенсоров для выявления важнейших техногенных и биогенных аналитов:

1. Самыми распространёнными из неорганических являются ионы тяжелых металлов, которые могут накапливаться в организме человека, поэтому их обнаружение следует проводить как в окружающей среде, так и в биологических пробах. Большинство функционализированных SERS субстратов для обнаружения ионов тяжелых металлов основаны на гибридизации длинноцепочечных ДНК и использовании флуоресцентных меток, где SERS сигнал фиксируется от нескольких молекул, что делает сложным интерпретацию спектров [189]. Нами было предложено использование диэтилентриаминпентауксусной кислоты (ДТПА) в качестве лиганда для захвата ионов металлов благодаря ее высокому сродству и большим константам стабильности получающихся комплексов [190]. Также предполагалось, что в зависимости от радиуса / молекулярной массы захваченных ионов можно ожидать различных изменений сигнала от ДТПА (подобное явление наблюдалось, например, в [191]).

2. Одним из опасных органических загрязнителей являются водорастворимые азо-красители, использование которых запрещено в большинстве европейских стран из-за угрозы здоровью человека [192]. Привлекательным вариантом для создания SERS сенсора для определения красителей является использование прививки молекул, способных реагировать на внешние стимулы с изменением структуры или конформации молекулы. Одним из наиболее распространённых «умных» полимеров является поли(N-изопропилакриламид) (PNIPAm), обладающий температурно-зависимым изменением конформаций, которое уже широко используется в качестве ключевого компонента в области «умных» материалов [193]. Особенно привлекательным для плазмоники является тот факт, что фазовый переход PNIPAm может быть использован для захвата молекул красителей. Мы предположили, что описанная особенность PNIPAm может быть использована для захвата и обнаружения запрещенных азо-красителей.

3. Не менее остро стоит проблема разработки быстрых и чувствительных методов обнаружения биомаркеров заболевания [194]. Особенно стоит выделить необходимость высокочувствительного и селективного обнаружения специфических последовательностей ДНК для клинической диагностики, мониторинга окружающей среды и пищевых продуктов [195]. Распознавание ДНК необходимо для диагностики инфекции и мониторинга наследственных заболеваний. Большинство SERS методов для обнаружения ДНК имеют дело с агрегированными металлическими наночастицами, что снижает воспроизводимость, селективность и точность результатов [196]. Нами было предложено скомбинировать преимущества упорядоченных решеток и поверхностную модификацию с использованием короткоцепочечных олигонуклеотидов, привитых ковалентно. Предполагается, что на привитых нуклеотидах будет происходить

гибридизация с целевыми комплиментарными и некомплементарными олигонуклеотидами, что, в свою очередь, может быть зафиксировано SERS.

4. Другим важным вопросом является валидация лекарственных средств и определение нежелательных примесей в их составе [197]. Одним из принципиальных вопросов в данной области является распознавание энантиомеров. Стоит отметить, что для метода SERS хиральное детектирование только начинает развиваться и на сегодняшний день существует ограниченное количество работ, посвящённых данной области. Циклодекстрины [198], гомохиральные металлоорганические каркасы [199] или п-аминобензолтиол [200] и пара-меркаптопиридин [201] были описаны в качестве хиральных распознающих фрагментов привитых к плазмон-активному субстрату. Однако, большинство из этих сенсорных систем SERS могут применяться для анализа ограниченного числа аналитов, что ограничивает возможность использования хиральной дискриминации на основе SERS. Мы предлагаем использовать простую сенсорную систему на основе L и D энантиомеров винной кислоты, которые будут способны энантиоселективно захватывать широкий ряд хиральных аминов, что позволит существенно расширить применимость SERS.

Все вышеперечисленные функциональные группы могут быть привиты к поверхности с использованием реакций ацилирования к соответствующим -COOH или -NH₂ группам. Следующий раздел будет посвящен дизайну и апробации SERS-сенсоров с привитыми функциональными группами для специфического детектирования различных аналитов.

Разработка методики создания сенсоров и исследование структуры поверхности сенсоров

Как было описано выше, нами были выбраны следующие агенты для увеличения аффинитета к целевым аналитам: полимер PNIPAm для детектирования азо-красителей, короткоцепочечные олигонуклеотиды- для определения степени комплиментарности ДНК; хелатирующая группа ДТПА

– для определения ионов тяжелых металлов и L, D энантиомеры винной кислоты - для валидации лекарственных средств. Далее будут описаны разработанные подходы и методы поверхностной химии, которые были использованы для получения целевых сенсорных систем.

Для получения сенсорных систем, содержащих на поверхности PNIPAm и олигонуклеотиды решетки золота, были промодифицированы ADT-COOH. Вторичная модификация карбоксильных групп на поверхности проводилась с использованием соответствующих NH_2 -производных PNIPAm и короткоцепочечного олигонуклеотида ($5' \text{-NH}_2(\text{CH})_6 \text{-5'}$ -CGCCAATACGACCAAATCCG-3') согласно схеме, представленной на схеме 24.

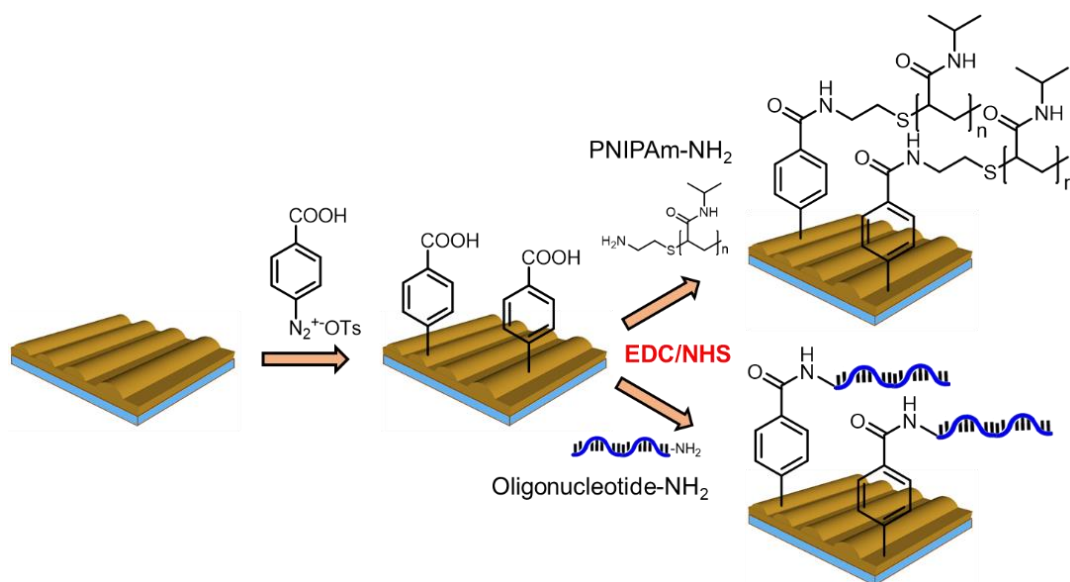


Схема 24. Схема получения сенсорных систем, содержащих на поверхности PNIPAm и олигонуклеотиды

Реакция проводилась путем погружения модифицированных решеток золота на 20 минут в 0.5 mM раствор EDC и 1.25 mM Sulfo-NHS-SO₃Na, смешанных в объемном соотношении 1:1. После этого, образец промывался MES буфером и водой и погружался в раствор соответствующего амина в PBS буфере. После чего, производилась повторная промывка образца с использованием PBS и воды, образцы высушивались и анализировались.

Для иммобилизации остатков органических кислот (ДТПА и энантиомеров винной кислоты) нами была предварительно проведена модификация поверхности решеток ADT-NH₂. Вторичная трансформация активных групп проводилась с использованием ангидрида ДТПА и NHS-эфира винной кислоты, полученным *in situ*.

Для прививки L- или D-винной кислоты, кислоты были активированы с помощью EDC/NHS (мольное соотношение карбоксильной группы в винной кислоте, EDC и NHS составляет 0,75: 1: 2,5). Затем pH раствора повысили до pH = 7,2 и в этот раствор погружали золотые решетки с привитыми 4-аминофенильными группами на 2 ч. После прививки модифицированные решетки промывали PBS, раствором соляной кислоты (pH ≈ 5,5), водой и высушивали (Схема 25). Далее полученные образцы обозначались как Au-L-TA и Au-D-TA.

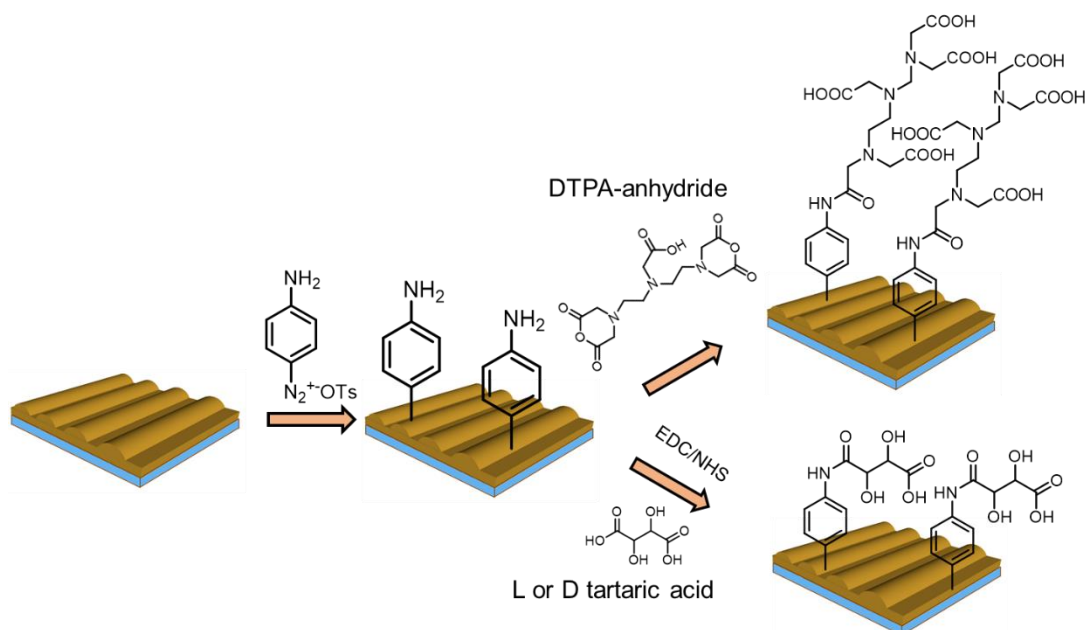


Схема 25. Схема получения сенсорных систем, содержащих молекулы винной кислоты и ДТПА

Для прививки ДТПА, золотые решетки с привитыми 4-аминофенильными группами обрабатывались раствором ДТПА ангидрида в

ДМФ в присутствии Et_3N и промывались чистым ДМФ, ацетоном и высушивались. Далее полученные образцы обозначались Au-ДТПА

Для подтверждения успешной прививки ОФГ, полученные образцы модифицированных решеток изучались методами XPS, Рамановской спектроскопии и AFM.

Элементный состав на поверхности золотых решеток исследовался методом XPS, результаты измерений представлены в Таблице 6.

Таблица 6. Поверхностная концентрации элементов, рассчитанная по результатам исследования XPS для золотых решеток, модифицированных различными АДТ и после вторичной функционализации

		Поверхностная концентрация элементов (ат. %)			
		C	O	Au	N
1	Au	28.6	4.3	61.7	-
2	Au-COOH	42.3	19.6	38.1	-
3	Au-PNIPAM	69.8	21.5	2.42	6.28
4	Au-DNA	59.2	5.8	27.3	7.7
5	Au-NH ₂	50.6	15.3	28.3	5.8
6	Au-DTPA	61.2	19.8	17.7	1.2
7	Au-L-TA	77.4	16.5	5.5	0.6
8	Au-D-TA	77.4	16.5	5.5	0.6

Как отмечалось ранее, на исходных образцах наблюдалось присутствие следовых количеств углерода и кислорода (Рис. 29), указывающий на несовершенство металлических пленок, что типично для субстратов, полученных методом магнетронного напыления [175].

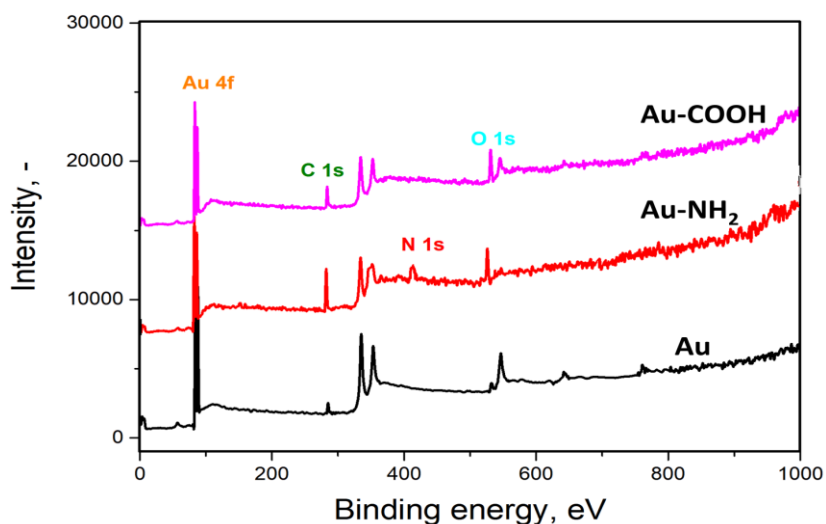


Рисунок 29. XPS спектры золотых решеток, модифицированных ADT-COOH, ADT-NH₂

После проведения процессов модификации солями диазония мы наблюдали увеличение пика углерода C1s (287.5 эВ), одновременно с уменьшением пиков золота Au4f (84.3 эВ), что свидетельствует о росте органического слоя на поверхности золота. После модификации золота с использованием ADT-COOH, наблюдалось увеличение пика кислорода O1s (523 эВ) на 15.3% (Рисунок 51А) (Таблица 5, строка 2). Кроме того, по затуханию сигнала Au4f нами была рассчитана толщина привитого 4-карбоксифениленового слоя, которая составила 3.1 нм (что соответствует приблизительно 4.2 молекулы).

В случае прививки ADT-NH₂, наблюдалось появление пика азота N1s на 400 эВ (Рис. 30). Таким же образом, как и в случае модификации ADT-COOH, по затуханию сигнала Au4f нами была рассчитана толщина привитого 4-аминофениленового слоя, которая составила 1.8 нм (что приблизительно составляет ≈ 1.3 молекул) (Таблица 5, строка 5). Разница в толщинах привитых функциональных групп может быть объяснена акцепторной природой карбоксильной группы, входящей в состав АДТ, что способствует образованию полифениленового слоя.

Далее, образцы Au-COOH вводились в реакцию с соответствующими amino-производными PNIPAm и олигонуклеотидов через образование NHS-эфиров на поверхности. Так, после прививки PNIPAm и ДНК наблюдалось появление пика N1s с концентрациями 6.6 % в случае полимера и 7.8 % для ДНК (Таблица 5, строки 3,4). Стоит отметить, что соотношение элементов в привитых функциональных группах соответствует элементному составу привитых ОФГ (Рис. 30).

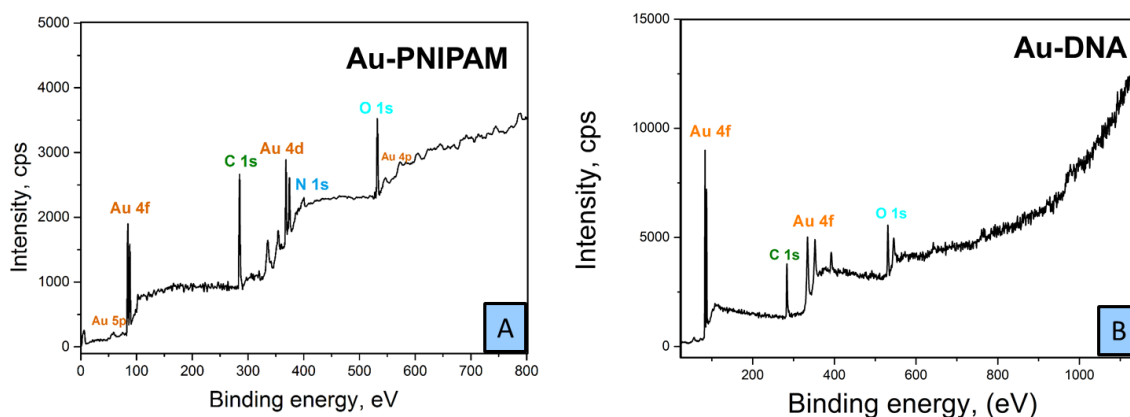


Рисунок 30. XPS спектры золотых решеток, модифицированных ADT-COOH, после прививки PNIPAM и олигонуклеотидов

Аналогичная картина наблюдалась и при вторичной функционализации Au-NH₂. Мы наблюдали увеличение концентрации элементов, входящих в состав лигандов: углерода на 10.6% для ДТПА и на 26.8 для винной кислоты; кислорода на 4.5% для ДТПА и на 0.9% для винной кислоты (Рис. 31) (Таблица 5, строки 6-8).

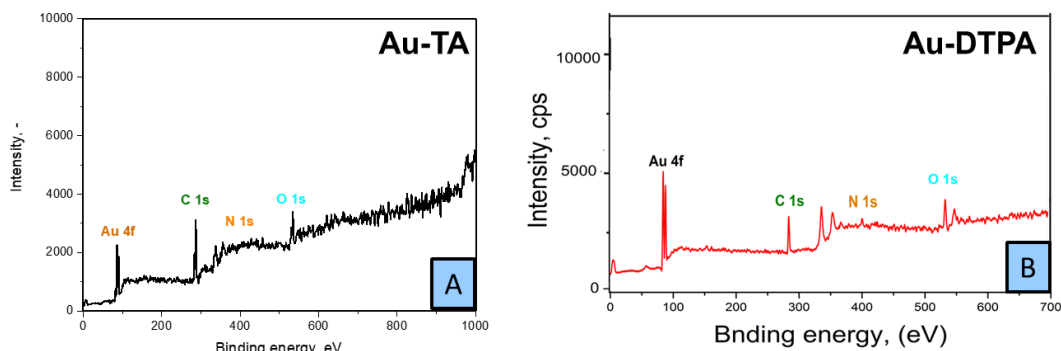


Рисунок 31. XPS спектры золотых решеток, модифицированных ADT-NH₂ после прививки винной кислоты и ДТПА

Не менее важным методом для подтверждения поверхностной модификации плазмон-активных субстратов являются спектроскопические исследования, позволяющие оценить конверсию функциональных групп. На SERS спектрах, представленных на Рис. 32 исходная золотая решетка не имеет ярко выраженных сигналов, в то время как после diazonиевой модификации наблюдается появление пиков, характерных для 4-карбоксифенильных и 4-аминофенильных функциональных групп, схожее с описанным выше в разделе 2.2. Так после модификации с использованием ADT-COOH появляются SERS сигналы: 1682 см⁻¹ (C=O), 1597 см⁻¹ (Ar), 1456 см⁻¹ (OH), 1290, 1182, 1014 см⁻¹ (Ar), 800 см⁻¹ (C-H), 626 см⁻¹ (O-C=O), 490 см⁻¹ (Ar). 416 см⁻¹ (Au-C) подтверждающие успешность модификации. Похожим образом SERS указывает на присутствие видимых пиков бензольного кольца и амино-группы после прививки ADT-NH₂: 1625 см⁻¹ (NH₂), 1180 см⁻¹, (C-N) and 625, 820, 1525, 1380 см⁻¹ (Ar) .

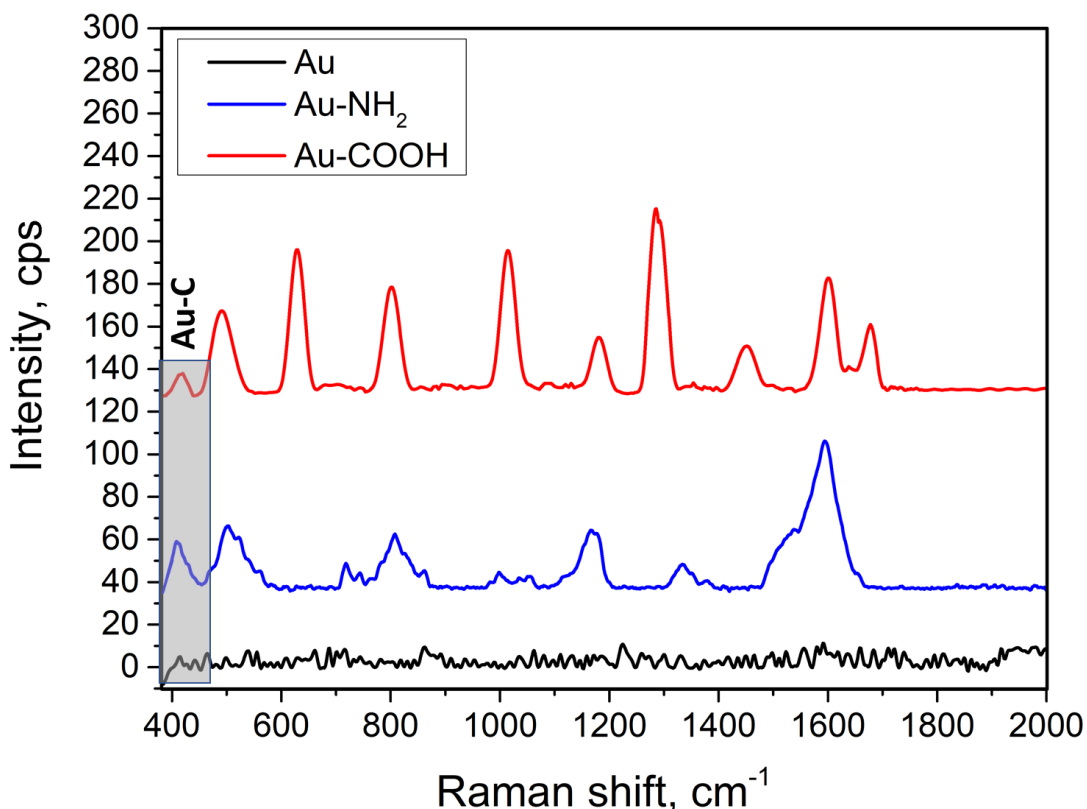


Рисунок 32. SERS спектры золотой решетки до и после модификации с ADT-COOH, ADT-NH₂

После взаимодействия золотых упорядоченных решеток с привитыми 4-карбоксифенильными группами с PNIPAm с концевыми аминогруппами и фрагмента ДНК с концевыми аминогруппами на SERS спектрах обнаруживались следующие сигналы, подтверждающие их успешную прививку через образование амида: 635 см⁻¹ (C-S), 1185, 1245, 1376 см⁻¹ (C-N) и 1590 см⁻¹ (N-H) для PNIPAm; 604 см⁻¹ (цитозин (C)), 640 см⁻¹ (гуанин (G)), 734 см⁻¹ (аденин (A)), 800 см⁻¹ (C, тимин (T)), 1240 см⁻¹ (C, T), 1324 см⁻¹ (A, G), 1380 см⁻¹ (A), 1450 см⁻¹ (Ar), 1490 см⁻¹ (A), 1550 см⁻¹ (A, G), 1640 см⁻¹ (C=O) для ДНК.

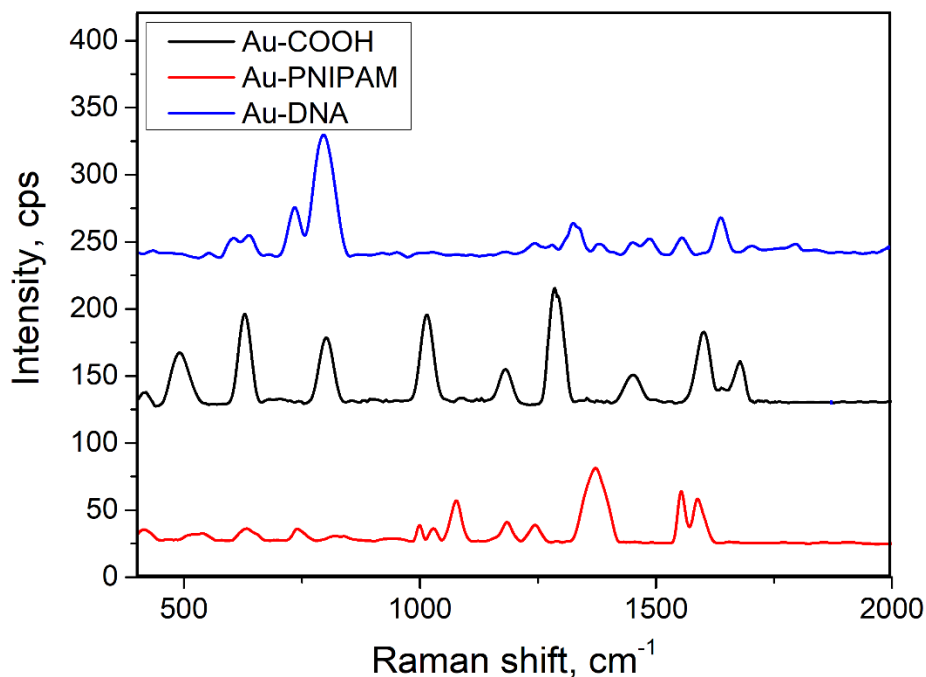


Рисунок 33. SERS спектры золотой решетки модифицированной ADT-COOH после прививки PNIPAM и олигонуклеотидов

Аналогичным образом после взаимодействия с ДТПА ангидридом и винной кислотой появляются новые сигналы: 1780 см^{-1} (C=O), 1520 см^{-1} (N-H) и 1180 см^{-1} (C-N) для ДТПА; 1765, 1684 см^{-1} (N-H, C=O), 1600 см^{-1} (Ar, NH₂), 1336-1380 см^{-1} (OH, C-C алиф), 1114-1180 см^{-1} (C-O, Ar), 780-858 см^{-1} (Ar, CH₂), 720 см^{-1} (C-C алиф, O-C=O), 496 см^{-1} (C-N-C) для изомеров винной кислоты.

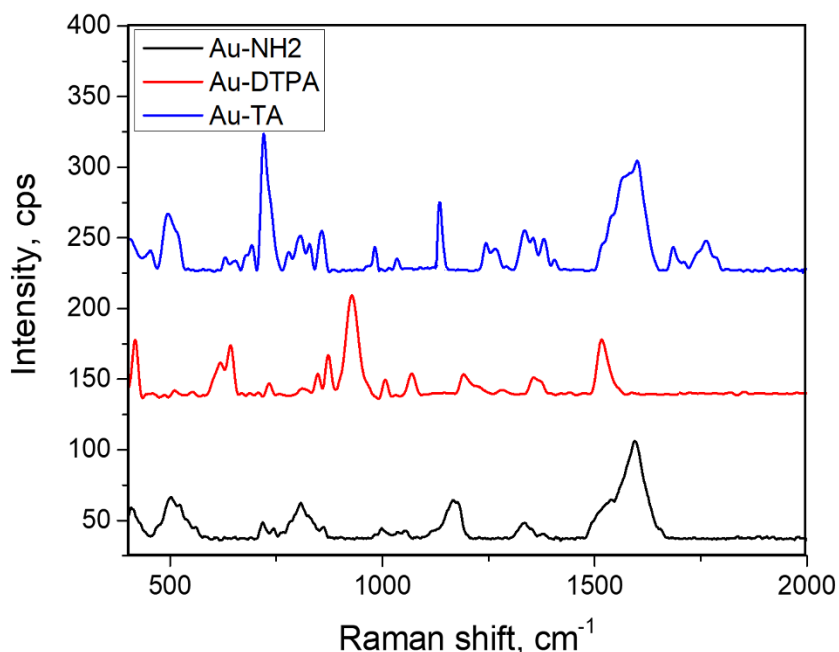


Рисунок 34. SERS спектры золотой решетки модифицированной ADT-NH₂ после прививки ДТПА и винной кислоты

Таким образом, по комбинации результатов данных XPS и SERS можно сделать вывод, что после проведения вторичной функционализации наблюдается образование новой амидной связи, а также появление сигналов, характерных для прививаемых молекул.

Исследование поверхностной морфологии методом AFM

Метод AFM позволяет сделать вывод об изменениях морфологии поверхности, которые могут происходить с золотыми решетками на каждой стадии модификации. Исходная золотая решетка представляет собой хорошо упорядоченную структуру с амплитудой 50 нм и периодичностью 290 нм [62, 161-163]. Как было показано ранее, данная структура способна возбуждать поверхностный плазмон-поляритон при освещении светом с длиной волны 780 нм. Поэтому необходимым условием для использования данных субстратов в качестве SERS сенсоров является сохранение наноструктуры решеток после проведения процессов модификации. На Рис. 35 представлены AFM изображения золотых решеток, модифицированных ADT-COOH, ADT-

NH_2 спонтанным методом. Наблюдается несущественное изменение морфологии образцов, однако, видимого нарушения морфологии упорядоченных структур не происходит.

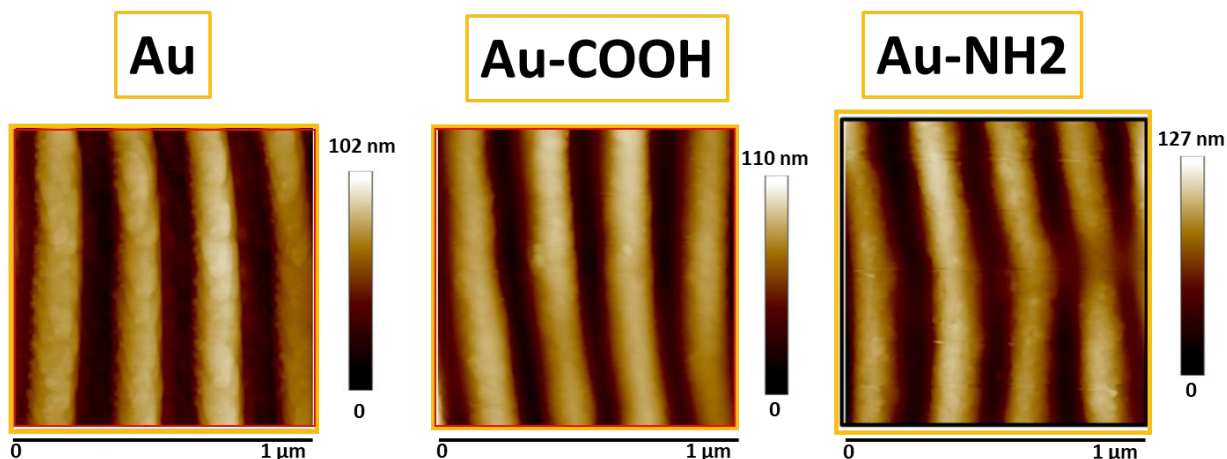


Рисунок 35. AFM изображения морфологии золотой решетки до и после модификации с ADT-COOH, ADT-NH₂

На следующих стадиях прививки молекул PNIPAm и олигонуклеотидной последовательности наблюдается более ярко выраженное изменение морфологических особенностей «верхушек» золотой решетки из-за прививки полимера с большой молекулярной массой и более крупных молекул ДНК, однако периодичность и амплитуда остаются практически нетронутыми (Рис 36).

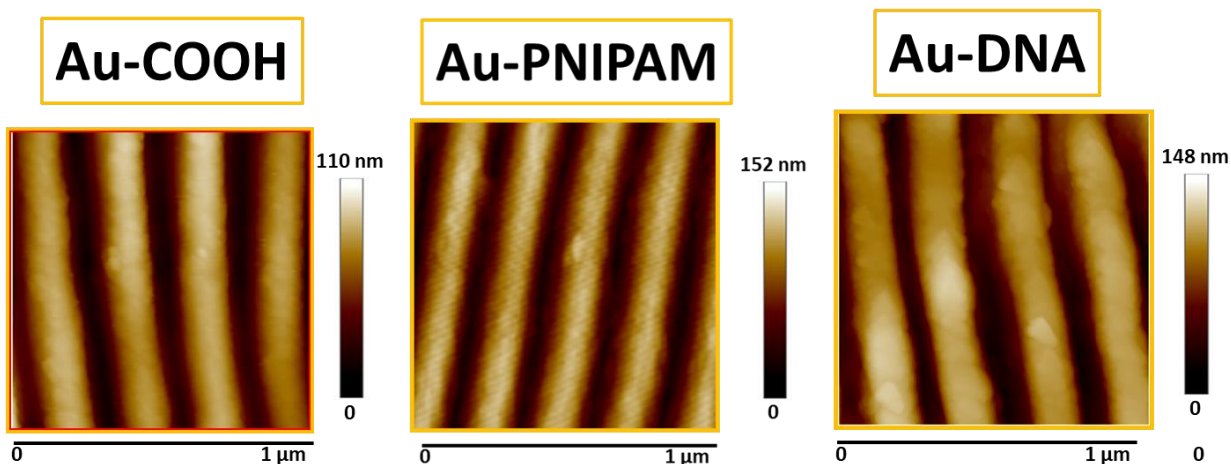


Рисунок 36. AFM изображения морфологии золотой решетки модифицированной ADT-COOH после прививки PNIPAM, олигонуклеотидов

Похожим образом выглядят AFM изображения золотых решеток после ковалентной прививки ДТПА и энантимеров винной кислоты. Стоит отметить, что изображения морфологии образцов после модификации винной кислотой выглядели аналогично, поэтому на Рис. приведен L-изомер (Рис. 37).

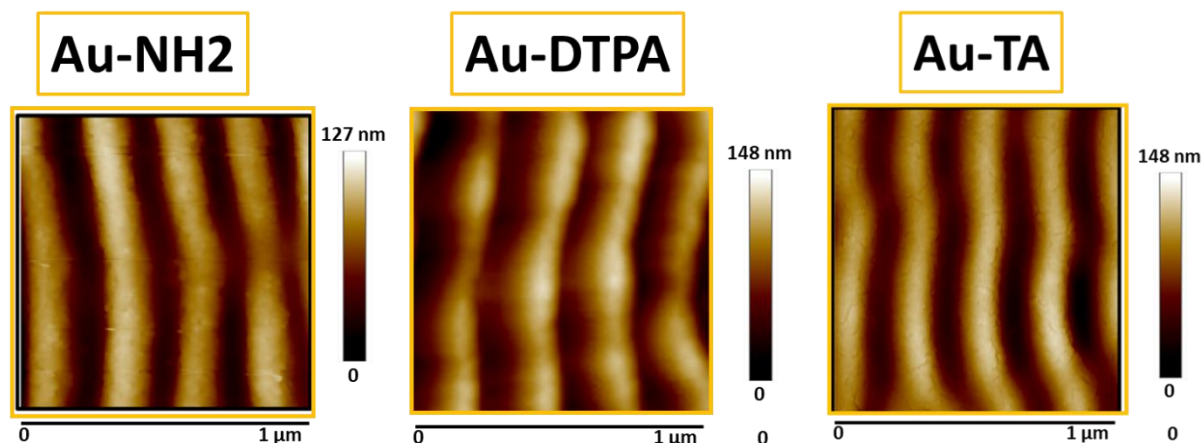


Рисунок 37. AFM изображения морфологии золотой решетки модифицированной ADT-NH₂ после прививки ДТПФ и винной кислоты

Упорядоченная структура остается гомогенной: форма решетки, ее периодичность и амплитуда остаются неизменными в процессе функционализации поверхности. Таким образом, можно сделать вывод о том, что изменения морфологии на «вершинах» решетки связаны с прививкой ОФГ, однако необходимые амплитуда и периодичность для эффективного возбуждения плазмон-поляритона сохраняются и позволяют нам перейти к исследованию специфических поверхностных свойств и применимости полученных образцов в области SERS сенсорики.

Сенсорная система на основе температурно-чувствительного полимера PNIPAM для обнаружения азо-красителей

Как было описано ранее, для детектирования запрещенных азо-красителей (кристаллический фиолетовый, метанил желтый, дисперсный красный I) в качестве модификатора нами был выбран температурно-чувствительный полимер PNIPAM [202]. Главной функциональной

особенностью PNIPAM является его фазовый переход при критической температуре растворения: при нагревании в воде выше температуры $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ он подвергается обратимому фазовому переходу с более низкой критической температурой растворения (LCST) из набухшего гидратированного состояния в дегидратированное состояние, теряя около 90% своего объема [203]. Фазовый переход PNIPAm тесно связан со смачиваемостью полимера: угол смачивания, измеренный при LCST, когда полимер находится в растворенном состоянии, значительно ниже, чем при высоких температурах. Можно установить три очевидных температурных участка: постоянное значение угла контакта с водой ($\approx 34\text{ }^{\circ}$) в диапазоне температур $24\text{--}26\text{ }^{\circ}\text{C}$, быстрое увеличение угла смачиваемости в диапазоне температур $26\text{--}30\text{ }^{\circ}\text{C}$ и постоянное значение (85 °) при температуре выше $31\text{ }^{\circ}\text{C}$. Первый наблюдаемый участок соответствует PNIPAm в растворимом состоянии, второй участок характеризует фазовый переход полимера, а третий можно отнести к коллапсированному состоянию PNIPAm. Таким образом, нами было показано, что при ковалентной прививке PNIPAm на поверхность, он сохраняет свои функциональные свойства и его температурный переход может быть использован для детектирования целевых аналитов.

Для того, чтобы оценить возможность использования полученного сенсора для детектирования азо-красителей, модифицированные решетки были погружены в растворы анализируемых веществ с концентрацией 10^{-8} M при комнатной температуре, быстро нагреты до температуры выше LCST, извлечены из раствора и высушены. Нами предполагалось, что молекулы красителя способны к диффузии в полимерный слой с последующим «захватом» после нагрева [203]. Таким образом, мы можем достигнуть пре-концентрирования аналита и усиления Рамановского сигнала от него. Для проверки данного предположения нами были измерены SERS спектры после захвата ряда красителей (Рис 38).

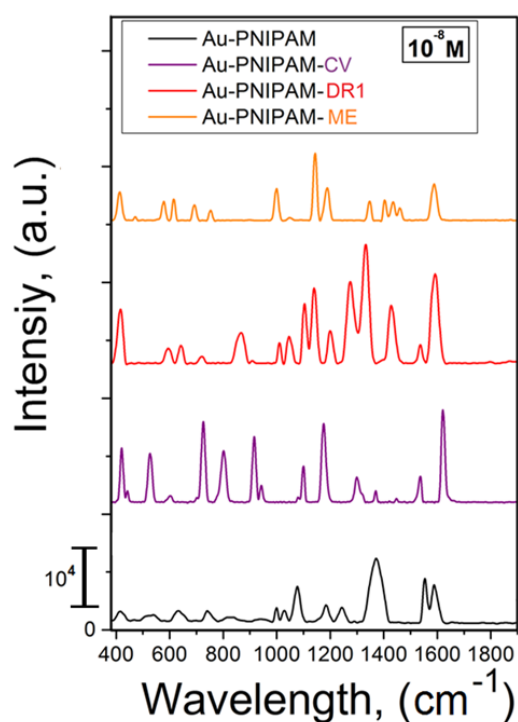


Рисунок 38. SERS спектры Au-PNIPAM после детектирования красителей в концентрации 10^{-8} M

На SERS спектрах обнаруживается появление новых пиков, характеристичных для анализируемых красителей с отличным разрешением. Полное описание Рамановских пиков представлено в Таблице 7.

Таблица 7. Сравнение SERS пиков красителей с ранее опубликованными и их значение

Название красителя	Рамановские пики, cm^{-1}	Ссылка	Рамановские в исследуемых образцах, cm^{-1}
Кристалльно фиолетовый	1617vs (Ar)	204	1621vs
	1536m (Ar)		1536s
	1170s (C-C-N)		1170s
	815 (CH деформации)		802s
	725vs (CH ₂ rocking)		724vs

	524m, 420s (C-N-C, деформации алкильной цепи, C-C Ar)		525m, 420s
	1588s (Ar)		1592s
	1444w (Ar, NO ₂)		1532w
	1387vs (NO ₂)		1333vs
	1334vs (CH ₃ симм деф, C-O)		1274vs
Дисперсные Красный I	1102s (Ar, C-O)	204- 206	1103s
	598w, 416w (C-N-C, деформации алкильной цепи, C-C Ar)		598w, 416s
	1454m (Ar)		1587vs, 1461s
	1435s (CH ₂ ножничные вибрации, N=N)		1434s
	1393s (S=O)		1402s
	1307m (CH ₃ сим деформации)		1347s
	1190m (C-N stretch)		1187s
	1145vs (C-C-N, CH ₃ симм деформации)		1143vs
	997s (Ar)		999s
	577w, 414w (C-N-C, деформации алкильной цепи, C-C Ar)		577m, 414s
Метанил желтый	1454m (Ar)	204, 207	1587vs, 1461s
	1435s (CH ₂ ножничные вибрации, N=N)		1434s
	1393s (S=O)		1402s
	1307m (CH ₃ симм деформации)		1347s

	1190m (C-N)	1187s
	1145vs (C-C-N, CH ₃ симм деформации)	1143vs
	997s (Ar)	999s

*Vs - очень сильный сигнал

S – сильный сигнал

Одной из основных характеристик сенсорных систем является чувствительность, которую в общем случае можно описать, как определение минимального количества вещества с вероятностью не менее 95% и ошибкой детектирования не более 33% (в случае аналитических измерений). Данная характеристика включает в себя оценку таких параметров как, коэффициент чувствительности, предел определения и нижнюю границу определяемых содержаний (минимально определяемую концентрацию (LOD)).

Коэффициент чувствительности ($S=dy/dx$), описывающий отношение полученного отклика аналитического сигнала в зависимости от содержания анализируемого вещества, для линейных зависимостей будет принимать значение тангенса угла наклона градуировочной кривой [204, 205]. Однако стоит отметить, что данная характеристика не может в достаточной степени описать возможности сенсорной системы получения досовтерного аналитического отклика.

Для количественной оценки предельно малого содержания компонента, определяемого с заданной степенью точности ($p=0,95$), при предельно допустимой величины относительного стандартного отклонения $s_r(C)_{max}=0,33$ была построена экспериментальная зависимость относительного стандартного отклонения $s_r(C)$ при различных концентрациях определяемого вещества (C) [206, 207]

Для установления зависимости интенсивности получаемого сигнала от концентрации азо-красителей были проведены измерения ряда растворов кристаллического фиолетового с концентрациями 10^{-8} , 10^{-12} , 10^{-14} М. Полученные SERS спектры показывают высокое соотношение сигнал/шум, а Рамановские пики легко идентифицируемы (Рис. 39).

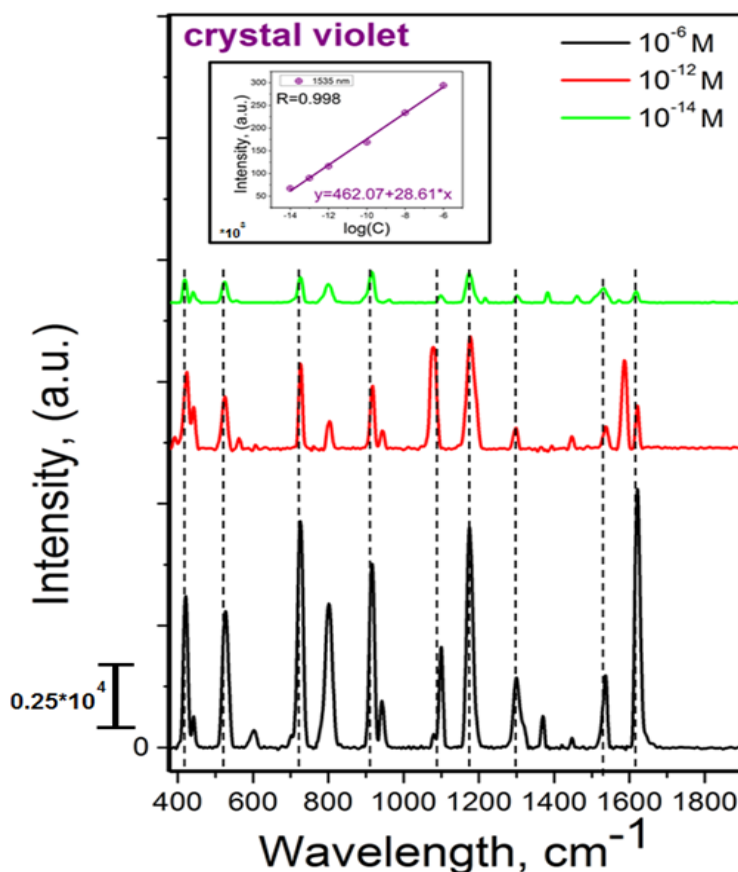


Рисунок 39. SERS спектры Au-PNIPAM после детектирования Кристаллического фиолетового в различных концентрациях

Зависимость интенсивности Рамановского пика от концентрации красителя (Рис. 38) описывается линейной функцией, что позволяет детектировать азо-красители в широком диапазоне концентраций (до фемтомолярных концентраций).

Для оценки определения возможного минимального аналитического сигнала, характеризующего предел обнаружения, приняли допущение, что LOD представляет возможность получения отклика сенсора не менее чем на 3 стандартных неопределенности от сигнала шума:

$$LOD = Y_{\text{шум}} + 3 \cdot S_r(Y_{\text{шум}})$$

LOD—минимальному содержанию компонента, соответствующий минимальному значению аналитического сигнала, получаемого при определении кристаллического фиолетового;

$Y_{\text{шум}}$ — среднее значение интенсивности получаемого сигнала в отсутствии определяемого компонента (сигнала шума);

$S_r(Y_{\text{шум}})$ —стандартное квадратичное отклонение (стандартная неопределенность) сигнала шума:

$$S_r(Y_{\text{шум}}) = \sqrt{\frac{\sum (Y_{\text{шум}} - \overline{Y_{\text{шум}}})^2}{n - 1}}$$

Для оценки наименьшей концентрации ($C_{\min,p}$) был использован трехсигмовый критерий Кайзера для этого была построена зависимость $S_r(C) = f(C)$ (рис. 40)

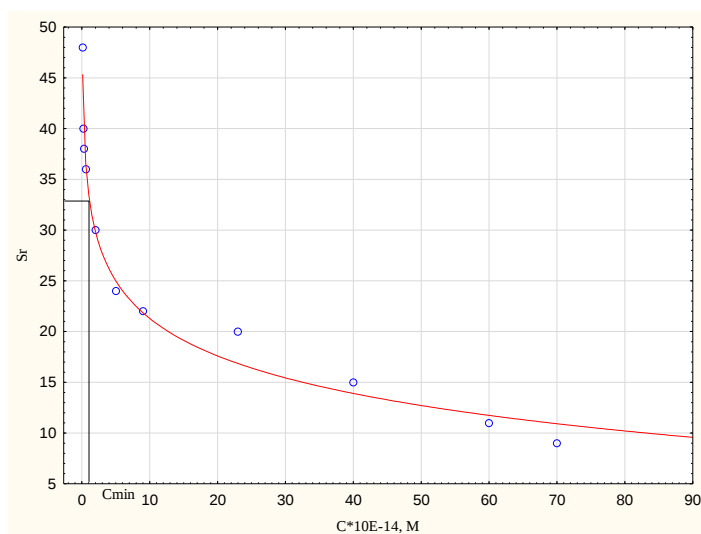


Рисунок 40. Зависимость относительного стандартного отклонения интенсивности сигнала, получаемого на сенсоре относительно исследуемых концентраций азо-красителей (Кристаллического фиолетового).

Из полученной экспериментальной зависимости относительного стандартного отклонения от величины определяемой концентрации видно, что на уровне стандартной отклонения равного 0,33 минимально определяемая концентрация равна $1 \cdot 10^{-14}$ М, что согласуется со значениями,

полученными при расчете LOD, используя зависимость получаемого аналитического сигнала относительно шумов. Данные приведены в таблице 8.

Таблица 8. Нижняя граница определяемых содержаний и предел обнаружения Кристаллического фиолетового ($n = 10$; $P = 0,95$)

C_n, M	$C_{min,p}, M$	S
$0,4 \cdot 10^{-14}$	$1,1 \cdot 10^{-14}$	1,54

Полученное значение является уникальным, данный LOD является одним из самых низких для SERS сенсоров для определения азо-красителей.

Еще одним важным свойством SERS сенсора является возможность его регенерации и повторного использования [208]. С этой точки зрения использование PNIPAM является особенно важным, так как его температурный переход является обратимым. Для оценки регенерации сенсора, образец из предыдущего эксперимента (после захвата 10^{-14} М CV) был промыт холодной водой и был использован для детектирования 10^{-14} М метанила желтого и снова промывался, и использовался для детектирования 10^{-14} М раствора DR1 (Рис. 41)

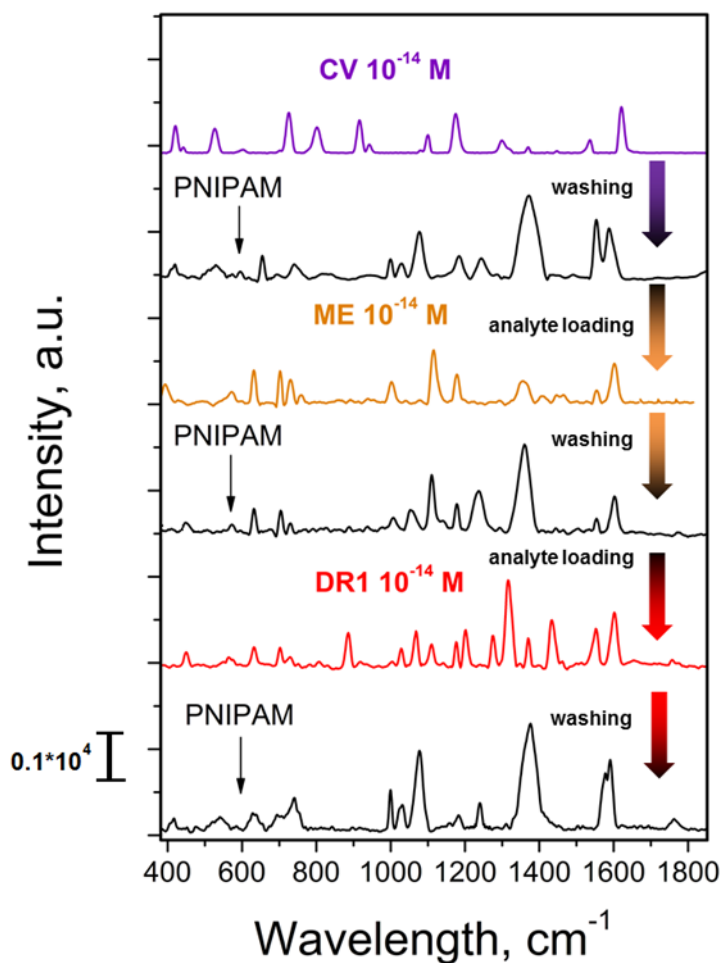


Рисунок 41. SERS спектры Au-PNIPAM в процессе последовательного детектирования и регенерации сенсора

На спектрах наблюдались те же характерные частоты колебаний, что и при измерении концентрации 10^{-8} M, что подтверждает установленный LOD. Данные результаты демонстрируют, что модифицированные с помощью PNIPAm золотые решетки могут быть успешно регенерированы и впоследствии использованы повторно.

Нами были проведены SERS измерения в соответствии с методикой, описанной в экспериментальной части диссертации для установления стандартной неопределенности измерения, характеризующую воспроизводимость аналитического сигнала на различных образцах. На рисунке 40 графически представлено распределение среднеквадратического

отклонения измерений, проводимых в условиях повторяемости и внутрिलाбораторной прецизионности (Рис. 42).

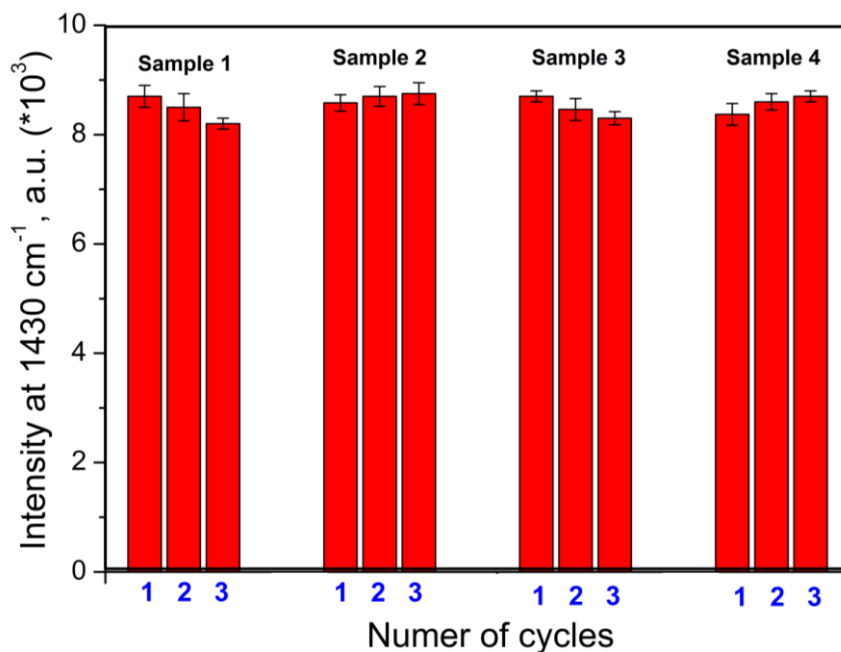


Рисунок. 42. Воспроизводимость детектирования DR1 на одном и нескольких образцах

Погрешность измерения вдоль поверхности образца составила лишь 3% и между образцами 4,5%. Таким образом, можно сделать вывод, что разработанная процедура модификации приводит к высокой воспроизводимости между образцами, что является одним из ключевых требований для идеальной сенсорной системы.

Результаты анализа применимости полученного сенсора позволяют сделать вывод о том, что разработанная система значительно превосходит существующие в данной области аналоги. Полученный уникальный результат может быть объяснен следующими преимуществами системы:

1. Высокое сродство PNIPAM к азокрасителям
2. «Умная» природа используемого полимера (температурный переход)

3. Равномерное распределение интенсивности ППП по всей «активной» области образца (поскольку SERS отклик достигается посредством поверхностного плазмон-поляритонного возбуждения, что обеспечивает однородное распределение интенсивности плазмона)

Сенсорная система на основе короткоцепочечного олигонуклеотида для определения комплементарности ДНК.

SERS-спектроскопия представляет собой интересную альтернативу для обнаружения ДНК и считается одним из наиболее перспективных аналитических методов для портативного и экспресс-анализа нуклеотидных последовательностей [209]. Для создания сенсора нами были получены золотые решетки с ковалентно-привитой олигонуклеотидной последовательностью, которые предполагается использовать для определения комплементарности с другими нуклеотидами (Схема 26) [2010].

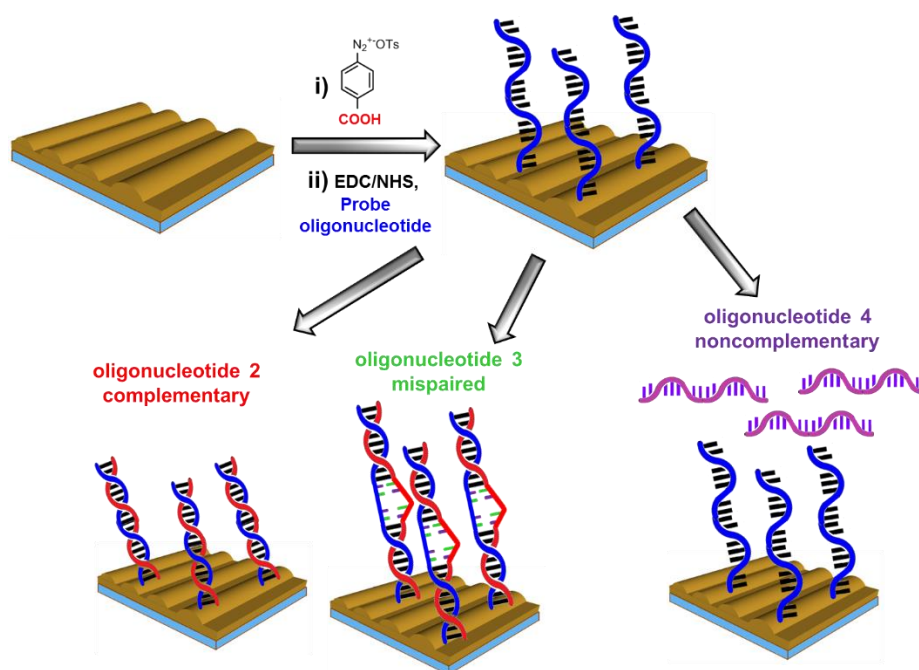


Схема 26. Схема прививки олигонуклеотида и его взаимодействия с другими олигонуклеотидами (комплиментарным, некомплиментарным, и частично комплиментарным)

Для апробации разработанного сенсора мы использовали процедуру гибридизации олигонуклеотидов на поверхности с дальнейшим изучением Рамановских спектров полученных материалов. Образцы были погружены в раствор комплементарного, некомплементарного и частично комплементарного олигонуклеотидов. Затем образцы были нагреты в растворе до 90 °С и постепенно охлаждены, промыты и высушены. Полученные SERS спектры образцов изображены на Рис. 43

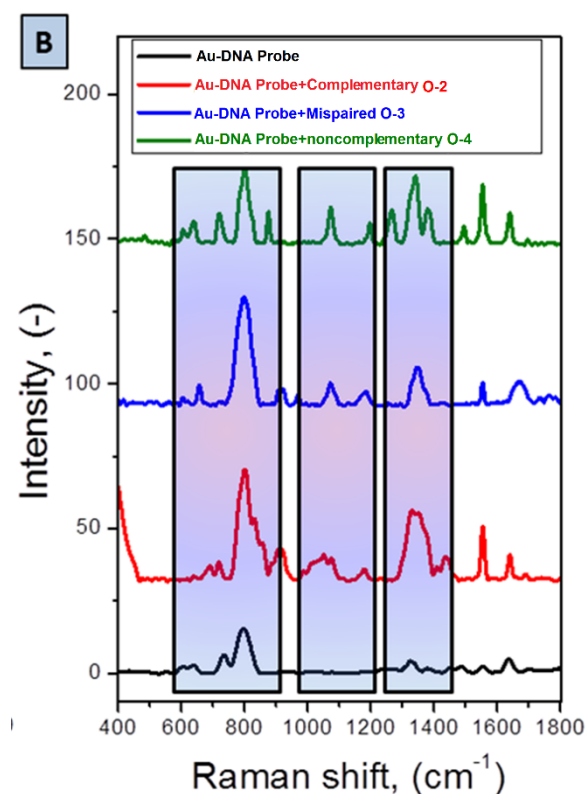


Рисунок 43. SERS спектры привитого к золотой решетке нуклеотида до и после его взаимодействия с другими олигонуклеотидами (комплементарным, некомплементарным, и частично комплементарным)

Анализ SERS спектров показывает, что взаимодействие с комплементарным и частично комплементарным олигонуклеотидом приводит к видимым изменениям спектров. Данный результат является ожидаемым, поскольку происходит гибридизация олигонуклеотидов, приводящая к появлению пиков от новых фрагментов и сдвигу в пика ранее

привитых молекул. Эти результаты подтверждают, что разработанный сенсор является перспективным инструментом для обнаружения специфических олигонуклеотидных последовательностей.

Однако, детальный анализ SERS спектров ДНК весьма затруднен, так как в обе цепочки олигонуклеотидов входят одни и те же азотистые основания, а интерпретация и аффиляция пиков является трудновыполнимой и времязатратной задачей. С другой стороны, на сегодняшний день особенно интересным является автоматизация в анализе олигонуклеотидных последовательностей с помощью различных математических алгоритмов [211]. Для этой цели нами был выбран один из наиболее распространённых на сегодняшний день алгоритмов - метод главных компонент (PCA) - который позволяет уменьшить размерность данных, потеряв наименьшее количество информации и работает с массивами исходных необработанных SERS спектров [212, 213]. SERS спектры, измеренные на вышеописанных образцах после взаимодействия с 3 видам ДНК, были подвергнуты PCA анализу (Рис. 44)

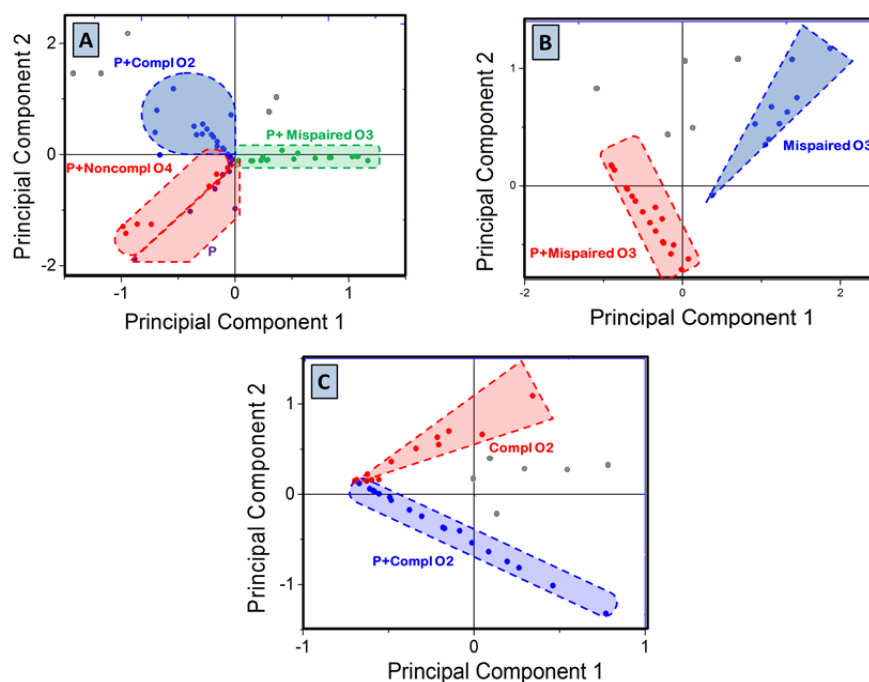


Рисунок 44. Графики, отражающие результаты расчётов по методу главных компонент

РСА анализ выполнялся с использованием стандартных программных средств пакета Origin 9.2 исходя из массива данных необработанной спектральной информации, причем для анализа были выбраны области с максимальной интенсивностью сигнала. Программная обработка спектров позволила сформировать набор из 2х главных компонент для построения графической интерпретации массивов данных. Анализ массивов позволил выделить 4 области интереса.

Области Р и О4 отражают сигналы, полученные с использованием спектров базового материала и после взаимодействия с некомплементарным олигонуклеотидом. Данные области практически не отличаются, что позволяет сделать заключение о практически полном отсутствии процессов гибридизации. Области О2 и О3 отражают взаимодействие с комплементарным и частично комплементарным олигонуклеотидом и отличаются четкой дифференцировкой. На основании данных РСА анализа возможна полная дифференцировка различных типов взаимодействий между олигонуклеотидами.

Тем не менее, важным является и оценка специфичности взаимодействия в условиях работы со смесью олигонуклеотидных последовательностей. На поверхность золота были нанесены растворы комплементарной и частично комплементарной ДНК, после высыхания были сняты SERS спектры, которые так же подвергались РСА обработке. Полученные результаты РСА сравнивались с результатами, полученными на модифицированных образцах после гибридизации (рис. 42). Как видно, разработанный метод позволяет полностью отличить неспецифически связанные и гибридизированные на поверхности олигонуклеотиды. Это наблюдение подтверждает, что даже в случае неспецифической адсорбции биомолекул, полученный сенсор в сочетании с РСА методом все еще позволяет получить информацию о олигонуклеотидных последовательностях.

Как отмечалось и ранее, определение LOD является одним из ключевых вопросов любой сенсорной системы. Для определения LOD полученного сенсора из результатов анализа РСА нами были выбраны 2 наиболее значимых пика, характеризующих взаимодействие комплементарных ДНК на 855 и 1352 cm^{-1} (рис. 45).

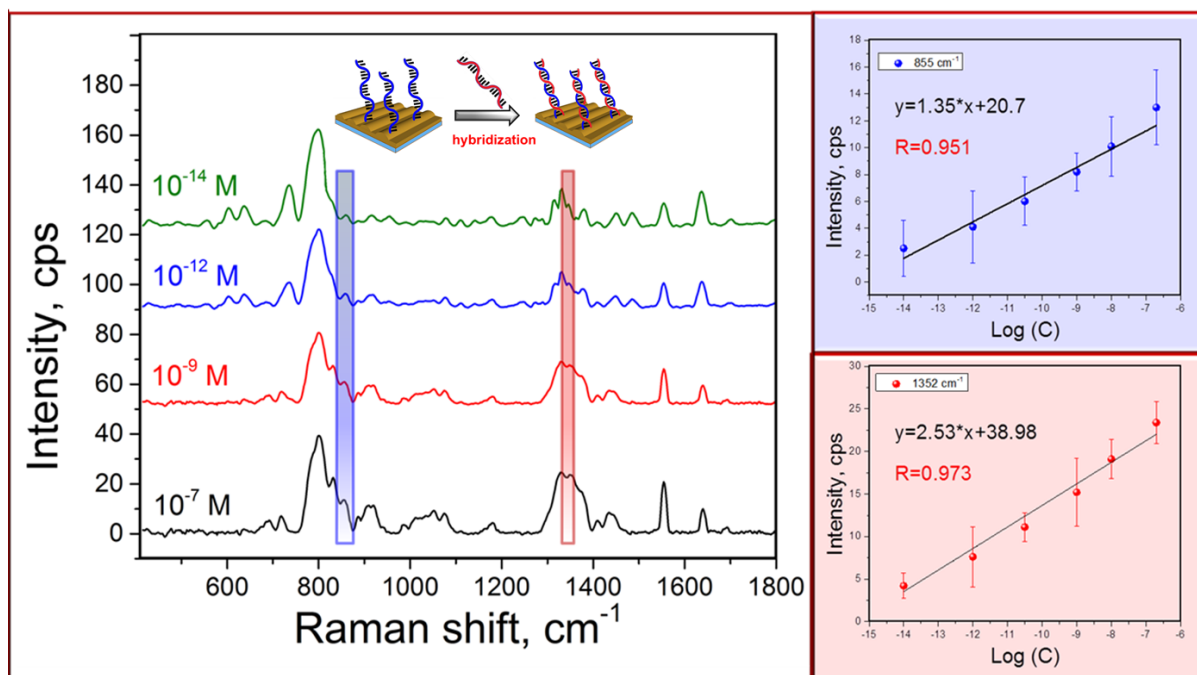


Рисунок 45. SERS спектры золотой решетки с привитыми олигонуклеотидами после взаимодействия с комплементарным в различных концентрациях и результирующие калибровочные прямые

Как видно из спектров и построенной корреляционной кривой при уменьшении концентрации олигонуклеотидов, интенсивность выбранных пиков также падает по линейному закону.

Исследования нижней границы определяемых содержаний и предела обнаружения в соответствии с критерием Кайзера (3 сигмовый критерий) представлены на рис 46.

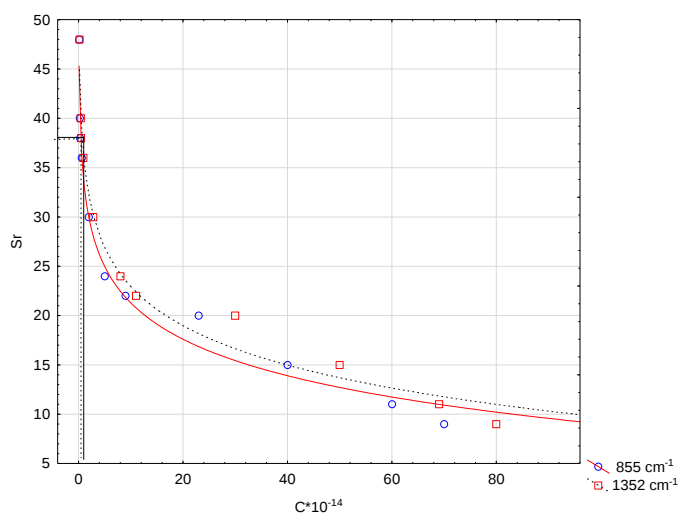


Рис 46. Зависимость относительного стандартного отклонения интенсивности сигналов, характеризующих взаимодействие комплементарных ДНК на 855 и 1352 см^{-1} , относительно концентрации олигонуклеотидов.

Наименьшая концентрация, при которой выбранные пики были различимы составила 10^{-14} М, что является одним из самых низких значений LOD для SERS сенсоров для детектирования олигонуклеотидов (табл.9).

Таблица 9. Нижняя граница определяемых содержаний и предел обнаружения олигонуклеотидов ($n = 10$; $P = 0,95$)

интенсивности сигналов, см^{-1}	C_n , М	$C_{min,p}$, М
855	$0,3 \cdot 10^{-14}$	$0,8 \cdot 10^{-14}$
1352	$0,4 \cdot 10^{-14}$	$1,2 \cdot 10^{-14}$

Одной из самых острых проблем биодетектирования является воспроизводимость результатов. Нами были проведены SERS измерения в соответствии с методикой, описанной в экспериментальной части диссертации. Нами были выбраны 3 основных пика для оценки воспроизводимости их интенсивности.

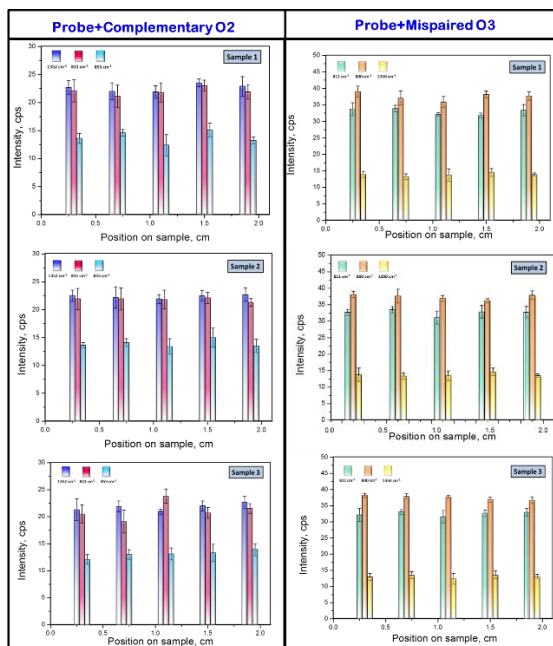


Рисунок 47. Результаты исследования воспроизводимости SERS детектирования на одном и между несколькими образцами

Наблюдается некоторое различие в абсолютных значениях интенсивности пиков между различными образцами, но относительные интенсивности пиков остаются почти неизменными, отклонение интенсивности между образцами составило 2.8% для комплементарной ДНК и 3.2 % для часто не комплементарной. Отклонения в абсолютной интенсивности пиков составляют 5,8% для комплементарной ДНК и 7,3% для частично комплементарного ДНК.

Стабильность SERS субстрата остается одной из самых сложных проблем, которые влияют на воспроизводимость данных и надежность результатов SERS [214]. Предполагается, что предложенные модифицированные золотые решетки будут стабильными во времени благодаря ковалентной модификации с помощью АДТ, которая действует как защитный слой сенсора [94, 167-169]. Для исследования стабильности предложенных SERS-субстратов, нами были проведены SERS измерения в течении 3 месяцев, оценивались интенсивности пиков, которые указывали на комплементарность ДНК в предыдущих экспериментах. Нами было найдено,

что аналитические сигналы не менялись в течение, по меньшей мере, 60 дней до постепенного уменьшения. Потеря SERS ответа не превышала 10% за 3 месяца.

Наконец, чтобы продемонстрировать преимущества предложенного сенсора для детектирования олигонуклеотидных взаимодействий были проведены эксперименты в среде бычьего сывороточного альбумина (BSA) в фосфатном буфере, имитирующего «реальный биообразец». Результаты представлены на рис. 45 Спектр чистого BSA показывает наиболее заметные колебания ароматических аминокислот (Phe и Tyr), амидных полос и CH_2 деформаций, возникающих из-за присутствия PBS в диапазоне $600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$.

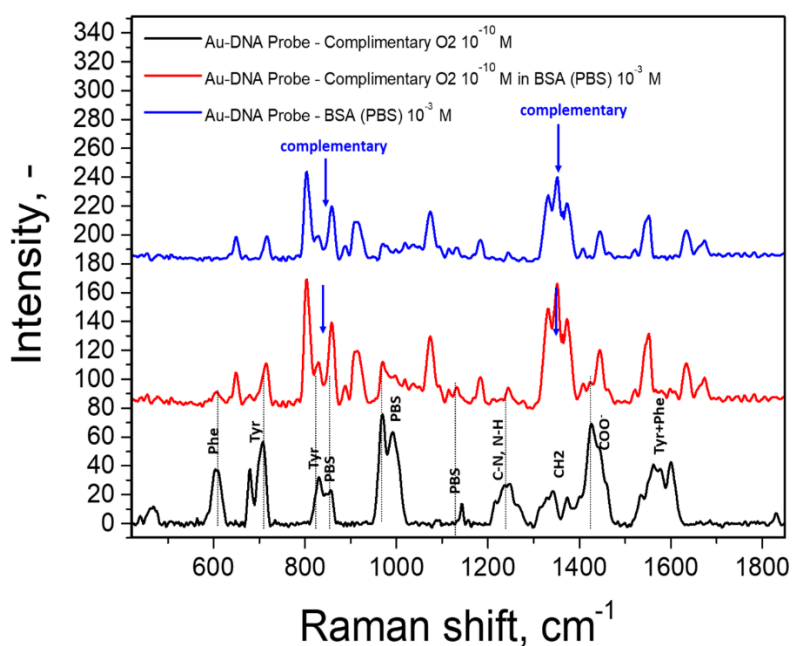


Рисунок 48. SERS детектирование комплементарности ДНК в среде имитирующей «реальный биообразец»

При детектировании целевых олигонуклеотидов наблюдаются как SERS сигналы от BSA, так и от аналита. Тем не менее, экспериментальные результаты показывают возможность распознавания комплементарности олигонуклеотидов вплоть до концентрации 10^{-10} М.

Таким образом, можно сделать вывод, что комбинация золотых решеток, предложенного метода модификации и применения PCA анализа позволяет четко различать гибридизацию олигонуклеотидов с комплементарными, частично комплементарными и некомплементарными олигонуклеотидами. Обнаружение взаимодействий с помощью предлагаемой функциональной SERS платформы позволяет достичь высокой воспроизводимости результатов и предела обнаружения около 10^{-14} М в случае комплементарной ДНК. Наконец, предложенные SERS сенсоры обладают стабильностью в течение 3 месяцев, а также являются потенциально применимыми для исследования реальных образцов.

Сенсорная система на основе диэтилентриаминпентауксусной кислоты для определения ионов тяжелых металлов

Для детектирования ионов тяжелых металлов в качестве молекулы, увеличивающий аффинитет к целевому аналиту нами были выбраны остатки ДТПА. ДТПА является широкоизвестным малоселективным лигандом для широкого ряда металлов и широко используется для обнаружения ионов тяжелых металлов с использованием ядерного магнитного резонанса, ИК- или УФ-спектроскопии [189-191].

Для проведения SERS экспериментов, золотые решетки с привитыми остатками ДТПА погружали в 15 мл водного раствора хлоридов металлов (CoCl_2 , CuCl_2 , CdCl_2 , BaCl_2 , HgCl_2 , PbCl_2) с различными концентрациями на 20 минут. Затем их промывали водой, сушили и анализировали.

Результаты SERS измерений до и после захвата тяжелых металлов представлены на Рис. 46. SERS спектр значительно изменяется после вымачивания в водных растворах тяжелых металлов. Наиболее заметные изменения наблюдаются в спектральной области 3000-3200, 1515-1600, 400-500 см^{-1} . Наиболее значимые пики могут быть отнесены к следующим химическим группам: 3150 см^{-1} (OH-); 1515-1600 см^{-1} (с = O); 400-500 см^{-1}

(Me-N). Исчезновение сигналов О-Н групп наблюдается после взаимодействия с растворами всех металлов и свидетельствует о образовании комплекса на поверхности.

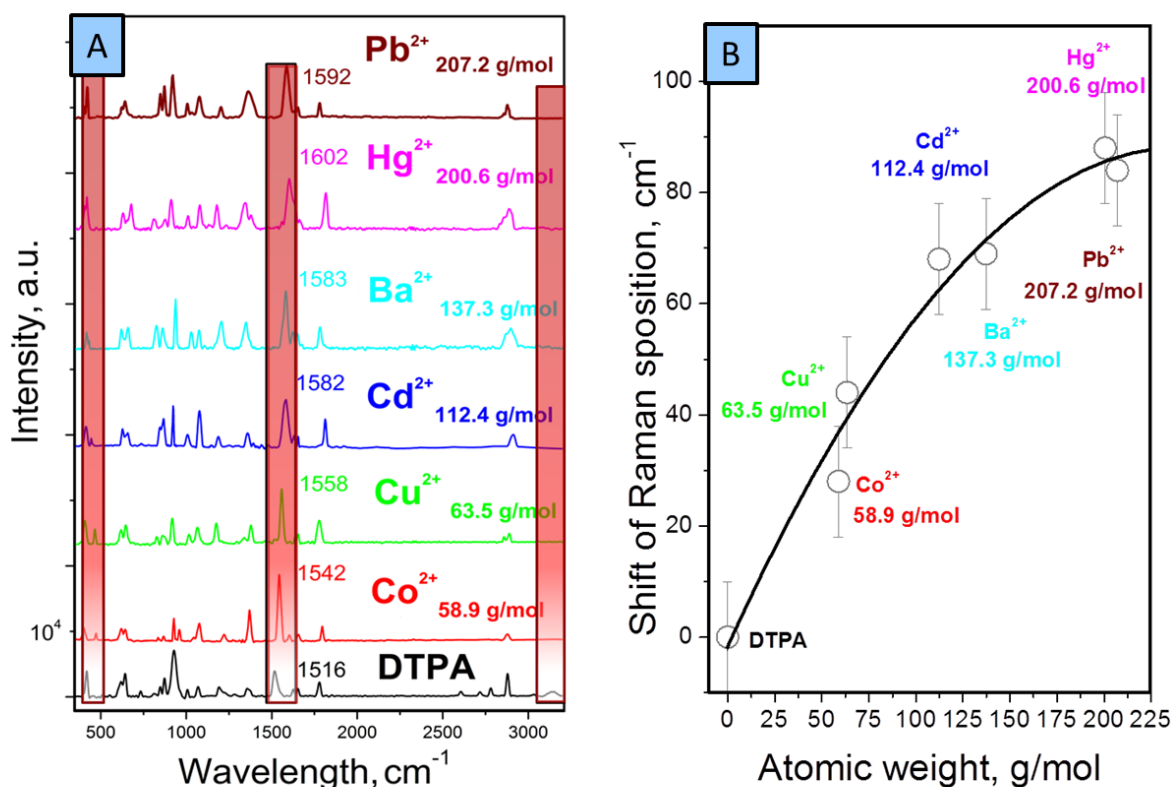


Рисунок 49. А – SERS спектры Au-ДТПА до и после взаимодействия с ионами тяжелых металлов, В - зависимость сдвига SERS сигнала от атомной массы определяемого металла.

Очевидно, что исчезновение сигнала О-Н является малоинформативным. Наиболее информативным сдвигом полос колебаний в SERS спектрах является смещение сигналов от карбонильных групп (1515-1600 cm^{-1}). В данном случае волновое число сильно зависит от атомного веса металла (см. Рис. 49). Иными словами, данное изменение спектров позволяет не только обнаруживать присутствие тех или иных тяжелых металлов, но и распознавать их. Наблюдаемое явление открывает новые возможности в применении SERS для обнаружения ионов тяжелых металлов, поскольку оно

позволяет обнаруживать и распознавать различные ионы металлов на одном сенсоре. Для дальнейшего исследования селективности разработанной SERS платформы зависимость сдвига положения пика $\text{C}=\text{O}$ от молярной массы ионов тяжелых металлов показана на рис. 46В. Полученная кривая демонстрирует асимптотическую зависимость величины сдвига полосы от массы ионов металлов.

Оценка LOD для предложенного сенсора проводилась путем вымачивания ДТПА-функционализированных золотых решеток в растворах Pb^{2+} и Co^{2+} (как металлы с самой большой и маленькой молекулярной массой) с различными концентрациями и последующим снятием SERS спектров (Рис. 50).

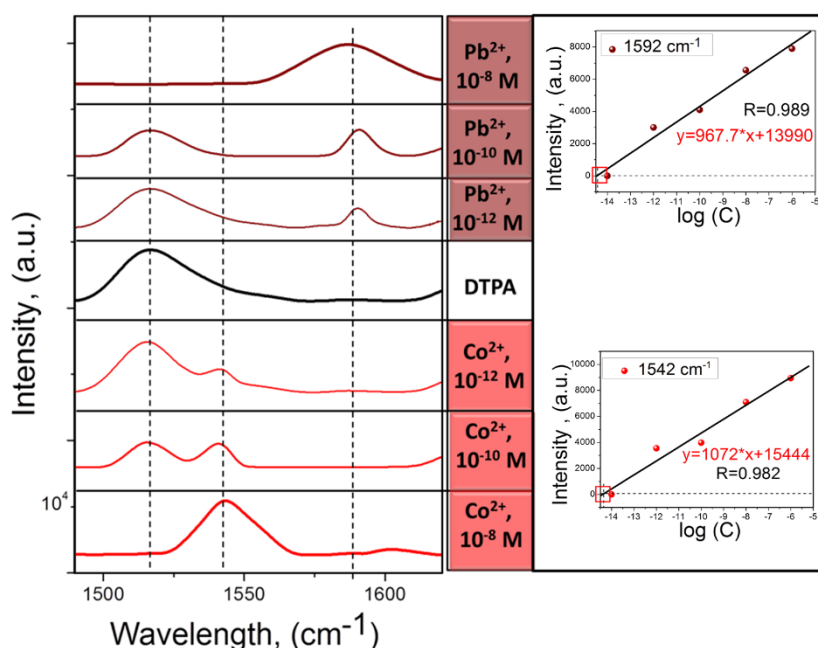


Рисунок 50. SERS спектры Au-ДТПА после взаимодействия с растворами свинца и кобальта в различных концентрациях и результирующие калибровочные прямые

Оценки среднесквадратических отклонений повторяемости результатов 8 растворов свинца и кобальта концентрации которых находятся около нижней границы экспериментально установленного диапазона (рис. 51) позволили установить LOD для обоих металлов на уровне 10^{-14} М (табл. 10)

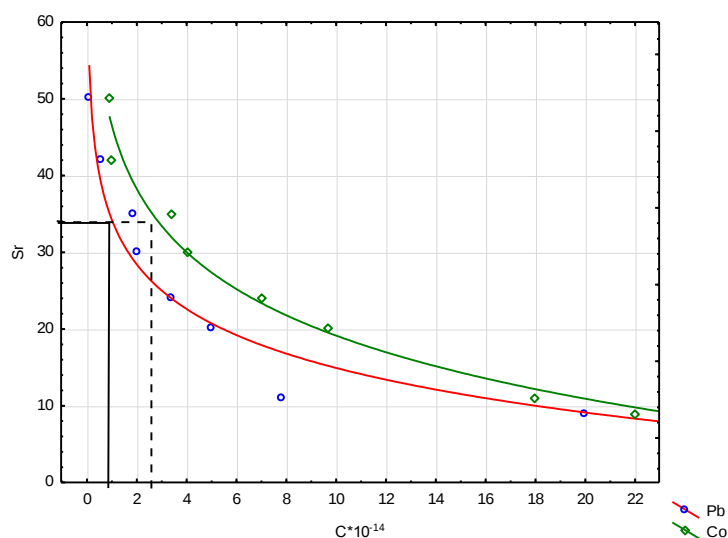


Рис 51. Зависимость относительного стандартного отклонения интенсивности SERS спектры Au-ДТПА после взаимодействия с растворами свинца и кобальта.

Таблица 10. Нижняя граница определяемых содержаний и предел обнаружения свинца и кобальта ($n = 8$; $P = 0,95$)

Определяемые элементы	C_n , М	$C_{min,p}$, М
Pb	$0,3 \cdot 10^{-14}$	$0,9 \cdot 10^{-14}$
Co	$0,8 \cdot 10^{-14}$	$2,3 \cdot 10^{-14}$

Сравнение основных характеристик полученного сенсора с результатами, достигнутыми в других работах [215-221], приведено в табл. 7. Как видно, сильное сродство ДТПА к ионам тяжелых металлов позволяет достичь одного из лучших результатов в области детектирования металлов с использованием SERS.

Таблица 11. Сравнение LOD для детектирования ионов тяжелых металлов предложенного сенсора с опубликованными аналогами

Вид сенсора	Целевые ионы металлов	LOD, мг/л	Ссылка
Ag-НЧ-сален	Ni^{2+}	$1,2 \cdot 10^{-3}$	215
	Cu^{2+}	$2 \cdot 10^{-3}$	
	Co^{2+}	$2 \cdot 10^{-2}$	

	Mn ²⁺	0.2	
Ag НЧ - терпирин	Cu ²⁺	6.5	216
	Co ²⁺	6*10 ⁴	
Ag-НЧ- 2,2'-бипиридил	Fe ²⁺	0.02	217
	Ni ²⁺	0.087	
	Zn ²⁺	0.22	
	Cu ²⁺	0.6	
	Cr ³⁺	2.4	
	Cd ²⁺	0.77	
Ag НЧ@полианилин	Hg ²⁺	2*10 ⁻⁷	218
Ag НЧ-1,4-диэтилбензол	Hg ²⁺	16.4*10 ⁻⁵	219
Au НЧ-тринатрий цитрат	Pb ²⁺	5*10 ⁻³	220
Au НЧ-4-карбоксибензтиол-привитый к внутренней части капилляра	Ag ⁺	108	221
	Cu ²⁺	63	
	Fe ²⁺	56	
	Hg ²⁺	206	
	Pb ²⁺	207	
	Zn ²⁺	65	
	Cd ²⁺	110	
Предложенный сенсора	Pb ²⁺	2*10 ⁻⁹	Наша работа
	Co ²⁺	0.6*10 ⁻⁹	

В реальных образцах чаще всего наблюдается присутствие нескольких ионов металлов одновременно. С этой точки зрения, селективное обнаружение смесей ионов металлов становится важным вопросом. Нами была исследована возможность применения разработанного сенсора для селективного обнаружения двух металлов Pb²⁺ и Co²⁺ на основе смещения положения пика C = O. Результаты представлены на рис. 52, где показаны SERS спектры, соответствующие комплексам ДТПА с ионами Pb²⁺, Co²⁺ и соответственно их смесью (в концентрации 10⁻⁸ M).

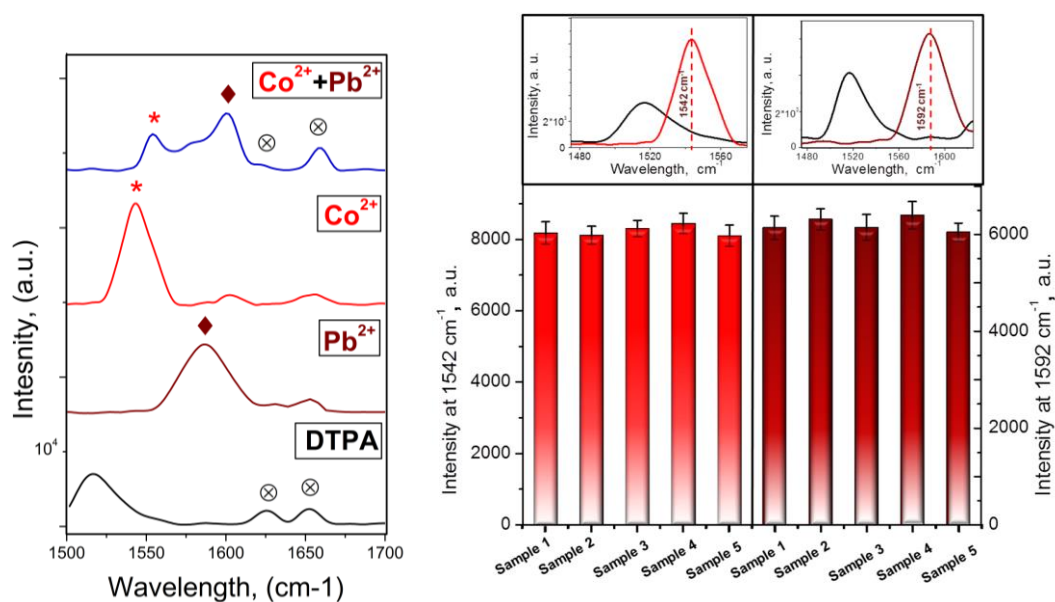


Рисунок 52. SERS спектры Au-ДТПА после взаимодействия с смесью кобальта и свинца и их сравнение с ранее полученными спектрами (слева), результаты воспроизводимости SERS сигнала.

Как видно на Рис. 52, положение пика ДТПА смещается после комплексообразования с каждым металлом. Погружение образца в смесь ионов металлов также приводит к смещению полосы C=O. Полученный пик может быть подвергнут деконволюции для выделения пиков, соответствующих ионам Co^{2+} и Pb^{2+} , и определения концентрации ионов одновременно. Таким образом, разработанный подход не только прост в использовании, но и позволяет селективно определять ионы тяжелых металлов в смесях.

Также были проведены SERS измерения для анализа воспроизводимости в соответствии с методикой, описанной в экспериментальной части диссертации (рис. 52). Анализ данных показывает хорошую статистическую сходимость результатов для Co^{2+} и Pb^{2+} металлов. Аналитический сигнал колеблется в пределах 3,8%. Среднеквадратичное отклонение аналитического сигнала между различными образцами составило 4,0%.

Нами также была исследована стабильность SERS-сигнала сенсора при разлитых значениях pH на примере ионов Pb^{2+} (Рис. 53). Как можно заметить,

детектирование Pb^{2+} может эффективно осуществляться как в кислых, так или щелочных условиях.

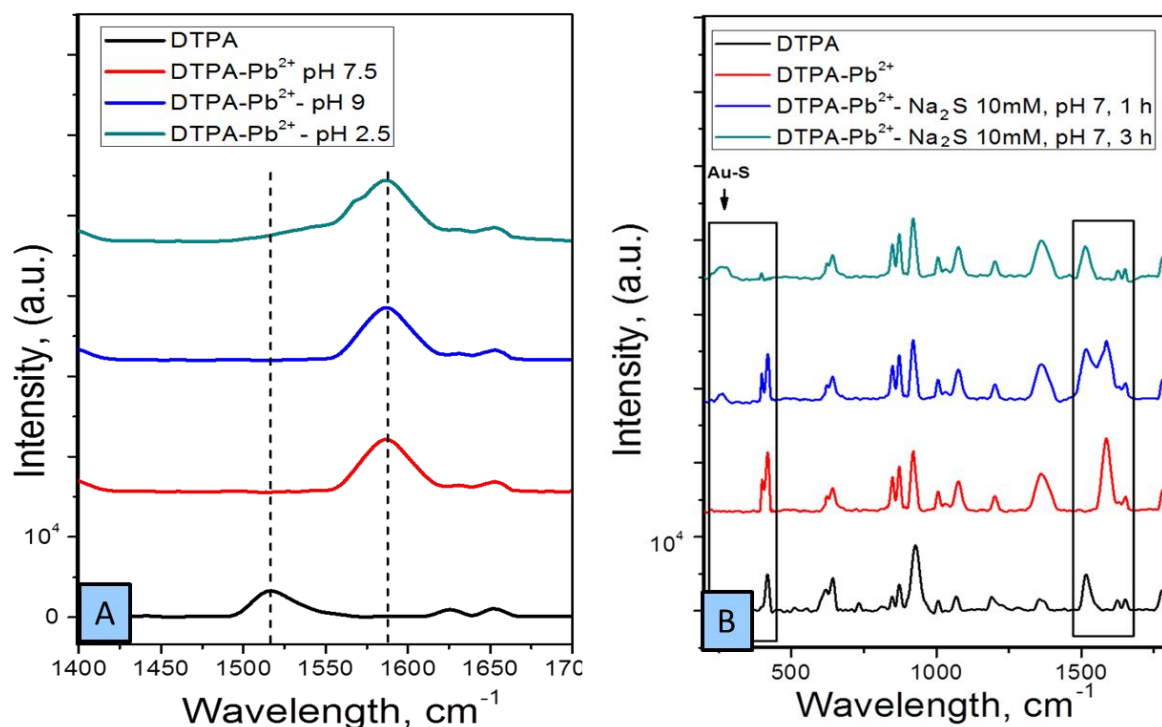


Рисунок 53. А - SERS спектры Au-ДТПА после детектирования ионов свинца при различных pH, В - SERS спектры Au-ДТПА после детектирования ионов свинца и регенерации сенсора

Таким образом, нами разработан метод получения функционального SERS сенсора, основанного на золотых решетках с привитыми молекулами ДТПА для селективного и высокочувствительного обнаружения (до концентрации 10^{-14} М) ионов тяжелых металлов. Заявленный предел обнаружения достигается благодаря сочетанию гомогенного распределения интенсивности плазмона на решетке с высоким сродством ДТПА к ионам тяжелых металлов.

Преимуществами предложенного SERS сенсора являются следующие факты:

- (i) использование метода является очень простым и может быть реализовано в любых условиях, включая полевые

- (ii) SERS сенсор позволяет селективно определять различные ионы тяжелых металлов из смеси;
- (iii) превосходная воспроизводимость SERS как на одном образце, так и между образцами

Сенсорная система на основе L и D изомеров винной кислоты для энантиоселективного определения изомеров лекарственных средств.

Как было отмечено ранее, энантиоселективное детектирование на основе метода SERS только начинает развиваться и большинство сенсорных систем либо слишком сложны в получении, либо не универсальны [204-207]. Для решения данной задачи мы решили использовать бимодальный подход, который заключается в использовании нескольких аналитических техник для исследования одного образца, причем первый метод должен быть более простым в использовании и позволять проводить первоначальную выборку образцов.

Одним из наиболее экспрессных подходов к современному детектированию является изменение угла смачивания при взаимодействии сенсора с аналитом [222]. Одним из очевидных преимуществ данного метода является простота аппаратного исполнения – так, на сегодняшний день, определить угол смачивания на поверхности можно даже с использованием простого мобильного телефона. При использовании для анализа поверхностно-модифицированных решеток золота точность детектирования можно существенно повысить благодаря вторичным измерениям с использованием портативных Рамановских спектрометров.

Данные предположения были апробированы на примере распознавания энантиомеров с использованием золотых решеток с привитыми L- и D-изомерами винной кислоты (Au-L-TA и Au-D-TA) [223].

Функциональность полученных сенсоров была предварительно протестирована на двух модельных соединениях - энантиомерах цистеина и тирозина. Оба соединения содержат в своей структуре хиральный углерод, связанный с аминогруппой, и способны энантиоселективно взаимодействовать с привитыми энантиомерами ТА. Предполагалось, что захват молекулы аналита приведет к образованию соответствующих тартратов, что скажется на химическом составе и зарядовых характеристиках поверхности и, как следствие, изменит угол смачиваемости.

Качественное определение хиральных аминов на основе измерения смачиваемости выполнялось специально созданным мобильным приложением «Dropangle» с использованием фотоаппарата мобильного телефона. На поверхность наносилась капля аналита (2 мкл) в различных концентрациях и, с использованием камеры мобильного телефона и приложения, фиксировались значения угла смачиваемости. Предварительные результаты показали, что угол смачиваемости сильно зависит от концентрации соответствующего энантиомера цистеина. При использовании сенсора Au-L-ТА и L-аналитов (цистеин и тирозин) наблюдался рост угла смачиваемости при увеличении концентрации аналита. Аналогичный тренд сохранялся и при взаимодействии Au-D-ТА и D-энантиомеров. Сенсоры обнаруживали высокую энантиоселективность взаимодействия – так, взаимодействие L-изомеров с Au-D-ТА не изменяло угол смачивания, равно как и взаимодействие D-изомеров с Au-L-ТА (Рис. 54).

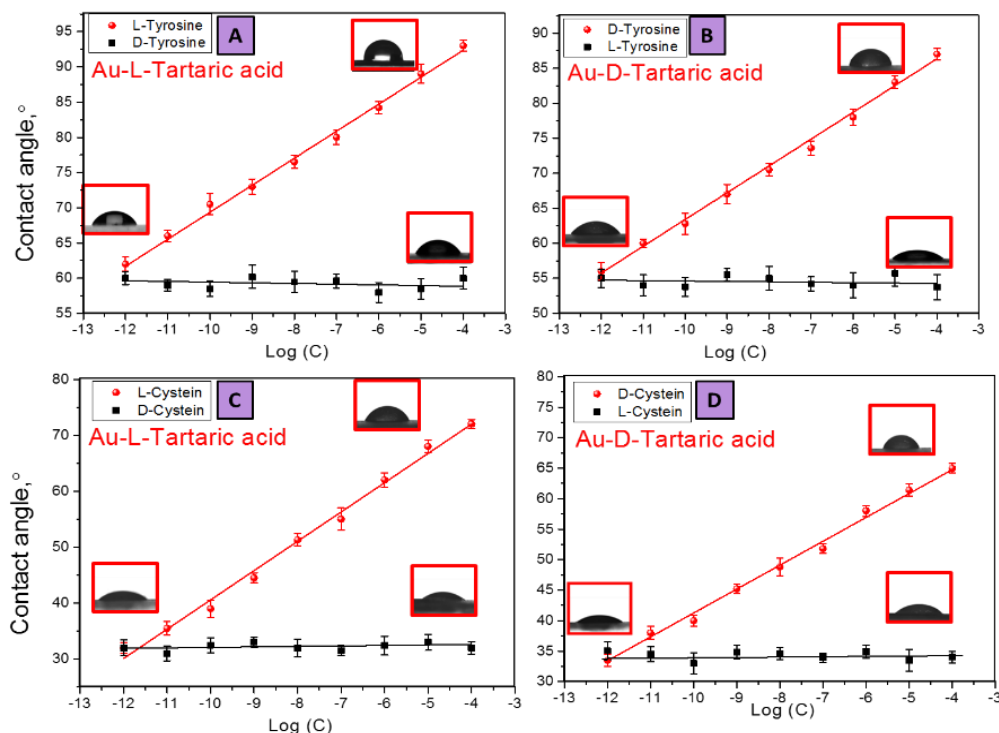


Рисунок 54. Результаты исследования изменений смачиваемости, зависимость угла от концентрации: А,В - L/D тирозина; С,Д - L/D цистеина на золотых решетках Au-L/D-ТА

Таким образом, присутствие хиральных аминов в растворе может быть обнаружено с помощью измерения смачиваемости, однако данный метод не дает представления о структуре вещества. Для увеличения надежности хирального обнаружения и идентификации целевых аналитов нами были проведены SERS эксперименты: после измерения смачиваемости, образец промывался водой, высушивался, а затем снимались SERS спектры (Рис. 55).

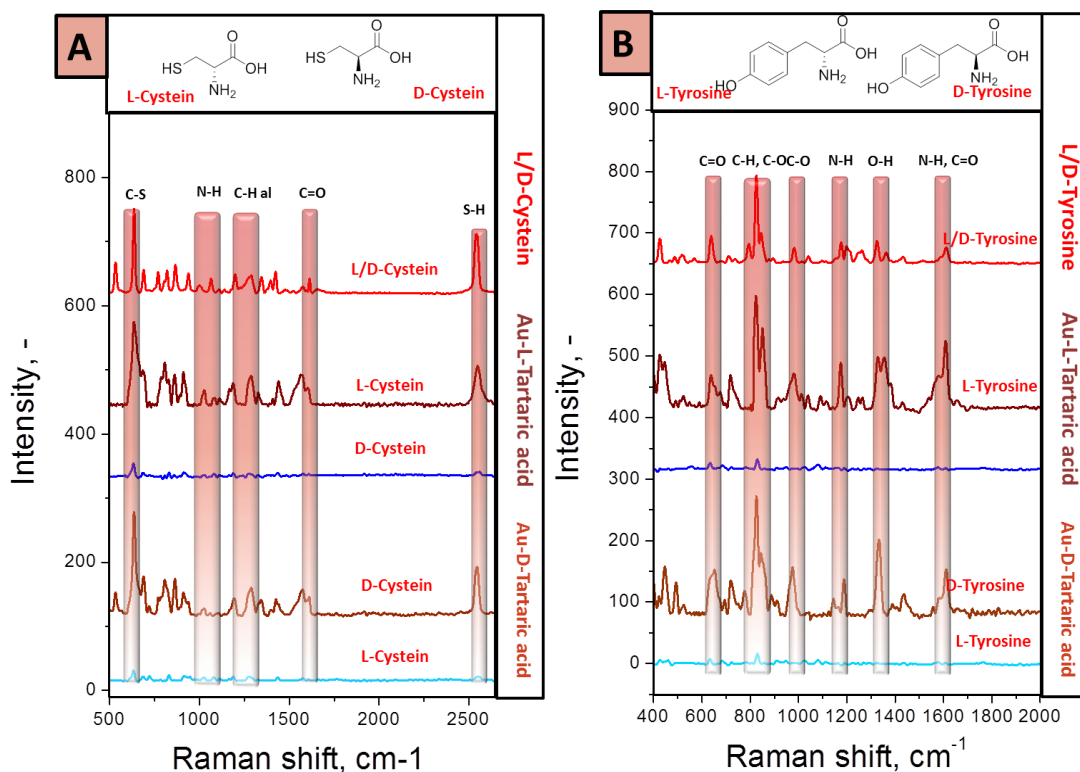


Рисунок 55. Обнаружение L и D-цистеина и тирозина в концентрации 10^{-8} M на золотых решетках Au-L/D-TA

Очевидно, что взаимодействие сенсоров Au-D-TA и Au-L-TA с оптическими антиподами не приводит к каким-либо спектральным изменениям, в то время как взаимодействие с энантиомерами совпадающей конфигурации приводит к значительным изменениям в спектрах SERS. Характерные полосы комбинационного рассеяния (для L / D-цистеина: 2543 cm^{-1} (SH), 1612 cm^{-1} (C = O), 1286 , 1201 cm^{-1} (C-H) алиф, 1058 , 995 cm^{-1} (N-H), 637 cm^{-1} (C-S); для L / D-тирозин 1613 - 1576 cm^{-1} (C=O) и (N-H), 1364 , 1326 cm^{-1} (O-H), 1200 cm^{-1} (N-H), 981 cm^{-1} (C-O), 844 - 792 cm^{-1} (CH алиф, C-O), 638 cm^{-1} (C = O) прекрасно соответствуют молекулярной структуре целевых аминов (рис. S5) [36]. Таким образом, нами была разработана двухступенчатая сенсорная система, позволяющая реализовать простое качественное определение аналита с помощью мобильного приложения «Dropangle», которая позволяет избирательно обнаруживать хиральные амины, а также оценивать концентрацию энантиомеров. Измерения SERS, выполненные на

том же сенсоре предоставляют информацию о молекулярной структуре хиральных аминов, позволяя точно распознавать энантиомеры.

Апробированная сенсорная система была использована для хирального определения биологически значимого анализита, лекарственного соединения 3-(3,4-дигидроксифенил)-L-аланина (ДОПА). Следует отметить, что L-ДОПА является широко применяемым препаратом для лечения болезни Паркинсона. Однако, коммерчески доступное лекарство, содержащее ДОПА может быть загрязнено D-энантиомером, снижающим активность L-ДОПА [224]. Результаты энантиоселективной дискриминации ДОПА, основанные на измерениях смачиваемости с использованием мобильного телефона, представлены на Рис.3. Сенсоры Au-L-TA и Au-D-TA были использованы для анализа обоих энантиомеров. Очевидно, что, как и в случае цистеин и тирозина, угол смачиваемости сильно зависит от присутствия хирально-чувствительного энантиомера ДОПА и его концентрации и может быть использовано для качественного анализа ДОПА (Рис. 56).

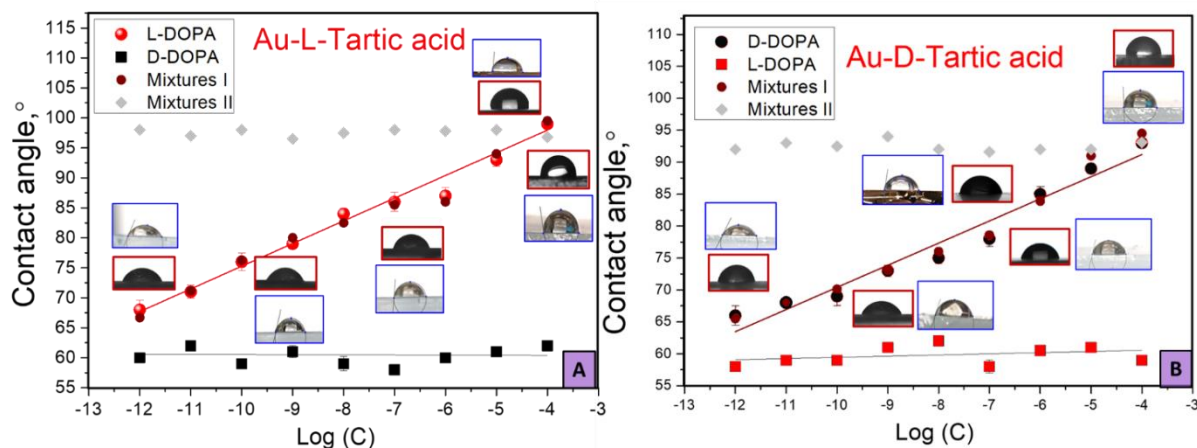


Рисунок 56. Зависимость угла смачивания от log (концентрации L/D-ДОПА), измеренные на А- Au-L-TA, В- Au-D-TA, а также при использовании рацемических смесей ДОПА

Мы также использовали разработанный подход для анализа двух энантиомерных смесей ДОПА, обозначенных как Смеси I (постоянная концентрация D-ДОПА 10^{-4} М, постепенное увеличение L-ДОПА) и Смеси II

(постоянная концентрация L-ДОПА 10^{-4} М, постепенное увеличение D-ДОПА). Полученные результаты (рис. 56) однозначно указывают на то, что значения угла смачиваемости чувствительны только к концентрациям энантиомеров с совпадающей хиральностью (L-ДОПА в случае Au-L-TA и D-ДОПА в случае Au-D-TA). Присутствие энантиомера с противоположной хиральностью в смеси не влияет на полученные значения угла. Таким образом, нами была показана возможность анализа смеси энантиомеров с хорошей разрешающей способностью.

Далее аналогичным образом после исследования смачиваемости нами были проведены SERS измерения на тех же образцах, которые позволили точно установить структуру аналита. Более информативные SERS результаты, полученные на сенсорах Au-L-TA и Au-D-TA, представлены на рис. 57А (спектры даны после вычитания спектров Au-L-TA или Au-D) (Рис. 57).

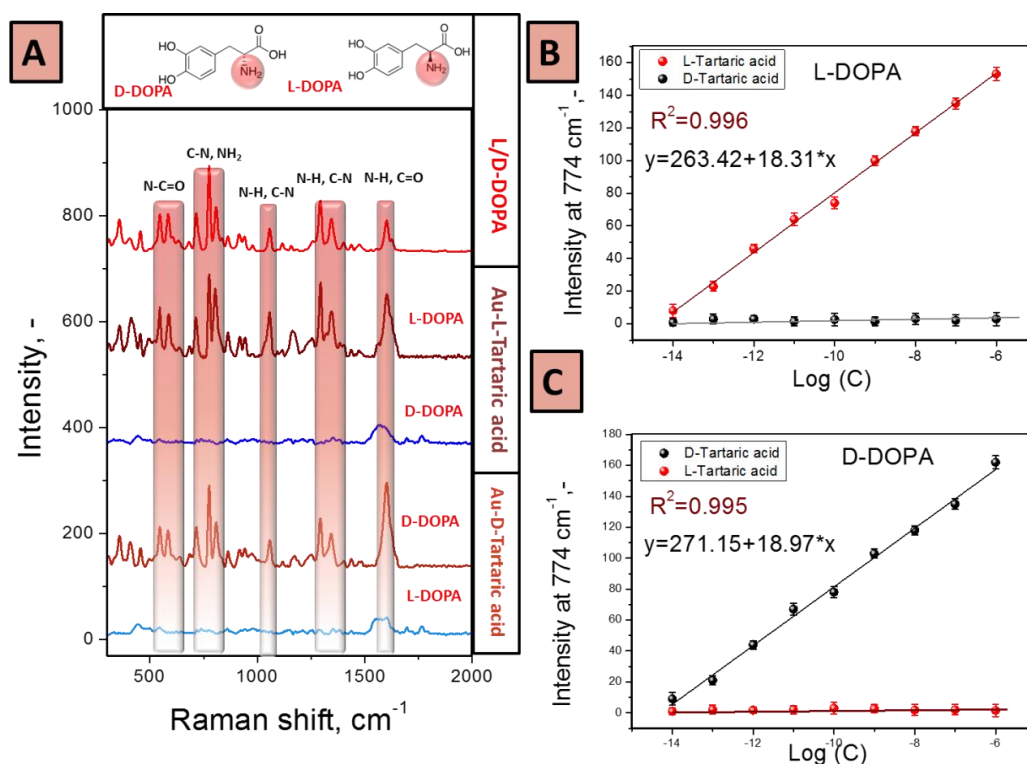


Рисунок 57. Детектирование L- и D-ДОПА в различных концентрациях на Au-L/D-TA, и соответствующие калибровочные прямые (спектры даны после вычитания спектров Au-L-TA (B) и Au-D-TA (C) соответственно).

На Рис. 57 отмечены изменения на SERS спектрах после взаимодействия с аналитами, которые позволяют определить молекулярную структуру захваченных молекул. На спектрах видны следующие полосы, характерные для ДОПА: $1600, 1630 \text{ см}^{-1}$, (N-H и C = O); $1344, 1294, 1056 \text{ см}^{-1}$ (N-H и C-N); $808, 774, 715 \text{ см}^{-1}$, (C-N и N-H); $543, 503 \text{ см}^{-1}$ (N-C-O). В случае несовпадения хиральности поверхности и аналита (взаимодействие сенсоров Au-L-TA с D-ДОПА или наоборот) спектральных изменений не обнаруживалось. Выраженный SERS пик ДОПА на 774 см^{-1} , был использован для построения калибровочной кривой (рис. 53). Как видно, интенсивность пика 774 см^{-1} линейно возрастает как функция логарифма концентрации энантиомеров ДОПА. В случае несовпадения хиральности интенсивность пика на 774 см^{-1} была почти постоянной, близкой к нулевому значению.

Полученные зависимости были использованы для точного определения концентраций L- и D-ДОПА в их смесях. Сравнение реальных концентраций энантиомеров ДОПА с измеренными методом SERS концентрациями представлено в Таблице 12, и демонстрирует удовлетворительную сходимость.

Таблица 12. SERS детектирование L / D-ДОПА из рацемической смеси на золотых решетках, модифицированных D / L-винной кислотой.

Au-D-TA				Au-L-TA			
$C_{\text{L-ДОПА}} \text{ (M)}$	$C_{\text{D-ДОПА}} \text{ (M)}$	Интенсивность сигнала на 774 см^{-1}	Рассчитанная концентрация D-ДОПА (M)	$C_{\text{D-ДОПА}} \text{ (M)}$	$C_{\text{L-ДОПА}} \text{ (M)}$	Интенсивность сигнала на 774 см^{-1}	Рассчитанная концентрация L-ДОПА (M)
10^{-4}	10^{-8}	116.2 ± 0.6	$10^{-8.05}$	10^{-4}	10^{-8}	118.8 ± 0.6	$10^{-8.03}$
10^{-4}	10^{-10}	78.5 ± 1.1	$10^{-10.10}$	10^{-4}	10^{-10}	77.6 ± 0.4	$10^{-10.20}$

10^{-4}	10^{-12}	41.3 ± 0.4	$10^{-12.03}$	10^{-4}	10^{-12}	43.5 ± 0.9	$10^{-12.04}$
-----------	------------	----------------	---------------	-----------	------------	----------------	---------------

Мы также продемонстрировали преимущества предлагаемой двухфункциональной платформы и аналитической процедуры для анализа ДОПА-содержащего коммерчески доступного препарата. Производитель утверждает, что одна таблетка содержит 120 мг ДОПА, в том числе минимум 60 мг L-изомера.

В таких биологически-активных добавках на основе экстрактов мукуны жгучей (*Mucuna pruriensis*), содержащих L-DOPA, помимо действующего вещества содержит в больших количествах другие аминокислоты (до 35%), жирные кислоты (до 7 %) и пищевые волокна (до 10%) [Chemical Compounds Found in «*Mucuna Puriens*»].

Являясь близким по составу к L-DOPA, фенилаланин, тирозин и другие аминокислоты способны оказывать влияние на результат определения. Поэтому для продуктов, содержащих аминокислоты, необходимо проведение дополнительной оценки мешающего влияния на результаты измерения содержания L-DOPA в БАДах.

Для изучения мешающего влияния нами проведены исследования на модельных образцах, содержащих L-DOPA и фенилаланин в различных соотношениях: 1:10 и 10:1. Полученные данные (табл. 13) доказывают отсутствие значимого мешающего влияния сопутствующих аминокислот на аналитический сигнал L-DOPA.

Таблица 13. Состав образцов и полученные результаты

№ п/п	Состав образца		Получено L- DOPA, мг
	L-DOPA	фенилаланин	
1	<u>40,0</u>	Не вводили	$39,2 \pm 0,9$
2	180	18,0	$180,2 \pm 2,4$
3	18,0	180	$18,1 \pm 0,2$

Экстракция ДОПА из капсулы была проведена по стандартной методике [225], лекарственное средство анализировалось путем измерения смачиваемости с использованием водного экстракта препарата и методом SERS.

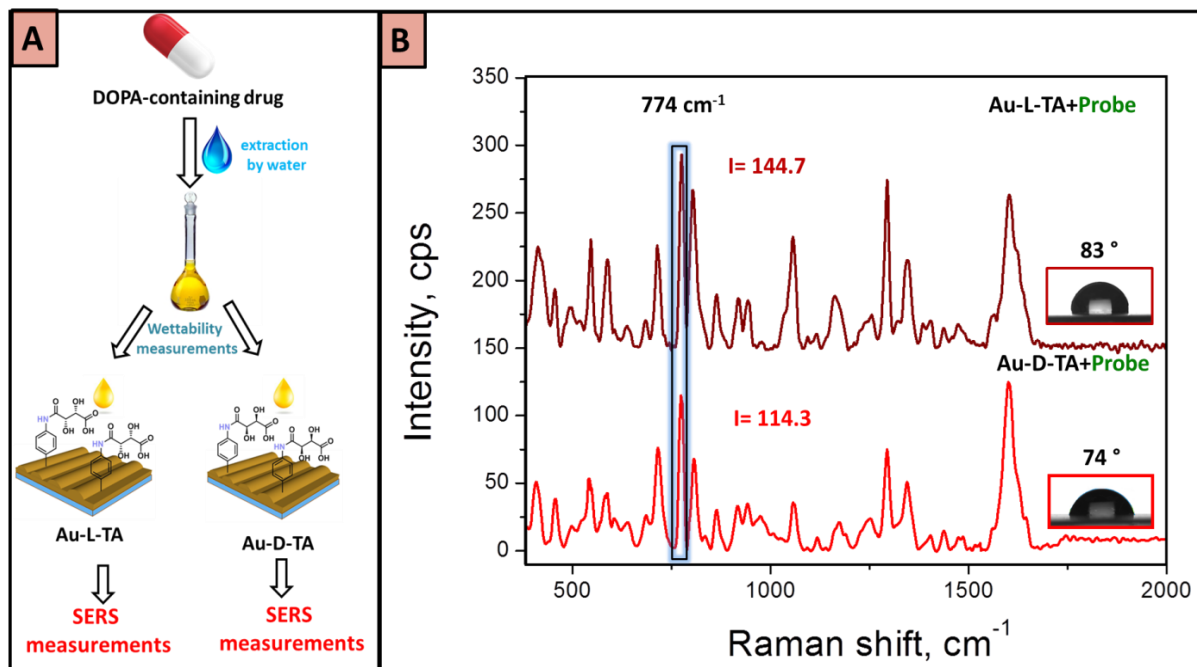


Рисунок 58. А) - схематическое изображение определения смачиваемости и SERS анализа ДОПА-содержащего лекарственного средства, (В) – результаты измерения смачиваемости и SERS-спектры, полученные при анализа экстракте лекарственного средства на Au-D-TA и Au-L-TA.

Полученные значения угла смачиваемости показывают присутствие L-ДОПА и D-ДОПА в препарате (Рис. 58). Из Рис видно, что SERS анализ образца Au-D-TA с нанесенной каплей экстракта приводит к увеличению интенсивность пика на 774 cm^{-1} до 115. Согласно уравнению полученному ранее $I = 263,42 + 18,31 * \log (C)$ (Фиг. 58), концентрация D-ДОПА была рассчитана $10^{-8,23} \text{ M}$ ($11,6 \pm 1,9 \text{ мг}$), тогда как в случае Au-L-TA согласно уравнению $I = 271,15 + 18,97 * \log (C)$ (фиг. 58C), концентрация L-ДОПА составляла $10^{-6,44} \text{ M}$ ($71,5 \pm 6,4 \text{ мг}$). Конечное количество L / D-ДОПА составляет 83 мг, тогда как энантиомерный избыток составляет 72%.

Сравнение приведенных выше результатов с контрольными измерениями (ВЭЖХ с хиральной колонкой), приведены в Таблице 14. Идеальное совпадение результатов ВЭЖХ с SERS измерениями доказывает применимость предлагаемого двухфункционального сенсора.

Таблица 14. Данные сравнительного анализа БАД на основе растительного экстракта, содержащего L-DOPA.

	Заявленное производителем (мг/капсуле)	Определенное с помощью ВЭЖХ(мг/капсуле))	Определенное с помощью разработанного сенсора (мг/капсуле))
L-ДОПА	не менее 120	69.5±7,1	71.5±6,4
D-ДОПА	-отсутствует	12.3±1,5	11.6±1,98

Как отмечалось ранее возможность регенерации сенсора и его повторного использования является одной из ключевых задач. Химическая стабильность золота позволила осуществить регенерацию полученного сенсора с помощью простого промывания раствором соляной кислоты при pH = 6.4 (Рис. 59)

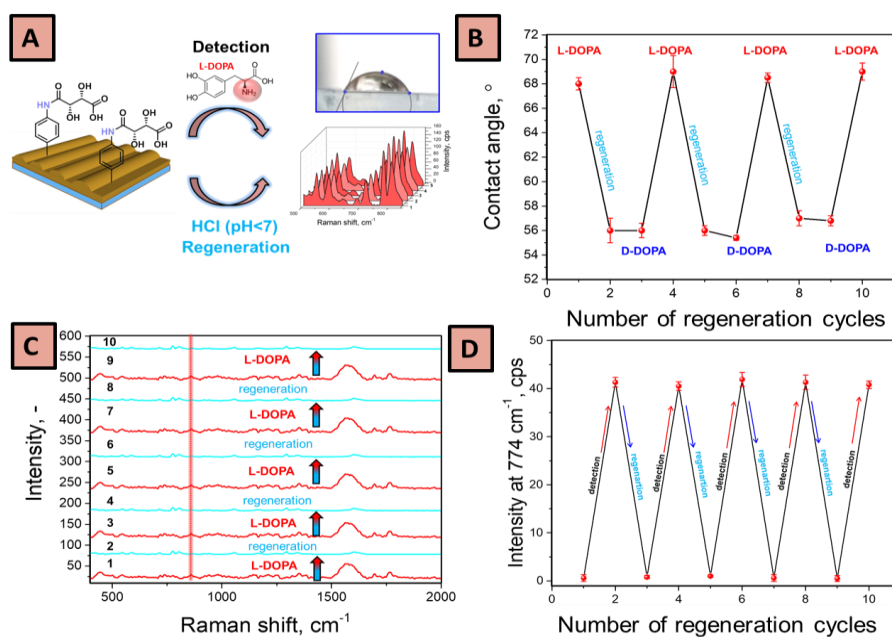


Рисунок 59. (А) -схема регенерации сенсора Au-L-TA, (В) - циклы смачиваемости; (С) - SERS спектры, полученные при повторном обнаружении L-ДОПА в концентрации 10^{-12} М, и (D) - соответствующее изменение относительной интенсивности SERS пика на 774 см^{-1} .

Как видно на Рис. 59, после регенерации сенсора дальнейшее измерение угла смачиваемости позволяет идентифицировать присутствие энантиомеров D- и L-ДОПА с такой же точностью. Измеренные углы показывают отличную сходимость и их значения практически не изменяются после пяти циклов использования / регенерации сенсора. Воспроизводимость SERS сигнала отображает зависимость интенсивности пика на 774 см^{-1} от цикла использования / регенерации (см. Рис. 59С). Даже после проведения пяти циклов, интенсивность выбранного пика остается постоянной.

Таким образом, в заключении данного раздела можно сделать вывод о том, что нами был предложен уникальный дизайн мультифункционального сенсора для энантиоселективного определения хиральных аминов. Использование сенсора основано на измерении угла смачиваемости (с использованием мобильного телефона) с использованием растворов аналитов, которые дает информацию о присутствии энантиомера и о его концентрации. На втором этапе, были проведены SERS измерения, которые позволяют сделать вывод о структуре аналита и более точно определить его концентрацию. Таким образом, преимущества предложенного подхода заключаются в:

1. Возможности первичной выборки аналитов с помощью простого и хирального метода определения смачиваемости
2. Впервые была показана возможность ультрачувствительного (10^{-14} М) SERS детектирования, что открывает новые возможности применения метода
3. Разработанный метод пригоден для определения лекарственных соединений, в том числе и в рацемической смеси на реальных объектах.

2.3.3 *Иммобилизация пористых металл-органических каркасов для обнаружения органофосфатных пестицидов*

Достигнутые успехи в области детектирования различных аналитов позволили нам задуматься о дальнейшем применении SERS-сенсоров. Еще одним классом опасных и широко распространённых соединений являются пестициды. Пестициды являются основными компонентами современного сельскохозяйственного сектора, в то время как мировой рынок пестицидов неуклонно растет с 1940-х годов. Фосфорорганические пестициды (ОПП) привлекают большое внимание как один из наиболее часто используемых видов пестицидов во всем мире [226]. Поэтому существует острая необходимость в разработке чувствительного, быстрого и надежного мониторинга ОПП для обеспечения безопасности пищевых продуктов, воды и окружающей среды. Как уже было описано, метод SERS является достаточно перспективным для обнаружения подобного рода аналитов.

Основными параметрами для эффективного мониторинга пестицидов с помощью SERS являются высокая чувствительность для распознавания следовых количеств пестицидов; надежная воспроизводимость и селективность при анализе реальных образцов; и портативность оборудования из-за необходимости использования в полевых условиях [227, 228]. Релевантная модификация поверхности SERS-активных субстратов может повысить селективность и воспроизводимость детектирования за счет увеличения сродства поверхности к аналиту, что позволит существенно расширить границы SERS-детектирования.

Вместе с тем выбор молекул-рецепторов для селективного взаимодействия с пестицидами представляет собой непростую задачу в виду широкой вариабельности структур. В качестве «распознающего» аналит органического слоя нами были выбраны новые и наиболее перспективные кандидаты для специфического захвата пестицидов - металлоорганические

каркасы (MOF), способные успешно адсорбировать молекулы пестицидов [229-231].

Нами был предложен метод поверхностной модификации золотых упорядоченных решеток посредством поверхностной модификации с использованием ADT-COOH, которая позволит создать «якорные» группы для последующего роста MOF-5 (Схема 27). После спонтанной модификации решеток и прививке 4-карбоксифенильных групп, нами был синтезирован MOF-5 по известной методике, маточная жидкость которого далее использовалась для роста MOF.

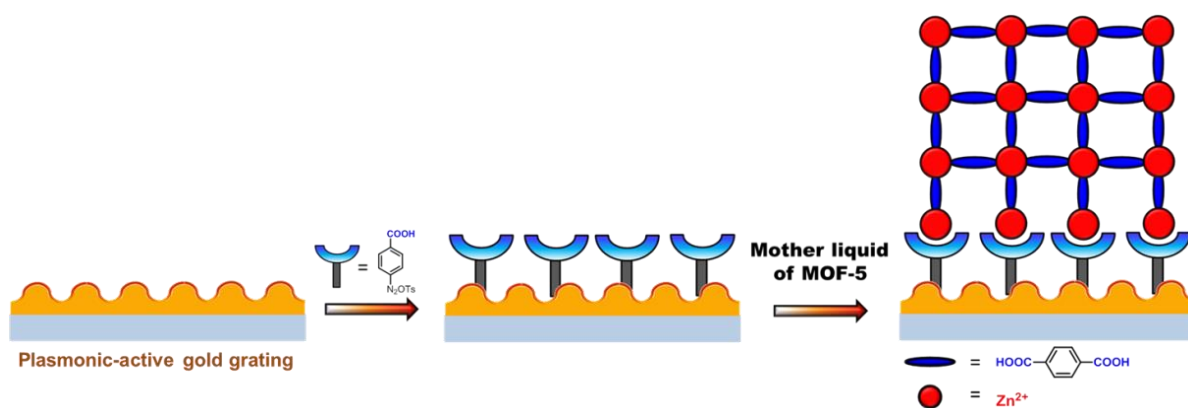


Схема 27. Схематическое изображение получения тонкой пленки MOF-5 на поверхности золотой решетки.

Модифицированный образец вертикально погружался в маточный раствор MOF-5 на 3 суток для спонтанного роста на предварительно модифицированной поверхности, затем образец промывался и высушивался. Рост органической пленки исследовался методами XPS, SERS, AFM, а так же XRD.

XPS-спектры (Рис. 60) показывают уменьшение поверхностной концентрации золота после прививки -C₆H₄-COOH и одновременное увеличение концентрации углерода и кислорода. После роста MOF наблюдается полное подавление пика золота и появление пиков на 1022,7 и 1045,8 эВ, связанных появлением цинка (Zn (2p 3/2) и Zn (2p 1/2) соответственно), что свидетельствуют об успешной иммобилизации MOF. По

результатам XPS было обнаружено, что молярное отношение Zn /C составляет 1: 5,2, что близко к соотношению 1: 6, характерному для октаэдрических координационных структур MOF-5 [232] (рис 56).

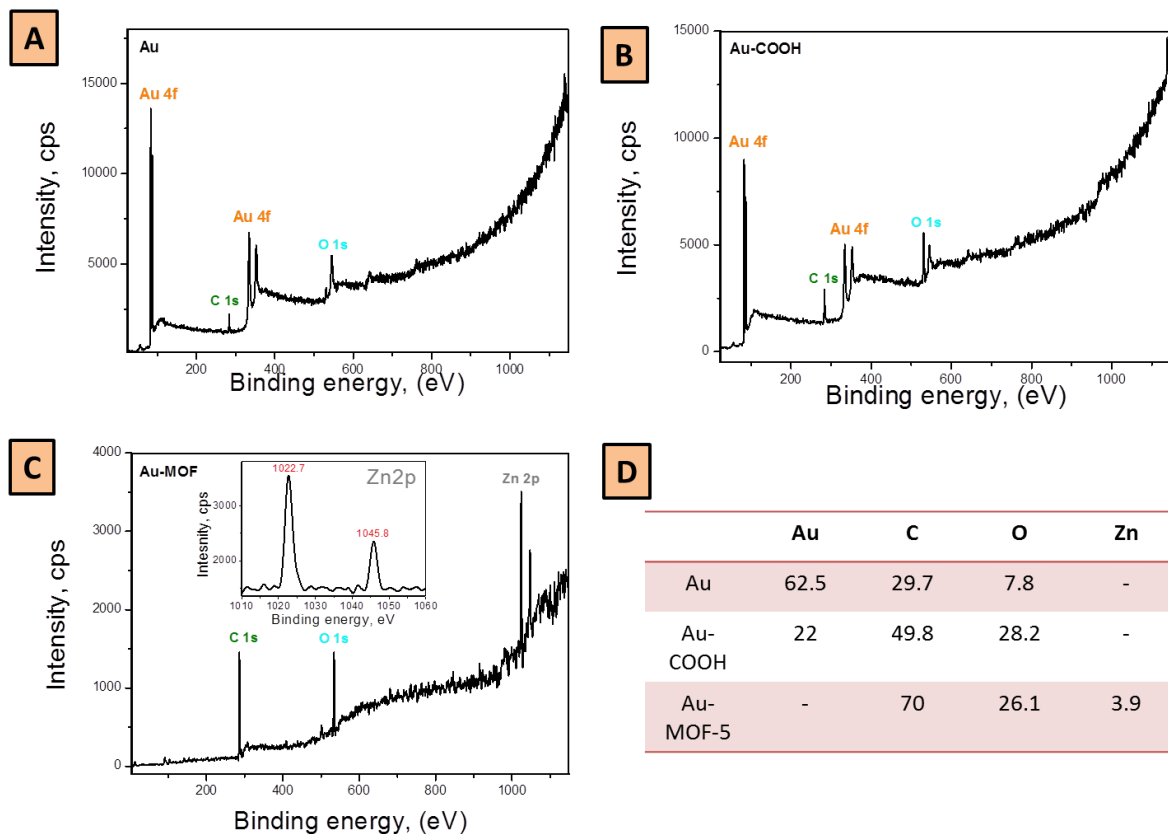


Рисунок 60. XPS спектры: А - золотой решетки, В - модифицированной ADT-COOH, С - с тонкой пленкой MOF-5, D - таблица с атомными концентрациями элементов на золотой решетке, модифицированной ADT-COOH, с тонкой золотой пленкой MOF-5

После роста MOF на SERS спектрах наблюдаются значительные изменения: сдвиги и появление новых пиков, типичных для MOF-5, в соответствии с ранее опубликованными данными [233, 234] (Рис. 61). В частности, наиболее информативным является пик C = O, который смещался до 1616 см^{-1} и 1442 см^{-1} из-за связывания с Zn^{2+} и образования MOF. Мы также наблюдали появление новых сигналов: 1542 , 1410 , 1295 , 1180 , 1125 , 872 , 830 и 628 см^{-1} , которые хорошо соответствуют SERS спектрам порошка MOF-5. Таким образом комбинация методов SERS и XPS подтверждает успешную прививку MOF-5 на поверхность золотой решетки.

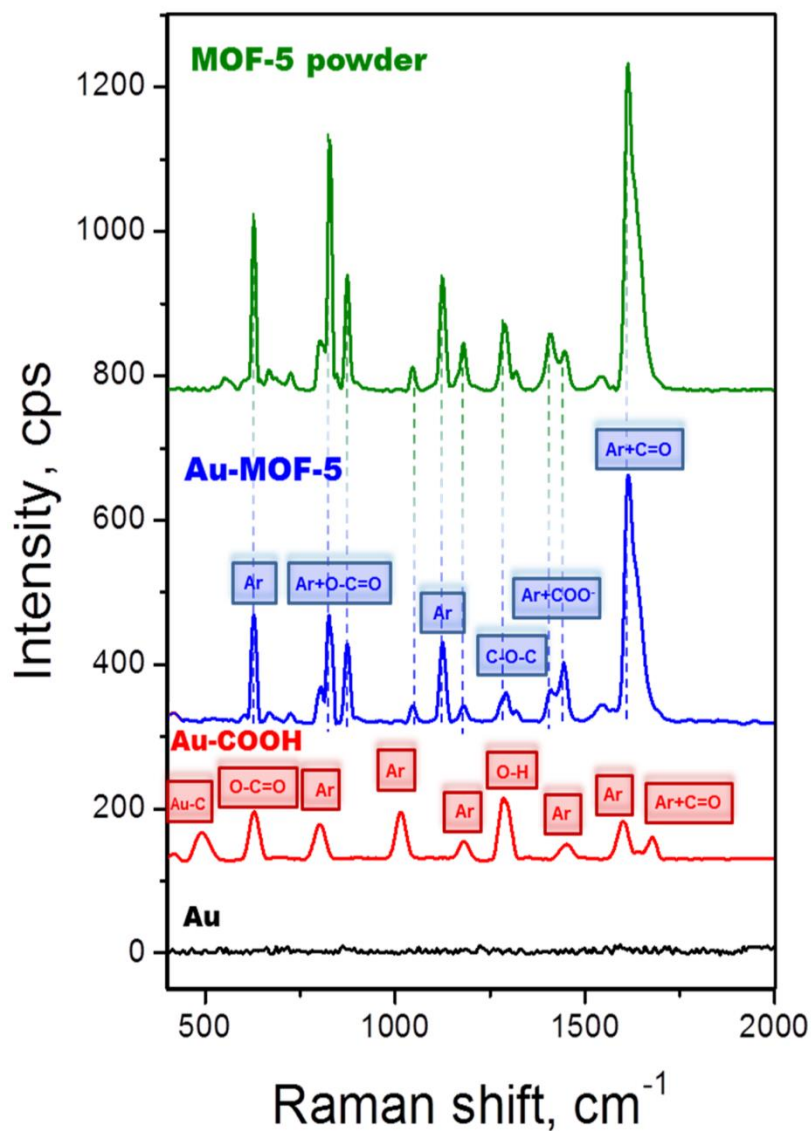


Рисунок 61. SERS спектры золотой решетки, модифицированной ADT-COOH, с тонкой золотой пленкой MOF-5

Одним из основных методов, способных подтвердить рост MOF является рентгеновская дифракция (XRD), которая способна дать информацию о кристалличности привитого органического слоя. Рентгенограммы представлены на рис. 61, и показывают результаты измерений золотых решеток до и после роста MOF.

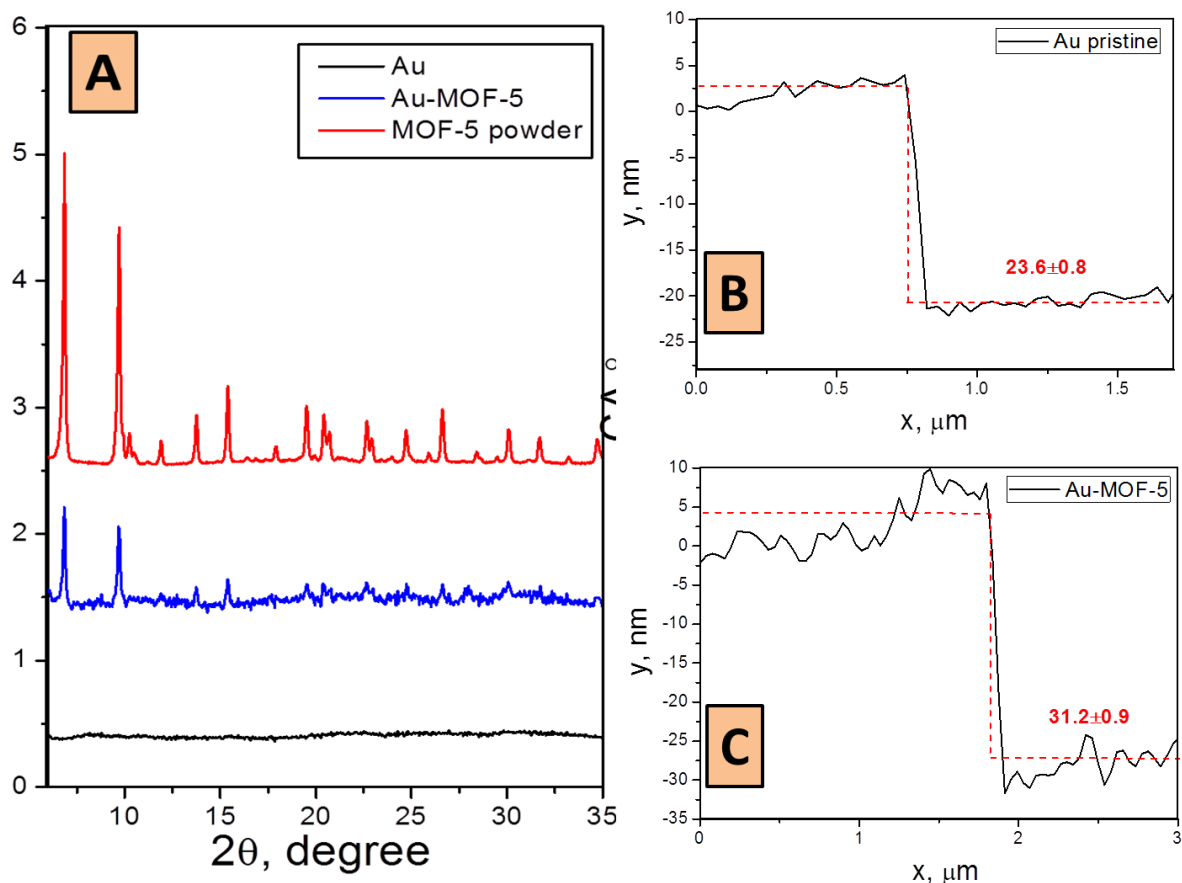


Рисунок 61. А - XRD золотой решетки, тонкой пленки MOF-5, порошка MOF-5; В - AFM профиль толщины золотой пленки; С - AFM профиль толщины золотой решетки с пленкой MOF-5

На рентгенограмме исходных решеток золота в области $0-35^\circ 2\theta$ не обнаруживается значимых сигналов в виду аморфности образца. Однако, поверхностный рост пленки MOF-5 приводил к появлению нескольких пиков со слабой интенсивностью. Наиболее характерные пики порошка MOF-5, расположенные в $6,8, 9,6, 13,7, 15,5, 19,0, 20,5, 22,6, 24,8, 26,6, 28, 30$ и $31,8^\circ$ хорошо коррелируют с пиками выращенного на золотой решетке MOF-5 [232, 233]. Более слабая интенсивность XRD сигнала Au может быть объяснена малой толщиной слоя MOFs. Для подтверждения данного факта нами были проведены измерения толщины слоя методами AFM. Результаты испытаний (рис. 61), показывают, что толщина MOF составляет $7,9 \pm 0,9$ нм. Этой толщины недостаточно для получения ярко выраженного XRD-сигнала,

однако, такая толщина является предпочтительной для SERS применений: пестициды, захваченные MOF, будут в непосредственной близости от золотой решетки, что позволит детектировать их с максимальной точностью.

Кроме того, метод AFM использовался для исследования изменений морфологии поверхности модифицированных решеток. AFM изображения дают информацию о структуре MOF-5 / Au с наноразмерным разрешением (рис. 62).

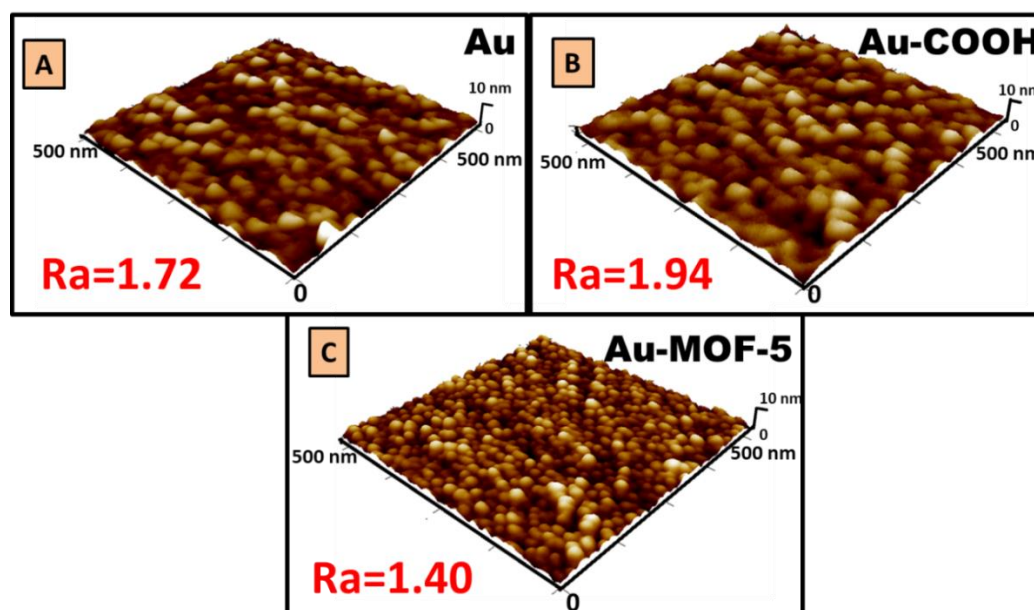


Рисунок 62. AFM морфология поверхности: (A) - золотой решетки; модифицированной (B) - ADT-COOH, (C) - пленкой MOF-5.

В случае немодифицированной золотой решетки выявляются морфологические особенности, характерные для пленки металла, полученной методом магнетронного напыления (рис. 62A). Прививка ОФГ -C₆H₄-COOH незначительно влияет на морфологию поверхности (Рис. 62) на наноразмерном уровне. Дальнейший рост MOFs приводил к сглаживанию поверхности и появлению менее выраженных морфологических признаков.

Далее мы перешли к исследованию применимости разработанного сенсора для детектирования ОРР. Мы предполагали, что уникальные способности MOF-5 позволят провести захват и SERS детектирование таких

пестицидов как параоксон и фенитротион. Нами были выбраны эти аналиты так как они представляют серьезную потенциальную угрозы здоровью человека и являются одними из самых распространённых на современном рынке.

Во-первых, мы исследовали способность полученных сенсоров захватывать пестициды с помощью SERS. Модифицированные образцы погружались в водные растворы OPPs с различными концентрациями (10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-10} , 10^{-12} и 10^{-14} M), затем промывались и анализировали с помощью SERS (рис. 63,64).

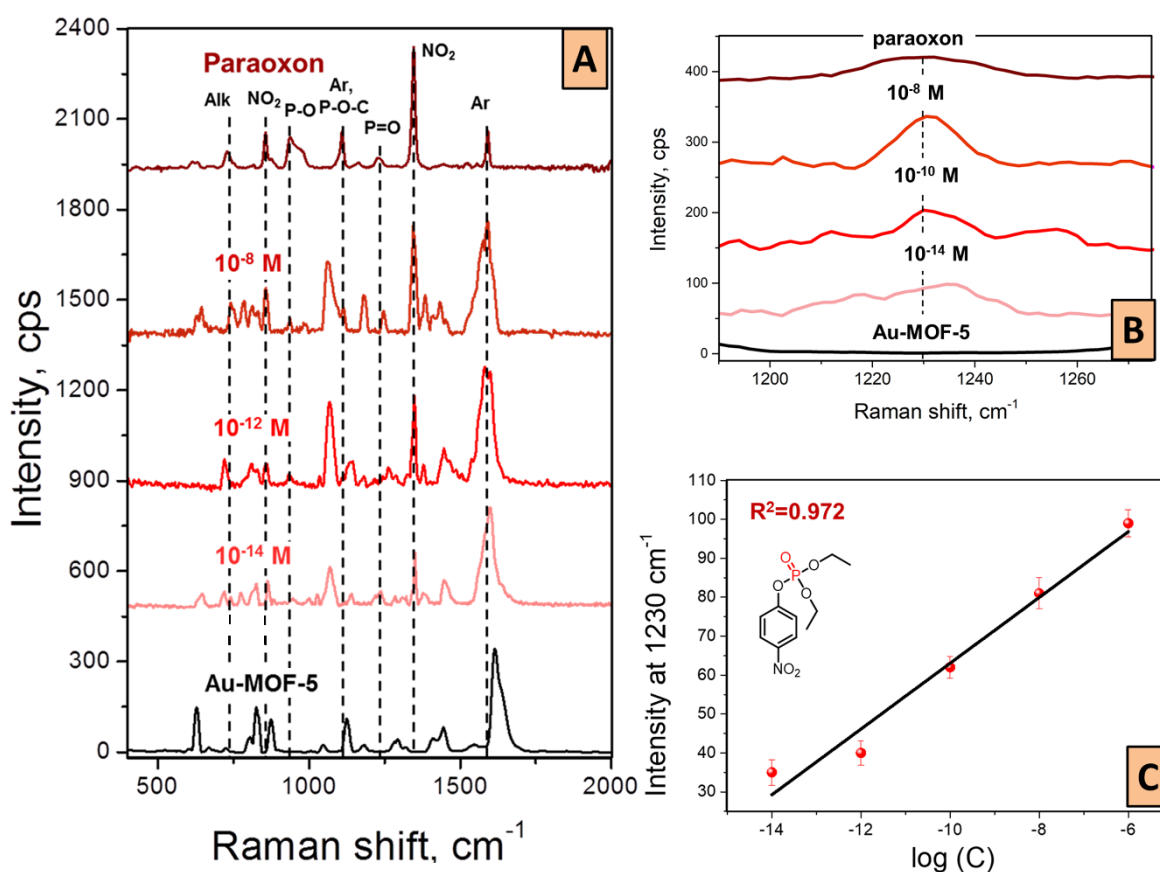


Рисунок 63. SERS детектирование: (A) - параоксона в различных концентрациях на золотых решетках с пленкой MOF-5 и соответствующие зависимости интенсивности пика SERS от концентрации аналита (B,C).

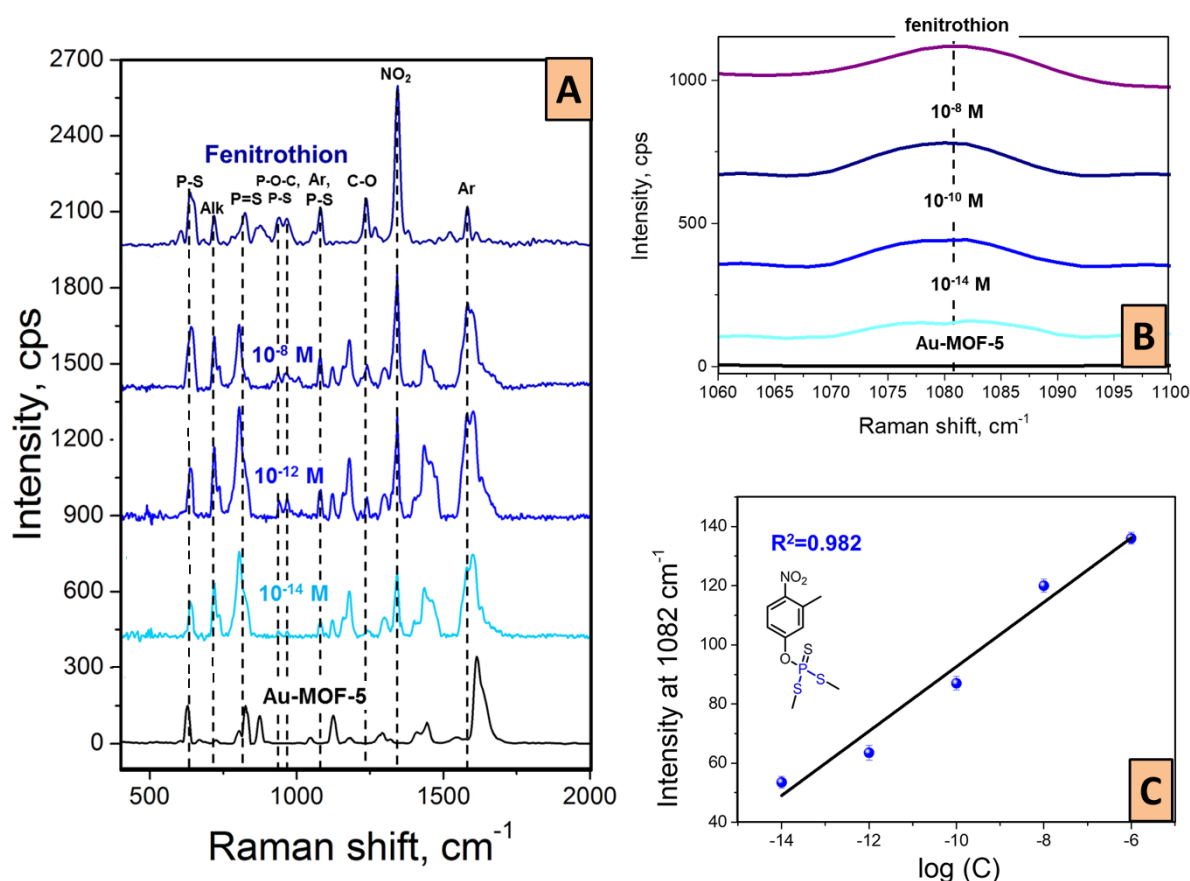


Рисунок 64. SERS детектирование: (A) - фенитротиона в различных концентрациях на золотых решетках с пленкой MOF-5 и соответствующие зависимости интенсивности пика SERS от концентрации аналита (B, C).

После взаимодействия с OPPs мы наблюдали значительные изменения спектров в характеристичных для пестицидов областях: для параоксона: 1590 cm^{-1} (Ar), 1346 cm^{-1} (NO), 1230 cm^{-1} (P = O), 1110-1000 cm^{-1} (Ar, P-O-C).), 942 cm^{-1} (P=O), 854 cm^{-1} (N-O) и 730 cm^{-1} (алкил); для фенитротиона 1582 cm^{-1} (Ar), 1342 (N-O), 1240 cm^{-1} (C-O), 1082-995 cm^{-1} (Ar, P-S), 966-938 cm^{-1} (POP, PS), 820 cm^{-1} (P = S), 716 cm^{-1} (аликл) и 645 cm^{-1} (P-S). Для определения LOD, был выбран пик на 1230 cm^{-1} для параоксона, и на 1082 cm^{-1} для фенитротиона (Рис. 63,64).

Далее была проведена оценка зависимости интенсивности пиков от концентрации пестицидов и построены калибровочные прямые (рис. 63C, 64C). Полученные зависимости демонстрируют линейный характер с

корреляционными коэффициентами 0.972 для параоксона и 0.976 для фенитротиона. Для предлагаемых SERS сенсоров LOD достигает значений 10^{-14} М (равных $2,8 \cdot 10^{-9}$ мг / л). Достигнутый предел обнаружения на два порядка ниже, чем максимально допустимый уровень OPPs (10^{-2} мг / л) в растениях и продуктах питания, разрешенных в соответствии с Постановлением Европейского парламента о максимальных остаточных уровнях пестицидов [235]. Таким образом, предлагаемые сенсоры являются платформами для количественного обнаружения OPPs. Сравнение полученных результатов с доступными литературными данными [226-228] показывает, что такой предел обнаружения можно оценивать как оптимальный, особенно с учетом скорости и простоты анализа. Кроме того, следует отметить, что все SERS измерения были выполнены с использованием портативного спектрометра и могут быть легко перенесены в полевые условия. Для исследования возможности практического применения предложенного сенсора на образцах, состав которых более близок к реальным, нами было проведено детектирование следовых количества OPP на образце почвы. Из соображений экологии и безопасности были выбраны следующие дополнительные загрязнители: фосфорорганический пестицид (параоксон), широко используемый диазокраситель (судан III) и микотоксин (фумонизин B1).

Все органические загрязнители были смешаны с образцом почвой в концентрациях, близких к LOD предлагаемого SERS сенсора. Затем подготовленный смоделированный образец почвы был последовательно проэкстрагирован рядом растворителей (вода, ацетонитрил, этанол и хлороформ) в соответствии ранее опубликованной методикой экстракции почвы [236] (схема процедуры экстракции представлена на рис. 65).

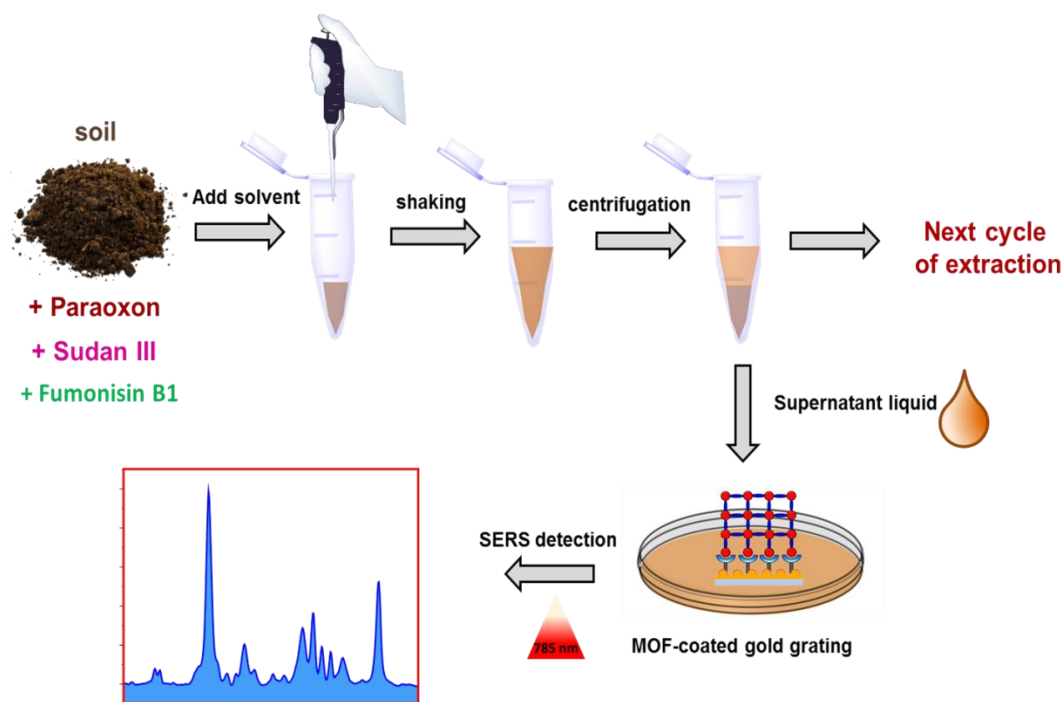


Рисунок 65. Схематическое изображение протокола последовательного извлечения и SERS-детектирования образца почвы

На рис. 65 представлены SERS спектры, измеренные после детектирования органических соединений функционализированными SERS субстратами из экстрактов различных растворителей. Во всех случаях проводились контрольные измерения SERS (спектр экстракта чистой почвы без загрязнителей - SERS пики, относящиеся к матрице почвы помечены серыми прямоугольниками).

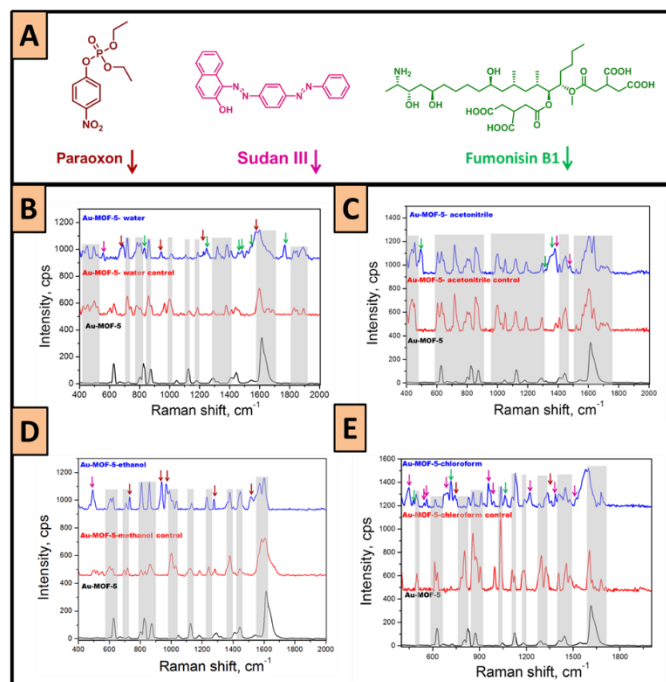


Рисунок 66. (А) - химические формулы анализируемых веществ и результаты SERS-измерения образца почвы: (В) - фракция воды, (С) - фракция ацетонитрила, (D) - фракция этанола, (Е) - фракция хлороформа.

Тщательный анализ SERS спектров позволяет обнаружить появление новых сигналов, которые не относятся к контрольным пикам почвы (Таблица 15) (обозначены цветными стрелочками, цвет которые соответствует формуле загрязнителя).

Таблица 15. Положение, интенсивность и обозначение полос SERS пиков на спектрах экстрактов почвенного экстракта

Растворитель	SERS пик		
	Волновое число, см^{-1}	Интенсивность	Принадлежность к веществу
H_2O	1765	S	Фумонизин
	1576	M	Параоксон
	1484	W	Фумонизин
	1456	W	Фумонизин

	1248	M	Фумонизин
	1233	M	Параоксон
	946	W	Параоксон
	833	S	Фумонизин
	688	W	Параоксон
CH ₃ CN	1481	M	Судан III
	1410	W	Судан III
	1380	S	Фумонизин
	1375	S	Фумонизин
C ₂ H ₅ OH	1517	M	Параоксон
	1350	S	Параоксон
	1231	S	Параоксон
	966	S	Параоксон
	940	S	Параоксон
	730	M	Параоксон
	496	M	Судан III
CHCl ₃	1526	W	Судан III
	1410	M	Судан III
	1400	M	Судан III
	1233	W	Параоксон
	1065	M	Фумонизин
	956	S	Судан III
	745	M	Параоксоне
	720	S	Фумонизин
	697	S	Судан III
	570	M	Судан III
	550	M	Судан III
	476	W	Параоксон

	450	S	Судан III
--	-----	---	-----------

*S -сильная интенсивность

M – средняя интенсивность

W - слабая интенсивность

Сравнение SERS спектров загрязняющих веществ (Параоксон, Фумонизин и Судан III) и полученных SERS спектров позволяет эффективно обнаруживать пестициды в почве. Таблица 16 суммирует результаты SERS измерений и убедительно демонстрирует селективность последовательной экстракции в сочетании функционализированными SERS субстратами. Большая часть параоксона была обнаружена в этаноле и водных экстрактах, а Судан III - в полярном хлороформе. Наконец, фумонизин B1 был обнаружен в воде и хлороформе. Количество обнаруженного пестицида рассчитывали из интенсивностей пика на 1230 см^{-1} и уравнения стандартной корреляционной прямой как сумма обнаруженного параоксона, экстрагированного водой, этанолом и хлороформом (таблица 16).

Таблица 16. Определение параоксона в почвенном матриксе путем экстракции и дальнейшего SERS анализа

Экстракт	Интенсивность на 1233 см^{-1}	Установленное количество, г	Суммарное количество, г	Добавленное количество, г	Процент извлечения, %
Вода	35.85	$1.58 \cdot 10^{-11}$	$2.73 \cdot 10^{-11}$	$2.8 \cdot 10^{-11}$	97.5
MeCN	-	-			
Этанол	34.3	$1.09 \cdot 10^{-11}$			
CHCl_3	31.5	$0.06 \cdot 10^{-11}$			

Мы обнаружили, что предлагаемый SERS сенсор позволил обнаружить 97,5% добавленного параоксона. SERS пик на 1230 см^{-1} может быть четко идентифицирован, даже когда его концентрация в почве составила всего 10^{-10} М. Данные результаты значительно превосходят традиционные методы

обнаружения пестицидов, такие как ВЭЖХ в значении LOD на реальных образцах [256, 257].

Далее нами были проведены SERS измерения в соответствии с методикой, описанной в экспериментальной части диссертации. Поскольку наиболее значимые результаты были получены в случае экстракции образца почвы этанолом и хлороформом, эти экстракты были использованы для оценки воспроизводимости. Нами были измерены интенсивности двух ярко выраженных SERS пиков на 1350 см^{-1} (N-O в параоксоне) и на 1222 см^{-1} (C-N в Судане III) на отдельно подготовленных образцах в семи точках (рис. 66).

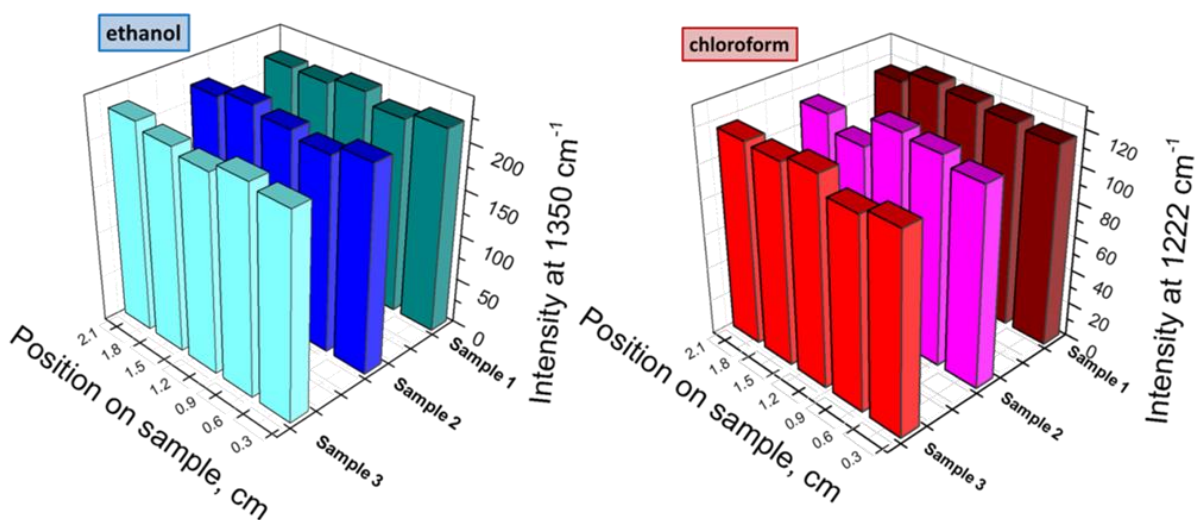


Рисунок 66. Результаты воспроизводимости SERS детектирования модельного образца почвы (фракции этанола и хлороформа).

Отклонение интенсивности SERS сигнала не превышает 4% вдоль поверхности образца: 2,8% в случае пика 1350 см^{-1} (параоксон) и 3,9% в случае пика 1222 см^{-1} (Судан III). Что касается отклонения между разными SERS сенсорами, то полученные значения среднеквадратического отклонения в условиях внутрилабораторной прецизионности составили: 3,6% для параоксона и 4,1% для Судана III. Полученные значения являются относительно малыми и не внесут существенный вклад, как оставляющая общей погрешности методики измерения при реализации метода.

Как было показано ранее [183, 202, 210], такая превосходная сходимость результатов комбинационного рассеяния может быть объяснена двумя фактами: возбуждением ППП на золотой решетке, которое приводит к гомогенному распределению интенсивности плазмона и отличному сродству MOF-5 к целевым анализам.

Таким образом по данному разделу можно сделать вывод о том, что разработанный метод получения SERS сенсора позволяет определять органофосфатные пестициды. Преимуществами разработанного сенсора являются:

1. LOD сенсора составляет 10^{-14} М, что существенно ниже чем максимальная разрешенная концентрация пестицидов.
2. Возможность детектирования целевого пестицида из образцов почвы (в том числе и возможность обнаружения побочных загрязнителей)
3. Однородное распределение интенсивности плазмона вдоль поверхности решетки обеспечивает высокую воспроизводимость SERS результатов.
4. Все SERS измерения были проведены с использованием портативного Рамановского спектрометра и могут быть легко применены для анализа окружающей среды в различных условиях

2.3.4 Прививка меркаптоянтарной кислоты на поверхность золотой решетки для детектирования ионов ртути (тиол-ин присоединение) ¹

Как нами было показано ранее, реакции ацилирования позволяют получать широкий ряд производных ОФГ на поверхности золота. Тем не менее, данный тип реакций сложно назвать универсальным. На сегодняшний день, расширение ряда возможных превращений на поверхностях является чрезвычайно актуальным для получения функциональных материалов.

Работа выполнена совместно с д.х.н. проф. М. М. Чехими (Университет Париж Эст, Французская академия наук)

Одной из наиболее реакционноспособных функциональных групп являются 4-этинилфенильные органические радикалы благодаря многообразию возможных превращения тройной связи $C\equiv C$ [237]. Одной из важнейших реакций ацетиленов является нуклеофильное присоединение тиолов, приводящее к образованию замещенных сульфидов [238]. Несомненным преимуществом данного превращения является возможность присоединения двух функциональных групп к одной молекуле ацетилена, что позволяет существенно повысить содержание активных групп для взаимодействия с аналитом.

Ионы ртути считаются одними из самых опасных загрязнителей в пищевых продуктах, воде и биосфере [239]. Высокая токсичность ионов ртути и широкое распространение в окружающей среде делают разработку экспрессных и надежных сенсоров для определения следовых концентраций Hg^{2+} чрезвычайно важной задачей. Ранее нами была предложена система для обнаружения широкого круга ионов тяжёлых металлов с помощью ковалентной прививки ДТПА на золотую решетку. Тем не менее, разработка высокоселективного SERS сенсора в отношении ионов ртути по-прежнему является востребованной [240, 241]. Очевидно, что эту задачу можно решить с использованием соответствующего «распознающего» слоя с высоким сродством к ионам ртути.

Тиолсодержащие лиганды являются широко известными хелаторами для ионов ртути, что обуславливает их широкое применение для создания сенсоров [243, 244]. Несколько групп продемонстрировали различные методы определения Hg^{2+} с использованием L-цистеина [244], цистеамин

[245], меркаптоянтарной кислоты [246], димеркаптоянтарной кислоты [247], меркаптопропионовой кислоты [248]. Меркаптоянтарная кислота (MSA), являющаяся дешевым и коммерчески доступным лигандом, способным образовывать стабильные комплексы с ионами Hg^{2+} , является одним из лучших кандидатов для прививки на плазмон-активную поверхность [248, 249].

Одним из элегантных способов прививки MSA на поверхность является реакции тиол-ен и тиол-ин сочетания, протекающие, в основном, под действием УФ-облучения [250-252]. Из органической химии известно, что видимый свет также может использоваться в качестве стимула для фотокаталитических превращений 4-этинильных групп в присутствии фотокатализаторов [253]. Очевидно, что использование солнечного света является более предпочтительным с точки зрения современной химии.

Нами было предложено использовать тиол-ин реакцию на поверхности золотых решеток между привитыми с помощью диазониевой химии 4-этинильными группами и MSA под действием солнечного света (схема 28)

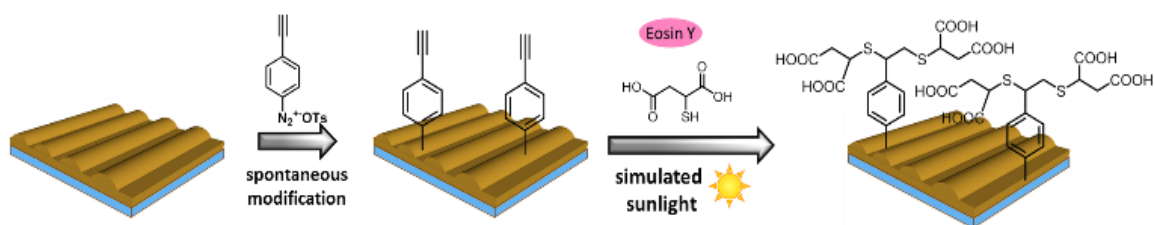


Схема 28. Получение золотых решеток с привитыми молекулами меркаптоянтарной кислоты с помощью тиол-ин реакции, инициируемой солнечным светом

Для прививки 4-этинилфенильных групп нами была использована разработанная методика спонтанной модификации поверхности с использованием 4-этинилбензолдиазоний тозилата ($\text{ADT-C}\equiv\text{CH}$). Образец погружали на 20 мин в раствор ADT, промывали и высушивали. Далее, полученные образцы анализировались с использованием SERS, XPS.

SERS позволила подтвердить успешную ковалентную прививку ADT по появлению полос колебаний, связанных с 4-этинилбензольными функциональными группами (рис. 65): 2198 см^{-1} (колебания $\text{C}\equiv\text{CH}$), 1594 см^{-1} (Ar), $1174, 1140\text{ см}^{-1}$ (CH плоскостные деформации), 994 см^{-1} (колебания $-\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}$), $810, 742\text{ см}^{-1}$ (C-H внеплоскостные деформаций), 642 см^{-1} (колебания $-\text{C}\equiv\text{CH}$), 492 см^{-1} (Ar), 400 см^{-1} (колебания $\text{Au}-\text{C}$), 300 см^{-1} (скелетные колебания $-\text{C}\equiv\text{CH}$).

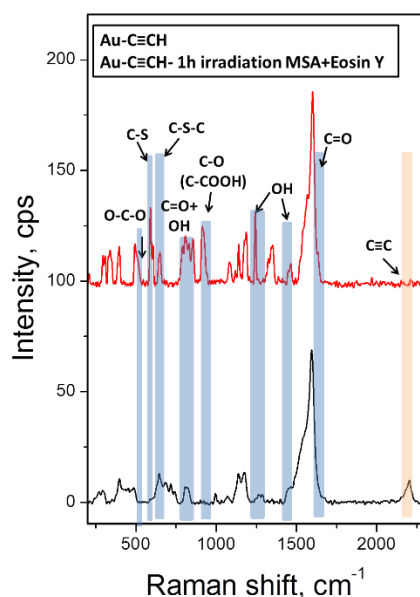


Рисунок 67. Рамановские спектры золотых решеток, модифицированных ADT- $\text{C}\equiv\text{CH}$, после прививки меркаптоянтарной кислоты

Кроме того, ковалентная прививка $-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}\equiv\text{CH}$ была подтверждена данными XPS (рис. 66). Увеличение интенсивности пика $\text{C}1\text{s}$ ($284,7\text{ эВ}$) и соотношение интенсивностей $\text{C}1\text{s}/\text{Au}4\text{f}$ указывают на успешную прививку органических функциональных групп (таблица 17). Таким образом, комбинация методов подтвердила прививку ОФГ, а разработанная методика спонтанной модификации решеток была расширена для использования ADT- $\text{C}\equiv\text{C}$. Стоит отметить, что ковалентная модификация, согласно данным AFM, не приводила к значимым изменениям морфологии поверхностей.

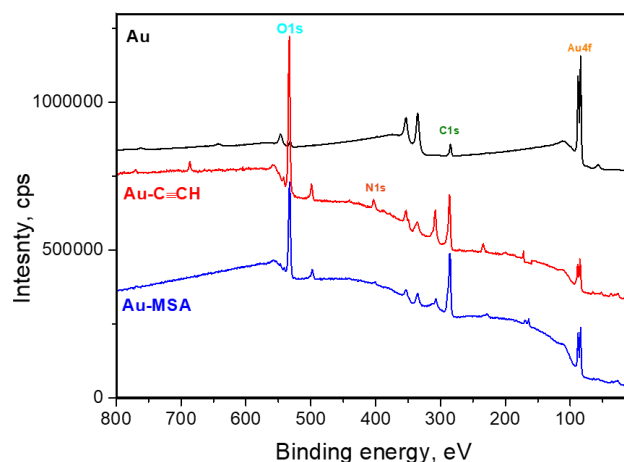


Рисунок 68. XPS спектры золотых решеток до и после модификации ADT-C≡CH, после прививки меркаптоянтарной кислоты

Таблица 17. Поверхностная концентрации элементов, рассчитанная по результатам исследования XPS для золотых решеток, модифицированных ADT-C≡CH, после прививки меркаптоянтарной кислоты

Образец	Поверхностная относительная концентрации элементов (at. %)				
	Au	C	O	N	S
Au	53.7	34.6	11.7	-	-
Au-C≡CH	14	48.2	32.5	5.3	-
A-MSA	2.5	53.2	39.8	1.3	3.2

Далее нами было проведено исследование реакционной способности ОФГ в реакции с MSA под действием солнечного света. Исследование реакции было начато с простого облучения модифицированных золотых решеток, погруженных в раствор MSA в ацетонитриле с использованием симулятора солнечного света. Детальные исследования модифицированной поверхности после облучения показали, что привитые ОФГ способны вступать в тиол-ин реакцию с MSA.

Мы наблюдали появление характерных полос от карбоксильных групп (1634 см^{-1} (колебания $\text{C}=\text{O}$), 1467 см^{-1} (плоскостные колебания OH), 1248 и 850 см^{-1} (деформационные колебания OH) и 520 см^{-1} ($\text{O}-\text{C}=\text{O}$)), а также связи

C-S (652 см^{-1} (колебания C-S-C) и 593 см^{-1} (колебания C-S)). Характерные сигналы также наблюдались на XPS спектрах (C-S S2p, 164 эВ) (рис. 67).

К сожалению, по данным SERS мы не достигли полной конверсии поверхностных 4-этинилфенильных групп. После одного часа облучения мы все еще наблюдали характерную полосу связи $\text{C}\equiv\text{C}$ на 2198 см^{-1} . Кроме того, согласно данным XPS, мы наблюдали появление пика, характерного для окисленной серы (SO_x S2p, 169 эВ), который может быть связан с побочными реакциями на поверхности (рис. 68, таблица 17).

Чтобы добиться полной конверсии привитых ОФГ, нами было решено апробировать подход, разработанный группой член-корреспондента РАН Аннаникова, с использованием Eosin Y в качестве фотокатализатора [253]. Простое добавление Eosin Y к раствору MSA с последующим облучением решеток в симуляторе солнечного света привело к полной конверсии поверхностных групп с образованием соответствующих тиоэфиров. После проведения реакции было обнаружено значительное изменение SERS спектров золотых решеток. Во-первых, исчезла наиболее характерная полоса $\text{C}\equiv\text{C}$ на 2198 см^{-1} , что указывает на полную конверсию ОФГ. Кроме того, появление сигналов на 1634 см^{-1} (колебания $\text{C}=\text{O}$), 1467 см^{-1} (плоскостные колебания OH), 1248 и 850 см^{-1} (деформационные колебания OH) и 520 см^{-1} ($\text{O}-\text{C}=\text{O}$) указывает на наличие свободных карбоксильных групп на поверхности в структуре привитого MSA. Кроме того, появление новых пиков на 652 см^{-1} (колебания C-S-C) и 593 см^{-1} (колебания C-S) и отсутствие сигнала на 2600 см^{-1} (растяжение SH) указывают на полную конверсию ОФГ на поверхности золотых решеток [254]. На XPS спектрах после образования соответствующих тиоэфиров можно четко наблюдать появление пика S2p (163,9 эВ), и увеличение относительной интенсивности пиков C1s и O1s (рис. 68) из-за прививки MSA.

Полученные образцы с ковалентно привитыми MSA-группами были исследованы в качестве сенсорной системы для обнаружения ионов ртути в растворах с концентрацией от 10^{-6} М до 10^{-10} М (рис. 69).

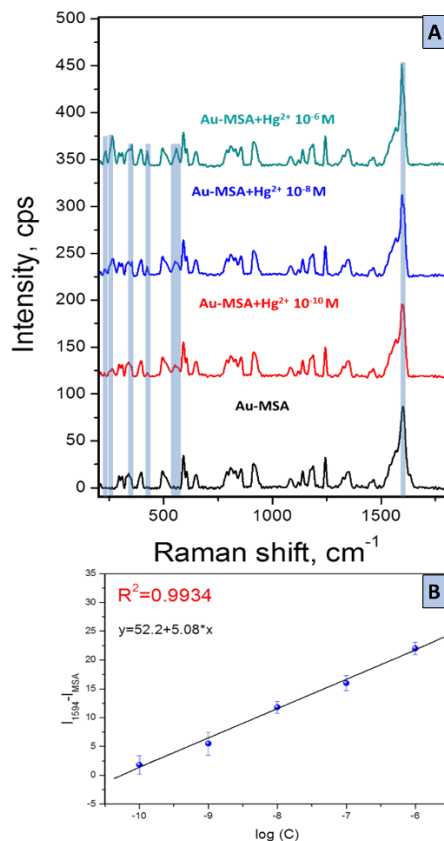


Рисунок 69. (A) SERS-спектры золотой решетки с привитой меркаптосукциновой кислотой в присутствии Hg^{2+} в различных концентрациях (от 10^{-10} до 10^{-6} М), (B) калибровочная кривая сенсора в диапазоне концентраций ионов Hg^{2+} .

Модифицированные золотые решетки погружали в 15 мл водного раствора хлоридов ртути с различными концентрациями на 20 минут. Затем Au-MSA промывали водой, высушивали и затем анализировали на Рамановском спектрометре. После взаимодействия привитых на поверхность молекул MSA с ионами Hg^{2+} мы наблюдали значительные изменения в области SERS спектров, ответственной за колебания карбоксильной группы 1580-1650 cm^{-1} .

Пик на 1633 cm^{-1} (C = O в структуре MSA) исчезал одновременно с появлением нового пика на 1594 cm^{-1} , что свидетельствовало об успешном

захвате Hg^{2+} карбоксильной группой [255, 256]. С увеличением концентрации Hg^{2+} , интенсивность пика на 1594 см^{-1} соответственно увеличивалась, демонстрируя образование комплекса MSA-Hg (рис. 70). Кроме того, на спектрах обнаруживаются новые пики на $233, 366\text{ см}^{-1}$ (Hg-Cl), 265 см^{-1} (-COO-Hg), 425 см^{-1} (Hg-O) и 558 см^{-1} (C-Hg-C), подтверждающие связывание ионов ртути с карбоксильными группами [257, 258].

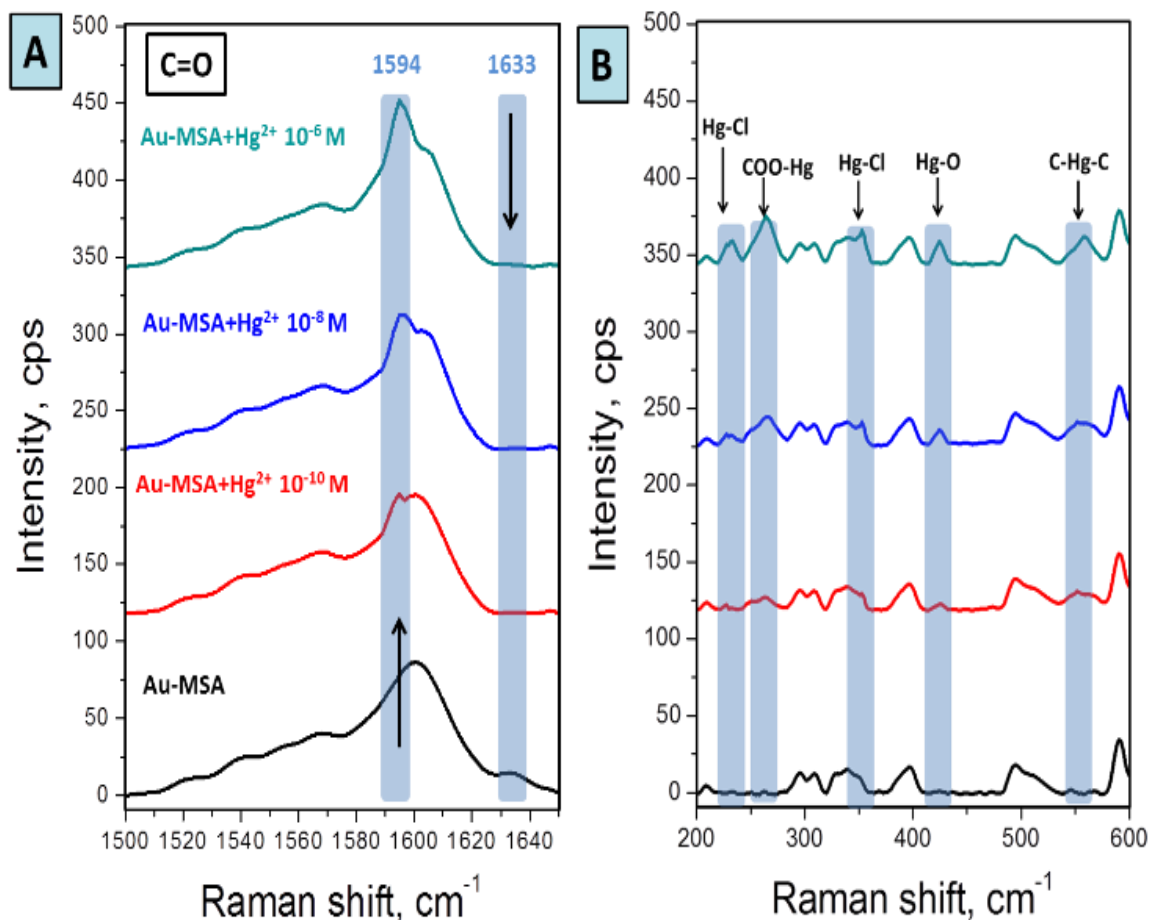


Рисунок 70. А - смещение пика $\text{C}=\text{O}$ в зависимости концентрации Hg^{2+} , В - увеличенная область ($200\text{-}600\text{ см}^{-1}$) SERS спектров, свидетельствующая об образовании комплекса MSA с Hg^{2+}

Линейная зависимость была построена в координатах $\log$ (концентрация Hg^{2+}) - интенсивность пика на 1594 см^{-1} (после вычитания интенсивности пика на 1594 см^{-1} на образце Au-MSA) (рис. 69). Стандартная градуировочная зависимость описывается уравнением прямой $Y = 52,2 + 5,08 * X$, которое

определяет линейную зависимость с коэффициентом корреляции 0,9934 в широком диапазоне концентраций.

В результате расчета по 3-сигмовому критерию нижнего предела обнаружения и минимально определяемой концентрации (LOD) из зависимости среднеквадратического отклонения интенсивности пика на 1594 см^{-1} от концентрации ртути (рис. 71) предлагаемый SERS сенсор способен обнаруживать Hg^{2+} в концентрациях до 10^{-10} М , что эквивалентно $0,027\text{ мкг/л}$ (табл. 18).

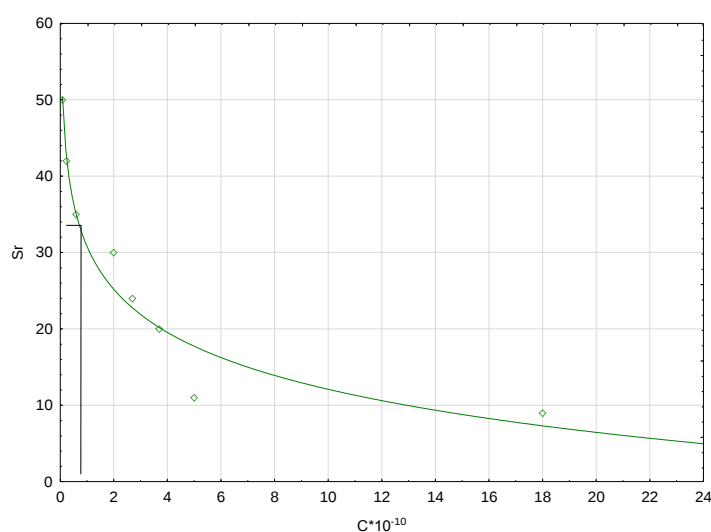


Рис 71. Зависимость относительного стандартного отклонения интенсивности сигнала в области 1594 см^{-1} от концентрации ртути.

Таблица 18. Нижняя граница определяемых содержаний и предел обнаружения ртути
($n = 6$; $P = 0,95$)

$C_n, \text{ М}$	$C_{min,p}, \text{ М}$
$4,3 \cdot 10^{-11}$	$1,3 \cdot 10^{-14}$

Полученный LOD намного ниже, чем максимальный допустимый уровень ртути (2 мкг/л) в питьевой воде и пресной воде ($0,77\text{ мкг/л}$), разрешенный в Соединенных Штатах и Европе [257, 258]. Таким образом, разработанный SERS сенсора может быть эффективно использован для оценки качества воды.

Одной из основных характеристик SERS сенсоров для определения металлов является селективность. Нами была изучена селективность с помощью сравнения SERS спектров, снятых после взаимодействия Au-MSA с водными растворами Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cr^{2+} и с целевым ионом Hg^{2+} (10^{-8} М). На рис. 72А показано, что нецелевые ионы металлов практически не реагируют с поверхностью сенсора, положение пика $\text{C}=\text{O}$ практически не изменилось по сравнению с Au-MSA (1594 см^{-1}).

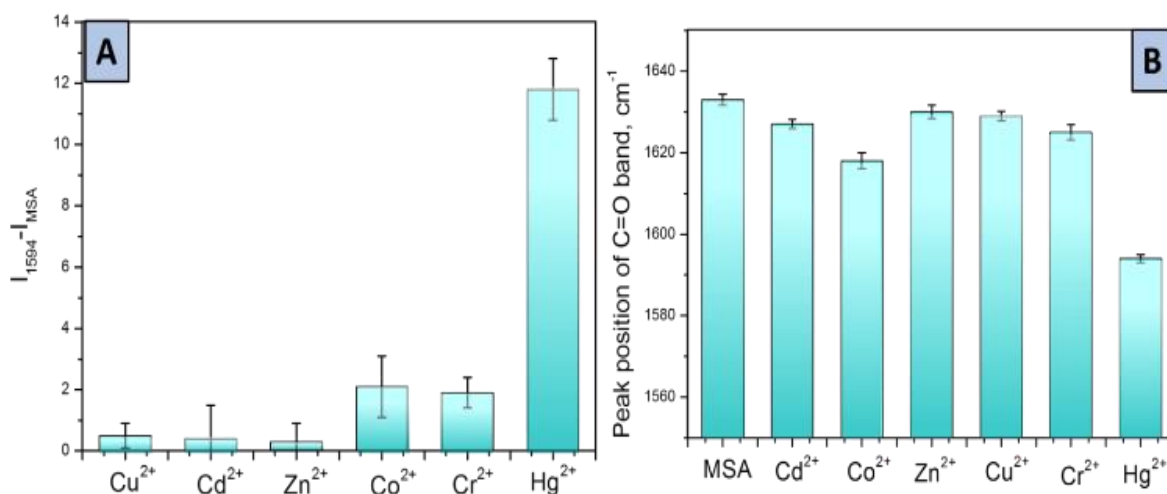


Рисунок 72. Исследования селективности: А – различия в интенсивности пиков для Au-MSA и их комплексов с ионами металлов, В – Значения сдвига пика $\text{C}=\text{O}$ в зависимости от типа иона металла (10^{-8} М)

Незначительное увеличение интенсивности было обнаружено в случае вымачивания в Co^{2+} и Cr^{2+} , что может быть объяснено физической сорбцией на поверхности золота. Как было показано ранее, положение SERS сигнала, ответственного за связь $\text{C}=\text{O}$ в структуре хелатирующих функциональных групп, таких как ДТРА, может изменяться после взаимодействия с ионами металлов из-за образования комплексов. Поэтому мы также продемонстрировали зависимость положения пика $\text{C}=\text{O}$ от типа иона металла (Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cr^{2+} , Hg^{2+}) после взаимодействия с Au-MSA в течение 20 минут (рис. 69В). В случае обнаружения целевых ионов Hg^{2+} смещение положения пика $\text{C}=\text{O}$ составляло 39 см^{-1} , тогда как для всех

других металлов это значение не превышало 10 см^{-1} , за исключением Co^{2+} . Исходя из полученных результатов, можно утверждать, что разработанный сенсор обладает высокой селективностью обнаружения ионов ртути.

Далее нами были проведены SERS измерения в соответствии с методикой, описанной в экспериментальной части диссертации. Было обнаружено, что отклонение интенсивности пика (1594 см^{-1}) на одном образце составляет 5,2%, а отклонение между 3 образцами не превышает 6,8% (Рис. 73).

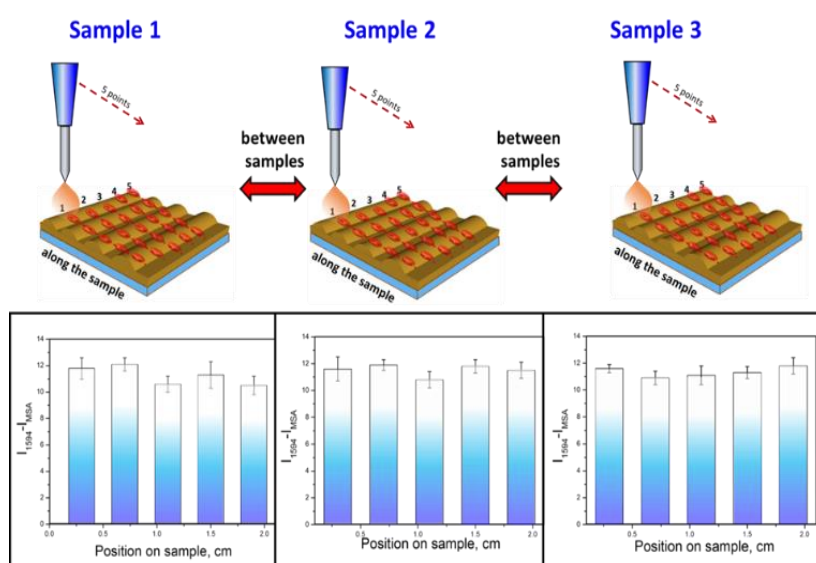


Рисунок 73. Исследования воспроизводимости функционализированного SERS субстрата при детектировании Hg^{2+} : изменение интенсивности пика на 1594 см^{-1}

Кроме того, как указывалось ранее, SERS измерения проводились на портативном Рамановском спектрометре с временем сбора спектров 90 секунд. Таким образом, сочетание высокой гомогенности SERS сигнала и высокого коэффициента усиления и модификации поверхности с помощью MSA, позволило добиться специфического обнаружения Hg^{2+} и высокой воспроизводимости даже без использования статистических методов на портативном Рамановском спектрометре.

Нами было показано, что превращения привитых ОФГ могут быть проведены с использованием не только реакции ацилирования, но и с

использованием видимого света, что расширяет арсенал поверхностной химии. Однако, перед нами встал вопрос, возможно ли разработать методы трансформации ОФГ с использованием свойств плазмон-активного субстрата, то есть с использованием плазмонного катализа.

2.4 Превращения органических функциональных групп на поверхности золотых решеток под действием плазмона

2.4.1 Плазмон-индуцированное селективное восстановление тройных связей на золотых/палладиевых решетках с 4-этинилфенильными группами

Имея в руках разработанную методику иммобилизации ацетиленовых групп на поверхность, перед нами встал вопрос о дальнейших возможных превращениях, которые могут приводить к получению полезных ОФГ. Одними из таких групп могут являться труднодоступные этиленовые ОФГ, которые могут также вступать в широкий ряд возможных трансформаций [271]. Для этого нами была предложена реакция восстановления 4-этинильных групп, индуцированная ППП. Мы предположили, что использование гетероструктур металлов Au/Pt может значительно увеличить время жизни «горячих» электронов (благодаря плазмон-экситонному взаимодействию и эффективному поглощению электронов Pt) и повысит селективность реакции. Известно, что одним из привлекательных способов регулировки селективности плазмонных химических трансформации является применение биметаллических плазмон-активных гетероструктур [272, 273]. Синергетический эффект биметаллических гетероструктур объясняется двумя основными факторами: повышенным сродством специфического реагента к биметаллической поверхности и / или значительным увеличением времени жизни горячих электронов [274, 275]. В частности, химическая инертность плазмон-активных металлов (Au и Ag) компенсируется включением второго металла, который создает новые активные области для запуска реакции [276]. Кроме того, добавление Pt и подобных металлов облегчает разделение генерируемых плазмонами горячих электронов и дырок на границе раздела и, таким образом, значительно

повышает эффективность реакции за счет перехода горячих электронов [271-276].

Поэтому в качестве объекта исследования нами были выбраны золотые решетки, покрытые тонким слоем платины. На поверхность золотых решеток платина наносилась с помощью восстановления хлороплатиновой кислоты с использованием аскорбиновой кислоты (Рисунок 74).

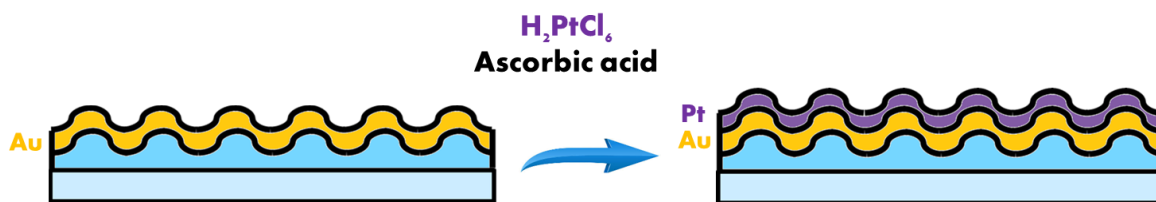


Рисунок 74. Схема нанесения слоя платины на золотую решетку

Реакция восстановления платины проводилась в диапазоне 1-60 минут. Нами была обнаружена зависимость толщины пленки платины от времени реакции: после периода инициации (около 5 мин) слой Pt растет линейно со скоростью около 0,4 нм / мин (Рисунок 75).

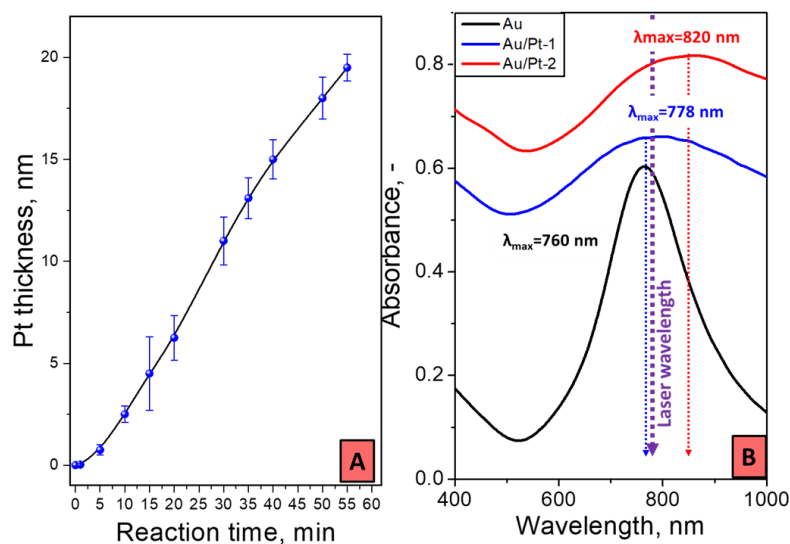


Рисунок 75. А - зависимость толщины Pt на поверхности Au от времени восстановления H_2PtCl_6 , В - УФ-видимые спектры золотой решетки до и после нанесения слоя Pt (образцы Au/Pt-1 и Au/Pt-2).

Толщина платиновой пленки на золоте была определена с помощью XPS и «скрэтч»-тестов с использованием AFM (Таблица 19).

Таблица 19.

Поверхностная концентрации элементов, рассчитанная по результатам исследования XPS для Au/Pt-1 (15 минут восстановления H_2PtCl_6 на поверхности Au), Au/Pt-2 (40 минут восстановления H_2PtCl_6)

Образец	Концентрация элементов, (%)			
	C (1s)	O (1s)	Au (4f)	Pt (4f)
Au	52	17	31	-
Au/Pt-1	60	22	-	18
Au/Pt-2	55	18	-	27

Для дальнейших исследований нами были выбраны 2 значения толщины Pt: 4,7 нм (в дальнейшем обозначается как Au/Pt-1, получена после 15 минут реакции) и 15,1 нм (далее обозначается как Au/Pt-2, получена после 40 минут реакции).

XPS анализ показал, что химическое восстановление хлороплатиновой кислоты в течении 15 минут привело к появлению пика Pt на XPS спектрах в области 71.2 эВ (Pt 4f). Увеличение времени реакции до 40 мин (Au/Pt-2) привело к увеличению концентрации платины с одновременным уменьшением концентрации золота.

Кристаллическая структура полученных ППП-активных решеток была исследована методом XRD до и после осаждения Pt. На спектрах обнаруживаются пики кубической кристаллической фазы Pt в обоих случаях (Au/Pt-1 и Au/Pt-2) (Рис. 77).

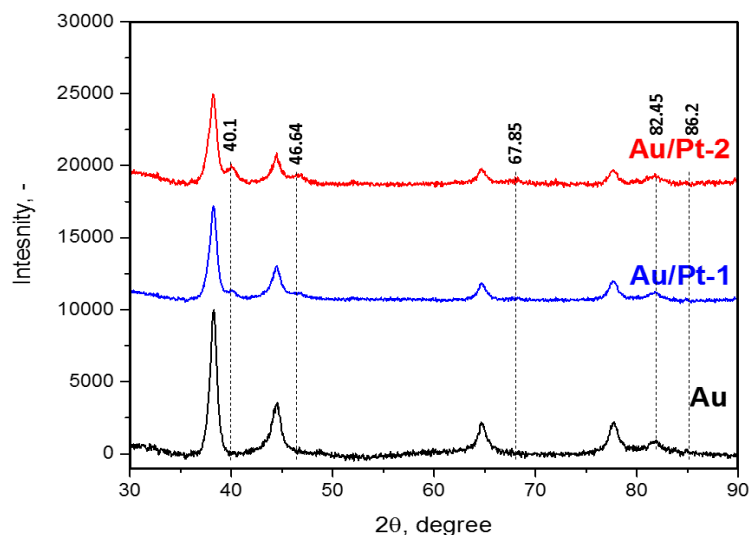


Рисунок 77. XRD спектры решеток Au, Au / Pt-1 и Au / Pt-2.

Кроме того, были исследованы оптические свойства полученных образцов (рис. 78). Золотая решетка имеет ярко выраженную полосу поглощения на 760 нм. Нанесение тонкого слоя Pt привело к значительному уширению полосы поглощения и ее смещению в длинноволновую область. Дальнейшее увеличение толщины Pt не влияло на ширину плазмонного пика, но сдвиг длины волны становится более ярко выраженным. Жирной стрелкой на рис. 2В показана длина волны лазера, которая использовалась для плазмонного катализа на биметаллической гетероструктуре.

Изменения морфологии поверхности после осаждения Pt исследовались с помощью AFM (рис. 78). Исходная поверхность решетки представляет собой упорядоченную периодическую поверхность синусоидальной формы. Добавление слоя Pt не влияет на параметры решетки с точки зрения периодичности и амплитуды, но существенно меняет наноструктуру поверхности. Этот эффект более выражен в случае большего количества Pt.

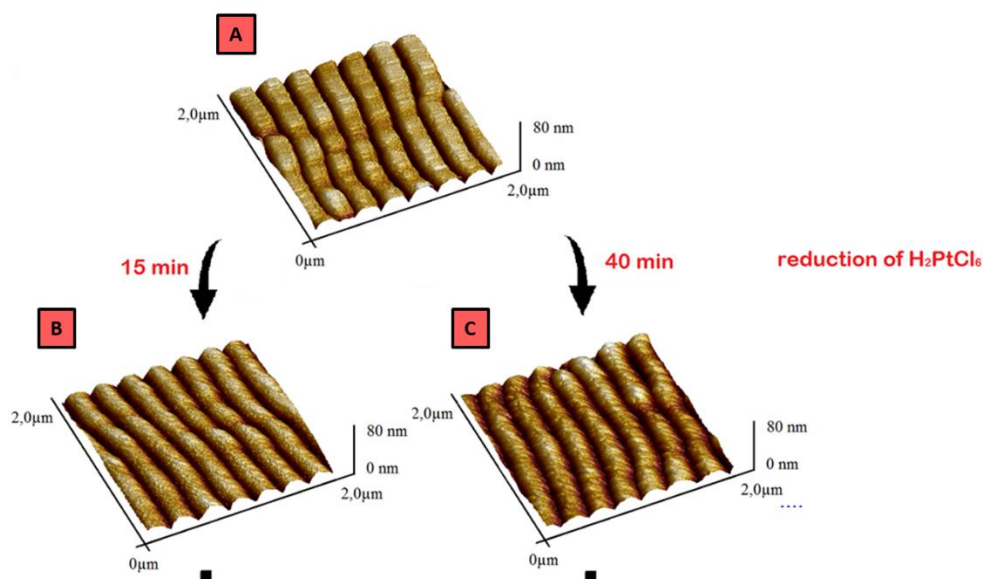


Рисунок 78. AFM-изображения поверхности решеток: А – золотая решетка, В,С - решетки Au/Pt-1 и Au/Pt-2

После исследования структуры образцов Au/Pt-1 и Au/Pt-2 нами была проведена спонтанная модификация образцов Au/Pt-1 и Au/Pt-2 по ранее разработанной методике (Глава 2.2.). Успешность прививки ОФГ была доказана методами XPS и Рамановской спектроскопии, полученные результаты были аналогичными описанным ранее в Главе 2.3.4.

Для проведения реакции восстановления в качестве источника водорода нами использовался циклогексен. Известно, что циклогексен способен выступать в качестве источника водорода с образованием бензола, а движущей силой в данном превращении служит прирост энергии ароматической стабилизации при образовании бензола. Для проведения реакции модифицированные образцы погружались в циклогексен, освещались лазером с длиной волны 785 нм с одновременным снятием SERS спектров (Рис. 79).

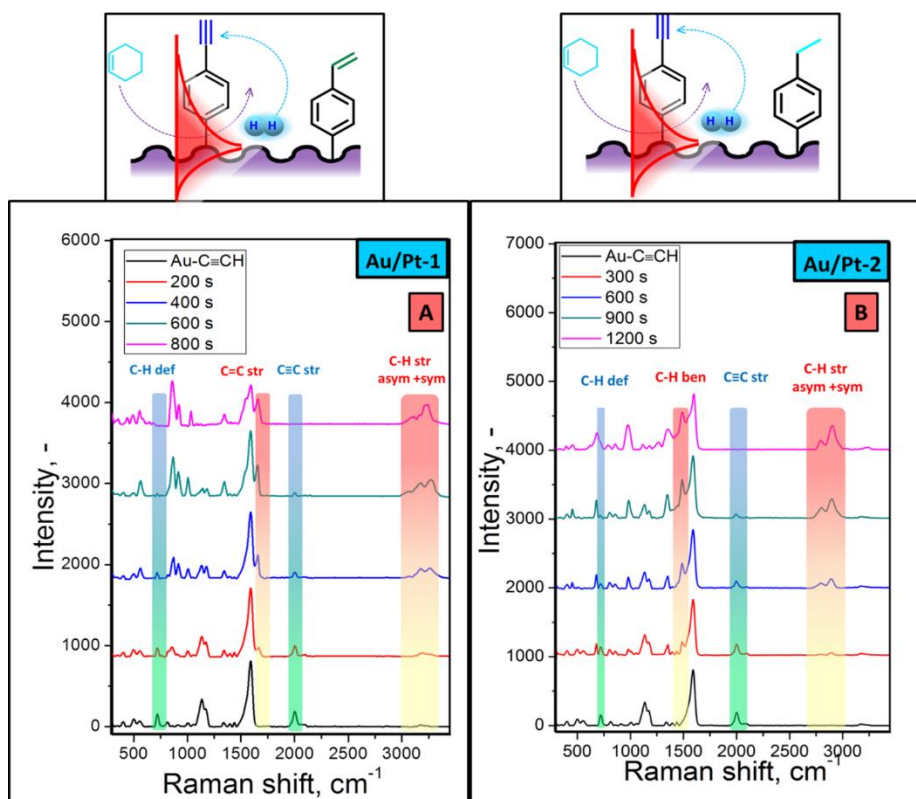


Рисунок 79. SERS-спектры в зависимости от времени плазмон-индуцированного гидрирования фенилацетиленовых групп на: А - Au/Pt-1 и В - решетках Au/Pt-2 при непрерывном воздействии лазерного освещения (длина волны - 785 нм, интенсивность - 7,2 мкВт / мкм²).

Для определения конверсии поверхностных ОФГ использовалась интенсивность пика, относящегося к связи $C\equiv C$ (2100 см^{-1}). На SERS спектрах решеток Au/Pt-1 и Au/Pt-2, модифицированных ADT- $C\equiv CH$, хорошо видна полоса колебаний 2100 см^{-1} , интенсивность которой в результате освещения уменьшалась, что указывает на гидрирование тройной связи. Динамика гидрирования и структура образовавшихся ОФГ были идентифицированы по появлению новых пиков на SERS спектрах. В случае Au/Pt-1 (рис. 79) появляется ярко выраженный пик, расположенный на 1650 см^{-1} (колебания $C=C$), интенсивность которого постепенно увеличивается со временем освещения, что говорит об образовании $C=C$ связей. Одновременно увеличиваются также несколько близко расположенных пиков в области $3000\text{--}3250\text{ см}^{-1}$, соответствующих несимметричным и

симметричным колебаниям С-Н связей этилена. Таким образом, наблюдаемые спектральные изменения, соответствующие конкретным химическим группам, показывают, что происходящие химические превращения могут быть отнесены к гидрированию тройных связей до соответствующих двойных связей с 100% конверсией. Увеличение времени освещения или увеличение мощности лазера не приводит к каким-либо дальнейшим спектральным изменениям, что указывает на то, что образующиеся двойные связи не склонны вступать в дальнейшие реакции гидрирования.

Значительно отличающиеся результаты (по сравнению с Au/Pt-1) наблюдались в случае плазмонного катализа на образцах с более толстым слоем Pt (Au/Pt-2). Интенсивность колебаний тройных связей (2010 см^{-1}) уменьшалась, но пик, наблюдаемый ранее (1650 см^{-1} , $\text{C}=\text{C}$), не появлялся. Вместо этого появилось несколько сигналов, характерных для насыщенных углеводородов (колебания СН 1480 см^{-1} , деформационные колебания СН 720 см^{-1} , несимметричное и симметричное колебания СН $2780\text{--}2950\text{ см}^{-1}$) интенсивность которых увеличивалась с увеличением времени реакции (рис. 81). Наблюдаемые спектральные изменения убедительно доказывают, что в случае Au/Pt-2 происходило полное гидрирование тройных связей, приводящее к образованию 4-этилфенильных групп. Следует также отметить, что при снятии SERS спектров гидрирования $\text{C}\equiv\text{C}$ на Au/Pt-2 не было обнаружено пиков, связанных с двойными связями. Конверсия также составляла 100%, поскольку полоса колебаний, связанная с $\text{C}\equiv\text{C}$, полностью исчезала, и дальнейшее освещение или увеличение интенсивности лазера не приводит к каким-либо дальнейшим спектральным изменениям.

Критическое влияние Pt на процесс было доказано в эксперименте на золотых решетках, модифицированных ADT- $\text{C}\equiv\text{CH}$. Никаких спектральных изменений на SERS спектрах не наблюдалось, что указывает на отсутствие какого-либо процесса, связанного с гидрированием этинильных групп. Таким

образом, можно сделать вывод, что роль Pt в гидрировании является определяющей. Путь реакции гидрирования отличается от традиционных каталитических систем на основе благородных металлов, используемых для восстановления ненасыщенных углеродных связей. Мы предполагаем, что слой Pt инициирует образование активного водорода из циклогексена, который в дальнейшем участвует в реакции с плазмон-активированными этинильными группами.

Кинетика гидрирования ацетилен и фенилацетилен ранее широко обсуждалась в работах [277, 278]. Существует два возможных пути гидрирования фенилацетилена до соответствующих стирола и этилбензола: прямое гидрирование $C\equiv C$ до $C-C$ или двухстадийный путь, включающий образование одного или нескольких адсорбированных молекул водорода. Принимая во внимание отсутствие характеристичных для связи $C=C$ пиков в SERS-спектрах Au/Pt-2, мы предполагаем, что в нашем случае гидрирование протекает одностадийно. Кроме того, следует отметить, что гидрирование этинильных групп до этенила, наблюдаемое на образцах Au / Pt-1, происходит намного быстрее, чем гидрирование до этильных групп в случае Au/Pt-2.

Нами были использованы уравнения кинетики реакции первого порядка для расчета констант скорости гидрирования с использованием линейной зависимости $\ln (C_t/C_0) = \ln (I_t/I_0) = Kt + b$, где I_t и I_0 - интенсивности SERS пиков в моменты времени t и начала реакции ($t = 0$) соответственно, C_t и C_0 - соответствующие концентрации гидрированной химической группы, а K - константа реакции [266]. Расчет проводился с использованием интенсивностей пика 1650 см^{-1} для Au/Pt-1 и пика 1480 см^{-1} для Au/Pt-2. Полученные данные представлены на рис. 80, где также показана зависимость констант реакции K от мощности лазера.

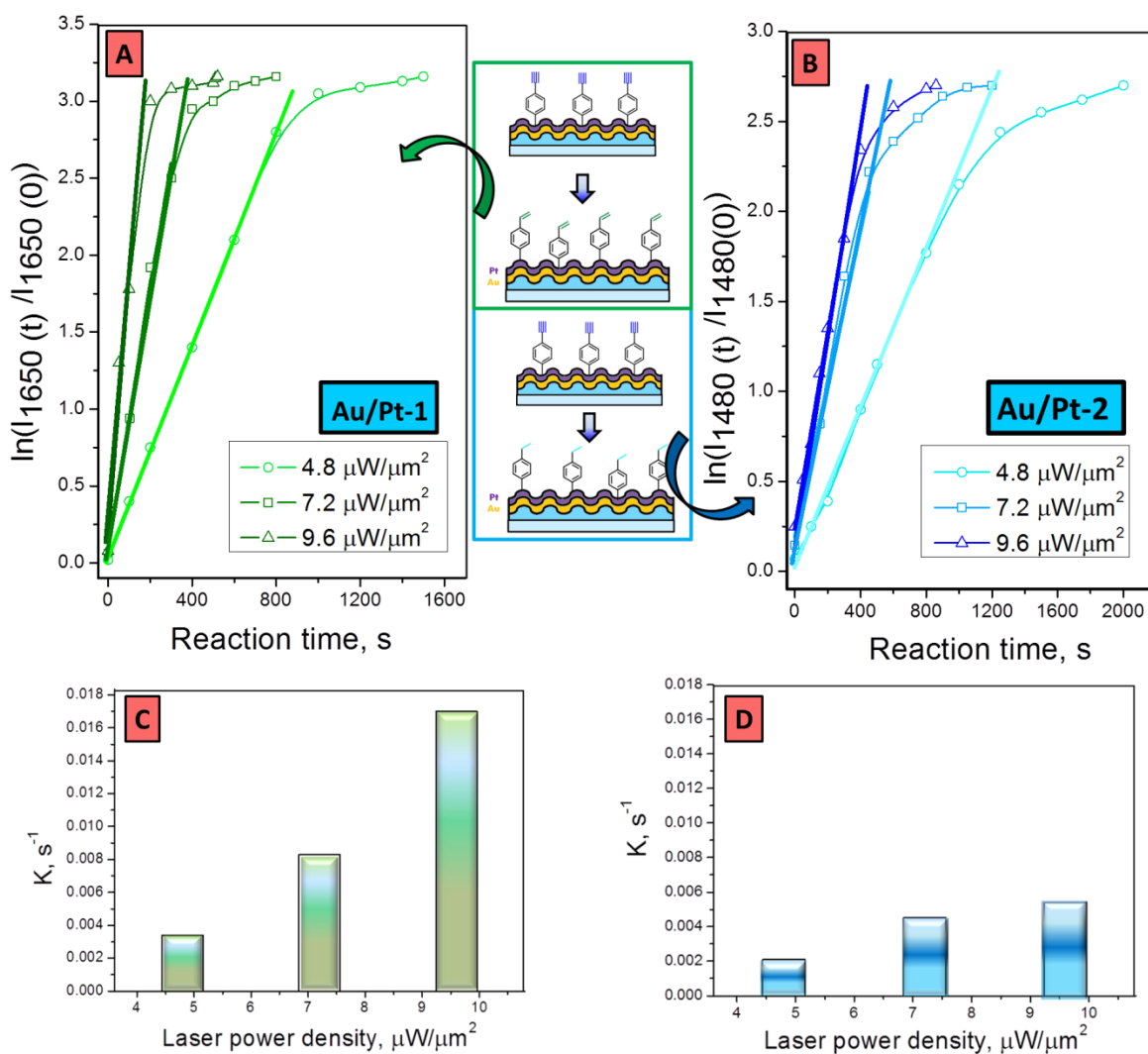


Рисунок 80. А,В - кинетические кривые реакции плазмон-индуцированного гидрирования фенилацетиленовых групп на решетках Au / Pt-1 и Au / Pt-2 при различных мощностях лазера 4.8, 7.2 и 9.6 мкВт / мкм 2 , С,Д - рассчитанные константы реакции К как функция мощности лазера для решеток Au/Pt-1 и Au/Pt-2 соответственно.

Абсолютные значения констант реакции (рис. 80) существенно зависят от применяемой мощности лазера для обеих биметаллических решеток. Увеличение мощности лазера приводит к значительному увеличению скорости реакции. Кроме того, было обнаружено, что это явление является более выраженным в случае биметаллической структуры Au / Pt-1.

Нами были дополнительно оценено влияние толщины Pt на скорость реакции и селективность процесса. Как видно, плазмон-индуцируемое

восстановление начинается с толщины Pt выше 2 нм и приводит к образованию связей C=C. Дальнейшее увеличение толщины Pt способствует увеличению скорости реакции до толщины слоя Pt 9,1 нм с образованием тех же продуктов гидрирования (Рис. 81).

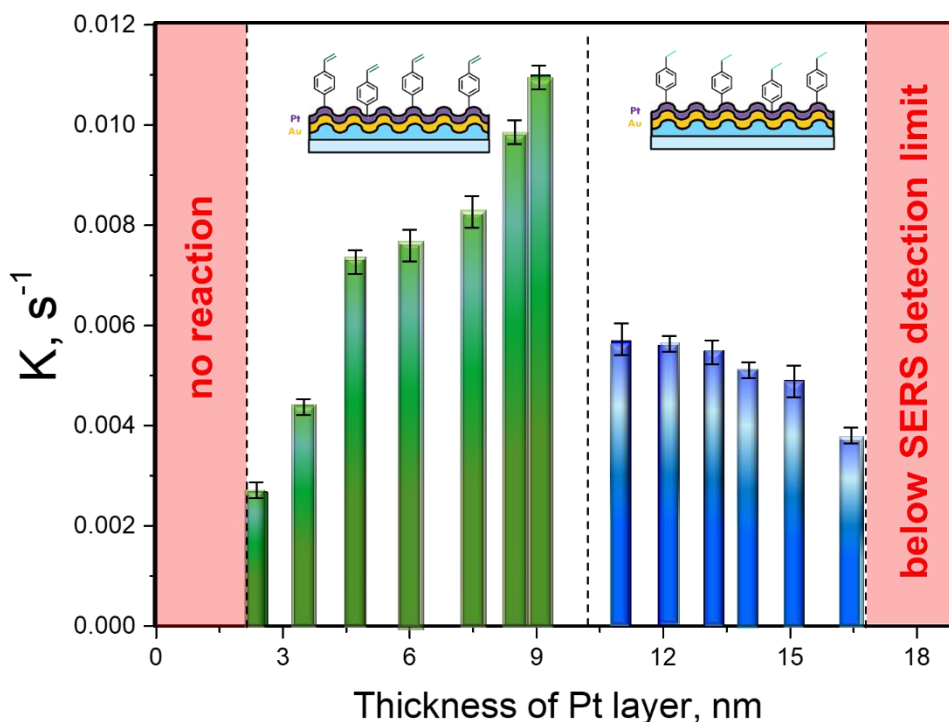


Рисунок 81. Расчетные константы реакции K как функция толщины слоя Pt при мощности лазера 7,2 мкВт / $мкм^2$

Однако дальнейшее увеличение толщины Pt приводит к изменению селективности реакции, и при толщине Pt, превышающей 10 нм, было обнаружено только образование связей C-C. Удивительно, что нами не были найдены такие значения толщины Pt, при использовании которых гидрирование привело бы к одновременному образованию одинарных и двойных связей. Дальнейшее увеличение толщины Pt выше 12 нм привело к постепенному снижению скорости реакции. При толщине Pt более 17 нм какие-либо информативные SERS пики от привитой ADT не были обнаружены из-за подавления ППП и потери SERS активности.

Нами был разработан метод селективного гидрирования ковалентно привитых 4-этинилфенильных групп на биметаллической Au/Pt структуре в

среде циклогексена под действием плазмона. Было установлено, что селективность реакции и ее продукты (насыщенные или ненасыщенные углеродные связи) были определены исходной структурой биметаллических плазмон-активных субстратов. Также мы показали, что время освещения или интенсивность лазера не влияют на селективность реакции.

2.4.2 Плазмон-индуцированная нитроксид-опосредованная полимеризация на золотых решетках ²

Методы выращивания полимерных пленок на поверхности металлов превратились в мощный инструмент для изменения химических и физических свойств поверхности, а их разработка привела к значительным достижениям в дизайне новых полезных гибридных материалов [279, 280]. На сегодняшний день было разработано достаточно много методов для проведения таких видов полимеризации на поверхности как полимеризация с раскрытием кольца, анионная полимеризация, катионная полимеризация, полимеризация путём обратимого присоединения и фрагментации, радикальная полимеризация с переносом атома [281]. Однако, предложенные техники обладают рядом недостатков: использование высоких температур, агрессивных сред и труднодоступных реагентов, что особенно усложняет их проведение на тонких плазмон-активных пленках. Одним из методов инициирования роста полимерных пленок на поверхности является плазмон-индуцированная полимеризация.

Работа выполнена совместно с д.х.н. проф. Марк Сильвеном (Университет Экс-Марсель, Франция) и д.х.н. проф. Евгением Третьяковым (Новосибирский государственный университет)

Как было показано ранее в литературном обзоре, на сегодняшний день известно очень ограниченное число примеров подобных превращений [139-143]. Поэтому перед нами стояла задача разработать удобный, мягкий и универсальный метод для плазмон-индуцированной полимеризации.

Нитроксид-опосредованная полимеризация (NMP) является одним из наиболее предпочтительных методов контролируемой радикальной полимеризации [282]. Данный вид полимеризации подразумевает использование алкоксиамина в качестве инициатора полимеризации для получения полимеров с хорошо контролируемой стереохимией и очень низким показателем полидисперсности. Механизм процесса NMP основан на обратимом захвате нитроксидных радикалов с образованием цепей алкоксиаминов (схема 29).

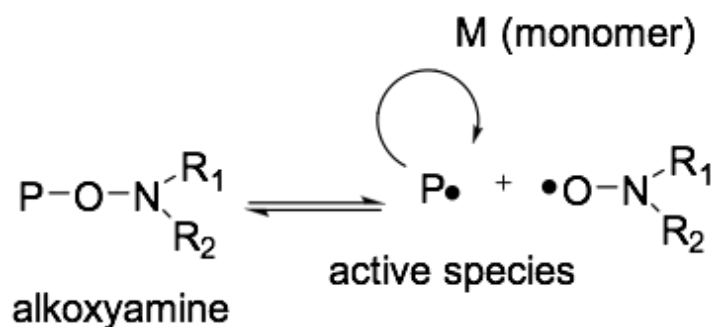


Схема 29. Схема проведения NMP

Для инициации NMP связь C – ON в структуре инициатора алкоксиамина должна быть подвергнута гомолизу. Для эффективного гомолиза связей C – ON и образования нитроксида часто применяют повышенную температуру $\sim 100^\circ\text{C}$ [282, 283], что существенно затрудняет этот метод. В противном случае могут быть использованы лабильные алкоксиамины [284], введение специальных групп в алкильную часть или специальные химические реакции для активации алкоксиаминов [285-288]. Тем не менее, эти методы инициирования достаточно ограничены необходимостью использования добавочных реагентов, которые могут изменить свойства полимера.

Нами было предложено исследовать проведения плазмон индуцированного NMP посредством гомолиза связи NO-C с использованием золотых решеток при возбуждении ППП. Для проведения полимеризации нами был выбран диэтил (1 - ((1- (4-аминофенил) этокси) (трет-бутил) амино) -2,2-диметилпропил) в качестве инициатора.

На первом этапе мы попытались выделить чистую диазониевую соль после реакции диазотирования (Схема 30). Несмотря на полную конверсию исходного амина, выделить диазониевую соль в чистом виде не удалось. Мы связываем это с наличием липофильных групп в структуре и повышенной растворимостью соли в эфире.

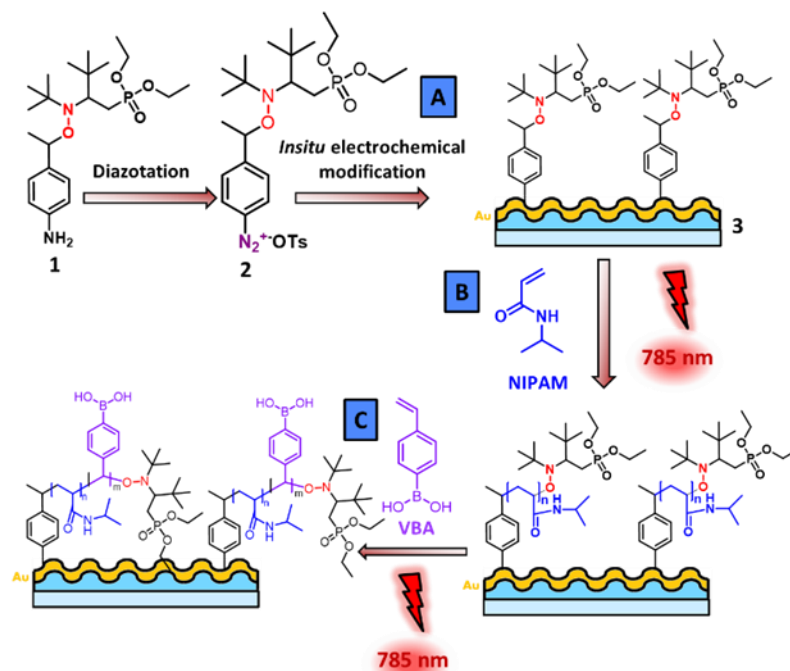


Схема 30. Схема получения золотой решетки с привитыми полимерами с помощью плазмон-индуцированного NMP

По этой причине мы решили провести электрохимическую модификацию поверхности с использованием раствора диазониевой соли (схема 65). Для подтверждения прививки инициатора и подтверждения структуры привитых групп полученные образцы были исследованы методами XPS и SERS.

SERS спектры исходного золота не показывают каких-либо значимых пиков (рис. 82). Электрохимическая модификация приводит к появлению специфических сигналов, характерных для структуры инициатора (1594, 1452 cm^{-1} (Ar), 1350 (колебания $\text{P} = \text{O}$, i-Pr), 1260 cm^{-1} (колебания N-O), 1184, 1150 (CN), 1070 cm^{-1} ($\text{P} = \text{O}$), 890–812 (N-O), 720, 550 cm^{-1} (колебания алкильных групп), 490 cm^{-1} (Ar).

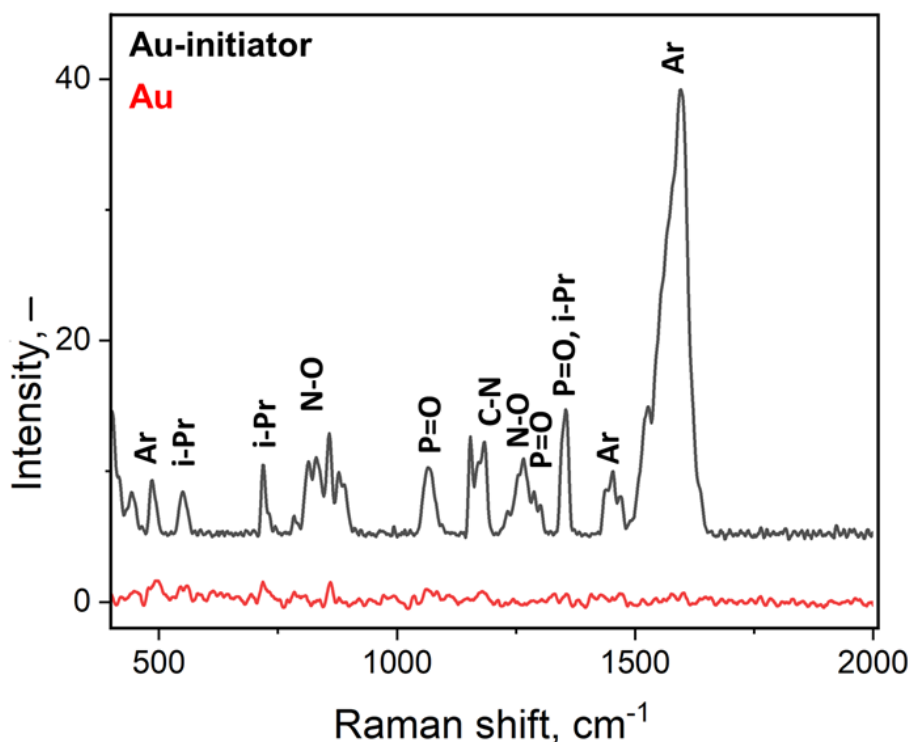


Рисунок 82. SERS спектры золотой решетки до и после прививки алкоксиамина

На рис. 82 приведены XPS спектры полученных материалов. Концентрации элементов, рассчитанные по спектрам XPS, приведены в табл. 13. Модификация приводит к увеличению концентрации углерода до 5,3%, увеличению пика $\text{Ns } 1s$ при 401,2 эВ, увеличению пика $\text{O}1s$ при 534,8 эВ (ответственных за связь $\text{C}=\text{O}$) одновременно с уменьшением пика золота. Таким образом, комбинация результатов XPS (Таблица 20), SERS подтверждает прививку инициатора для NMP. Кроме того, нами было посчитано количество молекул инициатора, которое составило 2.8 молекул/ nm^2 .

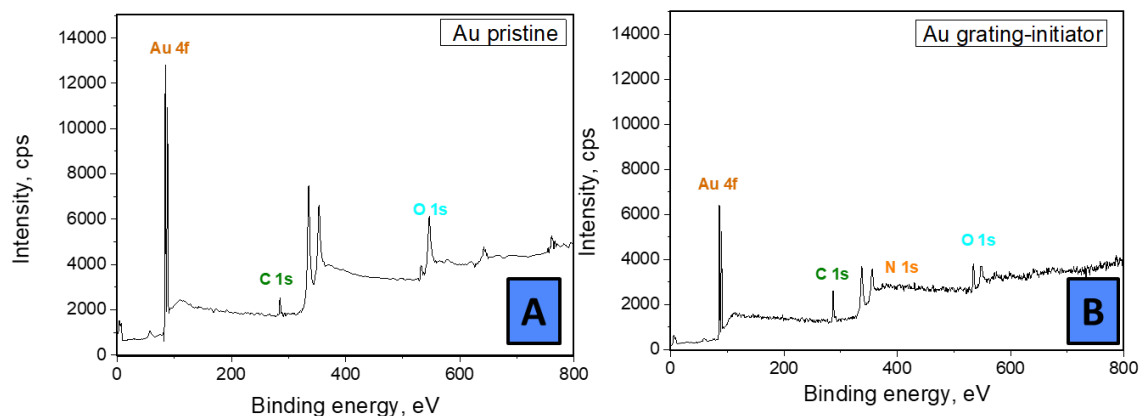


Рисунок 83. XPS-спектры А-чистого золота, В- после ковалентной прививки инициатора.

Таблица 20. Поверхностная концентрации элементов, рассчитанная по результатам исследования XPS для золотых решеток, после прививки инициатора, после 60 мин полимеризации NIPAM под воздействием солнечного света, после 60 мин полимеризации NIPAM при 780 нм, после 30 мин полимеризации NIPAM и 30 мин полимеризации VBA при облучении 780 нм

Образец	Атомная концентрация (%)				
	C	N	Au	O	B
Au	35.9	-	69.1	25.7	-
Au-инициатор	41.2	2.0	38.3	18.5	-
Au решетка солн свет	59.2	4.7	21.6	14.5	-
Au решетка PNIPAM 780 нм 30 мин	63.1	6.8	12.5	17.6	-
Au решетка PNIPAM 780 нм 60 min	68.4	9.1	1.7	20.8	-
Grating 30 мин PNIPAM 30 мин VBA 780 нм	65.5	6.9	1.1	23.3	3.2

Полученный материал использовался для изучения возможности проведения плазмон-индуцированной NMP. Для этого модифицированную решетку погружали в раствор N-изопропилакриламида (NIPAM) в дихлорметане (DCM) и облучали лазером с длиной волны 785 нм, соответствующей максимуму плазмонного резонанса с одновременной регистрацией SERS-спектров. На SERS спектрах нами фиксировалось появление новых полос, соответствующих структуре поли (N-изопропилакриламида) PNIPAM: 513 см^{-1} ($\text{N}-\text{C}=\text{O}$), $742, 758\text{ см}^{-1}$ (CH_2 -колебания), 812 см^{-1} ($\text{C}-\text{N}$ вибрации), 1000 см^{-1} (CH_3 вибрации), $1082, 1104, 1370\text{ см}^{-1}$ ($\text{C}-\text{N}$, CH_3 вибрации) и образование амидных связей $1552, 1623\text{ см}^{-1}$ (Рис. 84).

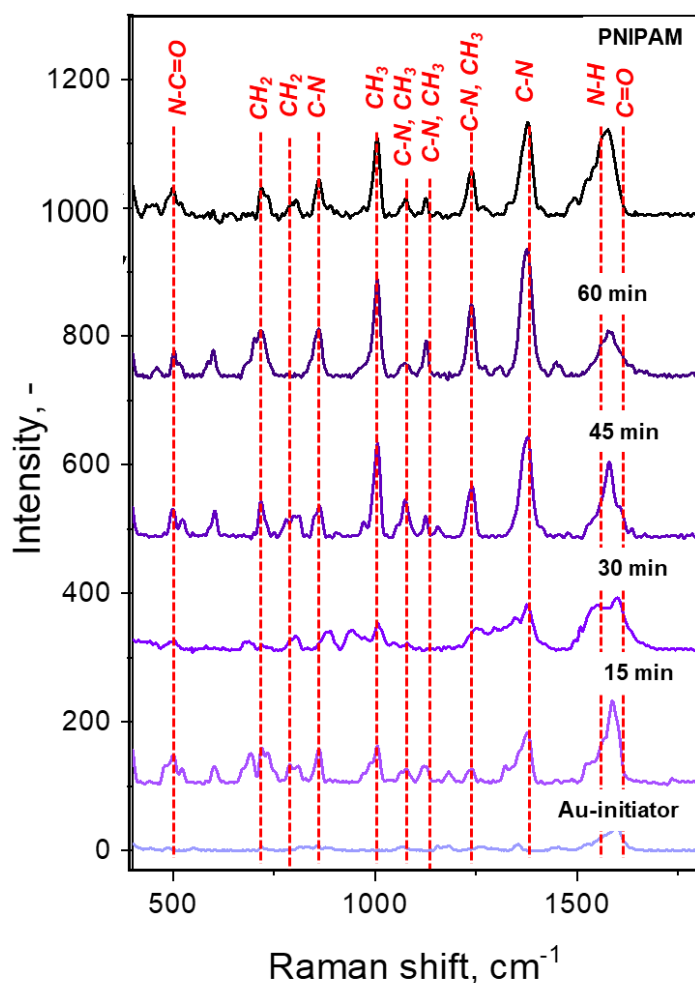


Рисунок 84. SERS спектры плазмон-индуцированной NMP IPAM на золотых решетках в зависимости от времени реакции.

Стоит отметить, что с увеличением времени полимеризации наблюдалось постепенное увеличение интенсивности пиков, характерных для PNIPAM до 60 минут, после чего значения интенсивности пиков не менялись. Для исследования кинетики процесса была выбрана полоса колебаний 1370 см^{-1} , относящаяся к связи C – N (рис. 84). Интенсивность данной полосы также возрастала со временем облучения, что позволило нам исследовать кинетику роста полимерной цепи.

Нами также был проведен контрольный эксперимент для демонстрации влияния освещения на процесс полимеризации: золотая решетка с привитым инициатором аналогичным образом погружалась в раствор NIPAM и выдерживалась в темноте, тщательно промывались и исследовались методом SERS.

Третьим немаловажным проводимым экспериментом с кинетической точки зрения являлось проведение освещения модифицированных решеток симулятором солнечного света. На сегодняшний день использование легкодоступных возобновляемых ресурсов, таких как солнечная энергия, является одним из самых актуальных вопросов науки и технологии. Так как максимум плазмонного резонанса расположена в видимой области, мы предположили, что рост полимерной цепи будет наблюдаться и при возбуждении ППП солнечным светом.

Результаты кинетических исследований представлены на Рис. 85, демонстрируют отсутствие каких-либо трансформаций в темноте, указывая на ключевую роль освещения. Стоит отметить, что использование солнечного света приводило к росту полимерной цепи аналогичным образом с использованием лазерного освещения. После 60 минут освещения интенсивность пиков PNIPAM оставалась постоянной, демонстрируя прекращение роста полимерной цепи.

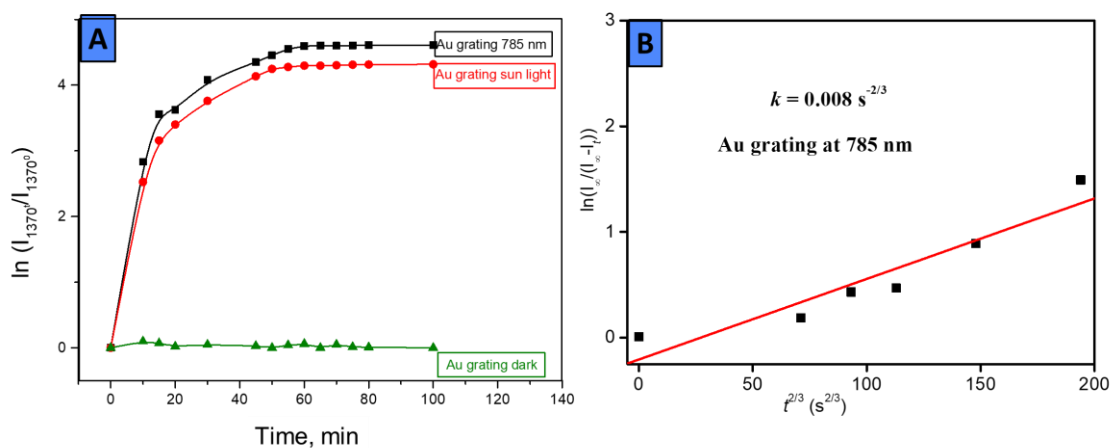


Рисунок 85. А - интенсивность пика NIPAM (на 1370 см-1, C-N), измеренная на золотых решетках с привитым алкоксиамином при облучении лазером 780 нм и солнечным светом в зависимости от времени (I_{13700} и I_{1370t} соответствуют интенсивности пика комбинационного рассеяния до площади и после в момент t), В - кинетическая кривая полимеризации $\ln(I_{\infty}/(I_{\infty}-I))$ в сравнении с $t^{2/3}$ PI-NMP на золотой решетке при освещении лазером 780 нм.

Известно, что для NMP изменения концентрации мономера M должны подчиняться уравнению 1,

$$\ln \frac{M_0}{M} = \frac{3}{2} k_p \left(\frac{k_d [\text{initiator}]_0}{3 k_c k_t} \right)^{1/3} t^{2/3} \quad (\text{eq. 1})$$

Таким образом, мы ожидали получить линейную зависимость для $\ln(M_0/M)$ от $t^{2/3}$. Как показано на Рис. 85, при подставлении значений интенсивности SERS пиков, пропорциональных концентрации мономера, наблюдалась ожидаемая линейная зависимость, что подтверждают плазмон-индуцируемую природу NMP.

После полимеризации NIPAM мы рассчитали количество звеньев в полимерной цепи по данным XPS. Принимая во внимание количество молекул алкоксиамина (2,8 молекул / nm^2) и толщину и количество звеньев NIPAM после полимеризации (43,07 молекул / nm^2), среднее количество звеньев в полимерной цепи составляло 15 после 30 мин полимеризации. Следует отметить, что ранее опубликованная плазмон-индуцируемая RAFT

полимеризация приводит к росту 10 молекул NIPAM после 1 ч облучения [143]. После 60 мин проведения NMP длина полимерной цепи достигла 35,2 молекул NIPAM.

Кроме того, рост полимерной цепи на поверхности решеток исследовался методом AFM. Нами были обнаружены значительные изменения морфологии поверхности как после 30 минут полимеризации, так и еще более ярко-выраженные после 60 минут (рис. 86). Изменения профиля поверхности решеток (росте полуширины) являются косвенным доказательством успешного прохождения плазмон-индуцированного NMP.

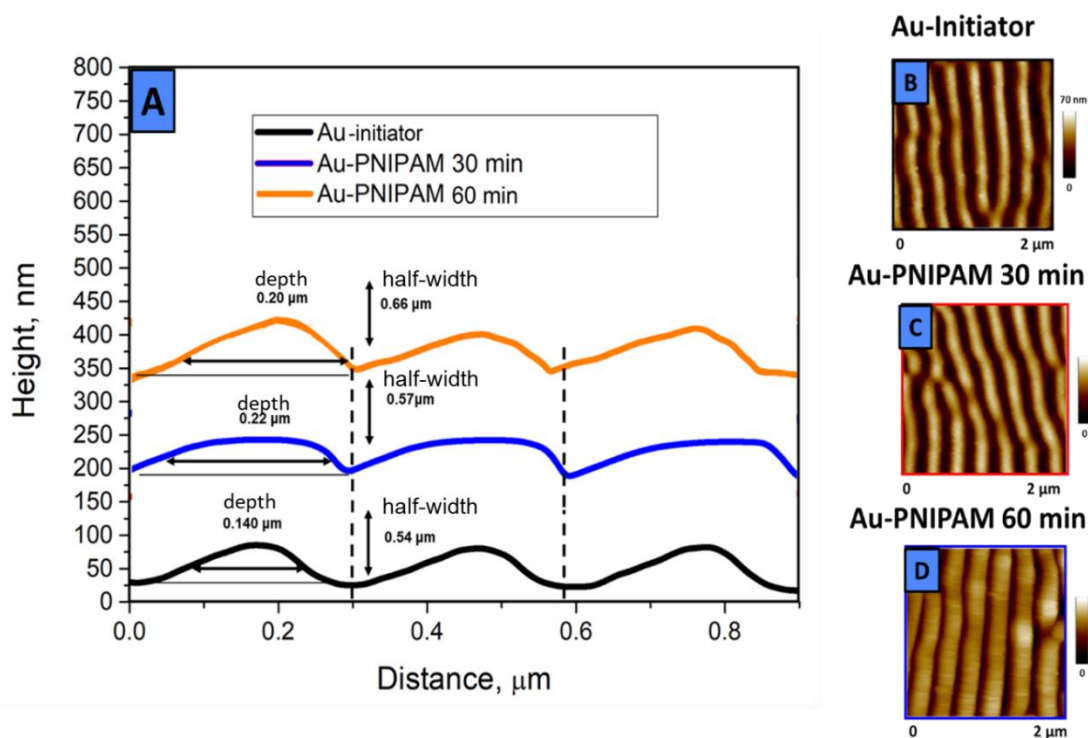


Рисунок 86. Профиль AFM для модифицированной золотой решетки, через 30 минут после полимеризации NIPAM и после 30 минут полимеризации VBA и соответствующие AFM изображения поверхности (B, C, D).

Ключевым вопросом является доказательство радикальной природы наблюдаемой полимеризации. Для исследования механизма и прямого доказательства образования радикалов нами были проведены измерения с помощью спектроскопии электронного спинового резонанса (ЭПР). Решетки

3 погружали в дихлорметан и облучали лазером с длиной волны 785 нм ($10 \text{ мкВт} / \text{мкм}^2$) в течение 60 мин. Полученный раствор упаривали досуха, а остаток растворяли в трет-бутилбензоле и исследовали методом ЭПР-спектроскопии (рис. 87). В качестве контроля использовался необлученный образец, с которым проводили аналогичные манипуляции.

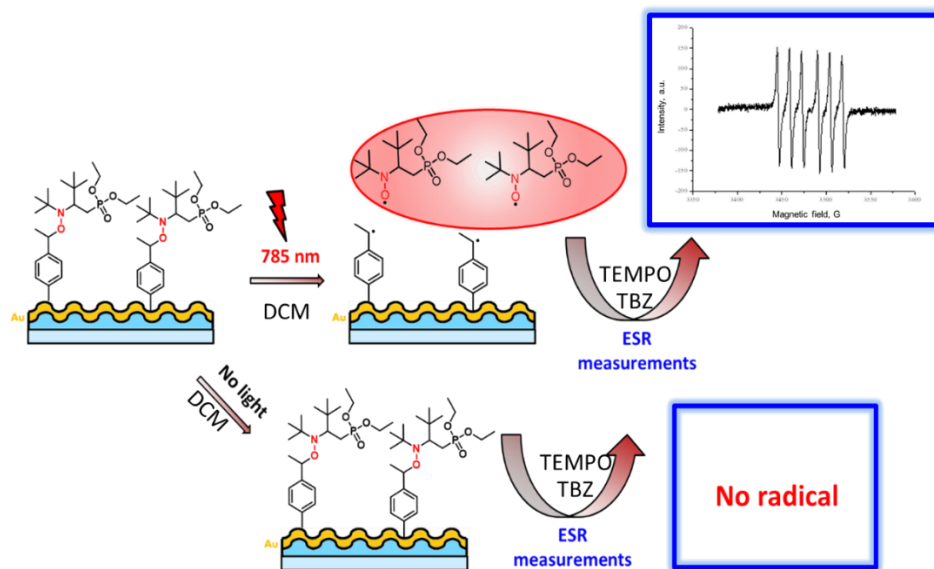


Рисунок 87. Результаты ЭПР измерений

ЭПР спектры показали очевидное образование нитроксид радикалов (ЭПР паттерн, состоящий из 6 сигналов) в случае анализа раствора, полученного путем освещения решетки. Тогда как в случае контрольного эксперимента мы не наблюдали образования радикалов. Кроме того, количество радикалов на поверхности, полученное из ЭПР измерений, соответствует расчетам по XPS. Таким образом, ЭПР подтвердил ключевую роль плазмон-индуцированного гомолиза алкоксиамина 3 в процессе полимеризации.

Таким образом, нами был разработан метод плазмон-индуцированной NMP на плазмон-активной решетке с ковалентно-привитым алкоксиамином, приводящий к росту полимерной цепи PNIPAM. Предложенный метод может являться мощным инструментом для создания более сложных полимерных систем, таких как сополимеров и может быть использован для создания

функциональных материалов. Для подтверждения данного предположения в качестве сополимера нами была выбрана трудно- полимеризуемая винилбороновая кислота (VBA). Таким образом, перед нами стояла цель получить функциональный сополимер PNIPAM-со-VBA и исследовать его применимость. Как было нами ранее показано, PNIPAM является термочувствительным полимером и широко используется для SERS детектирования аналитов при повышенных температурах [202]. В то время как производные бороновых кислот широко используются для обнаружения производных углеводов при разработке сенсорных систем [289]. Мы предполагаем, что сополимеры поли (4-винилбороновой кислоты) (PVBA) с PNIPAM могут позволить селективно захватывать гликопротеины за счет VBA, [289] а сжатие цепей PNIPAM при повышении температуры в структуре сополимера приведет к приближению блоков VBA с захваченным аналитом к плазмон-активной поверхности и увеличению интенсивности аналитического сигнала.

Для получения блок-сополимера на поверхности золотых решеток, нами была проведена NMP NIPAM в течении 30 минут, после чего процесс был остановлен. Золотая решетка была промыта, и погружена в раствор VBA в дихлорметане. Далее нами был проведен второй этап плазмон-индуцированного NMP в течение 30 минут в аналогичных условиях. Успешное образование сополимера PVBA / PNIPAM было подтверждено с помощью SERS и XPS (рис. 88). На полученных SERS спектрах после прививки VBA мы наблюдали сохранение пиков, связанных с присутствием PNIPAM, одновременно появлением новых сигналов на 910, 987, 1074, 1378 и 1584 см^{-1} , соответствующих функциональным группам -B(OH)_2 . Более того, на спектрах не обнаруживаются сигналов от $\text{C}=\text{C}$, что указывает на то, что появившиеся пики связаны с образованием ковалентной связи, а не с физической адсорбцией мономера.

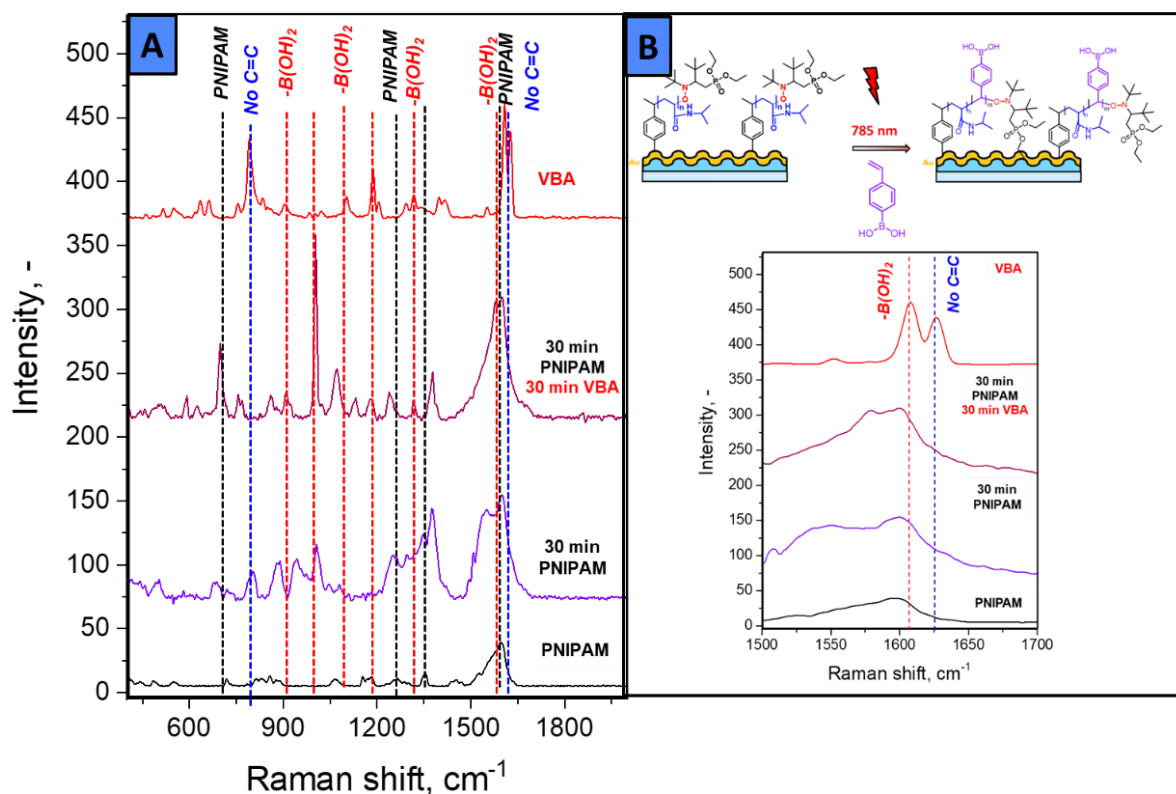


Рисунок 88. А - SERS спектры плазмон-индуцированной NMP-полимеризации VBA на золотых решетках с плёнкой PNIPAM в зависимости от времени, В - схема плазмон-индуцированной полимеризации VBA и увеличенная область спектров SERS.

XPS позволил оценить количество молекул VBA в цепи сополимера. Согласно расчетам, полученные блок-сополимеры в среднем содержал 15 единиц NIPAM и 15 единиц VBA.

Далее нами была исследована применимость полученных решеток с ковалентно привитыми блок-сополимерами PVBA / PNIPAM в качестве сенсоров. Как было сказано ранее, фрагменты VBA способны селективно захватывать молекулы углеводов за счет образования конъюгата 1,2-диолами [289, 290]. Поэтому в качестве модельного анализита нами был выбран катехол с 1,2-диольным фрагментом в структуре.

Для детектирования целевого анализита решетки погружали в 10^{-8} М раствор катехола с последующей регистрацией SERS спектров при

различных температурах (ниже и выше фазового перехода PNIPAm) (рис. 89) для оценки усиление сигнала за счет коллапса PNIPAM.

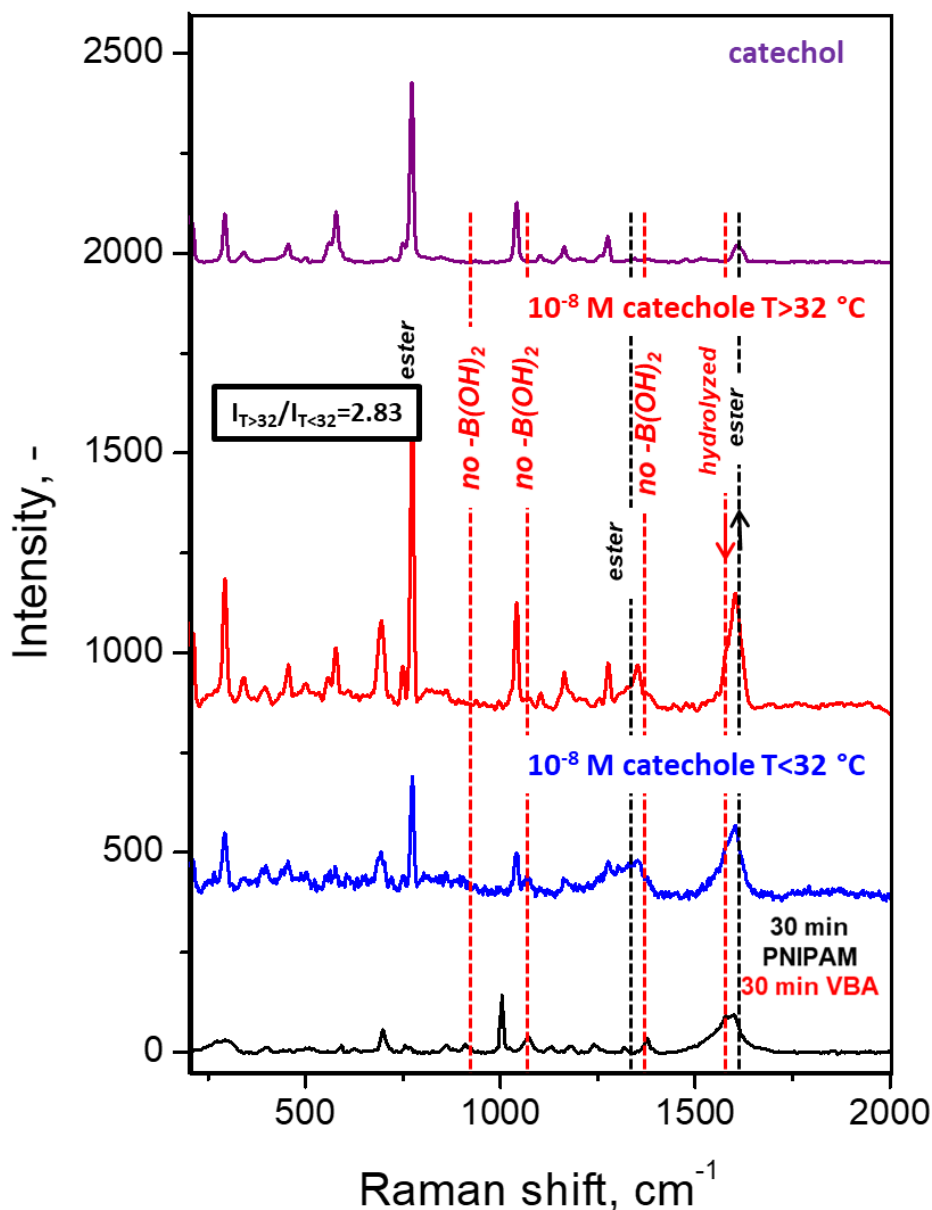


Рисунок 89. SERS детектирование катехола (10^{-8} M, pH 7.4).

После погружения решеток Au-PNIPAN / VBA в раствор катехола мы наблюдали значительные изменения SERS спектров и появление характеристичных колебаний связей катехола. Значительные изменения на спектрах также связаны с исчезновением групп B-(OH)₂ на 910, 1074 и 1387 cm^{-1} . Мы также наблюдали увеличение интенсивности пика на 1600 cm^{-1} .

одновременно с уменьшением интенсивности пика на 1584 см^{-1} , что свидетельствует об образовании конъюгата [290]. Сжатие цепей PNIPAM в структуре сополимера приводило к приближению блоков VBA с захваченным катехолом к плазмон-активной поверхности и увеличению интенсивности аналитического сигнала (Рис. 90). В нашем случае наблюдалось увеличение интенсивности сигнала при детектировании при повышенной температуре в 2,83 раза.

Для демонстрации применимости полученного сенсора нами был выбран ключевой аналит α -1 гликопротеин, так как он содержит в своей структуре углеводный фрагмент, способный реагировать с VBA. α -1 гликопротеин считается одним из четырех потенциально полезных биомаркеров 5-летнего риска смертности [290, 291].

Аналогичным образом модифицированные решетки погружали в раствор 10^{-8} М α -1 гликопротеина при комнатной температуре. В этом состоянии PNIPAM находится в набухшем состоянии и является гибким линкером для PVBA, обеспечивая эффективное взаимодействие и захват целевых молекул из раствора. После взаимодействия решеток Au-PNIPAN / VBA с раствором α -1 гликопротеина в кислой среде мы наблюдали исчезновение пиков -В-(ОН)₂ при 910, 1074, 1378 см^{-1} , как в случае катехола (Рис. 90).

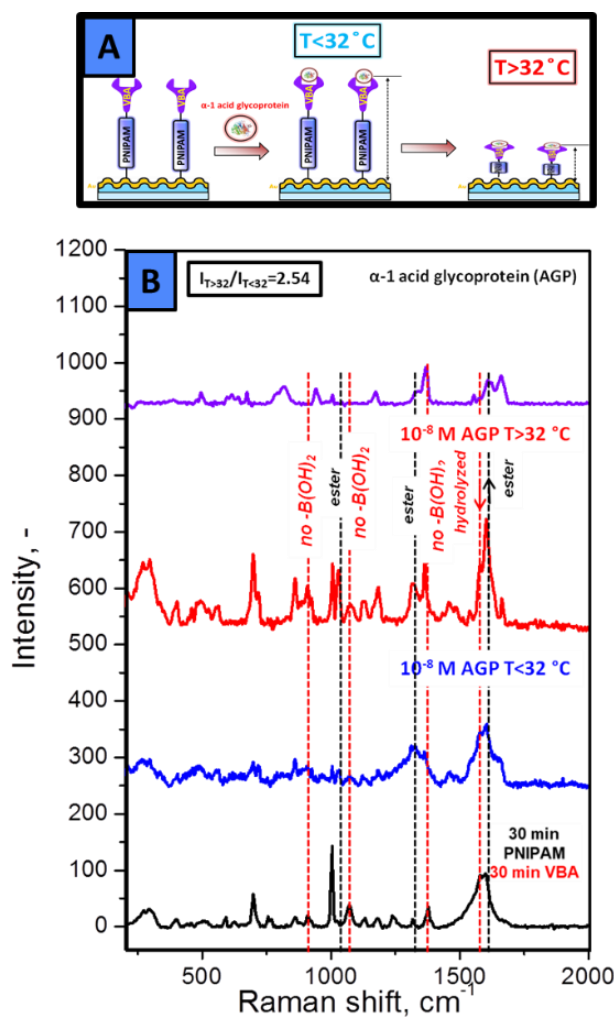


Рисунок 90. А - принцип обнаружения α -1 гликопротеина при комнатной и повышенной температурах и В - SERS определение α -1 гликопротеина (10^{-8} М раствор в PBS при pH 7,4).

Кроме того, мы наблюдали появление пиков, соответствующего α -1-гликопротеину, на 496 см^{-1} (S–S колебания), 674 см^{-1} (C–S колебания), 1116 см^{-1} (C–C / C–N вибрации) и 1375 см^{-1} (C (= O) –O вибрации) [289, 290]. Мы также наблюдали увеличение интенсивности пика на 1602 см^{-1} одновременно с уменьшением интенсивности пика на 1587 см^{-1} , благодаря образованию конъюгата в соответствии с [290]. Дальнейшее повышение температуры переводило PNIPAm в коллапсированное состояние, обеспечивая приближение захваченного гликопротеина к плазмон-активной

поверхности. Детектирование при повышенной температуре улучшало разрешение спектров и интенсивность характерных пиков в 2,5 раз.

Таким образом, можно сделать вывод, что мы впервые разработали новую методику плазмон-индуцированного гомолиза алкоксиаминов, ковалентно привитых к поверхности плазмон-активной золотой решетки, и продемонстрировали применимость этого процесса к NMP при комнатной температуре. Разработанная методика отличаются мягкостью условий, возможностью контроля роста полимерной пленки и удобностью. Плазмон-индуцированная NMP позволила нам получить блок-сополимеры PVBA / PNIPAM, используя двухэтапную процедуру в том числе и использование солнечного света. На основе разработанной методики нами был предложен дизайн уникального «умного» сенсора для обнаружения биологически значимого α -1-гликопротеина с высокой чувствительностью.

3. Экспериментальная часть.

3.1 Растворители, реагенты и материалы

Все растворители и реагенты фирмы Sigma-Aldrich использовались без предварительной очистки. Для приготовления аналитических растворов аналитов была использована деионизованная вода (SigmaAldrich). Мишени (Au, Ag) для осаждения металлов (чистота металлов 4 N) были приобретены у Safina. Для получения пленок платины использовался гидрат хлороплатиновой кислоты ($\geq 99,9\%$).

Аналиты для исследования сенсорных свойств: кристаллический фиолетовый (analytical standard), Дисперсный красный (analytical standard), метанил желтый (analytical standard), гексагидрат хлорида кобальта (II) (99 % trace metals basis), хлорид меди (II) (99 % trace metals basis), гидрат хлорида кадмия (99.995 % trace metals basis), хлорид бария (99.9 % trace metals basis), хлорид ртути (II) (99 % trace metals basis), хлорид свинца (II) (98 % trace metals basis), Леводопа (Pharmaceutical Secondary Standard), 3,4-дигидрокси-L-фенилаланин ($\geq 98.0\%$), L-цистеин ($\geq 97.0\%$), D-цистеин ($\geq 99.0\%$), L-тирозин ($\geq 98.0\%$), D -Тирозин (99,0%), Параоксон (PESTANAL®, analytical standard), Фенитроцион (PESTANAL®, analytical standard), Судан III (analytical standard), Фумонизин B1 (reference material), β -ситостирол (primary pharmaceutical reference standard), сквален (analytical standard) использовались фирмы SigmaAldrich без предварительной очистки.

Олигонуклеотиды были закуплены у Биосинтез (Россия). Структура олигонуклеотидов представлена в Таблице 21:

Таблица 21. Последовательности используемых олигонуклеотидов

P	5'-NH ₂ (CH) ₆ -5'- CGCCAATACGACCAAATCCG-3'	Прививаемый на поверхность
O-2	5'-CGGATTTGGTCGTATTGGCG-3'	Комплементарный
O-3	5'-CGGATTTGGTACGTATTGGCG-3',	Частично комплементарный
O-4	5'-CTTAGGTACCGCTGTGCCCCAGTTTG-3'	некомплементарный

Пищевая биологически активная добавка, содержащая L-ДОПА, была приобретена у коммерческой фирмы Now Foods (Чехия).

Образцы почвы были приобретены у Hornbach (универсальная почвенная смесь). (N <250 мг / л, P₂O₅ <120 мг / л, K₂O <700 мг / л, Mg / 150 мг / л).

3.2 Инструментальные методы исследования

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C записывали на спектрометрах Bruker Avance III™ (500 MHz), внутренний стандарт - TMS, растворитель указан в тексте.

Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (XPS) была использована для определения химического состава поверхности. Спектры регистрировали с использованием спектрометра ESCAProbeP Omicron Nanotechnology, снабженного монохроматическим альфа- рентгеновским источником. Анализируемая площадь имела размеры 2x3 мм². Концентрации элементов были рассчитаны в ат. % с использованием факторов чувствительности производителя. Обработка спектров, деконволюция пиков проводились в программе Origin 9.2.

Расчет толщины привитых ОФГ проводили по изменению химического состава поверхности и интенсивности сигналов, показанным в

соответствующих таблицах. После модификации наблюдалось уменьшение интенсивности сигнала золота (пик Au 4f7 / 2 84,3 эВ) из-за эффекта экранирования тонкими органическими слоями. Толщина органического слоя рассчитывалась по следующему уравнению:

$$I / I_0 = \exp (-d / \lambda \sin \theta)$$

где: d - толщина слоя; λ - длина свободного пробега специфического для подложки фотоэлектрона в органическом слое; θ - угол пролета пучка при анализе относительно поверхности (в нашем случае 90°), а I / I_0 - соотношение интенсивностей XPS пиков до и после модификации

Значение λ было выведено из эмпирической формулы, полученной Seah и Dench [293]

$\lambda_k = A_n / E_k^2 + B_n E_k^{1/2}$, где E_k - кинетическая энергия фотоэлектронов в эВ, а λ_k получается в $\text{мг} \cdot \text{м}^{-2}$.

Для источника Al K α $E_k = 1486,6$ - эВ.

Для подложки, покрытые органическими материалами мы используем $A_n = 49$ и $B_n = 0,11$. Чтобы преобразовать λ_k в нанометры, необходимо разделить λ в $\text{мг} \cdot \text{м}^{-2}$ на плотность органического слоя (отличается в зависимости от модификации). После подставления всех значений рассчитывается толщина органической пленки на поверхности золота в нм.

Для получения значение плотности привитых ОФГ использовалась формула

$$\Gamma = \frac{N_A \cdot \rho \cdot d}{M}, \text{ где}$$

N_A - число Авогадро ($6.02 \cdot 10^{23}$)

ρ - плотность материала

d - толщина органической плёнки

M - молярная масса

Спектры УФ на пропускание были сняты на пропускание с использованием спектрометра Lambda 25 (Perkin-Elmer) в диапазоне длин волн 300-1100 нм при скорости сканирования 240 нм мин⁻¹. В качестве базовой линии использовался спектр стеклянной подложки. Измерения проводили в специальной ячейке для измерения тонких пленок.

SERS спектры снимались на спектрометре Nicolet Almega XR с длиной волны 785 нм (мощность лазера 15 мВт) и Advantage NIR (DeltaNu, U.S.A., Laser power 60 mW) с длиной волны 480 нм (мощность лазера 30 мВт). Спектры собирались 10 раз с временем накопления 30 с. Для фокусировки на поверхности использовался микроскоп DXR™ 2 Raman Microscope с приближением *40. Все спектры были автоматически скорректированы и сглажены по базовой линии, используя алгоритм усреднения по 11 точкам, чтобы уменьшить изменчивость базовой линии используя Omnic professional Software Suite (Thermo Scientific, Inc., Madison, WI).

Для анализа золотых НЧ, водные суспензии были нанесены на кремневую подложку, высушены, после чего были сняты SERS спектры. Спектры были дополнительно откорректированы с помощью вычитания базовой линии кремниевой подложки.

Углы смачивания воды измерялись гониометром DSA100 (Kruss, Germany) в 10 точках с использованием дистиллированной воды (объем капли 2 мкл) при комнатной температуре, затем рассчитывалось среднее значение. Отклонение между измерениями использовалось для расчета ошибки измерений.

Для исследования морфологии поверхности образца до и после модификации поверхности были использованы измерения на *атомно-силовом микроскопе (AFM)* Icon (Bruker). Картирование поверхности проводилось на площади образца 1,5x1,5 мкм². Для получения карт адгезии и деформации использовалась эксклюзивная технология Bruker PeakForce Tapping®, которая обеспечивает высокое разрешение изображения,

чувствительность и высочайшее разрешение количественных характеристик механических свойств.

AFM «скрэтч»-тест проводили на золотых пленках путем нанесения царапин тонкой иглой и снятием карт с полученного профиля поперек царапины под углом 90 градусов относительно поверхности. Затем образец очищали путем промывки в ацетоне, сушили и проводили измерения. Указанные значения толщины пленки представляют собой средние значения по меньшей мере 16 измерений, полученных на трех царапинах, а ошибка представляет собой стандартное квадратическое отклонение. Толщины органической пленки определяли как разницу толщин золотых пленок после и до модификации.

Циклические вольтамперограммы (CV) золотых пленок были получены с использованием 1 мМ гексацианоферрата калия (II) в 0,1 М хлорида калия. Объем капли, депонированной для измерения, составлял 10 мкл. Циклическая вольтамперметрия проводилась с рабочими золотым электродом с площадью 3 мм². Вольтамперметрические измерения проводились с помощью портативного потенциостата PalmSens (Palm Instruments, Нидерланды), управляемого программным обеспечением PStace 4.6.1 (прошивка 4.4). Параметры программы потенциалов CV: скорость изменения потенциала 50 мВ с⁻¹ и диапазон потенциалов от -100 мВ до 600 мВ. Измерения проводились с помощью вспомогательного электрода из платиновой проволоки и хлоридсеребряного электрода сравнения Ag / AgCl (3 М KCl). Исследовались 3 независимо полученных образца каждого вида, на каждом образце проводилось по пять измерений.

Изображения *просвечивающей электронной микроскопии (ТЕМ)* НЧ были получены на приборе JEOL JEM-1010 (JEOL Ltd., Япония), с помощью цифровой камеры SIS MegaView III. Soft Imaging Systems, ускоряющее напряжение 20 кВ) и анализ выполняли с использованием AnalySIS Software 2.0.

Сканирующая электронная микроскопия (SEM) (LYRA3 GMU, Tescan, CR) была использована для изучения морфологии и распределения модифицированных НЧ. НЧ были нанесены на кремниевую подложку, и SEM изображения и элементный состав (картирование) были выполнены с использованием энергодисперсионной спектроскопии (EDS, анализатор XMaxN, детектор SDD 20 мм², Oxford Instruments). Образцы были прикреплены углеродной проводящей ленте. SEM-EDS и SEM измерения проводились с использованием ускоряющих напряжений 10 кВ и 2 кВ соответственно.

Спектры *дифракционной рентгеновской микроскопии (XRD)* регистрировали на дифрактометре mikroXRD D8 Discover в течении 30 минут с использованием излучения Cu K α (1,5405 Å) при 30 мА и 40 кВ.

Концентрацию металлов в растворах измеряли методом *атомно-адсорбционной спектроскопии* на спектрометре AGILENT 280 FS AA.

Для проведения измерений *электронного парамагнитного резонанса (ЭПР)* золотая решетка с привитыми молекулами алкоксиамина была погружена в 3 мл дихлорметана. Далее ее облучали лазером (780 нм) с мощностью 10 мкВт / мкм² в течение 60 минут. Полученный раствор упаривали досуха и остаток растворяли в 0,3 мл трет-бутилбензола. Концентрация образующегося нитроксида ралмкала была оценена с использованием EPR Bruker в X-диапазоне с параметрами: усиление приемника при 10E4, амплитуда модуляции при 2G, время развертки при 21 с, ширина развертки 200G и мощность 20 мВт. 0,1 мМ раствор ТЕМПО (0,3 мл) использовали в качестве эталона для определения количества радикалов. Контрольный эксперимент с алкоксиамином проводили в темноте в аналогичных условиях.

Анализ смесей L/D-ДОПА проводили с помощью *высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)* с использованием хиральной колонки Chirobiotic-T на жидкостном хроматографе Shimadzu, LC-10AS.

3.3 Методы оценки работы сенсора

Определения минимальной определяемой концентрации (LOD)

Золотые решетки с привитыми ОФГ (алифатические ОФГ, PNIPAM, ДТПА, MOF, последовательность олигонуклеотидов, L/D-энантиомеры винной кислоты) погружались в растворы целевых аналитов (в случае PNIPAM при $T=36\text{ }^{\circ}\text{C}$) в различных концентрациях 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-10} , 10^{-12} и 10^{-14} на 30-120 мин, промывали водой, метанолом, сушили в эксикаторе и снимали SERS спектры. Затем выбирался наиболее информативный и интенсивный пик, с использованием значений его интенсивностей строилась калибровочная прямая в координатах $\log(C)$ – интенсивность пика, где C – концентрация аналита. Затем в программе Origin 9.2 проводилось линейное сглаживание прямой и рассчитывалось ее уравнение.

Определение воспроизводимости SERS сигнала.

На золотой решетке было проведено пять линий на активной области образца, и интенсивность SERS сигнала была измерена в пяти точках вдоль каждой линии. Статистическая оценка результатов измерений, выполненная с помощью программы Hypothesis Tests. На представленных рисунках высоты столбцов показывают средние абсолютные интенсивности пиков, измеренные вдоль пяти линий, а столбцы ошибок на столбцах дают информацию о разбросе значений, измеренных в разных точках.

3.4 Методы получения материалов

4-нитробензолдiazоний тозилат (ADT-NO_2), 4-аминобензолдiazоний тозилат (ADT-NH_2) и 4-карбоксибензолдiazоний тозилат (ADT-COOH), 4-(гептадекафтороктил)бензолдiazоний тозилат ($\text{ADT-C}_8\text{F}_{17}$), 4-этинилбензолдiazоний тозилата ($\text{ADT-C}\equiv\text{CH}$), 4-азидобензолдiazоний тозилат (ADT-N_3) были получены по ранее опубликованной методике [165, 294].

4-метилбензолдiazоний тозилат (ADT-CH_3), 4-бутилбензолдiazоний тозилат ($\text{ADT-C}_4\text{H}_9$), 4-децилбензолдiazоний тозилат ($\text{ADT-C}_{10}\text{H}_{21}$), 4-

гексадецилбензолдiazоний тозилат (ADT-C₁₆H₃₃) были получены по ранее опубликованной методике [295].

ADT-C₈F₁₇ Т. П. 119 °С; ИК (KBr): 2268 (N≡N); ¹H ЯМР (500 MHz, метанол); δ 2.33 (с, 3H), 7.18 (д, J = 8 Hz, 2H), 7.65 (д, J = 8 Hz, 2H), 8.3 (д, J = 9 Hz, 2H), 8.85 (д, J = 8 Hz, 2H); ¹³C ЯМР (75 MHz, ДМСО); δ 19.86, 113.9, 115.19, 118.2, 119.9, 120.85, 122.8, 125.51, 128.1, 128.15, 128.4, 129.9, 130.2, 133.0, 139.0, 139.24, 139.38, 139.44, 140.26, 142.1, 162.83.

ADT- C≡CH т.п. 88-91 °С с разложением. ИК (KBr): 2215 (N≡N) cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, ДМСО): δ 2.29 (с, 3H), 2,5 (с, 1H), 7.12 (д, J = 7 Hz, 2H), 7.48 (д, J = 7 Hz, 2H), 8.04 (д, J = 9 Hz, 2H), 8.69 (д, J = 9.0 Hz, 2H). ¹³C ЯМР (ДМСО): δ 21.36, 81.82, 91.83, 115.96, 125.97, 128.63, 133.48, 134.03, 134.46, 138.36, 145.81.

ADT-N₃ т.п. 137-139 °С с разложением. ИК (KBr): 2230 (N≡N) cm⁻¹. ¹H ЯМР (500 MHz, ДМСО): δ 2.29 (с, 3H), 7.12 (д, J = 8.0 Hz, 2H), 7.48 (д, J = 8 Hz, 2H), 7.64 (д, J = 9 Hz, 2H), 8.64 (д, J = 9.0 Hz, 2H). ¹³C ЯМР (ДМСО): δ 21.26, 122.25, 125.96, 128.54, 135.52.

Получение и модификация тонких пленок золота

Золото наносили на стеклянную поверхность (Thermo Scientific), покрытую прозрачным слоем титана (толщина около 10 нм), методом магнетронного напыления (аргоновая плазма, чистота газа - 99,995%, давление газа 4 Па, мощность разряда 7,5 Вт, время напыления 120 с, полученная толщина 18,5 нм) с помощью системы напыления "Oerlikon UNIVEX 450 C.

Полученные тонкие пленки золота, золотые решетки спонтанно модифицировались путем вымачивания свежеприготовленных пленок в 1 мМ свежеприготовленных растворах, соответствующих ADT в деионизированной воде в течение 20 мин (для смеси 4-(гептадекафторооктил) бензолдiazония тозилата была использована смесь

вода / этанол (3/1)). Затем образцы промывались водой, метанолом и ацетоном и высушивались на воздухе.

Электрохимическая модификация проводилась в 1 мМ водных растворах соответствующих ADT без добавления каких-либо электролитов при наложении потенциала -2 В. в течение 10 мин с платиновым противоэлектродом. После модификации субстраты промывали при ультразвуковой обработке последовательно деионизированной водой, метанолом и ацетоном в течение 10 минут и сушили на воздухе

Получение и модификация золотых НЧ

Золотые нанозвездочки получали по ранее опубликованной методике [179].

Водные растворы ADT (70 мкл, 10 мМ) добавляли к свежеприготовленной суспензии НЧ и перемешивали в течении 30 минут. Затем НЧ центрифугировали (5000 об / мин в течение 10 минут) и тщательно промывали деионизированной водой, метанолом и высушивали при комнатной температуре.

Получение и модификация золотых упорядоченных решеток

Золотые решетки получали по ранее опубликованной методике [62, 161, 162]. Полимерные пленки (Раствор эпоксидной смолы - фоторезист, Су-8, Microchem) наносили методом центрифугирования (1000 об / мин, 30 минут) на свежечищенные стеклянные подложки (Glassbel Ltd, Чехия). Подготовленные образцы высушивали при 50 ° С в течение 24 часов и облучали УФ-лампой в течение 30 минут. После этого образцы выдерживались при 90 ° С в течение 2 часов. Затем, на полимерную поверхность наносили паттерны эксимерным лазером KrF (COMPeXPro 50F, Coherent, Inc., длина волны 248 нм, длительность импульса 20-40 нс, частота повторения 10 Гц). Лазерный луч был линейно поляризован с помощью куба из плавленого кварца с активным поляризационным слоем. Образцы облучали путем применения 3500 лазерных импульсов с мощностью лазера 9

мДж / см². Угол падения лазерного луча относительно нормали поверхности образца составлял 50 ° с апертурой площадью 5 × 10 мм². В результате на поверхности Су-8 были созданы периодические поверхностные структуры с размером рисунка 1х2 см². Затем золото наносилось на полимерную поверхность магнетронным напылением (плазма DC Ar, чистота газа 99,995%, давление газа 4 Па, мощность разряда 7,5 Вт, время распыления 200 с и толщина около 25 нм). Осаждение золота было выполнено с использованием мишени Au (чистота 99,99%, предоставленная Safina, Чешская Республика).

Модификация золотых решеток проводилась аналогично методу модификации тонких пленок, описанному выше.

Методы вторичной трансформации привитых ОФГ и исследование сенсорных характеристик.

Прививка температурно-чувствительного полимера PNIPAM

Решетки Au-COOH погружались свежеприготовленный 0,4 М раствор N, N'-дициклогексилкарбодиимида (DCC) в дихлорметане и 0,1 М раствор N-гидроксисукцинимид (NHS) в объемном соотношении 1:1 и выдерживались в течение 6 часов. После этого решетки тщательно промывали дихлорметаном и этанолом 3 раза. Далее полученные золотые решетки погружали в 1 мМ раствор PNIPAM-NH₂ на 12 часов. Затем решетки промывали 3 раза дихлорметаном, ацетоном и высушивались на воздухе.

Регенерация и повторное использование Au-PNIPAM

Для оценки возможности регенерации SERS сенсора были поочередно проведены следующие эксперименты и измерения:

- (1) - захват кристаллического фиолетового (CV) из 10⁻¹⁴ М раствора, снятие SERS спектров
- (2) - вымывание CV, снятие SERS спектров
- (3) - захват метанила желтого (ME) из раствора 10⁻¹⁴ М, снятие SERS спектров

(4) - вымывание ME, снятие SERS спектров

(5) - захват дисперсного красного (DR1) из 10^{-14} М раствора, снятие SERS спектров

(6) - вымывание DR1, снятие SERS спектров

Все измерения были выполнены на одном и том же образце. Захват красителей осуществляли погружением образца в соответствующий раствор при комнатной температуре и нагреванием выше LCST с последующей трехкратной промывкой образца горячей водой. Вымывание красителей проводили погружением образца в дистиллированную воду на 15 минут. при комнатной температуре.

Прививка последовательности олигонуклеотидов

0,5 нмоль олигонуклеотида 1 (5-NH₂(CH)₆-5'-cgCCAATAC GACCAAATCCG-3'=O-1) прививали к поверхности с помощью EDC / сульфо-NHS активации: 4 мл 0,5 мМ раствора EDC (буфер MES, pH 4,5) и 1,25 мМ сульфо-NHS-SO₃Na (буфер MES, pH 4,5) смешивали и золотую решетку Au-COOH погружали в раствор EDC / сульфо-NHS на 20 мин. Затем образец промывали MES буфером и деионизованной водой. Для ковалентной прививки O-1 на активированные карбоксильные группы, 100 мкл O-1 (0,5 нмоль) растворяли в 5 мл буфера PBS (pH = 7,2) и активированную решетку погружали в этот раствор на 2 часа. После модифицированную решетку промывали буфером PBS, водой и высушивали на воздухе.

Гибридизация олигонуклеотидов

Для гибридизации использовали буфер: 10 мМ Трис, pH 7,5, 50 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА. 100 мкл ODN (10^{-7} М) растворяли в 5 мл буфера, образец Au-O-1 с привитыми нуклеотидами нагревали до 95 °С и постепенно охлаждали до 25 °С. Затем сенсор промывали буферным раствором, водой и сушили. Для конкурентного детектирования комплементарных и частично комплементарных олигонуклеотидов было использовано различное

соотношение О-2 и О-3, и была проведена процедура гибридизации, как описано выше.

Для конкурентного обнаружения комплементарных олигонуклеотидов в присутствии некомплементарных и частично комплементарных, были взяты разные соотношения между О-2 и О-3 и О-4, и была проведена процедура гибридизации, как описано выше

Иммобилизация ДТПА на поверхности

0,05 ммоль (0,018 г) диэтилентриаминпентауксусного диангидрида растворяли в 5 мл ДМФА и добавляли 0,07 ммоль (10 мкл) Et₃N. Поверхностно-модифицированные решетки Au-NH₂ погружали в свежеприготовленный раствор ДТРА-ангидрида и Et₃N на 3 часа. После модификации золотые субстраты промывали последовательно ДМФА ацетоном и высушивали на воздухе.

Одновременное обнаружение двух ионов металлов

Сенсоры Au-ДТПА погружались в смесь 10 мл водных растворов CoCl₂ (10⁻⁸ М) и PbCl₂ (10⁻⁸ М) на 20 мин. Затем золотые решетки промывались водой, высушивались, и затем снимались SERS спектры.

Прививка L/D-энантиомеров винной кислоты

L- или D-винную кислоту прививали на поверхность с помощью EDC / сульфо-NHS активации: 2 мл 0,5 мМ раствора EDC (буфер MES pH = 4,5) и 2 мл 1,25 мМ сульфо-NHS-SO₃Na (pH буфера MES = 4.5) добавляли 0,75 мкмоль L / D-винной кислоты в течение 30 мин (мольное соотношение винная кислота, EDC, NHS составляет 0,75: 1: 2,5). Затем pH раствора доводили с помощью PBS до pH = 7.2 и Au-NH₂ были погружены в этот раствор на 2 часа. После прививки модифицированную решетку промывали PBS буфером, кислым раствором (pH ≈ 5,5), водой и высушивали на воздухе.

Определение угла смачиваемости с помощью мобильного приложения

Сенсор Au-L или Au-D -ТА был размещен параллельно оптической оси таким образом, что изображение капли воды в поперечном сечении могло быть зафиксировано камерой в мобильном телефоне. Для обнаружения смачиваемости с помощью мобильного телефона было разработано приложение “Drop Angle” на базе операционной системы Android. Это приложение было успешно установлено и протестировано на смартфоне Android версии 7.0. Это удобное для пользователя приложение напрямую рассчитывает значения угла контакта. Расхождение измерений с помощью Shape Analyzer Kruss и приложения для мобильных телефонов «Dropangle» составили менее 4%.

Регенерация и повторное использование Au-L/D-TA

Для оценки возможности регенерации SERS сенсора были проведены следующие эксперименты и измерения: 10-12 М раствор L-ДОПА наносили по каплям на образцы Au-L-TA и измеряли угол смачивания. После этого с сенсора снимали SERS спектры. Затем его погружали в водный раствор HCl (pH = 6,4) на 30 минут, промывали водой, сушили и анализировали угол смачивания и снимали SERS спектры. Процедура нанесения аналита / регенерации и оценка функциональности чипа была повторена не менее 5 раз

Исследования селективности

Для оценки селективности использовали следующие смеси L-ДОПА и D-ДОПА: $L / D = 10^{-4} / 10^{-8}$, $10^{-4} / 10^{-10}$, $10^{-4} / 10^{-12}$ (для Au-L-TA) и $D / L = 10^{-4} / 10^{-8}$, $10^{-4} / 10^{-10}$, $10^{-4} / 10^{-12}$ (для Au-D-TA). Для каждой смеси угол смачивания измеряли с приложения «Dropangle», и SERS измерения проводили на одном и том же сенсоре. Поверхности сенсоров перед измерениями тщательно промывали водой, чтобы удалить все не специфически абсорбированные молекулы.

Исследование коммерчески доступного препарата, содержащего ДОПА

Одна капсула лекарственного средства (0,78 г) экстрагировалась 10 мл водной 0,1 М HCl 24 часа. Производитель заявлял содержание минимум 120

мг ДОПА ($6 \cdot 10^{-4}$ моль) в одной капсуле. Суспензию центрифугировали, отбирали 10 мкл и разбавляли в 100 мл воды. Полученный раствор использовали для измерений смачиваемости и SERS измерений. Контрольные измерения концентраций L / D-ДОПА проводили с помощью хиральной ВЭЖХ с использованием хиральной колонки Chirobiotic-T на жидкостной хроматографии Shimadzu, аппарат LC-10AS.

Модификация поверхности решеток золота MOF-5.

Рост MOF-5 на модифицированной поверхности проводилась согласно ранее известной методике [296]. Маточная жидкость из синтеза MOF-5 использовалась для поверхностного роста на Au –COOH поверхности золота. Образцы золота были вертикально помещены в раствор маточной жидкости MOF-5 на 3 дня. После этого образцы промывали ДМФА, хлороформом и сушили в вакууме в течение 3 часов.

Приготовление модельного образца почвы

Использовали следующий состав модельного образца почвы: 1 г гомогенизированной почвы, 10 мл 10^{-10} М параоксона (этанол), 5 мл 10^{-10} М фумонизина В1 (вода), 5 мл 10^{-12} М Судана III (этанол) и 10 мл воды. Подготовленную смесь перемешивали в течение 1 часа на шейкере Rotamax 120 (Heidolph). Образец извлекали из шейкера и высушивали на роторном испарителе до полного высыхания. Окончательный отбор пробы (0,1 г) из высушенной массы осуществляли методом квартирования [297]. Расчетное количество параоксона составило $2,8 \cdot 10^{-11}$ г. Методика последовательной экстракции органических веществ из почвы осуществлялась в соответствии с [298]. Высушенный образец почвы суспендировали в 3 мл воды; смесь встряхивали в течение 2 часов, центрифугировали в течение 1 часа при 8000 об / мин, надосадочную жидкость отделяли и использовали для дальнейшего анализа с использованием Au-MOF и снятия SERS спектров. Остатки образца почвы высушивали в вакууме для удаления растворителя, а затем проводили

экстракцию в следующем растворителе. Использовали следующую последовательность растворителей: вода, ацетонитрил, этанол и хлороформ. Для приготовления эталонных жидкостей для SERS измерений была использована методика для модельного образца почвы, но без добавления каких-либо химических веществ. Образцы Au-MOF погружали в полученные экстракционные растворы или контрольные растворы на 30 мин, промывали соответствующим растворителем, высушивали и снимали SERS спектры.

Модификация золотых решеток с использованием меркаптоянтарной кислоты

Модифицированные золотые решетки Au-C≡CH погружали в 10 мл 20 мМ раствора меркаптоянтарной кислоты с 4 мг эозина Y в ацетонитриле. После этого образцы помещали в фотореактор - симулятор солнечного света на 1 час. После реакции образцы промывали ацетонитрилом (3 раза), метанолом (3 раза), ацетоном (3 раза) и высушивали на воздухе.

3.5 Методы проведения плазмон-индуцированных реакций

Эксперименты по контролю температуры.

Золотые решетки помещали в чашку Петри (диаметром 4 см), ультратонкую термopару помещали на поверхность образца и фиксировали с помощью проводящей пасты. Лазерный луч (780 нм) фокусировался на поверхности образца вблизи рабочей поверхности термopары, и изменения температуры отслеживались вплоть до достижения постоянного значения температуры.

Плазмон-индуцированное азид-алкиновое циклоприсоединение

Каждый раз перед началом процесса регистрировались спектры модифицированных решеток Au-C≡CH. Золотые решетки Au-C≡CH погружались в круглую чашку Петри (диаметром 4 см) в термостатированных условиях с раствором 5 мл 1 мМ раствора 4-азидобензойной кислоты в смеси метанол / вода (об. / Об. = 1: 1). Затем решетки освещались лазером от Рамановского спектрометра Nicolet Almega

XR с длиной волны 785 нм, соответствующей максимуму плазмонного резонанса, при этом лазерный луч фокусировался в пятно диаметром 25 мкм. Для исследования кинетики спектры записывались через определенной отрезок времени (указанный на рисунках SERS спектров) при условиях снятия 30 раз по 3 секунды. На графиках приведены SERS спектры после вычитания спектров используемых растворителей на исходной золотой решетке. Для проведения реакции использовались следующие мощности лазера 6,7, 8, 10, 14 и 18 мкВт / мкм². Освещение проводили до полной конверсии ацетиленовых ОФГ. Конверсия поверхностных групп определялась по характеристическому SERS пику на 2098 см⁻¹ для золотых решеток и 2006 см⁻¹ для серебряных решеток. Все спектры были автоматически скорректированы и сглажены по базовой линии, используя алгоритм усреднения по 11 точкам с использованием Omnic professional Software Suite (Thermo Scientific, Inc., Madison, WI).

Проведение контрольных экспериментов с серебряной решеткой.

Серебряные решетки, модифицированные ADT-C≡CH, погружали в раствор 1 мМ 4-азидобензойной кислоты и освещали лазером с длиной волны 785 нм в тех же условиях, что были описаны выше. Последующие контрольные эксперименты SERS (с длиной волны возбуждения 532 нм) были выполнены с использованием Рамановского спектрометра (532 нм) на сухих образцах, после их удаления из реакционной смеси и промывки смесью вода / метанол для обнаружения возможных следовых концентраций триазольных фрагментов. Все спектры были автоматически скорректированы и сглажены по базовой линии, используя алгоритм усреднения по 11 точкам с использованием Omnic professional Software Suite (Thermo Scientific, Inc., Madison, WI).

Контрольные измерения образования побочных продуктов

4- (4-фенил-1H-1,2,3-триазол-1-ил) бензойная кислота (1) была получена согласно [299]. 10^{-8} М водный / метанольный раствор 1 наносили на чистую золотую решетку и снимали SERS спектры (длина волны 785 нм, мощность лазера 15 мВт).

Плазмон-индуцированное гидрогенирование 4-этинилфенильных групп

Каждый раз перед началом процесса регистрировались спектры модифицированных решеток Au-C $\equiv$ CH. Золотые решетки Au-C $\equiv$ CH погружались в круглую чашку Петри (диаметром 4 см) в термостатированных условиях в циклогексене. Затем решетки освещались лазером от Рамановского спектрометра Nicolet Almega XR с длиной волны 785 нм, соответствующей максимуму плазмонного резонанса, при этом лазерный луч фокусировался в пятно диаметром 25 мкм. Для исследования кинетики спектры записывались через определенный отрезок времени (указанный на рисунках SERS спектров) при условиях снятия 30 раз по 3 секунды. На графиках приведены SERS спектры после вычитания спектров циклогексена на немодифицированной золотой решетке. Для проведения реакции использовались следующие мощности лазера 4,8, 6,0, 7,2 и 9,6 мкВт / мкм². Освещение проводили до полной конверсии ацетиленовых ОФГ. Конверсия поверхностных групп определялась по характеристическому SERS пику на 2010 см⁻¹. Все спектры были автоматически скорректированы и сглажены по базовой линии, используя алгоритм усреднения по 11 точкам с использованием Omnic professional Software Suite (Thermo Scientific, Inc., Madison, WI).

Плазмон-индуцированная нитроксид- опосредованная полимеризация

Алкоксиамин (1 - ((1- (4-аминофенил) этокси) (трет-бутил) amino) -2,2-диметилпропил) фосфонат был получен по ранее опубликованной методике [300].

Электрохимическая прививка алкоксиамина:

Модификацию золотых решеток проводили путем электрохимического восстановления *in situ* полученной соли диазония в смеси воды и метанола (1/1) при комнатной температуре. К раствору *p*-TsOH (0,14 г, 0,5 ммоль) в метаноле (2 мл) медленно добавляли трет-бутилнитрит (60 мкл, 0,5 ммоль). Затем аминоалкоксиамин (1), 0,013 г, 0,3 ммоль) добавляли в 4 этапа к реакционной смеси в течение 1 минуты. Смесь перемешивали в течение 40 мин. К раствору метанола добавляли 2 мл воды и оставляли перемешиваться на 10 минут. Электрохимическая модификация золотых решеток проводилась в полученном растворе без добавления каких-либо электролитов под потенциалом -2 В в течение 10 мин с платиновым противоэлектродом. После модификации субстраты промывались при ультразвуковой обработке последовательно водой, этанолом и ацетоном в течение 10 минут и высушивали.

Каждый раз перед началом процесса регистрировались спектры модифицированных решеток Au-C≡CH. Золотые решетки Au-C≡CH погружались в круглую чашку Петри (диаметром 4 см) в термостатированных условиях в 10 мМ раствор NIPAM или VBA в дихлорметане. Затем решетки освещались лазером от Рамановского спектрометра Nicolet Almega XR с длиной волны 785 нм, соответствующей максимуму плазмонного резонанса, при этом лазерный луч фокусировался в пятно диаметром 25 мкм. Для исследования кинетики спектры записывались через определенный отрезок времени (указанный на рисунках SERS спектров) при условиях снятия 30 раз по 3 секунды. На графиках приведены SERS спектры после вычитания спектров мономера на немодифицированной золотой решетке. Для проведения реакции использовалась мощность лазера 10 мкВт / мкм². Освещение проводили до полной конверсии ацетиленовых ОФГ. Конверсия поверхностных групп определялась по прекращению увеличения интенсивности пика на 1370 см⁻¹, характерного для PNIPAM.

Все спектры были автоматически скорректированы и сглажены по базовой линии, используя алгоритм усреднения по 11 точкам с использованием Omnic professional Software Suite (Thermo Scientific, Inc., Madison, WI).

SERS детектирование катехола.

Золотые решетки с привитыми полимерами Au-PNIPAM / VBA погружали в водные растворы катехола при pH 7,4 в концентрациях 10^{-8} М, а SERS спектры снимали при двух температурах: 23 и 35 ° С.

SERS детектирование α -1 гликопротеина.

Золотые решетки с привитыми полимерами Au-PNIPAM / VBA погружали в раствор α -1 кислотного гликопротеина в PBS при pH 7,4 в концентрациях 10^{-8} М, SERS спектры снимали при двух температурах: 23 и 35 ° С.

Выводы

1. Разработаны простые и эффективные методы ковалентной модификации 2D и 0D нано размерных материалов на основе золота, включая упорядоченные структуры с использованием АДТ в водных средах, а также методы вторичной трансформации органических функциональных групп
2. Показано, что прививка специфических органических функциональных групп на поверхности материала существенно влияет на селективность и чувствительность сенсоров на основе золотых упорядоченных решеток.
3. Разработан комплекс методов вторичных трансформаций органических функциональных групп АДТ на поверхности плазмон активных золотых решеток и предложен дизайн высокочувствительных и селективных сенсорных систем, основанных на эффекте ГКР света.
4. Показано, что возбуждение плазмон-поляритона на поверхности золотых решеток способно индуцировать химические трансформации органических функциональных групп в мягких условиях
5. Разработаны новые способы SERS-детектирования Рамановской спектроскопией-как экологических значимых загрязнителей (ионов тяжелых металлов, азо-красителей и пестицидов), так и биологически релевантных молекул (олигонуклеотидов, маркеров заболеваний и энантиомеров лекарств, гликопротеинов) с использованием сенсоров на основе поверхностно-модифицированных золотых решеток и проведена оценка минимально определяемых концентраций компонентов.
6. Разработаны чувствительные и селективные методики определения ионов тяжелых металлов, азо-красителей и пестицидов, а также некоторых биологически релевантных молекул (олигонуклеотидов, маркеров заболеваний и др.) с использованием разработанных сенсоров на основе поверхностно-модифицированных золотых решеток методом спектроскопии комбинационного рассеяния.

Список используемых сокращений

AAC - азид-алкиновое циклоприсоединение
ADT-C $\equiv$ CH - 4-этинилбензолдiazоний тозилата
ADT-C₁₀H₂₁ - 4-децилбензолдiazоний тозилат
ADT-C₁₆H₃₃ - 4-гексадецилбензолдiazоний тозилат
ADT-C₄H₉ - 4-бутилбензолдiazоний тозилат
ADT-C₈F₁₇ - 4-(гептадекафтороктил)бензолдiazоний тозилат
ADT-CH₃ - 4-метилбензолдiazоний тозилат
ADT-COOH - 4-карбоксибензолдiazоний тозилат
ADT-N₃ - 4-азидобензолдiazоний тозилат
ADT-NH₂ - 4-аминобензолдiazоний тозилат
ADT-NO₂ - 4-нитробензолдiazоний тозилат
AFM – атомно-силовая микроскопия
AuMs – золотые нанозвездочки
BSA - бычий сывороточный альбумин
CV – кристаллический фиолетовый
CVA - циклическая вольтамперометрия
DCC - 1,3-Дициклогексилкарбодиимид
DFT- Теория функционала плотности
DMAB – 4,4-димеркаптоазобензол
DR1 – дисперсный красный
EDC - 1-Этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид
LOD – минимальная определяемая концентрация
ME – метанил желтый
MES - 2-(N-морфолино)этансульфоновая кислота
MSA – меркаптоуксусная кислота
NHS - N-гидроксисукцинимид
NIPAM - N-изопропилакриламид

NMP – нитроксид-опосредованная полимеризация
PBS - натрий-фосфатный буфер
PCA – метод главных компонент
PNIPAM - поли-N-изопропилакриламид
pVBA – поли-винилбороновая кислота
SEM – сканирующая электронная микроскопия
SERS – спектр комбинационного рассеивания света
ТА - винная кислота
ТЕМ - просвечивающая электронная микроскопия
VBA - винилбороновая кислота
XPS – рентгеновская фотоэлектронная микроскопия
XRD - рентгеноструктурный анализ
АДТ - арендиазоний тозилаты
АСД – ароматические соли диазония
ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография
ГКР- гигантское комбинационное рассеяние
ДМФ - диметилформамид
ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота
ДОПА - 3-гидрокситирозин
ДТПА - диэтилентриаминпентауксусная кислота
КРС - комбинационное рассеяние света
НБДТ – 4-нитробензолдиазоний тетрафторборат
НЧ – наночастицы
ОФГ – органические функциональные группы
ППП – поверхностный плазмон-поляритон
РАТР – 4-аминотиофенол
УФ - ультрафиолетовый
ЭПР - Электронный парамагнитный резонанс

Список используемой литературы

1. Lombardo, S. J., Bell, A. T. A review of theoretical models of adsorption, diffusion, desorption, and reaction of gases on metal surfaces // Surface science reports. – 1991. – 13. – 1. – 3-72.
2. Jain, P. K., Huang, X., El-Sayed, I. H., El-Sayed, M. A. Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to Biosystems // Plasmonics. – 2007. – 2. – 107-118.
3. Pradeep, T. Noble metal nanoparticles for water purification: a critical review // Thin solid films. – 2009. – 517. – 24. – 6441-6478.
4. Lim, R. J., Xie, M., Sk, M. A., Lee, J. M., Fisher, A., Wang, X., Lim, K. H. A review on the electrochemical reduction of CO₂ in fuel cells, metal electrodes and molecular catalysts // Catalysis Today. – 2014. – 233. – 169-180.
5. Kalpakjian, S., Vijai Sekar, K. S., Schmid, S. R. Manufacturing engineering and technology // Pearson. – 2014. – 6-13.
6. Liu, X. Y., Gong, T. C., Zhang, J., Ji, J., Huo, W. C., Cao, T., Liu, Y. Engineering hydrogenated manganese dioxide nanostructures for high-performance supercapacitors // Journal of colloid and interface science. – 2019. – 537. – 661-670
7. Kim, K., Kim, S., Jung, G. H., Lee, I., Kim, S., Ham, J., Lee, J. L. Extremely flat metal films implemented by surface roughness transfer for flexible electronics // RSC Advances. – 2018. – 8. – 20. – 10883-10888.
8. Wijesinghe, W. P. S. L., Mantilaka, M. M. M. G. P. G., Senarathna, K. C., Herath, H. M. T. U., Premachandra, T. N., Ranasinghe, C. S. K., . Bandara, I. M. C. C. D. Preparation of bone-implants by coating hydroxyapatite nanoparticles on

self-formed titanium dioxide thin-layers on titanium metal surfaces // *Materials Science and Engineering: C*. – 2016. – 63. – 172-184.

9. Ullah, N., Mansha, M., Khan, I., Qurashi, A. Nanomaterial-based optical chemical sensors for the detection of heavy metals in water: Recent advances and challenges // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2018. – 100. – 155-166.

10. Pena-Pereira, F., Duarte, R. M., Duarte, A. C. Immobilization strategies and analytical applications for metallic and metal-oxide nanomaterials on surfaces // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2012. – 40. – 90-105.

11. Wu, B., Zheng, N. Surface and interface control of noble metal nanocrystals for catalytic and electrocatalytic applications. // *Nano Today*. – 2013. – 8. – 2. – 168-197.

12. Asri, R. I. M., Harun, W. S. W., Samykano, M., Lah, N. A. C., Ghani, S. A. C., Tarlochan, F., Raza, M. R. Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review // *Materials Science and Engineering: C*. – 2017. – 77. – 1261-1274.

13. Hanawa, T. Surface treatment and modification of metals to add biofunction // *Dental materials journal*. – 2017. – 9. – 2-6.

14. Variola, F., Vetrone, F., Richert, L., Jedrzejowski, P., Yi, J. H., Zalzal, S., Rosei, F. Improving biocompatibility of implantable metals by nanoscale modification of surfaces: an overview of strategies, fabrication methods, and challenges // *Small*. – 2009. – 5. – 9. – 996-1006.

15. Ata, M. S., Poon, R., Syed, A. M., Milne, J., Zhitomirsky, I. New developments in non-covalent surface modification, dispersion and electrophoretic deposition of carbon nanotubes // *Carbon*. – 2018. – 130. – 584-598.

16. Love, J. C., Estroff, L. A., Kriebel, J. K., Nuzzo, R. G., Whitesides, G. M. Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology // *Chemical reviews*. – 2005. – 105. – 4. – 1103-1170.
17. Zeng, C., Liu, C., Chen, Y., Rosi, N. L., Jin, R. Atomic structure of self-assembled monolayer of thiolates on a tetragonal Au₉₂ nanocrystal // *Journal of the American Chemical Society*. – 2016. – 138. – 28. – 8710-8713.
18. Vericat, C., Vela, M. E., Corthey, G., Pensa, E., Cortés, E., Fonticelli, M. H., Salvarezza, R. C. Self-assembled monolayers of thiolates on metals: a review article on sulfur-metal chemistry and surface structures // *RSC Advances*. – 2014. – 4. – 53. – 27730-27754.
19. Palacin, S., Bureau, C., Charlier, J., Deniau, G., Mouanda, B., Viel, P. Molecule-to-Metal Bonds: Electrografting Polymers on Conducting Surfaces // *ChemPhysChem*. – 2004. – 5. – 10. – 1468-1481.
20. Patrone, L., Palacin, S., Charlier, J., Armand, F., Bourgoïn, J. P., Tang, H., Gauthier, S. Evidence of the key role of metal-molecule bonding in metal-molecule-metal transport experiments // *Physical review letters*. – 2004. – 91. – 9. – 096-802.
21. Shewchuk, D. M., McDermott, M. T. Comparison of diazonium salt derived and thiol derived nitrobenzene layers on gold // *Langmuir*. – 2009. – 25. – 8. – 4556-4563.
22. Mesnage, A., Lefèvre, X., Jégou, P., Deniau, G., Palacin, S. Spontaneous grafting of diazonium salts: chemical mechanism on metallic surfaces // *Langmuir*. – 2012. – 28. – 32. – 11767-11778.
23. Borzenkov, M., Chirico, G., D'Alfonso, L., Sironi, L., Collini, M., Cabrini, E., Bernhard, C. Thermal and chemical stability of thiol bonding on gold nanostars. // *Langmuir*. – 2015. – 31. – 29. – 8081-8091.

24. D.J. Guo, F. Mirkhalaf, Modification of nano-objects by aryl diazonium salts, in: M.M. Chehimi (Ed.), *Aryl Diazonium Salts: New Coupling Agents in Polymer and Surface Science*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany. – 2012. – pp. 10
25. Buell, A. K., White, D. A., Meier, C., Welland, M. E., Knowles, T. P., Dobson, C. M. Surface attachment of protein fibrils via covalent modification strategies // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2012. – 114. – 34. – 10925-10938.
26. Griffete, N., Clift, M. J., Lamouri, A., Digigow, R. G., Mihut, A. M., Fink, A., Dietsch, H. Amino covalent binding approach on iron oxide nanoparticle surface: Toward biological applications. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2012. – 415. – 98-104.
27. Al-Lamee, K., Taktak, Y. New methods for surface modification and covalent attachment of heparin // *Medical device technology*. – 1998. – 9. – 1. – 24-27.
28. Saravanan, R. K., Avasthi, I., Prajapati, R. K., Verma, S. Surface modification and pattern formation by nucleobases and their coordination complexes // *RSC Advances*. – 2012. – 8. – 43. – 24541-24560.
29. Delamar, M., Hitmi, R., Pinson, J., Saveant, J. M. Covalent modification of carbon surfaces by grafting of functionalized aryl radicals produced from electrochemical reduction of diazonium salts // *Journal of the American Chemical Society*. 2012. – 114. – 14. – 5883-5884.
30. Guselnikova, O., Elashnikov, R., Postnikov, P., Svorcik, V., Lyutakov, O. Smart, Piezo-Responsive Polyvinylidene fluoride/Polymethylmethacrylate Surface with Triggerable Water/Oil Wettability and Adhesion. // *ACS applied materials interfaces*. – 2018. – 10. – 43. – 37461-37469.
31. Geng, L., Yu, G., Wang, Y., Zhu, Y. Ph-SO₃H-modified mesoporous carbon as an efficient catalyst for the esterification of oleic acid // *Applied Catalysis A: General*. – 2012. – 427. – 137-144.

32. Jiang, C., Alam, M. T., Silva, S. M., Taufik, S., Fan, S., Gooding, J. J. Unique Sensing Interface That Allows the Development of an Electrochemical Immunosensor for the Detection of Tumor Necrosis Factor α in Whole Blood // ACS Sensors. – 2016. – 1. – 12. – 1432-1438.
33. Mousavisani, S. Z., Raoof, J. B., Turner, A. P., Ojani, R., Mak, W. C. Label-free DNA sensor based on diazonium immobilisation for detection of DNA damage in breast cancer 1 gene // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2018. – 264. – 59-66.
34. Yáñez-Sedeño, P., Campuzano, S., Pingarrón, J. Integrated affinity biosensing platforms on screen-printed electrodes electrografted with diazonium salts. // Sensors. – 2018. – 18. – 2. – 675.
35. Cao, C., Zhang, Y., Jiang, C., Qi, M., Liu, G. Advances on aryldiazonium salt chemistry based interfacial fabrication for sensing applications // ACS applied materials interfaces. – 2017. – 9. – 6. – 5031-5049.
36. Mesnage, A., Esnouf, S., Jégou, P., Deniau, G., Palacin, S. Understanding the redox-induced polymer grafting process: A dual surface-solution analysis. // Chemistry of Materials. – 2010. – 22. – 23. – 6229-6239.
37. Doppelt, P., Hallais, G., Pinson, J., Podvorica, F., Verneyre, S. Surface modification of conducting substrates. Existence of azo bonds in the structure of organic layers obtained from diazonium salts // Chemistry of Materials. – 2007. – 19. – 18. – 4570-4575.
38. Lehr, J., Williamson, B. E., Downard, A. J. Spontaneous grafting of nitrophenyl groups to planar glassy carbon substrates: evidence for two mechanisms. // The Journal of Physical Chemistry C. 2011. – 115. – 14. – 6629-6634.
39. Liu, G., Liu, J., Böcking, T., Eggers, P. K., Gooding, J. J. The modification of glassy carbon and gold electrodes with aryl diazonium salt: The impact of the

electrode materials on the rate of heterogeneous electron transfer // *Chemical Physics*. – 2005. – 319. – 1-3. – 136-146.

40. Abiman, P., Wildgoose, G. G., Compton, R. G. Investigating the mechanism for the covalent chemical modification of multiwalled carbon nanotubes using aryl diazonium salts // *Int. J. Electrochem. Sci.* – 2008. – 3. – 104-117.

41. Laurentius, L., Stoyanov, S. R., Gusarov, S., Kovalenko, A., Du, R., Lopinski, G. P., McDermott, M. T. Diazonium-derived aryl films on gold nanoparticles: Evidence for a carbon–gold covalent bond // *ACS Nano*. – 2011. – 5. – 5. – 4219-4227.

42. Baltruschat, H., Heitbaum, J. On the potential dependence of the CN stretch frequency on Au electrodes studied by SERS. // *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry*. – 1983. – 157. – 2. – 319-326.

43. de la Llave, E., Ricci, A., Calvo, E. J., Scherlis, D. A. Binding between Carbon and the Au (111) Surface and What Makes It Different from the S– Au (111) Bond. // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2008. – 112. – 45. – 17611-17617.

44. Allongue, P., Delamar, M., Desbat, B., Fagebaume, O., Hitmi, R., Pinson, J., Savéant, J. M. Covalent modification of carbon surfaces by aryl radicals generated from the electrochemical reduction of diazonium salts. // *Journal of the American Chemical Society*. – 1997. – 119. – 1. – 201-207.

45. Hurley, B. L., McCreery, R. L. Covalent bonding of organic molecules to Cu and Al alloy 2024 T3 surfaces via diazonium ion reduction. // *Journal of The Electrochemical Society*. – 2004. – 151. – 5. – B252-B259.

46. Pretsch, E., Buehlmann, P., Affolter, C., Pretsch, E., Buehlmann, P., Affolter, C. *Structure determination of organic compounds*. Berlin: Springer-Verlag. – 2000. – pp 108

47. Sandomierski, M., Strzemieska, B., Chehimi, M. M., Voelkel, A. Reactive diazonium-modified silica fillers for high-performance polymers. // *Langmuir*. – 2016. – 32. – 44. – 11646-11654.
48. van Druenen, M., Davitt, F., Collins, T., Glynn, C., O'Dwyer, C., Holmes, J. D., Collins, G. Covalent Functionalization of Few-Layer Black Phosphorus Using Iodonium Salts and Comparison to Diazonium Modified Black Phosphorus. // *Chemistry of Materials*. – 2018. – 30. – 14. – 4667-4674.
49. Itoh, T., McCreery, R. L. In situ Raman spectroelectrochemistry of electron transfer between glassy carbon and a chemisorbed nitroazobenzene monolayer. // *Journal of the American Chemical Society*. 2002. – 124. – 36. – 10894-10902.
50. Wang, C. Y., Zeng, Y., Shen, A. G., Hu, J. M. A highly sensitive SERS probe for bisphenol A detection based on functionalized Au@ Ag nanoparticles. // *Analytical Methods*. 2018. – 10. – 47. – 5622-5628.
51. Radi, A. E., Muñoz-Berbel, X., Cortina-Puig, M., Marty, J. L. An electrochemical immunosensor for ochratoxin A based on immobilization of antibodies on diazonium-functionalized gold electrode. // *Electrochimica Acta*. – 2009. – 54. – 8. – 2180-2184.
52. Smith, R. D., Pickup, P. G. Voltammetric quantification of the spontaneous chemical modification of carbon black by diazonium coupling. // *Electrochimica Acta*. – 2009. – 54. – 8. – 2305-2311.
53. Liu, G., Luais, E., Gooding, J. J. The fabrication of stable gold nanoparticle-modified interfaces for electrochemistry. // *Langmuir*. 2011. – 27. – 7. – 4176-4183.
54. Yao, X., Song, Y., Jiang, L. Applications of bio-inspired special wettable surfaces. // *Advanced Materials*. 2011. – 23. – 6. – 719-734.

55. Murphy, A. R., John, P. S., Kaplan, D. L. Modification of silk fibroin using diazonium coupling chemistry and the effects on hMSC proliferation and differentiation. // *Biomaterials*. 2008. – 29. – 19. – 2829-2838.
56. Chehimi, M. M., Lamouri, A., Picot, M., Pinson, J. Surface modification of polymers by reduction of diazonium salts: polymethylmethacrylate as an example. // *Journal of Materials Chemistry C*. 2014. – 2. – 2. – 356-363.
57. Jiang, C., Alam, M. T., Silva, S. M., Taufik, S., Fan, S., Gooding, J. J. Unique Sensing Interface That Allows the Development of an Electrochemical Immunosensor for the Detection of Tumor Necrosis Factor α in Whole Blood. // *ACS Sensors*. 2016. – 1. – 12. – 1432-1438.
58. Mousavisani, S. Z., Raoof, J. B., Turner, A. P., Ojani, R., Mak, W. C. Label-free DNA sensor based on diazonium immobilisation for detection of DNA damage in breast cancer 1 gene. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2018. – 264. – 59-66.
59. Menanteau, T., Levillain, E., Downard, A. J., Breton, T. Evidence of monolayer formation via diazonium grafting with a radical scavenger: electrochemical, AFM and XPS monitoring. // *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2015. – 17. – 19. – 13137-13142.
60. Thompson, C. M., Ruminski, A. M., Garcia Segal, A., Sailor, M. J., Miskelly, G. M. Preparation and characterization of pore-wall modification gradients generated on porous silicon photonic crystals using diazonium salts. // *Langmuir*. – 2011. – 27. – 14. – 8967-8973.
61. Hetemi, D., Pinson, J. Surface functionalisation of polymers. // *Chemical Society Reviews*. – 2017. – 46. – 19. – 5701-5713.
62. Kalachyova, Y., Guselnikova, O., Elashnikov, R., Panov, I., Žádný, J., Církva, V., Lyutakov, O. Helicene-PIIIII-Based Chiral Plasmonic Hybrid Structure:

Toward Direct Enantiomers SERS Discrimination. // ACS applied materials interfaces. – 2018. – 11. – 1. – 1555-1562.

63. Corgier, B. P., Marquette, C. A., Blum, L. J. Diazonium– protein adducts for graphite electrode microarrays modification: direct and addressed electrochemical immobilization. // Journal of the American Chemical Society. – 2005. – 127. – 51. – 18328-18332.

64. Mohamed, A. A., Salmi, Z., Dahoumane, S. A., Mekki, A., Carbonnier, B., Chehimi, M. M. Functionalization of nanomaterials with aryldiazonium salts. // Advances in colloid and interface science. 2015. – 225. – 16-36.

65. Allongue, P., Delamar, M., Desbat, B., Fagebaume, O., Hitmi, R., Pinson, J., Savéant, J. M. Covalent modification of carbon surfaces by aryl radicals generated from the electrochemical reduction of diazonium salts. // Journal of the American Chemical Society. – 1997. – 119. – 1. – 201-207.

66. Marcoux, P. R., Hapiot, P., Batail, P., Pinson, J. Electrochemical functionalization of nanotube films: growth of aryl chains on single-walled carbon nanotubes. // New Journal of Chemistry. – 2004. – 28. – 2. – 302-307.

67. Bernard, M. C., Chaussé, A., Cabet-Deliry, E., Chehimi, M. M., Pinson, J., Podvorica, F., Vautrin-UI, C. Organic layers bonded to industrial, coinage, and noble metals through electrochemical reduction of aryldiazonium salts. // Chemistry of Materials. 2003. – 15. – 18. – 3450-3462.

68. Kim, S. K., Jeon, S. Improved electrocatalytic effect of carbon nanomaterials by covalently anchoring with CoTAPP via diazonium salt reactions. // Electrochemistry Communications. 2012. – 22. – 141-144.

69. Lee, L., Brooksby, P. A., Hapiot, P., Downard, A. J. Electrografting of 4-nitrobenzenediazonium ion at carbon electrodes: catalyzed and uncatalyzed reduction processes. // Langmuir. 2016. – 32. – 2. – 468-476.

70. Pinson, J., Podvorica, F. Attachment of organic layers to conductive or semiconductive surfaces by reduction of diazonium salts. // Chemical Society Reviews. 2005. – 34. – 5. – 429-439.
71. Allongue, P., de Villeneuve, C. H., Cherouvrier, G., Cortes, R., Bernard, M. C. Phenyl layers on H-Si (111) by electrochemical reduction of diazonium salts: monolayer versus multilayer formation. // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2003. – 550. – 161-174.
72. Miliutina, E., Guselnikova, O., Marchuk, V., Elashnikov, R., Burtsev, V., Postnikov, P., Lyutakov, O. Vapor Annealing and Colloid Lithography: An Effective Tool To Control Spatial Resolution of Surface Modification. // Langmuir. 2018. – 34. – 43. – 12861-12869.
73. Harper, J. C., Polsky, R., Wheeler, D. R., Lopez, D. M., Arango, D. C., Brozik, S. M. A multifunctional thin film on electrode surface formed by consecutive electrochemical reduction of aryl diazonium salts. // Langmuir. – 2009. – 25. – 5. – 3282-3288.
74. Wang, C., Huang, N., Zhuang, H., Jiang, X. Enhanced performance of nanocrystalline ZnO DNA biosensor via introducing electrochemical covalent biolinkers. // ACS Applied Materials & Interfaces. – 2015. – 7. – 14. – 7605-7612.
75. Zou, Q., Kegel, L. L., Booksh, K. S. Electrografted diazonium salt layers for antifouling on the surface of surface plasmon resonance biosensors. // Analytical chemistry. – 2015. – 87. – 4. – 2488-2494.
76. Kuo, T. M., Shen, M. Y., Huang, S. Y., Li, Y. K., Chuang, M. C. Facile Fabrication of a Sensor with a Bifunctional Interface for Logic Analysis of the New Delhi Metallo- β -Lactamase (NDM)-Coding Gene. // ACS Sensors. – 2015. – 1. – 2. – 124-130.
77. Zehani, N., Fortgang, P., Lachgar, M. S., Baraket, A., Arab, M., Dzyadevych, S. V., Jaffrezic-Renault, N. Highly sensitive electrochemical biosensor for

bisphenol A detection based on a diazonium-functionalized boron-doped diamond electrode modified with a multi-walled carbon nanotube-tyrosinase hybrid film. // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2015. – 74. – 830-835.

78. Jacques, A., Devillers, S., Delhalle, J., Mekhalif, Z. Electrografting of in situ generated pyrrole derivative diazonium salt for the surface modification of nickel. // *Electrochimica Acta*. – 2013. – 109. – 781-789.

79. Cottineau, T., Morin, M., Bélanger, D. Surface band structure of aryl-diazonium modified p-Si electrodes determined by X-ray photoelectron spectroscopy and electrochemical measurements. // *RSC Advances*. 2013. – 3. – 45. – 23649-23657.

80. Guselnikova, O. A., Postnikov, P. S., Fitl, P., Tomecek, D., Sajdl, P., Elashnikov, R., . Lyutakov, O. Tuning of PEDOT: PSS Properties Through Covalent Surface Modification. // *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 2017. – 55. – 4. – 378-387.

81. Brooksby, P. A., Downard, A. J. Electrochemical and atomic force microscopy study of carbon surface modification via diazonium reduction in aqueous and acetonitrile solutions. // *Langmuir*. 2004. – 20. – 12. – 5038-5045.

82. Brooksby, P. A., Downard, A. J. Electrochemical and atomic force microscopy study of carbon surface modification via diazonium reduction in aqueous and acetonitrile solutions. // *Langmuir*. – 2004. – 20. – 12. – 5038-5045.

83. Koval'chuk, E. P., Reshetnyak, O. V., Pereviznyk, O. B., Marchuk, I. E., Smetanets'kyj, V. Y., Błażejowski, J. Reaction of metals with benzenediazonium tetrafluoroborate in aprotic solvents. // *Central European Journal of Chemistry*. 2010. – 8. – 3. – 652-661.

84. Lehr, J., Williamson, B. E., Flavel, B. S., Downard, A. J. Reaction of gold substrates with diazonium salts in acidic solution at open-circuit potential. // *Langmuir*. 2009. – 25. – 23. – 13503-13509.

85. Lee, C., Yang, W., Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. // *Physical review B*. 1998. – 37. – 2. – 785.
86. Le Floch, F., Simonato, J. P., Bidan, G. Electrochemical signature of the grafting of diazonium salts: A probing parameter for monitoring the electro-addressed functionalization of devices. // *Electrochimica Acta*. 2009. – 54. – 11. – 3078-3085.
87. Lud, S. Q., Steenackers, M., Jordan, R., Bruno, P., Gruen, D. M., Feulner, P., Stutzmann, M. Chemical grafting of biphenyl self-assembled monolayers on ultrananocrystalline diamond. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2009. – 128. – 51. – 16884-16891.
88. Mangeney, C., Qin, Z., Dahoumane, S. A., Adenier, A., Herbst, F., Boudou, J. P., Chehimi, M. M. Electroless ultrasonic functionalization of diamond nanoparticles using aryl diazonium salts. // *Diamond and Related Materials*. – 2008. – 17. – 11. – 881-1887.
89. Ahmad, R., Félidj, N., Boubekur-Lecaque, L., Lau-Truong, S., Gam-Derouich, S., Decorse, P., Mangeney, C. Water-soluble plasmonic nanosensors with synthetic receptors for label-free detection of folic acid. // *Chemical Communications*. – 2015. – 51. – 47. – 9678-9681.
90. Gehan, H., Fillaud, L., Felidj, N., Aubard, J., Lang, P., Chehimi, M. M., Mangeney, C. A general approach combining diazonium salts and click chemistries for gold surface functionalization by nanoparticle assemblies. // *Langmuir*. – 2009. – 26. – 6. – 3975-3980.
91. Ahmad, R., Boubekur-Lecaque, L., Nguyen, M., Lau-Truong, S., Lamouri, A., Decorse, P., Mangeney, C. Tailoring the surface chemistry of gold nanorods through au-c/ag-c covalent bonds using aryl diazonium salts. // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2014. – 118. – 33. – 9098-19105.

91. Grimme, S., Antony, J., Schwabe, T., Mück-Lichtenfeld, C. Density functional theory with dispersion corrections for supramolecular structures, aggregates, and complexes of (bio) organic molecules. // *Organic Biomolecular Chemistry*. – 2007. – 5. – 5. – 741-758.
93. Perdew, J. P. Wang, Y., Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy. // *Phys. Rev. B*. – 1992. – 45. – 13244–13249.
94. Guselnikova, O. A., Galanov, A. I., Gutakovskii, A. K., Postnikov, P. S. The convenient preparation of stable aryl-coated zerovalent iron nanoparticles. // *Beilstein journal of nanotechnology*. – 2015. – 6. - 1192.
95. Atmane, Y. A., Sicard, L., Lamouri, A., Pinson, J., Sicard, M., Masson, C., Mangeney, C. Functionalization of aluminum nanoparticles using a combination of aryl diazonium salt chemistry and iniferter method. // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2013. – 117. – 49. – 6000-26006.
96. Mirkhalaf, F., Paprotny, J., Schiffrin, D. J. Synthesis of metal nanoparticles stabilized by metal– carbon bonds. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2003. – 128. – 23. – 7400-7401.
97. Ghosh, D., Chen, S. Palladium nanoparticles passivated by metal–carbon covalent linkages. // *Journal of Materials Chemistry*. – 2008. – 18. – 7. – 755-762.
98. Griffete, N., Herbst, F., Pinson, J., Ammar, S., Mangeney, C. Preparation of water-soluble magnetic nanocrystals using aryl diazonium salt chemistry. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2011. – 133. – 6. – 1646-1649.
99. Griffete, N., Li, H., Lamouri, A., Redeuilh, C., Chen, K., Dong, C. Z., Mangeney, C. Magnetic nanocrystals coated by molecularly imprinted polymers for the recognition of bisphenol A. // *Journal of Materials Chemistry*. 2012. – 22. – 5. – 1807-1811.

100. Huang, L., Wang, Z., Zhang, J., Pu, J., Lin, Y., Xu, S., Shi, W. Fully printed, rapid-response sensors based on chemically modified graphene for detecting NO₂ at room temperature. // ACS applied materials interfaces. 2014. – 6. – 10. – 7426-7433.
101. Minaev, B. F., Bondarchuk, S. V., Gîrțu, M. A. DFT study of electronic properties, structure and spectra of aryl diazonium cations. // Journal of Molecular Structure: THEOCHEM. - 2009. - 904. - 1-3. - 14-20.
102. Zhao, W., Tong, B., Pan, Y., Shen, J., Zhi, J., Shi, J., Dong, Y. Fabrication, electrochemical, and optoelectronic properties of layer-by-layer films based on (phthalocyaninato) ruthenium (II) and triruthenium dodecacarbonyl bridged by 4, 4'-bipyridine as ligand. // Langmuir. - 2009. - 25. - 19. - 11796-11801.
103. Busson, M., Berisha, A., Combellas, C., Kanoufi, F., Pinson, J. Photochemical grafting of diazonium salts on metals. // Chemical Communications. - 2011. - 47. - 47. - 12631-12633.
104. Bouriga, M., Chehimi, M. M., Combellas, C., Decorse, P., Kanoufi, F., Deronzier, A., Pinson, J. Sensitized Photografting of Diazonium Salts by Visible Light. // Chemistry of Materials. - 2012. - 25. - 1. - 90-97.
105. Verberne-Sutton, S. D., Quarels, R. D., Zhai, X., Garino, J. C., Ragains, J. R. Application of visible light photocatalysis with particle lithography to generate polynitrophenylene nanostructures. // Journal of the American Chemical Society. - 2014. - 136. - 41. - 14438-14444.
106. Schroll, P., Fehl, C., Dankesreiter, S., König, B. Photocatalytic surface patterning of cellulose using diazonium salts and visible light. // Organicbiomolecular chemistry. - 2013. - 11. - 38. - 6510-6514.

107. Bonin, H., Sauthier, M., Felpin, F. X. Transition Metal-Mediated Direct C-H Arylation of Heteroarenes Involving Aryl Radicals. // *Advanced Synthesis Catalysis*. - 2014. - 356. - 4. - 645-671.
108. Homola, J. Present and future of surface plasmon resonance biosensors. // *Analytical and bioanalytical chemistry*. - 2003. - 377. - 3. - 528-539.
109. Barnes, W. L., Dereux, A., Ebbesen, T. W. Surface plasmon subwavelength optics. // *Nature*. - 2003. - 424. - 6950. - 824.
110. Zayats, A. V., Smolyaninov, I. I., Maradudin, A. A. Nano-optics of surface plasmon polaritons. // *Physics reports*. - 2005. - 408. - 3-4. - 131-314.
111. Scarabelli, L., Hamon, C., Liz-Marzán, L. M. Design and fabrication of plasmonic nanomaterials based on gold nanorod supercrystals. // *Chemistry of Materials*. - 2016. - 29. - 1. - 15-25.
112. Giesekeing, R. L., Ratner, M. A., Schatz, G. C. Review of plasmon-induced hot-electron dynamics and related SERS chemical effects. // *Frontiers of Plasmon Enhanced Spectroscopy*. - 2016. - 1. - 1-22.
113. Brongersma, M. L., Halas, N. J., Nordlander, P. Plasmon-induced hot carrier science and technology. // *Nature nanotechnology*. - 2015. - 10. - 1. - 25.
114. Khurgin, J. B. How to deal with the loss in plasmonics and metamaterials. // *Nature nanotechnology* - 2015. - 10. - 1. - 2.
115. Kazuma, E., Jung, J., Ueba, H., Trenary, M., Kim, Y. Real-space and real-time observation of a plasmon-induced chemical reaction of a single molecule. // *Science*. - 2018. - 360. - 6388. - 521-526.
116. Sundararaman, R., Narang, P., Jermyn, A. S., Goddard III, W. A., Atwater, H. A. Theoretical predictions for hot-carrier generation from surface plasmon decay. // *Nature communications*. - 2018. - 5. - 5788.

117. Brown, A. M., Sundararaman, R., Narang, P., Goddard III, W. A., Atwater, H. A. Nonradiative plasmon decay and hot carrier dynamics: effects of phonons, surfaces, and geometry. // *ACS Nano*. -2018. - 10. - 1. - 957-966.
118. Boerigter, C., Aslam, U., Linic, S. Mechanism of charge transfer from plasmonic nanostructures to chemically attached materials. // *ACS Nano*. - 2016. - 10. - 6. - 6108-6115.
119. Kim, S. M., Lee, S. W., Moon, S. Y., Park, J. Y. The effect of hot electrons and surface plasmons on heterogeneous catalysis. // *Journal of Physics: Condensed Matter*. - 2016. - 28. - 25. - 254002.
120. Zhang, Z., Fang, Y., Wang, W., Chen, L., Sun, M. Propagating surface plasmon polaritons: towards applications for remote-excitation surface catalytic reactions. // *Advanced Science*. -2016. - 3. - 1. - 1500215.
121. Nguyen, M., Lamouri, A., Salameh, C., Lévi, G., Grand, J., Boubekeur-Lecaque, L., Féridj, N. Plasmon-mediated chemical surface functionalization at the nanoscale. // *Nanoscale*. -2016. - 8. - 16. - 8633-8640.
122. Nguyen, M., Kherbouche, I., Gam-Derouich, S., Ragheb, I., Lau-Truong, S., Lamouri, A., Mangeney, C. Regioselective surface functionalization of lithographically designed gold nanorods by plasmon-mediated reduction of aryl diazonium salts. // *Chemical Communications*. -2017. - 53. - 82. - 11364-11367.
123. Tanaka, A., Teramura, K., Hosokawa, S., Kominami, H., Tanaka, T. Visible light-induced water splitting in an aqueous suspension of a plasmonic Au/TiO₂ photocatalyst with metal co-catalysts. // *Chemical science*. - 2017. - 8. - 4. - 2574-2580.
124. Valenti, M., Jonsson, M. P., Biskos, G., Schmidt-Ott, A., Smith, W. A. Plasmonic nanoparticle-semiconductor composites for efficient solar water splitting. // *Journal of Materials Chemistry A*. - 2016. - 4. - 46. - 17891-17912.

125. Li, H., Qin, F., Yang, Z., Cui, X., Wang, J., Zhang, L. New reaction pathway induced by plasmon for selective benzyl alcohol oxidation on BiOCl possessing oxygen vacancies. // *Journal of the American Chemical Society*. - 2017. - 139. - 9. - 3513-3521.
126. Yang, Q., Xu, Q., Yu, S. H., Jiang, H. L. Pd Nanocubes@ ZIF-8: Integration of Plasmon-Driven Photothermal Conversion with a Metal–Organic Framework for Efficient and Selective Catalysis. // *Angewandte Chemie*. -2016. - 128. - 11. - 3749-3753.
127. Trinh, T. T., Sato, R., Sakamoto, M., Fujiyoshi, Y., Haruta, M., Kurata, H., Teranishi, T. Visible to near-infrared plasmon-enhanced catalytic activity of Pd hexagonal nanoplates for the Suzuki coupling reaction. // *Nanoscale*. - 2015. - 7. - 29. - 12435-12444.
128. Fang, Y., Li, Y., Xu, H., Sun, M. Ascertaining p, p'-dimercaptoazobenzene produced from p-aminothiophenol by selective catalytic coupling reaction on silver nanoparticles. // *Langmuir*. - 2010. - 26. - 11. - 7737-7746.
129. Huang, Y. F., Zhu, H. P., Liu, G. K., Wu, D. Y., Ren, B., Tian, Z. Q. When the signal is not from the original molecule to be detected: chemical transformation of para-aminothiophenol on Ag during the SERS measurement. // *Journal of the American Chemical Society*. - 2010. - 132. - 27. - 9244-9246.
130. Sun, M., Xu, H. A novel application of plasmonics: plasmon-driven surface-catalyzed reactions. // *Small*. - 2012. - 8. - 18. - 2777-2786.
131. Kim, M., Lin, M., Son, J., Xu, H., Nam, J. M. Hot-Electron-Mediated Photochemical Reactions: Principles, Recent Advances, and Challenges. // *Advanced Optical Materials*. -2017. - 5. - 15. - 1700004.

132. Zhang, Z., Deckert-Gaudig, T., Singh, P., Deckert, V. Single molecule level plasmonic catalysis—a dilution study of p-nitrothiophenol on gold dimers. // Chemical communications. - 2015. - 51. - 15. - 3069-3072.
133. Kang, L., Xu, P., Zhang, B., Tsai, H., Han, X., Wang, H. L. Laser wavelength-and power-dependent plasmon-driven chemical reactions monitored using single particle surface enhanced Raman spectroscopy. // Chemical Communications,. - 2013. - 49. - 33. - 3389-3391.
134. Huang, Y. F., Zhu, H. P., Liu, G. K., Wu, D. Y., Ren, B., Tian, Z. Q. When the signal is not from the original molecule to be detected: chemical transformation of para-aminothiophenol on Ag during the SERS measurement. // Journal of the American Chemical Society. - 2010. - 132. - 27. - 9244-9246.
135. Li, W., Camargo, P. H., Lu, X., Xia, Y. Dimers of silver nanospheres: facile synthesis and their use as hot spots for surface-enhanced Raman scattering. // Nano letters. - 2008. - 9. - 1. - 485-490.
136. Dong, B., Fang, Y., Chen, X., Xu, H., Sun, M. Substrate-, wavelength-, and time-dependent plasmon-assisted surface catalysis reaction of 4-nitrobenzenethiol dimerizing to p, p'-dimercaptoazobenzene on Au, Ag, and Cu films. // Langmuir,. - 2011. - 27. - 17. - 10677-10682.
137. Okamura, M., Kondo, T., Uosaki, K. Electrochemical assembly and potential-dependent plasmon absorption of Au nanoclusters covered with a 4-aminothiophenol self-assembled monolayer. // The Journal of Physical Chemistry B. - 2005. - 109. - 20. - 9897-9904.
138. Lin, T. W., Tasi, T. T., Chang, P. L., Cheng, H. Y. Reversible association of nitro compounds with p-nitrothiophenol modified on Ag nanoparticles/graphene oxide nanocomposites through plasmon mediated photochemical reaction. // ACS Applied Materials & Interfaces. -2106. - 8. - 12. - 8315-8322.

139. Wang, Y., Wang, S., Zhang, S., Scherman, O. A., Baumberg, J. J., Ding, T., Xu, H. Plasmon-directed polymerization: Regulating polymer growth with light. // Nano Research. -2018. - 11. - 12. - 6384-6390.
140. Ding, T., Mertens, J., Lombardi, A., Scherman, O. A., Baumberg, J. J. Light-directed tuning of plasmon resonances via plasmon-induced polymerization using hot electrons. // ACS photonics. -2017. - 4. - 6. - 1453-1458.
141. Ding, T., Mertens, J., Lombardi, A., Scherman, O. A., Baumberg, J. J. Light-directed tuning of plasmon resonances via plasmon-induced polymerization using hot electrons. // ACS photonics. - 2017. - 4. - 6. - 1453-1458.
142. Minamimoto, H., Toda, T., Futashima, R., Li, X., Suzuki, K., Yasuda, S., Murakoshi, K. Visualization of active sites for plasmon-induced electron transfer reactions using photoelectrochemical polymerization of pyrrole. // The Journal of Physical Chemistry C. -2017. - 120. - 29. - 16051-16058.
143. Erzina, M., Guselnikova, O., Postnikov, P., Elashnikov, R., Kolska, Z., Miliutina, E., Svorcik V., Lyutakov, O. Plasmon-Polariton Induced, “from Surface” RAFT Polymerization, as a Way toward Creation of Grafted Polymer Films with Thickness Precisely Controlled by Self-Limiting Mechanism. // Advanced Materials Interfaces. - 2018. - 5. - 22. - 1801042.
144. Deeb, C., Ecoffet, C., Bachelot, R., Plain, J., Bouhelier, A., Soppera, O. Plasmon-based free-radical photopolymerization: effect of diffusion on nanolithography processes. // Journal of the American Chemical Society. -2017. - 139. - 27. - 10535-10542.
145. Oh, Y. J., Kang, M., Park, M., Jeong, K. H. Engineering hot spots on plasmonic nanopillar arrays for SERS: A review. // BioChip Journal. -2016. - 10. - 4. - 297-309.

146. Zhou, Q., Kim, T. Review of microfluidic approaches for surface-enhanced Raman scattering. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. - 2016. - 227. - 504-514.
147. Casadio, F., Leona, M., Lombardi, J. R., Van Duyne, R. Identification of organic colorants in fibers, paints, and glazes by surface enhanced Raman spectroscopy. // *Accounts of Chemical Research*. -2010. - 43. - 6. - 782-791.
148. Galeener, F. L., Leadbetter, A. J., Stringfellow, M. W. Comparison of the neutron, Raman, and infrared vibrational spectra of vitreous Si O 2, Ge O 2, and Be F 2. // *Physical Review B*. -2983. - 27. - 2. - 1052.
149. Antunes, E. F., Lobo, A. O., Corat, E. J., Trava-Airoldi, V. J., Martin, A. A., Veríssimo, C. Comparative study of first-and second-order Raman spectra of MWCNT at visible and infrared laser excitation. // *Carbon*. -2006. - 44. - 11. - 2202-2211.
150. Restaino, S. M., White, I. M. A critical review of flexible and porous SERS sensors for analytical chemistry at the point-of-sample. // *Analytica Chimica Acta*, 2018 . - in press
151. Park, M., Kang, B. H., Jeong, K. H. Based biochip assays and recent developments: // A review. *BioChip Journal*. -2018. - 12. - 1. - 1-10.
152. Cailletaud, J., De Bleue, C., Dumont, E., Sacré, P. Y., Netchacovitch, L., Gut, Y., .Ziemons, E. Critical review of surface-enhanced Raman spectroscopy applications in the pharmaceutical field. // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. - 2018. - 147. - 458-472.
153. Lane, L. A., Qian, X., Nie, S. SERS nanoparticles in medicine: from label-free detection to spectroscopic tagging. // *Chemical reviews*. - 2015. - 115. - 19. - 10489-10529.

154. Solís, D. M., Taboada, J. M., Obelleiro, F., Liz-Marzán, L. M., García de Abajo, F. J. Optimization of nanoparticle-based SERS substrates through large-scale realistic simulations. // *ACS photonics*. -2017. - 4. - 2. - 329-337.
155. Li, D. W., Zhai, W. L., Li, Y. T. Long, Y. T. Recent progress in surface enhanced Raman spectroscopy for the detection of environmental pollutants. // *Microchimica Acta*. -2014. - 181. - 1-2. - 23-43.
156. Nieuwoudt, M. K., Martin, J. W., Oosterbeek, R. N., Novikova, N. I., Wang, X., Malmström, J., Simpson, M. C. Gold-sputtered Blu-ray discs: simple and inexpensive SERS substrates for sensitive detection of melamine. // *Analytical and bioanalytical chemistry*. - 2016. - 408. - 16. - 4403-4411.
157. Lane, L. A., Qian, X., Nie, S. SERS nanoparticles in medicine: from label-free detection to spectroscopic tagging. // *Chemical reviews*. -2015. - 115. - 19. - 10489-10529.
158. Hu, C., Shen, J., Yan, J., Zhong, J., Qin, W., Liu, R., He, D. Highly narrow nanogap-containing Au@ Au core-shell SERS nanoparticles: size-dependent Raman enhancement and applications in cancer cell imaging. // *Nanoscale*. - 2016. - 8. - 4. - 2090-2096.
159. He, S., Chua, J., Tan, E. K. M., Kah, J. C. Y. Optimizing the SERS enhancement of a facile gold nanostar immobilized paper-based SERS substrate. // *RSC Advances*. - 2017. - 7. - 27. - 16264-16272.
160. Das, G., Mecarini, F., Gentile, F., De Angelis, F., Kumar, H. M., Candeloro, P., Di Fabrizio, E. Nano-patterned SERS substrate: application for protein analysis vs. temperature. // *Biosensors and Bioelectronics*. - 2009. - 24. - 6. - 1693-1699.
161. Kalachyova, Y., Mares, D., Jerabek, V., Zaruba, K., Ulbrich, P., Lapcak, L., Lyutakov, O. The effect of silver grating and nanoparticles grafting for LSP-Plasmon coupling and SERS response intensification. // *The Journal of Physical Chemistry C*. - 2016. - 120. - 19. - 10569-10577.

162. Kalachyova, Y., Mares, D., Lyutakov, O., Kostejn, M., Lapcak, L., Švorčík, V. Surface plasmon polaritons on silver gratings for optimal SERS response. *The Journal of Physical Chemistry C*. - 2015. - 119. - 17. - 9506-9512.
163. Kalachyova, Y., Mares, D., Jerabek, V., Ulbrich, P., Lapcak, L., Svorcik, V., Lyutakov, O. Ultrasensitive and reproducible SERS platform of coupled Ag grating with multibranched Au nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics*. - 2017. - 19. - 22. - 14761-14769.
164. Hetemi, D., Hazimeh, H., Decorse, P., Galtayries, A., Combellas, C., Kanoufi, F., Podvorica, F. I. One-step formation of bifunctional aryl/alkyl grafted films on conducting surfaces by the reduction of diazonium salts in the presence of alkyl iodides. *Langmuir*. - 2015. - 31. - 19. - 5406-5415.
165. Filimonov, V. D., Trusova, M., Postnikov, P., Krasnokutskaya, E. A., Lee, Y. M., Hwang, H. Y., Chi, K. W. Unusually stable, versatile, and pure arenediazonium tosylates: their preparation, structures, and synthetic applicability. *Organic letters*. - 2008. - 10. - 18. - 3961-3964.
166. Kutonova, K. V., Trusova, M. E., Postnikov, P. S., Filimonov, V. D., Parello, J. A simple and effective synthesis of aryl azides via arenediazonium tosylates. *Synthesis*. - 2013. - 45. - 19. - 2706-2710.
167. Surgutskaya, N. S., Postnikov, P. S., Pershina, A. G., Galanov, A. I., Trusova, M. E., Sazonov, A. E.. The Fe-core/carbon-shell ultrafine nanopowders as platform for biomolecules grafting. *In Advanced Materials Research*. - 2014. - 1040. - 194-198.
168. Surgutskaya, N. S., Trusova, M. E., Slepchenko, G. B., Minin, A. S., Pershina, A. G., Uimin, M. A., Postnikov, P. S.. Iron-core/carbon-shell nanoparticles with intrinsic peroxidase activity: new platform for mimetic glucose detection. *Analytical Methods*. - 2014. - 9. - 16. - 2433-2439.

169. Postnikov, P. S., Trusova, M. E., Filimonov, V. D., Fedushchak, T. A., Uimin, M. A., Ermakov, A. E. Aryldiazonium tosylates as new and effective agents for covalent functionalization of carbon coating of metal nanoparticles by aromatic groups. // *Nanotechnologies in Russia*. - 2010. - 7. - 8. - 15-16.
170. Di Martino, A., Guselnikova, O. A., Trusova, M. E., Postnikov, P. S., Sedlarik, V. Organic-inorganic hybrid nanoparticles controlled delivery system for anticancer drugs. // *International journal of pharmaceutics*. - 2017. - 526. - 1-2. - 380-390.
171. Bastekova, K., Guselnikova, O., Postnikov, P., Elashnikov, R., Kunes, M., Kolska, Z., Lyutakov, O. Spatially selective modification of PLLA surface: From hydrophobic to hydrophilic or to repellent. // *Applied Surface Science*. - 2017. - 397. - 226-234.
172. Guselnikova, O., Svanda, J., Postnikov, P., Kalachyova, Y., Svorcik, V., Lyutakov, O. Fast and Reproducible Wettability Switching on Functionalized PVDF/PMMA Surface Controlled by External Electric Field. // *Advanced Materials Interfaces*. - 2017. - 4. - 5. - 1600886.
173. Guselnikova, O., Postnikov, P., Sajdl, P., Elashnikov, R., Švorčík, V., Lyutakov, O. Functional and Switchable Amphiphilic PMMA Surface Prepared by 3D Selective Modification. // *Advanced Materials Interfaces*. - 2018. - 5. - 4. - 1701182.
174. Guselnikova, O., Postnikov, P., Elashnikov, R., Trusova, M., Kalachyova, Y., Libansky, M., Lyutakov, O. Surface modification of Au and Ag plasmonic thin films via diazonium chemistry: Evaluation of structure and properties. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. - 2017. - 516. - 274-285.
175. Mattox, D. M. Handbook of physical vapor deposition (PVD) processing. // William Andrew. - 2010. - 46-49.

176. Johnson, D., Hilal, N. Characterisation and quantification of membrane surface properties using atomic force microscopy: A comprehensive review. // Desalination. - 2015. - 356. - 149-164.
177. Siegel, J., Lyutakov, O., Rybka, V., Kolská, Z., Švorčík, V. Properties of gold nanostructures sputtered on glass. // Nanoscale research letters. - 2011. - 6. - 1. - 96.
178. Kalachyova, Y., Olshtrem, A., Guselnikova, O. A., Postnikov, P. S., Elashnikov, R., Ulbrich, P., Lyutakov, O. Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of Near-IR Photoactive Functionalized Gold Multibranched Nanoparticles. // ChemistryOpen. - 2017. - 6. - 2. - 254-260.
179. Cheng, L. C., Huang, J. H., Chen, H. M., Lai, T. C., Yang, K. Y., Liu, R. S., Tsai, D. P. Seedless, silver-induced synthesis of star-shaped gold/silver bimetallic nanoparticles as high efficiency photothermal therapy reagent. // Journal of Materials Chemistry. - 2012. - 22. - 5. - 2244-2253.
180. Wu, X., Luo, L., Yang, S., Ma, X., Li, Y., Dong, C., Wu, A. Improved SERS nanoparticles for direct detection of circulating tumor cells in the blood. // ACS applied materials interfaces. - 2015. - 7. - 18. - 9965-9971.
181. Reder, N. P., Kang, S., Glaser, A. K., Yang, Q., Wall, M. A., Javid, S. H., Liu, J. T. Raman-encoded molecular imaging with topically applied SERS nanoparticles for intraoperative guidance of lumpectomy. // Cancer research. - 2017. - 77. - 16. - 4506-4516.
182. Cederberg, H., Gylling, H., Miettinen, T. A., Paananen, J., Vangipurapu, J., Pihlajamäki, J., Laakso, M. Non-cholesterol sterol levels predict hyperglycemia and conversion to type 2 diabetes in Finnish men. // PloS one. - 2013. - 8. - 6. - 67406.

183. Guselnikova, O., Kalachyova, Y., Hrobonova, K., Trusova, M., Barek, J., Postnikov, P., Lyutakov, O. SERS platform for detection of lipids and disease markers prepared using modification of plasmonic-active gold gratings by lipophilic moieties. // Sensors and Actuators B: Chemical. - 2018. - 265. - 182-192.
184. Van Rensburg, S. J., Daniels, W. M. U., Van Zyl, J. M., Taljaard, J. J. F. A Comparative study of the effects of cholesterol, beta-sitosterol, beta-sitosterol glucoside, dehydro-epiandrosterone sulphate and melatonin on in vitro lipid peroxidation. // Metabolic brain disease. - 2000. - 15. - 4. - 257-265.
185. Ansari, S. A., Husain, Q. Potential applications of enzymes immobilized on/in nano materials: // A review. Biotechnology advances. - 2018. - 30. - 3. - 512-523.
186. <https://www.thermofisher.com/cz/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/carbodiimide-crosslinker-chemistry.html>
187. Victor, P. A. Pollution: Economy and environment. // Routledge. -2017. - 38-46.
188. Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P. F., . Gaboriaud, C. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. // Molecular Ecology. - 2016. - 5. - 4. - 929-942.
189. Wei, H., Abtahi, S. M. H., Vikesland, P. J. Plasmonic colorimetric and SERS sensors for environmental analysis. // Environmental Science: Nano. -2017. - 2. - 2. - 120-135.
190. Dai, J., Becquer, T., Rouiller, J. H., Reversat, G., Bernhard-Reversat, F., Nahmani, J., Lavelle, P. Heavy metal accumulation by two earthworm species and

its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. // *Soil Biology and Biochemistry*. - 2004. - 36. - 1. - 91-98.

191. Krishnan, K., Plane, R. A. Raman spectra of ethylenediaminetetraacetic acid and its metal complexes. // *Journal of the American Chemical Society*. - 1968. - 90. - 12. - 3195-3200.

192. Pielesz, A., Baranowska, I., Rybak, A., Włochowicz, A. Detection and determination of aromatic amines as products of reductive splitting from selected azo dyes. // *Ecotoxicology and environmental safety*. - 2002. - 53. - 1. - 42-47.

193. Alvarez-Puebla, R. A., Liz-Marzan, L. M. Traps and cages for universal SERS detection. // *Chemical Society Reviews*. - 2012. - 41. - 1. - 43-51.

194. Lundahl, B., Moleni, T., Burke, B. L., Butters, R., Tollefson, D., Butler, C., Rollnick, S. Motivational interviewing in medical care settings: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. // *Patient education and counseling*. - 2013. - 93. - 2. - 157-168.

195. Horsman, K. M., Bienvenue, J. M., Blasier, K. R., Landers, J. P. Forensic DNA analysis on microfluidic devices: a review. // *Journal of forensic sciences*. - 2007. - 52. - 4. - 784-799.

196. Kang, T., Yoo, S. M., Yoon, I., Lee, S. Y., Kim, B. Patterned multiplex pathogen DNA detection by Au particle-on-wire SERS sensor. // *Nano letters*. - 2010. - 10. - 4. - 1189-1193.

197. Tiwari, G., Tiwari, R. Bioanalytical method validation: An updated review. // *Pharmaceutical methods*. - 2010. - 1. - 1. - 25-38.

198. Stiufig, R., Iacovita, C., Stiufig, G., Bodoki, E., Chis, V., Lucaci, C. M. Surface mediated chiral interactions between cyclodextrins and propranolol enantiomers: a SERS and DFT study. // *Physical Chemistry Chemical Physics*. - 2015. - 17. - 2. - 1281-1289.

199. Kuang, X., Ye, S., Li, X., Ma, Y., Zhang, C., Tang, B. A new type of surface-enhanced Raman scattering sensor for the enantioselective recognition of D/L-cysteine and D/L-asparagine based on a helically arranged Ag NPs@ homochiral MOF. // Chemical Communications. - 2016. - 52. - 31. - 5432-5435.
200. Wang, Y., Yu, Z., Han, X., Su, H., Ji, W., Cong, Q., Ozaki, Y. Charge-Transfer-Induced Enantiomer Selective Discrimination of Chiral Alcohols by SERS. // The Journal of Physical Chemistry C. - 2016. - 120. - 51. - 29374-29381.
201. Wang, Y., Yu, Z., Ji, W., Tanaka, Y., Sui, H., Zhao, B., Ozaki, Y. Enantioselective discrimination of alcohols by hydrogen bonding: a SERS study. // Angewandte Chemie. -2014. - 126. - 50. - 14086-14090.
202. Guselnikova, O., Postnikov, P., Kalachyova, Y., Kolska, Z., Libansky, M., Zima, J., Lyutakov, O. Large-Scale, Ultrasensitive, Highly Reproducible and Reusable Smart SERS Platform Based on PNIPAm-Grafted Gold Grating. // ChemNanoMat. - 2017. - 3. - 2. - 135-144.
203. Haraguchi, K., Li, H. J. Control of the Coil-to-Globule Transition and Ultrahigh Mechanical Properties of PNIPA in Nanocomposite Hydrogels. // Angewandte Chemie International Edition. - 2005. - 44. - 40. - 6500-6504.
204. Чарыков, А.К. Математическая обработка результатов химического анализа. Методы обнаружения и оценки ошибок. // Химия. – 1984 – 168.
205. Дерффель, К. Статистика в аналитической химии. М.// Мир. – 1994- 267.
206. Бланк, А.Б. О нижней границе определяемых содержаний и пределе обнаружения.// Ж. аналит. химия. – 1979. – Т. 34, № 1. – с. 5 – 9
207. Гринзайд Е.Л., Зильберштейн Х.И., Надежина Л.С., Юфа Б.Я. О термине и способах оценки предела обнаружения в различных методах. // Ж. аналит. химия. – 1977. – Т. 32, № 11. – с. 2106 – 2112.]

208. Kamińska, A., Dziecielewska, I., Weyher, J. L., Waluk, J., Gawinkowski, S., Sashuk, V., .Hołyst, R. Highly reproducible, stable and multiply regenerated surface-enhanced Raman scattering substrate for biomedical applications. // Journal of Materials Chemistry. - 2011. - 21. - 24. - 8662-8669.
209. Tian, S., Neumann, O., McClain, M. J., Yang, X., Zhou, L., Zhang, C., ..Halas, N. J. Aluminum nanocrystals: a sustainable substrate for quantitative SERS-based DNA detection. // Nano letters. -2017. - 17. - 8. - 5071-5077.
210. Guselnikova, O., Postnikov, P., Pershina, A., Svorcik, V., Lyutakov, O. Express and portable label-free DNA detection and recognition with SERS platform based on functional Au grating. // Applied Surface Science. - 2019. - 470. - 219-227.
211. Niu, G., Zhang, L., Ruditskiy, A., Wang, L., Xia, Y. A Droplet-Reactor System Capable of Automation for the Continuous and Scalable Production of Noble-Metal Nanocrystals. // Nano letters. - 2018. - 18. - 6. - 3879-3884.
212. Shin, H., Jeong, H., Park, J., Hong, S., Choi, Y. Correlation between cancerous exosomes and protein markers based on surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) and principal component analysis (PCA). // ACS sensors. - 2018. - 3. - 12. - 2637-2643.
213. Bedics, M. A., Kearns, H., Cox, J. M., Mabbott, S., Ali, F., Shand, N. C., .Detty, M. R. Extreme red shifted SERS nanotags. // Chemical science. - 2015. - 6. - 4. - 2302-2306.
214. Fan, M., Andrade, G. F., Brolo, A. G. A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectroscopy and their applications in analytical chemistry // Analytica chimica acta. – 2011. – 693. – 1-2. - 7-25
215. Docherty, J., Mabbott, S., Smith, E., Faulds, K., Davidson, C., Reglinski, J., Graham, D. Detection of potentially toxic metals by SERS using salen complexes. // Analyst. – 2016. – 141. – 20. – 5857-5863.

216. Tsoutsis, D., Guerrini, L., Hermida-Ramon, J. M., Giannini, V., Liz-Marzán, L. M., Wei, A., Alvarez-Puebla, R. A. Simultaneous SERS detection of copper and cobalt at ultratrace levels. // *Nanoscale*. – 2013. – 5. – 13. – 5841-5846.
217. Docherty, J., Mabbott, S., Smith, W. E., Reglinski, J., Faulds, K., Davidson, C., Graham, D. Determination of metal ion concentrations by SERS using 2, 2'-bipyridyl complexes. // *Analyst*. – 2015. – 140. – 19. – 6538-6543.
218. Wang, X., Shen, Y., Xie, A., Chen, S. One-step synthesis of Ag@ PANI nanocomposites and their application to detection of mercury. // *Materials Chemistry and Physics*. – 2013. – 140. – 2-3. – 487-492.
219. Kang, Y., Wu, T., Liu, B., Wang, X., Du, Y. Selective determination of mercury (II) by self-referenced surface-enhanced Raman scattering using dialkyne-modified silver nanoparticles. // *Microchimica Acta*. – 2014. – 181. – 11-12. – 1333-1339.
220. Frost, M. S., Dempsey, M. J., Whitehead, D. E. Highly sensitive SERS detection of Pb²⁺ ions in aqueous media using citrate functionalised gold nanoparticles. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2015. – 221. – 1003-1008.
221. Tan, E., Yin, P., Lang, X., Zhang, H., Guo, L. A novel surface-enhanced Raman scattering nanosensor for detecting multiple heavy metal ions based on 2-mercaptoisonicotinic acid functionalized gold nanoparticles. // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2012. – 97. – 1007-1012.
222. Purswani, P., Tawfik, M. S., Karpyn, Z. T. Factors and mechanisms governing wettability alteration by chemically tuned waterflooding: A review. // *Energy Fuels*. – 2017. – 31. – 8. – 7734-7745.
223. Guselnikova, O., Postnikov, P. S., Trelin, A., Švorčík, V., & Lyutakov, O. (2019). Dual mode chip enantioselective express discrimination of chiral amines

by the wettability-based mobile app and portable SERS measurements //ACS sensors. -2019- accepted (doi 10.1021/acssensors.9b00225).

224. Quinn, N. P. Anti-parkinsonian drugs today. // Drugs. – 1984. – 28. – 3. – 236-262.

225. Aware, C., Patil, R., Gaikwad, S., Yadav, S., Bapat, V., Jadhav, J. Evaluation of 1-ДОПА, proximate composition with in vitro anti-inflammatory and antioxidant activity of Mucuna macrocarpa beans: A future drug for Parkinson treatment. // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2017. – 7. – 12. – 1097-1106.

226. Arias-Estévez, M., López-Periago, E., Martínez-Carballo, E., Simal-Gándara, J., Mejuto, J. C., García-Río, L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. // Agriculture, Ecosystems Environment. – 2008. – 123. – 4. – 247-260.

227. Bapat, G., Labade, C., Chaudhari, A., Zinjarde, S. Silica nanoparticle based techniques for extraction, detection, and degradation of pesticides. // Advances in colloid and interface science. – 2016. – 237. – 1-14.

228. Liu, B., Zhou, P., Liu, X., Sun, X., Li, H., Lin, M. Detection of pesticides in fruits by surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with gold nanostructures. // Food and Bioprocess Technology. – 2013. – 6. – 3. – 710-718.

229. Zhang, Y., Yuan, S., Day, G., Wang, X., Yang, X., Zhou, H. C. Luminescent sensors based on metal-organic frameworks. // Coordination Chemistry Reviews. – 2018. – 354. – 28-45.

230. Wang, H. S. Metal–organic frameworks for biosensing and bioimaging applications. // Coordination Chemistry Reviews. – 2017. – 349. – 139-155.

231. Li, J. R., Ma, Y., McCarthy, M. C., Sculley, J., Yu, J., Jeong, H. K., Zhou, H. C. Carbon dioxide capture-related gas adsorption and separation in metal-organic

frameworks. // Coordination Chemistry Reviews. – 2011. – 255. – 15-16. – 1791-1823.

232. Li, X., Chen, G., Yang, L., Jin, Z., Liu, J. Multifunctional Au-coated TiO₂ nanotube arrays as recyclable SERS substrates for multifold organic pollutants detection. // Advanced Functional Materials. – 2010. – 20. – 17. – 2815-2824.

233. Hu, Y. H., Zhang, L. Amorphization of metal-organic framework MOF-5 at unusually low applied pressure. // Physical Review B. – 2010. – 81. – 17. – 74103.

234. Saha, D., Deng, S. Ammonia adsorption and its effects on framework stability of MOF-5 and MOF-177. // Journal of colloid and interface science. – 2010. – 348. – 2. – 615-620.

235. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32010R0459 from=EN>.

236. M. M. Tfail, R. K. Chu, J. Toyoda, N. Toli, E. W. Robinson, L. Pasa-Toli, N. Hess, Sequential extraction protocol for organic matter from soils and sediments using high resolution mass spectrometry. // J. Anal. Chim. Acta. – 2017. – 972. – 54-61.

237. Trofimov, B. A. Acetylene and its derivatives in reactions with nucleophiles: recent advances and current trends. // Current Organic Chemistry. – 2002. – 6. – 13. – 1121-1162.

238. Frei, R., Waser, J. A highly chemoselective and practical alkynylation of thiols. // Journal of the American Chemical Society. 2013. – 135. – 26. – 9620-9623.

239. Liang, P., Feng, X., Zhang, C., Zhang, J., Cao, Y., You, Q., Wu, S. C. Human exposure to mercury in a compact fluorescent lamp manufacturing area: by food (rice and fish) consumption and occupational exposure. // Environmental pollution. 2015. – 198. – 126-132.

240. Ha, E., Basu, N., Bose-O'Reilly, S., Dórea, J. G., McSorley, E., Sakamoto, M., Chan, H. M. Current progress on understanding the impact of mercury on human health. // *Environmental research*. – 2017. – 152. – 419-433.
241. Carocci, A., Rovito, N., Sinicropi, M. S., Genchi, G. Mercury toxicity and neurodegenerative effects. In *Reviews of environmental contamination and toxicology* // Springer, Cham. – 2014. – 1-18
242. Botasini, S., Heijo, G., Méndez, E. Toward decentralized analysis of mercury (II) in real samples. A critical review on nanotechnology-based methodologies. // *Analytica chimica acta*. – 2013. – 800. – 1-11.
243. Kim, H. N., Ren, W. X., Kim, J. S., Yoon, J. Fluorescent and colorimetric sensors for detection of lead, cadmium, and mercury ions. // *Chemical Society Reviews*. – 2012. – 41. – 8. – 3210-3244.
244. Li, L., Zhang, Q., Ding, Y., Cai, X., Gu, S., Cao, Z. Application of L-cysteine capped core-shell CdTe/ZnS nanoparticles as a fluorescence probe for cephalexin. // *Analytical Methods*. – 2014. – 6. – 8. – 2715-2721.
245. Ma, Y., Jiang, L., Mei, Y., Song, R., Tian, D., Huang, H. Colorimetric sensing strategy for mercury (II) and melamine utilizing cysteamine-modified gold nanoparticles. // *Analyst*. – 2013. – 138. – 18. – 5338-5343.
246. Saikia, D., Dutta, P., Sarma, N. S., Adhikary, N. C. CdTe/ZnS core/shell quantum dot-based ultrasensitive PET sensor for selective detection of Hg (II) in aqueous media. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2016. – 230. – 149-156.
247. Wen, G., Wen, X., Choi, M. M., Shuang, S. Photoelectrochemical sensor for detecting Hg²⁺ based on exciton trapping. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2015. – 221. – 1449-1454.

248. Ke, J., Li, X., Zhao, Q., Hou, Y., Chen, J. Ultrasensitive quantum dot fluorescence quenching assay for selective detection of mercury ions in drinking water. // *Scientific reports*. – 2014. – 4. – 5624.
249. Priyadarshini, E., Pradhan, N. Gold nanoparticles as efficient sensors in colorimetric detection of toxic metal ions: a review. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2017. – 238. – 888-902.
250. Escorihuela, J., Marcelis, A. T., Zuilhof, H. Metal-Free Click Chemistry Reactions on Surfaces. // *Advanced Materials Interfaces*. – 2015. – 2. – 13. – 1500135.
251. Lowe, A. B. Thiol–ene “click” reactions and recent applications in polymer and materials synthesis: a first update. // *Polymer Chemistry*. – 2014. – 5. – 17. – 4820-4870.
252. Bengamra, M., Khlifi, A., Ktari, N., Mahouche-Chergui, S., Carbonnier, B., Fourati, N., .Chehimi, M. M. Silanized aryl layers through thiol-yne photo-click reaction. // *Langmuir*. – 2015. – 31. – 39. – 10717-10724.
253. Zaleskiy, S. S., Shlapakov, N. S., Ananikov, V. P. Visible light mediated metal-free thiol–yne click reaction. // *Chemical science*. – 2016. – 7. – 11. – 6740-6745.
254. Sze, Y. K., Davis, A. R., Neville, G. A. Raman and infrared studies of complexes of mercury (II) with cysteine, cysteine methyl ester and methionine. // *Inorganic Chemistry*. 1975. – 14. – 8. – 1969-1974.
255. Ibrahim, M., El-Haes, H. Computational spectroscopic study of copper, cadmium, lead and zinc interactions in the environment. // *International journal of environment and pollution*. – 2005. – 23. – 4. – 417-424.

256. Shindo, H., Brown, T. L. Infrared spectra of complexes of L-cysteine and related compounds with zinc (II), cadmium (II), mercury (II), and lead (II). // *Journal of the American Chemical Society*. – 1965. – 87. – 9. – 1904-1909.
257. Mercury: Human Exposure". United States Environmental Protection Agency (EPA). 2010-10-01. Retrieved 2011-04-09.
258. "Summary of the assessment report". Global Mercury Assessment. United Nations Environment Programme. 2002-12-01. Archived from the original on 2003-08-22. Retrieved 2011-04-11
259. Worrell, B. T., Malik, J. A., Fokin, V. V. Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu (I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. // *Science*. – 2013. – 340. – 6131. – 457-460.
260. Thirumurugan, P., Matosiuk, D., Jozwiak, K. Click chemistry for drug development and diverse chemical–biology applications. // *Chemical reviews*. – 2013. – 113. – 7. – 4905-4979.
261. Qin, A., Lam, J. W., Tang, B. Z. Click polymerization. // *Chemical Society Reviews*. – 2010. – 39. – 7. – 2522-2544.
262. Kolb, H. C., Finn, M. G., Sharpless, K. B. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2001. – 40. – 11. – 2004-2021.
263. Hein, J. E., Tripp, J. C., Krasnova, L. B., Sharpless, K. B., Fokin, V. V. Copper (I)-catalyzed cycloaddition of organic azides and 1-iodoalkynes. // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2009. – 48. – 43. – 8018-8021.
264. Jewett, J. C., Bertozzi, C. R. Cu-free click cycloaddition reactions in chemical biology. // *Chemical Society Reviews*. 2010. – 39. – 4. – 1272-1279.

265. Kolb, H. C., Finn, M. G., Sharpless, K. B. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2001. – 40. – 11. – 2004-2021.
266. Liu, R., He, Z., Sun, J., Liu, J., Jiang, G. Tracking the Fate of Surface Plasmon Resonance-Generated Hot Electrons by In Situ SERS Surveying of Catalyzed Reaction. // *Small*. – 2016. – 12. – 46. – 6378-6387.
267. Bensghaïer, A., Salmi, Z., Le Droumaguet, B., Mekki, A., Mohamed, A. A., Beji, M., Chehimi, M. M. Diazonium interface chemistry and click polymerization: A novel route for carbon nanotube-polytriazole nanocomposites. // *Surface and Interface Analysis*. – 2016. – 48. – 7. – 509-513.
268. Plum, E., Liu, X. X., Fedotov, V. A., Chen, Y., Tsai, D. P., Zheludev, N. I. Metamaterials: optical activity without chirality. // *Physical review letters*. – 2009. – 102. – 11. – 113902.
269. Chen, W. T., Wu, P. C., Chen, C. J., Weng, C. J., Lee, H. C., Yen, T. J., Tsai, D. P. Manipulation of multidimensional plasmonic spectra for information storage. // *Applied Physics Letters*. – 2011. – 98. – 17. – 171106.
270. Saad, A., Abderrabba, M., Chehimi, M. M. X-ray induced degradation of surface bound azido groups during XPS analysis. // *Surface and Interface Analysis*. – 2017. – 49. – 4. – 340-344.
271. Lu, Z., Yoon, T. P. Visible light photocatalysis of [2+ 2] styrene cycloadditions by energy transfer. // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2012. – 51. – 41. – 10329-10332.
272. Aslam, U., Chavez, S., Linic, S. Controlling energy flow in multimetallic nanostructures for plasmonic catalysis. // *Nature nanotechnology*. – 2017. – 12. – 10. – 1000.

273. Mubeen, S., Lee, J., Singh, N., Krämer, S., Stucky, G. D., Moskovits, M. An autonomous photosynthetic device in which all charge carriers derive from surface plasmons. // *Nature nanotechnology*. – 2013. – 8. – 4. – 247.
274. Zheng, Z., Tachikawa, T., Majima, T. Single-particle study of Pt-modified Au nanorods for plasmon-enhanced hydrogen generation in visible to near-infrared region. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2014. – 36. – 19. – 6870-6873.
275. Lou, Z., Fujitsuka, M., Majima, T. Pt–Au triangular nanoprisms with strong dipole plasmon resonance for hydrogen generation studied by single-particle spectroscopy. // *ACS Nano*. – 2016. – 10. – 6. – 6299-6305.
276. Hammer, B., Norskov, J. K. Why gold is the noblest of all the metals. // *Nature*. – 1995. – 376. – 6537. – 238.
277. Chen, X., Zhao, A., Shao, Z., Li, C., Williams, C. T., Liang, C. Synthesis and catalytic properties for phenylacetylene hydrogenation of silicide modified nickel catalysts. // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2010. – 114. – 39. – 16525-16533.
278. Wang, S., Xin, Z., Huang, X., Yu, W., Niu, S., Shao, L. Nanosized Pd–Au bimetallic phases on carbon nanotubes for selective phenylacetylene hydrogenation. // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2017. – 19. – 8. – 6164-6168.
279. St Thomas, C.; Cabello-Romero, J. N.; Garcia-Valdez, O.; Jiménez-Regalado, E. J.; Maldonado-Textle, H.; Guerrero-Santos, R. Surface-initiated nitroxide-mediated polymerization of sodium 4-styrene sulfonate from latex particles. // *J. Polym. Sci. A*. – 2017. – 55. – 3. – 437-444.

280. Jhaveri, S. B., Beinhoff, M., Hawker, C. J., Carter, K. R., Sogah, D. Y. Chain-end functionalized nanopatterned polymer brushes grown via in situ nitroxide free radical exchange. // *ACS Nano*. – 2008. – 2. – 4. – 719-727.
281. Ahn, B. K., Lee, D. W., Israelachvili, J. N., Waite, J. H. Surface-initiated self-healing of polymers in aqueous media. // *Nature materials*. – 2014. – 13. – 9. – 867.
282. Nitroxide mediated polymerization: from fundamentals to applications in materials science, ed. D. Gigmes. // Royal Society of Chemistry. – 2015. – 19
283. Payne, K. A.; Nesvadba, P.; Debling, J.; Cunningham, M. F.; Hutchinson, R. A. Nitroxide-mediated polymerization at elevated temperatures. // *ACS Macro Lett*. – 2015. – 4. – 3. – 280-283.
284. Chauvin, F., Dufils, P. E., Gigmes, D., Guillaneuf, Y., Marque, S. R., Tordo, P., Bertin, D. Nitroxide-mediated polymerization: the pivotal role of the k_d value of the initiating alkoxyamine and the importance of the experimental conditions. // *Macromolecules*. – 2006. – 39. – 16. – 5238-5250..
285. Bertin, D., Gigmes, D., Marque, S. R., Tordo, P. Polar, steric, and stabilization effects in alkoxyamines C–ON bond homolysis: a multiparameter analysis. // *Macromolecules*. – 2005. – 38. – 7. – 2638-2650.
286. Areephong, J.; Mattson, K. M.; Treat, N. J.; Poelma, S. O.; Kramer, J. W.; Sprafke, H. A.; Latimer, A. A.; de Alaniz Hawker, J. R.; C. J. Triazine-mediated controlled radical polymerization: new unimolecular initiators. // *Pol. Chem*. – 2016. – 7. – 2. – 370–374.
287. Audran, G., Bagryanskaya, E., Bagryanskaya, I., Brémond, P., Edeleva, M., Marque, S. R., Zhivetyeva, S. C–ON bond homolysis of alkoxyamines triggered by paramagnetic copper (ii) salts. // *Inorganic Chemistry Frontiers*. – 2016. – 3. – 11. – 1464-1472.

288. Audran, G., Bagryanskaya, E., Edeleva, M., Marque, S. R., Parkhomenko, D., Tretyakov, E., Zhivetyeva, S. Coordination-Initiated Nitroxide-Mediated Polymerization (CI-NMP). // *Australian Journal of Chemistry*. – 2018. – 71. – 5. – 334-340.
289. Ye, J.; Chen, Y.; Liu, Z. A boronate affinity sandwich assay: an appealing alternative to immunoassays for the determination of glycoproteins. // *Ang. Chem. Int. Ed.* – 2014. – 53. – 39. – 10386-10389.
290. Pham, X. H.; Shim, S.; Kim, T. H.; Hahm, E.; Kim, H. M.; Rho, W. Y.; Hong, D.; Lee, Y.-S.; Jun, B. H. Glucose detection using 4-mercaptophenyl boronic acid-incorporated silver nanoparticles-embedded silica-coated graphene oxide as a SERS substrate. // *BioChip J.* – 2017. – 11. – 1. – 46-56.
291. Xie, D.; Zhu, W. F.; Cheng, H.; Yao, Z. Y.; Li, M.; Zhao, Y. L. An anti-body-free assay for simultaneous capture and detection of glycoproteins by surface enhanced Raman spectroscopy. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2018. – 20. – 13. – 8881-8886.
293. Practical surface analysis, 2nd edn., vol I, auger and X-ray photoelectron spectroscopy. Edited by D. Briggs M. P. Seah, John Wiley, New York, 1990, 657
294. Morozova, M. A., Trusova M.E., Yusubov, M. S., Kratochvil, B., Eigner, V., Bondarev, A. A., Yoshimura, A., Postnikov, P. S. Regioselective Zn (OAc) 2-catalyzed azide–alkyne cycloaddition in water: the green click-chemistry. // *Organic Chemistry Frontiers*. – 2017. – 4. – 6. – 978-985.
295. Постников, П.С. Синтез и свойства новых арендиазоний алкилбензолсульфонатов, их использование в органическом синтезе и получении современных органо-модифицированных композитных материалов: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.03 / Постников Павел Сергеевич. – Томск, 2011. – 146 с

296. Hermes, S., Schröder, F., Chelmowski, R., Wöll, C., Fischer, R. A. Selective nucleation and growth of metal– organic open framework thin films on patterned COOH/CF₃-terminated self-assembled monolayers on Au (111). // *Journal of the American Chemical Society*. – 2005. – 127. – 40. – 13744-13745.
297. Oyekunle, J. A. O., Ogunfowokan, A. O., Torto, N., Akanni, M. S. Determination of organochlorine pesticides in the agricultural soil of Oke-Osun farm settlement, Osogbo, Nigeria. // *Environmental monitoring and assessment*. – 2011. – 177. – 1-4. – 51-61.
298. Tfaily, M. M., Chu, R. K., Toyoda, J., Tolić, N., Robinson, E. W., Paša-Tolić, L., Hess, N. J. Sequential extraction protocol for organic matter from soils and sediments using high resolution mass spectrometry. // *Analytica chimica acta*. – 2017. – 972. – 54-61.
299. Himo, F., Lovell, T., Hilgraf, R., Rostovtsev, V. V., Noodleman, L., Sharpless, K. B., Fokin, V. V. Copper (I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2005. – 127. – 1. – 210-216.
300. Audran, G., Brémond, P., Joly, J. P., Marque, S. R., Yamasaki, T. C–ON bond homolysis in alkoxyamines. Part 12: the effect of the para-substituent in the 1-phenylethyl fragment. // *Organic biomolecular chemistry*. – 2016. – 14. – 14. – 3574-3583.
301. Hao, F., Nehl, C. L., Hafner, J. H., Nordlander, P. Plasmon resonances of a gold nanostar. // *Nano letters*. – 2007. – 7. – 3. – 729-732.
302. Barbosa, S., Agrawal, A., Rodríguez-Lorenzo, L., Pastoriza-Santos, I., Alvarez-Puebla, R. A., Kornowski, A., Liz-Marzán, L. M. Tuning size and sensing properties in colloidal gold nanostars. // *Langmuir*. – 2010. – 26. – 18. – 14943-14950.

Приложение 1

Исследование противобактериальной активности модифицированных AuMs

Нами были исследованы противобактериальные свойства полученных AuMs, влияние на нее diazonиевой модификации и типа привитых ОФГ, а также влияние освещения лазером с длиной волны, соответствующему максимуму плазмонного резонанса 780 нм.

На рисунке 91 показано количество выживших бактерий (измеренных в единицах CFU или колониеобразующая единица) после их инкубации с немодифицированными и поверхностно функционализированными AuMs в присутствии лазерного излучения и без него.

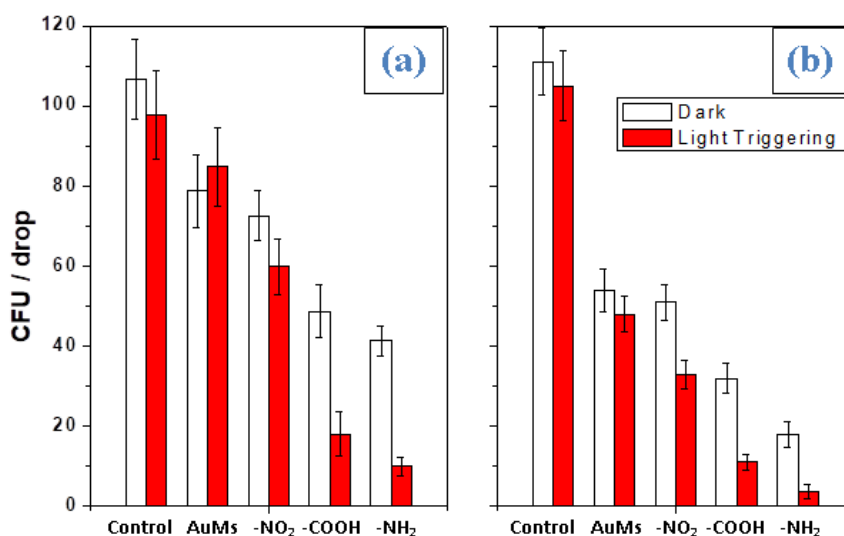


Рисунок 91. Противобактериальной активность: CFU на миллилитр после инкубации бактерий (А - E.coli; В - S.epidermidis) с AuMs и модифицированными AuMs (-NO₂, -NH₂, -COOH) с освещением лазером и без

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что лазерное освещение сам по себе приводит лишь к незначительному уменьшению выживаемости бактерий. Однако, поверхностная функционализация AuMs повышает их антибактериальную активность, что может быть объяснено облегчением взаимодействия наночастиц с антимикробной мембраной из-за присутствия функциональных групп на поверхности AuMs. Наиболее ярковыраженный эффект был получен в случае

использования ADT-NH₂ и немного слабее в случае ADT-COOH. Хорошо известно, что прививка карбоксильных или амино групп к антимикробному агенту может улучшить его взаимодействие с мембранами бактериальных клеток. [301, 302]. Прививка 4-нитрофенильных групп практически не изменяет противобактериальной активность AuMs.

Как видно из рисунка 93, антибактериальная активность функционализированных AuMs может быть значительно усилена путем освещения лазером с длиной волны 780 нм. Наиболее ярко-выраженный эффект был достигнуто в случае AuMs с привитыми аминогруппами, когда была достигнута почти полная дезактивация бактерий. Следует также отметить, что мы применяли довольно слабую интенсивность инфракрасного света и непрерывное световое освещение. Использование AuMs вместе с эффективным плазмонным возбуждением эффективно концентрирует световую энергию в так называемых «горячих» точках на пиках AuMs и приводит к сильной и эффективной деградации соседних органических соединений и разрушению бактериальной мембраны.