

На правах рукописи

Гусельникова

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

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Томск – 2019

Работа выполнена в Исследовательской школе химических и биомедицинских технологий федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования
Национального исследовательского Томского политехнического университета

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ

Постников Павел Сергеевич
кандидат химических наук, доцент

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ

Лосев Владимир Николаевич
доктор химических наук, профессор,
ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»
Профессор кафедры
композиционных материалов и физико-химии металлургических процессов.
(г. Красноярск)

Зайцев Николай Конкордиевич
доктор химических наук, профессор,
ФГАОУ ВО «МИРЭА - Российский технологический университет»
Институт тонких химических технологий
им.В. М. Ломоносова
Заведующий кафедрой энергетических технологий, систем и установок.
(г. Москва)

Защита диссертации состоится «12» сентября 2019 г. в 14.30 часов на заседании Диссертационного совета ДС.ТПУ.08 при федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Национальном исследовательском Томском политехническом университете по адресу: 634050 Томск, проспект Ленина, 43а

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» и на сайте: dis.tpu.ru

Автореферат разослан «___»_____2019

Ученый секретарь

диссертационного совета ДС.ТПУ.08

Дорожко Е.В.

Общая характеристика работы

Актуальность исследования. Создание новых простых и экспрессных сенсоров и сенсорных систем для распознавания и определения БАВ и экотоксикантов является актуальным разделом аналитической химии. Данной тематике посвящено сравнительно небольшое число работ, причем, в большинстве случаев применяют различные способы создания сенсоров, основанных на эффекте гигантского комбинационного рассеивания (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 ГКР света. Несмотря на широкий диапазон существующих ГКР сенсорных систем, большинство из них не всегда удовлетворяют основным метрологическим требованиям при детектировании ряда органических веществ и элементов.

Для создания эффективных сенсоров, которые бы отличались высокой 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. 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 гигантского (поверхностно-усиленного) комбинационного рассеяния (SERS).

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 арилдиазониевых тозилатов (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 SERS-детектирования как экотоксикантов, так и биологически релевантных молекул с использованием сенсоров на основе поверхностно-модифицированных золотых решеток и провести оценку минимально определяемых концентраций компонентов.

5. 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 SERS.

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 методом SERS с использованием сенсоров на основе поверхностно-модифицированных золотых решеток и проведена оценка минимально определяемых концентраций БАВ и экотоксикантов.

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 SERS.

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 , 6 тезисов, 6 докладов.

Объем и структура работы. Работа изложена на 260 страницах, содержит 90 рисунков, 28 схем и 20 таблиц. 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.

Основное содержание работы

Содержание работы представлено в трех главах. **Первая глава** посвящена обзору методов модификации поверхности, в том числе с использованием ароматических диазониевых солей, обсуждены вопросы активации поверхностной модификации.

Основные результаты работы представлены в главе 2, 3.

Вторая глава посвящена экспериментальным методам и подходам, используемых в диссертационном исследовании, дизайну и разработке сенсорных систем на основе периодических 2D-структур на основе золота, решению фундаментальных задач поверхностной модификации. Инструментальные методы исследования и оценки работы сенсоров по определению БАВ и экотоксикантов изложены **в третьей главе**.

Основное содержание работы

Для проведения процессов модификации получены тонкие пленки золота на поверхности стекла с использованием магнетронного напыления. В качестве АДТ нами были выбраны 4-нитробензолдиазоний тозилат (ADT-NO₂), 4-(гептадекафтороктил)бензолдиазонийтозилат (ADT-C₈F₁₇), 4-аминобензолдиазоний тозилат (ADT-NH₂) и 4-карбоксибензолдиазоний тозилат (ADT-COOH). Для детального изучения процесса модификации и оценки структуры и свойств органических функциональных групп на поверхности использовали два принципиальных подхода к поверхностной модификации – электрохимический и спонтанный.

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 1 мМ свежеприготовленного раствора АДТ без добавления электролитов при наложении потенциала -2 В в течение 10 минут с использованием платинового электрода и промывались водой, этанолом и ацетоном для удаления побочных продуктов восстановления АДТ.

Изменения поверхностной концентрации элементов после прививки функциональных групп изучены методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопией (XPS). После проведения процессов модификации наблюдали появление новых сигналов и изменение интенсивности исходных пиков. Процессы электрохимической модификации приводили к большему увеличению концентрации углерода, азота и фтора по сравнению со спонтанной модификацией и почти к 5-кратному увеличению количества органических функциональных групп (ОФГ) по сравнению со спонтанной.

Толщина привитых органических слоев измерена с помощью скрэтч-теста и последующей атомно-силовой микроскопией (AFM) для изучения профиля пленки в месте царапины (Рисунок 1.).

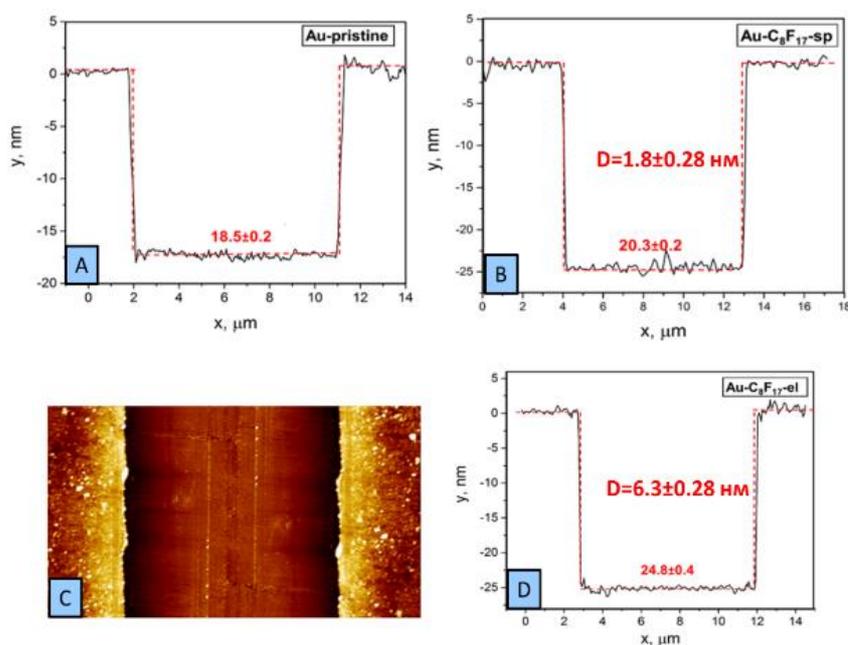


Рисунок 1. AFM профиль толщины пленок, модифицированной спонтанно и электрохимически ADT-C₈F₁₇

Значение толщины органических пленок после модификации в комбинации с известными значениями геометрических размеров молекул позволило нам определить количество привитых молекул и сделать вывод о моно или полифениленовой структуре органического слоя. Образование монофениленового слоя объяснено стерически затрудненной атакой первого слоя привитых 4-(гептадецилфтороктил)фенильных групп, данный эффект является типичным для «крупных» молекул. Спонтанная модификация практически не изменяет морфологию поверхности, но влияет на механические свойства поверхности: адгезия значительно снизилась, а деформация увеличилась.

Смачиваемость. После подтверждения процесса модификации на примере ADT-NO₂ и ADT-C₈F₁₇ изучена возможность прививки различных «активных» ОФГ (ADT-NH₂ и ADT-COOH). Поверхностная смачиваемость (угол контакта смачивания водой) измерялась в зависимости от типа привитых ОФГ. Полученные результаты хорошо согласуются с опубликованными ранее. При последующей модификации с использованием АДТ угол смачиваемости увеличился за счет прививки более гидрофобных, по сравнению с -COOH, групп (нитро, amino). 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.

Оптические свойства материалов. Оптические свойства модифицированных пленок изучены с использованием УФ-спектроскопии и Рамановской спектроскопии. В случае золотой пленки пик плазмонного резонанса находится в ближнем ИК-диапазоне, что типично для кластерной структуры напыленного слоя золота. 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. Спектры немодифицированных металлических пленок не показали каких-либо значительных сигналов, что говорит об отсутствии специфических ОФГ (рис. 2). После спонтанной и электрохимической модификации золота на спектрах появились сигналы привитых ОФГ

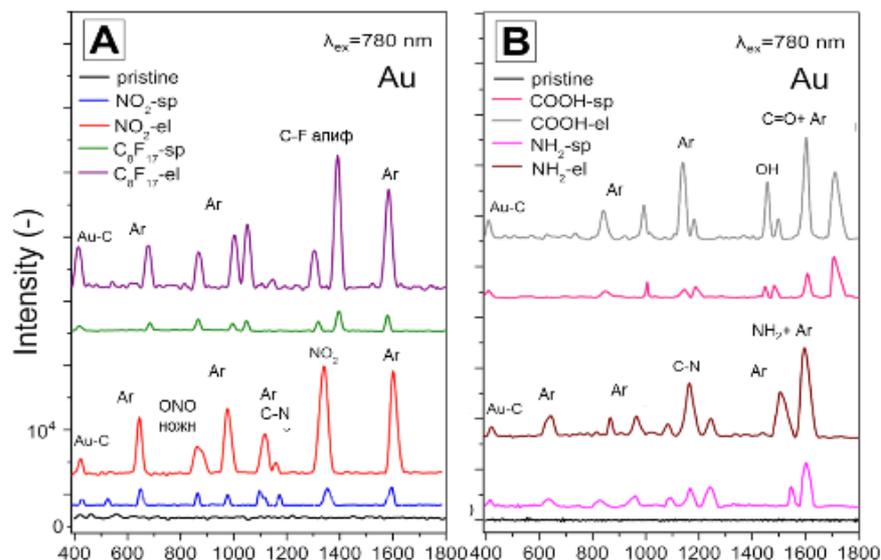
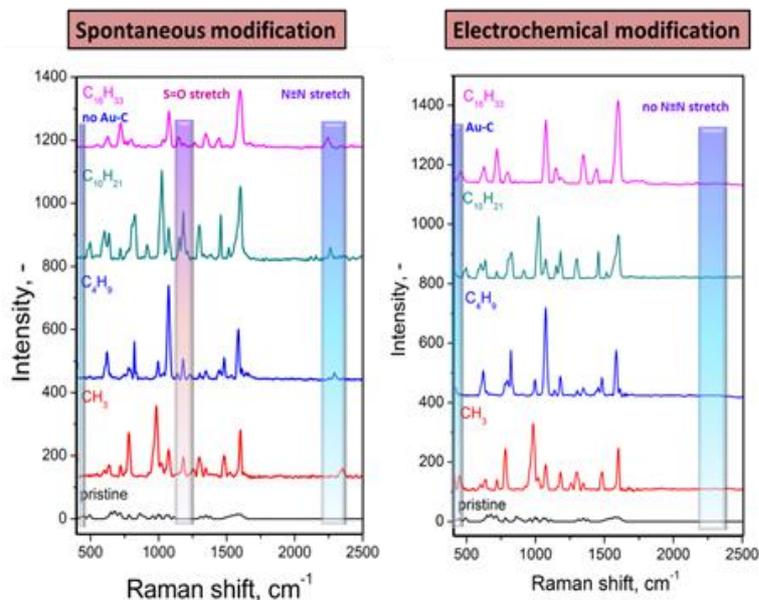


Рисунок 2. Рамановские спектры золотых пленок, модифицированных различными АДТ спонтанным (А) и электрохимическим (В) методами

Следует также отметить, что полоса низкой интенсивности примерно при 400 см^{-1} соответствует ковалентной связи Au-C, которая также наблюдалась на 433 см^{-1} .

Дизайн сенсорных систем на основе плазмон-активных решеток золота и АДТ. В качестве самого простого примера использования диазониевой модификации для создания сенсора нами были использованы АДТ с алифатическими линейными заместителями различной длины.

На Рамановских спектрах золотых решеток, модифицированных спонтанным методом, можно заметить, что АДТ адсорбируются на поверхности без образования ковалентной связи Au-C в диапазоне $400\text{-}450\text{ см}^{-1}$, что также подтверждается наличием полосы колебания, соответствующей связи $\text{N}\equiv\text{N}$ на $2200\text{-}2300\text{ см}^{-1}$, в случае электрохимической



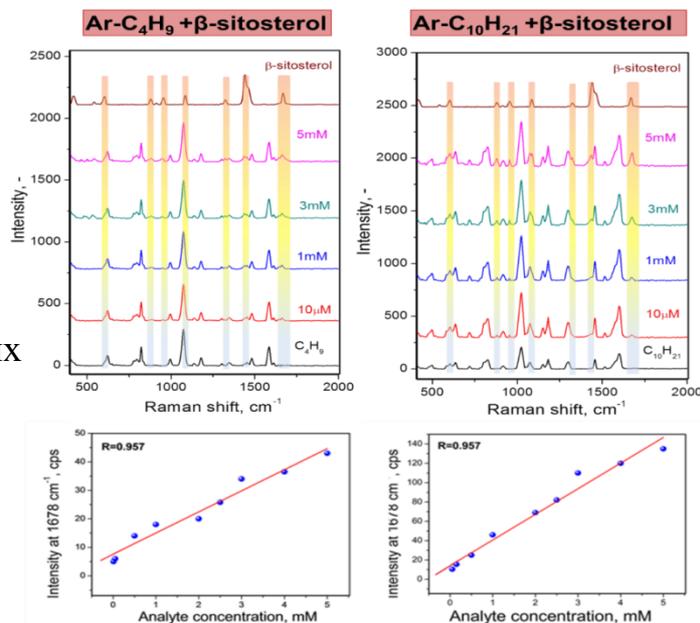
модификации, наблюдалось появление связей Au-C и исчезновение связи N≡N (рис.3).

Рисунок 3. SERS спектры золотых пленок, модифицированных ADT-CH₃, ADT-C₄H₉, ADT-C₁₀H₂₁, ADT-C₁₆H₃₃,

спонтанно (слева) и электрохимически (справа)

Поэтому, для детектирования липофильных соединений выбран электрохимический метод модификации золотых решеток липофильными АДТ. Нами оценена возможность использования липофильных золотых решеток, модифицированных ADT-C₄H₉ и ADT-C₁₀H₂₁ для детектирования β-ситостерола в диапазоне концентраций 10 мкМ - 5 мМ представлены на рисунке 4.

Рисунок 4. Определение β-ситостерола в различных концентрациях на золотых пленках, модифицированных ADT-C₄H₉ (слева) и ADT-C₁₀H₂₁ (справа), и соответствующие зависимости интенсивности SERS пика от концентрации аналита.



Неперекрывающиеся пик на 1678 см⁻¹ был выбраны в качестве характеристического для количественного определения β-ситостерола. Из

сравнения левой и правой части рисунка 4 (слева) видно, что идентификация пиков характерных для β -ситостерола осуществляется более простым образом в случае SERS субстрата модифицированного ADT-C10H21. В случае использования ADT-C4H9 – было возможно установить только присутствие β -ситостерола на поверхности в высоких концентрациях.

Для оценки воспроизводимости определения β -ситостерола использовали тестовую статистику Кохрена. SERS измерения проводились на 5 линиях на одном образце, где сигнал снимался в пяти точках вдоль каждой линии. Сравнив полученное при расчете значение критерия Кохрена с критическим, можно сделать вывод, что все измерения обеспечивают высокую воспроизводимость результатов.

Разработка методик создания сенсоров и исследование их структуры после вторичной трансформации функциональных групп АДТ.

Вторичные трансформации поверхностных функциональных групп является одним из приоритетных способов для создания эффективных сенсорных систем с новыми свойствами при определении БАД и экотоксикантов. Нами выбраны следующие агенты для увеличения аффинитета к целевым анализам после вторичной трансформации АДТ: температурно-чувствительный полимер поли(N-изопропилакриламид)(PNIPAm) для детектирования азо-красителей, короткоцепочечные олигонуклеотиды - для определения степени комплементарности ДНК; хелатирующая группа диэтилентриаминпентауксусная кислота (ДТПА) для определения ионов тяжелых металлов, меркаптоянтарная кислота для определения ионов ртути и L,D-энантиомеры винной кислоты для энантиоселективного определения изомеров лекарственных средств.

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 ($5'$ - $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_6$ - $5'$ -CGCCAATACGACCAAATCCG-3'). Для прививки L- или D-винной кислоты, кислоты активированы с помощью N-гидроксисукцинимидом и 1-Этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида и в этот раствор погружали золотые решетки с привитыми 4-аминофенильными группами на 2 ч. Образцы модифицированных АДТ золотых решеток после вторичной трансформации изучались методами XPS, Рамановской спектроскопии и AFM.

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

Одним из наиболее распространённых «умных» полимеров является PNIPAm, обладающий температурно-зависимым изменением конформаций при фазовом переходе, что может быть использовано для захвата и детектирования молекул некоторых красителей. Нами предполагалось, что молекулы красителя способны к диффузии в полимерный слой с последующим «захватом» после нагрева. На SERS спектрах обнаруживается появление новых пиков, характеристичных для анализируемых красителей с отличным разрешением. Для количественной оценки предельно малого содержания компонента, определяемого с заданной степенью точности ($p=0,95$), при предельно допустимой величине 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). Полученные SERS спектры показывают высокое соотношение сигнал/шум, а Рамановские пики легко идентифицируемы. Зависимость интенсивности Рамановского пика от концентрации красителя описывается линейной функцией, что позволяет детектировать азо-красители в широком диапазоне концентраций. Из полученной экспериментальной зависимости относительного стандартного

отклонения от величины определяемой концентрации при $Sr = 0,33$ рассчитана минимально определяемая концентрация, которая равна $1 \cdot 10^{-14}$ М.

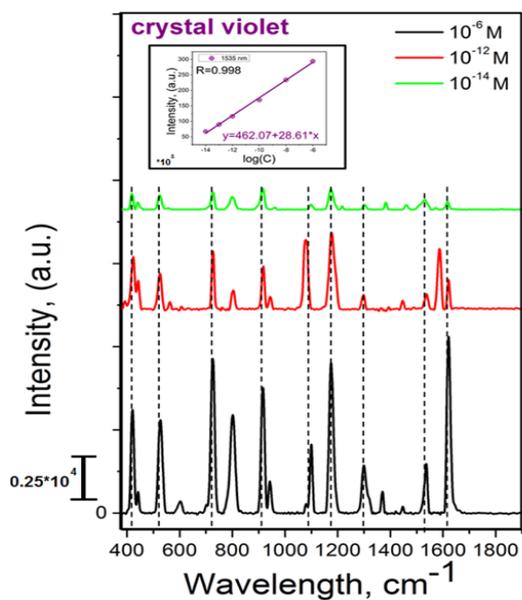


Рисунок 5. SERS спектры

Au-PNIPAM после

детектирования

кристаллического фиолетового в
различных концентрациях

Еще одним важным свойством SERS сенсора является возможность его регенерации и повторного использования. 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 кристаллического фиолетового) был промыт холодной водой и использован для детектирования другого красителя метанила желтого 10^{-14} М. Модифицированные с помощью PNIPAM золотые решетки могут быть успешно регенерированы и впоследствии

использованы повторно для определения таких азо-красителей, как дисперсный красный I и метанил желтый. Погрешность измерения красителей вдоль поверхности модифицированных с помощью PNIPAM золотых решеток составила 3% и между образцами 4,5%.

Сенсорная система на основе короткоцепочечного олигонуклеотида для определения комплементарности ДНК. Для создания сенсора нами получены золотые решетки с ковалентно-привитой олигонуклеотидной последовательностью.

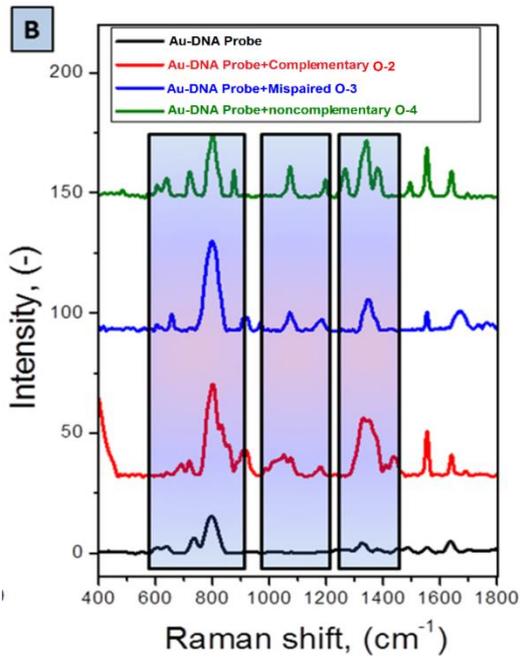


Рисунок 6. SERS спектры привитого к золотой решетке нуклеотида до и после его взаимодействия с другими олигонуклеотидами (комплементарным, некомплементарным, и частично комплементарным)

Анализ SERS (рис. 6) 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 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.

SERS спектры, измеренные на вышеописанных образцах после взаимодействия с 3 видами ДНК, были подвергнуты анализу с использованием метода главных компонент (МГК). Разработанный метод позволяет полностью отличить неспецифически связанные и гибридизированные на поверхности олигонуклеотиды.

Исследования нижней границы определяемых содержаний и предела обнаружения комплементарных ДНК проводили на 855 и 1352 cm^{-1} в соответствии с критерием Кайзера. Отклонения в абсолютной интенсивности пиков составляют 5,8% для комплементарной ДНК и 7,3% для частично комплементарного ДНК.

Сенсорная система на основе диэтилентриаминпентауксусной кислоты для определения ионов тяжелых металлов. 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. Наиболее значимые пики SERS до погружения сенсоров в растворы тяжелых металлов могут быть отнесены к следующим химическим группам: 3150 cm^{-1} (OH-); 1515-1600 cm^{-1} ($\nu = 0$); 400-500 cm^{-1} (Me-N). Исчезновение сигналов O-H групп наблюдается после взаимодействия с растворами всех металлов и свидетельствует об образовании комплекса на поверхности (рис.7).

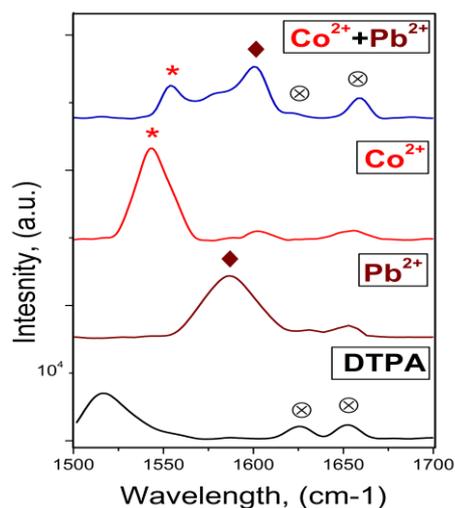


Рисунок 7. SERS спектры Au-ДТПА после взаимодействия с смесью кобальта и свинца и их сравнение с ранее полученными спектрами (вверху), результаты воспроизводимости SERS сигнала.

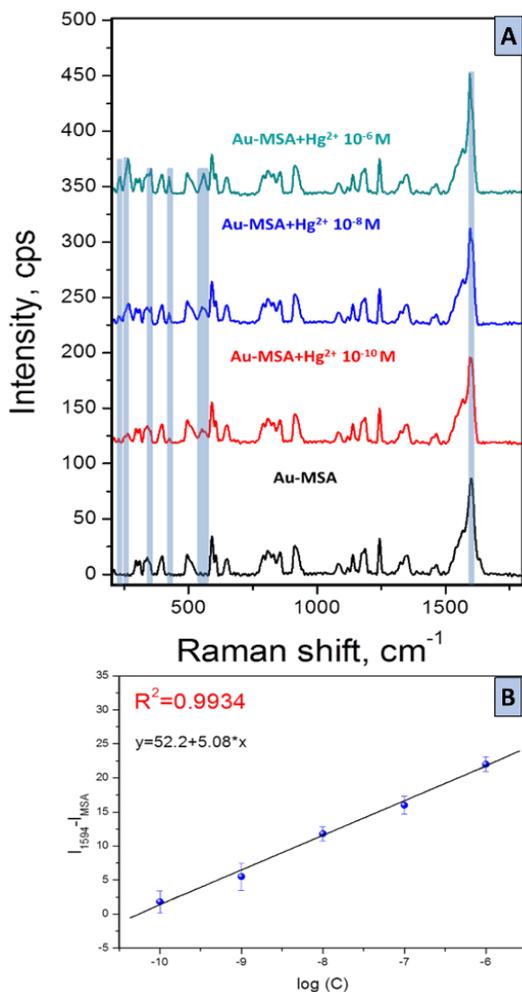
Как видно на Рис. 7, положение пика ДТПА смещается после комплексообразования с каждым металлом. Погружение образца в смесь ионов металлов также приводит к смещению полосы C=O.

Полученный пик может быть подвергнут деконволюции для выделения пиков, соответствующих ионам Co^{2+} и Pb^{2+} и возможность их

одновременного определения. Разработанный подход не только прост в использовании, но и позволяет селективно определять ионы тяжелых металлов в смесях. Среднеквадратичное отклонение аналитического сигнала между различными образцами составило 4,0%.

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

Нами предложено использовать тиол-ин реакцию на поверхности золотых решеток между привитыми с помощью diazonиевой химии 4-группами и меркаптоянтарной кислотой (MSA) под действием солнечного света. Полученные образцы анализировались с использованием SERS и XPS. Полученные образцы с ковалентно привитыми MSA-группами исследованы в качестве сенсорной системы для обнаружения ионов ртути в растворах с концентрацией от 10^{-10} М до 10^{-6} М. (рис. 8).



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.

Рисунок 8. (А) SERS-спектры золотой решетки с привитой меркаптоянтарной кислотой в присутствии Hg^{2+} в различных концентрациях (от 10^{-10} до 10^{-6} М), (В) калибровочная кривая сенсора в диапазоне концентраций ионов Hg^{2+} .

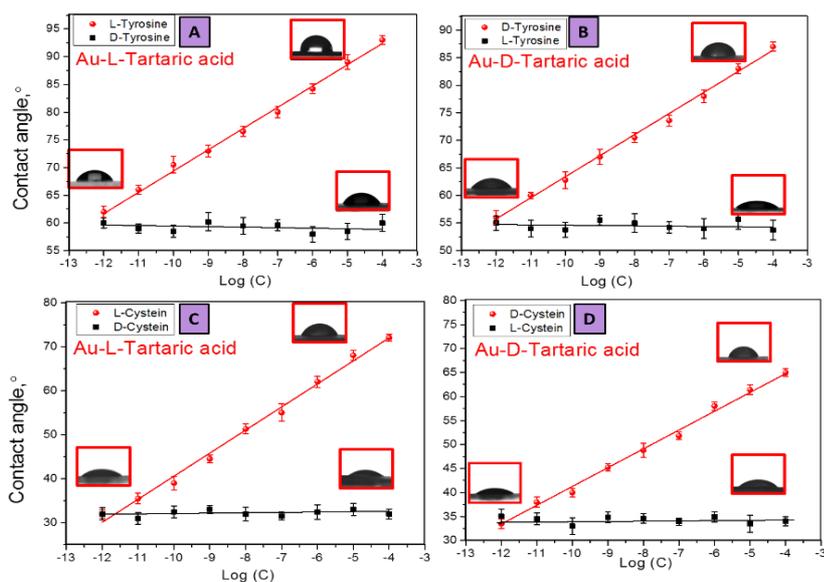
В результате расчета по 3-сигмовому критерию нижнего предела обнаружения и

минимально определяемой концентрации из зависимости среднеквадратического отклонения интенсивность пика на 1594 см^{-1} от концентрации ртути предлагаемый SERS сенсор способен обнаруживать Hg^{2+} в концентрациях до 10^{-10} М. Нами 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). Показано, что нецелевые ионы металлов практически не реагируют с поверхностью сенсора, положение пика C=O практически не изменилось по сравнению с Au-MSA (1594 см^{-1}) и отклонение интенсивности пика (1594 см^{-1}) на одном образце составляет 5,2%, а отклонение между 3 образцами не превышает 6,8%.

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

В работе проведено распознавание лекарственных энантиомеров с использованием золотых решеток с предварительно привитыми L- и D-изомерами винной кислоты (Au-L-TA и Au-D-TA). Сенсор предварительно протестирован 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 TA. Качественное определение хиральных аминов на основе измерения смачиваемости выполнялось специально созданным мобильным приложением «Dropangle» с использованием фотоаппарата мобильного телефона. При использовании сенсора Au-L-TA и L-аналитов (цистеин и тирозин) наблюдался рост угла смачиваемости при увеличении концентрации аналита. Аналогичный тренд сохранялся и при взаимодействии Au-D-TA и D-энантиомеров. Сенсоры обнаруживали высокую энантиоселективность взаимодействия – так, взаимодействие L-изомеров с Au-D-TA не изменяло угол смачивания, равно как и взаимодействие D-изомеров с Au-L-TA (Рис.9)

Измерения SERS, выполненные на том же сенсоре предоставляют информацию о молекулярной структуре хиральных аминов, позволяя точно распознавать энантиомеры. 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-тирозина 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. 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.



Таким образом, предложен уникальный дизайн мультифункционального сенсора для энантиоселективного определения хиральных аминов

Рисунок 9. Результаты исследования изменений смачиваемости, зависимость угла от концентрации: А,В - L/D тирозина; С,Д - L/D цистеина на золотых решетках Au-L/D-TA

Иммобилизация пористых металл-органических каркасов для обнаружения органофосфатных пестицидов. Нами предложен метод поверхностной модификации золотых упорядоченных решеток посредством

поверхностной модификации с использованием ADT-COOH, которая позволит создать «якорные» группы для последующего роста металлорганического каркасного соединения $Zn_4O(BDC)_3$, где BDC^{2-} = 1,4-бензодикарбоксилат (MOF-5).

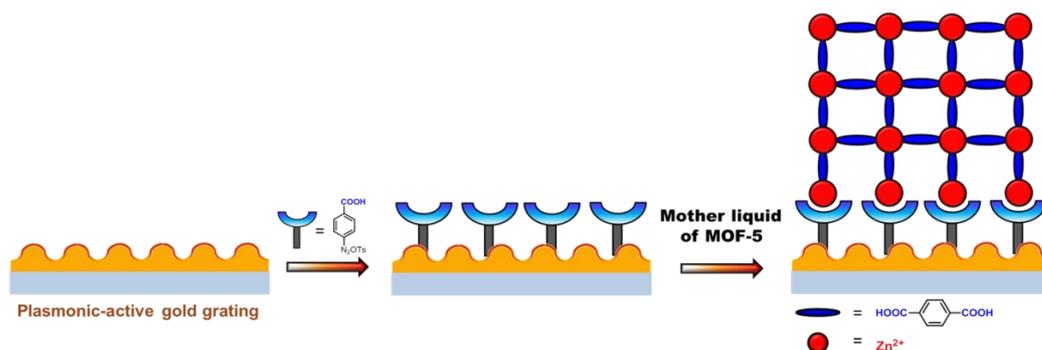


Рисунок 10. Схематическое изображение получения тонкой пленки MOF-5 на поверхности золотой решетки.

После спонтанной модификации решеток и прививке 4-карбоксифенильных групп, нами синтезирован MOF-5 по известной методике, маточная жидкость которого далее использовалась для роста MOF (Рис.10). Рост органической пленки исследовался методами XPS, SERS, AFM, а так же XRD.

Мы исследовали способность полученных сенсоров захватывать пестициды с помощью SERS.

После взаимодействия с пестицидами мы наблюдали значительные изменения спектров в характеристичных для пестицидов областях: для параоксона: 1590 см^{-1} (Ar), 1346 см^{-1} (NO), 1230 см^{-1} (P = O), $1110\text{-}1000\text{ см}^{-1}$ (Ar, P-O-C), 942 см^{-1} (P=O), 854 см^{-1} (N-O) и 730 см^{-1} (алкил); для фенитрофона 1582 см^{-1} (Ar), 1342 (N-O), 1240 см^{-1} (C-O), $1082\text{-}995\text{ см}^{-1}$ (Ar, P-S), $966\text{-}938\text{ см}^{-1}$ (POP, PS), 820 см^{-1} (P = S), 716 см^{-1} (аликл) и 645 см^{-1} (P-S). Для определения минимально определяемой концентрации каждого из пестицидов, был выбран пик на 1230 см^{-1} для параоксона и на 1082 см^{-1} для фенитрофона. Далее была проведена оценка зависимости интенсивности

пиков от концентрации пестицидов и построены калибровочные прямые. Полученные зависимости демонстрируют линейный характер с корреляционными коэффициентами 0.972 для параоксона и 0.976 для фенитроциона. Для предлагаемых SERS сенсоров минимально определяемая концентрация пестицидов достигает значений 10^{-14} М (равных $2,8 \cdot 10^{-9}$ мг/дм³). Достигнутые значения на два порядка ниже, чем максимально допустимый уровень пестицидов (10^{-2} мг/дм³) в растениях и продуктах питания. Таким образом, предлагаемые сенсоры являются платформами для количественного обнаружения пестицидов.

Превращения органических функциональных групп на поверхности золотых решеток под действием плазмона¹

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. Нитроксид-опосредованная полимеризация (NMP) является одним из наиболее предпочтительных методов контролируемой радикальной полимеризации. Для инициации NMP связь С – ON в структуре инициатора алкоксиамина должна быть подвергнута гомолизу.

Нами предложено исследовать проведения плазмон индуцированного NMP посредством гомолиза связи С – ON с использованием золотых решеток при возбуждении полосы плазмонного поглощения (ППП). Для проведения полимеризации н выбран диэтил (1-((1-(4-аминофенил) этокси)-(трет-бутил)-амино)-2,2-диметилпропил) в качестве инициатора. Разработан метод плазмон-индуцированной NMP на плазмон-активной решетке с ковалентно-привитым алкоксиамином, приводящий к росту полимерной цепи поли (N-изопропилакриламида) PNIPAM.

¹Работа выполнена совместно с д.х.н. проф. Марк Сильвенем (Университет Экс-Марсель, Франция) и д.х.н. проф. Евгением Третьяковым (Новосибирский государственный университет)

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 выбрана трудно-полимеризуемая винилбороновая кислота (VBA).

Для получения блок-сополимера на поверхности золотых решеток, нами проведена NMPNIPAM в течении 30 минут, после чего процесс был остановлен, золотая решетка промыта и погружена в раствор VBA в дихлорметана. Успешное образование сополимера PVBA / PNIPAM подтверждено с помощью SERS и XPS.

Для демонстрации применимости полученного сенсора нами 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. 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 -B-(OH)₂ при 910, 1074, 1378 см⁻¹, как в случае катехола. Можно сделать вывод, что мы впервые разработали новую методику плазмон-индуцированного гомолиза алкоксоаминов, ковалентно привитых к поверхности плазмон-активной золотой решетки, и продемонстрировали применимость этого процесса к NMP при комнатной температуре. Разработанная методика отличается мягкостью условий, возможностью контроля роста полимерной пленки и удобностью. На основе разработанной методики нами был предложен дизайн уникального «умного» сенсора для обнаружения биологически значимого α -1-гликопротеина с высокой чувствительностью.

Выводы

1. Разработаны простые и эффективные методы ковалентной модификации 2D и 0D наноразмерных 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 экологически 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.

Основное содержание диссертации отражено в следующих публикациях.

Публикации в журналах, индексируемых в базах данных Scopus и WoS:

1. **Guselnikova O.** Pretreatment-free selective and reproducible SERS-based detection of heavy metal ions on DTPA functionalized plasmonic platform [Article, Electronic resource] / Guselnikova, O., Postnikov, P., Erzina, M., Kalachyova, Y., Švorčík, V., Lyutakov, O. // Sensors and Actuators, B: Chemical. – 2017. – 253. – 830-838
2. **Guselnikova O.** SERS Platform For Detection of Lipids and Disease Markers Prepared Using Modification of Plasmonic-Active Gold Gratings By Lipophilic Moieties [Article, Electronic resource] / Guselnikova O., Kalachyova Y., Hroboňová K., Trusova M., Barek J., Postnikov P., Svorcik V., Lyutakov O. // Sensors and Actuators, B: Chemical. – 2018. – 265. – 182-192
3. **Guselnikova O.** Metal-organic framework (MOF-5) coated SERS active gold gratings: a platform for the selective detection of organic contaminants in soil. [Article, Electronic resource] / O. Guselnikova, E. Miliutina, R. Elashnikov, P. Postnikov, Svorcik, O. Lyutakov // Anal. Chim. Acta. – 2019. – 1068. – 70-79
4. **Guselnikova O.** Preparation of Selective and Reproducible SERS Sensor of Hg²⁺ Ions via Sunlight Induced Thiol-Yne Reaction on Gold Gratings. [Article, Electronic resource] / O. Guselnikova, V. Svorcik, O. Lyutakov, M. M. Chehimi, P. Postnikov // Sensors. – 2019.-19. – 9. – 2110.
5. **Guselnikova O.** Dual mode chip enantioselective express discrimination of chiral amines by the wettability-based mobile app and portable SERS measurements [Article, Electronic resource] / O. Guselnikova, A. Trelin, Postnikov, Svorcik, O. Lyutakov // ACS Sensors. – 2019. – 4. – 4. – 1032-1039
6. **Guselnikova O.A.** Surface modification of Au and Ag plasmonic thin films via diazonium chemistry: Evaluation of structure and properties [Article, Electronic resource] / Guselnikova O.A., P. Postnikov, R. Elashnikov, M. Trusova, Y.

- Kalachyova, M. Libansky, J. Barek, Z. Kolska, V. Svorcik, O. Lyutakov. // Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. – 2017. –516. –274–285
7. **Guselnikova O.A.** Large-scale ultrasensitive, highly reproducible and regenerative smart SERS platform based on PNIPAm grafted gold grating [Article, Electronic resource] / Guselnikova O.A., P. Postnikov, Y. Kalachyova, Z. Kolska, M. Libansky, J. Zima, V. Svorcik, O. Lyutakov //ChemNanoMat. – 2017. – 3. – 2. - 135–144
 8. **Guselnikova O.** Plasmon Catalysis on Bimetallic Surface - Selective Hydrogenation of Alkynes to Alkanes or Alkenes[Article, Electronic resource] / Guselnikova O., Olshtrem A., Kalachyova, Y. Panov, I., Postnikov, P. Svorcik, V., Lyutakov, O. // J. Phys. Chem. C. –2018. –122. – 46. – 26613–26622
 9. **Guselnikova O.** Express and portable label-free DNA detection and recognition with SERS platform based on functional Au grating[Article, Electronic resource] / O. Guselnikova, P. Postnikov, A. Pershina, V. Svorcik, O. Lyutakov// App. Surf. Sci.–2019. – 470. –219-227
 10. **Guselnikova O.** Unprecedented Plasmon-Induced Nitroxide-Mediated Polymerization (PI-NMP): a Method for Preparation of Functional Surfaces [Article, Electronic resource] / Guselnikova O., S. Marque, E. Tretyakov, D. Mares, V. Jerabek, G. Audran, J.-P. Joly, M. Trusova, V. Svorcik, O. Lyutakov, P. Postnikov // J. Mat, Chem. A. – 2019. – 7. – 12414-12419

Автор выражает искреннюю благодарность своим научным руководителям к.х.н., доценту П.С Постникову и к.х.н. Лютакову А. за помощь и постоянное внимание к работе. Также хочу выразить огромную благодарность за помощь, оформление и поддержку в написании диссертационной работы д.х.н., профессору Слепченко Г.Б. и д.х.н. Трусовой М.Е.