

Сб. статей Пятой межд. научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине, 14–15 ноября 2014 г., Санкт–Петербург, Россия. СПб.: Изд-во Плитехн. ун-та, 2014. Т. 2. С. 64–66.

ПОЛУЧЕНИЕ ЗОЛЕЙ ЗОЛОТА ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ТВЕРДЫХ ПОВЕРХНОСТЯХ..

Плюгачева Е.И., Чернякова Е.В.

Наночастицы золота, иммобилизованные на твердых поверхностях, обладают уникальными квантовомеханическими свойствами и нашли применение для высокочувствительного определения биомолекул. Для получения наночастиц золота используют различные восстановители, в том числе H_2O_2 . Отличительными особенностями пероксида водорода являются отсутствие зародышеобразования и возможность ферментативной генерации.

Нами разрабатывался метод иммобилизации наночастиц золота на твердых поверхностях, для этого использовались образцы кремния.

Для модификации аминогруппами образцы кремния выдерживали под слоем аминопропилтриэтоксисилана (АПТЭС) без растворителя в течение 2 часов, затем поверхность промывали деионизованной водой ($18.2 \text{ МОм} \cdot \text{см}$) в течение 15 мин. В случае обработки раствором полиэлектролита поверхность выдерживали с образцом в течение 10 мин. В случае полианионов применяли послойное нанесение электролитов.

Для исследования были выбраны следующие концентрации электролитов: 7.91 мг/мл хлорида полидиметилдиаллиламмония в присутствии 20 мМ NaI и без него, 125 мг/мл полиэтиленimina, 67.6 мг/мл поли-(2-акриламидо-2-метил-1-пропансульфо кислоты), 2.5 мг/мл полианетолсульфоната натрия.

Для иммобилизации наночастиц на модифицированных аминогруппами или обработанными электролитами образцами раствор наночастиц (с размером 10 нм) выдерживали в течение 30 мин. Связывание проводили в 0.01 М натрий-фосфатном буферном растворе ($\text{pH } 7.2$), содержащем $2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ПАВ (хлорида цетилтриметиламмония), H_2O_2 и $2 \cdot 10^{-4} \text{ М HAuCl}_4$. При больших концентрациях $HAuCl_4$ происходит высаливание $NaAuCl_4$. Концентрацию H_2O_2 варьировали в диапазоне $2 \cdot 10^{-6}$ – $2 \cdot 10^{-2} \text{ М}$.

Ферментативную генерацию пероксида водорода проводили в 0.01 М натрий-фосфатном буферном растворе ($\text{pH } 6$ и $\text{pH } 6.5$), содержащем $2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ПАВ, $2 \cdot 10^{-4} \text{ М HAuCl}_4$, глюкозу и глюкозооксидазу. Концентрацию глюкозы варьировали в диапазоне $2 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ – 0.1 М , концентрацию глюкозооксидазы – в интервале 94 – 141 мкг/мл .

Все описанные операции и реакции проводили при комнатной температуре.

Иммобилизация наночастиц золота на модифицированных поверхностях проводилась за счет их электростатического связывания с поверхностью. Было найдено, что зависимость поверхностной концентрации изолированных наночастиц и агрегатов (n) от концентрации наночастиц описывается кривой с насыщением при этом наибольшее значение поверхностной концентрации достигается через 30 мин.

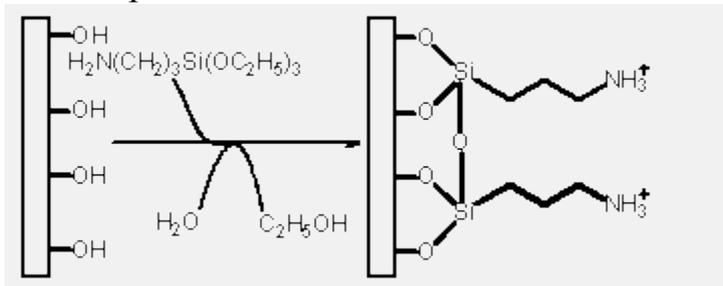


Рис. 1.Схема модификации поверхности кремния аминными группами.

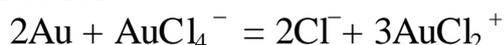
Связывание наночастиц золота, иммобилизованных на поверхностях кремния, проводилась при восстановлении HAuCl_4 пероксидом водорода:



Термодинамические расчеты показали, что данная реакция может протекать при сколь угодно низких концентрациях H_2O_2 .

Величина скорости процесса, соответствующая стационарному участку кинетической кривой, составляет 298.5 нМ/мин для концентрации H_2O_2 $5 \cdot 10^{-5}$ М и 6640.2 нМ/мин для концентрации H_2O_2 $2 \cdot 10^{-2}$ М.

Исследования образцов кремния методом электронной микроскопии показали, что связывание приводит к приобретению ими неправильной формы, что связано с возникновением золотых нанокластеров на их поверхности. Поскольку в ходе иммобилизации на рост наночастиц расходуется не более 25% добавленной HAuCl_4 , насыщение на кинетических кривых не связано с исчерпанием реагентов. Кроме этого, в отсутствие H_2O_2 при одновременном присутствии всех остальных реагентов и наночастиц размером 2 нм оптическая плотность раствора с течением времени падает. Максимальная скорость этого падения линейно зависит от концентрации наночастиц в растворе, что свидетельствует о протекании процесса по первому порядку. Следовательно, в системе протекает реакция сопропорционирования золота:



Метод генерации пероксида водорода.

В основе этого метода лежит ферментативная генерация H_2O_2 одновременно с восстановлением HAuCl_4 . Для генерации пероксида водорода была исследована система глюкозооксидаза-глюкоза. Было найдено, что ферментативное восстановление приводит к появлению дополнительного максимума распределения иммобилизованных на поверхности кремния наночастиц. Кинетические кривые ферментативной генерации являются линейными, без насыщения при больших временах процесса.

Величина скорости процесса для 94мкг/мл глюкозооксидазы составляет 22.4нМ/мин. По нашему мнению, это связано с медленной скоростью восстановления H_2O_2 в ферментативной реакции. Зависимость скорости ферментативной генерации от концентрации глюкозы близка к линейной, что косвенно свидетельствует о протекании реакции по первому порядку по концентрации глюкозы. Величина кажущейся константы скорости процесса составляет $2.74 \cdot 10^3$ с.

Вторым способом создания наноструктур является агрегация наночастиц полиэлектролитами, связанная с взаимодействием положительных зарядов поликатиона и адсорбированных на поверхности наночастиц цитрат-ионов. Были использованы следующие полиэлектролиты: хитозан, полиэтиленимин, хлорид поли-*n*-винилбензилпиридина, бромид поли-4-винилбензилпиридина, хлорид полидиметилдиаллиламмония. С повышением концентрации полиэлектролита максимум поглощения смещается в длинноволновую область. Во всех рассмотренных случаях были получены устойчивые растворы агрегатов наночастиц золота с воспроизводимыми характеристиками. Кинетические закономерности образования агрегатов соответствуют процессам первого порядка по концентрации наночастиц.

Наиболее высокая поверхностная концентрация изолированных наночастиц и агрегатов, получаемых в процессе иммобилизации на обработанные полиэлектролитами поверхности, достигается при использовании хлорида полидиметилдиаллиламмония.

Основные результаты и выводы

1. Установлено, что иммобилизация золотых наночастиц на модифицированные аминогруппами кремнийсодержащие поверхности сопровождается агрегацией, но позволяет получать поверхности с воспроизводимым распределением наночастиц.
2. Показано, что использование пероксида водорода в качестве восстановителя не сопровождается зародышеобразованием. Найдено, что рост иммобилизованных золотых наночастиц в процессе протекает в кинетическом режиме. Установлено, что кроме роста наночастиц происходит их растворение в результате сопропорционирования золота.
3. Проведено исследование закономерностей процесса агрегации золотых наночастиц полиэлектролитами. Установлено, что агрегация золотых наночастиц под действием поликатионов позволяет воспроизводимо получать устойчивые растворы агрегатов. Найдено, что при иммобилизации золотых наночастиц на обработанные полиэлектролитами поверхности наиболее высокая поверхностная концентрация изолированных наночастиц и агрегатов достигается при использовании хлорида полидиметилдиаллиламмония.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. Семенов С.А. / Изучение электролитической коагуляции золей золота методом спектроскопии локализованного поверхностного плазмонного резонанса // Коллоид. журн. 2013. Т. 75. № 4. С. 468–473.
2. Семенов С.А., Рудой В.М. / Исследование возможности стабилизации гидрозолей золота нетиолированными гомоолигонуклеотидами различной длины и последовательности // Коллоид. журн. 2013. Т. 75. № 5. С. 655–661.
3. Долинный А.И., Семенов С.А. / Определение критической концентрации коагуляции золей золота методом локализованного поверхностного плазмонного резонанса // Сборник статей «Структура и динамика молекулярных систем», 2008. Т. 2. С. 212–216.
4. Семенов С.А., Рудой В.М. / Стабилизации гидрозолей золота нетиолированными гомоолигонуклеотидами // Физиология и медицина. Высокие технологии, теория, практика. Сб. статей Пятой междунар. научно-практич. конф-ции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине», 14–15 ноября 2013 г., Санкт-Петербург, Россия. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2013. Т. 1. С. 84–86.
5. . Kukhta A. V., Kolesnik E. E, Lesnikovich A. I. [et al.] // Mat. Sci. and Eng. 2006. Vol. 26, № 5-7. P. 1012-1016. 7. Nichick M. N, Voitekhovich S. A., Shavel A. [et al.] // Polyhedron. 2009. Vol. 28, № 14. P. 3138-3142.
6. . Кисленко В. Н. Иммунологические методы диагностики. Электронный учебный ресурс. nsau.edu.ru/file/1189. Новосибирск, 2010.
7. . Комкова О. П., Образцова А. М, Сидорова Н. А. Механизмы серологических реакций : методические указания для студентов медицинского факультета. Петрозаводск : ПетрГУ, 2006.