

На правах рукописи

Волкова Елена Константиновна

**СИНТЕЗ И ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ
НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ**

03.01.02 – Биофизика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

Саратов

2013

Работа выполнена в ГОУ ВПО
«Саратовский государственный университет имени Н.Г.Чернышевского»
На кафедре «Оптики и биофотоники»

Научный руководитель:

доктор физико – математических наук,
профессор Кочубей Вячеслав Иванович

Официальные оппоненты: доктор физико –математических наук, профессор,
заведующий лабораторией субмикронной электроники
Саратовского филиала Института радиотехники и
электроники им. В.А.Котельникова РАН (г. Саратов)

Ушаков Николай Михайлович

доктор физико –математических наук, старший научный
сотрудник Института биохимии и физиологии растений
и микроорганизмов РАН (г. Саратов) **Хлебцов Борис
Николаевич.**

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский
университет имени В.И. Разумовского» (г. Саратов)

Защита состоится 12 сентября 2013 г. в 15 часов 30 минут в 34 ауд. III корпуса СГУ на
заседании диссертационного совета Д 212.243.05 при ГОУ ВПО «Саратовский
государственный университет имени Н.Г.Чернышевского» по адресу: 410012, г. Саратов,
ул. Астраханская, 83.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной Научной библиотеке Саратовского
государственного университета им. Н.Г.Чернышевского.

Автореферат разослан «__» 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Дербов В.Л.

Общая характеристика работы

Актуальность работы.

Спектральные характеристики люминесценции полупроводниковых нанокристаллов зависят не только от их размера, но также формы и химического состава. Совокупность физико-химических свойств делает наночастицы идеальными флуорофорами для создания биосенсоров, позволяющих регистрировать структуру, химический состав биологических объектов, а также для медицинской диагностики, требующей регистрации многих параметров одновременно. Развитая площадь поверхности наночастиц позволяет расположить на ней большое количество различных функциональных групп, обеспечивающих связывание с различными диагностическими и терапевтическими агентами. Необходимость достижения высокого квантового выхода частиц при комнатной температуре требует разработки эффективных методов синтеза и стабилизации наночастиц.

На сегодняшний день основное направление исследований связано с возможностью применения полупроводниковых наночастиц, люминесценция которых вызвана процессами рекомбинации свободных носителей заряда, образованных возбуждающим излучением. Однако, наличие значительного количества люминесцирующих поверхностных дефектов, нестабилизированных нанесением поверхностного слоя, может обеспечить более высокую чувствительность наночастиц к изменениям окружающей среды, обусловленную взаимодействием с ней дефектов. Однако, количество работ, посвященных применению в биологии наночастиц, люминесценция которых вызвана поверхностными дефектами, незначительно.

Спектральные характеристики наночастиц зависят от метода и режима их синтеза и стабилизации. При этом необходим контроль размера и структуры частиц, осуществляемый, как правило, комплексом методов: электронной микроскопии, спектральных, включая рентгенодифракцию, химических и т.д. Оптические спектры являются наиболее просто и быстро получаемыми характеристиками как получаемых наночастиц, так и процесса протекания реакции. Однако, при исследовании спектральных характеристик наночастиц, возникают трудности регистрации их спектров поглощения, люминесценции и возбуждения, даже при отсутствии коллективных эффектов, т.к. спектры могут искажаться вследствие рассеяния и перепоглощения света. В результате, регистрируемые спектры поглощения, люминесценции и возбуждения исследуемого образца могут существенно отличаться от спектров поглощения, люминесценции и возбуждения отдельных наночастиц. Поэтому возникает необходимость в разработке алгоритма коррекции спектров поглощения, люминесценции и возбуждения наночастиц для получения неискаженных данных.

Таким образом, актуальным является выявление зависимости оптических свойств наночастиц от условий их формирования, их размера и структуры, свойств их поверхности и разработка, на этой основе, наночастиц, используемых в качестве люминесцентных биосенсоров. Данная работа посвящена решению данной проблемы на основе использования наночастиц CdS и ZnCdS.

Цель работы

Целью настоящей работы является разработка методов синтеза и изучение оптических характеристик люминесцирующих полупроводниковых наночастиц CdS и ZnCdS для применения их в биологии. Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- разработать новые низкотемпературные и высокотемпературные методики синтеза наночастиц CdS и ZnCdS;
- исследовать оптические характеристики синтезированных наночастиц. Осуществить выбор оптимальных параметров синтеза для воспроизводимого получения наночастиц с высокой интенсивностью люминесценции поверхностных дефектов;
- разработать алгоритм и программу, позволяющие корректировать экспериментально полученные спектры возбуждения люминесценции нанокompозитных образцов с целью определения неискаженных спектров возбуждения наночастиц в локальных областях образца;
- разработать метод частичной стабилизации синтезированных наночастиц без уменьшения эффективности люминесценции поверхностных дефектов;
- получить данные о влиянии температуры на оптические характеристики наночастиц ZnCdS с целью применения наночастиц ZnCdS для разработки температурных наносенсоров;
- исследовать зависимость степени тушения люминесценции наночастиц от концентрации глюкозы;
- разработать методику создания биосенсоров для определения концентрации глюкозы на основе синтезированных полупроводниковых наночастиц ZnCdS.

Методы исследования

Для решения поставленных в работе задач применяли комплекс физико-химических методов исследования (люминесценция, УФ-, ИК-, видимая, EXAFS спектроскопия, дифрактометрия, измерение размеров наночастиц на основе динамического лазерного рассеяния оптическая микроскопия, электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия).

Научная новизна

- Разработаны новые высокотемпературные и низкотемпературные методы синтеза наночастиц CdS и ZnCd с высокой интенсивностью люминесценции поверхностных дефектов.
- Показано влияние условий синтеза на форму наночастиц при варьировании режима синтеза и используемых прекурсоров.
- Разработана методика частичной стабилизации наночастиц пористой полимерной оболочкой без уменьшения эффективности люминесценции поверхностных дефектов.
- Разработан алгоритм и программа, позволяющие корректировать экспериментально полученные спектры возбуждения нанокompозитных образцов.
- Получены данные о влиянии температуры на оптические характеристики наночастиц ZnCdS.

- Разработана методика создания температурных биосенсоров на основе синтезированных полупроводниковых наночастиц ZnCdS.
- Получена зависимость степени тушения люминесценции наночастиц ZnCdS от концентрации глюкозы.
- Разработана методика создания биосенсоров для определения концентрации глюкозы на основе синтезированных полупроводниковых наночастиц ZnCdS.
- Показано изменение положения максимума полосы люминесценции наночастиц смешанного типа ZnCdS, при взаимодействии с различными биологическими средами.

Практическая значимость работы

В результате проведенных исследований разработаны методики синтеза наночастиц CdS и ZnCdS с высокой интенсивностью люминесценции поверхностных дефектов. Разработана методика стабилизации наночастиц пористой полимерной оболочкой без уменьшения эффективности люминесценции. Разработан алгоритм и программа, позволяющие корректировать экспериментально полученные спектры возбуждения нанокompозитных объектов. Показана возможность применения наночастиц ZnCdS для разработки биосенсоров на изменение концентрации глюкозы, температуры и окружения наночастиц и структуры биологических тканей.

Основные положения и результаты, выносимые на защиту

- Для создания наночастиц CdS и ZnCdS с высокой интенсивностью люминесценции поверхностных дефектов необходим синтез наночастиц с нестабилизированной поверхностью при высокой концентрации реагентов для создания условий неравновесного роста. Для создания эффективных биосенсоров наночастицы могут быть частично стабилизированы пористой полимерной оболочкой без уменьшения эффективности люминесценции поверхностных дефектов.
- Интенсивность люминесценции поверхностных дефектов наночастиц CdS и ZnCdS уменьшается с ростом температуры. Положение максимума полосы люминесценции при этом смещается в коротковолновую область.
- На основе люминесценции поверхностных дефектов наночастиц могут быть созданы сенсоры для определения концентрации глюкозы глюкооксидазным методом. При этом происходит статическое тушение люминесценции вследствие замещения поверхностных вакансий синтезированным из глюкозы кислородом. Зависимость степени тушения от концентрации глюкозы описывается законом Штерна-Фолмера.

Личный вклад соискателя заключается в постановке задач исследования, разработке методов синтеза и стабилизации наночастиц, непосредственном проведении экспериментов, обработке и обобщении полученных результатов, формулировании выводов.

Публикации

По теме данной работы опубликовано 15 печатных работ: 8 статей в журналах, рекомендованных ВАК.

Апробация работы: Работа выполнена на кафедре оптики и биофотоники Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского. Основные результаты представлены на 13 всероссийских и международных научных конференциях: Всероссийская конференция "Фотоника органических и гибридных наноструктур", Черноголовка, Россия (5-9 сентября 2011г); Ежегодная "Международная молодёжной научной школе по оптике, лазерной физике и биофотонике" (International School for Junior Scientists and Students on Optics, Laser Physics & Biophotonics Saratov Fall Meeting – SFM), Саратов, Россия, 2010, 2011, 2012 г.; "Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике", Самара, Россия, 2009, 2011 г.; Международный симпозиум "Нанофотоника-2011", Кацивели, Крым, Украина (3-8 октября 2011 г.); 3-й Международный Симпозиум имени академика А.Н. Теренина "Молекулярная фотоника", Санкт-Петербург, пос. Репино, Россия (24-29 июня 2012 г.); Международная молодежная научная школа «Современные биоинженерные и ядерно-физические технологии в медицине», Саратов, Россия (18 сентября 2012 г.); Международная конференция "PA12-Photonics Asia - Optics in Health Care and Biomedical Optics V", Пекин, Китай (4-7 ноября 2012 г.); Международная конференция "Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XVII", Сан-Франциско, США (2-7 февраля 2013 г.); Международная конференция "V International Workshop on Nanoparticles, nanostructured coatings and microcontainers: technology, properties, applications", Гольм, Германия (6 – 9 мая 2013 г.); Международная конференция "ICONO/LAT 2013", Москва, Россия (18-22 июня 2013 г.); Международная конференция "Biophotonics - Riga 2013", Рига, Латвия (26-31 августа 2013 г.).

Структура и объем диссертационной работы

Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов, библиографического списка, состоящего из 105 наименований. Работа изложена на 140 листах, включающая 2 таблицы и 57 рисунков.

Содержание работы

Во **введении** обоснована актуальность выбранной темы диссертации, определена ее цель и основные задачи, описана научная новизна и практическая значимость работы, представлены основные результаты, полученные в ходе написания работы, и сформулированы защищаемые положения, выносимые на защиту.

Первая глава носит обзорный характер и дает представления об оптических характеристиках полупроводниковых наночастиц и о методах их синтеза, обусловленных реакциями, происходящими между растворенными в жидкости соединениями. Рассмотрены основные методы стабилизации полупроводниковых наночастиц. Приведен обзор современных биосенсоров, основной принцип работы, которых основан на изменении люминесцентных характеристик полупроводниковых наночастиц.

Во **второй главе** изложены методики проведения экспериментов и обработки данных. В **разделе 2.1** рассмотрены экспериментальные методы исследования синтезированных нами наночастиц. В **разделе 2.2** описан разработанный нами алгоритм коррекции экспериментальных спектров возбуждения наночастиц.

Для получения спектров люминесценции и возбуждения наночастиц, представляет интерес разработка метода коррекции экспериментально полученных спектров образцов,

для устранения искажений, вносимых поглощением люминесценции в образце. Указанные процессы зависят от длины волны, поэтому степень ослабления излучения различна в пределах достаточно широкой спектральной области, как для люминесценции, так и для ее возбуждения. Существуют различные методики коррекции спектров возбуждения и люминесценции. Однако, общедоступная программа коррекции, как, например, программа IAD, используемая для получения спектральных зависимостей коэффициентов поглощения и рассеяния, отсутствует. Это вынуждает создавать свой алгоритм и программную реализацию коррекции спектров люминесценции и возбуждения.

Нами, на основе ранее разработанной на кафедре оптики и биофотоники. программы коррекции спектров люминесценции, создан алгоритм, позволяющий получать данные об эффективности возбуждения наночастиц в образце при данных длинах волны возбуждающего света и люминесценции, используя известные спектральные характеристики коэффициентов рассеяния - $\mu'_s(\lambda)$ и поглощения - $\mu_a(\lambda)$, и экспериментальный спектр возбуждения наночастиц. В основе данного алгоритма лежит идея о том, что отношение величины потока люминесценции, испущенной малым объемом, расположенным внутри образца, к величине потока от этого объема, попадающего на фотоприемник, характеризует степень ослабления исходной люминесценции вследствие рассеяния и перепоглощения света в образце. Интенсивность люминесценции, испущенной малым объемом образца, за счет малого перепоглощения значительно точнее соответствует интенсивности люминесценции наночастиц, чем регистрируемая экспериментально. В результате, для коррекции этого ослабления, достаточно определить спектральную зависимость этой степени ослабления, т.е. поправочную кривую $f(\lambda)$. Интенсивность люминесценции малого объема образца в области испускания (I_{lum}) можно получить простым делением экспериментального спектра люминесценции (I_{exp}) и данной поправочной кривой.

$$I_{lum} = I_{exp} / f(\lambda) \quad (1)$$

Т.к. экспериментально полученные значения интенсивности люминесценции нормированы на интенсивность возбуждающего света, значение, полученное из формулы 1, соответствует эффективности возбуждения люминесценции.

Для оценки влияния рассеяния и перепоглощения люминесценции наночастицами проведено сравнение экспериментальных и скорректированных спектров возбуждения наночастиц ZnCdS. В экспериментах использовались образцы трех типов: с частицами малого размера, взвешенными в воде; частицами большего размера, осажденными на стеклянную подложку, и малыми частицами, внедренными в пленку полиакриловой кислоты. Тем самым нами реализованы условия разного рассеяния, разной плотности упаковки и разных спектральных характеристик образцов.

При сильном рассеянии на плотноупакованных крупных наночастицах (рисунок 1), а также частицах в полимерной матрице, в результате коррекции наблюдается смещение края поглощения, а также устранение спада сигнала в коротковолновой области, вызванного увеличением рассеяния с уменьшением длины волны. Использование

образцов с взвешенными наночастицами с сильной дефектностью, при регистрации возбуждения только этих дефектов, т.е. внутризонной люминесценции с длинноволновым возбуждением в области слабого поглощения, нами получены изолированные линии возбуждения. Коррекция приводит к слабому смещению максимума полосы, и ее сужению (рисунок 2). В спектрах возбуждения люминесценции малых наночастиц, покрытых полимерной матрицей и высушенных, после коррекции, проявляется экситонная полоса возбуждения. В экспериментальном спектре в данной области наблюдается только слабый перегиб (рисунок 3).

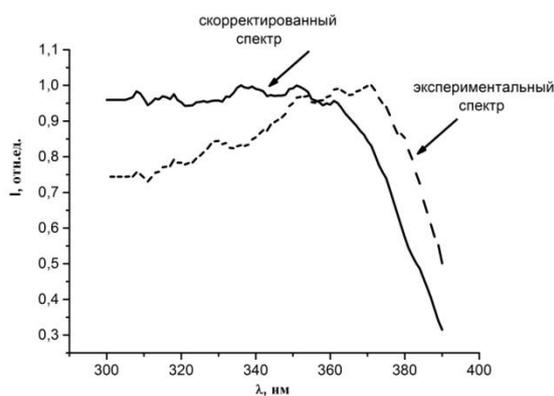


Рисунок 1 - Спектры возбуждения ($\lambda_{\text{люм}} = 550 \text{ нм}$) люминесценции наночастиц ZnCdS (осажденных на стеклянную подложку).

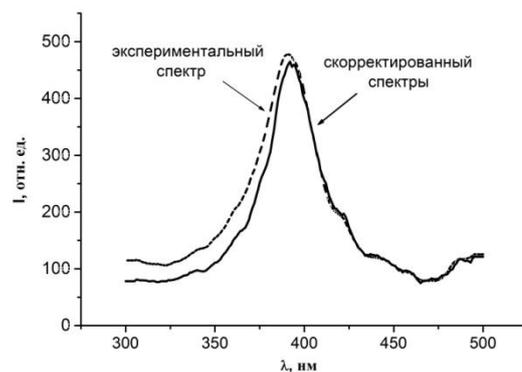


Рисунок 2 - Спектры возбуждения ($\lambda_{\text{люм}} = 530 \text{ нм}$) наночастиц ZnCdS (взвесь наночастиц).

В **третьей главе** приводится описание разработанных нами высокотемпературных и низкотемпературных методик синтеза и частичной стабилизации наночастиц CdS и ZnCdS с высокой интенсивностью люминесценции поверхностных дефектов.

На размеры частиц, и на их свойства оказывают большое влияние не только метод синтеза, но и условия его протекания. Поэтому необходимо тщательно подбирать и контролировать условия синтеза (исходные реагенты, концентрации реагентов, температуру и др.). Мы остановились на двух методах синтеза наночастиц: высокотемпературном и низкотемпературном методах синтеза наночастиц в растворах.

Для получения изолированных наночастиц CdS с высокой степенью однородности по размеру нами разработана методика высокотемпературного синтеза частиц в растворе ортоксилы. По высокотемпературной методике синтеза наночастиц CdS осуществлялись следующие синтезы:

- синтез из пивалата кадмия и элементной серы, растворенных в ортоксиле;
- синтез из пропионата кадмия, растворенного в изопропиловом спирте и элементной серы растворенной в ортоксиле;
- синтез из хлористого кадмия в изопропиловом спирте и элементной серы, растворенной в ортоксиле.

Использовался раствор элементной серы в ортоксиле и растворы солей кадмия в ортоксиле или изопропиловом спирте. Изменение типа растворителя было необходимо для повышения концентрации солей кадмия.

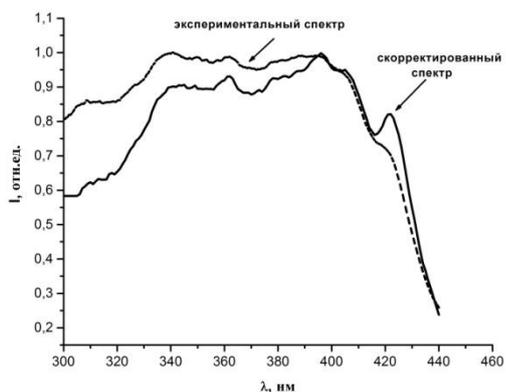


Рисунок 3 - Спектры возбуждения ($\lambda_{\text{люм}} = 680 \text{ нм}$) наночастиц ZnCdS (внедренные в пленку полиакриловой кислоты).

Синтез осуществлялся выдерживанием смеси солей при заданной температуре. Соотношение серы и кадмия варьировалось от стехиометрического до превышения серы над кадмием.

Комплексный анализ данных микроскопии и EXAFS (extended X-ray absorption fine structure – дальняя (протяженная) тонкая структура рентгеновских спектров поглощения) позволяет сделать вывод о том, что синтезированные нами из пивалата кадмия наночастицы имеют гексагональную структуру и анизотропны при размере по широкой стороне 3-5 нм. В спектрах люминесценции

наблюдается две изолированных полосы: с максимумом на 440 нм при возбуждении в области 376 нм; и с максимумом на 550 нм при возбуждении в области 528 нм.

По данным АСМ (атомно-силовая микроскопия) для наночастиц CdS, при синтезе из пропионата кадмия наблюдаются наночастицы, размером порядка 5-7 нм, при синтезе из хлористого кадмия в изопропиловом спирте - порядка 3 -5 нм. Люминесценция наночастиц, синтезированных из пропионата кадмия и хлористого кадмия, наблюдается в области 630-640 нм при возбуждении в области 410 нм.

Из экспериментальных данных можно сделать вывод, что синтезированные высокотемпературным методом наночастицы имеют гексагональную структуру и анизотропны, с узким распределением по размерам - по широкой стороне размер частиц 3-5 нм, имеют интенсивную люминесценцию, причем следует ожидать ее чувствительности к содержанию кислорода в растворе. Однако последующий перевод наночастиц в водную фазу требует довольно длительного процесса, покрытия наночастиц гидрофильной оболочкой и приводит к снижению эффективности флуоресценции.

Нами также проводился синтез при комнатной температуре наночастиц CdS по различным методикам, с изменением типа реагентов и варьировании их концентрации. В результате исследований нами были выбраны два метода низкотемпературного синтеза:

- синтез на границе сред эмульсии из водного раствора хлористого кадмия и элементарной серы, растворенной в ортоксилоле;
- синтез при коалесценции мицелл водных растворов солей кадмия и натрия в ортоксилоле.

Синтез осуществлялся из водного раствора хлорида кадмия (91 мг/мл). В первом случае вторым реагентом являлась элементарная сера (S), растворенная в ортоксилоле (0.5 М). Синтез проводился при комнатной температуре на границе двух фаз эмульсии, образованной смесью воды и ортоксилота. Эмульсия также стабилизировалась поверхностно-активным веществом (ПАВ) - додецилсульфатом натрия ($2,5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$). По данным АСМ размер частиц 2,5-1,5 нм.

Во втором случае синтез осуществлялся в водных мицеллярных растворах с использованием находящегося сульфида натрия (194 мг/мл). Поверхностно-активным веществом являлся додецилсульфат натрия ($1,25 \cdot 10^{-4} \text{M}$). Для достижения равномерной дисперсии в обоих случаях мицеллярная система подвергалась воздействию ультразвука. Для изучения динамики роста наночастиц, время обработки образца ультразвуком варьировалось. Из анализа АСМ изображений наночастиц CdS следует, что размер частиц 5-7 нм. В спектрах люминесценции наночастиц, выделенных в водную фазу наблюдается одна изолированная полоса: с максимумом на 520 нм при возбуждении в области 470 нм.

Применение мицеллярного метода синтеза позволяет получить сферические наночастицы CdS с заданными размерными характеристиками и спектрально-люминесцентными свойствами, варьируя концентрацией исходных веществ. Однако процесс отмывания раствора наночастиц от побочных продуктов реакции и особенно от ПАВ также затруднен и требует довольно длительного времени.

С целью повышения выхода люминесценции нами разработана методика синтеза смешанных наночастиц ZnCdS, выход люминесценции которых выше по сравнению с частицами CdS или ZnS. Кроме того, изменение соотношения цинка и кадмия изменяет период кристаллической решетки. При определенном соотношении, меняется структура от кубической для ZnS до гексагональной для CdS. В результате это позволяет варьировать положение полосы люминесценции наночастиц.

Синтез нестабилизированных наночастиц из водных растворов хлоридов кадмия и цинка проходил при комнатной температуре. Варьировалась общая концентрация металлов (10^{-1} и 10^{-2} М) при одинаковом соотношении цинк/кадмий (80/20 мол%). Образование наночастиц проводилось добавлением избыточного количества сульфида натрия. Синтез проводили также в растворе реагентов в изопропиловом спирте. Стабилизация наночастиц не проводилась.

Результаты рентгенофазового анализа показали, что наночастицы характеризуются структурой ZnS, с несколько увеличенными параметрами решетки вследствие внедрения примеси CdS (рисунок 4). Размер области когерентного рассеяния рентгеновского излучения кристаллитами образца, рассчитанный по формуле Дебая-Шеррера лежит в интервале от 1.5 до 2.0 нм. По данным АСМ можно сделать вывод, что получены агрегатные наночастицы ZnCdS преимущественно сферической формы с размерами порядка 30-55 нм (рисунок 5). Несовпадение размеров, полученных из РФА и АСМ данных, позволяет предположить, что синтезированные наночастицы агрегируют в сферические образования размером, превышающим размеры наночастиц. Эти данные согласуются с результатами измерений на электронном микроскопе (рисунок 6) и результатами полученными методом динамического лазерного рассеяния.

Край фундаментального поглощения наночастиц ZnCdS находится в области 420 нм. Спектр флуоресценции наночастиц ZnCdS представляет собой сложную полосу с максимумом в области 650 нм (рисунок 7). Флуоресценция в данной спектральной области может быть связана с вакансионными комплексами, в состав которых входят междоузельные атомы кадмия.

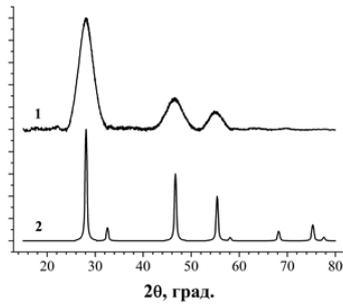


Рисунок 4 - Результаты РФА анализа наночастиц ZnCdS: 1 - экспериментальный образец, 2 - модельный спектр ZnS.

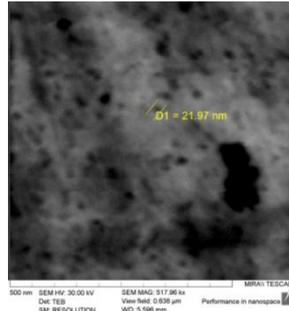


Рисунок 6 - Изображение наночастиц ZnCdS с помощью электронного просвечивающего микроскопа

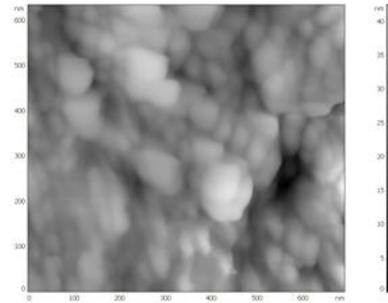


Рисунок 5 - Результаты АСМ-сканирования наночастиц ZnCdS

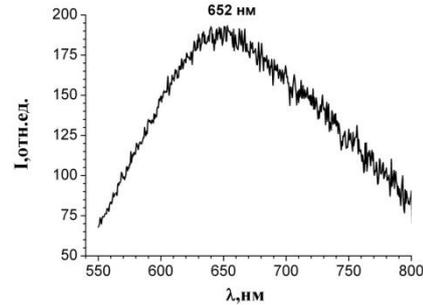


Рисунок 7 - Спектр флуоресценции наночастиц ZnCdS ($\lambda_{\text{воз}} = 410 \text{ nm}$)

Синтез наночастиц осуществлялся по низкотемпературной методике в эмульсиях из хлорида кадмия и сульфида натрия, при превышении количества серы над стехиометрией. После этого, не прекращая воздействие ультразвука на образец, в полученную эмульсию маленькими дозами вводили хлорид цинка для синтеза оболочки. Наночастицы центрифугировались (2000 об./мин) и промывались дистиллированной водой с последующим центрифугированием. Получили стабильные наночастицы системы ядро/оболочка. На изображениях поверхности наночастиц CdS/ ZnS, полученных при помощи АСМ, наблюдаются сферические агрегатные наночастицы, размер которых порядка 38-55 нм.

С целью повышения выхода люминесценции поверхностных дефектов разработаны методики частичной стабилизации синтезированных наночастиц. Мы покрывали поверхность наночастиц, синтезированных по низкотемпературной методике, диэлектриком с шириной запрещенной зоны большей, чем у CdS. В качестве диэлектрической оболочки нами был выбран ZnS. Ширина запрещенной зоны CdS 2,42 эВ, у ZnS. 3,56 эВ, поэтому наночастицы CdS/ZnS обладают повышенным выходом люминесценции, как в высушенном состоянии, так и растворах. Из спектров поглощения следует, что положение края поглощения смещается в коротковолновую область на 10 нм для образца CdS/ZnS и на 18 нм для образца CdS/ZnS, покрытых слоем полиэтиленгликоля (рисунок 8) относительно положения для спектров образца с наночастицами CdS. Появление малоинтенсивного края поглощения в области 400 нм (поглощения ZnS), для образцов с наночастицами CdS/ZnS свидетельствует о том, что наночастицы покрыты тонким слоем ZnS.

Нами показано, что взвешенные в воде наночастицы CdS и CdS/ZnS люминесцируют слабо. Поэтому такие наночастицы наносились на поверхность подложки и высушивались без фиксации. На рисунке 9 показаны спектры люминесценции высушенных наночастиц CdS и CdS/ZnS.

В спектрах CdS/ZnS наблюдается две изолированных полосы: с максимумом на 519 нм при возбуждении в области 375 нм; и с максимумом на 650 нм при возбуждении в области 475 нм. В спектрах люминесценции образца с наночастицами CdS полосы с максимумом на 650 нм не наблюдается. Можно предположить, что появление полосы с максимумом на 650 нм обусловлено покрытием наночастиц CdS оболочкой ZnS.

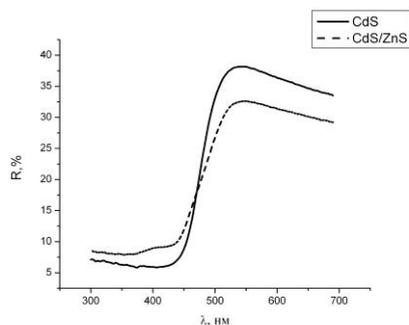


Рисунок 8 - Спектры диффузного пропускания и отражения

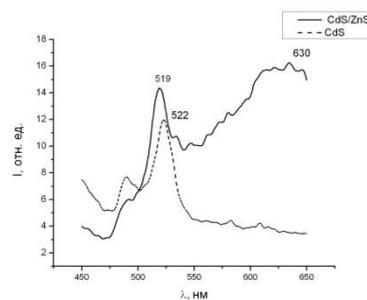


Рисунок 9 - Спектр люминесценции наночастиц CdS и CdS/ZnS

С целью стабилизации люминесцентных свойств поверхность наночастиц ZnCdS покрывали полимерной оболочкой. Для этого нами использовалась акриловая кислота с ингибитором п-метоксифенолом в концентрации 200 ppm. Водный раствор кислоты добавлялся к взвеси синтезированных наночастиц. Полимеризация индуцировалась нефилтрованным излучением ртутной лампы ДРШ-250 в течение 15 минут при непрерывном перемешивании раствора.

Из анализа спектров поглощения полученных образцов следует, что, в результате покрытия синтезированных наночастиц полимером, край фундаментального поглощения ZnCdS смещается в коротковолновую область спектра на 14 нм и находится в области 420 нм. Смещение края может быть объяснено приводящим к уменьшению размеров частиц фотохимическим "травлением", основанным на реакциях окислительной фотодеструкции полупроводниковых наночастиц в водных растворах. Возможно также разъединение полимером агрегатов наночастиц, образовавшихся в процессе синтеза.

В ходе экспериментов показано, что амплитуда полосы флуоресценции наночастиц ZnCdS возрастает на порядок после полимеризации (рисунок 10,11). Таким образом, из полученных данных можно сделать вывод, что стабилизация люминесцентных свойств наночастиц ZnCdS, приводит к увеличению интенсивности люминесценции на порядок.

В **Четвертой главе** рассматривается возможность использования разработанных люминофоров в биологии. В **разделе 4.1** обсуждаются результаты исследований возможности измерения температуры окружения вследствие чувствительности к температуре оптических характеристик нестабилизированных, и стабилизированных оболочкой из полиакриловой кислоты полупроводниковых наночастиц типа ZnCdS.

Оба типа образцов люминесцируют в области 690 нм и являются чувствительными к

температуре, как по интенсивности, так и по спектральному положению максимума люминесценции (рисунок 12).

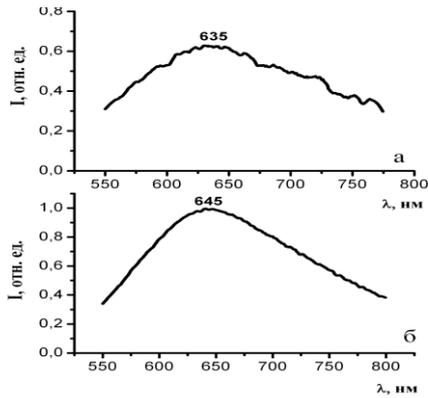


Рисунок 10 - Спектры флуоресценции наночастиц ZnCdS: а) непокрытые полимером, б) покрытые полимером

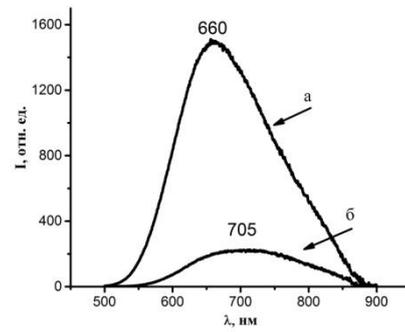


Рисунок 11 - Спектры фосфоресценции наночастиц ZnCdS: а) покрытые полимером, б) непокрытые полимером

Наблюдается уменьшение интенсивности люминесценции и смещение максимума полосы люминесценции в коротковолновую область с ростом температуры, что более выражено в первой производной спектра (рисунок 13). Согласно нашим данным, наибольшая чувствительность достигается для наночастиц, покрытых полимером, и составляет 0,23 нм/градус.

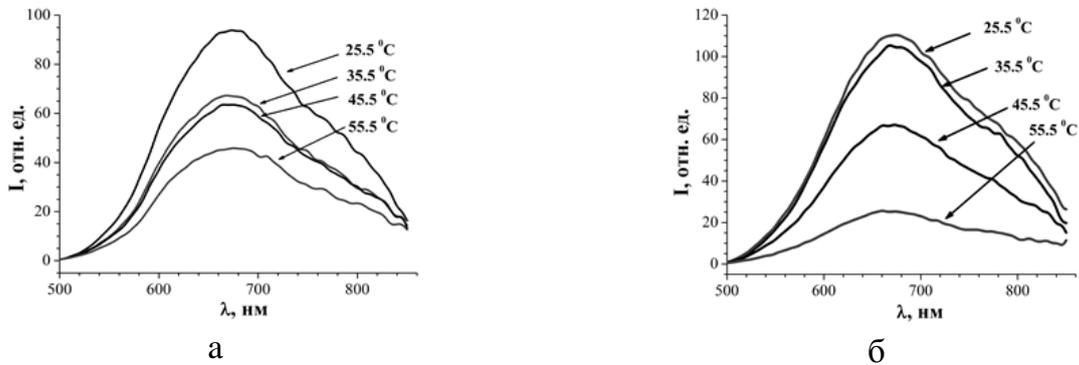


Рисунок 12 - Спектры люминесценции нестабилизированных (а) стабилизированных (б) наночастиц ZnCdS

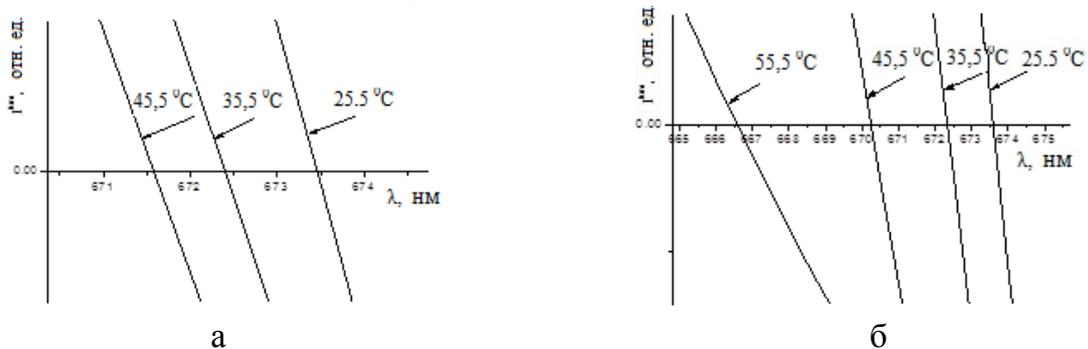


Рисунок 13 - Первые производные спектров люминесценции нестабилизированных (а) и стабилизированных (б) наночастиц ZnCdS

Изменение обусловлено искажением энергетических состояний поверхностных дефектов. Агрегация наночастиц не вносит искажений в полученные зависимости.

В разделе 4.2 описывается методика использования для определения концентрации глюкозы нестабилизированных наночастиц ZnCdS и покрытых полимерной оболочкой, которая, вследствие пористости, не ограничивает доступ перекиси водорода к поверхности наночастиц.

Для определения влияния пероксидазы все эксперименты проводились с растворами: 1) буферно-ферментным раствором (водный раствор смеси глюкооксидазы и пероксидазы) и 2) чистой глюкооксидазой. Оба раствора смешивались в взвесью наночастиц ZnCdS. В процессе эксперимента регистрировалось уменьшение интенсивности люминесценции образца в максимуме спектра при увеличении концентрации глюкозы с шагом $1.5 \cdot 10^{-2}$ мг/мл (83 μ M).

В отсутствие глюкозы в спектрах люминесценции смеси наночастиц с глюкооксидазой наблюдается две изолированных полосы: с максимумом на 690 нм и с максимумом на 530 нм при возбуждении в области 400 нм. Без фермента глюкоза не влияет на интенсивность флуоресценции наночастиц ZnCdS.

При увеличении концентрации глюкозы постепенно подавляется полоса люминесценции с максимумом на 690 нм и усиливается полоса с максимумом на 530 нм. Люминесценция в области 530-560 нм объясняется наличием комплексов кислород-вакансия по катиону, а на 690-700 нм – изолированными катионными вакансиями. Это позволяет сделать вывод о наличии процесса захвата ионов кислорода из перекиси катионными вакансиями. Такие же изменения в спектрах происходят для покрытых полимером наночастиц, что позволяет сделать вывод об одинаковых процессах тушения люминесценции.

Концентрацию глюкозы можно определить по изменению интенсивности люминесценции раствора глюкооксидазы с наночастицами ZnCdS при добавлении глюкозы. С увеличением концентрации глюкозы происходит пропорциональное уменьшение времени затухания и выхода флуоресценции. В переменных Штерна-Фолмера (I_0/I) экспериментальные данные аппроксимируются линейной зависимостью (рисунки 14, 15). Линейность наблюдается в интервале концентраций глюкозы 0,015-0,36 мг/мл.

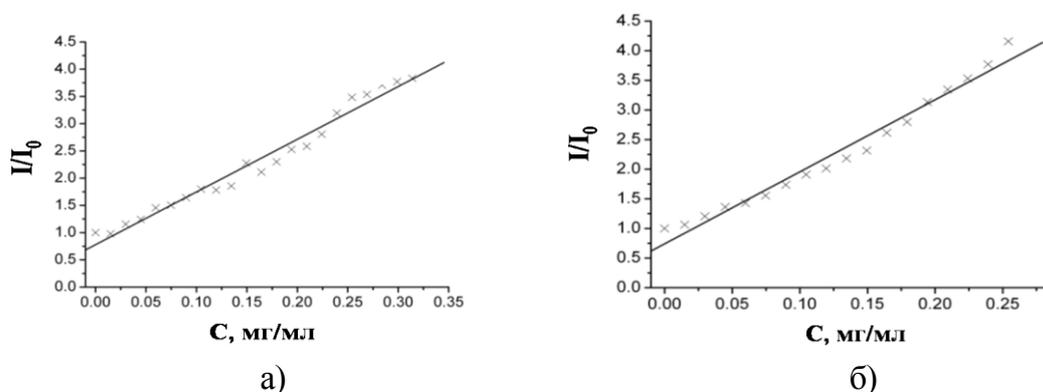


Рисунок 14 - Зависимость тушения люминесценции взвеси непокрытых полимером (а) и покрытых полимером (б) наночастиц ZnCdS со смесью ферментов от концентрации глюкозы

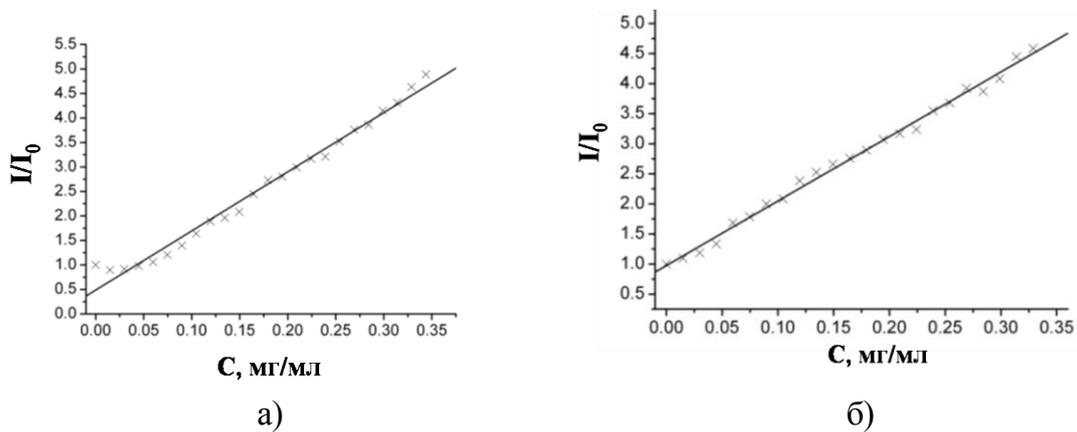


Рисунок 15 - Зависимость тушения люминесценции взвеси наночастиц ZnCdS со смесью ферментов (а) и с глюкооксидазой (б), прогретых до 70°C , от концентрации глюкозы

При использовании чистой глюкооксидазы линейная зависимость наблюдается уже для минимальной использованной в эксперименте концентрации глюкозы ($83 \mu\text{M}$). Наличие пероксидазы приводит к возникновению порога чувствительности в области $160 \mu\text{M}$. По нашему предположению, наличие порога связано с окислением перекиси водорода пероксидазой в объеме образца, что уменьшает взаимодействие перекиси с поверхностью наночастиц. Чувствительность, определяемая по наклону прямой, при использовании только глюкооксидазы выше в 9 раз ($1,05 \text{ мл/мг}$ для смеси ферментов и $9,68 \text{ мл/мг}$ для глюкооксидазы) (рисунок 14). Т.к. нестабилизированные наночастицы легко агрегируют, увеличивая при этом расстояние между агрегатами, нами проведены также исследования чувствительности для наночастиц, прогретых до 70°C . Для прогретых наночастиц чувствительность растет и выравнивается для обоих типов наночастиц ($12,1$ и $10,7 \text{ мл/мг}$, соответственно) (рисунок 15). Однако пороговый характер чувствительности при использовании смеси ферментов сохраняется.

При использовании наночастиц, покрытых полимером, и глюкооксидазы чувствительность растет, становится сравнимой со значениями, полученными для прогретых наночастиц, что объясняется их стабилизацией, малыми размерами и развитой поверхностью. Соотношение чувствительностей остаются практически теми же, что и для непрогретых частиц ($1,43 \text{ мл/мг}$ для смеси ферментов и $12,2 \text{ мл/мг}$ для глюкооксидазы). Следует отметить также, что интенсивность люминесценции для стабилизированных наночастиц существенно выше, что повышает стабильность измерений.

В разделе 4.3 приводятся результаты исследования диффузии наночастиц ZnCdS в свиную кожу *in vitro*. Проведены исследования диффузии наночастиц в свиную кожу *in vitro*. При этом использовалось двухфотонное возбуждение люминесценции фемтосекундным титан-сапфировым лазером с длиной волны 740 нм , т.е. излучающим в области прозрачности биологических тканей. В результате обеспечивалось глубокое проникновение зондирующего излучения в объект, и полное отсутствие собственной люминесценции биологического объекта.

Для уменьшения фоновой засветки использовали режим двухфотонного возбуждения инфракрасным излучением фемтосекундного лазера при регистрации люминесценции в красной области спектра. Нами использовались стабилизированные

наночастицы CdSe и нестабилизированные ZnCdS. Эксперимент проводился на образце свиной кожи *in vitro*, срезанного с ушной области. Показано, что использование наночастиц разного размера позволяет определять пути диффузии наночастиц (рисунок 16).

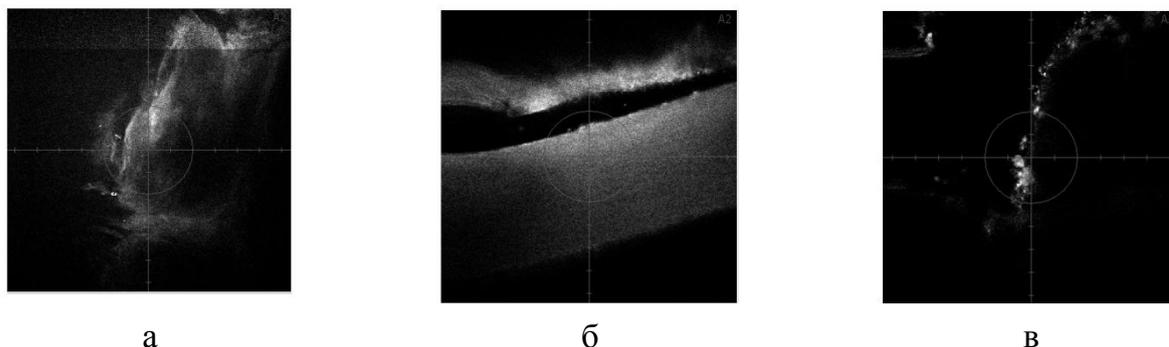


Рисунок 16 - Люминесцентные изображения внутренних областей свиной кожи с внедренными наночастицами: а – CdSe, б, в – ZnCdS

При использовании однородных наночастиц CdSe регистрируется однородное поле, интенсивность которого пропорциональна концентрации частиц (рисунок 18а). При внедрении наночастиц ZnCdS яркость и контраст изображения выше. При этом частицы малых размеров также создают поле распределения (рисунок 16 а) а крупные частицы регистрируются в наиболее узких местах внедрения (рисунок 16 б,в) Часть наночастиц задерживается верхней частью рогового слоя, а некоторые могут уходить вглубь через поры или накапливаться в складках.

В разделе 4.4 обсуждаются результаты исследований зависимости спектра люминесценции наночастиц смешанного типа ZnCdS от окружения. Проведены исследования зависимости положения максимума полосы люминесценции наночастиц смешанного типа ZnCdS, помещенных в различные биологические среды (мышечная ткань курицы, интерстициальная жидкость мышечной ткани курицы, плазма крови крысы, стабилизированная цитратом натрия, яичный альбумин, кератин шерсти, раствор глюкозы). Показано, что интенсивность и положение спектрального максимума люминесценции наночастиц ZnCdS является чувствительным к окружению (таблица 1).

Экспериментально исследовалась зависимость спектров люминесценции от типа молекул и ионов, окружающих наночастицы (коллаген, кератин, альбумин, глюкоза, KCl, HCl, PO_4^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} . Максимальное тушение люминесценции наночастиц обусловлено чувствительностью частиц к наличию ионов Ca^{2+} . Чувствительность положения спектрального максимума люминесценции наночастиц к другим ионам, содержащимся в мышечной ткани не наблюдалась (таблица 1).

Максимальное смещение полосы люминесценции наночастиц наблюдается во интерстициальной жидкости, а наименьшая - в отмытой от жидкости мышечной ткани. Наличие сдвига для мышечной ткани можно объяснить остаточной концентрацией ионов кальция, поступающих из внутриклеточной жидкости. В результате спектр люминесценции состоит из двух полос — смещенной и несмещенной, и положение максимума зависит от соотношения амплитуд полос.

В процессе нагрева биологических образцов спектр люминесценции внедренных в биоткань наночастиц смещается в ИК-область. Зависимость положения максимума люминесценции наночастиц от температуры нагрева является линейной до температуры денатурации биоткани.

Скорость изменения положения максимума 0.459 ± 0.035 нм/градус. После денатурации биоткани, положение максимума люминесценции наночастиц перестает зависеть от температуры.

Для контроля нагрева и начала коагуляции биологической среды можно ввести параметр F равный отношению интенсивности люминесценции на длине волны 620 нм, соответствующий максимуму люминесценции наночастиц ZnCdS, к значению интенсивности люминесценции на длине волны 520 нм, соответствующий максимуму люминесценции биоткани курицы. Как видно из рисунка 17, параметр F в случае, когда наночастицы ZnCdS, помещены в мышечную ткань курицы линейно уменьшается при повышении температуры до 55°C .

Среда	Положения максимума люминесценции (нм)
Вода	625
интерстициальная жидкость мышечной ткани курицы	658
мышечная ткань курицы	654
мышечная ткань курицы (отмытая)	649
плазма крови крысы	658
раствор CaCl ₂	649

Таблица 1- Зависимость положения максимума полосы люминесценции наночастиц ZnCdS от типа окружающей среды.

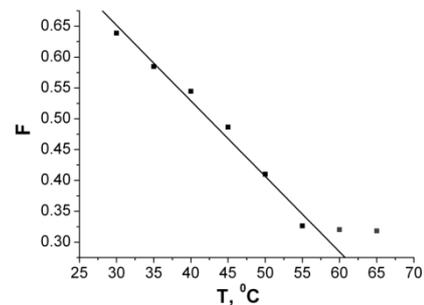
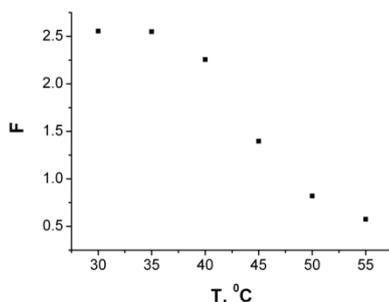


Рисунок 19 - Зависимость отношений интенсивностей максимумов полос люминесценции наночастиц ZnCdS на двух длинах волн (620 и 520 нм) от температуры: а) взвесь наночастиц ZnCdS, б) наночастицы ZnCdS, помещенные в мышечную ткань курицы

После дальнейшего увеличения температуры параметр F остается неизменным. Следовательно, при помощи наночастиц ZnCdS можно отслеживать наступление коагуляции мышечной ткани, которая наступает при температуре 53°C . По полученным экспериментальным данным можно сделать выводы, что наночастицы ZnCdS пригодны для измерения температуры нанообъектов при фототермолизе, поскольку они чувствительны к температуре и денатурации биоткани, в которой находятся.

Выводы

а) Разработаны новые методики низкотемпературного и высокотемпературного синтеза наночастиц CdS и ZnCdS с нестабилизированной поверхностью с высокой интенсивностью люминесценции поверхностных дефектов. Показано, что для создания

наночастиц с нестабилизированной поверхностью с высокой интенсивностью люминесценции поверхностных дефектов необходим синтез при высокой концентрации реагентов для создания условий неравновесного роста.

б) Разработана методика стабилизации синтезированных наночастиц ZnCdS и методики внедрения люминофора в полимерный и пористые носители. Показано, что полупроводниковые наночастицы могут быть стабилизированы пористой полимерной оболочкой без уменьшения эффективности люминесценции поверхностных дефектов. Оболочка при этом синтезируется в процессе роста наночастиц при облучении светом, стимулирующим образование носителей заряда при переходе.

в) Разработан алгоритм и программа, позволяющие корректировать экспериментально полученные спектры возбуждения люминесценции нанокомпозитных образцов с целью определения неискаженных спектров возбуждения наночастиц в локальных областях образца. Показана возможность применения, разработанной нами методики коррекции спектров возбуждения для выявления особенностей спектров, таких как экситонные полосы возбуждения, маскированных рассеянием возбуждающего света и люминесценции в образце.

г) Показано, что интенсивность люминесценции поверхностных дефектов наночастиц CdS и ZnCdS уменьшается с ростом температуры. Положение максимума полосы люминесценции при этом смещается в коротковолновую область. Показана возможность применения данных наночастиц для разработки температурных наносенсоров.

д) Проведено исследование зависимости степени тушения люминесценции наночастиц ZnCdS от концентрации глюкозы. Люминесценция поверхностных дефектов наночастиц может использоваться в сенсорах концентрации глюкозы. При этом происходит статическое тушение люминесценции вследствие замещения поверхностных вакансий кислородом. Зависимость степени тушения от концентрации глюкозы описывается законом Штерна-Фолмера.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Волкова Е.К., Кочубей В.И. Фотолюминесценция наночастиц CdS // Проблемы оптической физики и биофотоники: Материалы 12-й Международной молодежной научной школы по оптике, лазерной физике и биофотонике. Саратов, Изд-во "Новый ветер." – 2009. - С. 156-158
2. Кочубей В.И., Кочубей Д.И., Конюхова Ю.Г., Забенков И.В., Татаринов С.И., Волкова Е.К. Оптические характеристики наночастиц сульфида кадмия, синтезированных в полиэтиленовой матрице и в растворе орто-ксилола // Оптика и спектроскопия. – 2010. - Т. 109, № 2. - С. 182-189
3. Медведев Б. А., Янина И. Ю., Савонин С.А., Волкова Е.К. Нанотерапия. Начальный этап // Проблемы оптической физики и биофотоники: Материалы 12-й Международной молодежной научной школы по оптике, лазерной физике и биофотонике. Саратов, Изд-во "Новый ветер." – 2009. - С. 199-205

4. Волкова Е.К., Кочубей В.И. Люминесценция наночастиц сульфида кадмия // VII Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике: сборник конкурсных докладов (Самара, 18-21 ноября 2009 года) - Самара: Изд-во "Самарский университет". – 2010. - С. 23-29
5. Волкова Е.К., Кочубей В.И. Люминесценция наночастиц сульфида кадмия // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. - Т. 12, № 4. - С. 113-116
6. Волкова Е.К., Кочубей В.И. Люминесценция и фосфоресценция наночастиц CdS // Сборник конкурсных докладов «IX Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике», Самара – 2011. - С. 1-7
7. Волкова Е.К., Кочубей В.И. Люминесценция и фосфоресценция наночастиц сульфида кадмия // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. - Т. 14, № 4. - С. 197-200
8. Кочубей В.И., Конюхова Ю.Г., Забенков И.В., Волкова Е.К. Учет рассеяния и перепоглощения при анализе спектров люминесценции наночастиц // Квант. Электроника. – 2011. - Т. 41, № 4-5. - С. 335–339
9. Кочубей В. И., Конюхова Ю. Г., Забенков И. В., Волкова Е.К. Учет рассеяния и перепоглощения люминесценции наночастиц в сильнодисперсных средах // Сборник тезисов докладов Всероссийской конференции «Фотоника органических и гибридных структур», Черногловка. - 2011. - С. 82
10. Волкова Е.К., Кочубей В. И, Синтез и люминесцентные характеристики наночастиц CdS // Международный симпозиум «Нанопотоника-2011», Украина, Крым, Сборник тезисов докладов и программ. – 2011. - С. 1-2
11. Kochubey V.I., Konyukhova Ju.G, Volkova E.K. Effect of polyacrylic acid shell on luminescence and phosphorescence of ZnCdS nanoparticles // Book of Abstracts of the 3-rd International Symposium «Molecular photonics» dedicated to academician A.N. Terenin, Repino, St. Petersburg, Russia: VVM publishing Ltd. – 2012. - С. 137
12. Kochubey V. I., Volkova E.K., Konyukhova J. G., Zabenkov I. V. Correction of excitation spectra of the nanoparticles // Proc. SPIE. – 2012. - Vol. 8699. – P. 86990S-1
13. Kochubey V I., Konyukhova J. G., Volkova E.K., Skaptsov A. A., Galushka V. V., German S. V. Glucose and temperature sensitive luminescence ZnCdS nanoparticles // Proc. SPIE. – 2012. - Vol. 8553. – P. 85533B
14. Pylaev T.E., Volkova E.K., Kochubey V.I., Bogatyrev V.A., Khlebtsov N.G. DNA detection assay based on fluorescence quenching of rhodamine B by gold nanoparticles: The optical mechanisms // Quant Spectrosc Radiat Transfer. – 2013. - <http://dx.doi.org/10.1016/j.jqrst.2013.04.026i>
15. Volkova E.K.; Kochubey V., Konyukhova Ju., Skaptsov A., Galushka V., German S. Temperature dependence of the fluorescence spectrum of ZnCdS nanoparticles // Proc. SPIE. – 2013. - Vol. 8571. – P. 85712P

Подписано к печати 11.07.2013 года. Формат 60x48 1/16.
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 1,25 Тираж 100 экз. Заказ № 148-Т

Отпечатано в типографии СГУ
Саратов, Большая Казачья 112-а
Тел. (8452) 27-33-85