

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
Химический факультет

На правах рукописи

АРХИПОВА ВИКТОРИЯ ВЛАДИСЛАВОВНА

**НОВЫЕ ВАРИАНТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ
ЗОЛОТА В СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ И СПЕКТРОСКОПИИ
ДИФфуЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ**

02.00.02. – Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
к.х.н., с.н.с. Апяри В.В.

Москва – 2015

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1. Методы получения наночастиц золота и их оптические свойства	13
2. Применение наночастиц золота в спектрофотометрии и тест-методах анализа	26
2.1. Применение наночастиц золота для спектрофотометрического и тест-определения ионов металлов	26
2.2. Применение наночастиц золота для спектрофотометрического и тест-определения анионов	29
2.3. Применение наночастиц золота для спектрофотометрического и тест-определения органических соединений	36
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	47
3. Реагенты, аппаратура и техника эксперимента	47
3.1. Исходные вещества, реагенты и объекты исследования	47
3.2. Аппаратура и техника эксперимента	49
4. Синтез и характеристики наночастиц золота	51
4.1. Методики синтеза	51
4.2. Характеристики наночастиц золота	58
5. Особенности агрегации наночастиц золота различных типов в растворе	64
5.1. Наночастицы золота, стабилизированные цитратом натрия	66
5.1.1. Взаимодействие с тиосоединениями	66
5.1.2. Взаимодействие с соединениями катионной природы	78

5.1.3. Пути повышения достоверности идентификации и селективности определения соединений с использованием наночастиц в растворе	83
5.2. Наночастицы золота, стабилизированные 6,6-ионеном	89
6. Особенности агрегации наночастиц золота различных типов в фазе пенополиуретана	96
6.1. Сорбция как способ получения пенополиуретана, модифицированного наночастицами золота	96
6.2. Характеристики пенополиуретана, модифицированного наночастицами золота	104
6.3. Особенности агрегации наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия и 6,6-ионеном, в фазе пенополиуретана	109
7. Аналитическое применение наночастиц золота и пенополиуретана, модифицированного наночастицами золота, для определения соединений методами спектрофотометрии и спектроскопии диффузного отражения	115
7.1. Определение тиосоединений	115
7.2. Определение соединений катионной природы	118
7.3. Определение анионов	120
7.4. Перспективы для полуколичественного визуально-колориметрического определения	127
ВЫВОДЫ	132
ЛИТЕРАТУРА	134

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ

c_{\min} – предел обнаружения

R – степень извлечения

АЦ – ацетилцистеин

ВК – визуальная колориметрия

Г – глутатион

ДОС – диапазон определяемых содержаний

ККМ – критическая концентрация мицеллообразования

КПАВ – катионные поверхностно-активные вещества

МПК – меркаптопропионовая кислота

МЭ – меркаптоэтанол

НЧ – наночастицы

НЧ/И – наночастицы, стабилизированные 6,6-ионеном

НЧ/Ц – наночастицы, стабилизированные цитратом натрия

ПАВ – поверхностно-активное вещество

ПГМГ – полигексаметиленгуанидина гидрохлорид

ППР – поверхностный плазмонный резонанс

ППУ – пенополиуретан

СДО – спектроскопия диффузного отражения

СФ – спектрофотометрия

ЦА – цистеамин

ЦН – цистеин

ЦТМА – бромид цетилтриметиламмония

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Одним из приоритетных направлений развития современной аналитической химии является разработка недорогих и доступных аналитических процедур, позволяющих проводить быстрый скрининг большого числа образцов с применением простых методов химического анализа или визуального детектирования аналитического сигнала. С этой точки зрения внимание многих исследователей привлекают наночастицы золота (НЧ). Их уникальные оптические свойства обусловлены явлением поверхностного плазмонного резонанса (ППР), которое проявляется в возникновении интенсивной полосы поглощения в видимой области спектра. Высокие молярные коэффициенты поглощения наночастиц золота, а также изменение положения полосы ППР и ее интенсивности в присутствии веществ, вызывающих агрегацию наночастиц, позволяют рассматривать НЧ как своеобразные хромофорные реагенты в спектрофотометрии и тест-методах анализа.

Отличие наночастиц золота от традиционных спектрофотометрических реагентов, для которых возникновение или изменение окраски является следствием изменения электронного состояния реагента или определяемого соединения, состоит в зависимости оптических характеристик наночастиц лишь от степени их агрегации. Наиболее целесообразным кажется использование таких реагентов при определении соединений, не имеющих в своем составе хромофорных групп. К таким соединениям можно отнести некоторые насыщенные тиосоединения, полиэлектролиты, а также неорганические ионы.

В настоящее время большие усилия направлены на создание не только новых НЧ, но и нанокompозитных материалов на их основе. Возможность модифицирования наночастиц различными по своей природе и химическим свойствам модификаторами и отсутствие каких-либо требований к их

хромофорным свойствам позволяет синтезировать новые реагенты для определения широкого круга соединений, а варьирование природы матрицы нанокompозитного материала – выгодно регулировать чувствительность, селективность и другие важные аналитические характеристики разрабатываемых методик.

Несмотря на активное использование НЧ и нанокompозитных материалов на их основе в спектрофотометрии, систематические исследования в этой сфере носят единичный характер. Не вполне детально проработаны вопросы, касающиеся регулирования метрологических характеристик определения с применением НЧ за счет варьирования условий проведения аналитической процедуры, выбора типа стабилизатора НЧ, формы их существования (в растворе или в матрице нанокompозитного материала). Некоторые полимерные сорбенты, такие как пенополиуретан (ППУ), не изучены в качестве матрицы для нанокompозитных материалов. Между тем, химическая устойчивость, механическая прочность, легкость отделения от раствора, невысокая стоимость и доступность этого материала могли бы сыграть важную роль при разработке новых оптических сенсоров и твердых тест-форм на основе НЧ. Работы в указанных направлениях позволили бы выявить основные рычаги регулирования чувствительности и селективности методик определения с применением НЧ, снизить стоимость анализа и расширить сферы использования НЧ золота в аналитической химии.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 13-03-00100-а, 14-03-31109-мол_а).

Цель диссертационной работы состояла в разработке новых вариантов использования наночастиц золота в спектрофотометрии и спектроскопии диффузного отражения для определения некоторых биологически активных веществ и неорганических анионов.

В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**:

1. Осуществить синтез и охарактеризовать наночастицы золота различных типов, систематически сравнить их свойства, выявить особенности НЧ как хромогенных реагентов в спектрофотометрии и тест-методах анализа и оценить перспективы их применения в аналитической химии для разработки новых вариантов определения соединений.
2. Изучить особенности агрегации наночастиц золота в водном растворе в присутствии соединений различных классов в зависимости от природы соединения и типа наночастиц. Выявить влияние состава раствора, pH и ряда других факторов на агрегацию НЧ.
3. Исследовать возможность синтеза нанокомпозитных материалов на основе НЧ золота и пенополиуретана. Изучить влияние различных факторов на синтез. Охарактеризовать полученные материалы.
4. Выявить особенности агрегации наночастиц золота в матрице пенополиуретана в присутствии соединений различных классов. Исследовать влияние на агрегацию НЧ в фазе ППУ различных факторов.
5. Применить установленные особенности агрегации наночастиц для разработки способов определения биологически активных органических соединений и анионов методами спектрофотометрии и спектроскопии диффузного отражения.

Научная новизна. Предложен способ синтеза наночастиц золота, стабилизированных поликатионом 6,6-ионен. Получены их характеристики и показаны перспективы использования НЧ, стабилизированных 6,6-ионеном, для спектрофотометрического и тест-определения анионов.

Выявлены особенности агрегации НЧ, стабилизированных цитратом, и НЧ, стабилизированных 6,6-ионеном, в присутствии тиосоединений, поликатионов, антибиотиков, а также неорганических анионов. Изучено влияние различных факторов, таких как состав раствора, концентрация соединений и НЧ, pH, время взаимодействия, на агрегацию НЧ.

Показано, что НЧ, стабилизированные цитратом, и НЧ, стабилизированные 6,6-ионеном, сорбируются на пенополиуретане, что можно использовать для получения новых нанокompозитных материалов на основе НЧ золота. Оптимизированы условия получения этих материалов и охарактеризованы резонансные оптические свойства НЧ в матрице пенополиуретана.

Выявлены особенности взаимодействия новых нанокompозитных материалов на основе НЧ золота разного типа и пенополиуретана с соединениями различной природы. Установлено, что НЧ в фазе нанокompозитного материала агрегируют в присутствии тиосоединений. Получены новые данные о влиянии различных факторов, таких как состав раствора, концентрация соединений, рН и время взаимодействия, на агрегацию НЧ в фазе сорбента.

Продемонстрирована возможность использования выявленных особенностей агрегации наночастиц в практике химического анализа для определения органических соединений и анионов, оценены и сравнены метрологические характеристики методик определения.

Практическая значимость работы. Разработаны новые хромогенные реагенты (НЧ, стабилизированные 6,6-ионеном, и ППУ, модифицированный НЧ различного типа) для спектрофотометрического, твердофазно-спектроскопического и тест-определения тиосоединений, неомицина, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (ПГМГ), сульфат- и пирофосфат-ионов.

Разработаны и апробированы способы определения исследуемых соединений в различных объектах, в том числе лекарственных препаратах, объектах пищевой промышленности и биологических жидкостях, с применением спектрофотометрии и спектроскопии диффузного отражения.

Выбраны основные факторы, позволяющие регулировать чувствительность и селективность определения с использованием хромогенных реагентов на основе НЧ, и предложены пути улучшения метрологических характеристик методик определения.

На защиту выносятся:

- Результаты исследования процессов агрегации НЧ золота разного типа в растворе в присутствии различных соединений, выявленные особенности агрегации и данные о влиянии на агрегацию различных факторов.
- Данные об особенностях сорбции наночастиц золота на ППУ из водных растворов. Результаты изучения характеристик полученного материала.
- Результаты исследования процессов агрегации наночастиц золота в фазе ППУ, выявленные особенности агрегации в присутствии различных соединений и данные о влиянии на агрегацию различных факторов.
- Разработанные способы определения органических соединений (цистеин, цистеамин, ацетилцистеин, ПГМГ, неомицин) и анионов (сульфата и пирофосфата) и их аналитическое применение для определения указанных веществ в водах, объектах фармацевтической и пищевой промышленности, биологических образцах.

Апробация работы. Основные результаты диссертации доложены на Второй Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2012» (Минск, 2012), 3-ей Научной конференции с международным участием «Химия-2013. Физическая химия. Аналитическая химия. Нанохимия. Теория, эксперимент, практика, преподавание» (Москва, 2013), Международном молодежном научном форуме «Ломоносов-2013» (Москва, 2013), 3-ей Республиканской конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2013» (Минск, 2013), Втором съезде аналитиков России (Москва, 2013), V Всероссийской конференции по наноматериалам «Нано 2013» (Звенигород, 2013), IX Всероссийской конференции по анализу

объектов окружающей среды «Экоаналитика-2014» (Светлогорск, 2014), 20-ом Международном симпозиуме по электро- и жидкостным методикам разделения «ИТР 2013» (Пуэрто де ла Круз, 2013), 38-ом Международном симпозиуме по аналитической химии окружающей среды «ISEAC 38» (Лозанна, 2014) и XII Международной конференции по наноструктурированным материалам «NANO 2014» (Москва, 2014),

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 17 работ: 7 статей и 10 тезисов докладов.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. Апяри В.В., Архипова В.В., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Применение наночастиц золота в спектрофотометрии. // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 1. С. 4 – 15. (J. Anal. Chem. 2014. V. 69. N. 1. P. 1 – 11.)
2. Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Arkhipova V.V., Atnagulov A.G., Zolotov Yu.A. Determination of cysteamine using label-free gold nanoparticles. // Anal. Methods. 2012. V. 4. N 10. P. 3193 - 3199.
3. Vladimir V. Apyari, Stanislava G. Dmitrienko, Viktoriya V. Arkhipova, Aydar G. Atnagulov, Mariya V. Gorbunova, Yury A. Zolotov. Label-free gold nanoparticles for the determination of neomycin. // Spectrochim. Acta. A. 2013. V. 115. P. 416 – 420.
4. Arkhipova V.V., Apyari V.V., Dmitrienko S.G. A colorimetric probe based on desensitized ionene-stabilized gold nanoparticles for single-step test for sulfate ions. // Spectrochim. Acta A. 2015. V. 139. P. 335 – 341.
5. Apyari V.V., Ioutsi A.N., Arkhipova V.V., Dmitrienko S.G., Shapovalova E.N. 6,6-Ionene-stabilized gold nanoparticles: synthesis, characterization and prospects of use. // Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol. 2015. V. 6. N 2. 025002. P. 1 – 8.
6. Архипова В.В., Апяри В.В., Дмитриенко С.Г. Определение полигексаметиленгуанидина гидрохлорида с использованием наночастиц золота и пенополиуретана. // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. 2015. Т. 56. № 1 С. 34 – 40. (Moscow Univ. Chem. Bull. 2015. V. 70. N 1. P. 28 – 33.)

7. Марагаева М.Н., Волков П.А., Архипова В.В., Апяри В.В. Синтез пенополиуретана, модифицированного наночастицами золота, и его использование для определения аскорбиновой кислоты. // Материалы Всероссийской научной школы по аналитической химии, Краснодар, 2 – 8 октября 2011, С. 187 – 193.
8. Апяри В.В., Архипова В.В., Атнагулов А.Г., Горбунова М.В., Мухаринова А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Наночастицы золота в спектрофотометрии: синтез, свойства и определение органических соединений. / Тезисы докладов на Второй Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2012», Минск, Беларусь, 14 – 15 мая 2012, С. 59.
9. Архипова В.В., Апяри В.В., Дмитриенко С.Г. Сорбция наночастиц золота пенополиуретаном: изучение, спектральные характеристики наночастиц в матрице пенополиуретана, перспективы аналитического использования. / Тезисы докладов на 3-ей Научной конференции с международным участием «Химия-2013. Физическая химия. Аналитическая химия. Нанохимия. Теория, эксперимент, практика, преподавание», Москва, 14 – 16 марта 2013 г, С. 8 – 10.
10. Архипова В.В., Мухаринова А.И., Апяри В.В. Спектрофотометрическое определение цистеина с применением наночастиц золота. / Тезисы докладов на Международном молодежном научном форуме «Ломоносов-2013», Секция «Химия», Москва, 8 – 13 апреля 2013 г, Электронный ресурс – М.: МАКС Пресс, 2013. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM), ISBN 978-5-317-04429-9.
11. Апяри В.В., Архипова В.В., Кочук Е.В., Удалова А.Ю., Дмитриенко С.Г. Использование мини-спектрофотометра – калибратора мониторов Euе-Оne Pro для регистрации поверхностного плазмонного резонанса наночастиц серебра и золота в твердых матрицах. / Тезисы докладов на 3-ей Республиканской конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2013», Минск, Беларусь, 17 – 18 мая 2013 г, С. 31.
12. Апяри В.В., Архипова В.В., Горбунова М.В., Дмитриенко С.Г., Золотов

- Ю.А. Агрегативные процессы с участием наночастиц золота в растворе и в матрице пенополиуретана: возможности и перспективы аналитического использования. / Тезисы докладов на Втором съезде аналитиков России, Москва, 23 – 27 сентября 2013 г, С. 65.
13. Архипова В.В., Апяри В.В., Удалова А.Ю., Кочук Е.В., Толмачева В.В., Дмитриенко С.Г. Применение композитного материала на основе пенополиуретана и наночастиц золота для определения тиосоединений методом спектроскопии диффузного отражения. / Тезисы докладов на V Всероссийской конференции по наноматериалам «Нано 2013», Звенигород, 23 – 27 сентября 2013 г, С. 341 – 342.
 14. Апяри В.В., Архипова В.В., Терентьева Е.А., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Использование наночастиц золота и серебра, стабилизированных 6,6-ионеном, для спектрофотометрического определения сульфат ионов. / Тезисы докладов на IX Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2014», Светлогорск, 22 – 28 июня 2014, С. 7.
 15. Arkhipova V.V., Apyari V.V., Dmitrienko S.G. Ionene-stabilized gold nanoparticles: preparation, characterization and prospects of the analytical application. / Theses of XII International conference on nanostructured materials “NANO 2014”, Moscow, Russia, 13 – 18 July 2014, P. 187.
 16. Apyari V., Arkhipova V., Dmitrienko S., Zolotov Y. Polyurethane foam modified with gold nanoparticles as an analytical reagent in the diffuse reflectance spectroscopy. / Theses of 20th International symposium on electro- and liquid phase-separation techniques “ITP 2013”, Puerto de la Cruz, Tenerife, Canary islands, Spain, 6 – 9 October 2013, P. 250.
 17. Arkhipova V.V., Gorbunova M.V., Dmitrienko S.G., Apyari V.V. Synthesis of polyurethane foam modified with ionene-stabilized gold nanoparticles and prospects of its application for the determination of thiocompounds. / Theses of 38th International symposium on environmental analytical chemistry “ISEAC 38”, Lausanne, Switzerland, 17 – 20 June 2014, P. 115.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА И ИХ ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Число публикаций по синтезу, исследованию свойств и применению наночастиц золота (НЧ) увеличивается с каждым годом, что свидетельствует о значительном интересе к этим нанообъектам со стороны исследователей, работающих в различных областях науки. Обширную информацию о способах получения и использовании НЧ золота в биохимии и биомедицине можно найти в монографии [1] и обзорах [2 – 10]. Систематизированы данные о применении НЧ золота в электрохимическом и биоэлектрохимическом анализе [11, 12], в хроматографических и электрофоретических методах анализа [13, 14], для создания химических и иммуносенсоров [15 – 19]. Исследованию свойств НЧ металлов, в том числе золота, аналитическими методами посвящен обзор [20].

Несмотря на то, что первая статья, посвященная методам синтеза и свойствам коллоидного золота, была опубликована Майклом Фарадеем еще в 1857 г., это направление не утратило актуальности и в настоящее время. Основные усилия современных исследователей направлены на получение наночастиц золота с различными размерами, формой и узким распределением по размерам, на поиск новых веществ, способствующих их стабилизации, на выявление связи размера, формы и свойств наночастиц с природой выбранного восстановителя, стабилизатора и условиями получения. Информация о методах синтеза НЧ золота систематизирована в нескольких обзорах [1, 2, 5, 8, 16, 21, 22].

Для спектрофотометрического и визуально-колориметрического определения ионов металлов, анионов и органических соединений, как

правило, используют наночастицы золота сферической формы со средним диаметром 10 – 50 нм, которые получают химическим восстановлением

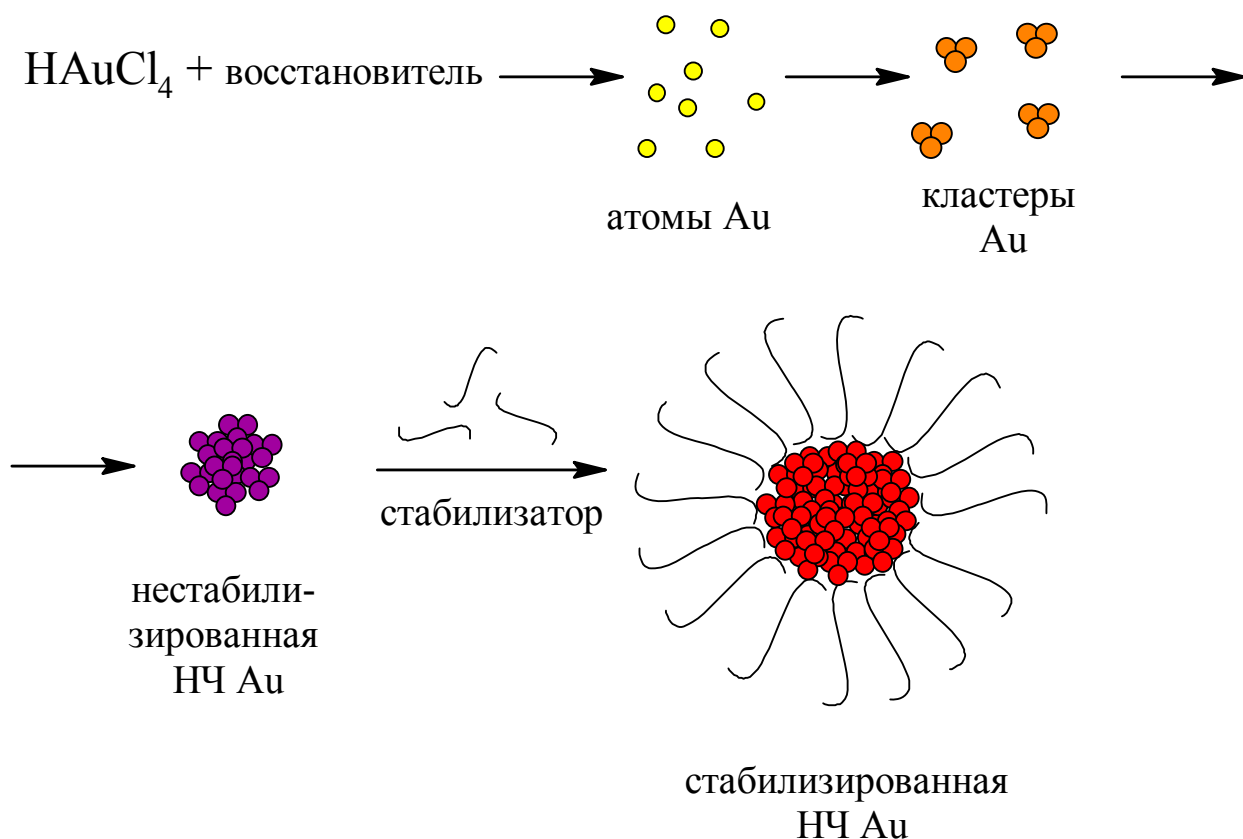


Рис. 1. Схема синтеза наночастиц золота.

золотохлористоводородной кислоты. В качестве восстановителя чаще всего используют цитрат натрия, боргидрид натрия; другие восстановители применяют реже.

Процесс образования наночастиц протекает через ряд последовательных стадий: возникновение отдельных атомов; зародышеобразование и формирование начального атомного кластера; рост кластера до определенного размера; стабилизация наночастиц (рис. 1). Размеры и дисперсность формируемых наночастиц, а также их устойчивость во времени регулируют варьированием природы стабилизатора и его количества.

В качестве стабилизаторов при синтезе монодисперсных НЧ золота используют избыток восстановителя, а также специально вводимые вещества: ионогенные ПАВ, например, додецилсульфат натрия или хлорид лаурилтриметиламмония, ионные жидкости, либо синтетические или природные полимеры – поливинилпирролидон, полиэтиленгликоль, циклодекстрины, хитозан и другие [2].

Наиболее популярным способом получения наночастиц золота является метод Туркевича, основанный на восстановлении золотохлористоводородной кислоты цитратом натрия, а также различные его модификации. Размер наночастиц от 10 до 150 нм можно контролировать, меняя соотношение между цитратом натрия (который в этом случае выполняет функцию не только восстановителя, но и стабилизатора) и золотохлористоводородной кислотой. Для получения наночастиц водный раствор HAuCl_4 нагревают до кипения, после чего добавляют цитрат натрия. Образование наночастиц начинается со стадии быстрой нуклеации, после чего происходит их диффузионный рост [5]. Средний диаметр частиц, получаемых цитратным методом, уменьшается при увеличении концентрации цитрата в реакционной смеси [23, 24].

Интересную возможность контроля размера наночастиц золота и получения более узкого распределения их по размерам предоставляет техника выращивания затравок («seed-mediated growth»). Ее суть состоит в предварительном получении маленьких наночастиц золота, которые в дальнейшем используют в качестве затравок для получения более крупных при введении их в смесь HAuCl_4 и восстановителя. Проведено систематическое исследование роста наночастиц на затравках [25]. Установлено, что зависимость скорости роста и размера синтезируемых наночастиц от концентрации HAuCl_4 носит немонотонный характер. При

низких концентрациях HAuCl_4 рост наночастиц на затравках ускоряется, а их средний размер увеличивается с ростом содержания HAuCl_4 в растворе. При высоких концентрациях HAuCl_4 наблюдается быстрое образование зародышей, что приводит к уменьшению среднего диаметра наночастиц и увеличению полидисперсности. Таким образом, закономерности роста наночастиц золота не противоречат классической теории образования осадков.

В основе уникальных оптических свойств наночастиц золота лежит явление поверхностного плазмонного резонанса (ППР) (иногда, применительно к наночастицам, говорят о локальном или локализованном поверхностном плазмонном резонансе) [1, 2, 8, 21, 22]. Оно возникает как следствие коллективного поведения делокализованных электронов проводимости на поверхности частицы, которое проявляется во взаимодействии с внешними электромагнитными полями. Это приводит к появлению в спектрах поглощения максимумов, отвечающих наступлению условий резонанса при совпадении частоты электромагнитного излучения с собственной частотой колебаний поверхностных плазмонов. Такие колебания называют плазмонными, а резонанс – поверхностным плазмонным резонансом.

Поскольку для наночастиц характерна высокая доля поверхностных атомов, положение и форма полосы ППР сильно зависят от локальной диэлектрической проницаемости среды вблизи поверхности. Поэтому любое изменение в окружении частиц (поверхностное модифицирование, агрегация, изменение показателя преломления среды и др.) приводит к изменению их оптических свойств [26]. Так, например, если частицы формируют агрегаты, то в результате межчастичных взаимодействий полоса ППР смещается в сторону больших длин волн и уширяется.

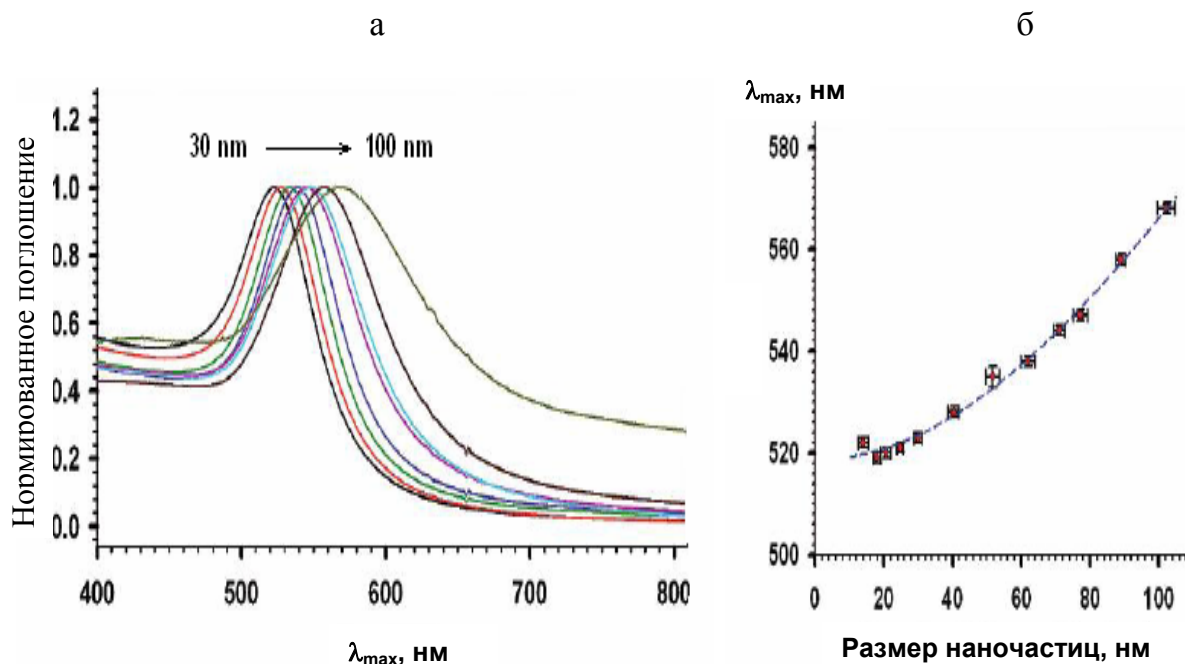
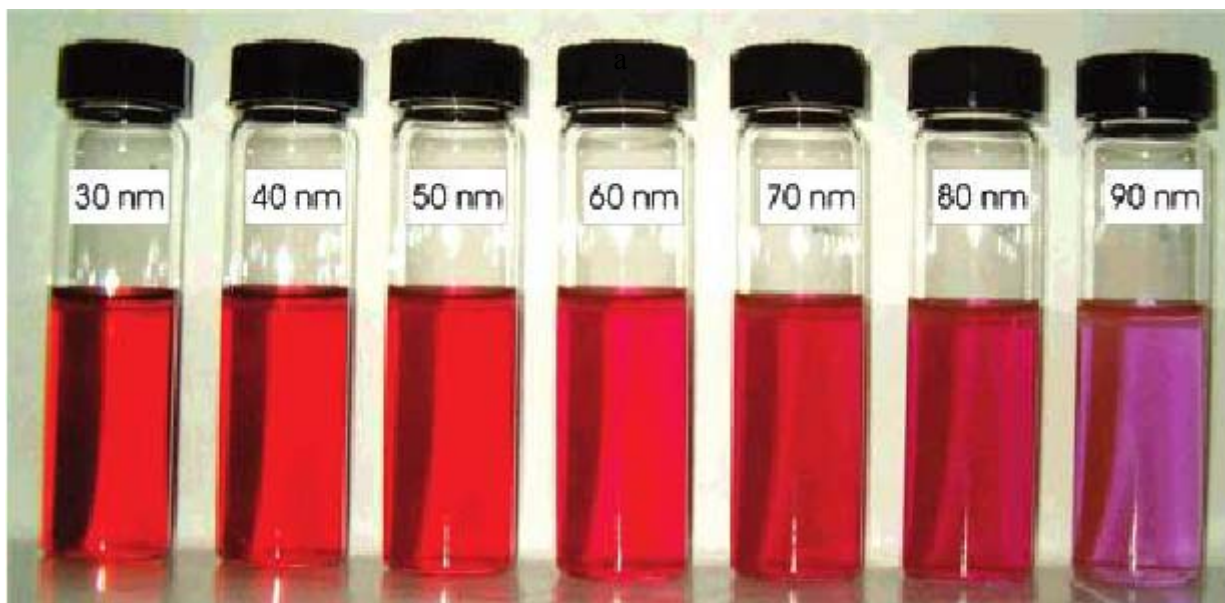


Рис. 2. Нормированные спектры поглощения НЧ золота различных размеров (а) и зависимость длины волны максимума поглощения от диаметра наночастиц (б) [27].

Для сферических наночастиц золота в водном растворе полоса ППР лежит в видимой области спектра. Положение ее максимума зависит от среднего размера наночастиц и смещается в область больших длин волн с ростом диаметра частиц [21, 27] (рис. 2). На эффектах влияния размера и формы наночастиц на их оптические характеристики основаны различные способы оценки геометрических параметров наночастиц по спектрам поглощения их растворов [28].

В работе [27] показано, как диаметр наночастиц соотносится с окраской раствора, а также рассчитано распределение по размерам для каждого образца (рис. 3).

а



б

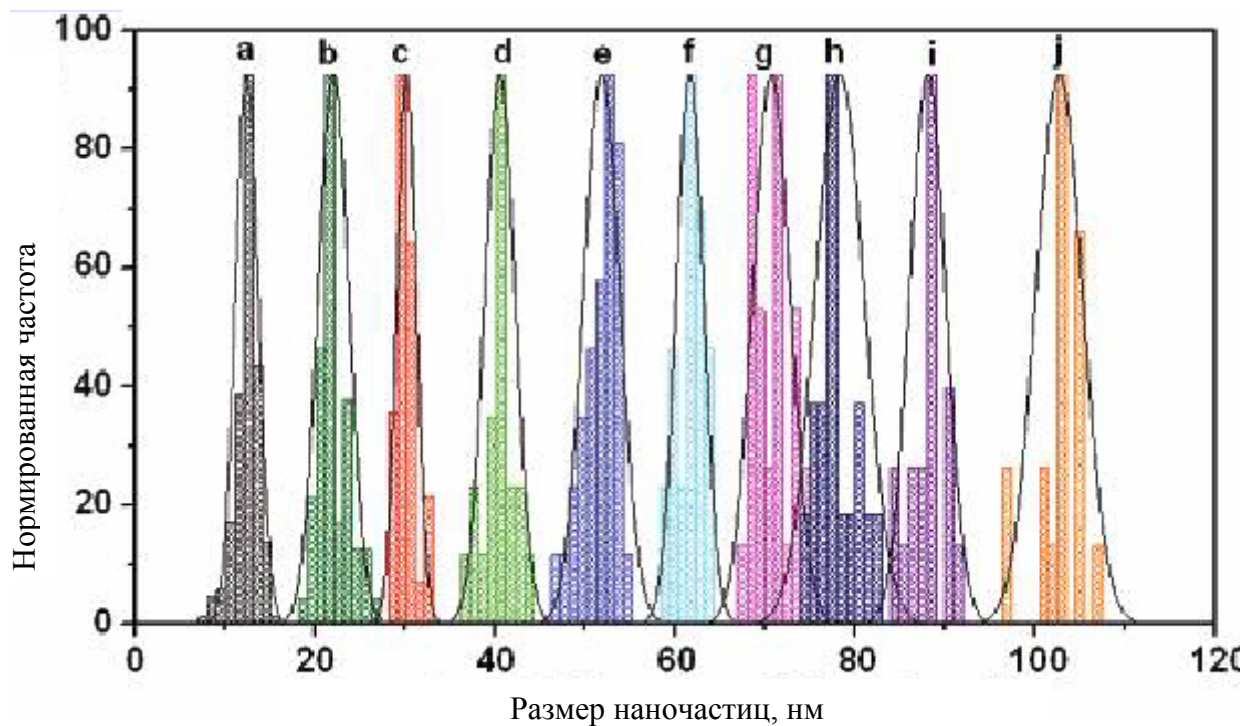


Рис. 3. Окраска растворов золотых НЧ с различным средним диаметром (а) и их распределение по размерам (б) [27].

б: $d_{\text{НЧ}}$, нм: а – $12,3 \pm 1,3$; б – $20,6 \pm 1,5$; в – $30,0 \pm 1,1$; д – $40,3 \pm 1,7$; е – $51,6 \pm 2,0$; ф – $61,3 \pm 1,5$; г – $70,6 \pm 2,0$; h – $78,3 \pm 2,7$; I – $88,1 \pm 2,0$ и j – $102,2 \pm 2,6$.

Интересный подход применен в работе [29], где для исследования свойств наночастиц проводили синтез в тяжелой воде. На рис. 4 показано, что проводя синтез в различных растворителях, можно добиться изменения максимума полосы поглощения. Увеличение содержания в реакционной смеси тяжелой воды приводит к формированию более мелких НЧ с узким распределением по размерам, характеризующихся полосой ППР в области меньших длин волн (сдвиг на 6,5 нм по сравнению с НЧ, полученными в обычной воде). Данный факт свидетельствует о том, что на синтез наночастиц оказывает влияние не только природа взаимодействий растворенных компонентов с растворителем, но и такие его характеристики как молекулярная масса, плотность и вязкость.

На формирование наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия, влияет рН [30]. Изменение значений рН от 4 до 10 не оказывает влияния на спектры поглощения растворов наночастиц, однако при уменьшении рН до 3 и ниже, цвет наночастиц становится сиреневым, а спектр изменяется, что говорит об их агрегации (рис. 5). Микрофотографии наночастиц при значениях рН раствора 3, 7 и 10 приведены на рис. 6, где видно, что, чем выше рН, тем более стабильны наночастицы и меньше их размер.

Наиболее сильно влияет на полосу ППР наночастиц золота их агрегативное состояние. Агрегация наночастиц золота приводит к контрастному изменению цвета растворов с рубиново-красного на фиолетовый или синий (в зависимости от размера агрегатов). Этот процесс сопровождается появлением в спектрах поглощения нового пика в более длинноволновой области и уменьшением интенсивности полосы поглощения при 520 нм (рис 7). На эффекте изменения степени агрегации основано большинство известных на сегодняшний день оптических сенсоров на основе наночастиц золота и спектрофотометрических методик определения неорганических ионов и органических соединений с их использованием.

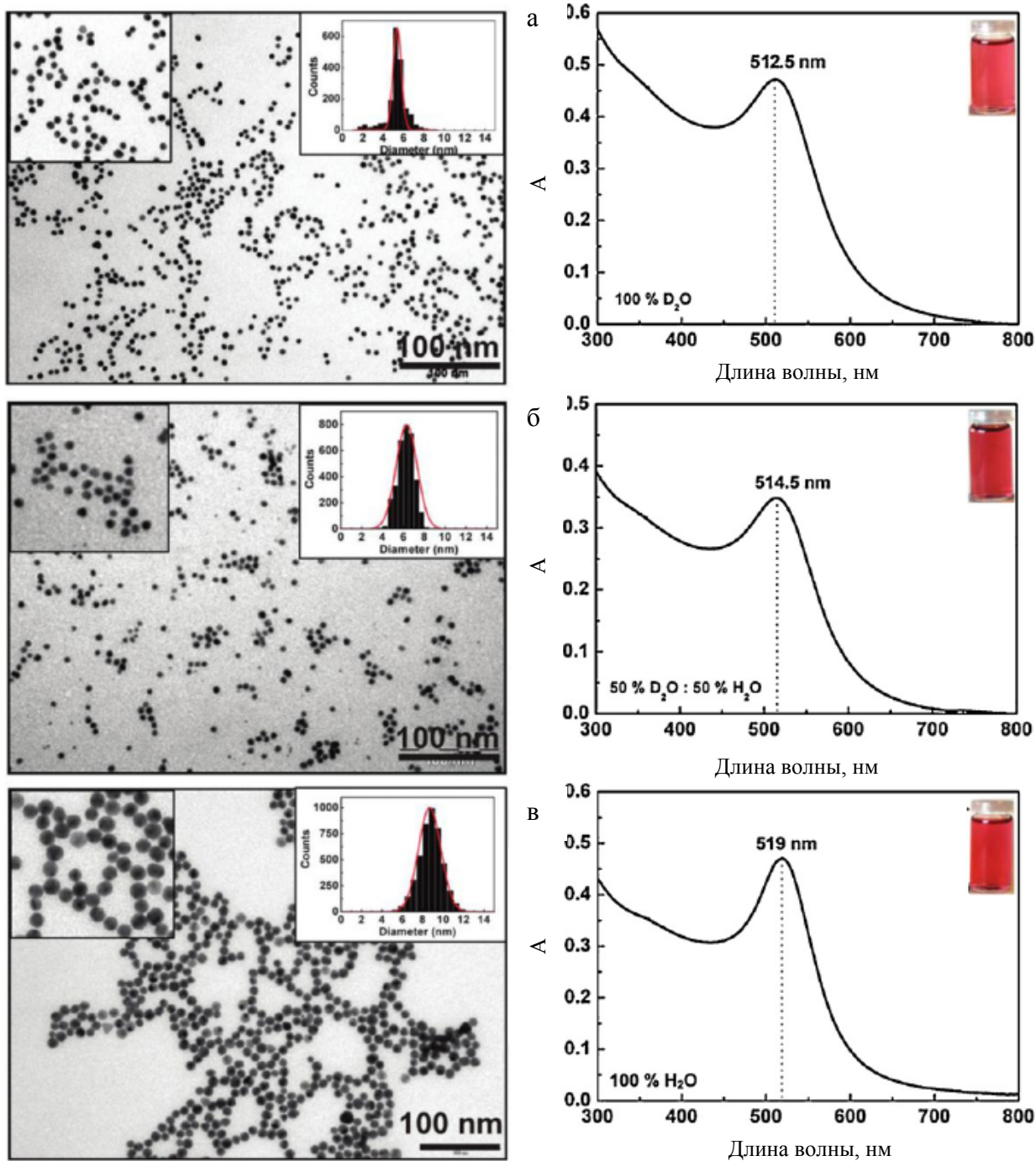


Рис. 4. Микрофотографии, распределение по размерам и спектры поглощения НЧ золота, синтезированных в различных растворителях: 100% D₂O (а), 50% D₂O/H₂O (б) и 100% H₂O (в) [29].

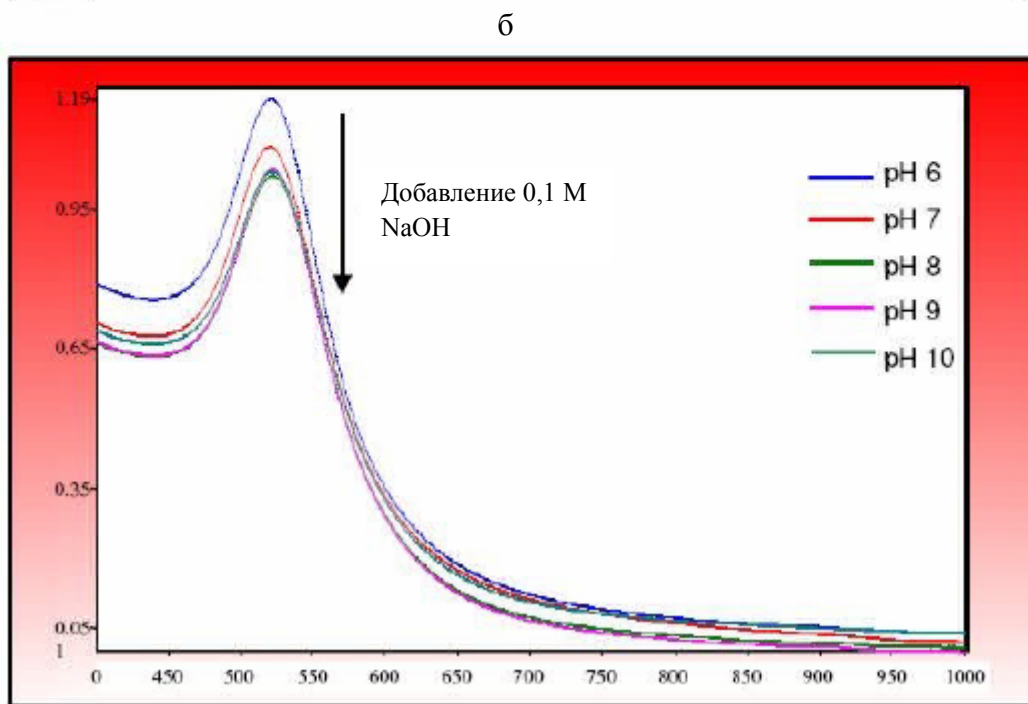
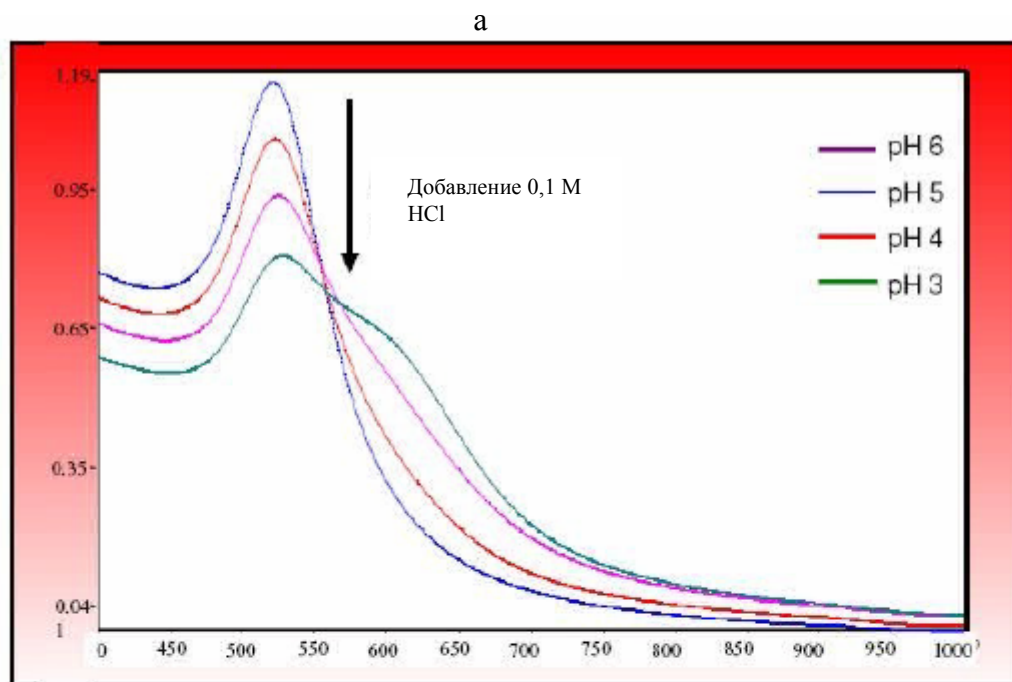


Рис. 5. Спектры поглощения растворов НЧ при последовательном добавлении 0,1 М НСl (а) и 0,1 М NaOH (б) [30].

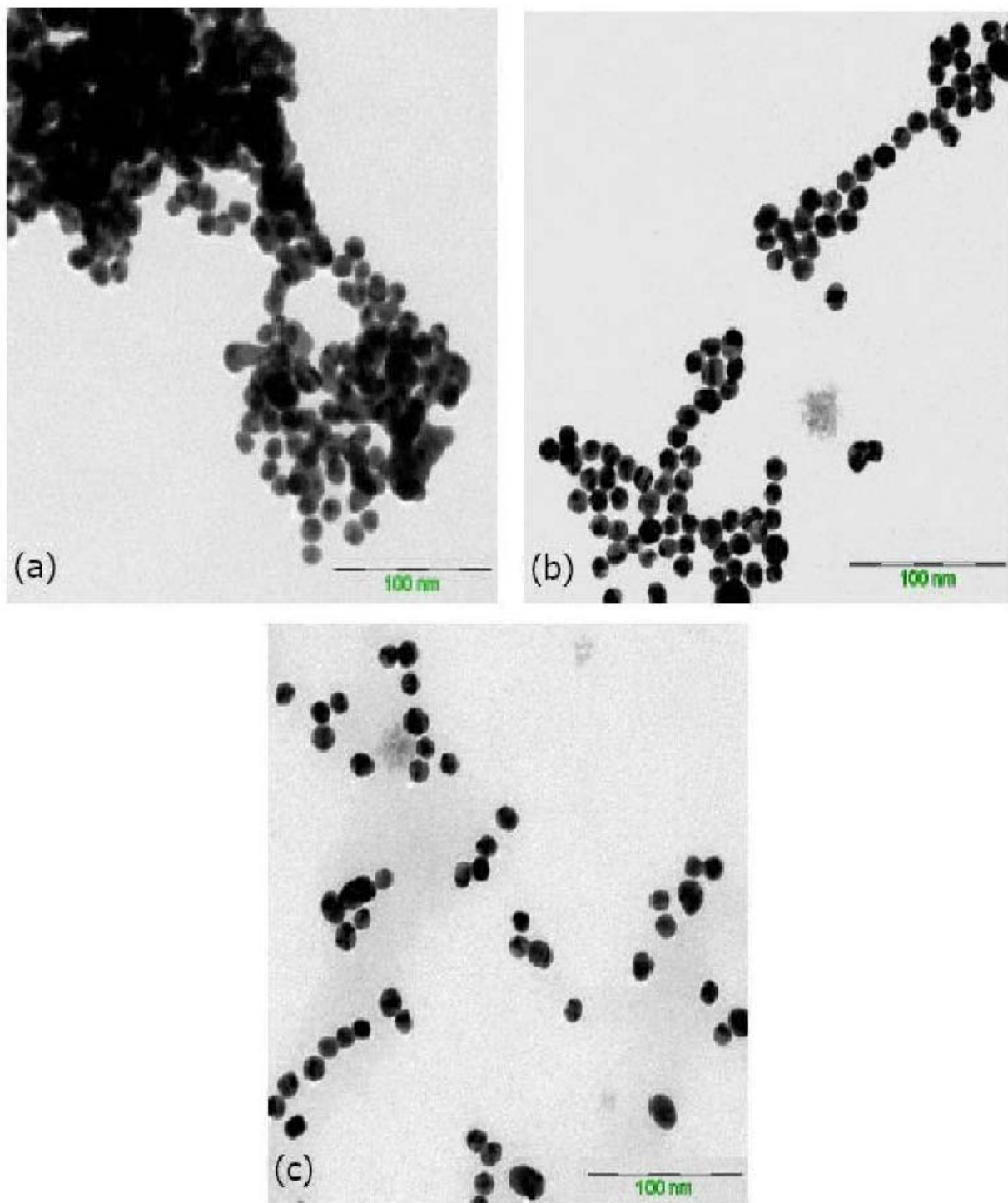


Рис. 6. Микрофотографии НЧ золота при рН 3 (а), 7 (b) и 10 (с) [30].

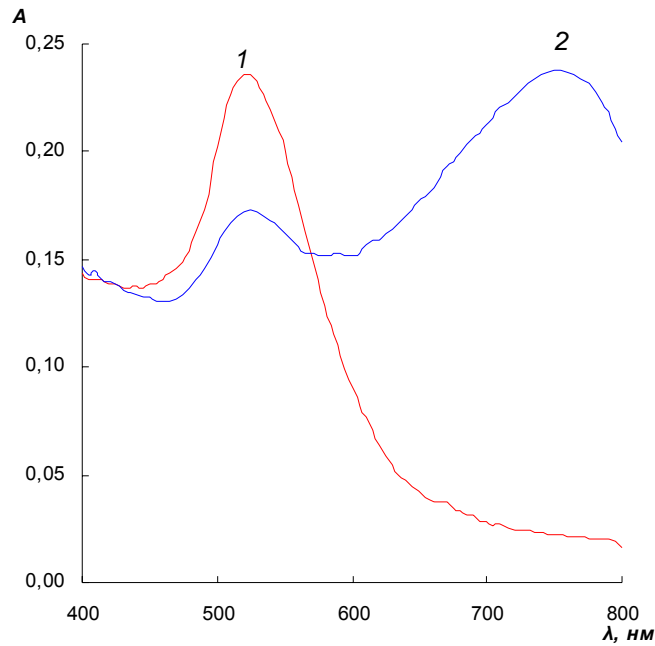


Рис. 7. Типичные спектры поглощения наночастиц золота (1) и их агрегатов (2).

Выделяют два типа агрегации с участием наночастиц золота – агрегация со сшиванием (crosslinking aggregation) и агрегация без сшивания (non-crosslinking aggregation) (рис. 8). В первом случае молекулы определяемых соединений связываются с модификаторами на поверхности двух или более наночастиц, в результате чего происходит сшивка и агрегация НЧ. Во втором случае определяемое соединение удаляет или замещает модификатор на поверхности наночастиц и вызывает, таким образом, дестабилизацию коллоидной системы (рис. 8).

Основными факторами, свидетельствующими в пользу применения наночастиц золота в спектрофотометрии, являются относительная простота получения, высокие молярные коэффициенты поглощения, а также практически неограниченная возможность регулирования спектральных

характеристик наночастиц изменением их размеров, формы и химического окружения.

Основное отличие наночастиц золота от традиционных спектрофотометрических реагентов, для которых возникновение или изменение окраски является следствием изменения электронного состояния реагента или определяемого соединения в результате их непосредственного взаимодействия, состоит в возможности изменения оптических характеристик наночастиц только вследствие их агрегации в присутствии определяемого компонента. Иными словами, не важны хромофорные свойства молекул модификатора, определяемого компонента и продуктов их взаимодействия. Возможность модифицирования поверхности наночастиц различными по природе модификаторами позволяет регулировать селективность и синтезировать чувствительные и селективные спектрофотометрические реагенты на основе наночастиц для определения широкого круга соединений.

Стратегия применения наночастиц золота в спектрофотометрическом анализе в большинстве случаев сводится к следующему: к раствору определяемого компонента добавляют определенное количество предварительно синтезированных НЧ золота и регистрируют изменения оптических характеристик анализируемых растворов спектрофотометрически или визуально. В случае спектрофотометрического определения, как правило, регистрируют изменение оптической плотности при длине волны максимума поглощения индивидуальных наночастиц (520 – 530 нм) или их агрегатов (600 – 800 нм), либо вычисляют соотношение этих величин, характеризующее степень агрегации наночастиц.

С использованием наночастиц золота можно определять ионы металлов, анионы и органические соединения. Рассмотрим принципы, лежащие в основе подобного рода методик.

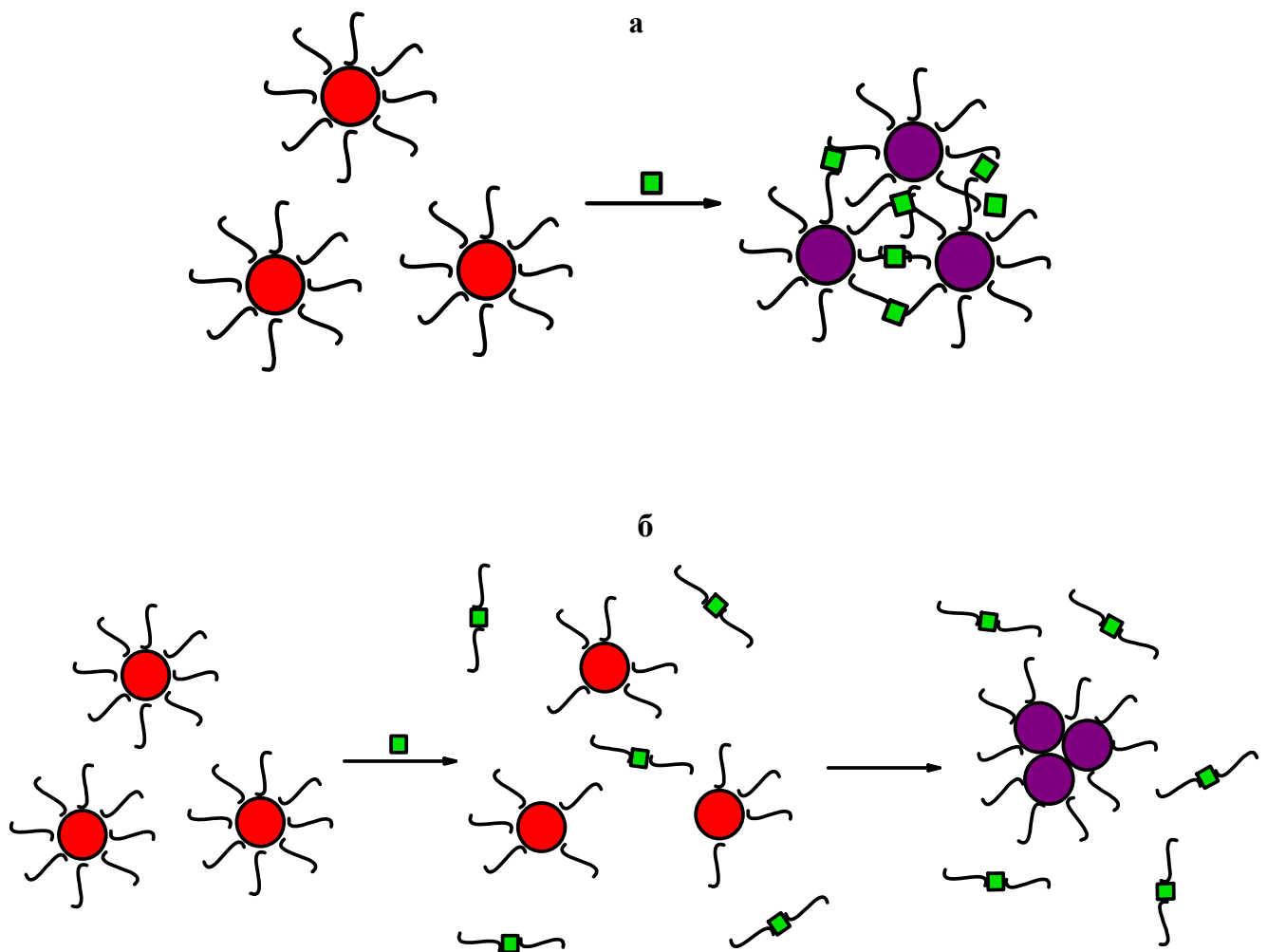


Рис. 8. Схема агрегации наночастиц золота со сшиванием (а) и без сшивания (б).

2. ПРИМЕНЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА В СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ И ТЕСТ-МЕТОДАХ АНАЛИЗА

2.1. Применение наночастиц золота для спектрофотометрического и тест-определения ионов металлов

Описано использование наночастиц золота для спектрофотометрического определения ртути [31 – 64], свинца [31, 40, 49, 56, 65 – 71], хрома [72 – 78], меди [56, 79 – 83], серебра [33, 47, 49, 84], кальция [85 – 87], мышьяка [88 – 90], магния [87], алюминия [91 – 93], калия [94], железа [95], кобальта [31], кадмия [96], платины и палладия [31], лантаноидов [97], урана [98].

В большинстве случаев определение основано на образовании координационных связей между ионами металла и модификаторами наночастиц. Поэтому выбор модификатора важен в регулировании чувствительности и селективности определения. Вследствие взаимодействия иона металла с молекулами модификатора, находящимися на поверхности наночастиц золота, чаще всего происходит «сшивание» НЧ, что приводит к их агрегации (рис. 9). В большинстве случаев для определения ионов металлов используют наночастицы золота, модифицированные ДНК [39, 55, 83, 84], пептидами [31, 66, 85, 91], меркаптосоединениями [39, 72, 77, 88, 89, 96]. Для определения ионов металлов использовали НЧ, модифицированные пептидом [31]. Интересно отметить, что наблюдаемое изменение окраски изначально окрашенных в рубиновый цвет наночастиц золота зависит от определяемого иона металла. Так, в присутствии ртути она становится сине-фиолетовой, свинца – сине-зеленой, кобальта – коричневой, палладия – вишневой, платины – грязно-фиолетовой. Пределы обнаружения металлов находятся на уровне 20 – 200 нМ.

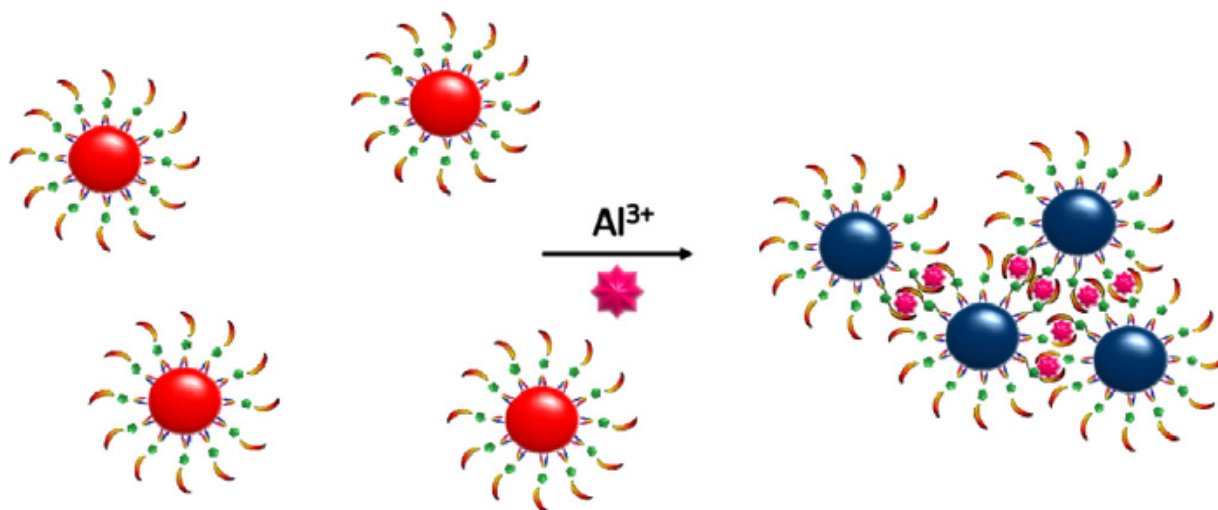


Рис. 9. Схема агрегации наночастиц золота, модифицированных триазоловым эфиром, под воздействием ионов алюминия [93].

Среди всех металлов, определение которых описано в литературе, наибольшее внимание уделяется ртути и свинцу. Этот интерес, по-видимому, во многом обусловлен не только актуальностью определения данных металлов в следовых количествах, но и их высоким сродством к молекулам-модификаторам, в результате чего агрегация наночастиц золота наблюдается при низких концентрациях этих ионов. Описаны методики спектрофотометрического определения ртути, основанные на использовании НЧ золота, модифицированных ДНК; пределы обнаружения ртути составляют 100 – 1000 нМ. [58 – 60]. Ионы ртути участвуют в формировании связей между тиминовыми основаниями ДНК на поверхности двух разных наночастиц, что приводит к их связыванию и повышению температуры разрушения агрегатов; в результате чего НЧ остаются в агрегированном состоянии, в то время как в отсутствие ртути при той же температуре агрегаты уже разрушаются. Достоинством методик является высокая селективность, обусловленная комплементарными взаимодействиями,

недостатками – необходимость точного контроля температуры, а также трудности в работе с ДНК и ее относительно высокая стоимость.

Описан ряд способов определения ртути, основанных на агрегации НЧ, модифицированных ДНК, без сшивания. Для модифицирования НЧ, как правило, используют короткоцепочечные одно- или двунитевые молекулы ДНК, которые сорбируются на поверхности наночастиц и стабилизируют их за счет электростатического отталкивания. Катионы ртути, связываясь с тиминовыми основаниями ДНК, вызывают удаление (десорбцию) ее молекул с поверхности наночастиц, вызывая тем самым их агрегацию [61 – 64]. Способ позволяет определять ртуть на уровне нМ. Еще один пример основан на применении положительно заряженных НЧ золота, модифицированных хлоридом (11-меркаптоундецил)триметиламмония [50]. Введение в раствор, содержащий такие наночастицы, ионов ртути способствует разрушению связей Au – S между поверхностными атомами золота и молекулами модификатора, десорбции последних и агрегации НЧ. Установлено, что реакция ускоряется при действии света. Предел обнаружения ртути составляет 30 нМ. Способ использовали для определения ртути в питьевой воде.

В ряде случаев в результате взаимодействия иона металла с молекулами модификатора, находящимися на поверхности наночастиц золота, наблюдается эффект, обратный агрегации – пептизация или «антиагрегация», вызванный их дополнительной стабилизацией. Для определения свинца использовали наночастицы, модифицированные ДНК, при этом в систему вводили молекулы другой ДНК, содержащие участки, комплементарные ДНК-модификатору, а также «центры разрыва» – мутации, способные легко разрушаться в присутствии ионов свинца [65]. Разрыв молекул ДНК в местах мутаций препятствовал вызывающему агрегацию наночастиц золота образованию связанной комплементарными взаимодействиями двунитевой структуры. Поэтому в присутствии ионов

свинца наночастицы при нагревании переходят из агрегированного состояния в свободное намного легче, чем в отсутствие. При этом цвет раствора изменяется с синего на рубиново-красный, на чем и основано определение. С помощью описанного способа можно определять свинец с пределом обнаружения 100 нМ [65]. В работе [99] описан способ определения ионов ртути с помощью наночастиц, стабилизированных поли(диаллилдиметиламмония) хлоридом. Такие наночастицы агрегируют в присутствии цистеина, и цвет раствора меняется с рубинового на фиолетовый. В присутствии же ионов ртути цистеин не способен вызывать агрегацию НЧ, и окраска раствора вновь становится красной (рис. 10).

Более полную информацию о методах определения ионов ртути, свинца, а также меди можно найти в обзоре [56]. Другие примеры использования наночастиц золота для определения ионов металлов приведены в табл. 1.

2.2. Применение наночастиц золота для спектрофотометрического и тест-определения анионов

С использованием наночастиц золота разработаны методики спектрофотометрического и визуально-колориметрического определения дигидро- [100, 101] и гидрофосфат-ионов [102], фторида [103, 104], йодида [105], цианида [106], тиоцианата [107], нитрита [108], сульфата [109], сульфида [110] и гипохлорита [111, 112]. Характеристики определения анионов с использованием наночастиц золота приведены в табл. 2. В большинстве описанных методик в результате взаимодействия анионов с модификаторами наночастиц наблюдалась агрегация. В зависимости от природы модификатора и определяемого иона взаимодействие может протекать по ионообменному, донорно-акцепторному или окислительно-восстановительному механизмам.

Так, ионный обмен между гидрофильными и гидрофобными анионами был использован для обнаружения фторида после перевода в

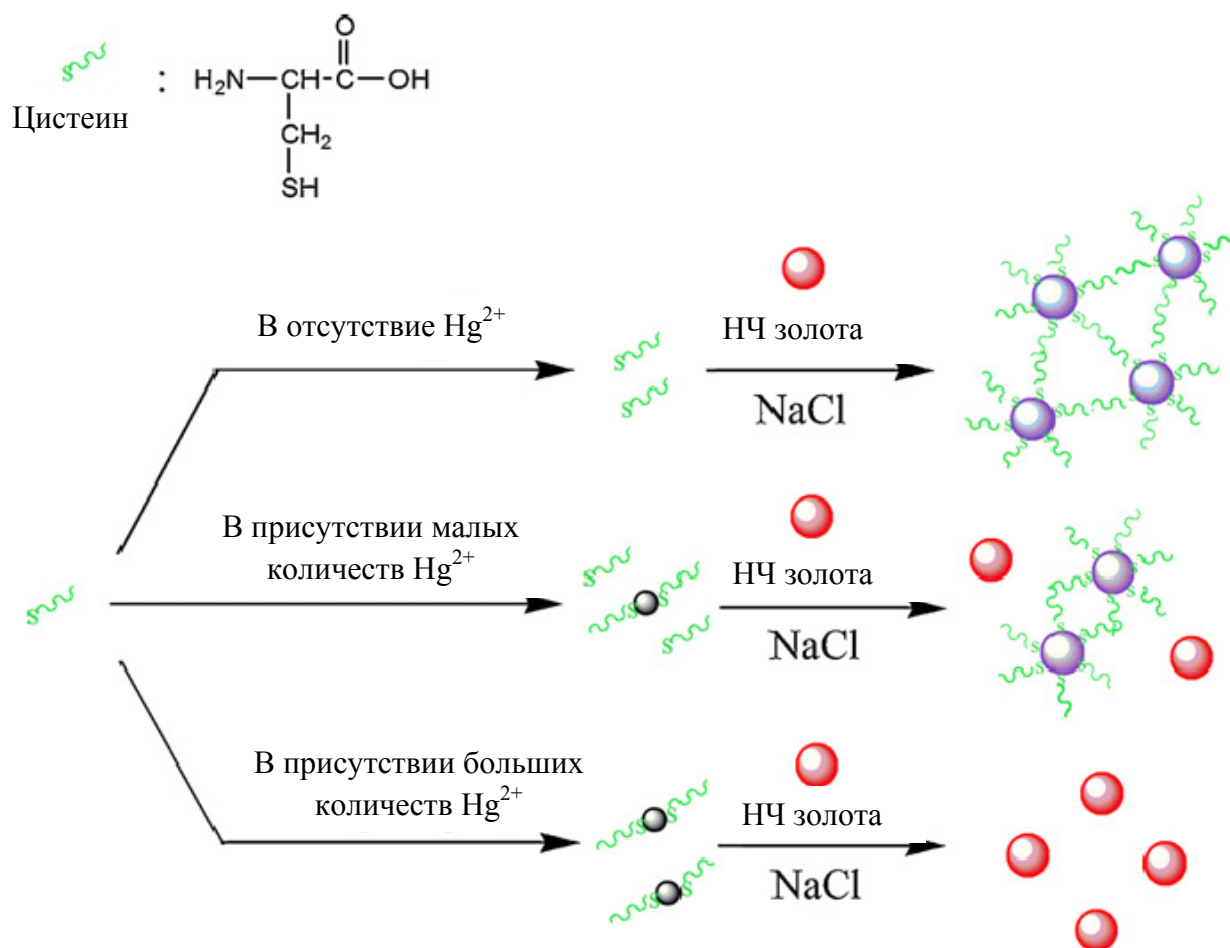


Рис. 10. Схематическая иллюстрация определения ионов ртути с помощью наночастиц, модифицированных поли(диаллилдиметиламмония) хлоридом, в присутствии цистеина [99].

Таблица 1. Примеры спектрофотометрического (СФ) и визуально-колориметрического (ВК) определения ионов металлов в различных объектах с помощью наночастиц золота

Ион	Объект анализа	Метод синтеза НЧ (модификатор)	c_{\min}	Метод	Литература
Hg(II)	Грунтовые воды	Цитратный (олигонуклеотид)	10 нМ	СФ	[54]
	Природные воды	Цитратный (ДНК)	10 нМ	СФ	[39], [55]
	Водные растворы	Боргидридный, (дитиадиазо-2-[3-(2-амино-этилсульфанил)пропилсульфанил]этиламин)	35 нМ	СФ	[39]
	Питьевая вода	Поли(диаллилдиметиламмония) хлорид	25 нМ	ВК	[99]
Pb(II)	Водные растворы	Цитратный (пептид)	242 нМ	ВК	[31]
	Морская вода, моча, кровь	Цитратный (бычий сывороточный альбумин)	50 пМ	ВК	[66]
Cd(II)	Озерная вода	Цитратный (6-меркапто-никотиновая кислота и <i>L</i> -цистеин)	100 нМ	СФ	[96]
Co(II)	Водные растворы	Цитратный (пептид)	190 нМ	ВК	[31]
Cu(II)	Водные растворы	Цитратный (ДНК)	5 мкМ	ВК	[83]
Pd(IV), Pt(IV)	Водные растворы	Цитратный (пептид)	31 нМ 23 нМ	ВК	[31]

K(I)	Водные растворы	Цитратный	1 мМ	СФ, ВК	[94]
Ca(II)	Плазма крови	Цитратный (кальсеквестрин)	1 мМ	СФ, ВК	[85]
As(III)	Грунтовые воды	Цитратный (глутатион, дителиотреитол и цистеин)	0,13 нМ	СФ, ВК	[88], [89]
Cr(III)	Водные растворы	Цитратный (5,5'-дитио- бис (2-нитробензойная кислота)	1,8 мкМ	СФ, ВК	[72]
	Речная вода	Боргидридный (триполифосфат $P_3O_{10}^{5-}$)	100 нМ	ВК	[74]
	Озерная вода	Цитратный (триазол)	1,4 мкМ	СФ, ВК	[78]
Al(III)	Поверхность цервикальных раковых клеток	Цитратный (пентапептид)	0,2 мкМ	СФ, ВК	[91]
	Природные воды, моча	Цитратный (5- меркаптометилтетразол)	0,53 мкМ	СФ	[92]
	Морская вода	Триазоловый эфир	18 нМ	СФ, ВК	[93]
Ag(I)	Водные растворы	Цитратный (ДНК)	0,59 нМ	СФ, ВК	[84]

трифторфенилборат [104]. Использовали наночастицы, стабилизированные бромидом производного изотиурония [бис(5-(N-(2-(2-метоксиэтокси)этил)-N-метил-S-изотиуронио)пентил)дисульфида]. При обмене бромида на трифторфенилборат наблюдали гидрофобизацию наночастиц и их последующую агрегацию.

Интересный способ определения нитрит-ионов описан в работе [108]. Использовали смесь наночастиц двух типов – модифицированных анилиновыми и нафтиламиновыми фрагментами. В присутствии нитрит-ионов протекает реакция Грисса, приводящая к образованию азосоединения, выполняющего роль ковалентной сшивки между наночастицами. Способ характеризуется хорошей селективностью и позволяет определять нитрит-ионы с пределом обнаружения 22 мкМ. Методика применена для определения нитрит-ионов в природных водах.

Еще один подход к определению анионов описан в работе [100]. Для определения дигидрофосфат-ионов использовали наночастицы золота, модифицированные фенилмочевинной. В рассматриваемом случае NH-группы фенилмочевины играют роль доноров протонов, в то время как дигидрофосфат является их акцептором. Взаимодействие аниона с НЧ препятствует образованию водородных связей между наночастицами, что вызывает антиагрегацию НЧ и увеличение интенсивности полосы ППП при 510 нм. Вследствие гидрофобности модифицированных НЧ, способ неприменим для анализа водных растворов, но перспективен для определения дигидрофосфата в неполярных средах.

В основу спектрофотометрического определения дихромат-ионов положена окислительно-восстановительная реакция [77]. Определение основано на окислении дихромат-ионами меркаптогрупп в молекулах модификатора – дитиотреитола, протекающем с образованием дисульфидной связи между отдельными наночастицами. В данном случае анион не участвует непосредственно в формировании связей между НЧ золота, а лишь создает условия для их образования. Предел обнаружения дихромата равен 20 нМ. Методика пригодна для определения дихромата в природных водах.

Таблица 2. Примеры спектрофотометрического (СФ) и визуально-колориметрического (ВК) определения анионов в различных объектах с помощью наночастиц золота

Анион	Объект анализа	Метод синтеза НЧ (модификатор)	c_{\min}	Метод	Литература
H_2PO_4^-	Модельная система на основе дихлорметана	Боргидридный (фенилмочевина)	10 мкМ	СФ	[100]
PO_4^{3-}	Речная вода	Цитратный (меркаптоуксусная кислота и Eu^{3+})	76 нМ	СФ	[101]
Оксо-анионы (HPO_4^{2-})	Водные растворы	Боргидридный (изотиуроний)	100 мкМ	СФ, ВК	[102]
F^-	Водные растворы	Восстановление тиоглюкозой (тиоглюкоза)	20 мМ	ВК	[103]
NO_2^-	Природные воды	Цитратный (производные анилина и нафтиламина)	22 мкМ	ВК	[108]
CN^-	Водные растворы	Цитратный (аденозинтрифосфат)	14 мкМ	СФ, ВК	[106]
SO_4^{2-}	Водные растворы	Боргидридный (цистеамин)	50 мкг/л	ВК	[109]

S^{2-}	Сточные воды	Цитратный (каликс[4]арен)	10 нМ	СФ, ВК	[110]
Г	Водопроводная и озерная воды	Цитратный (N-1-(2- меркаптоэтил)тимин)	10 нМ	СФ, ВК	[105]
SCN^-	Водопроводная вода	Цитратный	140 нМ	СФ, ВК	[107]
ClO^-	Водопроводная вода	Цитратный (меркаптоундекановая кислота)	1,5 мкМ	ВК	[111]
	Водопроводная и озерная воды	Цитратный	0,5 мкМ	ВК	[112]
$Cr_2O_7^{2-}$	Природные воды	Цитратный (дитиотреитол)	20 нМ	СФ	[77]

2.3. Применение наночастиц золота для спектрофотометрического и тест-определения органических соединений

В отличие от ионов металлов и анионов для определения органических соединений часто используют наночастицы золота, стабилизированные цитрат-ионами (их также называют немодифицированными, label-free). Определение основано на том, что определяемое органическое соединение, сорбируясь на таких наночастицах, приводит к уменьшению отрицательного заряда их поверхности и вызывает агрегацию. Так, описан способ полуколичественного определения катионных ПАВ [113]. Авторы предполагают, что при концентрациях ПАВ меньше ККМ они адсорбируются на отрицательно заряженных наночастицах, вызывают их гидрофобизацию и агрегацию, что приводит к изменению цвета с рубинового на сине-фиолетовый. При концентрациях больше ККМ наблюдается восстановление рубиновой окраски растворов, что связывают с образованием мицелл, где наночастицы находятся на их гидрофильной поверхности. Нам, однако, кажется маловероятным образование подобных структур в силу относительно большой массы и размеров наночастиц золота. Более адекватный, на наш взгляд, механизм восстановления оптических характеристик растворов включает инкапсуляцию гидрофобизированных НЧ золота в неполярные полости мицелл ПАВ и, как следствие, их перезарядку. Описанный подход основан на использовании взаимодействий двух типов – электростатических и гидрофобных, – что делает его универсальным для определения различных КПАВ и оценки их суммарного содержания. Необходимо отметить, что неионогенные и анионные ПАВ не вызывают агрегацию наночастиц золота.

Еще один пример визуально-колориметрического определения, основанный на использовании немодифицированных НЧ золота, применительно к тиолсодержащим аминокислотам описан в работе [114].

Суть предлагаемого подхода заключается в вытеснении цитрат-ионов молекулами тиолсодержащих аминокислот за счет более сильного взаимодействия атома серы меркаптогруппы с атомом золота на поверхности наночастиц, что приводит к уменьшению заряда последних и их агрегации. Путем замещения меркаптогруппы в молекуле гомоцистеина на гидроксил доказано, что за образование прочной связи с поверхностью НЧ золота отвечает именно меркаптогруппа (в случае введения в раствор наночастиц гидроксилзамещенного производного изменения оптических свойств системы не наблюдалось). Принципиальным отличием данного примера от описанного выше является факт замещения цитрат-ионов на поверхности золота. По сути, в этом случае между определяемым соединением и наночастицами золота реализуются специфические взаимодействия, приводящие к образованию ковалентной связи с поверхностью наночастицы, что, с одной стороны, делает такой подход более селективным по отношению к соединениям, не содержащим серу, а с другой – накладывает некоторые ограничения на круг определяемых таким образом соединений.

Есть сведения, что механизм, основанный на непосредственном взаимодействии функциональных групп определяемого соединения с золотом, реализуется не только в случае тиолсодержащих соединений. Полагают [115], что за счет специфических взаимодействий аминогрупп меламина с поверхностными атомами золота также происходит вытеснение цитрат-ионов с поверхности наночастиц, что приводит к уменьшению их агрегативной устойчивости. Предлагаемый метод позволяет определять меламина в молоке и детском питании с пределом обнаружения 1,0 мкг/мл в варианте визуальной колориметрии и 0,15 мкг/мл в варианте спектрофотометрии [115].

Помимо описанных выше примеров, наночастицы золота, стабилизированные цитратом, использовали для определения цистеамин [116], цистеина [117], кокаина [118], дофамина [119], аденозинтрифосфата

[120], глюкозы [121, 122] и аскорбиновой кислоты [123]. К достоинствам описанных методик можно отнести относительную простоту получения наночастиц, а к недостаткам – сильное мешающее влияние со стороны положительно заряженных соединений или ионов. Для устранения мешающего влияния со стороны катионов щелочноземельных и тяжелых металлов при определении цистеамина предложено использовать динатриевую соль ЭДТА [116]. ЭДТА маскирует катионы, переводя их в отрицательно заряженные комплексоны, которые уже не способны нейтрализовать заряд НЧ и вызывать их агрегацию.

В ряде случаев для определения органических соединений более эффективно использование наночастиц золота, модифицированных другими соединениями. В качестве модификаторов используют поверхностно-активные вещества (определяли цистеин) [124], тиамины (определяли тринитротолуол, меламин) [125, 126], краун-эфиры (определяли меламин) [127], тиокислоты (определяли стрептомицин) [128], тиолсодержащие аминокислоты (определяли тринитротолуол) [129] и их производные (определяли тирозин) [130], антигены (определяли кортизол) [131], ДНК (определяли теофиллин, меламин) [132, 133], люминофоры (определяли меламин, пестициды) [134, 135], полимеры (определяли цистеин) [136]. Принципы взаимодействия аналитов с модифицированными НЧ остаются теми же, что и для ионов металлов и анионов. Так, способ определения тринитротолуола основан на донорно-акцепторном взаимодействии этого соединения с цистеином – модификатором НЧ [129]. Метод позволяет определять тринитротолуол на пиколярном уровне.

Другие примеры спектрофотометрического и визуально-колориметрического определения низкомолекулярных органических соединений приведены в табл. 3.

Таблица 3. Примеры спектрофотометрического (СФ) и визуально-колориметрического (ВК) определения низкомолекулярных органических соединений в различных объектах с помощью наночастиц золота

Соединение	Объект анализа	Метод синтеза НЧ (модификатор)	c_{\min}	Метод	Литература
Катионные ПАВ	Кондиционер для волос	Цитратный	–	ВК	[113]
	Водные растворы	Тот же	1 мкМ	СФ	[117]
Цистеин	Моча	Цитратный (фторсодержащее ПАВ)	0,8 мкМ	СФ, ВК	[124]
	Водные растворы	Цитратный	10 нМ	ВК	[137]
Меламин	Молоко, детское питание	Тот же	0,15 мкг/мл	СФ; ВК	[115]
	Молоко	Цитратный (политимин)	0,02 мкМ	СФ, ВК	[133]
Тиолсодержащие аминокислоты	Водные растворы	Боргидридный (рибофлавин)	0,25-0,5 мкМ	СФ	[134]
	Молоко	Цитратный (ЦА)	1 мг/л	СФ	[126]
Цистеамин	Водные растворы	Цитратный	3 мкМ	ВК	[114]
	Моча, средство для завивки волос	Тот же	0,01 мкг/мл	СФ	[116]

Кокаин	Водные растворы	»	2 мкМ	ВК	[118]
Дофамин	Тот же	»	0,03 мкМ	СФ, ВК	[119]
Аденозин-трифосфат	»	»	0,6 мкМ	СФ, ВК	[120]
Глюкоза	Микродиализат мозга мышцы	»	1 мМ	СФ, ВК	[121]
	Сыворотка крови	»	10 нМ	СФ	[122]
Аскорбиновая кислота	Фруктовый сок	»	3 нМ	ВК	[123]
Тринитро-толуол	Природные воды	Цитратный (ЦА)	0,5 пМ	СФ, ВК	[125]
Стрептомицин	Молоко	Цитратный (меркаптоуксусная кислота)	50 мкг/л	СФ	[128]
Кортизол	Сыворотка крови	Цитратный (антиген*)	30 нг/мл	ВК	[131]
Теофиллин	Водные растворы	Цитратный (ДНК)	200 мкМ	СФ	[132]
Фосфор-органические пестициды и карбаминаты	Речная вода	Цитратный (родамин С)	0,1– 1 мкг/л	СФ	[135]
Тиолы	Водные растворы	Цитратный (дисульфид)	1 мкМ	ВК	[138]

*Кортизол-3-карбоксиметилноксим-адипиновой кислоты дигидразид-бычий сывороточный альбумин.

* * *

Таким образом, можно отметить, что в последние пять лет число публикаций по использованию наночастиц золота в спектрофотометрии заметно возросло. Применение наночастиц золота в спектрофотометрии основано на эффекте поверхностного плазмонного резонанса, который проявляется в возникновении интенсивной полосы поглощения в видимой области спектра. Этот эффект используют для разработки методик определения ионов металлов, анионов и органических соединений. Основными фактами, свидетельствующими в пользу применения наночастиц золота в спектрофотометрии, являются относительная простота получения, высокие молярные коэффициенты поглощения, а также практически неограниченная возможность регулирования спектральных и химических характеристик наночастиц изменением их размеров, формы и химического окружения. Методики спектрофотометрического определения, основанные на применении наночастиц золота, отличаются простотой и экспрессностью. Благодаря контрастному изменению цвета растворов их легко можно реализовать и в тест-варианте.

В практике применения НЧ золота в спектрофотометрии для анализа реальных объектов есть ряд нерешенных вопросов. В реальных объектах, таких, например, как биологические жидкости (кровь, моча), пищевые продукты или объекты окружающей среды, присутствуют различные соли или другие вещества, способные вызывать агрегацию наночастиц и в отсутствие определяемых компонентов. Между тем, сведения об использовании маскирующих агентов для устранения такого влияния единичны. Кроме того, чувствительность разработанных методик спектрофотометрического определения не всегда соответствует реальному (более низкому) содержанию определяемых компонентов. Проблему можно было бы решить в рамках сорбционно-спектроскопических методов анализа. Немаловажное значение в плане повышения селективности разрабатываемых

методик имеет также и дальнейшее изучение механизмов агрегации, и выбор в этой связи веществ-модификаторов наночастиц.

Расширение возможностей применения наночастиц золота в спектрофотометрии в значительной степени зависит и от поиска новых аналитических систем. На наш взгляд, наночастицы золота в качестве спектрофотометрического реагента наиболее целесообразно использовать для определения органических соединений, не имеющих в своем составе хромофорных групп, а также для тех соединений, получение окрашенных производных которых затруднено.

В рамках настоящей работы в качестве таких соединений были выбраны представители нескольких классов: тиосоединения, которые в зависимости от pH могут присутствовать в растворе в виде различно заряженных частиц, соединения катионной природы и некоторые анионы.

Среди тиосоединений были выбраны цистеамин, цистеин, ацетилцистеин, глутатион, меркаптоэтанол и меркаптопропионовая кислота. Выбор этих тиосоединений был обусловлен, прежде всего, наличием в их структуре незамещенных тиольных групп, способных взаимодействовать с НЧ золота, а также различных по свойствам функциональных групп: -NH₂, -OH, -COOH. Кроме того, при выборе объектов исследования учитывали и практический интерес: большинство из перечисленных выше соединений относятся к биологически активным или лекарственным веществам, и разработка экспрессных и простых методик их определения представляет интерес.

Так, например, цистеамин (2-меркаптоэтиламин, 2-аминоэтантол, 2-аминоэтилмеркаптан, тиоэтанолламин, меркамин) обладает антиоксидантной активностью [139], его используют в составе различных радиопротекторов, защищающих организм от ионизирующего излучения. Кроме того, цистеамин используют в качестве лекарственного средства для лечения цистиноза и серповидно-клеточной анемии [140, 141]. Цистеамин является

важным посредником в процессе биосинтеза таурина и образуется в тканях млекопитающих при ферментативном расщеплении пантетеина и в процессе декарбоксилирования цистеина.

Однако, несмотря на физиологическую важность и клиническое применение, определению цистеамина в биологических жидкостях посвящено сравнительно незначительное число работ, что, по-видимому, связано с трудностями, возникающими как при подборе дериватирующих агентов, так и при проведении самой процедуры дериватизации. В большинстве описанных работ анализируемые образцы восстанавливают боргидридом натрия, а затем проводят дериватизацию. В качестве дериватирующего агента для определения цистеамина в виде N,S-диизобутоксикарбонила методом газовой хроматографии с пламенно-фотометрическим детектором предложено использовать изобутилхлорформиат [142]. Цистеамин определяют также методом ВЭЖХ с флуоресцентным [143] или УФ-детектором [144] после реакции дериватизации с N-(1-пиренил)малеимидом и 2-хлор-1-метилхинолин тетрафтороборатом соответственно. В ранних работах для определения цистеамина использовали метод ВЭЖХ с амперометрическим детектором [145, 146]. Несколько работ посвящено определению этого соединения различными электрохимическими методами [147, 148].

Цистеин (α -амино- β -тиопропионовая кислота, 2-амино-3-меркаптопропановая кислота) является одной из важнейших алифатических серосодержащих аминокислот. Он играет важную роль в ряде важных клеточных функций, таких как детоксикация и метаболизм [149]. Цистеин является одним из самых мощных антиоксидантов, он играет роль строительного материала для всех протеинов, терапевтические дозы цистеина в значительной степени защищают организм от воздействия рентгеновских лучей и радиации. Недостаток цистеина в организме является причиной появления таких синдромов, как обесцвечивание волос, отеки,

повреждения печени, поражения кожи, вялости мышечной и жировой тканей [150]. Поэтому определение цистеина вызывает огромный интерес в последние годы [151].

Определение цистеина, как и цистеамина, в большинстве случаев проводят в виде его флуоресцирующих или окрашенных производных методами хемилюминесценции [152, 153], флуоресценции [154] или ВЭЖХ [155]. Кроме того, в последние годы появились работы, в которых для спектрофотометрического [114, 117, 124, 136, 155, 155 – 157] или электрохимического [158] определения цистеина предложено использовать наночастицы золота.

Среди соединений катионной природы были выбраны полимер полигексаметиленгуанидина гидрохлорид (ПГМГ) и многозарядный антибиотик класса аминогликозидов – неомицин. Эти соединения в широком диапазоне рН присутствуют в водном растворе в виде многозарядных катионов, причем в случае ПГМГ заряд равномерно распределен вдоль конформационно-подвижных полимерных цепочек, а в случае неомицина – локализован в пределах малой молекулы. Кроме того, эти вещества также проявляют высокую биологическую активность.

Полигексаметиленгуанидин – эффективный дезинфектант, нетоксичный для теплокровных, но уничтожающий одноклеточные организмы и потому нормируемый в водах на довольно низком уровне; его ПДК в воде водоемов и водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования составляет 0,1 мг/л [159]; в воде водоемов рыбохозяйственного назначения – 0,01 мг/л [160]).

Известен титриметрический способ определения ПГМГ методом двухфазного титрования в системе вода – хлороформ [161], также возможно определение ПГМГ кинетическими методами: по влиянию этого соединения на скорость индикаторной реакции окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидина пероксидом водорода [162]. Спектрофотометрические методики определения

ПГМГ основаны на эффекте метахромазии при образовании ассоциатов с красителями, например, с эозином [163] или бромфеноловым красным [164]. В работе [165] показана возможность определения ПГМГ на уровне 5-50 мг/л методом капиллярного электрофореза. Описан способ масс-спектрометрического (МАЛДИ) обнаружения ПГМГ с времяпролетным детектором [166], способы определения ПГМГ методом ядерного магнитного резонанса [167], а также методом потенциометрии [168]. Наиболее чувствительный метод определения полигексаметиленгуанидин-фосфата (торговая марка «Анавидин») — инверсионная вольтамперометрия [169]. Диапазон определяемых концентраций составляет $1 \cdot 10^{-3}$ –1 мг/л. Методика проста и довольно экспрессна, однако требует использования металлической ртути. Описана методика определения катионных поверхностно-активных веществ, пригодная и для определения ПГМГ. Она основана на изменении спектральных характеристик наночастиц золота вследствие их агрегации. Детектирование проводят визуально [113].

Антибиотик неомидин используют не только в практической медицине, но и в животноводстве, на долю которого, согласно данным, приведенным в работе [170], в мире приходится около 50% всех произведенных антибиотиков. В Российской Федерации предельно допустимая концентрация неомидина в пищевых продуктах – 500 мкг/кг.

Методам определения аминогликозидных антибиотиков, включая неомидин, посвящены обзоры [171, 172]. Чаще всего антибиотики этого ряда определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим [173 – 175] и амперометрическим детектором [176 – 179], испарительным детектором светорассеяния [180] и рефрактометрическим детектором [181]. Метод ВЭЖХ применяли для определения аминогликозидов в биологических жидкостях [173 – 175, 182], фармацевтических препаратах [178, 180], водах [177]. Неомидин определяют также методом капиллярного электрофореза [172, 183, 184], различными

вариантами иммуноанализа: гомогенный и гетерогенный иммуноферментный анализ, флуоресцентный и радиоиммунологический [172, 185 – 187]. Описаны методики спектрофотометрического определения неомицина в виде комплексного соединения с медью [188] и ионных ассоциатов с различными окрашенными противоионами [189]. В качестве дериватизирующего агента для флуоресцентного определения неомицина предложены о-фталдиальдегид (предел обнаружения 0,02 мкг/мл) и соли лантанидов (пределы обнаружения 5 – 100 мкг/мл) [172]. Известны также электрохимические методы определения этого соединения [190 – 192].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3. РЕАГЕНТЫ, АППАРАТУРА И ТЕХНИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

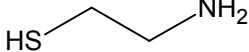
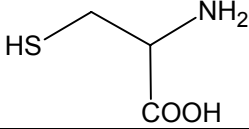
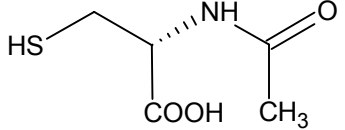
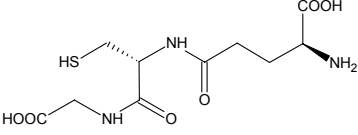
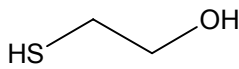
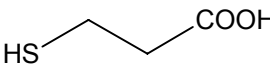
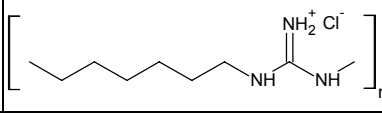
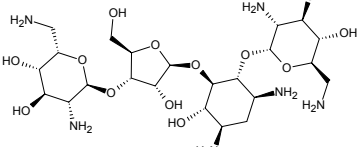
3.1. Исходные вещества, реагенты и объекты исследования

Объекты исследования. Объектами исследования служили различные органические соединения и неорганические анионы (х.ч., ч.д.а.). В табл. 4 представлены их названия, сокращенные названия, структурные формулы и указана форма их существования в растворе при pH 4 – 6.

Реагенты. В ходе экспериментов также были использованы: золотохлористоводородная кислота (х.ч.), цитрат натрия (х.ч.), 6,6-ионен, который был синтезирован и любезно предоставлен нам сотрудниками лаборатории хроматографии Е.Н. Шаповаловой и А.Н. Иоутси, боргидрид натрия (х.ч.), цетилтриметиламмония бромид (ЦТМА) (х.ч.), динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ч.д.а), NaOH (ч.д.а), HCl (х.ч.), борная кислота (х.ч.), тетраборат, хлорид, бромид, йодид, сульфат, сульфит, хлорат, перхлорат, нитрат, нитрит, фосфат, пирофосфат, ацетат и оксалат натрия (х.ч). Реагенты использовали без дополнительной очистки.

Исходные растворы соединений (100-1000 мкг/мл) готовили растворением их точных навесок (либо аликвот) в деионизованной воде; ЭДТА растворяли в растворе NaOH в молярном соотношении 1:1. Рабочие растворы соединений готовили разбавлением исходных непосредственно перед использованием. В качестве сорбента применяли пенополиуретан (ППУ) на основе простых эфиров. Таблетки ППУ диаметром 16 мм и массой (20 ± 2) мг выбивали металлическим пробойником из промышленного листа полимера. Для очистки от примесей таблетки ППУ помещали в ацетон и встряхивали в течение 10 минут, процедуру повторяли дважды, после чего их высушивали под струей воздуха. Таблетки хранили в защищенном от света месте.

Таблица 4. Вещества, исследованные в работе

Тип	Название	Формула	Форма существования в растворе при pH 4-6	Сокращение	Агрегация НЧ в присутствии 100 мкг/мл соединения*		
					НЧ/Ц	НЧ/ЦТМА	НЧ/И
Тиосоединения	Цистеамин		Катион	ЦА	+	-	-
	Цистеин		Цвиттер-ион	ЦН	-	-	-
	Ацетил-цистеин		Анион	АЦ	-	-	-
	Глутатион		Анион, содержащий цвиттер-ионный фрагмент	Г	-	-	-
	Меркапто-этанол		Незаряженная молекула	МЭ	-	-	-
	Меркапто-пропионо-вая кислота		Анион	МПК	-	-	-
Соединения катионной природы	Полигексаметилен-гуанидина гидрохлорид		Поли-катион	ПГМГ	+	-	-
	Неомицин		Много-зарядный катион	Н	+	-	-
Анионы	Сульфат	SO_4^{2-}	Двухза-рядный анион		-	-	+
	Пирофос-фат	$P_2O_7^{4-}$	Двухза-рядный анион (дигидро-)		-	-	+
	Оксалат	$C_2O_4^{2-}$	Двухза-рядный анион		-	-	+
	Другие	$Cl^-, Br^-, I^-, F^-, SO_3^{2-}, S_2O_3^{2-}, ClO_3^-, NO_3^-, NO_2^-, ClO_4^-, PO_4^{3-}, CH_3COO^-, CO_3^{2-}$	Анион		-	-	-

* «+» - вызывает агрегацию, «-» - не вызывает агрегацию; НЧ/ЦТМА – НЧ, стабилизированные бромидом цетилтриметиламмония

3.2. Аппаратура и техника эксперимента

Аппаратура. Измерение оптической плотности растворов проводили на спектрофотометре СФ-103 (Аквилон) в диапазоне длин волн 400 – 800 нм. Диффузное отражение и спектры диффузного отражения в видимой области регистрировали на мини-спектрофотометре Eye-One Pro (X-Rite); заявленная производителем погрешность не более 0,5 %. Значения рН контролировали на иономере «Эксперт 001» (Эконикс). Хроматограммы образцов регистрировали на жидкостном хроматографе «Цвет Яуза» (НПО Химаавтоматика) с амперометрическим детектором ($E = 1 \text{ В}$). Использовали хроматографическую колонку «Luna C18» (Phenomenex). В качестве подвижной фазы использовали смесь, состоящую из 35% ацетонитрила и 65% воды. Объем пробы составлял 20 мкл, ввод пробы осуществляли с помощью петли дозатора. Скорость потока составляла 0,4 мл/мин. Электронно-микроскопические исследования проводили на просвечивающем электронном микроскопе LEO912 AB OMEGA (Carl Zeiss) и сканирующем электронном микроскопе Supra 50 VP LEO (Carl Zeiss) в центре коллективного пользования МГУ имени М.В. Ломоносова.

Техника эксперимента. Для спектрофотометрического изучения агрегации наночастиц под воздействием различных соединений в пробирки вносили последовательно исследуемое соединение, вспомогательные реагенты (если нужно), деионизованную воду и раствор НЧ золота. Измерение спектров поглощения растворов осуществляли по истечении времени, необходимого для протекания процессов агрегации.

В случае сорбционного концентрирования НЧ на пенополиуретане применяли различные подходы, включающие в себя изменение

последовательности внесения ППУ, НЧ и определяемых соединений. Так, в одном из вариантов проводили агрегацию наночастиц под воздействием определяемого соединения в водном растворе, а продукты концентрировали на ППУ; в другом варианте использовали готовый предварительно полученный реагент – нанокompозитный материал на основе ППУ и НЧ, – который вносили в раствор, содержащий исследуемое соединение и проводили агрегацию НЧ в фазе ППУ. Измерение спектров диффузного отражения осуществляли по истечении времени, необходимого для протекания процессов агрегации.

Степень агрегации НЧ характеризовали как отношение оптических плотностей при длинах волн поглощения агрегатов и индивидуальных НЧ $A_{\text{агр}}/A_{520}$. О содержании наночастиц золота в фазе ППУ судили, измеряя значения функции Кубелки-Мунка F :

$$F(R) = \frac{(1-R)^2}{2 \cdot R} = \frac{2,3 \cdot c \cdot \varepsilon}{S}$$

где R — диффузное отражение; ε — молярный коэффициент поглощения сорбата, $M^{-1} \text{ см}^{-1}$; c — его концентрация, M ; S — коэффициент рассеивания, см^{-1} . Степень агрегации НЧ в фазе ППУ по аналогии с водными растворами характеризовали отношением значений функции Кубелки-Мунка при длинах волн поглощения агрегатов и индивидуальных НЧ $F_{\text{агр}}/F_{530}$.

4. СИНТЕЗ И ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА

4.1. Методики синтеза

С целью изучения влияния природы модификатора НЧ и их заряда на процессы агрегации были синтезированы НЧ четырех типов: отрицательно заряженные НЧ, стабилизированные цитрат-ионами (НЧ/Ц), положительно заряженные НЧ, стабилизированные катионом ЦТМА (НЧ/ЦТМА), положительно заряженные НЧ, стабилизированные поликатионом 6,6-ионен (НЧ/И), и практически незаряженные НЧ, стабилизированные меркаптоэтанолом (НЧ/МЭ).

Методика синтеза наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия. Синтез наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия, осуществляли по методу Френса [192]. В качестве восстановителя и стабилизатора использовали цитрат натрия. К преимуществам наночастиц, полученных таким способом, можно отнести узкое распределение по размерам, интенсивную полосу поглощения в водных растворах при 520 нм, а также способность относительно легко агрегировать в присутствие некоторых соединений, что приводит к появлению в спектре поглощения полосы агрегатов наночастиц при 650 – 750 нм.

Для осуществления синтеза 1 мл 1%-го раствора HAuCl_4 вносили в круглодонную колбу емкостью 250 мл, добавляли 100 мл деионизованной воды и доводили до кипения. Затем переносили колбу на магнитную мешалку и при перемешивании добавляли к горячему раствору 1,4 мл 1%-го раствора цитрата натрия. После того как раствор приобрел темно-синюю окраску, магнитный якорек извлекали, а раствор нагревали и кипятили в течение 5 мин до появления устойчивой рубиновой окраски. Смесь охлаждали при перемешивании. Полученный раствор выдерживали в темном месте в течение 1 суток для полной стабилизации наночастиц и завершения процессов перекристаллизации.

Концентрация НЧ золота, синтезированных таким образом, равна 68 мкг/мл (0,35 мМ по золоту).

Методика синтеза наночастиц золота, стабилизированных 6,6-ионеном. Синтез осуществляли по модифицированному боргидридному методу, в качестве стабилизатора использовали 6,6-ионен.

Синтез наночастиц золота, стабилизированных 6,6-ионеном, осуществлен впервые, поэтому было изучено влияние различных факторов на этот процесс.

Очень важное влияние оказывает концентрация соляной кислоты в реакционной смеси. Из рис. 11а видно, что в отсутствие соляной кислоты, а также при ее концентрации 2 и 4 мМ (кривые 1 – 3) в спектрах поглощения продуктов синтеза наблюдается широкая полоса, покрывающая весь изученный диапазон длин волн, что говорит о сильной агрегации НЧ. При концентрациях кислоты 20 мМ и больше (кривая 6) в спектре наблюдается полоса поглощения агрегатов НЧ при 650 нм. При концентрациях HCl 7 и 10 мМ (кривые 4, 5) наблюдается четкая полоса ППР индивидуальных НЧ. Данный эффект может быть объяснен, если построить зависимость отношения оптических плотностей при 650 и 520 нм от концентрации кислоты (рис. 11б). Такая зависимость представляет собой кривую с минимумом (кривая 1), причем ее левая ветвь практически повторяет ход зависимости рН смеси от концентрации добавленной кислоты (кривая 2). Это говорит о том, что агрегация НЧ при низких концентрациях HCl обусловлена недостатком ионов водорода. Агрегация наночастиц при высоких концентрациях кислоты, скорее всего, связана с влиянием хлорид-ионов. На основании полученных данных в качестве рабочего был выбран интервал концентраций добавки кислоты от 7 до 10 мМ.

Изучено влияние на синтез наночастиц соотношения количеств золота и ионена, взятых для синтеза, и концентрации восстановителя боргидрида натрия. Из рис. 12 видно, что наименьшее значение отношения оптических плотностей A_{650}/A_{520} и наибольший выход наночастиц (A_{520}) достигаются при соотношении золото:ионен = 1:3 и концентрациях боргидрида натрия больше 3 мМ.

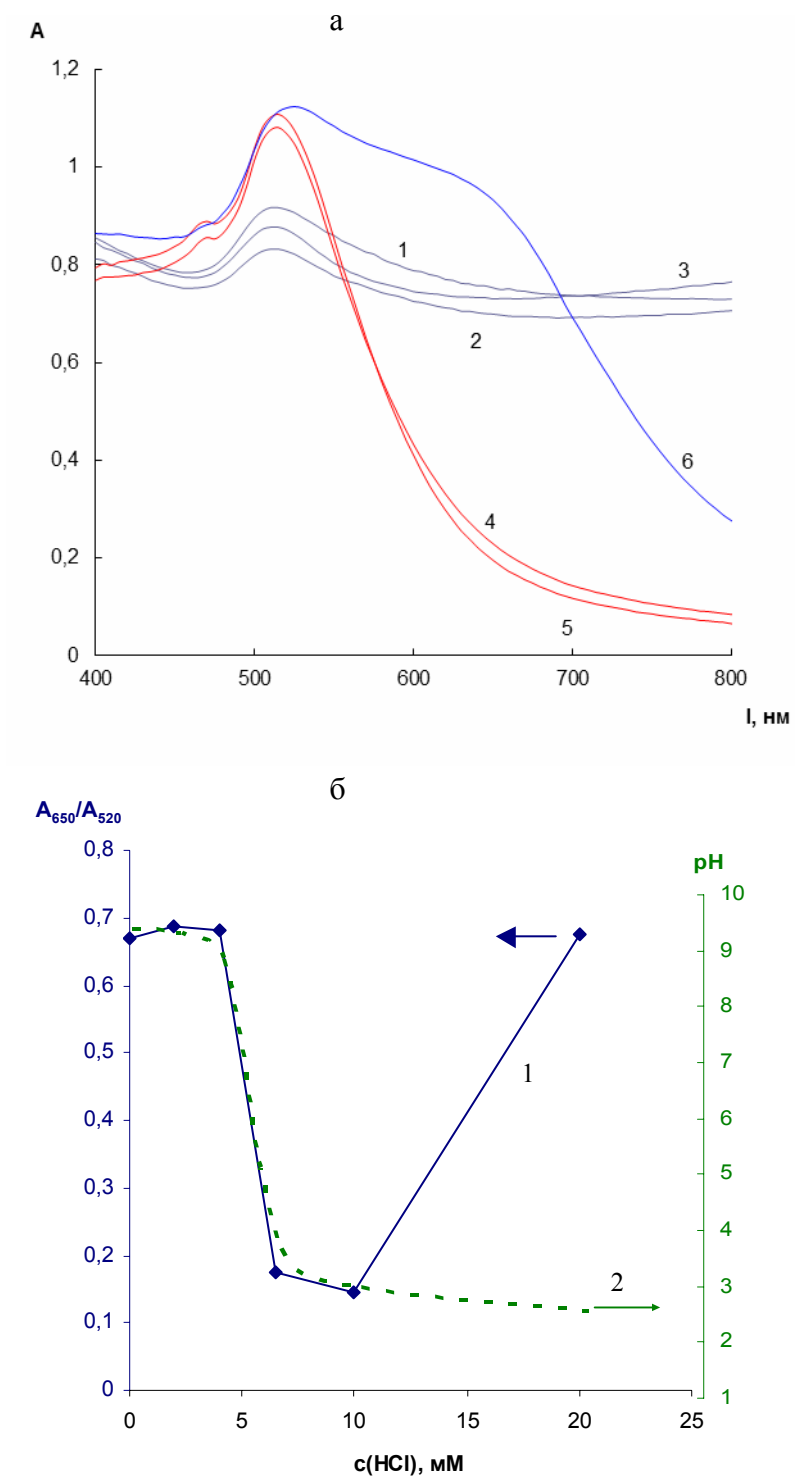


Рис. 11. Спектры поглощения продуктов, полученных в средах различной кислотности (а), и зависимость отношения A_{650}/A_{520} и рН раствора от концентрации добавки HCl (б).

а: 0 (1); 2 (2); 4 (3); 7 (4); 10 (5) и 20 мМ HCl (6).

б: A_{650}/A_{520} (1), рН раствора (2).

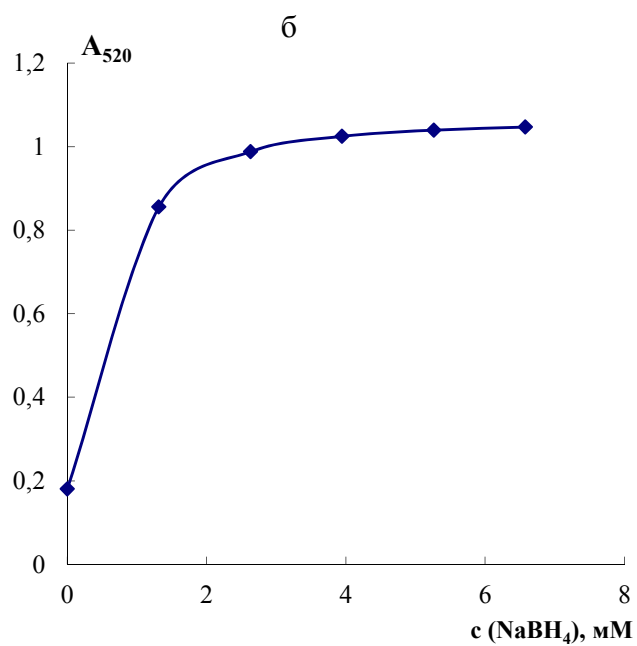
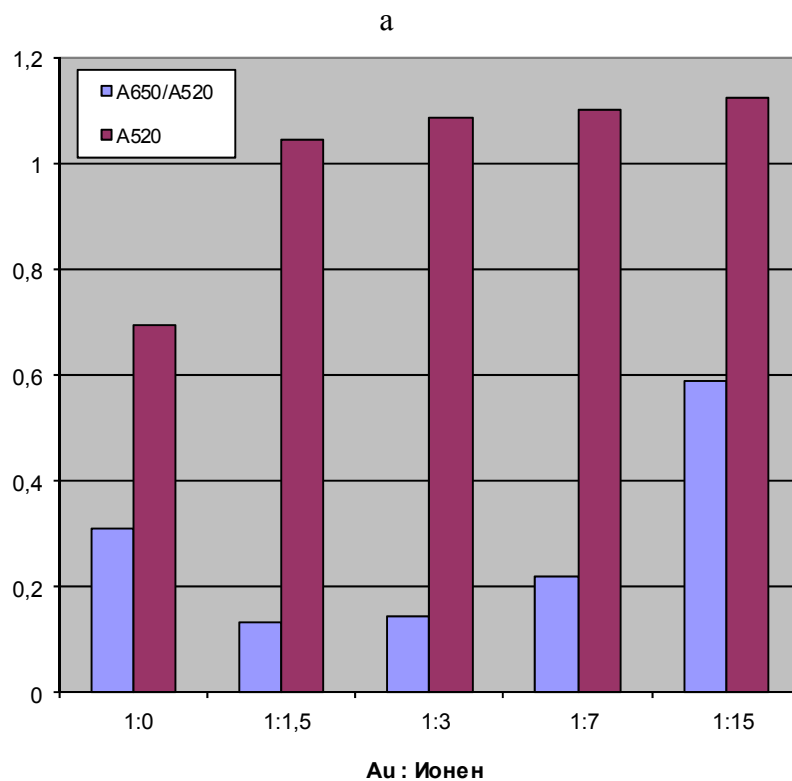


Рис. 12. Зависимость отношения A_{650}/A_{520} и интенсивности полосы ППР НЧ от мольного соотношения Au:ионен (а) и зависимость интенсивности полосы ППР НЧ от концентрации NaBH_4 (б).

При изучении стабильности синтезированных НЧ во времени замечено различное поведение систем, полученных при разном содержании в смеси для синтеза соляной кислоты (рис. 13). Так, в спектре смеси, полученной при концентрации кислоты 4 мМ (рис. 13а), широкая полоса, наблюдаемая сразу после синтеза, изменяется – оптическая плотность в ее длинноволновой части постепенно уменьшается, при этом наблюдается появление полосы при 650 нм, что может говорить о разрушении крупных агрегатов и формировании из них более мелких. Цвет раствора при этом меняется с серого на синий. Образец, синтезированный в 20 мМ HCl, напротив, изначально имеет полосу при 650 нм; с течением времени наблюдается уменьшение оптической плотности во всем изученном диапазоне длин волн (рис. 13б). Цвет при этом меняется с синего на светло-серый. Образец, полученный в 7 мМ HCl устойчив и сохраняет рубиновый цвет в течение как минимум 4 месяцев (рис. 13в). На основании полученных данных в качестве оптимальных условий были выбраны следующие: концентрация HCl 7 мМ, концентрация $\text{NaBH}_4 > 3$ мМ, соотношение Au : Ионен = 1 : 3.

Таким образом, разработанная методика синтеза наночастиц золота, стабилизированных 6,6-ионеном, включала следующую последовательность операций. В круглодонную колбу на 250 мл вносили 18 мл деионизованной воды, содержащей 0,05 г 6,6-ионена, добавляли 6,6 мл 0,1 М HCl и помещали колбу на магнитную мешалку. Затем по каплям при перемешивании добавляли 25 мл деионизованной воды, содержащей 1,25 мл 1% раствора HAuCl_4 , и перемешивали 15 минут, после чего по каплям добавляли 50 мл деионизованной воды, содержащей 0,025 г NaBH_4 . Смесь перемешивали в течение 30 мин и оставляли на 1 сутки для завершения процессов перекристаллизации и стабилизации характеристик наночастиц. Концентрация полученных наночастиц составляла 73 мкг/мл (0,37 мМ по золоту). Такие НЧ заряжены положительно, что подтверждено расчётом ζ -потенциала. Опубликована статья, описывающая разработанную нами методику синтеза НЧ, стабилизированных 6,6-ионеном [194].

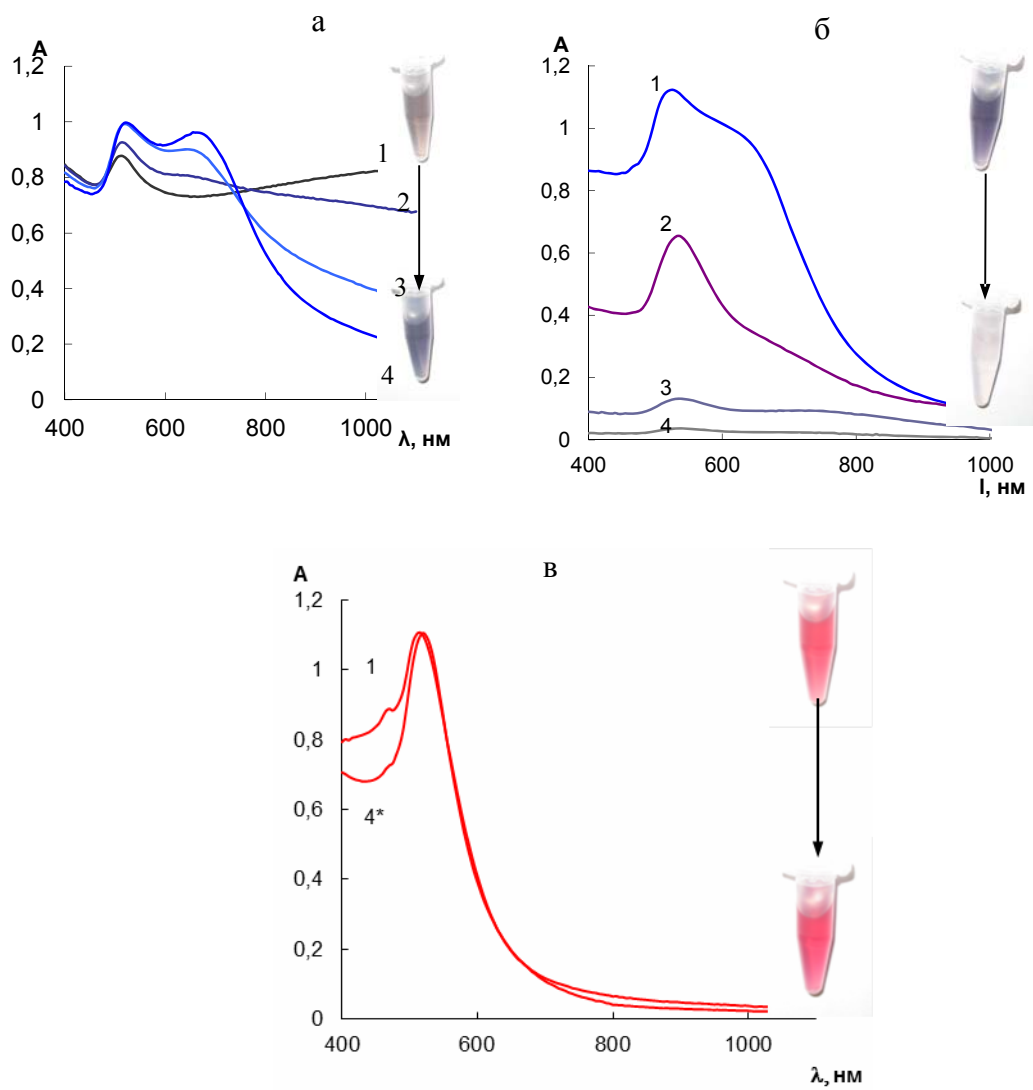


Рис. 13. Спектры поглощения образцов, синтезированных при концентрации HCl 4 (а), 20 (б) и 7 (в) mM, по прошествии 1 (1), 5 (2), 25 (3), 75 часов (4) и 4 месяцев (в, 4*).

Методика синтеза наночастиц золота, стабилизированных цетилтриметиламмоний бромидом. Синтез наночастиц золота, стабилизированных ЦТМА, осуществляли по боргидридной методике, подобно описанным в литературе [195, 196]. В данной методике в качестве восстановителя использовали боргидрид натрия, в качестве стабилизатора – ЦТМА. Согласно литературным данным [197] и результатам осуществленного нами измерения ζ -потенциала методом динамического рассеяния света, такие наночастицы заряжены положительно.

К 10 мл 0,012 М раствора хлорида ЦТМА по каплям при интенсивном перемешивании добавляли 10 мл 0,05 % раствора HAuCl_4 , полученный раствор перемешивали 15 мин. Затем по каплям при перемешивании добавляли 20 мл 0,05 % раствора NaBH_4 . После перемешивания в течение 30 мин раствор выдерживали 1 сутки для полной стабилизации НЧ и завершения процессов перекристаллизации. Концентрация НЧ золота, синтезированных таким образом, равна 73 мкг/мл (0,37 мМ по золоту).

Методика синтеза наночастиц золота, стабилизированных меркаптоэтанолам. Синтез наночастиц золота, стабилизированных меркаптоэтанолам, осуществляли также по боргидридной методике, по аналогии с методикой синтеза наночастиц, стабилизированных ЦТМА, с использованием в качестве стабилизатора меркаптоэтанола.

К 10 мл 0,01 М раствора меркаптоэтанола по каплям при интенсивном перемешивании добавляли 10 мл 0,05 % раствора HAuCl_4 , полученный раствор перемешивали 15 мин. Затем к раствору по каплям при постоянном перемешивании добавляли 20 мл 0,05 % раствора NaBH_4 , и перемешивали раствор в течение 30 мин. Концентрация НЧ золота в растворе равна 73 мкг/мл (0,37 мМ).

Поскольку наночастицы золота, стабилизированные меркаптоэтанолом, практически незаряжены, их водные растворы неустойчивы и подвергаются агрегации в течение суток. Поэтому во всех экспериментах использовали только свежеприготовленные золи таких наночастиц.

4.2. Характеристики наночастиц золота

Как уже упоминалось выше, важной характеристикой НЧ золота является положение и форма полосы ППР. Спектры поглощения синтезированных НЧ приведены на рис. 14. Синтезированные НЧ характеризуются наличием в спектрах поглощения выраженной полосы ППР в области 510 – 530 нм во всех случаях, кроме НЧ, стабилизированных МЭ. Последние характеризуются плохо выраженной полосой ППР, что свидетельствует о широком распределении по размерам и значительной агрегации, и неустойчивостью во времени, в связи с чем в дальнейшем изучении нами не рассматривались. Спектры наночастиц остальных трех типов схожи друг с другом и незначительно отличаются положением максимума.

Электронные микрофотографии, гистограммы распределения НЧ по размерам и электронные дифрактограммы представлены на рис. 15 – 17. В табл. 5 систематизированы характеристики полученных НЧ. Гидродинамический диаметр и ζ -потенциал наночастиц оценивали с помощью метода динамического рассеяния света (ДРС), а средний размер и форму наночастиц – с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Расчет ζ -потенциала показал, что наночастицы, стабилизированные цитратом натрия, заряжены отрицательно и достаточно стабильны, их средний размер по данным ПЭМ составляет 23 нм. Наночастицы, стабилизированные меркаптоэтанолом, имеют небольшой отрицательный

заряд (можно сказать, что они практически не заряжены) и в значительной степени агрегированы, о чем свидетельствует большое значение гидродинамического диаметра (99 нм), что также соотносится с их спектром. Наночастицы, стабилизированные ЦТМА и 6,6-ионеном, заряжены положительно, причем первые обладают маленьким размером (2,3 нм) и крайне высокой стабильностью (ζ -потенциал превышает 40 мВ). Наночастицы, стабилизированные 6,6-ионеном, имеют широкое распределение по размерам и наибольший молярный коэффициент поглощения ($3,9 \cdot 10^3$ л/(моль Au·см)). Их средний размер составляет 16 нм, а гидродинамический диаметр – 42 нм. Интересно отметить, что помимо сферических, в образце НЧ, стабилизированных 6,6-ионеном, присутствовали наночастицы треугольной, цилиндрической, гексагональной и пентагональной формы.

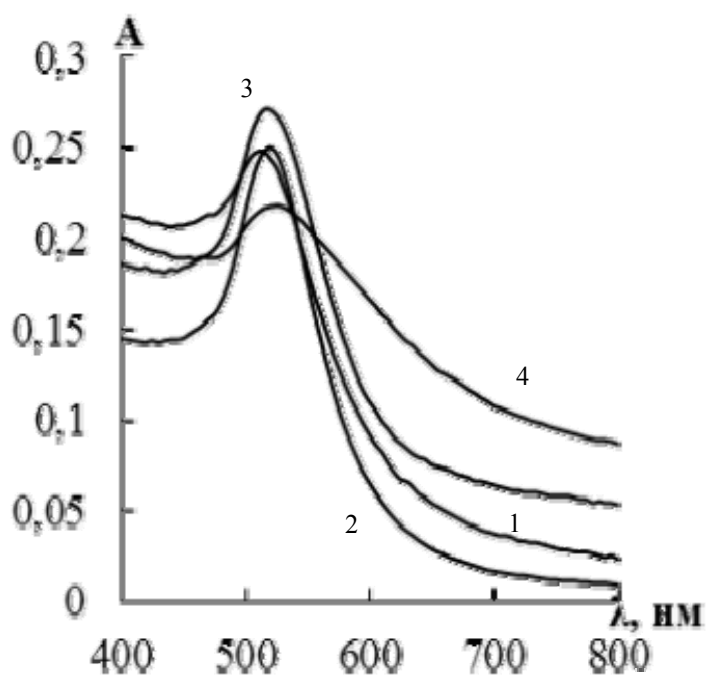
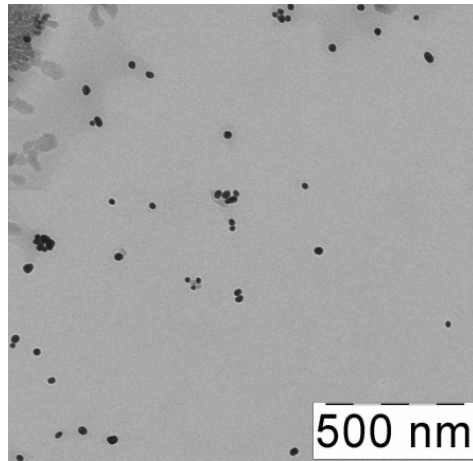
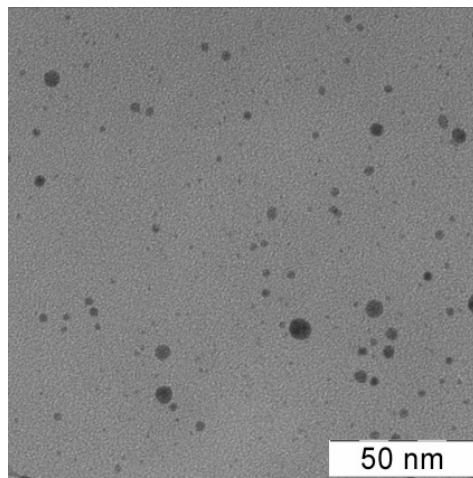


Рис. 14. Спектры поглощения водных растворов НЧ золота, стабилизированных цитратом натрия (1), цетилтриметиламмоний бромидом (2), 6,6-ионеном (3) и меркаптоэтанолом (4). $c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл.

а



б



в

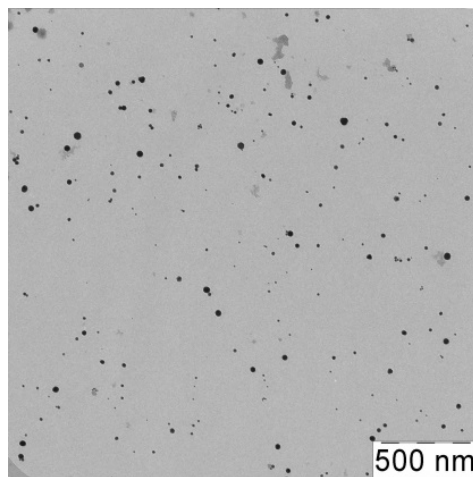


Рис. 15. Электронные микрофотографии НЧ золота, стабилизированных цитратом натрия (а), бромидом цетилтриметиламмония (б) и 6,6-ионеном (в).

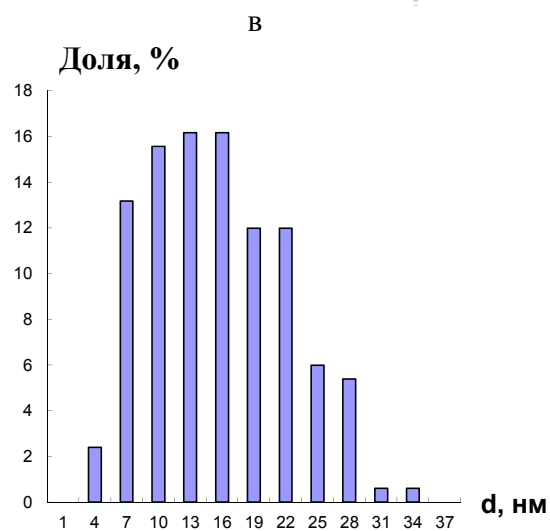
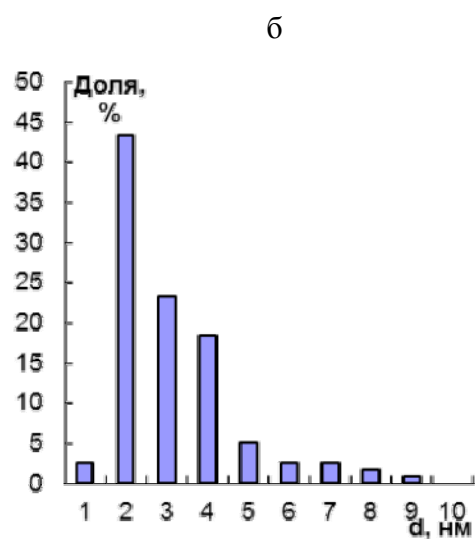
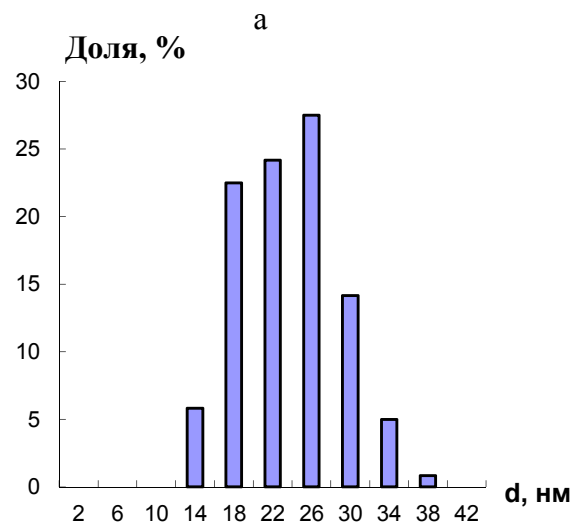


Рис. 16. Электронные микрофотографии и гистограммы распределения по размерам НЧ золота, стабилизированных цитратом натрия (а), бромидом цетилтриметиламмония (б) и 6,6-ионеном (в).

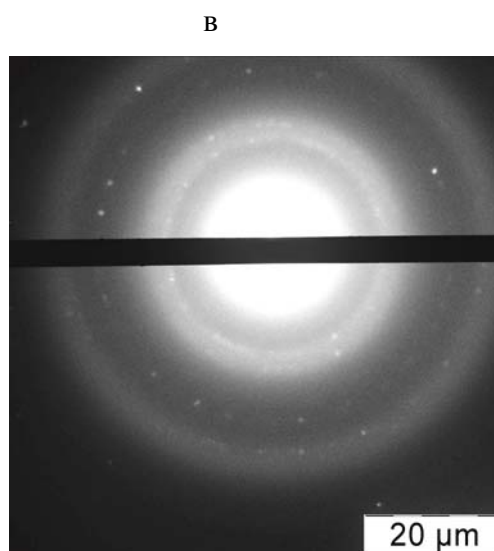
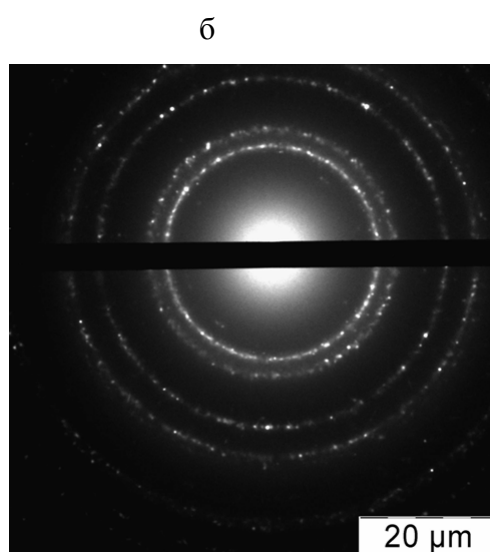
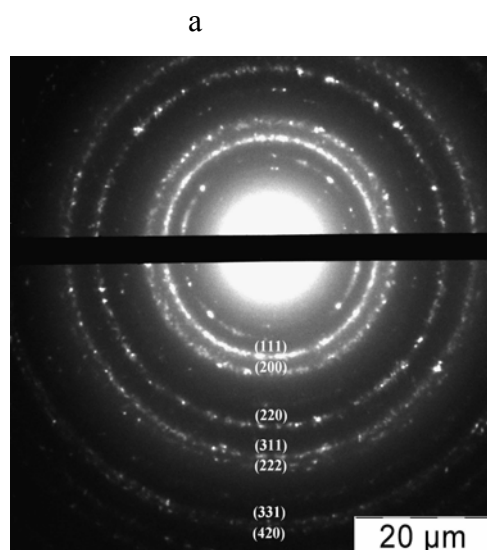


Рис. 17. Электронные дифрактограммы наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия (а), бромидом цетилтриметиламмония (б) и 6,6-ионеном (в).

Табл. 5. Характеристики полученных НЧ

Стабили- затор Харак- теристика	Цитрат натрия	МЭ	ЦТМА	6,6-ионен
Условный заряд стабилизатора	-	0	+	+
ζ-потенциал, мВ	-18,65	-4,2	40,9	7,7
λ полосы ППР, нм	525	530	515	520
Молярный коэффициент поглощения, л/(моль Аи·см)	$3,6 \cdot 10^3$	$3,1 \cdot 10^3$	$3,6 \cdot 10^3$	$3,9 \cdot 10^3$
Гидродинамический диаметр, нм (метод ДРС)	42	99	35	42
Размер (<d>), нм (метод ПЭМ)	23	–	2,9	16
Форма	Сферические	–	Сфери- ческие	Сферические (73 %), пентагональные (14 %), гексагональные (7 %), треугольные (4 %), цилиндрические (2 %)

5. ОСОБЕННОСТИ АГРЕГАЦИИ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ В РАСТВОРЕ

Изучено взаимодействие НЧ (за исключением неустойчивых НЧ, стабилизированных МЭ), стабилизированных различными соединениями, с исследуемыми веществами разных типов, указанными в табл. 4, – тиосодинамидами, соединениями катионной природы и анионами. Агрегация НЧ сопровождается уменьшением полосы ППР индивидуальных НЧ при 520 нм и появлением полосы поглощения агрегатов в области 650 – 750 нм. По мере протекания агрегативных процессов наблюдается увеличение этой полосы и ее батохромное смещение, что является следствием роста размера агрегатов и их количества. О глубине протекания агрегации судили, сравнивая отношение оптических плотностей при длинах волн, соответствующих поглощению агрегатов и индивидуальных наночастиц $A_{\text{агр}}/A_{520}$. Согласно литературным данным, такое отношение часто используют для построения градуировочных графиков при определении ионов металлов и органических соединений. Результаты представлены на гистограммах (рис. 18).

Наночастицы, стабилизированные цитратом натрия, в водном растворе в отсутствие дополнительных реагентов агрегируют лишь в присутствии цистеамина, неомицина и ПГМГ. При увеличении концентрации соединения до 150 мкг/мл также наблюдается агрегация под действием глутатиона. Наночастицы, стабилизированные ЦТМА, как и следовало ожидать, исходя из высокой величины ζ -потенциала, весьма стабильны, и не агрегируют в присутствии соединений изученных типов. Агрегация наночастиц, стабилизированных 6,6-иононом, возможна только в присутствии ионов, несущих относительно большой отрицательный заряд: сульфата, пирофосфата и оксалата. Агрегация в присутствии карбоната, фосфата и сульфита не наблюдается, по-видимому, поскольку в условиях эксперимента они протонируются, что уменьшает их заряд.

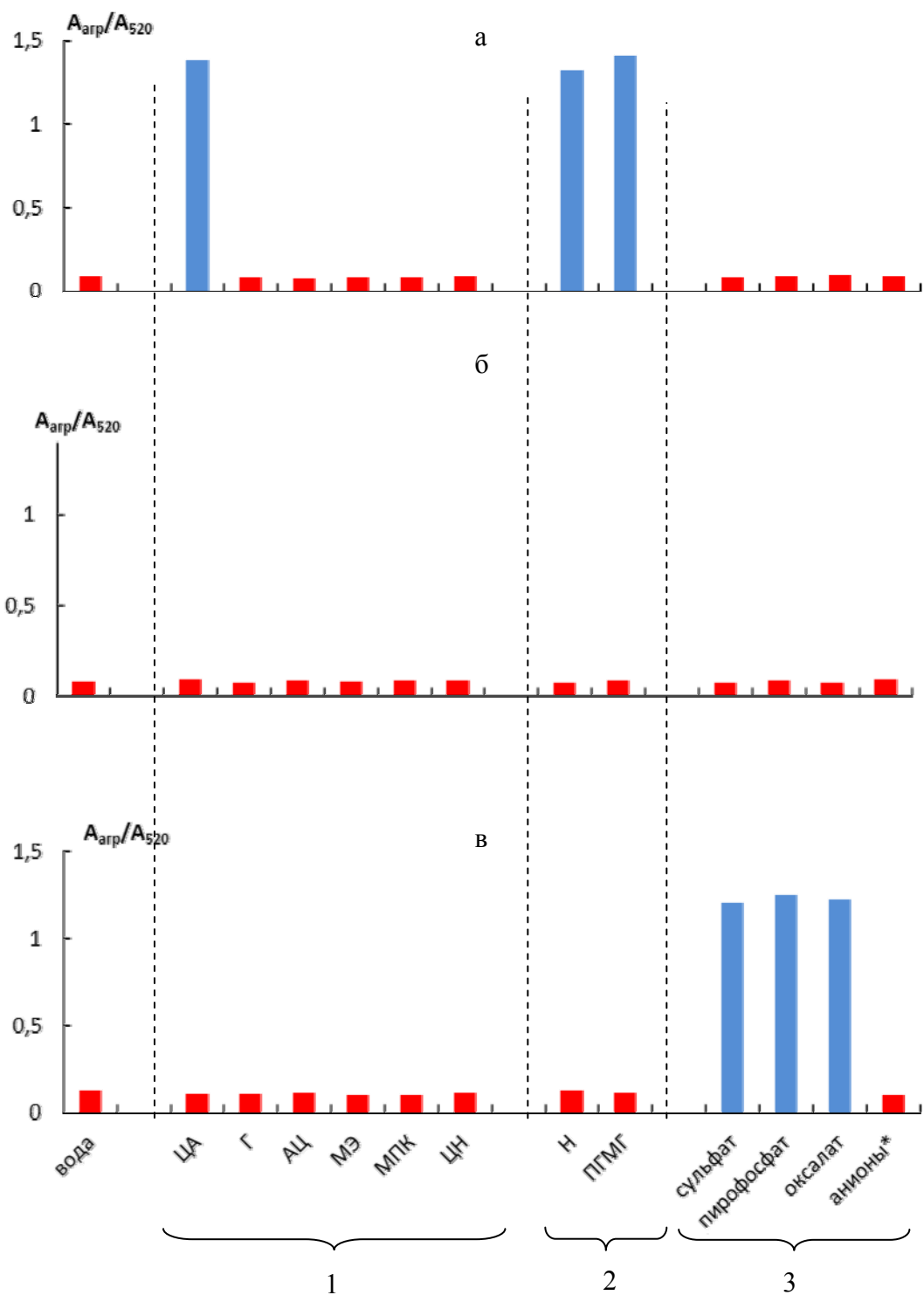


Рис. 18. Степень агрегации НЧ золота, стабилизированных цитратом натрия (а), ЦТМА (б) и 6,6-ионеном (в), в присутствии тиосодинений, $c = 1$ мкг/мл (1), соединений катионной природы, $c = 1$ мкг/мл (2), и анионов, $c = 1$ мг/мл (3).

* Cl^- , Br^- , I^- , F^- , SO_3^{2-} , $S_2O_3^{2-}$, ClO_3^- , NO_3^- , NO_2^- , ClO_4^- , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , CH_3COO^- .

5.1. Наночастицы золота, стабилизированные цитратом натрия

В предварительных экспериментах установлено, что НЧ, стабилизированные цитратом натрия, легко агрегируют в присутствии некоторых тиосоединений (цистеамин) и соединений катионной природы (ПГМГ, неомицин). Агрегация сопровождается появлением полосы агрегатов при 660 – 750 нм в зависимости от соединения (рис. 19). Взаимодействие с соединениями данных типов изучено детально.

5.1.1. Взаимодействие с тиосоединениями

В состав тиосоединений входит атом серы, способный к образованию прочной связи S – Au, обеспечивает их сильное взаимодействие с НЧ. В ряду изученных в нашей работе тиосоединений только цистеамин уже при концентрации 0,03 мкг/мл вызывает заметную агрегацию НЧ. Цистеин, ацетилцистеин, глутатион, меркаптоэтанол и меркаптопропионовая кислота не вызывают агрегацию даже при концентрациях 100 мкг/мл. Мы предполагаем, что это в первую очередь связано с их различным ионным состоянием в растворе. В условиях эксперимента (рН 4,5) органическое основание цистеамин ($pK_b = 5,0$) находится в растворе в виде положительно заряженной протонированной формы, цистеин – в виде цвиттер-иона ($pK_a = 3,4$, $pK_b = 7,6$), меркаптоэтанол – в виде нейтральной молекулы, а меркаптопропионовая кислота ($pK_a = 4,3$), ацетилцистеин ($pK_a = 3,3$) и глутатион ($pK_{a1} = 2,2$, $pK_{a2} = 3,4$, $pK_b = 6,9$) – преимущественно в форме отрицательно заряженных частиц. В результате сорбции цистеамина на наночастицах золота не только уменьшается агрегативная устойчивость НЧ вследствие уменьшения заряда поверхности, но и появляется возможность их связывания за счет электростатического взаимодействия положительно заряженной аммониевой группы цистеамина на поверхности одной частицы с отрицательно заряженной цитратной группой на поверхности другой. Оба эти эффекта способствуют агрегации наночастиц. Предполагаемая схема агрегации НЧ под воздействием цистеамина представлена на рис. 20.

Установлено, что при концентрациях $> 0,15$ мг/мл агрегация также

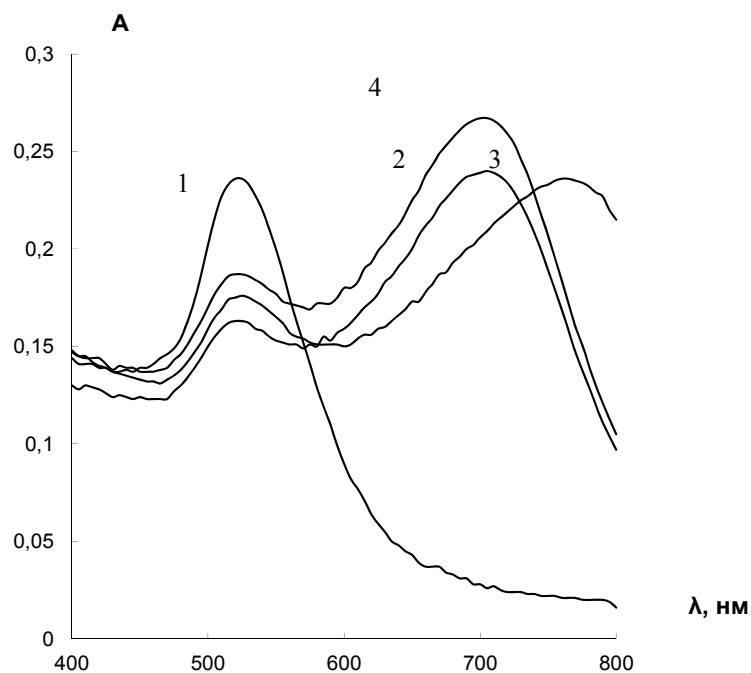


Рис. 19. Спектры поглощения водных растворов наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия, в отсутствие (1) и в присутствии 0,05 мкг/мл цистеина (2), 0,05 мкг/мл неомидина (3) и 0,065 мкг/мл ПГМГ (4). $c_{\text{НЧ}} = 15 \text{ мкг/мл}$, $t = 2 \text{ мин.}$

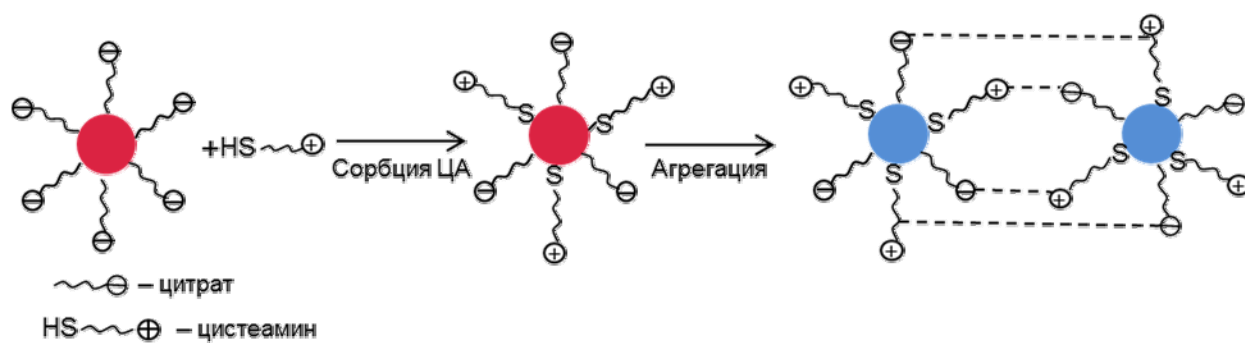


Рис. 20. Предполагаемая схема агрегации наночастиц золота под воздействием цистеина

становится возможной в присутствии глутатиона, что может быть связано с большим размером молекулы этого соединения и конформационной подвижностью ее функциональных групп, обеспечивающими возможность образования связей-сшивок между наночастицами.

Из литературных данных известно, что агрегацию наночастиц золота, стабилизированных цитрат-ионами, могут вызывать катионы металлов. С целью устранения мешающего влияния катионов металлов нами было предложено вводить в раствор такой хорошо известный маскирующий агент как ЭДТА. Преимущества этого соединения состоят в прочности образующихся хелатов металлов, отсутствии у них окраски и, что особенно важно с точки зрения механизма агрегации НЧ, существовании комплексонов металлов в виде анионных форм, не участвующих во взаимодействии с НЧ/Ц, также несущими отрицательный заряд. Обнаружено, что в присутствии ЭДТА наблюдается агрегация НЧ не только под воздействием цистеамина, но и в присутствии меркаптоэтанола и цистеина. Этот эффект может являться следствием уменьшения стабильности коллоидной системы вследствие сжатия слоя противоионов вблизи поверхности наночастиц, обусловленного повышением ионной силы при добавлении ЭДТА. Подобные наблюдения описаны в литературе и начинают проявляться при ионной силе 10 – 40 мМ [157, 198]. Мы предполагаем, что наиболее значимую роль в этих процессах играет катион натрия, который, проникая в плотный слой противоионов отрицательно заряженной наночастицы, уменьшает заряд ее поверхности и ζ -потенциал. Таким образом, уменьшается электростатическое отталкивание наночастиц и возрастает «чувствительность» системы к присутствию любых веществ, способных вызвать агрегацию.

Изучено влияние различных факторов на агрегацию наночастиц золота под воздействием цистеамина, цистеина и глутатиона: времени взаимодействия, рН, концентрации наночастиц и тиосоединения. Агрегация в полной мере протекает за 1 – 2 мин, в течение которых окраска раствора меняется с красной на фиолетовую, после чего изменения прекращаются (рис. 21).

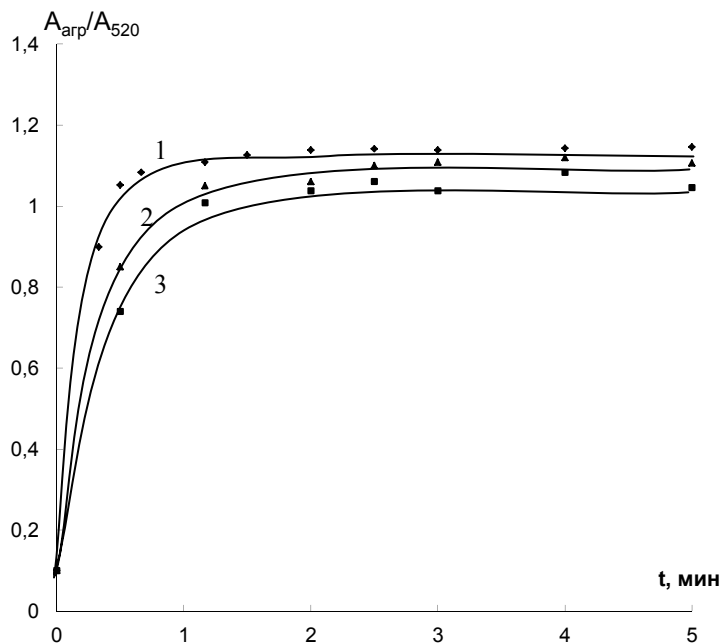


Рис. 21. Зависимость соотношения $A_{агр}/A_{525}$ от времени взаимодействия НЧ с 0,03 мкг/мл цистеамина (1), 0,3 мкг/мл цистеина в 0,01 М ЭДТА (2) и 0,35 мкг/мл глутатиона (3), $c_{НЧ} = 15$ мкг/мл.

Исследована зависимость степени агрегации наночастиц в присутствии тиосоединений от pH раствора. Необходимую кислотность среды создавали при помощи растворов соляной кислоты и гидроксида натрия. Полученные зависимости представлены на рис. 22. Характер зависимостей $A_{агр}/A_{520}$ в присутствии тиосоединения и в его отсутствие, а также их разностей от pH указывает на то, что цистеамин и цистеин вызывают агрегацию наночастиц в интервале pH 3 – 8, а глутатион при pH 3 – 5. При pH < 3 наблюдается агрегация наночастиц, вызванная ионами водорода, поэтому вклад соединения в изменение сигнала уменьшается, а при pH > 8 агрегация уменьшается за счет частичной диссоциации протонированных аминогрупп соединения, а также за счет увеличения степени диссоциации цитрат-ионов на поверхности наночастиц, что увеличивает поверхностный заряд и стабильность системы. Смещение правой границы интервала оптимальных pH в кислую область для глутатиона объясняется переходом его в форму

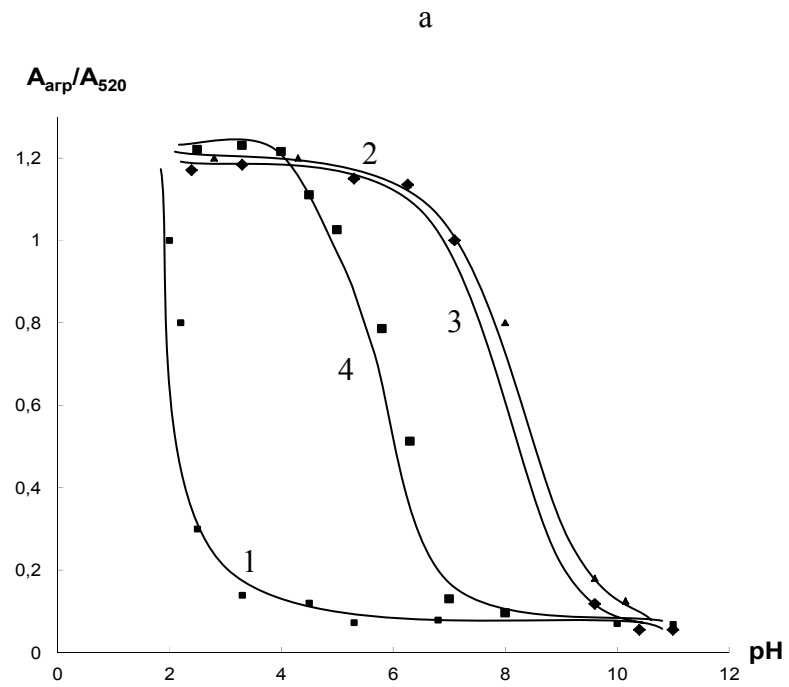


Рис. 22. Зависимость отношения A_{arp}/A_{520} от pH раствора в отсутствие (1) и в присутствии 0,03 мкг/мл цистеамина (2), 0,3 мкг/мл цистеина и 0,01 М ЭДТА (3) и 0,35 мг/мл глутатиона (4) (а) и соответствующая разность сигналов (б). $c_{HCl} = 15$ мкг/мл; $t = 2$ мин.

аниона при $pH > 4$. В дальнейших экспериментах pH раствора поддерживали равным 7 – 8 для ЦН и ЦА и 4 – 5 для глутатиона.

Изучено влияние концентрации соединения и НЧ на агрегацию. На рис. 23а – 25а на показаны изменения в спектрах поглощения водных растворов НЧ при введении различных концентраций цистеамина, глутатиона и цистеина соответственно. Как видно из представленных данных, с ростом концентрации соединения наблюдается уменьшение полосы поверхностного плазмонного резонанса индивидуальных НЧ при 520 нм, появляется и увеличивается полоса поглощения в области 650 – 750 нм, соответствующая агрегатам НЧ. На рис. 23б – 25б приведены зависимости отношения оптических плотностей растворов НЧ золота при длинах волн полного поглощения агрегатов НЧ и 520 нм от концентрации тиосоединения. Из представленных данных видно, что цистеамин вызывает агрегацию при концентрациях больших, чем 0,01 мкг/мл; соотношение A_{750}/A_{520} практически линейно связано с концентрацией цистеамина в интервале 0,02 – 0,1 мкг/мл. При концентрациях цистеамина больше 0,1 мкг/мл наблюдается максимально достижимая в данных условиях агрегация наночастиц. Глутатион вызывает заметную агрегацию лишь при концентрациях больше 0,15 мг/мл, степень агрегации связана с концентрацией глутатиона вплоть до 0,4 мг/мл, что более чем на три порядка хуже по сравнению с цистеамином. Цистеин в присутствии ЭДТА влияет на степень агрегации НЧ в диапазоне 0,1 – 0,5 мкг/мл.

Наличие на зависимостях горизонтального участка в области малых концентраций, по-видимому, связано с необходимостью достижения определенной концентрации соединения, достаточной для снижения поверхностного заряда и дзета-потенциала НЧ.

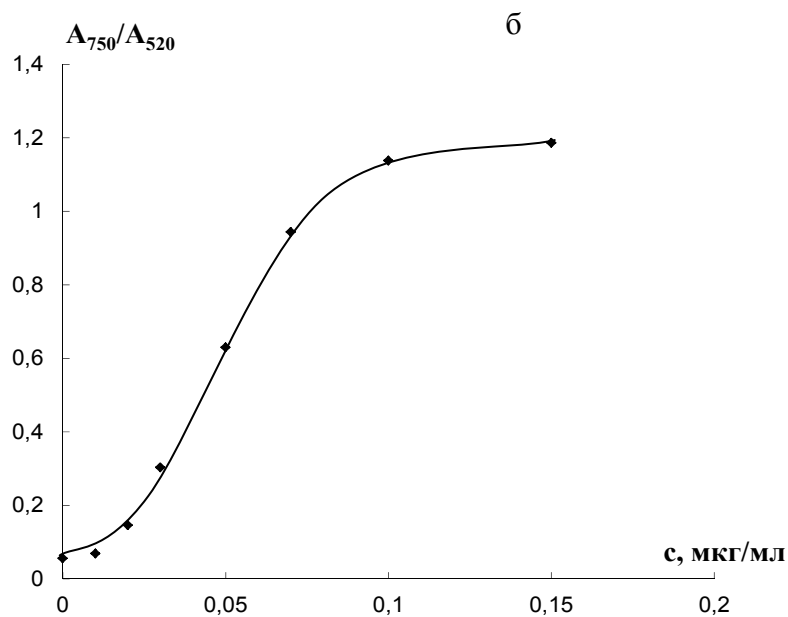
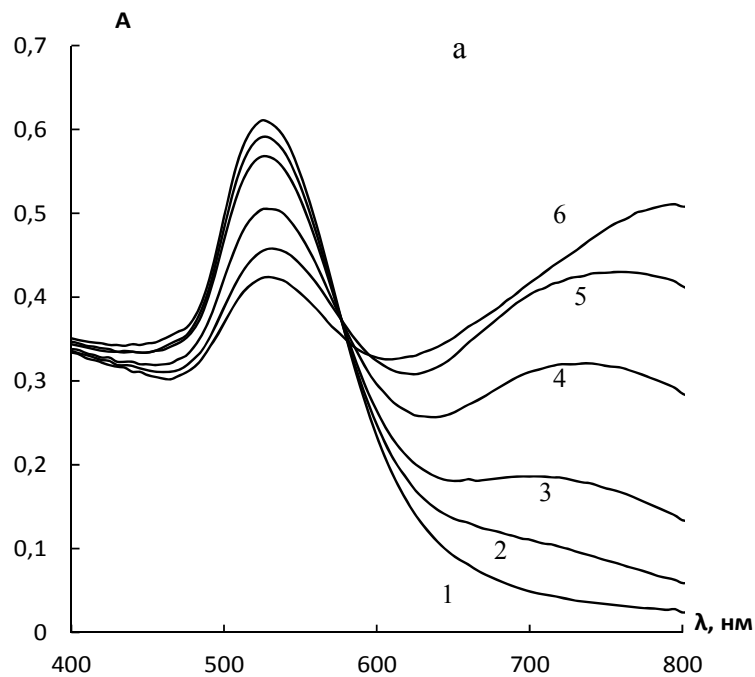


Рис. 23. Спектры поглощения водных растворов наночастиц золота в присутствии различных концентраций цистеамина (а) и зависимость отношения A_{750}/A_{520} от его концентрации (б).

$c_{\text{НЧ}} = 40$ мкг/мл; $t = 2$ мин; $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005$ М; pH 7,5;

а: $c_{\text{ЦА}}$, мкг/мл: 0 (1); 0,02 (2); 0,03 (3); 0,05 (4); 0,07 (5); 0,1 (6).

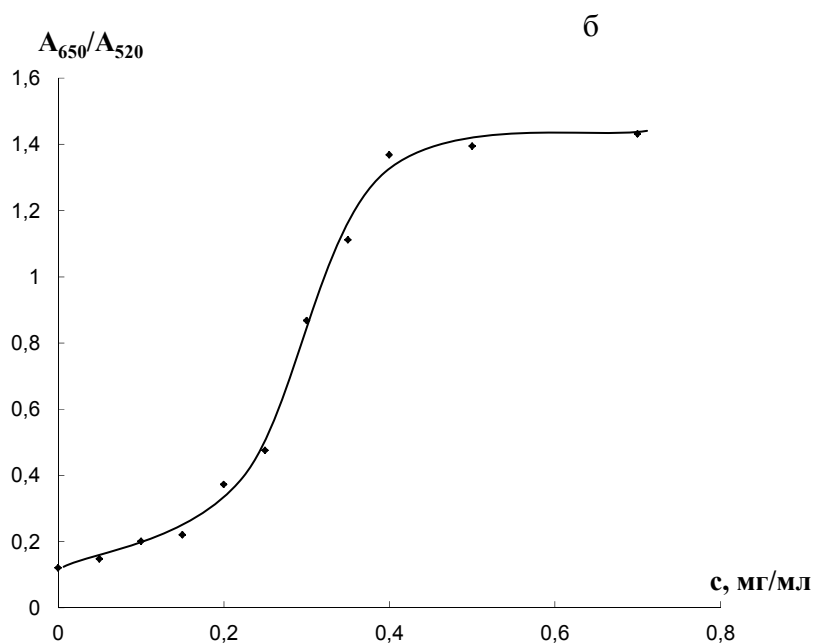
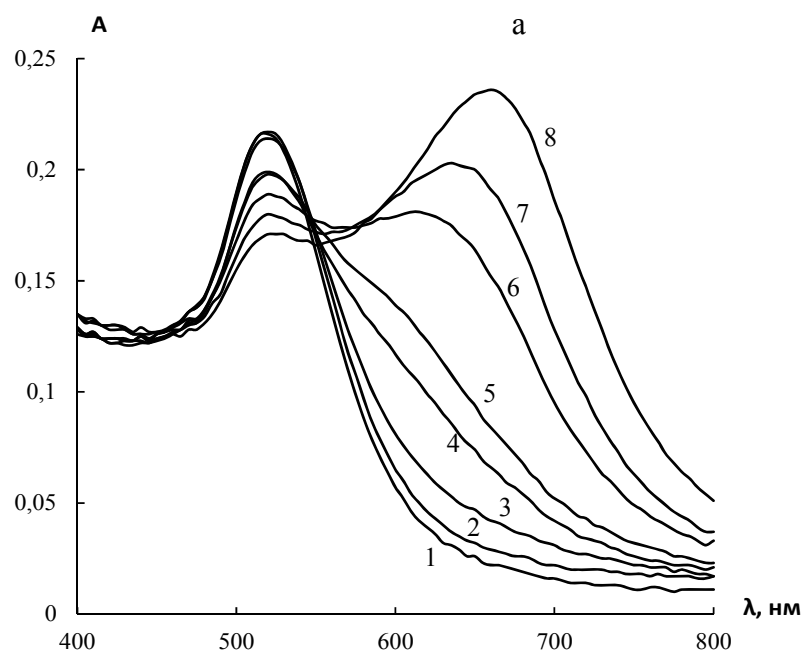


Рис. 24. Спектры поглощения водных растворов наночастиц золота в присутствии различных концентраций глутатиона (а) и зависимость отношения A_{650}/A_{520} от его концентрации (б).

$c_{\text{НЧ}} = 15 \text{ мкг/мл}$; $t = 2 \text{ мин}$; $\text{pH } 4$;

а: $c_{\text{Г}}$, мг/мл : 0 (1); 0,05 (2); 0,15 (3); 0,2 (4); 0,25 (5); 0,3 (6), 0,35 (7), 0,4 (8)

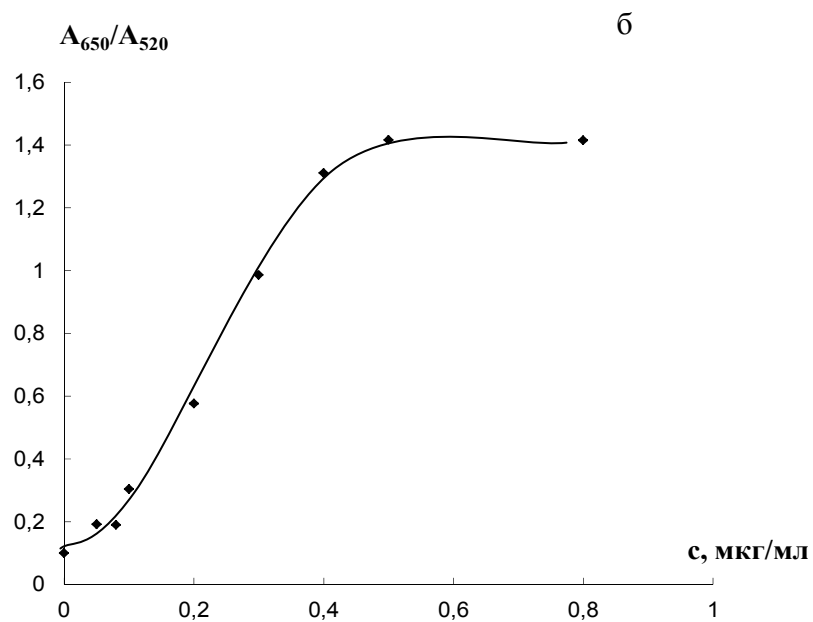
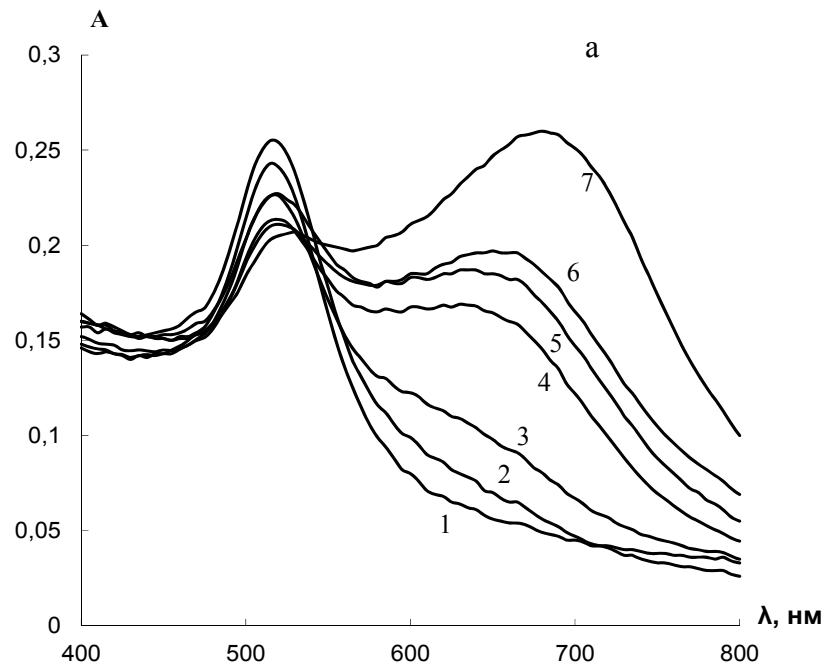


Рис. 25. Спектры поглощения водных растворов наночастиц золота в присутствии различных концентраций цистеина (а) и зависимость отношения A_{650}/A_{520} от его концентрации (б).

$c_{\text{НЧ}} = 15 \text{ мкг/мл}$; $t = 2 \text{ мин}$; $c_{\text{ЭДТА}} = 0,01 \text{ М}$; $\text{pH } 7,5$;

а: $c_{\text{ЦН}}$, мкг/мл: 0 (1); 0,05 (2); 0,1 (3); 0,3 (4); 0,35 (5); 0,4 (6); 0,5 (7).

На рис. 26 на примере цистеамина и глутатиона показано влияние концентрации НЧ на форму зависимости A_{750}/A_{520} от концентрации тиосоединения. В случае ЦА (рис. 26а) видно, что при увеличении концентрации НЧ наблюдается уширение нижнего горизонтального участка и уменьшение углового коэффициента наклонного участка, то есть система становится «менее чувствительной» к присутствию соединения, вызывающего агрегацию. Данный факт может объясняться тем, что отношение A_{750}/A_{520} связано со степенью агрегации, то есть с долей НЧ, образовавших агрегаты, а не с их абсолютным количеством. Поэтому для достижения той же степени агрегации большего количества НЧ требуется большее количество соединения.

В случае глутатиона не наблюдается явного изменения формы зависимости $A_{650}/A_{520} - c_{\Gamma}$ при изменении концентрации НЧ (рис. 26б), что косвенно может говорить о сложном механизме агрегации, обусловленном наличием в молекуле глутатиона различных по природе групп и ее конформационной подвижностью и включающем образование сшивок между НЧ.

Как уже было сказано выше, на всех зависимостях наблюдается область малых концентраций соединения, при которых агрегации еще не наблюдается. Мы предположили, что в этой области в растворе присутствуют НЧ, частично модифицированные соединением, и менее агрегативно устойчивые, чем исходные НЧ. На примере цистеина изучено влияние концентрации модификатора, снижающего стабильность НЧ, в роли которого использовали цистеамин, на форму зависимости A_{650}/A_{520} от концентрации цистеина. Для модифицирования НЧ в раствор вводили ЦА до конечной концентрации 0,005 и 0,01 мкг/мл, что ниже порога чувствительности НЧ по отношению к этому соединению. Оказалось, что частицы, модифицированные ЦА, действительно подвергаются агрегации в присутствии цистеина, причем чем выше концентрация цистеамина в системе, тем более чувствительной она становится по отношению к цистеину (рис. 27).

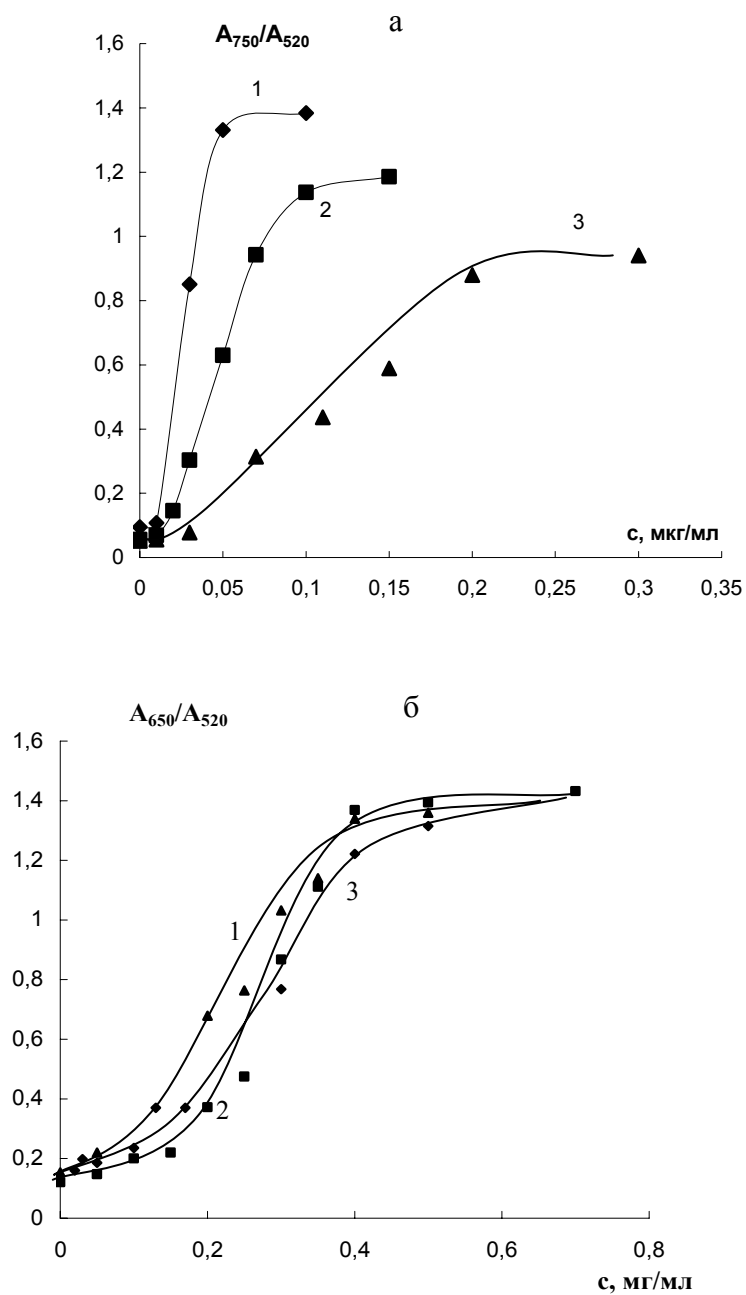


Рис. 26. Зависимость A_{agr}/A_{520} от концентрации цистеамина (а) и глутатиона (б) при различных концентрациях НЧ.

а: $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005 \text{ М}$, $t = 2 \text{ мин}$, $\text{pH } 7,5$; $c_{\text{НЧ}}$, мкг/мл : 15 (1); 40 (2); 100 (3)

б: $t = 2 \text{ мин}$, $\text{pH } 4$; $c_{\text{НЧ}}$, мкг/мл : 15 (1); 7 (2); 30 (3).

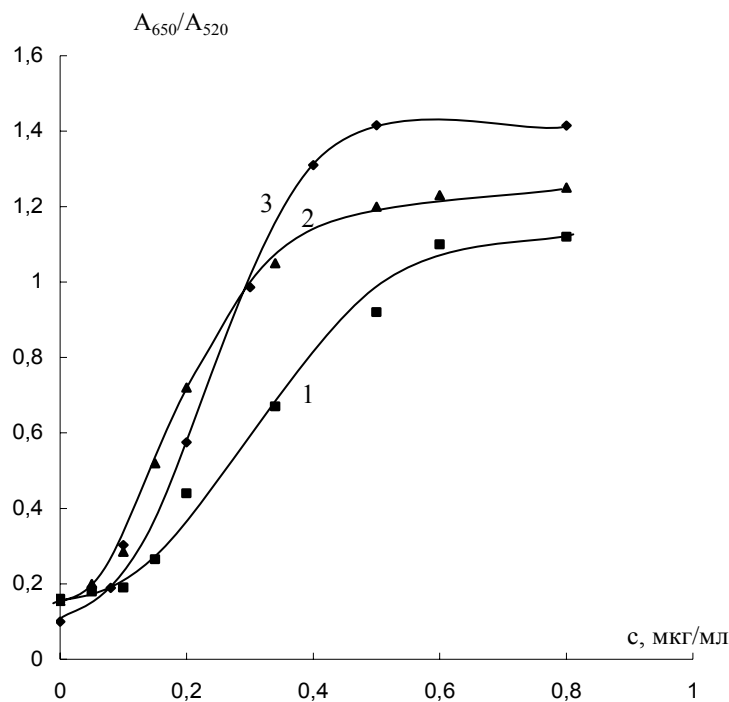


Рис. 27. Зависимость A_{650}/A_{520} от концентрации цистеина при различных концентрациях модификатора.

$c_{\text{НЧ}} = 0,07$ мМ, $V = 10$ мл, $t = 2$ мин;

$c_{\text{ЦА}} = 0,005$ мкг/мл (1), $c_{\text{ЦА}} = 0,01$ мкг/мл (2), $c_{\text{ЭДТА}} = 0,01$ М (3).

По сравнению с зависимостью, полученной с использованием в роли модификатора ЭДТА (рис. 27, кривая 3), можно отметить бóльшую полгость зависимостей, полученных при использовании НЧ, модифицированных ЦА, и меньшие значения максимально достижимой степени агрегации. Кроме того, стоит отметить, что ЦА не обеспечивает требуемого маскирующего эффекта в отношении катионов металлов, что ограничивает применимость данного подхода для разработки способа определения ЦН.

5.1.2. Взаимодействие с соединениями катионной природы

В отличие от тиосоединений, соединения катионной природы, не имеющие в своем составе тиольных групп, не способны образовывать прочную связь с атомами золота. Поэтому взаимодействие их с НЧ должно быть обусловлено электростатическими взаимодействиями с цитрат-ионами на поверхности НЧ. Предполагаемая схема агрегации НЧ под воздействием соединений этого типа приведена на рис. 28.

Изучено влияние различных факторов на агрегацию наночастиц золота под воздействием соединений катионной природы. С целью устранения влияния катионов металлов, а также для повышения чувствительности НЧ к соединениям в систему добавляли ЭДТА.

Как и для тиосоединений, агрегация протекает быстро – за 1,5 – 2 мин (рис. 29а). Максимальная агрегация наблюдается в диапазоне рН 3 – 8 для неомицина и 3 – 7 для ПГМГ (рис. 29б). Более широкий интервал рН, благоприятствующих агрегации, для неомицина может быть объяснен высокой локализацией положительного заряда на его молекулах, что обеспечивает высокое агрегирующее действие даже в щелочной среде. В дальнейших экспериментах рН раствора поддерживали равным 7 – 8.

На рис. 30а и 31а приведены спектры поглощения водных растворов НЧ при различных концентрациях неомицина и ПГМГ. Неомицин вызывает агрегацию при концентрациях больше 0,03 мкг/мл; спектр поглощения раствора значительно меняется в интервале 0,03 – 0,05 мкг/мл. При концентрации неомицина больше 0,05 мкг/мл наблюдается максимально достижимая в данных условиях агрегация наночастиц. Для ПГМГ интервал концентраций, в котором спектр претерпевает существенные изменения, несколько шире и составляет 0,04 - 0,08 мкг/мл. Обращает на себя внимание тот факт, что при концентрациях ПГМГ больше 0,08 мкг/мл наблюдается смещение полосы ППР агрегатов обратно в коротковолновую область

спектра. Данный факт может указывать на образование более мелких агрегатов, что может быть объяснено некоторой стабилизацией НЧ за счет ПГМГ, который вытесняет с поверхности НЧ цитрат и сам начинает играть роль стабилизатора. Факты использования этого полимера в качестве стабилизатора НЧ серебра описаны в литературе [199, 200]. По-видимому, подобное явление имеет место и в нашем случае. На рис. 30 (б) и 31 (б) приведены зависимости отношения A_{arp}/A_{520} от концентрации неомицина и ПГМГ. В отличие от тиосоединений, при взаимодействии НЧ с соединениями катионной природы наличие зависимости отношения A_{arp}/A_{520} от концентрации соединения наблюдается в более узком диапазоне.

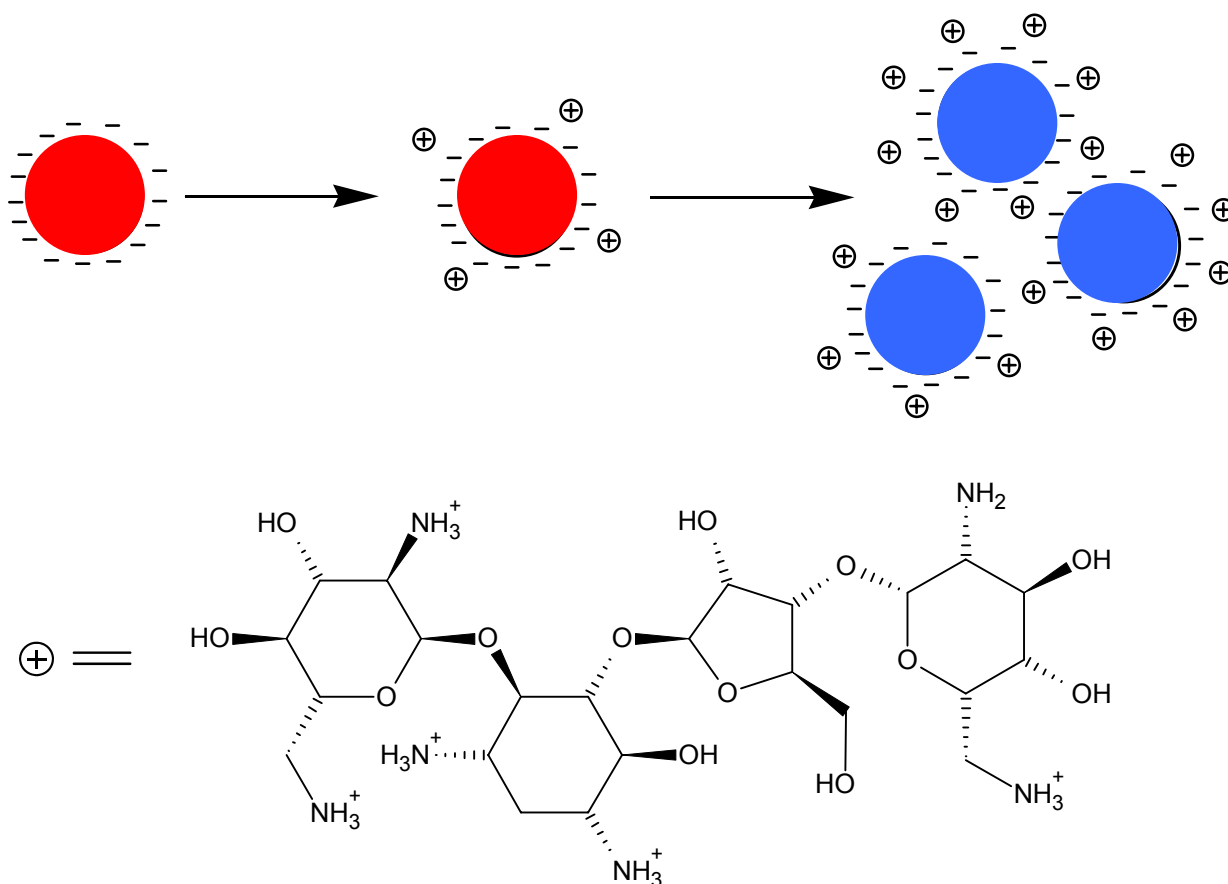


Рис. 28. Предполагаемая схема агрегации наночастиц золота под воздействием неомицина.

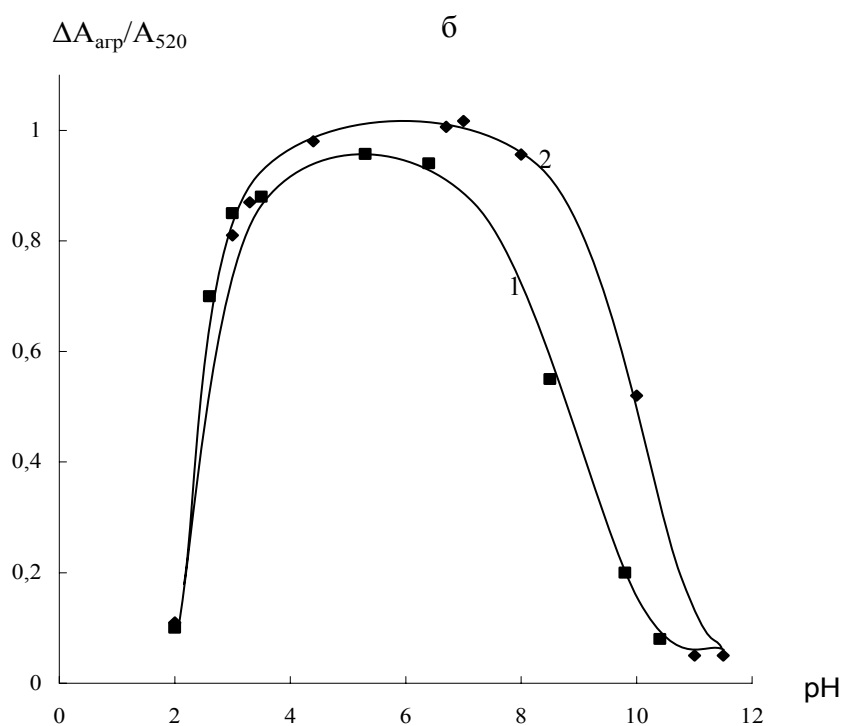
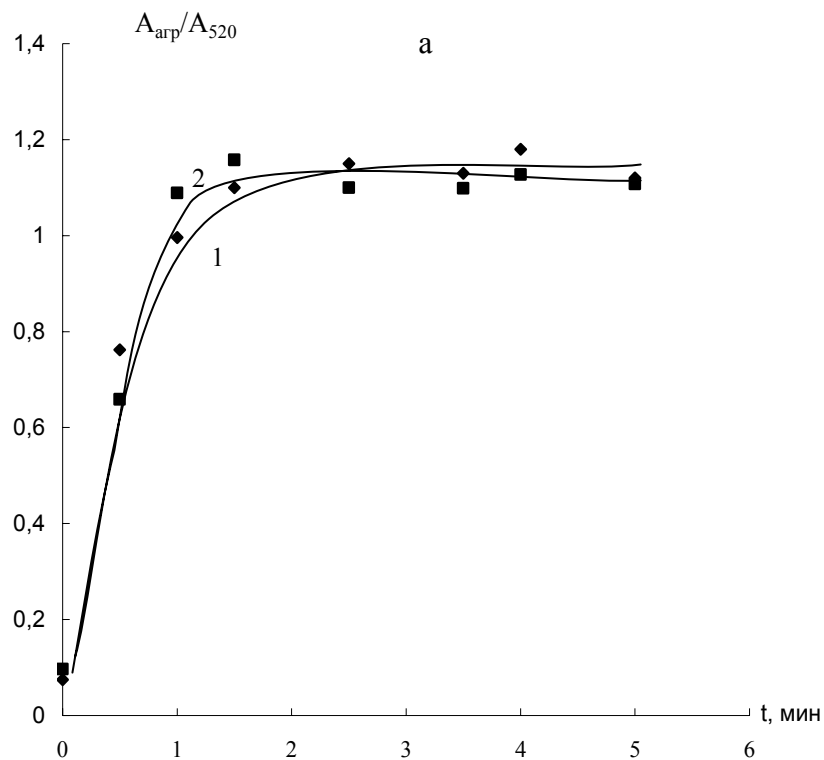


Рис. 29. Зависимость отношения $A_{арр}/A_{520}$ от времени (а) и рН (б) для взаимодействия НЧ с 0,06 мкг/мл ПГМГ (1) и 0,035 мкг/мл неомицина (2); $c_{НЧ} = 15$ мкг/мл; $t = 2$ мин; $c_{ЭДТА} = 0,005$ М; рН 7,5

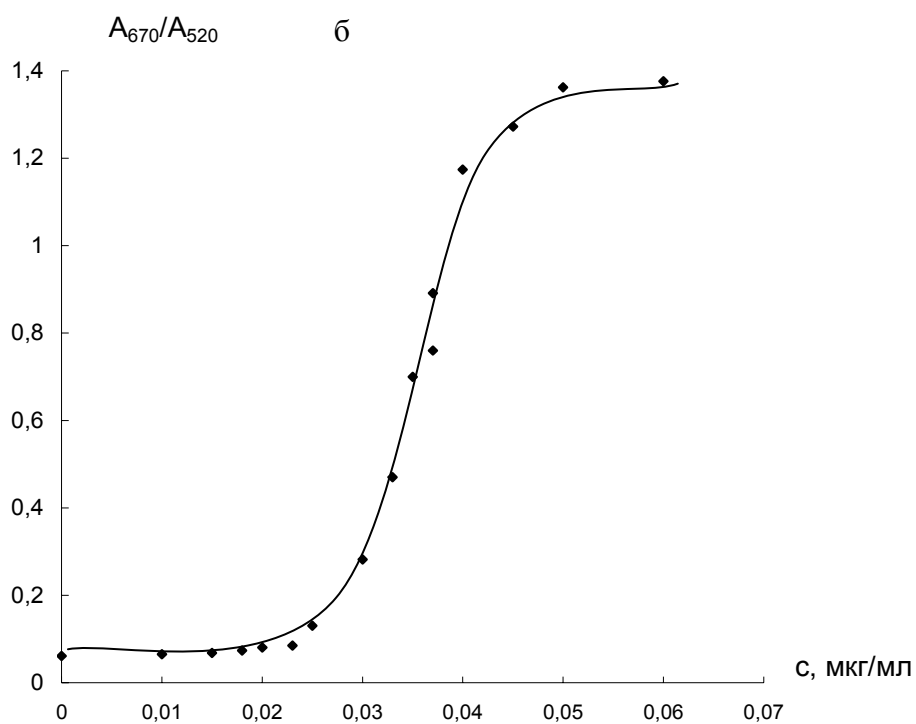
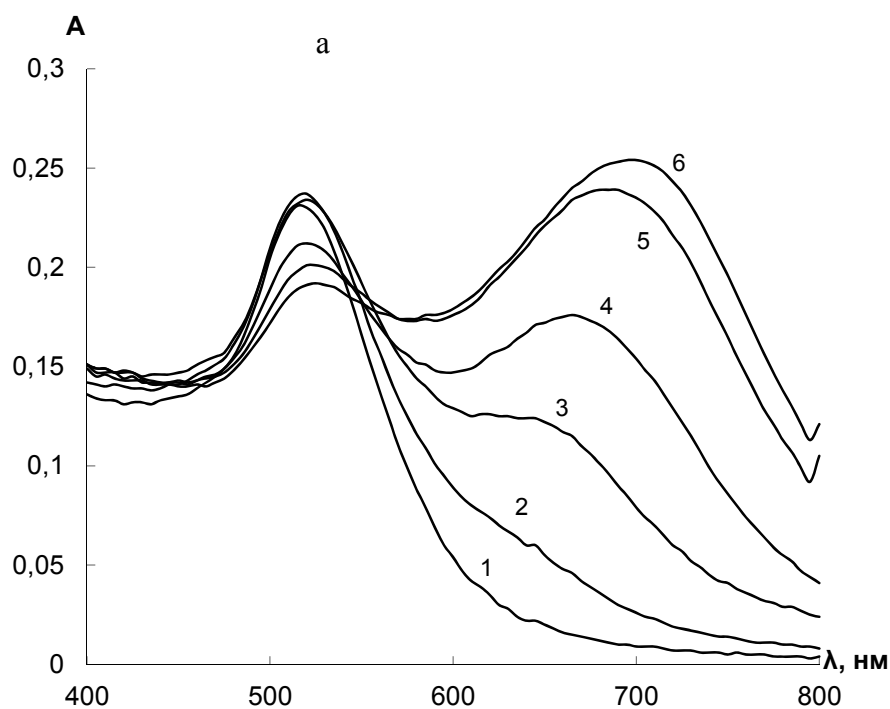


Рис. 30. Спектры поглощения водных растворов наночастиц золота в присутствии различных концентраций неомицина (а) и зависимость отношения A_{670}/A_{520} от его концентрации (б).

$c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл, $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005$ М; рН 7,5; $t = 2$ мин.

а: $c_{\text{Н}}$, мкг/мл: 0 (1); 0,03 (2); 0,033 (3); 0,035 (4); 0,04 (5) и 0,045 (6).

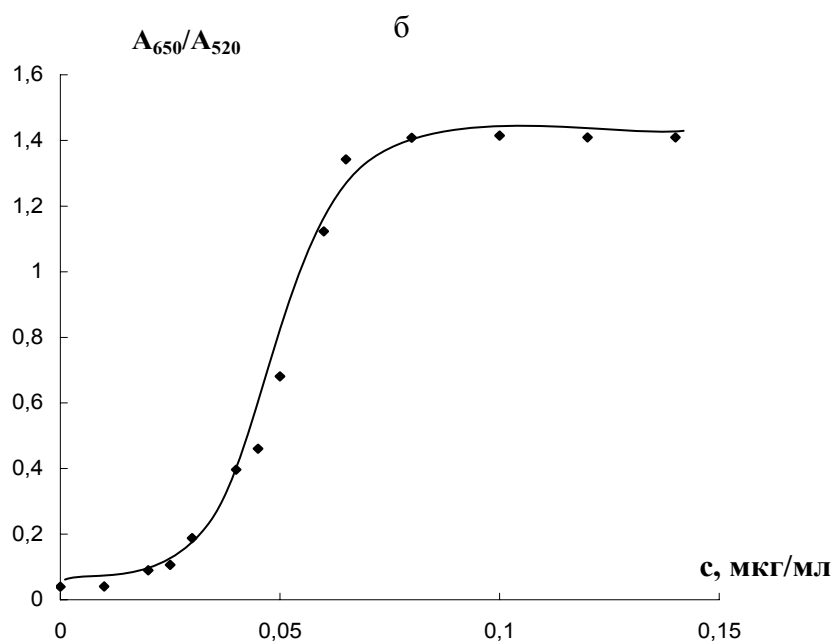
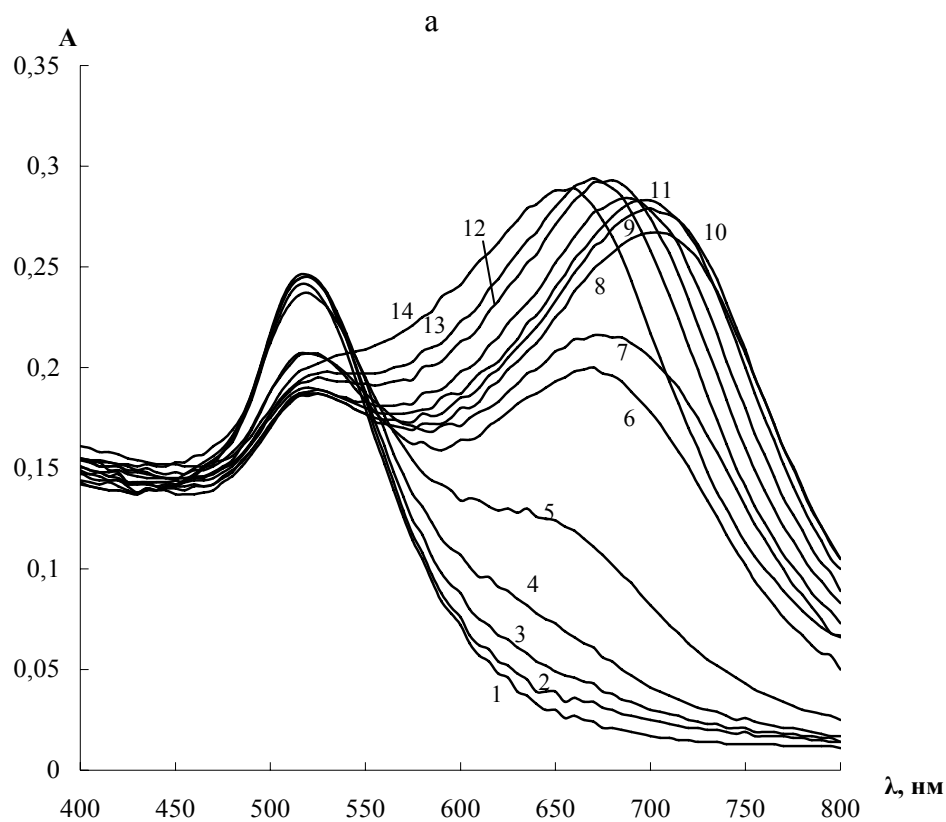


Рис. 31. Спектры поглощения водных растворов наночастиц золота в присутствии различных концентраций ПГМГ (а) и зависимость отношения A_{650}/A_{520} от его концентрации (б).

$c_{\text{НЧ}} = 15 \text{ мкг/мл}$, $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005 \text{ М}$; рН 7,5; $t = 2 \text{ мин}$.

а: $c_{\text{ПГМГ}}$, мкг/мл: 0 (1); 0,01 (2); 0,02 (3); 0,03 (4); 0,04 (5); 0,05 (6), 0,06 (7), 0,065 (8), 0,08 (9), 0,1 (10), 0,12 (11), 0,14 (12), 0,16 (13), 10 (14).

На рис. 32 представлены зависимости отношения $A_{\text{агр}}/A_{520}$ от концентрации неомицина и ПГМГ при разных концентрациях наночастиц. Видно, что концентрация НЧ оказывает схожее влияние, что и для случая тиосоединений - с ростом концентрации соединения наблюдается увеличение протяженности нижнего горизонтального участка и уменьшение наклона восходящего участка зависимости.

На примере неомицина на рис. 33а показано влияние концентрации ЭДТА на зависимость $A_{\text{агр}}/A_{520}$ от концентрации соединения катионной природы. Чем больше концентрация ЭДТА в системе, тем "чувствительнее" к присутствию неомицина она становится, при этом диапазон концентраций неомицина, приводящих к изменению сигнала, сужается. Установлено, что между значением концентрации неомицина, вызывающей 50%-ную агрегацию НЧ, и содержанием в растворе ЭДТА существует корреляция близкая к линейной (рис. 33б). Эту зависимость можно использовать для выбора концентрации ЭДТА, необходимой для обеспечения требуемой чувствительности НЧ к присутствию неомицина.

5.1.3. Пути повышения достоверности идентификации и селективности определения соединений с использованием наночастиц в растворе

Как мы видим, агрегация НЧ возможна под воздействием соединений различной природы. При этом в спектрах поглощения растворов НЧ наблюдаются схожие изменения, состоящие в появлении и росте полосы ППР агрегатов НЧ и уменьшении полосы ППР индивидуальных НЧ. Поэтому важным вопросом, с точки зрения аналитической химии, является вопрос повышения достоверности идентификации соединений, вызывающих агрегацию, и улучшения селективности их определения с помощью НЧ. В решении данной проблемы видятся три направления – модифицирование поверхности НЧ селективными функциональными группами (или синтез новых НЧ) с целью придания наночастицам определенных химико-

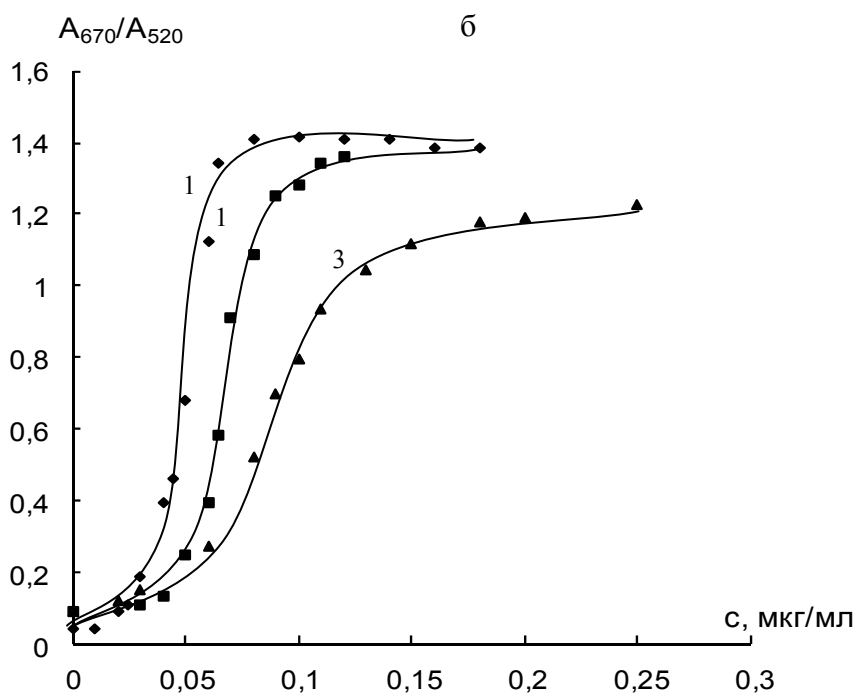
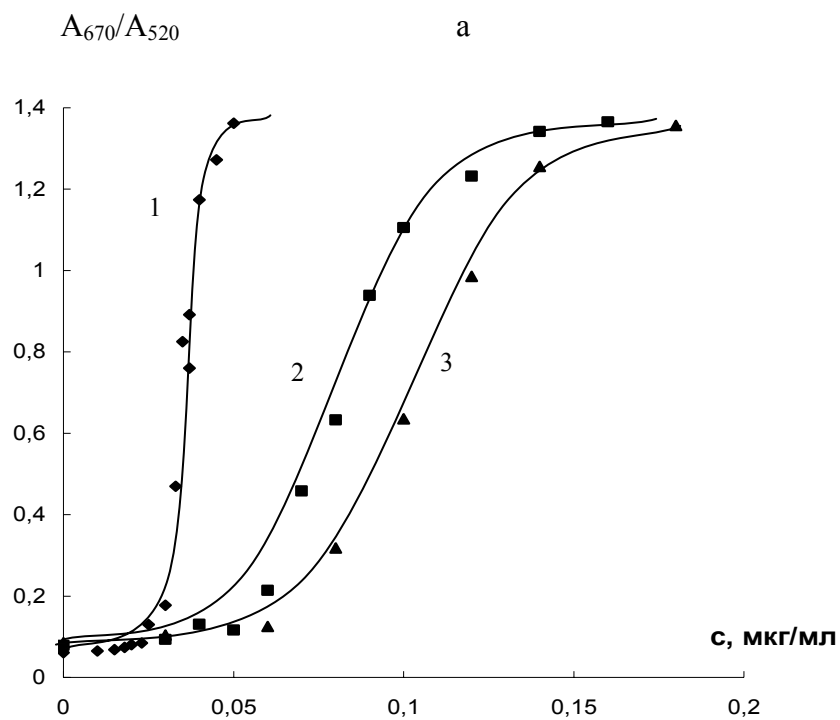
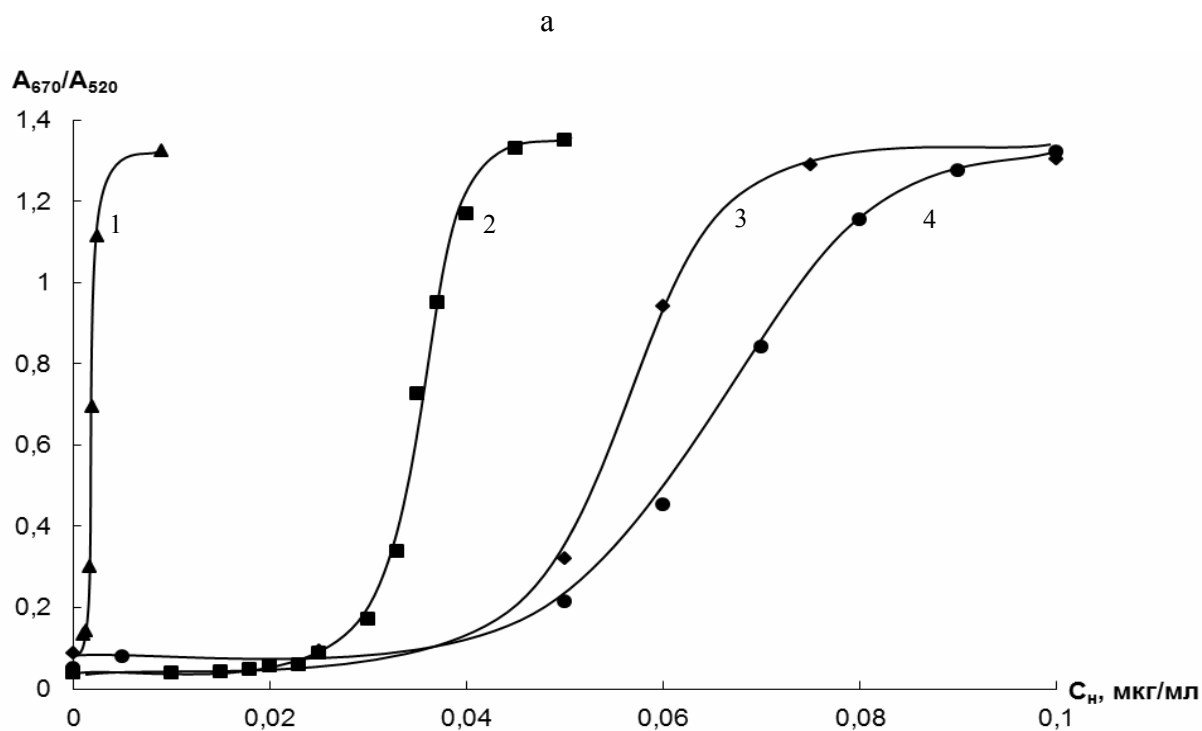


Рис. 32. Зависимость $A_{\text{арр}}/A_{520}$ от концентрации неомицина (а) и ПГМГ (б) при различных концентрациях НЧ. $t = 2$ мин, $\text{pH} = 7,5$, $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005$ М.

а: $c_{\text{НЧ}}$, мкг/мл: 15 (1); 40 (2); 100 (3)

б: $c_{\text{НЧ}}$, мкг/мл: 15 (1); 30 (2); 60 (3).



б

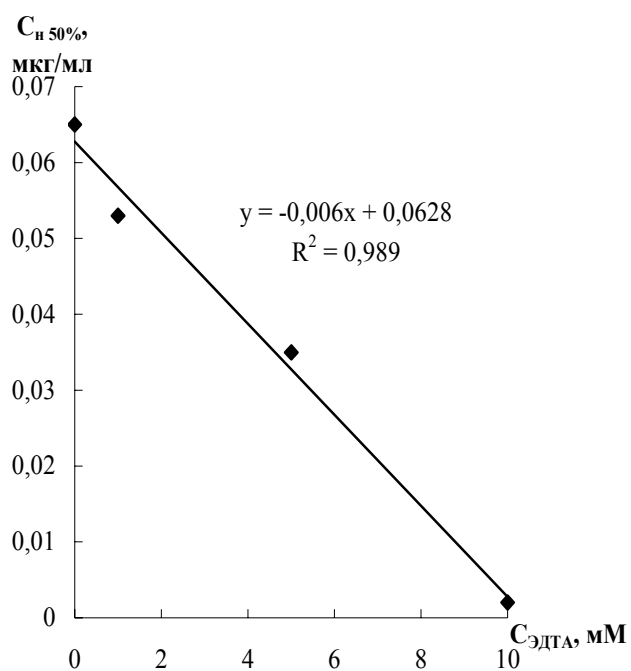


Рис. 33. Зависимость A_{670}/A_{520} от концентрации неомицина при концентрациях ЭДТА 0,01 (1), 0,005 (2), 0,001 (3) и 0 (4) М (а) и корреляция значения концентрации неомицина, необходимой для достижения 50 % агрегации наночастиц, с содержанием в растворе ЭДТА (б).

$C_{\text{нч}} = 15 \text{ мкг/мл}$, $t = 2 \text{ мин}$, $\text{pH } 7,5$.

аналитических характеристик; варьирование условий проведения аналитической процедуры и/или модифицирование определяемых соединений или мешающих компонентов (например, маскирование); поиск путей получения дополнительной полезной информации из имеющихся спектральных данных (спектры поглощения).

Первое направление достаточно широко представлено в литературе, оно требует проведения дополнительных стадий модифицирования НЧ или синтеза новых НЧ (зачастую, многостадийных), что усложняет и удорожает процедуру анализа. Поэтому в нашей работе оно не рассматривалось.

Возможности второго подхода, на наш взгляд, целесообразно показать на примере цитратных НЧ, как наиболее изученных, хорошо известных, простых для получения и дешевых наночастицах золота. В рамках этого направления, как было показано в данной работе, существует несколько эффективных рычагов управления селективностью агрегации НЧ в растворе – введение маскирующего агента (в качестве которого мы предложили ЭДТА), добавки соединения, снижающего агрегативную устойчивость НЧ, регулирование рН раствора, выбор концентрации соединения и наночастиц.

В рамках третьего направления с целью повышения достоверности идентификации соединений нами предложено осуществлять построение зависимости максимума полосы поглощения агрегатов НЧ от соответствующей ему длины волны ($A_{\max} - \lambda_{\max}$) при изменении в растворе концентрации соединения, вызывающего агрегацию. Данный подход становится возможным с учетом того, что взаимодействия поверхностных плазмонов в процессе формирования агрегатов, зависящие от размера и формы последних, приводят не только к появлению нового максимума в спектрах поглощения, но и его постепенному смещению в сторону больших длин волн по мере того, как в агрегации принимает участие все большее и большее число НЧ. Поскольку морфология формирующихся агрегатов может отличаться для различных соединений, вызывающих агрегацию, будет также

наблюдаться и отличие в форме или положении построенных кривых. При этом, однако, все кривые могут быть сопоставлены в одном масштабе, несмотря на то, что диапазоны варьирования концентрации соединений могут отличаться на несколько порядков. Подобные зависимости можно назвать "путями агрегации". "Путь агрегации" можно использовать для идентификации соединения, а также при обсуждении механизма агрегации НЧ.

Из рис. 34а видно, что в случае трех тиосоединений – глутатиона, цистеина и цистеамина – кривые сильно различаются по положению, что, скорее всего, связано с разными механизмами агрегации НЧ в присутствии этих соединений и, как следствие, разными размерами получаемых агрегатов. В случае цистеамина (кривая 3) агрегация протекает за счет совместного действия двух факторов – связывания атома серы с атомами золота и электростатического взаимодействия положительно заряженной аммониевой группы цистеамина с отрицательно заряженными цитрат-ионами на поверхности НЧ. По-видимому, агрегаты в таком случае получаются наиболее крупными, что отвечает положению кривой в области больших длин волн. Цистеин (кривая 2) присутствует в условиях эксперимента в форме цвиттер-иона, поэтому помимо связывания S – Au возможны лишь слабые электростатические взаимодействия. В случае же глутатиона (кривая 1) электростатические взаимодействия подавлены еще сильнее за счет диссоциации карбоксильной группы и существования молекулы глутатиона в анионной форме, и агрегация возможна преимущественно за счет связывания серы с золотом; агрегаты в таком случае, по-видимому, получаются мельче, и кривая "пути агрегации" лежит в области меньших длин волн.

Соединения катионной природы взаимодействуют с наночастицами золота только по электростатическому механизму, поэтому "пути агрегации" НЧ под их воздействием практически совпадают (рис. 34б).

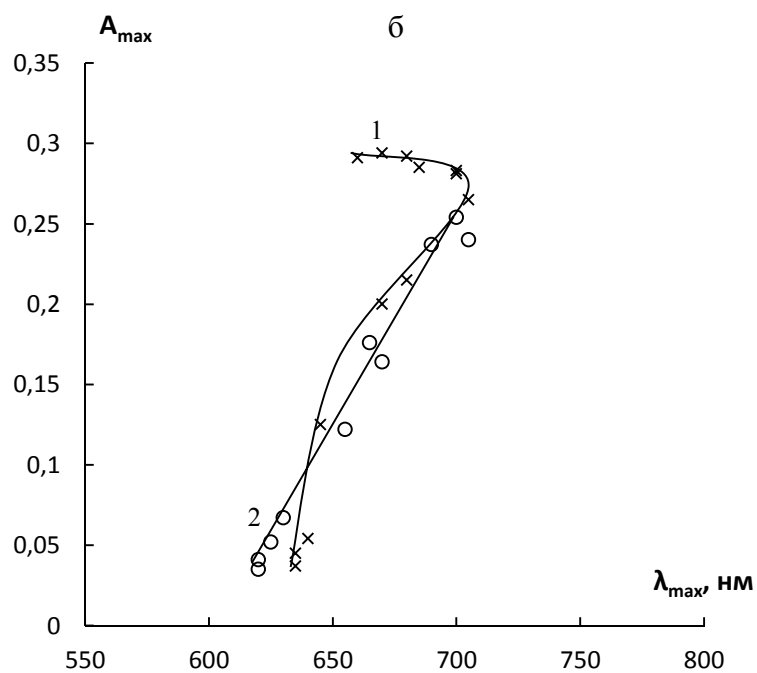
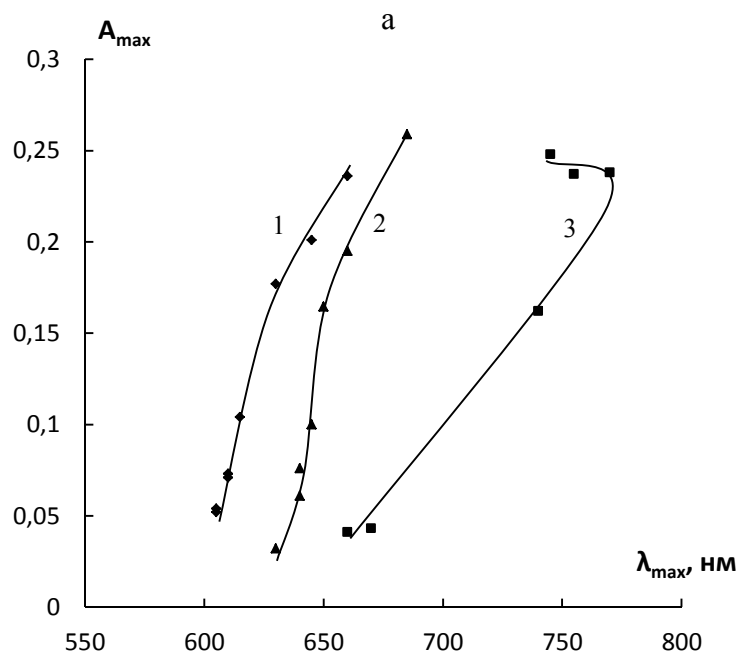


Рис. 34. Зависимость A_{\max} от λ_{\max} для тиосоединений (а): глутатион (1), цистеин (2), цистеамин (3); и для соединений катионной природы (б): ПГМГ (1) и неомицин (2).

Обращает на себя внимание наличие перегиба на кривой для ПГМГ в области больших длин волн. Такое же явление имеет место в случае цистеамина (рис. 34а, кривая 3). Данный факт, вероятно, свидетельствует об уменьшении размера агрегатов НЧ при очень высоких концентрациях указанных соединений, что может быть следствием стабилизирующего действия этих соединений в отношении НЧ золота – происходит постепенная замена одного стабилизатора (цитрата) другим.

Таким образом, по положению зависимости $A_{\max} - \lambda_{\max}$ можно косвенно судить о механизме агрегации наночастиц под воздействием того или иного вещества, что может являться полезным инструментом при исследовании агрегативных процессов с участием наночастиц и повышает достоверность идентификации соединений.

5.2. Наночастицы золота, стабилизированные 6,6-иононом

В предварительных экспериментах установлено, что наночастицы золота, стабилизированные 6,6-иононом, устойчивы к воздействию тиосоединений, соединений катионной природы и однозарядных анионов. Агрегация таких НЧ происходит лишь при взаимодействии с многозарядными анионами. Показано, что НЧ/И агрегируют в присутствии 1 мг/мл сульфата, пирофосфата и оксалата, которые присутствуют в условиях эксперимента (водный раствор НЧ, стабилизированных 6,6-иононом, рН 4) в значительной степени в виде двухзарядных частиц. Взаимодействия НЧ/И с такими анионами как карбонат и фосфат при той же концентрации отмечено не было, поскольку эти анионы протонируются и переходят в однозарядные частицы (рис. 35).

Предполагаемая схема агрегации НЧ, стабилизированных 6,6-иононом, под воздействием анионов представлена на рис. 36. Связывание наночастиц происходит за счет электростатического взаимодействия многозарядного аниона с положительно заряженными четвертичными аммониевыми группами на поверхности наночастиц.

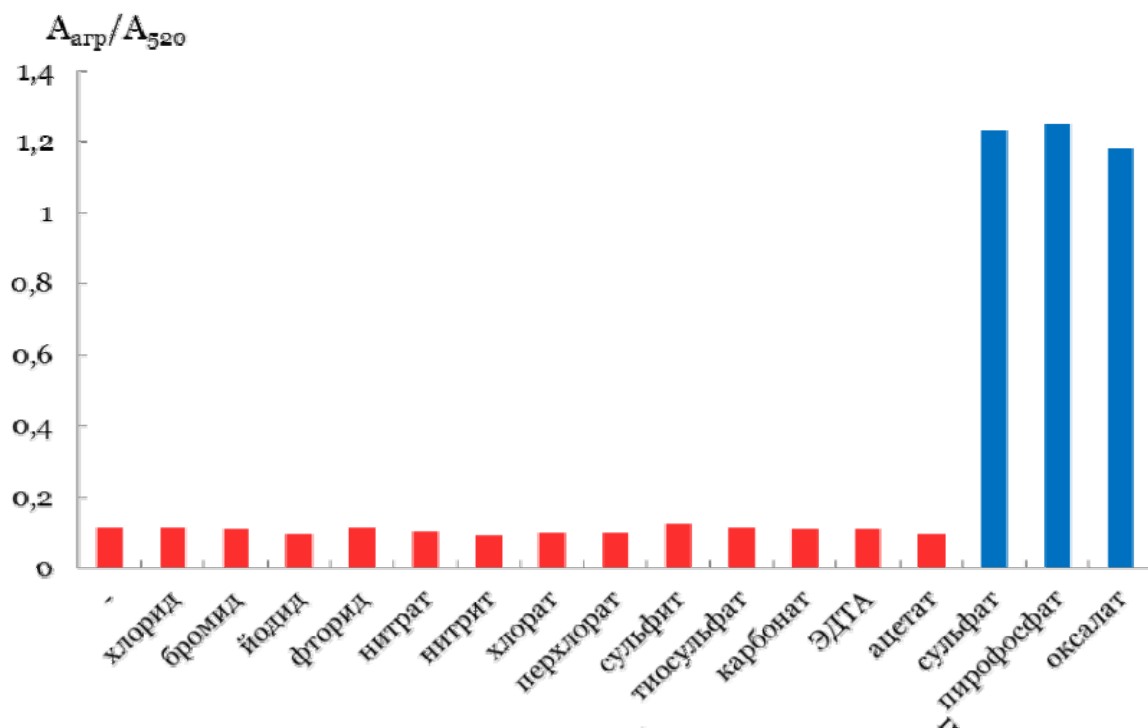


Рис. 35. Селективность агрегации НЧ/И в присутствии 0,25 мг/мл различных анионов.

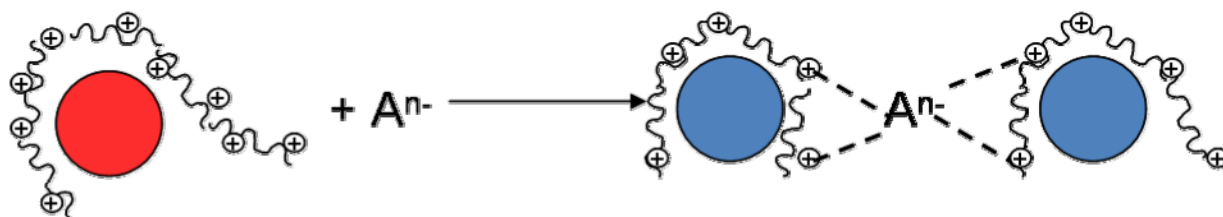


Рис. 36. Предполагаемая схема агрегации НЧ/И под воздействием многозарядных анионов

Как и в случае цитратных наночастиц, агрегация НЧ/И протекает полностью менее чем за 2 мин. Зависимость $A_{\text{агр}}/A_{520}$ от рН для НЧ/И в отсутствие многозарядных анионов (рис. 37а, кривая 1), в отличие от НЧ/Ц, которые агрегируют в кислой среде (рис. 22а, кривая 1), характеризуется резким подъемом в области рН > 10, что говорит о неустойчивости НЧ/И в щелочной среде. Этот эффект может быть связан с агрегирующим действием гидроксид-ионов. Агрегация НЧ под воздействием пирофосфата происходит в более узком диапазоне рН, чем для сульфата (6 – 10 и 4 – 10 соответственно), что, по-видимому, связано с протонированием пирофосфата в кислых средах и переходом его из трехзарядного (гидропирофосфат) в двухзарядный (дигидропирофосфат, рКа 6,70) анион (рис. 37б).

На рис. 38а и 39а представлены спектры поглощения водных растворов НЧ/И в присутствии сульфат и пирофосфат-ионов. Сульфат вызывает агрегацию наночастиц при концентрациях от 60 до 150 мкг/мл, а пирофосфат – от 50 до 80 мкг/мл (рис. 38б и 39б).

Установлено, что концентрация НЧ в растворе не влияет на форму зависимости $A_{\text{агр}}/A_{520}$ от концентрации сульфата и пирофосфата (рис. 40а и 40б). В случае пирофосфата эксперимент проводили в боратном буфере (рН 8), поскольку внесение в раствор большего количества раствора НЧ/И приводит к понижению его рН (рН исходного раствора НЧ/И составляет 3,5), что делает невозможной агрегацию под воздействием малых концентраций пирофосфата в силу его протонирования. Зависимость $A_{\text{агр}}/A_{520}$ от концентрации пирофосфата при увеличении концентрации НЧ в отсутствие буфера сдвигается вправо (рис. 40в). Для сульфата подобное изменение рН не является критичным, поскольку не приводит к изменению его протолитической формы.

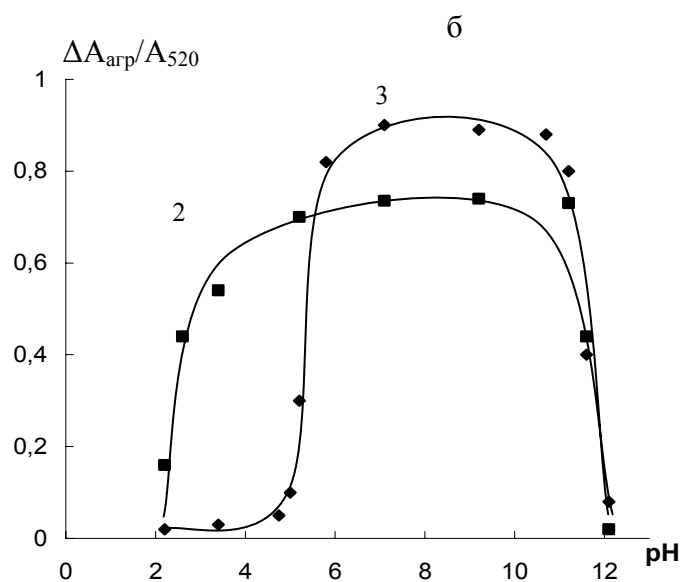
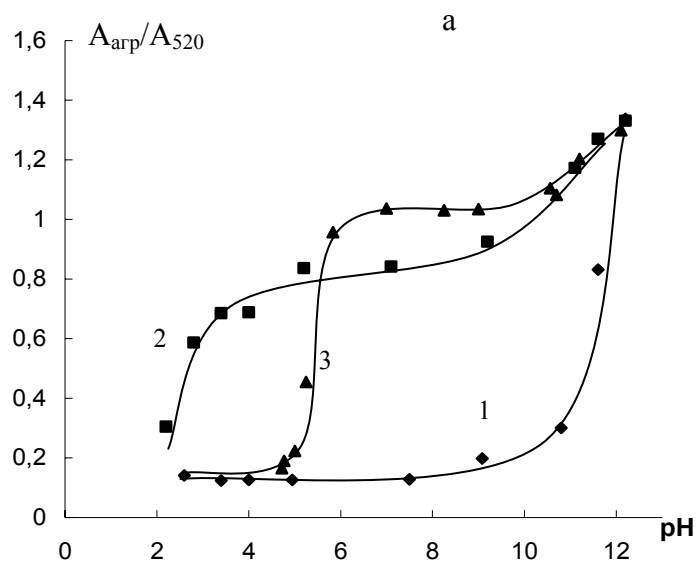


Рис. 37. Зависимость отношения A_{arp}/A_{520} от pH раствора в отсутствие (1) и в присутствии 0,1 мг/мл сульфата (2), и 0,07 мг/мл пирофосфата (3) (а) и соответствующая разность сигналов (б).

$c_{HCl} = 25$ мкг/мл; $t = 2$ мин.

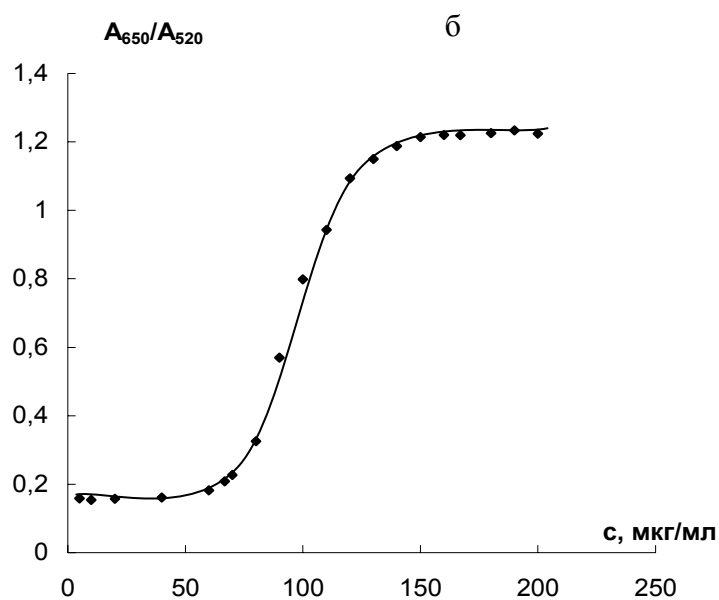
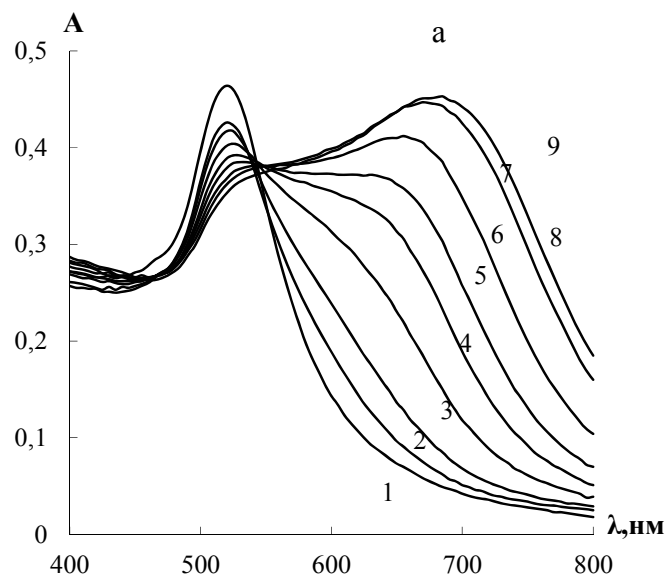


Рис. 38. Спектры поглощения водных растворов НЧ/И в присутствии различных концентраций сульфат-ионов (а) и зависимость отношения A_{650}/A_{520} от их концентрации (б).

$c_{\text{НЧ}} = 25$ мкг/мл, $t = 2$ мин; а: $c_{\text{сульфата}}$, мкг/мл: 0 (1); 70 (2); 80 (3); 90 (4); 100 (5), 110 (6), 120 (7), 140 (8) и 150 (9).

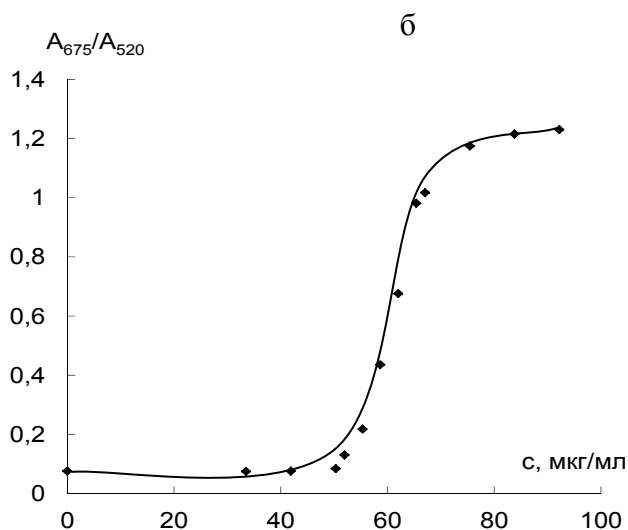
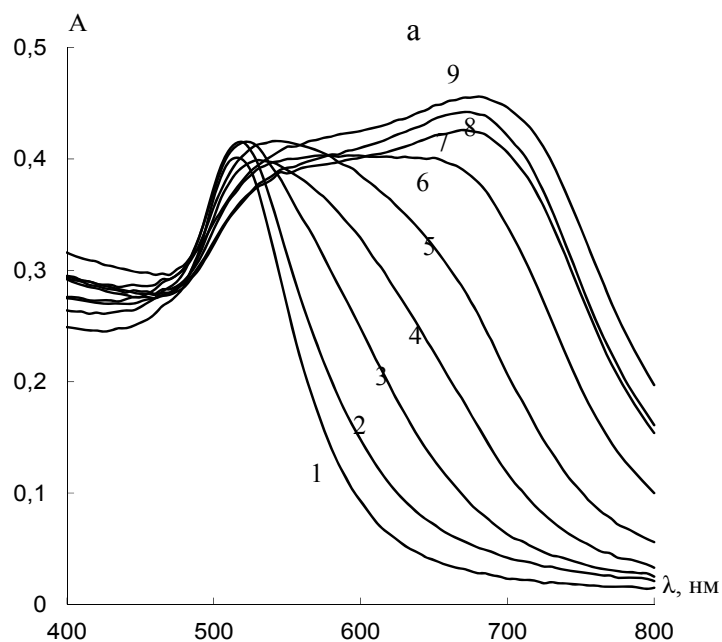


Рис. 39. Спектры поглощения водных растворов НЧ/И в присутствии различных концентраций пирофосфат-ионов (а) и зависимость отношения A_{675}/A_{520} от их концентрации (б).

$c_{\text{НЧ}} = 25$ мкг/мл, $t = 2$ мин; а: $c_{\text{пирофосфата}}$, мкг/мл: 0 (1); 52 (2); 55 (3); 59 (4); 62 (5), 67 (6), 75 (7), 84 (8) и 92 (9).

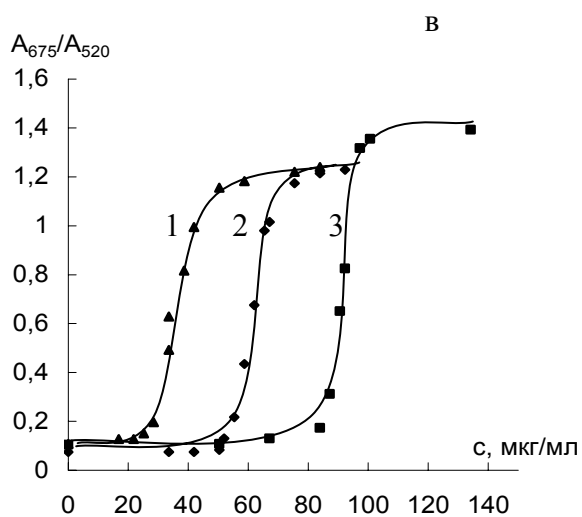
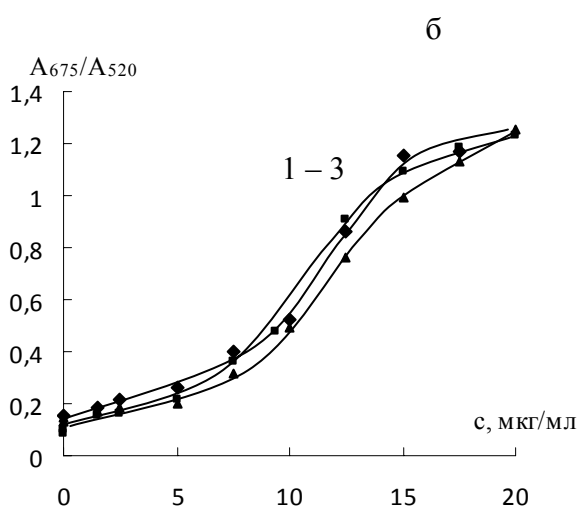
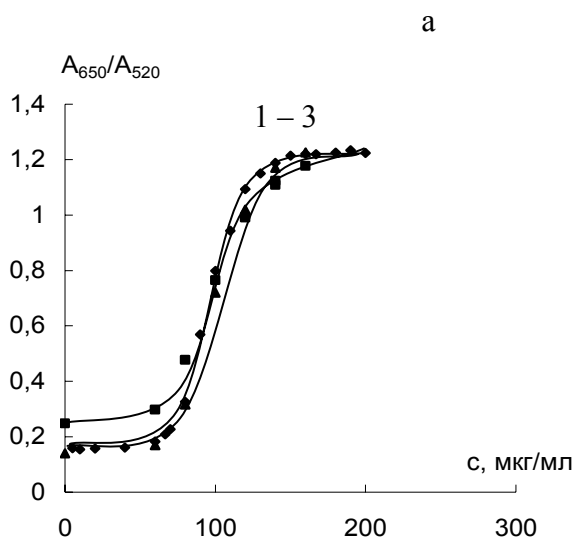


Рис. 40. Зависимость A_{arr}/A_{520} от концентрации сульфат- (а) и пирофосфат-ионов (б, в) в присутствии различных концентраций наночастиц.

$t = 2$ мин, $c_{НЧ}$, МКГ/МЛ: 12 (1), 25 (2), 50 (3); боратный буфер, рН 8 (б).

6. ОСОБЕННОСТИ АГРЕГАЦИИ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ В ФАЗЕ ПЕНОПОЛИУРЕТАНА

Иммобилизация реагентов на твердых носителях – распространенный прием, позволяющий выгодно регулировать характеристики методик и упрощать процедуру анализа. В качестве такого носителя для НЧ мы предложили пенополиуретан (ППУ). Этот сорбент отличает ряд преимуществ. Среди них отсутствие собственной окраски, что важно для последующего измерения сигнала непосредственно в фазе ППУ методом спектроскопии диффузного отражения, химическая и механическая устойчивость, простота в использовании, доступность и невысокая стоимость.

Процедура получения ППУ, модифицированного НЧ золота, достаточно проста и включает сорбцию НЧ из водного раствора в статическом режиме при встряхивании на механическом шейкере.

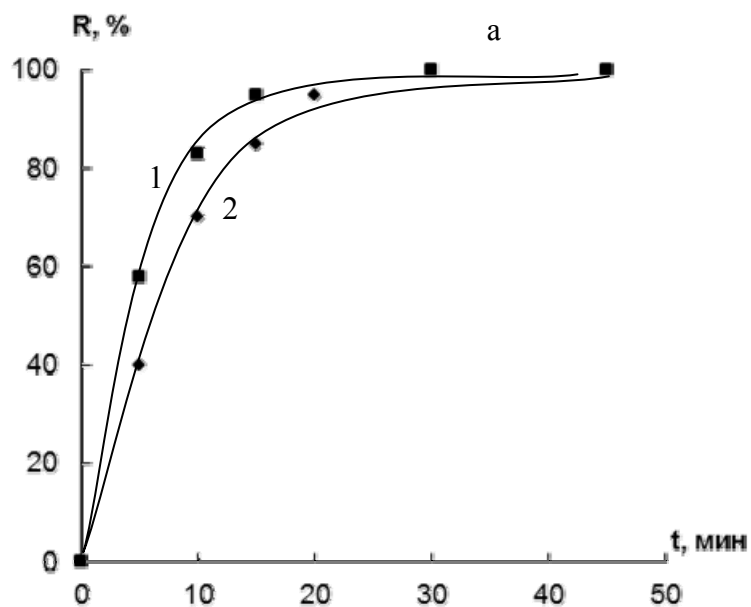
6.1. Сорбция как способ получения пенополиуретана, модифицированного наночастицами золота

Изучена сорбция наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия и 6,6-ионеном, на ППУ в зависимости от времени контакта фаз, концентрации НЧ и pH раствора. Контроль осуществляли, измеряя оптическую плотность равновесной водной фазы и/или диффузное отражение таблеток ППУ. Установлено, что сорбция наночастиц золота на ППУ сопровождается изменением окраски таблеток полимера из бесцветной в красно-фиолетовую и появлением в спектрах диффузного отражения полосы ППР при 530 нм. Сорбционное равновесие устанавливается в течение 15 – 20 мин (рис. 41, а), при этом наночастицы золота сорбируются на ППУ на 95 – 100%. Содержание наночастиц золота в матрице ППУ увеличивается с ростом их концентрации в водном растворе до 35 – 40 мкг/мл (рис. 41, б).

Емкость ППУ по отношению к наночастицам золота составляет 8 – 9 мг/г сорбента.

С целью оптимизации условий получения ППУ, модифицированного наночастицами золота, изучено влияние на сорбционное поведение НЧ различных типов на ППУ добавки кислоты или щелочи. На рис. 42 показаны зависимости степени извлечения НЧ/Ц и НЧ/И от рН раствора, создаваемого добавлением определенного количества HCl или NaOH, при нефиксированной ионной силе. Обнаружено, что цитратные наночастицы сорбируются на ППУ уже из водного раствора, без добавления кислоты либо щелочи, а оптимальный диапазон лежит в области рН 4 – 5 (рис. 42, кривая 1), а НЧ, стабилизированные 6,6-ионеном, практически не сорбируются из водных растворов и переходят в матрицу ППУ только при добавлении соляной кислоты или щелочи (рис. 42, кривая 2). При рН < 3 и рН > 10 наблюдается самопроизвольная агрегация наночастиц, стабилизированных цитратом и 6,6-ионеном соответственно, что затрудняет сравнение полученных данных в этих областях рН. Обращает на себя внимание схожее поведение систем (V-образные кривые с резким спадом). Этот факт позволяет предположить, что извлечение НЧ на ППУ связано не только с влиянием рН, но и с увеличением ионной силы раствора при добавлении кислоты или щелочи.

На рис. 43а приведена зависимость степени извлечения НЧ двух типов из раствора на ППУ от концентрации введенной добавки нейтрального электролита – NaCl. Видно, что при увеличении концентрации хлорида натрия вплоть до 0,004 М степень извлечения наночастиц, стабилизированных ионеном, монотонно увеличивается, после чего зависимость выходит на плато (кривая 2);



б

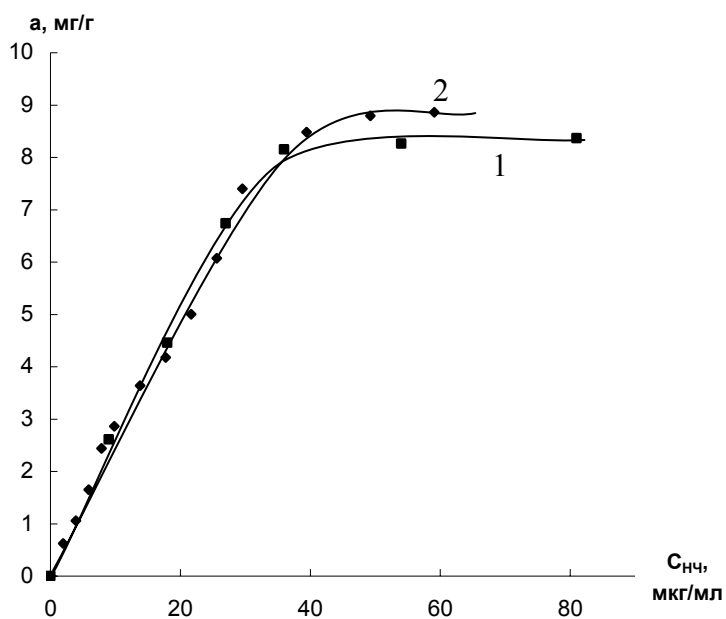


Рис. 41. Влияние времени контакта фаз (а) и концентрации НЧ (б) на сорбцию наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия (1) и 6,6-ионеном (2), на ППУ.

$V = 5 \text{ мл}$, $m_{\text{ППУ}} = 0,02 \text{ г}$, $\text{pH } 5$ (1) и $\text{pH } 2$ (2); а: $c_{\text{НЧ}} = 15 \text{ мкг/мл}$; б: $t = 20 \text{ мин}$.

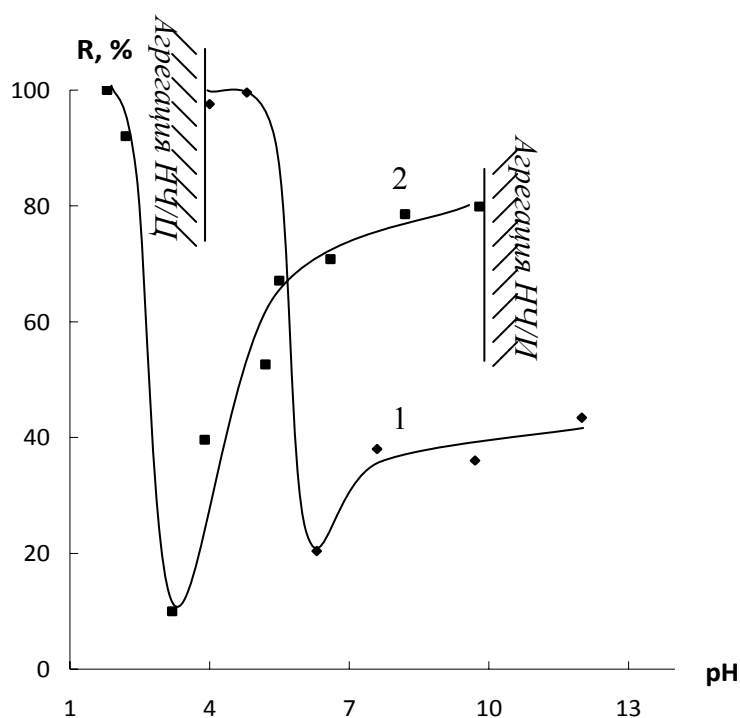


Рис. 42. Влияние pH, создаваемого добавлением HCl и NaOH, на степень извлечения НЧ/Ц (1) и НЧ/И (2) на ППУ при нефиксированной ионной силе. $V = 5$ мл, $m_{\text{ППУ}} = 0,02$ г, $t = 20$ мин, $c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл.

для наночастиц, стабилизированных цитратом, зависимости степени извлечения от концентрации NaCl не наблюдается (кривая 1). Установлено, что при поддержании концентрации добавки электролита постоянной (0,004 М) значение pH слабо влияет на сорбцию наночастиц на пенополиуретане (рис. 43б), что подтверждает важный вклад электростатических взаимодействий в механизм сорбции НЧ на ППУ. Наблюдаемое различие в поведении НЧ/Ц и НЧ/И при изменении концентрации электролита может быть отнесено к влиянию вклада в стабилизацию НЧ/И, наряду с электростатическим, стерического фактора, который обеспечивает хорошую стабилизацию НЧ/И при низких ионных силах, не смотря на их меньший ζ -потенциал (табл. 5). Влияние этого фактора удастся подавить только при ионной силе больше 0,004 М. Уменьшение степени извлечения НЧ/Ц при $\text{pH} > 10$, по-видимому, связано с дополнительной диссоциацией цитрат-ионов на поверхности золота, что повышает заряд НЧ/Ц и препятствует их сорбции на ППУ.

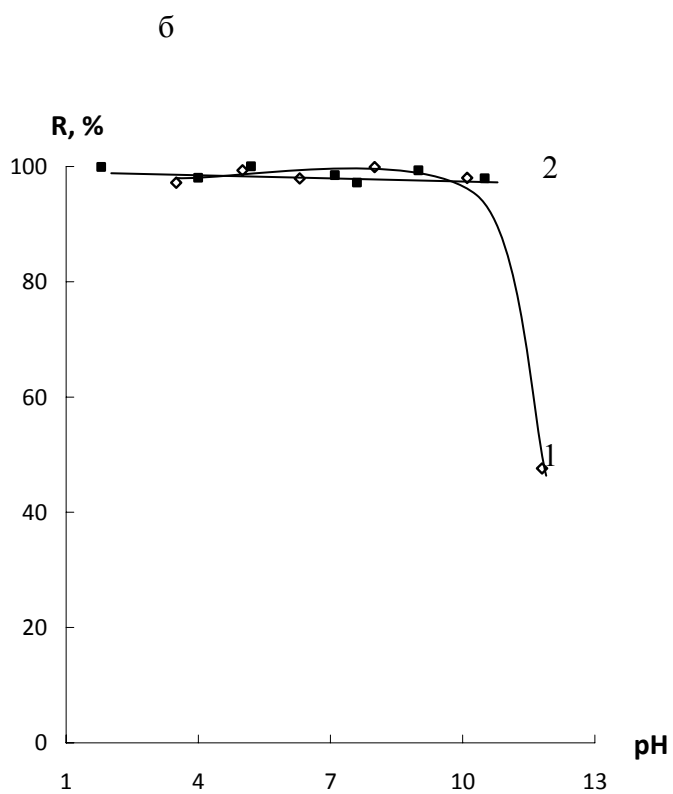
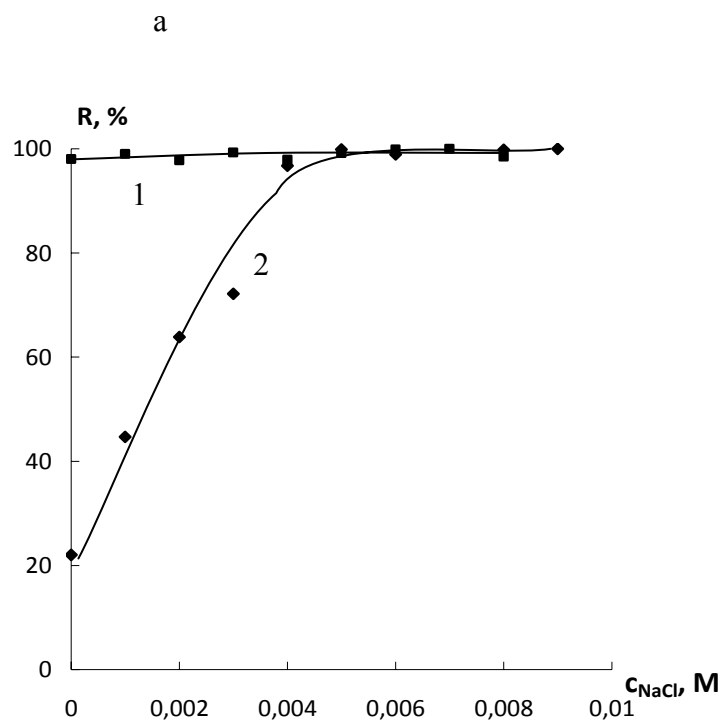


Рис. 43. Влияние концентрации добавки NaCl (а) и pH при фиксированной добавке электролита 0,004 М (б) на сорбцию НЧ/Ц (1) и НЧ/И (2) на ППУ. $V = 5$ мл, $m_{ППУ} = 0,02$ г, $t = 20$ мин, $c_{НЧ} = 15$ мкг/мл, pH 4 (а).

На основании полученных данных можно предположить, что для эффективной сорбции НЧ на ППУ необходимо понизить их поверхностный заряд путем введения в раствор избытка электролита. В последующих экспериментах для получения ППУ, модифицированного НЧ, сорбцию наночастиц проводили из 5 мл водного раствора с концентрацией наночастиц 15 мкг/мл. Модифицирование ППУ наночастицами, стабилизированными цитратом, проводили из водного раствора, а в случае наночастиц, стабилизированных 6,6-ионеном, создавали 0,01 М среду HCl.

Мы исследовали систему "наночастицы – пенополиуретан" в условиях, когда в растворе присутствуют не только наночастицы, но и их агрегаты, образующиеся под воздействием, например, цистеамина или ПГМГ. В соответствии с этим вариантом к растворам, содержащим ЭДТА и различное количество цистеамина или ПГМГ, добавляли раствор НЧ золота, выдерживали 2 минуты для завершения процессов агрегации, после чего в раствор опускали по одной таблетке ППУ и осуществляли сорбцию продуктов. Таблетку вынимали из раствора, просушивали между листами фильтровальной бумаги и измеряли спектры диффузного отражения.

Из сравнения спектров диффузного отражения образцов ППУ видно, что в отсутствие соединения, вызывающего агрегацию, наблюдается максимальная сорбция наночастиц золота (рис. 44, спектры 1). Спектры диффузного отражения образцов, полученных в условиях, когда в растворе присутствуют агрегаты НЧ (рис. 44а, спектры 3 – 5 и рис. 44б, спектры 2 – 4), отличаются от спектра исходного образца интенсивностью ППР наночастиц при 530 нм, наличием плеча в области 650 нм и соотношением F_{650}/F_{530} . По видимому, это указывает на то, что агрегаты НЧ сорбируются на ППУ хуже, чем индивидуальные НЧ, однако в фазе ППУ все же в некотором количестве присутствуют.

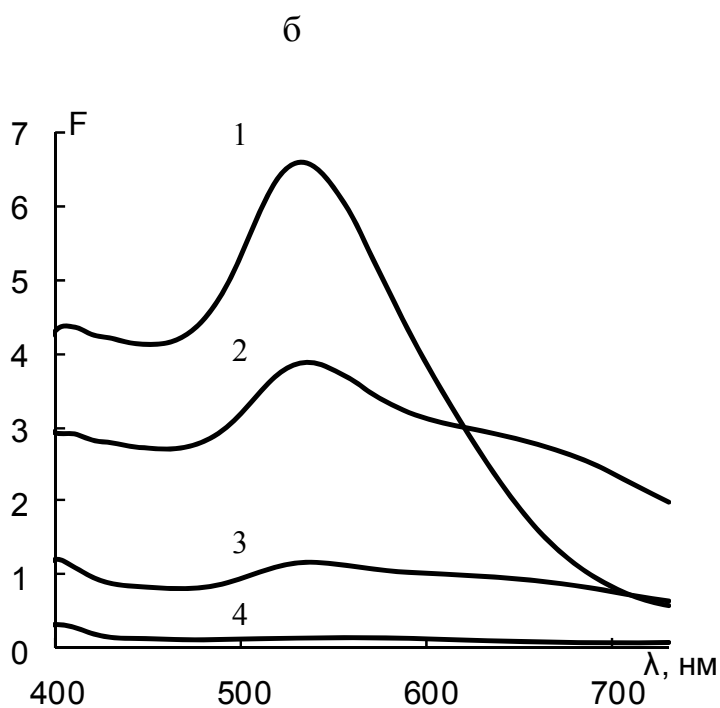
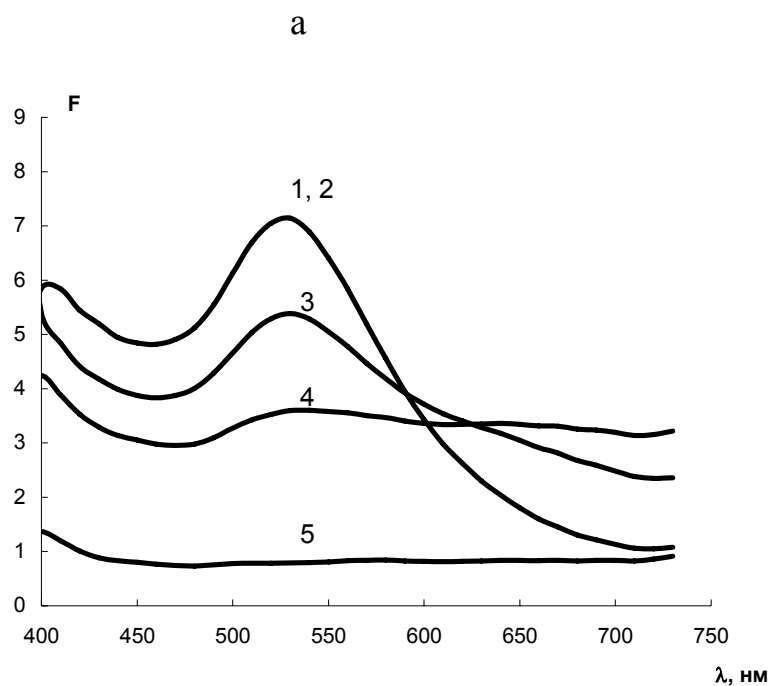


Рис. 44. Спектры диффузного отражения ППУ, модифицированного НЧ/Ц в отсутствие (1) и в присутствии цистеамина (2 – 5) (а) и ПГМГ (2 – 4) (б).

а: $c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл, $V = 10$ мл, $c_{\text{ЦА}}$, мкг/мл: 0,01 (2), 0,02 (3), 0,03 (4), 0,04 (5);

б: $c_{\text{НЧ}} = 27$ мкг/мл, $V = 5$ мл, $c_{\text{ПГМГ}}$, мкг/мл: 0,05 (2); 0,2 (3), 1 (4).

Наличие монотонной зависимости в координатах " F_{650}/F_{530} – концентрация соединения в водном растворе" (рис. 45) указывает на принципиальную возможность применения такого подхода для определения указанных соединений методом спектроскопии диффузного отражения после проведения агрегации НЧ в растворе и сорбции на ППУ. Чувствительность способа можно повысить за счет увеличения объема анализируемого раствора. На рис. 45 приведена соответствующая зависимость для цистеамина, полученная после сорбции наночастиц и их агрегатов из 10 и 50 мл раствора. Видно, что увеличение объема раствора в 5 раз при неизменном абсолютном содержании НЧ сдвигает кривую в область меньших концентраций соединения.

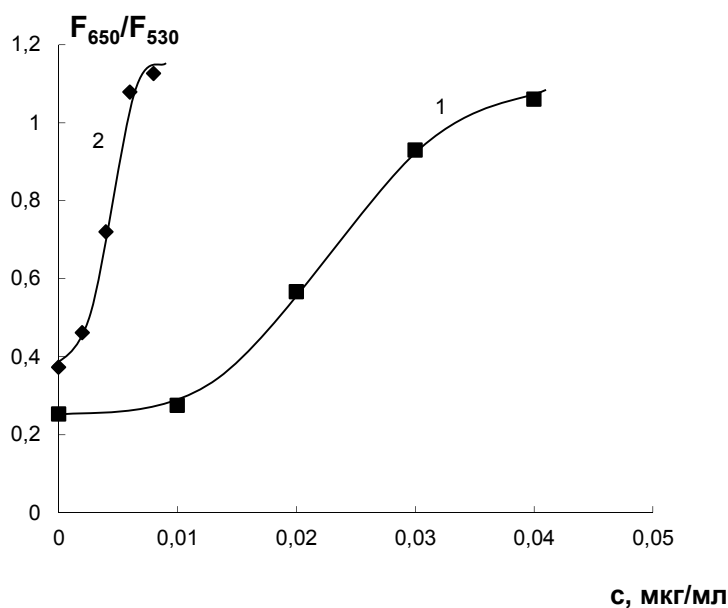


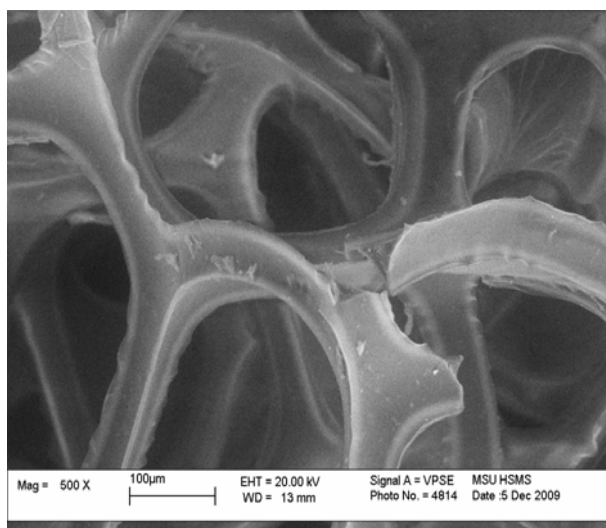
Рис. 45. Зависимость отношения F_{650}/F_{530} от концентрации цистеамина после проведения агрегации в растворе и сорбции на ППУ из 10 (1) и 50 (2) мл раствора. $c_{НЧ}$, мкг/мл: 15 (1), 3 (2).

6.2. Характеристики пенополиуретана, модифицированного наночастицами золота

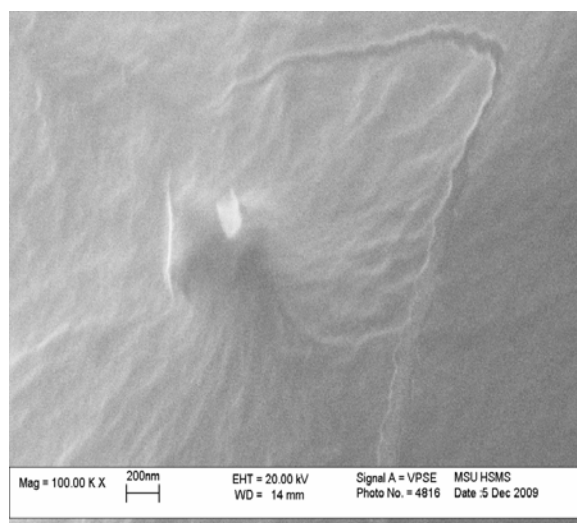
Микроструктура. Получены микрофотографии образцов пенополиуретана, модифицированного НЧ/Ц и НЧ/И. Они представлены на рис. 46. По сравнению с образцом исходного ППУ, на микрофотографиях образцов модифицированного ППУ видны наночастицы размером 15 – 25 нм, которые распределены по поверхности сорбента.

Спектральные характеристики. Изучены спектральные характеристики ППУ, модифицированного наночастицами золота. На рис. 47а представлены спектры диффузного отражения ППУ, модифицированного НЧ/Ц и НЧ/И. Видно, что полученные нанокompозитные материалы близки по своим спектральным характеристикам. На рис. 47б на примере НЧ, стабилизированных цитратом, проведено сравнение нормированных спектров диффузного отражения и поглощения исходного водного раствора наночастиц. Из рисунка видно, что при сорбции наночастиц золота на поверхности ППУ форма полосы поглощения НЧ в целом сохраняется, что свидетельствует о том, что принципиального изменения их состояния в ППУ не происходит. Наблюдаемое небольшое bathochromное смещение полосы ППР в фазе полимера (с 520 нм для водных растворов на 530 нм для модифицированного ППУ), скорее всего, связано с влиянием матрицы полимера на оптические свойства НЧ, а уширение ее длинноволновой части при увеличении концентрации НЧ и заполнения поверхности – с проявлением наноразмерных эффектов межчастичного взаимодействия, обусловленных более тесным расположением частиц на поверхности по сравнению с раствором.

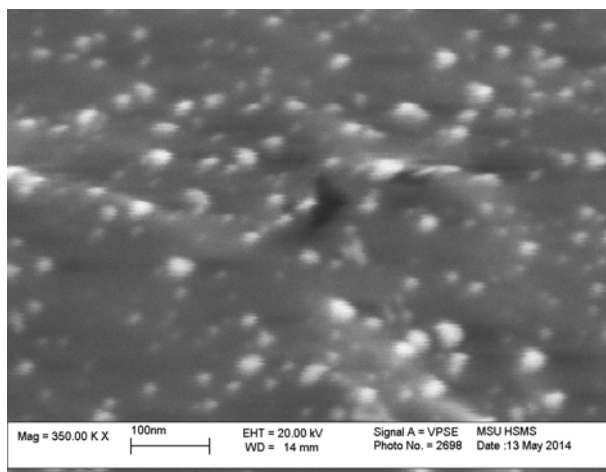
1



2



3



4

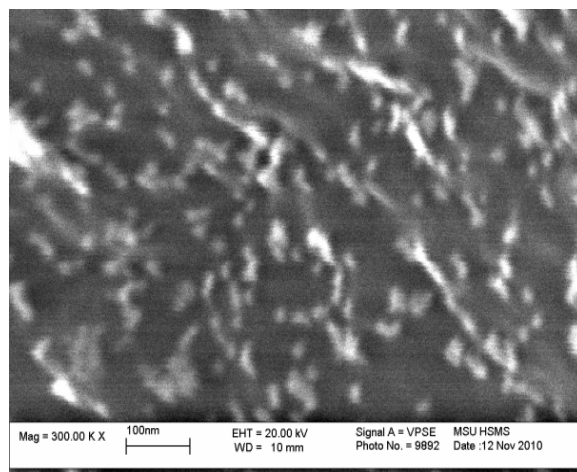


Рис. 46. Микрофотографии образцов исходного ППУ (1, 2) и ППУ, модифицированного НЧ/Ц (3) и НЧ/И (4)

$c_{\text{НЧ}} = 27 \text{ мкг/мл}$, $V = 5 \text{ мл}$.

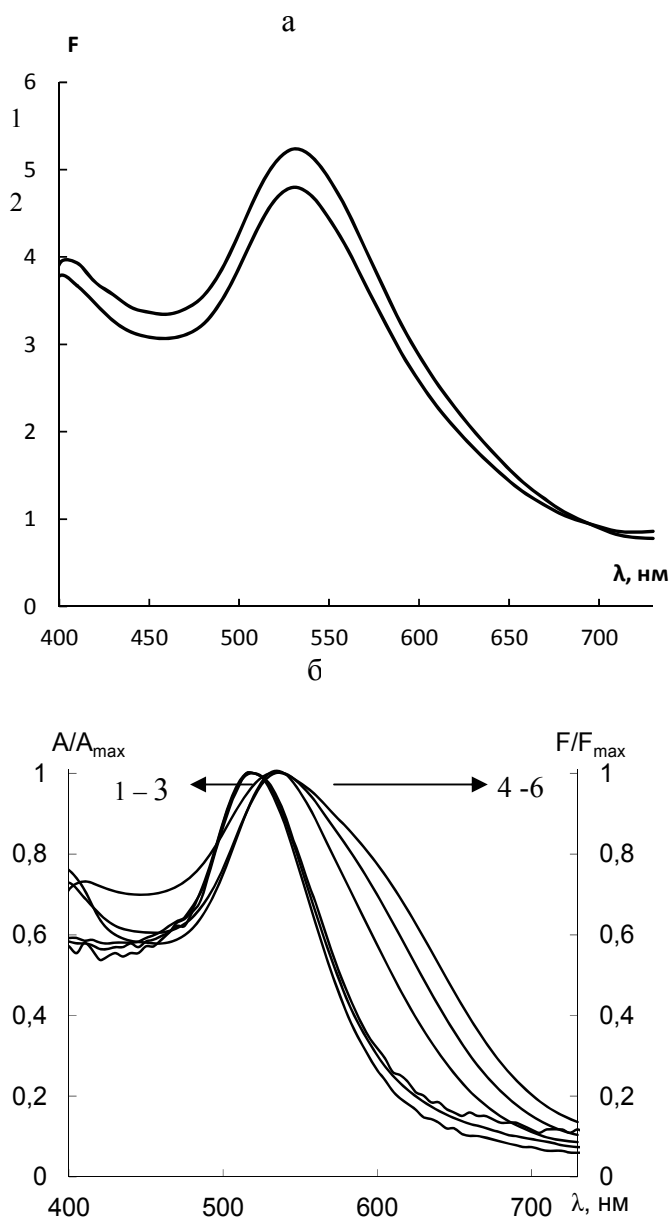


Рис. 47. Спектры диффузного отражения ППУ, модифицированного НЧ/Ц (1) и НЧ/И (2) (а), и нормированные спектры поглощения водных растворов НЧ/Ц (1 – 3) и диффузного отражения ППУ, модифицированного различным количеством НЧ/Ц (4 – 6) (б). а: $a_{\text{НЧ}} = 5$ мг/г; б: $c_{\text{НЧ}}$, мкг/мл: 9 (1,4); 27 (2,5); 36 (3,6); $V = 5$ мл, $t=30$ мин.

Химические свойства. Изучено взаимодействие ППУ, модифицированного НЧ золота, стабилизированными цитратом и 6,6-ионеном, с соединениями различных типов, указанными в табл. 4. Обнаружено, что как ППУ, модифицированный НЧ/Ц, так и ППУ, модифицированный НЧ/И, изменяет окраску с красной на сине-фиолетовую (свидетельство агрегации НЧ в фазе ППУ) в присутствии тиосоединений (цистеина, цистеамина, ацетилцистеина, меркаптоэтанола и меркаптопропионовой кислоты, за исключением глутатиона). На рис. 48 приведена гистограмма, отражающая изменение отношения значений функции Кубелки-Мунка агрегатов и индивидуальных НЧ в зависимости от соединения, раствором которого был обработан образец модифицированного ППУ. Эта картина принципиально отличается от поведения тех же НЧ в растворе (рис. 18). Особенно сильное отличие заметно в отношении соединений катионной природы и анионов, которые вызывали агрегацию соответственно НЧ/Ц и НЧ/И в растворе и не вызывают в фазе ППУ. Меняется также селективность НЧ по отношению к тиосоединениям – установлено, что НЧ в фазе пенополиуретана способны легко агрегировать под воздействием тиосоединений, в том числе тех, которые не вызывали агрегацию этих НЧ в растворе. Агрегация протекает в нейтральной среде без добавления каких-либо дополнительных реагентов, например, ЭДТА.

Подобные наблюдения могут быть объяснены особенностями состояния наночастиц в фазе ППУ по сравнению с раствором, связанными с их более тесным расположением («предорганизованностью» к агрегации) и отсутствием избыточного количества стабилизатора, но в то же время меньшей мобильностью; кроме того, немаловажную роль в регулировании селективности агрегации могут играть сорбционные свойства ППУ, не способного сорбировать сильно заряженные соединения. Особенности агрегации НЧ/Ц и НЧ/И в фазе ППУ изучены нами детально.

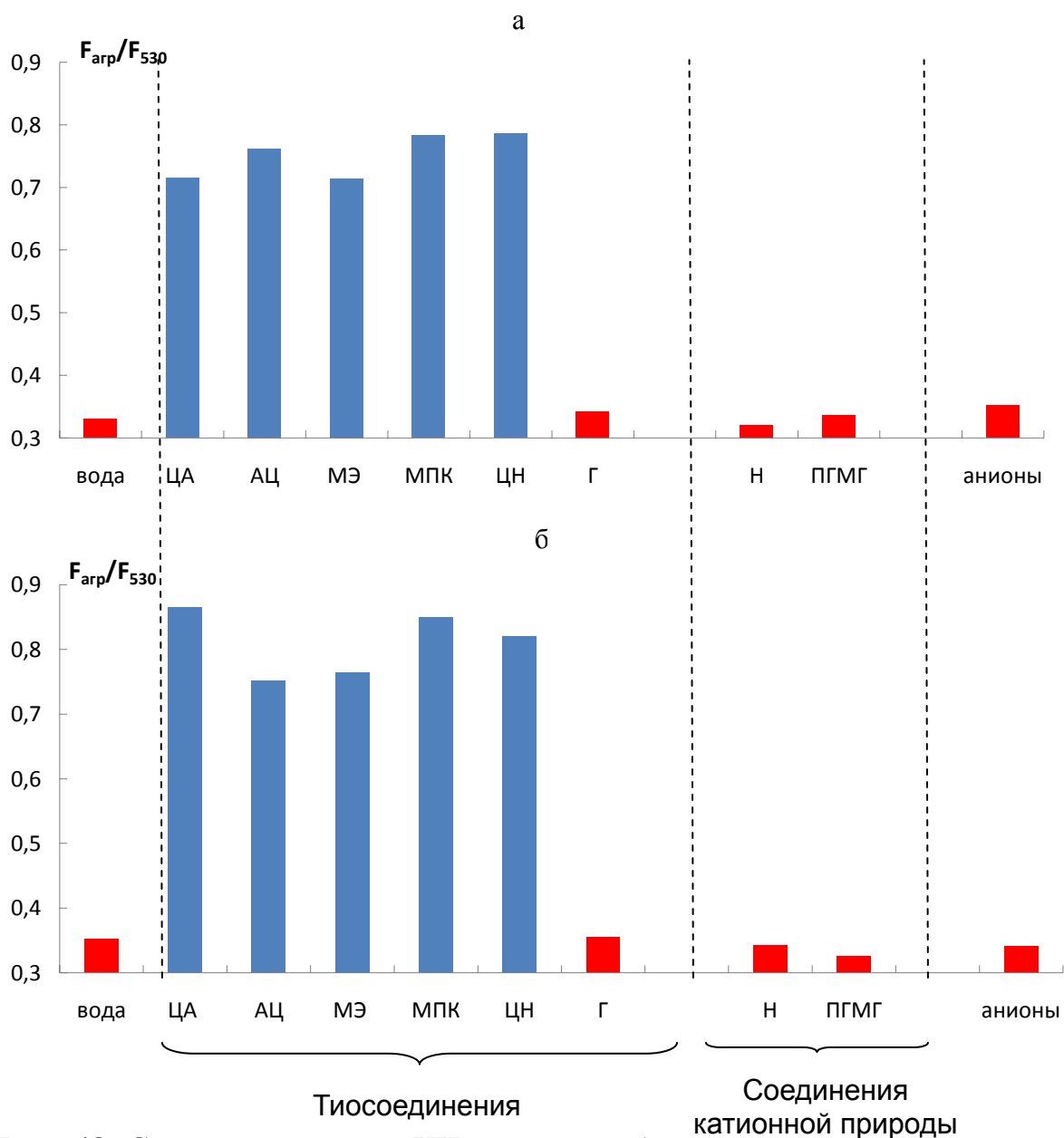


Рис. 48. Степень агрегации НЧ золота, стабилизированных цитратом натрия (а) и 6,6-ионеном (б), в фазе ППУ в присутствии тиосоединений ($c = 1$ мкг/мл), соединений катионной природы ($c = 1$ мкг/мл) и анионов ($c = 1$ мг/мл).

Анионы: Cl^- , Br^- , I^- , F^- , SO_3^{2-} , $S_2O_3^{2-}$, ClO_3^- , NO_3^- , NO_2^- , ClO_4^- , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , CH_3COO^- , $C_2O_4^{2-}$, $P_2O_7^{4-}$, SO_4^{2-} .

6.3. Особенности агрегации наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия и 6,6-ионеном, в фазе пенополиуретана

Как было сказано ранее, наночастицы, стабилизированные как цитратом натрия, так и 6,6-ионеном, способны агрегировать в фазе пенополиуретана под воздействием всех тиосоединений, исключая глутатион. Эта особенность глутатиона может быть связана с наличием в его молекуле большого числа полярных групп, повышающих гидрофильность соединения и понижающих его сорбируемость на ППУ, а также способных экранировать меркаптогруппу.

На рис. 49а на примере цистеина и ППУ, модифицированного НЧ/Ц, показано, как меняются спектры диффузного отражения ППУ при увеличении концентрации тиосоединения в растворе: интенсивность полосы поглощения при длине волны 530 нм снижается, а в области 630 – 650 нм образуется «плечо», соответствующее агрегатам НЧ. Зависимость отношения F_{650}/F_{530} , используемого нами в качестве характеристики степени агрегации НЧ в фазе ППУ по аналогии с отношением оптических плотностей для НЧ в растворе, от концентрации цистеина имеет вид s-образной кривой, причем содержание НЧ в ППУ не влияет на ее характер (рис. 49б). Сильное влияние на форму кривой оказывает объем раствора, что подтверждает важную роль стадии концентрирования соединения на ППУ (рис. 50).

Для завершения агрегативных процессов необходимо 15 – 20 мин контакта фаз. На примере ППУ, модифицированного НЧ/И, показано, что агрегативный эффект проявляется в диапазоне рН от 3 до 7 (рис. 51). При рН 7 – 10 на зависимостях наблюдается спад и при рН > 10 тиосоединение практически перестает вызывать агрегацию НЧ в фазе ППУ независимо от своей природы. Этот факт может быть объяснен диссоциацией в щелочной среде меркаптогрупп соединений, что препятствует их связыванию с поверхностью наночастиц золота.

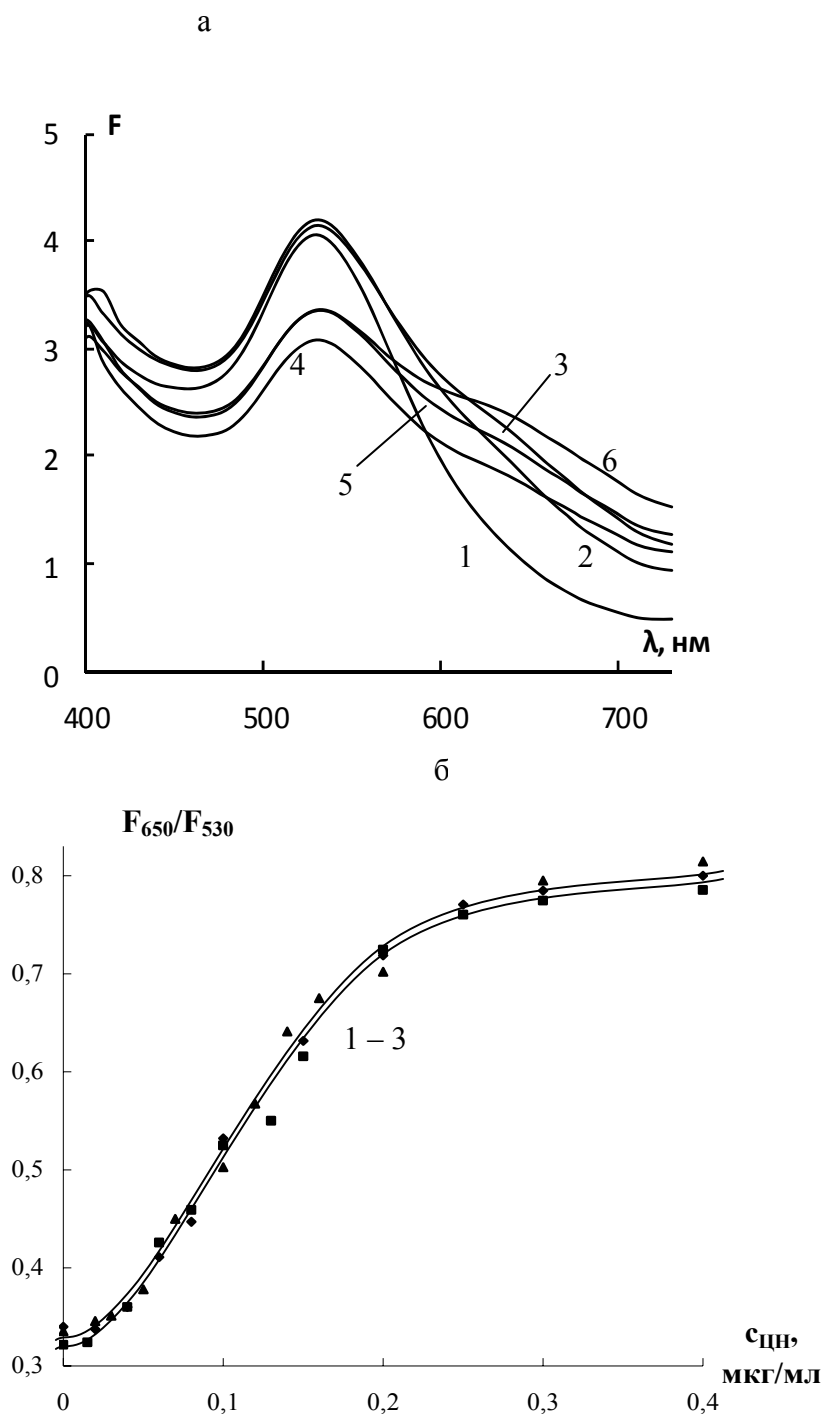


Рис. 49. Спектры диффузного отражения ППУ, модифицированного НЧ/Ц в присутствии различных концентраций цистеина (а) и зависимость F_{650}/F_{530} от концентрации цистеина (б). $V = 10$ мл, $t = 30$ мин; а: $a_{\text{НЧ}} = 3,4$ мг/г, $c_{\text{ЦН}}$, мкг/мл: 0 (1); 0,1 (2); 0,2 (3), 0,3 (4), 0,4 (5); 0,5 (6); б: $a_{\text{НЧ}}$, мг/г: 3,4 (1), 6,8 (2) и 9 (3).

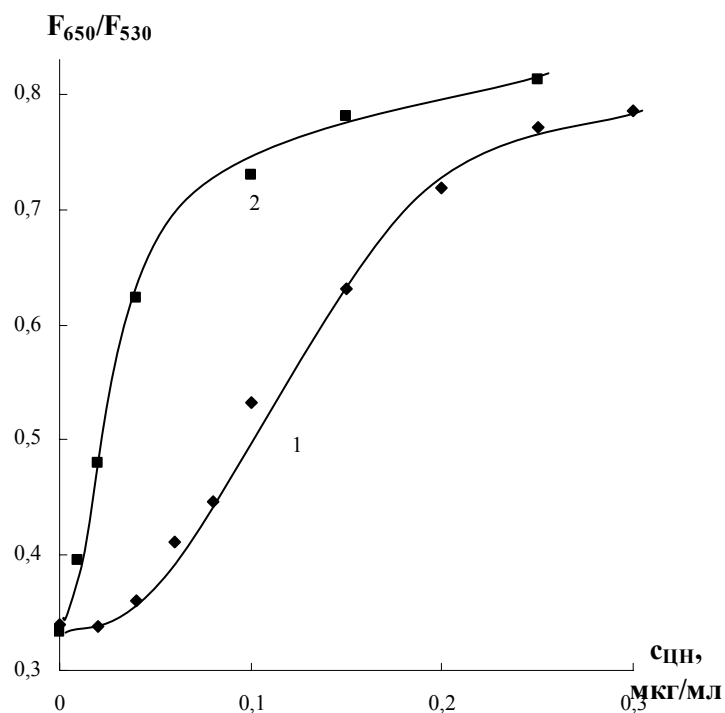


Рис. 50. Зависимость отношения F_{650}/F_{530} ППУ, модифицированного НЧ/Ц, от концентрации цистеина для $V = 10$ (1) и 50 мл (2), $a_{НЧ} = 3,4$ мг/Г, $t = 30$ мин.

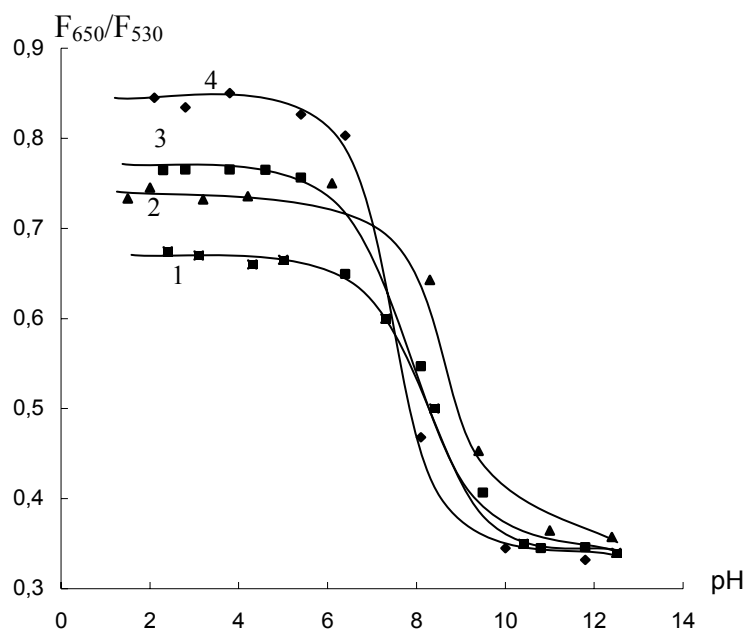


Рис. 51. Зависимость отношения F_{650}/F_{530} ППУ, модифицированного НЧ/И, в присутствии МПК (1), АЦЦ (2), ЦН (3) и ЦА (4) от pH. $V = 10$ мл, $a_{НЧ} = 3,4$ мг/Г, $t = 30$ мин, $с_{тиосоед.} = 0,1$ мкг/мл.

При оптимальных рН построены зависимости отношения значений функции Кубелки-Мунка F_{650}/F_{530} от концентрации тиосоединения в водном растворе. Они представлены на рис. 52. Независимо от природы тиосоединения, все они имеют вид S-образных кривых. Восходящий участок кривых начинается со значений концентрации тиосоединения 0,03 – 0,04 мкг/мл, а его наклон увеличивается в ряду МПК < АЦЦ < ЦН < ЦА, что коррелирует с увеличением в структуре соединения числа и силы основных центров.

Как мы видели на примере НЧ в водном растворе, чувствительность их к присутствию веществ, вызывающих агрегацию, можно повысить за счет увеличения ионной силы раствора или введения веществ, уменьшающих ζ -потенциал. Мы проверили данный прием для случая НЧ в ППУ в отношении соединений катионной природы, которые сами по себе не вызывают агрегацию НЧ в фазе пенополиуретана.

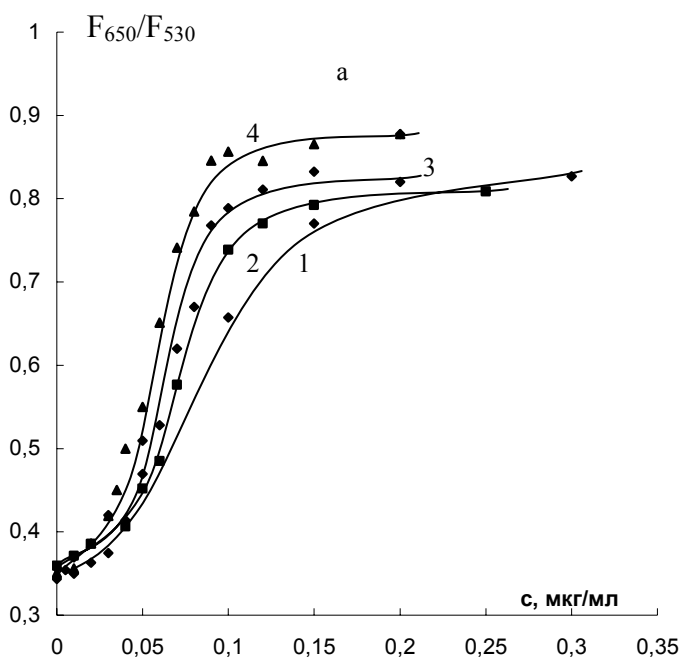


Рис. 52. Зависимость отношения F_{650}/F_{530} ППУ, модифицированного НЧ/И, от концентрации МПК (1), ацетилцистеина (2), цистеина (3) и цистеамина (4). $V = 10$ мл, $a_{НЧ} = 3,4$ мг/г, $t = 30$ мин.

В качестве вещества, снижающего стабильность НЧ, использовали 5М HCl – благодаря своей летучести и высокой протонирующей способности, это соединение эффективно преодолевает межфазную границу и снижает стабильность НЧ. Кроме того, соляная кислота обеспечивает низкие значения pH, которые, как было установлено для тиосоединений, также способствуют агрегации НЧ. Установлено, что в присутствии 5М HCl становится возможной агрегация НЧ, стабилизированных цитратом натрия, в присутствии ПГМГ. На рис. 53а приведены спектры диффузного отражения ППУ, модифицированного НЧ/Ц до и после контакта с раствором ПГМГ. Видно, что в отсутствие соляной кислоты ПГМГ не вызывает существенных изменений спектра модифицированного ППУ даже при концентрации 20 мкг/мл (спектр 2), в то время как в присутствии 5 М HCl значительные изменения наблюдаются уже при концентрациях $n \cdot 10^{-1}$ мкг/мл. Данный факт говорит о существенном снижении агрегативной устойчивости НЧ в присутствии кислоты. Это подтверждается также наблюдаемыми изменениями в спектрах диффузного отражения образцов, обработанных HCl без ПГМГ (спектр 3). Зависимость F_{650}/F_{530} от концентрации ПГМГ в 5 М HCl приведена на рис. 53б.

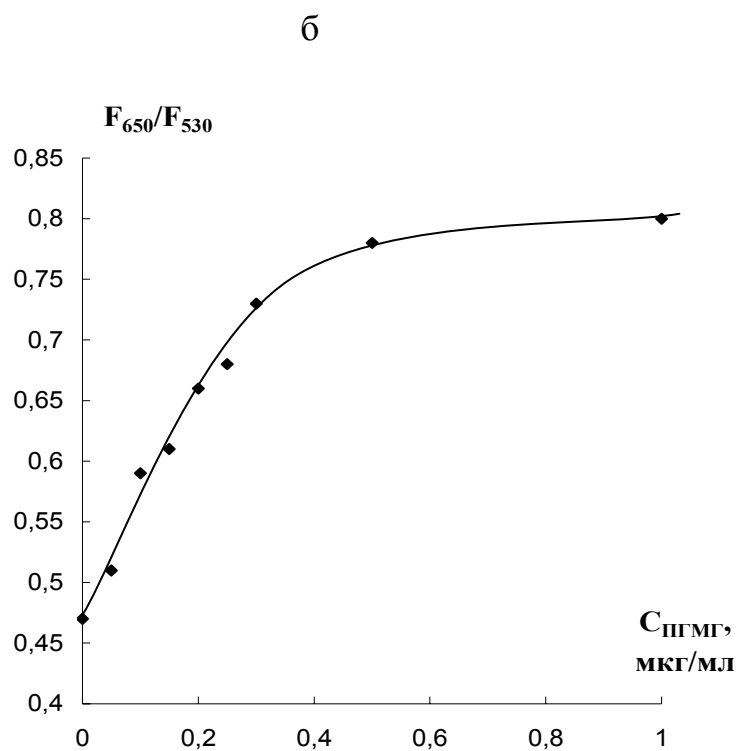
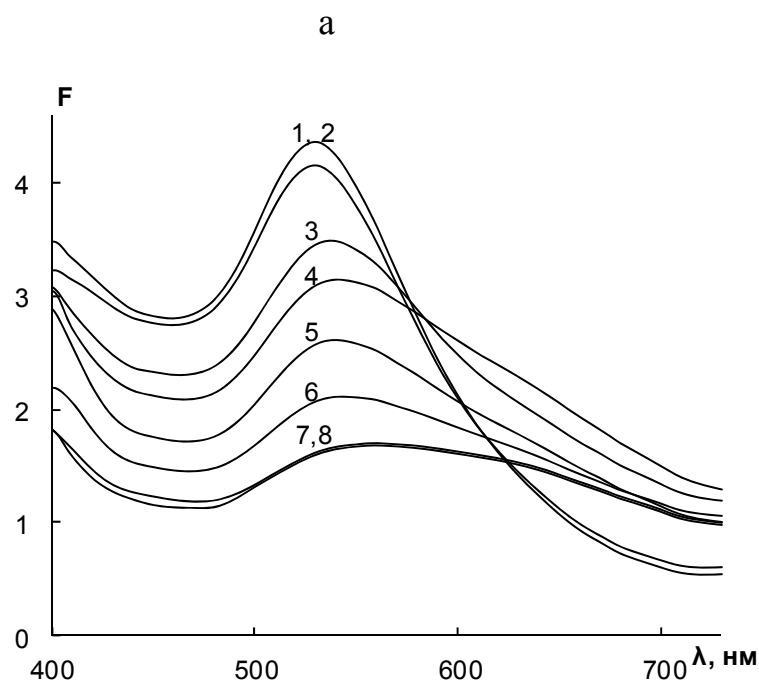


Рис. 53. Спектры диффузного отражения ППУ, модифицированного НЧ/Ц, в отсутствие (1, 3) и в присутствии ПГМГ (2, 4 – 8) в воде (1, 2) и в 5 М НСl (3 – 8) (а) и зависимость F_{650}/F_{530} от концентрации ПГМГ (б).

$a_{\text{НЧ}} = 3,4$ мг/г, $V = 10$ мл, $t = 30$ мин; а: $c_{\text{ПГМГ}}$, мкг/мл: 20 (2); 0,1 (4); 0,2 (5), 0,4 (6), 0,6 (7); 0,8 (8); б: $c_{\text{НСl}} = 5$ моль/л.

7. АНАЛИТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА И ПЕНОПОЛИУРЕТАНА, МОДИФИЦИРОВАННОГО НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА, ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДАМИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ И СПЕКТРОСКОПИИ ДИФФУЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ

Проведенное исследование показало наличие зависимости между отношением оптических плотностей A_{agr}/A_{520} раствора НЧ либо значений функции Кубелки-Мунка F_{agr}/F_{530} ППУ, модифицированного НЧ, и концентрацией исследуемых веществ в растворе, что положено в основу способов их определения методами спектрофотометрии и спектроскопии диффузного отражения. В табл. 6 – 8 приведены метрологические характеристики определения тиосоединений, соединений катионной природы и анионов с указанием метода определения и типа используемых НЧ.

7.1. Определение тиосоединений

Как показало проведенное исследование, для определения тиосоединений методом спектрофотометрии могут быть использованы только наночастицы золота, стабилизированные цитратом. При этом речь идет прежде всего о тиосоединениях, несущих в растворе положительный заряд (цистеамин), а также – при условии добавления реагента, снижающего агрегативную устойчивость НЧ, – тиосоединений цвиттер-ионного строения (цистеин). В качестве реагента-дестабилизатора рекомендован ЭДТА в силу его высокой комплексообразующей способности в отношении катионов металлов, что обеспечивает их эффективное маскирование.

Для проведения определения методом спектрофотометрии в пробирки для встряхивания вносили последовательно исследуемое соединение, деионизованную воду, подщелаченный раствор ЭДТА до конечной

концентрации 0,005 М (либо цистеамин в роли реагента-дестабилизатора) и раствор НЧ золота, стабилизированных цитратом, до конечной концентрации 15 мкг/мл. Суммарный объем всех компонентов составлял 5 мл. Через 2 мин после введения наночастиц снимали спектры поглощения растворов, рассчитывали отношение A_{agr}/A_{520} и строили градуировочный график в координатах A_{agr}/A_{520} – концентрация определяемого соединения.

Метрологические характеристики определения приведены в табл. 6. Их можно варьировать, изменяя концентрацию наночастиц, – при ее снижении происходит увеличение чувствительности определения (предел обнаружения уменьшается), но диапазон определяемых содержаний становится уже. Проведена оценка селективности определения тиосоединений. Установлено, что при использовании ЭДТА определению не мешают многократные избытки катионов металлов. При определении цистеина и цистеамина не оказывают мешающего влияния аминокислоты. Использование в качестве реагента-дестабилизатора цистеамина также позволяет добиться чувствительного определения цистеина, однако не обеспечивает требуемого маскирующего эффекта, в результате чего определению мешают многие катионы металлов уже в сопоставимых количествах.

Еще одним приемом, позволяющим повысить чувствительность определения, является сорбционное концентрирование на ППУ после проведения агрегации НЧ в растворе. Для реализации этого подхода через 2 мин после добавления в анализируемый раствор наночастиц в полученную смесь вносили таблетку ППУ, тщательно прожимали ее стеклянной палочкой для удаления воздуха из пор и встряхивали пробирки на механическом шейкере до достижения сорбционного равновесия – 30 мин. Затем таблетки ППУ извлекали, высушивали между листов фильтровальной бумаги и измеряли диффузное отражение. Этот способ отмечен «*» в табл. 6.

В данном случае появляется возможность варьирования метрологических характеристик определения путем изменения объема анализируемого раствора. Так, например, предел обнаружения цистеамина уменьшается с 0,01 мкг/мл, что сопоставимо со спектрофотометрическим способом, до 0,002 мкг/мл при увеличении объема анализируемого раствора с 10 до 50 мл.

Применение в качестве готового реагента нанокompозитного материала – ППУ, модифицированного НЧ, – и метода спектроскопии диффузного отражения для регистрации аналитического сигнала существенно расширяет перечень определяемых тиосоединений, при этом пределы обнаружения для всех изученных тиосоединений составляют 0,02 – 0,05 мкг/мл; остальные метрологические характеристики также оказываются сопоставимы. Поэтому такой способ можно рекомендовать для определения суммарного содержания соединений этого класса.

Пенополиуретан, модифицированный НЧ, может быть легко получен сорбционным путем. Для этого в колбу для встряхивания вносили 1 мл НЧ и 4 мл деионизованной воды (в случае наночастиц, стабилизированных 6,6-ионеном создавали среду 0,01 М HCl), помещали в полученный раствор таблетку ППУ, прожимали ее стеклянной палочкой для удаления воздуха и встряхивали на механическом шейкере 20 мин. После этого окрашенные таблетки извлекали, высушивали между листами фильтровальной бумаги и использовали для дальнейшего определения тиосоединений. Нанокompозитный материал помещали в растворы, содержащие исследуемое соединение, встряхивали 30 мин, извлекали, высушивали между листами фильтровальной бумаги, после чего измеряли спектр диффузного отражения полученных образцов.

В целом, по сравнению со спектрофотометрическим способом, этот вариант определения тиосоединений характеризуется несколько худшей чувствительностью, однако допускает возможность снижения пределов обнаружения за счет увеличения объема анализируемого раствора (эффект концентрирования). Кроме того, в качестве преимущества ППУ, модифицированного НЧ, во многих случаях можно отметить отсутствие необходимости введения дополнительного реагента для маскирования и повышения чувствительности системы.

С целью оценки применимости разработанных способов при анализе реальных объектов проведено определение исследуемых тиосоединений в следующих препаратах:

- Цистеамина в средстве для биозавивки волос «Cutrin» и модельном растворе, приготовленном на основе мочи
- Цистеина в растворе для инфузий «Перфалган», пивных дрожжах, биологически активной добавке «NAC complex» и искусственной моче
- Ацетилцистеина в муколитическом средстве «АЦЦ Лонг»

Полученные результаты, представленные в табл. 9, говорят о хорошей правильности и воспроизводимости методик.

7.2. Определение соединений катионной природы

Агрегация наночастиц золота под воздействием соединений катионной природы, то есть несущих значительный положительный заряд, не содержащих в своем составе меркаптогрупп, способных образовывать прочную, близкую к ковалентной связь с поверхностными атомами золота, возможна преимущественно за счет электростатических взаимодействий. Поэтому, как было показано в настоящем исследовании, для определения соединений данного типа перспективны только отрицательно заряженные

НЧ, стабилизированные цитратом. Спектрофотометрическая методика определения соединений катионной природы аналогична таковой для тиосоединений. Метрологические характеристики приведены в табл. 7. Пределы обнаружения лежат на уровне 0,02 – 0,06 мкг/мл и могут быть снижены путем уменьшения концентрации НЧ. Относительное стандартное отклонение составляет 0,03 – 0,06. Мешающее влияние многих катионов металлов может быть устранено путем введения в раствор ЭДТА.

Показано, что определение соединений этого типа методом спектроскопии диффузного отражения, также как и для тиосоединений, может быть реализовано в варианте сорбции продуктов их взаимодействия с НЧ/Ц в растворе пенополиуретаном.

В силу того, что высокозаряженные соединения с трудом преодолевают межфазную границу, сорбционно-спектроскопическое определение соединений катионной природы с применением готового реагента – ППУ, модифицированного НЧ, – возможно только в среде 5 М HCl в роли реагента-дестабилизатора. Несмотря на хорошую чувствительность ($c_{\min} = 0,05$ мкг/мл), плохая воспроизводимость определения ($s_r = 0,1$) и необходимость использования агрессивной среды не позволяют считать этот вариант перспективным.

Проведено определение исследуемых соединений катионной природы в следующих реальных объектах:

- Неомицина ушных каплях «Полидекса» и «Анауран» и глазных каплях «Макситрол»
- ПГМГ в минеральных водах «Кармадон» и «Stelmas», водопроводной, сточной водах, воде из бассейна, а также в дезинфицирующем средстве «Биор-1»

Полученные результаты представлены в табл. 10.

7.3. Определение анионов

Поскольку маленькие заряженные частицы, характеризующиеся высокой плотностью заряда, не способны преодолевать межфазную границу и вызывать агрегацию НЧ в фазе ППУ, единственным возможным вариантом их определения является спектрофотометрия. В нашей работе показано, что в этих целях можно использовать НЧ, стабилизированные 6,6-ионеном. При этом селективность во многом определяется зарядом аниона и его размером. Поэтому данный вариант предложен для определения сульфата и пирофосфата, характеризующихся высоким зарядом в достаточно широкой области рН.

Для осуществления определения в пробирки вносили последовательно исследуемое соединение, деионизованную воду и НЧ/И до конечной концентрации 25 мкг/мл. Суммарный объем всех компонентов составлял 3 мл. Через 2 мин после введения наночастиц снимали спектры поглощения растворов, рассчитывали отношение $A_{\text{агр}}/A_{520}$ и строили градуировочный график в координатах $A_{\text{агр}}/A_{520}$ – концентрация аниона. Рассчитаны метрологические определения. Они приведены в табл. 8. В случае сульфата показано, что метрологические характеристики практически не зависят от концентрации наночастиц. Для пирофосфата при уменьшении концентрации НЧ наблюдается снижение предела обнаружения; при этом существенного изменения диапазона определяемых содержаний отмечено не было.

Как видно из представленных данных, способы обладают достаточно низкой чувствительностью ($c_{\text{min}} = 60$ мкг/мл и 25 мкг/мл для сульфата и пирофосфата соответственно), поэтому их можно рекомендовать для быстрого одностадийного анализа объектов, где содержание этих анионов достаточно велико. В подобном случае использование чувствительной методики кажется нецелесообразным или даже нежелательным, поскольку

потребуется многократного разбавления образца, что приведет к необходимости дополнительных операций, лишним затратам времени и деионизованной воды, повысит погрешности определения и риск загрязнения пробы. Предлагаемые способы определения анионов с помощью НЧ золота, стабилизированными 6,6-ионеном, позволяют проводить быстрый прямой анализ объектов указанного вида. При этом резкая зависимость аналитического сигнала от концентрации определяемого аниона в пределах узкого диапазона позволяет рекомендовать этот способ для оперативного контроля содержания этого аниона на заранее установленном уровне (например, соответствующем середине данного диапазона) и мониторинга отклонений его содержания от нормируемого значения. При этом возможность выбора различного значения для разных объектов анализа достигается варьированием аликвоты анализируемого раствора.

Проведено определение исследуемых анионов в следующих объектах:

- Сульфат-ионов в минеральных водах «Stelmas» и «Новотерская»
- Пирофосфат-ионов в разрыхлителе теста «Dr. Oetker» и растворе для меднения.

Полученные результаты, представленные в табл. 11, говорят о правильности и воспроизводимости методик.

Таблица 6. Метрологические характеристики определения тиосоединений (n = 3, P = 0,95)

Метод определения, тип НЧ	Определяемое соединение	Условия определения	Диапазон определяемых содержаний, мкг/мл	c_{\min} , мкг/мл	s_r	Соотношение посторонних компонентов, не мешающих определению
СФ, НЧ/Ц	ЦА	$c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл, $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005$ М	0,02 - 0,05	0,01	0,05	Na ⁺ , K ⁺ – 2000; Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ – 100, HCO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ – 1000, сопоставимые количества глицина, аланина, триптофана, изолейцина, фенилаланина, валина, серина, тирозина, ацетилцистеина.
		$c_{\text{НЧ}} = 40$ мкг/мл, $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005$ М	0,03 – 0,10	0,02	0,05	
		$c_{\text{НЧ}} = 100$ мкг/мл, $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005$ М	0,05 – 0,2	0,03	0,03	
	Г	$c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл	150 – 400	100	0,03	Мешают многие катионы в сопоставимых количествах
	ЦН	$c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл, $c_{\text{ЭДТА}} = 0,01$ М	0,06 - 0,5	0,05	0,05	Na ⁺ , K ⁺ – 200; Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ – 100, HCO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ – 100, сопоставимые количества аминокислот (см. ЦА) Мешают многие катионы в сопоставимых количествах
		$c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл, $c_{\text{ЦА}} = 0,005$ мкг/мл	0,20 – 1,0	0,1	0,05	
$c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл, $c_{\text{ЦА}} = 0,01$ мкг/мл		0,06 – 0,5	0,04	0,04		
СДО, НЧ/Ц	ЦА*	$c_{\text{НЧ}} = 15$ мкг/мл, $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005$ М, V = 10 мл	0,02 - 0,04	0,01	0,06	Na ⁺ , K ⁺ – 2000; Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ – 100, HCO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ – 1000, сопоставимые количества аминокислот (см. ЦА)
		$c_{\text{НЧ}} = 3$ мкг/мл, $c_{\text{ЭДТА}} = 0,005$ М, V = 50 мл	0,003 – 0,008	0,002	0,05	
	ЦН	$a_{\text{НЧ}} = 3,7$ мг/г, V = 10 мл	0,05 – 0,3	0,04	0,04	(Na ⁺ + K ⁺) – 100; Ca ²⁺ - 10, HCO ₃ ⁻ - 60, Cl ⁻ – 140, сопоставимые количества аминокислот (см. ЦА)
		$a_{\text{НЧ}} = 3,7$ мг/г, V = 50 мл	0,02 – 0,15	0,01	0,05	
СДО, НЧ/И	ЦН	$a_{\text{НЧ}} = 3,7$ мг/г, V = 10 мл	0,03 – 0,10	0,02	0,03	парацетамол – 40, маннитол – 150, (Na ⁺ + K ⁺) – 2, Ca ²⁺ - 1, Cl ⁻ – 1, SO ₄ ²⁻ , HCO ₃ ⁻ - 4, сопоставимые количества аминокислот (см. ЦА)
	АЦ	$a_{\text{НЧ}} = 3,7$ мг/г, V = 10 мл	0,04 – 0,2	0,03	0,05	Лимонная кислота – 6, HCO ₃ ⁻ - 60, SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , Na ₂ HPO ₄ – 1
	ЦА	$a_{\text{НЧ}} = 3,7$ мг/г, V = 10 мл	0,04 – 0,10	0,03	0,04	
	МПК	$a_{\text{НЧ}} = 3,7$ мг/г, V = 10 мл	0,04 – 0,2	0,05	0,03	

* Взаимодействие с НЧ в растворе с последующей сорбцией продуктов на ППУ

Таблица 7. Метрологические характеристики определения соединений катионной природы (n = 3, P = 0,95)

Метод определения, тип НЧ	Определяемое соединение	Условия определения	Диапазон определяемых содержаний, мкг/мл	c _{min} , мкг/мл	S _r	Соотношение посторонних компонентов, не мешающих определению
СФ, НЧ/Ц	ПГМГ	c _{НЧ} = 15 мкг/мл, c _{ЭДТА} = 0,005 М	0,04 – 0,08	0,03	0,05	Na ⁺ , K ⁺ – 10000; Ca ²⁺ – 600; Mg ²⁺ – 900; SO ₄ ²⁻ – 7000; Cl ⁻ – 15000; HCO ₃ ⁻ – 7000.
		c _{НЧ} = 30 мкг/мл, c _{ЭДТА} = 0,005 М	0,05 – 0,12	0,04	0,06	
		c _{НЧ} = 60 мкг/мл, c _{ЭДТА} = 0,005 М	0,06 – 0,13	0,05	0,06	
	Н	c _{НЧ} = 15 мкг/мл, c _{ЭДТА} = 0,005 М	0,03 – 0,05	0,02	0,05	Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ – 500; Ca ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Cl ⁻ – 100; SO ₄ ²⁻ – 200; HCO ₃ ⁻ – 400
		c _{НЧ} = 40 мкг/мл, c _{ЭДТА} = 0,005 М	0,06 – 0,10	0,05	0,05	
		c _{НЧ} = 100 мкг/мл, c _{ЭДТА} = 0,005 М	0,07 – 0,20	0,06	0,03	
СДО, НЧ/Ц	ПГМГ	a _{НЧ} = 3,7 мг/г, c _{НСl} = 5 М	0,1 – 0,5	0,05	0,1	
	ПГМГ*	c _{НЧ} = 15 мкг/мл, c _{ЭДТА} = 0,01 М	0,05 – 0,1	0,02	0,07	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ – 100, Cr ³⁺ , Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ – 20, анионы Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ – 100

* Взаимодействие с НЧ в растворе с последующей сорбцией продуктов на ППУ

Таблица 8. Метрологические характеристики определения анионов (n = 3, P = 0,95)

Метод определения, тип НЧ	Определяемое соединение	Условия определения	Диапазон определяемых содержаний, мкг/мл	c _{min} , мкг/мл	S _r	Соотношение посторонних компонентов, не мешающих определению
СФ, НЧ/И	Сульфат	c _{НЧ} = 25 мкг/мл	70 – 150	60	0,05	Cl ⁻ , HCO ₃ ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ – 1, Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ – 2, Zn ²⁺ , Fe ³⁺ , Al ³⁺ , Cu ²⁺ – 30
		c _{НЧ} = 12 мкг/мл	30 – 50	20	0,04	
	Пирофосфат	c _{НЧ} = 25 мкг/мл	50 – 70	45	0,04	Cl ⁻ – 2, CH ₃ COO ⁻ , HCO ₃ ⁻ – 1
		c _{НЧ} = 50 мкг/мл	80 – 100	70	0,05	

Таблица 9. Определение тиосоединений в объектах (n = 3, P = 0,95)

Определяемое соединение	Метод определения, тип НЧ	Объект анализа	Состав объекта анализа	Найдено	s _r
ЦА	СФ, НЧ/Ц	Средство для биозавивки волос «Cutrin»	вода, цистеамин, этаноламин, Oleth-20 (полиэтиленгликоль олеиловый эфир), аммония бикарбонат, отдушка, поливинилпирролидон и диэтилентриаминпентаацетат натрия.	10,7 ± 1,5 % Содержание по данным ВЭЖХ – 11,9 ± 0,8 %	0,06
		Модельные растворы, приготовленные на основе мочи	Введено 0 мкг/мл цистеамин	0,10 ± 0,02 мкг/мл	0,04
			Введено 0,07 мкг/мл цистеамин	0,17 ± 0,03 мкг/мл	0,05
			Введено 0,13 мкг/мл цистеамин	0,26 ± 0,03 мкг/мл	0,05
		Введено 0,20 мкг/мл цистеамин	0,27 ± 0,03 мкг/мл	0,06	
ЦН	СФ, НЧ/Ц	«Перфалган» (раствор для инфузий, UPSA)	10 мг/мл парацетамола 38,5 мг/мл маннитола 0,25 мг/мл цистеина гидрохлорида моногидрата 0,13 мг/мл натрия гидрофосфата дигидрата	0,23 ± 0,04 мг/мл	0,08
		Пивные дрожжи (ООО Экко Плюс)	На 1 таблетку: 80 мг L-метионина, 45 мг L-цистеина , 0,34 мг витамина В1, 0,15 мг витамина В2, 0,2 мг витамина В6, 1,5 мг ниацина, 27 мг фолиевой кислоты. Вспомогательные компоненты – микрокристаллическая целлюлоза, стеарат кальция	43 ± 10 мг	0,1
	СДО, НЧ/Ц	«Перфалган»	См. выше	0,27 ± 0,03 мг/мл	0,08
		Пивные дрожжи	См. выше	47 ± 11 мг	0,09
		«NAC complex» (Nittany Pharmaceuticals, Inc.)	На 1 капсулу препарата: N-ацетил цистеин 20 мг, L-цистеин 200 мг , витамин В3 20 мг, магния хелат 200 мг, цинка пиколинат 2 мг.	220 ± 20 мг	0,04
		Искусственная моча	мочевина 22 мг/мл, креатинин 1,5 мг/мл, натрия хлорид 5,2 мг/мл, двухводный натрия дигидрофосфат 1,08 мг/мл, одноводный натрия гидрофосфат 0,97 мг/мл, натрия азид 1 мг/мл, тетразин 10 мкг/мл. Введено 0,1 мкг/мл цистеина	0,08 ± 0,02 мкг/мл	0,06
	СДО, НЧ/И	«Перфалган»	См. выше	0,24 ± 0,04	0,06
	АЦ	СДО, НЧ/И	«АЦЦ Лонг» (Салютас фарма)	На 1 таблетку: ацетилцистеин 600 мг , лимонная кислота — 625 мг; натрия гидрокарбонат — 327 мг; натрия карбонат — 104 мг; маннитол — 72,8 мг; лактоза — 70 мг; аскорбиновая кислота — 75 мг; натрия цикламат — 30,75 мг; натрия сахарината дигидрат — 5 мг; натрия цитрата дигидрат — 0,45 мг; ежевичный ароматизатор «В» — 40 мг	630 ± 60 мг

Таблица 10. Определение соединений катионной природы в объектах (n = 3, P = 0,95)

Определяемое соединение	Метод определения, тип НЧ	Объект анализа	Состав объекта анализа	Найдено	S _r
Н	СФ, НЧ/Ц	«Полидекса» (ушные капли)	неомицина сульфат 10 мг/мл , полимиксина В сульфат 10 тыс. ЕД/мл, дексаметазона натрия метилсульфобензоат 1 мг/мл.	9 ± 2 мг/мл. Содержание по данным ВЭЖХ – 11 ± 1 %	0,08
		«Анауран» (ушные капли)	полимиксина В сульфат 10 тыс. ЕД/мл, неомицина сульфат 5 мг/мл , лидокаина гидрохлорид 40 мг/мл.	5,0 ± 0,9 мг/мл. Содержание по данным ВЭЖХ – 6,1 ± 0,8 %	0,07
		«Макситрол» (глазные капли)	дексаметазон 1,0 мг/мл, неомицина сульфат 4,7 мг/мл , полимиксина В сульфат 6 тыс. ЕД/мл.	5 ± 1 мг/мл. Содержание по данным ВЭЖХ – 5,8 ± 0,7 %	0,09
ПГМГ	СФ, НЧ/Ц	Минеральная вода «Кармадон»	Na ⁺ , K ⁺ – 700 - 1300; Ca ²⁺ < 100; Mg ²⁺ , SO ₄ ²⁻ < 25, HCO ₃ ⁻ – 400 - 800; Cl ⁻ – 1000 – 1800, H ₃ BO ₃ – 80 – 200 мкг/мл. Введено 0,05 мкг/мл ПГМГ	0,049 ± 0,002 мкг/мл	0,02
		Минеральная вода «Stelmas»	Na ⁺ , K ⁺ – 700 - 950; Ca ²⁺ , Mg ²⁺ – 250 - 450, HCO ₃ ⁻ – 550 - 750; SO ₄ ²⁻ – 2400 - 3400; Cl ⁻ – 100 – 500 мкг/мл. Введено 0,05 мкг/мл ПГМГ	0,051 ± 0,004 мкг/мл	0,06
		Солевой состав сточных вод	Na ⁺ – 179; Ca ²⁺ – 56; Mg ²⁺ – 24; HCO ₃ ⁻ – 348; Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ - 71; NH ₄ ⁺ – 14; K ₂ O – 19; N – 78; P ₂ O ₅ – 7 мкг/мл. Введено 0,06 мкг/мл ПГМГ	0,062 ± 0,002 мкг/мл	0,02
	СДО, НЧ/Ц (5 М НСІ)	Водопроводная вода	Введено 0,4 мкг/мл ПГМГ	0,38 ± 0,02 мкг/мл	0,05
		Минеральная вода «Stelmas»	См. выше Введено 0,4 мкг/мл ПГМГ	0,41 ± 0,03 мкг/мл	0,06
	СДО, НЧ/Ц	Дезинфицирующее средство «Биор-1»	20 % ПГМГ.	20 ± 2 %. Содержание по данным ВЭЖХ – 19,7 ± 0,5 %	0,07
		Водопроводная вода	Введено 0,1 мкг/мл ПГМГ	0,10 ± 0,02 мкг/мл	0,07
		Вода из бассейна	Введено 0,1 мкг/мл ПГМГ	0,08 ± 0,02 мкг/мл	0,09
		Минеральная вода	Введено 0,1 мкг/мл ПГМГ	0,10 ± 0,02 мкг/мл	0,08

Таблица 11. Определение анионов в объектах (n = 3, P = 0,95)

Определяемое соединение	Метод определения, тип НЧ	Объект анализа	Состав объекта анализа	Найдено	s _r
Сульфат	СФ, НЧ/И	Минеральная вода «Стелмас»	См. табл. 10.	2,5 ± 0,3 мг/мл. Содержание по данным ионной хроматографии – 2,2 ± 0,2 мг/мл	0,05
		Минеральная вода «Новотерская»	Гидрокарбонат: 1000 – 2000; сульфат: 900 – 1700; хлорид: 300 – 500; кальций: 300 – 400; магний < 100; натрий+калий: 700 – 1200; кремниевая кислота: 30 – 90 мг/л.	1,4 ± 0,2 мг/мл. Содержание по данным ионной хроматографии – 1,2 ± 0,1 мг/мл	0,05
Пирофосфат	СФ, НЧ/И	Разрыхлитель теста «Dg. Oetker»	Пирофосфат натрия кислый, бикарбонат натрия, кукурузный крахмал	34,3 ± 1,4 %. Содержание по данным атомно-эмиссионной спектроскопии – 35,33 ± 0,07 %	0,02
		Раствор для меднения	Пирофосфат натрия 280 мг/мл, сульфат меди пятиводный 70 мг/мл, нитрат аммония 10 мг/мл	270 ± 30 мг/мл	0,04

7.4. Перспективы для полуколичественного визуально-колориметрического определения

Агрегация наночастиц золота приводит к значительным изменениям в спектрах поглощения их водных растворов. Полученные в настоящем исследовании данные говорят о том, что подобные изменения наблюдаются также и в результате агрегации НЧ в фазе пенополиуретана, что может быть зарегистрировано методом спектроскопии диффузного отражения. Происходящие при агрегации НЧ изменения в видимой области спектра приводят к существенному изменению оптических характеристик систем, что выражается в изменении цвета и/или интенсивности окраски. Данный факт обуславливает перспективы применения НЧ и ППУ, модифицированного НЧ, для полуколичественного визуально-колориметрического определения соединений, пригодного для использования в тест-методах анализа.

При визуально-колориметрическом определении соединений в растворе его цвет изменяется с красного на синий при повышении степени агрегации наночастиц (рис. 54). Типичная процедура построения тест-шкалы (здесь на примере цистеамина и наночастиц золота, стабилизированных цитратом) включала следующие операции: в пробирки вносили от 0 до 0,5 мкг цистеамина, добавляли по 0,1 мл 0,25 М ЭДТА в 0,25 М NaOH, доводили до 4 мл дистиллированной водой и вводили 1 мл раствора золотых наночастиц. Агрегация проходит полностью за 1,5 – 2 минуты. Визуально эффект изменения окраски заметен уже при концентрации ЦА 0,02 мкг/мл, что указывает на перспективность данной процедуры для чувствительного полуколичественного определения соединений. Видимые изменения наблюдаются вплоть до 0,1 мкг/мл.

В случае использования в роли аналитической тест-формы ППУ, модифицированного НЧ, как было сказано выше, существует два варианта осуществления аналитической процедуры. Первый вариант заключается в проведении взаимодействия наночастиц с анализируемым веществом (в данном случае – ПГМГ) в растворе с последующей сорбцией наночастиц и их агрегатов на ППУ. Для построения тест-шкалы в сосуды с притертыми пробками вводили от 0 до 1,0 мкг ПГМГ, добавляли по 0,2 мл 0,25 М ЭДТА в 0,25 М NaOH, доводили до 4 мл дистиллированной водой и вводили 1 мл раствора НЧ/Ц. Через 2 мин после введения наночастиц в каждый сосуд помещали по одной таблетке ППУ, прожимали их стеклянной палочкой для удаления пузырьков воздуха и встряхивали на механическом шейкере в течение 20 мин. Таблетки вынимали и высушивали фильтровальной бумагой.

Окраска таблеток ППУ, модифицированного наночастицами золота в присутствии ПГМГ, меняется от красно-фиолетовой до практически бесцветной через синюю в зависимости от концентрации последнего (рис. 55). Изменение цвета контрольного образца (малиновый) по сравнению с соответствующим раствором НЧ (характеризующимся рубиновой окраской) является следствием изменения спектральных характеристик образцов в результате частичного взаимодействия поверхностных плазмонов при более "тесном" расположении НЧ на поверхности ППУ по сравнению с раствором, о чем говорилось в главе 6.2. Подобный эффект делает менее контрастным отличие образцов на начальном участке шкалы, что может негативно сказаться на пределе обнаружения соединения. Однако данный недостаток может быть легко устранен за счет использования большего объема анализируемого раствора (эффект концентрирования). В то же время явление обесцвечивания образцов ППУ при концентрациях ПГМГ больше 0,1 мкг/мл

в результате уменьшения сорбции агрегатов НЧ служит положительным фактором, поскольку способствует расширению диапазона определяемых содержаний визуально-колориметрического определения в несколько раз.

Второй вариант определения соединений заключается в использовании готовой тест-формы – пенополиуретана, модифицированного НЧ, предварительно полученного сорбционным путем. Для построения тест-шкалы (на примере цистеина) таблетки модифицированного ППУ помещали в сосуды, содержащие 10 мл анализируемого раствора с концентрацией определяемого соединения от 0 до 0,5 мкг/мл. Таблетки прожимали стеклянной палочкой и встряхивали на механическом шейкере в течение 20 мин, после чего их вынимали и высушивали фильтровальной бумагой. На рис. 56 приведена полученная тест-шкала. В случае использования ППУ, модифицированного НЧ, цвет таблеток меняется с красно-фиолетового на серо-синий и не наблюдается обесцвечивания образцов при высоких концентрациях определяемого соединения, что уменьшает диапазон определяемых содержаний. Однако, в качестве преимуществ данного варианта стоит отметить отсутствие необходимости введения маскирующего агента и удобство использования готовой твердой тест-формы; при этом, также как и в предыдущем случае, сохраняется возможность регулирования чувствительности полуколичественного определения путем варьирования объема анализируемого раствора. Кроме того, важным является то, что наночастицы имеют различную селективность при агрегации в растворе и в фазе пенополиуретана, что можно использовать для определения соединений различных типов в реальных объектах. Данное высказывание проиллюстрировано в табл. 12 цветовыми эффектами в системах НЧ/Ц и НЧ/И в растворе и в фазе ППУ для набора веществ: ЦА, ЦН, ПГМГ, SO_4^{2-} .



$C_{ЦА}$,
 МКГ/МЛ: 0 0,02 0,03 0,05 0,1

Рис. 54. Тест-шкала для определения цистеамина с помощью наночастиц золота. $c_{НЧ} = 15$ МКГ/МЛ, $V = 5$ МЛ, $c_{ЭДТА} = 0,005$ М.



$C_{ПГМГ}$,
 МКГ/МЛ: 0 0,035 0,1 0,5 1


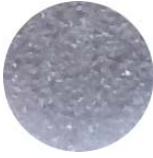





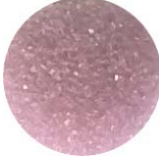

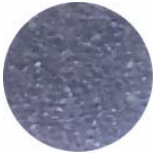

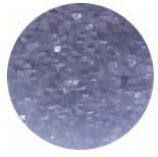

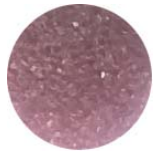

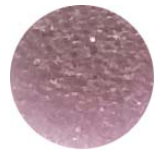
Рис. 55. Тест-шкала для определения ПГМГ с помощью ППУ и наночастиц золота. $c_{НЧ} = 15$ МКГ/МЛ, $V = 5$ МЛ, $c_{ЭДТА} = 0,01$ М.



$C_{ЦН}$,
 МКГ/МЛ: 0 0,07 0,12 0,2 0,5

Рис. 56. Тест-шкала для определения цистеина с помощью ППУ, модифицированного наночастицами золота. $a_{НЧ} = 3,7$ МГ/Г, $V = 10$ МЛ.

Таблица 12. Цветовые эффекты в системах НЧ/Ц и НЧ/И в растворе и в фазе пенополиуретана при полуколичественном определении соединений различной природы

Определяемое соединение Тест-форма	ЦА	ЦН	ПГМГ	SO ₄ ²⁻
НЧ/Ц ППУ, модифицированный НЧ/Ц	 	 	 	 
НЧ/И ППУ, модифицированный НЧ/И	 	 	 	 

ВЫВОДЫ

1. На примере НЧ золота, стабилизированных цитратом натрия, ЦТМА, меркаптоэтанолом, и впервые синтезированных НЧ, стабилизированных 6,6-ионеном, проведено систематическое сравнение физико-химических и химических свойств НЧ различных типов. Установлено, что НЧ/Ц и НЧ/И достаточно стабильны в растворе и в то же время способны агрегировать в присутствии некоторых органических соединений и анионов, что приводит к существенному изменению их оптических свойств.

2. Показано, что НЧ/Ц и НЧ/И взаимодействуют в растворах сами по себе либо в присутствии веществ, снижающих стабильность НЧ, с тиосоединениями: цистеамином, цистеином, ацетилцистеином, глутатионом, меркаптоэтанолом и меркаптопропионовой кислотой; соединениями катионной природы – ПГМГ и неомицином, а также многозарядными неорганическими анионами. Выявлено влияние различных факторов на агрегацию НЧ под воздействием соединений разных типов и предложены схемы агрегативных процессов. Агрегация протекает быстро – в течение 1 – 2 мин при $3 < \text{pH} < 5 - 8$ (НЧ/Ц) или $4 - 6 < \text{pH} < 10$ (НЧ/И). Даны объяснения особенностям агрегации в зависимости от природы соединения и типа наночастиц. Предложены пути изменения селективности агрегации.

3. Изучена сорбция наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия и 6,6-ионеном, на пенополиуретане. Показано, что количественная (95 – 100 %) сорбция наночастиц достигается через 20 мин контакта фаз из растворов, содержащих не более 35 – 40 мкг/мл НЧ. Предложен сорбционный способ получения нанокompозитного материала – ППУ, модифицированного НЧ. Изучены физико-химические и химические особенности этого материала. Показано, что наночастицы в фазе ППУ сохраняют способность к поверхностному плазмонному резонансу и агрегации под воздействием

некоторых соединений. Выявлены особенности агрегации НЧ в фазе ППУ под воздействием соединений разных типов и изменение селективности агрегации по сравнению с НЧ в растворе.

4. Показано, что отношение оптических плотностей или значений функции Кубелки-Мунка в максимумах поглощения агрегатов и индивидуальных наночастиц связано с концентрацией исследуемого соединения в растворе, что может быть использовано для определения методами спектрофотометрии и спектроскопии диффузного отражения. Рассчитаны метрологические характеристики определения соединений различных классов с использованием НЧ. Пределы обнаружения составляют 0,01 – 100 мкг/мл для спектрофотометрии и 0,002 – 0,05 мкг/мл для спектроскопии диффузного отражения в зависимости от природы определяемого соединения и условий определения. Показана эффективность ЭДТА в качестве маскирующего агента для устранения мешающего влияния ионов металлов и для повышения чувствительности НЧ.

5. Разработаны и применены к анализу реальных объектов способы определения цистеамина, цистеина, ацетилцистеина, неомицина, ПГМГ, сульфат- и пироглутамат-ионов с помощью НЧ золота. Способы апробированы при анализе фармацевтических препаратов, биологических объектов, биологически активных добавок, объектов пищевой промышленности и вод разного типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дыкман Л.А., Богатырев В.А., Щеголев С.Ю., Хлебцов Н.Г. Золотые наночастицы. Синтез, свойства, биомедицинское применение. М.: Наука, 2008. 319 с.
2. Дыкман Л.А., Богатырев В.А. Наночастицы золота: получение, функционализация, использование в биохимии и иммунохимии. // Успехи химии. 2007. Т. 76. С. 199 – 213.
3. Algar W.R., Massey M., Krull U.J. The Application of Quantum Dots, Gold Nanoparticles and Molecular Switches to Optical Nucleic-Acid Diagnostics. // Trend. Anal. Chem. 2009. V. 28. P. 292 – 306.
4. Dreaden E.C., Alkilany A.M., Huang X., Murphy C.J., El-Sayed M.A. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. // Chem. Soc. Rev. 2012. V. 41. P. 2740 – 2779.
5. Nguyen D.T., Kim D.-J., Kim K.-S. Controlled synthesis and biomolecular probe application of gold nanoparticles. // Micron. 2011. V. 42. P. 207 – 227.
6. Jans H. Huo Q. Gold nanoparticle-enabled biological and chemical detection and analysis. // Chem. Soc. Rev. 2012. V. 41. P. 2849–2866.
7. Agasti S.S., Rana S., Park M.-H., Kim C.K., You C.-C., Rotello V.M. Nanoparticles for detection and diagnosis. // Advanced Drug Delivery Reviews. // Adv. Drug Deliver. Rev. 2010. V. 62. P. 316 – 328.
8. Wang Z., Ma L. Gold nanoparticle probes. // Coordin. Chem. Rev. 2009. V. 253. P. 1607 – 1618.
9. Yong K.-T., Swihart M.T., Ding H., Prasad P.N. Preparation of Gold Nanoparticles and their Applications in Anisotropic Nanoparticle Synthesis and Bioimaging. // Plasmonics. 2009. V. 4. P. 79 – 93.
10. Pissuwan D., Cortie C.H., Valenzuela S.M., Cortie M.B. Functionalised gold nanoparticles for controlling pathogenic bacteria. // Trend. Biotechnol. 2010. V.28. P. 207 – 213.

11. *Guo S.J., Wang E.K.* Synthesis and electrochemical applications of gold nanoparticles. // *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 598. P. 181 – 192.
12. *Вертелов Г.К., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В.* Применение наночастиц в электрохимическом анализе биологических объектов. // *Журн. аналит. химии.* 2007. Т. 62. С. 903 – 915.
13. *Nilsson C., Birnbaum S., Nilsson S.* Use of nanoparticles in capillary and microchip electrochromatography. // *J. Chromatogr. A.* 2007. V. 1168. P. 212 – 224.
14. *Sýkora D., Kašička V., Mikšik I., Řezanka P., Záruba K., Matějka P., Král V.* Application of gold nanoparticles in separation sciences. // *J. Sep. Sci.* 2010. V. 33. P. 372 – 387.
15. *Штыков С.Н., Русанова Т.Ю.* Наноматериалы и нанотехнологии в химических и биохимических сенсорах: возможности и области применения. // *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева).* 2008. Т. 52. С. 92.
16. *Saha K., Agasti S.S., Kim C., Li X., Rotello V.M.* Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. // *Chem. Rev.* 2012. V. 112. P. 2739 – 2779.
17. *Guo S., Dong S.* Biomolecule-nanoparticle hybrids for electrochemical biosensors. // *Trend. Anal. Chem.* 2009. V. 28. P. 96 – 109.
18. *Mayer K.M., Hafner J.H.* Localized Surface Plasmon Resonance Sensors. // *Chem. Rev.* 2011. V. 111. P. 3828 – 3857.
19. *Upadhyayula V.K.K.* Functionalized gold nanoparticle supported sensory mechanisms applied in detection of chemical and biological threat agents: a review. // *Anal. Chim. Acta.* 2012. V. 715. P. 1 – 18.
20. *Zhang B., Yan B.* Analytical strategies for characterizing the surface chemistry of nanoparticles. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. V. 396. P. 973 – 982.
21. *Ghosh S.K., Pal T.* Interparticle Coupling Effect on the Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles: From Theory to Applications. // *Chem. Rev.* 2007. V. 107. P. 4797 – 4862.

22. *Saarinen J.J., Vartiainen E.M., Peiponen K.-E.* Surface plasmon resonance reflectance from nanoparticles in a liquid matrix: Retrieval of the optical properties using the maximum entropy model. // *Sensor. Actuat. B.* 2009. V. 138. P. 383 – 395.
23. *Kumar S., Gandhi K.S., Kumar R.* Modeling of formation of gold nanoparticles by citrate method. // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2007. V. 46. P. 3128 – 3136.
24. *Ji X., Song X., Li J., Bai Y., Yang W., Peng X.* Size control of gold nanocrystals in citrate reduction: The third role of citrate. // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 129. P. 13939 – 13948.
25. *Nguyen D.T., Kim D.-J., Kim K.-S.* Experimental measurement of goldnanoparticle nucleation and growth by citrate reduction of H₂AuCl₄. // *Adv. Powder. Technol.* 2010. V. 21. P. 111 – 118.
26. *Zhao W., Brook M.A., Li Y.* Design of Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Biosensing Assays. // *Chem. Bio. Chem.* 2008. V. 9. P. 2363 – 2371.
27. *Njoki P.N., Lim I.S., Mott D., Park H.-Y., Khan B., Mishra S., Sujakumar R., Luo J., Zhong C.-J.* Size correlation of optical and spectroscopic properties for gold nanoparticles. // *J. Phys. Chem. C.* 2007. V. 111. P. 14664 – 14669.
28. *Khlebtsov N.G.* Determination of size and concentration of gold nanoparticles from extinction spectra. // *Anal. Chem.* 2008. V. 80. P.6620 - 6625.
29. *Zhao P., Li N., Astruc D.* State of the art in gold nanoparticle synthesis. // *Coordin. Chem. Rev.* 2013. V. 257. P. 638 – 665.
30. *Salcedo A.R.M., Sevilla F.B.* Citrate-Capped Gold Nanoparticles as Colorimetric Reagent for Copper (II) Ions. // *Philipp. Sci. Lett.* 2013. V. 6. P. 90 – 96.
31. *Slocik J.M., Zabinski J.S Jr., Phillips D.M., Naik R.R.* Colorimetric response of peptide-functionalized gold nanoparticles to metal ions. // *Small.* 2008. V. 4. № 5. P. 548 – 551.

32. *Fan A., Ling Y., Lau C., Lu J.* Direct colorimetric visualization of mercury (Hg^{2+}) based on the formation of gold nanoparticles. // *Talanta*. 2010. V. 82. P. 687 – 692.
33. *Lou T., Chen Z., Wang Y., Chen L.* Blue-to-Red Colorimetric Sensing Strategy for Hg^{2+} and Ag^+ via Redox-Regulated Surface Chemistry of Gold Nanoparticles. // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2011. V. 3. P. 1568 – 1573.
34. *Ding N., Zhao H., Peng W., He Y., Zhou Y., Yuan L., Zhang Y.* A simple colorimetric sensor based on anti-aggregation of gold nanoparticles for Hg^{2+} detection. // *Colloid. Surface. A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2012. V. 395. P. 161 – 167.
35. *Liu Z., Hu J., Tong S., Cao Q., Yuan H.* Colorimetric detection of Hg^{2+} ions in aqueous media using CA–Au NPs. // *Spectrochim. Acta. A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2012. V. 97. P. 737 – 740.
36. *Darbha G.K., Singh A.K., Rai U.S., Yu E., Yu H., Ray P.C.* Selective detection of mercury (II) ion using nonlinear optical properties of gold nanoparticles. // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. P. 8038 – 8043.
37. *Bi N., Chen Y., Qi H., Zheng X., Chen Y., Liao X., Zhang H., Tian Y.* A sensitive localized surface plasmon resonance sensor for determining mercury(II) ion using noble metal nanoparticles as probe. // *Spectrochim. Acta. A*. 2012. V. 95. P. 276 – 281.
38. *Bi N., Chen Y., Qi H., Zheng X., Chen Y., Liao X., Zhang H., Tian Y.* Spectrophotometric determination of mercury(II) ion using gold nanorod as probe. // *Sensors Actuat. B*. 2012. V. 166 – 167. P. 766 – 771.
39. *Chansuvarn W., Imyim A.* Visual and colorimetric detection of mercury(II) ion using gold nanoparticles stabilized with a dithia-diaza ligand. // *Microchim. Acta*. 2012. V. 176. P. 57 – 64.
40. *Chung C.H., Kim J.H., Jung J., Chung B.H.* Nuclease-resistant DNA aptamer on gold nanoparticles for the simultaneous detection of Pb^{2+} and Hg^{2+} in human serum. // *Biosens. Bioelectron.* 2013. V. 41. P. 827 – 832.

41. *Yu C.J., Cheng T.L., Tseng W.L.* Effects of Mn^{2+} on oligonucleotide-gold nanoparticle hybrids for colorimetric sensing of Hg^{2+} : Improving colorimetric sensitivity and accelerating color change. // *Biosens. Bioelectron.* 2009. V. 25. P. 204 – 210.
42. *Duan J., Guo Z.Y.* Development of a test strip based on DNA-functionalized gold nanoparticles for rapid detection of mercury (II) ions. // *Chinese Chem. Lett.* 2012. V. 23. P. 225 – 228.
43. *Guo Z., Duan J., Yang F., Li M., Hao T., Wang S., Wei D.* A test strip platform based on DNA-functionalized gold nanoparticles for on-site detection of mercury (II) ions. // *Talanta.* 2012. V. 93. P. 49 – 54.
44. *Tan Z.-Q., Liu J.-F., Liu R., Yin Y.-G., Jiang G.-B.* Visual and colorimetric detection of Hg^{2+} by cloud point extraction with functionalized gold nanoparticles as a probe. // *Chem. Commun.* 2009. P. 7030 – 7032.
45. *Wu J., Li L., Zhu D., He P., Fang Y., Cheng G.* Colorimetric assay for mercury (II) based on mercury-specific deoxyribonucleic acid-functionalized gold nanoparticles. // *Anal. Chim. Acta.* 2011. V. 694. P. 115 – 119.
46. *Leng B., Zou L., Jiang J., Tian H.* Colorimetric detection of mercuric ion (Hg^{2+}) in aqueous media using chemodosimeter-functionalized gold nanoparticles. // *Sens. Actuat. B.* 2009. V. 140. P. 162 – 169.
47. *Huy G.D., Zhang M., Zuo P., Ye B.-C.* Multiplexed analysis of silver(I) and mercury(II) ions using oligonucleotide–metal nanoparticle conjugates. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 3289 – 3294.
48. *Wang Y., Yang F., Yang X.* Colorimetric biosensing of mercury(II) ion using unmodified gold nanoparticle probes and thrombin-binding aptamer. // *Biosens. Bioelectron.* 2010. V. 25. P. 1994 – 1998.
49. *Hung Y.-L., Hsiung T.-M., Chen Y.-Y., Huang Y.-F., Huang C.-C.* Colorimetric Detection of Heavy Metal Ions Using Label-Free Gold Nanoparticles and Alkanethiols. // *J. Phys. Chem. C.* 2010. V. 114. P. 16329 – 16334.

50. *Liu D., Qu W., Chen W., Zhang W., Wang Z., Jiang X.* Highly Sensitive, Colorimetric Detection of Mercury(II) in Aqueous Media by Quaternary Ammonium Group-Capped Gold Nanoparticles at Room Temperature. // *Anal. Chem.* 2010. V. 82. P. 9606 – 9610.
51. *Chen X., Zu Y., Xie H., Kemasa A.M., Gao Z.* Coordination of mercury(II) to gold nanoparticle associated nitrotriazole towards sensitive colorimetric detection of mercuric ion with a tunable dynamic range. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 1690 – 1696.
52. *Radhakumary C., Sreenivasan K.* Gold nanoparticles generated through “green route” bind Hg^{2+} with a concomitant blue shift in plasmon absorption peak. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 2959 – 2962.
53. *Kim Y.-R., Mahajan R. K., Kim J.S., Kim H.* // *Applied Materials.* 2010. V. 2. P. 292.
54. *Li D., Wieckowska A., Willner I.* Optical analysis of Hg^{2+} ions by oligonucleotide–gold-nanoparticle hybrids and DNA-based machines. // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008. V. 47. P. 3927 – 3932.
55. *Lee J.-S., Mirkin C.A.* Chip-based scanometric detection of mercuric ion using DNA-functionalized gold nanoparticles. // *Anal. Chem.* 2008. V. 80. P. 6805 – 6808.
56. *Lin Y.W., Huang C.C., Chang H.T.* Gold nanoparticle probes for the detection of mercury, lead and copper ions. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 863-871.
57. *Lin C.-Y., Yu C.-J., Lin Y.-H., Tseng W.-L.* Colorimetric Sensing of Silver(I) and Mercury(II) Ions Based on an Assembly of Tween 20-Stabilized Gold Nanoparticles. // *Anal. Chem.* 2010. V. 82. P. 6830 – 6837.
58. *Lee J.-S., Han M.S., Mirkin C.A.* Colorimetric Detection of Mercuric Ion (Hg^{2+}) in Aqueous Media using DNA Functionalized Gold Nanoparticles. // *Angew. Chem.* 2007. V. 46. P. 4171 – 4174.

59. *He S., Li D., Zhu C., Song S., Wang L., Long Y., Fan C.* Design of a gold nanoprobe for rapid and portable mercury detection with the naked eye. // *Chem. Commun.* 2008. P. 4885 – 4887.
60. *Xue X. J., Wang F., Liu X. G.* One-Step, Room Temperature, Colorimetric Detection of Mercury (Hg^{2+}) Using DNA/Nanoparticle Conjugates. // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. P. 3244 – 3245.
61. *Li L., Li B., Qi Y., Jin Y.* Label-free aptamer-based colorimetric detection of mercury ions in aqueous media using unmodified gold nanoparticles as colorimetric probe. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2009. V. 393. P. 2051 – 2057.
62. *Xu X., Wang J., Jiao K., Yang X.* // *Biosens. Bioelectron.* 2009. V. 24. P. 3153.
63. *Liu C.-W., Hsieh Y.-Y., Huang C.-C., Lin Z.-H., Chang H.-T.* Detection of mercury(II) based on Hg^{2+} -DNA complexes inducing the aggregation of gold nanoparticles. // *Chem. Commun.* 2008. P. 2242 – 2244.
64. *Wang L.H., Zhang J., Wang X., Huang Q., Pan D., Song S.P., Fan C.H.* Gold nanoparticle based optical probes for target-responsive DNA structures. // *Gold. Bull.* 2008. V. 41. P. 37 – 41.
65. *Liu D., Wang Z., Jiang X.* Gold nanoparticles for the colorimetric and fluorescent detection of ions and small organic molecules. // *Nanoscale.* 2011. V. 3. P. 1421 – 1433.
66. *Lee Y.F. Huang C.C.* // Colorimetric Assay of Lead Ions in Biological Samples Using a Nanogold-Based Membrane. // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2011. V. 3. P. 2747–2754.
67. *Hung Y.-L., Hsiung T.-M., Chen Y.-Y., Huang C.-C.* A label-free colorimetric detection of lead ions by controlling the ligand shells of gold nanoparticles. // *Talanta.* 2010. V. 82. P. 516 – 522.
68. *Chai F., Wang C., Wang T., Li L., Su Z.* Colorimetric Detection of Pb^{2+} Using Glutathione Functionalized Gold Nanoparticles. // *ACS Appl. Mater. Interf.* 2010. V. 2. 1466 – 1470.

69. *Bega L., Singh A.K., Khan S. A., Senapati D., Arumugam S.R., Ray P.C.* Gold Nanoparticle-Based Simple Colorimetric and Ultrasensitive Dynamic Light Scattering Assay for the Selective Detection of Pb(II) from Paints, Plastics, and Water Samples. // *ACS Appl. Mater. Interf.* 2011. V. 3. P. 668 – 673.
70. *Zhu D., Lib X., Liu X., Wang J., Wang Z.* Designing bifunctionalized gold nanoparticle for colorimetric detection of Pb²⁺ under physiological condition. // *Biosens. Bioelectron.* 2012. V. 31. P. 505 – 509.
71. *Miao X.-M., Ling L.-S., Shuai X.-T.* Detection of Pb²⁺ at attomole levels by using dynamic light scattering and unmodified gold nanoparticles. // *Anal. Biochem.* 2012. V. 421. P. 582 – 586.
72. *Dang Y.Q., Li H.W., Wang B., Li L., Wu Y.Q.* Selective detection of trace Cr³⁺ in aqueous solution by using 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)-modified gold nanoparticles. // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2009. V. 1. № 7. P. 1533 – 1538.
73. *Zhao L., Jin Y., Yan Z., Liu Y., Zhu H.* Novel, highly selective detection of Cr(III) in aqueous solution based on a gold nanoparticles colorimetric assay and its application for determining Cr(VI). // *Anal. Chim. Acta.* 2012. V. 731. P. 75 – 81.
74. *Xin J., Miao L., Chen S., Wu A.* Colorimetric detection of Cr³⁺ using tripolyphosphate modified gold nanoparticles in aqueous solutions. // *Anal. Meth.* 2012. V. 4. P. 1259 – 1264.
75. *Xin J., Zhang F., Gao Y., Feng Y., Chen S., Wu A.* A rapid colorimetric detection method of trace Cr (VI) based on the redox etching of Ag_{core}-Au_{shell} nanoparticles at room temperature. // *Talanta.* 2012. V. 101. P. 122 – 127.
76. *Lai Y.-J., Tseng W.-L.* Role of 5-thio-(2-nitrobenzoic acid)-capped gold nanoparticles in the sensing of chromium(VI): remover and sensor // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 2712 – 2717.

77. *Tan F., Liu X., Quan X., Chen J., Li X., Zhao H.* Selective detection of nanomolar Cr(VI) in aqueous solution based on 1,4-dithiothreitol functionalized gold nanoparticles. // *Anal. Methods*. 2011. V. 3. P. 343 – 347.
78. *Chen Y.-C., Lee I.-L., Sung Y.-M., Wu S.-P.* Triazole functionalized gold nanoparticles for colorimetric Cr³⁺ sensing. // *Sens. Actuat. B*. 2013. V. 188. P. 354 – 359
79. *Hua C., Zhang W.H., Almeida S.R. M., Ciampi S., Gloria D., Liu G., Harper J.B., Gooding J.J.* A novel route to copper(II) detection using ‘click’ chemistry-induced aggregation of gold nanoparticles. // *Analyst*. 2012. V. 137. P. 82 – 86.
80. *Shen Q., Li W., Tang S., Hu Y., Nie Z., Huang Y., Yao S.* A simple “clickable” biosensor for colorimetric detection of copper(II) ions based on unmodified gold nanoparticles. // *Biosens. Bioelectron*. 2012. V. 41. P. 663 – 668.
81. *Liu J.-M., Wang H.-F., Yan X.-P.* A gold nanorod based colorimetric probe for the rapid and selective detection of Cu²⁺ ions. // *Analyst*. 2011. V. 136. P. 3904 – 3910.
82. *Lou T., Chen L., Chen Z., Wang Y., Chen L., Jinhua L.* Colorimetric Detection of Trace Copper Ions Based on Catalytic Leaching of Silver-Coated Gold Nanoparticles. // *ACS Appl. Mater. Interf*. 2011. V. 3. P. 4215 – 4220.
83. *Liu J.W., Lu Y.* Colorimetric Cu²⁺ detection with a ligation DNAzyme and nanoparticles. // *Chem. Commun*. 2007. № 46. P. 4872 – 4874.
84. *Li B.L., Du Y., Dong S.J.* DNA based gold nanoparticles colorimetric sensors for sensitive and selective detection of Ag(I) ions. // *Anal. Chim. Acta*. 2009. V. 644. № 1 – 2. P. 78 – 82.
85. *Kim S., Park J.W., Kim D., Kim D., Lee I.H., Jon S.* Bioinspired colorimetric detection of calcium(II) ions in serum using calsequestrin-functionalized gold nanoparticles. // *Angew. Chem., Int. Ed*. 2009. V. 48. P. 4138 – 4141.
86. *Zhang J., Wang Y., Xu X., Yang X.* Specifically colorimetric recognition of calcium, strontium, and barium ions using 2-mercaptosuccinic acid-

- functionalized gold nanoparticles and its use in reliable detection of calcium ion in water. // *Analyst*. 2011. V. 136. P. 3865 – 3868.
87. *Velu R., Ramakrishnan V.T., Ramamurthy P.* Colorimetric and fluorometric chemosensors for selective signaling toward Ca^{2+} and Mg^{2+} by aza-crown ether acridinedione-functionalized gold nanoparticles. // *Tetrahedron Lett.* 2010. V. 51. P. 4331 – 4335.
88. *Kalluri J.R., Arbneshi T., Khan S.A., Neely A., Candice P., Varisli B., Washington M., McAfee S., Robinson B., Banerjee S., Singh A.K., Senapati D., Ray P.C.* Use of gold nanoparticles in a simple colorimetric and ultrasensitive dynamic light scattering assay: selective detection of arsenic in groundwater. // *Angew. Chem., Int. Ed.* 2009. V. 48. № 51. P. 9668 – 9671.
89. *Wu Y., Zhan S., Wang F., He L., Zhi W., Zhou P.* Cationic polymers and aptamers mediated aggregation of gold nanoparticles for the colorimetric detection of arsenic(III) in aqueous solution. // *Chem. Commun.* 2012. V. 48. P. 4459–4461.
90. *Hong S., Park S., Lee S., Yang Y.-I., Song H. D., Yi J.* The sensitive, anion-selective detection of arsenate with poly(allylamine hydrochloride) by single particle plasmon-based spectroscopy. // *Anal. Chim. Acta.* 2011. V. 694. P. 136 – 141.
91. *Li X.K., Wang J., Sun L.L., Wang Z.X.* Gold nanoparticle-based colorimetric assay for selective detection of aluminium cation on living cellular surfaces. // *Chem. Commun.* 2010. V. 46. № 6. P. 988 – 990.
92. *Xuen D., Wang H., Zhang Y.* Specific and sensitive colorimetric detection of Al^{3+} using 5-mercaptopethyltetrazole capped gold nanoparticles in aqueous solution. // *Talanta* 2014. V. 119. P. 306 – 311.
93. *Chen Y.-C., Lee I.-L., Sung Y.-M., Wu S.-P.* Colorimetric detection of Al^{3+} ions using triazole–ether functionalized gold nanoparticles. // *Talanta* 2013. V. 117. P. 70 – 74.

94. *Wang L., Liu X., Hu X., Song S., Fan C.* Unmodified gold nanoparticles as a colorimetric probe for potassium DNA aptamers. // *Chem. Commun.* 2006. № 36. P. 3780 – 3782.
95. *Wu S.-P., Chen Y.-P., Sung Y.-M.* Colorimetric detection of Fe^{3+} ions using pyrophosphate functionalized gold nanoparticles. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 1887 – 1891.
96. *Ying X., Zhao H., Wu Z., Li X., He Y., Yuan Z.* Colorimetric detection of Cd^{2+} using gold nanoparticles cofunctionalized with 6-mercaptopuric acid and L-Cysteine. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 3725–3730.
97. *Lisowski C.E., Hutchison J.E.* Malonamide-Functionalized Gold Nanoparticles for Selective, Colorimetric Sensing of Trivalent Lanthanide Ions. // *Anal. Chem.* 2009. V. 81. P. 10246 – 10253.
98. *Lee J.H., Wang Z., Liu J., Lu Y.* Highly Sensitive and Selective Colorimetric Sensors for Uranyl (UO_2^{2+}): Development and Comparison of Labeled and Label-Free DNAzyme-Gold Nanoparticle Systems. // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. P. 14217 – 14226.
99. *Dinga N., Zhao H., Penga W., Hea Y., Zhou Y., Yuan L., Zhang Y.* A simple colorimetric sensor based on anti-aggregation of gold nanoparticles for Hg^{2+} detection. // *Colloid. Surface. A.* 2012. V. 395. P. 161 – 167.
100. *Kado S., Furui A., Akiyama Y., Nakahara Y., Kimura K.* Application of gold nanoparticles to spectrophotometric sensing of hydrophilic anions based on molecular recognition by urea derivative. // *Anal. Sci.* 2009. V. 25. № 2. P. 261 – 265.
101. *Liu W., Du Z., Qian Y., Li F.* A specific colorimetric probe for phosphate detection based on anti-aggregation of gold nanoparticles// *Sensor. Actuat. B: Chemical.* 2013. V. 176. P. 927 – 931.
102. *Kubo Y., Uchida S., Kemmochi Y., Okubo T.* Isothiouonium-modified gold nanoparticles capable of colorimetric sensing of oxoanions in aqueous MeOH solution. // *Tetrahedron Lett.* 2005. V. 46. № 25. P. 4369 – 4372.

103. *Watanabe S., Seguchi H., Yoshida K., Kifune K., Tadaki T., Shiozaki H.* Colorimetric detection of fluoride ion in an aqueous solution using a thioglucose-capped gold nanoparticle. // *Tetrahedron Lett.* 2005. V. 46. P. 8827 – 8829.
104. *Minami T., Kaneko K., Nagasaki T., Kubo Y.* Isothiuronium-based amphiphilic gold nanoparticles with a colorimetric response to hydrophobic anions in water: a new strategy for fluoride ion detection in the presence of a phenylboronic acid. // *Tetrahedron Lett.* 2008. V. 49. P. 432 – 436.
105. *Chen L., Lu W., Wang X., Chen L.* A highly selective and sensitive colorimetric sensor for iodide detection based on anti-aggregation of gold nanoparticles. // *Sensors Actuat. B.* 2013. V. 182. 482 – 488.
106. *Kim M.H., Kim S., Jang H.H., Yi S., Seo S.H., Han M.S.* A gold nanoparticle-based colorimetric sensing ensemble for the colorimetric detection of cyanide ions in aqueous solution. // *Tetrahedron Lett.* 2010. V. 51. P. 4712 – 4716.
107. *Deng H.-H., Wu C.-L., Liu A.-L., Li G.-W., Chen W., Lin X.-H.* Colorimetric sensor for thiocyanate based on anti-aggregation of citrate-capped gold nanoparticles. // *Sensors Actuat. B.* 2014. V. 191. P. 479 – 484.
108. *Daniel W.L., Han H.S., Lee J.S., Mirkin C.A.* Colorimetric nitrite and nitrate detection with gold nanoparticle probes and kinetic end points. // *J. Am. Chem. Soc.* 2009. V. 131. № 18. P. 6362 – 6363.
109. *Zhang Min, Liu Y.-Q., Ye B.-C.* Colorimetric assay for sulfate using positively-charged gold nanoparticles and its application for real-time monitoring of redox process. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 4558 – 4562.
110. *Pandya A., Joshi K.V., Modi N.R., Menon S.K.* Rapid colorimetric detection of sulfide using calix[4]arene modified gold nanoparticles as a probe. // *Sensors Actuat. B.* 2012. V. 168. P. 54 – 61.

111. *Zhang J., Wang X., Yang X.* Colorimetric determination of hypochlorite with unmodified gold nanoparticles through the oxidation of a stabilizer thiol compound. // *Analyst.* 2012. V. 137. P. 2806 – 2812.
112. *Lu L., Zhang J., Yang X.* Simple and selective colorimetric detection of hypochlorite based on anti-aggregation of gold nanoparticles. // *Sensors Actuat. B.* 2014. 184. P. 189 – 195.
113. *Kuong C.-L., Chen W.-Y., Chen Y.-C.* Semi-quantitative determination of cationic surfactants in aqueous solutions using gold nanoparticles as reporter probes. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2007. V. 387. P. 2091 – 2099.
114. *Zhang F.X., Han L., Israel L.B., Daras J.G., Maye M.M., Ly N.K., Zhong C.-J.* Colorimetric detection of thiol-containing amino acids using gold nanoparticles. // *Analyst.* 2002. V. 127. P. 462 – 465.
115. *Guo L., Zhong J., Wu J., Fu F., Chen G., Zheng X., Lin S.* Visual detection of melamine in milk products by label-free gold nanoparticles. // *Talanta.* 2010. V. 82. P. 1654 – 1658
116. *Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Arkhipova V.V., Atnagulov A.G., Zolotov Yu.A.* Determination of cysteamine using label-free gold nanoparticles. // *Anal. Methods.* 2012. V. 4. N 10. P. 3193 – 3199.
117. *Rezanka P., Rezankova H., Matejka P., Kral V.* The chemometric analysis of UV–visible spectra as a new approach to the study of the NaCl influence on aggregation of cysteine-capped gold nanoparticles. // *Colloid. Surface. A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2010. V. 364. P. 94 – 98
118. *Zhang J., Wang L.H., Pan D., Song S.P., Boey F.Y.C., Zhang H., Fan C.H.* // Visual cocaine detection with gold nanoparticles and rationally engineered aptamer structures. // *Small.* 2008. V. 4. № 8. P. 1196 – 1200
119. *Zhang Y.F., Li B.X., Chen X.L.* Simple and sensitive detection of dopamine in the presence of high concentration of ascorbic acid using gold nanoparticles as colorimetric probes. // *Microchim. Acta.* 2010. V. 168. № 1 – 2. P. 107 – 113.

120. Wang J., Wang L.H., Liu X.F., Liang Z.Q., Song S.P., Li W.X., Li G.X., Fan C.H. A gold nanoparticle-based aptamer target binding readout for ATP assay. // *Adv. Mater.* 2007. V. 19. № 22. P. 3943 – 3946.
121. Jiang Y., Zhao H., Lin Y.Q., Zhu N.N., Ma Y.R., Mao L.Q. Colorimetric detection of glucose in rat brain using gold nanoparticles. // *Angew. Chem., Int. Ed.* 2010. V. 49. № 28. P. 4800 – 4804.
122. Li T., Zhu K., He S., Xia X., Liu S., Wang Z., Jiang X. Sensitive detection of glucose based on gold nanoparticles assisted silver mirror reaction. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 2893–2896.
123. Zhang Y., Li B., Xu C. Visual detection of ascorbic acid via alkyne–azide click reaction using gold nanoparticles as a colorimetric probe. // *Analyst.* 2010. V. 135. P. 1579–1584.
124. Lu C., Zu Y.B. Specific detection of cysteine and homocysteine: recognizing one-methylene difference using fluorosurfactant-capped gold nanoparticles. // *Chem. Commun.* 2007. № 37. P. 3871 – 3873.
125. Jiang Y., Zhao H., Zhu N.N., Lin Y.Q., Yu P., Mao L.Q. A simple assay for direct colorimetric visualization of trinitrotoluene at picomolar levels using gold nanoparticles. // *Angew. Chem., Int. Ed.* 2008. V. 47. № 45. P. 8601 – 8604
126. Liang X., Wei H., Cui Z., Deng J., Zhang Z., You X., Zhang X.E. Colorimetric detection of melamine in complex matrices based on cysteamine-modified gold nanoparticles. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 179 – 183.
127. Ai K., Liu Y., Lu L. Hydrogen-Bonding Recognition-Induced Color Change of Gold Nanoparticles for Visual Detection of Melamine in Raw Milk and Infant Formula. // *J. Am. Chem. Soc.* 2009. V. 131. P. 9496 – 9497.
128. Sun J., Ge J., Liu W., Fan Z., Zhang H., Wang P. Highly sensitive and selective colorimetric visualization of streptomycin in raw milk using Au nanoparticles supramolecular assembly. // *Chem. Commun.* 2011. V. 47. P. 9888–9890.

129. *Dasary S.S.R., Singh A.K., Senapati D., Yu H., Ray P.C.* Gold Nanoparticle Based Label-Free SERS Probe for Ultrasensitive and Selective Detection of Trinitrotoluene. // *J. Am. Chem. Soc.* 2009. V. 131. P. 13806 – 13812.
130. *Su H., Zheng Q., Li H.* Colorimetric detection and separation of chiral tyrosine based on N-acetyl-L-cysteine modified gold nanoparticles. // *J. Mater. Chem.* 2012. V. 22. P. 6546 – 6548.
131. *Nara S., Tripathi V., Singh H., Shrivastav T.G.* Colloidal gold probe based rapid immunochromatographic strip assay for cortisol. // *Anal. Chim. Acta.* 2010. V. 682. 66 – 71.
132. *Chavez J.L., Lyon W., Kelley-Loughanane N., Stone M.O.* Theophylline detection using an aptamer and DNA-gold nanoparticle conjugates. // *Biosens. Bioelectron.* 2010. V. 26. P. 23 – 28.
133. *Qi W.J., Wu D., Ling J., Huang C.Z.* Visual and light scattering spectrometric detections of melamine with polythymine-stabilized gold nanoparticles through specific triple hydrogen-bonding recognition. // *Chem. Commun.* 2010. V. 46. № 27. P. 4893 – 4895.
134. *Roy B., Saha A., Nandi A.K.* Melamine sensing through riboflavin stabilized gold nanoparticles. // *Analyst.* 2011. V. 136. P. 67 – 70.
135. *Liu D., Chen W., Wei J., Li X., Wang Z., Jiang X.* // Highly Sensitive, Dual-Readout Assay Based on Gold Nanoparticles for Organophosphorus and Carbamate Pesticides. // *Anal. Chem.* 2012. V. 84. P. 4185 – 4191.
136. *Wei X., Qi L., Tan J., Liu R., Wang F.* A colorimetric sensor for determination of cysteine by carboxymethylcellulose-functionalized gold nanoparticles. // *Anal. Chim. Acta.* 2010. V. 671. P. 80 – 84.
137. *Li L., Li B.* Sensitive and selective detection of cysteine using gold nanoparticles as colorimetric probes. // *Analyst.* 2009. V. 134. P. 1361 – 1365.
138. *Durocher S., Rezaee A., Hamm C., Rangan C., Mittler S., Mutus B.* Disulfide-linked gold nanoparticle based reagent for detecting small molecular weight thiols. // *J. Am. Chem. Soc.* 2009. V. 131. № 7. P. 2475 – 2477.

139. *Feksa L. R., Rech V. C., Silna Melo D. A., Wajner M., Dutra-Filho C. S., Souza Wyse A. T., Wannmacher C. M. D.* Effects of cysteamine on oxidative status in cerebral cortex of rats. // *Metab Brain Dis.* 2008. V. 23. P. 81 – 93.
140. *Schneider J.A., Clark K.E, Green A.A., Reisch J.S. , Markello T.C., Gahl W.A. , Thoene J.G. , Noonan P.K., Berry K.A.* Recent advances in the treatment of cystinosis. // *J. Inher. Metab. Dis.* 1995. V. 18. P. 387 – 397.
141. *Arican G. O.* Cytoprotective effects of amifostine and cysteamine on cultured normal and tumor cells treated with paclitaxel in terms of mitotic index and 3H-thymidine labeling index. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2005. V. 56. P. 221 – 229.
142. *Kataoka H., Tanaka H., Makita M.* Determination of total cysteamine in urine and plasma samples by gas chromatography with flame photometric detection. // *J. Chromatogr. B.* 1994. V. 657. P. 9 – 13
143. *Ogony J., Mare S., Wu W., Ercal N.* High performance liquid chromatography analysis of 2-mercaptoethylamine (cysteamine) in biological samples by derivatization with N-(1-pyrenyl) maleimide (NPM) using fluorescence detection. // *J. Chromatogr. B.* 2006. V. 843. P. 57 – 62.
144. *Kusmierek K., Glowacki R., Bald E.* Determination of total cysteamine in human plasma in the form of its 2-S-quinolinium derivative by high performance liquid chromatography. // *Anal Bioanal Chem.* 2005. V. 382. P. 231 – 233.
145. *Smolin L.A., Schneider J.A.* Measurement of total plasma cysteamine using High-Performance Liquid Chromatography with electrochemical detection. // *Anal. Biochem.* 1988. V. 168. P. 374 – 379.
146. *Garcia R.A., Hirschberger L.L., Stipanuk M.H.* Measurement of cysteamine in physiological samples by high performance liquid chromatography. // *Anal. Biochem.* 1988. V. 170. P. 432 – 440.

147. *Raoof J.-B., Ojani R., Chekin F.* Immobilization of 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid on gold electrode: application for cysteamine detection using Michael addition. // *J. Mater. Sci.* 2009. V. 44. P. 2688 – 2693.
148. *Cheng W. X., Peng D. Y., Lu C. H., Fang C. W.* Direct Electrochemical Behavior of the Cysteamine/DNA/SWNTs-Film-Modified Au Electrode and Its Interaction with Taxol1. // *Rus. J. Electrochem.* 2008. V. 44. No. 9. P. 1052 – 1057.
149. *Shahrokhian S.* Lead Phthalocyanine as a Selective Carrier for Preparation of a Cysteine-Selective Electrode. // *Anal. Chem.* 2001. V. 73. P. 5972 – 5978.
150. *Wang W., Rusin O., Xu X., Kim K.K., Escobedo J.O., Fakayode S.O., Fletcher K.A., Lowry M., Schowalter C.M., Lawrence C.M., Fronczek F.R., Warner I.M., Strongin R.M.* Detection of Homocysteine and Cysteine. // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. V. 127. P. 15949 – 15958.
151. *Huang S., Xiao Q., Li R., Guan H.L., Liu J., Liu X.R., He Z.K., Liu Y.* A simple and sensitive method for L-cysteine detection based on the fluorescence intensity increment of quantum dots. // *Anal. Chim. Acta.* 2009. V. 645. P. 73 – 78.
152. *Nie L.H., Ma H.M., Sun M., Li X.H., Su M.H., Liang S.C.* Direct chemiluminescence determination of cysteine in human serum using quinine–Ce (IV) system. // *Talanta.* 2003. V. 59. P. 959 – 964.
153. *Lau C.W., Qin X.J., Liang J.Y., Lu J.Z.* Determination of cysteine in a pharmaceutical formulation by flow injection analysis with a chemiluminescence detector. // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 514. P. 45 – 49.
154. *Wang H., Wang W.S., Zhang H.S.* Spectrofluorimetric determination of cysteine based on the fluorescence inhibition of Cd (II)–8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid complex by cysteine. // *Talanta.* 2001. V. 53. P. 1015 – 1019.
155. *Chwatko G., Bald E.* Determination of cysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography and ultraviolet detection after pre-column

- derivatization with 2-chloro-1-methylpyridinium iodide. // *Talanta*. 2000. V. 52. P. 509 – 515.
156. *Sudeep P.K., Shibu Joseph S.T., Thomas K.G.* Selective detection of cysteine and glutathione using gold nanorods. // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. V. 127. P. 6516 – 6517.
157. *Li Z. P., Duan X. R., Liu C. H. Du B. A.* Selective determination of cysteine by resonance lightscattering technique based on self-assembly of gold nanoparticles. // *Anal. Biochem.* 2006. V. 351. P. 18 – 25.
158. *Hsiao Y.-P., Su W.-Y., Cheng J.-R., Cheng S.-H.* Electrochemical determination of cysteine based on conducting polymers/goldnanoparticles hybrid nanocomposites. // *Electrochim. Acta.* 2011. V. 56. P. 6887 – 6895.
159. *Кротов Ю.А., Карелин А.О., Лойт А.О.* Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде (под редакцией Ю.А. Кротова). Справочник. (Постановление Министерства здравоохранения РФ от 30 апреля 2003 г. № 78). СПб.: Мир и семья. 2000. 360 с.
160. Приказ Государственного Комитета Российской Федерации по рыболовству от 28 апреля 1999 г. № 96 «О рыбохозяйственных нормативах».
161. Инструкция №26-БМ/08 по применению средства дезинфицирующего «Тетрамин» фирмы ЗАО «Петроспирт», Россия, для дезинфекции биологического материала.
162. *Козел С.В., Скосырская Е.К., Беклемишев М.К.* Кинетические методы определения водорастворимых полимеров // *Журн. аналит. химии.* 2008. Т. 63. № 7. С. 760 – 767.
163. *Ефимов К.М., Данилина Н.И., Овчаренко Е.О., Дергачева Т.В.* Способ количественного определения концентрации полигексаметиленгуанидин гидрохлорида в воде. Пат. 2252413 РФ. 2004.

164. Чмиленко Т.С., Галимбиевская Е.А., Чмиленко Ф.А. Образование бромфеноловым красным ионных ассоциатов и их взаимодействие с полигексаметиленгуанидином в водных растворах // Методы и объекты химического анализа. 2010. Т. 5. № 1. С. 19 – 28.
165. Руднев А.В., Джераян Т.Г. Определение полигексаметиленгуанидина методом капиллярного электрофореза // Журн. аналит. химии. 2006. Т. 61. № 10. С. 1086 – 1089.
166. Hwang H.J., Nam J., Yang S.I., Kwon J.-H., Oh H.B. MALDI-TOF Analysis of Polyhexamethylene Guanidine (PHMG) Oligomers Used as a Commercial Antibacterial Humidifier Disinfectant // Bull. Korean Chem. Soc. 2013. V. 34. No 6. P. 1708 – 1714.
167. Monakhova Y.B., Kuballa T., Leitz J., Lachenmeier D.W. Determination of diethyl phthalate and polyhexamethylene guanidine in surrogate alcohol from Russia // Intern. J. Analyt. Chem. 2011. V. 2011. P. 7 – 13.
168. Чмиленко Ф.А., Коробова И.В., Микуленко О.В. Потенциометрические сенсоры для определения водорастворимых полиэлектролитов // Журн. аналит. химии. 2008. Т. 63. № 6. С. 645 – 650.
169. Слепченко Г.Б., Мусеева Е.С., Хазанов В.А. Способ количественного определения анавидина методом инверсионной вольтамперометрии. Пат. РФ № 2381501.
170. Zhao L., Dong Y. H., Wang H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. // Sci. Total Environ. 2010. V. 408. P. 1069 – 1075.
171. McGlinchey T. A., Rafter P. A., Regan F., McMahon G. P. A review of analytical methods for the determination of aminoglycoside and macrolide residues in food matrices. // Anal. Chim. Acta. 2008. V. 624. P. 1 – 15.
172. Stead D.A. Current methodologies for the analysis of aminoglycosides. // J. Chromatogr. B. 2000. V. 747. P. 69 – 93.

173. *Oertel R., Renner U., Kirch W.* Determination of neomycin by LC–tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography. // *J. Pharmaceut. Biomed.* 2004. V. 35. P. 633 – 638.
174. *Oertel R., Neumeister V., Kirch W.* Hydrophilic interaction chromatography combined with tandem-mass spectrometry to determine six aminoglycosides in serum. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1058. P. 197 – 201.
175. *Mascher D.G., Unger C.P., Mascher H.J.* Determination of neomycin and bacitracin in human or rabbit serum by HPLC–MS/MS. // *J. Pharmaceut. Biomed.* 2007. V. 43. P. 691 – 700.
176. *Hanko V.P., Rohrer J.S.* Suitability of a liquid chromatography assay of neomycin sulfate to replace the microbiological assay for neomycin in USP Monographs. // *J. Pharmaceut. Biomed.* 2010. V. 51. P. 96 – 102.
177. *Guan B., Yuan D.X.* Determination of neomycin in water samples by high performance anion chromatography with pulsed amperometric detection. // *Chinese Chem. Lett.* 2007. V. 18. P. 201 – 204.
178. *Pendela M., Adams E., Hoogmartens J.* Development of a liquid chromatographic method for ear drops containing neomycin sulphate, polymyxin B sulphate and dexamethasone sodium phosphate. // *J. Pharmaceut. Biomed.* 2004. V. 36. P. 751 – 757.
179. *Zawilla N.H., Diana J., Hoogmartens J., Adams E.* Analysis of neomycin using an improved liquid chromatographic method combined with pulsed electrochemical detection. // *J. Chromatogr. B.* 2006. V. 833. P. 191 – 198.
180. *Clarot I., Regazzet A., Auzeil N., Laadani F., Citton M., Netter P., Nicolas A.* Analysis of neomycin sulfate and framycetin sulfate by high-performance liquid chromatography using evaporative light scattering detection. // *J. Chromatogr. A.* 2005. V. 1087. P. 236 – 244.
181. *Decoster W., Claes P., Vanderhaeghe H.* Determination of the relative amounts of the B and C components of neomycin by ion-exclusion

- chromatography using refractometric detection. // *J. Chromatogr. A.* 1981. V. 211. P. 223 – 232.
182. *Shaikh B., Jackson J. Guyer G.* Determination of neomycin in plasma and urine by highperformance liquid chromatography. // *J. Chromatogr. B.* 1991. V. 571. P. 189 – 198.
183. *Srisom P., Liawruangrath B., Liawruangrath S., Slate J.M., Wangkarn S.* Simultaneous determination of neomycin sulfate and polymyxin B sulfate by capillary electrophoresis with indirect UV detection. // *J. Pharmaceut. Biomed.* 2007. V. 43. P. 1013 – 1018.
184. *Huidobro A.L., Garcia A., Barbas C.* Rapid analytical procedure for neomycin determination in ointments by CE with direct UV detection. // *J. Pharmaceut. Biomed.* 2009. V. 49. P. 1303 – 1307.
185. *Wang S., Xu B., Zhang Y., He J.X.* Development of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of neomycin residues in pig muscle, chicken muscle, egg, fish, milk and kidney. // *Meat Sci.* 2009. V. 82. P. 53 – 58.
186. *Haasnoot W., Stouten P., Cazemier G., Lommen A., Nouws J.F.M., Keukens H.J.* Immunochemical detection of aminoglycosides in milk and kidney. // *Analyst.* 1999. V. 124. P. 301 – 305.
187. *Jin Y., Jang J.-W., Lee M.-H., Han C.-H.* Development of ELISA and immunochromatographic assay for the detection of neomycin. // *Clin. Chim. Acta.* 2006. V. 364. P. 260 – 266.
188. *Agrawal J.K., Harmalkar S.G., Vijayavargiya R.* Spectrophotometric Studies of Neomycin-Copper Complex and Determination of Neomycin Sulfate Using an Auxiliary Ligand. // *Microchem. J.* 1976. V. 21. P. 202 – 208.
189. *Amin A.S., Issa Y.M.* Ion-association method for the colorimetric determination of neomycin sulphate in pure and dosage forms. // *Spectrochim. Acta A.* 2003. V. 59. P. 663 – 670.

190. *Zhu Y., Son J.I., Shim Y.-B.* Amplification strategy based on gold nanoparticle-decorated carbon nanotubes for neomycin immunosensors. // *Biosens. Bioelectron.* 2010. V. 26. P. 1002 – 1008.
191. *Ding Y., Yu H., Mou S.* Optimizing the quadruple-potential waveform for the pulsed amperometric detection of neomycin. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1039. P. 39 – 43.
192. *Li X., Chen Y., Huang X.* Electrochemical behavior of neomycin at DNA-modified gold electrodes. // *J. Inorg. Biochem.* 2007. V. 101. P. 918 – 924.
193. *Frens G.* Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodispers gold suspensions. // *Nat. Phys. Sci.* 1973. V. 241. P. 20 – 22.
194. *Apyari V.V., Ioutsi A.N., Arkhipova V.V., Dmitrienko S.G., Shapovalova E.N.* 6,6-Ionene-stabilized gold nanoparticles: synthesis, characterization and prospects of use. // *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* 2015. V. 6. N 2. 025002. P. 1 – 8.
195. *Andreu-Navarro A., Fernandez-Romero J.M., Gomez-Hens A.* Determination of polyphenolic content in beverages using laccase, gold nanoparticles and long wavelength fluorimetry. // *Anal. Chim. Acta.* 2012. V. 713. P. 1 – 6.
196. *Hsu C., Liou Y.-C.* Frequency responses of Au nanoparticles in polyurethane resin. // *Rev. Adv. Mater. Sci.* 2005. V. 10. P. 325 – 330.
197. *Li Z.P., Duan X.R., Liu C.H., Du B.N.* Selective determination of cysteine by resonance light scattering technique based on self-assembly of gold nanoparticles. // *Anal. Biochem.* 2006. V. 351. P. 18 – 25.
198. *Xiao Q., Zhang L., Lu C.* Resonance light scattering technique for simultaneous determination of cysteine and homocysteine using fluorosurfactant-capped gold nanoparticles. // *Sens. Actuat. B.* 2012. V. 166 – 167. P. 650 – 657.
199. *Ashraf S., Akhtar N., Ghauri M.A., Rajoka M.I., Khalid Z.M., Hussain I.* Polyhexamethylene biguanide functionalized cationic silver nanoparticles for

enhanced antimicrobial activity. // *Nanoscale Res. Lett.* 2012. V. 7. P. 267 – 273.

200. Патент РФ № 2009143337/15, 25.11.2009. Крутяков Ю.А., Кудринский А.А., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В. Дезинфицирующее средство для обработки кожных покровов. // Патент России № 2427380. 2011. Бюл. № 24.