

STUDIUM POVRCHOVÉ MODIFIKACE STŘÍBRNÝCH NANOČÁSTIC A JEJICH MOŽNÉ VYUŽITÍ V ANALYTICKÉ CHEMII

PAVEL ŽVÁTORA, KAMIL ZÁRUBA,
PAVEL ŘEZANKA a VLADIMÍR KRÁL

Ústav analytické chemie, Fakulta chemicko-inženýrská,
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická
5, 166 28 Praha
pavel.zvatora@vscht.cz

Úvod

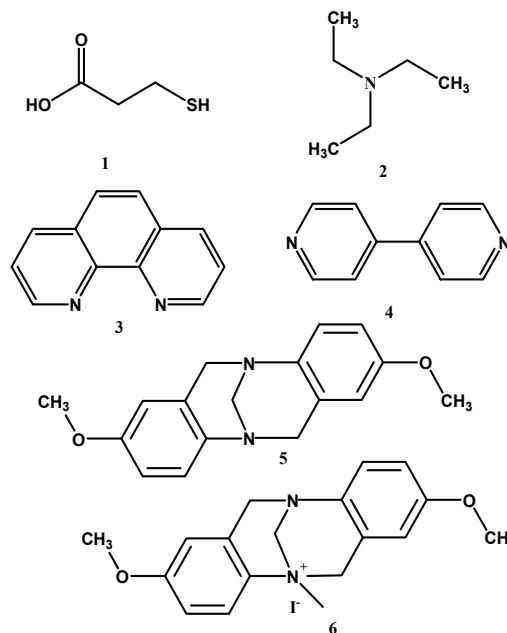
Rigidní konformace Trögerovy báze představuje zajímavý strukturální motiv umožňující preorganizaci funkčních skupin potřebných pro získání látky schopné selektivních interakcí. Imobilizace těchto látek na nanočástice by umožnila sledovat jejich interakce s analyty např. pomocí povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie. Molekulární design látek (5) a (6) dovoluje pomocí π - π vazeb vázat elektronově deficitní systémy jako např. areny⁵. Tato vlastnost již sama o sobě činí z Trögerových bází potencionálně zajímavé medicínální a analytické nástroje. Nanočástice by také mohly dovolit snadnou separaci Trögerových bází po komplexaci se zvoleným analytem z roztoku na základě centrifugace, což by jistě vedlo k úspoře času a finančních prostředků například v případě složitých matic a vzorků, kdy by jinak musela být tato separace prováděna pomocí chromatografických metod.

V této práci byl sledován vliv způsobu přípravy^{1–3} a iontové síly⁴ roztoku na kvalitu SERS spekter nanočástic stříbra. Připravené nanočástice byly charakterizovány pomocí absorpční spektroskopie ve viditelné oblasti spektra. SERS aktivní vlastnosti byly ověřovány povrchem zesílenou Ramanovou spektroskopií po imobilizaci 3-merkaptopropanové kyseliny (1) na povrchu nanočástic. Dále byl studován způsob imobilizace látek vázajících se na stříbrný povrch přes dusíkový atom, jako modelové látky byly v tomto případě zvoleny triethylamin (2), 1,10-fenantrolin (3) a 4,4'-bipyridin (4), pomocí kterých byl hledán vhodný způsob přípravy nanočástic pro imobilizaci derivátů Trögerových bází (5) a (6) (strukтуры látek viz obr. 1).

Experimentální část

Chemikálie a zařízení

Všechny použité chemikálie byly čistoty p.a. Pro přípravu nanočástic byla použita deionizovaná voda, která byla získána pomocí iontoměníčů ($R \approx 10 \text{ M}\Omega$). Absorpční spektra byla měřena na přístroji Varian Cary 400 SCAN. Měření bylo prováděno ve skleněné kyvetě o tloušťce 1 cm v rozsahu 300 až 800 nm s krokem 1 nm. Ramanova spektra (SERS spektra) byla měřena pomocí Ramanova



Obr. 1. Struktury látek použitých v této práci: (1) 3-merkaptopropanová kyselina; (2) triethylamin; (3) 1,10-fenantrolin, (4) 4,4'-bipyridin, (5) methoxy derivát Trögerovy báze 3A; (6) kvarternizovaná forma methoxy derivátu Trögerovy báze 3A

spektrometru NIR Advantage s měřicím rozsahem 100–2000 cm^{-1} a s vlnovou délkou excitačního zdroje byla 785 nm.

Centrifugace byly prováděny v umělohmotných zkumavkách o objemu 2 ml na centrifuze Eppendorf CENTRIFUGE 5418. Vzorky byly odstředěny při 13 000 otáčkách za minutu (odstředivé zrychlení $92\,665 \text{ m s}^{-2}$) po dobu 10 min.

Sonifikace byla prováděna v ultrazvukové lázni TRANSSONIC 570 při 35 kHz.

Příprava nanočástic

a) redukce citrátem sodným

Roztok AgNO_3 byl připraven rozpuštěním 9 mg AgNO_3 v 1 ml vody ($c(\text{AgNO}_3) = 5,33 \cdot 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$). Roztok citrátu sodného (1% (m/m)) ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$) byl připraven navážením 250 mg $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ do 25 ml odměrné baňky ($c(\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}) = 3,4 \cdot 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$).

Do dvouhrdlé baňky 100 ml bylo nalito 50 ml vody a vloženo míchadlo. Baňka byla opatřena zpětným chladičem a tato aparatura byla umístěna do olejové lázně. Voda byla přivedena k varu, poté byl přidán roztok AgNO_3 a 1 ml roztoku citrátu. Reakční směs se za stálého míchání vařila 15 min.

b) redukce pomocí NaBH_4

Roztok AgNO_3 byl připraven rozpuštěním 3,36 mg AgNO_3 v 9 ml vody ($c(\text{AgNO}_3) = 2,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$). Dále byl připraven roztok NaBH_4 rozpuštěním 3,5 mg NaBH_4 v 75 ml vody ($c(\text{NaBH}_4) = 1,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$). Vzniklé roztoky byly chlazeny ve vodní lázni s ledem. K roztoku NaBH_4 v 100 ml baňce bylo vloženo magnetické míchadlo a za stálého míchání byl po kapkách přidán roztok AgNO_3 . Míchání poté pokračovalo bez přerušení dalších 45 min až do doby, než se rozložil nadbytečný NaBH_4 a ustálila se laboratorní teplota roztoku.

c) redukce pomocí Chelatonu III

Byl připraven zásobní roztok Chelatonu III rozpuštěním 22,8 mg látky v 2 ml vody, roztok NaOH rozpuštěním 180,9 mg NaOH ve 2 ml vody a roztok AgNO_3 rozpuštěním 9,10 mg AgNO_3 v 0,5 ml vody.

Do dvouhrdlé baňky o objemu 100 ml bylo odpipetováno 268 μl roztoku Chelatonu III ($c(\text{Chelaton III}) = 1,64 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) a 88 μl NaOH ($c(\text{NaOH}) = 1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol l}^{-1}$). Dále bylo vloženo míchadlo. Baňka se zpětným chladičem byla umístěna do olejové lázně a roztok byl přiveden k varu. Poté byl přidán roztok AgNO_3 485 μl ($c(\text{AgNO}_3) = 2,60 \cdot 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$) a reakční směs se vařila 15 min.

Charakterizace nanočástic

Roztoky byly po přípravě ponechány jeden den v temnu a poté byly charakterizovány pomocí UV-VIS absorpční spektroskopie a Ramanovy spektroskopie.

Modifikace nanočástic

Ke 2 ml roztoku nanočástic byl přidán vodný roztok modelových látek (1), (2), (3), (4) a roztok látek (5) a (6) v rozpouštědle (DMSO). Koncentrace přidané látky byla v rozmezí $1 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol l}^{-1}$. Po přidavku modelové látky byl roztok ponechán dalších 24 hodin v temnu. Vliv modifikace byl sledován pomocí Ramanovy spektroskopie.

Cílená agregace nanočástic

Z důvodu ověření vlivu agregace nanočástic na intenzitu povrchem zesíleného signálu v Ramanově spektroskopii byl k roztokům nanočástic modifikovaných vybranými látkami přidáván 0,1 mol l^{-1} roztok KCl . Přidávky KCl byly realizovány v rozsahu 20–200 μl , s krokem 20 μl a 200–300 μl s krokem 50 μl . Vliv zvyšování iontové síly byl sledován pomocí Ramanovy spektroskopie a pomocí UV-VIS absorpční spektroskopie.

Výsledky a diskuse

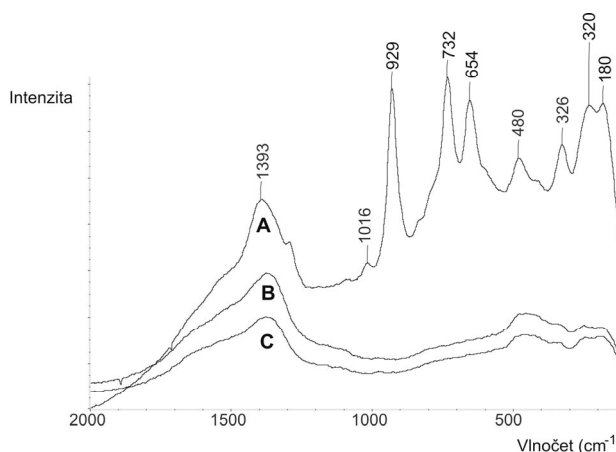
Příprava nanočástic stříbra

Nanočástice byly připraveny redukcí AgNO_3 různými redukčními činidly^{1–3}. Takto připravené nanočástice byly

Tabulka I

Vlnové délky absorpčních maxim hlavních absorpčních pásů roztoků nanočástic stříbra v závislosti na použitém redukčním činidle

Redukční činidlo	Max. absorpce [nm]	Velikost [nm]
A) citrát sodný	430	≈ 45
B) borohydrid sodný	392	≈ 20
C) chelaton III	414	≈ 30



Obr. 2. SERS spektra imobilizované látky (1) o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$. Roztoky nanočástic byly připraveny redukcí (A) citrátem sodným, (B) borohydridem sodným, (C) chelatonem III

charakterizovány pomocí UV-VIS absorpční spektroskopie. Velikost nanočástic v jednotlivých roztocích lze přibližně odhadnout z polohy maxima absorpce těchto roztoků naměřených pomocí UV-VIS absorpční spektroskopie⁶. Jednotlivá maxima se pohybovala v rozmezí od 392 do 430 nm. Přibližná velikost nanočástic je uvedena v tab. I.

Další charakterizace připravených nanočástic probíhala pomocí Ramanovy spektroskopie, kdy jednotlivé roztoky poskytovaly různou intenzitu signálu v SERS spektrech (obr. 2).

Modifikace nanočástic a jejich SERS aktivní vlastnosti

SERS aktivní vlastnosti jednotlivých roztoků nanočástic stříbra připravených redukcí AgNO_3 různými redukčními činidly byly ověřeny pomocí přidavku látky (1), která obsahuje S/COOH funkční skupiny, protože thiohy ochotně interagují s povrchy stříbra⁷. Ramanova spektra jednotlivých roztoků nanočástic s přidavky látky (1) o koncentraci ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$) jsou znázorněna na obr. 2. Ze spekter je patrné, že SERS aktivní vlastnosti při

použité vlnové délce excitačního záření (785 nm) mají pouze nanočástice připravené redukcí AgNO_3 citrátem sodným (**A**). V ostatních případech spektrum znázorňuje čisté rozpouštědlo (**B**) a (**C**) – voda).

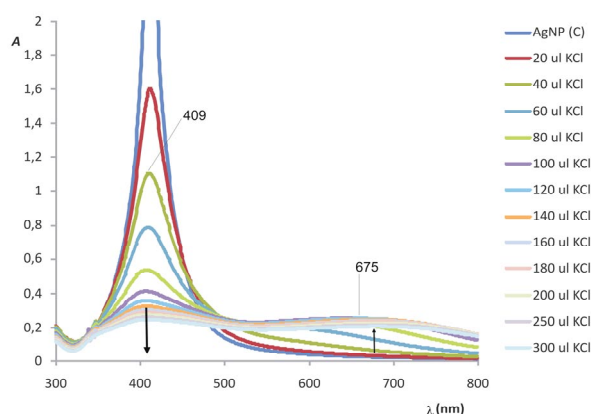
Dříve provedená studie nanočástic stříbra stabilizovaných citrátem (**A**) ukázala, že citrát se vyznačuje poměrně vysokou afinitou vůči stříbrnému povrchu a vytěsnit jej dovedou pouze trioly⁸. Interakce látek vázajících se přes dusík nebyla u takto stabilizovaných nanočástic příliš průkazná.

Z těchto důvodů se nanočástice stabilizované citrátem jeví jako nevhodné pro imobilizaci látek vázajících se přes atom dusíku. Z důvodu nedostatečné schopnosti ostatních koloidních roztoků (redukce borohydridem a chelatonem III) zesilovat signály v Ramanově spektroskopii, byly studovány postupy, jak intenzitu SERS signálů nanočástic podpořit pomocí cílené agregace⁶.

Vazba látky (**1**) přes atom síry byla v pozitivním případě potvrzena absencí valenčně vibračního pásu CS (670 cm^{-1}), který se rozštěpil na dva nové pásy s vlnočty 732 cm^{-1} a 654 cm^{-1} . Ty přísluší valenčním vibracím CS *trans* u 732 cm^{-1} a CS *gauche* u 654 cm^{-1} (cit.⁷) (obr. 2).

Cílená agregace nanočástic

K tomuto kroku bylo přistoupeno z důvodu, že koloidní roztoky (**B**) a (**C**) po přidání látky (**1**) neposkytovaly v Ramanově spektroskopii při dané vlnové délce excitačního laserového záření (785 nm) žádné zesílení. Agregace byla prováděna zvyšováním iontové síly vodného roztoku nanočástic modifikovaných látkou (**1**) o $c = 7,33 \cdot 10^{-5}\text{ mol l}^{-1}$ pomocí přídávky 1 mol l^{-1} roztoku KCl. Přídávky byly realizovány v následujících krocích 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 250 a 300 μl KCl ke 2 ml roztoku nanočástic.



Obr. 3. UV-VIS absorpční spektra roztoku nanočástic (**C**) modifikovaných látkou (**1**) s přídávky 1 mol l^{-1} roztoku KCl. Šipky znázorňují pokles hlavního absorpčního pásu u 409 nm a vzrůst nového absorpčního pásu s maximem intenzity kolem 700 nm v závislosti na vzrůstajícím množství přidaného KCl

Na obr. 3 jsou UV-VIS absorpční spektra roztoku nanočástic (**C**) s látkou (**1**) po přidání roztoku KCl. Výchozí roztok modifikovaných nanočástic byl před přidáním KCl naředěn vodou v poměru 1:3 (V:V), aby jeho absorbance byla přibližně 1. Při srovnání jednotlivých spekter je patrná změna intenzity hlavního absorpčního pásu u 409 nm a vznik nového širokého absorpčního pásu s maximem kolem 700 nm , který se s rostoucí koncentrací KCl posouvá k vyšší vlnové délce.

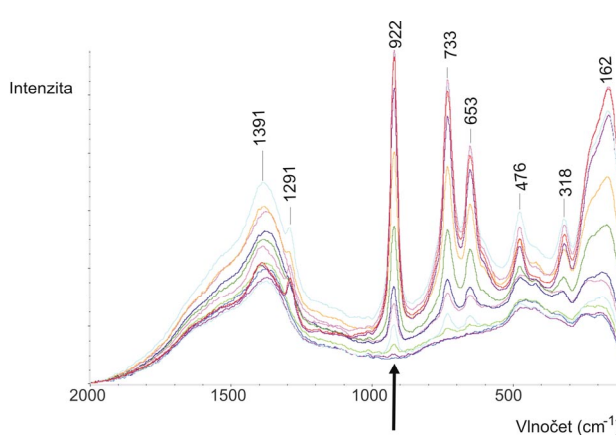
Na obr. 4 jsou Ramanova spektra roztoku nanočástic (**C**) s látkou (**1**) po přidání KCl. Z obrázku je patrné, že při zvyšování koncentrace KCl v roztoku dochází vlivem agregace nanočástic ke zvyšování intenzity signálu SERS spekter. Jednotlivé pásy odpovídají spektru látky (**1**) na povrchu nanočástic stříbra⁸.

Interakce látek obsahujících atom dusíku

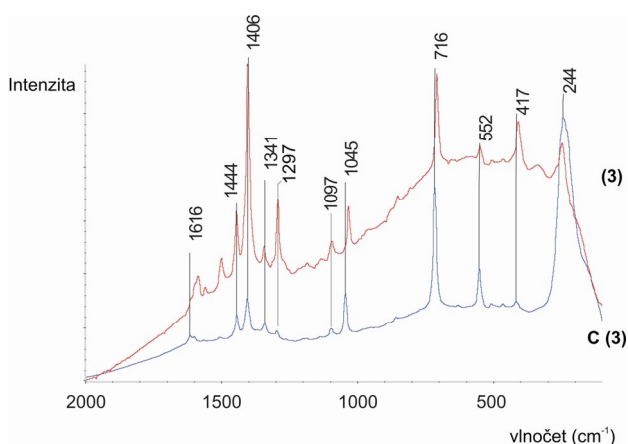
Z důvodu špatné rozpustnosti látek (**5**) a (**6**) ve vodě byl jako modelový systém pro vazbu látek obsahujících atom dusíku zvolen triethylamin (**2**), 1,10-fenantrolin (**3**) a 4,4'-bipyridin (**4**).

Dříve provedené práce⁸ prokázaly velice slabou interakci látky (**2**) s citrátovým roztokem nanočástic (**A**). Slabá interakce této látky byla prokázána také v případě přídávky látky (**2**) k nanočásticím (**C**) po zagregování roztoku. U roztoku (**B**) nebylo možné kvůli slabému zesílení intenzity Ramanových signálů interakci přidaných látek prokázat.

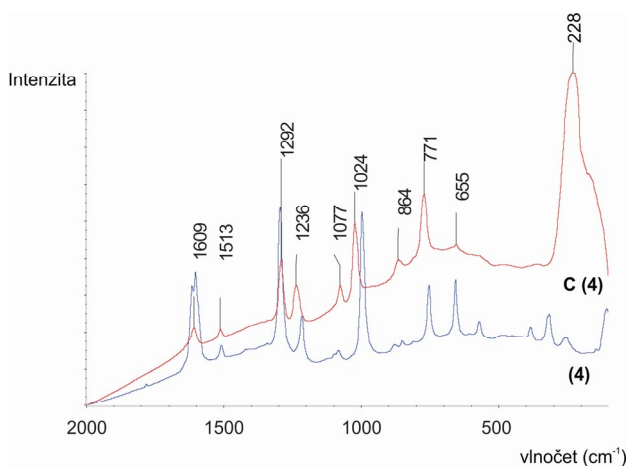
Na obr. 5 je znázorněno SERS spektrum nanočástic (**C**) s přídávky látky (**3**) o $(c = 2,5 \cdot 10^{-5}\text{ mol l}^{-1})$ a dále pak Ramanovo spektrum čisté látky (**3**). Polohy hlavních pásů čisté látky (**3**) a přídávky této látky k roztoku nanočástic (**C**) jsou shodné, nebo jsou jen lehce posunuty, z čehož se lze domnívat, že došlo spíše k fyzikální sorpci látky na povrch nanočástic.



Obr. 4. SERS spektra roztoku nanočástic (**C**) modifikovaných látkou (**1**) o $c = 7,33 \cdot 10^{-5}\text{ mol l}^{-1}$ s přídávky 1 mol l^{-1} roztoku KCl. Šipka znázorňuje vzrůst intenzity pásu u 922 cm^{-1} , který odpovídá valenční vibraci C-COO^- v závislosti na vzrůstajícím množství přidaného KCl



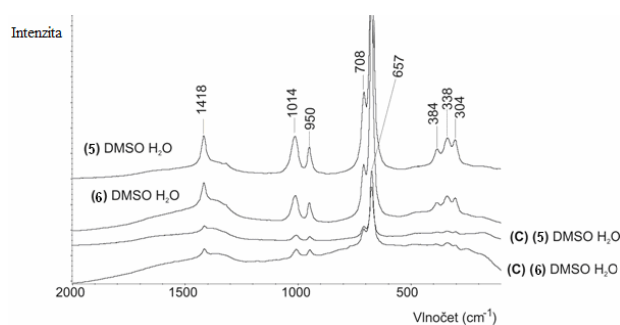
Obr. 5. SERS spektra roztoku nanočástic (C) modifikovaných látkou (3) o $c = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ a Ramanovo spektrum čisté látky (3)



Obr. 6. SERS spektra roztoku nanočástic (C) modifikovaných látkou (4) o $c = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ a Ramanovo spektrum čisté látky (4)

Na obr. 6 je znázorněno SERS spektrum nanočástic (C) s přidavkem látky (4) o ($c = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$) a dále pak Ramanovo spektrum čisté látky (4). Polohy hlavních pásů čisté látky (4) a přidavků této látky k roztoku nanočástic (C) jsou lehce posunuty, z čehož se lze domnívat, že mezi povrchem nanočástic a látkou (4) došlo k chemisorpci (1236 a 1024 cm^{-1}).

Na obr. 7 jsou znázorněny Ramanova spektra látek (5) a (6). Navážky těchto látek byly rozpuštěny v DMSO a příslušné množství bylo odpipetováno k roztoku nanočástic (C) vždy tak, aby výsledná koncentrace odpovídala ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$). Pro porovnání byl připraven slepý pokus, kdy byly připraveny roztoky stejným způsobem pouze s tím rozdílem, že místo roztoku nanočástic byla použita destilovaná voda. Protože pásy ve všech spektrech



Obr. 7. Ramanova spektra nanočástic (C) s přidavky látek (5) a (6) a spektra látek s DMSO o téže koncentraci bez nanočástic. Spektra byla pro větší přehlednost vzájemně posunuta pouze v ose y

na obr. 7 odpovídají DMSO ve vodě, k žádné interakci látek (5) a (6) s povrchem nanočástic stříbra nedošlo.

Závěr

V této práci byly studovány metody přípravy SERS aktivních nanočástic stříbra, které by bylo možné modifikovat látkami vázajícími se na stříbrný povrch přes dusíkový atom. Nanočástice stříbra byly připraveny metodami redukce AgNO_3 různými redukčními činidly (citrátem sodným (A), borohydridem sodným (B), chelatonem III (C)). SERS aktivní vlastnosti připravených nanočástic byly ověřovány pomocí imobilizace 3-merkaptopropanové kyseliny (1). Bylo zjištěno, že za daných podmínek měření jsou SERS po přípravě SERS aktivní pouze nanočástice připravené redukcí citrátem sodným (A). Z důvodu zesílení intenzity signálů v SERS spektrech byla vyzkoušena cílená agregace nanočástic zvyšováním iontové síly roztoku pomocí 1 mol l^{-1} roztoku KCl. Tento postup se ukázal být velice účinný v případě koloidního roztoku (C), kdy v důsledku cílené agregace došlo k výraznému zesílení signálů imobilizované látky (1). V případě ostatních roztoků nevedly přidávky KCl k výrazné změně SERS vlastností. Jak se ukázalo v případě roztoku (C), SERS aktivní vlastnosti souvisí s polohami maxim plasmonové absorpce. Při agregaci nanočástic vznikaly ve viditelné oblasti spektra další pásy a v případě, kdy maximum nově vzniklého pásu leželo v blízkosti vlnové délky excitačního laserového záření, docházelo k intenzivnímu zesílení těchto signálů (k tzv. SERS efektu).

Slabá interakce triethylaminu (2) byla pozorována s roztoky nanočástic (A) a (C). V ostatních případech se lze domnívat, že triethylamin s povrchy neinteraguje nebo že nedochází k dostatečnému zesílení signálů v SERS spektrech. Interakce 1,10-fenantrolinu (3) a 4,4'-bipyridinu (4) byla prokázána s roztokem nanočástic (C). Proto lze usuzovat, že podmínkou interakce látky se stříbrným povrchem přes atom dusíku je, že roztok nanočástic nesmí být stabilizován příliš silnými stabilizačními činidly. Toto

stabilizační činidlo by daná látka nebyla schopna vytěsnit. Atom dusíku by měl být rovněž zapojen do systému násobných vazeb tak, aby působil záporným indukčním efektem. Trögerovy báze (5) a (6) svou strukturou neodpovídají této představě a jejich interakce nebyly prokázány.

LITERATURA

1. Shu-Yi L., Yi-Ting T., Chien-Chih C., Chia-Mei L., Chun-Hsien C.: *J. Phys. Chem.* 108, 2134 (2004).
2. Susanne M. H., Grieser F., Barraclough C. G.: *J. Coll. Sci. Imp. U. Tok.* 93, 545 (1983).
3. Čermáková K., Šesták O., Matějka P., Baumruk V., Vlčková B.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 58, 2682 (1993).
4. Canamares M. V., Garcia-Ramos J. V., Sanchez-Cortes S., Castillejo M., Oujja M.: *J. Colloid Interf. Sci.* 326, 103 (2008).
5. Havlík M., Král V., Kaplánek R., Dolenský B.: *Org. Letters* 10, 4767 (2008).
6. Turkevich J., Garton G., Stevenson P. C.: *J. Coll. Sci. Imp. U. Tok.* 26, 9 (1954).
7. Castro J. L., López-Ramírez M. R., Arenas J. F., Otero J. C.: *J. Raman Spectrosc.* 35, 997 (2004).
8. Žvátora P., Řezanka P., Záruba K., Král V.: Sledování způsobu vazby modelových látek na nanočástice stříbra, *Soutěž o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie o cenu firmy Merck, 2008*; strana 86.