



ICChF

Instytut Chemii Fizycznej PAN

Rozprawa doktorska

Nanostruktury srebra i złota oraz modyfikowane nimi powierzchnie w analizie chemicznej

Justyna Agnieszka Matyjewicz-Walczyk

Promotor: prof. dr hab. inż. Joanna Niedziółka-Jönsson

Promotor pomocniczy: dr Adam Leśniewski

Biblioteka Instytutu Chemii Fizycznej PAN

F-B.578/24



Nanoinżynieria powierzchni
do chemo- i bioczuJNIKÓW
ICChF



Niniejsza rozprawa została przygotowana w trakcie trwania

Międzynarodowych Studiów Doktoranckich

w Instytucie Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk

ul. Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa

Warszawa, maj 2023

A-21-7
K-8-169
K-8-189

ICIR

Instytut Chemii Fizycznej PAN



Instytut Chemii Fizycznej PAN

Instytut Chemii Fizycznej PAN

Instytut Chemii Fizycznej PAN

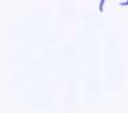
Instytut Chemii Fizycznej PAN

Instytut Chemii Fizycznej PAN

Instytut Chemii Fizycznej PAN



B.578/24



Instytut Chemii Fizycznej PAN

Instytut Chemii Fizycznej PAN

Instytut Chemii Fizycznej PAN

Instytut Chemii Fizycznej PAN

Instytut Chemii Fizycznej PAN

Spis treści

Podziękowania	5
Streszczenie	9
Abstract	11
Spis symboli.....	13
Spis skrótów	13
Część literaturowa	15
1. Nanomateriały.....	15
1.1 Właściwości nanostruktur złota i srebra	16
1.2 Synteza nanostruktur metalicznych	17
1.2.1 Zarodkowanie.....	18
1.2.2 Wzrost nanostruktur kontrolowany pod względem wielkości i kształtu.....	20
2. Modyfikacja powierzchni.....	25
2.1 Modyfikacja powierzchni nanostruktur	25
2.2 Modyfikacja powierzchni stałych podłoży	27
2.2.1 Modyfikacja stałych podłoży nieprzewodzących.....	28
2.2.2 Modyfikacja stałych podłoży przewodzących	32
2.3 Reakcja wymiany ligandu.....	33
2.4 Click chemistry.....	36
2.4.1 Cykloadycja azydek-alkin katalizowana jonami miedzi(I) (CuAAC).....	38
3. Czujniki chemiczne.....	41
3.1 Czujniki optyczne.....	42
3.1.1 Nanostruktury złota i srebra jako czujniki do wykrywania jonów rtęci(II) w wodzie	45
3.2 Czujniki elektrochemiczne	47
3.2.1 Modyfikowane elektrody jako czujniki do oznaczania jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV).....	51
Cel pracy.....	55
Część badawcza.....	56
4. Stosowane metody instrumentalne	56
a) metody elektrochemiczne	56
b) metody spektroskopowe:.....	57
c) metody mikroskopowe	57
5. Odczynniki i materiały	59

6. Aparatura	59
7. Click chemistry – cykloaddycja CuAAC.....	61
7.1 Synteza i modyfikacja nanocząstek złota oraz ich właściwości optyczne.....	61
7.2 Elektrody z węgla szklanego modyfikowane grupami azydkowymi.....	64
7.3 Cykloaddycja azydek-alkin katalizowana jonami miedzi(I) (CuAAC).....	66
7.3.1 Chemiczna redukcja jonów miedzi(II).....	67
7.3.2 Elektrochemiczna redukcja jonów miedzi(II).....	72
7.4 Zastosowanie podłoża modyfikowanych AuNPs w reakcji CuAAC.....	79
7.4.1 Elektrody z węgla szklanego GCE modyfikowane AuNPs.....	79
7.4.2 Transparentne podłoża modyfikowane AuNPs.....	89
7.4.2.1 ITO modyfikowane AuNPs w reakcji CuAAC.....	90
7.4.2.2 Szkło kwarcowe modyfikowane AuNPs w reakcji CuAAC.....	96
7.5 Podsumowanie cykloaddycji CuAAC.....	99
8. Czujniki optyczne do oznaczania jonów Hg ²⁺ w roztworach wodnych.....	102
8.1 Synteza i charakterystyka nanostruktur złota i srebra.....	102
8.1.1 Nanokostki złota.....	102
8.1.2 Nanokostki srebra.....	104
8.1.3 Nanotrójki srebra.....	106
8.2 Oznaczanie jonów Hg ²⁺ w roztworach wodnych.....	109
8.2.1 Nanokostki złota.....	109
8.2.2 Nanokostki srebra.....	116
8.2.3 Nanotrójki srebra.....	121
8.3 Zastosowanie nanostruktur złota i srebra do oznaczeń w próbkach rzeczywistych.....	126
8.3.1 Nanokostki złota.....	127
8.3.2 Nanokostki srebra.....	129
8.3.3 Nanotrójki srebra.....	131
8.4 Podsumowanie oznaczania jonów Hg ²⁺ w roztworach wodnych.....	131
Podsumowanie i wnioski.....	138
Lista publikacji:	140
Bibliografia:.....	141

Podziękowania

Promotorowi **prof. dr hab. inż. Joannie Niedziółce-Jönsson**, składam serdeczne podziękowania za nieocenioną pomoc, opiekę nad pracą, poświęcony czas oraz dyskusje. Dziękuję za umożliwienie mi realizacji ciekawych badań.

Promotorowi pomocniczemu **dr Adamowi Leśniewskiemu**, pragnę podziękować za współpracę, cenne sugestie, uwagi merytoryczne oraz praktyczne, dzięki któremu możliwe było napisanie tej pracy.

Pragnę serdecznie podziękować wszystkim osobom, z którymi miałam przyjemność pracować podczas wykonywania badań do pracy doktorskiej:

dr hab. Barbarze Pałys, za wykonanie pomiarów PM-IRRAS

dr hab. inż. Martinowi Jönsson-Niedziółce, za wykonanie pomiarów SEM oraz X-EDS,

dr Adamowi Łaszcz i prof. dr hab Adam Czerwińskiemu, za wykonanie pomiarów STEM-BF, HRTEM, X-EDS.

dr inż. Ewie Roźnieckiej, za pomoc i wsparcie w codziennych długich syntezach,

Dziękuję **Koleżankom i Kolegom** z grupy badawczej, za liczne dyskusje, wsparcie i wspólnie spędzony czas.

Ogromne podziękowania składam moim **Rodzicom** oraz mojemu **Markowi**. Dziękuję, że zawsze byliście przy mnie, wierzyliście we mnie, motywowali do pracy i wspierali na różne sposoby.

Niniejsza praca została zrealizowana w ramach:

- projektu SONATA-BIS 2016/22/E/ST5/00531



NARODOWE CENTRUM NAUKI

- projektu IUVENUS PLUS IP2012 019772 0197/IP2013/72



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

- projektu NOBLESSE FP7-REGPOT-CT-2011-285949-NOBLESSE realizowanego
w zakresie Seventh Framework Programme of the European Union,



NOBLESSE



Streszczenie

Nanostruktury złota i srebra ze względu na swój rozmiar posiadają wyjątkowe właściwości fizykochemiczne, przede wszystkim optyczne, elektryczne i magnetyczne. Dzięki temu, nanostruktury znajdują szereg zastosowań w różnych dziedzinach nauki i techniki. Niniejsza rozprawa doktorska prezentuje przykład zastosowania nanostruktur złota i srebra w analizie chemicznej.

W części literaturowej przedstawiono zagadnienia dotyczące nanostruktur złota i srebra oraz ich właściwości. Omówiono wybrane metody syntezy oraz modyfikacji powierzchni nanostruktur. Opisano stałe podłoża nieprzewodzące i przewodzące modyfikowane nanostrukturami. Zademonstrowano czujniki chemiczne, w których wykorzystano zawiesziny nanostruktur oraz stałe podłoża z unieruchomionymi nanostrukturami metalicznymi.

W pracy przedstawiono sposób syntezy nanostruktur złota i srebra o różnych kształtach i wielkościach oraz opisano ich właściwości optyczne. Część zsyntezowanych nanostruktur wykorzystano do oznaczania jonów Hg^{2+} w wodzie, korzystając z zależności położenia pasma LSPR od właściwości dielektrycznych otoczenia, kształtu i materiału nanostruktury. Modyfikacja powierzchni nanostruktur złota i srebra odpowiednimi ligandami pozwoliła na ich unieruchomienie na podłożach stałych.

Do osiągnięcia tego celu wykorzystano reakcję typu *click chemistry* – cykloaddycję azydek-alkin katalizowaną jonami miedzi(I) (CuAAC). Po raz pierwszy udało się przyłączyć nanocząstki złota do elektrody z węgla szklanego, z wykorzystaniem katalizatora w postaci jonów Cu^+ , generowanych zarówno chemicznie jak i elektrochemicznie. Zmodyfikowane powierzchnie wykorzystano jako czujniki elektrochemiczne lub optyczne.

Abstract

Gold and silver nanostructures possess unique physicochemical properties, especially optical, electrical and magnetic. As a result, nanostructures find a number of applications in various fields of science and technology. This thesis presents the use of gold and silver nanostructures in chemical analysis.

The literature part of this work presents selected issues about gold and silver nanostructures and their properties. Selected methods of synthesis and surface modification of nanostructures are discussed and conductive and non-conductive solid substrates modified with nanostructures are also described. Chemical sensors are demonstrated in which suspensions of nanostructures and solid substrates with immobilized metallic nanostructures are used.

This thesis presents synthesis methods of gold and silver nanostructures with various shapes and sizes and describes their optical properties. Part of the synthesized nanostructures were used to determine Hg^{2+} ions in water, using the dependence of the LSPR band position on the dielectric properties of the surrounding environment, shape and material of the nanostructure. The surface modification of gold and silver nanostructures with appropriate ligands allowed their immobilization on solid substrates. To achieve this goal, a *click chemistry* reaction, the copper(I) azide-alkyne cycloaddition, was used. For the first time, gold nanoparticles were attached to a glassy carbon electrode, where the Cu^+ catalyst was generated both chemically and electrochemically. The modified surfaces were used as electrochemical or optical sensors.

Spis symboli

c	stężenie
λ	długość fali
θ	stopień pokrycia

Spis skrótów

AA	kwask askorbinowy
AuNPs	nanocząstki złota
AuNPs-C \equiv C	nanocząstki złota modyfikowane grupami alkinowymi
AuNCs	nanokostki złota
AgNCs	nanokostki srebra
AgNPLs	nanotrójkąty srebra
CTAB	bromek N,N,N-trimetylo-1-heksadecaniminiowy
CuAAC	cykloadycja azydek-alkin katalizowana jonami miedzi(I)
FcDM	1,1-ferrocenodimetanol
GCE	elektroda z węgla szklanego
GCE-N3	elektroda z węgla szklanego modyfikowana grupami azydkowymi
GCE-AuNPs	elektroda z węgla szklanego modyfikowana nanocząstkami złota
HAuCl ₄	kwask tetrachlorozłotowy(III)
ITO	szkło pokryte cienką warstwą tlenku cyny-indu
NP	nanocząstka
LSPR	zlokalizowany powierzchniowy rezonans plazmonowy
PM-IRRAS	refleksyjno-absorpcyjna <i>spektroskopia</i> w podczerwieni z modulacją polaryzacji
PVP	poli-[1-(2-okso-1-pirolidynylo)etylen]
PSS	poli(styrenosulfonian) sodu
PSA	powierzchnia polarna cząsteczki
RI	współczynnik załamania światła
SEM	skaningowa mikroskopia elektronowa
SPR	powierzchniowy rezonans plazmonowy
STEM-BF	skaningowa transmisyjna mikroskopia elektronowa w jasnym polu
TEM	transmisyjna mikroskopia elektronowa
UV-vis	spektrometria UV-vis

Część literaturowa

1. Nanomateriały

Nanotechnologia to interdyscyplinarny obszar wiedzy poświęcony otrzymywaniu i doskonaleniu właściwości materiałów w skali nanometrycznej. W ostatnim dziesięcioleciu dokonano znacznego postępu w nanotechnologii, zwłaszcza w kierunku metod syntez monodispersyjnych nanomateriałów. Obserwowany powszechny trend do miniaturyzacji, powoduje konieczność dokładnego zrozumienia właściwości nanomateriałów.

Materiały w nanoskali mają unikalne właściwości fizyczne i chemiczne, w porównaniu do ich odpowiedników w skali makro, i dzięki temu znajdują zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, np. w przemyśle chemicznym, kosmetycznym, farmaceutycznym, medycznym, energetycznym i elektronicznym.¹

Według definicji IUPAC - nanocząstka (ang. *nanoparticle*), to cząstka o dowolnym kształcie i posiadająca przynajmniej w jednym wymiarze wymiar w zakresie 1 – 100 nm. Natomiast w literaturze samo pojęcie „nanocząstka” bardzo często pojawia się w odniesieniu do cząstek kulistych^{2,3} lub w ogólnym kontekście, do zbioru cząstek o różnych kształtach^{4,5}.

Ze względu na brak publikacji w języku polskim systematyzujących nomenklaturę nanocząstek, na potrzeby niniejszej pracy zdefiniowano następujące pojęcia:

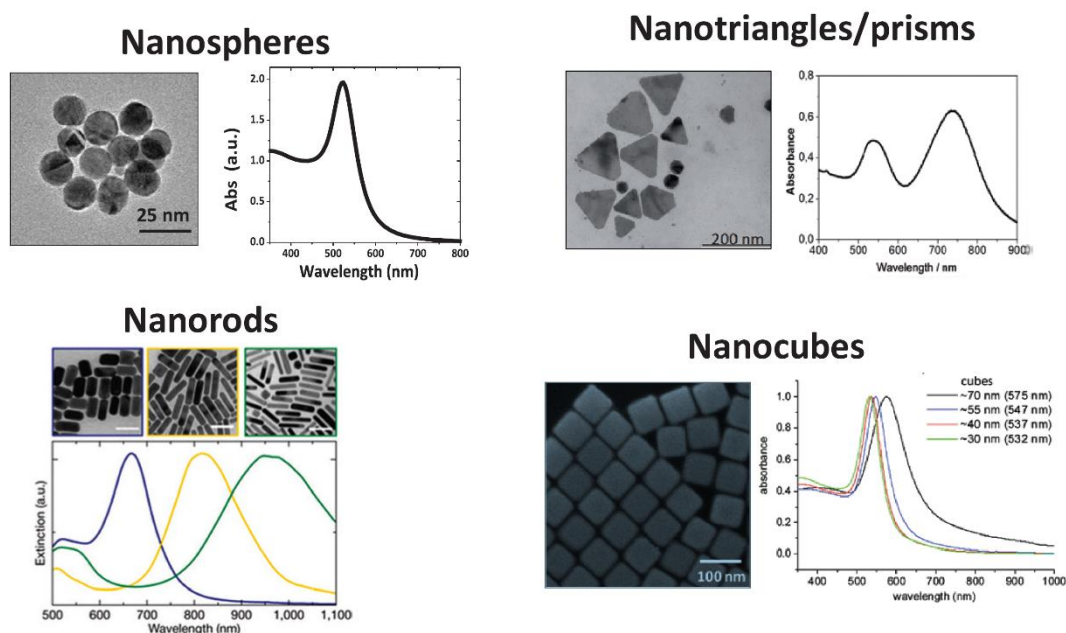
- Nanostruktury – ogólny zbiór nanoobjektów o różnym kształcie,
- Nanocząstki – nanostruktury w kształcie kuli,
- Nanokostki – nanostruktury w kształcie sześciangu,
- Nanotrójki – nanostruktury w kształcie płytek o podstawie zbliżonej do trójkąta.

W dalszej części pracy skupiono się na nanostrukturach metalicznych złota i srebra, których wykorzystanie opisano w części badawczej rozprawy.

1.1 Właściwości nanostruktur złota i srebra

Podstawową cechą nanostruktur jest wysoki stosunek powierzchni do objętości – znacznie wyższy niż dla materiałów w skali makro. Szczególną cechą wyróżniającą nanostruktury metali spośród innych materiałów są ich właściwości optyczne. Nanostruktury metaliczne posiadają zdolność silnego rozpraszania i absorpcji światła wynikającą ze zjawiska tzw. zlokalizowanego powierzchniowego rezonansu plazmonowego (LSPR). Zjawisko to polega na interakcji padającego światła z wolnymi elektronami nanostruktur metalicznych. Oświetlenie nanostruktury falą o długości większej od jej średnicy powoduje kolektywne oscylacje gazu elektronów swobodnych zwane plazmonami. Dla pewnych szczególnych częstotliwości–plazmon znajduje się w rezonansie, który zależy od rozmiaru, kształtu, odległości między nanostrukturami, ale również od właściwości dielektrycznych otaczającego ośrodka.⁶

W zależności od kształtu nanostruktur widma absorpcji mogą charakteryzować się jednym lub większą ilością pasm LSPR. Widmo nanocząstek charakteryzuje się jednym pasmem LSPR, związanym z modem dipolowym. Dla nanocząstek anizotropowych możliwe jest pojawienie się dodatkowych pasm, które pochodzą od modów wyższych rzędów (Rys. 1).⁶ Położenie pasma LSPR zależy od wielkości nanostruktur i ulega przesunięciu w kierunku podczerwieni wraz ze wzrostem rozmiaru.⁶



Rys. 1 Właściwości optyczne nanostruktur złota na przykładzie: nanocząstek, nanotrójkątów, nanoprętów i nanokostek.⁶

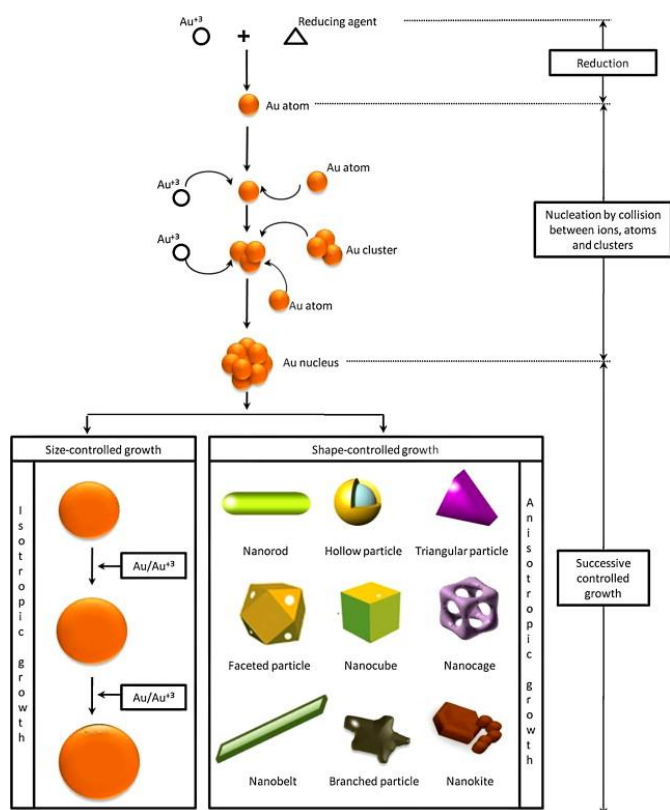
Adsorbpcja związków chemicznych na powierzchni nanostruktur powoduje zmiany współczynnika załamania światła (RI) w warstwie dielektryka leżącej bezpośrednio przy powierzchni metalu. Skutkuje to zmianą położenia pasma LSPR na widmie. Zmiana położenia pasma LSPR może być wykorzystana jako narzędzie w analizie chemiczne do oznaczania jonów i cząsteczek.⁶

1.2 Synteza nanostruktur metalicznych

Nanostruktury metaliczne można otrzymywać metodami fizycznymi i chemicznymi. Metody syntezy nanostruktur dzielą się na techniki *bottom up* oraz *top down*. Otrzymanie nanostruktur metalicznych metodą *top down* następuje przez rozdrobnienie materiału, czyli zredukowanie jego wymiarów za pomocą urządzeń lub metod trawienia. Pod pojęciem *bottom up* kryją się różne metody syntezy nanostruktur, np. chemiczna redukcja soli metali, reakcje elektrochemiczne lub rozkład związków metaloorganicznych. W syntezach *bottom up* szczególnie popularną metodą jest chemiczna redukcja soli metali i ze względu na tematykę pracy opis wytwarzania nanostruktur zostanie zawężony do tej metody. Procedura ta jest prosta i można ją kontrolować tak, by przygotować nanostruktury metali o różnych rozmiarach i kształtach.⁷

Na Rys. 2 przedstawiono ogólny mechanizm powstawania nanostruktur złota w roztworze. Proces ten przebiega dwuetapowo – najpierw zachodzi zarodkowanie (nukleacja), a następnie kontrolowany wzrost nanostruktury. W trakcie redukcji jonów metalu powstają atomy, które dalej łączą się w klastry i stają się zarodkami.⁷





Rys. 2 Mechanizm powstawania różnych nanostruktur Au w metodzie redukcji chemicznej.⁷

Ostateczną wielkość i kształt powstających nanostruktur można kontrolować w drugim etapie – wzroście izotropowego lub anizotropowego. Etap ten zachodzi w określonych warunkach i zależy m.in. od stężenia środka stabilizującego, pH i temperatury. Izotropowy wzrost metalu na powierzchni zarodka prowadzi do zwiększenia rozmiaru zarodków i otrzymania kulistych nanocząstek (Rys. 2). Anizotropowy wzrost nanostruktury następuje po dodaniu do roztworu zarodków czynnika blokującego określone płaszczyzny krystalograficzne. Prowadzi to do otrzymania różnorodnych kształtów nanostruktur (Rys. 2).⁷ Dobierając warunki syntezy, można zmieniać ostateczny kształt i rozmiar nanostruktur.

1.2.1 Zarodkowanie

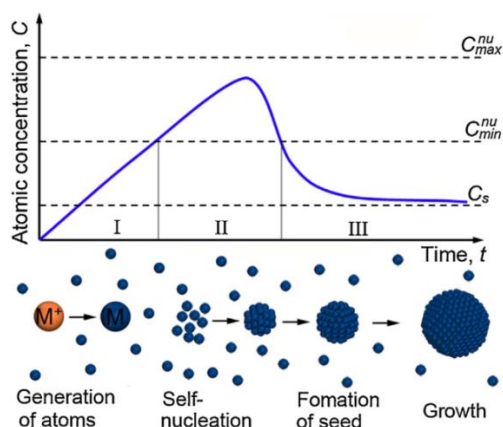
Istnieją dwa rodzaje zarodkowania (nukleacji) atomów metalu: homogeniczne (samozarodkowanie) i heterogeniczne.⁸

Zarodkowanie homogeniczne wymaga otrzymania roztworu przesyconego atomami metalu, który można uzyskać przez stałą redukcję soli metalu.

Powstałe atomy metalu łączą się w małe klastry, które służą jako zarodki do dalszego wzrostu w ostateczne nanostruktury. Proces zarodkowania zatrzymuje się, gdy stężenie atomów metalu w roztworze zaczyna spadać.

Zarodkowanie heterogeniczne następuje, dzięki obecności w roztworze np. nierozpuszczonych cząstek lub zanieczyszczeń. Wprowadzanie do roztworu nierozpuszczalnych zanieczyszczeń wielkości klastrów (analogicznych do tych wytwarzanych przez zarodkowanie homogeniczne) powoduje, że służą one jako miejsca do szybkiego zarodkowania heterogenicznego.

Po raz pierwszy procesy zarodkowania i wzrostu zostały opisane przez LaMer'a i Dinegar'a.⁹ Krzywa LaMer'a prezentuje trzy etapy tworzenia nanostruktur metalu w roztworze (Rys. 3): wytwarzanie atomów metalu, zarodkowanie i wzrost.



Rys. 3 Krzywa LaMer'a opisująca etapy tworzenia nanokrystalicznego metalu w roztworze: I) wytwarzanie atomów, II) zarodkowanie, III) tworzenie zarodków nukleacji i wzrost.¹⁰

W pierwszym etapie następuje redukcja jonów metalu do atomów metalu. Redukcja zachodzi w obecności reduktora lub w wyniku rozkładu termicznego związków metaloorganicznych. W drugim etapie, stężenie atomów przekracza punkt przesylenia (C_{min}^{nu}). Rozpoczyna się zarodkowanie homogeniczne i atomy metalu zaczynają agregować tworząc małe, stabilne cząstki klastrów (ang. *metal nuclei*). Następnie, stężenie atomów szybko spada poniżej minimalnego poziomu przesylenia (C_{min}^{nu}) i kończy się etap zarodkowania. W ostatnim etapie stopniowo wzrastają małe zarodki (*nuclei*), powstają większe obiekty (ang. *seed particles*), które rosnąc dalej tworzą ostateczną nanostrukturę.

Po zarodkowaniu, w kolejnym etapie syntezy nanostruktur, następuje ich wzrost, który może być kontrolowany pod względem wielkości i kształtu.

1.2.2 Wzrost nanostruktur kontrolowany pod względem wielkości i kształtu

Kontrolowany wzrost nanostruktur metalicznych polega na otrzymaniu nanostruktur o zbliżonych rozmiarach (wzrost izotropowy) i kształtach (wzrost anizotropowy).

W podrozdziale opisano wzrost wybranych nanostruktur złota i srebra.

Wzrost nanostruktur kontrolowany pod względem wielkości

Istnieją różne metody otrzymywania monodyspersyjnych nanocząstek złota (AuNPs) o określonej wielkości. Jedną z nich jest reakcja redukcji kwasu tetrachlorozłotowego(III) (HAuCl_4) za pomocą cytrynianu trisodowego. Zmieniając stosunek stężeń HAuCl_4 i reduktora można otrzymać AuNPs o średnicach w zakresie od ~10 nm do 150 nm.¹¹ Po etapie zarodkowania homogenicznego, cytrynian trisodowy działa również jako czynnik stabilizujący – adsorbuje się na powierzchni AuNPs i wpływa na ich ostateczną wielkość oraz zapobiega agregacji nanocząstek.¹¹

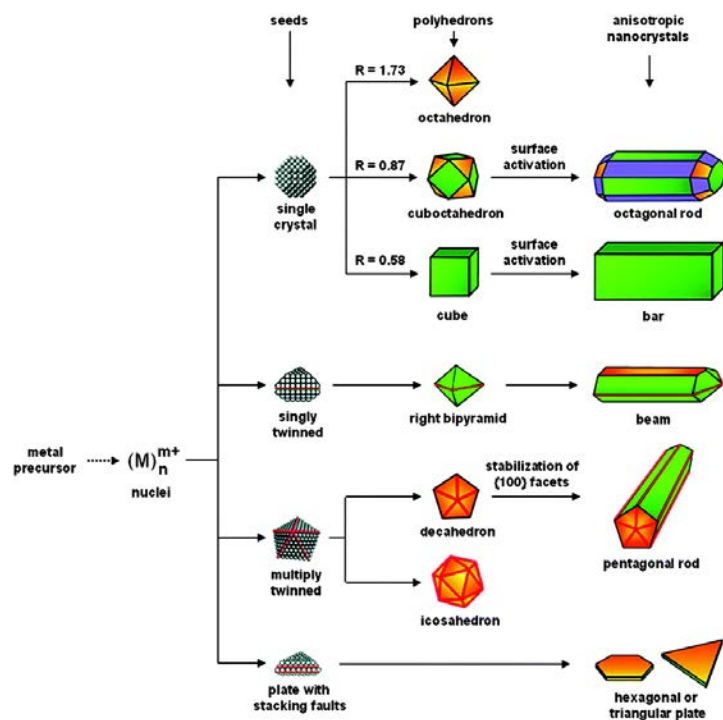
Rozmiar AuNPs można kontrolować również w trakcie syntezy zmieniając ilość zarodków (ang. *seed-mediated growth*) dodawanych na etapie wzrostu nanostruktury. Skutkuje to otrzymaniem nanocząstek metalu o określonej wielkości.¹²

Wzrost nanostruktur kontrolowany pod względem kształtu

Nanostruktury o różnych kształtach wytwarza się głównie w syntezie dwuetapowej. W pierwszym etapie wytwarzane są zarodki wielościenne, które następnie poddaje się etapowi wzrostu. Przygotowanie nanostruktur niekulistych następuje najczęściej w obecności substancji specyficznie adsorbujących się na wybranych płaszczyznach krystalograficznych tj. poli(winylopirolidon) (PVP), poli(4-styrenosulfonian)sodu (PSS) lub środków powierzchniowo czynnych, takich jak bromek/chlorek cetylotrimetyloamoniowy (CTAB, CTAC).

Przykładem otrzymywania nanostruktur anizotropowych może być synteza za pośrednictwem zarodków (ang. *seed-mediated synthesis*). Proces tworzenia nanostruktur anizotropowych można podzielić na trzy etapy: 1) zarodkowanie, 2) ewolucja zarodków wielościennych, 3) wzrost zarodków w nanokryształy. Dobierając kształt zarodków i warunki etapu wzrostu można „zaprojektować” końcowy kształt nanostruktur metalicznych (Rys. 4).

Ostateczny kształt nanostruktury jest w dużej mierze zdeterminowany przez strukturę zarodków. Na Rys. 4 przedstawiono początkowe wielościenne zarodki i powstające z nich nanostruktury metaliczne (w stosunku 1:1).¹³ Monokryształ to ciało krystaliczne, które w całej swojej objętości wypełnione jest jednakowo uporządkowanymi atomami, a odpowiednie elementy sieci (kierunki i płaszczyzny krystalograficzne) mają jednakową orientację przestrzenną. Kierunek krystalograficzny to ułożenie wielu atomów wzdłuż linii prostej, a płaszczyzny krystalograficzne można zdefiniować jako umowne płaszczyzny łączące atomy w kryształ. W zależności od szybkości wzrostu wzdłuż kierunków $[111]$ i $[100]$, z zarodków monokrystalicznych (ang. *single crystals*) będą wytwarzane ośmiościany (ang. *octahedrons*), sześćo-ośmiościany (ang. *cubooctahedrons*) lub kostki (sześciiany) (ang. *cubes*). Zarodki w kształcie sześćo-ośmiościanów lub kostek–mogą na etapie wzrostu przekształcić się w pręty w formie graniastosłupa (ang. *rods*) lub prostopadłościany (ang. *bars*). Z zarodków bliźniaczych (ang. *singly twinned seeds*) mogą wzrastać bipiramidy zamknięte przez płaszczyzny (100) , które później mogą przekształcić się w nanobelki (ang. *nanobeams*). Z zarodków wielo-bliźniaczych (ang. *multiply twinned seeds*) można wytwarzać dwudziestościany (ang. *icosahedrons*), dziesięciościany (ang. *decahedrons*) i nanopręty w formie graniastosłupa o podstawie pięciokąta (ang. *pentagonal rods*). Płaskie zarodki kryształów będą wzrastały w cienkie płytki, a ich górna i dolna powierzchnia będą reprezentować płaszczyzny (111) .

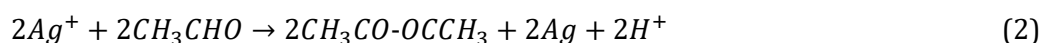


Rys. 4 Schemat powstawania anizotropowych nanostruktur z różnych zarodków metalu *fcc*.

Kolory zielony, pomarańczowy i fioletowy reprezentują odpowiednio płaszczyzny krystalograficzne (100), (111) i (110). Płaszczyzny bliźniacze (ang. *twin planes*) są oznaczone na rysunku czerwonymi liniami. Parametr *R* definiuje stosunek szybkości wzrostu wzdłuż kierunku [100] i [111].¹³

W dalszej części rozdziału, opisano wybrane anizotropowe nanostruktury srebra – nanokostki srebra (AgNCs) oraz nanotrójkąty srebra (AgNPLs), będące tematem niniejszej pracy badawczej.

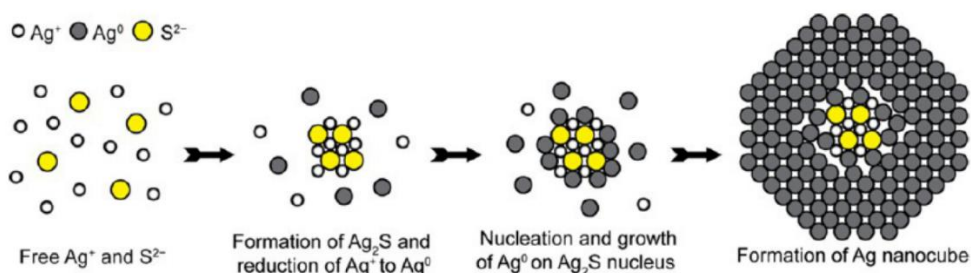
Wzrost zarodków w nanokostki srebra może następować podczas redukcji azotanu srebra z użyciem glikolu etylenowego¹⁴ lub dietylenowego w podwyższonej temperaturze i w obecności poli(winylopirolidonu) (PVP):



Glikol etylenowy (lub dietylenowy) biorący udział w reakcji, pełni rolę zarówno rozpuszczalnika jak i reduktora. PVP kontroluje kształt powstających nanostruktur oraz stabilizuje powstające struktury (zapobiega agregacji). Adsorbuje się na wybranych płaszczyznach krystalograficznych, w przypadku nanokostek srebra na płaszczyznach (100).¹⁵ W podwyższonej temperaturze PVP ma właściwości redukujące.

Po dodaniu azotanu srebra i PVP do gorącego roztworu glikolu, następuje zarodkowanie homogeniczne i utworzenie zarodków monokrystalicznych (ang. *single-crystal seeds*). Na ostateczną morfologię wzrastających nanokostek srebra silnie wpływają warunki syntezy, takie jak temperatura, stężenie AgNO_3 i stosunek PVP do AgNO_3 .¹⁴

Nanokostki srebra można otrzymać także poprzez zarodkowanie heterogeniczne. Przykładem, może być polioliowa synteza monodispersyjnych nanokostek Ag z zastosowaniem siarczków lub wodorosiarczków.^{8,16} Jony wodorosiarczkowe (SH^-) szybko reagują z Ag^+ tworząc nierozpuszczalne klastry Ag_2S (Rys. 5), a ich stężenie bezpośrednio odpowiada za wielkość otrzymywanych nanokostek srebra.⁸ Klastry Ag_2S służą jako miejsca do szybkiego zarodkowania heterogenicznego, a na nich dalej wzrastają monokrystaliczne nanokostki (ang. *single-crystal nanocubes*). Wytworzony klaster Ag_2S jest mały w porównaniu do nanokostki srebra i nie wpływa na ostateczną ich strukturę.

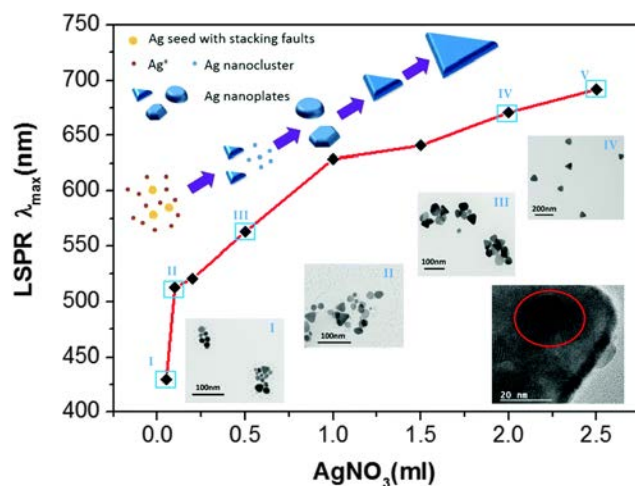


Rys. 5 Schemat tworzenie nanokostek srebra (po dodaniu SH^-): zarodkowanie heterogeniczne i wzrost na klastry Ag_2S . Atomy srebra osadzają się na zarodkach do powstania AgNC.⁸

Innym przykładem wzrostu anizotropowego nanostruktur może być synteza nanotrójkątów srebra (AgNPLs). Otrzymana zawiesina nanotrójkątów składa się zazwyczaj z mieszaniny struktur o różnym stopniu zaokrąglenia i/lub ścięcia wierzchołków. Kiedy zachodzi znaczące zaokrąglenie/ścięcie wierzchołków, takie struktury na ogół są określane jako nanopłytki, nanodyski lub przy dużym ścięciu wierzchołków – jako nanopłytki heksagonalne.¹⁷

Na właściwości optyczne otrzymanych w syntezie nanotrójkątów wpływają głównie ich ostre wierzchołki.¹⁷ Gdy wierzchołki nanotrójkątów stają się bardziej zaokrąglone, właściwości optyczne nanotrójkątów również zmieniają się – pasma na widmie UV-vis przesuwają się w stronę krótszych fal.¹⁷

Otrzymywanie nanotrójkąć srebła może zachodzić, podobnie jak w przypadku nanokostek srebła, w wyniku redukcji chemicznej (Rys. 6).¹⁸



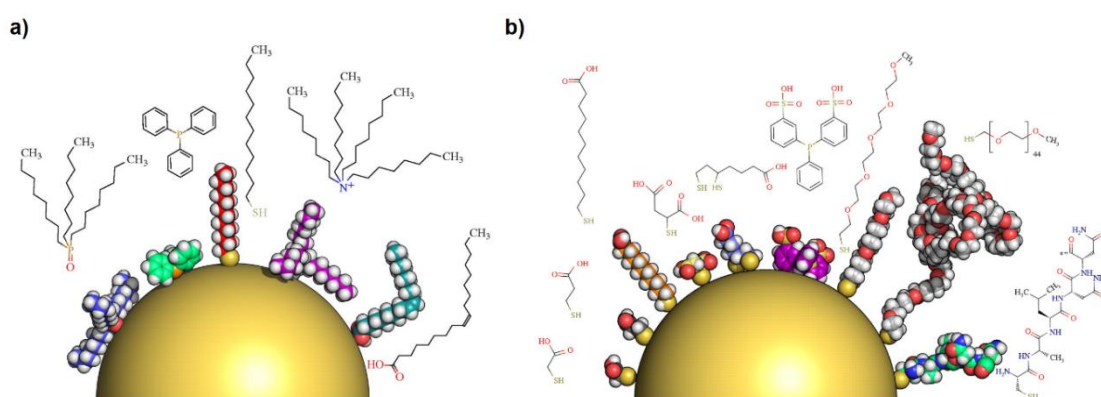
Rys. 6 Mechanizm tworzenia AgNPLs. Długość fali LSPR i obrazy TEM odpowiadają różnym objętościom dodatku AgNO₃ (0,5 mM). Inset: obraz HR-TEM wypukłości na nanotrójkąćach.¹⁸

Jednoetapowa synteza nanotrójkąć srebła jest metodą wykorzystującą nadtlenuk wodoru (H₂O₂).¹⁹ Zmiana kształtu następuje przez redukcję jonów Ag⁺ borowodorkiem sodu (NaBH₄) w obecności H₂O₂ i cytrynianu trisodu i/lub PVP (czynnik stabilizujący). H₂O₂ wykorzystuje się jako reduktor, który kontroluje kształt powstających nanotrójkąć srebła.¹⁹ Innym ważnym substratem do syntezy nanotrójkąć srebła jest cytrynian sodu, który silnie koordynuje do płaszczyzny (111) nanotrójkąć srebła (Rys. 6) i ułatwia ich wzrost. W trakcie etapu wzrostu nanotrójkąćy srebła są często stabilizowane przez dwa związki stabilizujące: cytrynian sodu i polimer (PVP, PSS) lub surfaktant.^{14,20,21} To właśnie, dzięki ich obecności w roztworze, wzrost płaszczyzn krystalograficznych nanotrójkąć zachodzi w określonym kierunku.²²

2. Modyfikacja powierzchni

2.1 Modyfikacja powierzchni nanostruktur

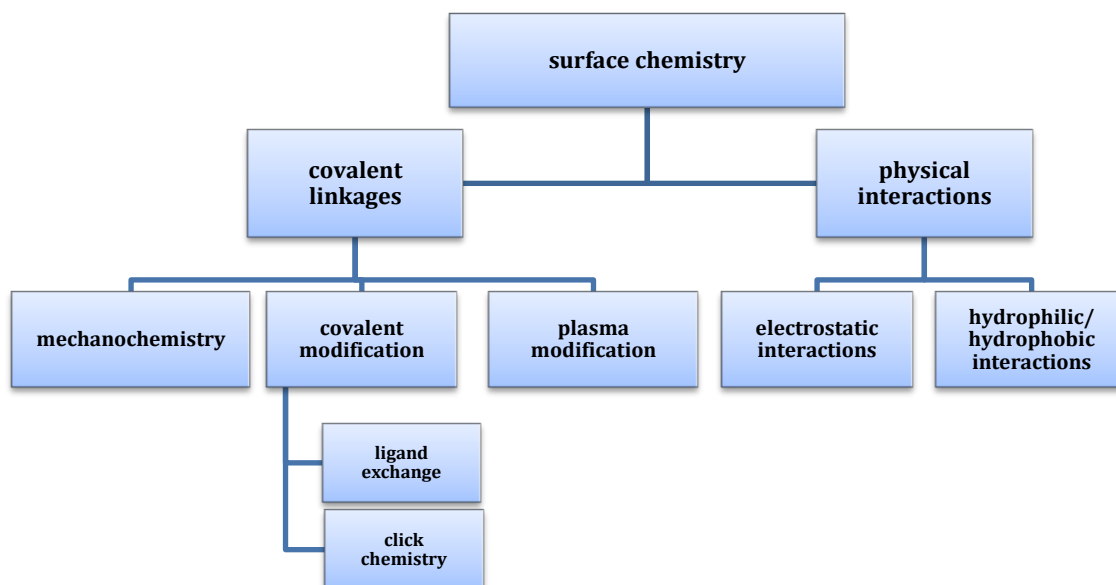
Celem modyfikacji powierzchni nanostruktur jest wprowadzenie nowych ligandów co może pozytywnie wpływać na stabilność otrzymanych zawiesin koloidalnych i zapobiec agregacji nanostruktur. Wprowadzenie nowych ligandów na powierzchnię nanostruktur może także zmieniać ich reaktywność. Obecność jednego lub kilku ligandów na powierzchni (Rys. 7) powoduje, że nanostruktury mogą nabywać dodatkowe właściwości fizykochemiczne i nowe zastosowania.²³



Rys. 7 Schemat AuNPs o średnicy 5 nm z różnymi ligandami a) hydrofobowymi oraz b) hydrofilowymi.²³

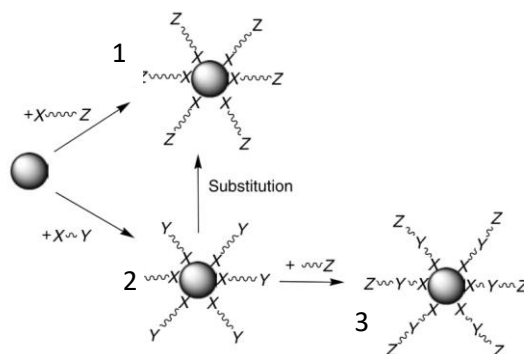
Powierzchnie nanostruktur metali można modyfikować wprowadzając na nie związki np. tiole, disiarczki, aminy, nityle, kwasy karboksylowe i związki zawierające grupy hydroksylowe.²³ Ligandy zawierające tiole wykazują silne powinowactwo chemiczne do metali szlachetnych takich jak złoto, srebro i miedź (grupy tiolowe wykazują najwyższe powinowactwo chemiczne do powierzchni złota i wynosi ono ok. 200 kJ mol⁻¹)²⁴. Kolejną grupą powszechnie stosowaną do modyfikacji powierzchni nanostruktur jest grupa hydroksylowa. Podobnie jak grupa tiolowa, grupa ta często pełni funkcję czynnika stabilizującego.

Przyłączenie nowych grup funkcyjnych może zachodzić poprzez utworzenie wiązań kowalencyjnych (między powierzchnią nanostruktur a przyłączanymi grupami funkcyjnymi) lub w wyniku oddziaływań fizycznych (Rys. 8).²³ Wśród metod modyfikacji powierzchni, poprzez utworzenie wiązań kowalencyjnych, wyróżnia się m.in. reakcję wymiany ligandu i reakcję *click chemistry*. Metody te zostały omówione w Rozdziałach 2.3 i 2.4.



Rys. 8 Sposoby modyfikacji powierzchni nanostruktur.²³

Wprowadzenie grup funkcyjnych na powierzchnię nanostruktur metali szlachetnych może nastąpić w trakcie bezpośredniej syntezy, reakcji wymiany ligandów lub koniugacji (Rys. 9).²⁵



Rys. 9 Sposoby funkcjonalizacji nanostruktur na przykładzie AuNPs: 1) bezpośrednia synteza – nanocząstka reaguje bezpośrednio z ligandami; 2) podstawienie (wymiana) początkowych ligandów w celu uzyskania pożądanej modyfikacji; 3) koniugacja – ligand Y działa jako miejsce sprzęgnięcia w celu uzyskania innej modyfikacji.²⁵

W pierwszym przypadku, modyfikacja nanostruktur ligandem polega na jego wprowadzeniu w trakcie syntezy. Ligand wprowadzany do syntezy często posiada dwie grupy funkcyjne i reaguje z nanostrukturą metalu poprzez przyłączenie jednej z jego grup funkcyjnych do powierzchni nanostruktury.

W efekcie powstająca nanostruktura metalu jest otoczona warstwą ligandu z grupami funkcyjnymi. Wybranie ligandu stabilizującego do bezpośredniej syntezy zależy głównie od wielkości i składu chemicznego nanostruktury oraz właściwości hydrofilowych/hydrofobowych rozpuszczalnika. W bezpośredniej syntezie nanostruktur metali ligandami stabilizującymi najczęściej są tiole.²⁵ Stwierdzono, że związki te tworzą gęstą warstwę ligandu, która stabilizuje rdzeń nanocząstki złota.²³ Zazwyczaj stosuje się tiole, które dodatkowo posiadają drugą grupę funkcyjną, jak np. -COOH, -NH₂, -OH lub długie łańcuchy alkilowe.²⁵ Wspomniane grupy funkcyjne mogą być stosowane również jako podstawa do dalszych modyfikacji powierzchni nanostruktur metali.²⁵ Głównym ograniczeniem modyfikacji powierzchni w bezpośredniej syntezie jest dobór odpowiednich ligandów stabilizujących i/lub grup funkcyjnych na powierzchni nanostruktur metalicznych. Po bezpośredniej syntezie często stosuje się dodatkowe metody modyfikacji powierzchni nanostruktur. Można wtedy zastosować drugą metodę – reakcję wymiany ligandu, którą szczegółowo omówiono w Rozdziale 2.3.

W przypadku koniugacji jedna z dwóch grup funkcyjnych ligandu reaguje z powierzchnią nanostruktury, druga zaś działa jako miejsce sprzęgania. Miejsce to ulega następnie chemicznej konwersji, by uzyskać końcową modyfikację powierzchni nanostruktur. Głównym celem koniugacji jest związanie docelowego ligandu (bez utraty jej funkcjonalności po przyłączeniu) do powierzchni nanostruktur. Taką modyfikację często stosuje się do połączenia nanostruktur metali z cząstkami biologicznymi, np. białkami, kwasami nukleinowymi, lipidami i środkami kontrastowymi.

Modyfikacja powierzchni nanostruktur różnymi ligandami zwiększa ich stabilność i jest ważna dla ich przyszłych zastosowań, np. przy projektowaniu czujników chemicznych.²⁶

2.2 Modyfikacja powierzchni stałych podłoży

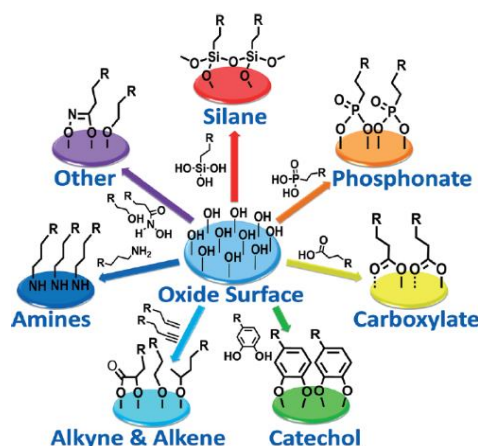
Modyfikacja powierzchni podłoży może prowadzić do otrzymania nowych lub dodatkowych właściwości zmodyfikowanych podłoży. Podobnie jak w przypadku modyfikacji powierzchni nanomateriałów, istnieje wiele technik, które umożliwiają modyfikację powierzchni stałych podłoży przewodzących i nieprzewodzących.

Wprowadzenie ligandów lub nanomateriałów na stałe podłoże może zwiększać ich powierzchnię aktywną. W przypadku elektrod, rozwinięcie powierzchni może spowodować wzrost prądu pojemnościowego i prądu Faraday'owskiego. Ponadto, modyfikacja powierzchni elektrod może być również związana z potrzebą zwiększenia szybkości reakcji elektrodowej. Powierzchnie elektrod modyfikuje się za pomocą: nanostruktur metalicznych, nanostruktur stopów metali, nanostruktur węglowych, związków nieorganicznych i związków organicznych.²⁷

Innym celem modyfikacji stałych podłoży za pomocą związków chemicznych lub nanomateriałów, jest dalsza funkcjonalizacja podłoża. Sfunkcjonalizowane podłoża mogą być zastosowane jako elementy czujników chemicznych, szczególnie tych z detekcją elektrochemiczną lub optyczną. Ważną cechą podłoża po modyfikacji powierzchni jest selektywność podłoża względem badanego analitu, a w przypadku kilku analitów – lepszego rozdzielenia lub rozróżnienia sygnału elektrochemicznego bądź optycznego. Funkcjonalizacja podłoża może również przeciwdziałać niepożądanym efektom, np. osadzeniu zanieczyszczeń obecnych w próbce oraz ich ewentualnym reakcjom.

2.2.1 Modyfikacja stałych podłoży nieprzewodzących

W literaturze opisano różne sposoby modyfikacji transparentnych podłoży tlenkowych: nieprzewodzących w tym szkła oraz półprzewodników (jak ITO) (Rys. 10).²⁷

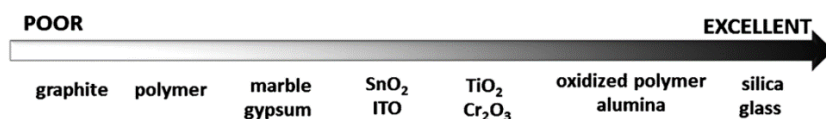


Rys. 10 Metody modyfikacji powierzchni tlenkowych.²⁷

W części badawczej niniejszej rozprawy, zmodyfikowano powierzchnię szkła nanocząstkami. W poniższym rozdziale omówiono modyfikację powierzchni tlenkowej na przykładzie szkła kwarcowego.

Modyfikacja powierzchni tlenkowych za pomocą alkilosilanów jest jedną z najczęściej stosowanych technik otrzymywania warstw na podłożach tlenkowych. Alkilosilany (R_3SiX , R_2SiX_2 lub $RSiX_3$) składają się z łańcucha alkilowego R oraz grupy opuszczającej (X) jak np. grupa alkoksylowa lub chlorowa oraz reagują z grupami $-OH$ licznie występującymi na powierzchniach tlenkowych. Główną zaletą stosowania alkilosilanów do modyfikacji powierzchni tlenkowych, jest szybkie tworzenie wiązania kowalencyjnego między podłożem a grupą przyłączającą. Wiązanie kowalencyjne stabilizuje powstającą warstwę tlenkową, a także pozwala na jej dalszą modyfikację.²⁷

Powierzchnie zawierające grupy powierzchniowe $Si-OH$ (jak np. nieprzewodzące powierzchnie szklane) są doskonałymi podłożami do modyfikacji za pomocą silanów (Rys. 11).²⁷ Powierzchnie innych tlenków metali mogą być również dobrymi substratami do silanizacji.

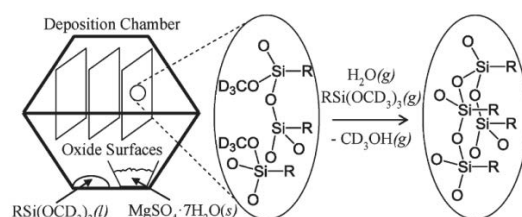


Rys. 11 Skuteczność modyfikacji różnych substratów nieorganicznych za pomocą silanizacji.²⁷

Reakcję modyfikacji powierzchni za pomocą silanów można przeprowadzić w roztworze lub przez naparowywanie z fazy gazowej. Reakcje prowadzone w roztworze zwykle prowadzi się w temperaturze pokojowej. Czynniki warunkującymi skuteczną modyfikację substratów w roztworze są lepkość i polarność rozpuszczalnika oraz ilość wody. W przypadku naparowywania na powierzchnię reakcja jest prowadzona zazwyczaj w podwyższonej temperaturze (50-120 °C) przez kilka godzin lub nawet dni.²⁷

Po raz pierwszy przygotowanie monowarstwy silanów na powierzchniach stałych w roztworze przedstawił Sagiv *et al.*²⁸ Szybkie i powtarzalne otrzymywanie monowarstw silanów następuje przez zanurzenie podłoża np. w roztworze trichlorosilanu w bicykloheksanie. Powstające warstwy silanowe przygotowane z roztworu, w większości przypadków, były nieregularne, co ograniczało ich przydatność do dalszych zastosowań.²⁹⁻³¹

Tworzenie warstwy silanów przez naparowywanie z fazy gazowej po raz pierwszy opisał Haller.³² Naparowywanie jest skutecznym i powtarzalnym sposobem wytwarzania uporządkowanych monowarstw silanów z fazy gazowej. Przykładowo, Chidsey *et al.* opisali metodę osadzania z fazy gazowej monowarstw silanowych w temperaturze 110 °C pod zmniejszonym ciśnieniem (133,32 Pa).³³ Do eksperymentu użyto $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{Si}(\text{CD}_3\text{O})_3$ i wodę pochodzącą z dehydratacji $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Rys. 12). Otrzymana warstwa silanów na powierzchni szklanych podłoży była gęsta i uporządkowana.

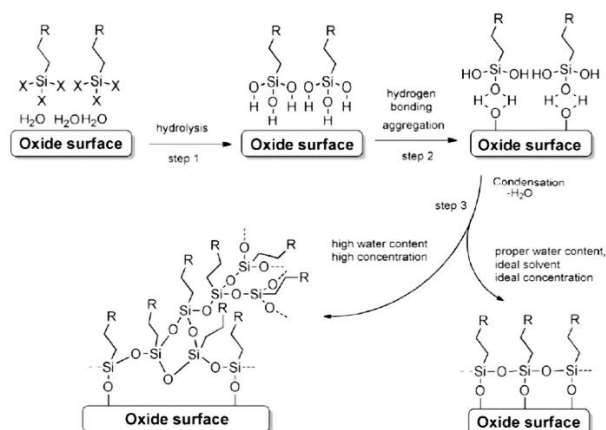


Rys. 12 Naparowywanie monowarstw silanowych na powierzchni szklanego podłoża.

W środku: niekompletna warstwa z niezhydrolizowanymi grupami metoksyłowymi.

Po prawej: gęsta, całkowicie zhydrolizowana monowarstwa.³³

Mechanizm tworzenia monowarstw z silanów RSiX_3 (gdzie $\text{X} = \text{Cl}, \text{OCH}_3$) składa się z trzech etapów (Rys. 13).²⁷



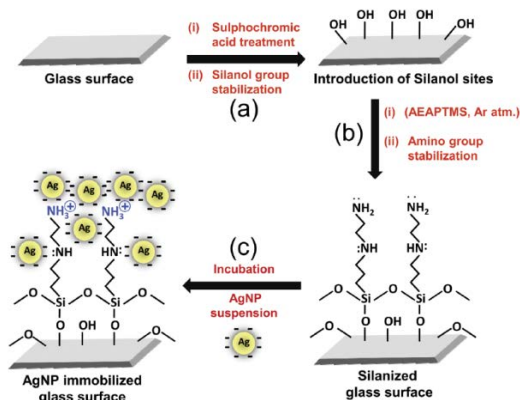
Rys. 13 Mechanizm tworzenia monowarstw przez silany na powierzchniach tlenkowych.²⁷

W pierwszym etapie, na powierzchni tlenku pokrytej warstwą zaadsorbowanej wody, następuje hydroliza silanów i tworzą się hydroksysilany ($\text{RSi}(\text{OH})_3$). W kolejnym etapie hydroksysilany wiążą się za pomocą wiązań wodorowych z powierzchnią polarnego tlenku. Na koniec następuje kondensacja pomiędzy grupami Si-OH z wytworzeniem wiązań Si-O-Si . Kondensacja zachodzi nie tylko z powierzchniowymi grupami $-\text{OH}$, ale także z sąsiednimi grupami silanowymi.

Dzięki tworzeniu się wielu wiązań kowalencyjnych, powstaje uporządkowywana monowarstwa pomiędzy silanami a podłożem tlenkowym (Rys. 13).²⁷

Zmiana warunków reakcji może prowadzić do utworzenia wielu nieuporządkowanych i niejednorodnych warstw (Rys. 13).²⁷ Jak wspomniano wyżej, początkowa hydroliza wiązań Si-Cl lub Si-OR powoduje utworzenie hydroksylanu, który umożliwia dalszą samoorganizację powstających monowarstw (ang. *self-assembly monolayers, SAM*). Krok ten jest etapem limitującym i wpływa na ostateczną jakość i uporządkowanie powstających warstw SAM. Niepełna lub nadmierna hydroliza może prowadzić do otrzymania niekompletnych monowarstw lub tworzenia polisiloksanów na powierzchni tlenku. Oznacza to również, że powierzchnie nie zawierające zaadsorbowanych cząsteczek wody (takie jak tlenki metali bez grup -OH, krzemu, węgla, polimerów organicznych) będą mniej efektywnie reagować z silanem, co dodatkowo wyjaśnia ich położenie w skali reaktywności na Rys. 11.

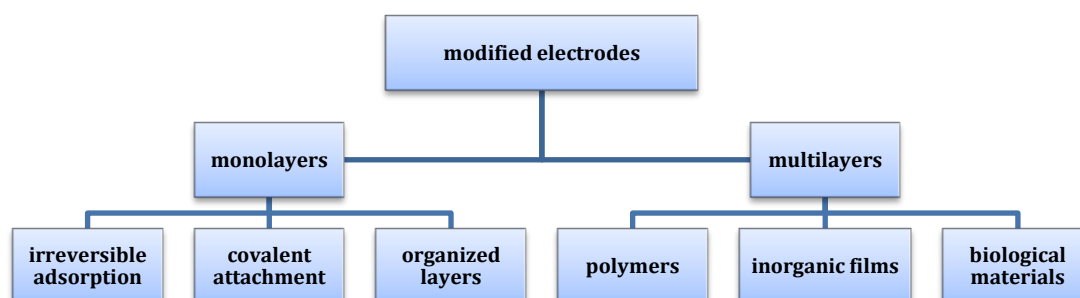
Tworzenie monowarstw silanów na podłożach tlenkowych jest ważną techniką modyfikacji nieprzewodzącego szkła kwarcowego oraz tlenków będących półprzewodnikami (zwłaszcza ITO). Do modyfikacji podłoży tlenkowych można bezpośrednio stosować silany, które na końcu łańcucha alkilowego posiadają docelową grupę funkcyjną. Drugą opcją jest wprowadzenie wymaganej grupy funkcyjnej w trakcie kolejnej modyfikacji. Przykładowo, (3-aminopropyl)trietoksylian (APTES) stosuje się do otrzymania podłoży z grupami aminowymi, do których w kolejnym etapie można przyłączyć nanostruktury metaliczne. Przykładowo, Mukherji *et al.* unieruchomili nanocząstki srebra na modyfikowanej grupami aminowymi powierzchni szkła kwarcowego (Rys. 14)³⁴.



Rys. 14 Schematyczne przedstawienie procedury silanizacji, a następnie unieruchomienie nanocząstek srebra na szklanej powierzchni funkcjonalizowanej grupami aminowymi.³⁴

2.2.2 Modyfikacja stałych podłoży przewodzących

Stale podłoża przewodzące – elektrody, można modyfikować metodami fizycznymi lub chemicznymi. Na powierzchni elektrod można otrzymać mono- lub wielowarstwy (Rys. 15).



Rys. 15 Modyfikacja powierzchni elektrod.²³

Monowarstwy na powierzchni elektrod mogą powstawać: w trakcie nieodwracalnej adsorpcji, przez utworzenie wiązania kowalencyjnego lub w wyniku zjawisk samoporzędkowania (np. warstwa Langmuira-Blodgett, warstwa samoorganizująca się SAM).^{23,35}

Wiele związków chemicznych może spontanicznie adsorbować się na powierzchni elektrody z roztworu. Przykładem może być przyłączanie związków organicznych (np. zawierających pierścienie aromatyczne, wiązania podwójne i długołańcuchowe związki alifatyczne) lub niektórych jonów (np. halogenków, SCN^- , CN^-) do elektrod węglowych i metalicznych. Związki posiadające w swojej strukturze siarkę mogą łatwo przyłączać się do powierzchni złota i innych metali.³⁶

Trwałe połączenie związków chemicznych z powierzchnią elektrody można osiągnąć poprzez utworzenie wiązania kowalencyjnego. Wiązanie kowalencyjne może powstawać pomiędzy związkami chemicznymi i grupami funkcyjnymi obecnymi na elektrodzie lub powierzchnią elektrody. Dla przewodzących powierzchni tlenkowych często wykorzystuje się proces silanizacji (omówiony w Rozdziale 2.2.1). Innym przykładem modyfikacji elektrod może być modyfikacja elektrod węglowych w reakcji wymiany ligandu (omówiono w Rozdziale 2.3) lub reakcji *click chemistry* (omówiono w Rozdziale 2.4).

Monowarstwy związków powierzchniowo czynnych można otrzymać na powierzchni elektrod stosując metodę Langmuira-Blodgett (LB).

Alternatywą dla filmów LB, są monowarstwy samoorganizujące się (ang. *self-assembly monolayers*) na powierzchni metalu. Samoorganizację definiuje się jako proces spontaniczny, prowadzący do powstania struktury z pewnym stopniem uporządkowania, narzuconym przez boczne oddziaływania między cząsteczkami składowymi. Dobrym przykładem takiej samoorganizacji, mogą być tutaj warstwy związków siarki (np. tioli) z długołańcuchowymi grupami alkilowymi powstające na elektrodzie Au. Grupy tiolowe trwale wiążą się ze złotem, a boczne oddziaływania między sąsiednimi łańcuchami alkilowymi tworzą regularną strukturę, w której łańcuchy leżą względem siebie równolegle, a do elektrody pod kątem.²⁶

Modyfikowane powierzchnie elektrod wykazują odmienne właściwości niż elektrody przed modyfikacją. Celowe pokrycie powierzchni monowarstwą lub wieloma warstwami może zmienić szybkość przeniesienia elektronu na powierzchni elektrody i umożliwić rozdzielenie sygnałów elektrochemicznych. Zmodyfikowane elektrody można następnie zastosować jako czujniki elektrochemiczne lub elektrody odniesienia³⁷. W celu stworzenia czujnika elektrochemicznego, kluczowym krokiem do osiągnięcia wysokiej wydajności jest właściwe przygotowanie powierzchni elektrody.

Zmodyfikowana powierzchnia podłoża musi zapewniać stabilne unieruchomienie elementu rozpoznającego oraz umożliwić selektywne i powtarzalne reakcje elektrochemiczne.

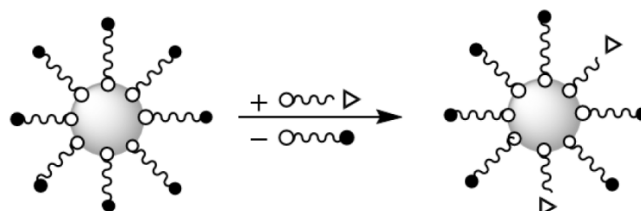
Przykładowe zastosowanie modyfikowanych elektrod opisano w Rozdziałach 2.3, 2.4 i 5.2.

2.3 Reakcja wymiany ligandu

Bezpośrednio po syntezie na powierzchni nanostruktur znajdują się ligandy stabilizujące. Ligandy stabilizujące odpowiadają za wzrost nanostruktur w konkretnych płaszczyznach krystalograficznych i zapobiegają agregacji.²³ Ligandy stabilizujące zazwyczaj nie posiadają grup funkcyjnych niezbędnych do dalszych reakcji.³⁸ Z tego powodu, zsyntezowane nanostruktury poddaje się reakcji wymiany ligandu.

Reakcja wymiany ligandu (ang. *ligand exchange*) jest reakcją, która pozwala na kontrolowanie składu warstwy na powierzchni nanostruktur.

Koncepcja reakcji wymiany ligandu jest bardzo prosta – polega na mieszanii nanostruktur metalu z obecnymi w roztworze ligandami. W trakcie reakcji, następuje zastąpienie ligandów obecnych na powierzchni nanostruktury – innymi ligandami docelowymi (Rys. 16).³⁸



Rys. 16 Schemat reakcji wymiany ligandu na powierzchni nanocząstek.³⁸

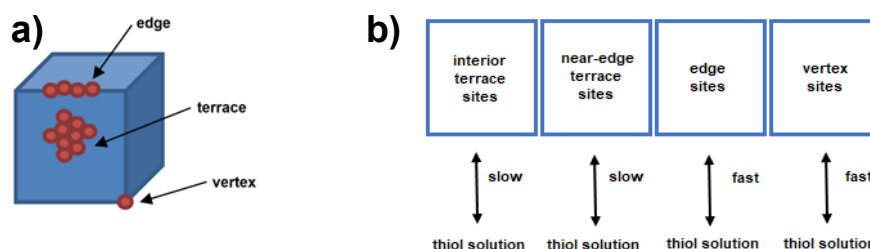
Taka wymiana ligandu może zmieniać właściwości nanostruktur (np. następuje przesunięcie pasma absorpcyjnego), ale nie powinna wpływać na stabilność modyfikowanych nanostruktur. W reakcji wymiany często stosuje się ligandy z dwiema głównymi grupami funkcyjnymi.³⁸ Takie ligandy zwiększają zdolność wiązania z innymi molekułami oraz zwiększają stabilność nanostruktur w roztworze wodnym i organicznym. Po reakcji wymiany wolne grupy funkcyjne ligandów można dalej wykorzystywać do kolejnych reakcji: z innymi związkami chemicznymi, nanostrukturami, cząstkami biologicznymi lub do modyfikacji powierzchni podłoży przewodzących i nieprzewodzących.³⁹

Mechanizm reakcji wymiany ligandu zależy od wielu czynników: ilości miejsc wiązania, siły wiązania, wielkości nanostruktur i długości łańcucha ligandu.³⁸ Ważny jest również stosunek ilości ligandów docelowych do ilości ligandów związanych z powierzchnią nanostruktur przed wymianą. Zbyt wysokie stężenie ligandów docelowych może powodować agregację nanostruktur, a zbyt niskie stężenie – niekompletną wymianę ligandu.⁴⁰ Millstone *et al.* przeprowadzili analizę ilościową reakcji wymiany tioli na nanostrukturach złota.⁴¹ Stwierdzili, że na mechanizm wymiany ligandu (poza w/w czynnikami) wpływają również struktura atomowa nanostruktur oraz oddziaływania międzycząsteczkowe takie jak: chemisorpcja, przyciąganie elektrostatyczne lub hydrofilowość/hydrofobowość ligandów.

Powszechnie znaną reakcją wymiany ligandu jest proces adsorpcji ligandów zawierających grupę tiolową na powierzchni nanostruktur złota.

Po raz pierwszy, reakcja wymiany ligandu na nanocząstkach złota modyfikowanych monowarstwą tioli została wykonana przez Murraya.⁴² Do zrozumienia mechanizmu wymiany ligandu przeprowadzono szereg badań.⁴³⁻⁴⁵

Stwierdzono, że proces adsorpcji tioli na powierzchni nanostruktur złota odbywa się dwuetapowo. W pierwszym etapie reakcji wymiany, jeden ligand zawierający grupę tiolową jest adsorbowany najpierw na defektach otoczki drugiego ligandu i/lub na wierzchołkach i krawędziach nanostruktur.⁴³⁻⁴⁵ W drugim etapie następuje powolna adsorpcja pierwszego ligandu na uporządkowanych powierzchniach nanostruktur.³¹ Kinetyka wymiany ligandu z ligandem na powierzchni nanocząstek złota w dużej mierze zależy od budowy nanostruktur.⁴⁶ Powierzchnia nanostruktur metalicznych składa się z dwóch obszarów – zawierających lub niezawierających defekty (Rys. 17a).⁴⁶

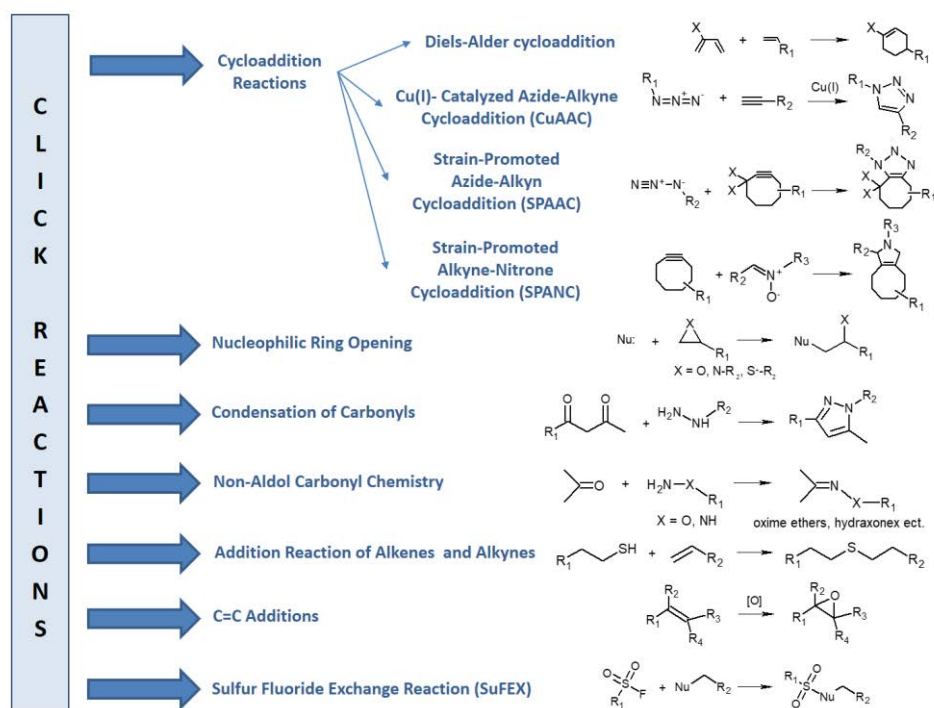


Rys. 17 a) Schemat przedstawiający możliwe miejsca wiążące na powierzchni nanostruktur na przykładzie nanokostki metalu.⁴⁶ b) Szybkość wymiany ligandu zawierających grupę tiolową na przykładzie nanokostki złota.⁴²

Wierzchołki i krawędzie są uważane za defekty struktury, a uporządkowane powierzchnie nanostruktur (ang. *terraces*) jako obszary bez wad (Rys. 17a).⁴⁶ Każde z miejsc wiążących ma inną gęstość elektronową i jest w różnym stopniu „dostępne” dla ligandu docelowego. Z tego powodu, wymiana ligandu będzie zachodzić szybko na wierzchołkach i krawędziach (Rys. 17b).⁴² Miejsca te będą wykazywać wyższą reaktywność niż uporządkowane powierzchnie nanostruktur. Ostateczna szybkość wymiany ligandu będzie zależała od sumarycznej ilości miejsc, gdzie reakcja wymiany ligandu zachodzi szybko i wolno.⁴² Na szybkość reakcji wymiany ligandu będzie wpływać również wielkość nanostruktur.^{43,47}

2.4 Click chemistry

W 2001 roku H.C Kolb, M. D. Finn i K. Barry Sharpless wprowadzili do nomenklatury naukowej nową strategię chemii organicznej tzw. 'click chemistry'.⁴⁸ Chociaż sama fraza 'click chemistry' nie znajduje odpowiednika w języku polskim, można powiedzieć, że 'click chemistry' to zbiór reakcji chemicznych spełniający określone kryteria. Współcześnie znanych jest wiele reakcji, które można zakwalifikować do rodziny *click* (Rys. 18)⁴⁹, a ich grono ciągle się powiększa (jak np. niedawno zaliczona do grona *click chemistry* – reakcja SuFEX⁵⁰). Reakcje *click* (Rys. 18) nie zastępują istniejących metod syntezy związków organicznych, lecz wykorzystują już istniejące mechanizmy reakcji chemicznych w różnych dziedzinach nauk.

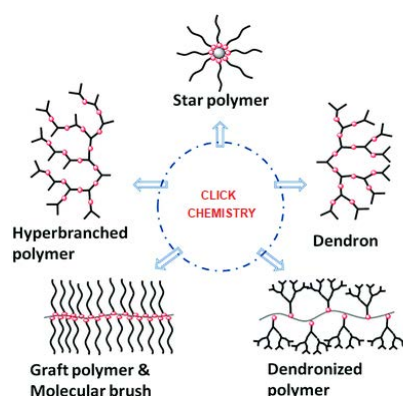


Rys. 18 Klasy reakcji *click chemistry*.⁴⁹

Reakcje 'click chemistry' muszą spełniać określone warunki. Reakcje powinny być proste, niewrażliwe na tlen i wodę oraz nie powinny wymagać stosowania skrajnie wysoki lub niskich temperatur. Reakcje 'click chemistry' charakteryzuje wysoka selektywność i wydajność oraz szybkość reakcji. Zgodnie z koncepcją 'click chemistry' powstające w reakcji produkty uboczne można usunąć za pomocą destylacji lub krystalizacji (bez konieczności użycia metod chromatograficznych). Wyjściowe substraty stosowane do syntezy *click* powinny być dostępne komercyjnie bez konieczności dalszych syntez, by otrzymać docelowy produkt.

Kolejną zaletą reakcji *'click chemistry'* jest możliwość prowadzenia syntezy bez lub z zastosowaniem przyjaznego dla środowiska lub łatwego do usunięcia rozpuszczalnika (np. woda). Reakcje *'click chemistry'* dają możliwość łączenia wybranych molekuł za pomocą wiązania kowalencyjnego. Zapewnia to trwałość całej struktury i daje możliwość kolejnych modyfikacji.⁴⁸

Metoda *'click chemistry'* wykorzystuje proste mechanizmy i pozwala na tworzenie nowych, rozbudowanych molekuł z innych prostszych związków chemicznych. Intensywny rozwój strategii *'click chemistry'* znacznie ułatwił budowę nowych związków, a zwłaszcza polimerów z rozgałęzionymi strukturami. Zsyntezowane struktury mogą przyjmować rozmaite kształty (Rys. 19).⁵¹ *'Click chemistry'* daje także perspektywę syntezy nowych związków chemicznych, np. nowych leków.⁵²



Rys. 19 Struktury polimerów otrzymanych w reakcji *click chemistry*.⁵¹

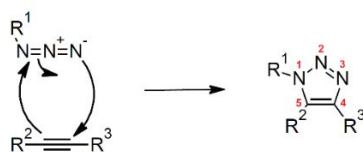
Szybki postęp w chemii organicznej sprawił, że reakcje *'click chemistry'* znajdują różnorodne zastosowania w wielu dziedzinach nauki, np. w nanotechnologii⁵³, biotechnologii⁵⁴, biochemii⁵⁵, biologii⁵⁶. Tego typu reakcje często są wykorzystywane do chemicznej modyfikacji powierzchni nanostruktur innymi molekułami⁵⁷⁻⁶⁷, jak również łączenie między sobą nanomateriałów⁶⁸⁻⁷². *'Click chemistry'* jest również strategią do modyfikacji powierzchni stałych (nieprzewodzących lub elektrod) wybranymi związkami chemicznymi⁷³⁻⁷⁵ i biologicznymi lub innymi nanomateriałami⁷⁶⁻⁸².

Modyfikacja powierzchni nanostruktur oraz powierzchni stałych podłoży za pomocą reakcji *'click chemistry'* pozwala poprawić dotychczasowe lub uzyskać nowe właściwości fizykochemiczne modyfikowanych elementów.

2.4.1 Cykloaddycja azydek-alkin katalizowana jonami miedzi(I) (CuAAC)

Cykloaddycja azydek-alkin katalizowana jonami miedzi(I) (ang. *Copper(I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*, CuAAC), zwana również cykloaddycją Huisgena, jest jedną z najbardziej charakterystycznych i rozpoznawalnych reakcji należących do rodziny 'click chemistry'. Została ona użyta w niniejszej pracy, dlatego też poniżej opisano szczegółowo tę reakcję.

1,3-dipolarna cykloaddycja jest reakcją pomiędzy 1,3-dipolem a dipolarofilem (alkenem lub alkinem) i prowadzi do powstania pięciocłonowego pierścienia heterocyklicznego (Rys. 20).⁶⁷ Prekursory 1,3-dipoli można podzielić zasadniczo na dwie grupy: typu allilowego anionu, w których fragment reaktywny tworzy zgiętą strukturę (np. nitrony, N-tlenki iminy, tiokarbonyloylidy) oraz typu anionu propargilowego (allenowego) o strukturze liniowej (np. azydki, tlenki nitryli, diazoalkany itp.).

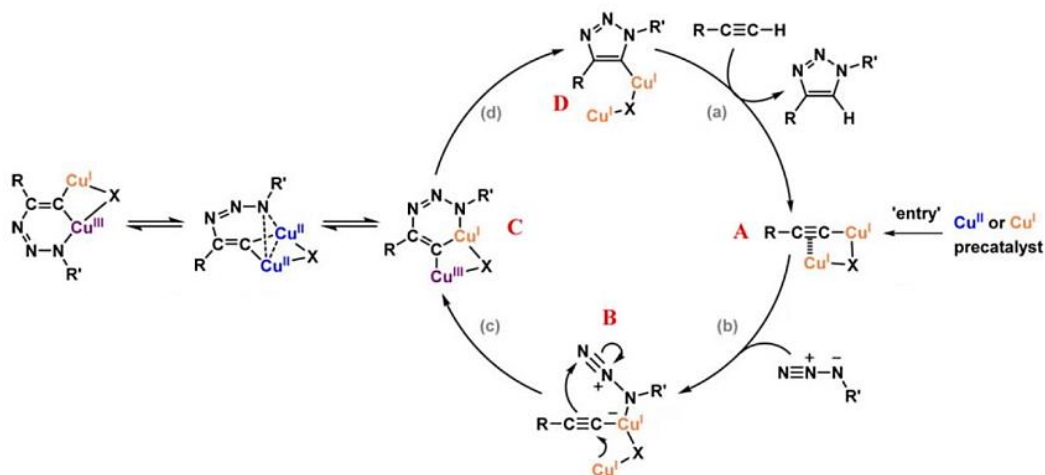


Rys. 20 Ogólny schemat reakcji 1,3-cykloaddycji oraz powstającego 1,4-podstawionego pierścienia 1,2,3-triazolowego.⁶⁷

W 2002 roku Meldal⁸³ i Fokin/Sharpless⁸⁴ (niezależnie od siebie) opisali przebieg reakcji cykloaddycji azydków do terminalnych alkinów w obecności katalizatora – jonów miedzi(I). Dodatek Cu(I) do środowiska reakcji pozwolił nie tylko obniżyć temperaturę prowadzonej reakcji (nawet do temperatury pokojowej), ale co ważniejsze, stworzył możliwość otrzymania w sposób selektywny wyłącznie produktu 1,4-dipodstawionego pierścienia 1,2,3-triazolowego z wysoką wydajnością.

W cykloaddycji azydek-alkin katalizowanej jonami miedzi(I) w roztworze, do wyprodukowania katalizatora najczęściej używa się soli miedzi(II) w obecności reduktora np. askorbinianu sodu. Jako sól miedzi(II) głównie stosuje się uwodniony siarczan(IV) miedzi(II). Reakcję można prowadzić w rozpuszczalnikach aprotycznych oraz protycznych, w tym w wodzie. Stosowanie łatwych do usunięcia i przyjaznych dla środowiska rozpuszczalników oraz możliwość syntezy z prostych reagentów sprawia, że CuAAC zaliczana jest do metod 'click chemistry'.

Mimo intensywnego rozwoju i badań nad reakcją CuAAC mechanizm reakcji nie jest znany do dziś. Pierwotny mechanizm CuAAC zaproponowany został przez Fokin'a, Sharpless'a i współpracowników⁸⁴. Dalsze badania kinetyczne i strukturalne wykazały, że początkowo zaproponowany mechanizm można uznać jako podstawę bardziej szczegółowej reakcji.⁸⁵⁻⁸⁸ Rys. 21 przedstawia aktualny stan wiedzy odnośnie mechanizmu reakcji CuAAC.⁸⁹ Powstawanie acetylenku σ , π -di(miedzi) (Rys. 21, A) inicjuje reakcję CuAAC. Acetylenek, który łączy się zarówno z wiązaniem σ i π z miedzi(I), przekształca azydek (Rys. 21, etap b) z wytworzeniem trójskładnikowego kompleksu azydek-alkin-miedź(I) (Rys. 21, B). W kolejnym etapie (Rys. 21, etap c), powstaje metalocykl (Rys. 21, C), w którym jon miedzi(I) utlenia się do miedzi(III). Redukcyjne przekształcenie pierścienia (Rys. 21, etap d) prowadzi do uzyskania triazolilowego kompleksu miedzi(I) (Rys. 21, D), który deprotonuje alkin w celu zakończenia cyklu katalitycznego (Rys. 21, etap a).



Rys. 21 Mechanizm reakcji CuAAC. (X – ligand).⁹⁰

Spośród czterech struktur przedstawionych w cyklu katalitycznym, acetylenek σ , π -di(miedź) (A) i triazolilowy kompleks miedzi(I) (D) zostały jako jedyne w pełni scharakteryzowane i zweryfikowane jako realne półprodukty reakcji.^{91,92} Niedobór dowodów dla powstających struktur B i C podkreśla, że etapy c i d (Rys. 21) są szybkie.^{91,93} W trakcie deprotonowania alkinu i protonacji triazolowego pierścienia, tworzenie acetylenku (Rys. 21, etap a) jest etapem limitującym szybkość reakcji, co jest poparte coraz większą ilością dowodów.^{91,93} Etap b (Rys. 21) jest stosunkowo powolny, co według badań, wynika z trudności obserwowania powstałego związku pośredniego B (wykryto go tylko raz stosując metodę spektrometrii).⁹⁴ Fokin i współpracownicy stwierdzili także, że w metalocyklu C (Rys. 21) następuje przegrupowanie dwóch centrów miedzi do osiągnięcia stanu równowagi.⁹⁵

Azydek jest drugą ważną grupą funkcyjną biorącą udział w reakcji CuAAC, a w szczególności w oddziaływaniu azydek-miedź. Azydki chelatujące zawierające grupę anchimeryczną wykazują wysoką reaktywność w reakcji CuAAC oraz wzmacniają oddziaływanie azydek-miedź, co przyspiesza etap b (Rys. 21) dając kompleks trójskładnikowy miedź(I)/azydek/alkin.^{93,96}

Stosując miedź(II) jako prekatalizator, azydek chelatujący koordynuje miedź(II) przed utworzeniem acetylenku miedzi(I), a zatem działa jako ligand zapobiegający agregacji acetylenku miedzi(I), a w konsekwencji zwiększeniu długowieczność aktywnego katalizatora miedzi(I).

Do przeprowadzenia reakcji CuAAC kluczowym elementem jest aktywny katalizator – jony miedzi(I). Jak dotąd nie ma jednak zgody co do ilości katalizatora potrzebnego do przeprowadzenia reakcji CuAAC. Ilość powstałych jonów miedzi(I) będzie zależec od konkretnych warunków reakcji i struktury substratów. Reakcje CuAAC można zmieniać pod względem rozpuszczalników, przeciwjonów, ligandów i innych dodatków, lecz obecność jonów miedzi(I) jest niezbędna do przeprowadzenia reakcji należących do *'click chemistry'*.

Jonów miedzi(I) nie da się bezpośrednio wprowadzić do roztworu, w którym ma przebiegać reakcja (jony te są nietrwałe i łatwo się utleniają). Do przeprowadzenia cykloaddycji CuAAC, jony miedzi(I) można generować chemicznie lub elektrochemicznie. W pierwszym przypadku, do wygenerowania katalizatora stosuje się sól miedzi(II), głównie $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$. Do wytworzenia jonów miedzi(I) niezbędna jest obecność reduktora chemicznego np. askorbinianu sodu. W drugim przypadku, jony miedzi(I) powstają w wyniku elektrochemicznej redukcji. Przyłożenie do elektrody odpowiedniego potencjału powoduje redukcję obecnych w roztworze jonów miedzi(II) do jonów miedzi(I). Elektrochemiczne generowanie katalizatora niesie ze sobą szereg korzyści, m.in. pozwala kontrolować i skraca czas reakcji w porównaniu do tradycyjnej metody (gdy jony miedzi(I) powstają w obecności chemicznego reduktora). Ponadto, elektrochemiczne generowanie katalizatora daje możliwość selektywnej modyfikacji powierzchni elektrod, które mogą być następnie wykorzystane jako czujniki elektrochemiczne. Niezależnie od sposobu otrzymywania, obecność jonów miedzi(I) w roztworze jest niezbędna do przeprowadzenia CuAAC pomiędzy wybranymi elementami.

CuAAC używa się w nanotechnologii, między innymi do modyfikowania powierzchni nanostruktur innymi związkami chemicznymi⁹⁷.

Reakcja umożliwia modyfikację powierzchni nanostruktur metalicznych⁵⁷⁻⁶⁰, nanocząstek silikonowych^{98,99}, nanocząstek magnetycznych^{100,101} i innych nanocząstek nieorganicznych (np. nanocząstek CdSe¹⁰², nanocząstek TiO₂¹⁰³). Warto podkreślić, że powstało wiele czujników do oznaczania składników reakcji CuAAC, tj. jonów miedzi(II)^{80,104-106} i askorbinianu sodu¹⁰⁷. Reakcję CuAAC wykorzystano także do kolorymetrycznego oznaczania protein¹⁰⁸ i pestycydów⁶⁹. Jest również narzędziem do modyfikowania przewodzących i nieprzewodzących stałych podłoży.

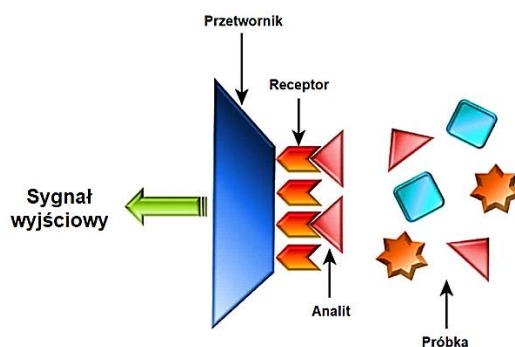
Stałe podłoża można modyfikować w reakcji CuAAC innymi związkami chemicznymi^{73,75,109}, jak również innymi nanostrukturami^{35,80,110,111}.

3. Czujniki chemiczne

Czujnik chemiczny to urządzenie, które przetwarza informację chemiczną na sygnał użyteczny analitycznie. Informacja chemiczna może pochodzić od reakcji chemicznej oznaczanego analitu lub z fizykochemicznej właściwości badanego układu np. oddziaływań międzycząsteczkowych.

Postęp w dziedzinie nanotechnologii sprzyja rozwojowi czujników chemicznych opartych o nanostruktury metaliczne. Dzięki wyjątkowym właściwościom wspomnianych nanostruktur, udaje się w tego typu czujnikach zwiększyć wydajność procesu, przyspieszać przetwarzanie informacji, zwiększać intensywność sygnału lub w ogóle umożliwić jego odczyt.

O praktycznym wykorzystaniu czujnika chemicznego decydują parametry użytkowe, np.: dokładność, precyzja, selektywność, czułość i granica wykrywalności (LOD). Każdy czujnik chemiczny zbudowany jest z dwóch podstawowych elementów: części receptorowej oraz części przetwornikowej (Rys. 22).



Rys. 22 Schemat czujnika chemicznego.¹¹²

Część receptorową (tzw. fazę rozpoznawczą) najczęściej stanowi cienka warstwa, która reaguje/oddziałuje z cząstkami analitu. Receptor odpowiada za selektywność chemiczną sensora i przekształca informację chemiczną w różnego rodzaju energię, która jest przetwarzana przez przetwornik na użyteczny i mierzalny sygnał. Biorąc pod uwagę działanie receptora, czujniki można podzielić na chemiczne i biologiczne (bioczujniki).

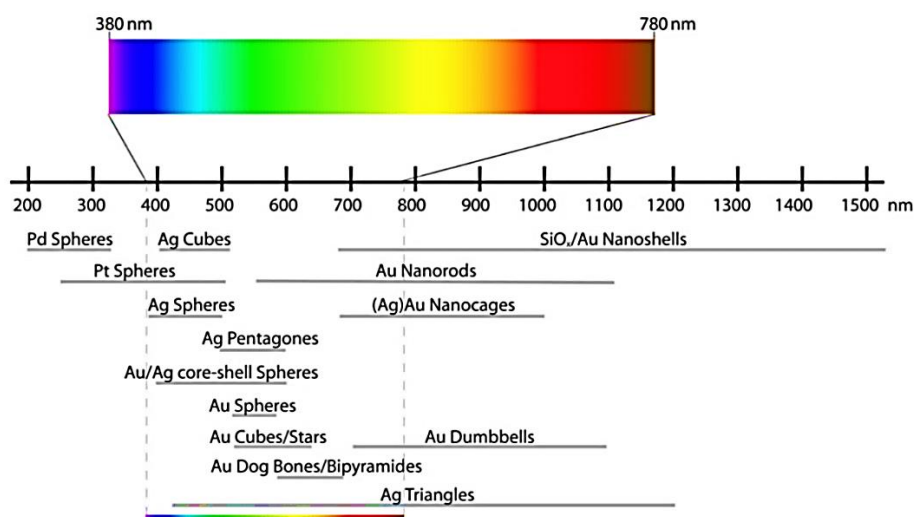
W czujnikach chemicznych działanie receptora opiera się na reakcjach chemicznych, które stosuje się do rozpoznawania jonów/cząsteczek lub na rozpoznawaniu ich w zależności od wielkości lub kształtu. W czujnikach biologicznych, jako receptor stosuje się cząsteczki biologiczne (najczęściej są to enzymy, kwasy nukleinowe lub przeciwciała).

Zadaniem przetwornika jest przekształcenie mierzonego sygnału próbki na sygnał elektryczny lub optyczny.¹¹³ Ze względu na typ zastosowanego przetwornika, czujniki chemiczne dzieli się na: termometryczne, masowe, optyczne, elektrochemiczne, elektryczne i magnetyczne.¹¹³ W dalszej części rozdziału opisano jedynie czujniki optyczne i elektrochemiczne ze względu na tematykę niniejszej rozprawy.

3.1 Czujniki optyczne

W czujnikach optycznych przetwornik przekształca zmiany właściwości optycznych receptora (występujące na skutek jego oddziaływań z analitem). Zjawiska fizyczne wykorzystywane w czujnikach optycznych to m.in. absorpcja, refrakcja, luminescencja i rozpraszanie światła.

Ważną rolę w analizie chemicznej odgrywają czujniki optyczne działające w oparciu o nanostruktury złota i srebra. Zawiesiny tych nanostruktur mogą przyjmować różne kolory, co wynika z ich specyficznego oddziaływania ze światłem. Nanostruktury złota i srebra wykazują silną absorpcję w zakresie widzialnym i ultrafiolecie dzięki możliwości wzbudzenia na nich zlokalizowanych plazmonów powierzchniowych (LSPR). Intensywność i położenie pasma plazmonowego (Rys. 23)¹¹⁴ zależy m.in. od wielkości i kształtu nanostruktur, materiału – z jakiego są wykonane nanostruktury oraz przenikalności dielektrycznej ośrodka, w którym nanostruktury są rozdyspergowane.

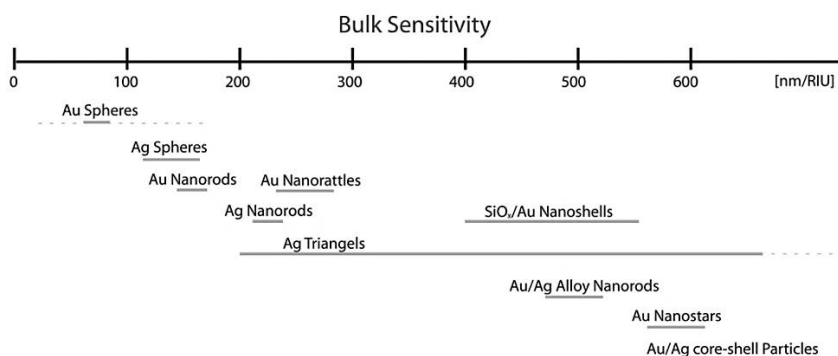


Rys. 23 Porównanie zakresu spektralnego LSPR dla różnych nanostruktur plazmonowych.¹¹⁴

Podstawą pomiarów LSPR opartych o nanostruktury złota i srebra jest czułość nanostruktur na zmiany współczynnika załamania światła (ang. *refractive index*, RI) w ich najbliższym otoczeniu.¹¹⁵ Na czułość nanostruktur mają wpływ: rodzaj metalu, z którego są one zrobione, ich kształt i wielkość.¹¹⁵ Czynniki te można kontrolować w trakcie syntezy, dlatego stanowi ona kluczowy etap do opracowania czułych czujników optycznych.

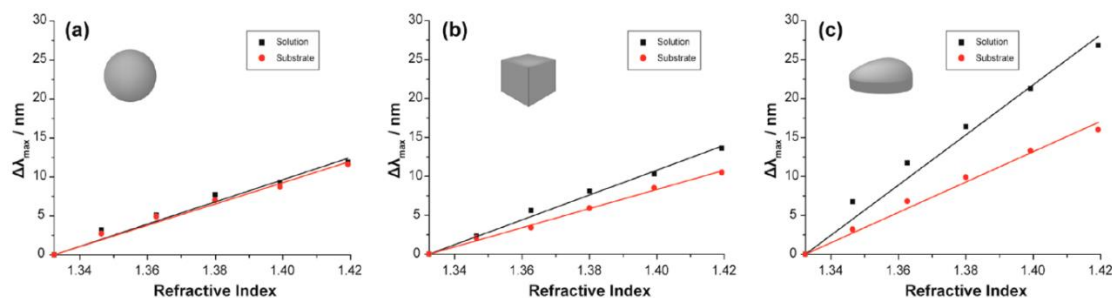
Czułość nanostruktur na zmiany RI, wyznacza się z nachylenia krzywych przesunięcia maksimum położenia pasma LSPR w zależności od współczynnika załamania – RI. Często oblicza się również współczynnik dobroci (ang. *figure of merit*, FOM), będący stosunkiem czułości na zmiany RI i szerokości połówkowej pasma (ang. *full width at half maximum*, FWHM).¹¹⁶

Na Rys. 24 przedstawiono przykładowe czułości różnych pod względem kształtów nanostruktur złota i srebra na zmiany RI.^{117,118} Porównując zawiesziny anizotropowych nanostruktur złota i srebra – z zawiesziną nanocząstek, pierwsze z wymienionych wykazują większą czułość na zmiany RI (Rys. 24). Z tego powodu przy opracowywaniu czujników optycznych należy wziąć pod uwagę zarówno kształt i wielkość nanostruktur plazmonowych, tak aby wykazywały one możliwie najwyższej czułości na zmiany RI.¹¹⁹



Rys. 24 Porównanie czułości różnych kształtów nanostruktur plazmonowych na zmiany RI.¹¹⁴

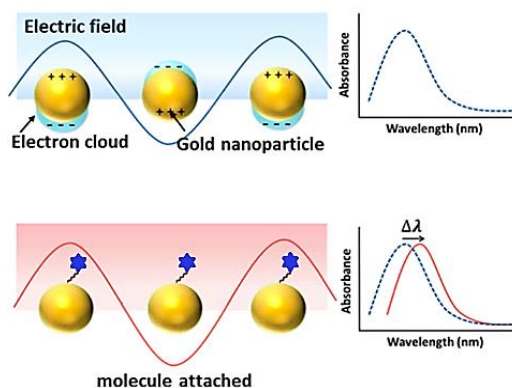
Do analizy oddziaływań z detekcją optyczną można wykorzystać nanostruktury rozdyspergowane w rozpuszczalniku lub nanostruktury unieruchomione na powierzchni podłoża.¹²⁰ Unieruchomienie nanostruktur plazmonowych na podłożu stałym wpływa na ich czułość na zmiany RI (Rys. 25).¹¹⁹



Rys. 25 Zmiana maksimum pasma rezonansowego względem RI dla
 a) nanocząstek srebra ($d = 33$ nm), b) nanokostek srebra ($a = 35$ nm),
 c) nanopłytek srebra ($a = 30$ nm, $h = 5-10$ nm).¹¹⁹

Przyłączenie anizotropowych nanostruktur plazmonowych do powierzchni podłoża powoduje spadek czułości na zmiany RI, zaś nanocząstek izotropowych – wywołuje jedynie nieznaczny spadek czułości na zmiany RI.¹²¹ Dominującym parametrem, który wpływa na czułość po unieruchomieniu nanostruktur jest obszar kontaktu między nanostrukturą a podłożem. Im większa powierzchnia kontaktu nanostruktury z podłożem, tym większy spadek czułości na zmiany RI.¹¹⁹

Nanostruktury mogą być użyte bezpośrednio po syntezie lub po modyfikacji ich powierzchni. Każda modyfikacja powierzchni nanostruktur (Rys. 26) wpływa na zmianę współczynnika załamania światła wokół nanostruktury i może prowadzić do zmiany położenia maksimum pasma rezonansowego. Dynamiczny postęp w metodach syntezy nanostruktur i ich funkcjonalizacji przyczynia się do projektowania nowych lub ulepszania już istniejących czujników optycznych opartych o zjawisko LSPR.



Rys. 26 Zasada działania czujników optycznych wykorzystujących zmodyfikowane nanocząstki złota.¹²²

Przykładem zastosowania czujników optycznych wykorzystujących czułość nanostruktur na zmiany RI może być oznaczanie szkodliwych substancji w próbkach wodnych.¹²³⁻¹²⁷

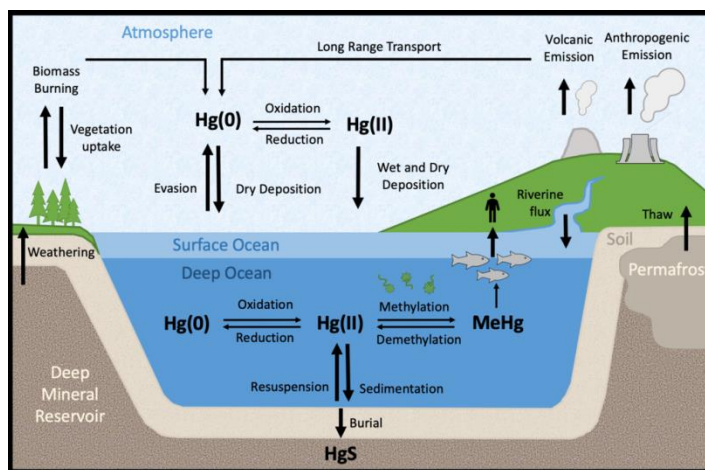
3.1.1 Nanostruktury złota i srebra jako czujniki do wykrywania jonów rtęci(II) w wodzie

Rtęć zaliczana jest do najbardziej toksycznych metali ciężkich. Pierwiastek ten wykazuje wysoką lotność oraz łatwo ulega przemianom fizycznym i chemicznym. W zależności od warunków środowiska, rtęć może przyjmować różne formy. W wodzie rtęć może występować w trzech formach: jako rtęć pierwiastkowa (Hg^0), w formie jonowej (Hg^{1+} , Hg^{2+}) lub w postaci kompleksów rtęci (głównie jako metylortęć, dimetylortęć lub fenylortęć).¹²⁸

Zanieczyszczenie wód związkami rtęci jest głównie spowodowane intensywną działalnością gospodarczą człowieka. Rtęć stosuje się w wielu gałęziach przemysłu, co przyczynia się do jej emisji i gromadzenia w środowisku wodnym (Rys. 27).¹²⁹ Uwalniana w procesach przemysłowych – rtęć utleniona lub pierwiastkowa – może przedostawać się do pobliskich wód powierzchniowych.

Obecność jakiegokolwiek formy rtęci, może prowadzić do przemiany w inną formę. Rtęć pierwiastkowa może być metabolizowana przez bakterie i algi do formy jonowej, co może być szkodliwe dla organizmów wodnych. Jedną z głównych dróg narażenia na kontakt z rtęcią utlenioną jest konsumpcja ryb i owoców morza przez inne organizmy.

Bioakumulacja rtęci w środowisku i łańcuchu pokarmowym sprawia, że najwyższy poziom stężenia rtęci pojawia się w górnym odcinku łańcucha pokarmowego, w którym ostatecznym konsumentem są większe zwierzęta oraz człowiek.¹³⁰



Rys. 27 Obieg rtęci w przyrodzie.¹²⁹

Szkodliwe działanie rtęci na organizmy wodne i człowieka powoduje, że poszukuje się tanich i łatwych metod wykrywania niskiego stężenia tego pierwiastka. Ustalone przez WHO¹³¹ dopuszczalne stężenie rtęci w wodzie pitnej wynosi 10^{-9} M. Jak dotąd opracowano wiele technik umożliwiających pomiar stężenia Hg w próbkach wodnych, których większość oparta jest na metodach instrumentalnych.¹³² Należą do nich m.in.: atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukowanej (ICP-AES), atomowa spektrometria emisyjna z plazmą indukowaną mikrofalowo (MIP-AES), atomowa spektrometria emisyjna (AES), spektrometria mas sprzężona z plazmą wzbudzaną indukcyjnie (ICP-MS), spektrometria mas rozcieńczenia izotopowego sprzężona z plazmą wzbudzaną indukcyjnie (ID ICP-MS), atomowa spektrometria absorpcyjna (AFS), atomowa spektrometria absorpcyjna w piecu kwarcowym (QF AAS) i atomowa spektrometria absorpcyjna w piecu grafitowym (GF AAS).¹³² Metody te wymagają stosowania skomplikowanej aparatury, a prowadzone analizy są kosztowne i czasochłonne.

Do monitorowania stężenia jonów rtęci w środowisku wodnym stosuje się również techniki bazujące na czujnikach biologicznych lub chemicznych.¹³³ Czujniki chemiczne oparte o nanostruktury metaliczne mogą służyć do wykrywania różnych form Hg w środowisku wodnym oraz umożliwiają wykrywanie niskich stężeń jonów rtęci. Duży potencjał do selektywnej i szybkiej detekcji rtęci, szczególnie jonów Hg^{2+} , mają nanostruktury złota i srebra.¹²³⁻¹²⁷

Większość z tych badań wykorzystuje wyjątkową zdolność rtęci do tworzenia amalgamatów ze złotem lub srebrem. Proces amalgamacji rtęci z nanostrukturami złota lub srebra wpływa na LSPR zmieniając właściwości optyczne nanostruktur. Pomiary LSPR należą do szybkich, prostych, mało kosztownych metod i nadają się do monitorowania stężenia jonów rtęci w próbkach wodnych.

3.2 Czujniki elektrochemiczne

Czujniki elektrochemiczne przetwarzają efekt oddziaływania pomiędzy analitem a receptorem lub reakcję zachodzącą na elektrodzie na sygnał elektryczny. Biorąc pod uwagę rodzaj oddziaływania, wśród czujników elektrochemicznych wyróżniamy:

- czujniki konduktometryczne (zasada działania opiera się na zmianach przewodnictwa elektrycznego roztworów wodnych lub zmianach przewodnictwa związanych z przeniesieniem elektronu pomiędzy zaadsorbowanym analitem a powierzchnią elektrody);
- czujniki potencjometryczne (działają w oparciu o pomiar napięcia ogniwa, w którym elektroda wskaźnikowa pokryta jest warstwą receptorową, a jej potencjał jest funkcją aktywności analitu);
- czujniki woltamperometryczne (ich działanie polega na pomiarze prądu związanego z redukcją lub utlenianiem analitu);
- czujniki pojemnościowe (adsorpcja analitu na kondensatorze pokrytym warstwą dielektryka, np. polimerem, powoduje zmianę stałej dielektrycznej, a tym samym pojemności kondensatora).¹³⁴

Typowe czujniki elektrochemiczne zawierają elektrodę pracującą (elektrodę czujnikową – jako element przetwornikowy), elektrodę pomocniczą i elektrodę odniesienia.

W projektowaniu czujników elektrochemicznych istotny jest wybór uniwersalnego materiału elektrodowego charakteryzującego się szerokim zakresem potencjałów (w którym na elektrodzie pracującej w elektrolicie podstawowym nie przebiegają żadne inne reakcje), wysokim przewodnictwem elektrycznym i odpornością mechaniczną.

Elektroda pracująca powinna dawać jak najwyższą wartość stosunku sygnału do szumu. W trakcie analizy elektrochemicznej zdarza się, że powierzchnia elektrody czujnikowej zmienia się. Konieczna jest wtedy regeneracja elektrody, by uzyskać odtwarzalne warunków danego procesu.

Istotną cechą czujników elektrochemicznych jest możliwość selektywnego oznaczania wybranego analitu oraz jednoczesnej rejestracji sygnałów pochodzących od kilku substancji elektroaktywnych. Jednakże, gdy kilka badanych substancji elektroaktywnych ma zbliżone potencjały pików i ich sygnały częściowo lub całkowicie nakładają się, rozróżnienie substancji elektroaktywnych może stanowić problem. Słabo rozdzielone sygnały powodują, że ilościowa, a często nawet jakościowa analiza jest niemożliwa do przeprowadzenia. Najbardziej powszechnym rozwiązaniem poprawy rozdzielania pików jest modyfikacja powierzchni elektrody.

Jak opisano wyżej, modyfikacja powierzchni elektrod polega na unieruchomieniu warstwy modyfikującej na powierzchni elektrody pracującej. Takie działanie ma na celu ulepszenie właściwości niemodyfikowanych elektrod poprzez zmianę właściwości elektrochemicznych lub strukturalnych elektrody, np. rozwinięcie elektroaktywnej powierzchni elektrody. Sfunkcjonalizowana powierzchnia elektrody powinna charakteryzować się większą czułością i selektywnością w porównaniu do niezmienionej powierzchni elektrody.

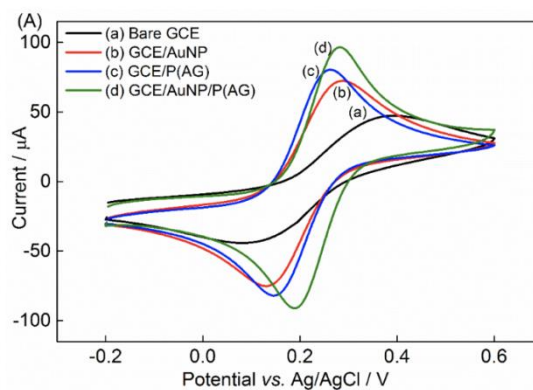
Znanych jest wiele metod zarówno chemicznych, jak i fizycznych do modyfikacji powierzchni elektrod z wykorzystaniem nanomateriałów (omówiono w rozdziale 2.2.2). Do modyfikacji elektrod często stosuje się m.in. nanostruktury metali i tlenków metali, nanomateriały węglowe lub polimerowe.¹³⁵

Kontrola nad rozmiarem i kształtem nanostruktur w trakcie syntezy oraz uporządkowane rozmieszczenie nanostruktur na powierzchni elektrody dają możliwość projektowania czułych i selektywnych czujników elektrochemicznych. Warstwa modyfikująca powierzchnię elektrody często poprawia szybkości przeniesienia elektronów pomiędzy elektrodą a analitem. Modyfikacja elektrod ma na celu również wykluczenie reakcji pobocznych, które mogą konkurować z badanym procesem elektrodowym.

Właściwości elektrochemiczne elektrod modyfikowanych nanostrukturami w znacznym stopniu zależą od właściwości powierzchniowych nanostruktur.

Do scharakteryzowania elektrod modyfikowanych nanostrukturami stosuje się substancje elektroaktywne, które ulegają odwracalnym procesom elektrodowym (tzw. próbniiki redoks) np. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ lub Fc^0/Fc^+ .

Porównanie krzywych voltaperometrycznych próbniika redoks na elektrodach niemodyfikowanych i modyfikowanych nanostrukturami, daje odpowiedź, jak zmienia się kinetyka przeniesienia elektronów przed i po modyfikacji powierzchni elektrody, czy wzrosła powierzchnia elektroaktywna elektrody, czy nastąpiło lepsze rozdzielenie potencjałów pików oraz czy modyfikacja powierzchni elektrody zwiększa jej przydatność do elektroanalizy. Przykładowo, porównując krzywe voltamperometryczne próbniika redoks (Rys. 28)¹³⁶ na elektrodzie z węgla szklanego (GCE) i elektrodach modyfikowanych nanocząstkami GCE/AuNPs i poli(argininą) GCE/P(AG) można wyciągnąć wniosek, że po modyfikacji następuje wzrost pików prądu katodowego i anodowego oraz zmniejszenie różnicy potencjału pików redoks. Dalsza modyfikacja elektrody (GCE/AuNPs/P(AG)) jeszcze bardziej przyspiesza przenoszenie elektronów pomiędzy powierzchnią elektrody a próbniikiem redoks w roztworze. Dzięki nowym właściwościom elektrochemicznym, modyfikowane elektrody można stosować w elektroanalizie jako czujniki elektrochemiczne.



Rys. 28 Krzywe voltamperometryczne niemodyfikowanej elektrody GCE (czarna linia) i GCE/AuNPs (czerwona linia), GCE/P(AG) (niebieska linia), GCE/AuNPs/P(AG) (zielona linia) zarejestrowane w 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ w 0,1 M KCl. Szybkość skanowania wynosiła 50mV/s.¹³⁶

Czujniki elektrochemiczne mogą być stosowane w analizie chemicznej do monitorowania środowiska wodnego np. parametrów wody tj. przewodność elektryczna, ilość rozpuszczonego tlenu lub pH, pomiaru śladowych ilości metali ciężkich i związków rakotwórczych oraz zanieczyszczeń organicznych (związki N-nitrozowe, aromatyczne aminy i fenole).¹³⁵

Do badania jakości wody najczęściej wykorzystywane są czujniki elektrochemiczne modyfikowane nanostrukturami metalicznymi z unieruchomionymi enzymami.²⁵ Głównym ograniczeniem takich systemów jest skuteczne unieruchomienie lub chemiczne przyłączenie enzymów do powierzchni elektrody.

Zaletą czujników elektrochemicznych zawierających zarówno enzymy, jak i nanomateriały jest połączenie właściwości katalitycznych enzymów z właściwościami nanostruktur. W czujnikach enzymatycznych wykorzystujących nanostruktury kluczowa jest ich ilość na powierzchni elektrody. Umieszczone na powierzchni elektrody nanostruktury zwiększają możliwość adsorpcji enzymów oraz bardzo często umożliwiają bezpośrednie przenoszenie elektronów między miejscem aktywnym enzymów a elektrodą. Najlepszą biokompatybilność z enzymami wykazują nanocząstki złota, srebra i platyny oraz nanostruktury węglowe.¹³⁷ Takie czujniki są często wykorzystywane do oznaczania zanieczyszczeń wodnych.^{138,139}

Zdolność do wykrywania analitów w elektrochemicznych czujnikach nieenzymatycznych jest związana z właściwościami nanostruktur na powierzchni elektrody. Nanostruktury mogą rozwijać ich powierzchnię elektroaktywną prowadząc do otrzymania czujników elektrochemicznych o niższych granicach wykrywalności (LOD). Czujniki elektrochemiczne wykorzystujące nanostruktury powinny również zwiększać czułość względem oznaczanych analitów i charakteryzować się dobrym przewodnictwem elektrycznym. Unikalne właściwości nanostruktur można wykorzystać do projektowania i wytwarzania nowych podłoży elektrochemicznych. Sprawia to, że mogą być one stosowane do wykrywania i oznaczania zanieczyszczeń występujących w wodach powierzchniowych ze względu na to, że wymagają małej objętości analizowanej próbki i mogą z dużą czułością wykrywać np. toksyny, metale ciężkie, zanieczyszczenia nieorganiczne i organiczne. Jednym z przykładów oznaczania szkodliwych zanieczyszczeń z użyciem czujników elektrochemicznych opartych na nanostrukturach metalicznych może być wykrywanie jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV) w próbkach wodnych.¹⁴⁰⁻¹⁴³

3.2.1 Modyfikowane elektrody jako czujniki do oznaczania jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV)

Nadmiar jonów azotanowych(III) w wodach jest wynikiem stosowania nawozów azotowych (np. nawozów sztucznych na bazie amoniaku) do produkcji żywności. Intensywna gospodarka prowadzi do gromadzenia się azotanów w glebie, ściekach oraz wodach powierzchniowych. Ubocznym produktem procesu nitryfikacji, utlenianiu amoniaku i soli amonowych do jonów azotanowych(V), są jony azotanowe(III), które są szkodliwe dla zdrowia człowieka.

Wraz ze wzrostem stężenia jonów azotanowych(III) i azotanowych(V) jakość wód powierzchniowych ulega pogorszeniu i może prowadzić m. in. do zatrucia ryb oraz eutrofizacji jezior.¹⁴⁴ Równie niebezpieczne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego stanowi grupa nitrozoamin. Są to pochodne jonów azotanowych(V) i azotanowych(III), powstające przede wszystkim w procesie podgrzewania zanieczyszczonej wody lub żywności.¹⁴⁵ Z tych powodów, oznaczanie azotanów ma duże znaczenie dla ochrony środowiska wodnego oraz zdrowia człowieka.^{146,147}

Jony siarczanowe(VI) i siarczanowe(IV), podobnie jak jony azotanowe(V) i azotanowe(III), mogą naturalnie występować w wodach powierzchniowych. Są one używane jako konserwant produktów spożywczych chroniąc je przed zmianą koloru, ale w dużych stężeniach są szkodliwe. Ponadto, obecność nadmiaru jonów siarczanowych w wodach sprzyja korozji siarczanowej np. betonu i stali.

Wody powierzchniowe są zwykle zanieczyszczone dlatego, że odprowadzane do nich ścieki (przemysłowe i komunalne) nie zawsze są dostatecznie oczyszczone. Ścieki przemysłowe często zawierają substancje nie ulegające biodegradacji w zbiornikach naturalnych (pestycydy) lub substancje toksyczne (np. sole ołowiu, rtęci, arsenu). Rodzaj i ilość zanieczyszczeń wprowadzanych do wód powierzchniowych decyduje nie tylko o ich jakości, ale również o stanie związanych z nimi ekosystemów. Kontrola jakości wody i zapobieganie jej zanieczyszczeniom oraz podejmowanie działań na rzecz poprawy stanu wód powierzchniowych, stanowią ważny aspekt ochrony środowiska.

W ostatnich latach opracowano wiele technik wykrywania jonów azotanowych(III) i siarczanowych(IV), takich jak chromatografia jonowa, chromatografia gazowa, spektrometria mas, fluorymetria, chemiluminescencja, elektroforeza kapilarna i analiza

przepływową.¹⁴⁶ Jedną z metod analizy próbek wodnych zawierających jony azotanowe(III) i siarczanowe(IV) jest elektroanaliza.

Technika ta daje szybką odpowiedź, jest prosta w użyciu oraz umożliwia jednoczesne wykrywanie kilku analitów w jednej próbce. Bezpośrednie wykrywanie zanieczyszczeń w próbkach wodnych stanowi coraz większy obszar elektroanalizy.¹⁴⁶

Wykrywanie jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV) w próbkach wodnych może zachodzić na podstawie elektrochemicznej redukcji^{142,143} lub utleniania^{140,141} jonów azotanowych(III) lub siarczanowych(IV).

Zazwyczaj stosuje się elektroutlenianie, by uniknąć redukcji tlenu cząsteczkowego na powierzchni elektrody.¹⁴³ Jak wynika z badań, jony azotanowe(III) i siarczanowe(IV) mogą się utleniać na niemodyfikowanych elektrodach platynowych, złotych lub z węgla szklanego.¹⁴⁸ Potencjały bezpośredniego elektroutleniania tych jonów na niemodyfikowanych elektrodach występują przy wysokich potencjałach i są położone blisko siebie, co uniemożliwia ich czułą i selektywną elektroanalizę.¹⁴⁹ Rozwiązaniem dla wymienionych problemów jest modyfikacja powierzchni elektrody innymi związkami chemicznymi lub nanostrukturami metalicznymi. Przykładowo, stosując technikę wzrostu zarodków (ang. *seed-mediated growth*) nanocząstek złota, Cui *et al.* unieruchomili małe nanocząstki Au (~4 nm) na elektrodzie z węgla szklanego. Umożliwiło to oznaczanie jonów azotanowych(III) w rzeczywistej próbce ścieków.¹⁵⁰ Gu *et al.*, unieruchomili nanocząstki złota na elektrodzie z węgla szklanego zmodyfikowanej monowarstwą etylenodiaminy.¹⁴⁶ Norouzi *et al.* przedstawili elektroutlenianie jonów siarczanowych(IV) przy użyciu modyfikowanej pastowej elektrody węglowej.¹⁵¹ Velez *et al.* zastosowali elektropolimeryzację do modyfikacji powierzchni elektrody GCE. Zmodyfikowaną elektrodę wykorzystali jako element czujnika amperometrycznego do oznaczania jonów siarczanowych(IV) w roztworach wodnych.¹⁵²

Modyfikacja elektrod w elektroanalizie ma także na celu wzrost czułości i poprawę selektywności czujnika elektrochemicznego do wykrywania jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV) w jednej próbce lub w obecności innych analitów. Elektrody modyfikowane nanostrukturami metalicznymi pozwalają na jednoczesne oznaczanie dwóch lub więcej analitów w jednej próbce.¹⁵³ Xue *et al.* opracowali czujnik elektrochemiczny do jednoczesnego oznaczania jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV) modyfikując elektrodę z węgla szklanego grafenem-chitozanem i nanocząstkami złota.¹⁵³

Kaladevi *et al.* zmodyfikowali powierzchnię elektrody GCE nanocząstkami srebra, tlenku grafenu i nanokompozytowego polimeru przewodzącego.¹⁵⁴

Modyfikacja elektrody pozwoliła na elektrochemiczne utlenianie jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV) oraz separację pików badanych jonów. Li *et al.* zastosowali grafen z domieszką potasu, jako nowy materiał elektrodowy, do modyfikacji elektrody GCE do jednoczesnego oznaczania jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV).¹⁴⁹ Zmodyfikowana elektroda wykazała wysoką czułość i selektywność względem oznaczanych jonów.

Cel pracy

Głównym celem mojej pracy było: zmodyfikowanie stałych podłoży za pomocą nanostruktur złota w reakcji CuAAC z generowanym chemicznie lub elektrochemicznie katalizatorem do oznaczania jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV) oraz zastosowanie anizotropowych nanostruktur złota i srebra do oznaczania jonów Hg^{2+} w próbkach wody. Bardziej szczegółowymi celami mojej pracy były:

- 1) synteza anizotropowych nanostruktur złota i srebra i ich charakterystyka
- 2) zastosowanie anizotropowych nanostruktur złota i srebra do oznaczania jonów Hg^{2+} z niskim limitem detekcji w próbkach wodnych
- 3) modyfikowanie powierzchni nanostruktur złota w reakcji wymiany ligandu
- 4) opracowanie warunków reakcji CuAAC z użyciem katalizatora – jonów Cu^+ , generowanych chemicznie lub elektrochemicznie
- 5) modyfikowanie stałych powierzchni przewodzących i nieprzewodzących nanostrukturami złota w reakcji CuAAC
- 6) zastosowanie modyfikowanych stałych powierzchni do oznaczania jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV)

Część badawcza

4. Stosowane metody instrumentalne

W badaniach wykorzystano następujące techniki:

a) metody elektrochemiczne

- o woltamperometria cykliczna (CV) wykorzystana została do modyfikacji elektrod z węgla szklanego grupami azydkowymi

Woltamperometria cykliczna to technika, w której do elektrody pracującej przykładana się liniowo zmienny potencjał zaczynając od potencjału E_1 , przy którym nie przebiega reakcja elektrodowa, do potencjału E_2 . W efekcie otrzymuje się zależność mierzonego prądu od przyłożonego potencjału odpowiadającą reakcji utleniania-redukcji badanego procesu. Dla substancji elektroaktywnej, dla której procesy elektrodowe zachodzą w sposób odwracalny, w trakcie pomiaru na woltamperogramie rejestrowane są piki katodowe charakterystyczne dla procesów redukcji oraz piki anodowe charakterystyczne dla procesów utleniania.¹⁵⁵

- o chronoamperometria w warunkach hydrodynamicznych wykorzystana została do badań stabilności elektrod z węgla szklanego modyfikowanych nanocząstkami złota oraz do oznaczania jonów azotanowych(III) względem jonów siarczanowych(IV)

Chronoamperometria w warunkach hydrodynamicznych to technika, w której, potencjał elektrody pracującej początkowo utrzymywany przez potencjostat na stałej wartości E_1 , przy której nie przebiega reakcja elektrodowa, zmieniany jest skokowo do wartości E_2 zapewniającej przebieg reakcji elektrodowej. W czasie trwania pomiaru (przy potencjale E_2) rejestrowana jest odpowiedź prądowa układu w funkcji czasu: $I = f(t)$. W trakcie pomiaru roztwór substancji elektroaktywnej powinien pozostawać w spoczynku, aby substraty reakcji elektrodowej były doprowadzane do powierzchni elektrody jedynie na drodze dyfuzji, a nie konwekcji.¹⁵⁵

b) metody spektroskopowe:

- o spektrofotometria UV-vis wykorzystana została do badań położenia pasm LSPR otrzymanych nanostruktur oraz zmian położenia tych pasm przed i po modyfikacji powierzchni nanostruktur

Spektrofotometria UV-vis to technika, w której mierzy się absorpcję lub transmisję promieniowania światła widzialnego lub nadfioletowego po przejściu przez próbkę. W czasie pomiaru, porównuje się intensywność zabarwienia dwóch roztworów, z czego jeden jest roztworem odniesienia, a drugi roztworem badanym. Efektem spektrometrii UV-vis jest widmo, czyli obraz przedstawiający zdolność pochłaniania promieniowania (absorpcji) w funkcji długości fali (λ).

- o odbiciowo-absorpcyjna spektroskopia w podczerwieni z modulacją polaryzacji (PM-IRRAS) wykorzystana była do badań stopnia modyfikacji powierzchni modyfikowanych elektrod

Odbiciowo-absorpcyjna spektroskopia w podczerwieni polega na pomiarze promieniowania odbitego od badanej próbki znajdującej się na drodze wiązki. Badana próbka musi absorbować promieniowanie o odpowiedniej długości fali z zakresu promieniowania podczerwonego, aby doszło do zmian energii oscylacyjnej i/lub rotacyjnej, a w efekcie drgań normalnych. Podczas takiego drgania ma miejsce zmiana długości wiązań i kątów między wiązaniami. Technika ta pozwala na analizę rodzaju grup funkcyjnych obecnych w analizowanej próbce.¹⁵⁶

c) metody mikroskopowe:

- o skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) wykorzystana została do obrazowania nanostruktur oraz powierzchni podłoży stałych

Skaningowa mikroskopia elektronowa to technika obrazowania. W dziale elektronowym wytwarzana jest wiązka elektronów, która za pomocą elektromagnesów jest ogniskowana na badanej próbce. Elektrony padające na powierzchnię próbki są częściowo rozpraszane, częściowo wnikają w próbkę powodując emisję elektronów wtórnych, światła widzialnego oraz promieni rentgenowskich.

Detektory przetwarzają powstający sygnał elektronów na sygnał cyfrowy, który następnie zamieniany jest na obraz. Powstające obrazy dostarczają informacji na temat budowy, wielkości i struktury próbki.¹⁵⁷

- transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM) wykorzystana została do obrazowania nanostruktur wykorzystywanych w pracy jako elementy czujników do oznaczania rtęci

Transmisyjna mikroskopia elektronowa to technika, która podobnie jak SEM, służy do obrazowania próbki. Do otrzymania obrazu wykorzystuje się wiązkę elektronów, która jest częściowo przepuszczana przez badaną próbkę, a następnie zbierana na ekranie fluorescencyjnym. Ponieważ wiązka musi przeniknąć przez próbkę, badana próbka musi być wystarczająco cienka.¹⁵⁸

- skaningowa transmisyjna mikroskopia elektronowa w jasnym polu (STEM-BF) wykorzystana została do obrazowania powierzchni nanokostek złota i srebra

Skaningowa transmisyjna mikroskopia elektronowa w jasnym polu umożliwia wykorzystanie kontrastu dyfrakcyjnego. Jest to tzw. obrazowanie w jasnym polu i jest przeprowadzane przy pomocy osiowo położonego detektora, który zbiera elektrony rozproszone pod małymi kątami.¹⁵⁹

- spektroskopia dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDX) wykorzystana została do pomiaru składu pierwiastkowego badanych nanostruktur

Spektroskopia dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego polega na oddziaływaniu wiązki promieniowania rentgenowskiego z badaną próbką. Technika ta pozwala na identyfikację pierwiastków obecnych w badanej próbce. Każdy pierwiastek posiada unikalną strukturę atomową (energię poziomów elektronowych), dlatego promieniowanie emitowane tworzy charakterystyczny zestaw pików w widmie emisji elektromagnetycznej.¹⁶⁰

5. Odczynniki i materiały

Stosowano odczynniki z firmy Sigma-Aldrich: chlorowodorek 4-azidoaniliny, askorbinian sodu, chlorek rtęci(II), poli(winylopirolidon) ($M_w \sim 55000$), siarczan(VI) miedzi(II), fosforan monopotasowy, fosforan dipotasu, chlorek potasu.

Stosowano odczynniki z firmy Prochimia: 11-azydoundecyl-1-trimetoksylsilan, 10-undekin-1-tiol,

Stosowano odczynniki z firmy Chempur: kwas chlorowodorowy, kwas azotowy(V), siarczan(IV) sodu, etanol, izopropanol.

Stosowano odczynniki z firmy ABCR: kwas tetrachlorozłotowy(III).

Stosowano odczynniki z firmy POCh: azotan srebra, azotan(III) sodu, cytrynian trisodowy dwuwodny.

Stosowano odczynniki z firmy Riedel-deHaën: kwas askorbinowy.

Wszystkie powyższe odczynniki były używane bez dodatkowego oczyszczania.

Stosowano materiały z firmy Delta Technologies: szkło pokryte ITO (oporność 8–12 Ω /kwadrat). Powierzchnię ITO ograniczano za pomocą taśmy klejącej z otworem o średnicy, $d = 5$ mm, taśma miedziana zapewniała kontakt elektryczny.

Stosowano materiały z firmy Mennica Polska: drut platynowy ($d = 0.5$ mm).

Stosowano materiały z firmy nLab: dyskowa elektroda z węgla szklanego (GCE) ($d = 2$ mm), elektroda chlorosrebrowa $\text{Ag}|\text{AgCl}|3 \text{ M KCl}$.

W eksperymentach była używana woda filtrowana z systemu ELIX (Millipore).

6. Aparatura

Płuczka ultradźwiękowa: EMAG Emmi-12 HC

Potencjostat: Autolab PGSTAT30 (Eco Chemie)

Spektrofotometr UV-Vis: Thermo Evolution 300

Spektrometr FTIR: Thermo Nicolet 8700 z detektorem MCT-A (chłodzonym ciekłym azotem), modulatorem fotoelastycznym PEM (PM-90 with II/Zs50 ZnSe 50 kHz optical head, Hinds Instrument) i demodulatorem synchronicznego próbkowania SSD (GWC Instruments).

Skaningowy mikroskop elektronowy: FEI Nova NanoSEM 450, Zeiss Supra Field Emission microscope

Wysokorozdzielczy skaningowy transmisyjny mikroskop elektronowy:
HITACHI HD2700

Programy: GPES (do pomiarów elektrochemicznych), Origin (do obróbki danych),
ImageJ 1.52a¹⁶¹ (do analizy zdjęć SEM)

Ze względu na różnorodność wykonywanych eksperymentów, wszystkie procedury opisujące syntezy nanostruktur, modyfikację powierzchni nanostruktur i powierzchni stałych umieszczono w podrozdziałach tematycznych.

7. Click chemistry – cykloaddycja CuAAC

W poniższym rozdziale przedstawiono badania będące tematem niniejszej rozprawy: syntezę i modyfikację powierzchni nanostruktur złota, opracowanie metody chemicznej i elektrochemicznej redukcji jonów miedzi(II) oraz wprowadzenie zmodyfikowanych nanocząstek złota na powierzchnię modyfikowanych elektrod za pomocą reakcji CuAAC. Efektem tych prac jest czujnik elektrochemiczny do oznaczania jonów azotanowych(III) w obecności jonów siarczanowych(IV) w roztworach wodnych.

Opracowaną metodę modyfikacji powierzchni z użyciem CuAAC, z powodzeniem wykorzystano również do modyfikacji transparentnych podłoży przewodzących oraz nieprzewodzących. Efektem tych badań jest czujnik elektrochemiczny do oznaczania kwasu szczawiowego. Ponadto opracowano procedury przygotowania bardzo czułych na zmianę współczynnika załamania światła transparentnych podłoży szklanych i ITO modyfikowanych nanocząstkami metalicznymi, które potencjalnie mogą być podstatwą czujników optycznych.

7.1 Synteza i modyfikacja nanocząstek złota oraz ich właściwości optyczne

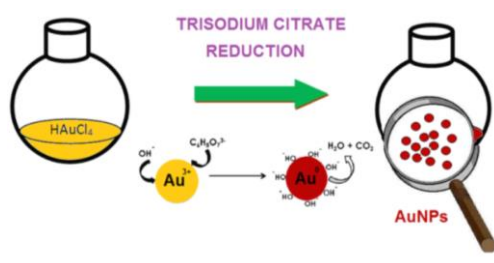
Do przygotowania czujników elektrochemicznych i optycznych zsyntezowano kuliste nanocząstki złota, które w kolejnym etapie zmodyfikowano grupami alkilowymi oraz zbadano ich właściwości fizykochemiczne.

Synteza AuNPs: Nanocząstki złota (AuNPs) zsyntezowano w wyniku redukcji HAuCl_4 za pomocą cytrynianu trisodowego wykorzystując nieznacznie zmienioną procedurę literaturową¹⁶². Wodny roztwór HAuCl_4 (300 ml, 0,5 mM) ogrzewano na mieszadle magnetycznym do wrzenia. Następnie dodano cytrynian trisodowy (30 ml, 38,8 mM) i mieszano przez kolejne 15 minut do zmiany zabarwienia roztworu na kolor czerwony. Zsyntezowane nanocząstki złota przechowywano w lodówce w temperaturze 4 °C.

Modyfikacja AuNPs: Nanocząstki złota stabilizowane cytrynianami zmodyfikowano 10-undekino-1-tiolem według nieznacznie zmienionej procedury literaturowej³⁵.

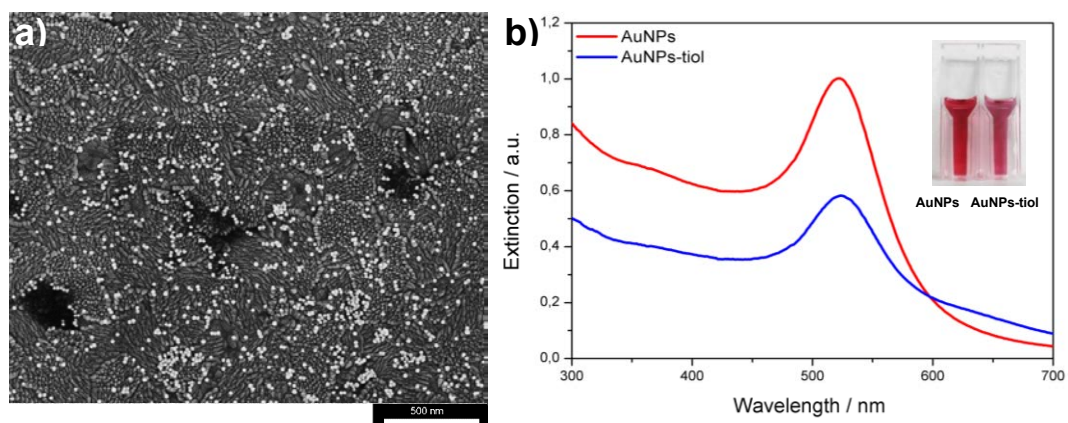
Do wodnej zawiesiny nanocząstek złota dodano etanolu w stosunku objętościowym 1:1. Następnie dodano 2,06 μl 0,052 M 10-undekino-1-tiolu rozpuszczonego w etanolu i mieszano przez 12 godzin. Stężenie undekano-1-tiolu w roztworze z AuNPs wynosiło 0,212 μM . Następnie zmodyfikowane AuNPs odwirowano (10000 rpm, $R = 12,5$ cm, 15 min), by pozbyć się nieprzereagowanych reagentów i ponownie zawieszono w wodzie.

Do otrzymania monodispersyjnych nanocząstek złota (AuNPs) użyto syntezy Turkievich'a.³⁵ Obecne w roztworze jony cytrynianowe działają zarówno jako środek redukujący oraz stabilizujący (Rys. 29). Jony cytrynianowe wykazują wysokie powinowactwo do powstających nowych zarodków złota.



Rys. 29 Schemat powstawania nanocząstek złota.

W wyniku reakcji otrzymano zawiesinę o czerwonym zabarwieniu, co wskazuje na otrzymanie nanocząstek złota. Potwierdzeniem tego jest widmo UV-vis AuNPs stabilizowanych cytrynianami (Rys. 30b, czerwona linia), które charakteryzuje jedno dobrze wykształcone pasmo absorpcji przy długości fali 522,2 nm, zgodne z doniesieniami literaturowymi. Średnicę otrzymanych nanocząstek złota wyznaczono przy pomocy programu ImageJ na podstawie analizy 3 zdjęć SEM (Rys. 30a). Zsyntezowane nanocząstki złota są monodispersyjne, a uzyskane nanocząstki złota mają średnicę 13 ± 1 nm.



Rys. 30 a) Obraz SEM AuNPs na ITO, b) widmo UV-vis AuNPs (kolor czerwony) i AuNPs modyfikowanych 10-undekino-1-tiolem (kolor niebieski).

Otrzymane AuNPs zmodyfikowano ligandem – undekano-1-tiolem. Po wymianie ligandów na powierzchni AuNPs, kolor wodnej zawiesiny AuNPs zmienił się z czerwonego na malinowy. Widmo UV-vis AuNPs stabilizowanych 10-undekino-1-tiolem (Rys. 30b, linia niebieska) charakteryzuje dobrze wykształcone pasmo absorpcji przy długości fali 523,9 nm. Obserwowany spadek ekstynkcji wynika z rozcieńczenia próbki. Po modyfikacji AuNPs undekano-1-tiolem, pasmo LSPR przesuwają się o 1,7 nm w stronę podczerwieni.

Przyczyną zmian w kolorze roztworu i widmach absorpcji AuNPs jest obecność nowego ligandu na powierzchni AuNPs. Zmodyfikowane AuNPs są częściowo stabilizowane jonami cytrynianowymi i 10-undekino-1-tiolami. Ze względu na wysoką energię wiązania, grupy tiolowe wypierają aniony cytrynianowe z powierzchni nanocząstek. Funkcjonalizacja AuNPs grupami tiolowymi zachodzi po dodaniu odpowiedniej ilości roztworu ligandu, co opisano poniżej.³⁵

Obliczono początkowe stężenie nanocząstek złota bazując na widmie UV-vis¹⁶³ i wyniosło ono $6,42 \times 10^{-5}$ M. Opierając się na obliczeniach geometrycznych dla pojedynczej nanocząstki, wyznaczono stężenie ligandu, by zapewnić teoretyczny 1% pokrycia powierzchni nanocząstki złota. Na tej podstawie oszacowano, że jedna nanocząstka powinna być pokryta około 30 grupami tiolowymi. Niska liczba grup -SH na powierzchni nanocząstek zapewnia im stabilizację i pożądaną reaktywność w dalszym etapie badań.³⁵ AuNPs pokryte 10-undekino-1-tiolami następnie będą brać udział w reakcji CuAAC.

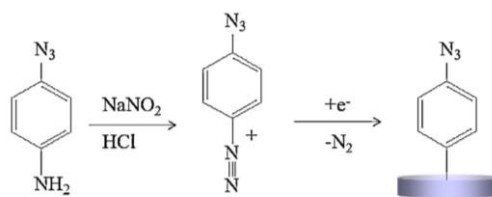
Powierzchnia złota ma wysokie powinowactwo do grup tiolowych. Gdy wyjściowe ligandy (w tym przypadku cytrynianowe) są wymieniane bezpośrednio na grupy tiolowe, często można zaobserwować zmianę zabarwienia zawiesiny AuNPs z czerwonego na niebieski oraz całkowitą agregację nanocząstek. W procesie jednoetapowej wymiany ligandów mniej naładowane tiole zastępują wysoko naładowane ligandy (cytryniany). Powoduje to obniżenie potencjału zeta i prowadzi do agregacji nanocząstek.¹⁶⁴ Problemu tego można uniknąć stosując niskie stężenia dodawanych ligandów, wymianę dwuetapową lub wymianę ligandów w ekstrakcji rozpuszczalnikiem, w której koloidalnie stabilny związek pośredni wspomaga wymianę drugiego ligandu przez przeniesienie do rozpuszczalnika o innej polarności.¹⁶⁵ W badanym przypadku zastosowano niskie stężenie grup tiolowych na powierzchni nanocząstek. Dobór odpowiedniego stężenia ligandu pozwolił na stabilizację AuNPs w dalszych badaniach 'click chemistry'.

7.2 Elektrody z węgla szklanego modyfikowane grupami azydkowymi

Do przeprowadzenia reakcji CuAAC między AuNPs modyfikowanymi alkinami, a elektrodą GCE, konieczna jest modyfikacja elektrody i wprowadzenie grup azydkowych na jej powierzchnię.

Przygotowanie elektrod: Elektrody z węgla szklanego (GCE) wypolerowano za pomocą 1, 0,3 i 0,05 μm tlenku glinu oraz wody na tkaninie polerskiej. Następnie czyszczono przez 15 minut w płuczce ultradźwiękowej w etanolu, potem w wodzie i suszono strumieniem argonu.

Modyfikacja elektrod: Wypolerowane elektrody były elektrochemicznie funkcjonalizowane grupami azydkowymi w trakcie elektrochemicznej redukcji kationów diazoniowych według procedury literaturowej¹⁶⁶. 1 mg NaNO_2 dodano do roztworu 0,5 M HCl i 3 mM chlorowodoru 4-azydoaniliny. Mieszaninę zostawiono na 40 minut na łaźni lodowej w ciemnym miejscu, by wytworzyć roztwór soli diazoniowej (Rys. 31).

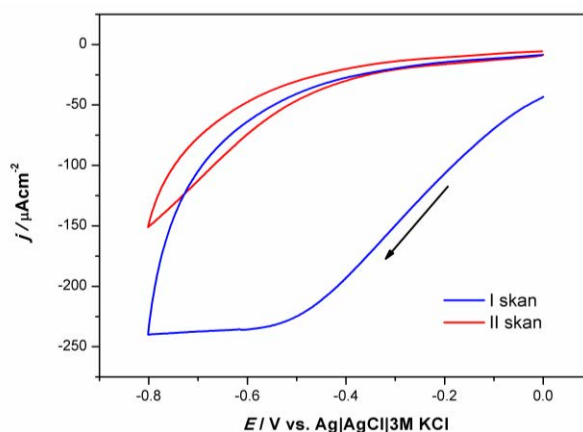


Rys. 31 Schemat generowania kationu diazoniowego oraz jego elektrochemiczna redukcja.

Do otrzymania modyfikowanych elektrod GCE azydami wykorzystano elektrochemiczną redukcję kationu diazoniowego. Do eksperymentu zastosowano układ trójelektrodowy: GCE – elektroda pracująca, drut platynowy – elektroda pomocnicza (przeciwelektroda), elektroda chlorosrebrowa (Ag|AgCl|3 M KCl) – elektroda odniesienia (referencyjna). Wypolerowaną elektrodę GCE zanurzano w przygotowanym roztworze soli diazoniowej.

Stosując woltamperometrię cykliczną zredukowano kation diazoniowy i wszczepiono (ang. *electrografting*) grupy 4-azydobenzylowe do powierzchni GCE z utworzeniem wiązania C-C (2 cykle, 0 V do -0,8 V vs. Ag|AgCl|3 M KCl, $\nu = 100$ mV/s).¹⁶⁶ Elektrode przemyto wodą, by usunąć niezwiązane molekuly i suszono w strumieniu argonu.

Na Rys. 32 przedstawiono elektrochemiczną redukcję generowanych kationów diazoniowych za pomocą woltamperometrii cyklicznej.



Rys. 32 Woltamperogram cykliczny zarejestrowany na GCE przedstawia redukcję kationu diazoniowego i wszczepianie grup 4-azydobenzylowych (skan 1 i 2).

Powierzchnia elektrody 3.14 mm², $\nu = 100$ mV/s.

Szeroki nieodwracalny pik redukcji przy ok. -0,5 V vs. Ag|AgCl|3 M KCl (niebieska linia) odpowiada redukcji kationu diazoniowego. Pik redukcji zanika pomiędzy pierwszym i drugim cyklem (linia czerwona), co odpowiada tworzeniu się warstwy 4-azydobenzenowej za pomocą wiązania C-C.¹⁶⁶ Warstwa 4-azydobenzenu na powierzchni elektrody GCE ogranicza dalszą elektroredukcję kationu diazoniowego, hamuje przenoszenie elektronu z powierzchni elektrody do kationu diazoniowego aminobenzenu w roztworze.

Wszczepianie (ang. *electrografting*) docelowych grup funkcyjnych, umożliwiło otrzymanie trwałej i stabilnej zmodyfikowanej elektrody GCE-N3. Modyfikacja GCE grupami azydkowymi pozwala na ich dalsze wykorzystanie do reakcji CuAAC.

7.3 Cykloaddycja azydek-alkin katalizowana jonami miedzi(I) (CuAAC)

Reakcję CuAAC użyto do połączenia wiązaniem kowalencyjnym wcześniej przygotowanych: nanocząstek złota modyfikowanych alkinami (AuNPs-C≡C) z elektrodą z węgla szklanego modyfikowanej azydkami (GCE-N3).

Jak opisano w części literaturowej (Rozdz. 2.4), do utworzenia wiązania kowalencyjnego między łączonymi elementami, konieczne jest wytworzenie katalizatora reakcji, czyli jonów miedzi(I). Opracowano dwie metody wytwarzania katalizatora badanej reakcji – chemiczną i elektrochemiczną redukcję jonów miedzi(II). Oba wymienione sposoby wytwarzania katalizatora z powodzeniem posłużyły do otrzymania zmodyfikowanych nanocząstkami elektrod.

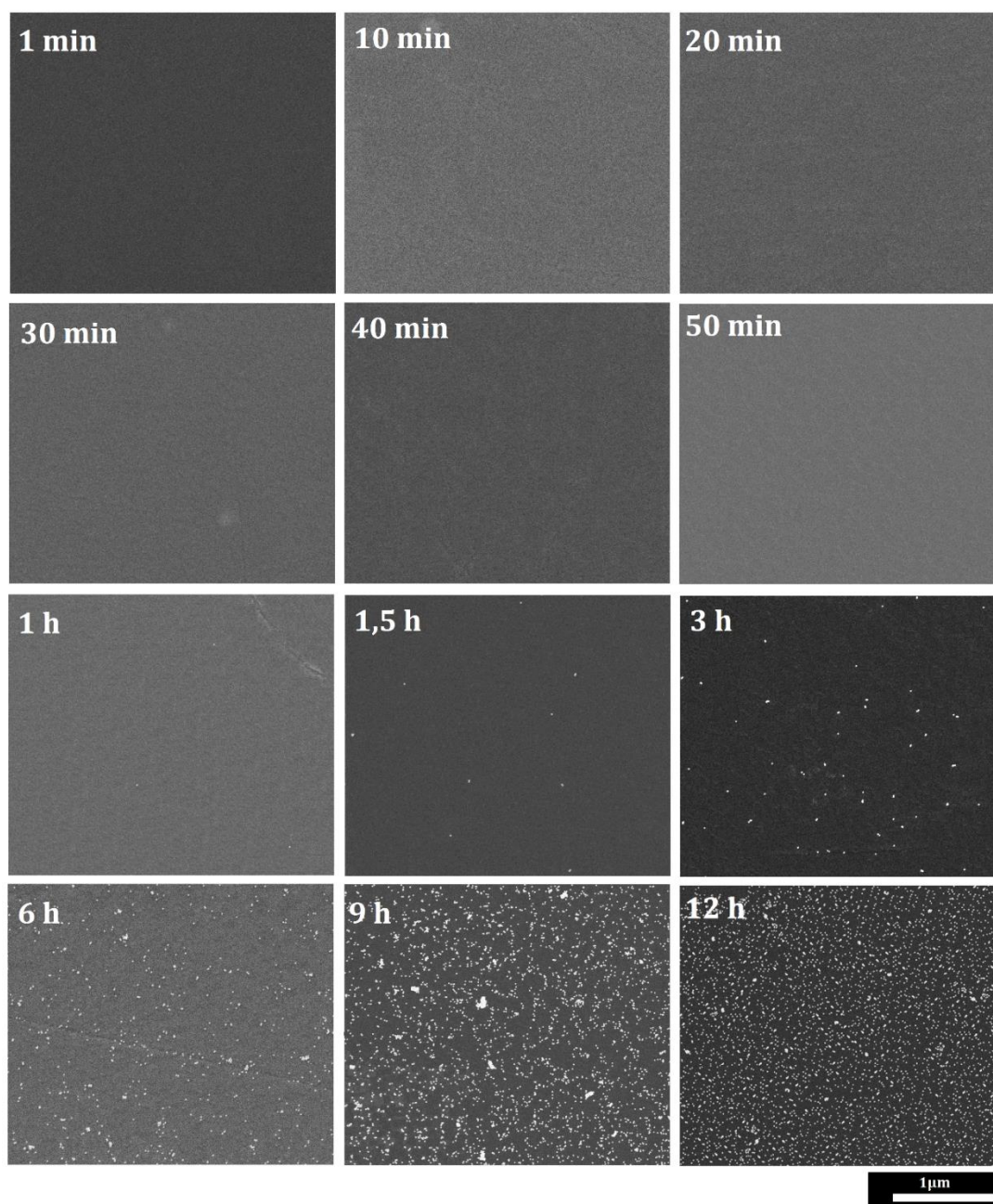
7.3.1 Chemiczna redukcja jonów miedzi(II)

Modyfikacja elektrod GCE za pomocą AuNPs w reakcji CuAAC z chemicznie generowanym katalizatorem – jonami Cu^+ : Zmodyfikowaną grupami azydkowymi elektrodę GCE-N3 zanurzono pionowo w 3 ml zawiesiny nanocząstek złota modyfikowanych terminalnymi alkinami (AuNPs-C \equiv C).³⁵ Dodano $CuSO_4 \times 5H_2O$ (20 μ M) i jako reduktora askorbinian sodu (1 mM).

Stężenia $CuSO_4$ i askorbinianu sodu zostały dobrane tak, by nanocząstki złota były stabilne w zawiesinie w trakcie długiego mieszania i nie strącały się podczas reakcji.

Zanurzone do zawiesiny elektrody GCE-N3 pozostawiono na 1 min, 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 1 h, 1,5 h, 3 h, 6 h, 9 h, 12 h na mieszadle magnetycznym. Po tym czasie zmodyfikowane elektrody (GCE-AuNPs) przemyto wodą destylowaną i suszono w strumieniu argonu.

Dla wszystkich badanych czasów, elektrody po reakcji CuAAC zobrazowano za pomocą SEM (Rys. 33). Na ich podstawie zauważono pojedyncze nanocząstki AuNPs po 1 h po zanurzeniu elektrody GCE-N3 do zawiesiny AuNPs-C \equiv C w obecności $CuSO_4$ i askorbinianu sodu. Na tej podstawie można wnioskować, że zaszła reakcja CuAAC. Reakcja CuAAC zachodzi w obecności jonów Cu^+ , które generowano w trakcie chemicznej redukcji jonów Cu^{2+} za pomocą askorbinianu sodu.



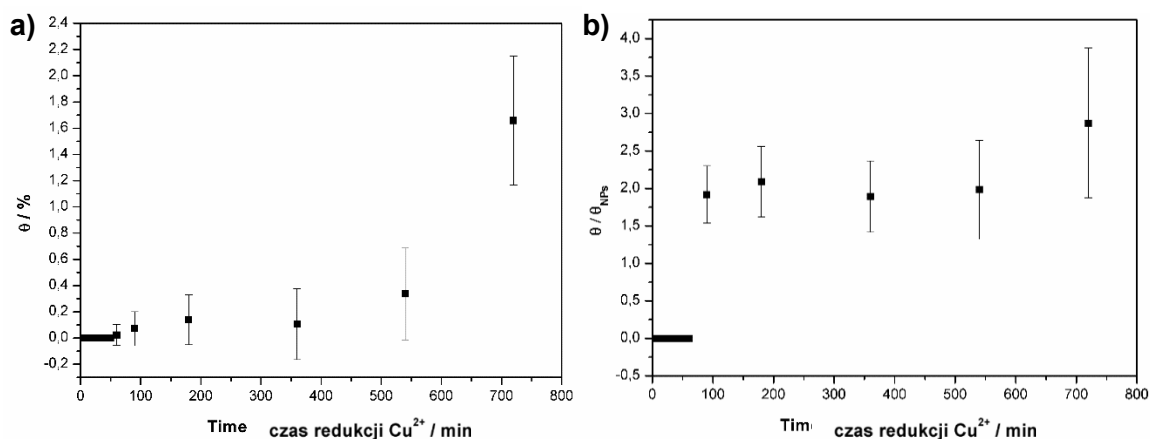
Rys. 33 Obrazy SEM GCE-AuNPs po reakcji CuAAC, w której jony Cu^+ były generowane chemicznie w zależności od czasu od 1 min – 12 h.

Reakcję CuAAC pomiędzy AuNPs-C \equiv C i GCE-N3 prowadzono dla trzech egzemplarzy elektrod dla każdego czasu redukcji Cu^{2+} (od 1 min – 12 h). Reprezentatywne obrazy SEM modyfikowanych elektrod GCE-AuNPs zostały przeanalizowane w programie ImageJ¹⁶¹. Na ich podstawie wyznaczono dwa parametry: całkowity stopień pokrycia elektrody (równanie 3) oraz stopień pokrycia elektrody przez pojedyncze nanocząstki (bez agregatów) (równanie 4). Wyniki danych dla obu parametrów zestawiono na wykresach (Rys. 34 a i b).

Dla każdego czasu reakcji stopień pokrycia/agregacji obliczono jako średnią z analizy zdjęć SEM dla trzech egzemplarzy GCE-AuNPs w programie ImageJ.

$$\theta = \frac{\text{powierzchnia GCE pokryta nanocząstkami i agregatami}}{\text{powierzchnia GCE}} \times 100\% \quad (3)$$

$$\theta_{\text{NPs}} = \frac{\text{powierzchnia GCE pokryta niezagregowanymi nanocząstkami}}{\text{powierzchnia GCE}} \times 100\% \quad (4)$$



Rys. 34 a) Stopień pokrycia GCE-AuNPs, b) stopień agregacji GCE-AuNPs w funkcji czasu redukcji Cu²⁺ do Cu⁺.

Na obrazach SEM (Rys. 33) GCE-AuNPs pojedyncze nanocząstki złota związane z powierzchnią elektrody GCE zaobserwowano po 1 h. Stopień pokrycia elektrody wynosił około 0,02% ($\pm 0,008\%$) i nie zaobserwowano żadnych agregujących nanocząstek złota. Wraz z wydłużeniem czasu reakcji CuAAC, wzrasta pokrycie elektrody nanocząstkami złota. Całkowity stopień pokrycia elektrody GCE-AuNPs dla najwyższego badanego czasu reakcji (12 h) wyniósł ok. 1,7%. Wraz ze wzrostem czasu reakcji stopień agregacji utrzymywał się na poziomie ok. 2.

Przyczyną pojawiania się agregatów na powierzchni GCE po reakcji CuAAC jest obecność dwóch ligandów na powierzchni AuNPs. Modyfikowane AuNPs są częściowo stabilizowane jonami cytrynianowymi i cząsteczkami 10-undekino-1-tiolu. Jak pokazano wcześniej na obrazie SEM (Rys. 33) i widmie UV-vis (Rys. 30, niebieska linia), nanocząstki złota w trakcie modyfikacji 10-undekino-1-tiolami zaczynają w małym stopniu agregować. Dobranie odpowiedniego stężenia badanego ligandu nie pozwoliło na całkowite wyeliminowanie zachodzenia tego zjawiska.

W roztworze jednak przeważają pojedyncze nanocząstki złota o czym świadczy kolor zawiesiny AuNPs oraz ich widmo po modyfikacji ligandem.

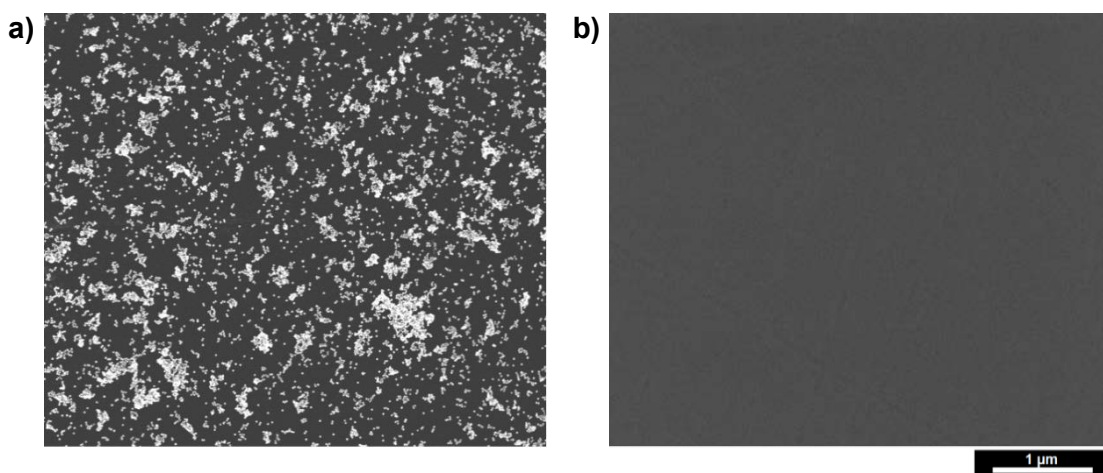
Na podstawie przeprowadzonych badań można wnioskować, że wprowadzenie niskiego stężenia ligandu na powierzchni AuNPs zapewniło pożądaną ich reaktywność w reakcji CuAAC.

Kolejną przyczyną agregacji nanocząstek złota w trakcie reakcji CuAAC może być wysoka siła jonowa w zawieszynie modyfikowanych AuNPs (obecność jonów Cu^{2+} , SO_4^{2-} , $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6^-$, Na^+ oraz ich różnych form przejściowych/kompleksów w trakcie reakcji jonów Cu). Odpowiednio dobrane stężenia jonów Cu^{2+} i reduktora pozwalają jednak na zachowanie stabilności zawiesiny AuNPs-C \equiv C w trakcie 12 h reakcji.

Zarejestrowane obrazy SEM (Rys. 33) potwierdziły, że nanocząstki złota modyfikowane grupami alkinowymi (AuNPs-C \equiv C) przyłączyły się do powierzchni elektrody (GCE-N3) w reakcji CuAAC. Przeprowadzono również próby kontrolne w celu potwierdzenia trwałego kowalencyjnego przyłączania się AuNPs do powierzchni GCE w reakcji CuAAC. Wykonano poniższe eksperymenty (czas reakcji był równy 12h):

- 1) elektrodę GCE-N3 zanurzono do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności 20 μM CuSO_4 (próba bez reduktora)
- 2) elektrodę GCE-N3 zanurzono do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności 1 mM askorbinian sodu (próba bez CuSO_4)
- 3) elektrodę GCE-N3 zanurzono do roztworu AuNPs w obecności 20 μM CuSO_4 i 1 mM askorbinian sodu (próba z AuNPs bez grup alkinowych)
- 4) elektrodę GCE zanurzono do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności 20 μM CuSO_4 i 1 mM askorbinian sodu (próba z GCE bez grup azydkowych)

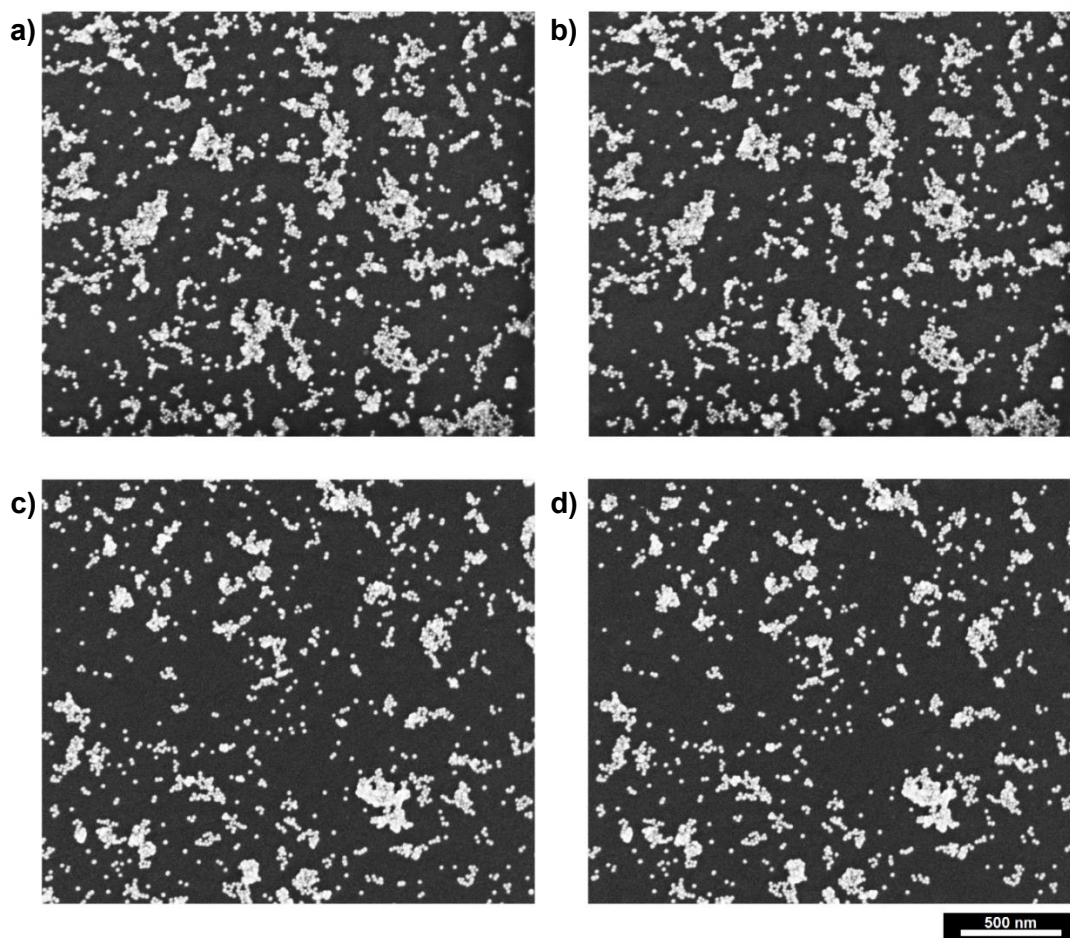
Dla powyższych prób kontrolnych zarejestrowano obrazy SEM. Na ich podstawie stwierdzono, że w czterech powyżej wymienionych próbach nie dochodzi do związania nanocząstek złota z powierzchnią elektrody z węgla szklanego. Próby kontrolne wykonano trzykrotnie. Przykładowy obraz SEM dla próby nr 2 pokazano na Rys. 35b. Dla pozosotajnych prób kontrolnych obrazy SEM wyglądały jak na Rys. 35b.



Rys. 35 Obraz SEM a) GCE-AuNPs po reakcji click. b) GCE-N3 bez CuSO_4 (próbka kontrolna 2).

Brak obecności AuNPs na powierzchni GCE w próbach kontrolnych potwierdza, że AuNPs przyłączają się do powierzchni elektrody w reakcji CuAAC tylko w obecności katalizatora. Obecność askorbinianu sodu jako chemicznego reduktora w roztworze z CuSO_4 pozwala na redukcję jonów Cu^{2+} do jonów Cu^+ . Modyfikowane grupami alkinowymi AuNPs reagują z grupami azydkowymi na powierzchni elektrod GCE tylko w obecności jonów Cu^+ .

Następnie zbadano również stabilność elektrod GCE-AuNPs, dla której czas reakcji CuAAC wynosił 12 h. Zarejestrowano obrazy SEM badanych próbek, po czym próbki płukano w wodzie (zanurzenie próbki w wodzie na mieszadle magnetycznym, 5 min) lub użyto płuczki ultradźwiękowej (5 min). Badane próbki następnie obrazowano w tych samych miejscach. Sześć modyfikowanych elektrod poddano trzykrotnym próbom płukania lub użycia ultradźwięków. Na Rys. 36 przedstawiono przykładowe obrazy SEM elektrod przed płukaniem/ultradźwiękami oraz po trzecim płukaniu/ultradźwiękach. Po kilkukrotnym płukaniu/ultradźwiękach, na GCE-AuNPs nadal znajdowały się nanocząstki złota (niewielka ilość AuNPs odpadła w trakcie czyszczenia). Powyższe badania potwierdzają trwałość wiązania między podłożem i AuNPs. Powstające wiązanie kowalencyjne pomiędzy nanocząstkami i elektrodą zapewnia stabilną immobilizację AuNPs do badanego podłoża. Zmodyfikowane powierzchnie nadają się do dalszych badań laboratoryjnych i mogą znaleźć zastosowanie w elektrochemii.



Rys. 36 Obraz SEM GCE-AuNPs a) przed pierwszym płukaniem, b) po trzecim płukaniu, c) przed pierwszym użyciem ultradźwięków, d) po trzecim użyciu ultradźwięków.

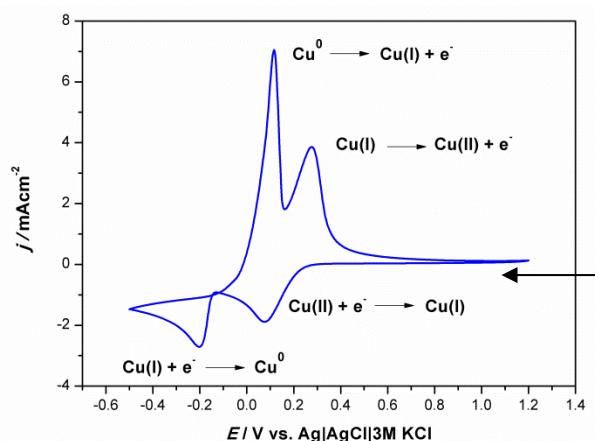
7.3.2 Elektrochemiczna redukcja jonów miedzi(II)

Modyfikacja elektrod GCE za pomocą AuNPs w reakcji CuAAC, w której jony Cu^+ generowano elektrochemicznie: Do eksperymentu stosowano układ trójelektrodowy: GCE – elektroda pracująca, drut platynowy – elektroda pomocnicza (przeciwelektroda), elektroda chlorosrebrowa ($\text{Ag}|\text{AgCl}|3 \text{ M KCl}$) – elektroda odniesienia (referencyjna). Zmodyfikowaną grupami azydkowymi elektrodę GCE (GCE-N3) zanurzono w roztworze (4 ml) zawierającym nanocząstki złota modyfikowane terminalnymi alkinami ($\text{AuNPs-C}\equiv\text{C}$).³⁵ Dodano $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ ($0,25 \mu\text{M}$) i KCl ($3,75 \mu\text{M}$) jako elektrolitu podstawowego. Stężenie elektrolitu podstawowego zostało zmniejszone w porównaniu do standardowo używanego ($0,1 \text{ M KCl}$). Wysoka siła jonowa prowadziła do agregacji i strącania się $\text{AuNPs-C}\equiv\text{C}$, co uniemożliwiało dalszą reakcję CuAAC.

Ostateczne wartości stężeń dodawanego $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ i KCl zostały dobrane tak, by nanocząstki złota w roztworze były stabilne w trakcie elektrochemicznej redukcji jonów Cu^{2+} i nie strącały się w czasie reakcji CuAAC.

Do elektrody GCE-N3 przyłożono potencjał redukcji (-0,12 V względem $\text{Ag}|\text{AgCl}|3 \text{ M KCl}$) od 1 minuty do 12 h. Po reakcji CuAAC elektrodę umyto wodą destylowaną i suszono w strumieniu argonu.

Przed przystąpieniem do elektrochemicznej redukcji jonów Cu^{2+} w roztworze z nanocząstkami złota, zbadano właściwości redoks jonów Cu^{2+} . Na podstawie woltamperometrii cyklicznej wyznaczono potencjał redukcji jonów Cu^{2+} w wodzie. Zarejestrowano woltamperogram cykliczny 10 mM CuSO_4 w 0,1 M KCl (Rys. 37). Do eksperymentu zastosowano układ trójelektrodowy: GCE – elektroda pracująca, drut platynowy – elektroda pomocnicza (przeciwelektroda), elektroda chlorosrebrowa ($\text{Ag}|\text{AgCl}|3 \text{ M KCl}$) – elektroda odniesienia (referencyjna).



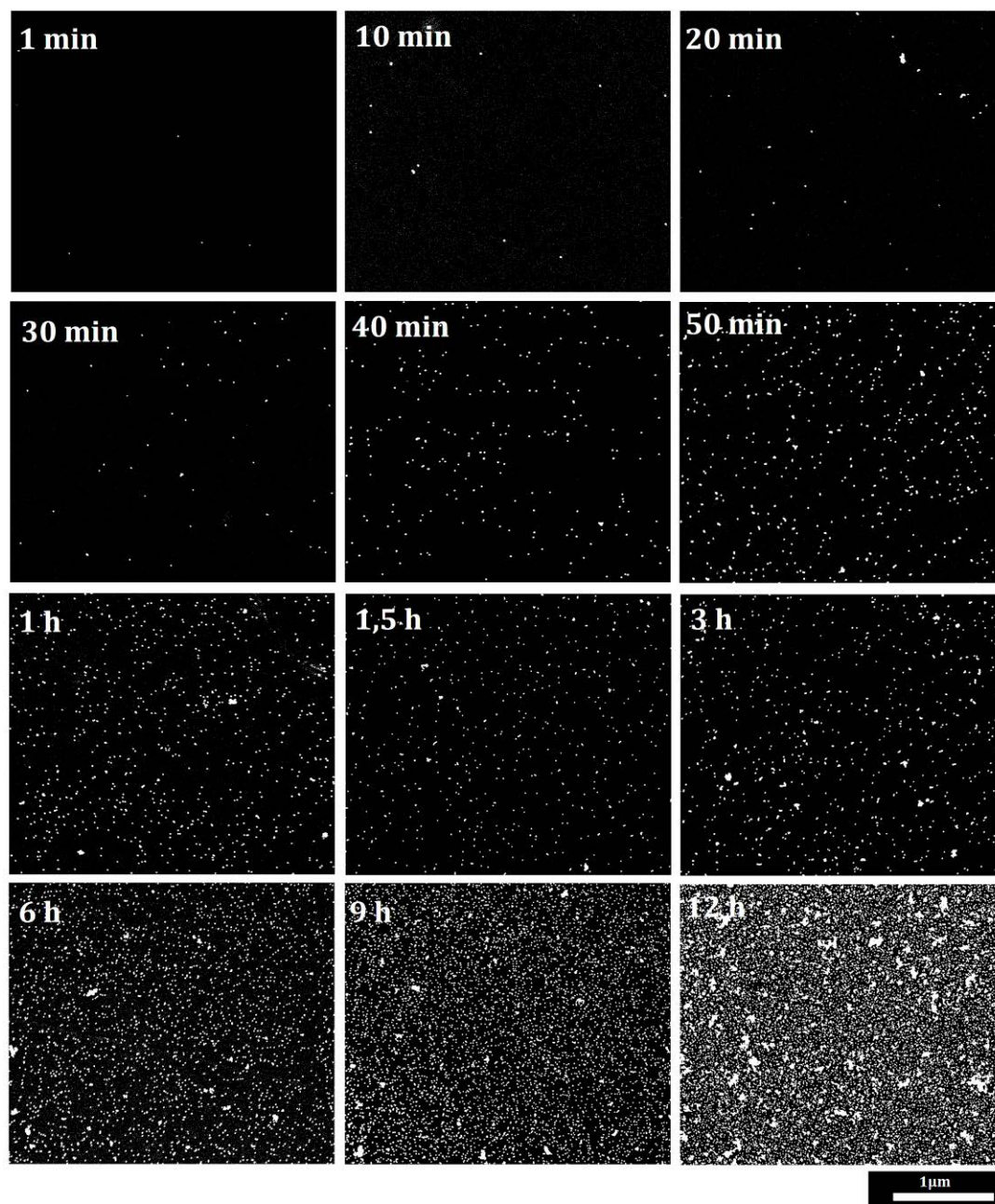
Rys. 37 Woltamperogram cykliczny zarejestrowany na GCE dla 10 mM CuSO_4 i 0,1 M KCl . Powierzchnia elektrody 3,14 mm², $\nu = 50 \text{ mV/s}$.

Zarejestrowany woltamperogram cykliczny na GCE (Rys. 37) przedstawia reakcje utleniania i redukcji Cu^{2+} w wodnym roztworze 0,1 M KCl . Krzywa woltamperometryczna dla Cu^{2+} charakteryzuje się dwoma pikami katodowymi oraz dwoma pikami anodowymi. Anodowe utlenianie Cu^0 do Cu^+ oraz Cu^+ do Cu^{2+} zachodzi przy potencjałach pików odpowiednio 0,1 V i 0,27 V. Pik katodowy przy potencjale około 0,075 V odpowiada za redukcję Cu^{2+} do Cu^+ oraz pik katodowy przy około -0,2 V odpowiada za redukcję Cu^+ do Cu^0 .

Do reakcji CuAAC niezbędna jest obecność jonów Cu^+ w roztworze. Redukcja jonów Cu^{2+} do Cu^+ rozpoczyna się przy potencjale $-0,12 \text{ V}$. Z tego powodu, do dalszych badań nad reakcją CuAAC, stosowano stały potencjał redukcji równy $-0,12 \text{ V}$.

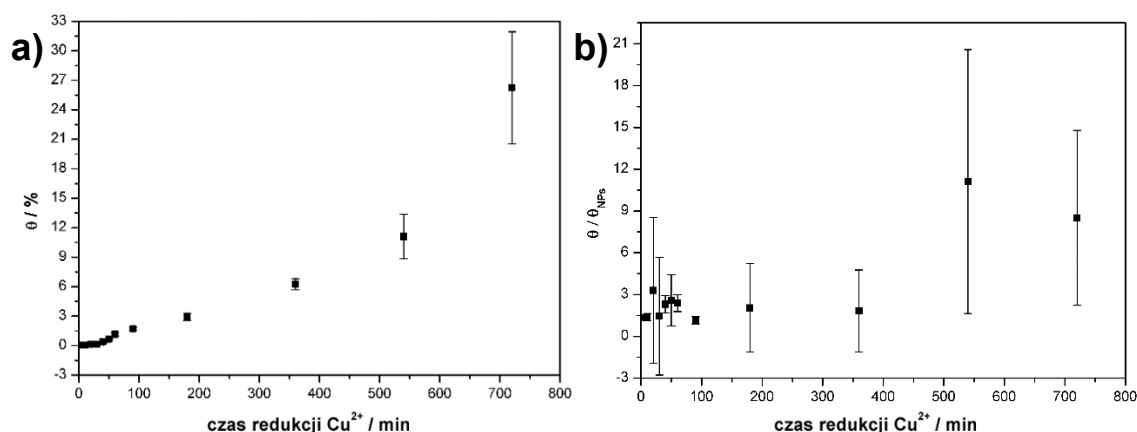
Na podstawie równania Randles-Sevcik'a obliczono liczbę elektronów biorących udział w reakcji i wyniosła ona około $0,95 \approx 1$.

Stały potencjał przykładano w czasie od 1 minuty do 12 godzin (analogicznie jak dla chemicznej redukcji jonów Cu^{2+}). Po tych przedziałach czasowych prowadzenia reakcji elektrodę wyjmowano z naczynka elektrochemicznego, przemywano wodą i osuszano w strumieniu gazu obojętnego. Dla wszystkich czasów zarejestrowano obrazy SEM powierzchni otrzymanych elektrod. Jasne punkty na obrazach potwierdzają obecność nanocząstek złota na powierzchni GCE (Rys. 38).



Rys. 38 Obrazy SEM GCE-AuNPs po wspomaganej elektrochemicznie CuAAC (czas redukcji jonów Cu^{2+} od 1 min do 12 h).

Dla wszystkich czasów redukcji jonów Cu^{2+} do Cu^+ obrazy SEM elektrod GCE-AuNPs zostały przeanalizowane w programie ImageJ. Podobnie jak w Rozdziale 9.3, wyznaczono całkowity stopień pokrycia elektrody (równanie 3) oraz stopień pokrycia elektrody przez pojedyncze nanocząstki (bez agregatów) (równanie 4). Wyniki danych dla obu parametrów zestawiono na wykresach (Rys. 39 a i b).



Rys. 39 a) Stopień pokrycia GCE-AuNPs, b) stopień agregacji GCE-AuNPs w funkcji czasu redukcji Cu^{2+} do Cu^+ .

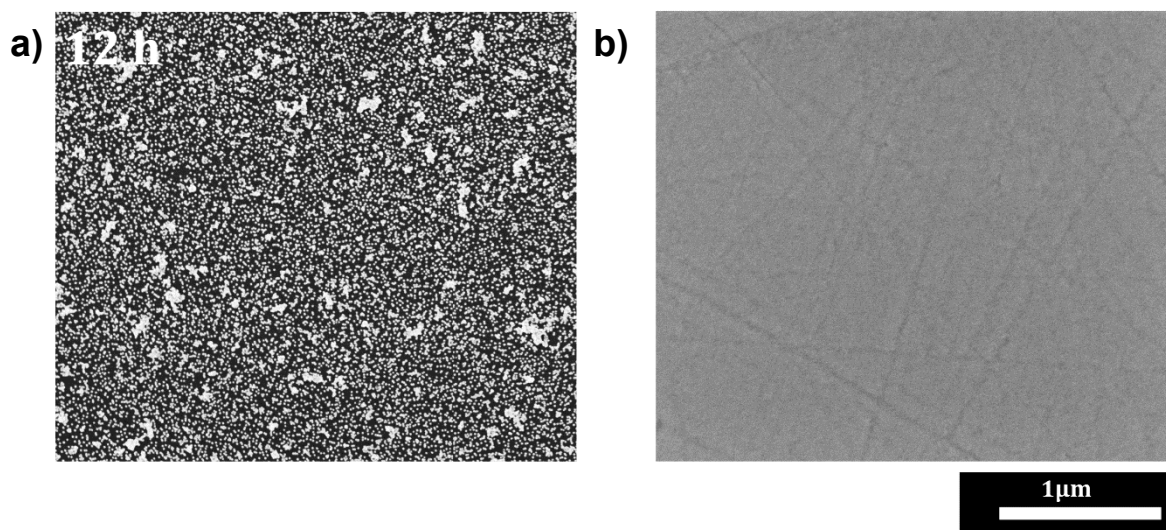
Stopień pokrycia elektrody GCE-AuNPs w reakcji CuAAC zwiększa się wraz z czasem redukcji jonów Cu^{2+} do Cu^+ : dla jednej minuty wynosi 0,03%, natomiast dla 12 godzin wzrasta do 26%. Współczynnik agregacji do 6 godzin trwania reakcji utrzymywał się na stałym poziomie i wynosił ok. 2 (Rys. 39b). Wydłużenie czasu redukcji jonów Cu^{2+} do 9 i 12 godzin spowodowało wzrost tego współczynnika do ok. 10. W trakcie długiego czasu elektroredukcji jonów Cu^{2+} w roztworze następuje również zmiana koloru z czerwonego na kolor czerwono-fioletowy. Jest to wynikiem niskiej stabilności zawiesiny i agregujących w niej nanocząstek. W efekcie to agregaty nanocząstek reagują w CuAAC i przyłączają się do powierzchni elektrody, co również można zaobserwować na obrazach SEM (Rys. 39).

Tak jak w przypadku chemicznego generowania katalizatora, również i w tej metodzie przeprowadzono próby kontrolne w celu potwierdzenia kowalencyjnego przyłączenia się AuNPs do powierzchni GCE w CuAAC, w której jony Cu^+ generowano elektrochemicznie. Wykonano poniższe eksperymenty:

- 1) elektrodę GCE-N3 zanurzone do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności 3,75 μM KCl, przyłożono potencjał redukcji -0,12 V (próba bez CuSO_4)
- 2) elektrodę GCE-N3 zanurzone do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności 0,25 μM CuSO_4 i 3,75 μM KCl (próba bez przyłożenia potencjał redukcji -0,12 V)

- 3) elektrodę GCE-N3 zanurzone do roztworu AuNPs w obecności $0,25 \mu\text{M}$ CuSO_4 i $3,75 \mu\text{M}$ KCl , przyłożono potencjał redukcji $-0,12 \text{ V}$ (próba z AuNPs bez grup alkinowych)
- 4) elektrodę GCE zanurzone do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności $0,25 \mu\text{M}$ CuSO_4 i $3,75 \mu\text{M}$ KCl , przyłożono potencjał redukcji $-0,12 \text{ V}$ (próba z GCE bez grup azydkowych)

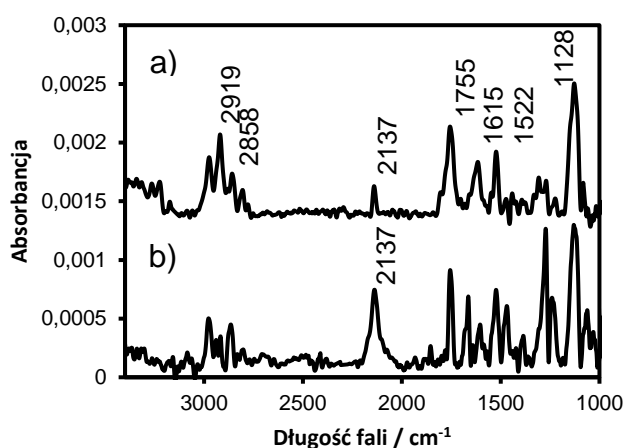
Po wykonaniu wszystkich wspomnianych powyżej prób kontrolnych wykonano obrazy SEM dla elektrod GCE. Obraz SEM dla próby kontrolnej nr 1 pokazano na Rys. 40b. W przypadku wszystkich pozostałych prób kontrolnych na żadnym obrazie SEM nie obserwowano jasnych punktów odpowiadających nanoczątkom, tak jak w przydadku reakcji CuAAC z wszystkimi odczynnikami i przyłożonym potencjałem (Rys. 40a).



Rys. 40 a) Obraz SEM GCE-AuNPs po 12 h reakcji CuAAC, gdzie Cu^+ generowano elektrochemicznie. b) Obraz SEM GCE-N3 zanurzonej do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności $0,25 \mu\text{M}$ CuSO_4 i $3,75 \mu\text{M}$ KCl .

Brak AuNPs na powierzchni GCE w powyższych próbach kontrolnych potwierdza, że AuNPs przyłączają się do powierzchni elektrody w reakcji CuAAC tylko w obecności katalizatora. Przyłożenie stałego potencjału umożliwia redukcję jonów Cu^{2+} do jonów Cu^+ . Modyfikowane grupami alkinowymi AuNPs reagują z grupami azydkowymi na powierzchni elektrody, w której jony Cu^+ są generowane elektrochemicznie (lub chemicznie, Rozdz. 9.3).

Dodatkowo przeprowadzono pomiary PM-IRRAS, by potwierdzić kowalencyjne wiązanie AuNPs z powierzchnią elektrod GCE-N3 w reakcji CuAAC, w której jony Cu^+ generowano elektrochemicznie. Wykonano i porównano pomiary PM-IRRAS na wypolerowanej płaskiej GCE z AuNPs po CuAAC (Rys. 41a) oraz na płaskiej elektrodzie GCE-N3 (Rys. 41b). Od rejestrowanych widm odjęto linię bazową, czyli widmo czystej wypolerowanej elektrody GCE.



Rys. 41 Widmo PM-IRRAS a) GCE-AuNPs po reakcji CuAAC, gdzie jony Cu^+ generowano elektrochemicznie, b) GCE-N3.

Widmo PM-IRRAS elektrody GCE-N3 (Rys. 41b) przedstawia silne pasmo przy 2137 cm^{-1} charakterystyczne dla grup azydkowych. Pozostałe pasma wskazują na obecność licznych grup powierzchniowych. Najbardziej intensywne pasma przy 1128 i 1755 cm^{-1} odpowiadają rozciąganiu wiązań C-O i C=O. Grupy te pozostają na powierzchni elektrody również po unieruchomieniu AuNPs na jej powierzchni. Po reakcji CuAAC pojawiają się nowe pasma przy 2919 cm^{-1} oraz przy 2858 cm^{-1} pochodzące od grup alkilowych na powierzchni AuNPs. Można zauważyć, że po reakcji CuAAC pojawiają się również pasma przy 1615 i 1522 cm^{-1} dla tworzących się pierścieni triazolowych (Rys. 41a). Badanie PM-IRRAS potwierdziło modyfikację elektrody GCE nanocząstkami złota w reakcji CuAAC. Potwierdzono również utworzenie wiązania kowalencyjnego (pierścienia triazolowego) pomiędzy GCE-N3 i AuNPs-C \equiv C w reakcji CuAAC.

7.4 Zastosowanie podłoży modyfikowanych AuNPs w reakcji CuAAC

Zmodyfikowane w reakcji CuAAC elektrody GCE-AuNPs użyto jako czujniki elektrochemiczne do oznaczania jonów azotanowych(III) w obecności jonów siarczanowych(IV) w roztworach wodnych. Przyłączanie AuNPs do stałych podłoży w reakcji CuAAC wykorzystano również do modyfikacji stałych podłoży transparentnych (przewodzących i nieprzewodzących).

7.4.1 Elektrody z węgla szklanego GCE modyfikowane AuNPs

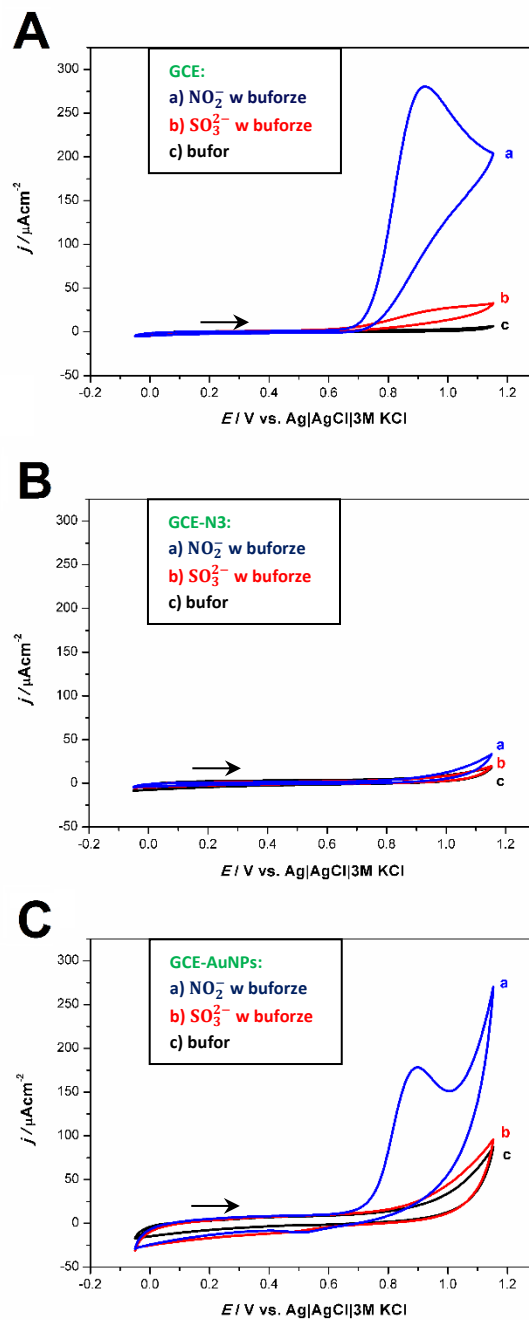
Zastosowanie elektrod GCE-AuNPs do oznaczania jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV): Stosowano układ trójelektrodowy: GCE/GCE-N3/GCE-AuNPs – elektrody pracujące, drut platynowy – elektroda pomocnicza (przeciwelektroda), elektroda chlorosrebrowa (Ag|AgCl|3M KCl) – elektroda odniesienia (referencyjna). Wypolerowaną elektrodę z węgla szklanego (GCE), elektrodę z węgla szklanego modyfikowaną azydkami (GCE-N3) oraz zmodyfikowaną nanocząstkami złota elektrodę GCE (GCE-AuNPs) zanurzano w roztworze zawierającym: a) 0,1 mM NO_2^- i 0,1 M bufor fosforanowy (pH = 7,0), b) 0,1 mM SO_3^{2-} i 0,1 M bufor fosforanowy (pH = 7,0), c) 0,1 M bufor fosforanowy (pH = 7,0). Rejestrowano krzywe voltamperometrii cyklicznej z szybkością $v = 50 \text{ mV/s}$.

Ważnym aspektem ochrony środowiska wodnego jest wykrywanie substancji potencjalnie szkodliwych, które występują w środowisku wodnym. Przykładem zastosowania nanostruktur metalicznych w analizie chemicznej, może być oznaczanie jonów azotanowych(III) (NO_2^-) i jonów siarczanowych(IV) (SO_3^{2-}) w próbkach wodnych.^{79,167} Uwzględniając potencjalną toksyczność powyższych jonów, ważne jest równoczesne monitorowanie stężenia jonów NO_2^- i SO_3^{2-} w celu oceny jakości wody i żywności, a także zanieczyszczenia środowiska.⁶⁴

Jedną z metod umożliwiających oznaczanie tych dwóch jonów jest elektroanaliza próbek wodnych. Nadpotencjały elektrotleniania NO_2^- i SO_3^{2-} są znane z literatury i przyjmują wysokie wartości na konwencjonalnych stałych elektrodach (potencjał utleniania dla jonów azotanowych(III) to ok. 0,8 V vs. SCE).^{140,153,168}

Potencjały utleniania dla obydwu jonów są położone blisko siebie. Powoduje to nakładanie się sygnałów i uniemożliwia ich rozróżnienie (zwłaszcza w nieznannej próbce wodnej). Jednym ze sposobów rozwiązania tego problemu w elektroanalizie jest modyfikacja powierzchni elektrody pracującej.^{140,153}

Na wstępie zbadano właściwości elektrochemiczne powierzchni elektrod modyfikowanych nanocząstkami złota (GCE-AuNPs) w reakcji CuAAC. Za pomocą woltamperometrii cyklicznej przeprowadzono elektROUTLENIANIE jonów NO_2^- i SO_3^{2-} w buforze fosforanowym (pH = 7,0) na wypolerowanej elektrodzie z węgla szklanego GCE (Rys. 42A), elektrodzie z węgla szklanego modyfikowanej azydkami GCE-N3 (Rys. 42B) oraz elektrodzie z węgla szklanego modyfikowanej nanocząstkami złota GCE-AuNPs (Rys. 42C) użytej do reakcji CuAAC, w której jony Cu^+ generowano elektrochemicznie przez 12 h.



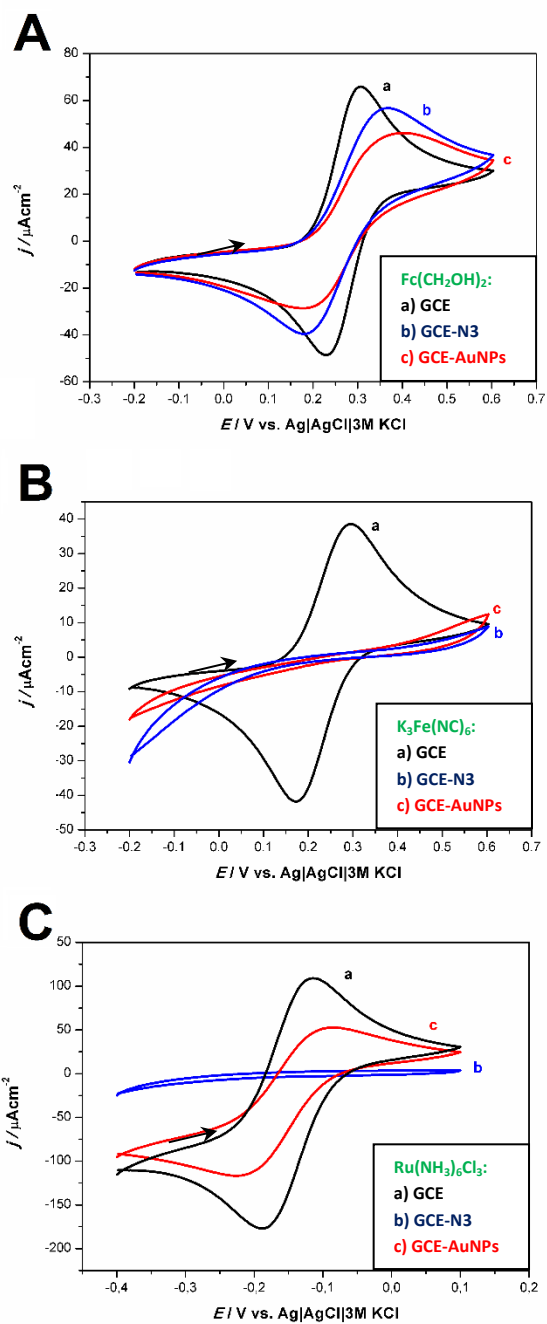
Rys. 42 Woltamperogramy cykliczne dla elektrod
A) GCE, B) GCE-N3, C) GCE-AuNPs zarejestrowane:
a) w 1 mM NO_2^- w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 7,0),
b) w 1 mM SO_3^{2-} w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 7,0),
c) w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 7,0). Powierzchnia elektrody 3,14 mm², $\nu = 50$ mV/s.

Woltamperogram cykliczny wypolerowanej GCE przedstawia dobrze wykształcony pik utleniania NO_2^- (Rys. 42Aa) przy potencjale ok. 0,926 V względem $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{3M KCl}$ (Rys. 42A). W tym samym zakresie potencjału można również zaobserwować pik utleniania pochodzący od SO_3^{2-} (Rys. 42Ab). Jednoczesne elektrochemiczne oznaczanie badanych jonów na niemodyfikowanej GCE jest niemożliwe. Modyfikacja elektrody grupami azydkowymi (Rys. 42B) sprawia, że na powierzchni elektrody powstaje gęsta warstwa 4-azydobenzenu, która blokuje wymianę elektronów podczas reakcji utlenienia jonów NO_2^- i SO_3^{2-} do elektrody. Otrzymane woltamperogramy cykliczne przypominają krzywe woltamperometryczne tak jak te zarejestrowane w samym buforze fosforanowym.

Dla elektrody GCE-N3 modyfikowanej nanocząstkami złota (Rys. 42C) zaobserwowano pik katodowy odpowiadający utlenianiu jonów NO_2^- (Rys. 42Ca) przy potencjale 0,897 V względem $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{3 M KCl}$. Dla GCE-AuNPs pik utleniania jest przesunięty o 29 mV w kierunku niższych potencjałów w porównaniu z analogicznym pikiem uzyskanym na czystej elektrodzie GCE. W badanym zakresie potencjału dla jonów SO_3^{2-} (Rys. 42Cb) nie obserwuje się żadnego piku utleniania, a krzywa woltamperometryczna (Rys. 42Cc) jest zbliżona do krzywej zarejestrowanej w samym buforze fosforanowym, podobnie jak w przypadku GCE-N3. Obecność nanostruktur na powierzchni elektrody ułatwia proces utleniania jonów NO_2^- . Nanocząstki złota kowalencyjnie związane z powierzchnią GCE zaburzają gęstą warstwę 4-azydobenzenu zmieniając właściwości elektrody. Elektroda GCE-AuNPs umożliwia wymianę elektronów jedynie pomiędzy NO_2^- i elektrodą. W tym samym zakresie potencjału, dla jonów SO_3^{2-} brak charakterystycznego piku utleniania. Efekt ten jest prawdopodobnie związany z hydrofobowo-hydrofilowymi właściwościami jonów NO_2^- i SO_3^{2-} . Relatywnie hydrofobowe jony NO_2^- mogą penetrować zdefektowaną po przyłączeniu AuNPs warstwę 4-azydobenzenu i wymienić elektron z elektrodą za pośrednictwem mechanizmu wewnątrzsferowego.^{169,170}

Dodatkowo zbadano właściwości elektrody GCE (Rys. 43 Aa, Ba, Ca), GCE-N3 (Rys. 43 Ab, Bb, Cb) i GCE-AuNPs (Rys. 43Ac, Bc, Cc) przy użyciu trzech próbników redoks: 1,1-ferrocenodimetanolu ($\text{Fc}(\text{CH}_2\text{OH})_2$) (Rys. 43A), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (Rys. 43B) oraz $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ (Rys. 43C). Stężenie każdego próbniaka wynosiło 1 mM, a roztwory przygotowano w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 7,0). Zarejestrowane krzywe woltamperometryczne dla badanych próbników redoks prezentują właściwości elektrody przed i po modyfikacji azydkami i AuNPs w reakcji CuAAC.

Na elektrodach GCE-AuNPs zachodzą jednoelektronowe odwracalne reakcje redoks dla 1,1-ferrocenodimetanolu (Rys. 43 Ac) i $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ (Rys. 43Cc). Dla tych próbników redoks, na GCE-AuNPs obserwuje się przesunięcie pików redukcji (w kierunku bardziej ujemnych wartości) i pików utleniania (w kierunku bardziej dodatnich wartości) względem niemodyfikowanej GCE (Rys. 43 Aa i Ca). Ponadto, na elektrodzie GCE-N3 (Rys. 43Ab) dla 1,1-ferrocenodimetanolu można zauważyć pik redukcji i utleniania oraz ich przesunięcie (pik redukcji w kierunku bardziej ujemnych wartości, pik utleniania w kierunku bardziej dodatnich wartości) względem GCE (Rys. 43Aa). Z kolei dla jonów $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$, na elektrodzie GCE-N3 (Rys. 43Cb) brak charakterystycznych pików redukcji i utleniania, co opisano poniżej.



Rys. 43 Woltamperogramy cykliczne dla elektrod a) GCE, b) GCE-N3, c) GCE-AuNPs zarejestrowane:

A) w 1 mM $\text{Fc}(\text{CH}_2\text{OH})_2$ w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 7,0),

B) w 1 mM $\text{K}_3\text{Fe}(\text{NC})_6$ w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 7,0),

C) w 1 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 7,0).

Powierzchnia elektrody $3,14 \text{ mm}^2$, $v = 50 \text{ mV/s}$.

Na modyfikowanych elektrodach GCE-N3 i GCE-AuNPs nie zaobserwowano żadnych pików redukcji i utleniania dla jonów $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (Rys. 43Bb i Bc). Modyfikacja powierzchni elektrody GCE azydkami oraz AuNPs w reakcji CuAAC blokuje powierzchnię elektrody i reakcja redoks nie zachodzi. Analogiczne zachowanie elektrod GCE-N3 i GCE-AuNPs można zaobserwować dla wcześniej badanych jonów NO_2^- i SO_3^{2-} (Rys. 42A, B, C). Jak przedstawiono w Tabeli 1, badane cząsteczki prezentowały różne właściwości hydrofobowo-hydrofilowe oraz ładunek.

Tabela 1 Porównanie właściwości fizykochemicznych badanych cząsteczek.

Próbnik redoks	Hydrofobowość	Elektroaktywność cząsteczek względem powierzchni GCE-N3	Elektroaktywność cząsteczek względem powierzchni GCE-AuNPs	Polarny obszar powierzchni cząsteczki [\AA^2]
$\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$	kation hydrofilowy ¹⁷¹	brak	✓	19,4 ¹⁷²
$\text{Fc}(\text{CH}_2\text{OH})_2$	cząsteczka hydrofobowa ¹⁷³	✓	✓	40,5 ¹⁷⁴
NO_2^-	anion hydrofilowy ¹⁷⁵	brak	✓	52,5 ¹⁷⁶
SO_3^{2-}	anion hydrofilowy ¹⁷⁷	brak	brak	82,4 ¹⁷⁸
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$	anion hydrofilowy ¹⁷³	brak	brak	143,0 ¹⁷⁹

Analizując powyższą tabelę i krzywe woltamperometryczne (Rys. 42 i 43) można zauważyć, że tylko cząsteczka 1,1-ferrocenodimetanolu wykazuje właściwości elektroaktywne na elektrodzie GCE-N3 (Rys. 43Ab). Hydrofobowa cząsteczka $\text{Fc}(\text{CH}_2\text{OH})_2$ może przenikać hydrofobową warstwę 4-azydobenzenową na powierzchni GCE-N3, co prowadzi do wymiany elektronów. Jony hydrofilowe nie są w stanie przeniknąć warstwy azydków na modyfikowanej elektrodzie GCE-N3 (Rys. 43Ab).

W reakcji CuAAC do elektrody GCE-N3 zostają przyłączone wiązaniem kowalencyjnym AuNPs (z utworzeniem pierścienia triazolowego). Modyfikacja powierzchni GCE nanocząstkami złota w reakcji CuAAC, zmienia właściwości elektrochemiczne elektrody (Rys. 42C, 43Bc i 43Cc). Hydrofilowe próbniiki redoks wykazują różne zachowanie względem modyfikowanej powierzchni elektrody GCE-AuNPs (Rys. 43Bc i 43Cc). Jony NO_2^- (Rys. 42Cc) i $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ (Rys. 43C) są elektroaktywne po modyfikacji GCE nanocząstkami złota. Odmienne zachowanie obserwuje się w przypadku anionów SO_3^{2-} (Rys. 42Cc) i $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (Rys. 43A).

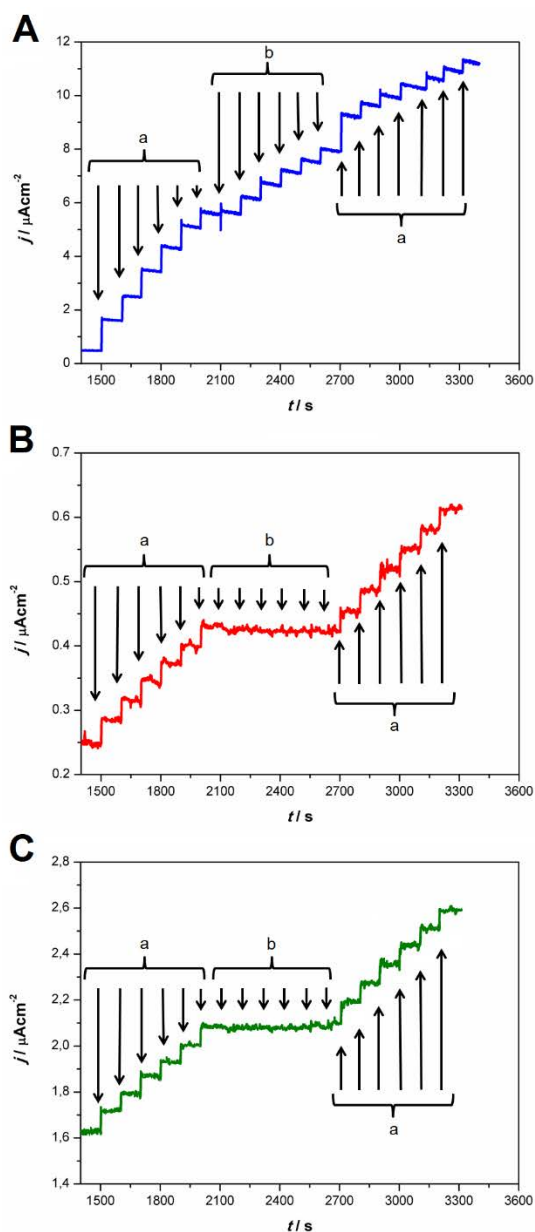
Pomimo modyfikacji powierzchni GCE-AuNPs, jony te nie wymieniają elektronów z elektrodą, a sygnał elektrochemiczny przypomina krzywe woltamperometryczne rejestrowane na GCE-N3 (Rys. 42B i 43Bb).

Opisane właściwości elektrochemiczne modyfikowanych elektrod GCE-N3 i GCE-AuNPs (Rys. 42 i 43) można tłumaczyć elektrowszczepianiem soli diazoniowych do powierzchni GCE. W literaturze wykazano, że elektrochemiczne wszczepianie soli diazoniowych może powodować blokowanie powierzchni elektrody dla substancji elektroaktywnych – na elektrodzie powstaje bardzo zwarta warstwa.¹⁸⁰ Efekt ten może służyć również do określenia, czy warstwa 4-azydobenzenowa na powierzchni elektrody jest pozbawiona defektów oraz czy występują na niej jakiegokolwiek defekty w pokryciu elektrody.¹⁸¹

Modyfikacja elektrody GCE-N3 nanocząstkami złota w reakcji CuAAC (Rys. 42C) zaburza zwartą warstwę 4-azydobenzenową na powierzchni elektrody. W efekcie, elektroaktywność próbników redoks względem GCE-AuNPs zmniejsza się z ładunkiem próbника redoks i polarnym obszarem powierzchni cząsteczek (Tabela 1). Dla anionów SO_3^{2-} i $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ nie zachodzi wymiana elektronów z powierzchnią elektrody GCE-AuNPs.

Właściwości modyfikowanej powierzchni elektrody GCE-AuNPs (Rys. 42C) względem jonów NO_2^- i SO_3^{2-} mogą wynikać z pola powierzchni polarnej tych jonów. Pole powierzchni polarnej cząsteczki (ang. *polar surface area, PSA*) jest zdefiniowane jako suma powierzchni wszystkich atomów polarnych w cząsteczce (zazwyczaj jest to tlen i azot oraz związane z nimi wodory).¹⁸² Wskaźnik PSA jest powszechnie stosowanym parametrem w farmacji do określania właściwości transportowych leków do komórek (im większa wartość PSA, tym mniejsza zdolność transportowania cząsteczki poprzez błony komórkowe).¹⁸² Znajomość wartości PSA pozwala również ustalić charakter hydrofilowy/hydrofobowy badanej cząsteczki. Gdy wartość PSA jest mniejsza niż 60 \AA^2 , badana cząsteczka wykazuje charakter hydrofobowy i posiada wyższą energię hydratacji. Efekt ten można zaobserwować w przypadku badanych jonów NO_2^- oraz SO_3^{2-} , dla których wartości PSA wynoszą odpowiednio $52,5 \text{ \AA}^2$ oraz $82,4 \text{ \AA}^2$. Można więc wnioskować, że jony NO_2^- są bardziej hydrofobowe niż jony SO_3^{2-} . Jony $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ i NO_2^- będą mogły przenikać hydrofobową warstwę zaburzoną przez AuNPs, czego skutkiem jest wymiana elektronów z elektrodą GCE.

Na podstawie powyżej opisanych doświadczeń można wnioskować, że stosując modyfikację elektrody GCE-AuNPs w reakcji CuAAC, jony NO_2^- mogą być oznaczane w obecności jonów SO_3^{2-} w tym samym zakresie potencjału. Dlatego zbadano selektywność elektrody GCE-AuNPs do oznaczania jonów NO_2^- w obecności SO_3^{2-} . Przeprowadzono pomiary chronoamperometryczne w warunkach hydrodynamicznych na elektrodzie GCE (Rys. 43A) oraz elektrodach GCE-AuNPs (Rys. 43 B i C). Elektrody GCE-AuNPs otrzymano w reakcji CuAAC, w której jony Cu^{2+} zredukowane były chemicznie (Rys. 43B) lub elektrochemicznie przez 12 h (Rys. 43C). Podczas pomiarów przyłożono stały potencjał 0,8 V (względem $\text{Ag}|\text{AgCl}|3 \text{ M KCl}$). W trakcie mieszania do 1,5 ml 0,1 M buforu fosforanowego ($\text{pH} = 7,0$) po ustabilizowaniu się prądu po 1500 s co kolejne 100 s dodawano stałą objętość 30 μl 1 mM NO_2^- w 0,1 M buforze fosforanowych ($\text{pH} = 7,0$) (Rys. 43 Aa, Ba, Ca), po czym od 2100 s co 100 s dodawano 30 μl 1 mM SO_3^{2-} w 0,1 M buforze fosforanowych ($\text{pH} = 7,0$) (Rys. 43 Aa, Ba, Ca), a następnie od 2700 s ponownie do układu dodawano 30 μl 1 mM NO_2^- w 0,1 M buforze fosforanowych ($\text{pH} = 7,0$).



Rys. 43 Odpowiedź chronoamperometryczna procesu elektROUTLENIANIA a) 1 mM NO_2^- w 0,1 M buforze fosforanowym (pH = 7,0) oraz b) 1 mM SO_3^{2-} w 0,1 M buforze fosforanowym (pH = 7,0), prowadzona w warunkach hydrodynamicznych na elektrodach A) GCE, B) GCE-AuNPs, gdzie Cu^{2+} zredukowano chemicznie przez 12 h, C) GCE-AuNPs, gdzie Cu^{2+} zredukowano elektrochemicznie przez 12 h.

Widoczny na Rys. 43Aa, Ba i Ca wzrost prądu w czasie (t) związany jest z utlenianiem jonów NO_2^- dodawanych do roztworu buforu fosforanowego. Zależność tę można zaobserwować na wszystkich badanych elektrodach GCE i GCE-AuNPs (Rys. 43 Aa, Ba i Ca).

Na elektrodach GCE-AuNPs (Rys. 43 Bb i Cb) – nie zaobserwowano wzrostu prądu po dodaniu jonów SO_3^{2-} . Natomiast na czystej elektrodzie GCE (Rys. 43Ab) zachodzi elektrotlenianie jonów SO_3^{2-} . Ponowny dodatek jonów NO_2^- powoduje wzrost prądu i dalsze elektrotlenianie jonów NO_2^- zarówno na elektrodzie GCE jak i elektrodach GCE-AuNPs (Rys. 43Aa, Ba i Ca). Modyfikacja powierzchni GCE nanocząstkami złota w reakcji CuAAC zmienia właściwości elektrochemiczne elektrody i umożliwia selektywne utlenianie jonów NO_2^- w obecności jonów SO_3^{2-} . Rozróżnienie to nie jest możliwe w tym samym zakresie potencjału na niemodyfikowanej elektrodzie GCE. Dodatkowo, sposób generowania jonów Cu^+ w reakcji CuAAC nie wpływa na selektywność, lecz na czułość elektrod GCE-AuNPs. Porównując odpowiedzi chronoamperometryczne procesu elektrotleniania jonów NO_2^- (Rys. 43 B i C) można zauważyć, że wartości prądów na elektrodach GCE-AuNPs, gdzie Cu^{2+} zredukowano elektrochemicznie przez 12 h, są prawie siedmiokrotnie wyższe niż dla GCE-AuNPs, w porównaniu do elektrody, na której Cu^{2+} zredukowano chemicznie (przez taki sam czas). Właściwości te wynikają z różnego pokrycia powierzchni modyfikowanych elektrod przez AuNPs, a tym samym rozwinięcia powierzchni elektroaktywnej. Jak przedstawiono wcześniej, pokrycie elektrody GCE za pomocą AuNPs było większe, gdzie jony Cu^{2+} zredukowano elektrochemicznie. Można wnioskować, że elektrody GCE-AuNPs, gdzie jony Cu^{2+} zredukowano elektrochemicznie przez 12 h są bardziej czułe na oznaczanie badanych jonów.

7.4.2 Transparentne podłoża modyfikowane AuNPs

Kolejne eksperymenty miały na celu sprawdzenie czy reakcja CuAAC może być wykorzystana do modyfikacji transparentnych podłoży przewodzących i nieprzewodzących. Celem modyfikacji transparentnych podłoży było wykorzystanie badanych powierzchni w analizie chemicznej. Stosując podobną procedurę jak na elektrodach GCE-AuNPs, reakcję CuAAC wykorzystano do modyfikacji transparentnych podłoży – ITO oraz szkła kwarcowego. Modyfikowaną elektrodę ITO-AuNPs wykorzystano jako czujnik do oznaczania kwasu szczawiowego.

Modyfikacja transparentnych podłoży w reakcji CuAAC: na powierzchnię ITO i szkła kwarcowego naparowano 11-azydoundecyl-1-trimetoksysilan według zmodyfikowanej procedury literaturowej³³. Umyte acetonem i etanolem transparentne podłoża unieruchomiono na aluminiowych uchwytych w butli Wolfa w odległości ok. 1,5 cm i równoległe do dna butli.

Pod podłożami ITO (stroną przewodzącą w dół) lub szkłem kwarcowym umieszczano naczynie zawierające 100 μl $(\text{MeO})_3\text{Si}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{N}_3$. Następnie butlę Wolfa podłączono do pompy próżniowej ustawiając ciśnienie na ok. 133 Pa. Po zamknięciu zaworu, butlę Wolfa umieszczono na mieszadle magnetycznym w łaźni olejowej o temp. 110 °C i ogrzewano przez 12 h. Syntezę i modyfikację nanocząstek złota (AuNPs) 10-undekino-1-tiolem wykonano jak w Rozdz.9.1. Następnie przeprowadzono reakcję CuAAC pomiędzy ITO lub szkłem kwarcowym modyfikowanymi grupami azydkowymi oraz nanocząstkami złota z terminalnymi grupami alkinowymi (AuNPs-C \equiv C). W przypadku ITO jony Cu⁺ generowano elektrochemicznie przez 1 h w układzie trójelektrodowym: modyfikowana grupami azydkowymi elektroda ITO – elektroda pracująca, drut platynowy – elektroda pomocnicza (przeciwelektroda), elektroda chlorosrebrowa (Ag|AgCl|3 M KCl) – elektroda odniesienia (referencyjna). Modyfikowaną azydkami powierzchnię szkła kwarcowego zanurzano do roztworu zawierającego AuNPs-C \equiv C, 20 μM CuSO₄ i 1 mM askorbinian sodu jako reduktora na 12 h.









7.4.2.1 ITO modyfikowane AuNPs w reakcji CuAAC

Podobnie jak w badaniach dla reakcji CuAAC na elektrodach GCE, przeprowadzono reakcje w obecność AuNPs na powierzchni odpowiednio ITO i szkła kwarcowego w obecności katalizatora jonów Cu⁺ lub bez katalizatora. Powierzchnię ITO modyfikowano AuNPs w reakcji CuAAC, gdzie jony Cu⁺ generowano elektrochemicznie (Tabela 2):

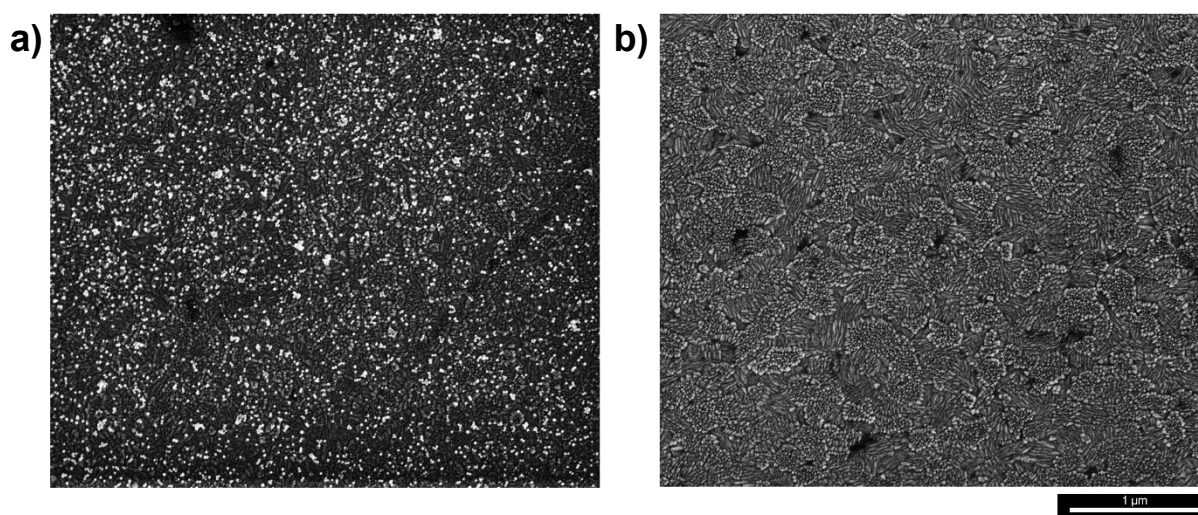
- 1) elektrodę ITO (niemodyfikowaną grupami azydkowymi) zanurzono do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności KCl (3,75 μM) przez 1 h,
- 2) elektrodę ITO (niemodyfikowaną grupami azydkowymi) zanurzono do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności KCl (3,75 μM) i przyłożono potencjał redukcji -0,12 V (bez CuSO₄) przez 1 h,
- 3) elektrodę ITO (niemodyfikowaną grupami azydkowymi) zanurzono do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności CuSO₄ (0,25 μM) i KCl (3,75 μM), (bez przyłożonego potencjału redukcji -0.12 V) przez 1 h,
- 4) elektrodę ITO-N3 (modyfikowaną grupami azydkowymi) zanurzono do roztworu AuNPs-C \equiv C w obecności CuSO₄ (0,25 μM) i KCl (3,75 μM), przyłożono potencjał redukcji -0,12 V przez 1 h,

- 5) elektrodę ITO-N3 (modyfikowaną grupami azydkowymi) zanurzone do roztworu AuNPs-C≡C w obecności KCl (3,75 μM), przyłożono potencjał redukcji -0,12 V (bez CuSO₄) przez 1h,
- 6) elektrodę ITO-N3 (modyfikowaną grupami azydkowymi) zanurzone do roztworu AuNPs-C≡C w obecności CuSO₄ (0,25 μM) i KCl (3,75 μM), (bez przyłożonego potencjału redukcji -0.12 V),
- 7) elektrodę ITO-N3 (modyfikowaną grupami azydkowymi) zanurzone do roztworu AuNPs (niemodyfikowanych grupami alkinowymi) w obecności CuSO₄ (0,25 μM) i KCl (3,75 μM), przyłożono potencjał redukcji -0,12 V przez 1 h,
- 8) elektrodę ITO-N3 (modyfikowaną grupami azydkowymi) zanurzone do roztworu AuNPs-C≡C (bez CuSO₄, bez KCl, bez przyłożonego potencjału redukcji -0,12 V).

Tabela 2. Próby modyfikacji ITO za pomocą AuNPs w różnych wariantach.

Próba	Zdjęcia ITO	Warunki	Zabarwienie ITO
1		ITO + AuNPs-C≡C + KCl (bez azydków, bez Cu ²⁺ , bez potencjału)	brak koloru
2		ITO + AuNPs-C≡C + KCl + potencjał (bez azydków, bez Cu ²⁺)	brak koloru
3		ITO + AuNPs-C≡C + Cu ²⁺ + KCl (bez azydków, bez potencjału)	brak koloru
4		ITO-N3 + AuNPs-C≡C + Cu ²⁺ + KCl + potencjał	czerwono-fioletowy
5		ITO-N3 + AuNPs-C≡C + KCl + potencjał (bez Cu ²⁺)	brak koloru
6		ITO-N3 + AuNPs-C≡C + Cu ²⁺ + KCl (bez potencjału)	brak koloru
7		ITO-N3 + AuNPs + Cu ²⁺ + KCl + potencjał (AuNPs bez -C≡C)	brak koloru
8		ITO-N3 + AuNPs-C≡C (bez Cu ²⁺ ; bez KCl; bez potencjału)	brak koloru

Dla wszystkich wyżej wymienionych badanych podłoży zarejestrowano obrazy SEM powierzchni elektrod. Dla prób kontrolnych 1-3 oraz 5-8 obrazy SEM przedstawiały „czystą” powierzchnię ITO bez obecności nanocząstek złota. Przykładowy obraz SEM dla próby kontrolnej nr 6 pokazano na Rys. 44b. Jedynie w przypadku próbki 4 (Rys. 44a) po reakcji CuAAC podłoże ITO zabarwione było na kolor czerwono-fioletowy (Tabela 2). Podobnie jak w przypadku GCE-AuNPs, reakcja pomiędzy grupami azydkowymi i alkinowymi zaszła tylko w obecności katalizatora – jonów Cu^+ . Jony Cu^{2+} są redukowane do Cu^+ przez przyłożenie odpowiedniego potencjału redukcji przez 1 h. Po tym czasie elektroda ITO jest równomiernie pokryta AuNPs, przy czym większość stanowią pojedyncze nanocząstki bez większych agregatów (Rys. 44a).

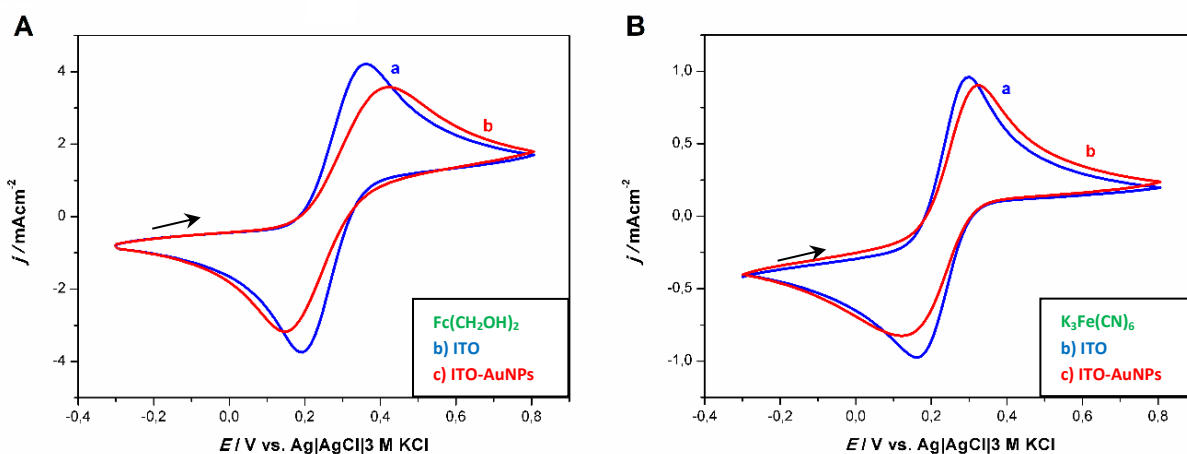


Rys. 44 Obraz SEM a) ITO-AuNPs po reakcji *click*, gdzie jony Cu^+ były generowane elektrochemicznie (czas redukcji jonów Cu^{2+} 1 h, próba kontrolna 4);
b) ITO po próbie kontrolnej 6.

Następnie powierzchnię ITO-AuNPs ograniczono za pomocą nieprzewodzącej taśmy z wyciętym otworem o średnicy 6 mm. Ograniczona taśmą powierzchnia elektrody ITO-AuNPs wynosiła $0,28 \text{ cm}^2$. Zbadano właściwości elektrody ITO-AuNPs za pomocą dwóch próbników redoks: 1,1-ferrocenodimetanolu ($\text{Fc}(\text{CH}_2\text{OH})_2$) (Rys. 45A) oraz $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (Rys. 45B). Stężenie każdego próbnika wynosiło 1 mM, a roztwory przygotowano w wodnym roztworze 0,1M KCl. Pomiary elektrochemiczne prowadzono w układzie trójelektrodowym: ITO lub ITO-AuNPs – elektroda pracująca, drut platynowy – elektroda pomocnicza (przeciwelektroda), elektroda chlorosrebrowa ($\text{Ag}|\text{AgCl}|3 \text{ M KCl}$) – elektroda odniesienia (referencyjna).

Zarejestrowane krzywe voltamperometryczne dla badanych próbników redoks na elektrodzie modyfikowanej ITO-AuNPs przedstawiono na Rys 45. Na obu wykresach zaobserwowano krzywe voltamperometryczne z dobrze wykształconymi pikami anodowymi i katodowymi dla 1,1-ferrocenodimetanolu i dla $K_3Fe(CN)_6$. Dla 1,1-ferrocenodimetanolu zarejestrowano pik anodowy przy potencjale 0,44 V i pik katodowy przy potencjale 0,15 V, a dla $K_3Fe(CN)_6$ pik anodowy przy potencjale 0,33 V i pik katodowy przy potencjale 0,12 V.

W przypadku obu próbników redoks zachodzą jednoelektronowe odwracalne reakcje redoks na elektrodach ITO oraz modyfikowanych elektrodach ITO-AuNPs (Rys. 45A i B). Na modyfikowanych elektrodach ITO-AuNPs obserwuje się przesunięcie piku redukcji (w kierunku bardziej ujemnych wartości) i piku utleniania (w kierunku bardziej dodatnich wartości) względem czystej powierzchni ITO. Różnica potencjałów pików określa czy rozpatrywany proces elektrodowy jest odwracalny, nieodwracalny czy quasi-odwracalny. W omawianym przypadku przesunięcie potencjałów pików i obniżenie prądów piku może świadczyć o częściowym blokowaniu powierzchni ITO-AuNPs dla substancji hydrofobowych (1,1-ferrocenodimetanolu) jak i hydrofilowych ($K_3Fe(CN)_6$) (inaczej niż dla elektrod GCE-AuNPs (Rys. 43)).



Rys. 45 Voltamperogramy cykliczne dla próbników redoks

A) 1 mM $Fc(CH_2OH)_2$ w 0,1 M KCl, B) 1mM $K_3Fe(CN)_6$ w 0,1 M KCl, prowadzone na elektrodach a) ITO, b) ITO-AuNPs. Powierzchnia elektrody 0,28 cm^2 , $v = 50$ mV/s.

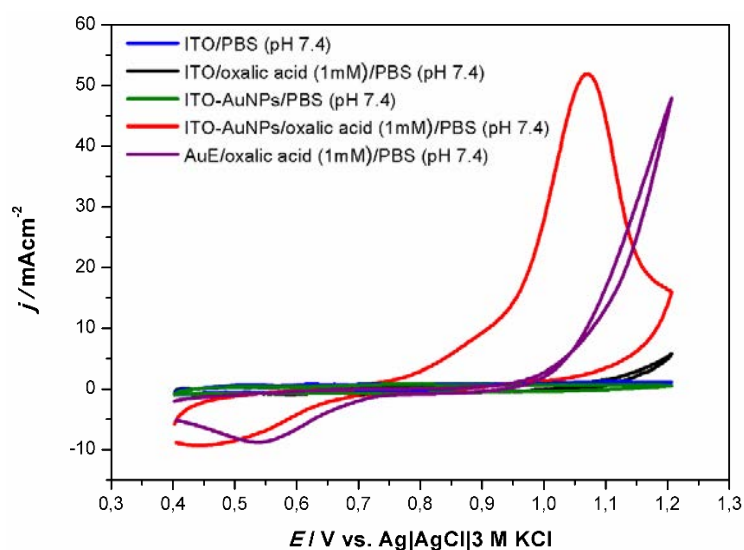
Elektrody ITO modyfikowane AuNPs w reakcji CuAAC początkowo wykorzystano do oznaczania jonów NO_2^- i SO_3^{2-} , tak jak w przypadku elektrod GCE-AuNPs, użyto 1 mM NO_2^- w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 7,0) i 1 mM SO_3^{2-} w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 7,0).

Nie zaobserwowano żadnego pików redukcji/utleniania (wyników nie zamieszczono), a krzywe woltamperometryczne były zbliżone do krzywej zarejestrowanej w samym buforze fosforanowym. Podobne krzywe dla elektrody ITO-AuNPs względem jonów NO_2^- odnotowano w literaturze.¹⁸³ Odmienne właściwości dla GCE-AuNPs i ITO-AuNPs, mogą wynikać z budowy elektrod niemodyfikowanych. Elektrody ITO należą do n-półprzewodników domieszkowanych, które zbudowane są z nośników ujemnych (elektronów) i tzw. dziur. Obecność, ilość i rodzaj domieszek wpływa na właściwości elektrochemiczne materiału elektrodowego przed i po modyfikacji. Elektrody z węgla szklanego posiadają bardzo złożoną strukturą wzajemnie splątanych mikrofibril, w których można wyróżnić płaskie fragmenty warstw grafenowych oraz tetragonalne wiązania poprzeczne, typowe dla diamentu. Różnice w budowie materiału elektrodowego mogą wpływać na ich właściwości elektrochemiczne po modyfikacji.

Elektrody ITO modyfikowane AuNPs w reakcji CuAAC wykorzystano do oznaczania kwasu szczawiowego. Kwas szczawiowy ma wiele różnorodnych zastosowań, głównie stosowany jest w przemyśle tekstylnym jako półprodukt dla wielu związków stosowanych w garbowaniu skór, barwieniu, wybielaniu materiałów. Powstaje również podczas rozpadu wielu zanieczyszczeń – związków fenolowych i ich pochodnych, barwników i olei. Kwas szczawiowy jest żrący i toksyczny, może przyczyniać się do zatrawiania wód i organizmów w nich żyjących.

Kwas szczawiowy (OA) oznaczano w wodnym roztworze 0,1 M PBS o pH 7,4. (Rys. 46). Na krzywych woltamperometrii cyklicznej zarejestrowanych na niemodyfikowanej elektrodzie ITO w buforze (ITO/PBS) oraz w 1 mM roztworze kwasu szczawiowego w PBS (ITO/oxalic acid/PBS) nie zaobserwowano pików. Podobny wynik można zauważyć dla roztworu buforowego na elektrodzie modyfikowanej nanocząstkami złota (ITO-AuNPs/PBS). Natomiast po dodaniu kwasu szczawiowego na krzywej woltamperometrycznej dla modyfikowanej nanocząstkami złota elektrodzie ITO (ITO-AuNPs/oxalic acid/PBS) zaobserwowano utlenienie kwasu szczawiowego przy potencjale 1,064 V oraz pik katodowy przy potencjale 0,5 V. Dla badanego zakresu potencjałów i w tych samych warunkach, zarejestrowano również krzywą woltamperometrii cyklicznej na elektrodzie złotej (AuE/oxalic acid/PBS). Na tej elektrodzie utlenienie kwasu szczawiowego zachodzi przy potencjale powyżej 1,2 V, zaś pik katodowy występuje przy potencjale 0,58 V. Porównując potencjały utleniania kwasu szczawiowego na obu elektrodach można wysnuć wniosek, że obecność AuNPs ułatwia ten proces. Na ITO-AuNPs zachodzi elektrokatalityczne utlenienie kwasu szczawiowego.

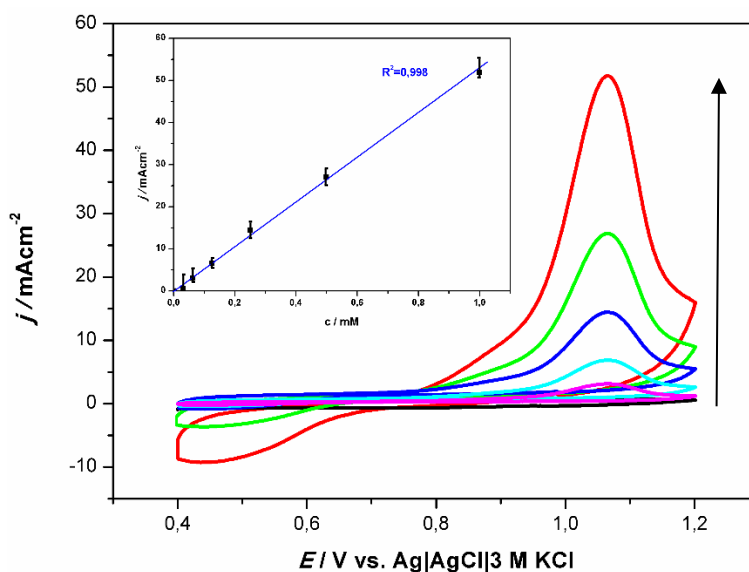
Utrudniony proces redukcji produktu reakcji może być spowodowany gorszym przewodnictwem ITO-AuNPs względem dyskowej elektrody złote lub reorganizacją AuNPs na powierzchni ITO.



Rys. 46 Krzywe voltamperometrii cyklicznej dla 0,1 M PBS (pH 7,4) oraz 1 mM kwasu szczawiowego w 0,1 M PBS, pH=7,4, prowadzone na elektrodach ITO oraz ITO-AuNPs.

Powierzchnia elektrody 0,28 cm², $\nu = 50$ mV/s.

W kolejnym kroku zbadano zależność stężeniową. Na Rys. 47 przedstawiono krzywe voltamperometrii cyklicznej dla sześciu różnych stężeń kwasu szczawiowego na elektrodzie ITO-AuNPs. Wraz ze wzrostem stężenia kwasu szczawiowego, następuje wzrost prądu piku utleniania. Zaobserwowano liniową zależność prądu anodowego od stężenia kwasu szczawiowego w zakresie 30 μ M – 1 mM (Rys. 47 wykres wstawiony). Niezależnie od stężenia kwasu szczawiowego, proces utleniania rozpoczyna się przy potencjale ok. 0,78 V.



Rys. 47 Krzywe voltamperometrii cyklicznej dla różnych stężeń kwasu szczawiowego w 0,1 M PBS, pH=7,4, prowadzone na elektrodach ITO (czarna linia) oraz ITO-AuNPs (kolorowe linie – stężenia w mM podano na wykresie). Powierzchnia elektrody 0,28 cm², $\nu = 50$ mV/s. Wykres wstawiony: Zależność gęstości prądu w funkcji stężenia kwasu szczawiowego.

Modyfikacja powierzchni ITO nanocząstkami złota w reakcji CuAAC, zmienia właściwości elektrochemiczne elektrody. Elektrody ITO-AuNPs można wykorzystywać do oznaczania ilościowego kwasu szczawiowego w biologicznym pH.

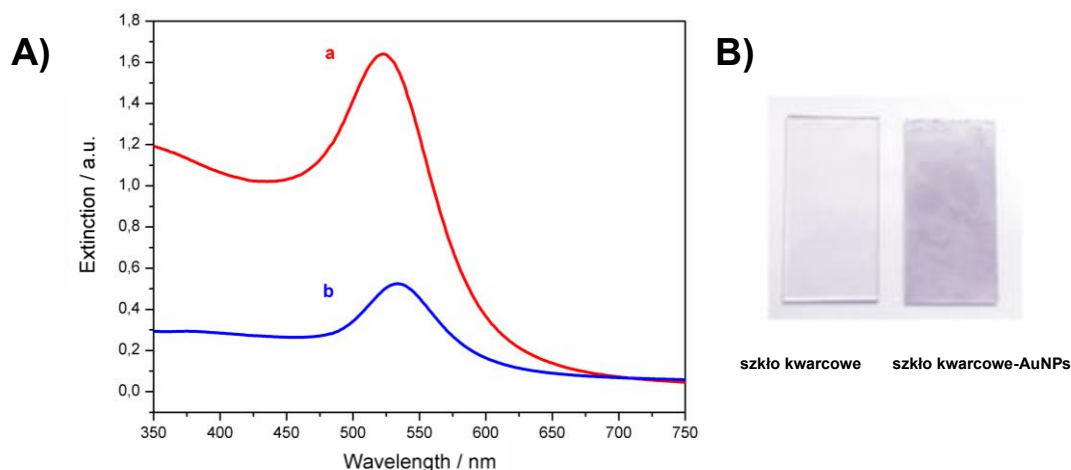
7.4.2.2 Szkło kwarcowe modyfikowane AuNPs w reakcji CuAAC

Podobnie jak dla podłoża ITO, wykonano analogiczną modyfikację grupami azydkowymi podłoża ze szkła kwarcowego. W reakcji CuAAC unieruchomiono za pomocą utworzenia triazolowego pierścienia modyfikowane alkinami nanocząstki złota (AuNPs-C≡C) na podłożu zawierającym grupy azydkowe. Jony Cu⁺ generowano chemicznie przy użyciu cytrynianu sodu i CuSO₄. Reakcję CuAAC prowadzono przez 12 h.

Zmodyfikowane powierzchnie szkła kwarcowego (Rys. 48B) po reakcji CuAAC miały czerwono-fioletowe zabarwienie. Zaobserwowano, że szklane podłoże jest równomiernie pokryte AuNPs na całej modyfikowanej powierzchni.

Rysunek 48 przedstawia widmo UV-vis podłoża szklanego z unieruchomionymi AuNPs umieszczonego w wodzie oraz AuNPs rozdyspergowanych w wodzie (Rys. 48Ab).

Na obu widmach zarejestrowano charakterystyczne pasmo absorpcji dla AuNPs. W przypadku unieruchomionych na szkłe w reakcji CuAAC znajduje się ono przy 534 nm i jest przesunięte w stronę dłuższych fal względem zawiesiny nanocząstek w wodzie (523 nm).



Rys. 48 A) Widma UV-vis a) AuNPs rozdyspergowanych w wodzie, b) AuNPs unieruchomionych na szkłe kwarcowym w reakcji CuAAC i włożonych do kuwety z wodą. B) Porównanie czystego szkła kwarcowego i szkła kwarcowego modyfikowanego nanocząstkami złota w reakcji CuAAC.

W celu potwierdzenia trwałego kowalencyjnego przyłączenia się AuNPs do podłoża szklanego w reakcji CuAAC przeprowadzono również próby kontrolne. Wykonano kombinację eksperymentów zestawionych poniżej:

- 1) szklane podłoże zanurzone do roztworu AuNPs-C≡C w obecności 20 μM CuSO_4 (bez reduktora) na 12 h,
- 2) szklane podłoże modyfikowane grupami azydkowymi zanurzone do roztworu AuNPs-C≡C w obecności 1 mM askorbinian sodu (bez CuSO_4) na 12 h,
- 3) szklane podłoże modyfikowane grupami azydkowymi zanurzone do roztworu AuNPs (niemodyfikowanych grupami alkinowymi) w obecności 20 μM CuSO_4 i 1 mM askorbinian sodu na 12 h,
- 4) szklane podłoże zanurzone do roztworu modyfikowanych AuNPs w obecności 20 μM CuSO_4 i 1 mM askorbinian sodu na 12 h.

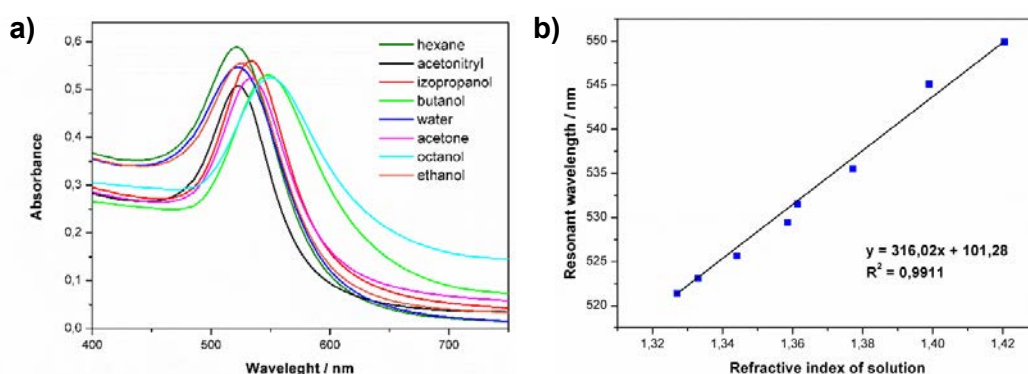
Dla powyższych prób kontrolnych nie zaobserwowano zmiany koloru powierzchni podłoża szklanego – badane próbki wyglądały jak czyste szkło kwarcowe (Rys. 48B). Zmierzone widma absorpcji nie przedstawiały pasma absorpcji charakterystycznego dla AuNPs (widm prób kontrolnych nie zamieszczono).

W wykonanych eksperymentach AuNPs nie związały się z powierzchnią szkła kwarcowego oraz nie zaadsorbowały na jego powierzchni.

Unieruchamianie nanomateriałów na podłożach ze szkła kwarcowego można wykorzystać do zastosowań sensorowych w czujnikach optycznych śledząc zmiany położenia pasma LSPR, wynikające ze zmiany współczynnika załamania światła (RI) ośrodka otaczającego nanocząstkę metalu. W ten sposób można tworzyć optyczne czujniki o wysokiej czułości.¹¹⁹

W celu określenia czułości otrzymanych podłoży zmierzono widma ekstynkcji szkła kwarcowego modyfikowanego nanocząstkami złota (glass-AuNPs) w reakcji CuAAC. Podłoże wkładano do kuwety i mierzono widmo w wybranych rozpuszczalnikach różniących się współczynnikiem załamania światła.

Na Rys. 49a przedstawiono widma UV-vis AuNPs unieruchomionych na szkle kwarcowym w reakcji CuAAC w zależności od zmiany współczynnika załamania światła ośrodka, w którym umieszczono podłoże. Dla wody położenie maksimum absorpcji pasma LSPR jest przy 520 nm. Położenie maksimum absorpcji ulega przesunięciu wraz ze zmianą współczynnika załamania światła ośrodka. Następnie na podstawie danych eksperymentalnych wyznaczono krzywą nachylenia, która pozwoliła określić czułość czujnika na zmiany współczynnika załamania światła (ang. *refractive index sensitivity*, *RIS*), która wyniosła 316 nm/RIU (Rys. 49b). Czułość badanego czujnika na szklanym podłożu jest zadowalająca i wysoka w porównaniu do innych czujników opartych o nanocząstki metaliczne unieruchomione na szklanym podłożu.¹¹⁹



Rys. 49 a) Widma UV-vis AuNPs unieruchomionych na szkle w reakcji CuAAC w różnych rozpuszczalnikach. b) Rezonansowa długości fali LSPR w funkcji współczynnika załamania światła w wybranych rozpuszczalnikach.

7.5 Podsumowanie cykloaddycji CuAAC

Przedstawione w pracy badania są przykładem zastosowania reakcji cykloaddycji azydek-alkin katalizowanej jonami miedzi(I) (CuAAC) do unieruchamiania nanocząstek złota na różnych powierzchniach stałych tj GCE, ITO czy szkło kwarcowe. Wymaga to modyfikacji powierzchni nanocząstek grupami alkinowymi, zaś podłoża stałego grupami azydkowymi.

Przebieg reakcji CuAAC pomiędzy azydkami i terminalnych alkinami prowadzący do utworzenia 4-dipodstawionego pierścienia 1,2,3-triazolowego jest możliwy tylko w obecności katalizatora – jonów miedzi(I).

Jonów tych nie da się bezpośrednio wprowadzić do roztworu, w którym ma przebiegać reakcja CuAAC, stąd też jony miedzi(I) generowano chemicznie lub elektrochemicznie. Chemiczne otrzymywanie jonów miedzi(I) prowadzono poprzez redukcję $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ za pomocą askorbinianu sodu, zaś elektrochemiczne poprzez przyłożenie do powierzchni elektrody odpowiedniego potencjału powodującego redukcję jonów miedzi(II) do jonów miedzi(I). Na drodze eksperymentalnej, opracowano warunki reakcji CuAAC, które porównano w Tabeli 3.

Tabela 3. Porównanie warunków reakcji CuAAC w zależności od sposobu generowani katalizatora.

Warunki prowadzenia reakcji CuAAC oraz porównanie wyników	Jony miedzi(I) generowane chemicznie	Jony miedzi(I) generowane elektrochemicznie
Objętość modyfikowanych AuNPs	3 ml	4 ml
Prekursor miedzi(II) i jego stężenie	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (20 μM)	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (0,25 μM)
Obecność innych odczynników w roztworze	brak	KCl (3,75 μM) (jako elektrolit podstawowy)
Sposób redukowania jonów miedzi(II)	Czynnik redukujący: askorbinian sodu (1 mM)	Potencjał redukcji: -0,12 V względem Ag AgCl 3 M KCl
Czas prowadzenia reakcji CuAAC	1 min, 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 1 h, 1,5 h, 3 h, 6 h, 9 h, 12 h	
Stopień pokrycia elektrody po 1 min	0%	0,03% (\pm 0,009%)
Stopień pokrycia elektrody po 1h	0,02% (\pm 0,008%)	1,15% (\pm 0,184%)
Całkowity stopień pokrycia elektrody po 12h	1,7% (\pm 0,490%)	26% (\pm 5,712%)
Stopień agregacji	~2 (1 min – 12 h)	~2 (1 min – 6 h) ~10 (9 – 12 h)

W obydwu metodach stężenie prekursora miedzi było zbliżone. Elektrochemiczne generowanie katalizatora znacznie skróciło czas reakcji CuAAC w porównaniu do chemicznego generowania jonów miedzi(I). Pierwsze AuNPs przyłączone do elektrody, zaobserwowano już po 1 minucie reakcji CuAAC. Stosując elektrochemiczne generowanie jonów miedzi(I), już po 1h można uzyskać podobny stopień pokrycia elektrody, jak dla 12h metody chemicznej. Całkowity stopień pokrycia elektrody po 12h elektrochemicznego generowania jonów miedzi(I) jest ok. 15-krotnie większy niż dla chemicznej metody. Można wnioskować, że elektrochemicznie inicjowana reakcja CuAAC zachodzi szybciej i z większą wydajnością.

Dla obu sposobów generowania jonów miedzi(I) stopień agregacji osadzanych AuNPs na powierzchni elektrod jest niewielki i niezależny od czasu prowadzenia reakcji w przypadku chemicznego generowania jonów miedzi(I). Podobny stopień agregacji AuNPs zaobserwowano dla elektrogenerowanych jonów miedzi(I), gdy czas reakcji wynosił między 1 min. a 6 h. Przy dłuższym czasie elektrogenerowania katalizatora zaobserwowano znaczny wzrost stopnia agregacji.

Zmodyfikowane w reakcji CuAAC elektrody GCE-AuNPs, wykorzystano jako czujniki elektrochemiczne do oznaczania jonów azotanowych(III) i jonów siarczanowych(IV). Potencjały utleniania badanych jonów są położone blisko siebie, co powoduje nakładanie się sygnałów i uniemożliwia ich rozróżnienie. Problem ten rozwiązano poprzez modyfikację elektrody GCE-AuNPs. Zaobserwowano pik katodowy odpowiadający utlenianiu jonów NO_2^- przy potencjale (0,897 V względem $\text{Ag}|\text{AgCl}|3 \text{ M KCl}$), natomiast dla jonów SO_3^{2-} nie obserwowano żadnego piku. Modyfikacja elektrody GCE w reakcji CuAAC, zmieniła właściwości elektrody oraz umożliwiła wymianę elektronów jedynie pomiędzy jonami NO_2^- i elektrodą.

Dodatkowo, sposób generowania jonów Cu^+ w reakcji CuAAC nie wpływał na selektywność, lecz na czułość elektrod GCE-AuNPs. Porównując odpowiedzi chronoamperometryczne procesu elektROUTLENIANIA, wartości prądów na elektrodach GCE-AuNPs, gdzie jony Cu^{2+} redukowano elektrochemicznie przez 12 h, były prawie siedmiokrotnie wyższe niż dla GCE-AuNPs, gdzie jony Cu^{2+} redukowano chemicznie (przez taki sam czas). Różnice te wynikają z różnego stopnia pokrycia powierzchni modyfikowanych elektrod AuNPs.

Kolejne badania pokazały, że reakcja CuAAC nadaje się także do modyfikacji transparentnych podłoży przewodzących i nieprzewodzących za pomocą nanocząstek złota.

Modyfikowaną elektrodę ITO-AuNPs wykorzystano jako czujnik do oznaczania kwasu szczawiowego. Podłoża ze szkła kwarcowego modyfikowane AuNPs wykazują dużą czułość na zmianę współczynnika załamania światła, dlatego można wykorzystać je do budowy czujników optycznych bazujących na śledzeniu zmiany położenia pasma LSPR.

Część wyników prezentowanych w tym rozdziale została opublikowana w dwóch artykułach, które ukazały się w *Electrochemistry Communications* w 2014 roku (tom 48, str. 73) i w 2015 roku (tom 53, str. 20).

8. Czujniki optyczne do oznaczania jonów Hg^{2+} w roztworach wodnych

Anizotropowe nanostruktury metali szlachetnych wykazują większą czułość na zmiany współczynnika załamania światła otaczającego je ośrodka w stosunku do nanocząstek kulistych. Celem niniejszych badań było wykorzystanie właściwości optycznych wybranych anizotropowych nanostruktur złota i srebra do zastosowań sensorowych.

W poniższym rozdziale przedstawiono badania nad syntezą anizotropowych nanostruktur: nanokostek złota (AuNCs), nanokostek srebra (AgNCs) i nanotrójkątów srebra (AgNPLs). Efektem tych prac było zastosowanie nanostruktur jako elementów czujników optycznych do oznaczania jonów Hg^{2+} w roztworach wodnych z niskim limitem detekcji.

8.1 Synteza i charakterystyka nanostruktur złota i srebra

8.1.1 Nanokostki złota

Nanokostki złota (AuNCs) zsyntezowano wykorzystując wieloetapową metodę wzrostu zarodków (ang. *seed-mediated growth*) w wodzie, zgodnie z procedurą literaturową.¹⁸⁴

Synteza zarodków: Przygotowano 10 ml wodnego roztworu zawierającego $2,5 \times 10^{-4}$ M HAuCl_4 i 0,1 M CTAC. Równocześnie przygotowano 10 ml 0,02 M wodnego roztworu NaBH_4 . Mieszając roztwór HAuCl_4 -CTAC dodano 0,45 ml roztworu NaBH_4 . Otrzymany roztwór natychmiast stał się brązowy, co wskazuje na utworzenie się zarodków złota. Roztwór przechowywano przez 1 godzinę w 30 °C w celu rozłożenia nadmiaru borowodoru sodu.

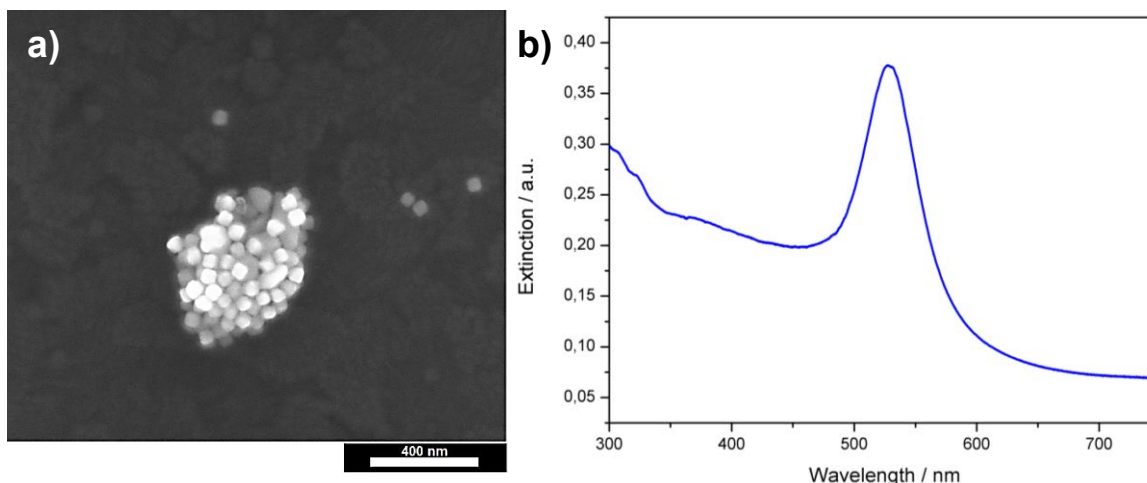
Synteza nanokostek złota: Przygotowano dwie fiołki, oznaczone jako A i B. W każdej z nich przygotowano roztwór do wzrostu zawierający: 0,32 g CTAC, 9,625 ml H_2O , 250 μl 0,01 M HAuCl_4 oraz 10 μl 0,01 M NaBr oraz 90 μl 0,04 M kwasu askorbinowego. Reakcję prowadzono w temperaturze 30 °C. Całkowita objętość roztworu w każdej fiołce wynosiła 10 ml. Po dodaniu kwasu askorbinowego kolor roztworu stał się bezbarwny, co wskazuje na redukcję Au^{3+} do Au^+ . Następnie do roztworu w fiołce A dodano 25 μl roztworu zarodków i roztwór wstrząsano (~5 s) do zmiany koloru na jasnoróżowy.

Następnie 25 μl zawiesiny z fiolki A przeniesiono do fiolki B mieszając przez ~ 10 s. Roztwór przechowywano 15 minut w folii aluminiowej w celu otrzymania nanokostek złota. Otrzymane nanostruktury odwirowano (15 minut, 5000 rpm), usunięto nieprzereagowane substraty reakcji biorące udział w syntezie, a pozostałość ponownie rozdyspergowano w wodzie. Odwirowane nanokostki złota przed dalszym użyciem dodatkowo oczyszczano. Odwirowany 1 ml wodnej zawiesiny AuNCs ekstrahowano trzy razy dichlorometanem (w stosunku objętościowym 1:2).

Tworzenie nanokostek złota metodą wzrostu zarodków następuje poprzez powstanie zarodków i ich wzrost w strukturę o określonym kształcie. W pierwszym etapie syntezy zastosowano zarodkowanie heterogeniczne. Do wytworzenia zarodków użyto roztworu borowodorku sodu, który jest silnym reduktorem. Redukcja HAuCl_4 w obecności NaBH_4 prowadzi do tworzenia atomów złota, które samoorganizują się w małe klastry i dalej rozwijają się w stabilne zarodki. Zarodki te są niewielkimi (kilka nm), monodispersyjnymi cząstkami stabilizowanymi przez CTAC. Są stabilne przez wiele godzin, a ich porcje można pobierać do kolejnych syntez nanokostek złota. W kolejnym etapie syntezy (etap wzrostu w fiolce A i B), zarodki dodaje się do roztworu HAuCl_4 zawierającego: CTAC (czynnik stabilizujący i kierujący kształtem), kwas askorbinowy (reduktor) i bromek sodu (czynnik kierujący kształtem). Po dodaniu zarodków do pierwszego roztworu wzrostu (fiolka A) rozpoczyna się reakcja wzrostu zarodków (powstaje produkt przejściowy). Po około 5 s początkowo bezbarwny roztwór w fiolce A staje się bladoróżowy ze względu na postęp wzrostu cząstek złota. Następnie, zarodki z fiolki A należy dodać do ostatniego roztworu wzrostowego (fiolka B), w którym ostatecznie powstają monodispersyjne nanokostki złota.

Pozostała objętość próbki pierwszego roztworu wzrostu (fiolka A) staje się czerwona i nie może być stosowana do dalszych syntez, ponieważ cząstki wykazują nieregularną geometrię.¹⁸⁵ Z tego powodu pierwszy etap wzrostu (fiolka A) należy powtarzać dla każdego eksperymentu. W trakcie syntezy nanokostek złota metodą wzrostu zarodków, zastosowano środek powierzchniowo czynny CTAC. Wysokie stężenie CTAC i niskie stężenie bromku, pozwala uzyskać monodispersyjne nanokostki złota z wysoką wydajnością.¹⁸⁴

Rys. 50a przedstawia obraz SEM otrzymanych nanostruktur złota, których kształt przypomina sześciiany (kostki). Długość krawędzi otrzymanych struktur wynosi ~54 nm. Większość otrzymanych nanostruktur w próbce to homogeniczne nanokostki złota, ale pojawiają się również inne nanostruktury. Rys. 50b ilustruje widmo absorpcji, na którym znajduje się jedno pasmo z maksimum absorpcji przy długości fali 529 nm. Porównując z literaturą położenie pasma – potwierdzono, że uzyskane nanocząstki to nanokostki złota.¹⁸⁶



Rys. 50 a) Obraz SEM nanokostek złota. b) Widmo UV-vis nanokostek złota.

8.1.2 Nanokostki srebra

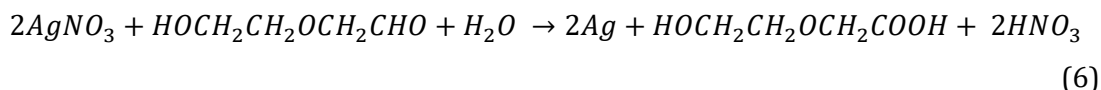
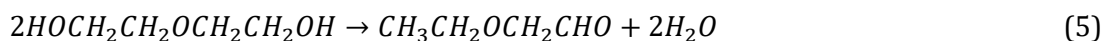
Nanokostki srebra (AgNCs) syntezowano poprzez redukcję AgNO_3 rozpuszczonego w glikolu dietylenowym (DEG) zgodnie ze zmodyfikowaną procedurą literaturową.¹⁸⁷

Synteza nanokostek srebra: 6 ml glikolu dietylenowego ogrzewano przez godzinę na mieszadle magnetycznym w łaźni olejowej w 150 °C.

Do ogrzanego roztworu wprowadzono 100 μl NaHS (3 mM w DEG). Po 8 minutach dodano 1,5 ml poli(winylopirolidon) (PVP) (20 mg/ml w DEG), a następnie 0,5 ml AgNO_3 (0,28 M w DEG). Po 15 minutach reakcję przerwano przez umieszczenie kolby w łaźni lodowo-wodnej.

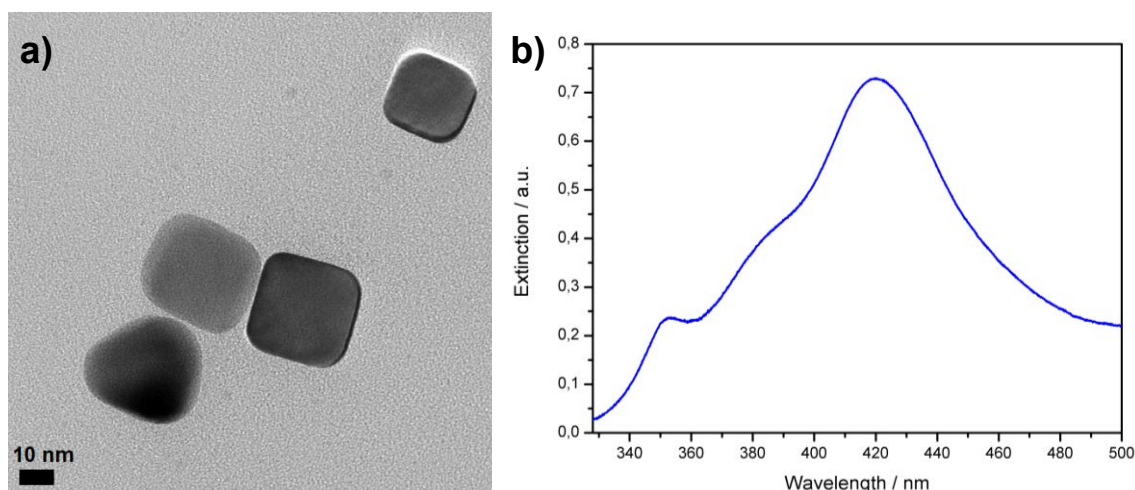
Oczyszczanie nanokostek srebra: Nanokostki srebra przed dalszym użyciem dodatkowo oczyszczano. W tym celu 100 μl zawiesiny AgNCs rozdyspergowano w 900 μl acetonu, odwirowano (15 minut, 8000 rpm) i ponownie rozdyspergowano AgNCs w wodzie destylowanej.

W trakcie polioliowej syntezy nanokostek srebra, glikol dietylenowy występuje jako rozpuszczalnik i reduktor. W temperaturze 150 °C grupa hydroksylowa utlenia się do grupy aldehydowej, która dalej utlenia się do grupy karboksylowej. To powoduje redukcję jonów srebra (Ag^+) i powstawanie atomów metalu Ag:



Obecne w roztworze jony wodorosiarczkowe (HS^-) szybko reagują z jonami Ag^+ , tworząc nierozpuszczalne skupiska Ag_2S . Powstające skupiska Ag_2S służą jako miejsca dla szybkiego zarodkowania heterogenicznego atomów Ag, tworząc monokrystaliczne nanokostki srebra (ang. *single-crystal nanocubes*). Natomiast PVP obecny w roztworze, służy do stabilizacji powstających nanokostek srebra (adsorbując się na ścianach krystalograficznych (100)).

Rys. 51a) przedstawia obraz TEM zsyntezowanych nanostruktur, które mają kształt sześcianów (kostek). Długość krawędzi otrzymanych struktur wyniosła ~ 32 nm. Większość otrzymanych nanostruktur w próbce to homogeniczne nanokostki, ale pojawiają się również niewykształcone w pełni nanokostki lub nanocząstki srebra.



Rys. 51a) Obraz TEM nanokostek srebra. b) Widmo UV-vis nanokostek srebra.

Wyznaczone metodą DDA¹⁸⁸ widmo LSPR dla nanokostek srebra o długości boku 40 nm wykazuje trzy piki absorpcji: główny pik rezonansu dipolowego przy ~ 500 nm, kwadrupolowy pik rezonansowy przy ~ 450 nm i najmniejszy pik przypisywany do rezonansu trybu hybrydowego zawierający składnik zarówno dipolowy i kwadrupolowy przy ~ 370 nm.¹⁸⁸

Rys. 51b ilustruje widmo absorpcji zsyntezowanych nanokostek srebra, na którym widoczne są trzy pasma kolejno przy 350,6 nm (o najmniejsze intensywności przypisywane do rezonansu trybu hybrydowego zawierające składnik zarówno dipolowy i kwadrupolowy) 378,6 nm (pasmo rezonansu kwadrupolowego) i 420,7 nm (pasmo rezonansu dipolowego). Na tej podstawie można stwierdzić, że otrzymane struktury to nanokostki srebra. Zgodnie z obliczeniami DDA, dipolowe pasmo nanokostek srebra jest przesunięte w stronę podczerwieni w porównaniu z pasmem dipolowym dla nanocząstek, co jest spowodowane ostrymi wierzchołkami nanokostek.¹⁸⁸ Jak pokazano na Rys. 51a), w próbce nanokostek srebrnych obecne są również inne nanostruktury. Dodatkowe struktury mogą zmieniać pozycję pasm absorpcji nanokostek w porównaniu do widm symulowanych metodą DDA.¹⁸⁸

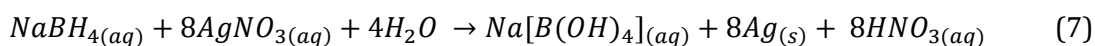
8.1.3 Nanotrójki srebra

Nanotrójki srebra (AgNPLs) syntezowano podobnie do procedury opisanej w literaturze.²¹

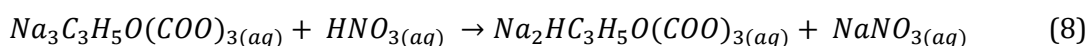
Synteza nanotrójki srebra: Do fiolki ze szkła oranżowego (40 ml) wprowadzono kolejno następujące wodne roztwory: azotan srebra (AgNO_3 ; 0,1 mM, 25 ml), cytrynian trójsodowy (TSC; 30mM, 1,5 ml), poli(winylopirolidon) (PVP Mw ~29000 g/mol; 0,7 mM, 1,5 ml), nadtlenek wodoru (H_2O_2 ; 30%, 60 μl) i intensywnie mieszano w temperaturze pokojowej. Następnie szybko wstrzyknięto roztwór borowodoreku sodu (NaBH_4 ; 100 mM, 100 μl) i po kilku sekundach bezbarwny roztwór zabarwił się na kolor słomkowy. Po 30 minutach intensywnego mieszania słomkowy roztwór zmienił kolor na ciemnożółty, co zgodnie z opisem zawartym w literaturze świadczy o utworzeniu nanocząstek srebra. Następnie w ciągu kilku sekund roztwór zmienił barwę na czerwoną, a następnie w niebieską.

Oczyszczanie nanotrójki srebra: 1 ml zawiesiny otrzymanych nanostruktur odwirowano (15 minut, 2000 rpm) i ponownie rozdyspergowano w wodzie.

Tworzenie nanotrójkątów srebra w trakcie chemicznej redukcji jonów srebra zachodzi stopniowo poprzez przekształcanie się koloidalnych nanocząstek srebra w nanotrójkąty, których wielkość i grubość można kontrolować poprzez dobór substratów reakcji oraz ich stężenia. Powyżej opisany proces zachodzi według poniższych reakcji. W obecności borowodorku sodu następuje redukcja jonów srebra:

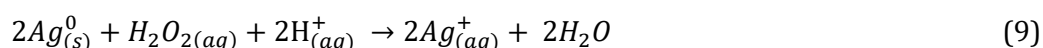


Zredukowane jony srebra tworzą atomy srebra, które zaczynają łączyć się, tworząc nanocząstki w obecności czynników stabilizujących (cytrynianu sodu i PVP) oraz czynników odpowiedzialnych za kształt i wielkość (H_2O_2). Nadmiar cytrynianu sodu działa jako bufor, aby utrzymać obojętne lub słabo zasadowe pH roztworu przez reakcję z kwasem azotowym w miarę jego wytwarzania:

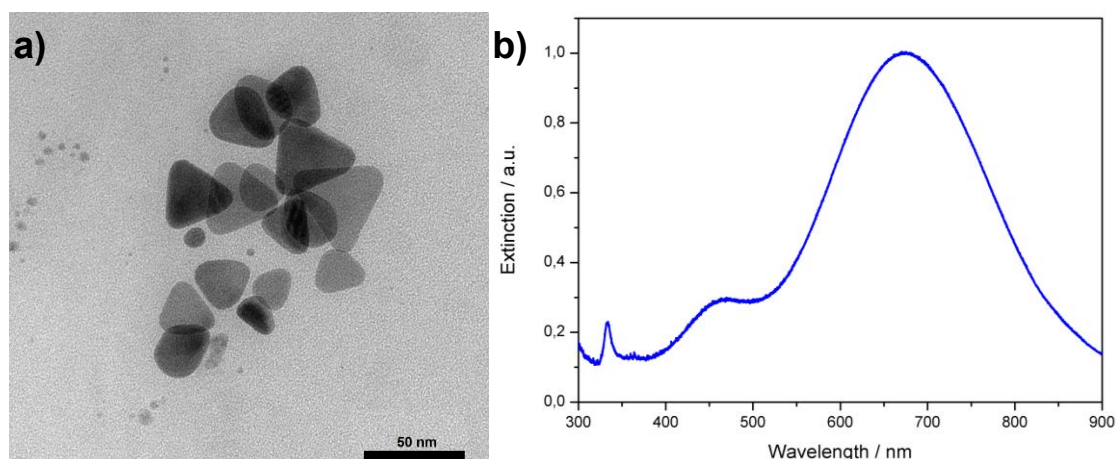


Oprócz działania jako bufor, cytrynian sodu stabilizuje nanotrójkąty srebra, powodując odpychanie nanocząstek. Najpierw cytrynian tworzy kompleks ze srebrem, a następnie łączy się z jonami Ag^+ na powierzchni rosnącej nanocząstki, czyniąc powierzchnię ujemnie naładowaną i zapobiegając agregacji nanocząstek.

Nadtlenek wodoru służy jako środek trawiący i umożliwia tworzenie nanostruktur o wybranym kształcie. Nowo utworzone mniej stabilne nanocząstki srebra są trawione nadtlenkiem wodoru, co zapewnia równowagę między redukcją srebra borowodorkiem sodu, a utlenianiem srebra nadtlenkiem wodoru:



Rys. 52a) przedstawia obraz TEM otrzymanych nanostruktur srebra, których kształty w większości przypominają trójkąty o zaokrąglonych wierzchołkach. Grubość nanostruktur wynosi ~ 8 nm, natomiast długość krawędzi ~ 35 nm. W próbce pojawiają się również niewykształcone w pełni trójkąty przypominające swoim wyglądem płaskie płytki.



Rys. 52a) Obraz TEM nanotrójekątów srebra. b) Widmo UV-vis nanotrójekątów srebra.

Rys. 52 b) ilustruje widmo absorpcji nanotrójekątów srebra rozdyspergowanych w wodzie po oczyszczeniu. Widmo absorpcji nanotrójekątów srebra składa się z trzech pasm przy 335 nm (pasmo rezonansu kwadrupolowego poza płaszczyzną¹⁸⁹), 469 nm (pasmo rezonansu kwadrupolowego w płaszczyźnie¹⁸⁹) i 675nm (pasmo rezonansu dipolowego w płaszczyźnie¹⁸⁹). Im bardziej ostre wierzchołki nanotrójekątów srebra, tym pasmo dipolowe jest bardziej przesunięte w stronę podczerwieni. Pasma kwadrupolowe w płaszczyźnie jest bardziej przesunięte w stronę nadfioletu w porównaniu do innych doniesień literaturowych^{190,191}. Położenie tego pasma znajduje się w pobliżu położenia pasma charakterystycznego dla zarodków nukleacji. Świadczy to o obecności niewykształconych zarodków nukleacji, które w trakcie wzrostu nie osiągnęły struktury zbliżonej do nanotrójekątów. Położenie i wygląd pasma dipolowego zależy od kształtu AgNPLs. Kiedy wzrasta rozmiar ściętego wierzchołka nanotrójekąta (ang. *snip*), następuje znaczne przesunięcie tego pasma w stronę nadfioletu. Poprzez takie skrócenie brzegów, cząstka staje się bardziej podobna do spłaszczonego walca.

8.2 Oznaczanie jonów Hg^{2+} w roztworach wodnych

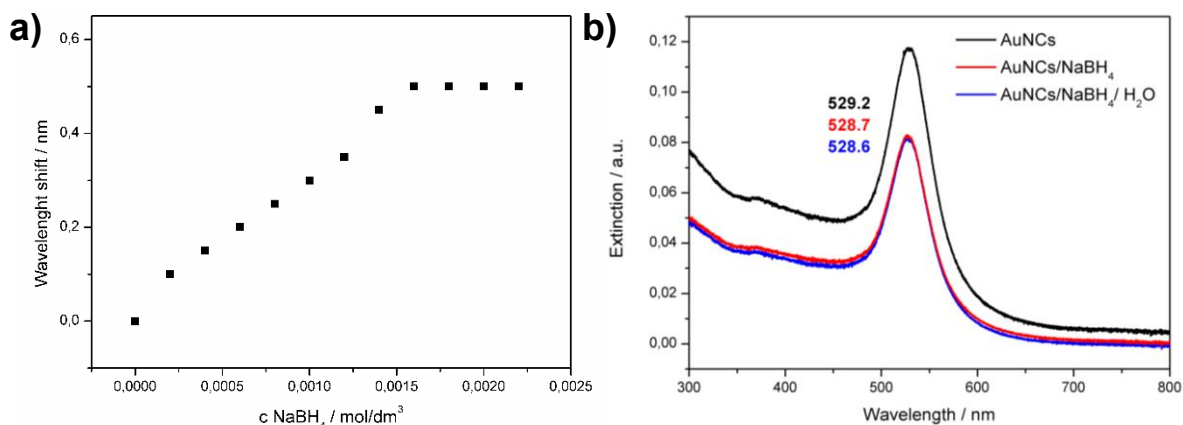
Jak przedstawiono w Rozdz. 3, ze względu na zdolność do tworzenia amalgamatów, nanostruktury złota i srebra mogą służyć do wykrywania jonów rtęci w próbkach wody.

Zsyntezowane anizotropowe nanostruktury zastosowano jako elementy czujników optycznych do oznaczania jonów Hg^{2+} w wodnych roztworach. W tym celu badano zmiany położenia pasm LSPR nanostruktur w obecności analitu oraz jonów przeszkadzających.

8.2.1 Nanokostki złota

Obecność borowodoru sodu w wodnej zawieszynie nanostruktur metalicznych jest niezbędna do redukcji Hg^{2+} do Hg^0 . Przed etapem wykrywania jonów Hg^{2+} w próbkach wodnych, konieczne jest uzyskanie stabilnego widma UV-vis zawieszyny AuNCs/ NaBH_4 . Wartość stężenia NaBH_4 ustalono na drodze eksperymentalnej. Do kuwet z wodną zawieszyną AuNCs (1 ml) dodawano stałą objętość (0,5 ml) NaBH_4 o różnych stężeniach w zakresie od 0,1 do 2,5 mM. Następnie roztwór mieszano i rejestrowano widma absorpcji zawieszyny AuNCs/ NaBH_4 w czasie. Widma dla każdego stężenia NaBH_4 rejestrowano trzy razy. Roztwory w kuvecie po dodaniu reagentów były mieszane (podczas rejestracji widma UV-vis mieszanie było wyłączone).

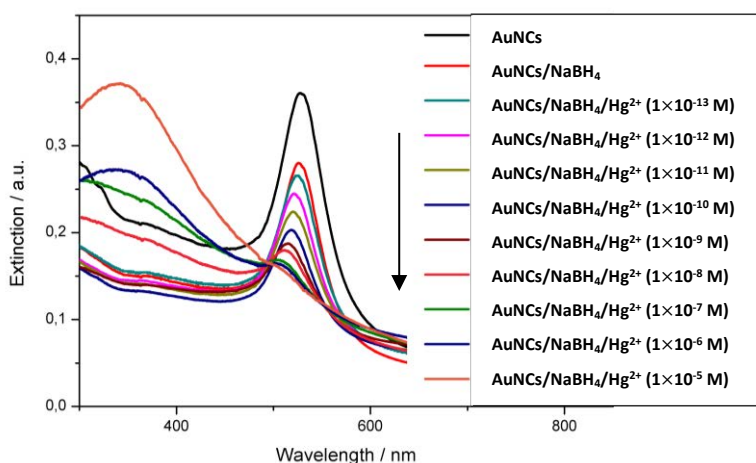
Na podstawie badań ustalono, że 20 minut to czas potrzebny do stabilizacji sygnału. Wykazano, że położenie pasma absorpcji AuNCs osiąga *plateau* dla stężenia powyżej 1,55 mM NaBH_4 ($\sigma = \pm 0,2$ nm dla pasma dipolowego) (Rys. 53a). Chcąc zapewnić całkowitą redukcję jonów Hg^{2+} w próbkach wodnych AuNCs/ NaBH_4 do dalszych badań stosowano nadmiar NaBH_4 (dodawano 1,65 mM NaBH_4). NaBH_4 jest silnym środkiem redukującym, który powoduje również redukcję jakiegokolwiek pozostałej utlenionej postaci Au do Au^0 . Skutkuje to przesunięciem maksimum absorpcji AuNCs w stronę nadfioletu od 529,2 nm do 528,7 nm (Rys. 53b). Po dodaniu do mieszaniny AgNCs/ NaBH_4 1 μl wody (Rys. 53b, niebieska linia) zaobserwowano jedynie nieznaczny spadek absorpcji związany z rozcieńczeniem próbki, natomiast położenie pasma LSPR nie uległo zmianie.



Rys. 53a) Przesunięcie długości fali dla pasma dipolowego AuNCs w funkcji stężenia NaBH₄.

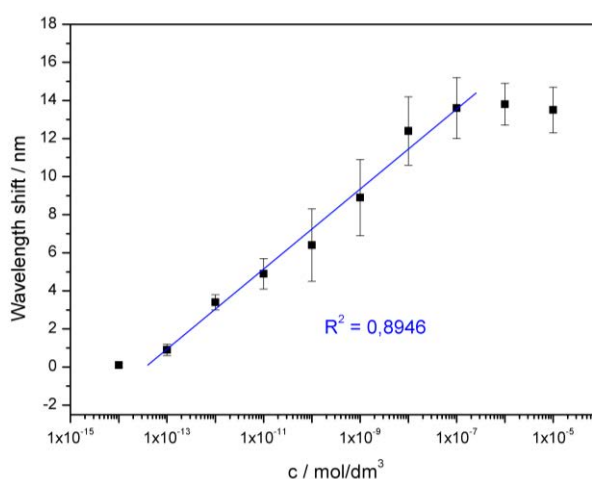
b) Widmo UV-vis zawiesiny AuNCs, AuNCs/NaBH₄ i AuNCs/NaBH₄ po dodaniu 1 μl H₂O.

Po uzyskaniu stabilnego widma absorpcji AuNCs/NaBH₄ w dalszym etapie badano wpływ dodatku stężenia jonów rtęci na właściwości optyczne zawiesiny AuNCs/NaBH₄. Każdorazowo do zawiesiny dodawano po 1 μl Hg²⁺ z zakresu stężeń 1×10⁻¹⁴ – 1×10⁻⁵ M i dokonywano pomiaru po 20 min. Zaobserwowano spadek absorpcji związany z rozcieńczaniem zawiesiny oraz przesunięcie pasma dipolowego w stronę nadfioletu wraz ze zwiększeniem stężenia jonów Hg²⁺ w badanej próbce. Przesunięcie to jest skutkiem zmiany struktury AuNCs i stałej dielektrycznej wokół nanostruktury (Rys. 54).¹⁹² Podobny efekt zaobserwowano w pracy Liu *et al.*¹⁹³ i Sangaonkar *et al.*¹⁹⁴.



Rys. 54 Widma absorpcji zawiesin AuNCs, AuNCs/NaBH₄ i AuNCs/NaBH₄ z różnymi stężeniami HgCl₂ (1×10⁻¹³ - 1×10⁻⁵ M).

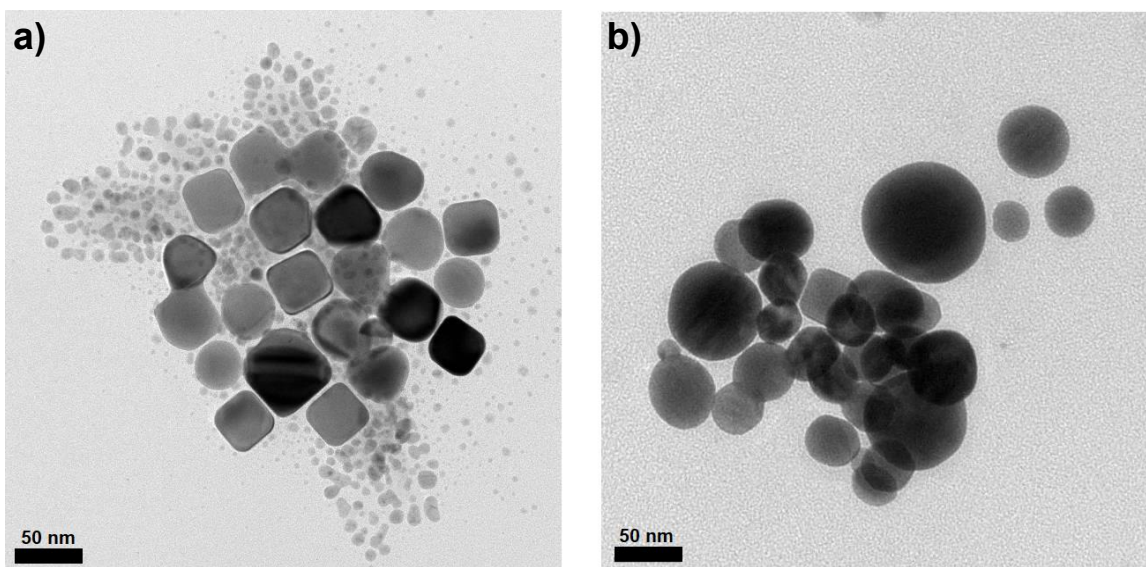
Na podstawie analizy widm UV-vis wykreślono krzywą kalibracji, jako przesunięcie pasma dipolowego leżącego przy ~ 525 nm w funkcji stężenia molowego jonów Hg^{2+} (Rys. 55). Wyznaczono zakres liniowej zależności przesunięcia maximum położenia pasma absorpcji w zakresie stężeń jonów Hg^{2+} od 1×10^{-11} do 1×10^{-7} M (Rys 55). Dla wyższych stężeń Hg^{2+} (1×10^{-7} – 1×10^{-5} M) na widmach zaobserwowano dominujące drugie pasmo przy około ~ 350 nm. Jednocześnie w zakresie stężeń Hg^{2+} 1×10^{-7} – 1×10^{-5} M, przesunięcie maksimum pasma dipolowego (~ 520 nm) zmieniało się nieznacznie.



Rys. 55 Krzywa kalibracji przedstawiająca przesunięcie maksimum dipolowego pasma absorpcji LSPR przy długości fali 520 nm względem wzrastającego stężenia Hg^{2+} .

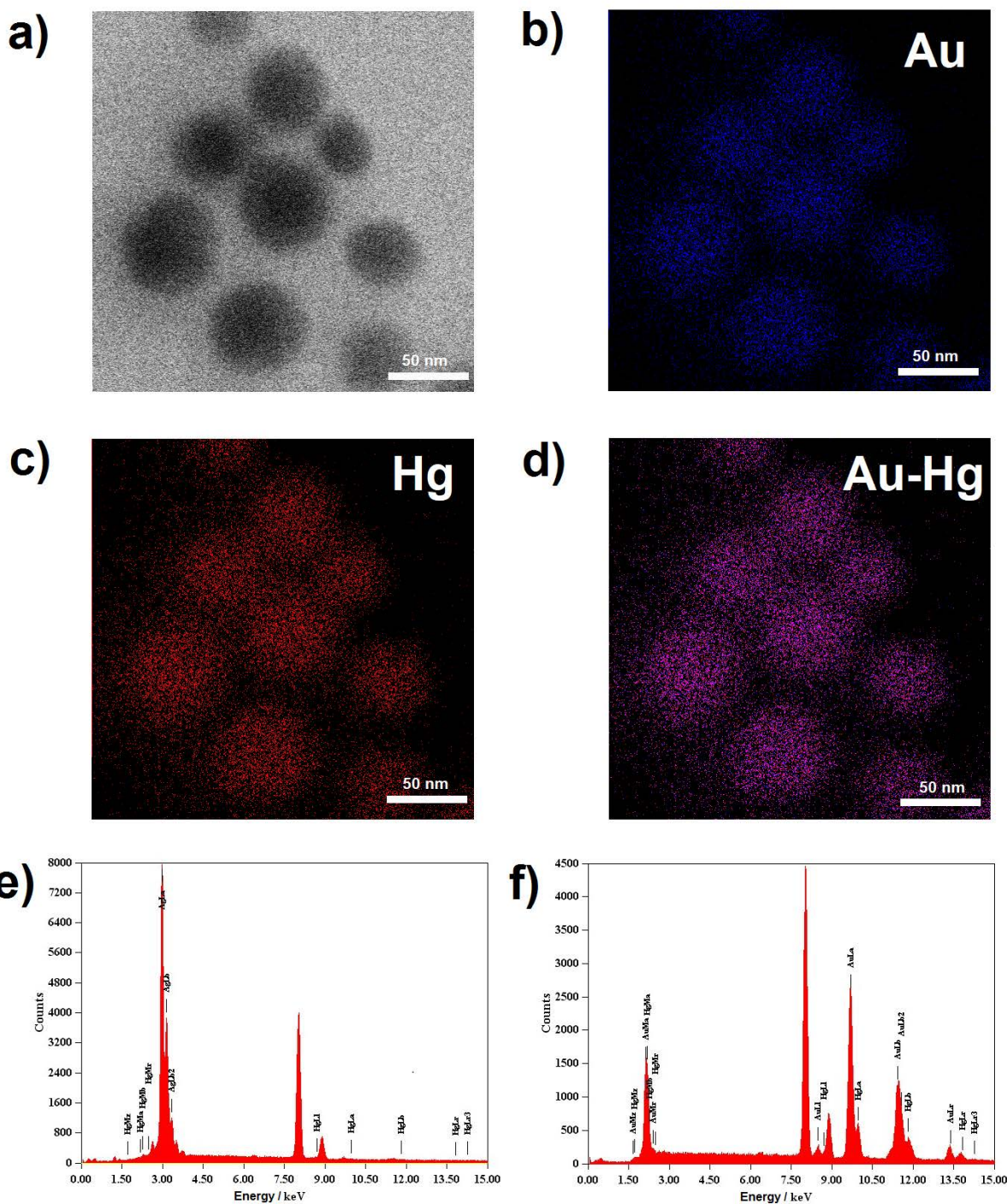
Wyznaczono granicę wykrywalności (LOD) jako $3s_a$, gdzie s_a jest odchyleniem standardowym próbki odniesienia. Odchylenie standardowe określono na podstawie trzech pomiarów. Limit detekcji wyniósł 1×10^{-13} M. Wartość ta, jest znacznie poniżej maksymalnego dopuszczalnego stężenia Hg^{2+} w wodzie pitnej określonego według normy WHO na 2×10^{-9} M.¹³¹ Dla stężeń Hg^{2+} poniżej 1×10^{-13} M, nie zaobserwowano żadnych przesunięć w widmach (poza niewielkim spadkiem absorpcji związanym z rozcieńczaniem próbki).

Na obrazach TEM (Rys. 56a) zaobserwowano, że po dodaniu jonów Hg^{2+} do zawiesiny AuNCs/ NaBH_4 nanokostki złota zmieniły kształt – na większe bardziej sferyczne nanocząstki ($\sim 60 \pm 15$ nm). Bardziej szczegółową interpretację otrzymanych wyników zestawiono w Rozdziale 8.4.



Rys. 56 Obraz TEM a) zawiesiny AuNCs/ NaBH_4 , b) zawiesiny AuNCs/ NaBH_4 po dodaniu jonów Hg^{2+} .

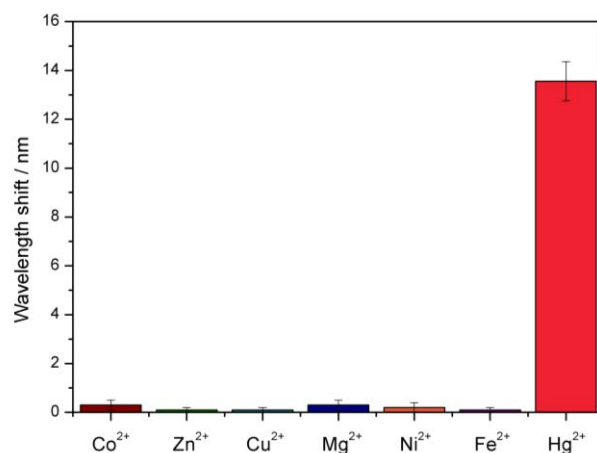
W celu potwierdzenia obecności rtęci w nanostrukturach złota wykonano STEM-BF/X-EDS dla próbki z najwyższym stężeniem jonów rtęci (Rys. 57). Analiza obszaru skupiska AuNCs i AuNCs po dodaniu jonów Hg^{2+} wykazała, że rtęć jest równomiernie rozłożona na nanocząstkach złota. To pozwala przypuszczać, że AuNCs pokrywają się rtęcią tworząc amalgamat Au-Hg (Rys. 57d). Na widmie otrzymanym z obszaru mapowania, obok intensywnych pików od Au widać także piki pochodzące od Hg. Ilościowa analiza X-EDS próbki AuNCs/ NaBH_4 /Hg pokazała, że w badanym obszarze jest ok. 16 % składu atomowego Hg i 84 % składu atomowego Au.



Rys. 57 a) Obraz STEM-BF AuNCs/NaBH₄/Hg. Wyniki obrazowania STEM b) Au, c) Hg, d) Au-Hg. Widma X-EDS dla zawiesiny wodnej AuNCs: e) z NaBH₄, f) z NaBH₄/Hg²⁺ (10⁻⁵ M).

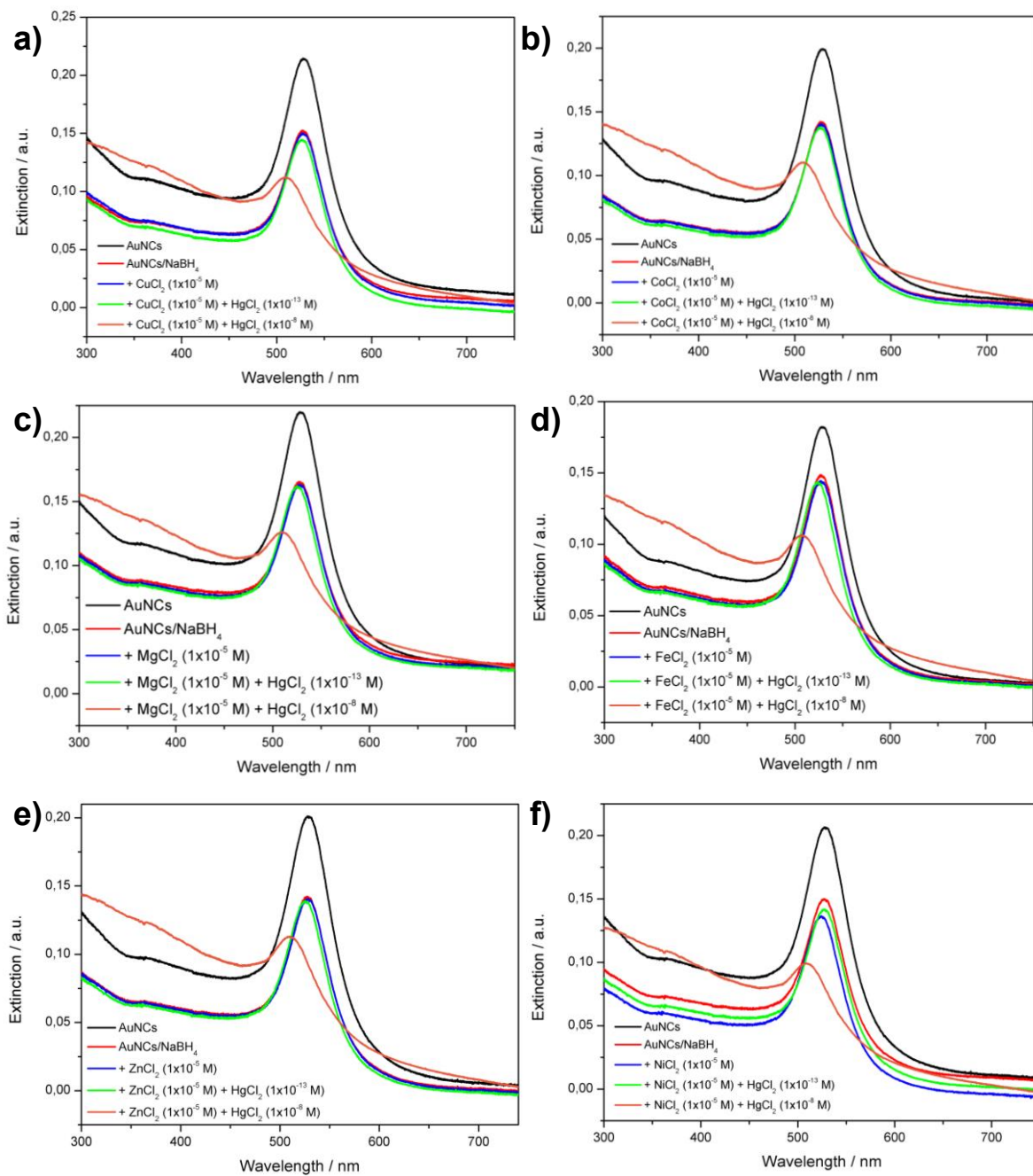
Zbadano również wpływ dodatku wybranych soli chlorkowych metali dwuwartościowych (M²⁺) na wodne zawiesiny nanokostek złota. Wybrano chlorki metali MCl₂: CuCl₂, CoCl₂, FeCl₂, NiCl₂, ZnCl₂ i MgCl₂. Wodne roztwory tych soli dodawano do osobnych kuwet z zawiesiną AuNCs/NaBH₄.

Następnie mieszano przez 10 minut i mierzono widma LSPR jak dla jonów Hg^{2+} . Dla wybranych jonów metali M^{2+} nie zaobserwowano tak dużych przesunięć maksimum absorpcji jak dla jonów Hg^{2+} (Rys. 58). Pomiar dla każdego chlorku metalu przeprowadzono trzykrotnie.



Rys. 58 Przesunięcie maksimum pasma dipolowego dla AuNCs/NaBH₄ po dodaniu jonów Hg^{2+} (1×10^{-5} M) i innych jonów metali M^{2+} (1×10^{-5} M).

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że zawiesiny nanokostek złota można wykorzystać jako elementy czujników optycznych do wykrywania jonów Hg^{2+} w próbkach wody nawet w obecności jonów przeszkadzających. Dodatek wybranych jonów metali M^{2+} do próbki AuNCs/NaBH₄, nie przeszkadza w dalszym oznaczaniu jonów Hg^{2+} z równie niskim limitem detekcji (Rys. 59). Czujnik pozostaje selektywny wobec Hg^{2+} , nawet gdy stężenie jonów przeszkadzających jest 1000 razy wyższe niż stężenie analitu.

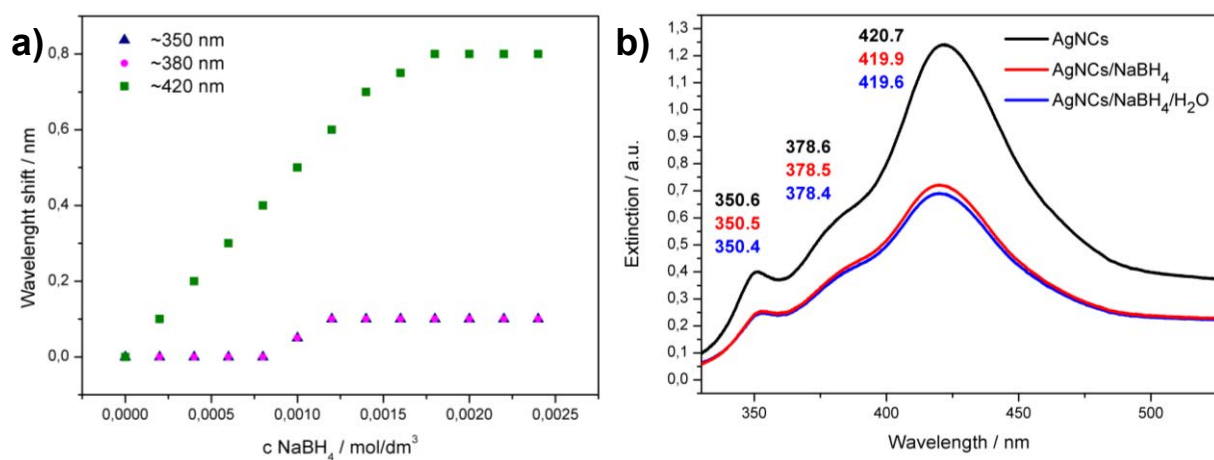


Rys. 59 Widma UV-Vis mieszaniny AuNCs/NaBH₄ po dodaniu soli metali (M²⁺) i rtęci do tej samej próbki.

8.2.2 Nanokostki srebra

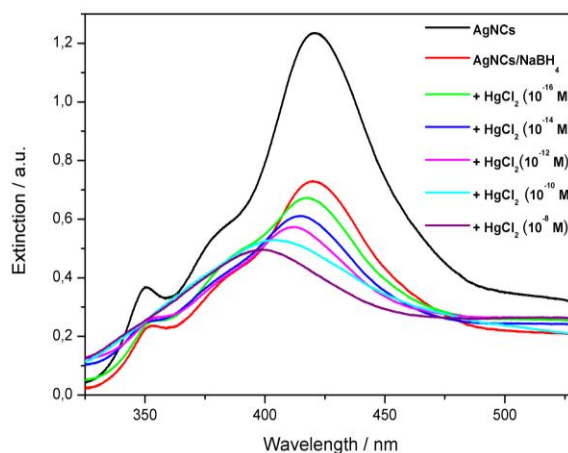
Oznaczanie jonów rtęci z wykorzystaniem nanokostek srebra wykonano podobnie jak dla AuNCs.

Przed etapem wykrywania jonów Hg^{2+} uzyskano stabilne widma zawiesiny AgNCs z dodatkiem reduktora – NaBH_4 . Przesunięcie pasm LSPR AgNCs w funkcji stężenia NaBH_4 przedstawiono na Rys 60a. Położenie pasma przy ~ 350 nm i ~ 380 nm osiągają *plateau* dla stężenia NaBH_4 o wartości 0,12 mM (granatowe trójkąty i różowe koła pokrywają się na Rys. 60a). Na podstawie badań stwierdzono, że pasma absorpcji AgNCs są stabilne dla stężenia NaBH_4 od 1,8 mM. Do dalszych badań użyto 2,0 mM stężenia NaBH_4 . Optymalny czas potrzebny do stabilizacji sygnału to 10 min. Po dodaniu NaBH_4 zaobserwowano małe przesunięcie pasm AgNCs (350,6 nm, 378,6 nm i 420,7 nm) w stronę nadfioletu do 350,5 nm, 378,5 nm i 419,9 nm (Rys. 60b). Podobnie jak dla nanokostek złota, NaBH_4 powoduje redukcję jakiegokolwiek pozostałej utlenionej postaci Ag do Ag^0 . Ponadto, po dodaniu do mieszaniny AgNCs/ NaBH_4 1 μl wody (Rys. 60b, niebieska linia) zaobserwowano spadek absorpcji i niewielkie przesunięcie pasm.



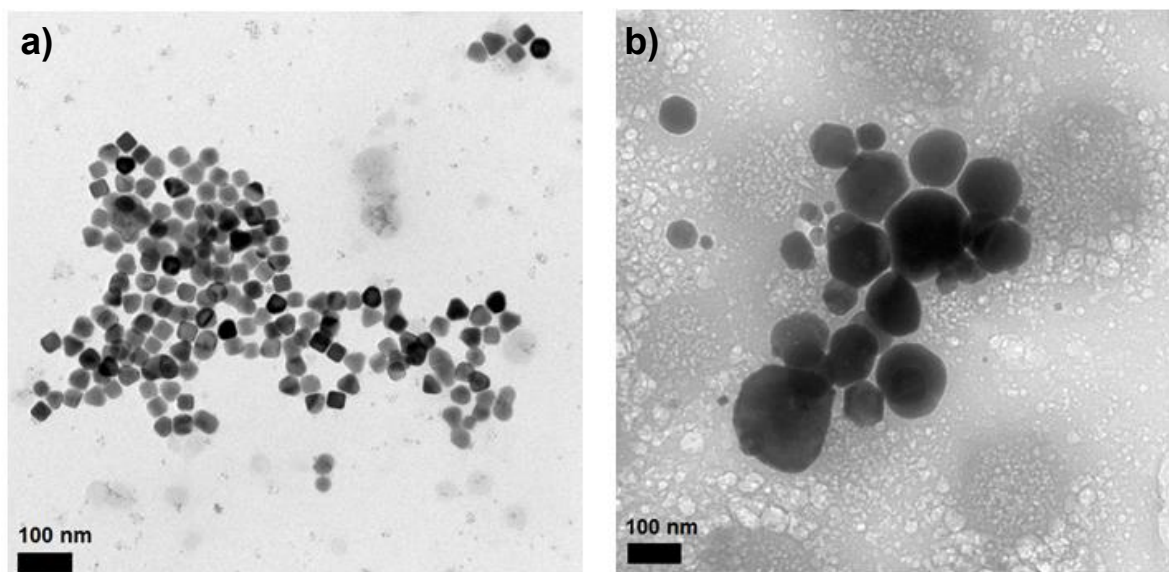
Rys. 60 a) Zmiana długości fali dla 3 pasm AuNCs w funkcji stężenia NaBH_4 . (niebieskie trójkąty nakładają się z różowymi kropkami). b) Widmo UV-vis zawiesiny: AgNCs, AgNCs/ NaBH_4 i AgNCs/ NaBH_4 po dodaniu 1 μl H₂O.

Do mieszaniny AgNCs/ NaBH_4 dodano 1 μl wodnego roztworu o różnym stężeniu HgCl_2 i po 10 minutach rejestrowano widma UV-vis. Zakres badanego stężenia HgCl_2 wynosił 1×10^{-17} – 1×10^{-8} M w próbkach wodnej zawiesiny AgNCs/ NaBH_4 . Dla nanokostek srebra zaobserwowano podobne właściwości optyczne jak dla nanokostek złota. Zmiany na widmach LSPR AgNCs obserwowano po dodaniu kolejnych porcji soli rtęci o wzrastającym stężeniu znajdującym się w zakresie od 1×10^{-16} do 1×10^{-8} M (Rys. 61).



Rys. 61 Widma absorpcji zawiesin: AgNCs, AgNCs/NaBH₄ i AgNCs/NaBH₄ z różnymi stężeniami HgCl₂ (wybrane stężenie z zakresu 1×10⁻¹⁶ - 1×10⁻⁸ M).

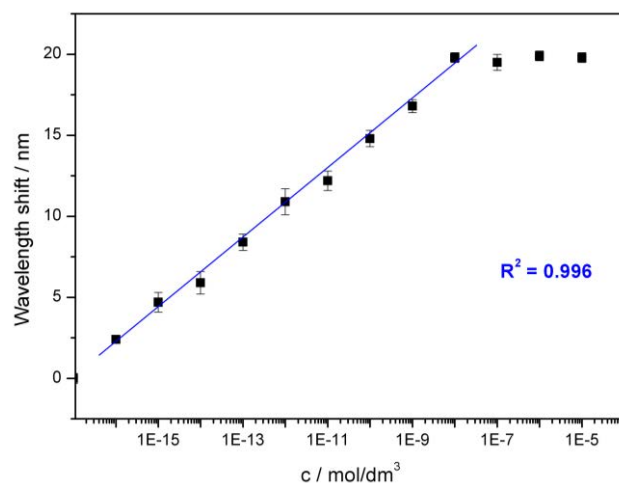
Z obrazów TEM można wnioskować (Rys. 62a), że nanokostki srebra po dodaniu jonów Hg²⁺ stały się większe i zmieniły kształt – w bardziej kuliste nanocząstki (~150 nm ± 35 nm).



Rys. 62 Obraz TEM a) zawiesiny AgNCs/NaBH₄, b) zawiesiny AgNCs/NaBH₄ po dodaniu Hg²⁺ (1×10⁻⁸ M).

Zaobserwowano korelację między zmianą położenia maksimum absorpcji nanokostek przy 420 nm, a stężeniem jonów Hg²⁺. W obecności jonów Hg²⁺ wszystkie pasma AgNCs przesunęły się w stronę nadfioletu. Wykreślono krzywą kalibracji, jako przesunięcie pasma dipolowego funkcji stężenia molowego jonów Hg²⁺ (Rys. 63).

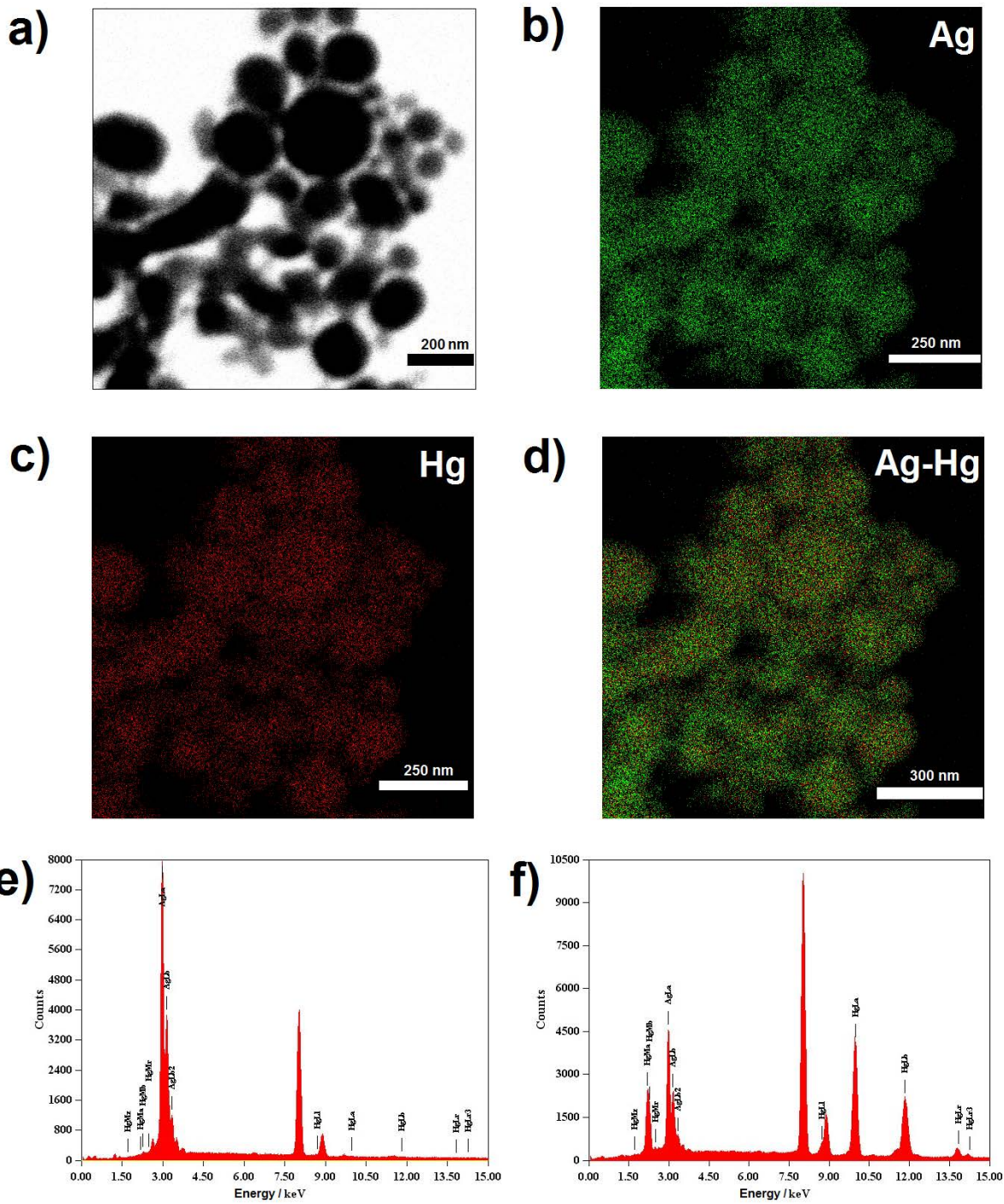
Największe przesunięcie odnotowano dla pasma dipolowego (420,7 nm) dla stężeń Hg^{2+} w zakresie $1 \times 10^{-16} - 1 \times 10^{-8}$ M. Dla wyższych stężeń Hg^{2+} ($1 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-5}$ M), przesunięcie maksimum pasma dipolowego zmieniało się nieznacznie.



Rys. 63 Krzywa kalibracji przedstawiająca przesunięcie dipolowego pasma absorpcji (420,7 nm) względem dodawanego stężenia jonów Hg^{2+} .

Wyznaczono granicę wykrywalności (LOD) jako $3s_a$, gdzie s_a jest odchyleniem standardowym próbki odniesienia. Odchylenie standardowe określono na podstawie trzech pomiarów. LOD wyniósł 1×10^{-16} M. Wartość LOD jest znacznie poniżej maksymalnego dopuszczalnego stężenia jonów Hg^{2+} w wodzie pitnej określonego według normy na 2×10^{-9} M.¹³¹ Dla stężeń jonów Hg^{2+} poniżej 1×10^{-16} M, nie zaobserwowano żadnych przesunięć w widmach (poza niewielkim spadkiem absorpcji związanym z rozcieńczaniem próbki).

Wykonano STEM-BF/X-EDS dla próbki $\text{AgNCs/NaBH}_4/\text{Hg}$ (Rys. 64). Na widmie otrzymanym z obszaru mapowania, obok pików charakterystycznych dla Ag widać także intensywne piki pochodzące od Hg. Co istotne, mapowanie obszaru skupiska nanocząstek pokazuje, że Hg jest równomiernie rozłożone z Au, z czego można wnioskować, że AgNCs pokrywają się rtęcią tworząc amalgamat (stop) Au-Hg (Rys. 64d). Ilościowa analiza X-EDS próbki $\text{AgNCs/NaBH}_4/\text{Hg}$ pokazała, że w badanym obszarze jest ok. 22,71 % składu atomowego Hg i 77,29 % składu atomowego Ag.



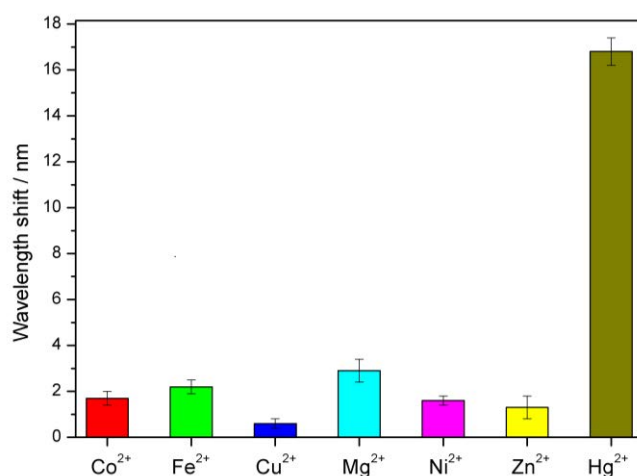
Rys. 64 a) Obraz STEM-BF AgNCs/NaBH₄/Hg.

Wyniki mapowania STEM b) Ag, c) Hg, d) stop (amalgamat) Ag-Hg.

Widma X-EDS dla zawiesiny wodnej AgNCs: e) z NaBH₄, f) z NaBH₄/Hg (1×10⁻⁸ M).

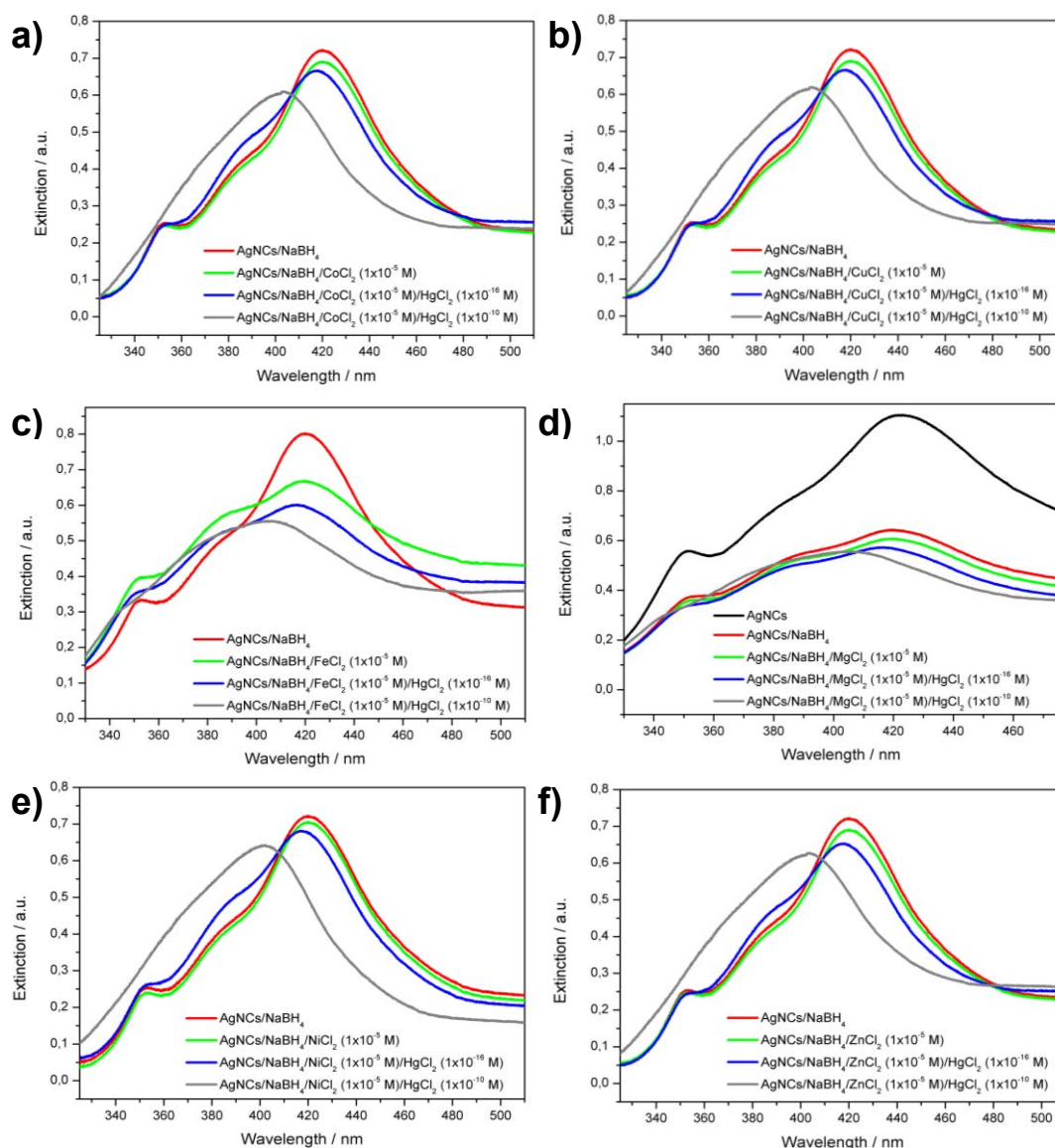
Podobnie jak w przypadku nanokostek złota, rtęć tworzy amalgamat również z nanokostkami srebra. Wodne zawiesiny nanostruktur zarówno złota i srebra można wykorzystać jako elementy czujników optycznych do wykrywania jonów Hg^{2+} w próbkach wodnych.

Zbadano wpływ wybranych soli chlorkowych metali dwuwartościowych (M^{2+}) na wodne zawiesiny nanokostek srebra. Dla wybranych jonów metali M^{2+} nie zaobserwowano tak dużych przesunięć pasma dipolowego jak w przypadku jonów Hg^{2+} (Rys. 65).



Rys. 65 Maksymalne przesunięcie pasma dipolowego dla AgNCs/NaBH₄ po dodaniu jonów Hg^{2+} (1×10^{-5} M) i innych jonów metali M^{2+} (1×10^{-5} M).

Ponadto, dodanie wybranych jonów metali M^{2+} do próbki AgNCs/NaBH₄, nie przeszkadza w dalszym oznaczaniu jonów Hg^{2+} z równie niskim limitem detekcji (Rys. 66). Czujnik pozostaje selektywny wobec Hg^{2+} , nawet gdy stężenie jonów przeszkadzających jest 1000 razy wyższe niż stężenie analitu.



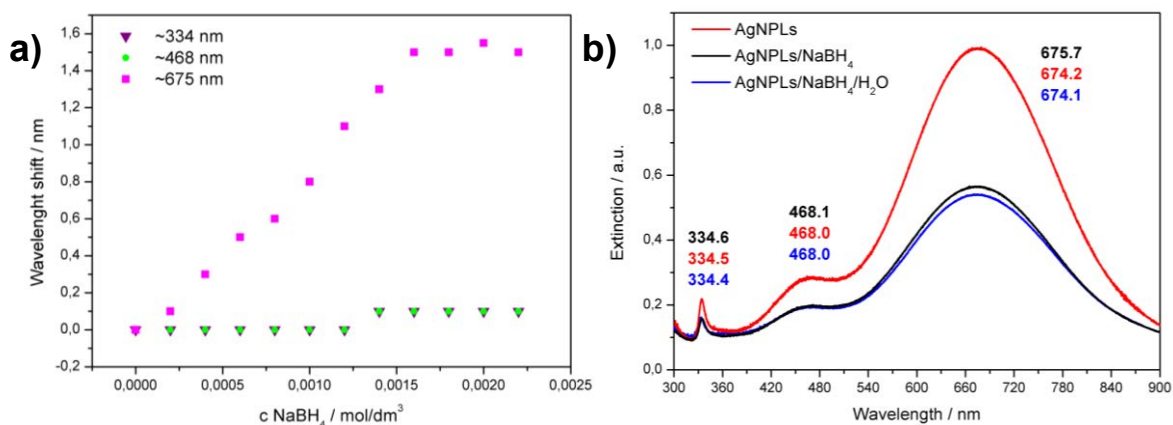
Rys. 66 Widma UV-Vis zawiesiny AgNCs/NaBH₄ po dodaniu soli metali (M²⁺) i rtęci do tej samej próbki.

8.2.3 Nanotrójkaty srebra

Oznaczanie jonów rtęci z wykorzystaniem trójkątów srebra wykonano podobnie jak dla wcześniejszych nanostruktur.

Do próbki wodnej zawiesiny AgNPLs dodawano stałą objętość (0,5 ml) NaBH₄ o stężeniu 1,8 mM (ustalone na drodze eksperymentalnej).

Wykres pokazujący przesunięcie pasm AgNPLs w funkcji stężenia NaBH_4 przedstawiono na Rys. 67a. Położenia pasma przy ~ 334 nm i ~ 468 nm osiągają *plateau* dla stężenia NaBH_4 o wartości 0,14 mM (fioletowe trójkąty i zielone koła pokrywają się na Rys. 67a). Pasma absorpcji AgNPLs są stabilne dla stężenia NaBH_4 od 1,6 mM. Do dalszych badań stosowano 1,8 mM stężenie NaBH_4 . Czas 10 minut został wybrany jako optymalny czas do przeprowadzenia kolejnych eksperymentów na AgNPLs/ NaBH_4 z jonami Hg^{2+} . Po dodaniu NaBH_4 pasma AgNPLs (334,6 nm, 468,1 nm i 675,7 nm) przesunęły się w stronę nadfioletu do 334,5 nm, 468,0 nm i 674,1 nm (Rys. 67b). Podobnie jak dla wcześniejszych nanostruktur, NaBH_4 powoduje redukcję jakiegokolwiek pozostałej utlenionej postaci Ag do Ag^0 . Nie zaobserwowano żadnych widocznych zmian w wielkości i kształcie AgNPLs po dodaniu NaBH_4 . Po dodaniu 1 μl wody do zawiesiny AgNPLs/ NaBH_4 (Rys. 67b, niebieska linia), zaobserwowano spadek absorpcji.

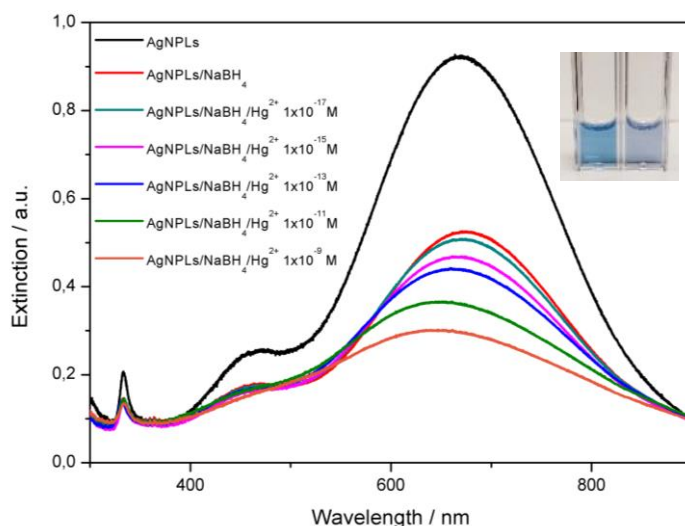


Rys. 67 a) Przesunięcie długości fali dla pasma dipolowego AgNPLs (675 nm) w funkcji stężenia NaBH_4 . b) Widmo UV-vis AgNPLs, mieszaniny AgNPLs/ NaBH_4 i AgNPLs/ NaBH_4 po dodaniu 1 μl H_2O .

Do mieszaniny AgNPLs/ NaBH_4 dodano 1 μl wodnego roztworu HgCl_2 i po 10 minutach rejestrowano widma UV-vis. Zakres badanego stężenia HgCl_2 wynosił 1×10^{-18} – 1×10^{-8} M w próbkach wodnych zawiesiny AgNPLs/ NaBH_4 . Roztwory w kuwecie były mieszane przez 20 minut od dodania NaBH_4 i HgCl_2 do próbki. Widma dla każdego stężenia rejestrowano trzy razy. Roztwory w kuwecie po dodaniu reagentów były mieszane (podczas pomiaru UV-vis, mieszanie było wyłączone).

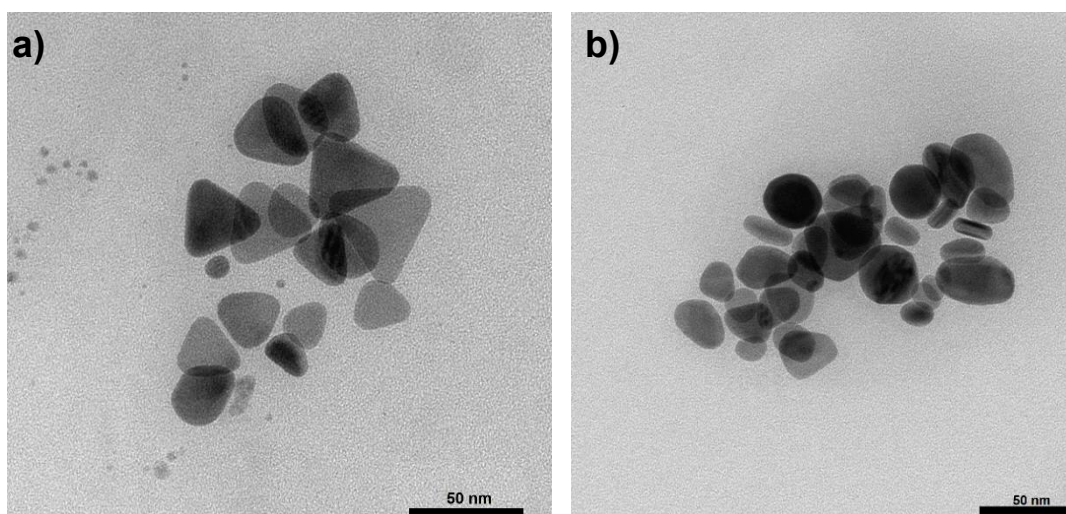
Podobnie jak dla wcześniej badanych nanostruktur, po uzyskaniu stabilnego widma absorpcji AgNPLs/ NaBH_4 w dalszym etapie badano zmianę położenia LSPR AgNPLs/ NaBH_4 pod wpływem dodatku Hg^{2+} .

Zaobserwowano podobne właściwości optyczne nanotrójkątów srebra jak dla AuNCs i AgNCs. Dodatek jonów Hg^{2+} skutkowało przesunięciem wszystkich pasm absorpcji w stronę nadfioletu. Na Rys. 68 przedstawiono zmiany absorpcji AgNPLs/NaBH₄/Hg²⁺ dla badanych stężeń (1×10^{-17} - 1×10^{-8} M).



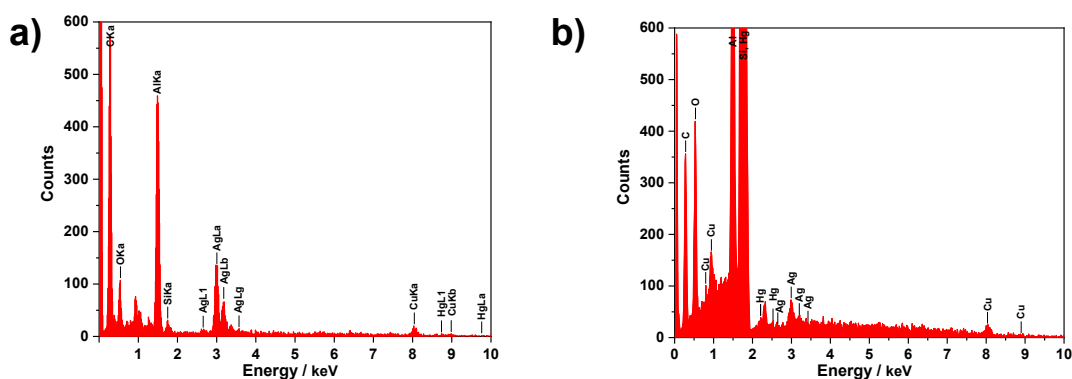
Rys. 68 Widma absorpcji AgNPLs mieszaniny AgNPLs/NaBH₄ i mieszaniny AgNPLs/NaBH₄ z różnymi stężeniami HgCl₂ (wybrane stężenie z zakresu 1×10^{-17} – 1×10^{-8} M).

W przypadku dodawania wody (1 μ l) do układu AgNPLs/NaBH₄ nie zaobserwowano podobnego efektu (Rys. 67b). Dodatek wody do kuwety skutkowało jedynie niewielkim spadkiem absorpcji, co było związane z rozcieńczeniem próbki. Po dodaniu Hg²⁺ do próbki (Rys. 69b) zaobserwowano na obrazach TEM, że nanotrójkąty srebra stały się większe (~100 nm) i zmieniły kształt – w bardziej kuliste nanocząstki.



Rys. 69 a) Obraz TEM AgNPLs/NaBH₄ po amalgamacji z rtęcią.

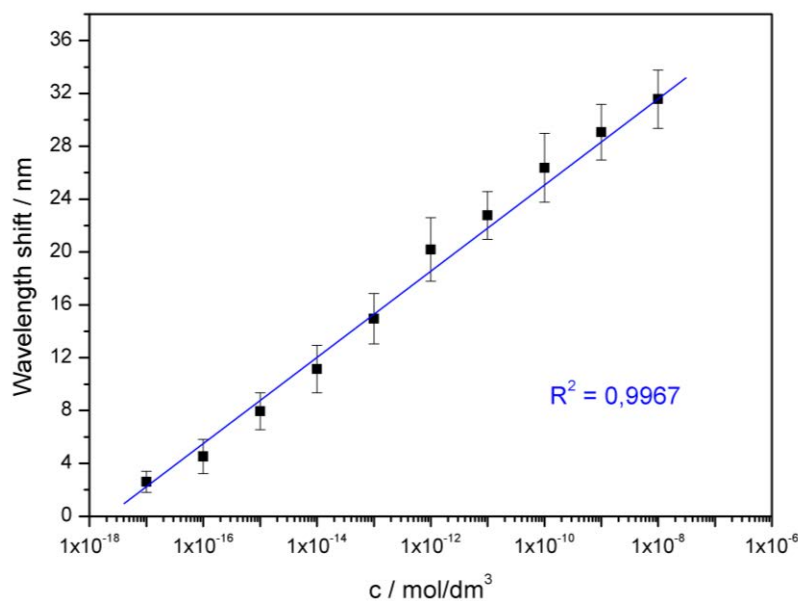
Wykonano X-EDS dla próbki AgNPLs/NaBH₄/Hg (Rys. 70). Pomiar X-EDS wykrył w próbce (AgNPLs/NaBH₄/Hg²⁺) obecność rtęci.



Rys. 70 Widma X-EDS dla zawiesiny wodnej AgNPLs: a) z NaBH₄, b) z NaBH₄/Hg²⁺ (1×10^{-8} M).

Rtęć pokrywa nanotrójki srebra i zmienia ich kształt. Podobnie jak w przypadku innych badanych nanostruktur wodne zawiesiny AgNPLs można wykorzystać jako elementy czujników do wykrywania jonów Hg²⁺ w próbkach wodnych.

Zaobserwowano korelację między zmianą położenia maksimum absorpcji AgNPLs, a stężeniem jonów Hg²⁺. W obecności jonów Hg²⁺ największe przesunięcie zaobserwowano dla pasma dipolowego (675 nm). Pasma kwadrupolowe nie przesunęło się wraz ze wzrastającym stężeniem Hg²⁺. Na podstawie badań spektroskopowych wykreślono krzywą kalibracji, jako przesunięcie pasma dipolowego w funkcji stężenia molowego jonów Hg²⁺ (Rys. 71).



Rys. 71 Krzywa kalibracji przedstawiająca przesunięcie maksimum (675 nm) dipolowego pasma absorpcji względem dodawanego stężenia Hg^{2+} .

Obliczono granicę wykrywalności (LOD) jako $3s_a$, gdzie s_a jest odchyleniem standardowym próbki odniesienia. Odchylenie standardowe określono na podstawie trzech pomiarów. Zmierzony limit detekcji LOD wyniósł 1×10^{-17} M. Wartość ta, jest znacznie poniżej maksymalnego dopuszczalnego stężenia jonów Hg^{2+} w wodzie pitnej określonego według normy na 2×10^{-9} M.¹³¹ Dla stężeń jonów Hg^{2+} poniżej 1×10^{-17} M, nie zaobserwowano żadnych przesunięć w widmach (poza niewielkim spadkiem absorpcji związanym z rozcieńczaniem próbki).

Zbadano właściwości optyczne anizotropowych nanostruktur złota i srebra. Badane nanokostki złota i srebra oraz nanotrójkąty srebra przygotowano różnymi metodami chemicznymi. Otrzymane nanostruktury były zbudowane z różnego materiału (złota lub srebra), miały różny kształt (kostki lub płaskie trójkąty) i wielkość oraz były stabilizowane innymi ligandami (jednym lub dwoma). W Tabeli 4 porównano wybrane parametry i właściwości badanych nanostruktur złota i srebra przed i po dodaniu NaBH_4 oraz jonów Hg^{2+} .

Nanokostki złota charakteryzują się jednym pasmem dipolowym, natomiast badane nanostruktury srebra – trzema pasmami absorpcji.

Tabela 4. Porównanie wybranych parametrów i właściwości nanokostek srebra i złota.

Parametry i właściwości badanych nanostruktur	Nanokostki złota AuNCs	Nanokostki srebra AgNCs	Nanotrójkąty srebra AgNPLs
Metoda syntezy	<i>seed-mediated growth</i>	synteza poliolowa	chemiczna redukcja
Ligand stabilizujący	CTAC	PVP	PVP i TSC
Ładunek ligandu stabilizującego	dodatni	ujemny	ujemny
Długość boku	~54 nm	~32 nm	~35 nm
Grubość boku	~54 nm	~32 nm	~8 nm
Ilość pasm plazmonowych	1	3	3
Położenie pasm plazmonowych przed dodaniem NaBH ₄ /Hg ²⁺	529,2 nm	350,6; 378,6; 420,7 nm	334,6; 468,1; 675,7 nm
Stężenie NaBH ₄	1,65 mM	2,0 mM	1,8 mM
Zakres badanych stężeń Hg ²⁺	1×10 ⁻¹⁴ - 1×10 ⁻⁵ M	1×10 ⁻¹⁷ - 1×10 ⁻⁸ M	1×10 ⁻¹⁸ - 1×10 ⁻⁸ M
LOD względem Hg ²⁺	1×10 ⁻¹³ M	1×10 ⁻¹⁶ M	1×10 ⁻¹⁷ M
Przesunięcie maksimum pasma dipolowego po dodaniu jonów Hg ²⁺	~14 nm	~20 nm	~32 nm
Wielkość nanostruktur po dodaniu Hg ²⁺	~60 nm	~150 nm	~100 nm

Po dodaniu jonów Hg²⁺ wszystkie badane anizotropowe nanostruktury złota i srebra pokryły się rtęcią, tworząc znacznie większe cząstki o innych właściwościach optycznych. Największe przesunięcie maksimum pasma dipolowego po dodaniu jonów Hg²⁺ wykazały nanotrójkąty srebra. Określone wartości limitów detekcji, są znacznie poniżej maksymalnego dopuszczalnego stężenia Hg²⁺ w wodzie pitnej (2×10⁻⁹ M¹³¹). Można wnioskować, że badane nanostruktury – nanokostki złota, nanokostki srebra i nanotrójkąty srebra – mogą być wykorzystane jako element czujnika optycznego do oznaczania stężenia jonów Hg²⁺ w próbkach wodnych.

8.3 Zastosowanie nanostruktur złota i srebra do oznaczeń w próbkach rzeczywistych

Zbadano przydatność badanych nanostruktur złota i srebra do oznaczania jonów Hg²⁺ w rzeczywistych próbkach wodnych. Wybrano wodę wodociągową i butelkowaną wodę mineralną (Żywiec Zdrój).

Celem tego badania było przetestowanie selektywności metody w kierunku oznaczania jonów Hg^{2+} w próbkach wodnych o różnej zawartości jonów przeszkadzających. Dla wody mineralnej, zawartość jonów w wodzie firmy Żywiec Zdrój niskosodowej jest określona i wynosi 230 mg/l¹⁹⁵, w warszawskiej wodzie wodociągowej średnia zawartość składników mineralnych wynosi zazwyczaj wynosi około 300 -400 mg/l¹⁹⁶.

8.3.1 Nanokostki złota

Do zawiesiny AuNCs/ $NaBH_4$ rozdypergowanej w wodzie wodociągowej lub mineralnej, dodawano 1 μ l roztworu $HgCl_2$ (o różnym stężeniu w wodzie wodociągowej lub mineralnej). Pomiar dla każdego stężenia jonów Hg^{2+} w opisanych wyżej układach przeprowadzono trzykrotnie ($n = 3$). Stężenie jonów Hg^{2+} w wodzie wodociągowej i mineralnej odczytano z krzywej kalibracyjnej uzyskanej dla AuNCs rozdypergowanych w wodzie wodociągowej lub mineralnej. Wartości oznaczonego stężenia i procentowy odzysk przedstawiono w Tabeli 5.

Tabela 5. Oznaczanie Hg^{2+} w próbkach wody zawierających AuNCs.

Rodzaj wody	Dodawane stężenia Hg^{2+}	Oznaczone stężenie Hg^{2+} (z błędem pomiaru)	Odzysk (%) $n = 3$
Woda mineralna	1×10^{-9} M	$0,995 \times 10^{-9}$ M ($\pm 0,009 \times 10^{-9}$ M)	99,5%
	1×10^{-13} M	$0,988 \times 10^{-13}$ M ($\pm 0,025 \times 10^{-13}$ M)	98,8%
Woda wodociągowa	1×10^{-9} M	$0,984 \times 10^{-9}$ M ($\pm 0,017 \times 10^{-9}$ M)	98,4%
	1×10^{-13} M	$0,973 \times 10^{-13}$ M ($\pm 0,034 \times 10^{-13}$ M)	97,3%

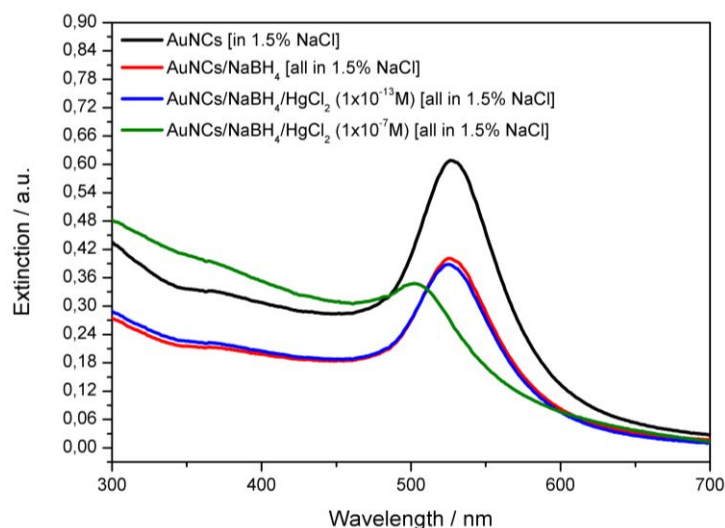
Wybrane rodzaje wód nie powodowały agregacji zawiesiny AuNCs, AuNCs/ $NaBH_4$ po dodaniu jonów Hg^{2+} . W badanych układach możliwe było oznaczanie stężenia jonów Hg^{2+} z niskim limitem detekcji (Tabela 5). Dla wody mineralnej odzysk wynosił powyżej 98% a dla wody wodociągowej – powyżej 97%.

Kolejne, potencjalne zastosowanie czujnika optycznego opartego na nanokostkach złota, może polegać na badaniu jonów Hg^{2+} w naturalnych wodach powierzchniowych, np. w Morzu Bałtyckim. Średnie zasolenie Morza Bałtyckiego wynosi ok. 0,8 %, ale istnieją regiony, w których zasolenie wzrasta do ok. 1,5 %.

Ze względu na brak dostępu do próbek wody z Morza Bałtyckiego – podjęto próbę oznaczania jonów Hg^{2+} w słonej wodzie („sztucznie wytworzonej”). W tym celu, zawiesiny AuNCs, $NaBH_4$ i roztwór $HgCl_2$ przygotowano w wodnym roztworze NaCl.

Stężenie NaCl wynosiło 1,5 % – porównywalnie z najwyższym zasoleniem wody w Morzu Bałtyckim.

Nanokostki złota nie strącały się przy tak wysokim stężeniu NaCl. Kształt pasm absorpcji był zbliżony do pasm w wodzie destylowanej (Rys. 72). Widma AuNCs charakteryzowały się jednym pasmem z maksimum absorpcji przy długości fali 528,5 nm.



Rys. 72 Widma UV-vis AuNCs, mieszaniny AuNCs/NaBH₄ i AuNCs/NaBH₄/HgCl₂ – wszystkie reagenty przygotowane w 1,5% roztworze NaCl.

Do zawiesiny AuNCs/NaBH₄ rozdyspergowanej w 1,5% roztworze NaCl, dodawano 1 μl roztworu HgCl₂ (przygotowanego w 1,5% NaCl). Po dodaniu jonów Hg²⁺, obserwowano przesunięcie pasma absorpcji w stronę nadfioletu. Podobne wyniki otrzymano wcześniej dla AuNCs/NaBH₄/Hg²⁺ w wodzie (bez NaCl) opisane w rozdziale 8.2.

Pomiar dla każdego stężenia jonów Hg²⁺ w opisanych wyżej układach przeprowadzono trzykrotnie (n = 3). Stężenie jonów Hg²⁺ odczytano z krzywej kalibracyjnej uzyskanej dla AuNCs rozdyspergowanych w 1,5% wodnym roztworze NaCl. Wartości oznaczonego stężenia i procentowy odzysk przedstawiono w Tabeli 6.

Tabela 6. Oznaczanie Hg²⁺ w próbkach wody zawierających AuNCs.

Rodzaj wody	Dodawane stężenia Hg ²⁺	Oznaczone stężenie Hg ²⁺ (z błędem pomiaru)	Odzysk (%) n = 3
1,5 % wodny roztwór NaCl	1×10 ⁻⁷ M	0,990×10 ⁻⁷ M (±0,029×10 ⁻⁷ M)	99,0%
	1×10 ⁻¹³ M	0,981×10 ⁻¹³ M (±0,036×10 ⁻¹³ M)	98,1%

Badany czujnik daje możliwość oznaczania jonów Hg^{2+} w próbkach wodnych zawierających inne jony (1,5% NaCl). Podobnie jak dla AuNCs/NaBH₄/Hg²⁺ w wodzie (opisano w rozdz. 8.2), można oznaczać niskie stężenie jonów Hg^{2+} (1×10^{-13} M) w próbce z 1,5% NaCl. Dla 1,5 % wodnego roztworu NaCl, odzysk wynosił powyżej 98%.

8.3.2 Nanokostki srebra

Podobnie jak dla nanokostek złota, zbadano przydatność opisanego czujnika do wykrywania jonów Hg^{2+} w rzeczywistych próbkach wody – wodzie wodociągowej i butelkowej wodzie mineralnej (Żywiec Zdrój). Sposób wykonania był taki sam jak dla nanokostek złota. Stężenie jonów Hg^{2+} w wodzie wodociągowej i mineralnej odczytano z krzywej kalibracyjnej uzyskanej dla AgNCs rozdyspergowanych w wodzie wodociągowej lub mineralnej. Wartości oznaczonego stężenia i procentowy odzysk przedstawiono w Tabeli 7.

Tabela 7. Oznaczanie Hg^{2+} w próbkach wody zawierających AgNCs.

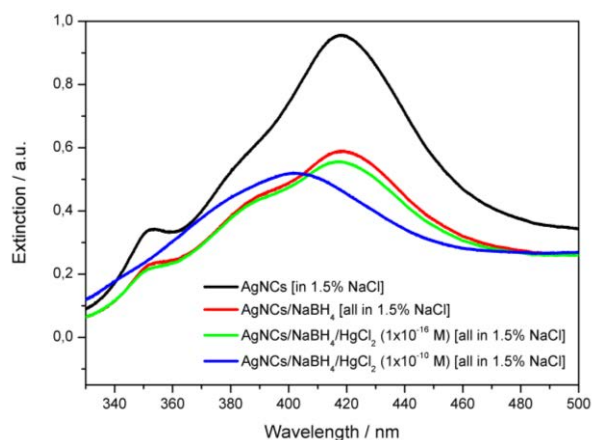
Rodzaj wody	Dodawane stężenia Hg^{2+}	Oznaczone stężenie Hg^{2+} (z błędem pomiaru)	Odzysk (%) n = 3
Woda mineralna	1×10^{-10} M	$0,992 \times 10^{-10}$ M ($\pm 0,011 \times 10^{-10}$ M)	99,2 %
	1×10^{-16} M	$0,981 \times 10^{-16}$ M ($\pm 0,025 \times 10^{-16}$ M)	98,1 %
Woda wodociągowa	1×10^{-10} M	$0,993 \times 10^{-10}$ M ($\pm 0,015 \times 10^{-10}$ M)	99,3 %
	1×10^{-16} M	$0,971 \times 10^{-16}$ M ($\pm 0,047 \times 10^{-16}$ M)	97,1 %

Podobnie jak dla nanokostek złota – badane rodzaje wód nie powodowały agregacji zawiesiny AgNCs, AgNCs/NaBH₄ po dodaniu jonów Hg^{2+} . W badanych układach możliwe było oznaczanie stężenia jonów Hg^{2+} z niskim limitem detekcji (Tabela 7). Oznaczone stężenia jonów Hg^{2+} w próbkach mieściły się w granicach błędu. Dla wody mineralnej odzysk wynosił powyżej 98% a dla wody wodociągowej – powyżej 97%.

Kolejne potencjalne zastosowanie czujnika opartego na nanokostkach srebra może polegać na badaniu stężenia jonów Hg^{2+} w naturalnych wodach powierzchniowych, np. w Morzu Bałtyckim. Badanie przeprowadzono analogicznie jak dla nanokostek złota.

Nanokostki srebra nie strącały się nawet przy 1,5% wodnym roztworze NaCl, a kształt pasm absorpcji był zbliżony do pasm w wodzie destylowanej (Rys. 73).

Widma AgNCs charakteryzowały się trzema pasmami absorpcji (350,9 nm; 372,0 nm oraz 420,2 nm).



Rys. 73 Widma UV-vis AgNCs, mieszaniny AgNCs/NaBH₄ i AgNCs/NaBH₄/HgCl₂ – wszystkie reagenty przygotowane w 1,5% NaCl.

Do zawiesiny AgNCs/NaBH₄ rozdyspergowanej w 1,5% roztworze NaCl, dodawano 1 µl roztworu HgCl₂ (przygotowanego w 1,5% NaCl). Po dodaniu jonów Hg²⁺, obserwowano przesunięcie pasm absorpcji w stronę nadfioletu. Podobne wyniki otrzymano wcześniej dla AgNCs/NaBH₄/Hg²⁺ w wodzie (bez NaCl) opisane w rozdziale 8.2.

Pomiar dla każdego stężenia jonów Hg²⁺ w opisanych wyżej układach przeprowadzono trzykrotnie (n = 3). Stężenie jonów Hg²⁺ odczytano z krzywej kalibracyjnej uzyskanej dla AgNCs rozdyspergowanych w 1,5% wodnym roztworze NaCl. Wartości oznaczonego stężenia i procentowy odzysk przedstawiono w Tabeli 8.

Tabela 8. Oznaczanie Hg²⁺ w próbkach wody zawierających AgNCs.

Rodzaj wody	Dodawane stężenia Hg ²⁺	Oznaczone stężenie Hg ²⁺ (z błędem pomiaru)	Odzysk (%) n = 3
1,5 % wodny roztwór NaCl	1×10 ⁻¹⁰ M	0,989×10 ⁻⁷ M (±0,028×10 ⁻⁷ M)	98,9%
	1×10 ⁻¹⁶ M	0,969×10 ⁻¹³ M (±0,051×10 ⁻¹³ M)	96,9%

Badany czujnik daje możliwość oznaczania jonów Hg²⁺ w próbkach wodnych zawierających inne jony (1,5% NaCl). Podobnie jak dla AuNCs/NaBH₄/Hg²⁺ w wodzie (opisano w rozdz. 8.2), można oznaczać niskie stężenie jonów Hg²⁺ (1×10⁻¹⁶ M) w próbce z 1,5% NaCl. Dla 1,5 % wodnego roztworu NaCl, odzysk wyniósł powyżej 96%.

8.3.3 Nanotrójkiaty srebra

Podobnie jak w przypadku nanokostek złota i srebra, podjęto próbę wykrywania jonów Hg^{2+} w obecności nanotrójkiatów srebra w rzeczywistych próbkach wody (w wodzie wodociągowej i mineralnej). Rozdyspergowując nanotrójkiaty srebra w badanych rodzajach wód, strącały się. Oznaczanie stężenia jonów Hg^{2+} w badanych wodach było niemożliwe.

Podjęto także próbę oznaczania jonów Hg^{2+} w 1,5% wodnym roztworze NaCl. Wodne zawiesiny nanotrójkiatów srebra strącały się w badanym stężeniu NaCl. Podjęto więc próbę oznaczania jonów Hg^{2+} w mniejszym stężeniu NaCl. Przygotowano 0,8 % wodny roztwór NaCl (odpowiadający średniemu zasoleniu wody w Morzu Bałtyckim). Również tym przypadku wodne zawiesiny nanotrójkiatów srebra strącały się.

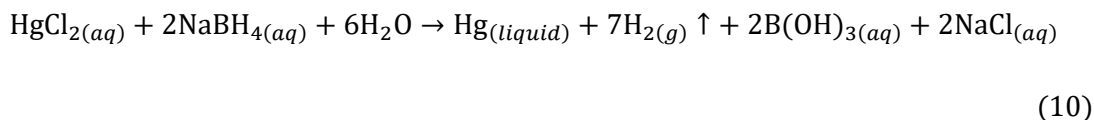
Stwierdzono, że wodne zawiesiny nanotrójkiatów srebra nie nadają się do oznaczania jonów Hg^{2+} w wodzie wodociągowej, wodzie mineralnej, jak również w wodzie o zasoleniu zbliżonym do wody w Morzu Bałtyckim. Przyczyną takiego zachowania może być strącanie tych nanostruktur względem innych jonów przeszkadzających w próbce wodnej.

8.4 Podsumowanie oznaczania jonów Hg^{2+} w roztworach wodnych

Jak dotąd w literaturze nie ma jednoznacznie opisanego jednego mechanizmu interakcji wodnych zawiesin nanostruktur złota/srebra z jonami rtęci Hg^{2+} .^{192,197,198}

W pierwszym etapie badań do wodnej zawiesiny nanostruktur złota/srebra jest dodawany borowodorek sodu (NaBH_4). Jest on silnym środkiem redukującym i redukuje jakąkolwiek pozostałą utlenioną postać złota/srebra. W przypadku nanokostek/nanotrójkiatów srebra, Ag^+ redukuje się do Ag^0 , a dla nanokostek złota, Au^{3+} do Au^0 .¹⁹² Następnie Ag^0 lub Au^0 , osadza się na powierzchni nanostruktur, zmniejszając gęstość ligandów stabilizujących ich powierzchnię.¹⁹²

Dodatek jonów Hg^{2+} do wodnej zawiesiny AuNCs/NaBH_4 , AgNCs/NaBH_4 lub AgNPLs/NaBH_4 powoduje, że zachodzą wielostopniowe interakcje jonów Hg^{2+} z nanostrukturami złota/srebra. Obecność NaBH_4 w roztworze nanokostek złota/srebra skutkuje utworzeniem ciekłej Hg i amalgamatu (Ag-Hg lub Au-Hg)¹⁹²:

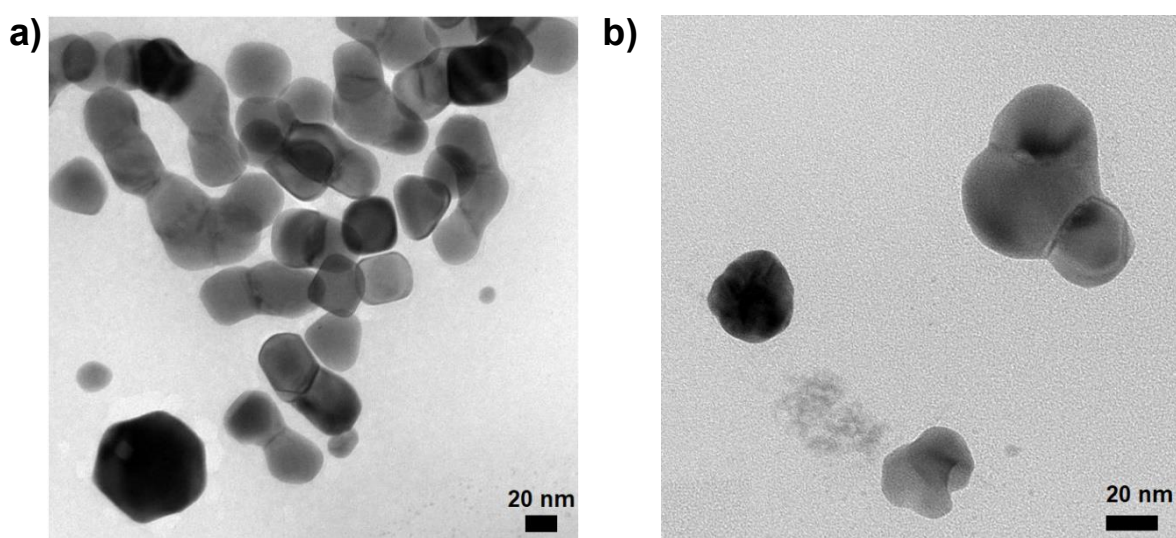


W obecności ciekłej rtęci należy rozważyć dwa prawdopodobne mechanizmy działania: 1) pokrycie powierzchni nanostruktur ciekłym metalem (Hg), 2) amalgamację między Ag/Au i Hg, lub oba mechanizmy na raz.¹⁹² W pierwszym przypadku pokrycie powierzchni nanostruktur rtęcią powoduje dezorganizację czynników stabilizujących na powierzchni nanostruktur złota/srebra. Rtęć osadzając się na powierzchni nanostruktur zwiększa również stałą dielektryczną ośrodka, co ostatecznie skutkuje przesunięciem pasm absorpcji w kierunku podczerwieni.¹⁹² Drugą możliwością jest amalgamacja, czyli rozpuszczanie złota/srebra w rtęci z utworzeniem stopu – amalgamatu. Proces ten powoduje zmianę kształtu nanostruktur (szczególnie na ich krawędziach i brzegach) oraz przesunięcie pasm absorpcji w stronę nadfioletu.¹⁹²

Eksperymenty wykonane na badanych nanostrukturach złota i srebra sugerują, że głównym mechanizmem reakcji jest amalgamacja, w trakcie której dochodzi również do agregacji nanokostek lub nanotrójkątów. W porównaniu do nanocząstek kulistych, anizotropowy kształt nanostruktur sprzyja amalgamacji.¹⁹⁹ Dla badanych nanostruktur, miejscami aktywnymi są głównie wierzchołki i krawędzie. Z tego powodu, amalgamacja powinna przebiegać wydajniej na wierzchołkach i krawędziach niż na płaszczyznach. Takie działanie rtęci prowadzi do zmiany kształtu i zwiększenia rozmiaru nanostruktur Au/Ag. Preferencyjne osadzanie się rtęci na wierzchołkach i krawędziach nie jest przypadkowe. To właśnie w tym miejscach, atomy powierzchniowe są mniej stabilizowane przez czynnik stabilizujący, co ułatwia zachodzenie procesu amalgamacji. Atomy na wierzchołkach i krawędziach nanostruktur, mają większą tendencję do rozpuszczania się i przekształcania w inne struktury.¹⁹²

Dodatek HgCl_2 do wodnej zawiesiny nanostruktur złota/srebra i NaBH_4 powoduje, że jony Hg^{2+} zaczynają adsorbować się na atomach powierzchniowych nanostruktur złota/srebra. Tutaj, (na atomach powierzchniowych) następuje redukcja jonów Hg^{2+} do Hg^0 .¹⁹² Następnie zachodzi amalgamacja nowo wytworzonych atomów rtęci z powierzchniowymi atomami nanostruktur Au/Ag.

W tym samym czasie oddziaływanie jonów Hg^{2+} z nanostrukturami złota/srebra, również prowadzi do destabilizacji nanostruktur i ich agregacji. Wniosek ten potwierdza ewolucja kształtu nanokostek złota i srebra po dodatku jonów Hg^{2+} , obserwowana na podstawie mikroskopii TEM (Rys. 74).



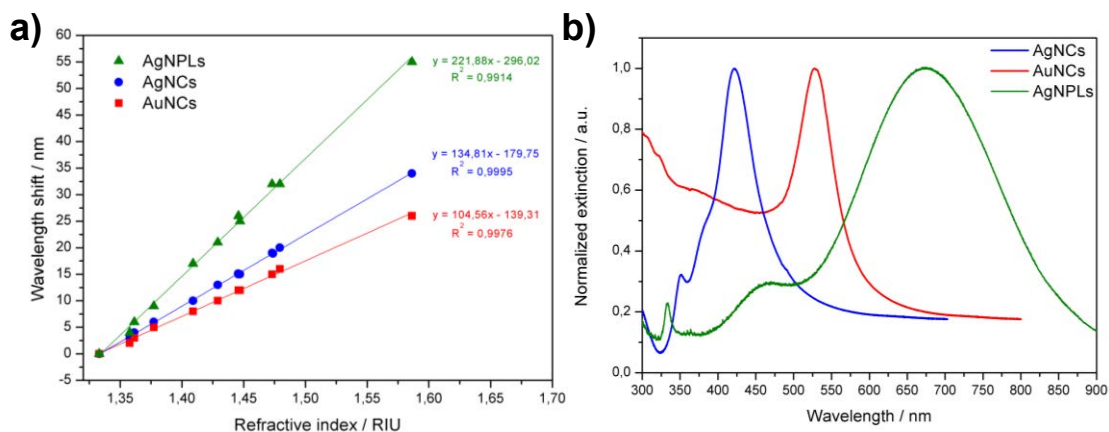
Rys. 74 Obraz TEM agregujących a) AgNCs oraz b) AuNCs, po dodatku Hg^{2+} .

Ważną rolę w mechanizmie interakcji nanostruktur metalicznych i rtęci może również odgrywać ligand stabilizujący badaną nanostrukturę. Czynnikiem stabilizującym PVP, nadaje nanokostkom i nanotrójkątom srebra ujemny ładunek. PVP jest cząsteczką nienaładowaną, jednak z powodu istnienia struktur rezonansowych w wodzie - osiąga ładunek ujemny.²⁰⁰ Dostosowując pH roztworu, niejonowy poli winylopirolidon (PVP) może stać się cząsteczką o ładunku pozytywnym lub negatywnym, natomiast PVP w dejonizowanej wodzie występuje w postaci ujemnie naładowanego polielektrolitu.²⁰⁰ Wprowadzając rtęć do roztworu ujemnie naładowanych nanokostek srebra/ NaBH_4 , w pierwszym etapie zachodzi elektrostatyczne przyciąganie między naładowanymi ujemnie nanokostkami srebra i dodatnio naładowanymi kationami Hg^{2+} , co skutkuje zmniejszeniem odległości między nanokostkami srebra.

W przypadku nanokostek złota, cząstki te są stabilizowane pozytywnie naładowanym ligandem CTAC. Silne powinowactwo CTAC do powierzchni AuNPs i jego długiego łańcucha węglowodorowego stwarza trudności w dalszej modyfikacji powierzchni nanocząstek, a zwłaszcza ich dalszego wykorzystania.¹⁶⁵ Przeprowadzenie ekstrakcji rozpuszczalnikowej w dichlorometanie (DCM) pozwala na częściowe usunięcie ligandów CTAC z powierzchni AuNCs. Zapewnia to możliwość utrzymania stabilności koloidalnej zawiesiny oraz zachodzenie reakcji na powierzchni nanocząstki.

Zbadano przydatność anizotropowych nanostruktur (nanokostek złota, nanokostek srebra i nanotrójkątów srebra) do wykrywania jonów Hg^{2+} w próbkach wody. Dla wszystkich nanostruktur największe przesunięcie zaobserwowano dla pasm dipolowych. Na tej podstawie zbadano czułość nanostruktur złota i srebra na zmiany współczynnika załamania światła. Odwirowane nanostruktury złota i srebra zawieszono w wybranych rozpuszczalnikach: woda ($n = 1,333$), kwas octowy ($1,3577$), etanol ($n = 1,3614$), izopropanol ($n = 1,3772$), 1-pentanol ($n = 1,409$), 1-octanol ($n = 1,429$), chloroform ($n = 1,4458$), glikol dietylenowy ($n = 1,447$), gliceryna ($n = 1,473$), DMSO ($n = 1,4793$), anilina ($n = 1,5863$) i zmierzono ich widma. Dla każdego rozpuszczalnika obliczono przesunięcie pasma dipolowego względem maksimum pasma dipolowego nanostruktur złota i srebra w wodzie ($n = 1,333$) (Rys. 75a). Na tej podstawie, wyznaczono przesunięcia pasm dipolowych w funkcji współczynnika załamania światła. Dla badanych nanostruktur zaobserwowano podobną zależność: wraz ze wzrostem współczynnika załamania, maksimum pasma dipolowego nanostruktur złota i srebra przesunęło się w stronę podczerwieni (Rys. 75a).

Następnie wyznaczono czułość na zmiany współczynnika załamania, którą uzyskano z dopasowania liniowego. Wyznaczone proste (Rys. 75a) otrzymano z wysokim współczynnikiem korelacji (bliskim 1). Największą czułość na zmiany współczynnika załamania światła wykazują nanotrójkąty srebra. Podobne wnioski stwierdzono podczas wykrywania jonów Hg^{2+} w wodzie destylowanej. Porównując między sobą nanokostki, większą czułość wykazują nanokostki srebra.



Rys. 75 a) Przesunięcie pasma dipolowego względem współczynnika załamania dla AgNPLs (punkty zielone), AgNCs (punkty niebieskie) i AuNCs (punkty czerwone). Linie ciągłe przedstawiają dopasowane proste. b) Porównanie znormalizowanych widm absorpcji nanokostek srebra (AgNCs, linia niebieska), nanokostek złota (AuNCs, linia niebieska) i nanotrójkątów srebra (AgNPLs, linia zielona).

Porównując rozmiary otrzymanych nanostruktur złota i srebra, długość boku nanokostek złota była o ok. 40% większa w stosunku do nanostruktur srebra. Widma absorpcji AgNCs (Rys. 75b niebieska linia) i AgNPLs (Rys. 75b niebieska linia) mają 3 wyraźne pasma plazmonowe, odpowiednio przy 350,6 nm, 378,6 nm i 420,7 nm oraz 334,6 nm, 468,1 nm i 675,7 nm. Widmo absorpcji AuNCs w wodzie (Rys. 75a czerwona linia) zawiera tylko jedno pasmo przy 529,2 nm. Nanokostki i nanotrójkąty srebra wykazują bardziej złożone właściwości optyczne niż AuNCs. Obecność wielu pasm plazmonowych dla badanych nanostruktur srebra pozwala także na bezpośrednie porównywanie czułości poszczególnych pasm na zmiany współczynnika załamania światła.²⁰¹ W Tabeli 9 zestawiono wybrane parametry i właściwości optyczne nanostruktur złota i srebra.

Tabela 9. Porównanie wybranych parametrów i właściwości nanokostek srebra i złota.

Parametry i właściwości badanych nanostruktur	Nanokostki złota AuNCs	Nanokostki srebra AgNCs	Nanotrójkąty srebra AgNPLs
LOD względem Hg ²⁺	1×10 ⁻¹³ M	1×10 ⁻¹⁶ M	1×10 ⁻¹⁷ M
Metoda syntezy	<i>seed-mediated growth</i>	synteza poliolowa	chemiczna redukcja
Ligand stabilizujący	CTAC	PVP	PVP i TSC
Ładunek ligandu stabilizującego	dodatni	ujemny	ujemny
Długość boku	~54 nm	~32 nm	~35 nm
Grubość boku	~54 nm	~32 nm	~8 nm
Ilość pasm plazmonowych	1	3	3
Położenie pasm plazmonowych	529,2 nm	350,6; 378,6; 420,7 nm	334,6; 468,1; 675,7 nm
Czułość współczynnika RI (RIS)	~105 nm/RIU	~135 nm/RIU	~222 nm/RIU
FWHM pasma dipolarnego	76,06 nm	72,34 nm	221,66 nm

Porównując badane nanostruktury jako elementy czujników optycznych do wykrywania jonów Hg²⁺, należy podkreślić wyraźne różnice w tych czujnikach. Badane nanostruktury różnią się nie tylko materiałem, kształtem i wielkością, ale także sposobem syntezy i ligandem stabilizującym oraz stężeniem nanostruktur w próbce.

Określenie wpływu rodzaju metalu na czułość względem jonów Hg²⁺ jest nieco utrudniona. Jak wynika z literatury, czułość na zmiany współczynnika załamania ściśle zależy od rozmiaru i kształtu nanostruktur oraz wzrasta wraz z rozmiarem nanocząstek.²⁰²

Chcąc porównywać czujniki w kierunku wykrywania jonów Hg²⁺ należałoby zsyntezować nanokostki złota i srebra o takim samym rozmiarze, najlepiej stabilizowanych tym samym ligandem. Zmniejszenie rozmiaru nanokostek złota do ok. 30 nm mogłoby skutkować innym przesunięciem pasma dipolowego w stronę nadfioletu oraz inną czułością na zmiany współczynnika załamania.

W badaniach wykazano, że zarówno nanokostki srebra jak i złota nadają się do wykrywania jonów Hg²⁺ w próbkach wody z niskim limitem detekcji (znacznie poniżej maksymalnego dopuszczalnego stężenia Hg²⁺ w wodzie pitnej). Jak przedstawiono wcześniej nanokostki srebra wykazują wyższą czułość na zmiany współczynnika załamania niż nanokostki złota. W rezultacie, są lepszym materiałem do zastosowań optycznych niż nanostruktury złota (w tym do wykrywania jonów Hg²⁺).

Największe przesunięcie pasma dipolowego względem jonów Hg^{2+} prezentowały nanotrójki srebra. Pokazano również, że AgNPLs mają prawie dwukrotnie większą czułość na zmiany współczynnika załamania niż nanokostki (złota i srebra). Na podstawie badań wykazano również, że wodne zawiesiny zsyntezowanych nanotrójek srebra wykazują najlepsze właściwości optyczne do oznaczania jonów Hg^{2+} w wodzie destylowanej. Pomimo wysokiej czułości na zmiany współczynnika załamania, nanotrójki srebra nie nadają się do oznaczania jonów Hg^{2+} w próbkach rzeczywistych.

Wykonywanie oznaczeń zawartości analitów w rzeczywistych próbkach wodnych, przebiega w roztworach zawierających wiele innych jonów oraz substancji. Oznaczanie jonów Hg^{2+} w rzeczywistych próbkach wody powinno dawać możliwość wykrycia stężeń poniżej maksymalnego dopuszczalnego stężenia. Maksymalne dopuszczalne stężenie Hg^{2+} w wodzie pitnej określone według normy WHO wynosi 2×10^{-9} M.¹³¹

Stosując nanokostki złota lub srebra, z powodzeniem oznaczano jony Hg^{2+} w różnych próbkach: wodzie mineralnej, wodzie kranowej oraz w 1,5% wodnym roztworze NaCl. W badanych układach możliwe było oznaczanie stężenia jonów Hg^{2+} z niskim limitem detekcji oraz wysokim odzyskiem. Lepsze wyniki otrzymano dla nanokostek srebra. Za wyjątkowe właściwości optyczne tych nanostruktur odpowiadają ich krawędzie i wierzchołki. Ostre wierzchołki i krawędzie sprawiają, że nanostruktury srebra mają większą czułość na zmiany położenia pasm plazmonowych. Gdy wierzchołki są bardzo ostre oraz próbka homogeniczna, takie nanostruktury z powodzeniem nadają się do zastosowań sensorowych jako czujniki chemiczne.

Podsumowanie i wnioski

W niniejszej pracy doktorskiej poszukiwano nowych zastosowań dla nanostruktur złota i srebra w analizie chemicznej. Celem badań było zmodyfikowanie stałych podłoży za pomocą nanostruktur złota w reakcji CuAAC z generowanym chemicznie lub elektrochemicznie katalizatorem oraz zastosowanie anizotropowych nanostruktur złota i srebra do oznaczania jonów Hg^{2+} w próbkach wody. Uzyskane wyniki poszerzyły dotychczasową wiedzę, jednak nie wyczerpały wszystkich zagadnień, które w przyszłości mogą stać się celem kolejnych prac badawczych.

Otrzymane wyniki badań szczegółowo omówiono w rozdziale 7 i 8. Część wynikówostała opublikowana w 2 artykułach naukowych, których listę umieszczono na końcu pracy. W rozdziale 7 opisano wyniki dotyczące modyfikacji stałych podłoży przy użyciu reakcji cykloaddycji azydek-alkin katalizowanej jonami miedzi(I). W rozdziale 8 opisano wyniki dotyczące czujników optycznych do oznaczania jonów Hg^{2+} w roztworach wodnych.

Po raz pierwszy zastosowano reakcję CuAAC do modyfikacji stałych podłoży przewodzących i nieprzewodzących za pomocą nanocząstek złota. Istotnym aspektem modyfikacji było przyłączenie nanostruktur do podłoży za pomocą wiązania chemicznego. Opracowane warunki modyfikacji pozwoliły uzyskać dwie metody generowania katalizatora reakcji (jonów miedzi(I)): poprzez redukcję $CuSO_4 \times 5H_2O$ za pomocą askorbinianu sodu, oraz poprzez przyłożenie do powierzchni elektrody odpowiedniego potencjału powodującego redukcję jonów miedzi(II) do jonów miedzi(I). Stwierdzono, że elektrochemicznie generowany katalizator reakcji CuAAC zwiększa szybkość i wydajność modyfikacji powierzchni podłoży za pomocą AuNPs.

Zmodyfikowane AuNPs w reakcji CuAAC elektrody GCE, wykorzystano jako czujniki elektrochemiczne do oznaczania jonów azotanowych(III) w obecności jonów siarczanowych(IV), a modyfikowane elektrody ITO do oznaczania kwasu szczawiowego. Opracowane warunki prowadzenia reakcji CuAAC pozwoliły także na modyfikację szkła kwarcowego oraz przyłączenie AuNPs do jego powierzchni.

W przyszłości przedstawione metody modyfikacji stałych podłoży mogą zostać użyte do zupełnie nowych celów, a opisane wyniki prac eksperymentalnych przyczynić się do dalszego rozwoju czujników w analizie chemicznej.

Zsyntezowane anizotropowe nanostruktury złota i srebra użyto jako elementy czujników optycznych do wykrywania jonów rtęci(II) w wodnych roztworach. Badania przeprowadzono w wodzie destylowanej, wodzie mineralnej, wodzie kranowej oraz w obecności jonów przeszkadzających.

Stwierdzono, że nanokostki złota, nanostki srebra i nanotrójkąty srebra nadają się do oznaczania stężenia jonów Hg^{2+} poniżej maksymalnego dopuszczalnego stężenia Hg^{2+} w wodzie destylowanej. Największe zmiany w kształcie oraz położeniu pasm LSPR zaobserwowano dla nanotrójkątów srebra w wodzie destylowanej. Pomimo niskiej LOD względem jonów Hg^{2+} , badane struktury były niestabilne w innych roztworach wodnych, które zawierały jony przeszkadzające.

Badania prowadzone w kierunku oznaczania jonów metali ciężkich są istotne pod kątem wpływu na nasze zdrowie oraz ekologię. Zaprezentowane metody oznaczania jonów rtęci(II), mogą przyczynić się do powstania nowych i bardziej zaawansowanych czujników chemicznych wykorzystujących nanostruktury.

Lista publikacji:

- 1) J. Matyjewicz, A. Lesniewski, J. Niedziolka-Jonsson, *Click chemistry modification of glassy carbon electrode with gold nanoparticles for electroactive ion discrimination*, *Electrochem. Commun.* 48 (2014) 73.
- 2) A. Lesniewski, J. Matyjewicz, B. Palys, J. Niedziolka-Jonsson, *Electroassisted click chemistry immobilisation of gold nanoparticles on a solid substrate*, *Electrochem. Commun.* 53 (2015) 20.

Lista wystąpień konferencyjnych:

- 1) Poster: *Click Modification of Glassy Carbon Electrodes with Gold Nanoparticles for Electroactive on Discrimination*
The Cambridge - Warsaw Young Scientists Meeting (CWM 2014), Cambridge, United Kingdom (2014)
- 2) Poster: *Electroassisted click chemistry for immobilization of nanostructures on a solid surface*
13th International Fisher Symposium a meeting on nanoscale electrochemistry, Lubeck, Germany (2015)
- 3) Poster: *Silver nanocubes-based sensor for mercury detection in water samples*
The Applied Nanotechnology and Nanoscience International Conference (ANNIC 2017), Rome, Italy (2017)

Lista odbytych staży naukowych:

2014 – miesięczny staż European Summer School on Nanosciences & Nanotechnologies ESONN'14, Grenoble, France

2017 -2-miesięczny staż w The K. Barry Sharpless Lab, The Scripps Research Institute, La Jolla (San Diego), USA

2017 – tygodniowy staż Erasmus w The Leibniz Institute of Photonic Technology, Jena, Germany

Bibliografia:

- (1) Ledbetter, N.; Goswami, T., A Review of Nanotechnology Applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Materials* **2002**, *13* (5–6).
<https://doi.org/10.1515/JMBM.2002.13.5-6.353>.
- (2) Yan, Z.; Yuen, M.-F.; Hu, L.; Sun, P.; Lee, C.-S., Advances for the Colorimetric Detection of Hg²⁺ in Aqueous Solution. *RSC Adv.* **2014**, *4* (89), 48373–48388.
<https://doi.org/10.1039/C4RA07930B>.
- (3) Chen, Y.; Xianyu, Y.; Wu, J.; Yin, B.; Jiang, X. Click Chemistry-Mediated Nanosensors for Biochemical Assays. *Theranostics* **2016**, *6* (7), 969–985.
<https://doi.org/10.7150/thno.14856>.
- (4) Ahlberg, S.; Antonopoulos, A.; Diendorf, J.; Dringen, R.; Epple, M.; Flöck, R.; Goedecke, W.; Graf, C.; Haberl, N.; Helmlinger, J.; Herzog, F.; Heuer, F.; Hirn, S.; Johannes, C.; Kittler, S.; Köller, M.; Korn, K.; Kreyling, W. G.; Krombach, F.; Lademann, J.; Loza, K.; Luther, E. M.; Malissek, M.; Meinke, M. C.; Nordmeyer, D.; Pailliant, A.; Raabe, J.; Rancan, F.; Rothen-Rutishauser, B. R.; Rühl, E.; Schleh, C.; Seibel, A.; Sengstock, C.; Treuel, L.; Vogt, A.; Weber, K.; Zellner, R. PVP-Coated, Negatively Charged Silver Nanoparticles: A Multi-Center Study of Their Physicochemical Characteristics, Cell Culture and in Vivo Experiments. *Beilstein Journal of Nanotechnology* **2014**, *5*, 1944–1965. <https://doi.org/10.3762/bjnano.5.205>.
- (5) Elahi, N.; Kamali, M.; Baghersad, M. H., Recent Biomedical Applications of Gold Nanoparticles: A Review. *Talanta* **2018**, *184*, 537–556.
<https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2018.02.088>.
- (6) Amendola, V.; Pilot, R.; Frascioni, M.; Maragò, O. M.; Iati, M. A., Surface Plasmon Resonance in Gold Nanoparticles: A Review. *Journal of Physics: Condensed Matter* **2017**, *29* (20), 203002. <https://doi.org/10.1088/1361-648X/aa60f3>.
- (7) Nguyen, D. T.; Kim, D.-J.; Kim, K.-S., Controlled Synthesis and Biomolecular Probe Application of Gold Nanoparticles. *Micron* **2011**, *42* (3), 207–227.
<https://doi.org/10.1016/J.MICRON.2010.09.008>.
- (8) Ruditskiy, A.; Xia, Y., Toward the Synthesis of Sub-15 Nm Ag Nanocubes with Sharp Corners and Edges: The Roles of Heterogeneous Nucleation and Surface Capping. *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138* (9), 3161–3167.
<https://doi.org/10.1021/jacs.5b13163>.
- (9) LaMer, V. K.; Dinegar, R. H., Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. *Journal of the American Chemical Society* **1950**, *72* (11), 4847–4854. <https://doi.org/10.1021/ja01167a001>.
- (10) You, H.; Fang, J. Particle-Mediated Nucleation and Growth of Solution-Synthesized Metal Nanocrystals: A New Story beyond the LaMer Curve. *Nano Today* **2016**, *11* (2), 145–167.
<https://doi.org/10.1016/J.NANTOD.2016.04.003>.
- (11) Kumar, S.; Gandhi, K. S.; Kumar, R., Modeling of Formation of Gold Nanoparticles by Citrate Method. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *46*, 10, 3128–3136
<https://doi.org/10.1021/ie060672j>.
- (12) Nguyen, D. T.; Kim, D.-J.; So, M. G.; Kim, K.-S. Experimental Measurements of Gold Nanoparticle Nucleation and Growth by Citrate Reduction of HAuCl₄. *Advanced Powder Technology* **2010**, *21* (2), 111–118.
<https://doi.org/10.1016/J.APT.2009.11.005>.
- (13) Skrabalak, S. E.; Xia, Y. Pushing Nanocrystal Synthesis toward Nanomanufacturing. *American Chemical Society* **2009**, *3*, 1, 10–15 <https://doi.org/10.1021/nn800875p>.
- (14) Yungang Sun; Xia, Y. Shape-Controlled Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles. *Science* **2002**, *298* (December), 2176–2178. <https://doi.org/10.1126/science.1159689>.
- (15) Koczur, K. M.; Mourdikoudis, S.; Polavarapu, L.; Skrabalak, S. E. Polyvinylpyrrolidone (PVP) in Nanoparticle Synthesis. *Dalton Transactions* **2015**, *44* (41), 17883–17905.
<https://doi.org/10.1039/c5dt02964c>.
- (16) Siekkinen, A. R.; McLellan, J. M.; Chen, J.; Xia, Y. Rapid Synthesis of Small Silver Nanocubes by Mediating Polyol Reduction with a Trace Amount of Sodium Sulfide or Sodium Hydrosulfide. *Chemical physics letters* **2006**, *432* (4–6), 491–496.
<https://doi.org/10.1016/j.cplett.2006.10.095>.
- (17) Millstone, J. E.; Hurst, S. J.; Métraux, G. S.; Cutler, J. I.; Mirkin, C. A. Colloidal Gold and Silver Triangular Nanoprisms. *Small* **2009**, *5* (6), 646–664.
<https://doi.org/10.1002/sml.200801480>.

- (18) Geng, X.; Leng, W.; Carter, N. A.; Vikesland, P. J.; Grove, T. Z. Protein-Aided Formation of Triangular Silver Nanoprisms with Enhanced SERS Performance. *Journal of Materials Chemistry B* **2016**, *4* (23), 4182–4190. <https://doi.org/10.1039/C6TB00844E>.
- (19) Parnklang, T.; Lertvachirapaiboon, C.; Pienpinijtham, P.; Wongravee, K.; Thammacharoen, C.; Ekgasit, S. H₂O₂-Triggered Shape Transformation of Silver Nanospheres to Nanoprisms with Controllable Longitudinal LSPR Wavelengths. *RSC Advances* **2013**, *3* (31), 12886–12894. <https://doi.org/10.1039/c3ra41486h>.
- (20) Graf, C.; Nordmeyer, D.; Sengstock, C.; Ahlberg, S.; Diendorf, J.; Raabe, J.; Epple, M.; Köller, M.; Lademann, J.; Vogt, A.; Rancan, F.; Rühl, E. Shape-Dependent Dissolution and Cellular Uptake of Silver Nanoparticles. *Langmuir* **2018**, *34* (4), 1506–1519. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b03126>.
- (21) Métraux, G. S.; Mirkin, C. A. Rapid Thermal Synthesis of Silver Nanoprisms with Chemically Tailorable Thickness. *Advanced Materials* **2005**, *17* (4), 412–415. <https://doi.org/10.1002/adma.200401086>.
- (22) Aherne, D.; Ledwith, D. M.; Gara, M.; Kelly, J. M. Optical Properties and Growth Aspects of Silver Nanoprisms Produced by a Highly Reproducible and Rapid Synthesis at Room Temperature. *Advanced Functional Materials* **2008**, *18* (14), 2005–2016. <https://doi.org/10.1002/adfm.200800233>.
- (23) Sperling, R. A.; Parak, W. J. Surface Modification, Functionalization and Bioconjugation of Colloidal Inorganic Nanoparticles. *Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences* **2010**, *368* (1915), 1333–1383. <https://doi.org/10.1098/rsta.2009.0273>.
- (24) Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M. Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chemical Reviews* **2005**, *105* (4), 1103–1170. <https://doi.org/10.1021/cr0300789>.
- (25) Neouze, M.-A.; Schubert, U. Surface Modification and Functionalization of Metal and Metal Oxide Nanoparticles by Organic Ligands. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2008**, *139* (3), 183–195. <https://doi.org/10.1007/s00706-007-0775-2>.
- (26) Gobbo, P.; Ghiassian, S.; Hesari, M.; Stamplecoskie, K. G.; Kazemi-Zanjani, N.; Laguné-Labarthet, F.; Workentin, M. S. Electrochemistry of Robust Gold Nanoparticle-Glassy Carbon Hybrids Generated Using a Patternable Photochemical Approach. *Journal of Materials Chemistry* **2012**, *22* (45), 23971–23980. <https://doi.org/10.1039/c2jm34984a>.
- (27) Pujari, S. P.; Scheres, L.; Marcelis, A. T. M.; Zuilhof, H. Covalent Surface Modification of Oxide Surfaces. *Angewandte Chemie - International Edition* **2014**, *53* (25), 6322–6356. <https://doi.org/10.1002/anie.201306709>.
- (28) Sagiv, J. Organized Monolayers by Adsorption. 1. Formation and Structure of Oleophobic Mixed Monolayers on Solid Surfaces. *Journal of the American Chemical Society* **1980**, *102* (1), 92–98. <https://doi.org/10.1021/ja00521a016>.
- (29) Desbief, S.; Patrone, L.; Goguenheim, D.; Guérin, D.; Vuillaume, D. Impact of Chain Length, Temperature, and Humidity on the Growth of Long Alkyltrichlorosilane Self-Assembled Monolayers. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13* (7), 2870–2879. <https://doi.org/10.1039/C0CP01382J>.
- (30) Tripp, C. P.; Hair, M. L. Reaction of Methylsilanols with Hydrated Silica Surfaces: The Hydrolysis of Trichloro-, Dichloro-, and Monochloromethylsilanes and the Effects of Curing. *Langmuir* **1995**, *11* (1), 149–155. <https://doi.org/10.1021/la00001a027>.
- (31) Pasternack, R. M.; Rivillon Amy, S.; Chabal, Y. J. Attachment of 3-(Aminopropyl)Triethoxysilane on Silicon Oxide Surfaces: Dependence on Solution Temperature. *Langmuir* **2008**, *24* (22), 12963–12971. <https://doi.org/10.1021/la8024827>.
- (32) Haller, I. Covalently Attached Organic Monolayers on Semiconductor Surfaces. *Journal of the American Chemical Society* **1978**, *100* (26), 8050–8055. <https://doi.org/10.1021/ja00494a003>.
- (33) Lowe, R. D.; Pellow, M. A.; Stack, T. D. P.; Chidsey, C. E. D. Deposition of Dense Siloxane Monolayers from Water and Trimethoxyorganosilane Vapor. *Langmuir* **2011**, *27* (16), 9928–9935. <https://doi.org/10.1021/la201333y>.
- (34) Agnihotri, S.; Mukherji, S.; Mukherji, S. Immobilized Silver Nanoparticles Enhance Contact Killing and Show Highest Efficacy: Elucidation of the Mechanism of Bactericidal Action of Silver. *Nanoscale* **2013**, *5* (16), 7328. <https://doi.org/10.1039/c3nr00024a>.

- (35) Rianasari, I.; de Jong, M. P.; Huskens, J.; van der Wiel, W. G. Covalent Coupling of Nanoparticles with Low-Density Functional Ligands to Surfaces via Click Chemistry. *International Journal of Molecular Sciences* **2013**, *14* (2), 3705–3717. <https://doi.org/10.3390/ijms14023705>.
- (36) Fontana, J.; Spillmann, C.; Naciri, J.; Ratna, B. R. A Technique to Functionalize and Self-Assemble Macroscopic Nanoparticle-Ligand Monolayer Films onto Template-Free Substrates. *Journal of visualized experiments : JoVE* **2014**, No. 87. <https://doi.org/10.3791/51282>.
- (37) Rahman, T.; Ichiki, T. Fabrication and Characterization of a Stabilized Thin Film Ag/AgCl Reference Electrode Modified with Self-Assembled Monolayer of Alkane Thiol Chains for Rapid Biosensing Applications. *Sensors* **2017**, *17* (10), 2326. <https://doi.org/10.3390/s17102326>.
- (38) Caragheorghopol, A.; Chechik, V. Mechanistic Aspects of Ligand Exchange in Au Nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2008**, *10* (33), 5029. <https://doi.org/10.1039/b805551c>.
- (39) Biju, V. Chemical Modifications and Bioconjugate Reactions of Nanomaterials for Sensing, Imaging, Drug Delivery and Therapy. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (3), 744–764. <https://doi.org/10.1039/C3CS60273G>.
- (40) Lu, Y.; Chen, W. Sub-Nanometre Sized Metal Clusters: From Synthetic Challenges to the Unique Property Discoveries. *Chemical Society Reviews* **2012**, *41* (9), 3594. <https://doi.org/10.1039/c2cs15325d>.
- (41) Smith, A. M.; Marbella, L. E.; Johnston, K. A.; Hartmann, M. J.; Crawford, S. E.; Kozycz, L. M.; Seferos, D. S.; Millstone, J. E. Quantitative Analysis of Thiolated Ligand Exchange on Gold Nanoparticles Monitored by ¹H NMR Spectroscopy. *Analytical Chemistry* **2015**, *87* (5), 2771–2778. <https://doi.org/10.1021/ac504081k>.
- (42) Michael J. Hostetler; Allen C. Templeton, and; Murray, R. W. Dynamics of Place-Exchange Reactions on Monolayer-Protected Gold Cluster Molecules. **1999**. <https://doi.org/10.1021/LA981598F>.
- (43) Rui Guo; Yang Song; Gangli Wang, and Murray, R. W. Does Core Size Matter in the Kinetics of Ligand Exchanges of Monolayer-Protected Au Clusters? **2005**. <https://doi.org/10.1021/JA044638C>.
- (44) Joseph B. Tracy, Matthew C. Crowe, Joseph F. Parker, Oliver Hampe, Christina A. Fields-Zinna, Amala Dass, Royce W. Murray. Electrospray Ionization Mass Spectrometry of Uniform and Mixed Monolayer Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2007**. <https://doi.org/10.1021/JA076621A>.
- (45) Yang Song; Amanda S. Harper, Murray, R. W. Ligand Heterogeneity on Monolayer-Protected Gold Clusters. **2005**. <https://doi.org/10.1021/LA0503606>.
- (46) Caragheorghopol, A.; Chechik, V. Mechanistic Aspects of Ligand Exchange in Au Nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2008**, *10* (33), 5029. <https://doi.org/10.1039/b805551c>.
- (47) Cheng, H.; Yang, L.; Jiang, Y.; Huang, Y.; Sun, Z.; Yao, T.; Bian, Q.; Wei, S. Adsorption Kinetic Process of Thiol Ligands on Gold Nanocrystals. *Nanoscale* **2013**, *5* (23), 11795. <https://doi.org/10.1039/c3nr04020h>.
- (48) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2001**, *40* (11), 2004–2021.
- (49) Moses, J. E.; Moorhouse, A. D. The Growing Applications of Click Chemistry. *Chemical Society reviews* **2007**, *36* (8), 1249–1262. <https://doi.org/10.1039/b613014n>.
- (50) Dong, J.; Krasnova, L.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Sulfur(VI) Fluoride Exchange (SuFEx): Another Good Reaction for Click Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53* (36), 9430–9448. <https://doi.org/10.1002/anie.201309399>.
- (51) Shi, Y.; Cao, X.; Gao, H. The Use of Azide-Alkyne Click Chemistry in Recent Syntheses and Applications of Polytriazole-Based Nanostructured Polymers. *Nanoscale* **2016**, *8* (9), 4864–4881. <https://doi.org/10.1039/C5NR09122E>.
- (52) Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. The Growing Impact of Click Chemistry on Drug Discovery. *Drug. Discov. Today* **2003**, *8* (24), 1128–1137. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(03\)02933-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(03)02933-7).

- (53) Yi, G.; Son, J.; Yoo, J.; Park, C.; Koo, H. Application of Click Chemistry in Nanoparticle Modification and Its Targeted Delivery. *Biomaterials research* **2018**, *22*, 13. <https://doi.org/10.1186/s40824-018-0123-0>.
- (54) Lahann, Joerg. *Click Chemistry for Biotechnology and Materials Science*; Wiley, 2009.
- (55) Chen, Y.; Xianyu, Y.; Wu, J.; Yin, B.; Jiang, X. Click Chemistry-Mediated Nanosensors for Biochemical Assays. *Theranostics* **2016**, *6* (7), 969–985. <https://doi.org/10.7150/thno.14856>.
- (56) McKay, C. S.; Finn, M. G. Click Chemistry in Complex Mixtures: Bioorthogonal Bioconjugation. *Chemistry & biology* **2014**, *21* (9), 1075–1101. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2014.09.002>.
- (57) Li, N.; Zhao, P.; Salmon, L.; Ruiz, J.; Zabawa, M.; Hosmane, N. S.; Astruc, D. “Click” Star-Shaped and Dendritic PEGylated Gold Nanoparticle-Carborane Assemblies. *Inorganic Chemistry* **2013**, *52* (19), 11146–11155. <https://doi.org/10.1021/ic4013697>.
- (58) Lim, J.; Yang, H.; Paek, K.; Cho, C. H.; Kim, S.; Bang, J.; Kim, B. J. “Click” Synthesis of Thermally Stable Au Nanoparticles with Highly Grafted Polymer Shell and Control of Their Behavior in Polymer Matrix. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **2011**, *49* (16), 3464–3474. <https://doi.org/10.1002/pola.24782>.
- (59) 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. *Biosensors and Bioelectronics* **2013**, *41* (1), 663–668. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.09.032>.
- (60) Zhang, T.; Wu, Y.; Pan, X.; Zheng, Z.; Ding, X.; Peng, Y. An Approach for the Surface Functionalized Gold Nanoparticles with PH-Responsive Polymer by Combination of RAFT and Click Chemistry. *European Polymer Journal* **2009**, *45* (6), 1625–1633. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2009.03.016>.
- (61) Rousseau, G.; Fensterbank, H.; Baczkowski, K.; Cano, M.; Allard, E.; Larpent, C. Azido-Coated Nanoparticles: A Versatile Clickable Platform for the Preparation of Fluorescent Polystyrene Core-Pamam Shell Nanoparticles. *Macromolecules* **2012**, *45* (8), 3513–3522. <https://doi.org/10.1021/ma300126h>.
- (62) Fischler, M.; Sologubenko, A.; Mayer, J.; Clever, G.; Burley, G.; Gierlich, J.; Carell, T.; Simon, U. Chain-like Assembly of Gold Nanoparticles on Artificial DNA Templates via “Click Chemistry”. *Chemical communications (Cambridge, England)* **2008**, No. 2, 169–171. <https://doi.org/10.1039/b715602b>.
- (63) Zhang, M. X.; Huang, B. H.; Sun, X. Y.; Pang, D. W. Clickable Gold Nanoparticles as the Building Block of Nanobioprobes. *Langmuir* **2010**, *26* (12), 10171–10176. <https://doi.org/10.1021/la100315u>.
- (64) Li, N.; Binder, W. H. AuNP128-Click-Chemistry for Nanoparticle-Modification. *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21* (42), 16717. <https://doi.org/10.1039/c1jm11558h>.
- (65) Limapichat, W.; Basu, A. Reagentless Functionalization of Gold Nanoparticles via a 3 + 2 Huisgen Cycloaddition. *Journal of Colloid and Interface Science* **2008**, *318* (1), 140–144. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.09.054>.
- (66) Guerrouache, M.; Mahouche-Chergui, S.; Chehimi, M. M.; Carbonnier, B. Site-Specific Immobilisation of Gold Nanoparticles on a Porous Monolith Surface by Using a Thiol-Yne Click Photopatterning Approach. *Chem Commun (Camb)* **2012**, *48* (60), 7486–7488. <https://doi.org/10.1039/c2cc33134a>.
- (67) Liang, L.; Astruc, D. The Copper(I)-Catalyzed Alkyne-Azide Cycloaddition (CuAAC) “Click” Reaction and Its Applications. An Overview. *Coordination Chemistry Reviews* **2011**, *255* (23–24), 2933–2945. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.06.028>.
- (68) Hua, C.; Zhang, W. H.; De 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. *The Analyst* **2012**, *137* (1), 82. <https://doi.org/10.1039/c1an15693d>.
- (69) Fu, G.; Chen, W.; Yue, X.; Jiang, X. Highly Sensitive Colorimetric Detection of Organophosphate Pesticides Using Copper Catalyzed Click Chemistry. *Talanta* **2013**, *103*, 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.10.016>.
- (70) Xue, D.; Wang, H.; Zhang, Y. Specific and Sensitive Colorimetric Detection of Al³⁺ Using 5-Mercaptomethyltetrazole Capped Gold Nanoparticles in Aqueous Solution. *Talanta* **2014**, *119*, 306–311. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.012>.

- (71) Zhou, Y.; Wang, S.; Zhang, K.; Jiang, X. Visual Detection of Copper(II) by Azide- and Alkyne-Functionalized Gold Nanoparticles Using Click Chemistry. *Angewandte Chemie - International Edition* **2008**, *47* (39), 7454–7456. <https://doi.org/10.1002/anie.200802317>.
- (72) Zhu, K.; Zhang, Y.; He, S.; Chen, W.; Shen, J.; Wang, Z.; Jiang, X. Quantitative Detection of Proteins by Functionalized Gold Nanoparticles Using Click Chemistry. **2012**, No. 1.
- (73) Qiu, S.; Gao, S.; Liu, Q.; Lin, Z.; Qiu, B.; Chen, G. Electrochemical Impedance Spectroscopy Sensor for Ascorbic Acid Based on Copper(I) Catalyzed Click Chemistry. *Biosensors and Bioelectronics* **2011**, *26* (11), 4326–4330. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.04.029>.
- (74) Coates, M.; Griveau, S.; Bedioui, F.; Nyokong, T. Layer by Layer Electrode Surface Functionalisation Using Carbon Nanotubes, Electrochemical Grafting of Azide-Alkyne Functions and Click Chemistry. *Electroanalysis* **2012**, *24* (9), 1833–1838. <https://doi.org/10.1002/elan.201200240>.
- (75) Coates, M.; Nyokong, T. Electrode Modification Using Iron Metallophthalocyanine through Click Chemistry and Axial Ligation with Pyridine. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2012**, *687*, 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2012.10.010>.
- (76) Rianasari, I.; de Jong, M. P.; Huskens, J.; van der Wiel, W. G. Covalent Coupling of Nanoparticles with Low-Density Functional Ligands to Surfaces via Click Chemistry. *International Journal of Molecular Sciences* **2013**, *14* (2), 3705–3717. <https://doi.org/10.3390/ijms14023705>.
- (77) Li, H.; Li, Z.; Wu, L.; Zhang, Y.; Yu, M.; Wei, L. Constructing Metal Nanoparticle Multilayers with Polyphenylene Dendrimer/Gold Nanoparticles via “Click” Chemistry. *Langmuir* **2013**, *29* (12), 3943–3949. <https://doi.org/10.1021/la400397q>.
- (78) Ramirez-Segovia, A. S.; Banda-Aleman, J. A.; Gutierrez-Granados, S.; Rodriguez, A.; Rodriguez, F. J.; Godinez, L. A.; Bustos, E.; Manriquez, J. Glassy Carbon Electrodes Sequentially Modified by Cysteamine-Capped Gold Nanoparticles and Poly(Amidoamine) Dendrimers Generation 4.5 for Detecting Uric Acid in Human Serum without Ascorbic Acid Interference. *Analytica Chimica Acta* **2014**, *812*, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.12.025>.
- (79) Sartori, E. R.; Vicentini, F. C.; Fatibello-Filho, O. Indirect Determination of Sulfite Using a Polyphenol Oxidase Biosensor Based on a Glassy Carbon Electrode Modified with Multi-Walled Carbon Nanotubes and Gold Nanoparticles within a Poly(Allylamine Hydrochloride) Film. *Talanta* **2011**, *87* (1), 235–242. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.10.003>.
- (80) Zhang, Z.; Li, W.; Zhao, Q.; Cheng, M.; Xu, L.; Fang, X. Highly Sensitive Visual Detection of Copper (II) Using Water-Soluble Azide-Functionalized Gold Nanoparticles and Silver Enhancement. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, *59*, 40–44. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.03.003>.
- (81) Ryoo, H.; Kim, Y.; Lee, J.; Shin, W.; Myung, N.; Hong, H. Immobilization of Horseradish Peroxidase to Electrochemically Deposited Gold-Nanoparticles on Glassy Carbon Electrode for Determination of H₂O₂. *Bull. Korean Chem. Soc* **2006**, *27* (5), 672–678.
- (82) Rawal, R.; Chawla, S.; Dahiya, T.; Pundir, C. S. Development of an Amperometric Sulfite Biosensor Based on a Gold Nanoparticles/Chitosan/Multiwalled Carbon Nanotubes/Polyaniline-Modified Gold Electrode. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2011**, *401* (8), 2599–2608. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5325-4>.
- (83) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: Triazoles by Regiospecific Copper (I)-Catalyzed 1, 3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *The Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67* (9), 3057–3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>.
- (84) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. *Angewandte Chemie International Edition* **2002**, *41* (14), 2596–2599. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4).
- (85) Mårten Ahlquist, and; Valery V. Fokin. Enhanced Reactivity of Dinuclear Copper(I) Acetylides in Dipolar Cycloadditions. **2007**. <https://doi.org/10.1021/OM700669V>.
- (86) Straub, B. F. M-Acetylide and μ -Alkenylidene Ligands in “Click” Triazole Syntheses. *Chemical Communications* **2007**, *0* (37), 3868. <https://doi.org/10.1039/b706926j>.

- (87) Rodionov, V. O.; Fokin, V. V.; Finn, M. G. Mechanism of the Ligand-Free CuI-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Reaction. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44* (15), 2210–2215. <https://doi.org/10.1002/anie.200461496>.
- (88) Presolski, S. I.; Hong, V.; Cho, S.-H.; Finn, M. G. Tailored Ligand Acceleration of the Cu-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition Reaction: Practical and Mechanistic Implications. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132* (41), 14570–14576. <https://doi.org/10.1021/ja105743g>.
- (89) Zhu, L.; Brassard, C. J.; Zhang, X.; Guha, P. M.; Clark, R. J. On the Mechanism of Copper(I)-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition. *Chemical Record* **2016**, No. 1, 1501–1517. <https://doi.org/10.1002/tcr.201600002>.
- (90) Such, G. K.; Johnston, A. P. R.; Liang, K.; Caruso, F. Synthesis and Functionalization of Nanoengineered Materials Using Click Chemistry. *Progress in Polymer Science* **2012**, *37* (7), 985–1003. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.12.002>.
- (91) Jin, L.; Tolentino, D. R.; Melaimi, M.; Bertrand, G. Isolation of Bis(Copper) Key Intermediates in Cu-Catalyzed Azide-Alkyne Click Reaction. *Science* **2015**, *1* (5) 14570–14576. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500304>.
- (92) Nolte, C.; Mayer, P.; Straub, B. F. Isolation of a Copper(I) Triazolide: A “Click” Intermediate. *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46* (12), 2101–2103. <https://doi.org/10.1002/anie.200604444>.
- (93) Kuang, G.-C.; Guha, P. M.; Brotherton, W. S.; Simmons, J. T.; Stanke, L. A.; Nguyen, B. T.; Clark, R. J.; Zhu, L. Experimental Investigation on the Mechanism of Chelation-Assisted, Copper(II) Acetate-Accelerated Azide–Alkyne Cycloaddition. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133* (35), 13984–14001. <https://doi.org/10.1021/ja203733q>.
- (94) Iacobucci, C.; Reale, S.; Gal, J.-F.; De Angelis, F. Dinuclear Copper Intermediates in Copper(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Directly Observed by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54* (10), 3065–3068. <https://doi.org/10.1002/anie.201410301>.
- (95) Worrell, B. T.; Malik, J. a; Fokin, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science* **2013**, *340* (6131), 457–460. <https://doi.org/10.1126/science.1229506>.
- (96) Kuang, G.-C.; Michaels, H. A.; Simmons, J. T.; Clark, R. J.; Zhu, L. Chelation-Assisted, Copper(II)-Acetate-Accelerated Azide-Alkyne Cycloaddition. *The Journal of organic chemistry* **2010**, *75* (19), 6540–6548. <https://doi.org/10.1021/jo101305m>.
- (97) Kaminska, I.; Das, M. R.; Coffinier, Y.; Niedziolka-Jonsson, J.; Sobczak, J.; Woisel, P.; Lyskawa, J.; Opallo, M.; Boukherroub, R.; Szunerits, S. Reduction and Functionalization of Graphene Oxide Sheets Using Biomimetic Dopamine Derivatives in One Step. *ACS Applied Materials and Interfaces* **2012**, *4* (2), 1016–1020. <https://doi.org/10.1021/am201664n>.
- (98) Lu, X.; Sun, F.; Wang, J.; Zhong, J.; Dong, Q. A Facile Route to Prepare Organic/Inorganic Hybrid Nanomaterials by Click Chemistry. *Macromolecular Rapid Communications* **2009**, *30* (24), 2116–2120. <https://doi.org/10.1002/marc.200900356>.
- (99) Zhang, J.; Wang, X.; Wu, D.; Liu, L.; Zhao, H. Bioconjugated Janus Particles Prepared by in Situ Click Chemistry. *Chemistry of Materials* **2009**, *21* (17), 4012–4018. <https://doi.org/10.1021/cm901437n>.
- (100) Hayashi, K.; Moriya, M.; Sakamoto, W.; Yogo, T. Chemoselective Synthesis of Folic Acid-Functionalized Magnetite Nanoparticles via Click Chemistry for Magnetic Hyperthermia. *Chemistry of Materials* **2009**, *21* (7), 1318–1325. <https://doi.org/10.1021/cm803113e>.
- (101) Hayashi, K.; Ono, K.; Suzuki, H.; Sawada, M.; Moriya, M.; Sakamoto, W.; Yogo, T. One-Pot Biofunctionalization of Magnetic Nanoparticles via Thiol–Ene Click Reaction for Magnetic Hyperthermia and Magnetic Resonance Imaging. *Chemistry of Materials* **2010**, *22* (12), 3768–3772. <https://doi.org/10.1021/cm100810g>.
- (102) Binder, W. H.; Sachsenhofer, R.; Straif, C. J.; Zirbs, R. Surface-Modified Nanoparticles via Thermal and Cu(I)-Mediated “Click” Chemistry: Generation of Luminescent CdSe Nanoparticles with Polar Ligands Guiding Supramolecular Recognition. *J. Mater. Chem.* **2007**, *17* (20), 2125–2132. <https://doi.org/10.1039/B618510J>.
- (103) Tchoul, M. N.; Fillery, S. P.; Koerner, H.; Drummy, L. F.; Oyerokun, F. T.; Mirau, P. A.; Durstock, M. F.; Vaia, R. A. Assemblies of Titanium Dioxide-Polystyrene Hybrid

- Nanoparticles for Dielectric Applications. *Chemistry of Materials* **2010**, *22* (5), 1749–1759. <https://doi.org/10.1021/cm903182n>.
- (104) Wu, L. P.; Zhao, H. W.; Qin, Z. H.; Zhao, X. Y.; Pu, W. D. Highly Selective Hg (II) Ion Detection Based on Linear Blue-Shift of the Maximum Absorption Wavelength of Silver Nanoparticles. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* **2012**, *2012*, 856947. <https://doi.org/10.1155/2012/856947>.
- (105) Yuan, X.; Wen, S.; Shen, M.; Shi, X. Dendrimer-Stabilized Silver Nanoparticles Enable Efficient Colorimetric Sensing of Mercury Ions in Aqueous Solution. *Analytical Methods* **2013**, *5* (20), 5486. <https://doi.org/10.1039/c3ay41331d>.
- (106) Wang, D.; Ge, C.; Wang, L.; Xing, X.; Zeng, L. A Simple Lateral Flow Biosensor for the Rapid Detection of Copper(II) Ions Based on Click Chemistry. *RSC Advances* **2015**, *5* (92), 75722–75727. <https://doi.org/10.1039/C5RA11752F>.
- (107) Zhang, Y.; Li, B.; Xu, C. Visual Detection of Ascorbic Acid via Alkyne–Azide Click Reaction Using Gold Nanoparticles as a Colorimetric Probe. *The Analyst* **2010**, *135* (7), 1579. <https://doi.org/10.1039/c0an00056f>.
- (108) Zhu, K.; Zhang, Y.; He, S.; Chen, W.; Shen, J.; Wang, Z.; Jiang, X. Quantification of Proteins by Functionalized Gold Nanoparticles Using Click Chemistry. *Analytical Chemistry* **2012**, *84* (10), 4267–4270. <https://doi.org/10.1021/ac3010567>.
- (109) Coates, M.; Griveau, S.; Bedioui, F.; Nyokong, T. Layer by Layer Electrode Surface Functionalisation Using Carbon Nanotubes, Electrochemical Grafting of Azide-Alkyne Functions and Click Chemistry. *Electroanalysis* **2012**, *24* (9), 1833–1838. <https://doi.org/10.1002/elan.201200240>.
- (110) Shen, X.; Liu, Y.; Pang, Y.; Yao, W. Conjugation of Graphene on Au Surface by π – π Interaction and Click Chemistry. *Electrochemistry Communications* **2013**, *30*, 13–16. <https://doi.org/10.1016/j.ELECOM.2013.01.025>.
- (111) Toulemon, D.; Pichon, B. P.; Leuvre, C.; Zafeiratos, S.; Papaefthimiou, V.; Cattoën, X.; Bégin-Colin, S. Fast Assembling of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles by Microwave-Assisted Copper(I) Catalyzed Alkyne–Azide Cycloaddition (CuAAC). *Chemistry of Materials* **2013**, *25* (14), 2849–2854. <https://doi.org/10.1021/cm401326p>.
- (112) Bhandodkar, A. J.; Wang, J. Non-Invasive Wearable Electrochemical Sensors: A Review. *Trends in Biotechnology* **2014**, *32* (7), 363–371. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.04.005>.
- (113) Hulanicki, A.; Glab, S.; Ingman, F. Chemical Sensors: Definitions and Classification. *Pure and Applied Chemistry* **1991**, *63* (9), 1247–1250. <https://doi.org/10.1351/pac199163091247>.
- (114) Csáki, A.; Thiele, M.; Jatschka, J.; Dathe, A.; Zopf, D.; Stranik, O.; Fritzsche, W. Plasmonic Nanoparticle Synthesis and Bioconjugation for Bioanalytical Sensing. *Engineering in Life Sciences* **2015**, *15* (3), 266–275. <https://doi.org/10.1002/elsc.201400075>.
- (115) Steinbrück, A.; Csaki, A.; Fritzsche, W. Metal Nanoparticles for Molecular Plasmonics; Springer, New York, NY, 2012; pp 1–37. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0884-0_1.
- (116) Mayer, K. M.; Hafner, J. H. Localized Surface Plasmon Resonances: Noble Metal Nanoparticle Interaction with Rare-Earth Ions. *Chemical Reviews* **2011**, *111*, 3828–3857.
- (117) Steinbrück, A.; Stranik, O.; Csaki, A.; Fritzsche, W. Sensoric Potential of Gold–Silver Core–Shell Nanoparticles. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2011**, *401* (4), 1241–1249. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5177-y>.
- (118) Pustovalov, V. K.; Astafyeva, L. G.; Fritzsche, W. Optical Properties of Core–Shell Gold–Silver and Silver–Gold Nanoparticles for Near UV and Visible Radiation Wavelengths. *Plasmonics* **2012**, *7* (3), 469–474. <https://doi.org/10.1007/s11468-012-9330-z>.
- (119) Martinsson, E.; Otte, M. A.; Shahjamali, M. M.; Sepulveda, B.; Aili, D. Substrate Effect on the Refractive Index Sensitivity of Silver Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C* **2014**, *118* (42), 24680–24687. <https://doi.org/10.1021/jp5084086>.
- (120) Matthew E. Stewart; Christopher R. Anderton; Lucas B. Thompson; Joana Maria; Stephen K. Gray; John A. Rogers, and; Ralph G. Nuzzo. Nanostructured Plasmonic Sensors. **2008**. <https://doi.org/10.1021/CR068126N>.
- (121) Martinsson, E.; Shahjamali, M. M.; Large, N.; Zaree, N.; Zhou, Y.; Schatz, G. C.; Mirkin, C. A.; Aili, D. Influence of Surfactant Bilayers on the Refractive Index Sensitivity and Catalytic Properties of Anisotropic Gold Nanoparticles. *Small* **2016**, *12* (3), 330–342. <https://doi.org/10.1002/sml.201502449>.

- (122) Oh, B.-R.; Huang, N.-T.; Chen, W.; Seo, J. H.; Chen, P.; Cornell, T. T.; Shanley, T. P.; Fu, J.; Kurabayashi, K. Integrated Nanoplasmonic Sensing for Cellular Functional Immunoanalysis Using Human Blood. *2014*, *8* (3), 2667–2676. <https://doi.org/10.1021/nn406370u>.
- (123) Chansuvarn, W.; Tuntulani, T.; Imyim, A. Colorimetric Detection of Mercury(II) Based on Gold Nanoparticles, Fluorescent Gold Nanoclusters and Other Gold-Based Nanomaterials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2015**, *65*, 83–96. <https://doi.org/10.1016/j.TRAC.2014.10.013>.
- (124) Wang, Y.; Yang, F.; Yang, X. Colorimetric Detection of Mercury(II) Ion Using Unmodified Silver Nanoparticles and Mercury-Specific Oligonucleotides. *ACS Applied Materials and Interfaces* **2010**, *2* (2), 339–342. <https://doi.org/10.1021/am9007243>.
- (125) Chen, Z.; Lou, T.; Wu, Q.; Li, K.; Tan, L.; Sun, J. A Facile Label-Free Colorimetric Sensor for Hg²⁺ Based on Hg-Triangular Silver Nanoplates with Amalgam-like Structure. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2015**, *221*, 365–369. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.06.082>.
- (126) Kumar, V.; Singh, D. K.; Mohan, S.; Bano, D.; Gundampati, R. K.; Hasan, S. H. Green Synthesis of Silver Nanoparticle for the Selective and Sensitive Colorimetric Detection of Mercury (II) Ion. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **2017**, *168*, 67–77. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.01.022>.
- (127) Firdaus, M. L.; Fitriani, I.; Wyantuti, S.; Hartati, Y. W.; Khaydarov, R.; Mcalister, J. A.; Obata, H.; Gamo, T. Colorimetric Detection of Mercury(II) Ion in Aqueous Solution Using Silver Nanoparticles. *Analytical Sciences* **2017**, *33* (7), 831–837. <https://doi.org/10.2116/analsci.33.831>.
- (128) Rusyniak, D. E.; Arroyo, A.; Acciani, J.; Froberg, B.; Kao, L.; Furbee, B. Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. *Exs* **2010**, *100*, 365–396. <https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8338-1>.
- (129) <http://wordpress.vermontlaw.edu/environmentalhealth/files/2013/04/Mercury-Cycle.gif> (accessed 2017-06-27).
- (130) Jarup, L. Hazards of Heavy Metal Contamination. *British Medical Bulletin* **2003**, *68* (1), 167–182. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg032>.
- (131) WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Mercury in Drinking-Water. WHO/SDE/WSH/05.08/10 https://www.who.int/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/mercury-background-document.pdf?sfvrsn=9b117325_4
- (132) Leopold, K.; Foulkes, M.; Worsfold, P. Methods for the Determination and Speciation of Mercury in Natural Waters — A Review. *Analytica Chimica Acta* **2010**, *663* (2), 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.01.048>.
- (133) Khan, I.; Saeed, K.; Khan, I. Nanoparticles: Properties, Applications and Toxicities. *Arabian Journal of Chemistry* **2017**. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2017.05.011>.
- (134) Privett, B. J.; Shin, J. H.; Schoenfisch, M. H. Electrochemical Sensors. **2008**, 4499–4517.
- (135) Rassaei, L.; Marken, F.; Sillanpää, M.; Amiri, M.; Cirtiu, C. M.; Sillanpää, M. Nanoparticles in Electrochemical Sensors for Environmental Monitoring. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **2011**, *30* (11), 1704–1715. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.05.009>.
- (136) Aydoğdu Tığ, G. Gold Nanoparticle and Poly(Arginine) Modified GCE for Simultaneous Determination of Hydroquinone and Catechol. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry* **2017**, *3* (45), 443–451. <https://doi.org/10.15671/hjbc.2017.166>.
- (137) Huang, X.; Du, D.; Gong, X.; Cai, J.; Tu, H.; Xu, X.; Zhang, A. Composite Assembly of Silver Nanoparticles with Avidin and Biotinylated AChE on Gold for the Pesticidal Electrochemical Sensing. *Electroanalysis* **2008**, *20* (4), 402–409. <https://doi.org/10.1002/elan.200704060>.
- (138) Chen, J.; Jiang, Z.; Ackerman, J. D.; Yazdani, M.; Hou, S.; Nugen, S. R.; Rotello, V. M. Electrochemical Nanoparticle-Enzyme Sensors for Screening Bacterial Contamination in Drinking Water. *The Analyst* **2015**, *140* (15), 4991–4996. <https://doi.org/10.1039/c5an00637f>.
- (139) Malekzad, H.; Zangabad, P. S.; Mirshekari, H.; Karimi, M.; Hamblin, M. R. Noble Metal Nanoparticles in Biosensors: Recent Studies and Applications. *Nanotechnology reviews* **2017**, *6* (3), 301. <https://doi.org/10.1515/NTREV-2016-0014>.
- (140) Kozub, B. R.; Rees, N. V.; Compton, R. G. Electrochemical Determination of Nitrite at a Bare Glassy Carbon Electrode; Why Chemically Modify Electrodes? *Sensors and Actuators B: Chemical* **2010**, *143* (2), 539–546. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2009.09.065>.

- (141) Márquez-Montes, R. A.; Orozco-Mena, R. E.; Lardizábal-Gutiérrez, D.; Chávez-Flores, D.; López-Ortíz, A.; Ramos-Sánchez, V. H. Sulfur Dioxide Exploitation by Electrochemical Oxidation of Sulfite in Near-Neutral PH Electrolytes: A Kinetics and Mechanistic Study. *Electrochemistry Communications* **2019**, *104*, 106481. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.106481>.
- (142) Winiarski, J. P.; de Barros, M. R.; Magosso, H. A.; Jost, C. L. Electrochemical Reduction of Sulfite Based on Gold Nanoparticles/Silsesquioxane-Modified Electrode. *Electrochimica Acta* **2017**, *251*, 522–531. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.08.171>.
- (143) Li, J.; Lin, X. Electrocatalytic Reduction of Nitrite at Polypyrrole Nanowire-Platinum Nanocluster Modified Glassy Carbon Electrode. *Microchemical Journal* **2007**, *87* (1), 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2007.05.005>.
- (144) *Eutrofizacja, czyli przeżyźnienie - największe wyzwanie środowiska / WWF Polska*. <https://www.wwf.pl/srodowisko/morza-i-oceany/eutrofizacja> (accessed 2019-08-06).
- (145) Bruning-Fann, C. S.; Kaneene, J. B. The Effects of Nitrate, Nitrite and N-Nitroso Compounds on Human Health: A Review. *Veterinary and Human Toxicology* **1994**, *35* (6), 521–38.
- (146) Liu, Y.; Gu, H.-Y. Amperometric Detection of Nitrite Using a Nanometer-Sized Gold Colloid Modified Pretreated Glassy Carbon Electrode. *Microchimica Acta* **2008**, *162* (1–2), 101–106. <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0946-9>.
- (147) Moorcroft, M. Detection and Determination of Nitrate and Nitrite: A Review. *Talanta* **2001**, *54* (5), 785–803. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00323-X](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00323-X).
- (148) da Rocha, J. R. C.; Angnes, L.; Bertotti, M.; Araki, K.; Toma, H. E. Amperometric Detection of Nitrite and Nitrate at Tetraruthenated Porphyrin-Modified Electrodes in a Continuous-Flow Assembly. *Analytica Chimica Acta* **2002**, *452* (1), 23–28. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01440-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01440-4).
- (149) Li, X.-R.; Liu, J.; Kong, F.-Y.; Liu, X.-C.; Xu, J.-J.; Chen, H.-Y. Potassium-Doped Graphene for Simultaneous Determination of Nitrite and Sulfite in Polluted Water. *Electrochemistry Communications* **2012**, *20*, 109–112. <https://doi.org/10.1016/J.ELECOM.2012.04.014>.
- (150) Cui, Y.; Yang, C.; Zeng, W.; Oyama, M.; Pu, W.; Zhang, J. Electrochemical Determination of Nitrite Using a Gold Nanoparticles-Modified Glassy Carbon Electrode Prepared by the Seed-Mediated Growth Technique. *Analytical sciences: the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry* **2007**, *23* (12), 1421–1425. <https://doi.org/10.2116/analsci.23.1421>.
- (151) Norouzi, B.; Parsa, Z. Determination of Sulfite in Real Sample by an Electrochemical Sensor Based on Ni/Poly(4-Aminobenzoic Acid)/Sodium Dodecylsulfate/Carbon Paste Electrode. *Russian Journal of Electrochemistry* **2018**, *54* (8), 613–622. <https://doi.org/10.1134/S1023193518080049>.
- (152) Zelinsky, A. G.; Pirogov, B. Y. Electrochemical Oxidation of Sulfite and Sulfur Dioxide at a Renewable Graphite Electrode. *Electrochimica Acta* **2017**, *231*, 371–378. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.02.070>.
- (153) Wang, X.; Li, H.; Wu, M.; Ge, S. L.; Zhu, Y.; Wang, Q. J.; He, P. G.; Fang, Y. Z. Simultaneous Electrochemical Determination of Sulphite and Nitrite by a Gold Nanoparticle/Graphene-Chitosan Modified Electrode. *Fenxi Huaxue/ Chinese Journal of Analytical Chemistry* **2013**, *41* (8), 1232–1237. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(13\)60673-8](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(13)60673-8).
- (154) Kaladevi, G.; Wilson, P.; Pandian, K. Simultaneous and Selective Electrochemical Detection of Sulfite and Nitrite in Water Sources Using Homogeneously Dispersed Ag Nanoparticles over PANI/RGO Nanocomposite. *Journal of The Electrochemical Society* **2020**, *167* (2), 027514. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ab6973>.
- (155) Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, 2nd Edition* | John Wiley & Sons, Inc., **2001**. <https://www.wiley.com/en-us/Electrochemical+Methods:+Fundamentals+and+Applications,+2nd+Edition-p-9780471043720> (accessed 2022-08-12).
- (156) Monyoncho, E. A.; Zamlynyy, V.; Woo, T. K.; Baranova, E. A. The Utility of Polarization Modulation Infrared Reflection Absorption Spectroscopy (PM-IRRAS) in Surface and in Situ Studies: New Data Processing and Presentation Approach. *Analyst* **2018**, *143* (11), 2563–2573. <https://doi.org/10.1039/C8AN00572A>.
- (157) Reimer, L. *Scanning Electron Microscopy*. Springer **1998** <https://doi.org/10.1007/978-3-540-38967-5> (accessed 2022-08-12).

- (158) Transmission Electron Microscopy. **2008**, 36. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-40093-8>.
- (159) Stephen J. Pennycook, P. D. N. Scanning Transmission Electron Microscopy. *Springer* **2011**. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7200-2>.
- (160) Oikawa, T. Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy. *Japanese Journal of Tribology* **2006**, 51 (1), 33–38. https://doi.org/10.1007/978-4-431-66988-3_4/COVER.
- (161) Image J. *Programme*. <https://imagej.nih.gov/ij/> (accessed 2019-01-31).
- (162) Shi, L.; Jing, C.; Ma, W.; Li, D.; Halls, J. E.; Marken, F.; Long, Y. Plasmon Resonance Scattering Spectroscopy at the Single- Nanoparticle Level : Real-Time Monitoring of a Click Reaction *Angewandte*. **2013**, No. 1, 6011–6014. <https://doi.org/10.1002/anie.201301930>.
- (163) Haiss, W.; Thanh, N. T. K.; Aveyard, J.; Fernig, D. G. Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV – Vis Spectra Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV - Vis Spectra. **2015**, 79 (October), 4215–4221. <https://doi.org/10.1021/ac0702084>.
- (164) Viudez, A. J.; Madueño, R.; Pineda, T.; Blázquez, M. Stabilization of Gold Nanoparticles by 6-Mercaptopurine Monolayers. Effects of the Solvent Properties. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, 110 (36), 17840–17847. <https://doi.org/10.1021/jp062165l>.
- (165) Dewi, M. R.; Laufersky, G.; Nann, T. A Highly Efficient Ligand Exchange Reaction on Gold Nanoparticles: Preserving Their Size, Shape and Colloidal Stability. *RSC Adv.* **2014**, 4 (64), 34217–34220. <https://doi.org/10.1039/C4RA05035E>.
- (166) Qi, H.; Li, M.; Zhang, R.; Dong, M.; Ling, C. Double Electrochemical Covalent Coupling Method Based on Click Chemistry and Diazonium Chemistry for the Fabrication of Sensitive Amperometric Immunosensor. *Analytica Chimica Acta* **2013**, 792, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.06.046>.
- (167) Li, J. Electrocatalytic Oxidation of Nitrite at Gold Nanoparticle- Polypyrrole Nanowire Modified Glassy Carbon Electrode. *Chinese Journal of Chemistry* **2009**, 27 (12), 2373–2378. <https://doi.org/10.1002/cjoc.201090011>.
- (168) Li, S.-J.; Zhao, G.-Y.; Zhang, R.-X.; Hou, Y.-L.; Liu, L.; Pang, H. A Sensitive and Selective Nitrite Sensor Based on a Glassy Carbon Electrode Modified with Gold Nanoparticles and Sulfonated Graphene. *Microchimica Acta* **2013**, 180 (9–10), 821–827. <https://doi.org/10.1007/s00604-013-0999-2>.
- (169) Wang, Y.; Laborda, E.; Compton, R. G. Electrochemical Oxidation of Nitrite: Kinetic, Mechanistic and Analytical Study by Square Wave Voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2012**, 670, 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2012.02.016>.
- (170) Wang, Y.; Ward, K. R.; Laborda, E.; Salter, C.; Crossley, A.; Jacobs, R. M. J.; Compton, R. G. A Joint Experimental and Computational Search for Authentic Nano-Electrocatalytic Effects: Electrooxidation of Nitrite and L-Ascorbate on Gold Nanoparticle-Modified Glassy Carbon Electrodes. *Small* **2013**, 9 (3), 478–486. <https://doi.org/10.1002/sml.201201670>.
- (171) Hotchen, C. E.; Maybury, I. J.; Nelson, G. W.; Foord, J. S.; Holdway, P.; Marken, F. Amplified Electron Transfer at Poly-Ethylene-Glycol (PEG) Grafted Electrodes. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2015**, 17 (17), 11260–11268. <https://doi.org/10.1039/C5CP01244A>.
- (172) MOLBASE Chemical E-Commece Platform, Encyclopedia http://www.molbase.com/en/msds_14282-91-8-moldata-69741.html (accessed 2018-03-14).
- (173) Gu, J.; Zhao, W.; Chen, Y.; Zhang, X.; Xie, X.; Liu, S.; Wu, X.; Zhu, Z.; Li, M.; Shao, Y. Study of Ion Transfer Coupling with Electron Transfer by Hydrophilic Droplet Electrodes. *Analytical Chemistry* **2015**, 87 (23), 11819–11825. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b03280>.
- (174) NIH National Center for Biotechnology Information, PubChem – Data Base <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16212382#section=Computed-Properties>.
- (175) Ito, K.; Nomura, R.; Fujii, T.; Tanaka, M.; Tsumura, T.; Shibata, H.; Hirokawa, T. Determination of Nitrite, Nitrate, Bromide, and Iodide in Seawater by Ion Chromatography with UV Detection Using Dilauryldimethylammonium-Coated Monolithic ODS Columns and Sodium Chloride as an Eluent. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2012**, 404 (8), 2513–2517. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6405-9>.

- (176) NIH National Center for Biotechnology Information, PubChem – Data Base
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/nitrite#section=Top>.
- (177) Grano, S. R.; Sollaart, M.; Skinner, W.; Prestidge, C. A.; Ralston, J. Surface Modifications in the Chalcopyrite-Sulphite Ion System. I. Collectorless Flotation, XPS and Dissolution Study. *International Journal of Mineral Processing* **1997**, *50* (1–2), 1–26.
[https://doi.org/10.1016/S0301-7516\(96\)00046-4](https://doi.org/10.1016/S0301-7516(96)00046-4).
- (178) NIH National Center for Biotechnology Information, PubChem – Data Base
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/sulfite#section=Top>.
- (179) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ferricyanide>. *Ferric hexacyanide / C6FeN6-3 - PubChem*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ferricyanide> (accessed 2018-03-14).
- (180) Coralie Saby, Bertha Ortiz, Gilles Y. Champagne, Daniel Bélanger. Electrochemical Modification of Glassy Carbon Electrode Using Aromatic Diazonium Salts. 1. Blocking Effect of 4-Nitrophenyl and 4-Carboxyphenyl Groups. **1997**.
<https://doi.org/10.1021/LA9610330>.
- (181) Jose H. Zagal, F. B. *Electrochemistry of N4 Macrocyclic Metal Complexes*. Springer **2016**
<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-31332-0> (accessed 2018-03-20).
- (182) Pajouhesh, H.; Lenz, G. R. Medicinal Chemical Properties of Successful Central Nervous System Drugs. *NeuroRx: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* **2005**, *2* (4), 541–553. <https://doi.org/10.1602/neurorx.2.4.541>.
- (183) Wang, J.; Diao, P.; Zhang, Q. Dual Detection Strategy for Electrochemical Analysis of Glucose and Nitrite Using a Partitionally Modified Electrode. *Analyst* **2012**, *137* (1), 145–152. <https://doi.org/10.1039/c1an15758b>.
- (184) Wu, H. L.; Kuo, C. H.; Huang, M. H. Seed-Mediated Synthesis of Gold Nanocrystals with Systematic Shape Evolution from Cubic to Trisectahedral and Rhombic Dodecahedral Structures. *Langmuir* **2010**, *26* (14), 12307–12313.
<https://doi.org/10.1021/la1015065>.
- (185) Thiele, M.; Soh, J. Z. E.; Knauer, A.; Malsch, D.; Stranik, O.; Müller, R.; Csáki, A.; Henkel, T.; Köhler, J. M.; Fritzsche, W. Gold Nanocubes – Direct Comparison of Synthesis Approaches Reveals the Need for a Microfluidic Synthesis Setup for a High Reproducibility. *Chemical Engineering Journal* **2016**, *288*, 432–440. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2015.12.020>.
- (186) Jiang, L.; Sun, Y.; Huo, F.; Zhang, H.; Qin, L.; Li, S.; Chen, X. Free-Standing One-Dimensional Plasmonic Nanostructures. *Nanoscale* **2012**, *4* (1), 66–75.
<https://doi.org/10.1039/c1nr11445j>.
- (187) Skrabalak, S. E.; Au, L.; Li, X.; Xia, Y. Facile Synthesis of Ag Nanocubes and Au Nanocages. *Nature protocols* **2007**, *2* (9), 2182–2190. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.326>.
- (188) Benjamin J. Wiley, Sang Hyuk Im, Zhi-Yuan Li, Joeseeph McLellan, Andrew Siekkinen, Younan Xia. Maneuvering the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanostructures through Shape-Controlled Synthesis. **2006**. <https://doi.org/10.1021/JP0608628>.
- (189) Yao, H.; Shiratsu, T. Multipolar Surface Magnetoplasmon Resonances in Triangular Silver Nanoprisms Studied by MCD Spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry C* **2017**, *121* (1), 761–768. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b11216>.
- (190) Panzarasa, G. Just What Is It That Makes Silver Nanoprisms so Different, so Appealing? *Journal of Chemical Education* **2015**, *92* (11), 1918–1923.
<https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00320>.
- (191) Aherne, D.; Ledwith, D. M.; Gara, M.; Kelly, J. M. Optical Properties and Growth Aspects of Silver Nanoprisms Produced by a Highly Reproducible and Rapid Synthesis at Room Temperature. *Advanced Functional Materials* **2008**, *18* (14), 2005–2016.
<https://doi.org/10.1002/adfm.200800233>.
- (192) Rex, M.; Hernandez, F. E.; Campiglia, A. D.; Box, P. O.; Florida, C. Pushing the Limits of Mercury Sensors with Gold Nanorods Pushing the Limits of Mercury Sensors with Gold Nanorods. *Analytical Chemistry* **2006**, *78* (December 2005), 445–451.
<https://doi.org/10.1021/ac051166r>.
- (193) Liu, J.; Vellaisamy, K.; Yang, G.; Leung, C. H.; Ma, D. L. Luminescent Turn-on Detection of Hg(II) via the Quenching of an Iridium(III) Complex by Hg(II)-Mediated Silver Nanoparticles. *Scientific Reports 2017 7:1* **2017**, *7* (1), 1–7.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-03952-x>.
- (194) Sangaonkar, G. M.; Desai, M. P.; Dongale, T. D.; Pawar, K. D. Selective Interaction between Phytomediated Anionic Silver Nanoparticles and Mercury Leading to Amalgam

- Formation Enables Highly Sensitive, Colorimetric and Memristor-Based Detection of Mercury. *Scientific Reports* 2020 10:1 2020, 10 (1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58844-4>.
- (195) <https://www.zywiec-zdroj.pl>. *Produkty - Żywiec Zdrój S.A.* https://www.zywiec-zdroj.pl/produkty?gclid=EAIaIQobChMI9YCSqNOB3AIVA9wZCh3jQgSLEAAYASABEgK8GPD_BwE (accessed 2022-07-13).
- (196) MPWiK – wodociągi warszawskie <https://mpwik.com.pl/view/strefa-zasilania-zakladow-wodociagowych> (accessed 2012-07-13).
- (197) Lisha, K. P.; Anshup; Pradeep, T. Towards a Practical Solution for Removing Inorganic Mercury from Drinking Water Using Gold Nanoparticles. *Gold Bulletin* 2009, 42 (2), 144–152. <https://doi.org/10.1007/BF03214924>.
- (198) Vasileva, P.; Alexandrova, T.; Karadjova, I. Application of Starch-Stabilized Silver Nanoparticles as a Colorimetric Sensor for Mercury(II) in 0.005 Mol/L Nitric Acid. *Journal of Chemistry* 2017, 2017, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/6897960>.
- (199) Jia, C.-J.; Schüth, F. Colloidal Metal Nanoparticles as a Component of Designed Catalyst. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2011, 13 (7), 2457. <https://doi.org/10.1039/c0cp02680h>.
- (200) Badoga, S.; Pattanayek, S. K.; Kumar, A.; Pandey, L. M. Effect of Polymer-Surfactant Structure on Its Solution Viscosity. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 2011, 6 (1), 78–84. <https://doi.org/10.1002/apj.461>.
- (201) Lee, Y. H.; Chen, H.; Xu, Q.-H.; Wang, J. Refractive Index Sensitivities of Noble Metal Nanocrystals: The Effects of Multipolar Plasmon Resonances and the Metal Type. *The Journal of Physical Chemistry C* 2011, 115 (16), 7997–8004. <https://doi.org/10.1021/jp202574r>.
- (202) Chen, H.; Kou, X.; Yang, Z.; Ni, W.; Wang, J. Shape- and Size-Dependent Refractive Index Sensitivity of Gold Nanoparticles. *Langmuir* 2008, 24 (10), 5233–5237. <https://doi.org/10.1021/la800305j>.



B. 578/24

Biblioteka Instytutu Chemii Fizycznej PAN

F-B.578/24



10000000116999