

## МЕТАЛЛОДИЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ НАНОСТРУКТУРЫ ДЛЯ УСИЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

О. С. Кулакович<sup>1\*</sup>, С. В. Гапоненко<sup>1</sup>, Д. В. Гузатов<sup>2</sup>

УДК 535.372:544.77

<sup>1</sup> Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь; e-mail: o.kulakovich@ifanbel.bas-net.by

<sup>2</sup> Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Гродно, Беларусь

(Поступила 16 марта 2023)

В металлодиэлектрических наноструктурах с размером металлических неоднородностей порядка 10—100 нм возникает сильная локальная концентрация электромагнитного излучения на частоте возбуждающего (первичного) и испущенного (вторичного) излучения одновременно со значительным возрастанием скорости безызлучательных переходов (тушение флуоресценции). Рассмотрены общие принципы использования металлодиэлектрических наноструктур для усиления флуоресценции и представлены результаты экспериментальной реализации этих принципов для органических молекул, включая биомолекулы, меченные флуоресцентными маркерами.

**Ключевые слова:** наноплазмоника, металлодиэлектрическая наноструктура, коллоидная наночастица, флуоресценция.

In metal-dielectric nanostructures with metal inhomogeneities with the size of about 10—100 nm, strong local concentration of electromagnetic radiation at the frequencies of incident (primary) and emitted (secondary) radiation occurs simultaneously with a considerable growth of nonradiative transitions rate (fluorescence quenching). We report on general principles of using metal-dielectric nanostructures for the enhancement of fluorescence and on experimental implementation of these principles for organic molecules including biomolecules marked with fluorescent labels.

**Keywords:** nanoplasmonic, metal-dielectric nanostructure, colloidal nanoparticle, fluorescence.

**Введение.** В металлодиэлектрических наноструктурах усиливается взаимодействие излучения с веществом вследствие целого ряда эффектов. Во-первых, пространственное перераспределение и концентрация первичного излучения, падающего на структуру, приводят к усилению линейных и нелинейных эффектов, например к повышенной генерации гармоник падающего излучения [1, 2]. Во-вторых, изменяются условия локализации и распространения излучения на других частотах, что можно рассматривать как изменение плотности фотонных состояний на частоте вторичного излучения, приводящее к эффекту Парселла [3] — изменению вероятности спонтанных переходов квантовой системы с испусканием вторичного фотона. Одновременно изменяется и вероятность рассеяния фотонов [4]. Области пространства, в которых одновременно концентрируются падающее излучение и плотность состояний для вторичного излучения, называются горячими точками [4, 5]. Обычно они формируются в центре димеров или кластеров из нескольких наночастиц (НЧ) и создают условия для гигантского комбинационного рассеяния света (ГКР) [6]. Увеличение скорости возбуждения и скорости спонтанных переходов молекул или иных квантовых систем, адсорбированных на поверхности или помещенных внутрь металлодиэлектрических наноструктур, открывает возможности для повышения интенсивности флуоресценции при условии, что рост скорости безызлучательных процессов вблизи металла не преобладает над указанными выше положительными факторами. Явление, полу-

## METAL-DIELECTRIC NANOSTRUCTURES FOR ENHANCEMENT OF MOLECULAR FLUORESCENCE

O. S. Kulakovitch<sup>1\*</sup>, S. V. Gaponenko<sup>1</sup>, D. V. Guzatov<sup>2</sup> (<sup>1</sup>B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus; e-mail: o.kulakovich@ifanbel.bas-net.by; <sup>2</sup> Yanka Kupala Grodno State University, Grodno, Belarus)

чившее название “усиленная металлом флуоресценция” (Metal Enhanced Fluorescence, MEF) [7], продемонстрировано для многочисленных наноструктур и различных типов излучателей, включая молекулы [8, 9], нанокристаллы [10, 11] и редкоземельные ионы [12]. Показана возможность избирательного усиления КР либо флуоресценции молекул в зависимости от экспериментальных условий [13]. В настоящей работе представлен обзор основных результатов, полученных в Институте физики имени Б. И. Степанова в области синтеза металлокомплексных наноструктур для усиления молекулярной флуоресценции и экспериментальной реализации этого подхода, включая биомолекулы, меченные флуоресцентными метками, и их комплексы с антигенами. Работа посвящается 90-летию со дня рождения академика Г. П. Гуриновича, внесшего значительный вклад в экспериментальное изучение флуоресценции биомолекул.

**Результаты и их обсуждение.** *Теоретическое описание флуоресценции молекул вблизи металлических нанообъектов.* При падении электромагнитной волны с частотой  $\omega_0$  и напряженностью электрического поля  $E_0(\omega_0)$  на область пространства с действительным показателем преломления  $n$ , содержащую металлический объект, размер которого достаточно велик, чтобы описывать его диэлектрической функцией  $\epsilon(\omega_0)$ , и достаточно мал по сравнению с длиной волны излучения в вакууме  $\lambda_0 = 2\pi c/\omega_0$ , чтобы рассматривать его как локальную неоднородность в среде с показателем преломления  $n$ , происходит следующее: пространственное распределение излучения существенно изменяется с образованием локальных областей с повышенным значением  $|E(\mathbf{r}, \omega_0)| \gg |E_0(\omega_0)|$ , вероятность спонтанных переходов с испусканием фотонов  $\gamma_{\text{rad}}$  также изменяется (эффект Парселла) и становится функцией не только частоты вторичного излучения  $\omega$ , но и координаты излучателя  $\mathbf{r}$  и ориентации его дипольного момента, и появляется дополнительный канал безызлучательной передачи энергии металлу со скоростью переходов  $\gamma_{\text{nr}}$ . В результате этих эффектов интенсивность излучения флуоресценции  $I(\mathbf{r}, \omega)$  отличается от интенсивности  $I_0(\mathbf{r}, \omega)$  флуоресценции без металлического объекта в  $F_{\text{fl}}$  раз:

$$F_{\text{fl}} = \frac{I(\mathbf{r}, \omega)}{I_0(\mathbf{r}, \omega)} = \frac{|E(\mathbf{r}, \omega_0)|^2}{|E_0(\mathbf{r}, \omega_0)|^2} \frac{Q(\omega)}{Q_0(\omega)}, \quad (1)$$

где

$$\frac{Q(\omega)}{Q_0(\omega)} = \frac{\gamma_{\text{rad}}}{\gamma_{\text{rad}} + \gamma_{\text{int}} + \gamma_{\text{nr}}} \frac{\gamma_0 + \gamma_{\text{int}}}{\gamma_0} \quad (2)$$

— отношение квантового выхода флуоресценции  $Q$  излучателя (молекулы) в присутствии металлического тела к его значению  $Q_0$  в свободном пространстве;  $\gamma_0$  — скорость спонтанных излучательных переходов в вакууме;  $\gamma_{\text{int}}$  — скорость собственных безызлучательных переходов молекулы. Из соотношения (2) видно, что для идеального излучателя ( $Q_0 = 1, \gamma_{\text{int}} = 0$ ) квантовый выход вблизи металла всегда уменьшается. Соотношение (2) перепишем в виде

$$\frac{Q(\omega)}{Q_0(\omega)} = \frac{\gamma_{\text{rad}}}{\gamma_0} \left[ 1 + Q_0 \left( \frac{\gamma_{\text{rad}} + \gamma_{\text{nr}}}{\gamma_0} - 1 \right) \right]^{-1}, \quad (3)$$

что позволяет воспользоваться развитыми методами расчета  $\gamma_{\text{rad}}/\gamma_0$  (фактор Парселла) и  $(\gamma_{\text{rad}} + \gamma_{\text{nr}})/\gamma_0$  для некоторых модельных систем [14—17]. Эти методы совместно с методами расчета напряженности поля вблизи металлических нанообъектов [6, 18—22] позволяют определить, при каких условиях фактор изменения интенсивности флуоресценции  $F_{\text{fl}}$  может стать больше единицы, что будет свидетельствовать об увеличении флуоресценции с помощью металлических нанообъектов. Для хорошего излучателя ( $Q_0 \approx 1$ ) увеличение общей интенсивности флуоресценции может быть достигнуто, если фактор усиления интенсивности падающего излучения превышает фактор ослабления квантового выхода. Для “плохого” излучателя с низким квантовым выходом возможно его увеличение до значений  $Q \rightarrow 1$ , в этом случае достижение увеличения общей интенсивности флуоресценции в присутствии металлических нанообъектов значительно облегчается. Физическая картина происходящих в металлокомплексных наноструктурах оптических явлений во многом аналогична свойствам радиофизической антенны: повышение интенсивности падающего излучения вблизи приемника и интенсивности испускаемого излучения источником электромагнитных волн [23—25].

Полный расчет интенсивности флуоресценции молекул вблизи НЧ или нанотекстурированной металлической поверхности является достаточно сложной задачей, в которой должны учитываться следующие параметры: спектр диэлектрической проницаемости металла, размер и форма частиц(ы),

их пространственная организация, положение молекулы относительно металлических частиц и ориентация ее дипольного момента, поляризация падающего излучения, собственный квантовый выход молекулы. Расчеты [26—30] с учетом указанных факторов для молекулы вблизи изолированной НЧ показали, что в зависимости от выбранных параметров для молекул с  $Q_0 \approx 1$  можно получить совокупный фактор усиления  $F \approx 10$  при использовании коллоидных НЧ благородных металлов. С уменьшением  $Q_0$  максимально достижимый фактор усиления возрастает пропорционально уменьшению  $Q_0$ . Это обусловлено тем, что для молекул с сильным собственным каналом для безызлучательных переходов тушащий эффект от близости металла менее заметен (см. формулу (2)). Расчеты показывают, что при расстояниях между молекулой и металлом  $\sim 10$  нм НЧ сферической формы из серебра диаметром 40—60 нм эффективно (до 50 раз в воздухе при  $Q_0 = 1$ ) усиливают флуоресценцию в зеленой области спектра и в меньшей степени в более коротковолновой области из-за сильного тушения флуоресценции вследствие диссипативных потерь. В оранжево-красной области усиление флуоресценции также возможно, однако оно ослабевает с ростом длины волн из-за особенностей спектральной зависимости диэлектрической проницаемости серебра. НЧ сферической формы из золота того же размера эффективны для усиления люминесценции в оранжево-красной области, а НЧ алюминия — в сине-фиолетовой. При расстояниях  $\ll 5$  нм преобладает тушение люминесценции, увеличение общей интенсивности люминесценции возможно лишь для молекул с  $Q_0 \ll 1$ . Оптимальность расстояний молекул  $\sim 5$ —10 нм от металлических НЧ для усиления флуоресценции подтверждена экспериментально [26, 31—33].

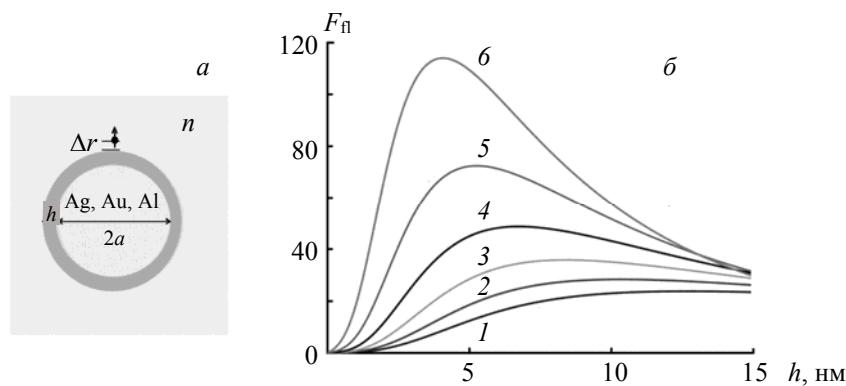


Рис. 1. Схема расчета усиления интенсивности флуоресценции молекулы вблизи металлической НЧ (*а*) и результаты расчета (*б*) для молекулы с собственным квантовым выходом  $Q_0 = 0.5$  и НЧ серебра диаметром  $2a = 50$  нм, покрытой диэлектрической оболочкой с показателем преломления 1.45 толщиной  $h$ ,  $\Delta r = 0$ ; показатель преломления внешней среды  $n = 1.0$  (1), 1.1 (2), 1.2 (3), 1.3 (4), 1.4 (5), 1.5 (6); молекула адсорбирована непосредственно на поверхность НЧ;  $\lambda_{\text{abs}} = 450$  нм и  $\lambda_{\text{em}} = 500$  нм

Результат расчета для общего усиления интенсивности флуоресценции для НЧ серебра с диэлектрической оболочкой варьируемой толщины при оптимальной ориентации дипольного момента и поляризации возбуждающего излучения продемонстрирован на рис. 1. Видно, что результирующий фактор усиления зависит от показателя преломления окружающей среды, что можно целенаправленно использовать для молекул, находящихся в растворах либо в полимерных пленках. Зависимость интенсивности флуоресценции от показателя преломления среды предложено использовать для создания сенсоров показателя преломления [34].

На рис. 2 показаны зависимости квантового выхода от расстояния до НЧ для фиксированных длин волн. Видно, что квантовый выход уменьшается при приближении молекулы к поверхности металла. Заметный рост квантового выхода можно получить в случае НЧ Ag, а для НЧ Au это возможно лишь для  $Q_0 \ll 1$ . На рис. 3 показаны спектральные зависимости относительного изменения излучательных и безызлучательных переходов для фиксированного расстояния между молекулой и металлом 5 нм. Видно, что рост скорости безызлучательных переходов доминирует над скоростью излучательных переходов, что приводит к типичному для подобных экспериментов снижению квантового выхода флуоресценции.

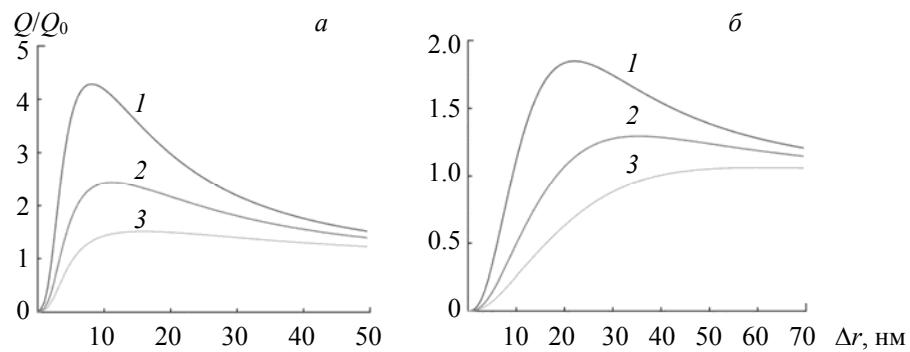


Рис. 2. Рассчитанное относительное изменение квантового выхода флуоресценции  $Q/Q_0$  для дипольного излучателя с собственным квантовым выходом  $Q_0=0.1$  (1), 0.25 (2) и 0.5 (3) вблизи НЧ Ag (а) и НЧ Au (б) диаметром 60 нм как функция расстояния  $\Delta r$  от излучателя до поверхности НЧ;  $\lambda_{\text{em}}=450$  (а) и 550 нм (б)

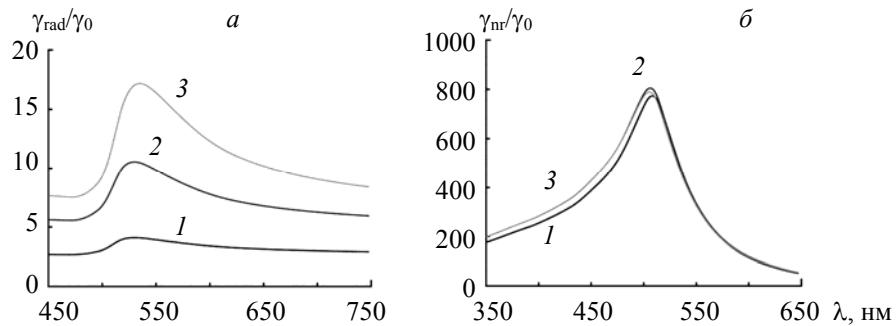


Рис. 3. Рассчитанное относительное изменение скорости излучательных (а) и безизлучательных (б) переходов для молекулы, находящейся на расстоянии 5 нм от поверхности НЧ Au; показатели преломления диэлектрической оболочки и внешней среды  $n=n_0=1$ ,  $2a=20$  (1), 50 (2) и 80 нм (3)

Для коротковолнового интервала 350—450 нм более подходящим материалом являются наноструктуры на основе алюминия вследствие особенностей в спектре диэлектрической проницаемости, что подтверждено теоретически и экспериментально [30, 35, 36]. Для эффективного усиления флуоресценции ближнего ИК-диапазона следует использовать сферические НЧ золота диаметром >50 нм либо вытянутые (сфериоидальные) частицы или наностержни золота, в которых формируется морфологический резонанс, определяемый соотношением длины и диаметра. Однако для усиления флуоресценции в этом случае излучатель должен находиться на одном конце частицы. При адсорбции на боковую поверхность такой частицы флуоресценция тушится [37].

При постановке экспериментов по усилению флуоресценции и разработке эффективных нанотекстурированных подложек для этих целей важно учитывать аналогию спонтанного рассеяния и спонтанного испускания фотонов. Оба процесса имеют вероятность, пропорциональную плотности фотонных состояний. Поэтому спектральная область максимального увеличения скорости спонтанных переходов перекрывается с областью максимального рассеяния в спектре экстинкции металлоидэлектрических структур, например, колloidных НЧ металла в растворе или на подложке. Эта аналогия впервые отмечена в [4], а затем подтверждена расчетами и экспериментами [30, 38].

Указанные примеры показывают сложность оптимизации задачи по синтезу металлоидэлектрических наноструктур, усиливающих интенсивность флуоресценции адсорбированных на них молекул. Для приближения к реальным экспериментальным условиям необходимо усреднять результаты по ориентации и расположению молекул. Задача усложняется, если рассматривать не изолированные НЧ, а их ансамбли. Дополнительную сложность в расчеты вводят наличие границы раздела для всех случаев, когда НЧ металла находятся на диэлектрической подложке, показатель преломления которой отличается от показателя преломления окружающей среды. Примеры расчетов для различных модельных систем приведены в [30].

Металлодиэлектрические структуры всегда сокращают время жизни возбужденных состояний находящихся вблизи них квантовых систем. В случае собственного высокого квантового выхода излучателей  $Q_0$  это приводит к снижению его значения ( $Q < Q_0$ ) в присутствии металла. Однако существует достаточно широкий набор экспериментальных условий, при которых интенсивность флуоресценции не уменьшается, а время жизни возбужденного состояния существенно сокращается. В этих случаях снижается вероятность побочных фотостимулированных процессов, приводящих к деградации люминофора при неизменной энергетической эффективности. Повышение фотостабильности люминофоров в присутствии коллоидных НЧ металлов наблюдалось нами экспериментально [39]. Аналогичным образом сокращение времени жизни с помощью металлодиэлектрических наноструктур снижает влияние концентрационных эффектов на тушение флуоресценции, что подтверждено экспериментально для биомолекул, меченых флуоресцентными метками [40], и редкоземельных ионов [41].

*Принципы получения металлодиэлектрических наноструктур для плазмонного усиления флуоресценции.* Наиболее экономически обоснованными для внедрения в практику являются методы получения наноструктурированных металлодиэлектрических пленок без применения дорогостоящих литографических и эпитаксиальных технологий. Помимо заведомо меньшей стоимости, коллоидно-химические методы иммобилизации частиц интересны возможностью управления оптическими и морфологическими свойствами таких систем с помощью формы, размера НЧ, а также параметров осаждения. При этом электростатическое осаждение металлических НЧ [40, 42–45] обладает рядом преимуществ перед химическим: универсальностью для поверхностей различной химической природы, гидрофильных и гидрофобных (стекло [26], полиэтилен и полипропилен [42], полистирол [40, 43], металл [10, 39, 44]) и возможностью получать пленки НЧ с большей долей заполнения поверхности, а значит, и толщиной, чем в случае химического осаждения [46], что важно для плазмонного усиления.

Принцип электростатического формирования плазмонных металлодиэлектрических наноструктур заключается в послойном нанесении противоположно заряженных коллоидных объектов (полиэлектролитов, НЧ металлов) на подложку: стекло, кремний, поверхность твердого полимера. На стекло, поверхность которого имеет отрицательный заряд, первым осаждаются поликатион, а в случае формирования структур на поверхности полиэтилена и полипропилена [42] заряд первого слоя может быть как положительным, так и отрицательным, адсорбция происходит за счет гидрофобного взаимодействия. Чередуя далее осаждение противоположно заряженных полиэлектролитов, можно наращивать желаемую толщину слоя полимера. НЧ серебра, используемые для плазмонного усиления, синтезированы с помощью метода цитратного восстановления нитрата серебра [47] и обладают отрицательным зарядом за счет наличия цитрат-ионов на поверхности. По этой причине их сорбция осуществляется на поликатионный слой. Изображение поверхности наноструктурированного покрытия серебра на полистирольном планшете для иммуноанализа получено с помощью атомно-силового микроскопа (рис. 4). Процедура металлизации планшетов описана в [40, 43].

Для предотвращения безызлучательного переноса энергии возбужденного состояния флуорофора на металл поверх пленки коллоидного серебра наносились дополнительные полиэлектролитные слои. Послойное осаждение позволяет с нанометровой точностью контролировать расстояние металл—флуорофор и создавать оптимальные условия для усиления флуоресценции. Кроме того, покрытие слоя металлических НЧ полимером с большим показателем преломления, чем воздух, смешает полосу плазмонного резонанса в красную область спектра (рис. 4, б, кривые 1 и 2; рис. 1). В реальных иммунологических тест-системах регистрация флуоресцентного сигнала осуществляется в присутствии буферного раствора в лунках планшета для сохранения биологической активности компонентов. Рост показателя преломления среды, в которой находятся НЧ серебра, с 1 до 1.33 смешает полосу плазмонного резонанса в длинноволновую область и способствует повышению оптической плотности системы (рис. 4, б, кривая 3), что благоприятно отражается на величине плазмонного усиления флуоресценции (рис. 1). Нанесение слоя полиэлектролита на планшет для иммуноанализа увеличивает сорбционную емкость поверхности планшета на 30–45 % [40], а слой коллоидных НЧ серебра с полиэлектролитом дает дополнительное повышение сорбционной емкости до 18 % по сравнению с планшетом, покрытым только полиэлектролитом [48]. Увеличение сорбционной емкости совместно с плазмонными эффектами способствуют повышению чувствительности иммунофлуоресцентного анализа.

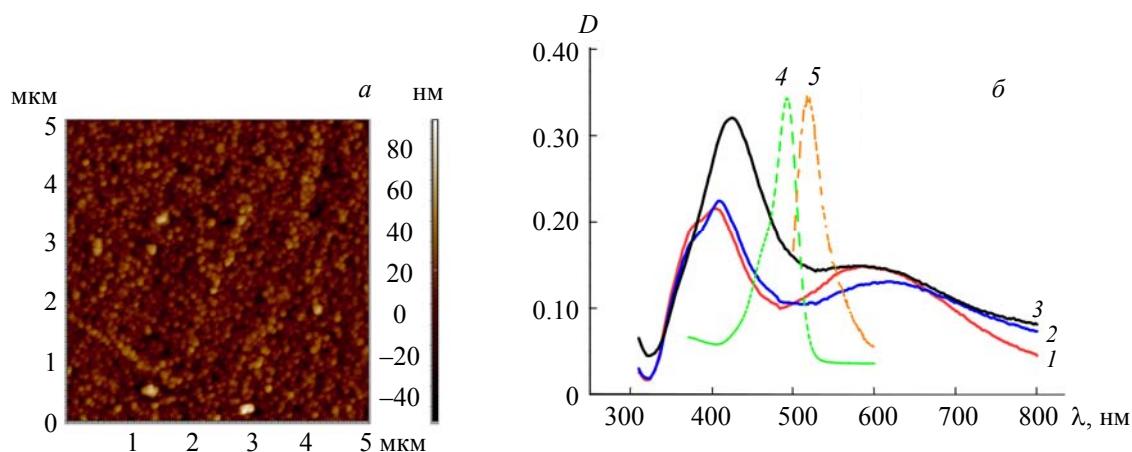


Рис. 4. Изменение спектральных зависимостей оптической плотности наноструктурированных пленок серебра при конструировании иммунологической тест-системы: 1 — пленка Ag на поверхности полистирольного планшета на воздухе, 2 — пленка Ag, покрытая слоем поликатиона, 3 — пленка Ag со слоем иммуноглобулина, меченного изотиоцианатом флуоресцеина (IgG-ФИТЦ) на поликатионе, находящаяся под слоем буферного раствора, т. е. в условиях регистрации сигнала в реальных иммунологических системах; 4 и 5 — спектры поглощения и флуоресценции метки IgG-ФИТЦ

*Экспериментальная реализация плазмонного усиления для биомолекул и их комплексов с флуоресцентными красителями.* Одним из направлений практического применения эффекта плазмонного усиления флуоресценции молекул может стать иммуноанализ. В настоящее время в медицине наиболее распространен для диагностики иммуноферментный анализ с фотометрическим способом детекции сигнала, чувствительности которого достаточно для большого числа диагностических задач. В кардиологии, онкологии, эндокринологии, гинекологии и вирусологии также широко применяют радиоиммунный анализ как более чувствительный. Недостатками радиоиммунного анализа считаются недолговечность хранения меченых антител по причине радиоактивного распада метки, ее отщепление от реактива, радиолиза носителя, существенная длительность и стоимость проведения анализа при не самой высокой точности, а также необходимость утилизации радиоактивных веществ [49]. При этом хорошей альтернативой может стать твердофазный иммунофлуоресцентный анализ, основанный на плазмонном усилении сигнала с помощью металлических НЧ (рис. 5).

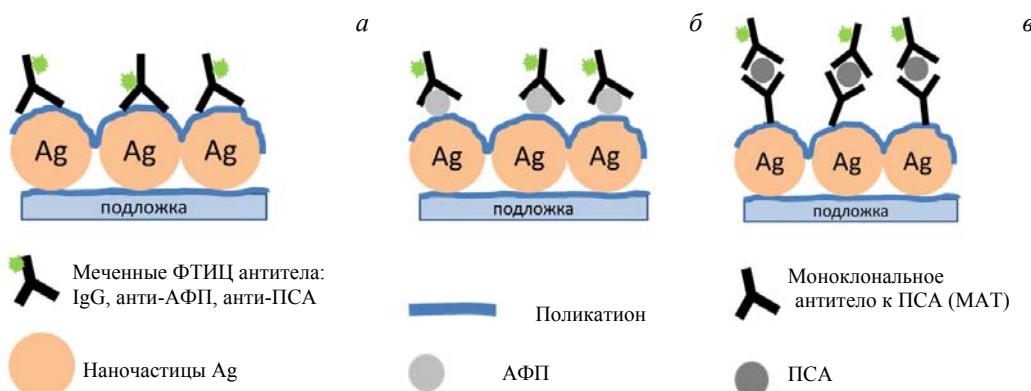


Рис. 5. Типы систем с плазмонным усилением флуоресценции биологических объектов: *а* — меченные антитела, *б* — комплексы антиген\*меченоное антитело, *в* — комплексы первичное антитело\*антigen\*меченоное антитело

Экспериментальная реализация плазмонного усиления флуоресценции проведена для трех типов биологических объектов. Первый тип систем — меченные изотиоцианатом флуоресцеином (ФИТЦ) антитела, а именно иммуноглобулин G (IgG-ФИТЦ) [40], антитела к альфафетопротеину (анти-АФП-ФИТЦ) [43] и антитела к простат-специфическому антигену (анти-ПСА-ФИТЦ) [40] (рис. 5, *a*), второй — комплекс антиген\*меченое антитело (АФП\*анти-АФП-ФИТЦ) [43] (рис. 5, *б*), третий — комплекс с двуцентровым связыванием первичное антитело\*антigen\*меченое антитело (схема, наиболее приближенная к реальному иммуноанализу) [40]. АФП и ПСА являются онкомаркерами, развитие экспресс-методов их обнаружения при низких концентрациях в биологических жидкостях — актуальная диагностическая задача.

Экспериментально полученные максимальные коэффициенты плазмонного усиления флуоресценции составили от 3.2 до 18 в зависимости от типа иммунологической системы (рис. 6). Различия в степени усиления сигнала связаны с несколькими факторами. Первый — различия в размерах детектируемых молекул (табл. 1) и иммунных комплексов: чем больше эти размеры, тем дальше флуоресцентная метка расположена от НЧ серебра, а при отдалении метки на расстояние  $>5$ —10 нм, как показывают результаты расчетов (рис. 1 и 2, *a*), коэффициент усиления флуоресценции падает. Второй фактор — разница в концентрациях как самих биомолекул, так и молекул ФИТЦ, приходящихся на одно антитело. Повышение коэффициента плазмонного усиления флуоресценции от 1.5 до 18

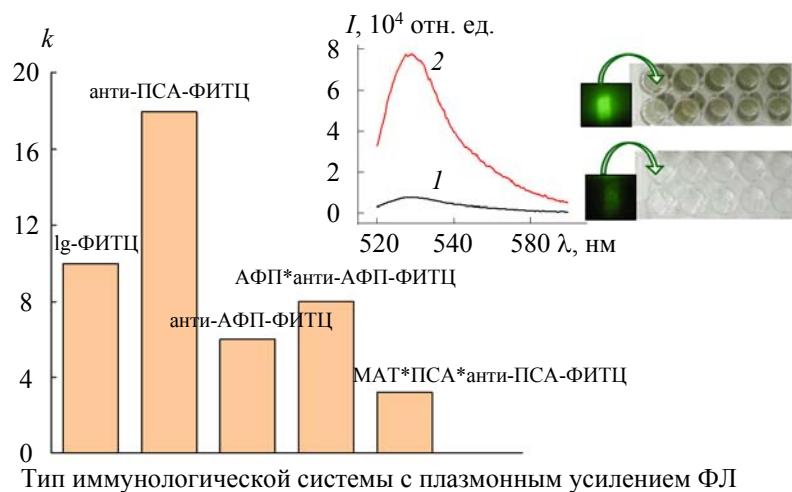


Рис. 6. Диаграмма зависимости максимального коэффициента плазмонного усиления флуоресценции от типа иммунологической системы; на вставке — спектры флуоресценции молекул IgG-ФИТЦ, адсорбированных на поверхности полистирольного планшета, покрытого полиэлектролитом (*1*), и на поверхности Ag-пленки на полистирольном планшете, покрытой полиэлектролитом, а также фотографии соответствующих образцов

**Т а б л и ц а 1. Характеристики биомолекул, детектируемых с помощью плазмонных металлодиэлектрических наноструктур**

Тип определяемой биомолекулы	Молекулярный вес, кДа	Концентрация определяемых биомолекул	Коэффициент усиления флуоресценции	Число молекул ФИТЦ на одно антитело	Литература
IgG-ФИТЦ	~160	<1 мкг/мл	10.2	7.5	[46]
Анти-ПСА-ФИТЦ	~34	30 мкг/мл	18	—	[40]
Анти-АФП-ФИТЦ	~67	40 мкг/мл	6	3.9	[43]
АФП в составе комплекса АФП*анти-АФП-ФИТЦ	~70	[АФП] = 1 мкг/мл	8	3.9	[43]
ПСА в составе комплекса MAT*PSA*анти-ПСА-ФИТЦ	~30	[ПСА] = 5 нг/мл	3.2	—	[40]

с ростом концентрации меченых антител к ПСА с 0.1 до 30 мкг/мл [40] свидетельствует о подавлении наночастицами серебра процессов самотушения флуоресцентных меток. Минимальный коэффициент усиления флуоресценции 3.2 наблюдается в наиболее сложной системе МАТ\*ПСА\*анти-ПСА-ФИТЦ с максимальным отдалением флуоресцентных меток от НЧ серебра (рис. 5, в), а также для минимальной концентрации определяемых биомолекул 5 нг/мл (табл. 1). Усиление флуоресценции для низких концентраций биомолекул, соответствующих их содержанию в биологических жидкостях, составляет от 3 до 10 раз.

**Заключение.** На основе экспериментальных и теоретических исследований флуоресценции молекул, адсорбированных на металлоизделических наноструктурах различной топологии, разработана методика получения нанотекстурированных покрытий серебра на поверхности полистирольных планшетов для иммуноанализа, в 3—18 раз усиливающих флуоресцентный сигнал адсорбированных меченых ФИТЦ антител по сравнению с неметаллизированными планшетами. Модификация поверхностей с помощью наночастиц металлов позволяет повысить чувствительность иммунохимического анализа за счет плазмонного эффекта, приводящего к локальной концентрации электромагнитного излучения, и увеличения вероятности квантовых переходов, а также увеличить сорбционную емкость твердой фазы, сократить время проведения анализа и привести к экономии реагентов. Технология зарядового осаждения наночастиц и полиэлектролитов позволяет получать металлические тонкопленочные структуры на гибких полимерных полимерных основах (полиэтилен и полипропилен [42]) для применения в качестве тест-подложек для экспресс-иммунодиагностики. Полученные результаты важны для разработки компактных флюатестеров для детектирования антигенов-онкомаркеров с целью ранней диагностики онкозаболеваний. В перспективе после разработки соответствующих лабораторных методик иммунофлуоресцентный анализ с плазмонным усилением можно рассматривать как альтернативу радиоиммунному анализу.

Авторы признательны за многолетнее плодотворное сотрудничество своим коллегам С. В. Ващенко, А. А. Романенко, А. О. Муравицкой, а также сотрудникам Международного экологического института имени А. Д. Сахарова БГУ С. А. Маскевичу, И. В. Коктыш, Я. И. Мельниковой. Авторы выражают благодарность П. В. Карпачу, И. Ф. Свекло за помощь в получении АСМ-снимков.

- [1] V. M. Shalaev. Nonlinear Optics of Random Media: Fractal Composites and Metal-Dielectric Films, **158**, Springer Science & Business Media (1999)
- [2] M. I. Stockman, D. J. Bergman, C. Anceau, S. Brasselet, J. Zyss. Phys. Rev. Lett., **92**, N 5 (2004) 057402
- [3] E. M. Purcell. Phys. Rev., **69** (1946) 681
- [4] S. V. Gaponenko. Phys. Rev. B, **65** (2002) 140303
- [5] S. V. Gaponenko, D. V. Guzatov. Chem. Phys. Lett., **477**, N 4–6 (2009) 411—414
- [6] K. Kneipp, M. Moskovits, H. Kneipp. Surface-Enhanced Raman Scattering: Physics and Applications, Springer Science & Business Media (2006)
- [7] C. D. Geddes, J. R. Lakowicz. J. Fluoresc., **12** (2002) 121—129
- [8] J. F. Li, C. Y. Li, R. F. Aroca. Chem. Soc. Rev., **46**, N 13 (2017) 3962—3979
- [9] C. Zhan, X. J. Chen, J. Yi, J. F. Li, D. Y. Wu, Z. Q. Tian. Nature Rev. Chem., **2**, N 9 (2018) 216—230
- [10] O. Kulakovitch, N. Strekal, A. Yaroshevich, S. Maskevich, S. Gaponenko, I. Nabiev, U. Woggon, M. Artemeyev. Nano Lett., **2**, N 12 (2002) 1449—1452
- [11] P. P. Pompa, L. Martiradonna, A. D. Torre, F. D. Sala, L. Manna, M. De Vittorio, F. Calabi, R. Cingolani, R. Rinaldi. Nature Nanotechnol., **1**, N 2 (2006) 126—130
- [12] J. T. Van Wijngaarden, M. M. Van Schooneveld, C. de Mello Donegá, A. Meijerink. Europhys. Lett., **93**, N 5 (2011) 57005
- [13] N. Strekal, V. Oskirkо, A. Maskevich, S. Maskevich, J.-C. Jardillier, I. Nabiev. Biopolymers (Biospectroscopy), **57**, N 6 (2000) 325—328
- [14] V. V. Klimov, M. Ducloy, V. S. Letokhov. Euro. Phys. J. D, **20** (2002) 133—148
- [15] V. V. Klimov, D. V. Guzatov. Quant. Electron., **37** (2007) 209
- [16] V. V. Klimov, V. S. Letokhov. Laser Phys., **15** (2005) 61—73
- [17] Д. В. Гузатов. Влияние нанообъектов сложной конфигурации на характеристики спонтанного испускания атомов и молекул, дис. ... д-ра физ.-мат. наук, Гродно (2019)
- [18] В. В. Климов. Наноплазмоника, Москва, Физ.-мат. лит. (2009)
- [19] K. Li, M. I. Stockman, D. J. Bergman. Phys. Rev. Lett., **91**, N 22 (2003) 227402

- [20] Z. B. Wang, B. S. Luk'yanchuk, W. Guo, S. P. Edwardson, D. J. Whitehead, L. Li, Z. Liu, K. G. Watkins. *J. Chem. Phys.*, **128**, N 9 (2008) 094705
- [21] Р. А. Дынич, А. Н. Понявина, В. В. Филиппов. *Журн. прикл. спектр.*, **76** (2009) 746—751  
[R. A. Dynich, A. N. Ponyavina, V. V. Filippov. *J. Appl. Spectr.*, **76** (2009) 705—710]
- [22] D. V. Guzatov V.V. Klimov. *New J. Phys.*, **13**, N 5 (2011) 053034
- [23] Q. H. Park. *Contemporary Phys.*, **50**, N 2 (2009) 407—423
- [24] L. Novotny, N. Van Hulst. *Nature Photon.*, **5**, N 2 (2011) 83—90
- [25] А. Е. Краснок, И. С. Максимов, А. И. Денисюк, П. А. Белов, А. Е. Мирошниченко, К. Р. Симовский, Ю. С. Кившарь. Успехи физ. наук, **183**, N 6 (2013) 561—589 [A. E. Krasnok, I. S. Maksymov, A. I. Denisyuk, P. A. Belov, A. E. Miroshnichenko, C. R. Simovski, Y. S. Kivshar. *Physics Uspekhi*, **56**, N 6 (2013) 539]
- [26] D. V. Guzatov, S. V. Vaschenko, V. V. Stankevich, A. Ya. Lunevich, Y. F. Glukhov, S. V. Gaponenko. *J. Phys. Chem. C*, **116** (2012) 10723—10733
- [27] D. V. Guzatov, S. V. Gaponenko, H. V. Demir. *AIP Adv.*, **8**, N 1 (2018) 015324
- [28] D. V. Guzatov, S. V. Gaponenko, H. V. Demir. *Plasmonics*, **13** (2018) 2133—2140
- [29] S. V. Gaponenko, H. V. Demir. *Applied Nanophotonics*, Cambridge, Cambridge University Press (2018)
- [30] S. V. Gaponenko, D. V. Guzatov. *Proc. IEEE*, **108** (2020) 704—720
- [31] O. Kulakovich, N. Strekal, M. Artemyev, A. Stupak, S. Maskevich, S. Gaponenko. *Nanotechnology*, **17**, N 20 (2006) 5201—5206
- [32] О. С. Кулакович, Н. Д. Стрекаль, М. В. Артемьев, А. П. Ступак, С. А. Маскевич, С. В. Гапоненко. *Журн. прикл. спектр.*, **73** (2006) 797—800 [O. S. Kulakovich, N. D. Strekal', M. V. Artem'ev, A. P. Stupak, S. A. Maskevich, S. V. Gaponenko. *J. Appl. Spectr.*, **73** (2006) 892—896]
- [33] P. Anger, P. Bharadwaj, L. Novotny. *Phys. Rev. Lett.*, **96**, N 11 (2006) 113002
- [34] D. V. Guzatov, S. V. Gaponenko, H. V. Demir. *Z. Phys. Chem.*, **232**, N 9-11 (2018) 1431—1441
- [35] M. H. Chowdhury, K. Ray, S. K. Gray, J. Pond, J. R. Lakowicz. *Analyt. Chem.*, **81**, N 4 (2009) 1397—1403.
- [36] A. A. Lizunova, D. Malo, D. V. Guzatov, I. S. Vlasov, E. I. Kameneva, I. A. Shuklov, M. N. Urazov, A. A. Ramanenka, V. V. Ivanov. *Nanomaterials*, **12**, N 22 (2022) 4051
- [37] L. Trotsiuk, A. Muravitskaya, O. Kulakovich, D. Guzatov, A. Ramanenka, Y. Kelestemur, H. V. Demir, S. Gaponenko. *Nanotechnology*, **31**, N 10 (2019) 105201
- [38] Y. Chen, K. Munechika, I. Jen-La Plante, A. M. Munro, S. E. Skrabalak, Y. Xia, D. S. Ginger. *Appl. Phys. Lett.*, **93** (2008) 053106
- [39] O. Kulakovich, L. Gurinovich, Hui Li, A. Ramanenka, L. Trotsiuk, A. Muravitskaya, J. Wei, Hongbo Li, N. Matveevskaya, D. Guzatov, S. Gaponenko. *Nanotechnology*, **32**, N 3 (2020) 035204
- [40] И. В. Коктыш, Я. И. Мельникова, О. С. Кулакович, А. А. Раманенко, С. В. Ващенко, А. О. Муравицкая, С. В. Гапоненко, С. А. Маскевич. *Журн. прикл. спектр.*, **87**, № 5 (2020) 808—815 [I. V. Koktysh, Ya. I. Melnikova, O. S. Kulakovich, A. A. Ramanenka, S. V. Vaschenko, A. O. Muravitskaya, S. V. Gaponenko, S. A. Maskevich. *J. Appl. Spectr.*, **87** (2020) 870—876]
- [41] Z. W. Lei, M. Liu, W. Ge, X. F. Yang, J. F. Chen, Y. Lu. *J. Lumin.*, **206** (2019) 359—363
- [42] A. Muravitskaya, O. Kulakovich, P. M. Adam, S. Gaponenko. *Phys. Status Solidi (b)*, **255**, N 4 (2018) 1700491(1—5)
- [43] S. Vaschenko, A. Ramanenka, O. Kulakovich, A. Muravitskaya, D. Guzatov, A. Lunevich, Y. F. Glukhov, S. Gaponenko. *Proc. Eng.*, **140** (2016) 57—66
- [44] N. Strekal, O. Kulakovich, V. Askirkha, I. Sveklo, S. Maskevich. *Plasmonics*, **4**, N 1 (2009) 1—7
- [45] R. I. Nooney, O. Stranik, C. McDonagh, B. D. MacCraith. *Langmuir*, **24**, N 19 (2008) 11261(1—7)
- [46] <https://patents.google.com/patent/US8318087B2/en>. Date of access: 14.03.2023
- [47] P. C. Lee, D. Meisel. *J. Phys. Chem.*, **86** (1982) 3391—3395
- [48] O. Kulakovich, A. Scherbovich, I. Koktysh, Y. Melnikova, A. Ramanenka, S. Gaponenko, S. Maskevich. *Z. Phys. Chem.*, **236**, N 11-12 (2022) 1603—1615
- [49] C. Hirtz, J. Vialaret, A. Gabelle, N. Nowak, Y. Dauvilliers, S. Lehmann. *Sci Rep.*, **6** (2016) 25162