19

Усиление хемилюминесценции при окислении люминола в присутствии ионов металлов и плазмонных наночастиц

© Л.Н. Бородина[1], А.В. Палехова[1], Д.В. Кононов[1], С. Пинамян[2], Д.Р. Дададжанов[1], А.В. Вениаминов[1], Т.А. Вартанян[1]

[1] МНОЦ физики наноструктур, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия
[2] ЗАО „Геокосмос“, Ереван, Армения

e-mail: lnborodina@itmo.ru

Поступила в редакцию 24.05.2025 г.
В окончательной редакции 03.11.2025 г.
Принята к публикации 11.11.2025 г.

Приведены результаты исследования хемилюминесценции в присутствии плазмонных серебряных наночастиц и химических катализаторов — ионов меди, железа, кобальта и марганца. Продемонстрировано усиление хемилюминесценции под действием как наночастиц серебра, так и ионов — отдельно и совместно с наночастицами. Определены концентрации катализаторов и наночастиц, обеспечивающие максимальное увеличение хемилюминесцентного сигнала. При совместном действии наночастиц серебра и ионов металлов рост интенсивности хемилюминесценции превосходит её рост в присутствии только наночастиц или только ионов. Путём сопоставления спектров хемилюминесценции, усиленной наночастицами и ионами металлов, показано различие присущих им физического и химического механизмов усиления.

Ключевые слова: плазмон-усиленная хемилюминесценция, эффект Парселла, катализ, серебряные наночастицы, свободные радикалы.

DOI: 10.61011/OS.2025.11.62170.8201-25

Введение

Изучению хемилюминесценции посвящено большое количество работ, начиная с первой половины прошлого века. Эта тема не утрачивает актуальности и по сей день. Согласно статистике Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), постоянно растет заболеваемость аутоиммунными и онкологическими заболеваниями [1]. Основной причиной патогенеза ряда болезней и патологических процессов в организме человека является оксидативный стресс. Чаще всего возникновение оксидативного стресса в организме связано с высокой концентрацией свободных радикалов, в том числе активных форм кислорода (АФК) [2]. Для своевременной диагностики необходимы чувствительные методы их детектирования.

Низкий предел обнаружения, характерный для хемилюминесцентных методов, привел к широкому использованию их в медицине, в частности для диагностики аутоиммунных заболеваний [3]. Хемилюминесцентные сенсоры находят применение и в криминалистике, а также в газоанализаторах [4] и средствах обнаружения пестицидов в сельском хозяйстве [5].

Еще более широкое использование хемилюминесценции сдерживается ее низкой интенсивностью, обусловленной конкуренцией между излучательными и безызлучательными каналами релаксации энергии электронного возбуждения.

Перспективным методом усиления хемилюминесцентного сигнала без прямого вмешательства в хемилюминесцентную реакцию является ускорение излучательного перехода, которое может быть реализовано при нахождении молекулы хемилюминофора вблизи металлической наночастицы, спектральная полоса плазмонного резонанса которой перекрывается с полосой хемилюминесценции [6–11]. Такое увеличение скорости радиационных переходов неоднородной среде известно как эффект Парселла.

Усиление хемилюминесцентного сигнала может быть получено и с помощью химических катализаторов — ионов металлов, ускоряющих саму реакцию [12]. При взаимодействии аналита с ионами металлов образуется продукт с более высокой окислительной активностью по отношению к молекулам хемилюминофора, и хемилюминесцентная реакция происходит быстрее и с большей интенсивностью свечения.

Исходя из этого цель данной работы состояла в определении оптимальных катализаторов из ионов железа, меди, кобальта, марганца и выборе необходимых концентраций и степени усиления хемилюминесценции при окислении люминола гипохлоритом натрия в присутствии плазмонных наночастиц. В природе гипохлорит натрия образуется в реакции, катализируемой ферментом миелопероксидазой. Этот процесс происходит при контакте гранулоцитов крови с чужеродными клетками, например бактериями. Активация рецепторов на поверхности клеток запускает процессы, приводящие к образованию супероксидных радикалов [13].

Таким образом, настоящее исследование формирует основу для использования хемилюминесценции для выявления заболеваний, обусловленных оксидативным стрессом и для создания сенсорных систем.

Материалы и методы

В работе использованы водные растворы люминола в концентрации $3.5 \cdot 10^{-4}$ M, гипохлорита натрия (400 μM), растворы NaOH при pH=7.

Серебряные наночастицы сферической формы с цитратной оболочкой (Ag NP) были получены методом коллоидного синтеза по следующей схеме [14]:

1) водные растворы тринатрий цитрата и $AgNO_3$ с концентрацией 0.01M смешивались в объёмном соотношении 1:1;

2) в заранее охлаждённую до 5–6°C деионизованную воду добавлялся тетрагидроборат натрия $NaBH_4$ для получения раствора концентрации 0.01 M, который после приготовления интенсивно перемешивался;

3) затем в интенсивно перемешиваемый раствор ($AgNO_3$ + тринатрий цитрат) добавлялся раствор тетрагидробората натрия $NaBH_4$ по 200 μl до достижения объёмного соотношения 2 : 1 между растворами ($AgNO_3$ + тринатрий цитрат) и тетрагидробората натрия $NaBH_4$. Полученный раствор наносфер выдерживался примерно 10 min для того, чтобы произошла реакция компонентов раствора. Цвет итогового раствора серебряных наносфер — тёмно-жёлтый.

Для синтеза использовали нитрат серебра $AgNO_3$ (ООО „Бертуз“, Россия, степень чистоты $\geq$ 99%), тринатрий цитрат компании AppliChem Panreac ($\geq$ 98%), тетрагидроборат натрия $NaBH_4$ компании Chemical Line ($\geq$ 98%). Средний гидродинамический размер синтезированных серебряных наносфер, измеренный методом динамического рассеяния света коллоидного раствора наночастиц и подтвержденный сопоставлением измеренного спектра экстинкции с рассчитанным по теории рассеяния Ми [15], составил 12 nm.

Выбор серебряных наночастиц для плазмонного усиления хемилюминесценции люминола обусловлен хорошим перекрытием плазмонной полосы серебряных наночастиц со спектром хемилюминесценции люминола (рис. 1), позволяющим ожидать увеличения скорости радиационного перехода в системе „молекула люминола–серебряная наночастица“ по сравнению со скоростью радиационного перехода в изолированной молекуле люминола.

Растворы ионов меди Cu^{2+}, железа Fe^{2+}, марганца Mn^{2+}, кобальта Co^{2+} были получены путём растворения в деионизованной воде соответственно сульфата меди $CuSO_4$ (степень чистоты $\geq$ 98%), сульфата железа $FeSO_4$ ($\leq$ 99%), сульфата марганца $MnSO_4$ ($\leq$ 98%), нитрата кобальта CoNO3 ($\leq$ 98%). Реактивы приобретены у компании „Ленреактив“ (Россия).

Спектры поглощения коллоидных растворов серебряных наночастиц измерены при помощи спектрофотометра СФ-56 (ЛОМО, Россия). Спектр хемилюминесценции измерен с помощью спектрофлуориметра RF9301 (Shimadzu, Япония) при выключенном источнике возбуждающего излучения. Для измерения гидродинамических размеров серебряных наночастиц использован анализатор Zetasizer Nano (Malvern Panalytical, Великобритания). Интенсивность хемилюминесценции измерялась при помощи счётчика фотонов H11890 (Hamamatsu, Япония).

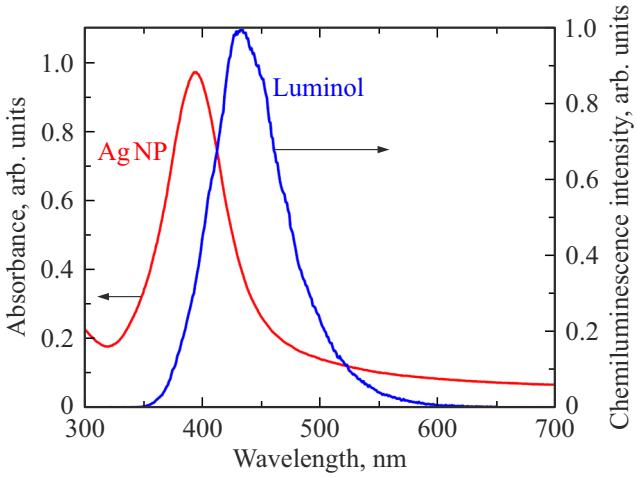


Рис. 1. Спектры хемилюминесценции при окислении люминола гипохлоритом натрия (синяя кривая) и экстинкции серебряных наночастиц с цитратной оболочкой (красная кривая).

Регистрация хемилюминесценции проводилась следующим образом: в смесь водных растворов люминола (100 μl, $3.5 \cdot 10^{-4}$ M), ионов металла (25 μl, 10^{-8}–10^{-4} M) и серебряных наночастиц (25 μl, 0–10 μM) вводился 400 μM раствор гипохлорита натрия, выступающего в качестве аналита, при этом нейтральная кислотность (pH = 7) раствора поддерживалась добавлением гидроксида натрия. При смешивании аналита с хемилюминофором наблюдалось свечение синего цвета (хемилюминесценция), интенсивность которого измерялась с помощью счётчика фотонов как функция времени; после окончания реакции и соответственно прекращения свечения заново вводился аналит и производилось измерение. Для оценки степени усиления, под которой понимается отношение интенсивности хемилюминесценции в присутствии катализаторов или плазмонных наночастиц к её интенсивности в отсутствие добавок, использовалось значение сигнала в максимуме, усреднённое по четырём последовательным измерениям.

Результаты и обсуждение

В присутствии ионов металлов наблюдалась повышенная интенсивность хемилюминесценции люминола при окислении гипохлоритом натрия. Она зависела и от конкретного металла, и от концентрации ионов в растворе. На рис. 2 представлены измеренные зави-

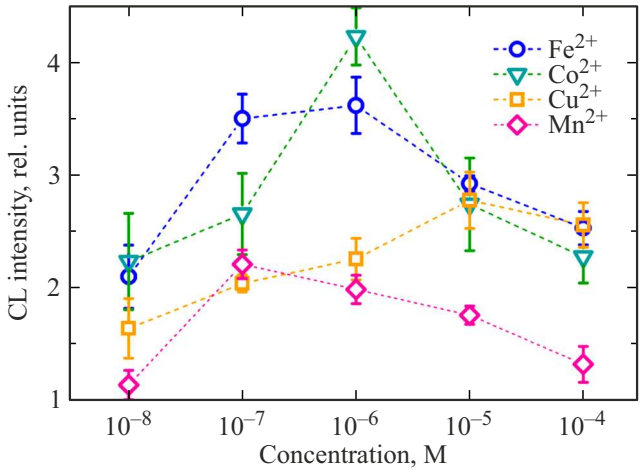


Рис. 2. Зависимость коэффициента усиления хемилюминесценции люминола при окислении гипохлоритом (400 μM) от концентрации ионов железа Fe^{2+}, кобальта Co^{2+}, меди Cu^{2+}, марганца Mn^{2+} в растворах с pH = 7.

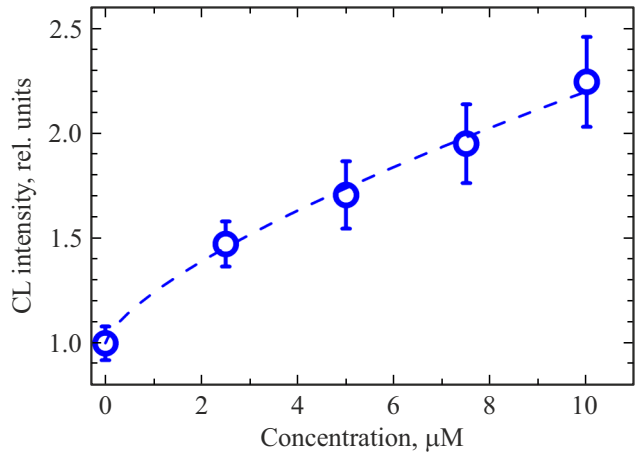


Рис. 3. Зависимость коэффициента усиления хемилюминесценции люминола при окислении гипохлоритом (400 μM) от концентрации серебряных наночастиц (Ag NP) в растворе с pH = 7.

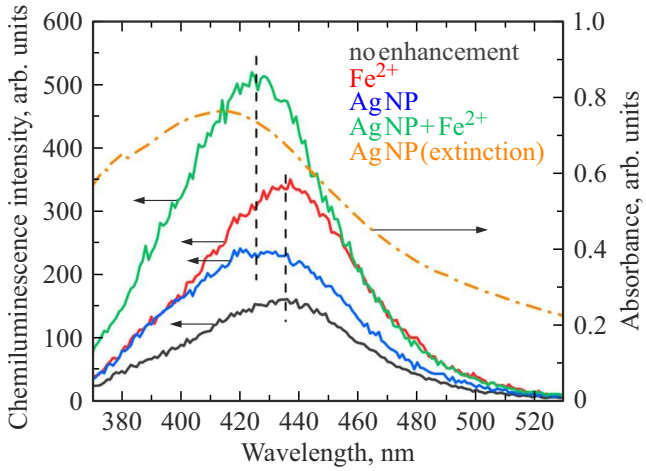


Рис. 4. Спектры хемилюминесценции при окислении люминола гипохлоритом натрия без добавок, в присутствии серебряных наночастиц Ag NP, ионов железа Fe^{2+} и при совместном действии Ag NP и Fe^{2+}. Вертикальные штриховые линии показывают положение максимумов люминесценции без наночастиц (435 nm) и с наночастицами (425 nm).

симости коэффициента усиления хемилюминесценции ионами металлов от их концентрации.

С ростом концентрации ионов железа до 10^{-7} M хемилюминесценция люминола достигает 3.5-кратного усиления. При превышении концентрации катализатора 10^{-6} M интенсивность хемилюминесценции снижается. Это объясняется тем, что продукт реакции ионов железа и гипохлорита начинает взаимодействовать не только с молекулами люминола, но и с самими ионами железа [16]. Подобная закономерность наблюдается и в отношении хемилюминесценции в присутствии ионов других металлов.

Наиболее высокое усиление хемилюминесценции обеспечивают ионы кобальта (в 4 раза при концентрации 10^{-6} M), следом идут ионы железа (в 3.5 раза при $10^{-7}-10^{-6}$ M), меди (в 2.7 раз при 10^{-5} M) и марганца (в 2 раза при 10^{-5} M), что соответствует опубликованным данным о роли катализа в усилении хемилюминесценции [12].

Интенсивность хемилюминесценции также зависит и от концентрации серебряных наночастиц; при разбавлении полученного при их синтезе раствора она снижается (рис. 3).

Поэтому оптимальной сочтена концентрация 10^{-5} M исходно полученного раствора серебряных наночастиц с цитратной оболочкой, который дал 2–2.5-кратное усиление хемилюминесценции люминола. При более высокой концентрации возможно тушение хемилюминесценции из-за безызлучательного переноса энергии по механизму FRET [17].

Коэффициенты усиления хемилюминесценции в присутствии ионов металлов в оптимальных концентрациях и наночастиц серебра или ионов без наночастиц приведены в таблице ниже.

Во всех случаях в присутствии и катализатора (ионов металла), и серебряных наночастиц наблюдается более значительное усиление хемилюминесценции люминола, чем если использовать катализатор или плазмонные наночастицы по отдельности. Среди ионов-катализаторов ионы кобальта обеспечивают наиболее высокое усиление хемилюминесценции: четырёхкратное без помощи наночастиц серебра и семикратное с наночастицами. Следом за ними по достигнутому коэффициенту усиления идут ионы железа, меди и марганца.

Если ионы металлов только ускоряют реакцию окисления и тем самым усиливают сопутствующую ей хемилюминесценцию, не меняя её спектра, то в присутствии наночастиц серебра не только увеличивается интенсив-

Усиление хемилюминесценции при окислении люминола гипохлоритом ($400\,\mu$M) в присутствии в растворе с pH=7 ионов металлов в оптимальных концентрациях с 10^{-5} M наночастиц серебра и без наночастиц

Ион	Концентрация, M	Без наночастиц Ag NP	С наночастицами Ag NP
железа Fe^{2+}	10^{-6}	3.5 ± 0.4	4.7 ± 0.4
меди Cu^{2+}	10^{-5}	2.7 ± 0.2	3.5 ± 0.3
кобальта Co^{2+}	10^{-6}	4.0 ± 0.2	7.3 ± 0.4
марганца Mn^{2+}	10^{-7}	2.1 ± 0.1	3.2 ± 0.3

ность, но и смещается спектр, как показано на рис. 4 на примере катализа ионами железа.

Эффект Парселла при использовании плазмонных наночастиц усиливает хемилюминесценцию только в области пересечения спектров поглощения наночастиц серебра и хемилюминесценции люминола. Так как спектр поглощения наночастиц серебра находится в более коротковолновой области относительно спектра хемилюминесценции люминола, то при воздействии ближнего поля наночастиц происходит гипсохромный сдвиг спектра хемилюминесценции [18].

Спектральные различия хемилюминесценции в присутствии и при отсутствии наночастиц серебра иллюстрируют различие механизмов усиления хемилюминесценции ионами металлов и плазмонными наночастицами — химический катализ и эффект „наноантенн“ (Парселла).

Заключение

В работе показано усиление ионами металлов и плазмонными серебряными наночастицами хемилюминесценции при окислении люминола гипохлоритом в биологически нейтральных средах, которое происходит по различным механизмам; определены концентрации наночастиц и ионов, обеспечивающие максимальное повышение коэффициента усиления.

Сопоставление спектров хемилюминесценции при окислении люминола гипохлоритом натрия в присутствии серебряных наночастиц и ионов железа по отдельности и совместно иллюстрирует различие физического и химического механизмов усиления хемилюминесценции, что было показано впервые.

Определены оптимальные концентрации плазмонных наночастиц и ионов металла для усиления хемилюминесценции люминола в биологически нейтральных средах (pH=7) при окислении гипохлоритом натрия. Наилучшее — семикратное — усиление даёт комбинация ионов кобальта и серебряных наночастиц. Такое усиление достаточно существенно для применения в реальных хемилюминесцентных сенсорных системах, выявляющих повышенное содержание окислителей.

Финансирование работы

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-72-00045, https://rscf.ru/project/23-72-00045/.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] The Global Health Observatory. World health statistics 2025 [электронный ресурс] URL: https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/c992fbdc-11ef-43db-a478-7e7a195403ae/content.

[2] N. Chandimali, S.G. Bak, E.H. Park, H.J. Lim, Y.S. Won, E.K. Kim, S.I. Park, S.J. Lee. Cell Death Discovery, **11**, 19 (2025). DOI: 10.1038/s41420-024-02278-8

[3] L. Cinquanta, D.E. Fontana, N. Bizzaro. Autoimmunity Highlights, **8**(1), 9 (2017). DOI: 10.1007/s13317-017-0097-2

[4] K.S. Oh, S.I. Woo. Sci. Technol. Adv. Mater., **12** (5), 054211 (2011). DOI: 10.1088/1468-6996/12/5/054211

[5] I. Al Yahyai, H.A.J. Al-Lawati. Luminescence, **36** (2), 266–277 (2021). DOI: 10.1002/bio.3947

[6] D.R. Dadadzhanov, I.A. Gladskikh, M.A. Baranov, T.A. Vartanyan, A. Karabchevsky. Sens. Actuators B Chemical, **333**, 129453 (2021). DOI: 10.1016/j.snb.2021.129453

[7] Д.В. Кононов, А.В. Палехова, Н.А. Филатов, Н.Б. Леонов, А.С. Букатин, Д.Р. Дададжанов, Т.А. Вартанян. Опт. и спектр., **132**, 1300–1304 (2024). DOI: 10.61011/OS.2024.12.59809.7399-24 [D.V. Kononov, A.V. Palekhova, N.A. Filatov, N.B. Leonov, A.S. Bukatin, D.R. Dadadzhanov, T.A. Vartanyan. Opt. Spectrosc., **132**(12), 1227–1230 (2024). DOI: 10.61011/EOS.2024.12.60453.7399-24].

[8] D.L. Giokas, A.G. Vlessidis, G.Z. Tsogas, N.P. Evmiridis. TrAC – Trends in Analytical Chemistry, **29** (10), 1113–1126 (2010). DOI: 10.1016/j.trac.2010.07.001

[9] Н.Б. Леонов, И.А. Гладских, В.А. Полищук, Т.А. Вартанян. Опт. и спектр., **119**(3), 458–463 (2015). DOI: 10.7868/S0030403415090202 [N.B. Leonov, I.A. Gladskikh, V.A. Polishchuk, T.A. Vartanyan. Opt. Spectrosc., **119** (3), 450–455 (2015). DOI: 10.1134/S0030400X15090179].

[10] F. Jiang, P. Li, C. Zong, H. Yang. Analytica Chimica Acta, **1114**, 58–65 (2020). DOI: 10.1016/j.aca.2020.03.052

[11] C.D. Geddes, J.R. Lakowicz. J. Fluorescence, **12**, 121–129 (2002). DOI: 10.1023/A:1016875709579

[12] L.L. Klopf, T.A. Nieman. Anal. Chem., **55** (7), 1080–1083 (1983). DOI: 10.1021/ac00258a023
[13] F.S. Lamb, J.S. Hook, B.M. Hilkin, J.N. Huber, A.P.D. Volk, J.G. Moreland. J. Biological Chem., **287** (15), 12395–12404 (2012). DOI: 10.1074/jbc.M111.306530
[14] M.R. Hormozi-Nezhad, M. Jalali-Heravi, H. Robatjazi, H. Ebrahimi-Najafabadi. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, **393**, 46–52 (2012). DOI: 10.1016/j.colsurfa.2011.10.023
[15] Mie calculator [электронный ресурс]. URL: https://physics.itmo.ru/ru/mie#/spectrum
[16] Y.B. Tsaplev, A.V. Trofimov. Russ. J. Phys. Chem. A, (5), 1099–1105 (2022). DOI: 10.1134/S0036024422050284.
[17] S. Gao, R. Zhou, S. Samanta, J. Qu, T.Y. Ohulchanskyy. Analytica Chimica Acta, **1254**, 341086 (2023). DOI: 10.1016/j.aca.2023.341086
[18] S.V. Pinamyan, T.A. Vartanyan. In: *Book of Abstracts of International Conference on Laser Physics* (Erevan, Ashtarak, 2025), p. 70.