ФІЗИКА І ХІМІЯ ТВЕРДОГО ТІЛА
Т. 11, № 1 (2010) С. 170-175

PHYSICS AND CHEMISTRY OF SOLID STATE
V. 11, № 1 (2010) P. 170-175

УДК 539.23, 539.25

ISSN 1729-4428

Й.П. Шаркань[1], Дж.Дж. Рамсден[2], І.І. Сакалош[1], М.Ю. Січка[1], С.О. Корпош[3], І.І. Трикур[1]

Одержання та структурні особливості нанокомпозитних плівок бактеріородопсин - квантові точки CdSe/ZnS – мікропориста золь-гельна матриця

[1]Ужгородський національний університет,Україна, 88000 м. Ужгород, вул. Підгірна 46, тел./факс: (03122)33341, e-mail: shark@univ.uzhgorod.ua
[2]Кренфільдський університет, Великобританія,
[3]Кітакюський університет, Японія

В роботі запропоновано методику отримання та результати досліджень плівкової нанокомпозитної структури на базі бактеріородопсину. В якості матриці використано водонерозчинне пористе золь-гельне скло на основі тетраетилортосилікату, в які впроваджені фрагменти пурпурних мембран та фотосенсибілізуючі домішки. Впровадження в плівку квантових частинок типу CdSe/ZnS з максимумом люмінесценції, що співпадає з максимумом поглинання основного стану бактеріородопсину, дозволяє створювати в одній структурі випромінюючі і реєструючі елементи, що значно підвищує чутливість та спрощує конструкцію хімічного датчика. БР в таких матрицях повністю зберігає функціональність, отримані плівки мають хорошу оптичну якість. Проведено дослідження морфології поверхні та перерізу отриманих плівок, а також досліджено вплив введення хімічних домішок та напівпровідникових квантових точок на структуру плівки. Також приведено порівняльну характеристику пористості плівок отриманих даним методом та плівок з класичними матеріалами для матриць такими як желатина та полівініловий спирт.

Ключові слова: Бактеріородопсин, квантові точки, хімічний датчик, золь-гельне скло, морфологія поверхні та перерізу, пористість.

Стаття поступила до редакції 16.10.2009; прийнята до друку 15.12.2009.

Вступ

В сучасній прикладній електроніці активно досліджується проблема розробки процесів і принципів мікро-, нано-, і біотехнології для цілеспрямованого синтезу елементів і функціональних середовищ, які становлять базис технічних систем сприйняття, перетворення, збереження і передачі інформації.

Яскравим представником такого класу матеріалів можуть стати нанокомпозитні структури на базі бактеріородопсину. З пратичної точки зору оптимальною є розробка чутливих оптичних елементів на базі сухих плівкових структур з вмістом бактеріородопсину. Неорганічні матриці створені по золь-гель технології (SiO_2, TiO_2 та ін.), в які впроваджені фрагменти пурпурних мембран, а також фотосенсибілізуючі домішки, які визначають селективність та чутливість, представляють собою нові нанокомпозитні структури, що є нерозчинними в водних розчинах на відміну від полімерних матриць. БР зберігає свої характерні оптичні властивості при впровадженні його до кремнієвого скла в ході золь-гельного процесу [1, 2], тому цей процес можна використати для виготовлення чутливих елементів для біосенсорного застосування [3]. Таким чином, розширяється можливість створення на базі даних матеріалів чутливих елементів хімічних сенсорів не тільки газових середовищ, але й водних розчинів, що значно розширює область їх практичного використання.

Створені в останні роки напівпровідникові квантові точки з надзвичайно високим квантовим виходом люмінесценції та можливістю регулювання спектру люмінесценції хімічним складом та розміром наночастинок, дають можливість розробки та створення принципово нових, по функціональним можливостям структур, в які крім квантових точок входять фотохромні нанорозмірні частинки. Можливості використовуваної технології одержання плівок на основі бактеріородопсину в різних матрицях, дозволяє впровадження в них квантових частинок типу CdSe/ZnS з спектральною люмінесцентною смугою випромінювання, що співпадає з смугою поглинання основного стану бактеріородопсину. Тобто, можливе створення в

одній структурі випромінюючих і реєструючих елементів, що значно підвищує чутливість і спрощує конструкцію хімічного датчика.

Дану роботу присвячено дослідженню можливості синтезу нанокомпозитних плівкових структур *БР – золь-гель – квантові точки* та приведено основні характеристики отриманих структур.

I. Методика отримання нанокомпозитних плівок з використанням золь-гельної матриці

Для отримання плівок використовувався БР, у вигляді фрагментів пурпурних мембран, виділений за стандартними методиками [4] з Halobacterium salinarum дикого штаму із співвідношенням білок/ліпіди в пурпурних мембранах 3:1 (молекулярна вага) та 1:10 (кількість молекул).

В якості прекурсорів для отримання золь-гельного скла використовували тетраетоксисилан TEOS (компанія Флука, Швейцарія). Золь-гельний процес є зручним та універсальним методом для отримання оптично прозорих і водонерозчиних матриць при помірних температурах [5]. Умови обробки при кімнатних температурах дозволяють отримувати оптичні матеріали з багатьма органічними, органометалічними та біологічними молекулами впровадженими в пористу матрицю золь-гельного скла [5]. В більшості золь-гельних технологій використовується вода та алкооксиди низької молекулярної ваги, такі як тетраетоксисилан (TEOS) та тетраметоксисилан (TMOS).

В нашому випадку хімічну реакцію золь-гельного процесу можна записати в наступному виді:

гідроліз:

$$Si(OC_2H_5)_4 + 4H_2O = Si(OH)_4 + 4C_2H_5OH, \quad (1)$$

Процес конденсації проходить за участі гідроксильних лігандів з утворенням полімерів, що містять Si-O-Si та Si-μ(OH)-Si зв'язки. При використанні в якості прекурсора оксиду кремнію, необхідний каталізатор, тому що SiO_2 хімічно малоактивний і без допомоги каталізатора процес полімеризації може тривати тижнями. Реакція проходить відповідно до наведеного рівняння:

$$Si(OH)_4 + (OH)_4Si = 2SiO_2 + 4H_2O, \quad (2)$$

Реакція гідролізу протікає активніше із застосуванням кислотного каталізатора, в той час як реакцію конденсації можна пришвидшити лужним каталізатором [6]. Гідроліз та конденсація тетра-алкосиланів під час золь-гельного процесу сприяють формуванню твердої силікактної матриці навколо чутливих молекул, які розчинні в рідкій фазі [7].

Золь-гельне скло отримали, застосувавши дещо змінені методики описані в [1]. Використовуючи даний метод, 7 мл TEOS, 3 мл дистильованої води та 1 мл 0,04 М HCl перемішали разом та обробили ультразвуком протягом 20 хв. Одержаний в результаті продукт, розвели рівним об'ємом

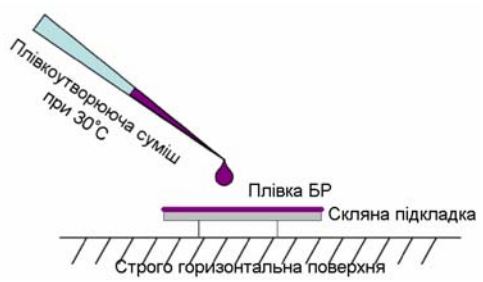

Рис. 1. Схематичне зображення виготовлення плівки БР методом поливу.

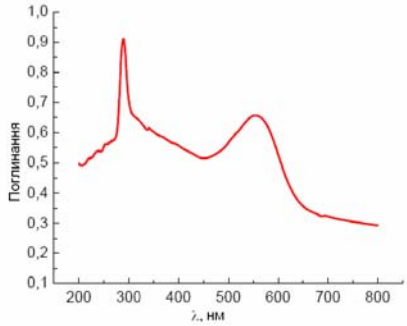

Рис. 2. Спектр поглинання пліки на основі БР в золь-гельній матриці. Співвідношення мас БР:TEOS = 5,5:94,5.

дистильованої води. 0,5 мл цього розчину змішали з 0,25 мл буферним розчином борнокислого натрію (pH 9) і 0,1 мл або 0,2 мл розчину БР (14 мг/мл) для отримання різних концентрацій бактеріородопсину.

Для створення нанокомпозитних структур з квантовими точками були використані напівпровідникові квантові точки CdSe/ZnS виробництва фірми EVIDENT (США), стабілізовані в дистильованій воді з допомогою COOH (емісійний пік -576 нм, абсорбційний -562 нм) та амінами (емісійний пік -575 нм, абсорбційний -562 нм). Концентрація квантових точок у воді складала 0,25 мг/мл.

Включення до складу плівок певних хімічних домішок, в різних комбінаціях, використовувалось для зміни фоточутливості та часових характеристик фотоциклу бактеріородопсину. Домішки забезпечили можливість покращення хімічної чутливості та селективності плівок БР. Для отримання хімічно модифікованих плівок БР використовували триетаноламін (TEA) та додецилтриметиламінобромід (ДТМАБ) (фірма SIGMA). 0,4 М водний розчин TEA додавали до плівкоутворюючої суспензії, щоб отримати молярне відношення TEA:БР як 250:1 (котре, як було показано раніше, дає максимальну фоточутливість [8]). Концентрація ДТМАБ складала 0,01 М.

При виготовленні хімічно модифікованих плівок в золь-гельній матриці водний розчин БР змішували з TEA та ДТМАБ, до змішування із золь-гельною сумішшю, а потім 0,02 мл суміші БР з хімічними добавками вводили в 0,12 мл розчину прекурсорів.

Після підготовки плівкоутворюючої суміші можуть використовуватися різні методи нанесення плівок на скляні підкладки та торці оптичних

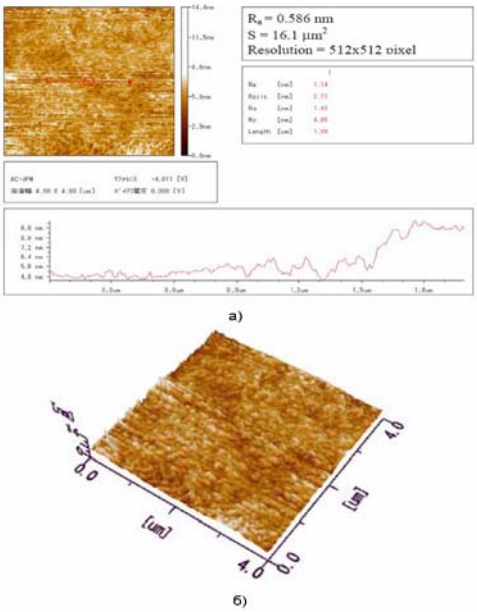

Рис. 3. а) – шорсткість поверхні чистої золь-гельної матриці виготовленої методом поливу та висушування, вимірювання на площі поверхні 16,1 мкм^2; б) – AFM зображення морфології поверхні чистої золь-гельної матриці виготовленої методом поливу та висушування.

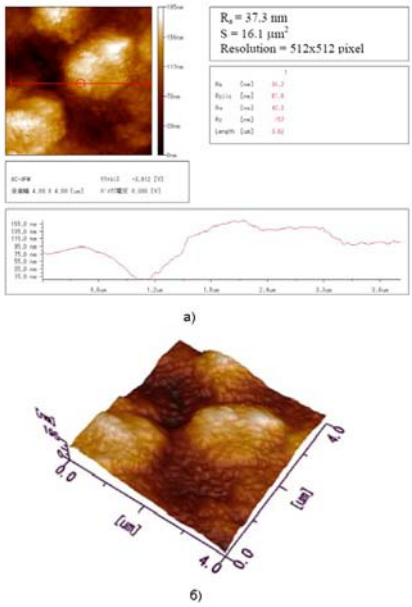

Рис. 4. а) – шорсткість поверхні плівки БР в золь-гельній матриці виготовленої методом поливу та висушування (співідношення мас БР:TEOS = 5,5:94,5), вимірювання на площі поверхні 16,1 мкм^2 ; б) –AFM зображення морфології поверхні плівки БР в золь-гельній матриці виготовленої методом поливу та висушування (співідношення мас БР:TEOS = 5,5:94,5).

волокон. Для нанесення плівок, різної товщини та з різними оптичними властивостями, на скляні підкладки найчастіше використовують методи поливу, формування та центрифугування.

Метод поливу забезпечує просту підготовку

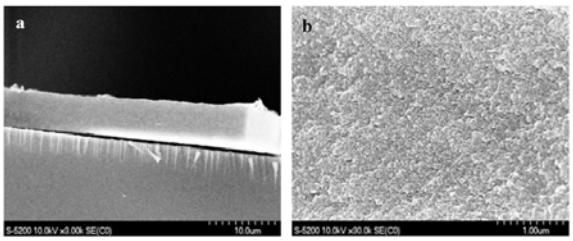

Рис. 5. SEM зображення поперечного перерізу золь-гельної матриці виготовленої методом поливу та висушування: а) збільшення – x3000; б) збільшення – x30000.

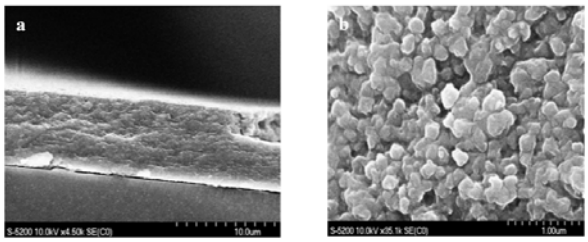

Рис. 6. SEM зображення поперечного перерізу плівки БР в золь-гельній матриці виготовленої методом поливу та висушування (співвідношення мас БР:TEOS = 5,5:94,5): а) збільшення – x4500; б) збільшення – x35100.

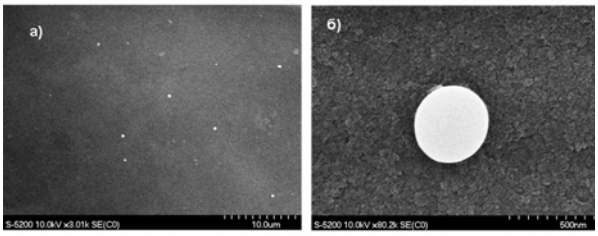

Рис. 7. SEM зображення поверхні нанокомпозитної плівки SiO_2 матриця-квантові точки-БР: а) збільшення – x3010; б) збільшення – x80200 .

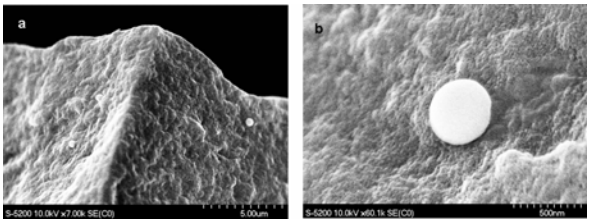

Рис. 8. SEM зображення перерізу нанокомпозитної плівки SIO_2 матриця-квантові точки – БР: а) збільшення –X 7000; б) збільшення – X 60100.

плівок БР, при цьому обумовлює створення однорідних плівок з високою оптичною якістю. Даний метод базується на розміщенні краплі плівкоутворюючого розчину на горизонтально зафіксовану очищену скляну підкладку (рис. 1). Використання методу поливу дозволяє отримати плівки з однорідним розподілом товщини по всій поверхні зразка.

Виготовлення чистих золь-гельних плівок та плівок БР в золь-гельній матриці з квантовими точками CdSe/ZnS товщиною 20 мкм здійснювалося

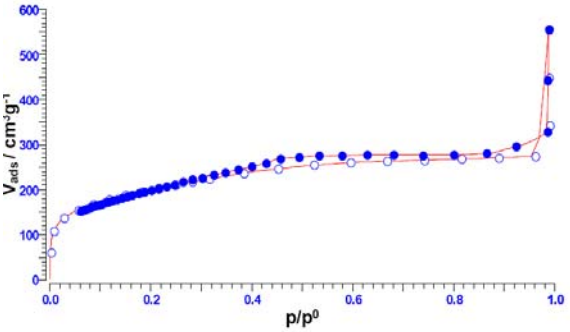

Рис. 9. Ізотерма адсорбції золь-гельного скла з кислим каталізатором; замальовані символи – адсорбційна частина ізотерми, пусті – десорбційна частина.

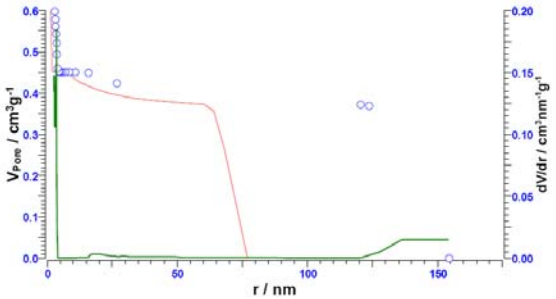

Рис. 10. Розподіл пор по розміру в золь-гельному склі.

шляхом нанесення 0,1 мл плівкоутворюючої суміші на поверхню скляних підкладок площею 5 см^2. Плівки висушували в холодильнику при 4°C протягом 24 год.

Товщину осадженої плівки при використанні вказаного методу можна контролювати об'ємом краплі, яку наносять на скляну підкладку. Наприклад, при нанесенні на 6,25 см^2 скляної підкладки 0,225 мл плівкоутворюючого розчину утворюється плівка товщиною ~20 мкм. Аналогічно при нанесенні 10 мкл на торець волокна діаметром 200 мкм утворюється плівка тієї ж товщини. Взагалі товщина плівок БР, виготовлених даним методом, варіюється в діапазоні 20–40 мкм. Концентрація БР в таких сухих плівках складає 12-20% по вазі.

II. Результати і обговорення

Для проведення досліджень було виготовлено серію плівок БР в золь-гельній матриці з різним хімічним складом. Досліджувалися спектральні характеристики, морфологія поверхні та перерізу, поруватість плівок та розподіл квантових точок по об'єму плівки.

На рис. 2 показані оптичні спектри поглинання плівки на основі БР в золь-гельній матриці. Характерний максимум поглинання в області 570 нм підтверджує той факт, що БР в сухій золь-гельній матриці зберігає свої оптичні властивості та структуру і при цьому не денатурує.

Морфологію поверхні, поперечного перерізу і розподілу пурпурних мембран в плівках бактеріородопсину, досліджували використовуючи скануючий електронний мікроскоп (FE-SEM) Hitachi S−5200, який додатково обладнаний функцією мікроаналізу (EDS). Поверхневу морфологію плівок на основі бактеріородопсину в золь-гельній та желатиновій матриці досліджували за допомогою атомно-силового мікроскопу Jeol JSPM-5210 (AFM). Пористість матриць, що були використані для одержання плівок, визначалась за допомогою аналізаторів розмірів пор і поверхневої площі − "Soprtomatic 1990".

Дослідження морфології поверхні показало, що чисті TEOS плівки виготовлені методом поливу мають хорошу однорідність та малу шорсткість на рівні 0,586 нм (рис. 3). Впровадження БР в золь-гельну матрицю значно збільшує шорсткість поверхні плівки до 37,3 нм (рис. 4). Припускається, що збільшення шорсткості обумовлене агрегацією фрагментів пурпурних мембран з утворенням конгломератів БР.

Вивчення поперечного перерізу золь-гельних плівок показало, що вони мають зернисту структуру, що в свою чергу забезпечує сильно розвинену мікро- та мезопористість (рис. 5 та 6). Це підтверджено і результатами вимірювань параметрів пористості (табл. 1). За таких умов адсорбція парів досліджуваних хімічних речовин проходить не тільки на поверхні а також по всьому об'єму чутливого елементу, таким чином значно зростає ефективність сенсора.

Для нанокомпозитних структур *золь-гельна SiO_2 матриця – БР – напівпровідникові квантові точки*, як при дослідженні морфології поверхні (рис. 7) , так і перерізу (рис. 8), чітко видно включення окремих квантових точок (світлі фрагменти, які проявляються внаслідок катодолюмінесценції під дією електронного пучка). Як видно з даних зображень квантові точки рівномірно розподілені по всьому об'єму нанокомпозитної структури.

Дослідження на AFM плівок в золь-гельній матриці з квантовими точками показало, що структура поверхні одержаних зразків не відрізняється від поверхні плівок у яких ці точки відсутні.

Відомо [6], що використання технологічних процесів з різними умовами (температура, тиск, каталізатор) може вплинути на пористість отриманого золь-гельного скла. Тому контролюючи технологічні параметри отримання золь-гельного скла можна отримати зразки з заданою пористістю.

Дослідження пористості отриманих плівок проводилося за допомогою установки "Sopromatic-1990". Зразки плівок зважували і дегазували, щоб отримати повністю чисту поверхню зразка і таким чином забезпечити отримання надійних та відтворюваних результатів вимірювань. Дегазація завершувалась витримуванням зразка при умовах високого вакууму і температурі 50˚C протягом 24 годин. Для базового зняття показів та калібрування максимального об'єму у межах "Sopromatic 1990"

Таблиця 1

Специфічна поверхнева площа та розподіл пор по розміру

Зразок	**Ефективна площа поверхні, м^2/г BET**	**Ефективний об'єм пор, см^3/г**	**Ефективна площа поверхні, м^2/г BHJ**	**Величина пор**		
				Від (нм)	До (нм)	A%
Желатинова плівка	2,6	0,003	3,45	0	1,5	13,9
				1,5	3	41,9
				3	5	8,9
				10	50	32
Плівка PVA	1,7	0,001	2,93	0	1,5	15,5
				1,5	3	44,5
				3	5	13,9
				10	50	22,1
Золь-гельна плівка	676,6	0,519	–	0	1,5	17,9
				1,5	3	58,9
				3	5	13,9

використовувався гелій. На рис. 9 показана типова ізотерма адсорбції золь-гельного скла, отримана за допомогою адсорбції та десорбції азоту. Характеристики цієї адсорбційної ізотерми добре описані за допомогою BET-моделі [9]. Незначний гістерезис, який спострігався у процесі адсорбції та десорбції газу, може бути пояснений капілярною конденсацією адсорбату в мезопорах золь-гельного скла.

Величини питомої площі поверхні розраховані з допомогою BET, для золь-гельних зразків, підготованих у ідентичних зовнішніх умовах, використовуючи HCl, H_2O та HCl+NaB_4 в якості каталізаторів, були рівні 584,4, 676,6 та 544,8 м^2/г відповідно.

Розподіл пор по розмірам був визначений за допомогою методу десорбції азоту, використовуючи BJH-модель [10]. На рис. 10 показано спектр розмірів пор золь-гельного скла. Розміри пор від 0-1,5 нм та 1,5-5 нм, вказують на те що золь-гельне скло має добре розвинуту мікро- та мезопористу структуру. В табл. 1. приведені результати розподілу поверхневої площі та пор по розмірах у полімерних плівках та золь-гельному склі. Пористість золь-гельних скляних плівок більша ніж у полімерних плівок. Крім того питомі (характерні) площі поверхонь золь-гельного скла та желатинових плівок більші ніж у ПВС плівках. Звідси випливає що використання золь-гельних та желатинових матриць для впровадження БР більш прийнятне в силу їх більшої пористості. Остання дозволяє хімічним аналітам проникати та взаємодіяти з БР по всьому об'єму плівки таким чином збільшуючи ефективність відклику сенсора.

Висновки

Результати досліджень свідчать про те, що золь-гельні стекла можна ефективно використовувати в якості водонерозчинної матриці для створення плівок на базі БР. Отримані таким чином плівки мають високу оптичну якість та рівномірний розподіл по об'єму фрагметів БР. Внесення хімічних домішок та напівпровідникових квантових точок не впливає на оптичну якість та структуру поверхні плівки. Плівки отримані даним методом мають на два порядки більший об'єм пор та загальну площу пор у порівняні з класичними матеріалами для матриць такими як желатина та полівініловий спирт.

Суттєво збільшена сумарна площа поверхні плівки та їх водонерозчинність дозволять ефективно використовувати дані плівки в якості датчиків як у паро-газових сумішах так і у водних розчинах.

[1] H. Weetall. Retention of bacteriorhodopsin activity in dried sol-gel glass // *Biosensors & Bioelectronics,* **11**, pp. 325-333 (1996).

[2] W.U. Shuguang, L.M. Ellerby, J.S. Cohan, B. Dunn, M.A. El-Sayed, J. Selverstone, J.I. Zink. Bacteriorhodopsin encapsulated in transparent sol-gel glass: A new biomaterial. // *Chemistry of Materials,* 5, pp. 115-120 (1993).

[3] T. Nakagawa, T. Hamanaka, S. Nishimura, I. Uchida, T. Mashimo, Y. Kito. The quantitative analysis of three action modes of volatile anesthetics on purple membrane // *Biochimica et Biophysica Acta,* 1467, pp. 1390-149, (2000).

[4] *Munich Innovative Biomaterials GmbH (WWW document).* http://www.mib-biotech.de/ (accessed 2nd November 2006).

[5] C.L. Dorothy, D. Bruce, I.Z. Jeffrey. Room temperature luminescence of silicate sol-gel materials containing trisodium Tris(dipicolinato) neodymate (III) // *Inorganic Chemistry,* 35, pp. 2152-2154 (1996).

[6] A. Ponton, P. Griesmar, S. Barboux-Doeuff, C. Sanchez. Rheological investigation of the sol-gel transition: effect of hydrolysis variation in silicon oxide and titanium oxide based matrices // *Journal of Materials Chemistry*, 11, pp. 3125-3129 (2001).
[7] O. Lev, M. Tsionsky, L. Rabinovich, V. Glezer, S. Sampath, I. Pankratov, J. Gun. Organically modified sol-gel sensors // *Analytical Chemistry,* 67, pp. 22A-30A, (1995).
[8] Z. Batori-Tartsi, K. Ludmann. Chemically modified bacteriorhodopsin based photosensitive material for optoelectronic application. In: Bioelectronic applications of photochromic pigments,edited by A. Dér and L. *Keszthelyi. Amsterdam: IOS Press*, pp. 137-148 (2001).
[9] S. Brunauer, P. H. Emmet, E. Teller. Adsorption of gases in multimolecular layers // *Journal of the American Chemical Society*, 60, pp. 309-319 (1938).
[10] E.P. Barrett, L.G. Joyner, P.P. Halenda. The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. // *Computations from Nitrogen Isotherms. Journal of the American Chemical Society*, 73, pp. 373-380 (1951).

Y.P. Sharkan[1], J.J. Ramsden[2], I.I. Sakalosh[1], M.Y. Sichka[1], S.O. Korposh[3], I.I. Trikur[1]

Obtaining and Structural Features of Nano-Composite Film Bacteriorhodopsin – Quantum Dots CdSe/ZnS – Microporous Sol-Gel Matrix

[1]*Uzhgorod National University, Ukraine,*
[2]*Cranfield University, Great Britaine,*
[3]*University of Kitakyushu, Japan*

Methodology for obtaining of nano-composite film structure on the base of bacteriorhodopsin and results of its study are presented. Water-stable porous sol-gel glass on the base of tetraethyl orthosilicate was used as a matrix in which fragments of purple membranes and photosensitive admixtures were introduced. It was established that emission and registering elements can be obtained in the same structure by introducing quantum dots of CdSe/ZnS type that have a luminescence maxima that coincides with absorption maxima of the fundamental state of bacteriorhodopsin. This considerably increases sensitivity of chemical sensor and simplify its construction. BR fully preserves its functionality in such matrix and obtained films have good optical quality. Investigation of surface morphology and section of obtained films was performed. Influence of introducing of chemical admixtures and semiconductor quantum dots on the structure of film was carried out. Comparative study of films porosity, obtained by proposed method and classic materials for matrixes such as gelatin and polyvinyl alcohol, was performed as well.

Key words: Bacteriorhodopsin; Qantum dots; Chemical sensor; Sol–gel glass; Surface and section morphology; Porosity.