

05;06;11;12

## Исследование адсорбции гемоглобина в пористом кремнии методом эллипсометрии

© В.В. Болотов, Н.А. Давлеткильдеев, А.А. Коротенко, Е.Ю. Мосур, О.Ю. Проскурина, Ю.А. Стенькин

Омский филиал Института физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН

644018 Омск, Россия

e-mail: mosur@obisp.oscsbras.ru

(Поступило в Редакцию 10 августа 2010 г.)

Исследована адсорбция гемоглобина в пористом кремнии методом спектральной эллипсометрии. Получено послойное распределение компонентов системы „пористый кремний–гемоглобин“, которое свидетельствует о проникновении молекул гемоглобина на всю глубину пористого слоя с незначительным градиентом объемной доли белка.

### Введение

Чувствительность гемоглобина (Hb) к некоторым газам ( $O_2$ , CO, NO) обуславливает возможность разработки на его основе биологического сенсора. Ранее было показано, что гемоглобин способен иммобилизоваться на поверхности пористого кремния (por-Si), что подтверждается методами атомно-силовой микроскопии (АСМ) и ИК спектроскопии [1]. Было предположено, что наряду с закреплением гемоглобина на поверхности por-Si происходит его проникновение в поры. Для подтверждения этой гипотезы оптимальным представляется использование метода спектральной эллипсометрии. Спектральная эллипсометрия — эффективный неразрушающий метод, позволяющий исследовать послойное распределение компонентов в неоднородных многослойных структурах. В работах [2,3] показана применимость данного метода для исследования адсорбции различных белков в пористом кремнии. Целью настоящей работы является исследование адсорбции гемоглобина в пористом кремнии с помощью метода спектральной эллипсометрии.

### Методика эксперимента

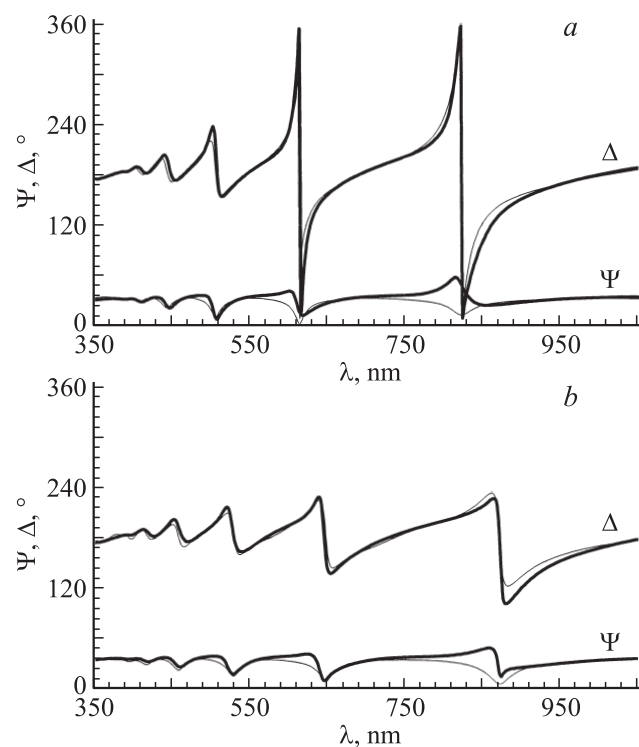
Водные растворы гемоглобина были получены из цельной гепаринизированной крови по известной методике [1]. Изменение концентрации гемоглобина в растворе достигалось разбавлением исходного раствора дистиллированной водой.

Пленки пористого кремния были получены методом анодного травления пластины монокристаллического кремния (КДБ-0.005) *p*-типа ориентации (111) в растворе  $HF(42\%):C_3H_7OH$  при плотности тока  $75 \text{ mA/cm}^2$ .

Образцы por-Si выдерживались в водных растворах гемоглобина в течение двух часов, затем тщательно промывались в дистиллированной воде и высушивались. В работе использовались 2 вида образцов: пористый кремний, экспонированный в растворе гемоглобина с меньшей концентрацией (далее — образец № 1), пористый кремний, экспонированный в растворе гемоглобина

с большей концентрацией (далее — образец № 2), при этом концентрация Hb в этих растворах различалась в 2 раза.

Спектры эллипсометрических параметров образцов измерялись с помощью спектрального эллипсометра „АСЭБ-10М“ (ИФП СО РАН, Россия) в диапазоне длин волн 350–1050 nm. Анализ спектров проводился на основе шестислойной оптической модели „среда–четырёхслойная пленка–подложка“, каждый слой пленки моделировался физической смесью компонентов (кремний, пустоты, белок) с использованием аппроксимации эффективной среды Бругемана [4].



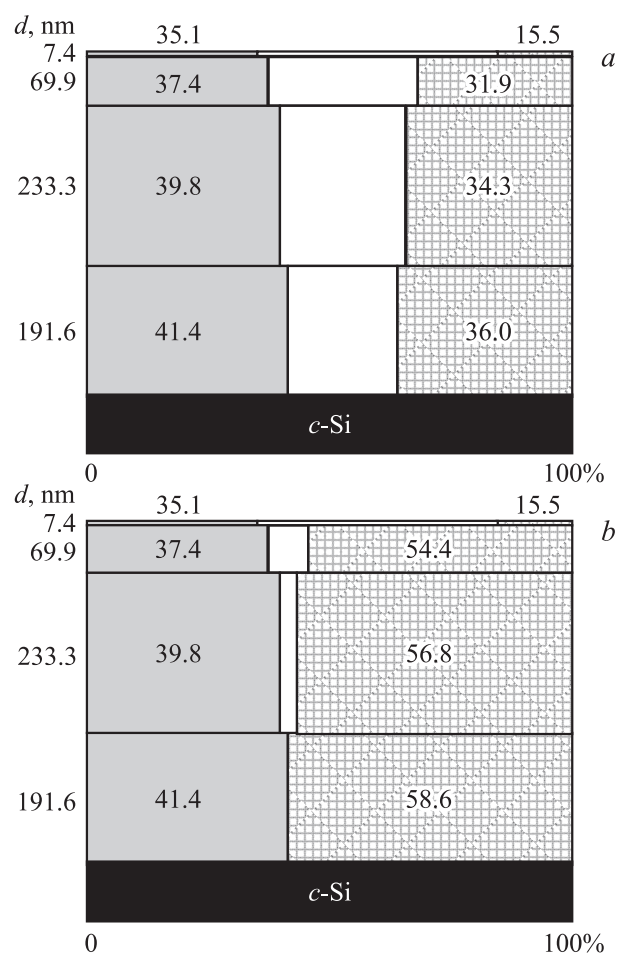
**Рис. 1.** Спектры эллипсометрических параметров  $\Psi$  и  $\Delta$  (*a* — образец № 1, *b* — № 2; экспериментальные спектры изображены жирными линиями, соответствующие расчетные спектры — тонкими).

Определение параметров слоев (толщины, объемной доли компонентов) проводилось подгонкой параметров оптической модели к экспериментальным эллипсометрическим спектрам методом Левенберга–Маркуардта. При подгонке использовались спектры оптических параметров белка, приведенные в работе [5].

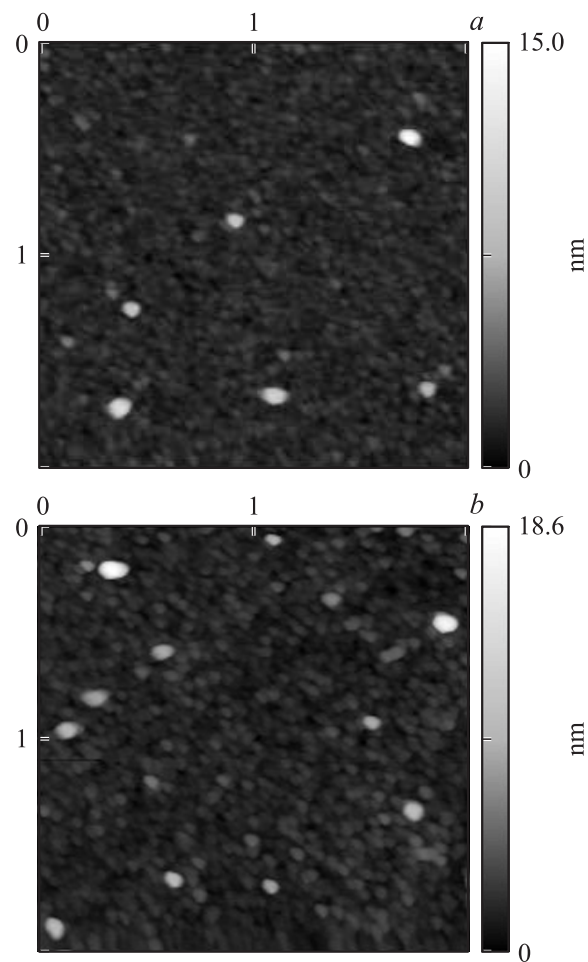
Поверхность образцов исследовалась с помощью атомно-силового микроскопа „Solver Pro“ (NT-MDT, Россия) в полуконтактном режиме сканирования на воздухе с использованием зондового датчика NSG01 (NT-MDT).

## Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены экспериментальные и расчетные спектры эллипсометрических параметров слоев пор-Si при угле падения  $45^\circ$ , выдержанных в растворах с различной концентрацией гемоглобина. Сравнение



**Рис. 2.** Послойное распределение компонентов системы „пористый кремний–гемоглобин“ ( $a$  — образец № 1,  $b$  — № 2; серая область соответствует кремнию, область с узором — гемоглобину, белая — пустотам,  $c$ -Si — подложка из кристаллического кремния; слева указана толщина слоев, числа в областях соответствуют объемной доли компонента в процентах).



**Рис. 3.** АСМ-изображения поверхности пленок пористого кремния, экспонированного в растворах с различной концентрацией гемоглобина ( $a$  — образец № 1,  $b$  — № 2).

экспериментальных и расчетных спектров показывает достаточно хорошее соответствие, что свидетельствует о корректности применения вышеуказанной оптической модели. Некоторое различие экспериментальных и модельных спектров параметра  $\Psi$  в диапазоне 770–870 нм связано, скорее всего, с наличием компонентов многофазной структуры, в частности  $\text{SiO}_x$ , не учтенных в рамках данной модели.

На рис. 2 показаны структурные модели и параметры слоев пористого кремния образцов № 1 и 2, которые соответствуют спектрам, представленным на рис. 1. Видно, что гемоглобин проникает на всю глубину пористого слоя, при этом наблюдается почти равномерное послойное распределение Нб для обоих образцов с незначительным градиентом по толщине. Следует отметить, что содержание гемоглобина в пористом кремнии увеличивается с ростом концентрации Нб в растворе.

Проникновение гемоглобина в пористый кремний определяется поверхностной диффузией — переносом адсорбтива в порах адсорбента при наличии в них градиента концентрации [6]. Одним из важнейших факторов,

влияющих на сорбцию Hb в пористой матрице, является соотношение между диаметром пор и размером молекул белка. В данной работе использовался пор-Si с диаметром пор (20–30 nm), превосходящим размеры молекул гемоглобина. Для мезопористого кремния характерно послойное заполнение поверхности пор адсорбируемыми молекулами. Последующее объемное заполнение пор объясняется кооперативным эффектом [7]. Сорбции Hb способствует и его значительная молекулярная масса.

В дополнение для оценки количества молекул гемоглобина, закрепляющихся на поверхности пор-Si, был применен метод АСМ. На рис. 3 приведены АСМ-изображения поверхности образцов № 1 и 2. На основе анализа АСМ-изображений была определена средняя поверхностная плотность молекул Hb, которая составила для образца пористого кремния, экспонированного в растворе гемоглобина с меньшей концентрацией —  $2.01 \cdot 10^8 \text{ cm}^{-2}$ ; с большей концентрацией —  $4.12 \cdot 10^8 \text{ cm}^{-2}$ . Данные значения коррелируют с концентрацией гемоглобина в экспозиционных растворах, которая отличалась в 2 раза.

## Заключение

Таким образом, исследованы адсорбция и распределение гемоглобина по глубине в пористом кремнии методами спектральной эллипсометрии и атомно-силовой микроскопии. Обнаружено проникновение молекул гемоглобина на всю глубину пористого слоя. Выявлена корреляция между количеством гемоглобина, адсорбированного на поверхности и в объеме пористого кремния, и концентрацией гемоглобина в экспозиционных растворах.

## Список литературы

- [1] Бескровная Е.В., Болотов В.В., Давлеткильдеев Н.А., Кан В.Е., Мосур Е.Ю., Стенькин Ю.А. // Письма в ЖТФ. 2010. Т. 36. Вып. 1. С. 17–21.
- [2] Arwin H., Gavutis M., Gustafsson J., Schltzberg M., Zangoie S., Tengvall P. // Phys. Stat. Sol. (a). 2000. Vol. 182. N 1. P. 515–520.
- [3] Tsargorodskaya A., Nabok A.V., Ray A.K. // Nanotechnology. 2004. Vol. 15. P. 703–709.
- [4] Tompkins H.G., Irene E.A. Handbook of Ellipsometry. William Andrew Publishing & Springer, 2005. 870 p.
- [5] Fujiwara H. Spectroscopic Ellipsometry: Principles and Applications. Wiley, 2007. 388 p.
- [6] Дерягин Б.В., Чураев Н.В., Муллер В.М. Поверхностные силы. М.: Наука, 1985. 398 с.
- [7] Карнаухов А.П. Адсорбция. Текстура дисперсных и пористых материалов. Новосибирск: Наука, 1999. 470 с.