

03;13;14

Управляемая электрическим полем адсорбция микрокапсул при создании планарных структур

© И.В. Маляр, О.И. Гуслякова, Д.М. Митин, С.В. Стецюра

Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия
E-mail: imalyar@yandex.ru

Поступило в Редакцию 13 сентября 2017 г.

Показано влияние электрического поля, приложенного вдоль поверхности, на адсорбцию положительно заряженных микрокапсул с ядром на стеклянные подложки, приводящее к росту адсорбции микрокапсул вблизи отрицательного контакта до 2 раз по сравнению с адсорбцией вблизи положительного при напряженности поля 1.3 kV/m. Также продемонстрировано, что добавление соли в суспензию при малых концентрациях (до 0.2 М) снижает этот эффект, однако с ростом концентрации до 0.45 М происходит его усиление до 8 раз.

DOI: 10.21883/PJTF.2018.04.45633.17039

Основными требованиями к сенсорным структурам, использующим в качестве чувствительного слоя молекулы фермента на поверхности электрохимического преобразователя, являются сохранение биокаталитической активности закрепленных молекул фермента и высокая плотность осаждения молекул фермента на поверхности электрохимического преобразователя, что обеспечивает рост чувствительности к аналиту. В работе [1] было показано, что упаковка фермента в полиэлектролитные контейнеры (капсулы) позволяет максимально сохранить нативное состояние молекул фермента. Полиэлектролитные микрокапсулы — это новый тип объектов, которые могут найти применение во многих областях, в частности в биосенсорике и тераностике [2]. Метод послойной адсорбции позволяет встраивать в их оболочку наночастицы, молекулы-маркеры и другие нанообъекты, что позволяет управлять чувствительностью микрокапсул к среде, их проницаемостью и адсорбционными свойствами. Несмотря на очевидные достоинства полиэлектролитных капсул в качестве контейнеров,

предохраняющих содержащиеся в них ферменты от неблагоприятных внешних воздействий и в то же время обеспечивающих сохранение их функциональной активности, они имеют и недостатки, такие как трудности манипулирования этими объектами и формирования из них упорядоченных планарных структур [3].

Поскольку микрокапсулы обладают эффективным зарядом в водном растворе и закрепляются на подложке главным образом посредством электростатического взаимодействия, увеличение электрического потенциала поверхности как адсорбента, так и адсорбата должно способствовать иммобилизации микрокапсул [4,5]. Отличительной особенностью микрокапсул, заполненных ферментом, от нанообъектов, описанных в [4,5], является их высокая инерционность, что мешает манипулированию этими объектами и, следовательно, требует создания для этого достаточно высоких напряженностей электрических полей. Часто используемое приложение электрического поля перпендикулярно поверхности подложки [6] может привести к деформации микрокапсулы и частичной потере каталитической активности находящегося в ней фермента. Приложение продольного относительно поверхности подложки электрического поля исключает механическое повреждение капсулы при ее иммобилизации на твердой поверхности, но при этом может увеличить силы взаимодействия между адсорбируемыми объектами и подложкой. Кроме того, создание „тянущего“ поля вдоль границы раздела твердая подложка–полиэлектролит может способствовать созданию градиентного распределения нанообъектов вдоль поверхности подложки [7].

В соответствии с изложенным выше целью настоящей работы было изучение влияния продольного относительно поверхности подложки электрического поля на адсорбцию полиэлектролитных микрокапсул с неудаленным ядром (структура типа ядро–оболочка). Наличие ядра приближало объект по электромеханическим параметрам к капсуле с полезным грузом.

Для экспериментов были синтезированы полиэлектролитные микрокапсулы с ядром CaCO_3 аналогично технологии, описанной в [8]. На микронное ядро попеременно проводилась адсорбция полиэлектролитных слоев катионного полиаллиламина гидрохлорида (ПАН) и анионного полистиролсульфоната натрия (PSS). Таким образом, на ядре формировались бислои, состоящие из монослоев ПАН и PSS. В работе были использованы микрокапсулы, содержащие по три бислоя

и дополнительно слой РАН на поверхности, что приводило к наличию эффективного положительного поверхностного заряда. Средний диаметр микрокапсул составлял около $1.4 \pm 0.1 \mu\text{m}$. Для экспериментов были подготовлены водные суспензии микрокапсул с концентрацией $2 \cdot 10^8 \text{ ml}^{-1}$ без добавления и с добавлением NaCl до концентраций 0.15, 0.30 и 0.45 М. Наличие соли в растворе не только может повлиять на результаты адсорбции, но и оказывает значимое влияние на свойства микрокапсул. Например, повышение ионной силы дисперсной среды увеличивает проницаемость полиэлектролитных капсул и может изменить эффективный поверхностный заряд микрокапсулы.

Для экспериментов были использованы подложки, представляющие собой предметное стекло размером $26 \times 15 \text{ mm}$ для оптической микроскопии, которые имеют гладкую поверхность и обеспечивают механическую прочность и изоляционные свойства. На одну из сторон подложек на расстоянии 15 mm друг от друга через маску напылялись контактные площадки из нержавеющей стали методом магнетронного распыления. Далее подложки кипятились в растворе $\text{NH}_4\text{OH} : \text{H}_2\text{O}_2 : \text{H}_2\text{O} = 1 : 1 : 4$ (по объему) при температуре 70°C в течение 10 min для удаления органических загрязнений и активизации отрицательно заряженных ОН-групп на поверхности стекла, что необходимо для успешной адсорбции положительно заряженных микрокапсул со слоем РАН на поверхности. После этого подложки промывали в деионизированной воде, сушили и припаивали провода, снова промывали и сушили. Адсорбция микрокапсул проводилась из капли раствора, помещенной в межконтактную область подложки, при приложении постоянного напряжения в диапазоне от 1 до 20 V. После адсорбции образцы промывались и сушились.

Для характеристики полученных образцов был использован сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) Mira II LMU (Tescan, Чехия). Перед измерением детектором вторичных электронов на образцы наносился нанометровый полупрозрачный слой золота методом ионно-плазменного распыления мишени.

На рис. 1 показаны результаты иммобилизации микрокапсул из бессолевого суспензии в зависимости от знака потенциала, подаваемого на электрод. Из рисунка видно, что больше всего микрокапсул адсорбировалось на подложке вблизи отрицательного контакта, а меньше всего — в области положительного. Поскольку визуальный анализ

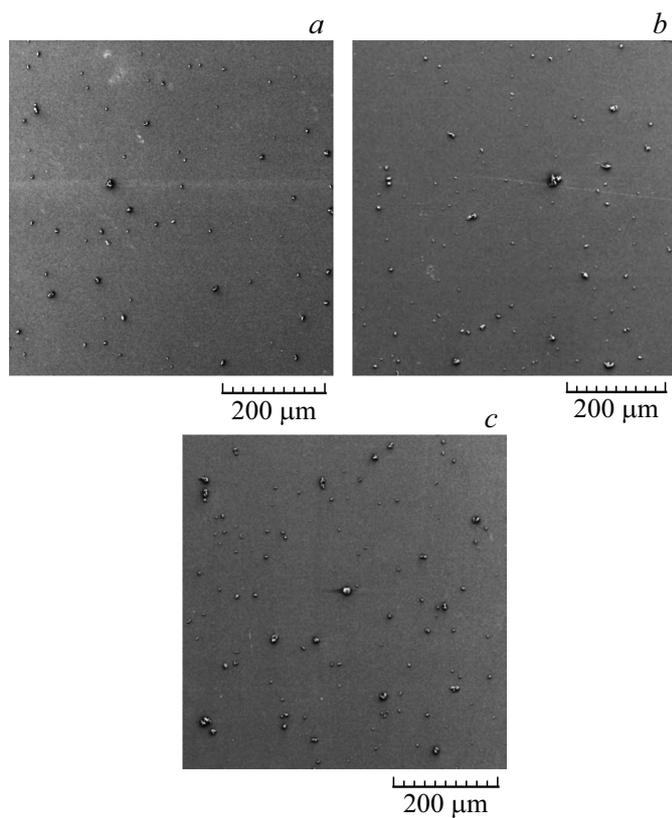


Рис. 1. СЭМ-изображения поверхности подложки с микрокапсулами, адсорбированными без приложения поля (*a*) и с приложением поля 1.3 kV/m вблизи положительного (*b*) и отрицательного (*c*) контакта.

изображений не дает количественной информации, для оценки степени покрытия поверхности *S* адсорбированными микрокапсулами и их агрегатами (т.е. процента поверхности, занятой иммобилизованными частицами) полученные СЭМ-изображения были проанализированы в программе Gwyddion. Рассчитанный средний линейный размер иммобилизованных частиц в бессолевым растворе не зависел от напряженности

приложенного поля и составил $1.9 \pm 0.1 \mu\text{m}$, что незначительно превышает средний размер микрокапсул и свидетельствует о малой степени агрегации микрокапсул в комплексы. Значения C варьировались от 0.10 до 0.42% в зависимости от величины и знака потенциала на электроде. Без приложения поля значение C колебалось в пределах $0.20 \pm 0.01\%$. По полученным значениям были рассчитаны относительное изменение степени покрытия Δ_C при приложении поля, а также коэффициент „селективности“ покрытия Δ_C^\pm как относительное изменение поверхностной плотности микрокапсул на поверхности вблизи анода по сравнению с таковой вблизи катода по следующим формулам:

$$\Delta_C = \frac{C(V) - C_0}{C_0} \cdot 100\%,$$

$$\Delta_C^\pm = \frac{C(V^-) - C(V^+)}{C(V^+)} \cdot 100\%,$$

где $C(V)$ — степень покрытия поверхности частицами, адсорбированными при приложении электрического поля: вблизи отрицательного ($C(V^-)$) или положительного ($C(V^+)$) контактов, C_0 — степень покрытия поверхности без приложения электрического поля.

На рис. 2 приведены зависимости Δ_C и Δ_C^\pm от напряженности поля. Из представленных на рис. 2, а данных видно, что приложение вдоль поверхности подложки „тянущего“ электрического поля с малой напряженностью снижает адсорбцию микрокапсул как вблизи анода, так и вблизи катода. Однако увеличение напряженности поля приводит к росту числа адсорбированных микрокапсул. Так, при используемых в эксперименте полях число микрокапсул вблизи катода возрастало более чем в 2 раза (по сравнению с адсорбцией без приложения поля). Снижение адсорбции при малых напряженностях можно объяснить явлением электрофореза, т.е. перемещением частиц в электрическом поле, что затрудняет их адсорбцию. Поскольку микрокапсулы заряжены положительно, они движутся в направлении отрицательного контакта, увеличивая там свою концентрацию. Это должно приводить к росту количества адсорбированных микрокапсул вблизи отрицательного контакта за время адсорбции, что и наблюдается для Δ_C^\pm на рис. 2, б. Разница достигает более 100% для бессолевого суспензии, т.е. абсолютная разница в количестве адсорбированных микрокапсул

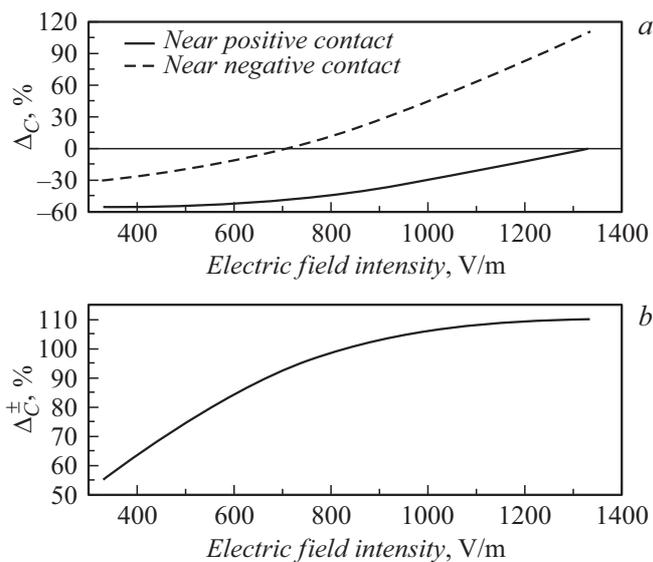


Рис. 2. Зависимости относительного изменения степени покрытия поверхности микрокапсулами ΔC при приложении продольного электрического поля (a) и относительное изменение степени покрытия вблизи отрицательного и положительного контактов ΔC^\pm (b) от напряженности электрического поля.

у положительного и отрицательного электродов различается более чем в 2 раза.

На рис. 3 представлена зависимость ΔC^\pm от концентрации соли при напряженности поля 1.3 kV/m. Добавление соли в раствор приводит к частичному экранированию заряда микрокапсул и как следствие к снижению числа адсорбированных частиц до 90% от значения в бессолевом растворе при малых концентрациях NaCl (до 0.2 M). При этом микрокапсулы адсорбируются преимущественно поштучно, не образуя скоплений, о чем свидетельствует снижение среднего размера адсорбированных частиц на 30% (до $1.4 \pm 0.1 \mu\text{m}$). Значение ΔC^\pm при этом снижается до 25%. Дальнейшее увеличение концентрации NaCl (более 0.2 M) приводит к резкому росту ΔC^\pm (до 8 раз от минимального значения). Такое поведение объясняется возникновением при больших напряженностях существенной разницы ионной силы раствора вблизи

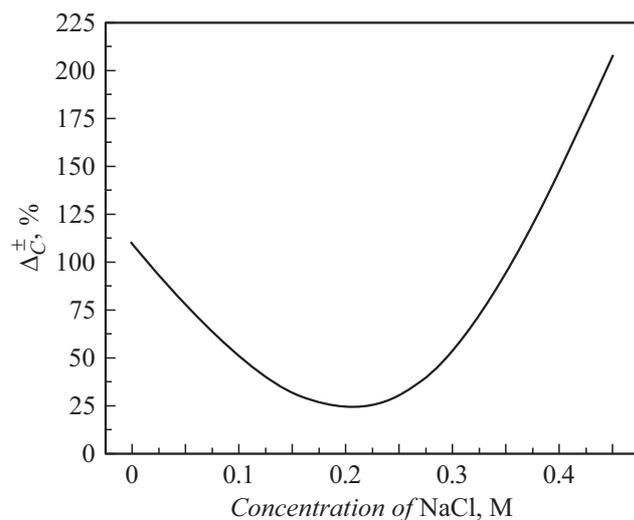


Рис. 3. Зависимость относительного изменения степени покрытия микрокапсулами ΔC_{\pm} поверхности вблизи положительного и отрицательного контактов от концентрации NaCl в суспензии микрокапсул.

анода и катода, влияющей на заряд микрокапсул в растворе, а также может быть связано с ростом нанокристаллов соли вблизи катода при значительных степенях солености, которые могут служить центрами адсорбции.

Таким образом, можно заключить, что электрическое поле может быть использовано для управления адсорбцией микрокапсул: оно увеличивает количество адсорбированных микрокапсул с полезным грузом, например ферментами, и обеспечивает „селективность“ иммобилизации микрокапсул между положительными и отрицательными контактами. В перспективе возможно путем смены полярности напряжения при переносе подложки из одной суспензии в другую создавать монослойные мультиферментные покрытия из микрокапсул с одинаковой оболочкой и поверхностным зарядом, но с разной ферментной „начинкой“.

Исследования выполнены при поддержке РФФИ (проект № 16-08-00524_a).

Список литературы

- [1] Монтель М.М., Терновский В.И., Фомкина М.Г., Петров А.И. Патент РФ на изобретение № 2333231. Бюл. № 25. 2008.
- [2] Zhang M.J., Wang W., Xie R., Ju X.J., Lui L., Gu Y.Y., Chu L.Y. // *Soft Matter*. 2013. V. 9. P. 4150–4159.
- [3] Sergeeva A.S., Gorin D.A., Volodkin D.V. // *BioNanoScience*. 2014. V. 4. P. 1–14.
- [4] Маляр И.В., Santer S., Стецюра С.В. // *Письма в ЖТФ*. 2013. Т. 39. В. 14. С. 69–76.
- [5] Malyar I.V., Gorin D.A., Santer S., Stetsyura S.V. // *Appl. Phys. Lett.* 2017. V. 110. P. 133104.
- [6] Ko Y.H., Kim Y.H., Park J., Nam K.T., Park J.H., Yoo P.J. // *Macromolecules*. 2011. V. 44. P. 2866–2872.
- [7] Стецюра С.В., Буланов М.С., Козловский А.В., Маляр И.В. // *Нано- и микросистемная техника*. 2017. № 2. С. 85–92.
- [8] Sukhorukov G.B., Volodkin D.V., Günther A.M., Petrov A.I., Shenoy D.B., Möhwald H. // *J. Mater. Chem.* 2004. V. 14. P. 2073–2081.