

Биосегнетоэлектричество и биопьезоэлектричество

© А.В. Кудрявцев¹, К.В. Швырков¹, Е.Д. Мишина¹, А.С. Сигов¹, А. Handelman²,
N. Amdursky², G. Rosenman²

¹ Московский государственный технический университет радиотехники, электроники и автоматики (МИРЭА), Москва, Россия

² Department of Electrical Engineering-Physical Electronics, School of Engineering, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel

E-mail: oldousavk@yandex.ru

(Поступила в Редакцию 10 октября 2011 г.)

Исследованы пьезоэлектрические и нелинейно-оптические свойства пептидных трубок дифенилаланина. Изучена структура пептидных трубок, а также проведен анализ анизотропии пьезоэлектрического и нелинейно-оптических откликов при термоиндуцированном фазовом переходе ($T = 150^\circ\text{C}$). Показано, что как при однородном, так и при локальном нагреве в лазерном луче наблюдаемый фазовый переход является реконструктивным.

Работа поддержана РФФИ и Министерством науки и технологии Израиля (грант № 11-02-92485-МНТИ), а также Министерством образования и науки РФ (программа „Научные и научно-педагогические кадры инновационной России“). Эксперименты выполнены с использованием оборудования ЦКП „УНО Электроника“.

1. Введение

Биологический мир — это мир органических материалов. Подавляющее большинство биомолекул и биомолекулярных кристаллов не содержит ни инверсии, ни зеркальной симметрии [1]. Асимметрия биомолекул и биоматериалов была обнаружена Пастером 150 лет назад и является их универсальной внутренней функцией. Структурное упорядочение биологических систем (в любом масштабе) является результатом низкой симметрии элементарных ячеек, обладающих винтовой или хиральной асимметрией.

В живой природе огромное количество материалов обладает пьезоэлектрическими свойствами. Первые исследования биопьезоэлектричества были проведены в 1963 г.: Шамо и Лавин обнаружили пьезоэлектрический эффект в костях [2]. Позднее они постулировали пьезоэлектричество как фундаментальное свойство биологических материалов [3]. Пьезоэффект был обнаружен на макроскопическом уровне как в твердых тканях (зубы, рога, хрящи), так и в мягких (шишковидная железа [4]), а также на микро- и наноскопическом (кости [5], коллагеновые фибриллы [6], амилоидные фибриллы [7]) и молекулярном (аминокислоты) уровнях. На микроскопическом уровне наиболее информативным в настоящее время является метод атомно-силовой микроскопии в пьезомоде (ПАСМ).

Сегнетоэлектрики представляют собой более узкий класс материалов (все сегнетоэлектрики являются пьезоэлектриками, но обратное неверно), поэтому обнаруженные при помощи ПАСМ пьезоэлектрические свойства биологических тканей не позволяют сделать вывод о наличии в них сегнетоэлектричества. Вопросы о том, каковы методики распознавания сегнетоэлектричества, какие из них применимы к биологическим объектам и существует ли биологическое сегнетоэлектричество,

являются весьма актуальными, несмотря на то что некоторые биоматериалы отдельные авторы относят к сегнетоэлектрикам.

Казалось бы, измерение спонтанной поляризации и петли гистерезиса является наиболее прямым методом определения наличия сегнетоэлектричества. Именно этот метод используют в случае органических материалов: для большого числа органических сегнетоэлектриков измерена абсолютная величина спонтанной поляризации и коэрцитивного поля (см. обзор [8]). В этой же работе проведена классификация органических сегнетоэлектриков по типам, аналогичным основным типам неорганических сегнетоэлектриков: смещения (органический аналог — комплексы с переносом заряда) и порядок-беспорядок (органический аналог — протонные донорно-акцепторные комплексы с водородными связями). Вместе с тем необходимо иметь в виду, что приложение поля к органическим и тем более биологическим материалам является сложной экспериментальной задачей, так как роль электрода становится еще более критической, чем в случае неорганических материалов. Именно поэтому, скорее всего, напрямую — путем измерения абсолютного значения поляризации или петли гистерезиса поляризации — сегнетоэлектрические свойства не подтверждены практически ни для каких биоматериалов, хотя заявлений об этом можно встретить достаточно много.

В работе [9] проведен подробный анализ экспериментальных данных (литературных и собственных) по исследованию диэлектрических характеристик ДНК. Показано, что полученные для образцов ДНК в работах [10,11] аномально высокие значения диэлектрической проницаемости, равно как и наличие петель диэлектрического гистерезиса, обусловлены не сегнетоэлектрическими свойствами, а перераспределением измерительного напряжения по толщине образцов.

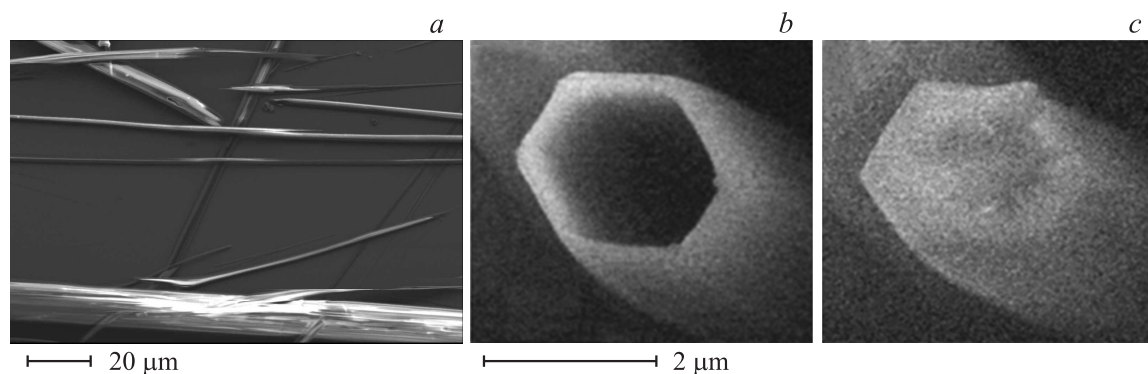


Рис. 1. Электронно-микроскопические изображения пептидных трубок при обычном (*a*) и высоком (*b*) разрешении; *c* — изображение высокого разрешения трубки после термической обработки.

Леманов и др. [12] рассмотрели гипотетический фазовый переход D_2-C_2 в белковых аминокислотах с использованием понятия о ферроиках (Aizu, Newnham и Cross, см. ссылки в работе [12]).

При переходе возникают спонтанные поляризация и деформация, а также морфические коэффициенты пьезоэффекта, гиротропии и упругости (ферроики высшего порядка). Каждому набору ферроидных доменов можно сопоставить „силу“ (комбинацию различных воздействий), которая может переключать домены. Такой комбинации нет для энантиоморфных доменов (т.е. для *L*- и *D*-доменов). Высказано предположение, что вследствие взаимодействия различных ферроидных структур переключение одних доменов может вызывать переключение других (т.е. возможно взаимное переключение *L*- и *D*-доменов).

Нами исследовались пьезоэлектрические и нелинейно-оптические свойства, а также фазовый переход в пептидных наноструктурах дифенилаланина (*FF*-пептида), представляющих собой пептидные трубки (ПТ) с диапазоном диаметров от 500 nm до 10 μm и длиной до нескольких сотен микрометров. Такие структуры представляют огромный интерес для различных областей науки и технологии, поскольку они формируются в живом организме при амилоидных болезнях (Паркинсона, Альцгеймера), а в случае искусственного изготовления из мономеров самособираются и обладают, как показано в том числе в наших работах, мультифункциональностью: высокими значениями пьезокоэффициента [13], нелинейно-оптической восприимчивости [14], высоким квантовым выходом люминесценции [15].

Впервые анализ супермолекулярной структуры ПТ, формирующихся из различных дипептидов (всего проанализировано 160 различных дипептидов), был проведен в работах [16–18]. Показано, что подавляющее большинство рассмотренных структур состоит из отдельных кристаллических субструктур без центра инверсии. Это означает, что в них должны существовать пьезоэффект, линейно-оптический эффект Поккельса, генерация второй оптической гармоники. Симметрия некоторых структур, в том числе *FF*-ПТ, была отнесена к пирозлектриче-

ским классам, что означает возможность существования сегнетоэлектричества.

2. Изготовление и структура образцов

Для наших экспериментов пептидные наноструктуры изготавливались из *FF*-дипептида $\text{NH}_2\text{-Phe-Phe-COOH}$ производства компании Bachem (Bundendorf, Switzerland). На первом этапе лиофилизированная форма пептидов была растворена в 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-пропанол до концентрации 100 mg/ml. Затем раствор пептидов был разбавлен сверхчистой водой до концентрации 2 mg/ml, после чего немедленно разбавлен до концентрации 0.2 mg/ml и нанесен на подложку из кремния. Такие образцы далее называются исходными ПТ. Самоорганизация ПТ на подложках существенным образом зависит от концентрации исходного раствора. Приведенные концентрации обеспечивают формирование нанотрубок, ориентированных в плоскости подложки, с достаточно низкой концентрацией, позволяющей выделять для исследования единичные нанотрубки. На рис. 1 приведены электронно-микроскопические изображения исследуемых структур. Из рис. 1, *a* видно, что ПТ имеют самые разные диаметры, большое аспектное соотношение, а также могут образовывать пучки диаметром до нескольких десятков микрометров. Торцы трубок открыты (рис. 1, *b*), а сама трубка имеет четкую гексагональную форму с большим отверстием внутри. Как было показано в работах [17–20], ПТ обладают пространственной группой симметрии $P6_1$, точечной группой C_6 .

Фазовый переход и его влияние на свойства ПТ исследовались нами несколькими методами: были получены электронно-микроскопические изображения высокого разрешения единичных трубок, проведены рентгеноструктурные исследования, исследования пьезоэффекта и нелинейно-оптических свойств. Нагрев до 150°C в первых трех случаях осуществлялся в печи, в последнем случае — как в печи, так и лазерным лучом. При этом все перечисленные свойства изучались при комнатной температуре после термической обработки.

Из электронно-микроскопического изображения высокого разрешения ПТ после термической обработки (рис. 1, *c*) видно, что конец трубки оказывается закрытым, а гексагональная форма „расплывается“, в работе [21] показано, что вся трубка при фазовом переходе постепенно „схлопывается“ в стержень. С помощью рентгеноструктурных исследований установлено [20,21], что симметрия трубки после нагрева до 150°C необратимо изменяется и становится орторомбической (группа D_{2h}). Очевидно, что при этом не выполняется принцип Кюри (соотношение группа–полярная подгруппа), т.е. симметрия низкотемпературной фазы не относится к высшей полярной подгруппе симметрии парафазы. Два обнаруженных факта — необратимость и невыполнение принципа Кюри — свидетельствуют о том, что наблюдаемый фазовый переход не может быть деформационным (дисторсионным), а относится к другому типу фазовых переходов — реконструктивному [22]. Так же как и в нашем случае, реконструктивные переходы являются необратимыми, поскольку сопровождаются разрывом большого количества химических связей с последующим образованием новых связей. Симметрия и пространственные группы полиморфных модификаций, между которыми протекают реконструктивные переходы, могут существенно отличаться друг от друга. В случае ПТ это может быть превращение линейного пептида в циклический [23].

3. Пьезоэффект и нелинейно-оптические свойства

Новая орторомбическая фаза является центросимметричной. Это подтверждается исследованием пьезоэффекта и генерации второй оптической гармоники (условия экспериментов описаны в работе [24]) при возбуждении излучением фемтосекундного лазера на кристалле сапфира, легированного ионами титана, с длиной волны 800 nm. На рис. 2 представлены зависимости пьезокоэффициента от приложенного напряжения и спектр излучения при возбуждении на длине волны 800 nm для исходных ПТ и после термической обработки. И пьезокоэффициент, и интенсивность второй гармоники падают практически до нуля на ПТ, подвергшихся термообработке, как и следует для центросимметричной среды.

Следует отметить различие в условиях экспериментов, результаты которых приведены на рис. 2. Пьезокоэффициент измерялся локально (на единичной ПТ), причем измерения при различных ориентациях трубки позволили установить направление полярной оси, которое совпадает с осью трубки (осью шестого порядка). Интенсивность второй гармоники измерялась интегрально, сигнал собирался по площади порядка $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ (это соответствует примерно всей площади изображения на рис. 1, *a*) от нескольких ПТ различной ориентации.

Для того, чтобы исследовать локальный нелинейно-оптический отклик от единичной ПТ, который также позволяет определить направление полярной оси, а также изменение компонент тензора нелинейной восприимчивости при фазовом переходе, нами были проведены измерения параметров второй гармоники с использованием сканирующего нелинейно-оптического микроскопа (см. описание в работе [25]). Нелинейно-оптические изображения регистрировались в поляризационной комбинации *p*-in, *p*-out (векторы электрического поля волн накачки и второй гармоники лежат в плоскости падения). Одновременно фиксировались изображения того же участка в обычном микроскопе.

На рис. 3, *a, c* представлены нелинейно-оптическое изображение исходной единичной трубки и соответствующее ему обычное изображение. Наклонная трубка обычного изображения не проявляется в нелинейно-оптическом изображении в данной поляризационной конфигурации. Диаметр горизонтальной трубки составляет примерно $10 \mu\text{m}$, на обычном изображении видны

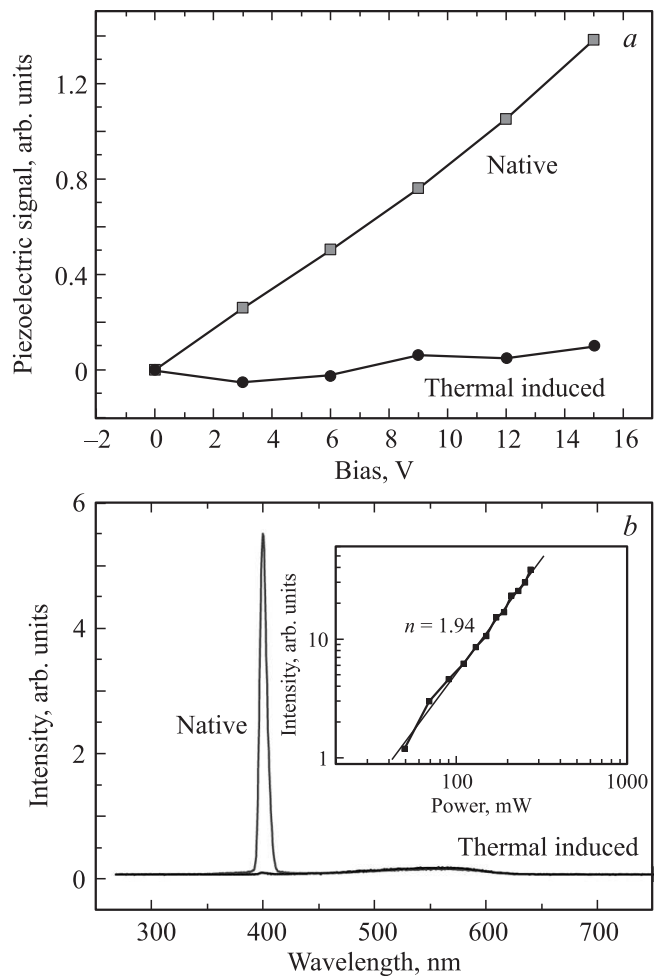


Рис. 2. Зависимость пьезокоэффициента от приложенного напряжения (измерения методом ПАСМ) (*a*) и спектр излучения при возбуждении на длине волны 800 nm (*b*) для исходных ПТ и после термической обработки. На вставке — зависимость интенсивности излучения от мощности накачки лазера.

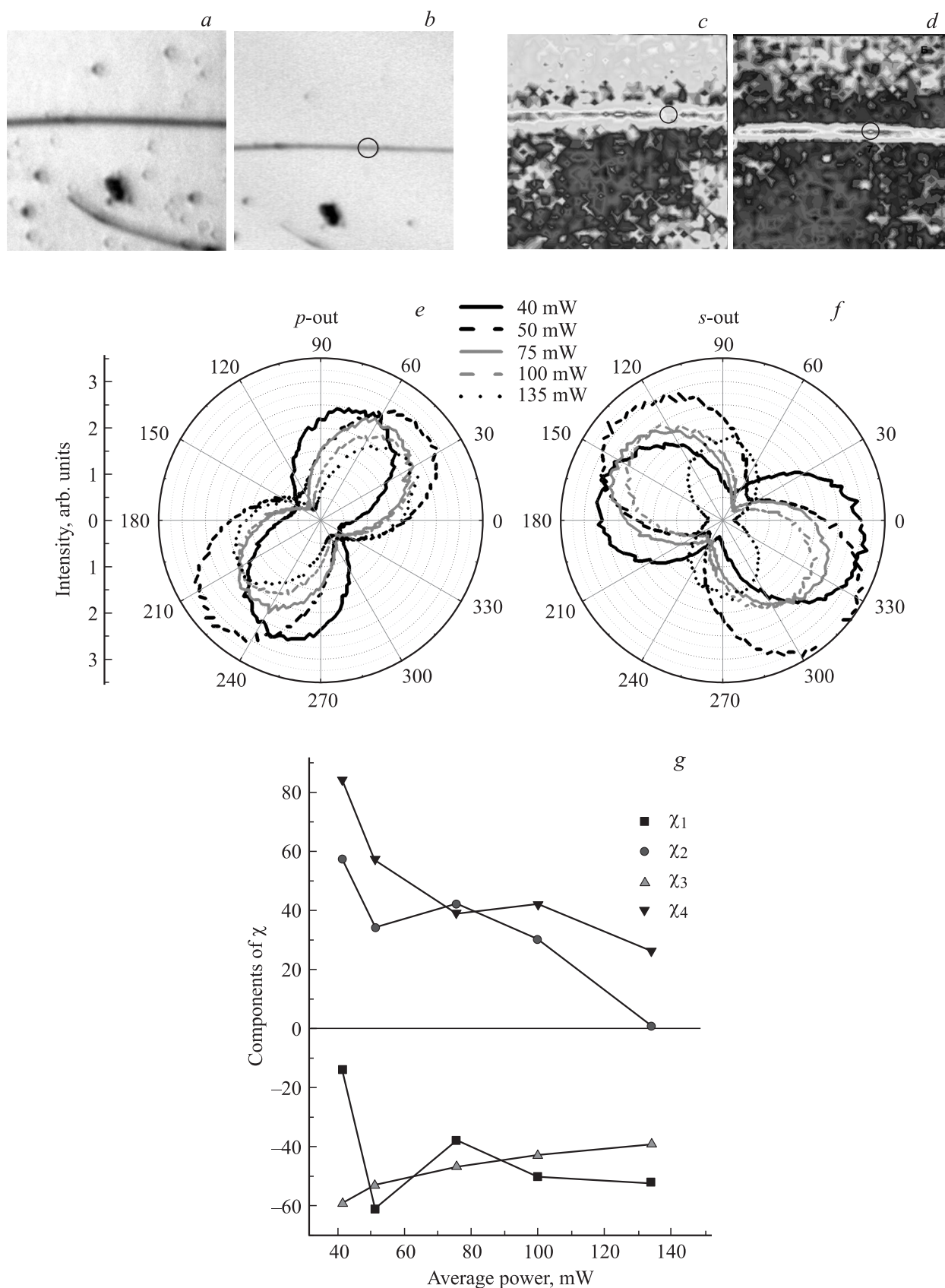


Рис. 3. Линейные (обычные) микроскопические (a, b) и нелинейно-оптические (c, d) изображения пептидной трубки до (a, c) и после (b, d) лазерного нагрева. Отжигаемая точка отмечена кружком. e, f — поляризационные зависимости для p-out и s-out соответственно при нагреве точки, отмеченной кружком, лазерным лучом различной средней мощности; g — зависимость от средней мощности значений компонент тензора нелинейной восприимчивости χ .

два утолщения/затемнения, в остальном трубка выглядит однородной. На нелинейно-оптическом изображении трубка выглядит более неоднородно.

Для более детального исследования структуры трубки были измерены поляризационные кривые. Эти зависимости измерялись для двух положений выходной поляризации второй гармоники (в плоскости падения, *p*-out, и перпендикулярно плоскости падения, *s*-out) при вращении плоскости поляризации входного излучения.

Для исследования локального фазового перехода нагрев проводился при помощи того же лазера, которым осуществлялось нелинейно-оптическое зондирование. Для нагрева мощность излучения повышалась (среднее значение от 40 до 135 mW) и облучение проводилось в течение 10 min, после чего выполнялись поляризационные измерения при средней мощности лазерного излучения 35 mW (рис. 3, *e* и *f*). Плотность энергии в импульсе при максимальной средней мощности составляла 0.3 mJ/cm². Таким образом нами могли исследоваться только процессы необратимого перехода трубки из одной фазы в другую. Из рис. 3, *e* и *f* видно, что лазерный нагрев приводит к изменению поляризационных зависимостей, имеющих форму „восьмерок“ с некоторым углом наклона к осям. Прежде всего изменяется угол наклона „восьмерок“, а начиная с мощности 75 mW происходит заметное уменьшение амплитуды „восьмерок“. При этом на обычном микроскопическом изображении в точке нагрева не наблюдается никаких изменений (рис. 3, *b*), а на нелинейно-оптическом изображении яркость точки уменьшается (рис. 3, *d*).

Поляризационные кривые могут быть проанализированы стандартным образом исходя из связи полей накачки, второй гармоники и тензоров нелинейной восприимчивости для заданной симметрии: $P_i(2\omega) = \chi_{ijk} E_j(\omega) E_k(\omega)$ [26].

Для гексагональной точечной группы 6, к которой принадлежат пептидные нанотрубки, ненулевыми являются следующие компоненты тензора нелинейной восприимчивости:

$$\chi_{xxz} = \chi_{xzx} = \chi_{yyz} = \chi_{yzy} = \chi_1,$$

$$\chi_{xyz} = \chi_{xzy} = \chi_{yxz} = \chi_{yzx} = \chi_2,$$

$$\chi_{zxx} = \chi_{zyy} = \chi_3, \quad \chi_{zzz} = \chi_4.$$

В общем виде поляризационную зависимость можно представить как

$$I_{2\omega}^{p,s}(\theta) = (C_0^{p,s} + C_1^{p,s} \cos \theta + S_1^{p,s} \sin \theta + C_2^{p,s} \cos(2\theta) + S_2^{p,s} \sin(2\theta)), \quad (1)$$

где C_i и S_i — линейные комбинации компонент тензора нелинейной восприимчивости χ_{ijk} , умноженных на Френелевские факторы.

В нашем эксперименте с учетом точечной группы симметрии трубок (C_6), их ориентации на плоскости (100), а также френелевских факторов (которые здесь

заданы численно) выражение (1) принимает вид для *p*- и *s*-выходных поляризаций соответственно

$$I_{2\omega}^p(\theta) = ((\chi_1 + 0.89\chi_3 + 0.11\chi_4) + (\chi_1 - 0.074\chi_3 + 0.118\chi_4) \cos 2\theta - 1.092 \sin 2\theta)^2, \quad (2)$$

$$I_{2\omega}^s(\theta) = (1.83\chi_2 \cos^2 \theta + \chi_1 \sin 2\theta)^2. \quad (3)$$

Совместная подгонка кривых мощности нагрева (рис. 3, *e, f*) дает численные значения компонент тензора нелинейной восприимчивости, представленные на рис. 3, *g*. Все компоненты тензора нелинейной восприимчивости уменьшаются при увеличении мощности, однако неодинаково (следствием этого и является поворот поляризационных „восьмерок“). Однако представленную интерпретацию нельзя считать однозначной, в ней достаточно много неопределенностей (хотя она и является стандартной при исследовании фазовых переходов методом второй гармоники [27]), прежде всего неизменность показателей преломления при нагреве (их измерение в микрообъекте при нагреве составляет определенные трудности). Мы не учитывали также в представленной подгонке изменение симметрии решетки, предполагая, что во всех наших измерениях температура не достигла температуры фазового перехода (именно с этим связана значительная величина сигнала при максимальном достигнутом нами нагреве; как следует из рис. 2, после фазового перехода интенсивность второй гармоники практически равна нулю). Однако данные исследования показывают, что измерения поляризационных зависимостей являются необходимыми при изменении температуры: измерения, например, в *p*-in, *p*-out поляризационной комбинации (как в наших нелинейно-оптических микроскопических изображениях) могут дать противоположный результат (см. также зависимости на рис. 3, *e* при угле 0°).

Отдельно стоит вопрос о температуре ПТ при лазерном нагреве. Поскольку трубки практически не поглощают на длине волны 800 nm, их нагрев происходит от нагрева подложки. Температура нагрева кремния может быть оценена по стандартной методике [28], что дает температуру нагрева подложки кремния при 0.3 mJ/cm² порядка 200°С. Следует отметить, однако, что данная величина является оценочной и максимальной, поскольку не учитывает пространственного распределения плотности энергии по площади светового пятна. Уменьшение интенсивности второй гармоники не до нулевых значений при максимальном нагреве в лазерном луче может быть также связано с неоднородностью гауссова пятна.

Лазерный нагрев интересен не только с точки зрения исследования локального фазового перехода в ПТ, но и как возможность локального изменения структуры нанотрубки-наностержни, а также, например, лазерной резки, т.е. дальнейшего микроструктурирования и другого манипулирования этими структурами (последнее, в частности, может быть важно для биомедицинских приложений).

4. Заключение

Отметим, что исследованные нами самоорганизованные ПТ являются биофункциональным материалом. Они могут создаваться искусственно и существовать в организме. Пьезоэффект и эффективная генерация второй оптической гармоники могут легко найти применение в биомедицине, а также для создания биосовместимых микроэлектромеханических систем и оптоэлектронных устройств. Наше исследование фазовых переходов является шагом на пути к доказательству наличия биосегнетоэлектричества, однако по-прежнему необходимы прямые измерения спонтанной поляризации в этом материале.

Список литературы

- [1] Yu.E. Kitaev, A.G. Panfilov, V.P. Smirnov, P. Tronc. *Phys. Rev. E* **67**, 011 907 (2003).
- [2] M.H. Shamos, L.S. Lavine, M.I. Shamos. *Nature* **197**, 81 (1963).
- [3] M.H. Shamos, L.S. Lavine. *Nature* **213**, 267 (1967).
- [4] S. Lang, A. Marino, G. Berkovic, M. Fowler, K. Abreo. *Bioelectrochem. Bioeng.* **41**, 191 (1996).
- [5] C. Halperin, S. Mutchnik, A. Agronin, M. Molotski, P. Urenski, M. Salai, G. Rosenman. *Nano Lett.* **4**, 1253 (2004).
- [6] C. Harnagea, M. Vallieres, C. Pfeffer, D. Wu, B. Olsen, A. Pignolet, F. Legare, A. Gruverman. *Biophys. J.* **98**, 3070 (2010).
- [7] M. Nikiforov, G. Thompson, V. Reukov, S. Jesse, S. Guo, B. Rodriguez, K. Seal, A. Vertegel, S. Kalinin. *ACS Nano* **4**, 689 (2010).
- [8] S. Horiuchi, Y. Tokura. *Nature Mater.* **7**, 357 (2008).
- [9] В.К. Ярмаркин, С.Г. Шульман, В.В. Леманов. *ФТТ* **51**, 1771 (2009).
- [10] J. Polonsky, P. Douzou, C. Sadron. *C.R. Acad. Sci. (Paris)* **250**, 3414 (1960).
- [11] A.L. Stanford, R.A. Lorey. *Nature* **219**, 1250 (1968).
- [12] В.В. Леманов, С.Н. Попов, Г.А. Панкова. *ФТТ* **53**, 1526 (2011).
- [13] A. Kholkin, N. Amdursky, I. Bdikin, E. Gazit, G. Rosenman. *ACS Nano* **4**, 610 (2010).
- [14] G. Rosenman, P. Beker, I. Koren, M. Yevnin, B. Bank-Srour, E. Mishina, S. Semin. *J. Peptide Sci.* **17**, 75 (2011).
- [15] N. Kol, L. Adler-Abramovich, D. Barlam, R.Z. Shneck, E. Gazit, I. Rouso. *Nano Lett.* **5**, 1343 (2005).
- [16] C. Görbitz. *Acta Cryst. B* **66**, 84 (2010).
- [17] C. Görbitz. *Chem. Eur. J.* **13**, 1022 (2007).
- [18] C. Görbitz. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **6**, 109 (2002).
- [19] M. Reches, E. Gazit. *Nature Nanotechnol.* **1**, 195 (2006).
- [20] N. Amdursky, P. Beker, I. Koren, B. Bank-Srour, E. Mishina, S. Semin, T. Rasing, Y. Rosenberg, Z. Barkay, E. Gazit, G. Rosenman. *Biomacromolecules* **12**, 1349 (2011).
- [21] A. Heredia, I. Bdikin, S. Kopyl, E. Mishina, S. Semin, A. Sigov, K. German, V. Bystrov, J. Gracio, A.L. Kholkin. *J. Phys. D* **43**, 462 001 (2010).
- [22] P. Toledano, V. Dmitriev. *Reconstructive phase transitions in crystals and quasicrystals*. World Scientific, Singapore (1996).
- [23] P. Beker, G.J. Rosenman. *Mater. Res.* **25**, 1661 (2010).
- [24] Н.Э. Шерстюк, Н.А. Ильин, С.В. Семин, Е.Д. Мишина, В.М. Мухортов, *ФТТ* **51**, 1284 (2009).
- [25] С.В. Семин, А.В. Кудрявцев, Е.Д. Мишина. *ПТЭ 1* (2012).
- [26] Н. Бломберген. *Нелинейная оптика*. Мир, М. (1966). 210 с.
- [27] V. Gopalan, R. Raj. *Appl. Phys. Lett.* **68**, 1323 (1996).
- [28] P.-H. Huang, H.-Y. Lai. *Phys. Rev. B* **77**, 125 408 (2008).