

УДК: 539.23

І.І. Сакалош, І.І. Трикур, Й.П. Шаркань, М.Ю. Січка, О.І. Корпош, І.Й. Цьома, В.В. Ярош, В.М. Різак

Ужгородський національний університет, 88000, Ужгород, вул. Волошина, 54

ОДЕРЖАННЯ ПЛІВОК БАКТЕРІОРОДОПСИНУ В ОРГАНІЧНИХ ТА НЕОРГАНІЧНИХ МАТРИЦЯХ НА ТОРЦІ ОПТИЧНОГО ВОЛОКНА

Запропоновано методику одержання плівок бактеріородопсину в матриці фотографічної желатини та в матриці водонерозчинного пористого золь-гельного скла на основі тетраетилортосилікату на торці 600-мікронного кварцового оптичного волокна. Показано, що бактеріородопсин в таких матрицях повністю зберігає характерні оптичні властивості, а одержані плівки демонструють хорошу оптичну якість.

Ключові слова: бактеріородопсин, пурпурні мембрани, сенсор, оптичне волокно, коефіцієнт відбивання.

Вступ

Волоконно-оптичні сенсори задовольняють вимогам точного, експресного та надійного моніторингу різного роду хімічних розчинів [1]. Малий діаметр оптичного волокна дозволяє використовувати для аналізу досліджувану рідину, яка наявна в обмеженій кількості, що є особливо актуальним для медицини. З практичної точки зору для визначення хімічного складу зручними є датчики з чутливим елементом на торці оптичного волокна [2-5]. Причому чутливим елементом може бути як сам торець волокна, так і плівка з матеріалу чутливого до дії досліджуваного середовища [6].

Вирішення ряду задач в хімії та медицині вимагає розробки нових підходів до створення сенсорних пристроїв, головною складовою яких є чутливий елемент на основі іммобілізованого аналітичного реагенту (молекули-рецептора) на торці оптичного волокна.

Однією з найважливіших проблем створення таких чутливих елементів є питання обробки та підготовки поверхні торця оптичного волокна для нанесення плівки чутливого матеріалу, оскільки для нормального функціонування датчика плівкова структура на торці оптичного волокна повинна мати хорошу адгезію та прийнятну оптичну якість.

Підготовка торця оптичного волокна та методи нанесення плівок бактеріородопсину на його поверхню

На даний момент нами добре відпрацьовані методики нанесення плівок на базі бактеріородопсину як в органічних, так і в неорганічних матрицях на скляні підкладки [7-11]. Нанесення плівок на торці оптичних волокон – принципово нова задача, через дуже малу площу поверхні торця оптичного волокна. В даному випадку адгезія та геометричні параметри плівки відіграють набагато більшу роль у зміні параметрів плівки під дією зовнішніх факторів. Тому нами було проведено мікроскопічні та спектральні дослідження плівок різного складу та технологій отримання.

Поєднання напрямленої модифікації поверхні волоконно-оптичних датчиків і стабілізації біологічних компонентів у процесі іммобілізації дозволяють вирішити одну з основних проблем біосенсорики – нестабільність сигналу сенсорів при їх зберіганні та експлуатації. Контакт біокомпоненту і торця волокна визначає спосіб отримання аналітичного сигналу та його селективність, що особливо важливо при проведенні вимірювань в присутності поверхнево-активних речовин, електрохімічно активних домішок і т.д. Тому потрібні дослідження, спрямовані на пошук оптимальних методів нанесення

біологічних компонентів (в нашому випадку суспензії пурпурних мембран) на неорганічну поверхню оптичного волокна.

Оскільки на адгезію та неоднорідність плівок впливає стан поверхні підкладки, в нашому випадку – поверхні торця багатомодового 600-мікронного кварцового оптичного волокна, було проведено його додаткову обробку. Сколотий торець волокна на одну годину занурювали у суміш перекису водню і сірчаної кислоти у співвідношенні 30:70 (*piranha*). Потім промивали його у дистильованій воді під дією ультразвуку, висушування проводилось на повітрі при кімнатній температурі. Оскільки суміш є сильним окислювачем, вона дозволяє усунути більшість органічних речовин, а також покращує гідрофільність обробленої поверхні.

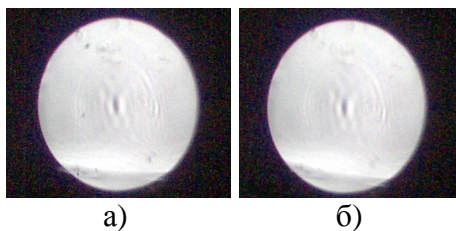


Рис. 1. Торець оптичного волокна до обробки поверхні: а) чистий торець оптичного волокна, б) оброблений розчином *piranha*.

Мікроскопічне зображення поверхні торця волокна до та після обробки наведено на рис. 1. Як видно із фотографій після обробки торця (рис. 1, б) на ньому не залишається навіть незначних забруднень, які видно на поверхні до обробки (рис. 1, а).

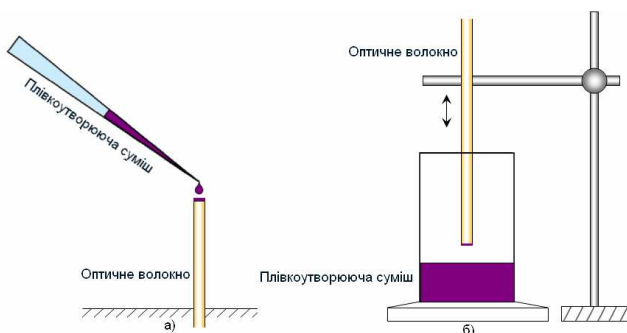


Рис. 2. Методи нанесення плівки на торець волокна: а) нанесення плівкоутворюючої суміші мікропіпеткою на вертикально закріплене волокно; б) занурення торця оптичного волокна в плівкоутворюючу суміш.

Для нанесення плівкоутворюючої суміші (суспензії пурпурних мембран в тій чи іншій матриці) на торець кварцового оптичного волокна найбільш ефективними виявилися два методи: нанесення розчину мікропіпеткою дозованого об'єму на вертикально закріплене волокно (рис. 2, а) та занурення торця волокна в плівкоутворюючу суміш і подальше висихання над розчином (рис. 2, б). Для висушування отриманих плівкових структур використовувалося кілька температурних режимів: а) при кімнатній температурі; б) при 4°C у холодильнику; в) при температурі 40°C.

Дані методи дозволяють одержати однорідні плівки з добре контрольованою товщиною та високою оптичною якістю.

Нанесення плівок бактеріородопсину в желатиновій матриці на торець оптичного волокна

Використання фотографічної желатини в якості матриці для отримання плівок бактеріородопсину забезпечує можливість отримання якісних однорідних плівок. Тому ми спробували отримати плівки чистої желатини та бактеріородопсину в желатиновій матриці на торці 600-мікронного кварцового оптичного волокна.

На рис. 3 та 4 наведено мікрознімки торців волокон із нанесеними плівками чистої желатини різними методами.

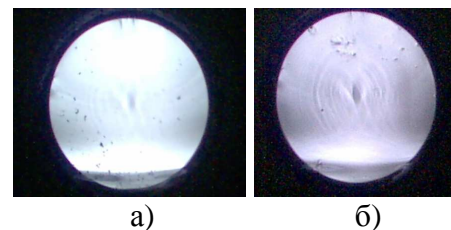


Рис. 3. Нанесення мікропіпеткою розчину дозованого об'єму: а) чистий торець оптичного волокна, б) плівка желатини.

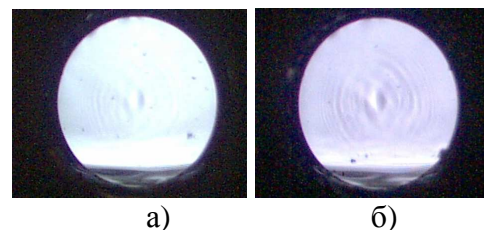


Рис. 4. Занурення торця оптичного волокна в плівкоутворюючу суміш із подальшим висиханням у парах розчину: а) чистий торець оптичного волокна, б) плівка желатини.

Як видно із зображень (рис. 3, рис. 4) у обох випадках ми отримали однорідну, прозору плівку без видимих дефектів, також одержані плівки мають хорошу адгезію до торця оптичного волокна.

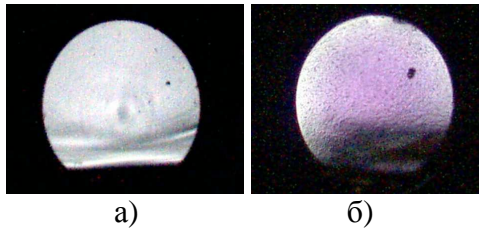


Рис. 5. Плівка бактеріородопсину в желатиновій матриці нанесена на необроблений торець оптичного волокна: а) чистий торець оптичного волокна; б) плівка бактеріородопсину в желатиновій матриці.

В процесі висушування не спостерігалось відшарування чи розтріскування плівки незалежно від методики отримання. Однак для плівок отриманих методом нанесення мікропіпеткою на торець вертикально закріпленого волокна, інтенсивність відбитого сигналу дещо більша ніж для плівок отриманих методом занурення у плівкоутворюючу суміш. Тому подальші дослідження ми проводили для плівок отриманих першим методом.

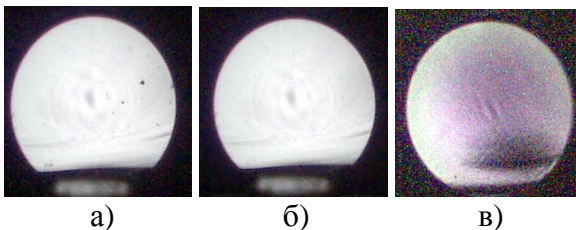


Рис. 6. Плівка бактеріородопсину в желатиновій матриці нанесена на торець волокна: а) чистий торець оптичного волокна; б) чистий торець оптичного волокна, оброблений розчином *piranha*; в) плівка бактеріородопсину в желатиновій матриці.

Імобілізація ПМ в матрицю желатини призводить до утворення оптично однорідної, менш поруваної суміші, яка краще наноситься на поверхню оптичного волокна зберігаючи при цьому фотохромні властивості самого бактеріородопсину.

На рис. 5 наведено мікрофотографії необробленого торця оптичного волокна з нанесеною плівкою бактеріородопсину в матриці желатини. Як видно з рисунку, як

на зображенні торця, так і на плівці помітні забруднення. На рис. 6 наведено мікрофотографії плівки отриманої з використанням попередньої обробки торця оптичного волокна розчином *piranha*. В даному випадку жодних сторонніх включень на отриманій плівці не спостерігається.

За допомогою волоконно-оптичного Y-розгалужувача були проведені спектральні дослідження спектру відбивання отриманої плівки а також записана динаміка висихання плівкоутворюючої суміші на торці оптичного волокна. Отримані результати наведено на рис. 7 та рис. 8 відповідно.

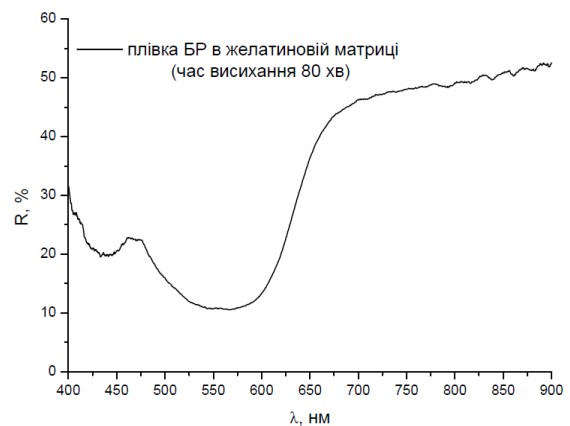


Рис. 7. Спектр відбивання плівки бактеріородопсину в желатиновій матриці на торці оптичного волокна.

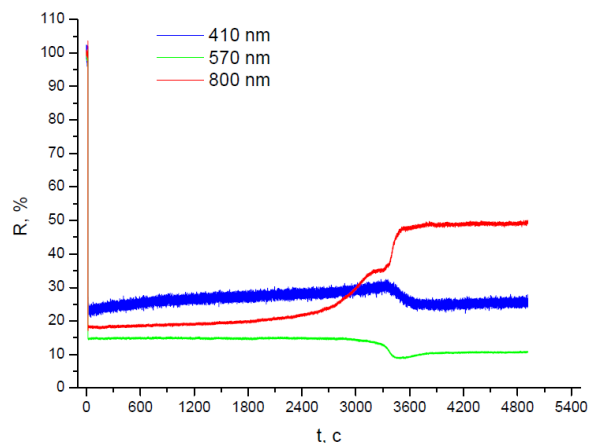


Рис. 8. Зміни відбивання у процесі висихання плівки бактеріородопсину в матриці желатини на торці оптичного волокна.

Спектральні дослідження показали наявність характерних для бактеріородопсину смуг поглинання на 410 нм та 570 нм. Це свідчить про відсутність структурних чи функціональних пошкоджень

молекул бактеріородопсину у процесі нанесення плівки на торець оптичного волокна. Дослідження динаміки відбивання у процесі висихання плівки теж підтверджує даний висновок.

Нанесення плівки бактеріородопсину в матриці золь-гелю (SiO_2) на торець оптичного волокна

Проблема розчинності плівок бактеріородопсину у желатиновій матриці у воді та водних розчинах привела до пошуку та створення чутливих оптичних елементів з використанням в якості матриці неорганічного SiO_2 -золь-гельового скла. Методики підготовки плівкоутворюючої суміші та отримання плівок в матрицях золь-гелю (SiO_2) описані в [9-11].

Оскільки метод нанесення дозованого об'єму чистої желатини та плівкоутворюючої суміші мікропіпеткою на вертикально закріплене волокно давав кращі результати, ми використали його для нанесення плівки золь-гелю на торець оптичного волокна. Скол волокна не піддавався жодній додатковій обробці. Мікроснімки торця до та після нанесення і висихання плівки наведено на рис. 9. Як видно з рисунку спостерігається розтріскування і відшарування плівки з повним її руйнуванням в деяких областях поверхні. Даний результат спостерігається при всіх режимах висихування зразка і свідчить про слабку адгезію між плівкою та поверхнею кварцового волокна.

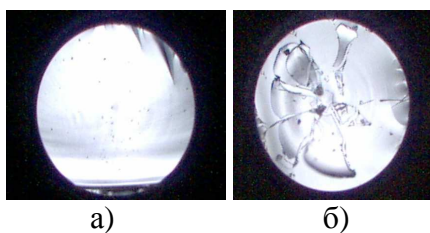


Рис. 9. Плівка золь-гелю нанесена на необроблений торець оптичного волокна: а) чистий торець оптичного волокна; б) плівка золь-гелю нанесена методом поливу.

Для того щоб перевірити, як методика нанесення впливає на якість плівки ми нанесли плівку золь-гелю методом занурення торця волокна в плівкоутворюючу суміш із подальшим висиханням над

розчином. По аналогії з попереднім випадком процес висихання тривав: а) при кімнатній температурі; б) при 4°C у відкритій посудині; в) при температурі 4°C у закритій посудині. Мікроснімки плівки отриманої даним методом наведені на рис. 10. Як і в попередньому випадку якісну однорідну плівку на торці волокна не вдалося отримати.

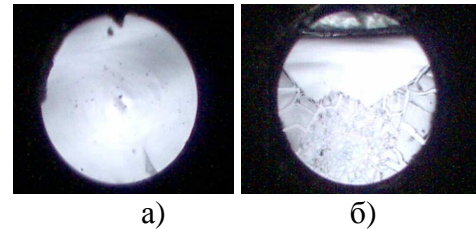


Рис. 10. Плівка золь-гелю нанесена на необроблений торець оптичного волокна: а) чистий торець оптичного волокна; б) плівка золь-гелю нанесена методом витягування з розчину.

Результати дослідження (рис. 9, рис. 10) показали, що для отримання якісної плівки золь-гелю на торці оптичного волокна необхідним є проведення додаткової обробки його поверхні. Використання для обробки розчину *piranha*, забезпечує покращення гідрофільності поверхні кварцу, а отже створюються сприятливі умови для нанесення як чистих плівок золь-гелю так і плівок з бактеріородопсином.

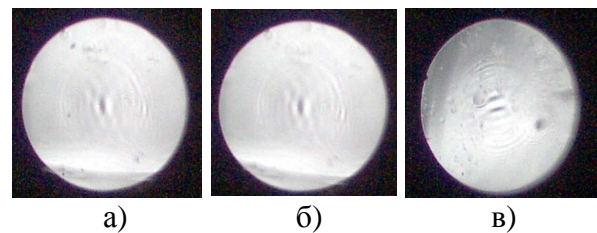


Рис. 11. Плівка золь-гелю нанесена на торець оптичного волокна оброблений розчином *piranha*. а) необроблений торець оптичного волокна; б) торець волокна оброблений розчином *piranha*; в) плівка золь-гелю нанесена методом витягування з розчину.

Результати нанесення плівки чистого золь-гелю на торець оптичного волокна попередньо обробленого розчином *piranha* наведено на рис. 11.

Як видно з рисунку, після додаткової обробки поверхні торця, нам вдалося отримати якісну плівку золь-гелю без видимих тріщин та дефектів. Слід відмітити, що вдалі зразки вдалося отримати тільки при

нанесенні методом витягування із розчину і повільного висихання плівки у парах розчинника в закритій посудині при температурі 4°C. При використанні інших методів нанесення чи режимів висушування спостерігалося розтріскування, а в деяких випадках і руйнування плівки.

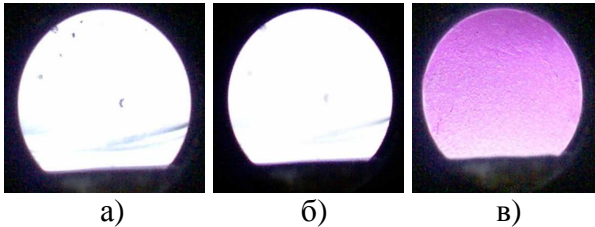


Рис. 12. Плівка бактеріородопсину в матриці золь-гелю нанесена на торець оптичного волокна обробленого розчином *piranha*: а) необроблений торець оптичного волокна; б) торець оптичного волокна оброблений розчином *piranha*; в) плівка бактеріородопсину в матриці золь-гелю нанесена методом витягування з розчину.

Завершення розробки оптимальної методики одержання якісних плівок золь-гелю на торці оптичного волокна дозволяє перейти до наступного етапу – одержання плівок на базі бактеріородопсину у матриці золь-гелю на торці оптичного волокна. Оскільки для чистого золь-гелю найкращою є методика витягування з розчину і режим повільного висушування в парах розчинника при температурі 4°C, ми використали дану схему також і для одержання плівок на базі бактеріородопсину у матриці золь-гелю на торці оптичного волокна. В результаті нами були отримані однорідні плівки хорошої оптичної якості. Мікрознімки торця оптичного волокна до та після обробки, а також з нанесеною плівкою наведені на рис. 12.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Udd E. *Fiber Optic Sensors: An Introduction for Engineers and Scientists* // Wiley-Interscience, 1st edn., 1991.
2. Cusano A., Cutolo A., Michele Giordano, and Luigi Nicolais. *Optoelectronic Refractive Index Measurements: Application to Smart Processing* // IEEE Sens. J. – 2003. – 3 (6). – P. 781-787.
3. Giordano M., Russo M., Cusano A. and Mensitieri G. An high sensitivity optical sensor for chloroform vapours detection based on nanometric film of δ -form syndiotactic polystyrene // Sens. Actuators B. – 2004.
4. Cusano A., Persiano G.V., Russo M. and Giordano M. Novel optoelectronic sensing system for thin polymer films glass transition investigation // IEEE Sens. J. – 2004. – P. 1-8.
5. Wolhuis R., Mitchell G., Hartl J. and Saaski E. Development of a dual function sensor system for measuring pressure and

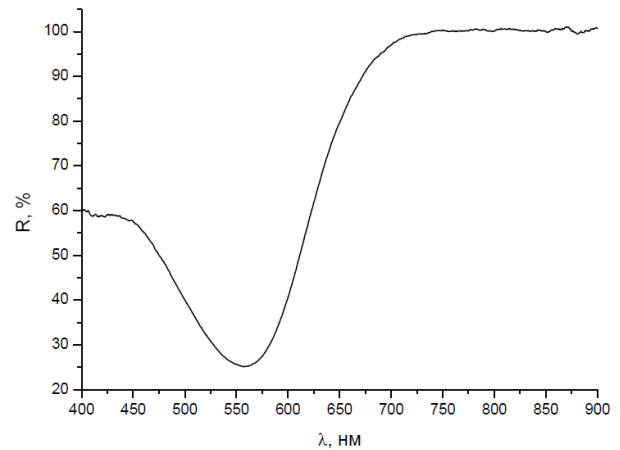


Рис. 13. Спектр відбивання плівки бактеріородопсину в матриці золь-гелю на торці оптичного волокна.

Спектр відбивання для даної плівки наведено на рис. 13. На спектрі видно чітку смугу поглинання бактеріородопсину на 570 нм, що свідчить про збереження ним своїх оптичних властивостей при впровадженні у золь-гельну матрицю, а сам характер спектральної залежності коефіцієнту відбивання свідчить про високу оптичну якість одержаної плівки.

Висновки

В результаті проведених досліджень встановлено, що для одержання плівок бактеріородопсину в органічних та неорганічних матрицях на торці оптичного волокна, необхідно проводити додаткову обробку торця розчином *piranha*.

Показано, що бактеріородопсин в таких матрицях повністю зберігає характерні оптичні властивості, а одержані плівки демонструють хорошу оптичну якість.

- temperature at the tip of a single optical fiber // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* – 1993, 40 (3). – P. 298-302.
6. Giordano M., Russo M., Cusano A., Mensitieri G. and Guerra G. Syndiotactic polystyrene thin film as sensitive layer for an optoelectronic chemical sensing device // *Sens. Actuators B*, 2004.
 7. Плівкові структури фотохромного матеріалу бактеріородопсину (ФХМБР). ТУ У 02070832.008 – 97. від 25.12.1997.
 8. Sharkany J.P., Trikur I.I., Korposh S.O., Ramsden J.J. Sensitive elements based on bacteriorhodopsin for fiber–optics sensors of chemical components // *Proc. SPIE.* – 2005. – № 5855. – P. 411-414.
 9. Korposh S.O., Sichka M.Y., Trikur I.I., Sharkany Y.P., Yang D.H., Lee S.W., Ramsden J.J. Films based on bacteriorhodopsin in sol-gel matrices, *Proc. SPIE.* 2005. – № 5956. – P. 312-320.
 10. Sharkany J.P., Korposh S.O., Batori-Tarci Z.I., Trikur I.I., Ramsden J.J. Bacteriorhodopsin-based biochromic films for chemical sensors // *Sensors Actuators B.* – 2005. – 107. – P. 70-81.
 11. Шаркань Й.П., Рамсден Дж.Дж., Сакалош І.І., Січка М.Ю., Корпош С.О., Трикур І.І. Одержання та структурні особливості нанокмпозитних плівок бактеріородопсин – квантові точки CdSe/ZnS – мікропористазольгельна матриця // *Фізика і хімія твердого тіла.* – 2010. – Т.11, №1. – С. 170-175.

Стаття надійшла до редакції 28.11.2013

I.I. Sakalosh, I.I. Trikur, J.P. Sharkany, M.Y. Sichka, O.I. Korposh, I.Y. Tsoma, V.V. Yarosh, V.M. Rizak

Uzhhorod National University, 88000, Uzhhorod, Voloshina Str., 54

OBTAINING OF BACTERIORHODOPSIN FILMS IN ORGANIC AND INORGANIC MATRICES AT THE OPTICAL FIBER END

A method for obtaining bacteriorhodopsin films in the photographic gelatin matrix and in the insoluble matrix of the porous sol-gel glass based on tetraethylorthosilicate at 600 μm quartz optical fiber end was suggested. It is shown that in such matrices bacteriorhodopsin fully retains its characteristic optical properties and the obtained films show good optical quality.

Key words: bacteriorhodopsin, purple membrane, sensor, optical fiber, reflection coefficient.

И.И. Сакалош, И.И. Трикур, Й.П. Шаркань, М.Ю. Сичка, О.И. Корпош, И.И. Цьома, В.В. Ярош, В.М. Ризак

Ужгородский национальный университет, 88000, Ужгород, ул. Волошина, 54

ПОЛУЧЕНИЕ ПЛЕНОК БАКТЕРИОРОДОПСИНА В ОРГАНИЧЕСКИХ И НЕОРГАНИЧЕСКИХ МАТРИЦАХ НА ТОРЦЕ ОПТИЧЕСКОГО ВОЛОКНА

Предложена методика получения пленок бактерiorодопсина в матрице фотографической желатины и в матрице водонерастворимого пористого золь-гельного стекла на основе тетраэтилортосиликата на торце 600-микронного кварцевого оптического волокна. Показано, что бактерiorодопсин в таких матрицах полностью сохраняет характерные оптические свойства, а полученные пленки демонстрируют хорошее оптическое качество.

Ключевые слова: бактерiorодопсин, пурпурные мембраны, сенсор, оптическое волокно, коэффициент отражения.