

МАТЕРИАЛЫ

УДК 621.382.8.049.77

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ
НАНОКРИСТАЛЛОВ СЕЛЕНИДА КАДМИЯ CdSe, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ
ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ**

К.Д. ЯШИН, В.С. ОСИПОВИЧ

*Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники
П. Бровка, 6, Минск, 220013, Беларусь**Поступила в редакцию 4 февраля 2008*

Исследованы параметры возбуждения, поглощения и фотолюминесценции нанокристаллов CdSe и CdSe/ZnS, полученных методами коллоидной химии и предназначенных для применения в иммунолюминесцентном анализе в медицине, а также фотостабильность нанокристаллов CdSe/ZnS, покрытых различными функционально-защитными полимерными оболочками. Методами спектрофотометрии установлено, что фотолюминесценция нанокристаллов может быть возбуждена широким спектром светового излучения, а именно, от ультрафиолетового света до видимой части светового излучения. При нанесении на ядро CdSe эпитаксиальной пленки ZnS интенсивность фотолюминесценции возрастает без смещения длины волны максимума интенсивности фотолюминесценции. Нанокристаллы CdSe/ZnS в функционально-защитной полимерной оболочке обладают лучшей фотостабильностью в сравнении с химическим флюорохромом, традиционно применяемым в клинической диагностике. Фотостабильность нанокристаллов CdSe/ZnS не зависит от типа использованных в эксперименте функционально-защитных полимерных оболочек и от образования агрегатов из наночастиц.

Ключевые слова: нанокристаллы, селенид кадмия, фотолюминесценция, возбуждение, поглощение, фотостабильность, CdSe, CdSe/ZnS.

Введение

Современные разработки нанотехнологий позволили получить новый класс полупроводниковых нанокристаллов сверхмалых размеров 2–6 нм. Нанокристаллы могут найти применение в различных областях науки и техники. В настоящее время разработаны принципы построения светоизлучающих диодов [1, 2], лазеров [3–5], солнечных батарей [6] и одноэлектронных транзисторов [7] с применением полупроводниковых нанокристаллов. Люминесцентные полупроводниковые нанокристаллы находят такие биологические применения, как блотирование, иммуноцитохимия [8–12], раскраска хромосом [13], маркировка живых клеток и тканей [14–16], прослеживание потока крови [17]. В [18] с помощью рентгеноспектрального анализа было установлено, что частицы имеют кристаллическую структуру. Количественный и качественный рентгеноспектральный анализ позволил определить состав нанокристаллов. Настоящая статья является продолжением исследований физических свойств наночастиц селенида кадмия CdSe, предназначенных для использования в иммунолюминесцентном анализе в медицине.

Цель работы

Одной из приоритетных задач в нашей стране является развитие нанобиоинформационных технологий и нанобиосистем для их применения в клинической диагностике, в частности для усовершенствования и повышения чувствительности иммунолюминесцентного, иммуноферментного и цитофлюорометрического анализов. Последние из-за широкого применения в медицине для диагностирования различных заболеваний постоянно требуют своего улучшения. Целью настоящей работы является исследование фотолюминесцентных свойств нанокристаллов, полученных методами коллоидной химии и предназначенных для использования в медицинской диагностике, а именно: исследование параметров фотолюминесценции, а также исследование фотостабильности нанокристаллов селенида кадмия CdSe. Последняя характеристика нанокристаллов CdSe изучалась путем исследования динамики изменения интенсивности фотолюминесценции наночастиц.

Методика эксперимента

Для исследований использовались наночастицы селенида кадмия CdSe, полученные методами коллоидной химии по технологии, разработанной и описанной авторами [19]. Схемы процессов получения нанокристаллов приведены в работах [18, 20–22]. Наночастицы CdSe имеют кристаллическую структуру, что подтверждено рентгеноструктурными исследованиями [18, 20].

Для проведения исследований были использованы следующие образцы: селенид кадмия CdSe; селенид кадмия CdSe с эпитаксиальным слоем сернистого цинка ZnS–CdSe/ZnS; водорастворимые CdSe/ZnS с различными функционально-защитными оболочками из меркаптоундекановой кислоты ($\text{SHC}_{10}\text{H}_{20}\text{COOH}$), или тиолполиэтиленгликоля ($\text{HO}[\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}]_n\text{SH}$), или глутатиона (L-глутамил-L-цистеинилглицин); химический флюорохром "Хехст-3342" (Sigma, США). Нанокристаллы селенида кадмия с эпитаксиальным покрытием из сернистого цинка ZnS состоят на 84% из атомов кадмия Cd, на 4% из атомов селена Se, на 11% из атомов цинка Zn, и на 1% из атомов серы S, что зафиксировано методами рентгеноспектрального анализа. В отличие от [18] для определения процентного соотношения содержания кадмия Cd, селена Se, серы S и цинка Zn была применена более достоверная методика: содержание элементов определялось исходя из соотношений площадей всех пиков этих элементов.

Для получения спектров возбуждения, поглощения и интенсивности фотолюминесценции применялся спектрофотометр Solar CM-2203 (Беларусь). Образцы наночастиц CdSe и CdSe/ZnS в защитной оболочке из оксида триоктилфосфина к проведению исследований готовились следующим образом. Около 2 мг сухих образцов CdSe и CdSe/ZnS, покрытых оксидом триоктилфосфина, растворялись в 3 мл хлороформа CHCl_3 . Затем в емкость добавлялось 3,6 мл метанола CH_3OH . После выдерживания 20 мин образцы подвергались центрифугированию в течение 15 мин при скорости 3000 об/мин. Осадок (образцы наночастиц) повторно растворялся в хлороформе. После добавления еще раз метанола, центрифугирования и растворения осадка в хлороформе получали коллоидный раствор наночастиц. Раствор имел оранжевую окраску. Коллоидный раствор нанокристаллов объемом 5 мл в кювете помещали в рабочую камеру спектрофотометра. Выходными данными спектрофотометра Solar, подключенного к персональному компьютеру, являются таблицы с координатами точек в формате txt. Программное обеспечение, поставляемое со спектрофотометром, позволяет получать графические изображения на основании выходного txt файла, однако формат таких изображений не совместим с операционной системой Windows. Для получения графических изображений спектров табличные данные обрабатывались с использованием программного пакета OriginPro 7.5.

Для исследования фотостабильности нанокристаллов с функционально-защитной стабилизирующей оболочкой (другое название – водорастворимых), химического флюорохрома и агрегировавших нанокристаллов применялся люминесцентный микроскоп Axiovert 200 (Германия). Микроскоп оснащен цифровым фотоаппаратом высокой разрешающей способности (8 мегапикселей на см^2), подключенным к персональному компьютеру. Специальное программное обеспечение позволяет определять относительную интенсивность фотолюминесценции отдель-

ных областей на фотографии. Фотолюминесценция нанокристаллов возбуждалась ультрафиолетовым светом (УФ). Образцы непрерывно облучались ультрафиолетовым светом и через каждые две минуты фиксировалось значение интенсивности люминесценции. Для проведения исследований образцы наночастиц помещались между двумя покровными стеклами с целью достижения максимально тонкого слоя раствора. Тонкие слои растворов образцов необходимы, чтобы избежать броуновского движения наночастиц в жидкости. Образцы агрегировавших нанокристаллов для исследований готовились аналогичным образом. Агрегация (слипание) нанокристаллов происходило при длительном их хранении около шести месяцев.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 отражен спектр возбуждения люминесценции нанокристаллов CdSe. Анализ спектра возбуждения фотолюминесценции нанокристаллов CdSe показывает, что фотолюминесценция наночастиц может быть возбуждена широким спектром светового излучения, а именно, — от ультрафиолетового до видимой части светового излучения, т.е. от 300 до 550 нм. Спектры поглощения и интенсивности фотолюминесценции (рис. 2, 3) получены при возбуждении нанокристаллов CdSe и CdSe/ZnS светом длиной волны 372 нм. Длина волны света 372 нм для снятия спектров поглощения и интенсивности фотолюминесценции была выбрана на основании полученного спектра возбуждения, она соответствует первому экстремуму на этом спектре. Максимум интенсивности фотолюминесценции нанокристаллов CdSe приходится на длину волны 569 нм и составляет четыре условные единицы. Анализ спектра фотолюминесценции ядра CdSe с эпитаксиальной пленкой ZnS показывает, что смещения максимума интенсивности люминесценции не происходит, а значение интенсивности люминесценции нанокристаллов CdSe/ZnS увеличивается в 3–3,5 раза по сравнению с ядром CdSe без эпитаксиального покрытия ZnS. Увеличение интенсивности фотолюминесценции говорит об увеличении квантового выхода нанокристаллов (отношение излученного нанокристаллами света к поглощенному). Значение полной ширины на уровне полумаксимума составляет 30 нм, что делает наночастицы хорошим инструментом для применения в оптике. Спектры энергии поглощения нанокристаллов имеют малый стоксовый сдвиг — разность между пиком люминесценции и пиком поглощения (около 15 нм), т.е., имея спектр поглощения, можно делать некоторые определенные выводы о спектре фотолюминесценции образцов нанокристаллов и наоборот.

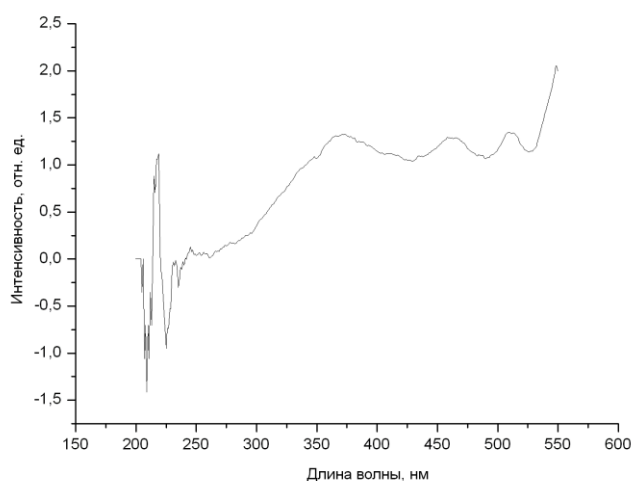


Рис. 1. Спектр возбуждения люминесценции нанокристаллов CdSe

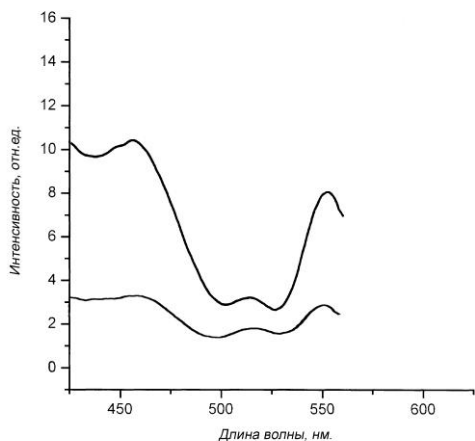


Рис. 2. Спектры поглощения нанокристаллов CdSe (нижний) и CdSe/ZnS (верхний)

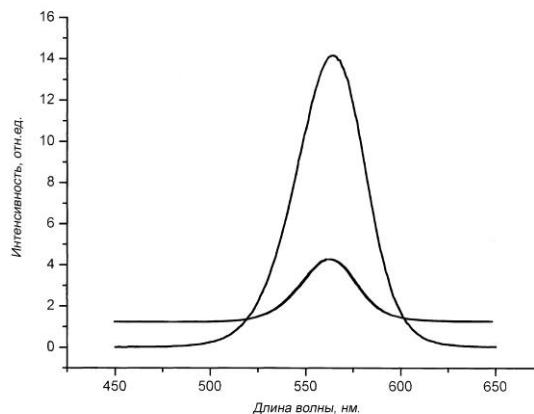


Рис. 3. Спектры интенсивности фотолюминесценции нанокристаллов CdSe (нижний) и CdSe/ZnS (верхний)

Большая интенсивность фотолюминесценции позволяет видеть люминесценцию скоплений нанокристаллов в люминесцентном микроскопе при увеличении в 200 крат (рис. 4), а также наблюдать эти скопления нанокристаллов при фотографировании на просвет при том же увеличении (рис. 5). Были сняты зависимости интенсивности фотолюминесценции от времени облучения водорастворимых нанокристаллов CdSe/ZnS и химического флюорохрома Хехст-33342. Полученные зависимости показывают следующее. Наблюдался рост интенсивности фотолюминесценции нанокристаллов с 1-й по 34-ю минуту облучения (рис. 6). Интенсивность люминесценции равномерно увеличивалась, максимум был достигнут на 34-й минуте. Интенсивность фотолюминесценции нанокристаллов возросла в два раза по сравнению с первоначальной и достигла насыщения. Затем наблюдался плавный спад интенсивности люминесценции. На 40-й минуте эксперимент был остановлен из-за ограничений по времени непрерывной работы люминесцентного микроскопа. На рис. 4 представлена фотография, зафиксировавшая границу раздела между засвеченной и не засвеченной ультрафиолетовым светом областями. Интенсивность люминесценции флюорохрома Хехст-33342 уменьшалась в зависимости от времени облучения (рис. 7).

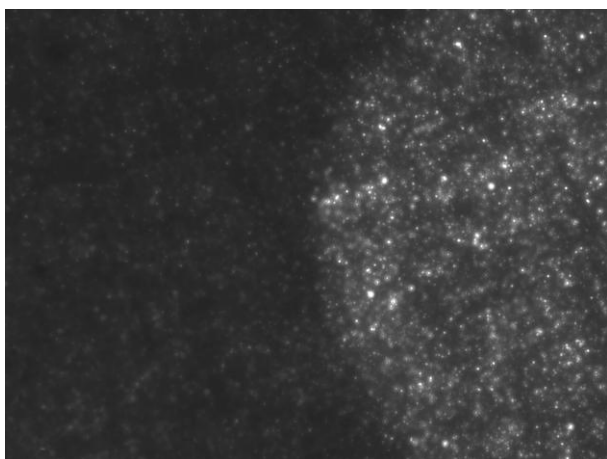


Рис. 4. Люминесцентная фотография нанокристаллов CdSe/ZnS, видна граница засвеченной и незасвеченной областей

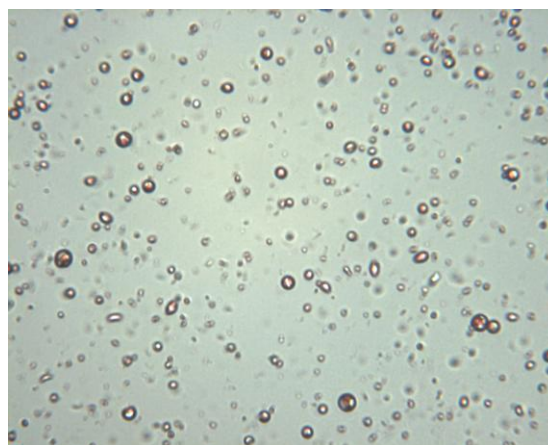


Рис. 5. Фотография нанокристаллов на просвет

На 20-й минуте эксперимента интенсивность люминесценции Хехст-33342 снизилась в два раза. Кроме того, были получены зависимости интенсивности фотолюминесценции от времени облучения водорастворимых нанокристаллов с различными функционально-защитными стабилизирующими оболочками. Анализ зависимостей интенсивности фотолюминесценции от времени облучения для нанокристаллов CdSe/ZnS с полимерными покрытиями из тиолполиэтиленгликоля, меркаптоундекановой кислоты и глутатиона (рис. 8) показывает, что тип функционально-защитной стабилизирующей оболочки не оказывает существенного влияния на фотостабильность полупроводниковых нанокристаллов. Кроме того, как показывают эксперименты, после агрегации (т.е. после образования конгломератов из наночастиц в функционально-защитной полимерной оболочке) зависимость интенсивности люминесценции от времени засвечивания сохраняется (рис. 8).

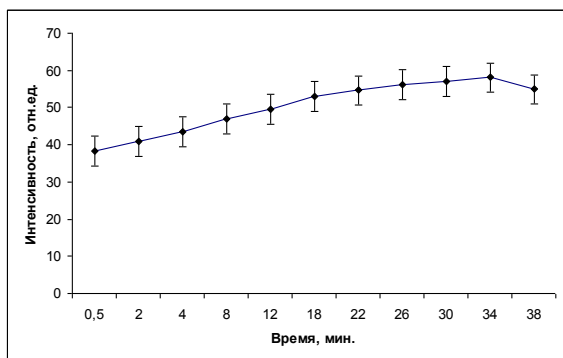


Рис. 6. Зависимость интенсивности фотолюминесценции от времени засвечивания УФ нанокристаллов CdSe/ZnS

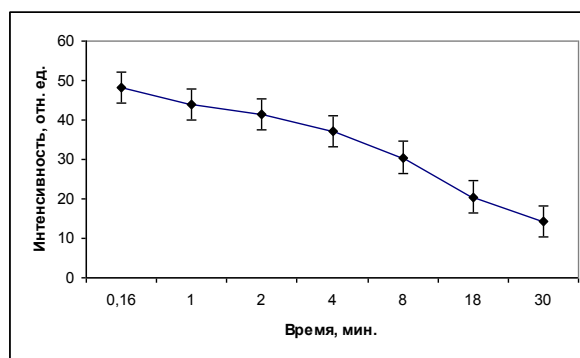


Рис. 7. Зависимость интенсивности фотолюминесценции от времени засвечивания УФ флюорохрома Хехст-33342

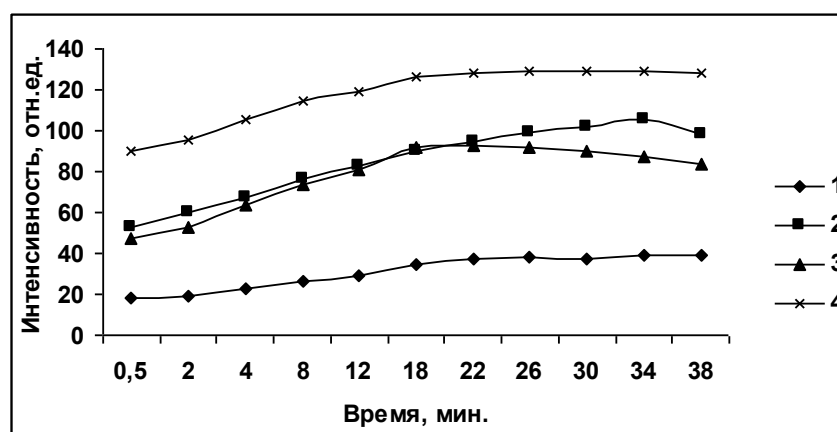


Рис. 8. Зависимость интенсивности фотолюминесценции от времени засвечивания УФ нанокристаллов CdSe/ZnS с функционально-защитными оболочками из глутатиона (1); тиолполиэтиленгликоля (2); меркаптоундекановой кислоты (3); тиолполиэтиленгликоля после их агрегации (4)

Заключение

В работе приведены результаты исследования фотолюминесцентных свойств нанокристаллов селенида кадмия CdSe и нанокристаллов селенида кадмия CdSe с эпитаксиальным слоем ZnS. Исследования показали, что нанесение эпитаксиальной пленки из сернистого цинка ZnS на нанокристаллы селенида кадмия CdSe приводит к увеличению интенсивности фотолю-

минесценции нанокристаллов в 3–3,5 раза без смещения пика фотолюминесценции. Исследование фотостабильности нанокристаллов CdSe/ZnS в функционально-защитной полимерной оболочке позволило сделать следующие выводы. Интенсивность фотолюминесценции нанокристаллов увеличивается в зависимости от времени облучения ультрафиолетовым светом по закону, близкому к линейному, и через 30 мин выходит в насыщение. Сравнительное исследование интенсивности химического флюорохрома Хехст-3342 показало, что интенсивность фотолюминесценции уменьшается по линейному закону при увеличении времени облучения. Фотостабильность нанокристаллов селенида кадмия с эпитаксильным покрытием из сернистого цинка, определенная путем исследования динамики изменения интенсивности фотолюминесценции, не зависит от типа функционально-защитной оболочки. Кроме того, на фотостабильность нанокристаллов не влияет их агрегация (образование конгломератов). Использование люминесцентных нанокристаллов вместо химических флюорохромов для визуализации антигенов, клеток и клеточных компонентов в медицинской диагностике позволит усовершенствовать иммунолюминесцентный анализ (по сравнению с анализами с применением традиционных химических флюорохромов).

Авторы благодарят специалистов ЦНИЛ БелМАПО за помощь в реализации экспериментов.

RESEARCH OF PHOTOLUMINESCENT PROPERTIES OF SELENIDE CADMIUM CdSe NANOCRYSTALS INTENDED FOR USE IN CLINICAL DIAGNOSTICS

K.D. YASHIN, V.S. OSIPOVICH

Abstract

The excitation and absorption spectrum and the photoluminescence of the nanocrystals CdSe and CdSe/ZnS, obtained with the colloid chemistry methods were researched. Photostability of the nanocrystals CdS/ZnS covered with different functional protecting polymeric coverings was also researched. With the help of the methods of spectrophotometry it was found out that photoluminescence of the nanocrystals may be excited by the wide spectrum of the light emanation, to be precise, from ultraviolet to visible part of the light emanation. At putting the epitaxial layer ZnS on the core of CdSe the intensity of the photoluminescence grows without displacement of the maximum of the intensity of the photoluminescence. Nanocrystals CdSe/ZnS in their functional protecting polymeric coverings possess a better photostability in comparison with a chemical fluorochrom. Photostability of the nanocrystals CdSe/ZnS does not depend on the type of functional protecting polymeric coverings used in the experiment and on the conglomerates for mated from the nanoparticles.

Литература

1. Klein D.L., Alivisatos A.P., Colvin V.L. et al. // Nature. 1994. Vol. 370. P. 354.
2. Coe S., Bawendi M.G. et al. // Nature. 2002. Vol. 420. P. 800.
3. Klimov V.I., Mikhailovsky A.A., Bawendi M.G. et al. // Science. 2000. Vol. 290. P. 314.
4. Pavesi L., Negro L.D., Mazzoleni C. et al. // Nature. 2000. Vol. 408. P. 440.
5. Eisler H.-J., Bawendi M.G., Klimov V.I. et al. // Appl. Phys. Lett. 2002. Vol. 80. P. 4614.
6. Huynh W.U., Alivisatos A.P., Dittmer J.J. // Science. 2002. Vol. 295. P. 2425.
7. Кульбачинский В.А. // Соросовский образовательный журнал. 1991. № 4. С. 98.
8. Chan W.C.W., Nie S. // Science. 1998. Vol. 281. P. 2016.
9. Bruchez M., Alivisatos A.P., Moronne M. et al. // Science. 1998. Vol. 281. P. 2013.
10. Dahan M., Alivisatos A.P., Pinaud F. et al. // Opt. Lett. 2001. Vol. 26 (11). P. 825.
11. Wu X., Bruchez M.P., Liu H. et al. // Nature Biotechnology. 2003. Vol. 21 (1). P. 41.
12. Jovin T.M. // Nature Biotechnology. 2003. Vol. 21. P. 32.
13. Pathak S., Choi S.K. et al. // J. Am. Chem. Soc. 2001. Vol. 123. P. 4103.
14. Dahan M., Lévi S. // Science. 2003. Vol. 302. P. 442.

15. *Dubertret B., Skourides P., Norris D.J. et al. // Science. 2002. Vol. 298. P. 1759.*
16. *Goodwin J.W., Buscall R. // Boston. 1995. P. 352.*
17. *Larson D.R., Zipfel W.R., Bruchez M.P. et al. // Science. 2003. Vol. 300. P. 1434.*
18. *Яшин К.Д., Осипович В.С., Пицук С.Е. // Докл. БГУИР. 2007. Т. 5, № 3. С. 74.*
19. *Artemyev M., Sukhanova A., Devy J. et al. // Analytical Biochemistry. 2004. Vol. 324. P. 60–67.*
20. *Яшин К.Д. Разработка физико-химических и технологических основ получения люминесцентных наночастиц из полупроводников (Отчет о НИР № ГР 2005756) [текст] / К.Д. Яшин, В.С. Осипович, С.Е. Пицук; УО "БГУИР", Минск. 2005. 60 с. Рус. Деп. в ГУ "БелИСА" 07.04.06, № Д200617.*
21. *Яшин К.Д., Осипович В.С., Пицук С.Е. // Нано- и микросистемная техника. 2007. № 2. С. 70.*
22. *Яшин К.Д., Осипович В.С., Пицук С.Е. // Нано- и микросистемная техника. 2007. № 6. С. 2.*