

І.Д. Столярчук<sup>1,2</sup>, О.А.Шпорта<sup>1</sup>

## Оптичні дослідження взаємодії наночастинок CdS та CdTe із альбуміном крові людини

<sup>1</sup>Чернівецький національний університет імені Ю. Федьковича, 58012 вул. Коцюбинського, 2, Чернівці, Україна, e-mail: [istolarchuk@ukr.net](mailto:istolarchuk@ukr.net)

<sup>2</sup>Дрогобицький державний педагогічний університет імені І.Франка, 82100 вул. І. Франка 24, Дрогобич, Україна

В роботі представлено результати експериментального дослідження спектрів поглинання та фотолюмінесценції біологічних комплексів колоїдних розчинів наночастинок CdS і CdTe та альбуміну крові людини (HSA). Проведені мікроструктурні дослідження за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії свідчать про отримання наночастинок сферичної форми із незначною дисперсією їх за розмірами. Екситонна структура в спектрах поглинання колоїдних розчинів нанокристалів виявилась зміщеною в область високих значень енергій у порівнянні з відповідними об'ємними кристалами, що зумовлено проявом квантово розмірного ефекту. Додавання альбуміну крові людини до колоїдних розчинів нанокристалів призводить до поступового зменшення поглинання та розмиття екситонної структури спектру, що зумовлене утворенням біокомплексів наночастинки – протеїн. Результати гасіння фотолюмінесценції біокомплексів наночастинок -HSA продемонстрували залежність гасіння від температури та дозволили встановити статичний механізм гасіння. При концентрації в розчині наночастинок CdS більше  $1,5 \cdot 10^{-6}$  моль л<sup>-1</sup>, крім статичного механізму гасіння фотолюмінесценції, у відповідних біокомплексах зростає прояв динамічного механізму гасіння.

**Ключові слова:** CdTe, CdS, наночастинка, нанокристал, поглинання, фотолюмінесценція, гасіння флуоресценції, альбумін крові людини.

Стаття постуила до редакції 22.05.2016; прийнята до друку 05.12.2016.

### Вступ

Сучасні досягнення нанofізики та нанотехнології відкривають широкі перспективи практичного застосування нанорозмірних матеріалів. Унікальні фізико-хімічні властивості напівпровідникових наноструктур (квантових точок), зумовлені квантово-розмірним ефектом, впродовж останніх років інтенсивно досліджуються з точки зору застосування в нанобіології та наномедицині [1-3]. Фотохімічна стійкість, широкий спектр поглинання та вузькі спектральні смуги випромінювання квантових точок відкривають значний потенціал їх використання в якості біомаркерів та біосенсорів [4-6]. Одним із напрямків таких досліджень є вивчення взаємодії наночастинок (НЧ) на основі напівпровідників A<sup>II</sup>B<sup>VI</sup> із протеїнами. В ряду протеїнів, сироватковий альбумін (альбумін крові людини (HSA) чи бичачий сироватковий альбумін (BSA)) використовується в якості модельного білка для численних і різноманітних біофізичних, біохімічних і фізико-хімічних досліджень. Він є найбільш поширеним білком, що складає близько 60% від загальної

концентрації білків у плазмі крові. Цей білок має цікаві властивості зв'язування різних екзогенних лігандів, такі як ліки і наночастинок, гідрофобних лігандів, таких як жирні кислоти, триптофан, стероїди, анестетики і барвники. Крім того, він відіграє важливу роль у транспорті та осадженні різних речовин в крові внаслідок існування обмеженого числа областей зв'язування дуже різної специфічності [7]. Експериментальні дослідження взаємодії напівпровідникових наночастинок на основі A<sup>II</sup>B<sup>VI</sup> із сироватковими альбумінами знаходяться на початковому етапі. Проведені в роботах [8-10] дослідження свідчать про утворення біокомплексів НЧ - альбумін із переважанням електростатичного притягання. Автори робіт [11-13] продемонстрували також залежність гасіння фотолюмінесценції біокомплексів НЧ – бичачий сироватковий альбумін від розмірів наноструктур та температури. В даній роботі наводяться результати експериментальних досліджень взаємодії наночастинок на основі халькогенідних напівпровідників CdS та CdTe із альбуміном крові людини методами оптичної

спектроскопії, зокрема дослідженням відповідних спектрів поглинання та фотолюмінесценції.

## I. Експериментальна частина

Різноманітні фізичні та хімічні методи одержання напівпровідникових наночастинок надають можливість керувати їх розмірами та формою, що дозволяє контролювати задавати необхідні властивості таких структур [14]. Серед багатьох відомих технологічних методів нами був використаний метод колоїдної хімії на основі деіонізованої води. Саме цей метод одержання наноструктур набув в останні роки широкого поширення для застосування в біологічних та біомедичних дослідженнях та має багато переваг [15].

Колоїдні розчини наночастинок телуриду кадмію одержували із застосуванням в якості пасиватора тіогліколевої кислоти (TGA) [16]. 3 ммоль CdCl<sub>2</sub> розчиняли в 225 мл деіонізованої води з подальшим додаванням 7,7 ммоль тіогліколевої кислоти з постійним перемішуванням при допомозі магнітної мішалки. Значення рН розчину доводилось до 10 шляхом додавання 1 М NaOH. Через отриманий розчин пропускатись газова суміш Ag та H<sub>2</sub>Te. Варіація часу реакції та молярного співвідношення Cd<sup>2+</sup>:Te<sup>2+</sup>: TGA дозволяє керувати розмірами отриманих наночастинок.

Для проведення хімічного синтезу нанокристалів CdS нами було обрано добре розчинні у воді неорганічні солі хлорид кадмію (CdCl<sub>2</sub>•2,5H<sub>2</sub>O) та сульфід натрію (Na<sub>2</sub>S•9H<sub>2</sub>O). Синтез наночастинок CdS проводився при кімнатній температурі та атмосферних умовах за добре відомою хімічною формулою:



Під час синтезу використовувались технічно чисті високомолекулярні сполуки, які відігравали роль стабілізуючих речовин та діелектричних матриць одночасно: поліфосфат натрію (Na(PO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>,

полівініловий спирт (ПВС) та желатин (ЖТ). Ці речовини відносяться до полімерів, що містять сильно полярні групи, які здатні утворювати комплексні сполуки із іонами металів на поверхні наночастинок, утворюючи структурно-механічний бар'єр для запобігання їх агломерації. Слід зазначити, що дані полімерні речовини, також є добре розчинними у водному середовищі та прозорими у видимій ділянці спектру. На початковому етапі 3 мл водного розчину полімерних речовин змішувались із 12 мл 3 ммоль розчину хлориду кадмію за допомогою ультразвукової установки LD-265U із потужністю 70 Вт. Наступним етапом синтезу наночастинок сульфід кадмію було поступове додавання до отриманого вихідного розчину 12 мл 3 ммоль сульфід натрію (Na<sub>2</sub>S).

Для проведення мікροструктурних досліджень отриманих наночастинок CdTe та CdS був використаний метод трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) за допомогою мікроскопа Теспаі Osiris X-FEG ТЕМ з роздільною здатністю 0,136 нм. Розчини наночастинок із альбуміном крові людини отримувались шляхом додавання відповідної кількості 10 % -го розчину альбуміну крові людини до колоїдного розчину нанокристалів.

Спектри оптичного поглинання реєструвались за допомогою комп'ютеризованої спектrophотометричної установки, яка включає дифракційний монохроматор МДР-23, фотоелектричні помножувачі та комп'ютеризовану систему для реєстрації спектральних залежностей. Збудження фотолюмінесценції здійснювалось гелій-кадмієвим лазером з довжиною хвилі 325 нм та номінальною потужністю випромінювання 10 мВт. Всі дослідження проводились одразу ж після одержання відповідних розчинів.

## II. Основні результати

Результати проведених ТЕМ досліджень колоїдних розчинів наночастинок CdS та CdTe

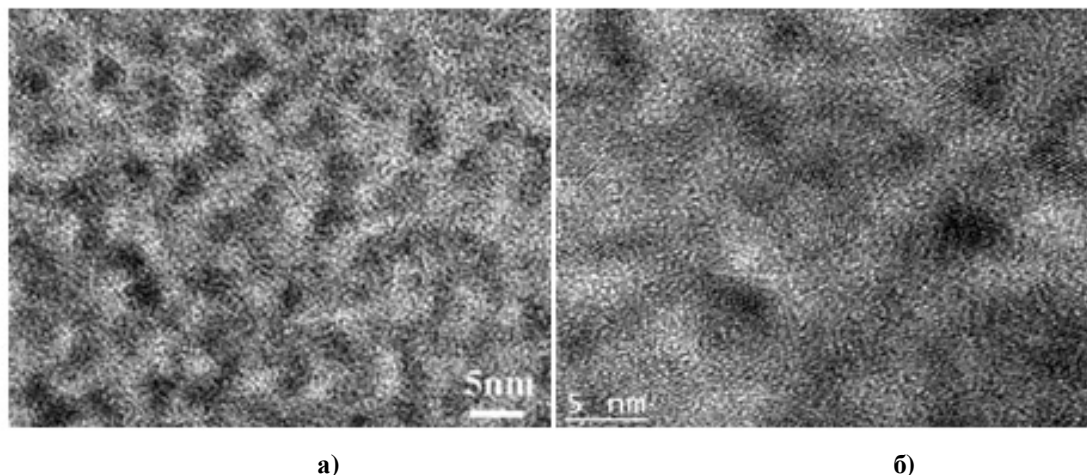
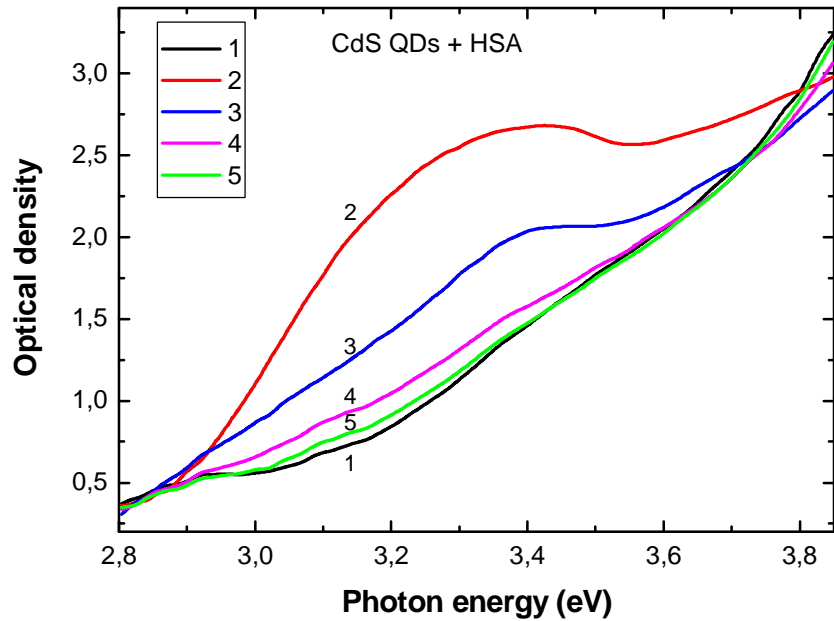
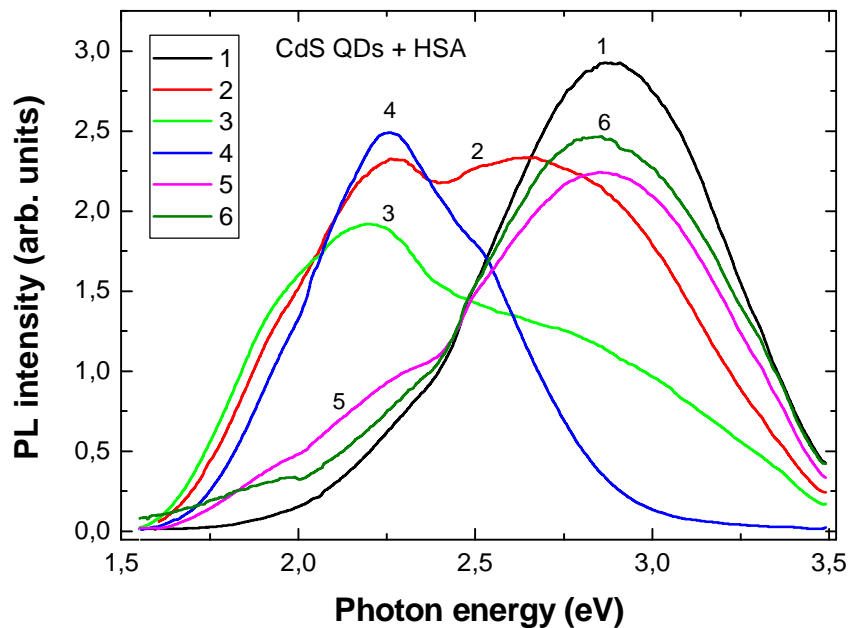


Fig. 1. TEM images of the colloidal CdTe(a) and CdS (b) quantum dots.



**Fig. 2.** Optical densities as function of photon energy for solution of colloidal QDs CdS and HSA: 1 – HSA, 2– CdS QDs, 3– HSA +  $1.5 \times 10^{-3} \text{ mmol l}^{-1}$  QDs, 4–HSA +  $0.9 \times 10^{-3} \text{ mmol l}^{-1}$  QDs, 5–HSA +  $0.6 \times 10^{-3} \text{ mmol l}^{-1}$  QDs).



**Fig. 3.** Photoluminescence spectra of CdS QDs in HSA: 1 – HSA, 2 – HSA +  $1.2 \times 10^{-3} \text{ mmol l}^{-1}$  QDs, 3 –HSA +  $0.9 \times 10^{-3} \text{ mmol l}^{-1}$  QDs, 4 –CdS QDs only, 5 - HSA +  $0.6 \times 10^{-3} \text{ mmol l}^{-1}$  QDs, 6 – HSA +  $0.3 \times 10^{-3} \text{ mmol l}^{-1}$  QDs.

представлено на рис. 1. Проведений аналіз свідчить про незначний розкид за розмірами отриманих нанокристалів та про їх форму, близьку до сферичної.

Проведені дослідження спектрів оптичного поглинання колоїдних розчинів наночастинок CdS та CdTe дозволили виявити короткохвильовий зсув краю фундаментального поглинання в порівнянні із об'ємними зразками (рис. 2). Очевидно, даний зсув є проявом квантово-розмірного ефекту у одержаних нульвимірних структурах. Визначений енергетичний зсув добре узгоджується із аналітичною

апроксимацією отриманою в [17, 18] для 1s екситонних станів нанокристалів із середнім радіусом  $r$ :

$$E(r) = E_g^{bulk} + \frac{p^2 h^2}{2er^2} \left( \frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) - \frac{1,8e}{4\pi\epsilon_0 r} + P \quad (2)$$

де  $r$  - радіус наночастинок,  $E_g^{bulk}$  - ширина забороненої зони об'ємного кристалу,  $m_e^*$  та  $m_h^*$  - ефективні маси електрона і дірки, відповідно,  $e$  - заряд електрона,  $\epsilon$  - відносна діелектрична проникність,  $\epsilon_0$

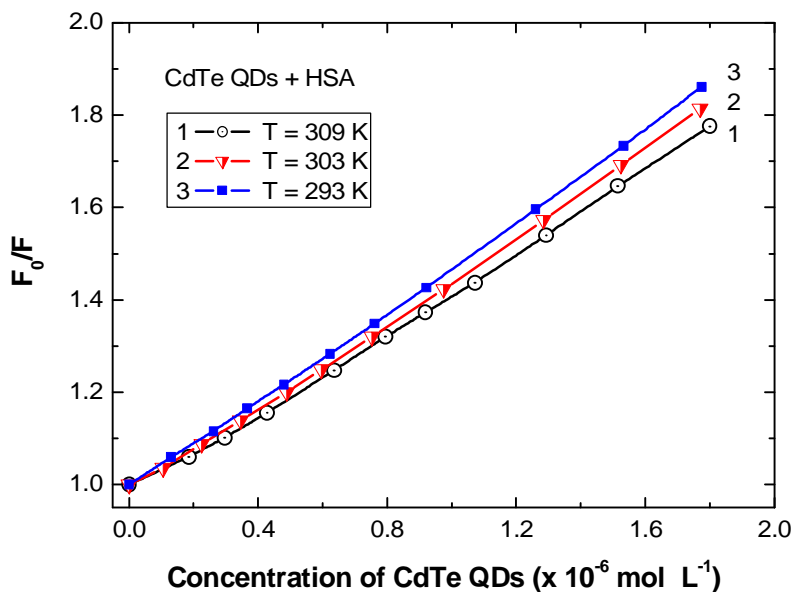


Fig. 4. The Stern–Volmer plots for HSA photoluminescence quenching by CdTeQDs for different temperatures.

– діелектрична стала, P – поляризаційний терм.

Проведені оцінки середнього розміру наночастинок по величині даного зсуву (1) дають значення, приблизно рівні 2,9 нм та 5,1 нм для наночастинок CdTe та CdS, відповідно. Ці значення добре узгоджуються із даними, визначеними із TEM досліджень.

Додавання альбуміну крові людини до колоїдного розчину наночастинок приводить до зменшення оптичної густини та розмиття екситонної структури в спектрах поглинання. Така поведінка свідчить про взаємодію напівпровідникових наночастинок із альбуміном крові людини з утворенням відповідних біокомплексів. На рис. 2 наведено спектр поглинання колоїдних розчинів наночастинок CdS із додаванням HSA. На відміну від біокомплексів нанокристали CdTe – HSA, для яких енергетичне положення максимуму екситонної смуги поглинання не зазнає зміщення [19], для біокомплексів CdS – HSA характерним є незначний довгохвильовий зсув максимуму екситонної смуги поглинання. Така поведінка може бути пояснена залежністю констант зв'язування наночастинок із білками від радіусу нанокристалів [20-22]. Збільшення радіусу наночастинок приводить до відповідного зростання біосумісності альбумінів із напівпровідниковими квантовими точками, що проявляється у спектральних залежностях відповідних біокомплексів.

Одним із найбільш поширених методів діагностики біомолекул є дослідження фотолюмінесценції. Люмінесцентні зонди знайшли широке застосування як імунологічні біодатчики, для виявлення нуклеїнових кислот, іонів, клінічних та діагностичних аналізів [23]. На рис. 3 наведено спектри фотолюмінесценції колоїдного розчину наночастинок CdS (крива 2), а також біокомплексів наночастинок - альбумін крові людини (криві 3-5). Зростання концентрації нанокристалів у розчині

альбуміну крові людини приводить до згасання інтенсивності фотолюмінесценції із незначним довгохвильовим зсувом низько енергетичної смуги випромінювання CdS. Така поведінка добре узгоджується із результатами, отриманими із дослідження спектрів поглинання біокомплексів наночастинок CdS – HSA та свідчить про зростання електростатичної взаємодії нанокристалів CdS із альбуміном крові людини при зростанні біосумісності.

Згасання фотолюмінесценції спостерігалось і при дослідженні фотолюмінесцентних властивостей біокомплексів наночастинок CdTe – HSA [19]. Основна відмінність даних біокомплексів від біокомплексів, які утворюють із альбуміном крові людини наночастинок CdS, полягає у незмінності енергетичного положення максимуму смуги випромінювання аж до концентрації у розчині наночастинок CdTe рівній 1,8 ммоль л<sup>-1</sup>.

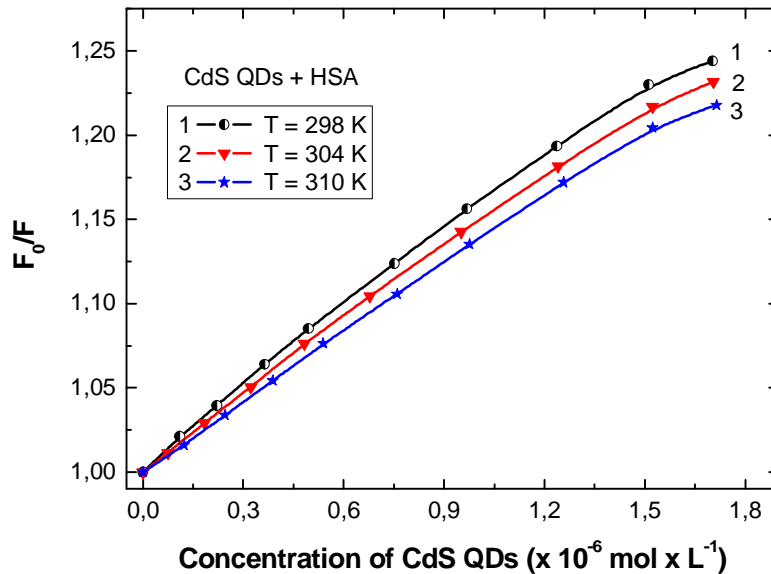
Кількісно аналіз механізмів гасіння фотолюмінесценції при різних температурах проводився виходячи із рівняння Штерна –Фольмера [24]:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q \tau_0 [HЧ] = 1 + K_{SV} [Q] \quad (3)$$

$$K_{SV} = K_q \tau_0 \quad (4)$$

де  $F_0$  та  $F$  – інтенсивність фотолюмінесценції при відсутності та наявності колоїдних наночастинок у концентрованому розчині альбуміну, відповідно;  $K_q$  - біомолекулярна стала згасання;  $\tau_0$  - час життя фотолюмінесценції альбуміну крові людини у відсутності наночастинок;  $[HЧ]$  – концентрація наночастинок,  $K_{SV}$  – стала згасання Штерна-Фольмера.

Графічно, залежність сталої згасання від концентрації наночастинок CdTe у розчині альбуміну крові людини при різних температурах представлена на рис. 4. Прямолінійна залежність співвідношення  $F_0/F$  від концентрації наночастинок у розчині свідчить про переважання статичного механізму



**Fig. 5.** The Stern–Volmer plots for HSA photoluminescence quenching by CdSQDs for different temperatures.

гасіння фотолюмінесценції в даному розчині із утворенням відповідних біокомплексів [25]. Провені обчислення сталої згасання  $K_q$  для біокомплексів наночастинки CdTe - HSA при температурі 300 K дають значення  $2.28 \times 10^{13} \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$ , що є значно більше ніж для значень, які характерні для динамічного механізму гасіння ( $2.0 \times 10^{10} \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$ ) [26, 27], що слугує додатковим підтвердженням статичної природи механізму гасіння. Подібна картина спостерігається і при дослідженні взаємодії наночастинок сульфїду кадмію із альбуміном крові людини ( рис. 5). Лінійна залежність співвідношення  $F_0/F$  від концентрації наночастинок спостерігається до концентрації останніх  $1,5 \cdot 10^{-6} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$ , що свідчить про переважання статичного механізму гасіння [28]. При подальшому зростанні концентрації наночастинок CdS до  $1,7 \cdot 10^{-6} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$  на залежності проявляється незначне відхилення від лінійності в напрямку вісі x. Така поведінка може бути зумовлена зростанням вкладу динамічного механізму гасіння одночасно із незмінною величиною статичного механізму. Проведені обчислення сталої згасання  $K_q$  для біокомплексів наночастинок CdS - HSA на лінійній ділянці залежності співвідношення  $F_0/F$  від концентрації наночастинок дають значення  $0,35 \times 10^{11} \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$ , що є свідченням переважання в даній області статичного механізму гасіння.

## Висновки

Проведені методами оптичної спектроскопії (поглинання та фотолюмінесценція) дослідження

взаємодії колоїдних розчинів наночастинок халькогенідних напівпровідників CdS та CdTe із альбуміном крові людини дозволяють зробити наступні висновки.

Виявлене розмиття екситонної структури в спектрах поглинання наночастинок при додаванні альбуміну крові людини зумовлене утворенням біокомплексів наночастинок - альбумін крові людини. Встановлений незначний довгохвильовий зсув максимумів екситонної структури в спектрі поглинання та смуги фотолюмінесценції біокомплексів наночастинок CdS – HSA зумовлений зростанням “спорідненості” та електростатичної взаємодії нанокристалів CdS із альбуміном крові людини завдяки їх більшому середньому радіусу.

Проведені дослідження спектрів фотолюмінесценції біокомплексів свідчать про статичний механізм гасіння фотолюмінесценції біокомплексів наночастинок – альбумін крові людини. При високих концентраціях наночастинок CdS у розчинах з протеїном проявляється співіснування статичного та динамічного механізмів гасіння фотолюмінесценції.

**Столярчук І.Д.** - доктор фізико-математичних наук, доцент кафедри теоретичної та прикладної фізики і комп'ютерного моделювання;  
**Шпорта О.А.** - аспірант кафедри фізики напівпровідників та наноструктур.

- [1] I.L. Medintz, H.T. Uyeda, E.R. Goldman, H. Mattoussi, Nat. Mater. 4, 435 (2005).
- [2] M. Geszke-Moritz, M. Moritz, Material science and Engineering C 33, 1008 (2013).
- [3] Won Hyuk Suh, Kenneth S. Suslick, Galen D. Stucky, Yoo-Hun Suh, Progress in Neurobiology 87, 133 (2009).
- [4] H.S. Mansur, A. A. P. Mansur, and J. C. González, Polymer 52, 1045 (2011).

- [5] J.B. Blanco-Canosa, M. Wu, K. Susumu, E. Petryayeva, T. L. Jennings, P. E. Dawson, W. R. Algar, I. L. Medintz, *Coordination Chemistry Reviews* 263–264, 101 (2014).
- [6] A.I. Savchuk, M. M. Marchenko, T. A. Savchuk, S. A. Ivanchak, V. I. Fediv, I. S. Davydenko, D. I. Ostafiychuk, *Sensor Letters* 8(3), 419 (2010).
- [7] E.L. Gelamo, C.H.T.P. Silva, H. Imasato, M. Tabak, *Biochim. Biophys. Acta* 84, 1594 (2002)
- [8] L.W. Shao, C.Q. Dong, F.M. Sang, H.F. Qian, J.C. Ren, *J. Fluoresc.* 19, 151 (2009).
- [9] H.S. Mansur and A. A. P. Mansur, *Mater. Chem. Phys.* 125, 709 (2011)
- [10] Q. Xiao, S. Huang, Z.D. Qi, B. Zhou, Z.K. He, Y. Liu, *BBA-Proteins Proteome* 1784, 1020 (2008).
- [11] Q. Xiao, S. Huang, W. Su, P. Li, J. Ma, F. Luo and Y. Liu, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 102, 76 (2013).
- [12] E.A. Bhogale, N. Patel, J. Mariam, P.M. Dongre, A. Miotello, D.C. Kothari, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 102, 257 (2013).
- [13] J. Hemmateenejad and S. Yousefinejad, *J. Molecular Structure* 1037, 317 (2013).
- [14] A.S. Edelstein and R. C. Cammarata, *Nanomaterials: synthesis, properties and applications*. Institute of Physics Publishing, Bristol and Philadelphia, (2001), 596 p.
- [15] K.S. Krishna, Y. Li, S. Li, C. S. S. R. Kumar, *Advanced Drug Delivery Reviews* 65, 1470 (2013).
- [16] D.V. Korbytyak, S. M. Kalytchuk, I. I.Geru, *J.Nanoelectronics and optoelectronics* 4(1), 1 (2009).
- [17] L.E. Brus, *J. Phys. Chem.* 90 (12), 2555 (1986).
- [18] M.G. Bawendi, M. I. Steigerwald, L. E. Brus, *Annual Review of Physical Chemistry* 41, 477 (1990).
- [19] A.I. Savchuk, I.D. Stolyarchuk, P.M. Grygoryshyn, O.P. Antonyuk, T.A. Savchuk, *Proc. SPIE* 9066, 906618 (2013).
- [20] Lai, L., Lin, C., Xu, Z. Q., Han, X. L., Tian, F. F., Mei, P., Liu, Y, *Spectrochim. Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97, 366 (2012).
- [21] J. Xiao, Y. Bai, Y. Wang, J. Chen, X. Wei, *Spectrochim. Acta A Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 76, 93 (2010).
- [22] J.B. Xiao, L.S. Chen, F. Yang, C.X. Liu, Y.L. Bai, *J. Hazard. Mater.* 182, 696 (2010).
- [23] K.E. Sapsford, T. Pons, I.L. Medintz, H. Mattoussi, *Sensors* 6, 925 (2006).
- [24] J.R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*, (3rd ed., Springer SciencetBusiness Media, New York, 2006), p. 277
- [25] J. N. Tian, J.Q. Liu, W.Y. He, Z.D. Hu, X.J. Yao, X.G. Chen, *Biomacromolecules* 5, 1956 (2004).
- [26] J.B. Xiao, X.Q. Chen, X.Y. Jiang, M. Hilczer, M. Tachiya, *J. Fluoresc.* 18, 671 (2008).
- [27] H. Cao, D.H. Wu, H.X. Wang, M. Xu, *Spectrochim. Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 73, 972 (2009).
- [28] M. Ghali. *Journal of Luminescence* 130, 1254 (2010).

I.D. Stolyarchuk<sup>1,2</sup>, O. A. Shporta<sup>2</sup>

## Optical Studies of the Interactions CdS and CdTe Nanoparticles with a Human Serum Albumin

<sup>1</sup>Ivan Franko Drohobych State Pedagogical University, 24 I. Franka str., 82100 Drohobych, Ukraine

<sup>2</sup>Yuriy Fed'kovych Chernivtsi National University, 2 Kotsubynskiy str, 58012, Chernivtsi, Ukraine,

e-mail: [istolyarchuk@ukr.net](mailto:istolyarchuk@ukr.net)

The interaction between CdS, CdTe nanoparticles and human serum albumin (HSA) was studied by absorption and photoluminescence spectroscopy. The performed transmission electron microscopy (TEM) analysis suggests of spherical shape of nanostructures with small size distribution. In the absorption spectra of the colloidal nanoparticles exciton band was found to be shifted to higher photon energy as compared with that for bulk crystals due to the quantum confinement effect. It was shown that addition of HSA to colloidal nanocrystals leads to a gradual decrease of absorption and broadening of exciton structure, resulting in forming nanoparticles–HSA complexes. The photoluminescence quenching results indicated that the quenching effect of nanoparticles CdTe on HSA fluorescence depend on the temperature and the nature of quenching is static. When the concentration of CdS nanoparticles in solution with HSA over  $1,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , in addition to static quenching mechanism of photoluminescence increases of dynamic quenching mechanism.

**Keywords:** CdTe, CdS, nanoparticles, nanocrystal, optical absorption, photoluminescence, fluorescence quenching, human serum albumin.