

Nehézfémion-érzékelő szenzor fejlesztése arany nanorészecskékkel

Stift Máté Kálmán^{1,2)}

¹⁾ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Villamosmérnöki és Informatikai Kar
Elektronikai Technológia Tanszék
1111 Budapest, Eötvös József utca 18.
stift.mate@edu.bme.hu

²⁾ HUN-REN Energiatudományi Kutatóközpont
Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet
1121 Budapest, Konkoly-Thege Miklós út 29.
stift.mate@ek.hun-ren.hu

Tartalmi kivonat. Az arany nanorészecskéket tartalmazó vékonyrétegek optikai és elektrokémiai módszerekkel egyaránt felhasználhatók a folyadékokban lévő szennyeződések és célmolekulák kimutatására. Ilyen érzékelők fejlesztésének során fontos lépés az arany nanorészecskék megfelelő paraméterekkel rendelkező rétegének kialakítása az érzékelő felületén. Jelen cikk ezt a folyamatot mutatja be saját példán keresztül, ahol preparatív ciklikus voltammetriát és kronoamperometriát alkalmaztam, folyamatos optikai nyomonkövetés mellett, ellipszométer segítségével. A jövőben a kutatócsoportunk célja egy olyan nehézfém-detektáló szenzor kifejlesztése, amellyel a mintákat szakképzett munkaerő közreműködése nélkül, ugyanakkor nagy megbízhatósággal, a mintavétel helyszínén ki lehet értékelni. Egy ilyen technológia lehetővé tenné az ivóvíz elemzésével kapcsolatos logisztikai problémák és az idővesztés csökkentését.

Kulcsszavak: elektrokémia, ellipszometria, arany nanorészecskék, szenzorfehérje, ivóvíz.

1. BEVEZETÉS

A nehézfémionokkal szennyezett ivóvíz globális egészségügyi problémát jelent, különösen a fejlődő országokban. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) által az ivóvízben található egyes nehézfémion-koncentrációk határértékeit mutatja be az 1. táblázat.

1. táblázat. A WHO egészségügyi határértékei és egészségügyi kockázatok különböző nehézfémek esetén [1].

Ion	Limit (mg/L)	Egészségügyi kockázat
Cu ²⁺	2,0	Vérszegénység, vesebetegség.
Ni ²⁺	0,07	Daganatos megbetegedések.
Cd ²⁺	0,003	Vesebetegség, magas vérnyomás.
Pb ²⁺	0,05	Neurodegeneratív megbetegedések.
Hg ²⁺	0,001	Ideg- és immunrendszeri megbetegedések.

Az elérhető legkorszerűbb vizsgálati módszerek, az úgynevezett test kitek nem alkalmasak a rutinszerű helyszíni vizsgálatok elvégzésére. Egy hordozható, elektrokémiai elven működő szenzor nemcsak nagyobb érzékenységet eredményezne,

mint a jelenleg használt tesztcsíkos módszerek, hanem az emberi hibafaktorral szemben is ellenállóbb lenne.



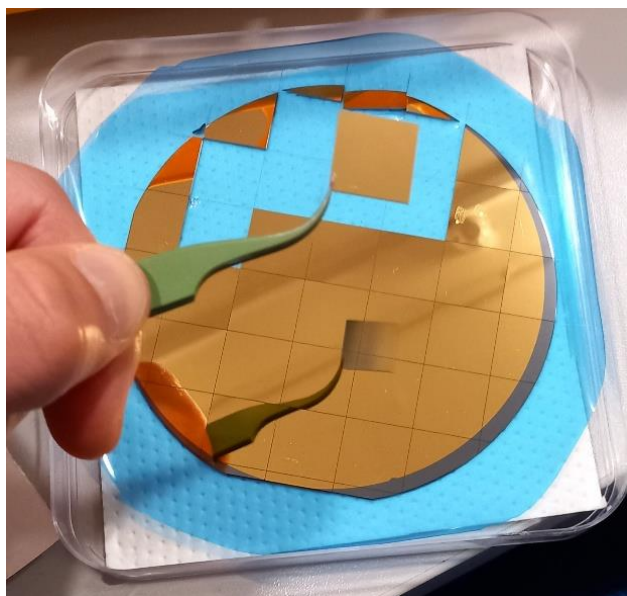
1. ábra. Ólom detektálására használt test kit [2].

2. MÓDSZEREK

A szenzorfejlesztéshez elengedhetetlen laboratóriumi módszerek közül ebben a fejezetben bemutatom az elektrokémiai háttérrel (kitüntetett figyelmet fordítva a ciklikus voltammetriára), ami a rétegleválasztási folyamatokért felelős, és az ellipszometriai mérési technikát, ami a folyamatos optikai megfigyeléshez szükséges.

2.1. A szenzorfejlesztési projekt lépései

A szenzorfejlesztés első lépéseként vékony aranyréteggel párologtatott szilíciumszeletekre arany nanorészecskéket választottam le. Ezek lehetővé teszik a Pannon Egyetem Bio-Nanotechnológiai Karán előállított, speciális szenzofehérjeszálak megkötését a felületen a második lépésben. A módosított fehérjék feloldása 0,1 M HEPES pufferoldatban (pH=7,1) történt, majd preparatív voltammetria segítségével, több cikluson keresztül a mintáink felületére kötöttük a filamentumokat. Ezek a fehérjék speciális oldalláncainak köszönhetően lehetővé teszik a nehézfémionok (kiváltképpen a nikkel) detektálását, így azok koncentrációjának kimutatását a ppm tartományban voltammetriai módszerekkel. A fehérje módosításának részletei a kutatócsoport korábbi cikkében megtalálhatóak [3]. Összefoglalva tehát, mind az arany nanorészecskék, mind a fehérjék mintafelületen történő leválasztása elektrokémiai módszerekkel (preparatív kronoamperometria és ciklikus voltammetria), valamint folyamatos optikai nyomonkövetés (ellipszometria) mellett történt.



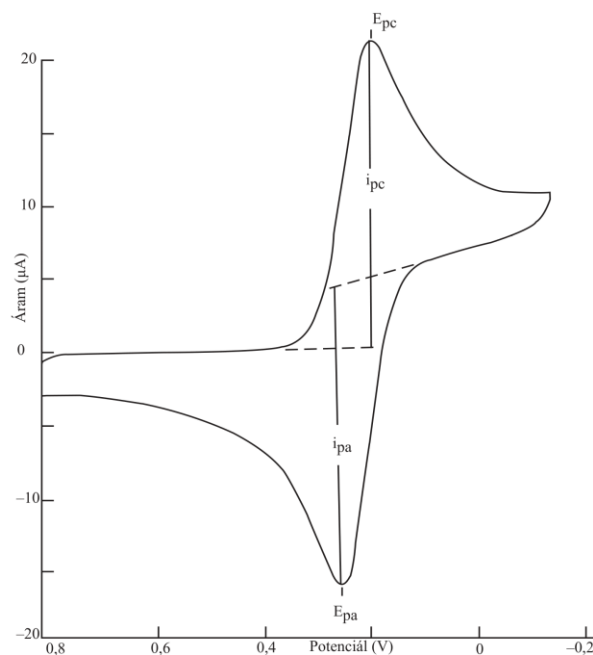
2. ábra. Arannyal párologtatott szilíciumszeletek – a szenzorfejlesztési projekt kiinduló lépése.

2.2. Elektrokémiai eljárások

Az arany nanorészecskéket arannyal párologtatott szilíciumszeletekre történő leválasztása egy 5,14 mM-os hidrogén-tetrakloro-aurát (III) törzsoldatból történt, ezáltal növelve a fajlagos felületet, és elősegítve a szenzofehérje kötődését a felülethez. A redoxifolyamatok mechanizmusainak

vizsgálatára használt technika a voltammetria, más néven amperometria volt, amelynek több formája létezik (ebben a kutatásban kronoamperometriát és ciklikus voltammetriát (CV) használtam). A korábbi mérésekből és a vonatkozó szakirodalomból származó ismereteink alapján feltételeztük, hogy a legtöbb kötés a kezdeti ciklusok során jön létre, ezért a fehérjeadszorpciót a felületen 2 ciklusos mérésekkel valósítottuk meg [4].

A ma is széles körben alkalmazott voltammetriai módszerek mögött álló fizikai folyamat a következő: ismert tartományok között lineárisan változtatott feszültséget kapcsolunk az elektródákra, majd mérjük az elektrokémiai cellán átfolyó válasz-áramot, ami egy úgynevezett voltammogramot eredményez, amely grafikus úton nyújt visszacsatolást a rendszer viselkedéséről. Releváns információk nyerhetők ki az elektródákra alkalmazott feszültség és a mért áram időbeli függése közötti korreláció vizsgálatával.



3. ábra. Egy tipikus ciklikus voltammogram jellegzőgörbéje a CV-mérés során a releváns mennyiségekkel [5].

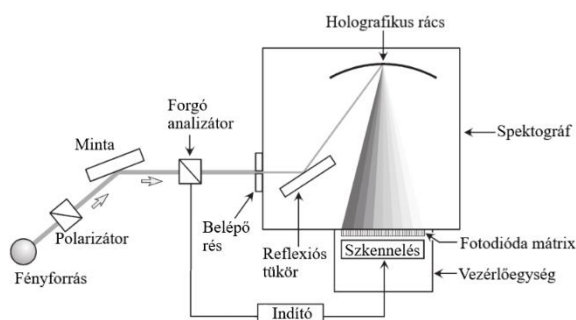
A 3. ábrán látható ciklikus voltammogramon az anódáram és a katódáram csúcsai figyelhetők meg, és ennek megfelelően az ezekhez az árammaximumokhoz tartozó anód- és katódpotenciálok is. A voltammogram grafikus elemzése lehetővé teszi, hogy megkülönböztessük azt a potenciált, amelyen a vizsgált anyag oxidálódik vagy redukálódik; az ilyen hatásokat redoxcsúcsokként definiálhatjuk. A gerjesztő

feszültség idő szerinti első deriváltja adja a pásztázási sebességet, amely a ciklikus voltammetriában fontos paraméter, mivel kisebb pásztázási sebességnél fennáll a hasznos jel elvesztésének veszélye. Általánosságban elmondható, hogy a ciklikus voltammetriai technika konkrét alkalmazásának sikerét nagyban befolyásolja a felhasználó által előre beállítható ciklusok száma, az alkalmazott potenciáltartomány és a mintavételi sebesség is [6].

2.3. Ellipszometria

A nanotechnológiai eljárások során olyan vizsgálati módszerek a kívánatosak, amelyek roncsolásmentes, olcsó és gyors módon, bonyolult mintaelőkészítés nélkül szolgáltatnak információt a különböző metódusokkal létrehozott vékonyrétegek anyagi összetételéről, felületi érdességéről és vastagságáról. Az ellipszometriát, amely a polarizált fény adott mintáról történő visszaverődése során létrejött relatív és abszolút fáziseltolódás változását érzékeli, folyamatkövető technikaként használtam a szenzor fejlesztéséhez, mivel:

- rendkívül érzékeny,
- nem invazív,
- könnyen reprodukálható,
- széleskörűen alkalmazható.



4. ábra. Ellipszométer elvi felépítése [7].



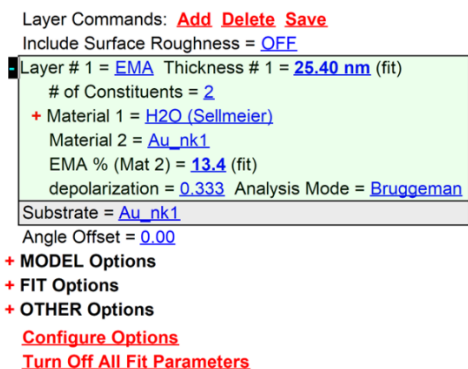
5. ábra. Az általam használt Woollam M-2000 típusú ellipszométer [8].

Az elektrokémiai eljárások és az optikai nyomkövetés egyidejű megvalósítása egy kombinált mérőcella segítségével történt meg, amit a 6. ábra mutat be.



6. ábra. Ellipsometry EC 70 DEG kombinált mérőcella [9].

Az aranynanorészecske-leválasztások kiértékelésének első lépéseként a CompleteEASE ellipszometriai szoftverrel a minta felületének a 2. ábrán látható ellipszometriai modelljét fejlesztettem ki, annak érdekében, hogy a lehető legpontosabban illeszkedjen a valós rétegszerkezethez. A modellben a szubsztrátum a párologtatott aranyréteg, a rajta lévő arany nanorészecske-réteg pedig az arany és a vizes oldat keveréke által reprezentált arany nanorészecske-réteg. Az effektív törésmutatók meghatározásához a Bruggemann-féle effektív index módszert használtam. A rétegek pontos vastagság- és összetétel-paramétereit a modellnek a mért adatokra való illesztésével határoztam meg.

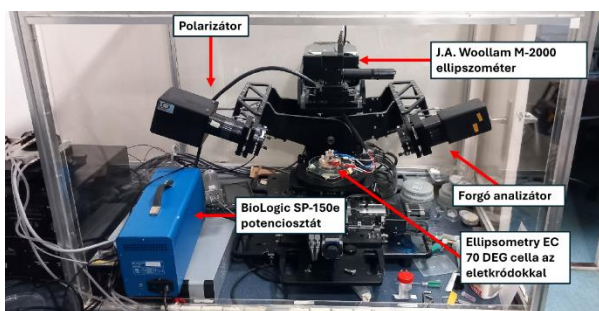


7. ábra. Egyrétegű modell Complete EASE-ben a -450 mV; 0,25 mM; 10 perc paraméterek mellett készült mintán.

A fehérje kikötését követően két további, fehérjefonalakat tartalmazó alréteget vezettem be, ahol a filamentumokat egy 1,45 törésmutatójú Cauchy-féle komponenssel reprezentáltam, és az alsó két alrétegben aranyat, valamint Sellmeier vízből HEPES törésmutatóra módosított referencia törésmutatókat használtam.

2.4. A mérési összeállítás (SEM)

Az arany nanorészecskék és a szenzorfehérje leválasztásához használt mérési elrendezés a 8. ábrán látható. Megfigyelhető a kombinált háromelektrodás mérőcella, az elektrokémiai folyamatokért felelős BioLogic SP-150e potenciosztát és korábban bemutatott J.A. Woollam M-2000 ellipszométer.



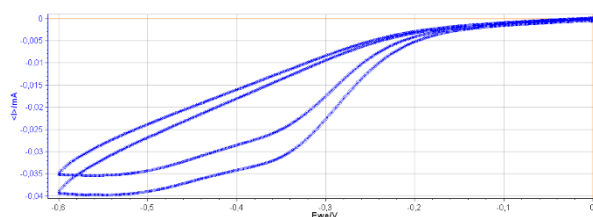
8. ábra. Mérési elrendezés a Műszaki és Fizikai Anyagtudományi Intézet Fotonika Laboratóriumában.

3. EREDMÉNYEK

A voltammetriai és kronoamperometriai eljárások során az ellipszometriai spektrumok valós idejű megfigyelésével arra a következtetésre jutottam, hogy az arany nanorészecskék és a szenzorfehérjék felületen történő leválasztása is sikeres volt – a folyamatok sikerességét többféle aspektusból vizsgáltam.

3.1. Kiértékelés voltammogramok segítségével

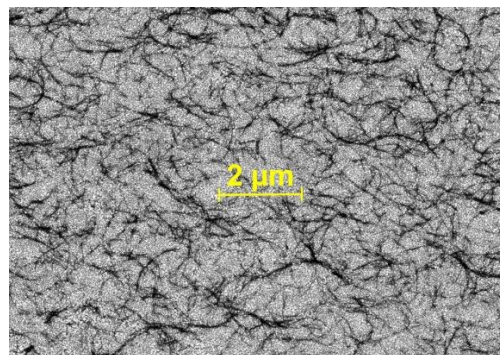
A ciklikus voltammetriai görbéken megfigyelhető széles redoxcsúcs alatti terület arányos az átment töltéssel, amit a fehérjék kikötődésének mechanizmusa okoz. Ha megfigyeljük a 9. ábra által bemutatott, -450 mV, 1,25 mM, 10 perc aranyleválasztási paraméterek mellett készült mintán történt fehérjekikötést, elmondható, hogy a második ciklus során átáramlott töltés az első ciklus azonos paraméteréhez képest kisebb, ami azt jelenti, hogy a második ciklusra elkezdtek elfogyni a kötőhelyek, azaz az arany nanorészecskék leválasztása jótékony hatással volt a felület fehérjekötő képességére.



9. ábra. Fehérjeleválasztást bemutató voltammogram a -450 mV; 1,25 mM; 10 perc paraméterek mellett készült minta esetén.

3.2. Kiértékelés pásztázó elektronmikroszkópia segítségével

A következtetéseimet egy másik, független kiértékeléssel is szerettem volna megerősíteni, ezért elektronmikroszkóp segítségével is megvizsgáltam a mintákat. A 9. ábra egy fehérjefilamentumokkal borított aranynanorészecske-felületet szerkezetét mutatja be, ahol a nanorészecskék mérete kb. 50 nm. A fehérjefilamentumok sötét szálak struktúrák formájában jelennek meg az ábrán.



10. ábra. A -450 mV; 1,25 mM; 10 perc paraméterek mellett készült minta SEM képe 25 000-szeres nagyítás mellett.

4. ÖSSZEFOGLALÁS

Kutatásom célja egy olyan hordozható, arany nanorészecskéken alapuló nehézfémion-érzékelő szenzor fejlesztésének bemutatása, amely elektrokémiai és optikai módszerek ötvözésével alkalmas Ni(II) ionok detektálására ivóvízben. Részletesen tárgyaltam az arany nanorészecskék leválasztásának elektrokémiai hátterét (ciklikus voltammetria), valamint az ellipszometria segítségével történő valós idejű optikai nyomonkövetést. A fehérjestruktúra leválasztásának sikerességét a voltammogramok és az ellipszometria mellett a SEM felvételek is megerősítették.

IRODALOMJEGYZÉK

- [1] M. S. Braga, R. F. V. V. Jaimes, W. Borysow, O. F. Gomes, and W. J. Salcedo, "Portable multispectral colorimeter for metallic ion detection and classification," *Sensors (Basel)*, vol. 17, no. 8, p. 1730, Jul. 2017, doi: 10.3390/s17081730.
- [2] https://www.itseurope.co.uk/cdn/shop/products/its-europe-exact-leadquick-w-bluetooth-water-test-kit-11680253116450_1300x.jpg?v=1571755613.
- [3] Z. Labadi et al., "Sensing layer for Ni detection in water created by immobilization of bioengineered flagellar nanotubes on gold surfaces," *ACS Biomaterials Sci. Eng.*, vol. 6, no. 7, pp. 3811–3820, 2020, doi: 10.1021/acsbiomaterials.0c00280.
- [4] S. Kurunczi et al., "In situ ellipsometric study of surface immobilization of flagellar filaments," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 257, no. 1, pp. 319–324, 2010, doi: 10.1016/j.apsusc.2010.06.095.
- [5] P. T. Kissinger and W. R. Heineman, "Cyclic voltammetry," *J. Chem. Educ.*, vol. 60, pp. 702–706, 1983.
- [6] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, and J. L. Dempsey, "A practical beginner's guide to cyclic voltammetry," *J. Chem. Educ.*, vol. 95, no. 2, pp. 197–206, Feb. 2018, doi: 10.1021/acs.jchemed.7b00361.
- [7] Hiroyuki Fujiwara. *Spectroscopic Ellipsometry: Principles and Applications*. Oct 2007. ISBN 9780470016084. DOI: 10.1002/9780470060193.
- [8] <https://www.jawoollam.com/products/m-2000-ellipsometer>.
- [9] Redox Me. Ellipsometry ec angle of incidence 70°. <https://redox.me/products/ellipsometry-ec-angle-of-incidence-70-deg>. Accessed: 2024-10-21.