

Ю. А. Вашпанов, И. П. Конуп, В. А. Смынтына, В. А. Иваница

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова

ВЛИЯНИЕ АДсорбЦИИ биологических молекул на ЭЛЕКТРОННЫЕ ПАРАМЕТРЫ ПОРИСТОГО КРЕМНИЯ

Експериментально досліджений вплив адсорбції біологічно активних молекул саркозіла, меркаптоетанола і ряду вірусів рослин на електронні параметри напівпровідникових структур на основі поруватого кремнію. Виявлено значні зміни форми вольтамперних і вольтфарадних характеристик після адсорбції біологічних нанооб'єктів. Обговорюється фізичний механізм явищ, які спостерігаються.

Експериментально исследовано влияние адсорбции биологически активных молекул саркозила, меркаптоэтанола и ряда вирусов растений на электронные параметры полупроводниковых структур на основе пористого кремния. Обнаружены значительные изменения формы вольтамперных и вольтфарадных характеристик после адсорбции биологических нанообъектов. Обсуждается физический механизм наблюдаемых явлений.

Influence of adsorption of biologically active molecules sarcosile, mercaptoethanol and of some viruses of plants on electronic parameters of semiconductor structures on the basis of porous silicon is experimentally investigated. Significant changes of the form of current-voltage and farad-voltage characteristics after adsorption of biological nanoobjects are discovered. The physical mechanism of the observed phenomena is discussed.

Введение. В области биологии, медицины и электроники в конце прошлого века и в начале наступившего сделаны принципиально важные открытия. Наступивший 21 век называют веком биологических и информационных технологий, поскольку ожидается, что эта область человеческих знаний принесет существенные изменения в качество жизни людей. В частности, разработка биочипов является одним из наиболее актуальных и быстро развивающихся направлений современной биологии и медицины [1]. В развитие этого принципиально важного направления науки вносят вклад принципиально новые физические методы исследований [2]. В частности, необходимо особо отметить методы сканирующей туннельной и атомно-силовой микроскопии [3].

Окружающая нас природа содержит значительное количество биологических молекул, вирусов, бактерий и других микроорганизмов, многие из которых негативно влияют на экологию, качество продуктов питания, продолжительность жизни людей. В настоящее время важное значение имеет разработка методов детектирования (обнаружения) таких биологических нанообъектов. Поэтому одной из наиболее перспективных и быстро развивающихся областей науки является нанобиосенсорика. Значительная часть биосенсоров находятся в состоянии интенсивной разработки. Например, в лаборатории Pacific Northwest National Laboratory разработан электронный сенсор, определяющий наличие биологического заражения в течение нескольких минут [4]. Прибор предназначен для поиска и идентификации возбудителей заболеваний и оценки серьезности бактериологической и вирусной угрозы.

В настоящее время имеются разработки полупроводниковых сенсоров на основе новых и перспективных материалов, таких как пористый кремний [5]. Важной особенностью пористого кремния является высокая адсорбционная способность по отношению к биологическим и органическим молекулам [6]. Это свойство кремния уже используется в медицине для создания материалов, получивших название Biosilicon [7]. Развитие полупроводниковой биосенсорной электроники стимулирует проведение экспериментальных исследований электронных и адсорбционно-десорбционных

процессов, происходящих на поверхности полупроводниковых материалов типа пористого кремния при взаимодействии их с молекулярными и надмолекулярными объектами биологической среды. Влияние адсорбции таких биологических объектов на полупроводниковые структуры на основе пористого кремния вызывает сложные изменения электронных свойств материала и проявляется в изменениях закономерностей адсорбционных процессов, приводит к вариациям концентрации и природы поверхностных центров биологического происхождения. До сих пор практически не исследованы физические механизмы взаимодействия полупроводниковых материалов с вирусами, бактериями, молекулами ДНК и другими биологическими нанобъектами.

Целью настоящей работы является исследование взаимодействия ряда вирусов растений и биологических молекул с поверхностью полупроводниковых структур на основе пористого кремния.

1. Методы исследований

Образцы пористого кремния были получены методом анодного электрохимического травления монокристаллического кремния в электролите на основе 48%-ного водного раствора фтористо-водородной кислоты [8]. В процессе травления используют световую и ультразвуковую обработку поверхности кремния. На рис. 1. показана морфология поверхности образцов пористого кремния, полученная методом атомно-силовой микроскопии в институте физики полупроводников НАН Украины.

На поверхность пористого кремния наносились специальные прозрачные для адсорбируемых молекул электрические контакты из алюминия. Структура исследованных образцов представлена на рис. 2.

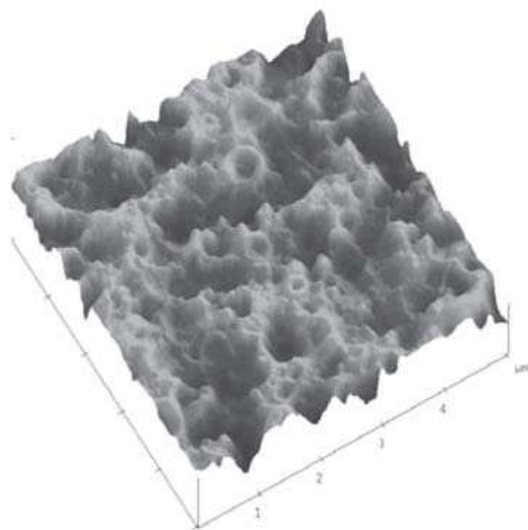


Рис. 1. Микрофотография участка поверхности пористого кремния, полученная методом атомно-силовой микроскопии

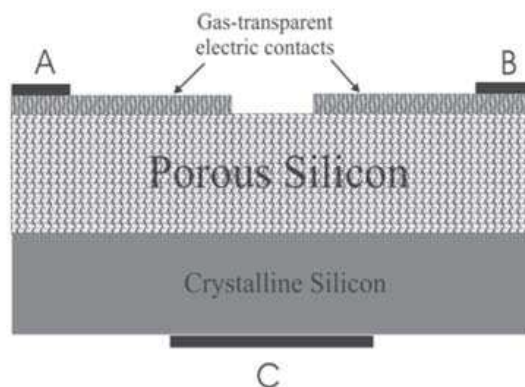


Рис. 2. Структура образцов на основе пористого кремния с контактами из алюминия

Выбранные для исследований образцы проходили дополнительную плазмохимическую обработку ионами фтора и водорода. Ионы фтора и водорода оказывают стабилизирующее действие на электрические свойства материала. Легирование ионами водорода приповерхностной области материала приводит к насыщению оборванных при электрохимическом травлении связей кремния. Фтор активнее кислорода, поэтому после обработки фтором контакт образца с воздушной атмосферой не сопровождается изменениями состава поверхности материала. Эта технологическая операция замедляет процессы "старения" пористого кремния при взаимодействии с воздухом [9].

Выделение вирусов растений осуществляли по следующей методике:

В механическом гомогенизаторе разрушали ткани системно инфицированных ли-

стве тест-растения (табака – *Nicotiana clevelandii*) в 0,05 фосфатном буфере, pH 7,5 (2 мл/г листа); Фильтровали экстракт через тонкомелкопористую ткань и добавляли н-бутанол до 8,5 % (по объему); Через 20 минут удаляли коагулировавшие компоненты центрифугированием в течение 10 минут при 5 000 g; Осаждение и первичную очистку вируса проводили методом химического осаждения (преципитации). К полученной суспензии добавляли сульфат аммония 76 г на 100 мл суспензии при 20°C. Седименты ресуспендировали в дистиллированной воде и центрифугировали снова при 5000 g. Остатки сульфата аммония из суспензии удаляли методом диализа в дистиллированную воду (против 100 кратного объема). Окончательную очистку вируса проводили колоночной хроматографией на бинарном сорбенте: сефадекс + гранулированная агароза (сефароза 2В).

Выделенные вирусы растений (NEPO-вирусы) имеют округленную (икосаэдрическую) форму (рис. 3) и их размеры находятся в пределах от 30 до 100 нм.

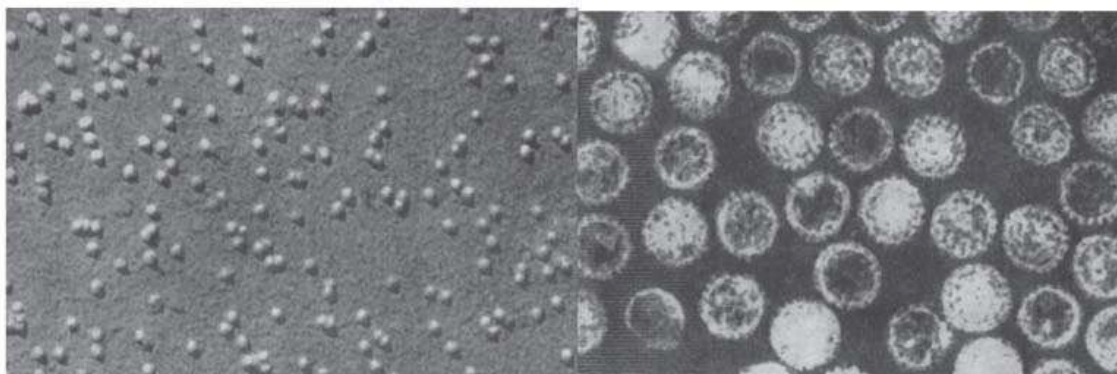


Рис. 3. Микрофотографии NEPO- вирусов растений с разным увеличением [10]

Бактериальную ДНК выделяли по методу Гловера [11]. В работе использовали клетки из культуры *Salmonella enteritidis*, находящейся в поздней экспоненциальной фазе роста. Этот метод выделения ДНК основан на экстракции смесью хлороформ-изоамилового спирта и осаждении молекул ДНК этиловым спиртом.

Для исследований выбрали также поверхностно активное органическое соединение саркозил. Саркозил является хорошей моделью биогенных липидов и сурфактантов, в отличие от последних саркозил химически стабилен, не окисляется кислородом. Молекулы саркозила являются полярными и амфифильными, как и биологические липиды способны образовывать высокоорганизованные структуры, как в водном растворе, так и на границе раздела фаз. Полярная часть молекулы (саркозиновый фрагмент) является гидрофильной и упорядочивает молекулы воды в своем непосредственном окружении в результате образования водородных связей или ион-дипольных взаимодействий между ионизированными группами или полярными атомами и молекулами воды.

Для проведения исследований были выбраны образцы пористого кремния с исходными практически идентичными электронными параметрами при изготовлении (кристаллы изготовлены из одной матрицы анодированного кремния). Размеры выбранных биологических молекул и вирусов были меньше размеров пор в структурах пористого кремния.

Электрофизические измерения образцов пористого кремния производились на установке, позволявшей производить измерения вольтамперных характеристик пористого кремния в вакууме, на воздухе и после адсорбции молекул саркозила, меркаптоэтанола, ДНК, GVA, GFLV, TORSV – вирусов растений.

2. Результаты исследований и их обсуждение

Типичные вольтамперные характеристики образцов пористого кремния, измеренные при адсорбции GVA, GFLV, TORSV – вирусов (рис. 4), молекул ДНК, меркаптоэтанола (рис. 5), саркозила (рис. 6), вольтфарадные характеристики при адсорб-

ции вирусов растений (рис. 7), измеренные при комнатной температуре, имеют сложный характер. Изменение вольтамперных и вольтфарадных характеристик однозначно связано с наличием биологических молекул и вирусов внутри пористого слоя. Обе ветви вольтамперных характеристик образцов примерно идентичны. Погрешность измерений составляла менее 1%, поэтому немонотонный характер вольтамперных характеристик может быть связан с внутренней микроструктурой образцов.

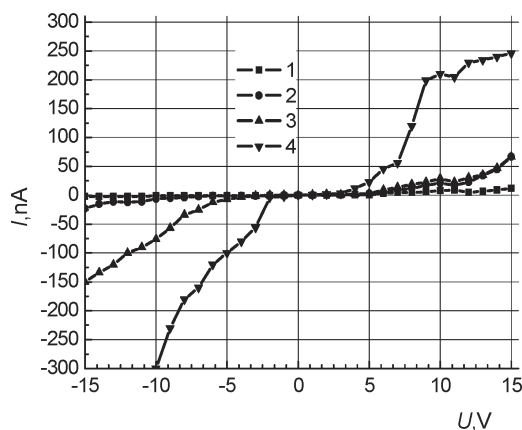


Рис. 4. Вид ВАХ, измеренных в планарном режиме структур ПК в исходном (кривая 1), при адсорбции TORSV, GVA, GFLV вирусов растений и (кривые 2-4 соответственно)

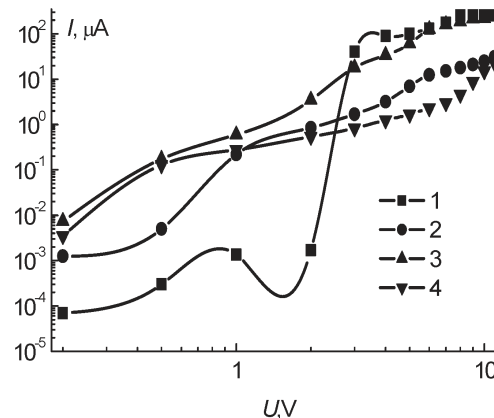


Рис. 5. Вид ВАХ, измеренные в планарном режиме структур ПК, при адсорбции биологических молекул ДНК_{se}, ДНК_c, фермент-ДНК_{аз} и меркаптоэтанола (кривые 1-4 соответственно)

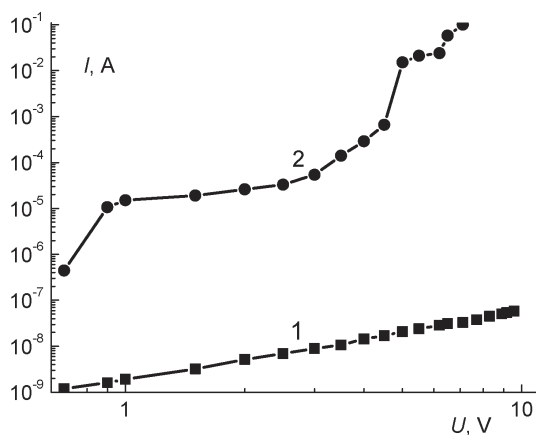


Рис. 6. ВАХ структур ПК до (кривая 1) и после (кривая 2) адсорбции поверхностно активных биологических молекул саркозила

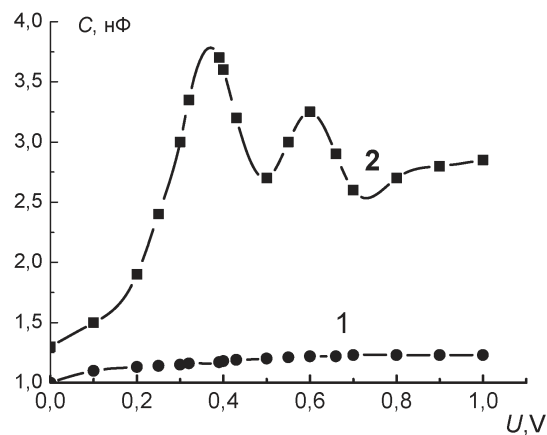


Рис. 7. Типичная вольтфарадная характеристика ПК до (1) и после адсорбции TORSV вирусов (2)

Такое поведение ВАХ и ВФХ, которое наблюдается после адсорбции биологических молекул и вирусов растений, ни один из известных механизмов [12] не может описать с достаточной полнотой. Если считать, что структура пористого кремния состоит из значительного числа соединенных между собой нитей разного диаметра, то при наличии омических контактов из алюминия механизм переноса тока можно связать с изменениями свойств барьеров, формируемых между ними. Очевидно, что

имеет место значительное число включенных последовательно и параллельно структур, имеющих переменную ширину зоны и обладающих эффектом выпрямления. Тогда характер ВАХ определяется прохождением тока по включенной в прямом направлении диодной цепочке. Инверсия знака поля приводит к смене диодных цепочек, по которым течет ток.

Как уже упоминалось ранее, ПК получается в результате анодной обработки кремния в растворах HF, где происходит образование узких “каналов травления”, уходящих вглубь кремниевого образца. Поры в ходе травления увеличиваются и расширяются, в результате на поверхности остается множество остатков этих стенок в виде нитей, расположенных преимущественно перпендикулярно поверхности или в направлении кристаллографических осей. Толщина таких нитей не превышает единиц нанометров, что обуславливает возникновение ряда квантово-размерных эффектов, в частности увеличение ширины запрещенной зоны.

Вторичные нейтральные атомы кремния, образующиеся при реакции электрохимического травления, также оказываются адсорбированными поверхностью кремниевой подложки. При этом на поверхности кремния образуются своеобразные начальные дефекты – “лишние” поверхностные атомы кремния. Их концентрация превышает поверхностную концентрацию “материнской” решетки, и происходит хаотическое распределение вторичных атомов кремния по поверхности. В результате квантово-размерного расширения запрещенной зоны их электрическое сопротивление оказывается больше исходного, что увеличивает их устойчивость к растворению – возникают поверхностные нанокристаллиты. Возникают поверхностные неоднородности квантово-размерного масштаба, то есть области с повышенной и пониженной пористостью, различным диаметром пор и взаимным распределением.

Изучение химического состава выявило, что структура материала содержит значительное количество атомов водорода, относительная концентрация которого на поверхности изменяется от 3 до 46 ат.%. Тогда можно сделать вывод, что электронная структура пористого кремния может быть объяснена в рамках модели изотипного перехода с максимальной шириной запрещенной зоны на поверхности и минимальной – в межпоровом пространстве. Таким образом, пространственное изменение ширины зон и сильная флуктуация потенциала в структуре ПК приводит к образованию областей положительного и отрицательного зарядов.

В [13] обнаружено появление электродвижущей силы, природа которой связывается с наличием встроенных микрополей в неоднородной структуре материала, величина которой изменяется при освещении и адсорбции полярного газа. Образование встроенного поля происходит на стадии анодной электрохимической обработки кремния. Неоднородные геометрические и электронные свойства материала приводят к пространственной зависимости ширины запрещенной зоны и флуктуации потенциала в структуре материала. Это ведет к пространственной локализации электронов и дырок в минимумах потенциальной энергии. При локализации заряда $10^{17} q$ (q - заряд электрона) в минимумах потенциальной энергии с расстоянием 10 нм вблизи формируются внутренние электрические микрополя, достигающие значений 10^5 В/см. Это приводит к высокому значению емкости образцов пористого кремния [14].

Одной из особенностей ультрадисперсных частиц малого размера является уменьшение способности электронов экранировать электростатические поля, вследствие чего наблюдается увеличение радиуса взаимодействия между электронами. Вследствие разных размеров пор структура пористого кремния является крайне неоднородной вдоль поверхности. Пространственное квантование электронного энергетического спектра приводит к собственным значениям энергии электронов и дырок, зависящим от поперечного размера нитей. В нашем случае нитевидные кластеры кремния разного диаметра включены последовательно в планарном режиме измерений, что приводит к эффекту выпрямления и появлению локальных внутренних микробарьеров, ограничивающих движение тока.

При появлении внешнего напряжения на контактах вследствие неоднородности структуры пористого кремния напряжение падает на отдельных микро неоднородных участках со значительным значением флуктуации потенциала, которые ограничивают протекание тока вдоль структуры ПК. При размерах неоднородности порядка 20 нм и $U=0,02$ В величина электрического поля достигает 10^5 В/см, что сопоставимо с величиной внутренних полей в ПК. С ростом внешнего напряжения на контактах U происходит перераспределение микрополей по структуре материала. Это должно приводить к изменению диода, на котором падает напряжение и, как следствие, изменению его параметров. В этом случае форма ВАХ зависит от приложенного напряжения, что наблюдается экспериментально (рис. 3).

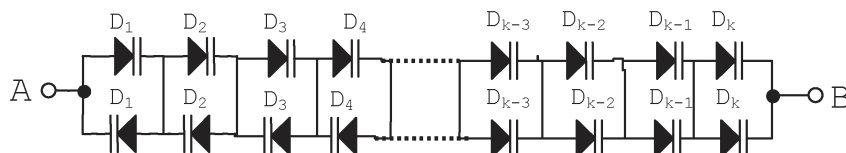


Рис. 8. К модели токопередачи образцов пористого кремния между планарных контактов А и В

Физической причиной изменения ВАХ образцов ПК при нанесении вирусов может быть наполнение пор биологическим материалом, обладающим значительной диэлектрической проницаемостью. Немонотонный вид ВАХ может быть интерпретирован также переключением диодных структур с различными емкостными параметрами.

Чтобы выделить вклады отдельных элементов структуры в проводимость, опишем свойства структуры с использованием простейших эквивалентных схем. Ток, текущий в прямом направлении у k -го полупроводникового диода, определяется по формуле: $I = I_0 \exp(qU/c_k \phi)$. Величина $\phi = kT = 0,023$ эВ – температурный потенциал, параметр c_k – коэффициент неидеальности k -го диода.

Изменение напряжения на образце приводит к перераспределению напряжения на диодных структурах и их переключению (рис.8). Только в этом случае параметр неидеальности c может изменяться по величине. Параметр c может быть определен из кривой вольтамперных характеристик по формуле: $c(U) = [\phi q^{-1} d(\ln I)/dU]$. Численное дифференцирование логарифма тока можно выполнить в программе ORIGIN Lab.7.0. Зависимость $c(U)$ имеет немонотонный характер, свидетельствующий в пользу предложенной модели.

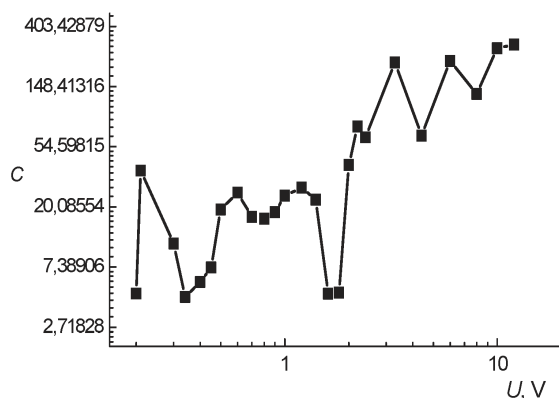


Рис. 9. Зависимость параметра c от напряжения, приложенного к образцу ПК с нанесенными молекулами саркозила

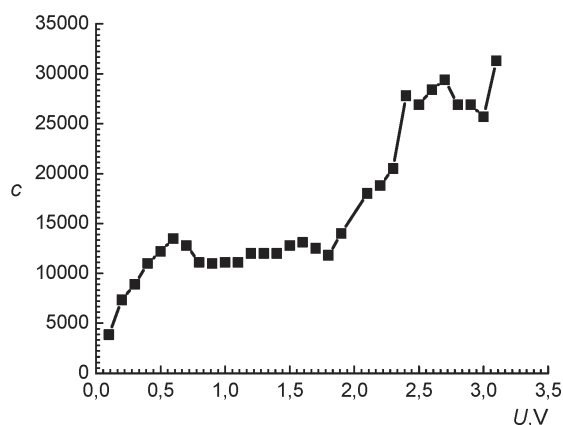


Рис. 10. Зависимость параметра c от напряжения, приложенного к образцу ПК с нанесенными молекулами меркаптоэтанола

На рис. 9-13 представлены рассчитанные зависимости $c(U)$ для адсорбции вирусов и биологических молекул. Изменение параметра неидельности c при адсорбции биологических молекул, по-видимому, может быть связано с изменением диффузионной длины L инжектированных электронов в диодах за счет захвата дырок на ловушки и темпа рекомбинации. Полученное экспериментально изменение параметра c находится в пределах от 1 до 30000, что ранее никогда не наблюдалось при адсорбции неорганических газов.

В области больших смещений значение тока также увеличивается, что характеризуется большими значениями параметра c . В этом случае увеличение прямого тока может быть связано с процессом туннелирования носителей через поверхностные состояния, связанные с адсорбированными биологическими молекулами. До адсорбции биологических объектов величина параметра c не превышала значения 2. Однако под влиянием исследуемых адсорбированных биологических объектов значение параметра существенно возрастает и имеет немонотонный характер при увеличении напряжения. При этом характер изменения $c(U)$ зависит от типа нанесенного биологического объекта (рис. 9-13).

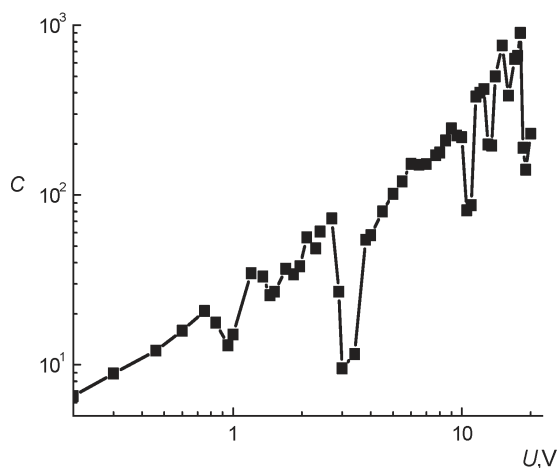


Рис. 11. Зависимость параметра c от напряжения, приложенного к образцу ПК с вирусом TORSV

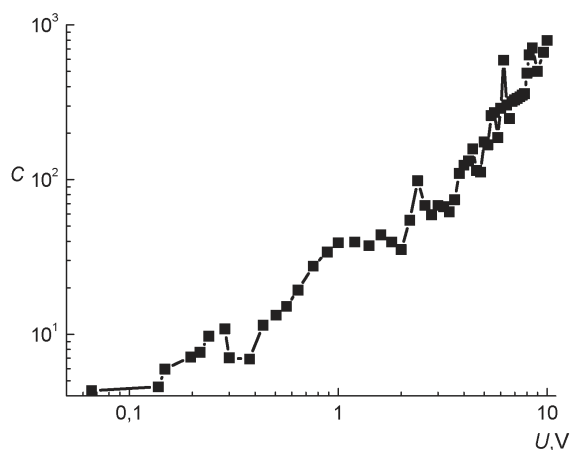


Рис. 12. Зависимость параметра c от напряжения, приложенного к образцу ПК с вирусом GFLV

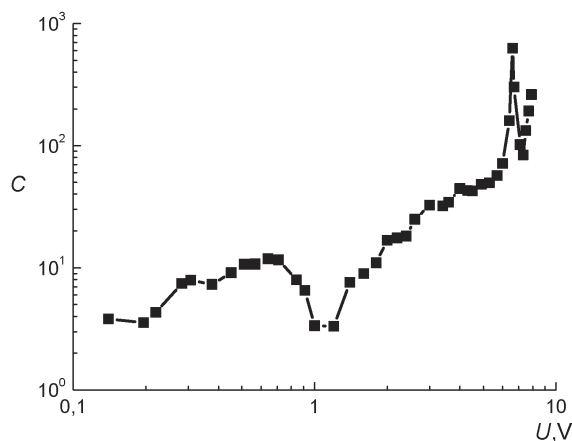


Рис. 13. Зависимость параметра c от напряжения, приложенного к образцу ПК с вирусом GVA

Выводы. По результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы: на электронные параметры пористого кремния оказывает существенное влияние адсорбция нановирусов растений и органических молекул саркозила и меркаптоэтанола; наблюдаемые явления, скорее всего, связаны с изменениями в области микробарьеров, сформированными между нитевидными кристаллами пористого кремния при адсорбции биологических молекул; измерение параметра неидеальности полупроводниковых структур может быть использовано для распознавания различных типов вирусов и биологически активных молекул.

1. **Мирзабеков А. Д.** Биочипы в биологии и медицине XXI века // Вестник РАН.–2003.– Т.73, №5. – С. 412.
2. **Андриевский Р. А., Рагуля А. В.** Наноструктурные материалы. – М.: Академкнига, 2005. – 256 с.
3. **Яминский И. В., Еленский В. Г.** Сканирующая зондовая микроскопия. – М.: Научный мир, 2001. – 320 с.
4. Pacific Northwest National Laboratory. – <http://www.physorg.com>.
5. **Вашпанов Ю. А., Смынтына В. А.** Адсорбционная чувствительность полупроводников. Монография. – Одесса: Астропринт, 2005. – 216 с.
6. **Vashpanov Yu. A., Konup I. P.** Changes of electronic properties of porous silicon under adsorption of viruses of plants // Proceeding of X Ukraine-Polish symposium “Theoretical and experimental studies of interfacial phenomena and their technological applications”, Lviv, 2006, Part.2. – PP.195–197.
7. Porous silicon - the intelligent biomaterials. – <http://www.qinetiq.com>.
8. **Вашпанов Ю. А., Перекрестов И. П.** Влияние адсорбции полярных молекул на электрические свойства структур на основе пористого кремния с фторированной поверхностью // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2005. – №10. – С.108 – 112.
9. **Лукьянова Е. Н., Ефимова А. И., Козлов С. Н., Демидович Г. Б.** Процессы “старения” пористого кремния при взаимодействии с воздухом и парами воды // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2003. – № 9. – С. 28 – 34.
10. **Проценко А. Е.** Морфология и классификация фитопатогенных вирусов. – М.: Наука, 1966. – 187 с.
11. **Гловер Д.** Клонирование ДНК.– М.: Мир, 1988.– 417 с.
12. **Зюганов А. Н., Свечников С. В.** Инжекционно-контактные явления в полупроводниках. – К.: Наукова думка, 1981. – 258 с.
13. **Вашпанов Ю. А., Халмурат Азат, Смынтына В. А.** Релаксация тока в микропористом кремнии // ЖТФ. –1999. –Т.69. –Вып.11. – С.141–142.
14. **Вашпанов Ю. А., Шушков А. Н.** Влияние адсорбции полярных молекул воды на емкость пористого кремния // Вісник Одеського університету. – 2003. –т.7. – вип.3: Сер. “фіз.мат. науки. – С.234–239.