



УДК 546.3:544.77:577-04

М. М. Борова, А. П. Науменко, Я. В. Пірко, Т. А. Круподьорова,
А. І. Ємець, академік НАН України Я. Б. Блюм

Отримання квантових точок CdS з використанням гриба *Pleurotus ostreatus*

*Шляхом біологічного синтезу під час культивування міцелію гриба *Pleurotus ostreatus* з солями CdSO₄ й Na₂S отримано напівпровідникові наночастинки (квантові точки) CdS. За допомогою спектрального аналізу утворених частинок встановлено, що отримані піки поглинання та випромінювання є типовими для наночастинок CdS. Використовуючи метод просвічувальної електронної мікроскопії, було продемонстровано, що квантові точки CdS утворюють щільні скупчення діаметром 40–70 нм. Розмір окремих наночастинок у межах цих скупчень становить 5–8 нм.*

Біосинтез напівпровідникових наночастинок (квантових точок) на сьогодні є новим перспективним напрямом нанобіотехнології. Вони мають різноманітний спектр застосувань, зокрема їх використовують у біологічних дослідженнях для візуалізації рецепторів у живих клітинах, для детектування токсинів, імунофлуоресцентного мічення білків, протипухлинної терапії, а також в оптоелектроніці як компоненти сонячних батарей, світлодіодів, інфрачервоних фотодетекторів тощо [1].

Відомо [2], що деякі живі організми мають ендогенну здатність до синтезу неорганічних матеріалів. Як приклад, аморфний оксид кремнію отримують за допомогою діатомових водоростей, мінерал магнетит синтезують магнітотактичні бактерії, тому ці організми розглядають як можливі ефективні екологічні нанофабрики. Перспективність біологічного синтезу наноматеріалів полягає в тому, що цей процес не передбачає використання токсичних та дорогих реактивів, а його здійснення не є занадто трудомістким. Крім того, отримані в результаті “зеленого” синтезу наночастинки є безпечними для навколишнього середовища та здоров’я людини [3, 4]. Треба відзначити, що різні наночастинки починають утворюватися тоді, коли мікроорганізми або клітини еукаріотичних організмів захоплюють цільові іони із зовнішнього середовища та перетворюють іони металів на елементарний метал за рахунок активності власних ферментів [3].

Квантові точки сульфїду кадмію привертають значну увагу дослідників саме через свої унікальні електронні та оптичні властивості [2, 3]. У ряді робіт нанокристали CdS було синтезовано з використанням бактеріальних систем та дріжджів при додаванні до біологічного

© М. М. Борова, А. П. Науменко, Я. В. Пірко, Т. А. Круподьорова, А. І. Ємець, Я. Б. Блюм, 2014

матеріалу відповідних солей, зокрема CdCl_2 , CdSO_4 й Na_2S [2, 5–7]. Проте варто зауважити, що альтернативним шляхом для отримання екологічних квантових точок може бути використання грибів. Грибні системи є досить ефективними, оскільки вони мають власні ферменти — сульфатредуктази, які при виділенні в середовище у присутності відповідних солей металів здійснюють відновлення сульфатних груп, що дає змогу синтезувати наночастинки CdS позаклітинним шляхом. Також суттєвим є те, що гриби набагато ефективніше щодо бактерій секретують у середовище білки, це сприяє високому виходу наночастинок [8]. Тому мета нашого дослідження полягала в розробці шляхів отримання квантових точок сульфідів кадмію за допомогою базидіального гриба, а саме *Pleurotus ostreatus* (родина *Pleurotaceae*). Вибір цього гриба був обумовлений тим, що він характеризується антибактеріальною та антипухлинною активністю, тому його екстракти є важливою сировиною для виготовлення деяких лікарських препаратів [9].

Для отримання квантових точок сульфідів кадмію міцелій гриба *P. ostreatus* культивували з солями CdSO_4 й Na_2S . У досліджах було використано базидіальний гриб *P. ostreatus* (Jacc.) P. Kumm. (штам 551) з колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України. Культивування *P. ostreatus* здійснювали в конічних колбах об'ємом 100 й 50 мл глюкозопентонодріжджового середовища (ГПД), до складу якого входили такі компоненти, г/л: глюкоза 25,0; пептон 3,0; дріжджовий екстракт 2,0; KH_2PO_4 1,0; K_2HPO_4 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,25. Після стерилізації поживного середовища (1 атм, 20 хв) у колби вносили інкулюм — по три диски міцелію 7-добової культури гриба розміром 7 мм, попередньо вирощеного на чашках Петрі з агаризованим ГПД-середовищем. У подальшому міцелій *P. ostreatus* вирощували поверхнево у термостаті при температурі $(26 \pm 2)^\circ\text{C}$. На 10 добу стерильно відокремлювали поверхневий міцелій *P. ostreatus* від культуральної рідини та багаторазово промивали його бідистильованою водою (не менше 10 разів по 100 мл), щоб позбутися залишків поживного середовища. Далі до цього міцелію додавали 50 мл бідистилату та культивували при $26\text{--}28^\circ\text{C}$ впродовж 4 дб.

Для біологічного синтезу квантових точок CdS у колби з міцелієм вливали по 2 мл $0,025$ моль/л розчину CdSO_4 (Sigma-Aldrich, США, ступінь чистоти $\geq 99,99\%$) та культивували впродовж 10 дб. Після цього до середовища додавали 100 мкл $0,5$ моль/л розчину Na_2S (Sigma-Aldrich, США, ступінь чистоти $\geq 98\%$). Після 7 дб культивування відбирали 2 мл культуральної рідини та центрифугували в двох окремих пробірках об'ємом 1,5 мл (Епендорф, США) впродовж 10 хв при 8000 об/хв. Обережно збирали надосадову рідину та пропускали її через нітроцелюлозні фільтри Millipore (США) (діаметр пор $0,22$ мкм) для подальшого аналізу зразків. Як контроль використовували зразки без додавання CdSO_4 .

Спектри поглинання отриманих зразків вимірювали на спектрофотометрі Specord UV–VIS. Спектри поглинання розчинів записано в стандартних кварцових кюветах товщиною 1 см (діапазон пропускання $170\text{--}1000$ нм). Похибка запису хвильових чисел становила за паспортом 20 см^{-1} , але з врахуванням її при цифровій обробці та випадкових факторів реальною є похибка до 80 см^{-1} . Значення оптичної густини визначали з точністю до 1% довжини оптичної шкали в діапазоні оптичної густини від 0 до 1,4. Спектрограма, що записана самописцем Specord UV–VIS, була просканована комп'ютерним сканером і переведена в рисунок у вигляді jpeg-файлу, який обробляли програмним пакетом GetData, в результаті чого спектр було отримано у числовому вигляді dat-файлу. Отримані числові дані обробляли за допомогою прикладного програмного пакета Origin Pro 8.0.

Спектри люмінесценції квантових точок CdS при кімнатній температурі вимірювали на серійному спектрофлуориметрі Cary Eclipse (Varian Inc., Agilent Tech.). Максимальна роз-

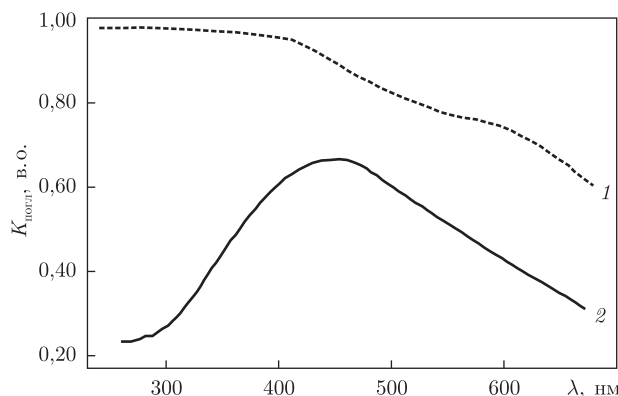


Рис. 1. Спектри поглинання чистої культури гриба *P. ostreatus* (1) та квантових точок CdS (2)

дільна здатність приладу Cary Eclipse — 1,5 нм, що визначається апаратною функцією та найменшою шириною щілини. Обрана спектральна ширина щілини для вимірів становила 5 нм, похибка запису довжини хвилі — 0,05 нм, а похибка визначення інтенсивності не перевищувала 1%. Для врахування спектральної чутливості фотоелектронного помножувача, що використовується у флуориметрі, в програмному забезпеченні приладу передбачена можливість корекції спектрів за рахунок кривої чутливості. Для спектральних вимірювань використовували стандартні кварцові кювети розміром $1 \times 1 \times 3 \text{ см}^3$.

Характеристику квантових точок CdS здійснювали за допомогою просвічувальної електронної мікроскопії з використанням електронного мікроскопа JEOL, JEM-2100F (Японія). Прискорююча напруга приладу 200 кВ. Попередньо виконували ультразвукове перемішування зразків, після чого краплини розчинів зразків наносили на мідну сітку з вуглецевим покриттям. Осаджений при випаровуванні матеріал використовували для подальших досліджень. Електронограми зразків, осаджених на мідьвуглецевій сітці, отримували при енергії електронного пучка $320 \cdot 10^{-16} \text{ Дж}$ (200 кеВ) (довжина хвилі електронів λ дорівнювала 0,27 нм). Область локалізації пучка на зразку 200 нм. Методом енергороздільної рентгенівської спектроскопії визначали також процентний вміст елементів у полі зору, ширина якого становила 70–150 нм (залежно від ділянки зразка). Реєстрація інтенсивності рентгенівського $K\alpha_{1,2}$ випромінювання Cd й S здійснювали за допомогою спектрометра JED-2300T.

Типові спектри поглинання квантових точок CdS, утворених в результаті синтезу культурою міцелію гриба *P. ostreatus* (крива 2), та спектри поглинання вихідного розчину зазначеної культури без додавання неорганічних солей CdSO_4 й Na_2S (крива 1) наведена на рис. 1. Відомо, що спектроскопія оптичного поглинання є ефективним методом як встановлення самого факту наявності наночастинок у досліджуваних зразках, так і оцінки розміру цих частинок [10]. Зокрема, великі кристаліти ($>10 \text{ нм}$) характеризуються поглинанням, близьким до монокристалів. Менші наночастинок виявляють блакитний зсув краю поглинання, що відображає варіацію ефективної ширини забороненої зони [11]. Як видно з рисунка, для синтезованих зразків спектр поглинання має вигляд широкої куполоподібної смуги з максимумом $\lambda_{\text{max}} \sim 453 \text{ нм}$ (для монокристалів ця величина становить $\sim 515 \text{ нм}$), що є характерним для нанокристалів CdS з урахуванням “блакитного зсуву”. Те, що смуга є доволі широкою, вказує на певний розкид наночастинок за розмірами. Отримані спектри поглинання добре узгоджуються з даними роботи [2], де максимум поглинання CdS становить 450 нм.

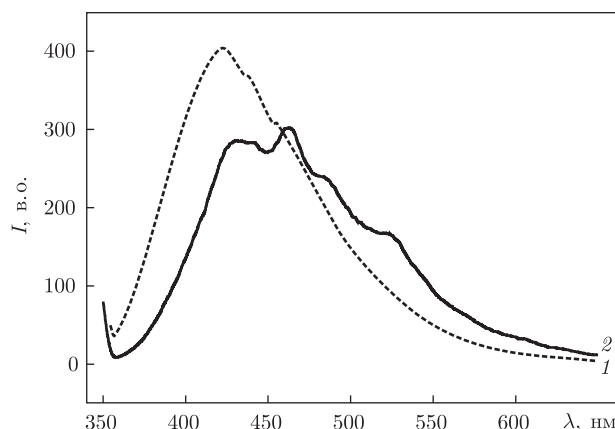


Рис. 2. Спектри фотолюмінесценції чистої культури гриба *P. ostreatus* (1) та квантових точок CdS (2)

Порівняння наших даних з результатами інших авторів також дозволяє припустити, що найбільша частка припадає на наночастинок з розмірами $\sim 5\text{--}8$ нм [12]. Крім того, що суттєво, вказані спектри поглинання принципово відмінні від спектрів поглинання розчину самої чистої культури *P. ostreatus*. Люмінесценцію наночастинок CdS, отриманих за допомогою різних способів і різних матриць, досліджували автори публікації [12]. Як вже відзначалось, зміна розмірів наночастинок у межах 2–10 нм призводить до зміни ширини забороненої зони від 4,3 до 2,5 еВ, а отже, й краю поглинання. Такі зміни впливають на форму та параметри спектрів люмінесценції. Зазначено наявність трьох різних смуг люмінесценції: екситонної — “зеленої”, зумовленої дефектами структури наночастинок CdS — “жовтої”, а також з більш глибоких електронних рівнів — “червоної”.

Спектр фотолюмінесценції, що отриманий при збудженні випромінюванням з $\lambda = 340$ нм для зразків, які містять квантові точки CdS (крива 2), наведений у порівнянні зі спектром фотолюмінесценції розчину чистої культури *P. ostreatus* (крива 1), демонструє рис. 2. Власне свічення культури характеризується широкою куполоподібною смугою, тоді як люмінесценція синтезованого зразка має істотно складніший характер. Зокрема, на широкій смузі спостерігаються кілька чітких максимумів при 431, 462, 486, 524 нм, які відповідають екситонним смугам наночастинок різного розміру.

Отримані дані фотолюмінесценції збігаються з результатами роботи [7], в якій для біосинтезу CdS автори використовували кілька бактеріальних систем. Люмінесценція сформованих частинок спостерігалася в межах 440–450 нм при збудженні світлом 365 нм та мала кілька максимумів, а саме 470, 462 та 452 нм при збудженні світлом 340 нм. При цьому відзначалося, що зсув до більш коротких значень довжин хвиль був обумовлений зменшенням розмірів наночастинок у зразку. Крім того, в статті [6] автори повідомляють, що утворені ними квантові точки сульфїду кадмію мали люмінесценцію при $\lambda = 460$ нм, використовуючи дріжджі як матрицю для біосинтезу. Отже, вказані спектри поглинання і фотолюмінесценції свідчать про наявність у досліджених об’єктах наночастинок сульфїду кадмію різного розміру, переважно 5–8 нм, що корелює з результатами зазначених вище робіт.

За допомогою просвічувальної електронної мікроскопії нами було отримано електроннограми зразків, осаджених на мідьвуглецевій сітці. Типову електроннограму ілюструє рис. 3 (вставка). Представлені дифракційні максимуми 1, 2 й 3 відповідають міжплощинним відстаням $d_1 = 0,334$ нм, $d_2 = 0,205$ нм, $d_3 = 0,188$ нм. Згідно з роботою [13], такі міжплощинні

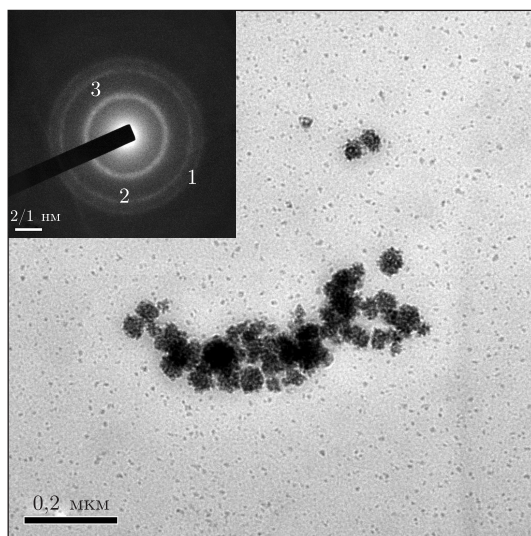


Рис. 3. Електронно-мікроскопічне зображення конгломератів квантових точок CdS, отриманих з використанням *P. ostreatus*.

Вставка: електронограма зразка *P. ostreatus* + CdS

відстані відповідають сімействам площин (002), (110) й (103) кристалів CdS, модифікація вюрцит.

Результати рентгеноспектрального аналізу свідчать про наявність у зразках елементів Cd й S, вміст яких у полі зору дорівнює 20–30%. Крім того, слід відзначити, що в полі зору були наявні інші елементи, зокрема O (47%), Si (3%), Fe (0,52%), P (3,62%), K (8,79%). Їх наявність обумовлена біологічною діяльністю культури гриба, а також хімічними компонентами, які входять до складу поживного середовища.

Також методом сканувальної просвічувальної електронної мікроскопії високого розділення вдалося встановити, що синтезовані квантові точки сульфїду кадмію утворюють кульові конгломерати діаметром 40–70 нм (див. рис. 3). У межах вказаних скупчень квантові точки CdS мають сферичну форму, однорідну морфологію та діаметр від 5 до 8 нм (рис. 4).

Як вже відзначалося, базидіальний гриб *P. ostreatus* вперше використовується в представленому дослідженні як ємність для біосинтезу напівпровідникових наночастинок. На даний час немає робіт, які б дозволяли порівняти морфологію та розміри квантових точок, утворених саме з базидіальних грибів. Однак подібні дослідження були проведені з використанням інших біосистем. Зокрема, наночастинок CdS успішно отримували за допомогою аскоміцетового гриба *Fusarium oxysporum* [14]. Авторами було доведено, що синтезовані ними наночастинок CdS мають діапазон розмірів 5–20 нм. Крім того, в статті [15] продемонстрована можливість отримання квантових точок CdS модифікації вюрцит сферичної форми з розміром від 2 до 5 нм з використанням *E. coli*. Але в указаних працях наночастинок сульфїду кадмію не утворювали щільних конгломератів, їх виявляли у вигляді чітко помітних окремих частинок. Можливо, утворення скупчень пояснюється поступовим злипанням окремих квантових точок з часом. Важливо відзначити, що авторами статті [14] було встановлено таке: утворення наночастинок CdS є виключно ферментативним процесом, який відбувається за участю специфічних сульфатредуктаз. Ці самі фактори, тобто наявність сульфатредуктаз у гриба *P. ostreatus*, можуть пояснювати отримані нами результати.

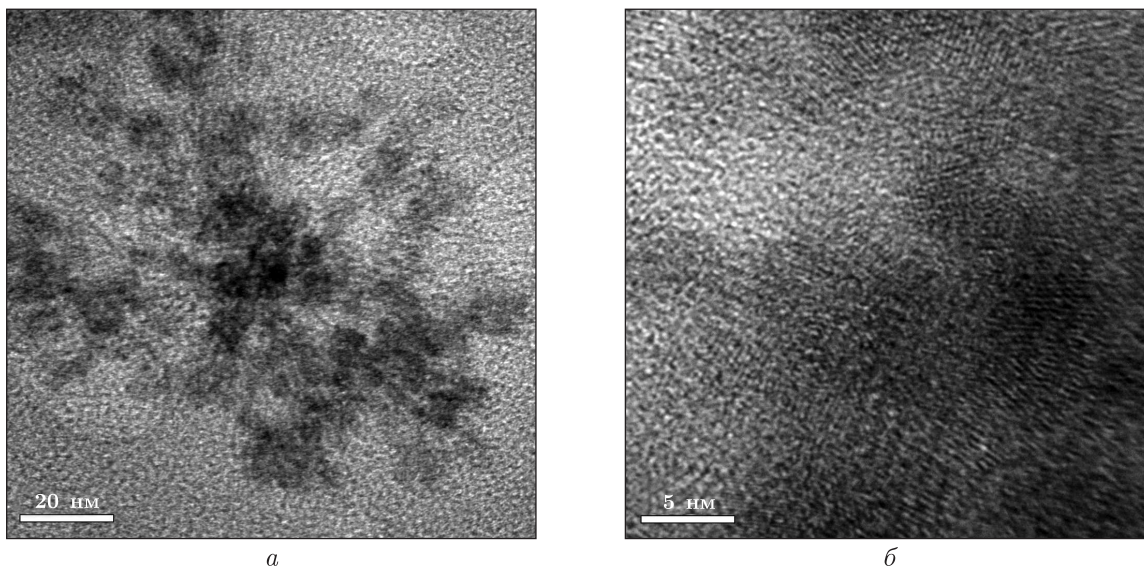


Рис. 4. Електронно-мікроскопічні зображення квантових точок CdS у межах скупчення: *a* — масштабна одиниця 20 нм; *б* — масштабна одиниця 5 нм

Таким чином, у ході проведеного дослідження з біологічного синтезу наночастинок сульфід кадмію встановлено, що базидіальний гриб *P. ostreatus* є ефективною біологічною ємністю для нанотехнологічних перетворень. Результати спектрального аналізу утворених квантових точок засвідчили, що отримані піки поглинання та випромінювання є типовими для наночастинок CdS. За допомогою рентгеноспектрального аналізу вдалося визначити, що процентний вміст елементів Cd й S у полі зору знаходиться в межах від 20 до 30%. За допомогою просвічувальної електронної мікроскопії було продемонстровано, що квантові точки утворюють щільні скупчення діаметром 40–70 нм. Розмір окремих наночастинок в межах цих скупчень становить 5–8 нм. Отримані нами квантові точки CdS будуть використані для подальших досліджень.

1. Rizvi S. B., Ghaderi S., Keshtgar M., Seifalian A. M. Semiconductor quantum dots as fluorescent probes for in vitro and in vivo bio-molecular and cellular imaging // Nano Rev. – 2010. – **1**. – P. 1–15.
2. Mousavi R. A., Akhavan S. A., Fazeli M. R. Biosynthesis, purification and characterization of cadmium sulfide nanoparticles using enterobacteriaceae and their application // Nanomater. Appl. Proper. – 2012. – **1**, No 1. – P. 1–5.
3. Li X., Xu H., Chen Zh.-Sh., Chen G. Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications // J. Nanomater. – 2011. – **2011**. – P. 1–16.
4. Бурлака О. М., Пірко Я. В., Ємець А. І., Блом Я. Б. “Зелений” синтез наночастинок металів: потенціал біологічних систем та перспективи його використання // Наноструктур. матеріалознавство. – 2012. – № 4. – С. 89–104.
5. Cunningham D. P., Lundie L. L. Precipitation of cadmium by *Clostridium thermoaceticum* // Appl. Environ. Microbiol. – 1993. – **59**, No 1. – P. 7–14.
6. Dameron C. T., Reese R. N., Mehra R. K. Biosynthesis of cadmium sulphide quantum semiconductor crystallites // Nature. – 1989. – **338**, No 13. – P. 596–597.
7. El-Shanshoury A. E.-R. R., Elsilk S. E., Ebeid M. E. Rapid biosynthesis of cadmium sulfide (CdS) nanoparticles using culture supernatants of *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Lactobacillus acidophilus* DSMZ 20079T // Afr. J. Biotechnol. – 2012. – **11**, No 31. – P. 7957–7965.
8. Gupta S., Sharma K., Sharma R. Myconanotechnology and application of nanoparticles in biology // Res. Sci. Technol. – 2012. – **4**, No 8. – P. 36–38.

9. *Gregori A., Svagelj M., Pohleven J.* Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus spp* // Food Technol. Biotechnol. – 2007. – **45**, No 3. – P. 238–249.
10. *Martínez-Casta nón G. A., Loyola-Rodríguez J. P., Reyes-Macías J. F.* Synthesis and optical properties of functionalized CdS nanoparticles with different sizes // Superficies y vacío. – 2010. – **23**, No 4. – P. 1–4.
11. *Rossetti R., Ellison J. L., Gibson J. M., Brus L. E.* Size effects in the excited electronic states of small colloidal CdS crystallites // J. Chem. Phys. – 1984. – **80**, No 9. – P. 4464–4469.
12. *Baset S., Akbari H., Zeynali H., Shafie M.* Size measurement of metal and semiconductor nanoparticles via UV-vis absorption spectra // Digest J. Nanomater. Biostruct. – 2011. – **6**, No 2. – P. 709–716.
13. *Муржин Л. И.* Справочник по рентгеноструктурному анализу поликристаллов. – Москва: Гос. изд-во физ.-мат. лит., 1961. – 863 с.
14. *Ahmad A., Mukherjee P., Mandal D. et al.* Enzyme-mediated extracellular synthesis of CdS nanoparticles by the fungus, *Fusarium oxysporum* // J. Am. Chem. Soc. – 2002. – **124**. – P. 12108–12109.
15. *Sweeney R. Y., Mao C., Gao X.* Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide nanocrystals // Chem. Biol. – 2004. – **11**, No 11. – P. 1553–1559.

ДУ “Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України”, Київ
Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 23.09.2013

**М. Н. Боровая, А. П. Науменко, Я. В. Пирко, Т. А. Круподерова,
А. И. Емец, академик НАН Украины Я. В. Блюм**

Получение квантовых точек CdS при использовании гриба *Pleurotus ostreatus*

*Путем биологического синтеза во время культивирования мицелия гриба *Pleurotus ostreatus* с солями CdSO₄ и Na₂S получены полупроводниковые наночастицы (квантовые точки) CdS. С помощью спектрального анализа образованных частиц установлено, что полученные пики поглощения и излучения являются типичными для наночастиц CdS. Используя метод просвечивающей электронной микроскопии, было продемонстрировано, что квантовые точки CdS образуют плотные скопления диаметром 40–70 нм. Размер отдельных наночастиц в пределах этих скоплений составляет 5–8 нм.*

**M. N. Borovaya, A. P. Naumenko, Ya. V. Pirko, T. A. Krupodorova,
A. I. Yemets, Academician of the NAS of Ukraine Ya. V. Blume**

Production of CdS quantum dots with the use of the fungus *Pleurotus ostreatus*

*By the biological synthesis during culturing the mycelium of fungus *Pleurotus ostreatus* with salts CdSO₄ and Na₂S, CdS semiconductor nanoparticles (quantum dots) are obtained. Using the spectral analysis of formed particles, it is established that the absorption peaks obtained are typical of CdS nanoparticles. By the method of transmission electron microscopy, it is demonstrated that the obtained quantum dots form dense clusters with a diameter from 40 to 70 nm. The size of individual nanoparticles within these clusters is from 5 to 8 nm.*