

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ  
ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

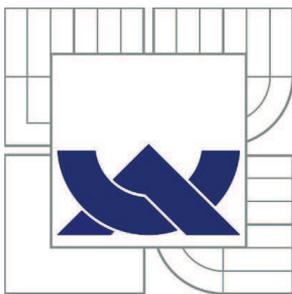
BIOSENZORY NA BÁZI MODIFIKOVANÝCH TIO<sub>2</sub> NANOČÁSTIC

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE  
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

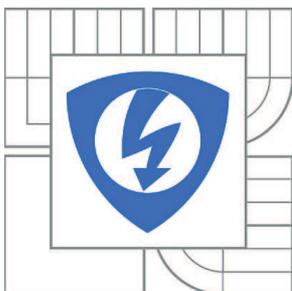
JIŘINA VALKOVIČOVÁ

BRNO 2012



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH  
TECHNOLOGIÍ

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

# BIOSENZORY NA BÁZI MODIFIKOVANÝCH $\text{TiO}_2$ NANOČÁSTIC

BIOSENSORS BASED ON MODIFIED  $\text{TiO}_2$  NANOPARTICLES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

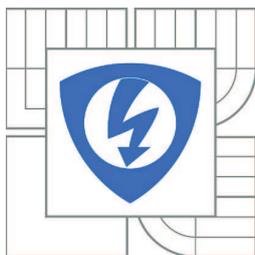
JIŘINA VALKOVIČOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. JAROMÍR HUBÁLEK, Ph.D.

BRNO 2012



VYSOKÉ UČENÍ  
TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky  
a komunikačních technologií

Ústav biomedicínského inženýrství

# Bakalářská práce

bakalářský studijní obor

**Biomedicínská technika a bioinformatika**

**Studentka:** Jiřina Valkovičová

**ID:** 125087

**Ročník:** 3

**Akademický rok:** 2011/2012

## NÁZEV TÉMATU:

**Biosenzory na bázi modifikovaných TiO<sub>2</sub> nanočástic**

## POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Provedte literární rešerši využití nanočástic pro optickou diagnostiku zajímavých látek. Zaměřte se na využití TiO<sub>2</sub> deponovaných kvantových teček v detekci nukleových kyselin a zvýšení kvantového výtěžku pomocí zlata. 2) Zvolte vhodné postupy depozice zlata na povrch TiO<sub>2</sub> nanostruktur a následně navázání biomolekul se specifickou afinitou k nukleovým kyselinám. 3) Ověřte postup v laboratoři tím, že modifikujete povrch kvantových teček zlatem a požadovanými látkami a zobrazte pomocí SEM. 4) Pomocí fluorescenční spektroskopie porovnáte jednotlivé modifikované systémy. 5) Provedte diskusi výsledků a zhodnoťte praktickou využitelnost.

## DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] MERKOCI, A. Biosensing Using Nanomaterials, Wiley series in Nanoscience and Nanotechnology, 2009

[2] DRBOHLAVOVÁ, J., ADAM, V., KIZEK, R., HUBÁLEK, J. Quantum Dots - Characterization, Preparation and Usage in Biological Systems. International Journal of Molecular Sciences. 2009 (10)(2). p. 656 - 673.

**Termín zadání:** 6.2.2012

**Termín odevzdání:** 25.5.2012

**Vedoucí práce:** doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D.

**Konzultanti bakalářské práce:** prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.  
Ing. Jana Drbohlavová, Ph.D.

**prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.**

*Předseda oborové rady*

## UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

## Abstrakt

Práce je zaměřena na výrobu deponovaných kvantových teček z oxidu titaničitého za použití nanoporézní masky. Zabývá se zejména jejich luminiscenčními (fluorescenčními) vlastnostmi, díky kterým jsou vhodným základem biosenzoru určeného pro optickou detekci DNA.

Dále je v práci uveden postup modifikace povrchu kvantových teček oxidu titaničitého zlatem přes nanoporézní masku metodou elektrochemické depozice a následnou funkcionalizaci povrchu oligonukleotidem. V případě přítomnosti nukleové kyseliny tato funkcionalizace zaručuje její navázání na oligonukleotid pomocí hybridizace.

Celý systém biosenzoru (QDs TiO<sub>2</sub> upravené zlatem) je určen pro rychlou optickou diagnostiku virových onemocnění.

## Abstract

The work is focused on quantum dots (QDs) array fabrication from titanium dioxide using template based non-lithographic method and their luminescence (fluorescence) properties study. The paper describes TiO<sub>2</sub> QDs surface modification with gold using suitable template technique and subsequent functionalization of gold modified QDs surface via oligonucleotides. This functionalization step provides a suitable base for subsequent hybridization reaction with detected nucleic acid. The system of biosensor (TiO<sub>2</sub> QDs modified with gold and biomolecules) is designed for rapid optical diagnosis of viral diseases.

## Klíčová slova

Kvantové tečky, oxid titaničitý, fluorescence kvantových teček, modifikace kvantových teček zlatem, elektrochemická depozice, detekce nukleových kyselin

## Key words

Quantum dots, titanium dioxide, optical properties of quantum dots, gold surface modification of titanium dioxide quantum dots, electrochemical deposition, detection of nucleic acids

## ***Prohlášení***

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma Biosenzory na bázi modifikovaných TiO<sub>2</sub> nanočástic jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení § 152 trestního zákona č. 140/1961 Sb.

V Brně dne 20. května 2012

.....

podpis autorky

## ***Poděkování***

Děkuji vedoucímu doc. Ing. Jaromíru Hubálkovi, Ph.D. za vedení bakalářské práce. Další poděkování patří Ing. Radimovi Hrdému a zejména konzultantovi Ing. Janě Drbohlavové, Ph.D. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování

V Brně dne 20. května 2012

.....

podpis autora

VALKOVIČOVÁ, J. *Biosenzory na bázi modifikovaných TiO<sub>2</sub> nanočástic: bakalářská práce*: Brno: FEKT VUT v Brně, 2012, 42 s., 1 příl.

# Obsah

1. Nanostruktury.....	7
1.1. Kvantové tečky.....	7
1.1.1. Fluorescence kvantových teček.....	9
1.1.2. Využití kvantových teček v diagnostice.....	10
1.2. Příprava kvantových teček pomocí nanoporézní masky.....	11
1.2.1. Nanoporézní maska.....	11
1.2.2. Faktory ovlivňující kvalitu nanostruktur.....	12
1.2.3. Kvantové tečky oxidu titaničitého.....	12
1.3. Modifikace povrchu kvantových teček.....	13
1.3.1 Elektrochemická depozice zlata.....	13
1.3.2. Vakuové napařování zlata.....	14
1.4. Metody pro analýzu vzorků.....	14
1.4.1. Chemická analýza nanostruktur.....	14
1.4.2. Fyzikální analýza nanostruktur.....	14
2. Detekce nukleových kyselin.....	16
3. Návrh vlastního řešení.....	20
4. Experimentální část práce.....	21
4.1. Příprava vrstev titanu a hliníku.....	21
4.2. Kvantové tečky oxidu titaničitého.....	21
4.3. Modifikace povrchu TiO <sub>2</sub> nanostruktur zlatem.....	21
4.4. Analýza skenovacím elektronovým mikroskopem.....	23
4.5. Analýza fluorescenčním spektroskopem.....	23
4.6. Analýza energiově disperzním spektroskopem.....	23
5. Výsledky a diskuze.....	24
5.1. Charakterizace použitých hliníkových a titanových vrstev.....	24
5.2. Výroba nanostruktur anodickou oxidací Ti-Al dvojvrstvy.....	24
5.3. Modifikace nanostruktur zlatem elektrochemickou depozicí.....	28
5.4. Fluorescenční spektra.....	31
5.5. Analýza EDX.....	34
6. Závěr.....	36
7. Seznam použité literatury.....	39
8. Zdroje obrázků.....	43
9. Seznam zkratk.....	44

# Úvod

Pod pojmem biosenzor rozumíme zařízení, které je schopno na základě biochemických vlastností detekovat makromolekuly, které jsou součástí živých systémů, nebo dokonce monitorovat celé živé systémy. Předpokladem pro účinnou analýzu je jejich jasně vymezená specifita, tedy schopnost senzoru detekovat jasně určený cíl.

Tím vyvstává otázka, jak modifikovat povrch mikrosenzorů, abychom zvýšili jeho senzitivitu v sensorických schopnostech, ke kterým je zhotoven a používán. Jedním z řešení, kterým se zabývá i tato práce, je modifikace povrchu senzitivní části senzoru pomocí nanočástic. Výhodou těchto struktur je možnost další funkcionalizace pomocí určitých biomolekul, za účelem získání citlivějšího rozlišení.

Při použití nanočástic v biosenzorech je potřeba řešit několik problémů. Hned na počátku stojí vytvoření nanostruktur tak, aby byly všechny uniformní a reprodukovatelné v dané velikosti a rozložení na povrchu biosenzoru. Dále pak jejich následná modifikace za účelem zvýšení specifity a v poslední řadě potvrzení jejich funkčnosti.

Kvantové tečky oxidu titaničitého, které jsou hlavním předmětem výzkumu v této práci, budou sloužit jako biosenzor pro detekci nukleových kyselin *in situ*. Tyto kvantové tečky vykazují, díky efektu kvantového omezení emisi světla po ozáření, tzv. fluorescenci. Jedná se tedy o optický detekční systém.

# 1. Nanostruktury

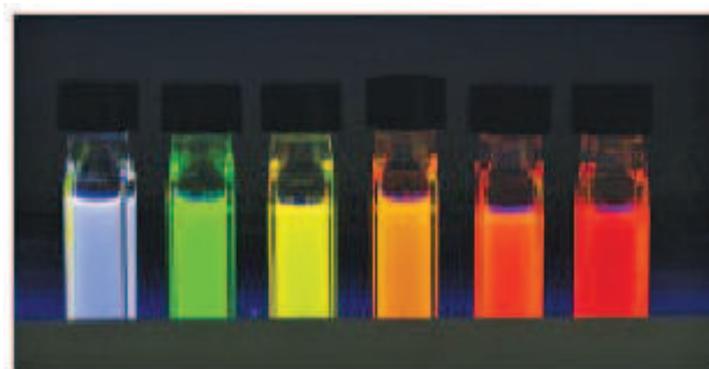
Nanotečky, nanotyčinky, nanoslupky, nanoklastry apod. jsou struktury, které se od sebe mohou lišit nejen tvarem, ale i způsobem vzniku a finálním použitím. Současně však mají jedno společné – všechno to jsou částice, jejichž rozměry se pohybují v řádech nanometrů. Výsledný tvar, který může ovlivnit jejich finální chemické i fyzikální vlastnosti, závisí na způsobu přípravy.

Díky svým ojedinělým a specifickým vlastnostem našly nanostruktury využití v mnoha odvětvích – zejména pak v elektrotechnice, chemii a zdravotnictví. V optických metodách se nanočástice využívají zejména za účelem zvýšení kontrastu. V tomto případě se hojně využívají nanostruktury malých rozměrů, tzv. kvantové tečky, které po ozáření vykazují fluorescenční efekt. Tato práce pro vznik kvantových teček uspořádaných na pevném nosiči využívá metody založené na jejich růstu v nanoporézní masce (angl. template-based methods).

## 1.1. Kvantové tečky

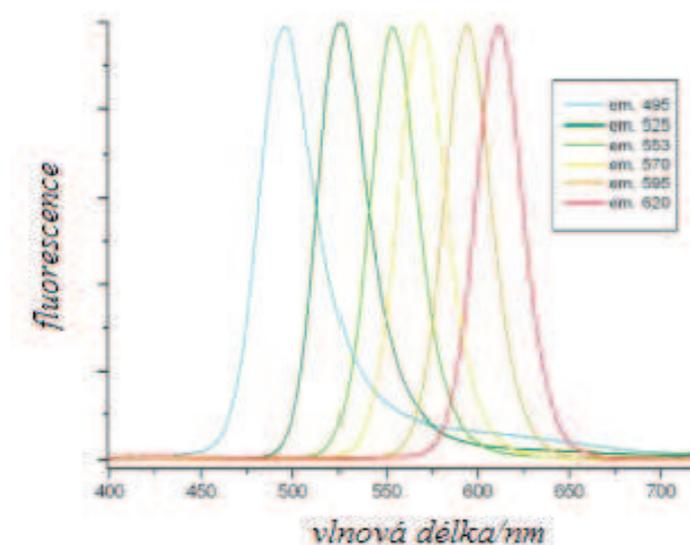
Jedná se především o krystaly, jejichž velikost se pohybuje nejčastěji v rozmezí 2–20 nm. Velikost i vlastnosti zaleží na materiálu, ze kterého jsou vyrobeny. Obvykle se k jejich výrobě používají polovodičové materiály složené z chemických prvků skupiny II. - IV., nebo III. - V. [[1]]. Většina prací o kvantových tečkách se týká jejich přípravy v koloidní formě, tj. v roztoku. Velmi málo vědeckých článků bylo do dnešního dne publikováno o kvantových tečkách v deponované formě na pevném substrátu.

Tyto nanostruktury mají výhodné elektrické a optické vlastnosti, zejména dlouhou dobu emise světla a jas. Další nesmírnou výhodou je jejich excitace jedinou vlnovou délkou, tedy za přítomnosti jednoho světelného zdroje (*Obrázek 1*) a simultánní emise světla různých



*Obrázek 1: Excitace koloidních QDs pod UV zářením – malé QDs svítí modře, větší QDs emitují záření při vyšších vlnových délkách*

barev, které se dá využít pro multibarevné zobrazování (*Obrázek 2*). Tato vlastnost je funkcí velikosti jádra nanočástice.



*Obrázek 2: Emise světla závislá na velikosti vlnových délek*



nahrazovat fluorescenční barviva. Využití nacházejí zejména v medicínském prostředí, jak ve výzkumném - aplikace *in vitro* - detekce molekul, zobrazování buněk apod., tak klinickém - aplikace *in vivo* - zobrazování tkání (angl. imaging), doručování genů, markery nemocí, optické značení dynamických biologických procesů, biodistribuce léčiv atd. [1]. V poslední době se výzkum výrazně orientoval na problematiku využití nanočástic u nádorových diagnostik. Do budoucna se nám otevírá nová forma využití a to sledování pohybu a vývoje transplantovaných buněk. Kvantová tečka se za pomoci fagocytózy zabuduje do buňky a poté se takto označená transplantuje. Vyřeší se tím problém rozlišení buňky transplantované od původní [4].

Nevýhodou kvantových teček, znepríjemňující zejména aplikaci v medicíně, je jejich častá buněčná toxicita. Tento problém lze vyřešit obalením nanotečky látkou kompatibilní s lidským organizmem. V dnešní době je pro tyto účely využíván zejména glutation, patřící mezi peptidy [5].

Podle Iyera a spol. se glutation osvědčil jako výborný ligand, využitelný pro obalení hned z několika důvodů. Pro příklad postačí zmínit jeho biostabilitu, fyziologické pH a velké množství reaktivních skupin [6].

Další možností, jak se vyhnout toxicitě, je využití biokompatibilních materiálů již pro výrobu nanoteček. Za zmínku stojí nanočástice vyrobené ze zlata, které profitují ze své snadné přípravy a širokého spektra biochemických látek, které na ně lze navázat (různé ligandy, protilátky, apod.). Touto následnou funkcionalizací je možno cíleně určit, která část buňky nebo tkáně bude zobrazována s větším kontrastem.

## 1.2. Příprava kvantových teček pomocí nanoporézní masky

Jednou z metod pro výrobu nanočástic na pevném povrchu je anodická oxidace kovových vrstev či galvanická depozice kovových iontů za použití nanoporézní masky. Celý proces vzniku nanostruktur probíhá za přítomnosti masky s pravidelně uspořádanými nanopóry, pod jejímž povrchem se za pomoci nanomechanizování mění povrch. Tato elektrochemická metoda má nespočet výhod, mezi které nesporně patří kontrola nad délkou, průměrem a šířkou stěn nanočástice. Navíc v porovnání s litografickými technikami výroby nanostruktur je tento způsob vzniku nanočástic mnohem levnější. To, jaké nanočástice vzniknou, je ovlivněno tvarem nanopórů a elektrochemickými podmínkami použitými při anodické oxidaci či galvanické depozici.

Nanostruktury vznikají elektrochemickou reakcí iontů s vodivou vrstvou na dně nanopórů. Můžeme tedy říci, že kvalita vzniklých nanočástic velmi podstatně souvisí s kvalitou vzniklých pórů [7].

### 1.2.1. Nanoporézní maska

Materiál, ze kterého je šablona složena, je velmi podstatným faktorem ovlivňující vznik nanopórů a tím i nanostruktur. Nejčastěji používaným materiálem pro výrobu masky je hliník. Nanoporézní oxid hliníku ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) se vytváří buďto přímou anodizací tenké vrstvy hliníku na substrátu, nebo anodizací hliníkových fólií. Výsledkem je šablona složená z pravidelných, sloupcových, hexagonálně uspořádaných pórů [8].

Anodizace tenké vrstvy hliníku je problematická z hlediska homogenity. Ta závisí zejména na technice depozice této vrstvy. Používají se PVD techniky, například metodu termálního napařování či magnetronového napařování. Anodizací tenkých vrstev hliníku, které jsou naneseny na vodivý substrát, vzniká nanoporézní a velmi tenká maska přímo na povrchu vodivého substrátu.

V případě silných vrstev hliníku, jako jsou hliníkové fólie, je finálním produktem anodizace samostatná oxidová membrána, která musí být pro následné použití buď z jedné strany pokovena, nebo připevněna na vodivý substrát.

## 1.2.2. Faktory ovlivňující kvalitu nanostruktur

Průměr a hustota nanopórů vzniklých v šabloně a tedy i nanostruktur vytvořených pomocí této masky jsou dány podmínkami anodizace.

### 1. Anodizující napětí

Velikost anodizujícího napětí je primárním faktorem ovlivňujícím výsledky vzniku nanostruktur v procesu anodizace. Rychlost růstu oxidové vrstvy závisí exponenciálně na elektrickém napětí. Obecně platí, čím nižší elektrické napětí, tím menší velikost, větší hustota a lepší homogenita pórů.

### 2. Elektrolyt

Dalším činitelem, ovlivňující průběh anodizace, je použitý elektrolyt. Ten má vliv zejména na tvar vzniklých nanostruktur. Nejčastěji používané elektrolyty pro anodizaci hliníkové vrstvy jsou kyseliny sírová, fosforečná a šťavelová. Z těchto možných variant nejmenší póry vznikají účinkem kyseliny sírové při nízkém napětí (18–30 V). Největší struktury vzniknou při použití kyseliny fosforečné. Velký význam hraje i teplota použitého elektrolytu. Čím nižší teplota, tím pomalejší bude růst nanostruktur a tím lepší bude uniformita pórů [7]

### 3. Kvalita hliníkové vrstvy

Zde hraje velkou roli zejména kvalita hliníku, jeho uniformní plošná distribuce a kvalita rozhraní vrstev, na kterých bude anodizace probíhat. V této práci toto rozhraní představují vrstvy hliníku a titanu [9].

### 4. Počet kroků anodizace

Uniformita pórů může být ovlivněna také množstvím po sobě jdoucích anodizujících procesů. Obvykle pravidelně uspořádaná maska vzniká během dvou kroků anodizace [7][10]. Během prvního kroku anodizace vznikají zárodky pórů na ne zcela homogenní vrstvě hliníku. To způsobuje neuspořádanost vznikajících pórů. Proto se po první anodizaci svrchní vrstva odleptá a pokračuje se druhým krokem anodizace, při kterém vznikají již uspořádané póry.

### 1.2.3. Kvantové tečky oxidu titaničitého

Výhodným materiálem pro výrobu nanstruktur, který je kompatibilní s lidským tělem, je oxid titaničitý. Jeho nanotečky na pevném substrátu, např. na podkladové vrstvě z křemíku, lze připravit anodickou oxidací za použití hliníkové masky, jak již bylo zmíněno v předcházejícím textu [11].

Existují dvě formy, ve kterých mohou tečky oxidu titaničitého vzniknout – anatas a rutil. Tyto formy se liší chemickým uspořádáním titanu a kyslíku v krystalické struktuře [12].

Anodickou oxidací titanové vrstvy obvykle vznikají nanotečky amorfnní, které můžeme vyžiháním částečně či úplně přeměnit na anatas či rutil v závislosti na žihací teplotě. Tato přeměna významně ovlivňuje finální vlastnosti kvantových teček, resp. podmiňuje efekt kvantového omezení, který by v amorfnní fázi nebyl možný.

### 1.3. Modifikace povrchu kvantových teček

Jak bylo již zmíněno, jednou z mnoha výhod nanostruktur, je možnost modifikovat jejich povrch různými látkami pro získání lepších chemických, nebo fyzikálních vlastností.

Modifikace povrchu kvantových teček zlatem je jednou z možností, jak dosáhnout biokompatibility kvantových teček a zároveň silné afinity k vodíku, tedy i k biologicky významným funkčním skupinám (např. -SH, -NH<sub>2</sub>). Další možnou výhodou depozice zlata na povrch je zvýšení kvantového výtěžku oproti nemoifikovaným kvantovým tečkám. Tento předpoklad vznikl na základě již úspěšně provedených pokusů. Jedním z příkladů je Wu a kolektiv, kteří vyzkoušeli navázání zlata na nanotečky InAs. K depozici použili vrstvu GaAs, zlatícím roztokem byli částičky zlata rozpuštěné v toluenu. Dosáhli výrazného zesílení fotoluminiscence [13]. Další pokus zesílení kvantového efektu provedli Goodman a spol., kteří zjistili, že zlaté částice nanosené na TiO<sub>2</sub> způsobily zvýšení oxidace CO na maximum. Kvantový efekt tohoto komplexu podle nich závisí na velikosti nanosené vrstvy zlata [14][15].

Tenká vrstva zlata lze na struktuře vyrobit několika způsoby, nejčastěji však elektrochemicky nebo napařováním.

#### 1.3.1 Elektrochemická depozice zlata

U elektrochemie využíváme pro uskutečnění chemických reakcí elektrický proud. Modifikující materiál je rozptýlen v roztoku, který představuje elektrolyt [16]. Substrát představuje katodu, na které probíhá redukce. Působením elektrického pole částice kovu nesoucí pozitivní náboj putují směrem k záporné elektrodě, kde se deponují. V důsledku tohoto děje vzniká tenká vrstva na katodě, tedy na substrátu. Za přítomnosti nanoporézní masky umístěné na substrátu, vznikají, namísto tenké vrstvy, nanotyčinky.

Rapecki a kolektiv deponovali zlaté nanočástice na uhlíkový povrch. Jako zdroj zlatých iontů použili roztok KAu(CN)<sub>2</sub>. Celý zlatí elektrolyt byl složen z pyrolu, KAu(CN)<sub>2</sub>, NaClO<sub>4</sub> a malého množství KCN. Pro depozici využili systém tří elektrod. Pracovní elektrodou byl leštěný uhlíkový disk, měřicí elektroda byla z platiny a jako referenční byla použita kalomelová elektroda. Depozice byla provedena pod konstantním napětím krátkými pulsy. Při prodloužení depozičního času vyrostla na povrchu elektrody zlatá zrna. Nejhomogennějšího pokrytí dosáhli sekvencí krátkých napěťových pulsů [17].

Baez a Pletcher oproti tomu deponovali zlato na titan. Použitý roztok o pokojové teplotě byl vytvořen z KAu(CN) (12 g/dmm<sup>3</sup>) a kyseliny citrónové (25 g/dmm<sup>3</sup>). Roztok byl upraven na pH 4 přidáním amoniaku. Depozice proběhla pod konstantním proudem 0,3 mA. Výsledkem bylo pokrytí povrchu malými krystalky zlata [18].

### 1.3.2. Vakuové napařování zlata

Tato metoda nanášení tenkých vrstev probíhá na principu kondenzace par, obsahujících nanášený materiál, na substrátu.

Nanášený materiál je uložený v tzv. výparníku, což je místo o vysoké teplotě. Substrát tvoří podložku, na které je udržována teplota nižší.

Celý děj probíhá v uzavřeném systému. V něm jsou částice nanášeného materiálu uvolňovány z výparníku důsledkem vysoké teploty. V systému se vytvoří rovnovážný tlak, též nazývaný jako tenze nasycených par. Ve chvíli, kdy dojde k porušení rovnováhy, zapříčiněné nízkou teplotou na podložce, začnou páry kondenzovat na substrátu a tím tvořit tenkou vrstvu [19].

Pomocí vakuového napařování deponovali zlato na povrch  $\text{TiO}_2$  Okumura a spol. Depozice proběhla pod tlakem  $8,5 \cdot 10^{-3}$  Torr. Povrch byl před depozicí na 4 hodiny sušen za teploty 473 K pro odstranění absorbované vody a poté na 30 min při stejné teplotě ošetřen kyslíkem pod tlakem 20 Torr pro odstranění organických zbytků a oxidaci povrchu. Samotné napaření proběhlo za teploty 473-773 K [20].

## **1.4. Metody pro analýzu vzorků**

### **1.4.1. Chemická analýza nanostruktur**

Tímto typem analýzy jsou získávány informace o chemických vlastnostech vzorku, nejčastěji o prvkovém složení.

Součástí elektronových mikroskopů bývá energetická disperzní rentgenová spektroskopie (EDX). Technika EDX slouží k analýze elementárního složení vzorku. Díky zobrazovacím schopnostem SEM nebo TEM lze přesně zaměřit oblast povrchu, kterou chceme analyzovat. Výsledkem jsou spektra ukazující píky jednotlivých prvků korespondující s jejich reálným zastoupením [21], [22].

### **1.4.2. Fyzikální analýza nanostruktur**

Tímto typem analýzy jsou získávány poznatky o fyzikálních vlastnostech vzorku, tedy o jeho struktuře, optických vlastnostech, vodivosti apod.

Rastrovací elektronový mikroskop (SEM) je zařízení používáno pro vizuální analýzu povrchu. Ke svému zobrazování využívá pohyblivého, úzkého svazku elektronů, které interagují s atomy tvořící povrch vzorku za vzniku signálu. Tento signál se mění podle charakteru povrchu. Kumulací těchto signálů je následně sestavován výsledný obraz znázorňující povrchovou strukturu [23].

Pro charakterizaci optických vlastností (zejména absorpce a emise) slouží zařízení využívající interakci elektromagnetického záření se vzorkem, tzv. spektrofluorometr. Záření prochází excitačním monochromátorem a dopadá na vzorek ve formě tzv. budícího paprsku. Emitované fluorescenční záření, měřeno v kolmém směru k tomuto budícímu paprsku, nejprve prochází emisním monochromátorem a je detekováno pomocí fotonásobiče. Citlivost a spektrální rozlišení měření je dáno nastavením vlnové délky a šířky štěrbin monochromátorů. Výsledkem této analýzy jsou spektra ukazující vlnovou délku a energii emitujícího, či excitačního záření [24], [25].

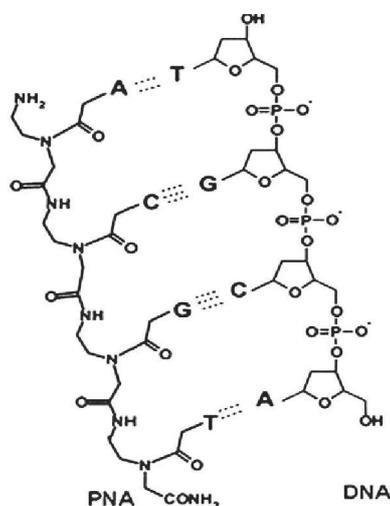
## 2. Detekce nukleových kyselin

Nukleové kyseliny jsou makromolekulární látky, které se nacházejí v živých buňkách a virech. Jejich úkolem je uchovávat genetickou informaci, což zajišťuje přenos dědičných znaků z jedné generace na druhou. Hlavním důvodem, proč je důležité detekovat nukleové kyseliny, je rychlá a včasná diagnóza nemocí, sledování mutace a zlepšení účinků genové terapie. U genové terapie je požadavek jasně určit a odstranit špatnou DNA z nemocných buněk, bez poškození okolí.

Vlastností nukleových kyselin se velice často využívá k jejich detekci. Mezi nejvýznamnější patří:

1. maximum absorpce UV světla při vlnové délce 260 nm
2. stabilita vodíkových vazeb mezi skupinami  $-NH_2$  a  $-OH$  v rozsahu pH 4 až 9
3. fosfátové estery představují silné kyseliny, při neutrálním pH se chovají jako anionty
4. dusíkaté báze jsou slabě zásadité a bez náboje
5. schopnost hybridizace: jednotlivé řetězce se naváží podle pravidel komplementarity na jiný polynukleotidový řetězec [26]

Jednou z možností detekce je navázání nukleové kyseliny pomocí hybridizace na synteticky vytvořenou peptidovou nukleovou kyselinu (PNA). PNA je syntetická nukleová kyselina, která je na rozdíl od polynukleotidové nukleové kyseliny odolná vůči degradaci působením buněčnými enzymy. Tato odolnost je způsobená náhradou fosfátu za achirální polyamid obsahující N-(2-aminoethyl) glycinové jednotky [27]. Jednořetězcová nukleová kyselina se naváže na PNA s mnohem větší afinitou než na DNA, za vytvoření komplexu PNA/DNA (Obrázek 4)



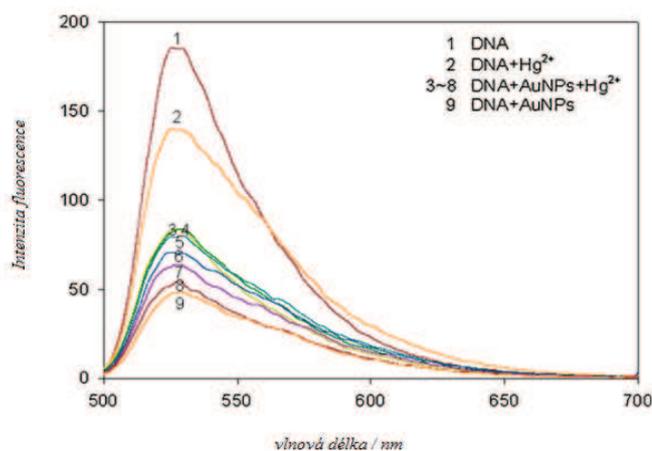
Obrázek 4: PNA a DNA

Vědci zjistili, že je výhodné navázání PNA na oxid titaničitý. Brown a kolektiv nejprve testovali spojení nanočástic oxidu titaničitého s DNA. Toto spojení mělo být schopno hybridizace určité DNA za přítomnosti elektromagnetického záření [28]. Komplex byl ale náchylný k degradaci. Poté modifikovali oxid titaničitý peptidovou nukleovou kyselinou. Tento komplex byl mnohem stabilnější.  $\text{TiO}_2$  nanočástice v systému zastávaly roli nosiče a zobrazovacího prvku, vzhledem k jejich výborným optickým vlastnostem, které byly dále podpořeny kontrastem z magnetické rezonance .

Singh a spol. k detekci nukleových kyselin vyzkoušeli navázání PNA na PANI/Au elektrodu. Zlato použili za účelem zesílení signálu hybridizace při elektrochemickém měření v elektrolytu [29].

Zuo a kolektiv detekovali DNA za pomoci jednořetězcové DNA (ss-DNA, z angl. single stranded DNA) a koloidních zlatých nanočástic za přítomnosti  $\text{Hg}^{2+}$  a využití principu hybridizace. Pro vyhodnocení experimentu využili fluorescenční spektroskopii (Obrázek 5). Ve své práci se odkazují i na experimenty, kdy byla DNA přichycena na povrch zlatých nanočástic bez podpory jakýchkoliv dalších látek [30].

Samotná detekce může proběhnout různými cestami. Ve výše zmíněném textu byla využita detekce optickou metodou za pomoci kvantových částic. V případě experimentu Zua se intenzita fluorescence nanočástic zvýšila navázáním ss-DNA. Drbohlavová a kolektiv naopak zjistili, že intenzita fluorescence klesá při nanesení biomolekul na povrch nanostruktur (Obrázek 5). Závislost tohoto zhášení je závislá na koncentraci analyzovaných biomolekul [31].



Obrázek 5: Fluorescenční spektra koloidních QDs Au při detekci DNA

Další z možností je separace za pomoci průtočného systému. Tímto postupem DNA detekovali He a spol., kteří vyrobili ultrasenzitivní biosenzor na bázi zlatých nanočástic a enzymu peroxidázy [32].

### 3. Návrh vlastního řešení

Základem pro vlastní návrh biosenzorů na bázi modifikovaných  $\text{TiO}_2$  nanočástic je výroba kvantových teček oxidu titaničitého. Poté bude následovat modifikace povrchu nanostruktur zlatem za účelem zvýšení kvantového výtěžku. Další velkou výhodou této modifikace je silná afinita zlata k vodíku ( $\text{H}_2$ ), tudíž i k aminovým ( $\text{NH}_2$ ) a thiolovým ( $\text{SH}$ ) skupinám. Díky navázanému zlatu pak bude snadnější navázání dalších biologicky aktivních látek (v tomto případě oligonukleotidu)

Celý systém biosenzoru, tzn.  $\text{TiO}_2$  kvantové tečky modifikované zlatem a biomolekulami, je navržen pro optickou detekci virového onemocnění. Detekce virálních nukleových kyselin bude provedena pomocí spektrofluorimetrie. Předpokladem je přítomnost volných virálních nukleových kyselin v krvi v případě, kdy bude pacient nakažen virovým onemocněním, jako je například chřipka, AIDS, nebo hepatitida. Na biosenzor přivedeme kapku pacientovy krve. U nemocného dojde k hybridizaci virové nukleové kyseliny s jednořetězcovou nukleovou kyselinou na biosenzoru, který bude následně vykazovat nižší intenzitu fluorescenčního spektra. U zdravého člověka se volné nukleové kyseliny v krvi nevyskytují, takže k hybridizaci nedojde a intenzita fluorescence zůstane nezměněna.

## 4. Experimentální část práce

### 4.1. Příprava vrstev titanu a hliníku

K procesu anodizace byly použity dvě kombinace kovových vrstev. Základem byl vždy křemíkový wafer. V prvním případě byla dvojvrstva Ti-Al vytvořena naprášenou vrstvou titanu (20 nm) a finální vrstvou hliníku (500 nm). V druhém případě byla tloušťka titanu 150 nm a hliníku pak 250 nm. Pro depozici titanu bylo použito komerční magnetronové naprašovací zařízení fy. Leybold - Heraeus Z 550 vybavené terči PK150 o průměru 150 mm, čerpané rotační a turbomolekulární pumpou. Depozice proběhla při tlaku argonu 0,1500 Pa, čistotě argonu 99,999% a čistotě titanu 99,5%. Výkon vysokofrekvenčního generátoru byl 500 W pro 13,56 MHz. Depozice hliníku proběhla při tlaku argonu 0,200 Pa, čistotě argonu 99,999% a čistotě hliníku 99,999%. Výkon vysokofrekvenčního generátoru byl 1000 W pro 13,56 MHz. Celý proces napařování proběhl kontinuálně v jedné komoře za přítomnosti tlaku pozadí v řádu  $10^{-4}$  Pa.

### 4.2. Kvantové tečky oxidu titaničitého

Nanostruktury byly vyrobeny anodickou oxidací na přístrojích AGILENT 34970A a AGILENT 6645A. Nanotečky oxidu titaničitého byly vyrobeny ve dvou různých velikostech – 10 nm (dále označovány jako kvantové tečky) a 20 nm (dále označovány jako nanotečky). Podmínky pro výrobu obou typů teček shrnuje Tabulka 1. Tečky byly vyrobeny při konstantním napětí a jako elektrolyt byla použita kyselina sírová.

Tabulka 1: Podmínky anodizace titanové vrstvy a hliníkové vrstvy

	<i>Kvantové tečky – 10 nm</i>	<i>Nanotečky – 20 nm</i>
<i>Elektrolyt</i>	<i>3 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i>	<i>1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i>
<i>Konstantní napětí/V</i>	<i>4-5</i>	<i>20</i>
<i>Teplota/°C</i>	<i>11,1</i>	<i>24</i>

Po dokončení oxidace titanu byla u většiny vzorků nanoporézní maska ponechána pro následnou snadnější modifikaci povrchu zlatem.

### 4.3. Modifikace povrchu TiO<sub>2</sub> nanostruktur zlatem

Pro modifikaci povrchu zlatem byla zvolena metoda elektrochemické depozice. Elektrochemicky byly zlatem modifikovány nejprve nanotečky (20 nm), pro snadnější analýzu pomocí SEM, poté byl celý systém zmenšen do řádu kvantových teček (10 nm).

Depozice zlatícím roztokem proběhla jak přímo na povrch nanoteček, tak i přes nanoporézní masku. Roztok byl před použitím zahřát na 60 °C pro urychlení depozice zlatých částic. Bylo provedeno několik pokusů, při kterých se měnil depoziční čas i protékající proud. Podmínky, při kterých bylo dosaženo nejlepšího pokrytí zlata z hlediska homogenity, přehledně ukazuje Tabulka 2.

Tabulka 2: Podmínky experimentů, při kterých bylo dosaženo optimálního pokrytí QDs zlatem

Pokus. č	12.	19.	30.	31.	33.	35.
Vrstva Ti-Al / nm	150–250	20–500	150–250	150–250	20–500	20–500
Konstantní napětí / V	4	4	5	5	5	15
Elektrolyt, teplota el / -, °C	3M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 11					
Depozice s maskou	ano	ano	ano	ne	ne	ano
Dvoukroková anodizace / min	7	-	-	-	-	3
Rozšíření pórů / min	7	-	-	-	-	-
Leptání SC1 / min	-	-	-	-	-	3
Depoziční čas / s	30	3 x 1	5	1	1	10
Konstatní proud / mA	0,5	0,5	0,5	0,2	0,5	0,5
Závěrečné odleptání / min	10	10	10	-	-	5

Překážkou pro depozici skrz nanoporézní masku byl zejména její odpor způsobený malou šířkou a velkou délkou pórů. Řešením pro eliminaci tohoto problému bylo použití dvoukrokové anodizace, při které byla snižována tloušťka naprášené vrstvy hliníku. Odleptáním svrchní části masky po prvním anodizačním kroku, ve které jsou póry uspořádány nerovnoměrně, v selektivním leptadle po dobu 7 min bylo zároveň dosaženo lepšího uspořádání pórů. Ve druhém kroku byla dokončena anodizace zbývajících hliníkové vrstvy a rovněž došlo k vytvoření TiO<sub>2</sub> nanostruktur. Dalším krokem vedoucím ke zmenšení poměru mezi výškou a tloušťkou pórů bylo rozšíření konečné velikosti pórů za pomoci 5%, kyseliny fosforečné (60 °C, 7 min). Tento postup se ale neosvědčil, takže další pokusy proběhly bez tohoto kroku.

K lepšímu přilnutí zlata na povrch nanoteček byl vyzkoušen postup, kdy byla za pomoci standardního čistícího roztoku 1 (z angl. Standard Clean 1, SC1) odleptána část nanostruktur

TiO<sub>2</sub>. Leptání trvalo 3 min. Tímto krokem byl zmenšen odpor nanoteček zmenšením jejich povrchové plochy. Současně byla odkryta část titanové vrstvy v okolí nanoteček, kde dosahuje měrný odpor mnohem menších hodnot, než mají zoxidované struktury.

Závěrečné leptání ve vodném roztoku kyseliny fosforečné s oxidem chromovým při teplotě 60 °C bylo provedeno u vzorků s ponechanou nanoporézní maskou. Tato maska byla leptána po dobu 10 min. Po dokončení modifikace povrchu zlatem byly kvantové tečky vyžihány v peci. Žihání proběhlo ve vakuu, po dobu 1 hodiny při teplotě 490 °C.

#### **Použité roztoky:**

Zlatíci roztok: 0,6 g K[Au(CN)<sub>2</sub>] + 0,232 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, doplněno Millipore vodou na 100 ml

Leptací roztok: 10 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + 3 g CrO<sub>3</sub>, doplněno Millipore vodou na 100 ml

Standard Clean 1: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>OH, H<sub>2</sub>O v poměru 1:1:5

#### **4.4. Analýza skenovacím elektronovým mikroskopem**

Fyzikální vlastnosti byly analyzovány pomocí SEM Mira II MLU (Tescan Mira, Brno, Česká Republika) na Fakultě UMEL VUT v Brně.

Pracovní vzdálenost 2,5 nm

Mód: vysokého vakua (10<sup>-3</sup> Pa)

Napětí: 15–20 kV

Stopa svazku: 2,4 nm.

#### **4.5. Analýza fluorescenčním spektroskopem**

Fluorescence byla měřena na Fakultě chemické VUT v Brně na přístroji Fluorolog (steady-state, Horiba Scientific) obsahujícího 6 detektorů, který je schopen snímat fluorescenci v rozsahu 220–2 500 nm. Excitační rozsah je dán Xe výbojkou (450 W), 200-850 nm. Fluorolog obsahuje dva dvojité monochromátory a spektrograf, a je v tzv. „T“-konfiguraci.

Excitační vlnová délka: 350 nm

Rozsah emisní vlnové délky: 360-680 nm

Šířka štěrbin: 2,5 nm

Nastavení polarizátorů: 90 °

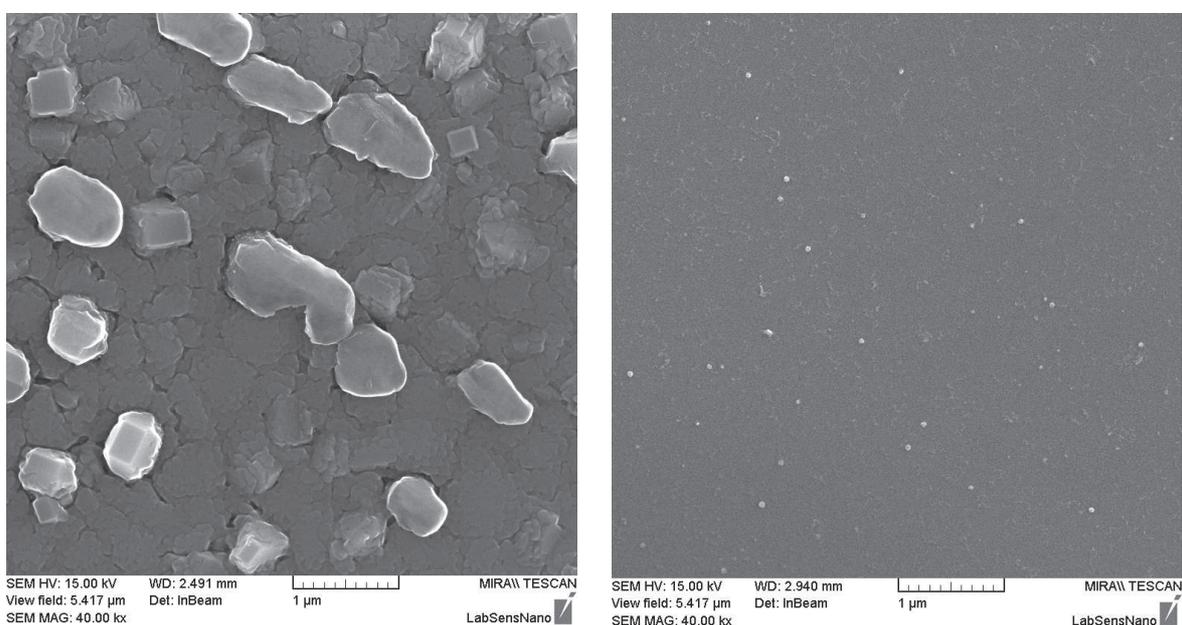
#### **4.6. Analýza energiově disperzním spektroskopem**

Prvkové zastoupení pomocí EDX bylo měřeno na SEM (JEOL JSM 6460) s přídatnými nástroji EDX (Oxford Instruments INCA Energy analyser).

# 5. Výsledky a diskuze

## 5.1. Charakterizace použitých hliníkových a titanových vrstev

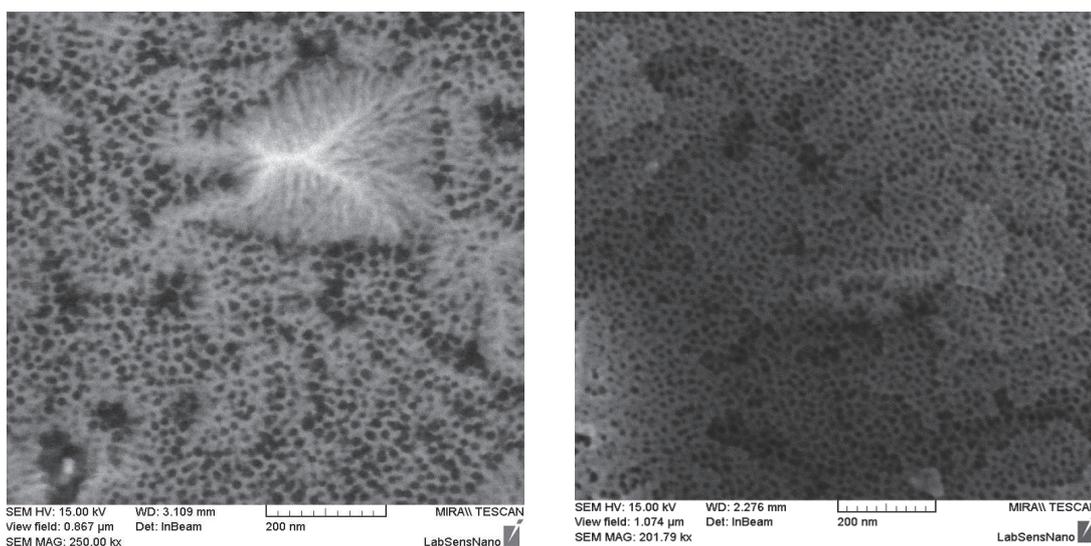
Pro zabránění zoxidování titanové vrstvy byla zvolena kontinuální výroba obou vrstev naprášením bez přerušení vakua. Tímto postupem bylo dosaženo rozhraní mezi vrstvami Ti-Al s minimální povrchovou nerovností (pod 1 nm dle AFM), avšak povrch hliníku s drsností v několika desítkách nm. Naprášená vrstva hliníku (500 nm), v porovnání s homogenní vrstvou titanu (20 nm), obsahuje velké množství krystalů, vystupujících až na povrch (*Obrázek 6*). Tato povrchová nehomogenita hliníkové vrstvy silně ovlivňuje kvalitu vzniklé nanoporézní masky, jak bude ukázáno níže.



*Obrázek 6: SEM charakterizace povrchu hliníku (vlevo) a povrchu titanu (vpravo)*

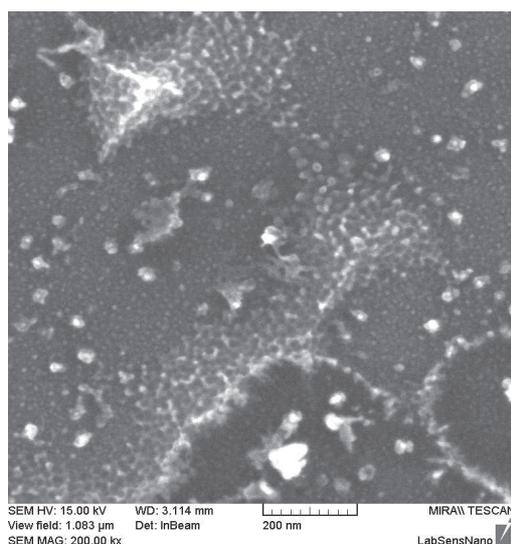
## 5.2. Výroba nanostruktur anodickou oxidací Ti-Al dvojvrstvy

Přítomnost krystalů hliníku způsobuje nepravidelné uspořádání nanopórů v masce oxidu hlinitého (Obrázek 7). Vlevo lze porovnat masku vzniklou jednokrokovou anodizací na vrstvě Al 250 nm a vpravo masku vzniklou dvoukrokovou anodizací s rozšířením pórů na vrstvě Al 500 nm. V prvním případě jsou póry nerovnoměrně rozloženy po povrchu a jejich velikost má velký rozptyl. U dvoukrokové anodizace jsou póry lépe uspořádané a pokrytí je homogennější.



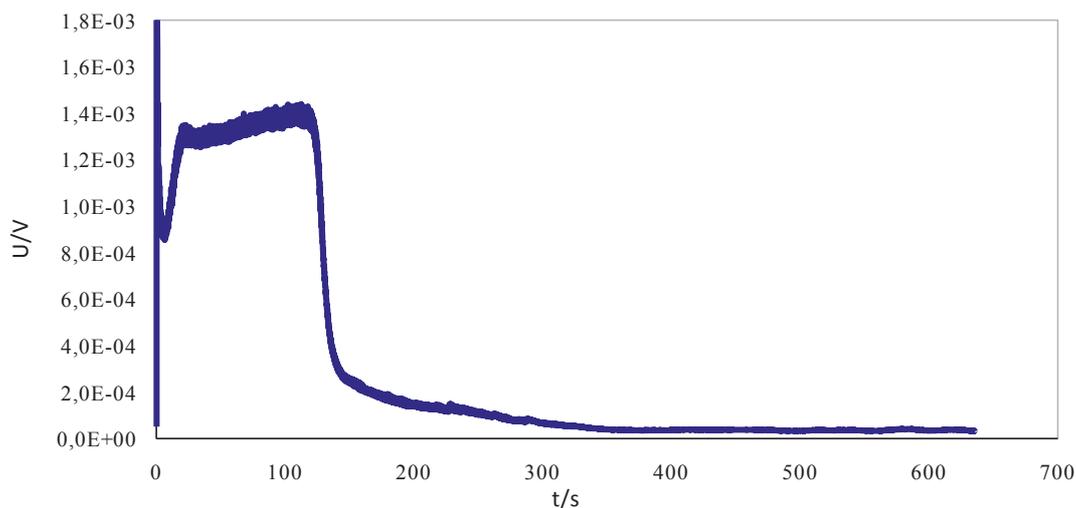
Obrázek 7: SEM charakterizace nanoporézní masky vytvořené jednokrokovou anodizací (vlevo) a nanoporézní masky vzniklé dvoukrokovou anodizací (vpravo)

Po závěrečném odleptání lze najít místa s hliníkem, jehož anodizace nebyla dokončena, což je způsobeno přítomností velkých krystalů v hliníkové vrstvě. V těchto oblastech jsou zřetelné otisky nanopórů (Obrázek 8).



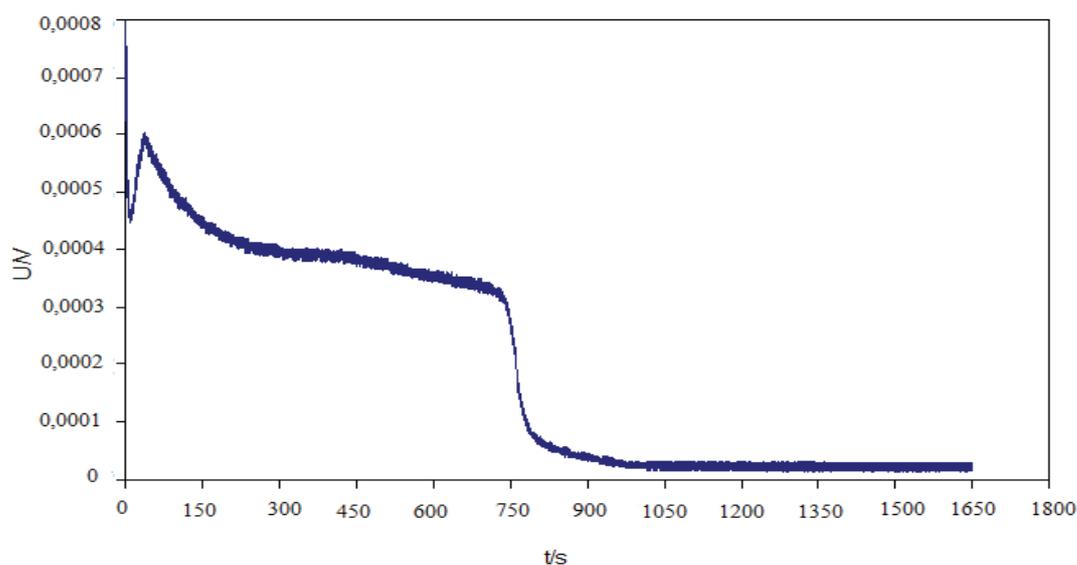
Obrázek 8. SEM charakterizace stukturovaného povrchu vzorku po odleptání, viditelné  $\text{TiO}_2$  nanotečky se zbytky hliníku

Na grafu (Obrázek 9) lze vidět křivku znázorňující průběh anodizace hliníku a titanu. Celý děj probíhal za konstantního napětí o velikosti 20 V působením jednomolární kyseliny sírové a při teplotě 24°C. První část křivky popisuje anodizaci hliníkové vrstvy. Ta probíhá po dobu 150 sekund. Během této fáze se tvoří nanopóry a tím vzniká nanoporézní maska. Prudký pokles křivky znázorňuje dokončení oxidace hliníku a počátek oxidace titanové vrstvy, během které se začnou tvořit nanotečky oxidu titaničitého o velikosti 20 nm. Tento děj probíhal v časovém intervalu 150-630 vteřin.



Obrázek 9: Křivka průběhu anodické oxidace při výrobě nanoteček, 20 V, 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 24°C

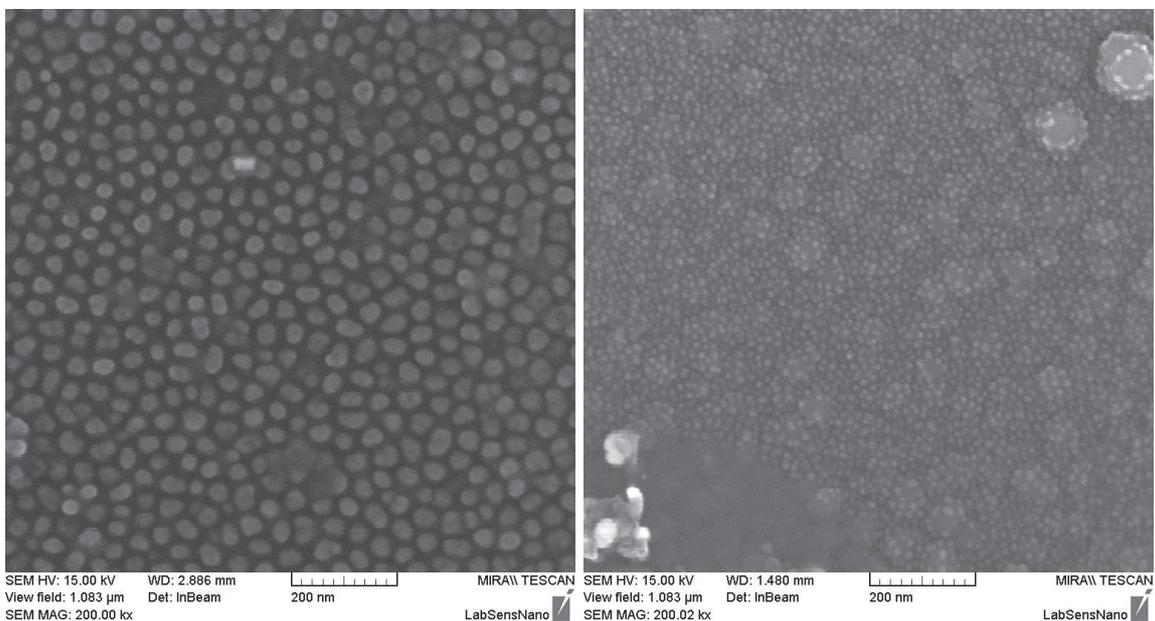
Na grafu (Obrázek 10) lze opět vidět křivku znázorňující průběh anodizace hliníku a titanu, ovšem za jiných podmínek. Velikost konstantního napětí byla 5 V, jako elektrolyt byla použita trojmolární kyselina sírová a celý děj probíhal při teplotě 11°C.



Obrázek 10: Křivka průběhu anodické oxidace při výrobě QDs, 5V, 3 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 11°C

První část křivky popisuje anodizaci hliníkové vrstvy. Ta probíhá v časovém intervalu od 0 - 800 s, tedy 5x déle než v případě tvorby nanoteček (*Obrázek 9*). Pokles křivky v čase 800 vteřin od počátku anodizace znázorňuje dokončení oxidace hliníku a počátek oxidace titanové vrstvy, během které se začnou tvořit nanotečky oxidu titaničitého o velikosti 10 nm. Oxidace titanu probíhala po dobu 850 vteřin.

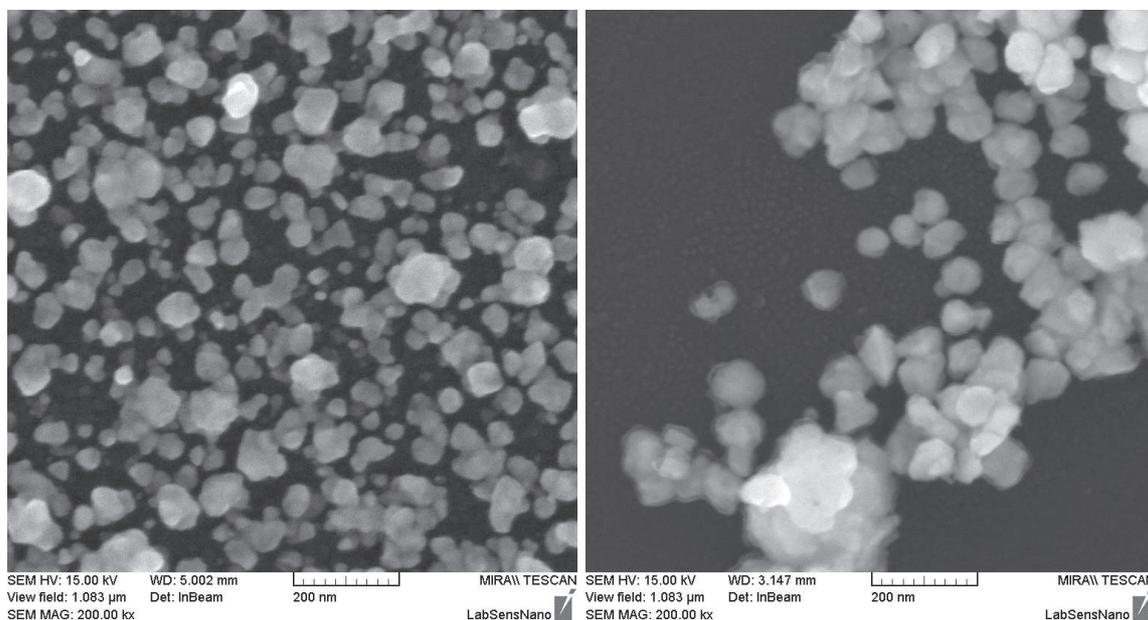
Vlivem různých podmínek při anodizaci vznikají nanostruktury různých tvarů a velikostí. Na výše uvedených obrázcích (*Obrázek 11*) lze porovnat velikost nanoteček o velikosti 20 nm, vzniklé jednomolární kyselinou sírovou, při pokojové teplotě za konstantního napětí 20 V a kvantových teček o velikosti 10 nm vzniklých třímolární kyselinou sírovou, při teplotě 11 °C a za přítomnosti konstantního napětí 5 V.



*Obrázek 11: SEM charakterizace nanoteček oxidu titaničitého o velikosti 20 nm (vlevo) a nanoteček oxidu titaničitého o velikosti 10 nm (vpravo)*

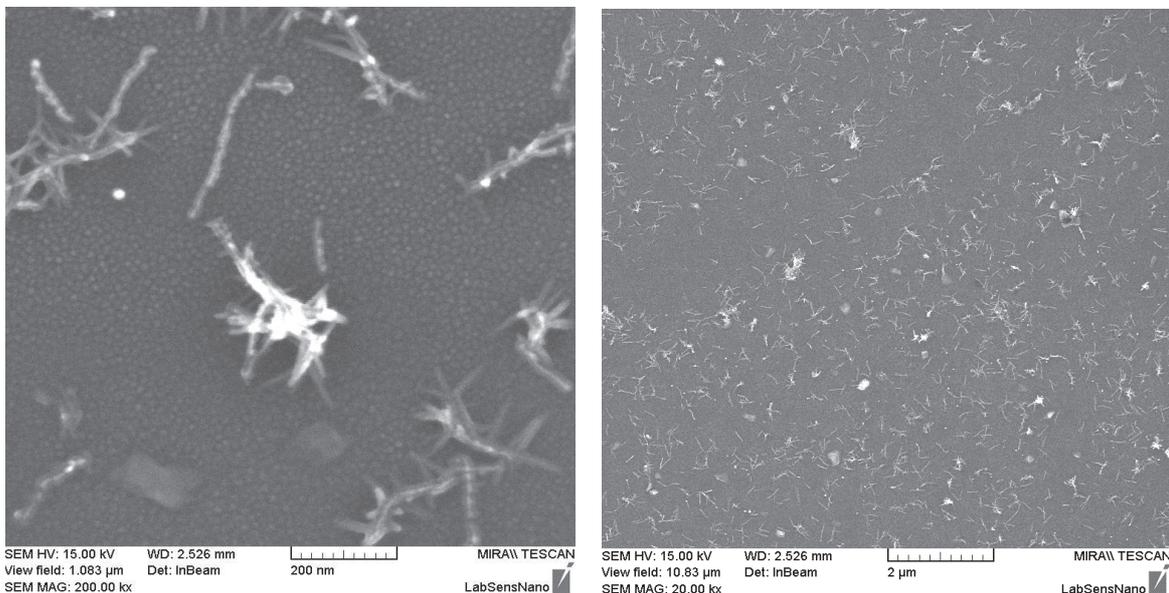
### 5.3. Modifikace nanostruktur zlatem elektrochemickou depozicí

Na obrázcích (Obrázek 12) lze porovnat konečný efekt depozice, při stejném konstantním proudu 0,5 mA, za různých časových podmínek. Současně lze také porovnat efekt přítomnosti nanoporézní masky. Na obrázku vlevo byla depozice provedena bez nanoporézní masky po dobu 1 s konstantním proudem 0,5 mA. Vzniklé zlaté struktury jsou rovnoměrně rozloženy, jejich velikost je má však velký rozptyl. V druhém případě, na obrázku vpravo, byla modifikace zlatem provedena pod stejným proudem. Rozdíl byl v depoziční době, která trvala 5 s a v přítomnosti nanoporézní masky. Vzniklé pokrytí již není tak rovnoměrné jak v prvním případě, což přikládáme za vinu defektům v nanoporézní masce. Distribuční velikost vzniklých částic je však užší.



Obrázek 12: SEM charakterizace povrchu QDs TiO<sub>2</sub> po modifikaci zlatem pomocí elektrochemické depozice bez nanoporézní masky,  $I=0,5$  mA,  $t=1$  s (vlevo) a přes nanoporézní masku (vpravo),  $I=0,5$  mA,  $t=5$  s

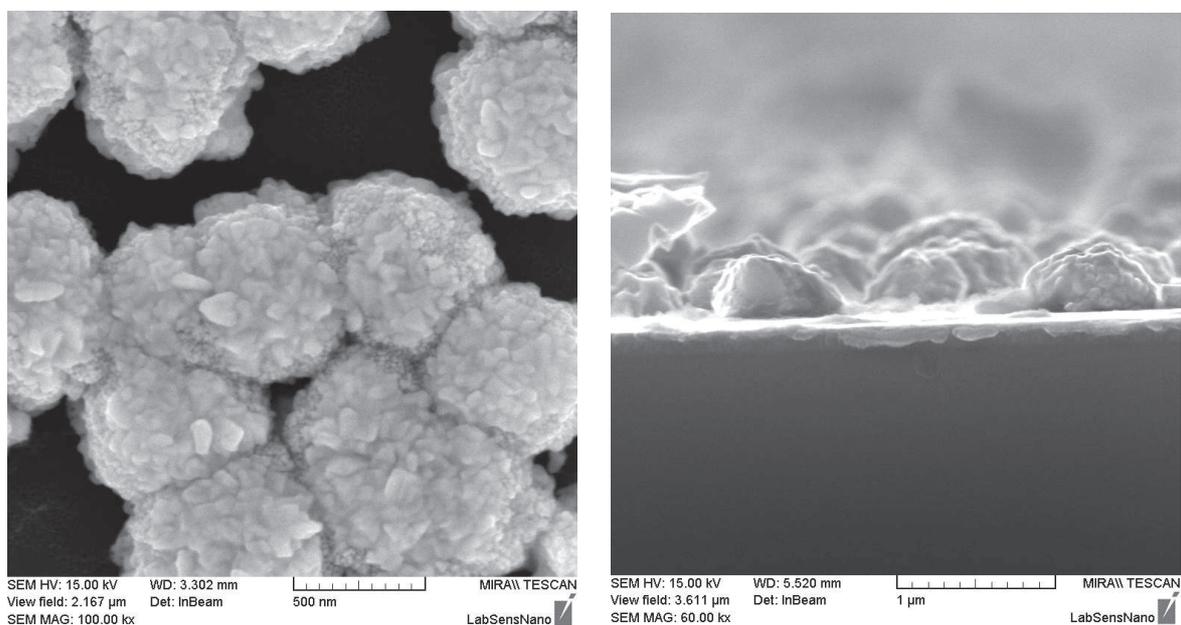
Při pulsní elektrochemické depozici 3x1 s, za konstantního proudu 0,5 mA a přítomnosti nanoporézní masky bylo dosaženo rovnoměrného pokrytí povrchu zlatými nanotyčinkami polehaného charakteru vzniklými na nanotečkách TiO<sub>2</sub> (Obrázek 13).



*Obrázek 13: SEM charakterizace povrchu QDs TiO<sub>2</sub> po modifikaci zlatem pomocí elektrochemické depozice přes nanoporézní masku v měřítku 200 nm (vlevo) a 2 μm (vpravo),  $I=0,5$  mA,  $t=3 \times 1$  s*

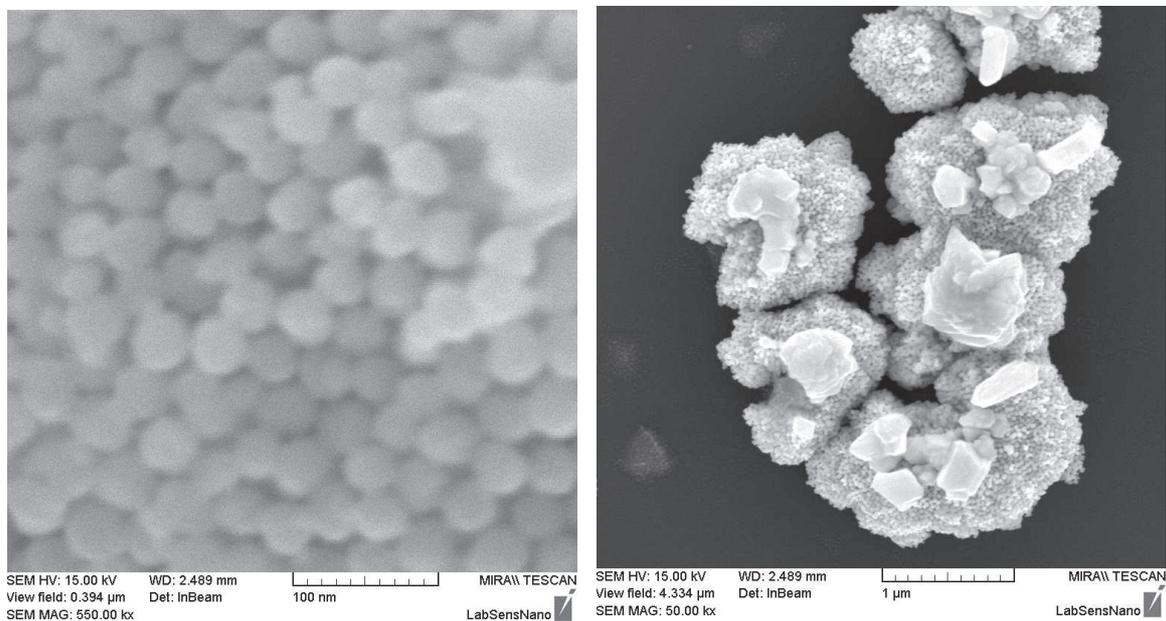
Na obrázku vlevo (*Obrázek 14*) lze pozorovat přerostlé zlaté nanotyčinky, které vznikly v nanoporézní masce při prodloužení depozičního času na 30 s, za konstantního proudu 0,5 mA. Tyto nanostruktury se předeponovaly až na povrch masky, kde se sjednotily za vzniku zlatých agregátů.

Na obrázku vpravo lze vidět příčný řez skrz nanoporézní masku. Na jejím povrchu vznikly depozicí zlata, za podmínek 10 s a 0,5 mA, velké agregáty.



*Obrázek 14: SEM charakterizace povrchu QDs TiO<sub>2</sub> po modifikaci zlatem pomocí elektrochemické depozice přes nanoporézní masku,  $I=0,5$  mA,  $t=30$  s (vlevo) a příčného řezu nanostrukturami s nanoporézní maskou,  $I=0,5$  mA,  $t=10$  s, (vpravo)*

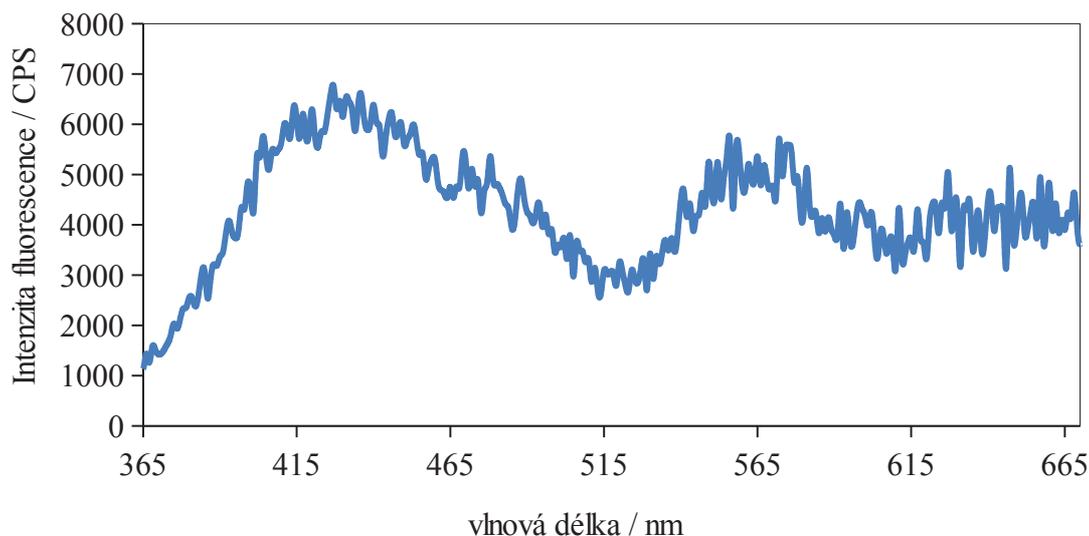
Nejhomogennějšího a nejkonformnějšího pokrytí bylo dosaženo při použití leptadla Standard Clean 1. Zlato bylo deponováno při velikosti proudu 5 mA a depozičním čase 10 s do snížené nanoporézní masky, na částečně odleptané nanotečky  $\text{TiO}_2$ . Jak lze vidět na obrázku vlevo, vzniklé zlaté nanotyčinky přesně kopírovaly tvarem i hustotou hliníkovou šablonu (*Obrázek 15*). V některých oblastech došlo opět k jejich agregaci na povrchu masky za vzniku předeponovaných oblastí, jak je znázorněno na obrázku vpravo.



*Obrázek 15: SEM charakterizace povrchu QDs  $\text{TiO}_2$  po modifikaci zlatem pomocí elektrochemické depozice přes nanoporézní masku v měřítku 100 nm (vlevo) a 1 μm (vpravo),  $I=5 \text{ mA}$ ,  $t=10 \text{ s}$ , odleptání pomocí SC1*

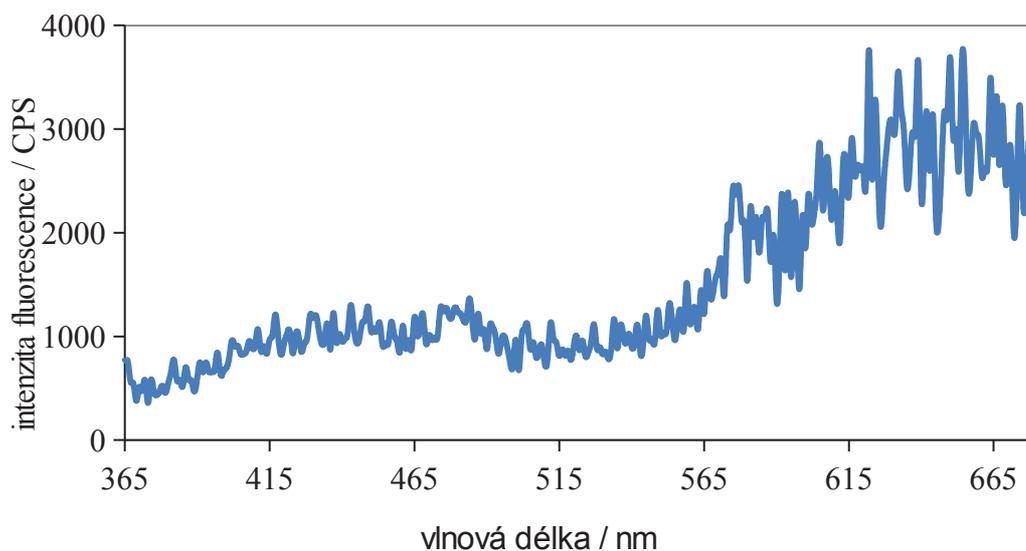
## 5.4. Fluorescenční spektra

Analýza fluorescenčních vlastností vzorků s kvantovými tečkami a zlatem proběhla pomocí fluorescenční spektroskopie. Při této analýze byla zaznamenána silná odezva okolní hliníkové vrstvy na excitační záření (*Obrázek 16*). Emisní spektrum hliníku mělo na vlnové délce 420 nm své maximum intezity o velikosti 7000 CPS (counts per seconds, tedy fotonů za sekundu). Příčinou této odezvy byl nehomogenní povrch vrstvy obsahující mnoho velkých hliníkových krystalů.

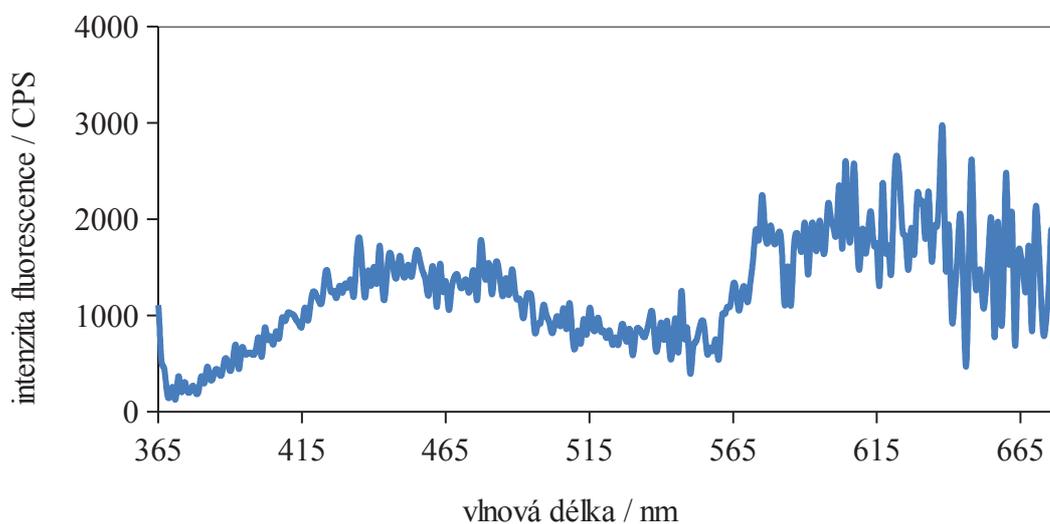


*Obrázek 16: Fluorescenční spektrum hliníku*

Intenzita fluorescence nevyžíhaných kvantových teček (*Obrázek 17*) i vyžíhaných modifikovaných kvantových teček (*Obrázek 18*) byla silně potlačena emisí hliníkové vrstvy. Při absenci polarizátorů odpovídala emise v celém spektrum pouze hliníku, který svoji intenzitou emise potlačil i další možné píky příslušející zlatu a kvantovým tečkám. Odraz hliníku v emisním spektru byl potlačen použitím excitačního polarizátoru nastaveného na 90°. Výsledkem tohoto kroku byla fluorescenční spektra u nevyžíhaných teček o maximalní hodnotě emise 1200 CPS na vlnové délce 420 nm, u vyžíhaných a modifikovaných kvantových teček zlatem maximální hodnota intenzity fluorescence 1500 CPS na stejné vlnové délce. Tyto nízké hodnoty intenzity byly zaviněny nedostatkem materiálu na vzorcích a příliš širokou fokusací excitačního záření spektroskopu, které dopadalo i na okolí vzorku tvořené hliníkovou vrstvou. V průběhu obou křivek lze sledovat široké píky příslušející hliníkové vrstvě ( v oblasti 550 až 680 nm).



Obrázek 17: Fluorescenční spektrum nežíhaných kvantových teček



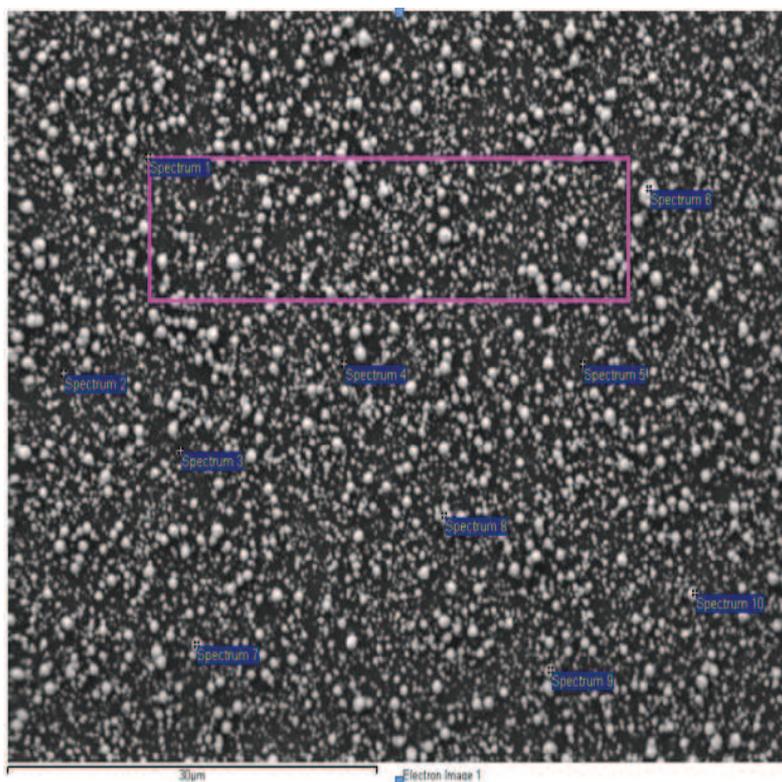
Obrázek 18: Fluorescenční spektrum žíhaných kvantových teček modifikovaných zlatem

Pro ověření správnosti výsledků byly vzorky proměřeny i na Mendlově fakultě na přístroji Infinite 200 Pro, přičemž spektra kvantových teček vykazovala podobný průběh s velmi nízkou intenzitou fluorescence.

Vzhledem k výše uvedeným faktům nebyl povrch modifikovaných nanostruktur dále funkcionalizován biomolekulami. Tato funkcionalizace by proběhla nanesením různě koncentrovaných roztoků, obsahujících oligonukleotid (v řádech  $\mu\text{g/ml}$ ), na povrch kvantových teček modifikovaných zlatem. Po odpaření kapalné části by byly tyto vzorky proměřeny na fluorescenčním spektroskopu za předpokladu změny intenzity emisního spektra oproti nefunkcionalizovaným vzorkům.

## 5.5. Analýza EDX

Tabulka (Tabulka 3) ukazuje prvkové složení vzorku po depozici zlata analýzou EDX. Zaměření analyzované oblasti (30  $\mu\text{m}$ ) bylo uskutečněno za pomoci SEM (Obrázek 19). Hodnoty v tabulce odpovídají prvkovému zastoupení jednotlivých oblastí (v jednotlivých spektrech) v atomových procentech. Na vzorku bylo detekováno 5 základních prvků: uhlík (C), kyslík (O), křemík (Si), titan (Ti) a zlato (Au). Nežádoucí přítomnost uhlíku na vzorku je nejpravděpodobněji zapříčiněna neopatrnou manipulací se vzorkem a používáním uhlíkové pásky jako upevňující médium pro SEM analýzu. Výskyt ostatních prvků na vzorku odpovídá použitým materiálům: křemík tvořil wafer, titan vrstvu, na které probíhala anodizace za vzniku nanoteček, kyslík je zastoupen v zoxidovaných strukturách – v našem případě kvantových tečkách, eventuálně v okolní nativní oxidové vrstvě titanu a zlatem byl modifikován povrch nanoteček.



Obrázek 19: SEM charakterizace povrchu QDs  $\text{TiO}_2$  po modifikaci zlatem pomocí elektrochemické depozice s nanoporézní maskou s vyznačenými místy analýzy EDX,  $I=0,5$  mA,  $t=5$  s

Tabulka 3: Výsledky EDX analýzy v atomových procentech

<i>Spektrum</i>	<i>C</i>	<i>O</i>	<i>Si</i>	<i>Ti</i>	<i>Au</i>
<i>Spektrum 1</i>	39,65	7,37	43,73	5,60	3,65
<i>Spektrum 2</i>	54,28	23,08	20,07	1,81	0,76
<i>Spektrum 3</i>	54,58	23,43	19,43	1,65	0,91
<i>Spektrum 4</i>	54,88	23,47	18,98	1,53	1,15
<i>Spektrum 5</i>	54,61	23,53	19,36	1,62	0,88
<i>Spektrum 6</i>	55,68	24,40	17,35	1,02	1,56
<i>Spektrum 7</i>	56,11	24,17	17,74	0,98	1,00
<i>Spektrum 8</i>	55,03	24,08	18,5	1,35	1,03
<i>Spektrum 9</i>	55,77	24,67	17,64	0,95	0,96
<i>Spektrum 10</i>	55,47	24,20	18,19	1,24	0,90
<i>Průměr</i>	53,61	22,24	21,1	1,77	1,28
<i>Std. Odchylka</i>	4,94	5,25	8,00	1,38	0,86
<i>Max.</i>	56,11	24,67	43,73	5,60	3,65
<i>Min.</i>	39,65	7,37	17,35	0,95	0,76

## 6. Závěr

V této práci byla použita nelitografická metoda pro výrobu uspořádaných kvantových teček na pevném substrátu a jejich následnou modifikaci zlatem za použití nanoporézní šablony oxidu hlinitého. Vytvoření kvalitní nanoporézní šablony je základem pro vznik fluorescenčního pole nanoteček požadované velikosti a taktéž pro úspěšnou depozici zlata na povrch vytvořených nanostruktur. Charakter vzniklých nanopórů závisí nejenom na podmínkách anodizace – typu a teplotě elektrolytu a anodizujícím napětí – ale i na kvalitě vrstev, na kterých pracujeme. V této práci byly vyzkoušeny dva způsoby nanášení tenkých vrstev na substrát, a to napařování a naprašování, za účelem dosažení co nejkvalitnějších vrstev s minimální povrchovou nerovností. Při napařování hliníku na již naprášený titan bylo rozhraní titan-hliník nekvalitní. Ve druhém případě, kdy byl hliník naprášený ihned po naprášení titanu, obsahovala tato vrstva velké krystaly hliníku vystupující nad povrch. Proto je důležité do budoucna vytvořit takové vrstvy, které budou obě homogenní.

Anodizací vzniklé nanopóry byly v šabloně rozmístěny nerovnoměrně. Lepší konformity a homogennějšího pokrytí povrchu bylo dosaženo dvoukrokovou anodizací. Z výsledků je patrné, že průběh anodizace hliníkové a titanové dvojvrstvy při konstantním napětí 20 V je mnohem rychlejší, než při napětí 5 V. Konkrétně oxidace hliníku probíhá při zvýšeném napětí mnohem rychleji. U všech experimentů byla zajištěna dostatečně dlouhá doba pro anodickou oxidaci titanu, což mělo za následek lepší homogenitu pokrytí nanotečkami. Připravené nanotečky oxidu titaničitého na křemíkové destičce vykazovaly ve finále rovnoměrnou distribuci po celém povrchu jak v malé, tak ve velké velikosti.

Při modifikaci povrchu zlatem metodou elektrochemické depozice bylo třeba řešit několik komplexních problémů. Při využití této metody hraje roli v dosažení homogenního pokrytí a optimální velikosti zlatých nanostruktur více faktorů. Zejména depoziční doba, velikost proudu a kvalita nanoporézní masky patří mezi ty, které významně ovlivňují finální výsledek depozice. Přítomnost nanoporézní masky je v případě elektrochemické depozice nezbytná vzhledem k požadavkům na jisté uspořádání a tvar vzniklých zlatých struktur na povrchu. Vlivem velkých krystalů ve vrstvě hliníku nebyly v některých oblastech póry utvořené až k povrchu titanu, což způsobilo vznik defektů. V místech defektů vznikal proudový spád, který zapříčinil vznik predeponovaných míst – aglomerátů zlata. Dalším problémem byl odpor nanoporézní masky, přes kterou byla depozice uskutečněna. Odpor nanoporézní masky byl způsoben poměrem mezi délkou a šířkou nanopórů. Tento poměr byl optimalizován za pomoci dvoukrokové anodizace a rozšiřováním pórů.

Při nízkém konstantním proudu (0,5 mA) a krátkém depozičním čase (1 s) vytvořilo zlato na nanotečkách tenký povlak. Pokrytí však bylo nerovnoměrné. Zvýšením proudu na hodnotu 50 mA a opakovanými krátkými pulsy bylo dosaženo homogennějšího pokrytí, avšak v šabloně na povrchu nanoteček vyrostly zlaté nanotyčinky. Se zvyšující se dobou depozice tyto nanotyčinky prorůstají celou délkou nanopórů v masce. Při dalším zvýšení proudu či času dochází ke shlukování těchto struktur na povrchu masky za vzniku předeponovaných oblastí. Z výše uvedených výsledků lze jasně potvrdit předpoklad, že depozice zlata na povrch kvantových teček přes nanoporézní masku probíhá nejlépe při nízkých hodnotách konstantního proudu a krátkých depozičních časech.

Finálním výsledkem bylo nalezení způsobu depozice po použití standardního čistícího roztoku pro křemíkové wafery. Tímto roztokem byly zmenšeny TiO<sub>2</sub> nanotečky a tím i jejich odpor. Současně byla odkryta část titanové vrstvy v okolí nanostruktur, kde dosahuje měrný odpor mnohem menších hodnot, než mají zoxidované struktury. Výsledkem tohoto postupu byly získány oblasti v jednotkách mikrometrů, na kterých bylo zlato uspořádáno podle vzoru nanoporézní masky ve formě velmi krátkých nanotyčinek. Pro dosažení takového pokrytí ve větším měřítku je však potřeba získat kvalitní nanoporézní masku, jak již bylo popsáno výše.

Při analýze fluorescenčních vlastností kvantových teček se zlatem byl hlavní příčinou nízké intenzity emise nedostatek materiálu na vzorcích (ve srovnání s koloidními kvantovými tečkami). Dalším důvodem, který mohl zapříčinit nedetekovatelnou emisi kvantových teček, byla silná odezva (pravděpodobně odraz) okolní hliníkové vrstvy na budící záření. Tato vrstva obsahovala množství velkých hliníkových krystalů, které vykazovaly intenzivní široké píky ve viditelné oblasti. I když byl detektor použitého fluorescenčního spektroskopu dostatečně citlivý, nebylo možné budící záření přesně fokusovat na vzorek a tím zamezit excitaci okolního hliníku. Proto je nezbytně nutné zaměřit přesně oblast vzorku, kterou chceme analyzovat. Tento problém by bylo možné eliminovat použitím fluorescenčního mikroskopu, který ovšem nebyl k dispozici. Další možností způsobující potlačení emisního spektra modifikovaných kvantových teček bylo užití polarizátorů. Excitační polarizátor byl nastaven na 90°, což umožnilo potlačení odrazu hliníku. Při absenci polarizátorů však náleželo vzniklé spektrum pouze hliníku, který svoji intenzitou emise potlačil i další možné píky příslušející zlatu a kvantovým tečkám. Vzhledem k těmto obtížím nebylo dále možné provést analýzu fluorescenčních vlastností nanostruktur funkcionalizovaných biomolekulami (např. oligonukleotidy), protože vliv zhášení fluorescence nanostruktur účinkem těchto biomolekul by již nebyl detekovatelný.

V případě úspěšné fluorescenční analýzy by bylo možné sestavit biosenzor pro detekci nukleových kyselin, tedy systém kvantové tečky TiO<sub>2</sub>-Au-oligonukleotid pro optickou detekci

virového onemocnění. Základem pro tento systém je modifikace povrchu zlatem. Díky jeho vhodným vlastnostem, zejména vysoké afinitě k vodíku je systém TiO<sub>2</sub>-Au možné nazvat univerzálním základem pro jakýkoliv biosenzor. Oba prvky jsou plně kompatibilní s lidským tělem. Tím je nabízena další možnost a to například využití tohoto systému pro cílené doručování léčiv *in vivo*.

## 7. Seznam použité literatury

- [1] DRBOHLAVOVA, Jana, Vojtech ADAM, Rene KIZEK a Jaromir HUBALEK. Quantum Dots Characterization, Preparation and Usage in Biological Systems. *International Journal of Molecular Sciences*. 2009, roč. 10, č. 2, s. 656-673. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms10020656. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/10/2/656/>
- [2] MICHALET, X. Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics. DOI: 10.1126/science.1104274. Dostupné z: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1104274>
- [3] KUMAR, C. *Nanomaterials for biosensors*. Weinheim: Wiley-VCH, c2007, xxi, 408 p. ISBN 35-273-1388-5.
- [4] CHOMOUCKÁ, Jana, Jana DRBOHLAVOVA, Marketa RYVOLOVA, Pavlina SOBROVA, Libor JANU, Vojtech ADAM, Jaromir HUBALEK, Rene KIZEK, Quantum dots: Biological and Biomedical Applications, *Nova Science Publishers, 2008*
- [5] EROGBOGBO, Folarin, Ken-Tye YONG, Indrajit ROY, GaiXia XU, Paras N. PRASAD a Mark T. SWIHART. Biocompatible Luminescent Silicon Quantum Dots for Imaging of Cancer Cells. DOI: 10.1021/nn700319z. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn700319z>
- [6] QIAN, Huifeng, Chaoqing DONG, Jifang WENG a Jicun REN. Facile One-Pot Synthesis of Luminescent, Water-Soluble, and Biocompatible Glutathione-Coated CdTe Nanocrystals. *Small*. 2006, roč. 2, č. 6, s. 747-751. ISSN 1613-6810. DOI: 10.1002/smll.200500530. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/smll.200500530>
- [7] VOROZHTSOVA, Marina, Jana DRBOHLAVOVA, Jaromir HUBALEK, Chemical Microsensors with Ordered Nanostructures, *Microsensors, 2011, 978-953-307-170-1*
- [8] CAO, Guozhong, Dawei LIU. Template-based synthesis of nanorod, nanowire, and nanotube arrays. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2008, **136**(2), 45-64, 0001-8686 DOI: 10.1016/j.cis.2007.07.003. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001868607001170>
- [9] KOKONOU, M., K.P. GIANNAKOPOULOS a A.G. NASSIOPOULOU. Few nanometer thick anodic porous alumina films on silicon with high density of vertical pores. DOI: 10.1016/j.tsf.2006.11.022. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040609006013447>
- [10] MOZALEV, A., A.J. SMITH, S. BORODIN, A. PLIHAUKA, A.W. HASSEL, M. SAKAIRI a H. TAKAHASHI. Growth of multioxide planar film with the nanoscale inner structure via anodizing Al/Ta layers on Si. *Electrochimica Acta*. 2009, roč. 54, č. 3, s. 935-945. ISSN 00134686. DOI: 10.1016/j.electacta.2008.08.030. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468608010153>

- [11] CHU, S.Z.; INOUE, S.; WADA, K.; HISHITA, S.; KURASHIMA, K., Self-organized nanoporous anodic titania films and ordered titania nanodots/nanorods on glass, *Advanced Functional Materials*, 2005, **15**(8), 1343 - 1349, 10.1002
- [12] FIŠERA M., Anatas ve sbírce mineralogicko-petrologického oddělení Přírodovědeckého muzea Národního muzea, *Bulletin mineralogicko-petrologického oddělení Národního muzea v Praze* 12, 2004, 56-63
- [13] WU, J., S. LEE, V.R REDDY, M.O. MANASREH, B.D. WEAVER, A spol. Photoluminescence plasmonic enhancement in InAs quantum dots coupled to gold nanoparticles, *Materials Letters*, 2011, **65**(23), 3605-3608C.
- [14] LEMIRE, C., R. MEYER, Sh.K. SHAIKHUTDINOV a H.-J. FREUND. CO adsorption on oxide supported gold: from small clusters to monolayer islands and three-dimensional nanoparticles. *Surface Science*. 2004, roč. 552, 1-3, s. 27-34. ISSN 00396028. DOI: 10.1016/j.susc.2004.01.029. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039602804000354>
- [15] LAI, X., T.P.St. CLAIR, M. VALDEN a D.W. GOODMAN. Scanning tunneling microscopy studies of metal clusters supported on TiO<sub>2</sub> (110): Morphology and electronic structure. *Progress in Surface Science*. 1998, roč. 59, 1-4, s. 25-52. ISSN 00796816. DOI: 10.1016/S0079-6816(98)00034-3. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079681698000343>
- [16] WANG, Liping, Wei MAO, Dandan NI, Junwei DI, Ying WU a Yifeng TU. Direct electrodeposition of gold nanoparticles onto indium/tin oxide film coated glass and its application for electrochemical biosensor. *Electrochemistry Communications*. 2008, roč. 10, č. 4, s. 673-676. ISSN 13882481. DOI: 10.1016/j.elecom.2008.02.009. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1388248108000611>
- [17] RAPECKI, T., M. DONTEN a Z. STOJEK. Electrodeposition of polypyrrole-Au nanoparticles composite from one solution containing gold salt and monomer. *Electrochemistry Communications*. 2010, roč. 12, č. 5, s. 624-627. ISSN 13882481. DOI: 10.1016/j.elecom.2010.02.015. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1388248110000792>
- [18] BAEZ, Victor B. a Derek PLETCHER. Preparation and characterization of carbon/titanium dioxide surfaces ? the reduction of oxygen. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 1995, roč. 382, 1-2, s. 59-64. ISSN 15726657. DOI: 10.1016/0022-0728(94)03645-J. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/002207289403645J>
- [19] SULKA, G.D.: Highly Ordered Anodic Porous Alumina Formation by Self-Organized Anodizing; *Weinheim, 2008, Nanostructured Materials in Electrochemistry, Chapter 1*, ISBN: 978-3-527-31876-6.
- [20] OKUMURA, Mitsutaka, Shyunichi NAKAMURA, Susumu TSUBOTA, Toshiko NAKAMURA, Masashi AZUMA a Masatake HARUTA. Chemical vapor deposition of gold on Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub>, and TiO<sub>2</sub> for

*the oxidation of CO and of H<sub>2</sub>, Catalysis Letters*. roč. 51, 1/2, s. 53-58. ISSN 1011372x. DOI: 10.1023/A:1019020614336. Dostupné z: <http://www.springerlink.com/openurl.asp?id=doi:10.1023/A:1019020614336>

[21] Energy-dispersive X-ray spectroscopy. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2012-05-24].

[22] Energy Dispersive X-Ray Analysis (EDX). In: [online]. [cit. 2012-05-24]. Dostupné z: <http://www.intertek.com/analysis/microscopy/edx/>

[23] Rastrovací elektronová mikroskopie. In: [online]. [cit. 2012-05-24]. Dostupné z: <http://biologie.upol.cz/mikroskopie/rastrovaci%20em.htm>

[24] Molekulová luminiscence. In: PREISLER, Jan. [online]. 2012 [cit. 2012-05-24]. Dostupné z: <http://bart.chemi.muni.cz/courses/4%20a%205.pdf>

[25] Principy fluorescenční spektroskopie. In: [online]. [cit. 2012-05-24]. Dostupné z: <http://psych.lf1.cuni.cz/fluorescence/soubory/principy.htm>

[26] PRŮŠA, Richard, *Základy analytických metod v klinické molekulární biologii, Základy analytických metod v klinické molekulární biologii*, 1997, 80-238-0904-7

[27] NIELSEN, P., M EGHOLM, R. BERG a O BUCHARDT. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Science*. 1991-12-06, roč. 254, č. 5037, s. 1497-1500. ISSN 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1962210. Dostupné z: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1962210>

[28] BROWN, Eric M.B., Tatjana PAUNESKU, AiGuo WU, K. Ted THURN, Benjamin HALEY, Jimmy CLARK, Taisa PRIESTER a Gayle E. WOLOSCHAK. Methods for assessing DNA hybridization of peptide nucleic acid?titanium dioxide nanoconjugates. *Analytical Biochemistry*. 2008, roč. 383, č. 2, s. 226-235. ISSN 00032697. DOI: 10.1016/j.ab.2008.08.020. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003269708005368>

[29] SINGH, Ravindra P., Byung-Keun OH a Jeong-Woo CHOI. Application of peptide nucleic acid towards development of nanobiosensor arrays. *Bioelectrochemistry*. 2010, roč. 79, č. 2, s. 153-161. ISSN 15675394. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2010.02.004.

[30] ZUO, Xinbing, Huanan WU, Juhong TOH a Sam Fong Yau LI. Mechanism of mercury detection based on interaction of single-strand DNA and hybridized DNA with gold nanoparticles. *Talanta*. 2010-10-15, roč. 82, č. 5, s. 1642-1646. ISSN 00399140. DOI: 10.1016/j.talanta.2010.07.031. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003991401000545X>

[31] DRBOHLAVOVÁ, J.; CHOMOUCÁ, J.; HRDÝ, R.; PRÁŠEK, J.; JANŮ, L.; RYVOLOVÁ, M.; ADAM, V.; KIZEK, R.; HALASOVÁ, T.; HUBÁLEK, J. Effect of Nucleic Acid and Albumin on Luminescence Properties of Deposited TiO<sub>2</sub> Quantum Dots. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ELECTROCHEMICAL SCIENCE*, 2012, roč. 7, č. 2, s. 1424-1432. ISSN: 1452- 3981.

[32] HE, Yuqing, Sanquan ZHANG, Xibao ZHANG, Meenu BALODA, Anant S. GURUNG, Hui XU, Xueji ZHANG a Guodong LIU. Ultrasensitive nucleic acid biosensor based on enzyme-gold nanoparticle dual label and lateral flow strip biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*. 2011, roč. 26, č. 5, s. 2018-2024. ISSN 09565663. DOI: 10.1016/j.bios.2010.08.079. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566310005981>

## 8. Zdroje obrázků

[Obrázek 1.] Challa S. S. R. Kumar, Nanomaterials for biosensors, *Nanomaterials for biosensors*, 2007, 3-527-31388-5

[Obrázek 2.] Challa S. S. R. Kumar, Nanomaterials for biosensors, *Nanomaterials for biosensors*, 2007, 3-527-31388-5

[Obrázek 3.] Otyepková, Eva, Otyepka, Micha, Luminiscence, [online] 2010, Dostupné z: [http://fch.upol.cz/skripta/zfcm\\_pred/3\\_luminiscence\\_2010.pdf](http://fch.upol.cz/skripta/zfcm_pred/3_luminiscence_2010.pdf) >.

[Obrázek 4.] Ravindra P. Singh, Byung-Keun Oh, Jeong-Woo Choi, Application of peptide nucleic acid towards development of nanobiosensor arrays, *Bioelectrochemistry*, 2010, 79(2), 153-161, 10.1016

[Obrázek 5.] ZUO, Xinbing, Huanan WU, Juhong TOH a Sam Fong Yau LI. Mechanism of mercury detection based on interaction of single-strand DNA and hybridized DNA with gold nanoparticles. *Talanta*. 2010-10-15, roč. 82, č. 5, s. 1642-1646. ISSN 00399140. DOI: 10.1016/j.talanta.2010.07.031. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003991401000545X>

## 9. Seznam zkratek

Ti	titam
Al	hliník
Au	zlato
C	uhlík
Si	křemík
O	kyslík
Xe	xenon
TiO <sub>2</sub>	oxid titaničitý
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	oxid hlinitý
KCN	kyanid draselný
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	kyselina sírová
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	kyselina fosforečná
CrO <sub>3</sub>	oxid chromový
3M	tří molární
SC1	standardní čistící roztok = standard clean 1
QDs	kvantové tečky
CPS	foton za sekundu = counts per seconds
EDX	energetická disperzivní rentgenová spektroskopie
SEM	rastrovací elektronový mikroskop