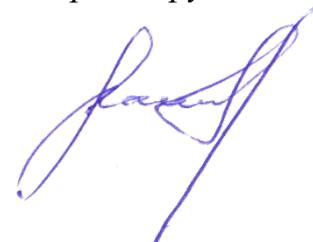


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ РАДИОТЕХНИКИ И ЭЛЕКТРОНИКИ  
ИМ. В.А.КОТЕЛЬНИКОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

---

*На правах рукописи*



Кашин Вадим Валерьевич

**ЭЛЕКТРОФИЗИЧЕСКИЕ И АКУСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СЕНСОРНЫХ  
ПОКРЫТИЙ НА ОСНОВЕ БИООБЪЕКТОВ И НАНОУГЛЕРОДНЫХ  
МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ НАНОЭЛЕКТРОННЫХ И АКУСТОЭЛЕКТРОННЫХ  
ДАТЧИКОВ**

Специальность 1.3.8 Физика конденсированного состояния

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:  
кандидат физико-математических наук,  
ведущий научный сотрудник  
В.В. Колесов

Москва 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>4</b>
<b>1. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В НАНОСТРУКТУРЕ, СОДЕРЖАЩЕЙ ОДИНОЧНУЮ МОЛЕКУЛУ ФЕРМЕНТА .....</b>	<b>44</b>
<i>1.1. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОЗАЗОРА В ЭЛЕКТРОДНОЙ СТРУКТУРЕ.....</i>	<i>44</i>
<i>1.2. ИММОБИЛИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЫ ФЕРМЕНТА В НАНОЗАЗОРЕ .....</i>	<i>50</i>
<i>1.3. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В ФЕРМЕНТНОМ НАНОЭЛЕКТРОННОМ СЕНСОРЕ .....</i>	<i>53</i>
<i>1.4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1 .....</i>	<i>56</i>
<b>2. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В БИОТОПЛИВНОМ ЭЛЕМЕНТЕ НА ОСНОВЕ МИКРОБОВ И ИХ МЕМБРАННЫХ ФРАКЦИЙ, ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ НА НАНОУГЛЕРОДНЫХ МАТЕРИАЛАХ.....</b>	<b>57</b>
<i>2.1. РАЗРАБОТКА БИОАНОДА БИОТОПЛИВНОГО ЭЛЕМЕНТА НА ОСНОВЕ ТЕРМОРАСШИРЕННОГО ГРАФИТА .....</i>	<i>57</i>
<i>2.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В БИОТОПЛИВНОМ ЭЛЕМЕНТЕ .....</i>	<i>60</i>
<i>2.3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 2 .....</i>	<i>69</i>
<b>3. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И АКУСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СЕНСОРНЫХ ПЛЕНОК И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В АКУСТОЭЛЕКТРОННЫХ ДАТЧИКАХ.....</b>	<b>70</b>
<i>3.1. РАЗРАБОТКА БЕСКОНТАКТНОГО АКУСТОЭЛЕКТРОННОГО МЕТОДА ИЗМЕРЕНИЯ ПРОВОДИМОСТИ ТОНКИХ ПЛЕНОК .....</i>	<i>70</i>
<i>3.2. ИССЛЕДОВАНИЕ МОДУЛЕЙ УПРУГОСТИ И ДИЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ПЛЕНОК ОКСИДА ГРАФЕНА .....</i>	<i>78</i>

<i>3.3. РАЗРАБОТКА АКУСТИЧЕСКОГО ДАТЧИКА ВЛАЖНОСТИ НА ОСНОВЕ ПЛЕНКИ ОКСИДА ГРАФЕНА И ВОЛН В ПЛАСТИНАХ.....</i>	<i>88</i>
<i>3.4. РАЗРАБОТКА АКУСТИЧЕСКОГО ДАТЧИКА ВЛАЖНОСТИ НА ОСНОВЕ ПЛЕНКИ ОКСИДА ГРАФЕНА И ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОЛН СЕЗАВА .....</i>	<i>96</i>
<i>3.5. РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3 .....</i>	<i>112</i>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>113</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....</b>	<b>115</b>
<b>СПИСОК РАБОТ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ .....</b>	<b>116</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>119</b>

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность темы исследования**

Роль датчиков в современном технологичном мире невозможно переоценить. Любое научное и технологическое развитие требует новых, улучшенных, более чувствительных, более дешёвых и практичных датчиков. Датчик определяют, как устройство, реагирующее на внешний сигнал изменением своих параметров. В рамках современной электронной технологии большинство датчиков являются устройствами, реагирующими на внешнее воздействие изменением электрического сигнала. Среди всего разнообразия сенсорных устройств совсем немного датчиков прямого действия, которые используют конкретное физическое явление для преобразования внешнего воздействия в электрический сигнал. Большинство датчиков являются составными. Основой датчика является его чувствительный элемент (первичный преобразователь), который определяет его основные свойства. Вторичный преобразователь сигнала (трансдюсер) обычно переводит информационную составляющую воздействия в электрический вид. В ряде случаев чувствительным элементом датчика служит тонкий слой специфического материала, так называемого сенсорного покрытия, которое служит первичным преобразователем внешнего воздействия [1]. Понятен возрастающий интерес к новым материалам как основе новых сенсорных покрытий в качестве первичных преобразователей.

### **Степень разработанности темы исследования и литературный обзор**

#### **Оксид графена – новый перспективный углеродный наноматериал**

В 2004 году Гейм и Новосёлов разработали технологию получения последней на сегодняшний день аллотропной формы углерода – графена, добавив графен к алмазу, графиту, нанотрубкам, фуллеренам и карбину. За прошедшие годы графен стал технологически и коммерчески доступным материалом. Развита различные методы его получения: к первоначальному механическому расщеплению графита добавился метод жидкофазного расщепления с интеркалированными

поверхностно-активными веществами, метод химического осаждения паров, метод электрической дуги, метод термического разложения карбида кремния, метод эпитаксиального роста на металлических поверхностях, метод окисления графита и др. Химический метод получения графена окислением графита является одним из самых доступных и дешевых. При окислении графита взаимодействие между слоями ослабевает, что позволяет диспергировать оксид с помощью, например, ультразвуковой обработки. Последующее химическое или термическое восстановление до графена показало, что полученный таким образом восстановленный оксид графена (ВОГ) отличается от графена, полученного механическим расщеплением. Чешуйки восстановленного оксида графена разупорядочены, имеют неплоскую морфологию за счет большого количества дефектов. Однако практически полное восстановление планарности слоя шестиугольных углеродных колец и малое (первого порядка) количество углеродных слоев позволяют авторам в многочисленных публикациях говорить о ВОГ как о графене, или техническом графене [2]. Сильно диспергированный оксид графита с развитой удельной поверхностью принято называть оксидом графена.

Оксид графена (ОГ) – новый углеродный материал с рядом специфических свойств, интересных для использования в сенсорных устройствах. По сути это класс соединений с различным соотношением атомов углерода и кислорода и различных функциональных групп. Перечислим известные «сенсорные» свойства оксида графена:

- Наличие большого количества кислород-содержащих карбоксильных, гидроксильных, и эпоксидных групп определяет слабые кислотные свойства и реакционную способность оксида графена, а также его высокую гидрофильность, что позволяет получать водные дисперсии с концентрацией до 3 мг/мл [3].
- Растворимость оксида графена в воде и ряде других полярных растворителей позволяет создавать тонкие плёнки нужной геометрии.
- При изменении относительной влажности межслоевое расстояние в оксиде графена может обратимо меняться от 0,6 до 1,2 нм [3] за счет интеркалированных молекул воды, что можно использовать для создания датчика влажности.

- Оксид графена является в большей степени изолятором, чем полуметаллом из-за конкуренции между диэлектрическими кислородосодержащими областями с  $sp^3$ -гибридизацией и проводящими доменами графена и может менять свои электронные и механические свойства при контролируемом окислении [4].
- Оксид графена имеет сильную зависимость своей поверхностной проводимости от влажности и температуры [5,6].
- Диэлектрическая проницаемость прессованного оксида графена (графенооксидной бумаги) после тщательного обезвоживания достигает значений в несколько тысяч (до 6000 [5]).
- Оксид графена демонстрирует фотолюминесценцию при 690 нм. Интенсивность и частота фотолюминесценции зависят от степени окисления/восстановления графена [7].
- Модуль Юнга оксида графена для монослоя и прессованного оксида графена при предельной прочности на растяжение находятся в пределах 6–384 ГПа и 76–130 МПа соответственно [8,9,10,11,12,13].

Известно применение оксида графена в таких областях, как накопление энергии [14], микроэлектронные и оптоэлектронные приборы [15], а также химические датчики [16]. Синтез оксида графена и измерение его характеристик являются темой многочисленных научных публикаций [3,17,18]. Впервые оксид графита был получен Бенджамином Броди в 1859 году окислением куска природного графита хлоритом калия  $KClO_3$  в концентрированной азотной кислоте  $HNO_3$ . Отношение углерода к кислороду в полученном по методу Броди оксиде графита составляет примерно 3,5. Метод Штауденмайера (1898 год) предполагает добавление к хлориту калия  $KClO_3$  и концентрированной азотной кислоте  $HNO_3$  еще и концентрированной серной кислоты  $H_2SO_4$ . Отношение углерода к кислороду в полученном по методу Штауденмайера оксиде графита составляет примерно 3,3. Хаммерс (1957 год) предложил использовать в качестве окислителя перманганат калия  $KMnO_4$  в присутствии нитрата натрия  $NaNO_3$  и концентрированной азотной кислоты  $HNO_3$  и достиг соотношения углерода к кислороду примерно 2,9 [19]. В представленной работе используется оксид

графена, полученный из природного графита по модифицированному методу Хаммерса с использованием смеси серной кислоты  $H_2SO_4$ , нитрата натрия  $NaNO_3$  и перманганата калия  $KMnO_4$ . Фильтрация и многократное промывание в воде позволяют получить материал, содержащий 47% углерода, 28% кислорода, 23% молекул воды и до 2% золы. Ультразвуковая обработка полученного таким образом мелкодисперсного оксида графита в полярном растворителе (воде) в течение 30 минут и последующее центрифугирование (3000 об/мин, 30 минут) с целью удаления не расслоившихся частичек оксида графита позволяет получить дисперсию оксида графена, пригодную для дальнейшей работы.

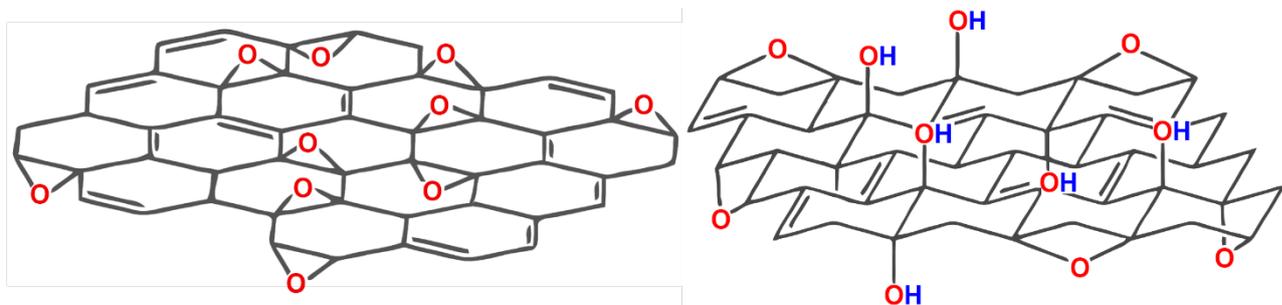
Практически все публикации описывают очень тонкие пленки оксида графена (до 50 нм), исключая прессованный оксид графена (графенооксидную бумагу), где толщина полученной плёнки доходит до 100 мкм. Но для эффективного взаимодействия электрическим полем акустической волны в акустоэлектронном устройстве толщина плёнки оксида графена должна быть не менее 0,5 мкм. Так для теоретического анализа акустических волн в структуре «пьезоэлектрик — плёнка оксида графена» необходимо определить значения динамических продольных и сдвиговых модулей упругости и диэлектрическую проницаемость используемых плёнок оксида графена. Таким образом, для активного использования оксида графена в качестве сенсорного покрытия необходимо определить его электрические и механические свойства, причем желательно в той форме, в которой он будет использоваться.

В данной работе представлены результаты, касающиеся структурных, электрических и акустических свойств пленок оксида графена толщиной до 1,5 мкм.

Упрощенно лист оксида графена представляют, как плоскость шестиугольных графитовых колец и находящиеся вне плоскости или на ее краях карбоксильные ( $-C(O)OH$ ), гидроксильные ( $-OH$ ) или эпоксидные ( $-C-O-C-$ ) группы. Монослой оксида графена не такой плоский, как монослой графена. Его шероховатость (среднее отклонение от плоскости) составляет 0,6 нм, в то время как длина связи  $C-O$  оценивается в 0,3 нм [4]. Было показано, что в образце оксида

графена с соотношением  $O : C = 1 : 5$  только 15% атомов углерода включены в графитоподобную структуру, остальные 85% можно считать аморфным углеродом. Аморфность может быть объяснена в этом случае модификацией исходных 40%  $sp^2$ -связей атомов углерода графена в  $sp^3$ -связи путем связывания с кислородом и в процессе перемещения атомов углерода из их исходных мест для размещения внеплоскостных  $sp^3$ -связей.

Единой формулы оксида графита и, соответственно, оксида графена не существует, поскольку оксид графита является веществом нестехиометрического состава, и соотношение  $C : O$  меняется в зависимости от метода синтеза и структуры исходного графита. В химии такие вещества называются бертоллидами. В дальнейшем при описании структурных моделей везде будет использоваться термин «оксид графита» как первичный объект исследований. Первая попытка описать идеальный оксид графита была опубликована Тиле (Thiele) в 1930 году [20]. О сотовой структуре графитовой (базальной) плоскости ученые уже знали, и Тиле предположил, что при максимальном окислении атомы углерода в кольце через одного присоединяют OH группы с обеих сторон графитового листа. Химический состав углеродного кольца в этом случае соответствовал формуле  $C_6(OH)_3$ . Прямые измерения давали соотношение  $C : O$ , близкое к 3, причем энергия связи C-O оценивалась как небольшая, что позволило Хофманну (Hofmann) и Хольсту (Holst) в 1934 году предложить другой вариант [21] с наличием исключительно эпоксидных групп в оксиде графита (Рисунок 1 слева).



*Рисунок 1 – Структурные модели графита Хофманна (слева) и Рюсса (справа).  
Воспроизводится из [23]*

Наличие водорода объяснялось связанной в межплоскостной области водой. В идеальном случае модель описывается формулой  $C_2O$ . Через некоторое время авторы допустили наличие гидроксильных групп, образующихся при гидролизе эпоксидных групп, но основным недостатком модели оставалось предположение, что структура останется плоской, что невозможно при  $sp^3$ -гибридизации атомов углерода.

Рюсс (Ruess) в 1947 году представил новую модель структурного строения оксида графена (Рисунок 1 справа), учитывающую изгибание базальной плоскости в результате  $sp^3$ -гибридизации, что подтверждалось наблюдаемым уширением межслоевого расстояния. Эпоксидные группы (они же 1,2-эфиры) здесь заменены на 1,3-эфиры. Основным недостатком этой модели теперь стала невозможность объяснить повышенную кислотность оксида графена по сравнению с той, которую могли обеспечить гидроксильные группы в составе третичных спиртов. Клаусс (Clauss) в 1957 году предположил, что нужную кислотность могли бы дать енольные и связанные с ними кетонные группы ( $>C=O$ ), что возможно только при разрыве двойных связей в углеродных кольцах.

Следующую модель представили Шольц (Scholz) и Боэм (Boehm) в 1969 году, допустив наличие в оксиде графита относительно регулярно чередующихся третичных спиртов (гидроксильных групп), кетонов ( $>C=O$ ), а также не окисленных участков углеродной плоскости (Рисунок 2 слева). Накаджима (Nakajima) в конце 80-х годов прошлого века практически вернулся к модели Тиле.

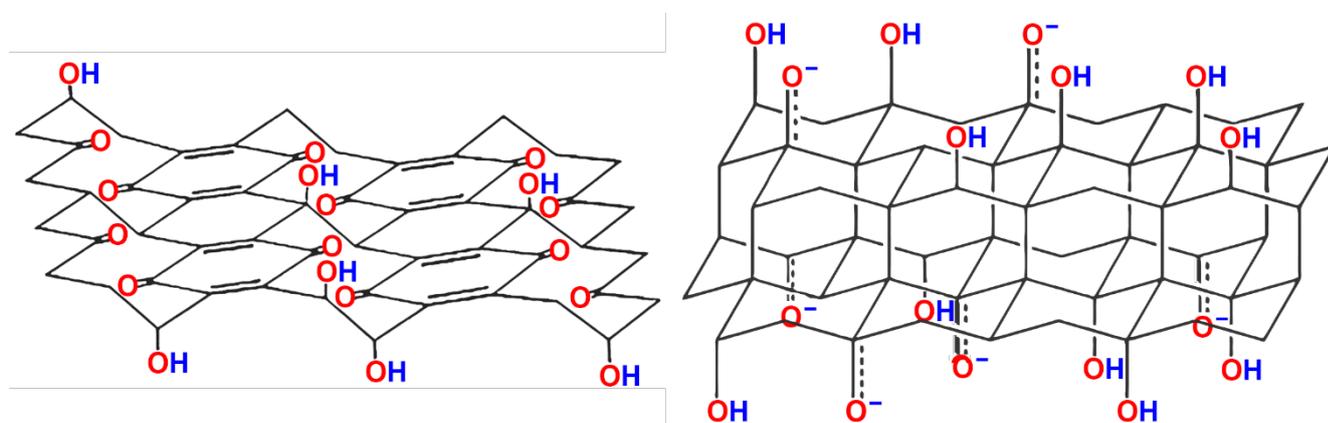


Рисунок 2 – Структурные модели графита Шольца и Боэма (слева) и Накаджимы (справа). Воспроизводится из [23]

В нерегулярной и неплоской структуре доминируют гидроксильные, в том числе частично депротонированные группы (Рисунок 2 справа).

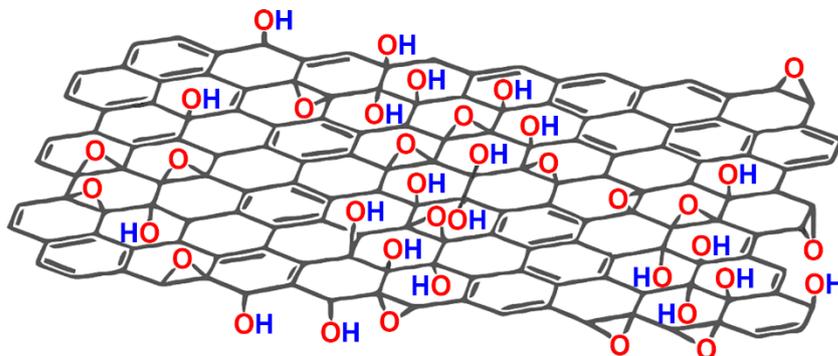


Рисунок 3 – Модель оксида графена Лерфа-Клиновского (Lerf–Klinowski).  
Воспроизводится из [22]

Всё изменилось с появлением данных ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Группы Мермокса и Лерфа в начале 1990-х подтвердили наличие гидроксильных и эпоксидных групп в оксиде графена, но не увидели отклика кетонных групп и, следовательно, разрыва двойных связей в углеродных кольцах. В 1998 году Лерф с коллегами представил новую структурную модель оксида графена (Рисунок 3), основную черту которой составляет наличие областей нерегулярно расположенных гидрокси- и эпоксидных групп, которые образуют сплошную сеть [22]. В этой сети окисленного графита разбросаны участки неокисленной поверхности графитовых листов. Дальнейшие исследования подтвердили наличие упорядоченных областей, перемежающихся с аморфными областями ОГ.

Структурные модели оксида графита усложнялись по мере накопления экспериментальных данных и на сегодняшний день представлены моделью Лерфа-Клиновского и моделью Декани (Dekeyn), где слой оксида графита (графена) включает в себя плоские ленты шестиугольных углеродных колец с двойными связями и ленты насыщенных углеродных колец в конфигурации «кресло» с многочисленными функциональными группами [23]. Непланарность слоя ОГ является его существенным структурным свойством. Модель Декани, опубликованная в 2006 году, представлена на Рисунке 4.

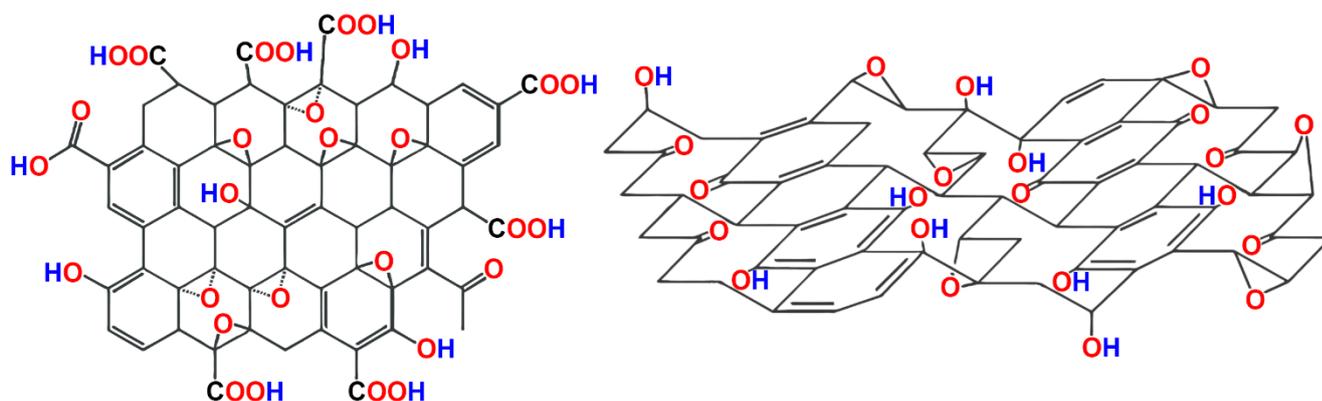


Рисунок 4 – Структура оксида графита: структурная модель Декани. Воспроизводится из [23]

Некоторые авторы предполагают, что на поверхности оксида графена возникает проводимость протонного типа и ожидают увеличения водородной сетки при увеличении доли гидроксильных групп [24]. Последние исследования группы Димиева показывают высокую подвижность кислородных функциональных групп в базальной плоскости и большую вовлеченность молекул воды в окисление графена, массоперенос и перестройку функциональных групп и углеродных связей [25].

Современные модели оксида графена объясняют и его электрические свойства. Проводящие области являются доменами графена, частично поврежденными углеродом  $sp^2$ , а дипольные области состоят из полярных функциональных групп. Эти функциональные группы вносят вклад в диэлектрическую проницаемость и потери за счет дипольной ориентационной поляризации. Изолированные проводящие области также обеспечивают диэлектрическую проницаемость и потери в результате релаксационной поляризации электронов [26]. При синтезе оксида графена разрушение  $\pi$ -сопряженной системы, обеспечивающей проводимость, происходит примерно при 40% модификации  $sp^2$ -связей до  $sp^3$ . Таким образом, как в проводимости, так и в диэлектрической проницаемости играет роль комбинация электрических свойств двух разных, но сильно перемешанных зон с углеродом в  $sp^2$  и  $sp^3$  гибридизации. В такой модели максимально окисленный оксид графена обладает прямой

запрещенной зоной (графен обладает нулевой запрещенной зоной). Согласно теоретическим расчетам, ширина запрещенной зоны оксида графена прямо зависит от соотношения O : C и может достигать 4 эВ [27].

В первые годы после открытия графена полученный химическим способом из графита оксид графена являлся для исследователей промежуточным продуктом для восстановления его до графена. Структура и химический состав оксида графена при высоком уровне окисления нестабильны. Значительная часть кислородсодержащих функциональных групп может быть легко удалена из плоскости углеродных колец (базальной плоскости) благодаря высокой поверхностной реакционной способности частичек оксида графена. Физические способы восстановления являются главным образом термическими и подразумевают нагревание оксида графена для удаления кислородсодержащих групп и восстановления структуры материала в результате перегибридизации атомов углерода из  $sp^3$  в  $sp^2$ . Диапазон температуры и времени воздействия очень широк и начинается с  $50^\circ\text{C}$  и нескольких суток (до сколь-нибудь заметного восстановления) и до  $2400^\circ\text{C}$  и выше при временах практически полного восстановления порядка одной секунды [28]. Химические способы используют гидразин, гексаметилентетрамин, гидрохинон и другие восстановители вплоть до органических кислот и сахаров. Определение остаточного содержания кислорода в восстановленном графене показывает заметное преимущество термических методов. Гидразин-гидрат восстанавливает только эпоксидные функциональные группы, в то время как гидроксильные, карбонильные и карбоксильные группы с гидразин-гидратом не взаимодействуют, но при термической обработке оксида графена начинаются реакции дегидроксилирования, декарбонилирования и декарбоксилирования [29]. Химическое восстановление происходит более полно при комбинации с нагревом в сверхкритических условиях. Тем не менее ВОГ сохраняет существенно неоднородную структуру углеродных шестиугольных колец. При восстановлении кислородсодержащие  $sp^3$ -области разделяются на отдельные пятна из-за энергетически благоприятной диффузии гидроксильных и эпоксидных групп [30]. Резкое повышение проводимости в процессе

восстановления оксида графена соответствует объединению доменов  $sp^2$  и преодолению порога перколяции [27].

На современном этапе исследования и использования оксида графена активно востребовано свойство его восстановления и возможность модификации его свойств. Локальное восстановление оксида графена лазерным лучом или нагретой иглой кантилевера АСМ позволяет создавать участки контролируемой проводимости, не достигая, однако, проводимости графена. Проводимость тщательно восстановленного оксида графена на порядок меньше проводимости графена, полученного не из оксида. И наоборот, сканирование графена проводящей иглой АСМ или СТМ с приложенным к игле положительным напряжением во влажной атмосфере локально окисляет графен до оксида графена с контролируемой напряжением шириной запрещенной зоны [31]. Еще одним методом контролируемо увеличить ширину запрещенной зоны является обработка графена или оксида графена в кислородной плазме. Теоретические расчеты максимального окисления графена в плазме дают формулу  $C_{18}O_5$  с максимальным соотношением  $O : C$  равным 0,27(7) за счет энергетически выгодных эпоксидных групп [32].

Для изучения состава и строения слоев оксида графена кроме упомянутой выше твердотельной спектроскопии ЯМР в основном применяют следующие физические методы: рентгеноструктурный анализ, рентгеновскую фотоэлектронную спектроскопию (РФС), термогравиметрический анализ, ИК спектроскопию и спектроскопию комбинационного рассеяния (КР).

Рентгеноструктурный анализ позволяет определить межплоскостное расстояние оксида графена и динамику его изменений при окислительно-восстановительных процессах. РФС позволяет анализировать поверхность углеродных материалов на глубину примерно 5 нм.  $C1s$ -спектр оксида графена высокого энергетического разрешения имеет характерный доминирующий пик на 286,5 эВ (третичные спирты: ОН-группы и эпоксидные группы), примерно в два раза менее интенсивный пик на 284,5 эВ (неокисленный углерод) и плечо на 288,2 эВ (карбокисильные группы и, возможно, кетоны).

Термогравиметрический анализ позволяет определить изменение массы объекта при изменении его температуры. Термогравиметрическая кривая для оксида графена, полученная в инертной атмосфере, приведена на Рисунке 5. На кривой можно выделить три стадии. При нагреве до 100 °С потеря массы связана с потерей адсорбированной воды. На второй хорошо выраженной стадии (180—240 °С) также происходит выделение молекул воды, которые образуются при взаимодействии двух гидроксильных групп. Молекулы СО и СО<sub>2</sub> образуются как на этой стадии, так и при более высоких температурах, что подтверждается данными масс-спектрометрии [33].

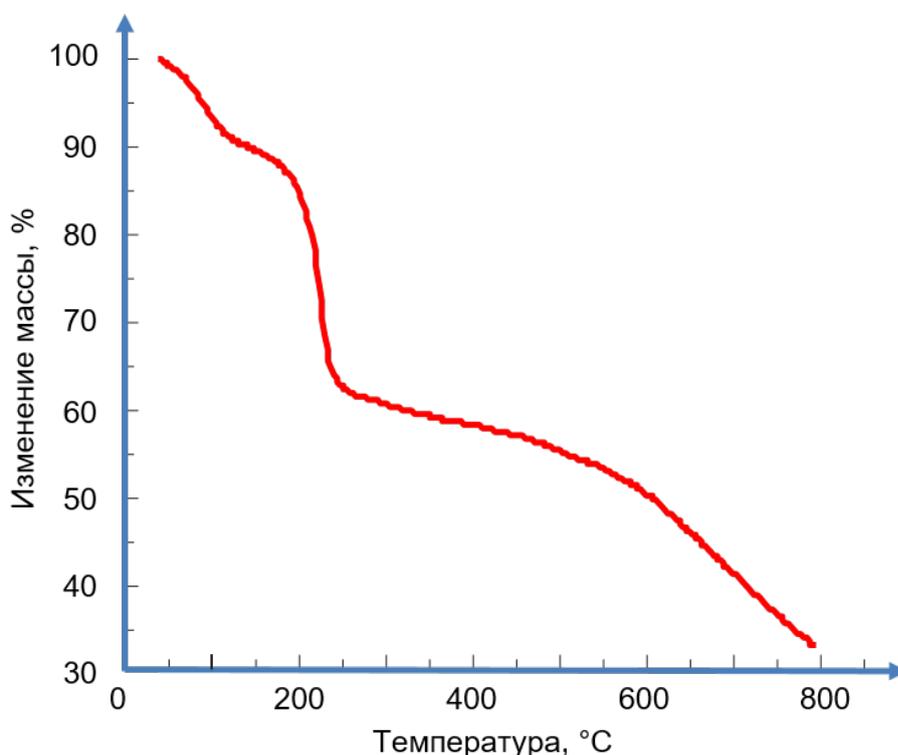


Рисунок 5 – Термогравиметрическая кривая оксида графена. Воспроизводится из [33]

В ИК спектрах оксида графена можно выделить три основные области: высокочастотную область 3600–2200 см<sup>-1</sup>, средний диапазон 1730–1615 см<sup>-1</sup> и характеристичную область 1500–700 см<sup>-1</sup>. В области высоких частот присутствуют сигналы валентных колебаний ОН-связей преимущественно молекул воды. Полоса около 1725 см<sup>-1</sup> отвечает за валентные колебания карбонильных групп (растяжение

C=O связи), однако точно определить тип этих групп (кетоны, альдегиды или карбоксилы) невозможно. Полосу около  $1620\text{ см}^{-1}$  соотносят с деформационными (ножничными) колебаниями воды, прочно связанной со структурой оксида графита. Это проверялось заменой воды в оксиде графена на дейтерированную воду и в результате полным исчезновением этой полосы [34,35]. Характеристическая область спектра является результатом наложения большого числа колебаний различных функциональных групп, в основном гидроксильных и эпоксидных [19].

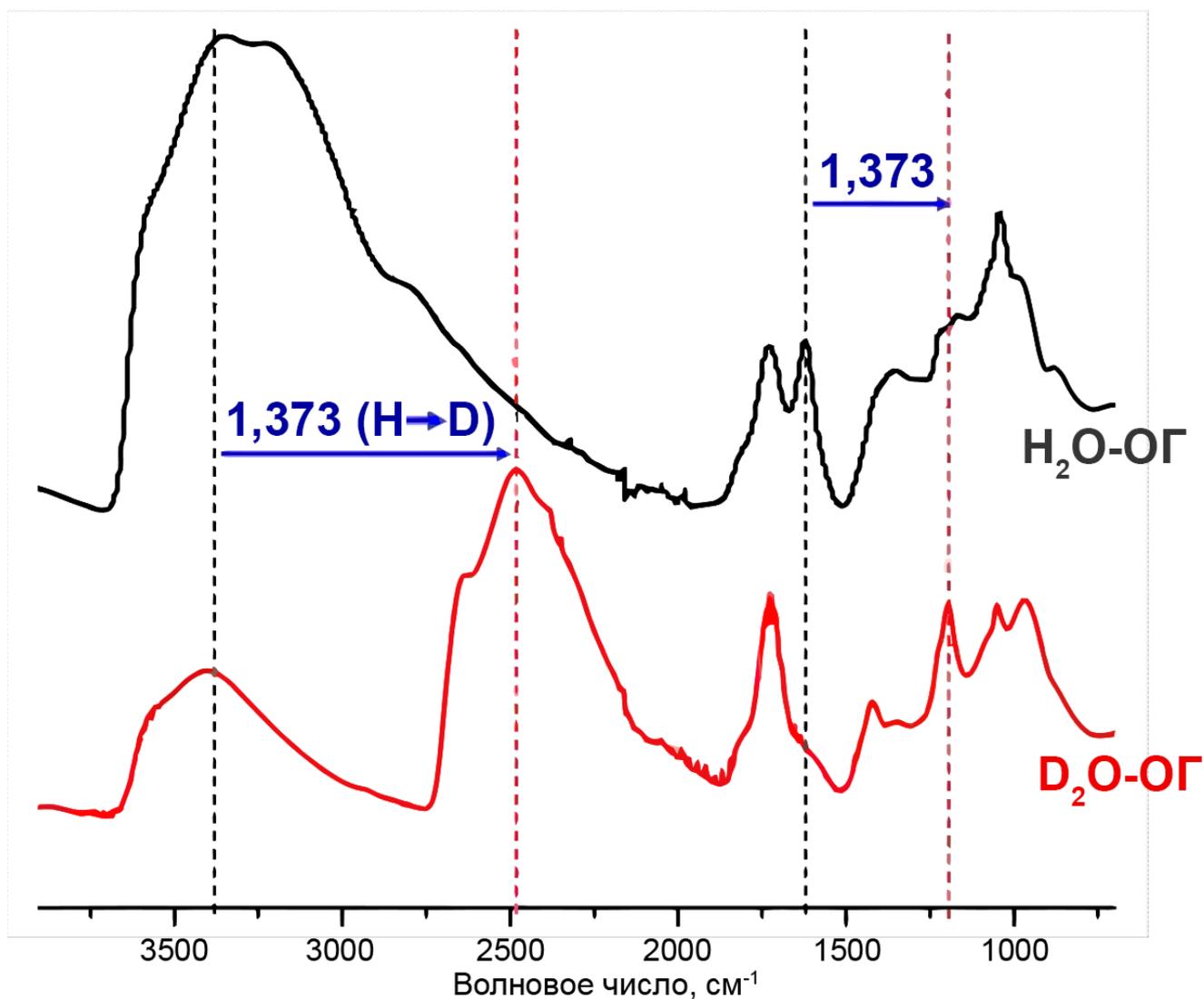


Рисунок 6 – ИК-Фурье спектры для обычного ОГ и оксида графена, в котором адсорбированная вода замещена на дейтерированную воду. Сдвиг соответствует коэффициенту 1,373, полученному из разницы масс изотопов H и D. Воспроизводится из [35]

Удобным бесконтактным методом характеристики углеродных материалов является спектроскопия комбинационного рассеяния. Спектры КР оксида графена и восстановленного оксида графена (Рисунок 7) отличаются от спектра графена, на котором всегда присутствуют характерные полосы (пики) D на  $\sim 1385 \text{ см}^{-1}$ , G на  $\sim 1580 \text{ см}^{-1}$  и 2D полоса на  $\sim 2700 \text{ см}^{-1}$ . Полоса D возникает из-за эффекта второго порядка, включающего фонон и дефект в графитовой структуре  $sp^2$ . Таким образом, ее часто приписывают беспорядку и нарушениям в шестиугольной кольцевой  $sp^2$  структуре углерода. G полоса возникает в результате комбинационного рассеяния первого порядка в графитовых материалах с участием одного фонона из моды  $E_{2g}$ , включающей дважды вырожденную плоскостную оптическую вибрацию в углеродных кольцах. Полоса G', часто называемая 2D, возникает в результате двухфононного процесса с участием фононов с

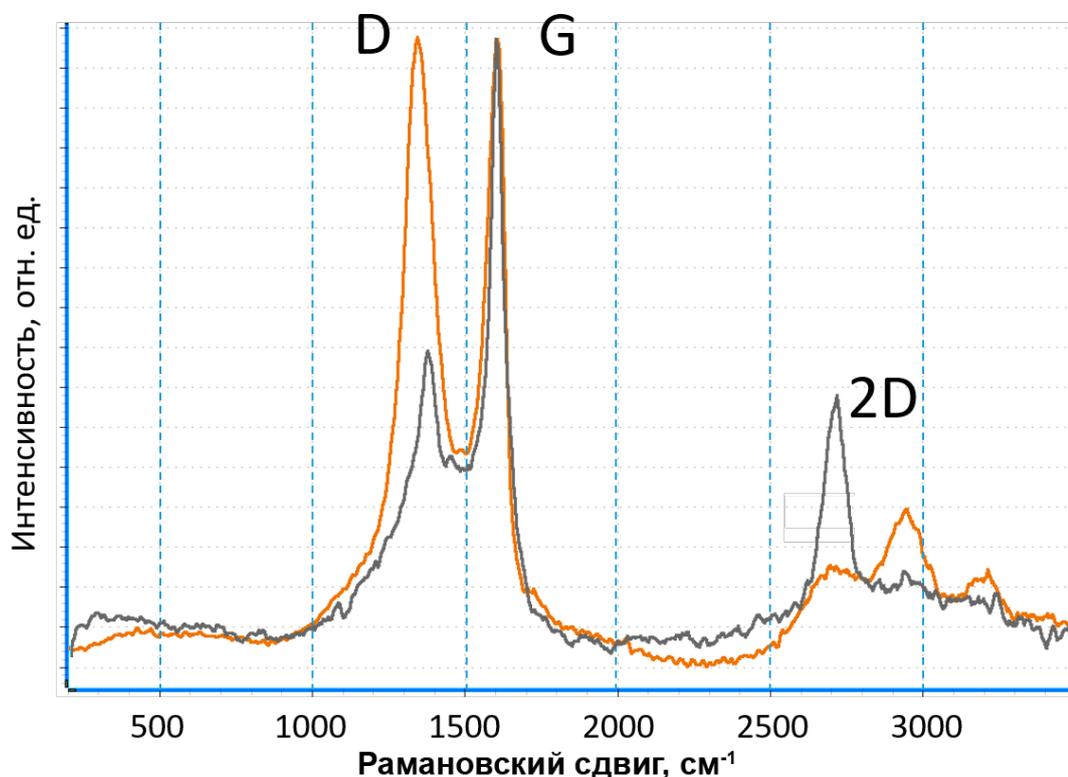


Рисунок 7 – Характерный спектр комбинационного рассеяния для оксида графена, окисленного из природного графита по методу Хаммера (коричневая кривая) и спектр восстановленного ОГ (серая кривая). Спектры нормированы на высоту полосы G. КР спектрометр Neda, длина волны лазерного излучения 532 нм

противоположными импульсами и обратно пропорционально зависит от количества слоев графена.

Отношение между интенсивностями  $I_D/I_G$  полос D и G является хорошей мерой относительного содержания дефектов в углеродной шестиугольной кольцевой  $sp^2$  структуре. Эти полосы в оксиде графена несколько отличаются от полос в графите и графене: полоса D в ОГ широкая и интенсивная, а полоса G несколько подавлена, существенно расширена, а иногда и слегка смещена к более высоким частотам. Этот сдвиг, как предполагается, может быть связан с чередованием одно- и двухсвязных атомов углерода в оксиде графена, что теоретически приводит к синему смещению в G-полосе, соответствующей этим двойным связям. Отношение  $I_D/I_G$  для оксида графена больше, чем для графена или графита, где полоса D часто неотличима от фона, а  $I_D/I_G$  составляет порядка 0,01. При низкой плотности дефектов и росте беспорядка в решетке графена отношение  $I_D/I_G$  сначала также увеличивается. При дальнейшем увеличении плотности дефектов и роста нарушений структуры углеродных колец отношение  $I_D/I_G$  начинает уменьшаться из-за нелинейного затухания всех характеристических полос, когда материал начинает превращаться в аморфный углерод.

Полосы D и G с ростом восстановления графена из оксида смещаются к положению характеристических графеновых полос. У однослойного графена полоса G больше по интенсивности, чем полоса D, а полоса 2D больше по интенсивности, чем полоса G. Для оксида графена и восстановленного графена это не так. Даже в максимально восстановленном графене остаются функциональные группы, на которых рассеиваются фононы, и полоса D, отвечающая за дефекты графенового слоя, остается большой.

В работе [36] приведена эмпирическая формула для графитового слоя, которая связывает относительные интенсивности полос (пиков) D и G со средним размером  $L$  области оксида графена находящейся в  $sp^2$ -гибридизации:

$$\frac{I_D}{I_G} = \frac{A}{L}, \quad (1)$$

где  $I_D$ ,  $I_G$  - интенсивности полос D и G;  $A$  – постоянная, которая зависит от частоты и мощности возбуждения КР.

2D полоса никак не связана с количеством дефектных областей в графене и оксиде графена, в отличие от полосы D. 2D полоса при росте количества слоев графена расщепляется, происходит её уширение со сдвигом суммарной огибающей в более высокочастотную область спектра.

Необходимо отметить, что для исследования свойств оксида графена, полученного из графита по методу Хаммерса исследователи получали его дисперсию в растворителе и далее или высушивали сублимационной сушкой, или фильтровали полученный коллоид через мембранный фильтр, сушили на воздухе и отслаивали от фильтра, получая графенооксидную бумагу. В первом случае получалась, как писали авторы исследования, графенооксидная пена с порами 40-60 мкм. Во втором случае получался конструкционно крепкий плотный материал, «бумага», которую использовали в том числе как мембрану. Такую «бумагу» синтезировал в середине прошлого века немецкий ученый Ганс Петер Боэм, исследуя мембранные свойства оксида графита. В 1961 году он писал, что мембрана из оксида графита проницаема для водяных паров и веществ, способных интеркалировать оксид графита, но непроницаема для азота или кислорода [37].

В представленной работе проведены исследования акусто-механических и электро-физических свойств многослойных пленок оксида графена, полученных с помощью воздушного аэрографа и дисперсии оксида графена в изопропиловом спирте. Акустические свойства таких сенсорных покрытий можно исследовать при помощи продольных и поперечных акустических резонаторов.

### **Использование схемы Мэйсона для исследования свойств акустических резонаторов**

В середине XX века для одномерного случая распространения упругой волны в пластине было предложено изящное решение в виде эквивалентной схемы

Мэйсона (Mason) [38]. Одномерная модель и её эквивалентная схема представлены на Рисунке 8.

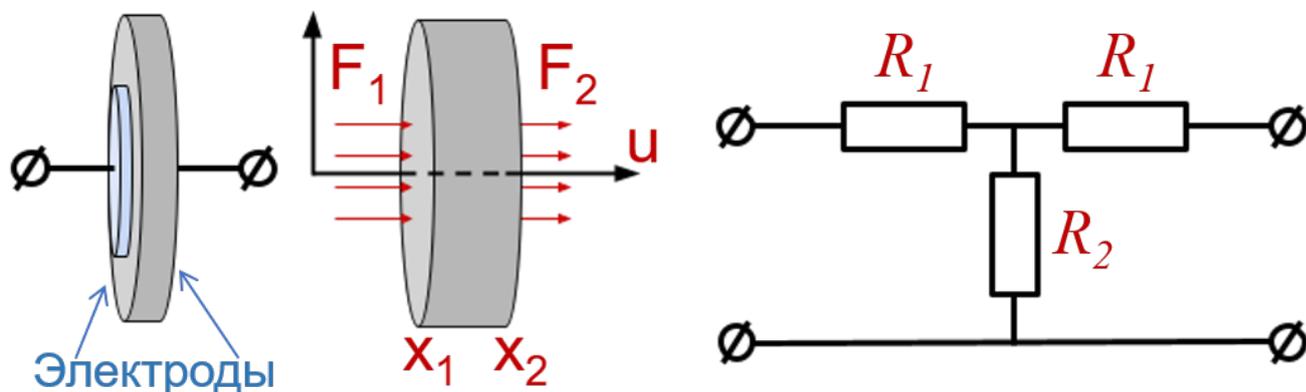


Рисунок 8 – Одномерная модель распределения сил и смещений в пластине пьезоэлектрика при возбуждении упругой волны и её эквивалентная схема

$$\begin{aligned}
 F_1 &= R_2 \left( \dot{U}_1 - \dot{U}_2 \right) + R_2 \dot{U}_1, \\
 F_2 &= R_2 \left( \dot{U}_1 - \dot{U}_2 \right) - R_2 \dot{U}_2, \\
 R_1 &= iZ \operatorname{tg} \left( \frac{kd}{2} \right), \\
 R_2 &= \frac{Z}{i \sin(kd)}, \\
 Z &= \frac{ckS}{\omega},
 \end{aligned} \tag{2}$$

где  $d = x_2 - x_1$  – толщина пластины,

$S$  – сечение пластины,

$k, \omega$  – волновой вектор и круговая частота,

$c$  – модуль упругости,

$U_{1,2}$  – смещение по оси распространения волны одной и другой стороны пластины соответственно,

$\dot{U}_{1,2}$  – скорости смещения по оси распространения волны одной и другой стороны пластины соответственно,

$Z$  – механический импеданс звукопровода бесконечной длины,

$F_{1,2}$  – силы, действующие на одну и другую стороны пластины соответственно. Если  $T$  – напряжение в пластине, тогда силу можно выразить как

$$F = -ST = Sc \frac{\partial u}{\partial x} = \frac{Sck}{\omega} \frac{\partial u}{\partial t} = Z \dot{U}. \quad (3)$$

В случае пьезоэлектрика механическое напряжение  $T$  в пластине и ток смещения  $I = i\omega DS$  можно выразить:

$$\begin{aligned} T &= c \frac{\partial u}{\partial x} - \frac{e}{\varepsilon} D, \\ I &= i\omega C_0 V + \frac{e}{\varepsilon} C_0 (\dot{U}_2 - \dot{U}_1), \\ C_0 &= \frac{\varepsilon S}{d}, \end{aligned} \quad (4)$$

где  $D$  – электрическая индукция,

$e$  – пьезомодуль,

$\varepsilon$  - диэлектрическая проницаемость,

$V$  – приложенное напряжение,

$C_0$  – емкость пластины как плоского конденсатора.

Тогда дополнительный член к выражениям для сил  $F_{1,2}$  в пластине (Формула 2) в виде  $\frac{e}{\varepsilon} DS = \frac{e}{i\omega\varepsilon} I$  можно представить в виде электромеханического

трансформатора с коэффициентом трансформации  $N = \frac{e}{\varepsilon} C_0$ . На Рисунке 9 представлена эквивалентная схема с одним электрически входом и двумя механическими выходами [39].

Таким образом упругие колебания в пьезоэлектрическом резонаторе можно описать с помощью эквивалентной T- схемы четырехполюсника, добавив в схему электромеханический трансформатор. Этот подход был предложен в настоящей работе для расчета акустических свойств пленки оксида графена и исследования взаимодействия оксида графена с водяным паром [40]. Тонкую плёнку на резонаторе можно учесть при помощи добавления нового участка эквивалентной

схемы. Описанные свойства оксида графена позволяют предложить его на роль чувствительного сорбента для акустоэлектронных датчиков.

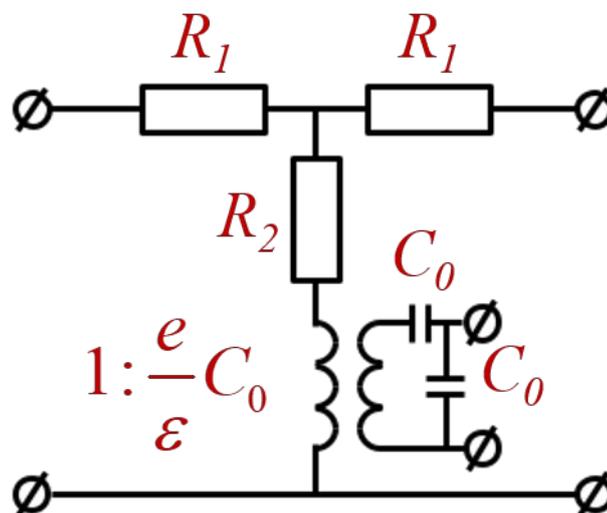


Рисунок 9 – Упругие колебания в пьезоэлектрическом резонаторе можно описать с помощью эквивалентной T- схемы четырехполюсника, добавив в схему электромеханический трансформатор с коэффициентом трансформации

$$N = \frac{e}{\varepsilon} C_0$$

### Акустоэлектронная технология в сенсорике

Известно, что одной из хорошо развитых в настоящее время технологий является планарная акустоэлектронная технология. На ее основе создается большое количество устройств, использующихся в разнообразных областях науки и техники, в том числе и в биосенсорике. Устройства на акустических волнах давно используются при измерениях массы в инерционно-весовых датчиках. Если пластина пьезоэлектрика, в котором возбуждена акустическая волна, будет граничить с исследуемой средой, электрическое поле, сопровождающее акустическую волну, будет проникать в эту среду на некоторую глубину. Глубина проникновения при этом зависит от коэффициента электромеханической связи волны и электрофизических свойств исследуемой среды. На этой основе возможно создание различных бесконтактных датчиков, в том числе газовых датчиков [41].

Отсутствием контакта с исследуемым образцом обладает еще один метод, широко используемый в промышленности - вихретоковый. Индуктивная катушка возбуждает электромагнитное поле, которое взаимодействует с проводящим образцом, создавая в нем вихревые токи. Вихревые токи в свою очередь создают электромагнитное поле, которое действует на индуктивную катушку, изменяя ее полное электрическое сопротивление. Таким образом можно определить поверхностное сопротивление образцов. К сожалению, при всех преимуществах этого метода невысокая точность измерений ( $> 10\%$ ) и малый диапазон изменения сопротивления проводящих образцов не позволяет во множестве случаев его использовать. В данной работе для тестирования проводимости сенсорных покрытий из тонких плёнок, в том числе из оксида графена, разработан акустоэлектронный подход, где в качестве пьезоэлектрической подложки использовался ниобат лития.

### **Акустоэлектронные датчики влажности**

Как известно, влажность воздуха является важным параметром, который необходимо контролировать с большой точностью во многих производственных процессах. Существует большое разнообразие датчиков влажности: классические весовые сорбционные, волосные, плёночные и психрометрические гигрометры; ёмкостные (обычно сорбционные) датчики; кондуктометрические (большая часть из них основана на применении резистивных плёнок, меняющих свою электропроводность); оптические конденсационные (основанные на регистрации точки росы); пьезоэлектрические (уход частоты кристалла с нанесенной на него обратимо поглощающей влагу плёнкой). В последние годы очень активно разрабатываются микроволновые акустические датчики влажности [42–67]. Для разработки датчиков влажности были использованы различные типы акустических волн (поверхностные [42–52], объемные [59–65], волны Лява [53–58], волны Лэмба [66,67]). Эти волны распространялись либо в однородных кристаллических подложках, либо в многослойных структурах, содержащих различные пленки сорбентов, чувствительные к адсорбции водяного пара. Обычно чувствительные

пленки изготавливаются из керамических, полупроводниковых и полимерных материалов [68,69,70]. В последние годы предлагается их изготавливать из слоев на основе графена [46,47,48,67] или специальных материалов, легированных наночастицами, фуллеренами и углеродными нанотрубками [49,50,51,52,55,58]. Для любого сорбирующего материала адсорбция молекул воды, как правило, приводит к изменениям плотности пленки, эластичности, электропроводности, диэлектрической проницаемости и температуры, которые регистрируются на выходе датчика в виде изменений скорости, частоты, фазы и/или амплитуды акустических волн. Однако, как правило, пленку используют с одним доминирующим чувствительным механизмом.

Несмотря на большое количество работ, посвященных датчикам влажности, по-прежнему настоятельно требуется дальнейшее повышение чувствительности датчиков, что делает актуальными новые исследования и разработки в этой области.

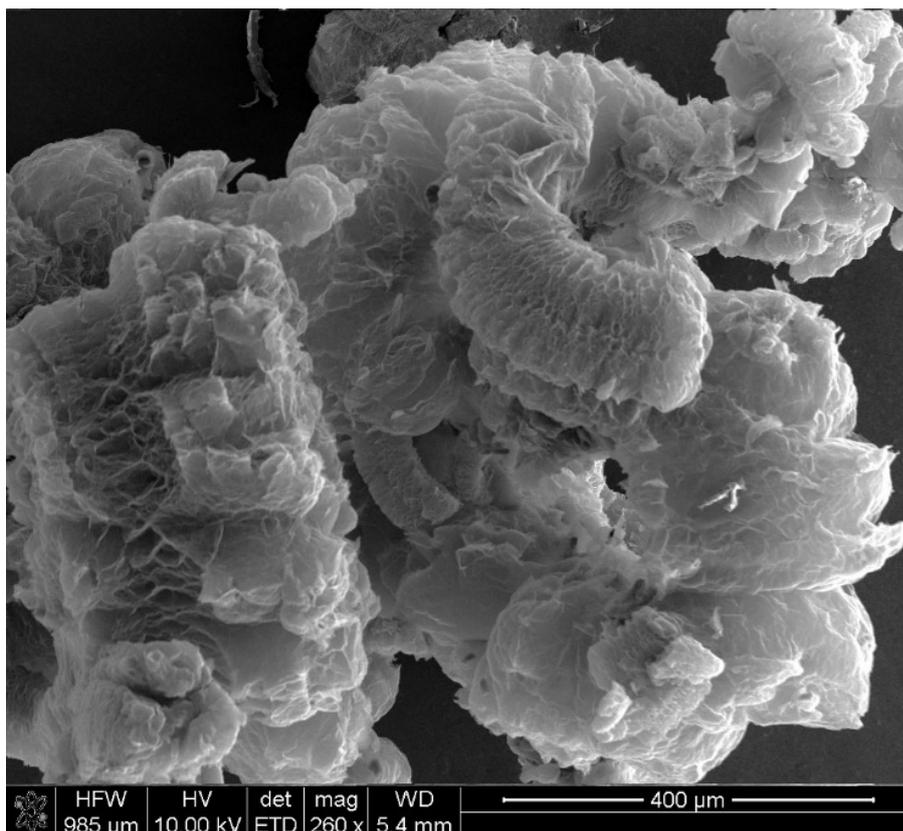
На основе слоя оксида графена с электропроводностью слоя как основным параметром, реагирующем на влажность, в настоящей работе представлен сверхвысокочувствительный датчик влажности на основе асимметричных волн Лэмба высокого порядка в пластине  $128^\circ YX+90^\circ \text{LiNbO}_3$  [67].

### **Терморасширенный графит**

Другим наноуглеродным материалом, который можно получить из графита химическим методом подобно оксиду графена, является терморасширенный графит (ТРГ, пенографит). Он характеризуется:

- высокой площадью удельной поверхности,
- малой плотностью,
- хорошей электропроводностью,
- химической стабильностью,
- биосовместимостью,
- устойчивостью к горению и плавлению.

При производстве терморасширенного графита окисляется исходный кристаллический графит. Окисление сводится к интеркалированию (внедрению) молекул и ионов серной или азотной кислоты в присутствии окислителя (перекись водорода, перманганат калия и др.) между слоями кристаллической решетки графита (Рисунок 10).



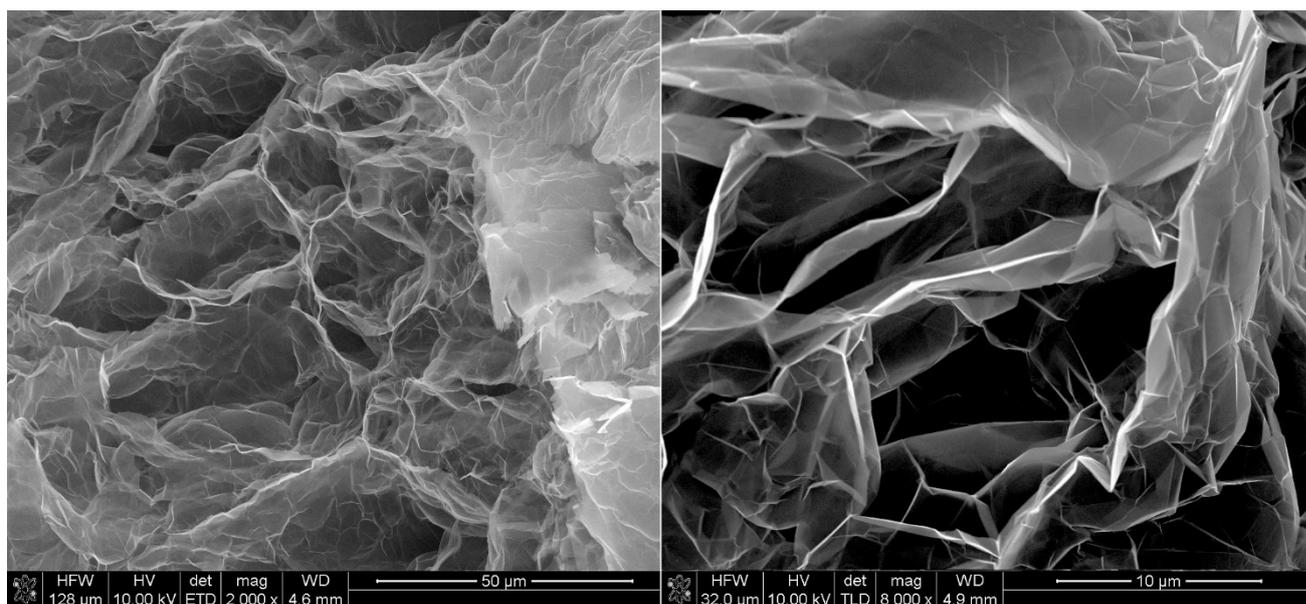
*Рисунок 10 – Микрофотография структуры расширенного графита*

Полученный окисленный графит отмывается и сушится. Потом окисленный графит подвергается специфической термообработке – высокоскоростному нагреву со скоростью от 400 до 900°C в секунду. Благодаря чрезвычайно высокой скорости нагрева происходит резкое выделение газообразных продуктов разложения внедренных интеркалятов из кристаллической решетки графита. В результате межслойное расстояние резко увеличивается, и маленькая чешуйка графита становится волокном. Из-за волокнистой структуры терморасширенный графит хорошо прессуется, формуется, прокатывается и армируется различными

присадками для получения изделий. На Рисунке 11 видно, что графитовые частицы под воздействием температуры расщепляются практически до графеновых слоев.

Слоисто-волоконистая структура ТРГ позволяет прокаткой на вальцах получать листовой материал с высокой проводимостью. За счет уплотнения пористого исходного образца при изменении зазора между валками вальцов и сдвиговых напряжений, возникающих при вращении валков, формируется достаточно плотная структура листового материала из ТРГ.

ТРГ можно использовать как в качестве самостоятельного сенсорного покрытия, так и в качестве носителя, подложки сенсорной части датчика. Если иммобилизовать на развитую поверхность ТРГ специфические биологические структуры, являющиеся первичными преобразователями внешнего сигнала, получим специфическое сенсорное покрытие из модифицированного



*Рисунок 11 – Микрофотографии структуры расширенного графита*

биообъектами углеродного материала.

В настоящей работе исследуется модифицированный биообъектами терморасширенный графит в качестве материала электрода (анода) для биотопливного элемента.



Рассмотрим работу БТЭ (Рисунок 12) на основе фермента глюкозооксидазы и глюкозы в качестве субстрата. Микробная клетка или фермент в составе микробной клетки производит окисление субстрата. При этом происходит ионизация атомов водорода, входящего в состав молекул субстрата (глюкоза, газообразный водород), пространственное разделение на протоны и электроны. Электроны напрямую или через молекулы-медиаторы передаются на анод. Протон-проницаемая мембрана в БТЭ разделяет анодную область, где находятся микробные клетки, и катодную область, где кислород восстанавливается до воды электронами с катода. Максимальная разность потенциалов между катодом и анодом равна разности потенциала окислителя и потенциала субстрата, однако реальная разность потенциалов уменьшается за счет омического сопротивления и концентрационного градиента электролита в растворе, а также за счет ограничений переноса электронов на анод. С другой стороны, ЭДС на электродах можно выразить через изменение свободной энергии Гиббса  $\Delta G$ , связанной с реакцией окисления/восстановления вещества

$$E = - \Delta G / nF, \quad (5)$$

где  $n$  – число переносимых электронов,  $F$  – константа Фарадея.

Впервые генерацию электричества у бактерии *E. Coli* наблюдал английский ученый М.С.Potter в 1910 году, а в 1931 году Cohen последовательно соединил микробные топливные элементы, получив на выходе более 35 Вольт. Методичное исследование БТЭ началось с конца 1970-х годов. Финские учёные из научной группы профессора Aarne Halme одни из первых разработали БТЭ на основе алкогольдегидрогеназы [72]. Теоретические расчеты предсказали получение до 5 А·час при окислении 1 г метанола.

Определить место БТЭ среди других источников электроэнергии позволяет оценка мощности, которую они могут развивать. Стандартные топливные элементы покрывают широкий диапазон мощности до  $10^7$  Вт.

Диапазон биотопливных элементов лежит от  $10^{-7}$  до  $5 \cdot 10^{-3}$  Вт. Он пересекается с диапазоном биосенсоров от  $10^{-10}$  до  $10^{-5}$  Вт. В работе [71] предложена общая классификация (Рисунок 13), включающая практически все



Рисунок 13 – Классификация электрохимических систем

виды существующих топливных элементов и ячеек и кратко описывающая их особенности.

Эффективная конструкция проточной ячейки БТЭ, описанная в [73,74], позволяет отказаться от селективной мембраны. Одновременное использование двух различных ферментов - глюкозооксидазы и уреазы – позволяет получить мощность ЭДС до  $10^{-5}$  Вт за счет разности рН в анодном и катодном отсеках БТЭ [75]. В [76] рассматривается БТЭ на основе митохондрий. В [77] для электродов подбираются новые, более эффективные типы катализаторов. Различные штаммы бактерий проверяются на пригодность для БТЭ [78]. Так, например, в [79] исследовали перенос электронов в ячейке БТЭ, где глюкоза в растворе окислялась бактериальными клетками *Gluconobacter*. В качестве водорастворимого медиатора системы использовался 2,6-дихлорфенолиндофенол, эффективность которого была выше, чем у 1,4-бензохинона и гексацианоферрата (III) калия. Максимальной производительности достигли при использовании штамма *Gluconobacter oxydans* sb. sp. *Industrius*. При внутреннем сопротивлении БТЭ 90 кОм и сопротивлении нагрузки 10 кОм система развивала напряжение 6 мВ при токе 0,5 мкА.

В микробных и ферментных БТЭ могут применяться редокс-медиаторы, которые осуществляют электронный перенос от биокатализатора на электрод [80]. Для ряда ферментов [81,82,83,84] показан безмедиаторный биоэлектрокатализ. В значительной степени безмедиаторный/прямой перенос электронов зависит от типа фермента и способа его иммобилизации. Прямой перенос электронов был описан для RQQ(пирролохинолинхинон)-зависимых дегидрогеназ в составе ферментных биосенсоров и биотопливных элементов [81]. Впервые прямой биоэлектрокатализ для RQQ-зависимой фруктозодегидрогеназы бактерий *Gluconobacter* при окислении фруктозы был исследован в [82]. Фермент фруктозодегидрогеназы был иммобилизован на электродах, изготовленных на основе углеродной пасты. Отклик на фруктозу регистрировался без добавления медиаторов электронного транспорта. В работе [83] обнаружен прямой безмедиаторный биоэлектрокаталитический эффект для RQQ-зависимой лактатдегидрогеназы *Gluconobacter* sp. 33 на золотом электроде и электродах, полученных методом матричной печати. В [84]

представлена электрохимическая ячейка, использующая в качестве рабочего электрода графитовый стержень с иммобилизованной RQQ-зависимой алкогольдегидрогеназой (АДГ) штамма *Glucobacter* sp. 33. Для данного фермента наблюдалось безмедиаторное электрохимическое окисление этилового спирта. АДГ иммобилизовалась на графитовом стержне путем кросс-сшивки глутаровым альдегидом. Максимальное напряжение БТЭ в присутствии этанола при разомкнутой цепи, составляло 115 мВ при использовании в качестве второго электрода графитового стержня с неактивной АДГ. Трехэлектродная схема использовалась для регистрации амперометрического сигнала при +400 мВ по отношению к электроду сравнения.

Также безмедиаторный перенос электронов был показан для таких микроорганизмов как *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium*, *Geobacter* [81]. Ранее было установлено, что бактерии рода *Geobacter* могут осуществлять перенос электронов на графитовых электродах [85]. В работе [86] показано, что *Geobacter sulfurreducens* может эффективно передавать электроны не только на графитовых электродах, но и при использовании в качестве анода золотого электрода. На аноде наращивалась биопленка *G. sulfurreducens*, а электродом сравнения являлся Ag/AgCl-электрод, где в качестве вспомогательного электрода использовалась графитовая ткань. При использовании в качестве анода золотого электрода плотность тока составила 688 мА/м<sup>2</sup>, а при использовании графитовой ткани – 3147 мА/м<sup>2</sup>.

Актуальной задачей является выяснение возможности использования в качестве анодного биокатализатора для БТЭ мембранных фракций (МФ) микробных клеток, содержащих RQQ-зависимые дегидрогеназы. В ряде последних работ наблюдался эффект прямого переноса электрона от RQQ-зависимой глюкозодегидрогеназы, иммобилизованной на многостенных углеродных нанотрубках [87,88,89]. Эти данные являются основой для предположения о том, что использование биокompозита ТРГ/МФ могло бы обеспечить безмедиаторный катализ электроокисления. ТРГ имеет высокую эффективную поверхность и в этом смысле аналогичен нанотрубкам. С другой стороны МФ по сути представляют

фрагменты мембран, обогащенные PQQ-зависимыми дегидрогеназами. В качестве тестового субстрата для представленной работы был выбран этанол, эффективное окисление которого МФ было продемонстрировано в [88,89]. Отметим, что в отличие от дорогостоящих и сложных методик получения и очистки ферментов при получении МФ используется более простая методика, в связи с чем МФ могут являться альтернативой использованию ферментов в БТЭ.

Следующим очевидным шагом является использование целых культур бактерий. Преимущества БТЭ на микробных культурах по сравнению с ферментными БТЭ:

- Специфичность к большому количеству субстратов.
- Стоимость использования микроорганизмов гораздо ниже стоимости производства фермента.
- При многостадийном окислении перенесенный заряд целой клетки будет выше, чем у изолированного фермента.
- Фермент внутри микроорганизма естественно изолирован от среды и гораздо более устойчив.
- Подробное генетическое описание микроорганизмов и направленная мутация позволяют увеличить активность, специфичность и селективность микробного БТЭ.

Недостатки микробных БТЭ по сравнению с ферментными БТЭ:

- Приспособляемость и изменчивость микроорганизмов изменяют работу БТЭ.
- Устойчивая длительная работа микробных БТЭ – большая проблема.

Атмосферный кислород мешает процессу переноса заряда медиаторами при восстановительных реакциях.

Несмотря на большое количество работ в этой области, по-прежнему стоит вопрос о разработке более мощных и стабильных БТЭ. В представленной работе рассматривается вопрос создания БТЭ на основе мембранных фракций бактерий *G. oxydans* и целых бактерий *G. oxydans*, иммобилизованных на развитой поверхности терморасширенного графита (ТРГ) при окислении этанола.

В биотопливном элементе происходит прямая генерация электрической энергии при разложении субстрата с помощью ферментативной реакции. Если посмотреть на процесс с другой стороны, специфический фермент может продуцировать электрический сигнал о наличии и количестве соответствующего субстрата. При создании биотопливных элементов решаются те же задачи, как и при создании биосенсоров.

### **Ферментные биосенсоры**

Современные сенсоры предполагают передачу информации об исследуемом объекте в виде электрического сигнала. В общем случае под биосенсором понимают устройство, в котором биологический материал при взаимодействии с анализируемыми соединениями генерирует сигнал, который может быть принят и преобразован в электрический. Таким образом, конструктивно биосенсор представляет собой комбинированное устройство, состоящее из двух преобразователей – биохимического и физического, находящихся в тесном контакте друг с другом [90,91]. Биохимический преобразователь выполняет функцию биологического элемента распознавания, преобразуя информацию о химических связях в физический или химический сигнал. Наличие в биосенсоре биоматериала с уникальными свойствами позволяет с высокой селективностью определять нужные соединения в сложной по составу смеси, не прибегая ни к каким дополнительным операциям, связанным с использованием других реагентов, концентрированием и т. д. Для биохимического преобразователя используют следующие биоматериалы [92,93,94]:

- Ферменты (энзимы). Это высокоспецифичные белки в живом организме, выполняющие эффективное распознавание субстрата и катализирующие определенный биохимический процесс. Большое разнообразие ферментных реакций в живых организмах позволяет создать широчайший спектр биосенсоров на различные субстраты живой и неживой природы.
- Антитела. Биосенсоры на их основе специфичны к определенным белкам. Антитела также являются белками - иммуноглобулинами. Применение ферментов

в качестве меток для антител или антигенов и измерение ферментативной активности служит основой высокочувствительного иммуноферментного анализа [95].

- Клетки (части клеток, органеллы). Используется общая реакция микроорганизма или отдельных частей на воздействие. Общая чувствительность у них ниже, чем у специфического фермента, однако пределы работы часто гораздо шире, поскольку они определяются жизнеспособностью клеток. Жизнеспособность клеток выше, чем у дорогих в производстве и поддержке оптимальной работоспособности ферментов.
- ДНК. Сенсор использует комплементарную ДНК для распознавания. Тем не менее и здесь ДНК и РНК часто используются в составе ДНК (или РНК) протеинов. В этих высокоспециализированных биосенсорах решаются вопросы, связанные с белками в качестве биоматериала.

Таким образом, в большинстве применений используются биосенсоры на основе ферментов [96]. Среди них одними из самых распространенных являются биосенсоры на основе иммобилизованных оксидаз [97]. Оксидазы составляют класс высокоспецифичных ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции специфичного субстрата. Среди них можно выделить пероксидазу хрена и глюкозооксидазу.

Фермент пероксидаза хрена (Horseradish peroxidase, HRP) окисляет субстрат в присутствии пероксида водорода. Является удобным объектом как молекула-маркер, имеет небольшой размер и достаточную стабильность, но требует наличия специфических субстратов.

Фермент алкогольоксидаза (Alcohol oxidase, AOx) из метилотрофных дрожжей *Pichia angusta* способен катализировать окисление алифатических спиртов в присутствии кислорода до альдегида и пероксида водорода [98].

Фермент глюкозооксидаза (Glucose oxidase, GOx) катализирует окисление глюкозы до пероксида водорода и глюконо-1,5-лактона, который спонтанно гидролизует до глюконовой кислоты. Является удобным объектом для

биосенсоров, поскольку в процессе окисления глюкозы может переносить электроны не только на кислород, восстанавливая воду до пероксида водорода, но и на металлы, что используется в приборах, определяющих количество сахара в крови.

В данной работе для модельных исследований биохимической части создаваемых прототипов наноэлектронных датчиков использовался хорошо изученный фермент глюкозооксидаза [99].

Вторая часть составного датчика - физический преобразователь - фиксирует полученный сигнал. Перечислим современные конструктивно разные типы физических преобразователей для биосенсоров:

- Электрохимические:
  - Потенциометрические
  - Кондуктометрические
  - Кулонометрические
  - Амперометрические
- Оптические:
  - Спектро-фото-метрические
  - Люминесцентные
  - На поверхностном плазмонном резонансе
  - Оптико-волоконные
- Электрические:
  - На полевых транзисторах (ионо-селективных, в том числе рН-чувствительных и металл-оксидных)
- Магнитные
- Инерционно-весовые
- Акустические (на акустических волнах)

Основной задачей здесь является совмещение наиболее эффективного физического преобразователя с биологическим элементом с целью создания нового типа электронных биосенсорных систем с высокой степенью интеграции, обладающих повышенной чувствительностью, меньшими геометрическими

размерами и новыми функциональными возможностями. Если рассматривать биосенсор как элемент современной многопараметрической интеллектуальной системы высокочувствительных сенсоров, важнейшим объединенным параметром станет связка «чувствительность – физический размер устройства». Предельной суммируемой чувствительностью и минимальными размерами обладает сама молекула фермента. С этой точки зрения наибольший интерес представляет совмещение наноструктур и биотехнологий для реализации сенсора, работающего с одной отдельной молекулой.

### **Электромиграция**

В современной твердотельной электронике главенствующей технологией в создании различных электронных структур является планарная технология. Однако, даже заменив традиционную фотолитографию электронно-лучевой литографией, можно получить минимальное расстояние между электродами не менее чем 5–7 нм. Для разработки, например, одномолекулярных биосенсоров, расстояние между электродами должно быть 3–5 нм и менее, что соответствует размерам молекул биоматериала или клеток, которые должны быть иммобилизованы в созданный зазор для замыкания электрической цепи. В настоящее время существуют подходы для реализации таких нанозазоров, основанные на методах контролируемого разрыва готового проводника (изгиб подложки, контролируемый разрыв тонкой плёнки [100], травление электронным или ионным пучком, допыление металла на изготовленный традиционным способом зазор [101], метод электромиграции [102] и т.д. Существующие технологические трудности не позволяют считать этот вопрос закрытым. В связи с этим при выполнении работ по теме данной диссертации проводилась модификация метода формирования нанозазоров с помощью электромиграции. Полученные нанозазоры в дальнейшем использовались для создания одномолекулярного амперометрического биодатчика глюкозы.

При проведении процесса разрыва тонкопленочного мостика методом электромиграции очень важно учитывать характерные значения скорости нагрева

места разрыва, поскольку для обеспечения контролируемости процесса разрыва необходимо обеспечить малость характерного времени срабатывания системы обратной связи по сравнению с лавинообразно уменьшающимся временем миграции атомов металла при сильном повышении температуры. Правильная оценка реакции обратной связи гарантирует своевременное снятие внешнего воздействия с тонкопленочной заготовки [102].

Можно ввести два временных технологических параметра для электронной схемы, управляющей процессом разрыва тонкопленочной перемычки: период опроса состояния системы (время между двумя последовательными измерениями напряжения, снимаемого с образца) и задержка срабатывания обратной связи (время, прошедшее между моментом превышения образцом заданных критических характеристик до начала снятия внешнего воздействия с системы в целом).

Характерным временем, в течение которого происходит существенная перестройка структуры золотой пленки при проведении электромиграции, является время порядка нескольких десятков миллисекунд (10–50 мс) [103]. Это означает, что электронная система должна иметь время срабатывания значительно меньше 1 мс для максимального контроля над перестройкой золотой пленки.

Локальный нагрев можно разумно минимизировать путем применения способов более активного отвода тепла: во-первых, использовать хорошо теплопроводящую подложку; во-вторых, резко увеличить толщину подводящих электродов на краях выбранного участка электромиграции.

### **Иммобилизация фермента**

Важной стадией разработки является технология иммобилизации фермента. При конструировании ферментативного биосенсора увеличение продолжительности действия фермента становится основной задачей. Дело в том, что нативный фермент сохраняет свои свойства лишь в течение относительно короткого времени. В ходе иммобилизации с помощью специальных реагентов фермент «пришивают» к какой-либо подложке. При этом фермент закрепляется,

перестает быть подвижным, не вымывается из структуры, а его каталитическое действие сохраняется.

В настоящее время существует большое количество работ, посвященное проблемам иммобилизации фермента [104]. Предлагается использовать гели или волокна для механической фиксации биомолекул в полимерной сетке; микрокапсулирование (например, в полиакриламидные сферы диаметром 100 нм и меньше); адсорбцию или ковалентную сшивку с водонерастворимыми носителями. Ковалентная иммобилизация, использующая боковые аминогруппы ( $\text{NH}_2$ ) и карбоксильные группы ( $\text{COOH}$ ) белка, может привести к изменению конформации белковой молекулы и частичной потере каталитической активности. Использование карбогидратной части фермента, не участвующей в каталитической реакции, позволяет минимизировать снижение активности гликопротеинов [105]. Применение сорбирующих материалов, например, полимерных гидрогелей, в наименьшей степени деформирующих конформацию белка, является перспективным методом получения матриц с иммобилизованными ферментами поскольку при сорбции между ферментом и сорбентом действует слабая Ван-дер-Ваальсова связь. Тем не менее, несмотря на большое количество публикаций, вопрос иммобилизации ферментов, особенно в нанозазорах одномолекулярных биосенсоров, по-прежнему нуждается в дополнительных исследованиях. В данной работе для иммобилизации была использована «сшивка» с подложкой с помощью молекул-спейсеров. Таким образом, в представленной работе решался вопрос по реализации первичного преобразователя внешнего воздействия из одной молекулы.

### **Цель работы**

Целью диссертационной работы является исследование физических свойств сенсорных покрытий на основе биообъектов и наноуглеродных материалов для создания нано- и акустоэлектронных сенсоров, а также исследование электронных процессов, протекающих в разрабатываемых устройствах.

### **Задачи работы**

1. Исследование электронного транспорта в наноструктуре, содержащей одиночную молекулу белка-фермента глюкозооксидазы.
2. Исследование электронного транспорта в биотопливном элементе на основе микробов и их мембранных фракций, иммобилизованных на наноуглеродных материалах.
3. Разработка бесконтактного метода определения электрофизических свойств тонких пленок, в том числе плёнок оксида графена, при помощи акустоэлектронных технологий.
4. Исследование акустических свойств пленок оксида графена и влияния на них влажности воздуха.
5. Исследование электронных процессов в акустоэлектронных датчиках влажности на основе пленок оксида графена.

### **Научная новизна работы**

1. Зарегистрирован электронный транспорт при использовании одиночной молекулы фермента, размещенной в нанозазоре до 5 нм, полученном для золотого нанопровода шириной 50 нм и толщиной 15 нм, при реакции окисления фермента глюкозооксидазы глюкозой. Получена концентрационная зависимость одномолекулярного биосенсора от процентного содержания глюкозы в тестовом растворе.
2. На основе терморасширенного графита с иммобилизованными на нем мембранными фракциями бактерий *G. oxydans* создан объемный биоанод топливного элемента. Работоспособность данного биоанода подтверждена экспериментально.
3. Обнаружено, что мембранные фракции *G. oxydans*, иммобилизованные на электроде из терморасширенного графита, так же, как и в случае целых бактерий *G. oxydans*, позволяют осуществить безмедиаторное биоэлектрокаталитическое специфическое окисление этанола на электроде.

4. Теоретически исследованы характеристики поперечно-горизонтальных акустических волн нулевого порядка в структуре «УХ пластина ниобата лития – воздушный зазор – пленка с произвольной проводимостью» и разработана оригинальная бесконтактная акустоэлектрическая методика измерения проводимости тонких плёнок в диапазоне  $10^{-8}$ – $5 \cdot 10^{-6}$  См.
5. При помощи акустоэлектронных технологий измерены плотность ( $850 \pm 10$  кг/м<sup>3</sup>), продольный ( $12,3 \pm 0,1$  МПа) и поперечный ( $3,0 \pm 0,1$  МПа) модули упругости и диэлектрическая проницаемость ( $21 \pm 1$  при 20 Гц) сенсорной пленки из оксида графена с толщиной 1–10 мкм, в том числе при различных значениях влажности. Показано, что модули упругости и проводимость плёнки оксида графена обратимо изменяются при изменении влажности.
6. Теоретически и экспериментально исследовано влияние влажности на характеристики симметричных волн Лэмба высших порядков в  $128^\circ\text{УХ}+90^\circ$  пластине ниобата лития в контакте с сенсорной пленкой оксида графена и создан прототип акустоэлектронного датчика влажности на этой основе с пониженным порогом срабатывания 0,03% RH.
7. Теоретически и экспериментально исследовано влияние влажности на характеристики поверхностной акустической волны Сезава в структуре пленка оксида графена/ZnO/Si и показана возможность создания акустоэлектронного датчика влажности с повышенным коэффициентом преобразования  $\sim 91$  кГц / % и линейным откликом на изменение относительной влажности в диапазоне 20–98% RH.

### **Научная и практическая значимость работы**

Работа по созданию в составе ферментного датчика предельной чувствительности и исследование их физико-химических и биологических свойств может найти применение при производстве биосенсоров, систем датчиков типа «Электронный нос» и «Лаборатория на чипе». В процессе работы и исследований была отработана технология создания нанометрового зазора для мономолекулярного сенсорного покрытия и технологии иммобилизации фермента.

Использование в качестве электродов наноуглеродных материалов с большой удельной поверхностью позволяет увеличить удельную мощность, допустимые удельные токи, время эксплуатации биотопливных элементов. Биосовместимость наноуглеродных материалов позволяет использовать их для эффективной иммобилизации микроорганизмов и их мембранных фракций. Применение сенсорного покрытия электродов из мембранных фракций микроорганизмов вместо колоний целых клеток сильно удешевляет стоимость биотопливных систем.

Акустические свойства «толстой» (более 0,5 мкм) пленки оксида графена полезны при разработке сенсорных покрытий для акустоэлектронных сенсорных устройств. Разработанный метод бесконтактного измерения проводимости тонких пленок полезен для характеристики материалов, чувствительных к контактными явлениям. В результате теоретического анализа созданы высокочувствительные датчики влажности на волнах высших порядков в пластинах и волнах Лява, превосходящие серийные гигрометры по диапазону линейности, по коэффициенту преобразования, по порогу срабатывания и чувствительности.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Сенсорное покрытие из плёнки оксида графена толщиной 1–5 мкм обладает плотностью  $850 \pm 10$  кг/м<sup>3</sup>, диэлектрической проницаемостью  $21 \pm 1$  на частоте 20 Гц и модулями продольной и поперечной упругости  $12,3 \pm 0,1$  МПа и  $3,0 \pm 0,1$  МПа соответственно. Увеличение влажности на 61% приводит к уменьшению продольного и поперечного модулей упругости и сопротивления плёнки оксида графена соответственно на 28%, 56% и 74%. Изменение данных параметров является обратимым.
2. Проникновение электрического поля, сопровождающего поперечно-горизонтальную акустическую волну нулевого порядка ( $SH_0$ ) в пластине YX ниобата лития, в исследуемую пленку, находящуюся на расстоянии 150 мкм от поверхности пластины, приводит к изменению параметров этой волны, что

позволяет бесконтактно измерять проводимость тонких пленок в диапазоне  $10^{-8}$ – $5 \cdot 10^{-6}$  См.

3. Изменение влажности воздуха значительно меняет модули упругости и проводимость пленки оксида графена, находящейся на поверхности  $128^\circ\text{YX}+90^\circ$  пластины ниобата лития. Это приводит к значительному изменению фазы и амплитуды симметричной акустической волны Лэмба высшего порядка с частотой 23 МГц, распространяющейся в данной структуре, и позволяет достичь рекордного порога срабатывания соответствующего акустического датчика при влажности 0,03% RH.

4. Коэффициент электромеханической связи поверхностной акустической волны Сезава в структуре «пленка оксида графена/ZnO/Si» превышает аналогичный параметр для волны Рэлея в подобной структуре более чем в 5 раз. Датчик влажности на основе волны Сезава в такой структуре характеризуется повышенным коэффициентом преобразования  $\sim 91$  кГц / % и линейным откликом на изменение относительной влажности в диапазоне 20–98% RH.

5. Планарная структура на кремнии, содержащая систему золотых нанопроводов шириной 50 нм и толщиной 15 нм с нанозазорами до 5 нм, позволяет регистрировать электронный отклик от встроенной в нанозазор одиночной молекулы фермента глюкозооксидазы на концентрацию глюкозы в растворе с чувствительностью не менее 1 ммоль/л и построить соответствующую концентрационную кривую в диапазоне от 1 до 25 ммоль/л.

### **Апробация работы**

Результаты проделанных исследований докладывались на ряде научных конференций, в число которых входят:

International Crimean Conference «Microwave and Telecommunication Technology», CriMiCo (2013, 2014, Севастополь, Россия);

Конкурсы молодых ученых имени Ивана Анисимкина, ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН (2014, 2016, 2018, Москва, Россия);

24th International Congress on Sound and Vibration, ICSV (2017, London, England);

Joint Conference of the European Frequency and Time Forum and IEEE International Frequency Control Symposium EFTF/IFC (2017, Lausanne, Switzerland);

25th International Congress on Sound and Vibration, ICSV (2018, Hiroshima, Japan).

64-я Всероссийская научная конференция МФТИ Биологическая и медицинская физика (2021, Москва)

### **Публикации**

По теме диссертации в журналах и сборниках опубликовано 18 печатных работ (из них 5 статей в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК).

### **Вклад автора**

Все материалы и результаты, вошедшие в данную диссертационную работу, подготовлены либо лично автором, либо совместно с соавторами работ, опубликованных по теме диссертации.

### **Структура и объём диссертации**

Диссертация включает в себя введение, три главы и заключение. Полный объём диссертации составляет 129 страниц с 55 рисунками и 10 таблицами. Список литературы состоит из 138 ссылок.

В **введении** описана актуальность тематики. Совместно с обзором основной литературы по теме работы представлена степень разработанности темы исследования. Описаны научная новизна и значимость результатов. Введение содержит список основных положений, выносимых на защиту, и информацию о том, где эти результаты прошли апробацию. В обзоре литературы упомянуты работы по биосенсорике, по биотопливным элементам и биоанодам, по акустическим датчикам влажности, по оксиду графена и терморасширенному графиту.

**Первая глава** посвящена созданию и исследованию амперометрического ферментного биосенсора с сенсорным покрытием из одной молекулы фермента на основе технологии создания нанозазоров и фермента глюкозооксидазы.

Во **второй главе** приведена технология создания анода биотопливного элемента на основе терморасширенного графита с сенсорным покрытием из целых клеток вида *Glucobacter oxydans* и их мембранных фракций, содержащих фермент алкогольдегидрогеназу, и исследование его характеристик.

В **третьей главе** исследуются возможности устройств на акустических волнах для анализа характеристик сенсорных покрытий из тонких проводящих пленок, в том числе пленки оксида графена. Приведены теоретические и экспериментальные методы и результаты исследований электрических и акустических свойств пленки оксида графена, полученной с помощью аэрографа. Описана теоретическая и экспериментальная работа по созданию на этой основе чувствительных датчиков влажности.

В **заключении** приведены основные сводки выводов и результаты всей диссертационной работы.

# 1. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В НАНОСТРУКТУРЕ, СОДЕРЖАЩЕЙ ОДИНОЧНУЮ МОЛЕКУЛУ ФЕРМЕНТА

В качестве одного из наиболее распространенных модельных биокатализаторов в биосенсорном анализе используется глюкозооксидаза – высокоселективный фермент с детально изученными характеристиками. В настоящей работе была поставлена задача по исследованию электронного транспорта в наноструктуре, содержащей одиночную молекулу белка-фермента глюкозооксидазы. Для решения этой задачи были разработаны и созданы:

- методика получения нанозазора в планарной электродной структуре с использованием специально созданной системы автоматического контроля;
- планарная система золотых нанопроводов с нанозазорами на кремниевом чипе;
- методика нанесения молекул фермента на полученную наноструктуру;
- измерительный стенд для исследования электронных свойств созданной одномолекулярной модели ферментного биосенсора.

## 1.1. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОЗАЗОРА В ЭЛЕКТРОДНОЙ СТРУКТУРЕ

Для модели одномолекулярного биосенсора на основе фермента глюкозооксидазы было необходимо создать нанoeлектронную структуру с нанoeлектродами, иммобилизовать фермент, включить полученную структуру в электронную схему регистрации электронного отклика молекулы фермента. Для биосовместимости и удобной иммобилизации была разработана система золотых планарных нанoeлектродов в качестве электронного трансдьюсера сенсора и проведена проверка работоспособности такой системы.

Проводник толщиной менее 20 нм и шириной менее 50 нм формировали следующим способом. На стандартную кремниевую пластину диаметром 76 мм,

промытую последовательно в ацетоне и этиловом спирте и выдержанную 2 минуты в 10%-м растворе HCl, напыляли в магнетроне (Leybold Z400, физический факультет МГУ) в смеси аргона ( $1.2 \cdot 10^{-2}$  мбар) и кислорода ( $3 \cdot 10^{-3}$  мбар) слой SiO<sub>2</sub> толщиной 300 нм для изоляции. Пластиину разрезали на скрайбере алмазным резцом на чипы размером  $10 \times 10$  мм<sup>2</sup>.

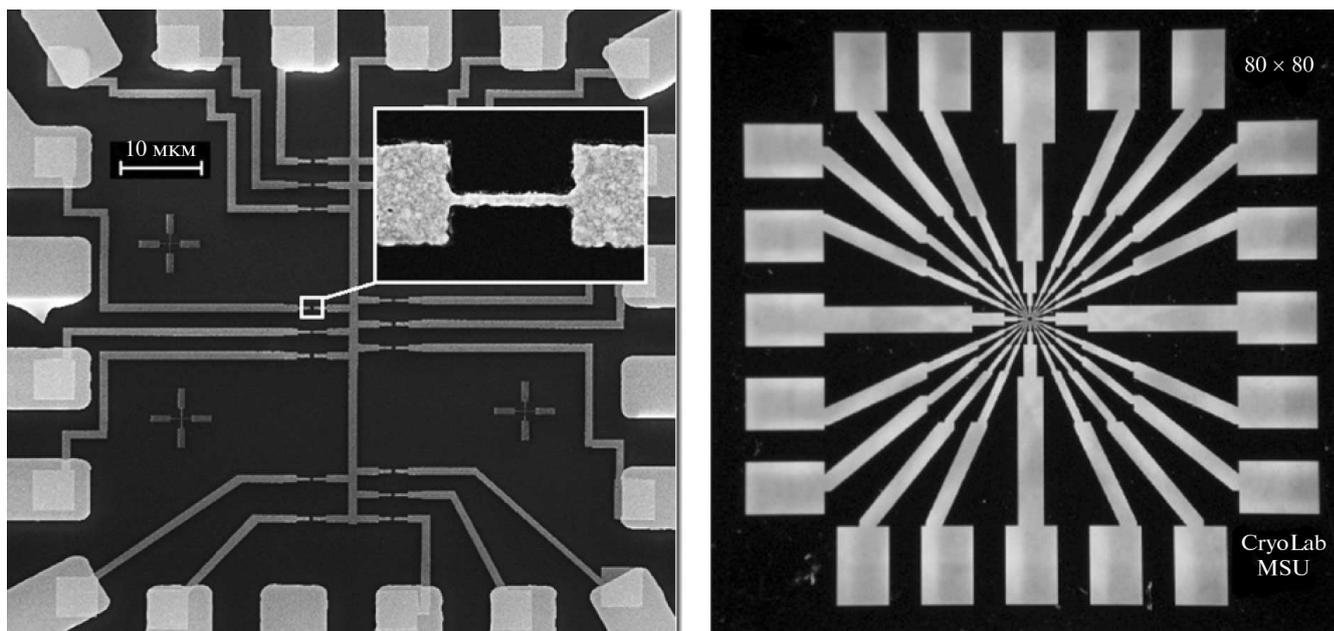


Рисунок 14 – Слева центральная часть образца размером  $80 \times 80$  мкм<sup>2</sup>, содержащая 16 золотых нанопроводов толщиной 15 нм и шириной 46 нм и общий вид нанопровода (вставка); справа общий вид образца размером  $10 \times 10$  мм<sup>2</sup>

Далее на образцы наносили однослойную полимерную маску из электронного резиста PMMA 950C2 с помощью центрифуги на скорости 3000 об/мин в течение 40 с, помещали образец на нагревательную керамическую поверхность, где полимер затвердевал при температуре 140°C. Затем по созданному шаблону проводили электронно-лучевую литографию центральной области  $80 \times 80$  мкм<sup>2</sup> на растровом электронном микроскопе Zeiss Supra 40 с литографическим блоком Raith (физический факультет МГУ). Параметры засветки: ток 90 пА, апертура 30 мкм, ускоряющее напряжение 10 кВ, шаг 0,002 мкм. Образец помещали в раствор толуола и изопропилового спирта (1 : 10) на 2 минуты, где происходило проявление окон полимерной маски. Затем методом

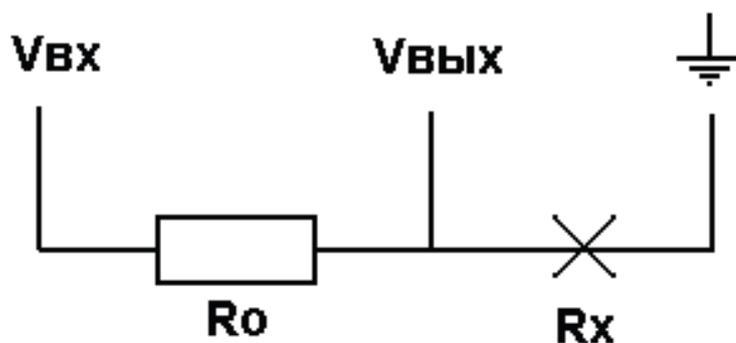
магнетронного распыления (Leybold L560, физический факультет МГУ) на образец напыляли сначала подслоем 2 нм  $\text{Al}_2\text{O}_3$  для обеспечения хорошей адгезии, а потом слой золота толщиной 15 нм. После этого образец помещали в ацетон, где полимерная маска растворялась, и материал, не попавший в открытые окна полимерной маски, удаляли. В результате на поверхности образца в центральной его части формировались 16 золотых нанопроводов толщиной 15 нм и шириной около 46 нм (Рисунок 14).

Затем проводили формирование золотых контактных площадок по периметру образца для подключения измерительной аппаратуры к центральной части. Для этого на образец с изготовленными центральной области нанопроводами наносили двухслойную полимерную маску. Первый слой – сополимер MicroChem 8.5EL11, второй слой – полимер PMMA 950C2. Оба слоя наносили на центрифуге при следующих параметрах: скорость 5000 об/мин, время 90 с, затвердевание на керамической нагревательной поверхности при температуре  $160^\circ\text{C}$  в течение 20 минут и скорость 3000 об/мин, время 30 с, затвердевание на керамической нагревательной поверхности при температуре  $140^\circ\text{C}$  в течение 10 минут. Затем проводили совмещение центральной области чипа с фотошаблоном его периферийной области при помощи оптического микроскопа, после чего на установке для засвечивания полимерной маски образец засвечивали светом ультрафиолетового (УФ, длина волны 310 нм) диапазона через кварцевый фотошаблон при интенсивности  $27 \text{ мВт см}^{-2}$  в течение 2 минут. После этого образец проявляли в растворе толуола и изопропилового спирта (1 : 3) в течение 20 с. Далее на образец напыляли (Leybold L560) 2 нм хрома для адгезии и 40 нм золота. Затем образец помещали в ацетон для удаления полимерной маски. В результате на образце формировались контактные площадки для подключения измерительной аппаратуры, соединенные с золотыми нанопроводами центральной части (Рисунок 14 справа).

Для проведения процесса электромиграции и сопутствующих операций (измерений ВАХ, проводимости, тестовых операций) была создана управляемая компьютером установка на основе ЦАП/АЦП платы National Instruments PCI6229,

пикоамперметра и источника напряжения Keithley 6487. Однако ввиду особенностей работы с шиной PCI в ОС MS Windows, не позволяющих получить заданное время обратной связи (20 мкс), для измерительной системы с заданными скоростями опроса был изготовлен макет на базе микроконтроллера фирмы Atmel. В качестве микросхем были выбраны: микросхема управления Atmel Atmega3250, аналого-цифровой преобразователь 16 бит Analog Devices AD7686, а также набор аналоговых ключей (Analog Devices AD714) и мультиплексов (Analog Devices ADG658) с низкими токами утечки (до 100 пА).

Для обеспечения работы установки была написана управляющая программа, состоящая из двух частей. Первая часть, загружаемая в микроконтроллер, написана на языке Си (компилятор Codevision CAVR 1.24.8). Вторая часть управляющей программы, написана на NI Labview под РТОС Pharlab с использованием модуля реального времени. В программе реализован простейший способ воздействия на систему путем подачи на тонкопленочный мостик линейно растущего напряжения.



*Рисунок 15 – Упрощенная электрическая схема проведения электромиграции*

Напряжение увеличивается со скоростью 0,12 мВ/мс, при этом на каждом шаге по задаваемому напряжению проводится 1000 измерений выходного значения напряжения и определение сопротивления исследуемой перемычки. Критерием остановки служит превышение измеренного сопротивления изначально заданного значения.

Перед проведением электромиграции проверяли проводимость каждого нанопровода. Сопротивление нанопроводов обычно лежит в диапазоне от 200 до 400 Ом.

Принципиальная электрическая схема для проведения электромиграции представлена на Рисунке 15. Последовательно с исследуемым мостиком включается известное сопротивление, на схему подается напряжение, и измеряется напряжение на мостике. В схеме реализуется делитель напряжения, где выходное напряжение линейно связано с входным:

$$V_{\text{ВЫХ}} = \frac{R_X \times V_{\text{ВХ}}}{R_0 + R_X} \quad (6)$$

При этом любые изменения сопротивления мостика нарушают линейность и позволяют, тем самым, контролировать процесс, изменяя внешнее воздействие.

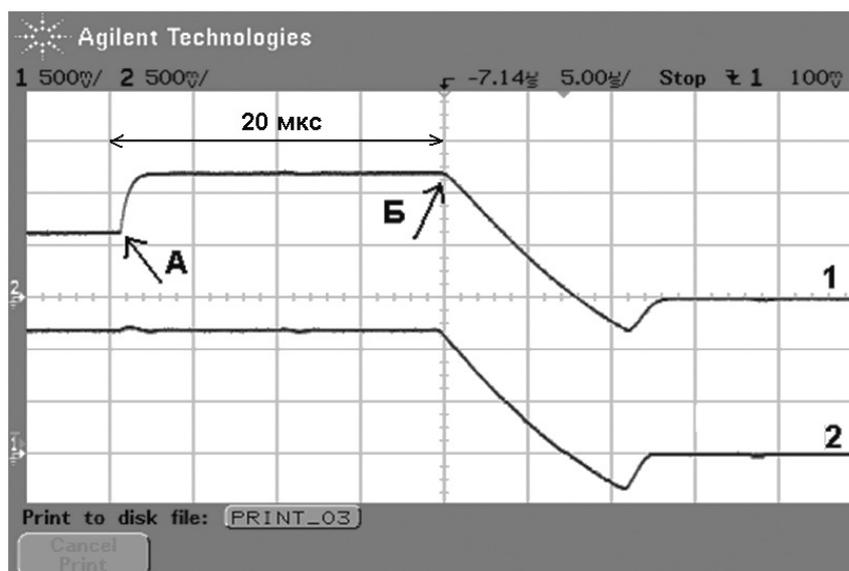


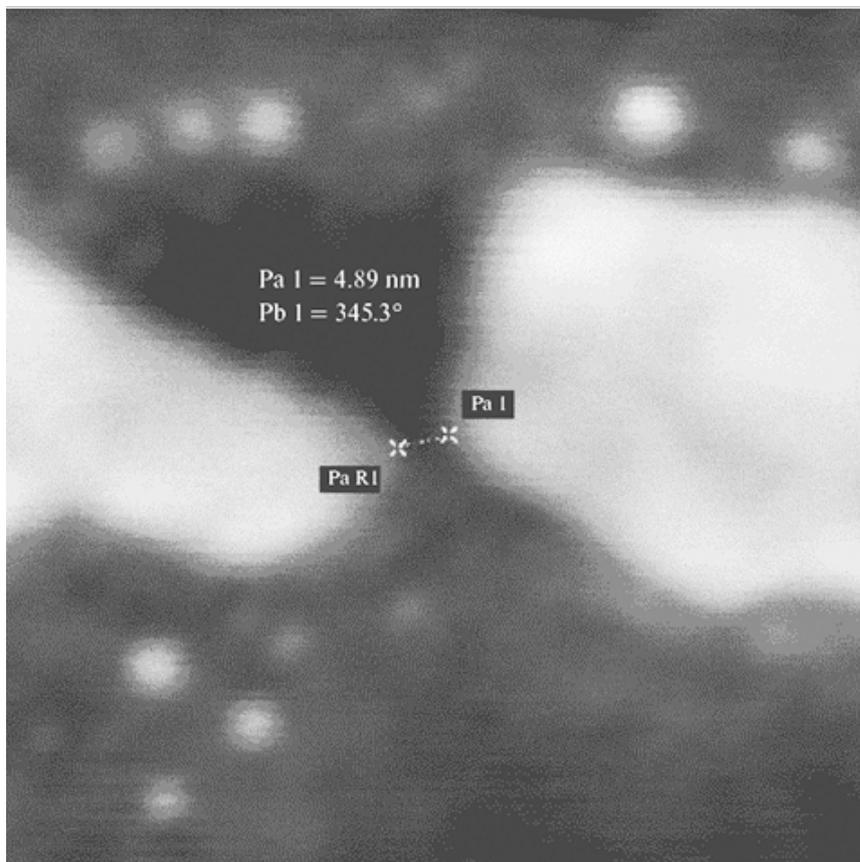
Рисунок 16 – Временная диаграмма, демонстрирующая время срабатывания обратной связи с момента превышения заданного критерия до начала снятия со схемы внешнего напряжения.

Процесс электромиграции реализовывали следующим образом: на нанопровод подавали линейно возрастающее со временем напряжение, которое обрывалось в тот момент, когда сопротивление изменялось (увеличивалось) на некоторую заранее заданную долю (не превышающую 2–3%) от начального

значения, измеренного перед подачей напряжения. Эта доля далее будет называться порогом. Фактически, плавно увеличивая напряжение, находится ток, при котором запускается процесс электромиграции и начинается дрейф атомов металла. Причем, только достигнув этого значения, ток сразу же обнуляется для того, чтобы процесс не переходил в более быструю/лавинообразную стадию. Таким образом, подаваемое напряжение имеет пилообразный вид. Диапазон напряжений, подаваемых на нанопровод, поделен на четыре отрезка, и для каждого устанавливается свой порог. Управление процессом электромиграции осуществляли путем подбора оптимальных порогов, который реализуется компьютером автоматически по специальной программе. Электрический блок созданной установки имеет необходимые скоростные показатели для обеспечения контролируемого разрыва тонкопленочного мостика в реальном времени. Значения основных показателей выбраны в результате анализа теоретических и экспериментальных данных о кинетике атомов металла в процессе электромиграции и установлены на уровне: период измерения 10 мкс, время срабатывания обратной связи 20 мкс (Рисунок 16). Это существенно меньше характерных времен протекания процессов в тонкой пленке и обеспечивает достаточно детальное слежение за этими процессами, что в конечном итоге позволяет вовремя прекращать процесс электромиграции и достигать предельно малых зазоров атомарного масштаба ( $\sim 1$  нм).

Начальное сопротивление измеряли перед каждым циклом подачи такого возрастающего напряжения по вольтамперной характеристике образца, снимаемой в пределах от 0 до 100 мВ. Затем этот цикл многократно (40–50 раз) повторяли до достижения сопротивлением нанопровода заданного предельного/критического значения. Экспериментально было выявлено, что прекращать процесс такой циклической подачи напряжения на нанопровод необходимо еще до образования нанозора. Оптимальным критерием для остановки процесса считается момент, когда сопротивление нанопровода достигает величины 2 кОм. В этот момент процесс останавливается, и через некоторое время в проводе самопроизвольно формируется нанозор (саморазрыв) (Рисунок 17). Как показывает опыт, после

остановки подачи напряжения и до появления нанозазора может пройти от нескольких минут до нескольких часов.



*Рисунок 17 – СЭМ изображение зазора между нанозэлектродами величиной 4.9 нм, полученного при помощи метода электромиграции*

## 1.2. ИММОБИЛИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЫ ФЕРМЕНТА В НАНОЗАЗОРЕ

Размер молекулы глюкозооксидазы составляет около 7 нм, что позволяет использовать этот белок в качестве сенсорного покрытия в полученных нанозазорах для минимизации размеров биосенсоров. На Рисунке 18 представлено СТМ-изображение нескольких отдельных молекул глюкозооксидазы, лежащих на свежесколотой поверхности подложки из пиролитического графита.

В экспериментах в качестве биоселективного фермента использовали препараты глюкозооксидазы (продуценты: *Penicillium funiculosum* 46.1 и *Penicillium adametzii* LF F-2044.1). При предварительном исследовании свойств

ГОх предварительно проверяли влияние активной кислотности в диапазоне рН от 2 до 12 (универсальный буфер 0,01 моль) и температуры в интервале 20–80°C [106]. На Рисунке 19 представлено АСМ-изображение области нанозазора.

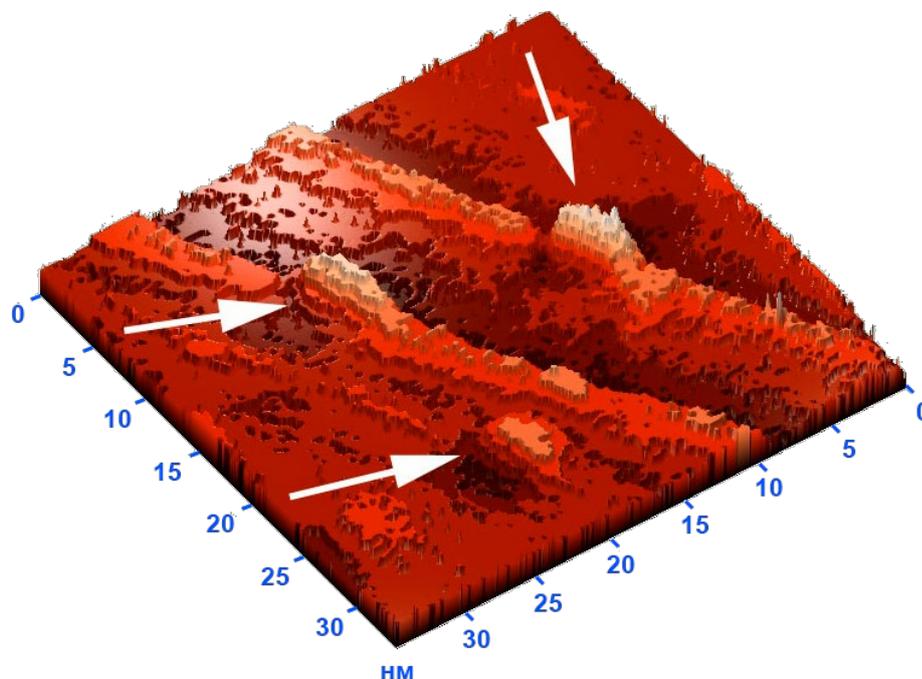


Рисунок 18 – СТМ-изображение нескольких отдельных молекул глюкозооксидазы, лежащих на свежесколотой поверхности подложки из пиролитического графита

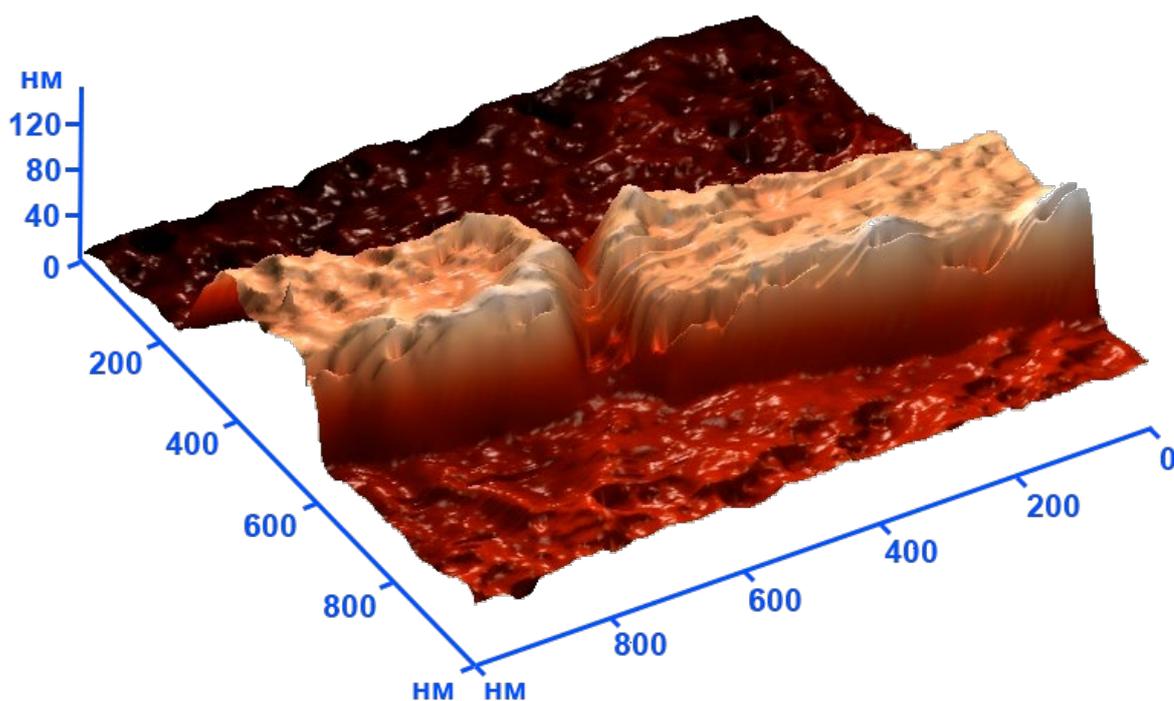
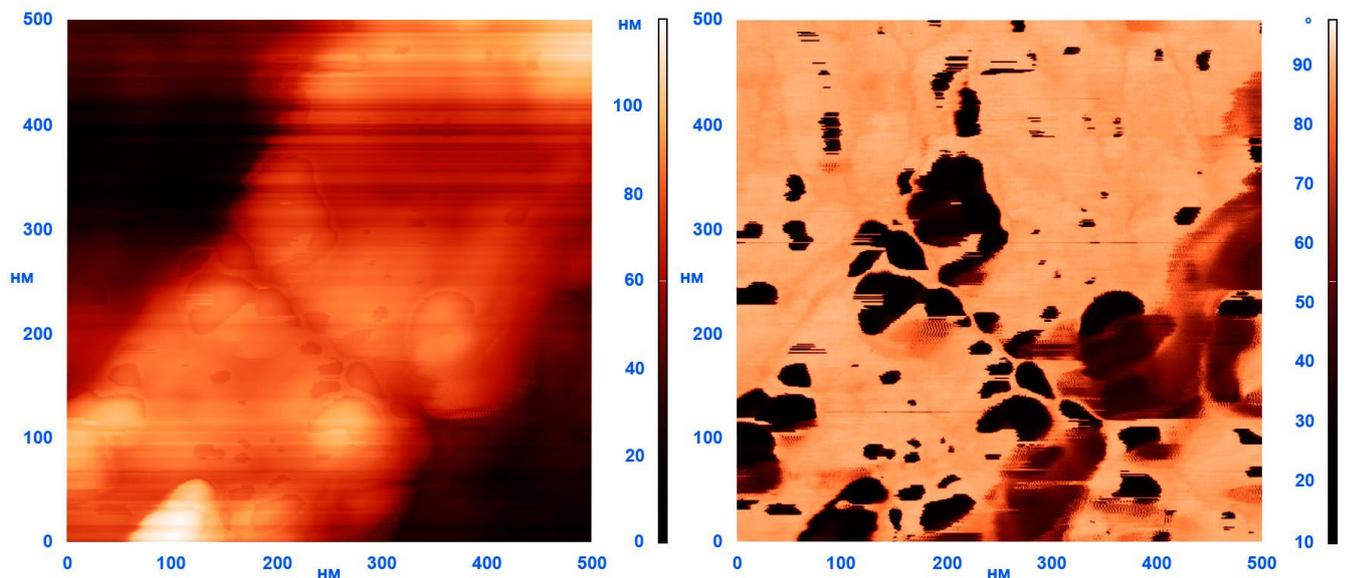


Рисунок 19 – АСМ-изображение области зазора между золотыми нанозэлектродами, покрытой молекулярным слоем фермента глюкозооксидазы.

Для иммобилизации фермента глюкозооксидазы на композиционную подложку, основу которой представлял кремний, покрытый двуокисью кремния, применяли метод сшивки групп белка через группы аминопропилтриэтоксисилана  $C_9H_{23}NO_3Si$  (Dynasytan® АМЕО) к гидроксильным группам на поверхности двуокиси кремния. Сформированную топологическую структуру исследовали методами атомно-силовой микроскопии (Рисунок 19). С помощью режима фазового контраста (Phase Imaging), основанного на базе методов бесконтактной атомно-силовой микроскопии, исследованы области нанозазоров. Метод фазового контраста позволяет с высоким пространственным разрешением различить области по химическому составу, адгезионным и упругим свойствам [107].



*Рисунок 20 – Топографическое (слева) и фазовое (справа) АСМ-изображения отдельного рабочего нанозазора с нанесенным молекулярным слоем фермента*

На изображениях фазового контраста на поверхности золотых нанозондов видны отдельные «мягкие» агрегированные объекты, упругие свойства которых отличны от остальной поверхности. На Рисунке 20 видно, что часть молекулярных агрегатов зафиксирована также в области нанозазора и включена в электрическую цепь транзьюсера.

### 1.3. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В ФЕРМЕНТНОМ НАНОЭЛЕКТРОННОМ СЕНСОРЕ

Для исследования электрических, оптических, термических свойств различных объектов и систем был собран измерительный стенд, состоящий из зондовой станции M-150 CascadeMicrotech и измерительного блока с предусилителем на сигнальном процессоре, управляемым с компьютера. Зондовая станция оснащена оптическим длиннофокусным микроскопом, пневматической системой удержания образца, плавным механическим лифтом подачи контактов, подвижным столиком и контактами для исследования систем по постоянному току и высокочастотному сигналу.

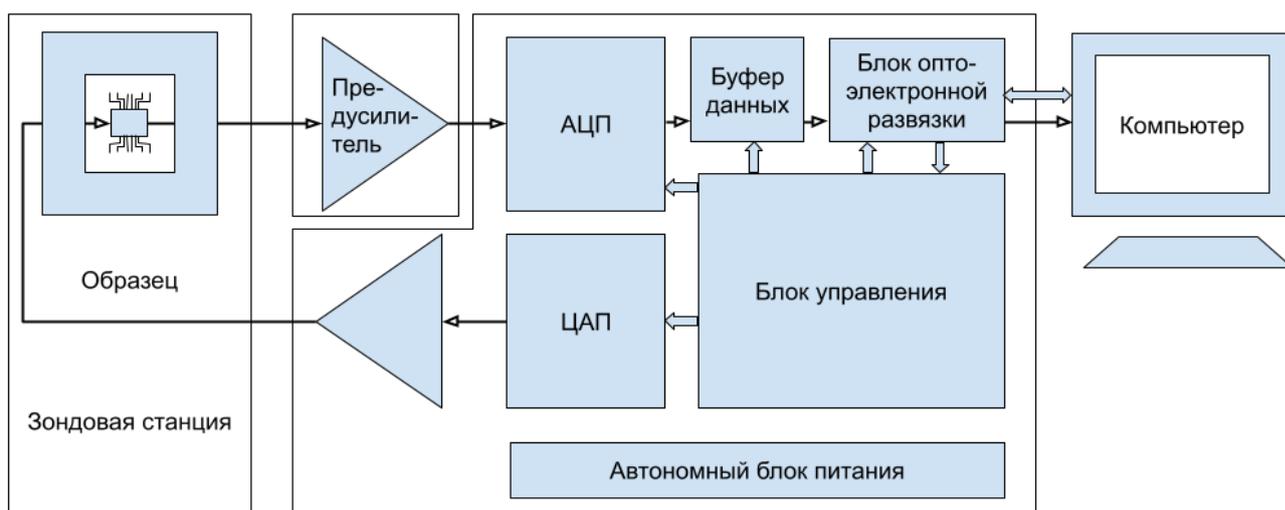


Рисунок 21 – Измерительный стенд для исследования электронных свойств модели биосенсора

Измерительный блок (Рисунок 21) представляет собой систему ЦАП/АЦП и электронных ключей для коммутации 2 входов АЦП и 6 выходов ЦАП под управлением микропроцессора ATMEGA64A. Микропроцессор программируется через интерфейс USB и сохраняет данные на компьютер. Измерительный блок питается от встроенных аккумуляторов и выполнен в едином металлическом корпусе. Предусилитель выполнен в отдельном блоке с возможностью

подключения исследуемого объекта как внутри блока, так и через зондовую станцию. В простейшем случае он может быть выполнен на одиночном малошумящем операционном усилителе типа в качестве преобразователя ток-напряжение с изменяемым коэффициентом усиления.

Дополнительными средствами измерения служат программируемые приборы, управляемые через компьютер: пикоамперный источник-напряжения Keithley 6587 и субфемтоамперный источник-измеритель Keithley 6430.

При наличии в диагностируемой биологической жидкости глюкозы активный центр белка глюкозооксидазы окисляет глюкозу и передает два электрона кислороду с образованием пероксида водорода:



Электронные свойства нанозлектронного трансдьюсера исследовали в буферном растворе в отсутствие и при добавлении глюкозы. На Рисунке 22 слева показано, что на контрольном образце (наноструктура без фермента) реакция на

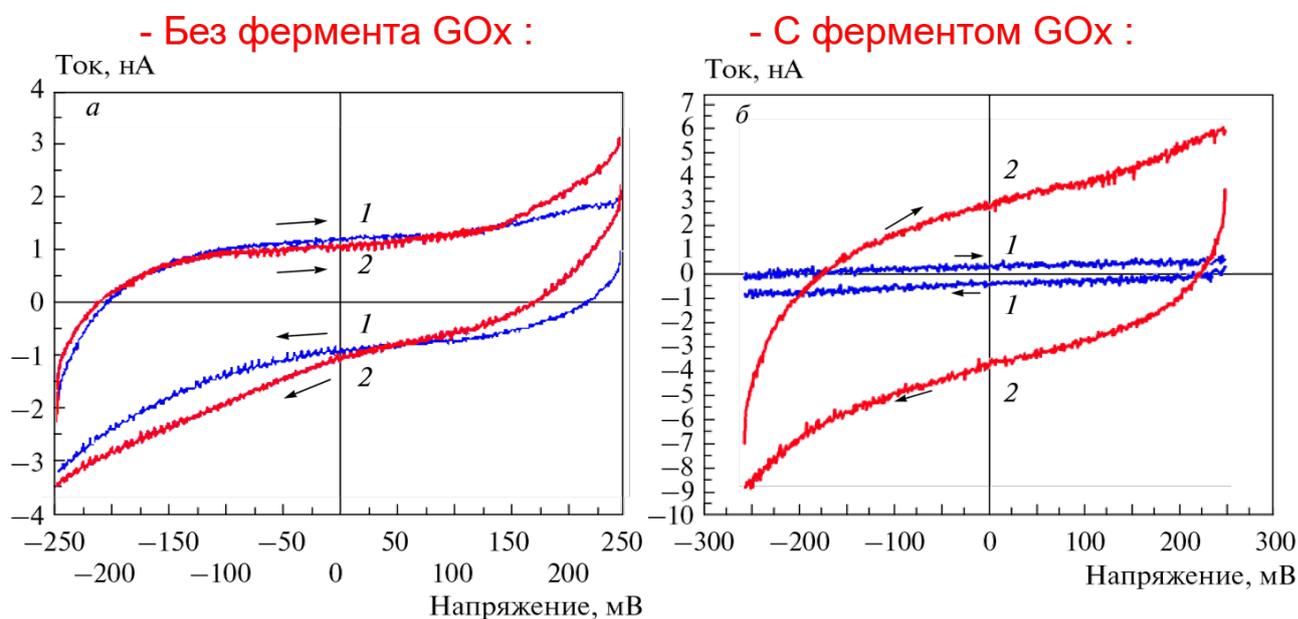
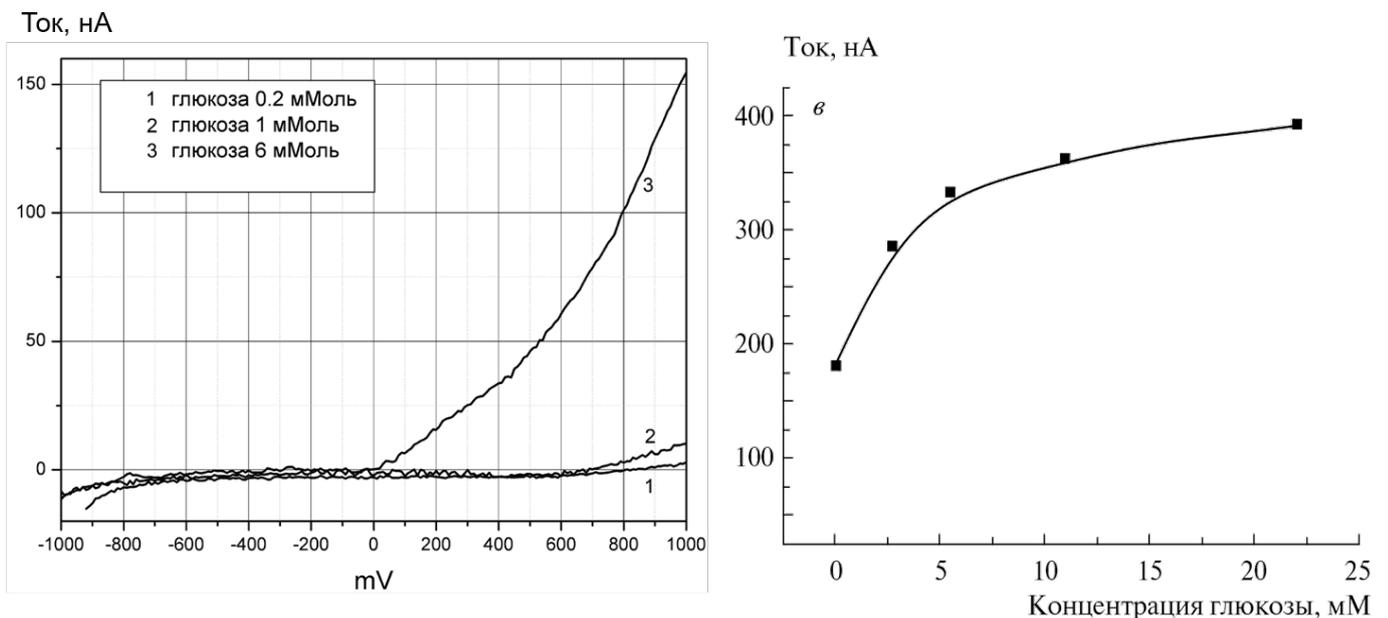


Рисунок 22 – Характеристики электронного транспорта через нанотрансдьюсер: слева – вольтамперная характеристика контрольного образца (без глюкозооксидазы) в буферном растворе: 1 – вода, 2–10 ммоль-й раствор глюкозы; реакция на глюкозу отсутствует. Справа – вольтамперная характеристика наноструктуры, модифицированной ферментом. Присутствует электронный отклик датчика на 10 ммоль-й раствор глюкозы. 1 – буферный раствор, 2 – буферный раствор + 10 ммоль-й раствор глюкозы

глюкозу отсутствует. На Рисунке 22 справа на наноэлектронной структуре, модифицированной ферментом, присутствует электронный отклик датчика на 10-ти ммольный раствор глюкозы. На Рисунке 23 показаны вольт-амперные характеристики для разных концентраций глюкозы. Измерения проводились в диапазоне концентраций глюкозы в организме человека 1–6 ммоль. Справа показана экспериментально определенная при фиксированном (1,0 В) напряжении зависимость тока в нанозазоре с иммобилизованным ферментом – глюкозооксидазой от концентрации глюкозы в тестовом водном растворе. Видно, что она имеет характер монотонного роста тока при увеличении концентрации. Отчетливо выделяются две области: короткий участок с большой крутизной (быстрый рост тока при малых концентрациях) и длинный участок медленного роста при больших концентрациях, появление которого, возможно, связано с процессом насыщения фермента.



*Рисунок 23 – Вольт-амперная характеристика для разных концентраций глюкозы в тестовом растворе и экспериментальная зависимость тока через нанотрансдьюсер от концентрации глюкозы в тестовом растворе*

#### *1.4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1*

В результате проведенных исследований:

- Разработана технология создания наноэлектронного биосенсора на основе планарной наноструктуры с сенсорным покрытием из единичных ферментных комплексов.
- Разработана методика иммобилизации молекул фермента на электроды наноструктуры.
- Разработана методика регистрации биохимических ферментных реакций.
- Зарегистрировано изменение электрических параметров иммобилизованного фермента глюкозооксидазы при окислении глюкозы в тестовом растворе.
- Получена зависимость отклика биосенсора от концентрации глюкозы в тестовом растворе.

## 2. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В БИОТОПЛИВНОМ ЭЛЕМЕНТЕ НА ОСНОВЕ МИКРОБОВ И ИХ МЕМБРАННЫХ ФРАКЦИЙ, ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ НА НАНОУГЛЕРОДНЫХ МАТЕРИАЛАХ

### 2.1. РАЗРАБОТКА БИОАНОДА БИОТОПЛИВНОГО ЭЛЕМЕНТА НА ОСНОВЕ ТЕРМОРАСШИРЕННОГО ГРАФИТА

В представленном в первой главе сенсоре использован механизм прямой генерации электрической энергии из химической с помощью биообъекта, причем без выделения углекислого газа. Таким образом, применяя аналогичные

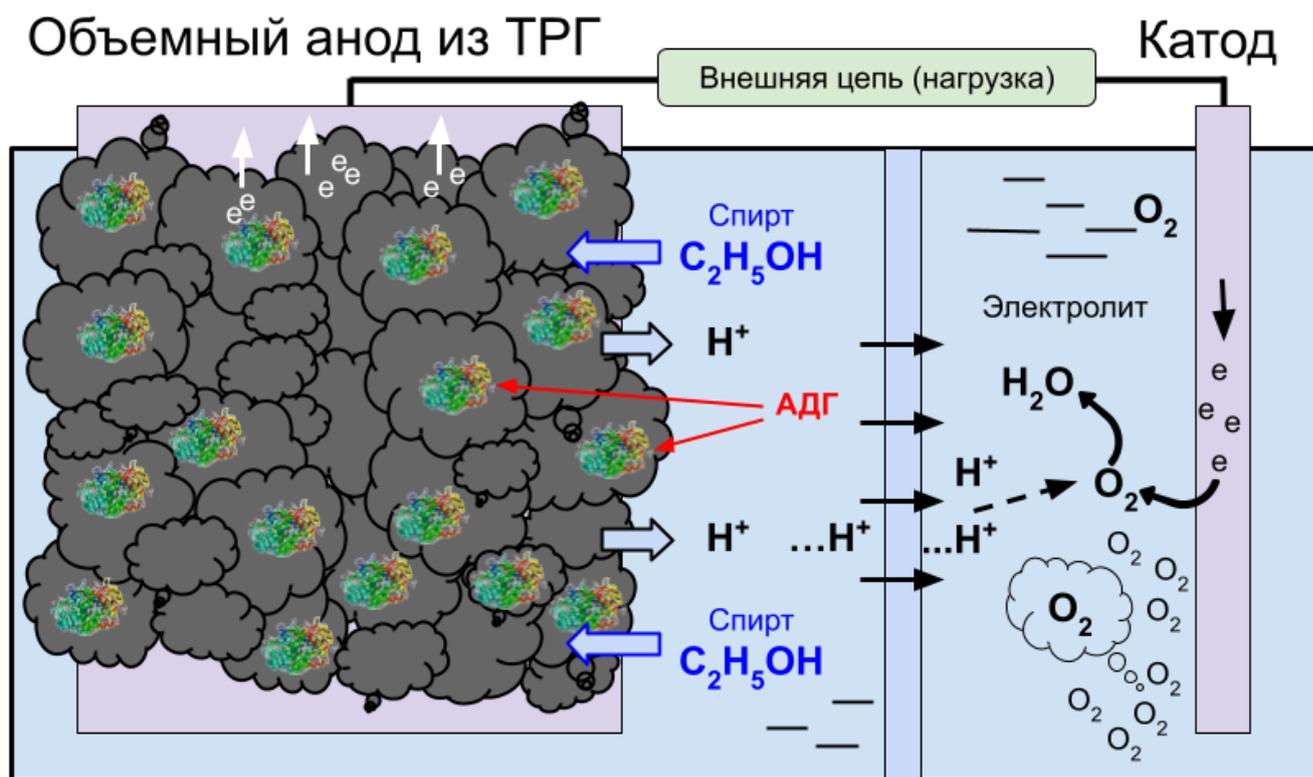


Рисунок 24 – Схема биотопливного элемента с биоанодом из ТРГ и ферментом АДГ (алкогольдегидрогеназа) в составе иммобилизованных мембранных фракций *G. Oxudans*

ферментативные химические реакции, возможно получать энергию для работы, например, подобного сенсора из самой среды, в которой действует и на свойства

которой реагирует сенсор. На этой основе реализуются биотопливные элементы. В основном они основаны на использовании целых живых микроорганизмов, которые содержат в своей мембране определенный фермент. При добавлении соответствующего специфического реагента происходит реакция окисления и возникает электрический ток. Использование живых объектов накладывает определенные ограничения, в связи с этим было интересно проверить возможность использования для создания биотопливных элементов мембранных фракций этих микроорганизмов. Целью этой части работы является разработка эффективного электрода биотопливного элемента. Модельным ферментом был выбран хорошо изученный и доступный фермент АДГ – алкогольдегидрогеназа, содержащийся в мембранах бактерий *G. Oxydans*. Штамм бактерий *Glucanobacter oxydans* ВКМ В-1280 был получен во Всероссийской коллекции микроорганизмов ИБФМ РАН.

Для создания анода биотопливного элемента был выбран терморасширенный графит (Рисунок 24). Терморасширенный графит является материалом, обладающим хорошей электрической проводимостью, высокой удельной площадью поверхности (до 2000 м<sup>2</sup>/г), биосовместимостью, химической устойчивостью в агрессивных средах и может долгое время находиться в технической эксплуатации [108]. Эти качества позволяют обеспечить при иммобилизации на поверхности электрода из ТРГ высокую поверхностную концентрацию бактерий или их мембранных фракций. Терморасширенный графит дает также возможность формировать электроды различной формы простой методикой прессования. Данный подход является оригинальным, так как до настоящего времени в литературе неизвестны работы, в которых использовался ТРГ в комбинации с биоматериалом.

Синтез ТРГ осуществлялся по гидросульфатной технологии [109]. Процесс получения ТРГ включал три основные стадии:

- 1) образование соединения внедрения (гидросульфата графита) при перемешивании малозольного графита (ГСМ-1) в течение 30 мин со смесью концентрированных азотной и серной кислот при их соотношении 10 : 1 в течение тридцати минут. Частицы графита модифицировались смесью серной и азотной

кислот. Это обеспечивало интеркалирование с внедрением в межслоевое пространство частиц графита молекул интеркалята;

2) промывка соединений внедрения графита водой от остатков кислот до  $pH \approx 6,8$  и последующую сушку окисленного графита до сыпучего состояния;

3) терморасширение окисленного графита при термоударе  $800\text{--}900^\circ\text{C}$  с получением ТРГ.

При нагревании такого порошка происходит разрушение пластинчатой структуры графита и переход к слоисто-волокнутой структуре расширенного графита. Полученный графеноподобный ТРГ имел насыпную плотность  $P_{\text{нас}} = 16$  г/л. Элементный анализ показал, что в качестве примеси терморасширенный графит содержит до 0,5% серы. Методом растровой электронной микроскопии с разрешением до 100 нм наблюдается явно выраженное слоисто-волокнутое строение графитового материала (Рисунки 10 и 11).

Насыпная плотность порошка терморасширенных графитов может меняться в довольно широких пределах в зависимости от режима терморасширения. Экспериментально исследовалась насыпная плотность ТРГ, которую определяли взвешиванием в объёме 15 мл после нагрева при температурах 200, 220 и  $250^\circ\text{C}$  ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ) в течение 10 минут. Было показано, что с увеличением температуры нагрева графитовых частиц величины насыпной плотности ТРГ уменьшались, и, соответственно температурам нагрева, равнялись 116–113, 46–42 и 36–33 г/л [109].

Рабочие электроды из ТРГ формировали путем прессования порошка терморасширенного графита при давлении 150 бар. Диаметр измерительного электрода составлял 12 мм, толщина – 0,2 мм. Экспериментально исследовалась температурная зависимость электропроводности полученного листового материала из ТРГ. Образец для исследования представляет собой пластину шириной 22 мм, толщиной 0,35 мм. Измерение сопротивления производилось по двухэлектродной схеме цифровым вольтметром. Поддержание температурного режима осуществлялось посредством муфельной печи МИМП-3П, а образец помещался в измерительную ячейку с никелевыми трубчатыми электродами на керамическом основании.

На Рисунке 25 показано, что плоскостные электроды на основе ТРГ обладают хорошими термомеханическими свойствами и достаточно низкой

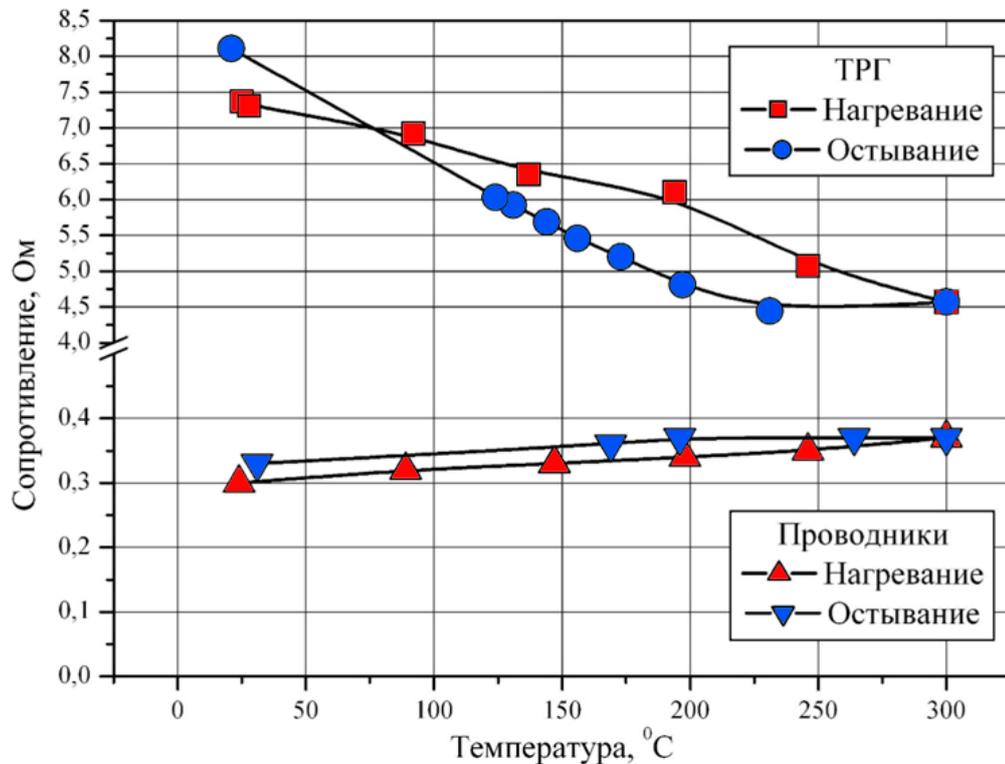


Рисунок 25 – Сравнительная температурная зависимость электропроводности полученного листового материала из ТРГ и материала подводящих электродов

электропроводностью по сравнению с металлами. Однако в случае электрической цепи БТЭ с внутренним сопротивлением, на несколько порядков превышающим сопротивление электродов из ТРГ, такая разница электропроводности незначительна.

## 2.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В БИОТОПЛИВНОМ ЭЛЕМЕНТЕ

Циклические вольтамперограммы записывали с использованием 3-х электродной схемы при скорости сканирования потенциала 3 мВ/с. Электродом сравнения являлся стандартный хлорсеребряный электрод, а вспомогательным электродом была платиновая пластина площадью 1,8 см<sup>2</sup>.

Хронопотенциометрические измерения проводились путем измерения стационарного потенциала рабочего электрода во времени относительно электрода сравнения. Измерения выполнялись в 30 ммольном растворе калий-натриевого фосфатного буфера (рН = 6.0). Субстратами являлись этанол, глюкоза или ацетальдегид (ДиаЭм, Россия). Использовалась только одна концентрация субстратов в рабочем электролите, составляющая 10 ммоль. В ряде экспериментов в качестве редокс-медиатора использовались 2,6-дихлорфенолиндофенол в концентрации 8 мкмоль (ДХФИФ, Sigma-Aldrich). Измерения проводились на гальванопотенциостате VersaSTAT 4 (Ametek Inc.).

При формировании сенсорного покрытия рабочего электрода БТЭ необходимо провести иммобилизацию клеточного материала на поверхности объемного электрода и максимально заполнить его пористую часть. Интактные (целые, неразрушенные) клетки или их мембранные фракции (МФ) иммобилизовались путем включения в гель хитозана на поверхности ТРГ-электрода. Мембранные фракции выделялись в соответствии с методикой [88,89]. Для этого на электрод наносилось 20 мкл МФ или интактных клеток, разбавленных в 2 раза буферным раствором. Электрод сушился при комнатной температуре, на него наносилось 20 мкл 2%-го раствора хитозана в 1%-й уксусной кислоте [110] и затем он сушился при комнатной температуре в течение 30 мин. На Рисунке 26

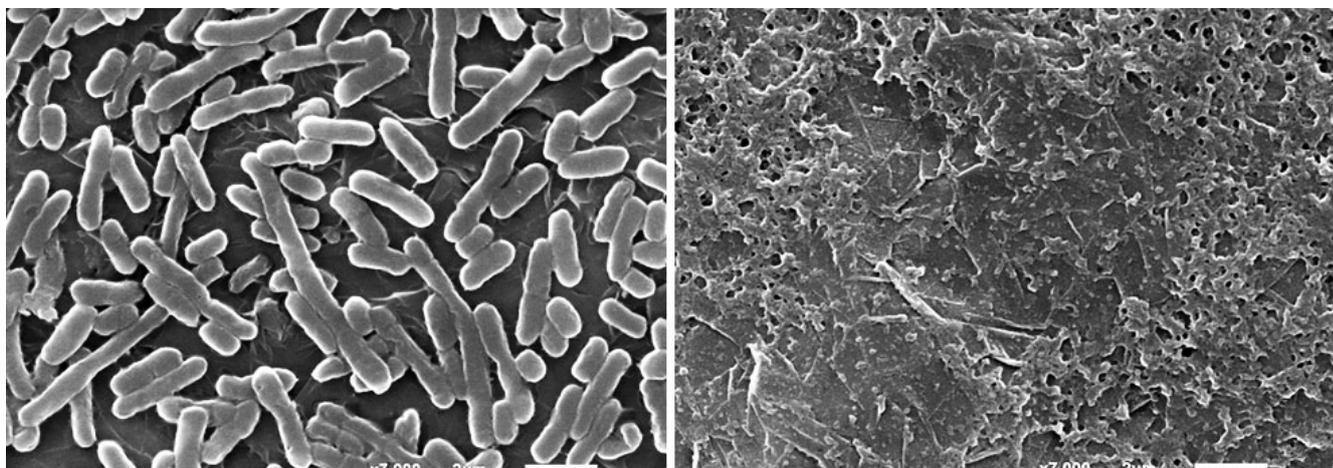


Рисунок 26 – Вид целых клеток *G. oxydans* (слева) и их МФ (справа), полученный сканирующей электронной микроскопией. Иммобилизованный биоматериал покрыт слоем хитозана

приведен вид целых клеток *G. oxydans* и их МФ, иммобилизованных на ТРГ. Изображения получены с помощью СЭМ (сканирующей электронной микроскопии). Для этого на поверхность электродов с клетками и мембранными фракциями напылялся тонкий слой золота. Напыление осуществлялось в вакуумно-напылительной установке JFC-1100 (JEOL, Япония). Электронно-микроскопический анализ образцов проводился с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-6510 LV (JEOL, Япония).

Концентрация клеток для иммобилизации была выбрана такой, чтобы они формировали фактически монослой с незначительными просветами. В местах просветов видна чешуйчатая структура ТРГ, спрессованного в результате формирования электрода (Рисунок 26 слева). Мембранные фракции, являясь значительно более мелкими структурами по сравнению с клетками, формировали практически сплошное покрытие ТРГ-электрода (Рисунок 26 справа).

Поскольку мембранные фракции бактерий *G. oxydans* представляют собой фрагменты дыхательной цепи, для характеристики их каталитической активности в реакции окисления этанола использовался кислородный электрод типа Кларка. В реакции окисления этанола амперометрическим методом определялась дыхательная активность МФ. Иммобилизация мембранных фракций осуществлялась физической сорбцией на фильтрах из стекловолокна (тип GF/A, Whatman, Великобритания). Для этого 5 мкл суспензии МФ, содержащей биомассу в концентрации 100 мг сырого веса на 1 мл, наносилось на фильтр и подсушивалась при комнатной температуре в течение 20 мин. Мембрана с биорецептором размером  $3 \times 3$  мм<sup>2</sup> фиксировалась на измерительной поверхности кислородного электрода типа Кларка (Ingold, Германия). Дыхательная активность МФ была обусловлена участками дыхательной цепи клеточной мембраны, сопряженной с кластерами RQQ-зависимых дегидрогеназ. Амперометрические измерения проводились в открытой кювете объемом 2 мл. Использовался гальваностат-потенциостат IPC2L (ООО «Кронас», Россия), сопряженный с персональным компьютером. При измерениях в кювету, содержащую буферный раствор и кислородный электрод вносились пробы этанола объемом 100 мкл, содержащие

субстрат в различных концентрациях. Регистрируемым параметром являлась максимальная скорость изменения сигнала (нА/с).

Из зависимости скорости окисления этанола от его концентрации (Рисунок 27) в реакционном растворе были рассчитаны кажущиеся значения  $K_M^{\text{ЭФФ}}$  (константа Михаэлиса) и  $V_{\text{MAX}}^{\text{ЭФФ}}$  (максимальная скорость реакции), которые составляли величины  $2,8 \pm 0,7$  мМ и  $2,5 \pm 0,3$  нА/с, соответственно.

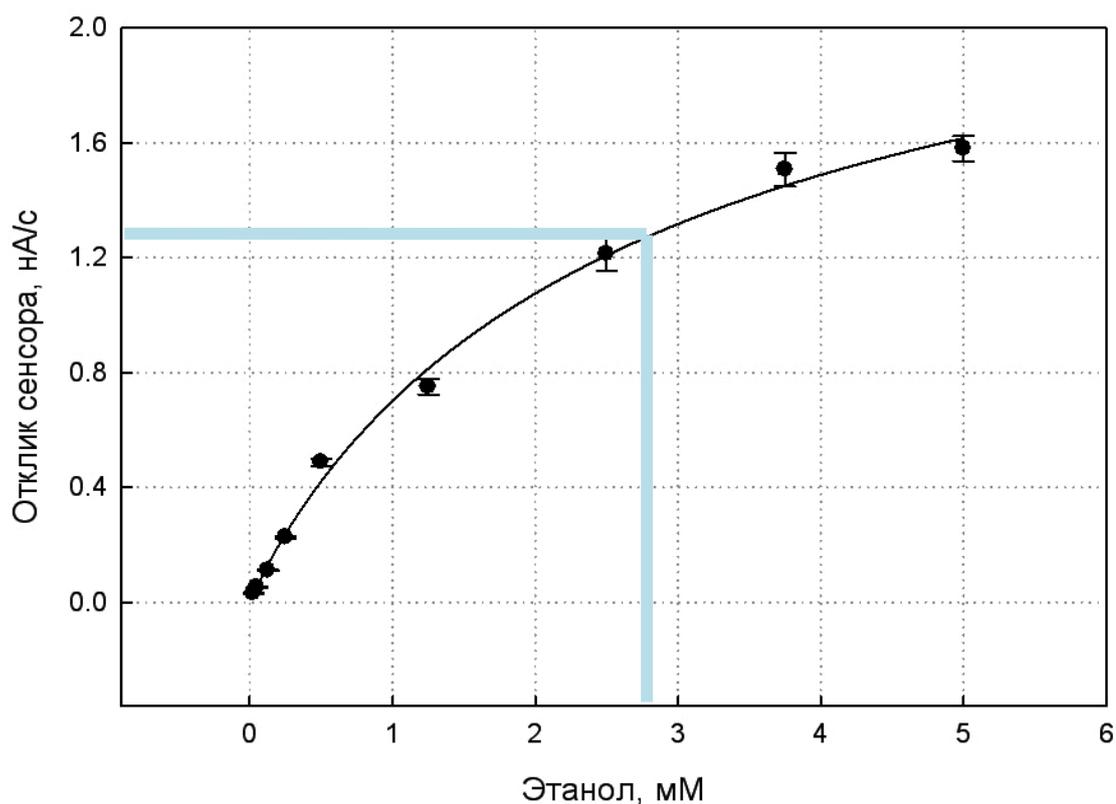


Рисунок 27 – Зависимость отклика кислородного электрода от концентрации этанола в присутствии мембранных фракций бактерий *G. oxydans*

Это подтверждает ферментативный характер кинетики реакции и позволяет оценить её скорость:

$$V = \frac{V_{\text{MAX}} \times S}{S + K_M}, \quad K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad (7)$$

где  $k_{-1}$  - константа скорости реакции распада фермент-субстратного комплекса на фермент и исходный субстрат;

$k_1$  - константа скорости реакции образования фермент-субстратного комплекса;

$k_2$  - константа скорости реакции распада фермент-субстратного комплекса на фермент и продукт;

S - концентрация субстрата.

На Рисунке 28 представлены зависимости потенциала от времени, зарегистрированные для биоанода с иммобилизованными мембранными фракциями при добавлении в рабочий электролит этанола, ацетальдегида или глюкозы. Видно, что при внесении этанола в среду, содержащую измерительный

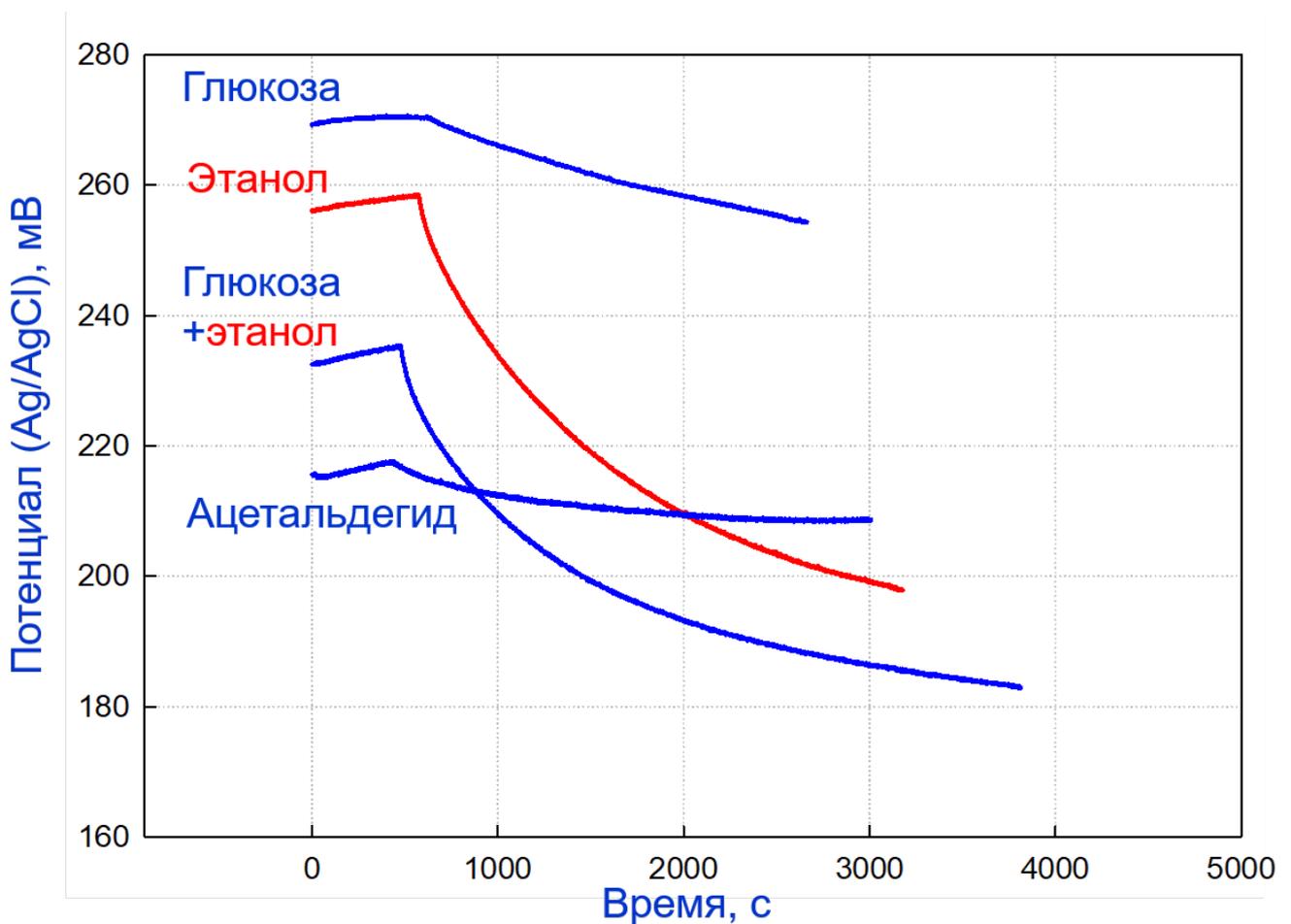


Рисунок 28 – Зависимости стационарных потенциалов от времени для ТРГ-электродов с иммобилизованными МФ при добавлении в электролит этанола, ацетальдегида, глюкозы (справа)

электрод, стационарный потенциал биоанода сдвигается в область отрицательных значений потенциала. Через 1200 с после добавления этанола изменение потенциала рабочего электрода от исходного значения составляло около 50 мВ. Данный эффект является свидетельством того, что в мембранных фракциях

бактерий *G. oxydans* содержится фермент (PQQ-зависимая алкогольдегидрогеназа), катализирующий электроокисление этанола по механизму безмедиаторного биоэлектрокатализа. При внесении ацетальдегида или глюкозы происходили лишь незначительные изменения потенциала.

На Рисунке 29 приведена зависимость изменения стационарного потенциала МФ/ТРГ-электрода в зависимости от различных концентраций этанола.

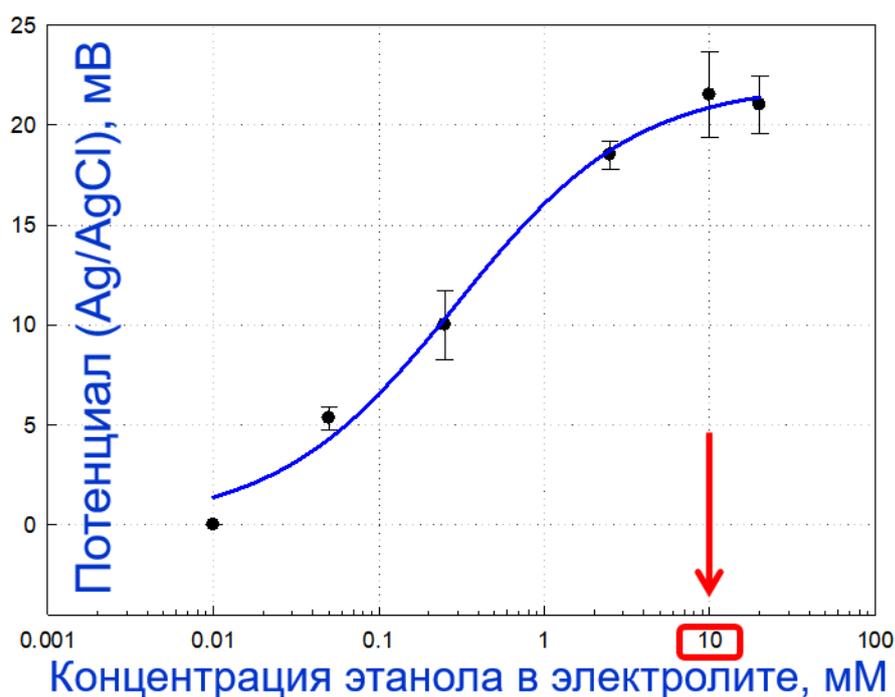


Рисунок 29 – Изменение стационарного потенциала МФ/ТРГ-электрода от концентрации этанола в рабочем буферном растворе

Максимальное значение измеряемого потенциала достигалось при 10 ммоль концентрации этанола в рабочем электролите. Дальнейшее увеличение концентрации не приводило к росту изменения потенциала.

На Рисунке 30 приведены циклические вольтамперограммы (ЦВА), зарегистрированные измерительным электродом с иммобилизованными мембранными фракциями. Видно, что в присутствии этанола при отсутствии медиатора анодный ток увеличивается по сравнению с контролем. Наблюдаемое увеличение анодного тока являлось не слишком значительным, что может быть

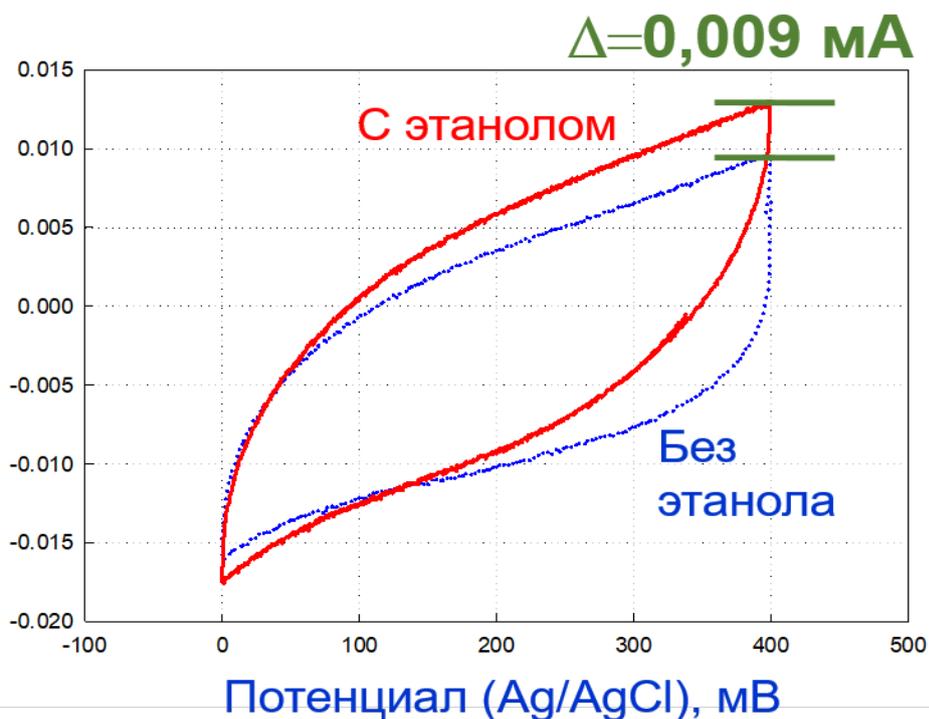


Рисунок 30 – ЦВА, записанные для ТРГ-электрода с иммобилизованными МФ в фосфатном буферном растворе, 30 ммоль, рН 6,0, и в присутствии этанола с концентрацией 10 ммоль

связано с относительно невысокой концентрацией электрокаталитически активных центров на поверхности электрода. Это может быть также обусловлено низкой эффективностью электронного транспорта между биокатализатором и электродом.

Другим вариантом сопряжения биохимической и электрохимической реакций является медиаторный способ. В качестве редокс-медиатора был использован 2,6-дихлорфенолиндофенол (ДХФИФ), являющийся эффективным акцептором электронов в различных биохимических процессах. Кроме того, стандартный редокс-потенциал пары ДХФИФ<sub>восст</sub>/ДХФИФ<sub>ок</sub> составляет +0,217 В, что позволяет проводить биоэлектрохимическую реакцию окисления этанола при относительно низких значениях потенциала электрода в аэробных условиях. При добавлении в буферный раствор ДХФИФ и этанола для биоанода, модифицированного МФ, катодное изменение стационарного потенциала в отсутствие субстрата составило 120 мВ.

На Рисунке 31 приведена ЦВА для биоанода с иммобилизованными мембранными фракциями в буферном растворе (контрольное состояние) и в

растворе, содержащем этанол и ДХФИФ. Видно, что в присутствии редокс-медиатора на циклических вольтамперограммах, начиная с нулевого потенциала, наблюдается значительное увеличение анодного тока по сравнению с контрольным состоянием, что указывает на медиаторный биоэлектрокаталитический механизм окисления этанола.

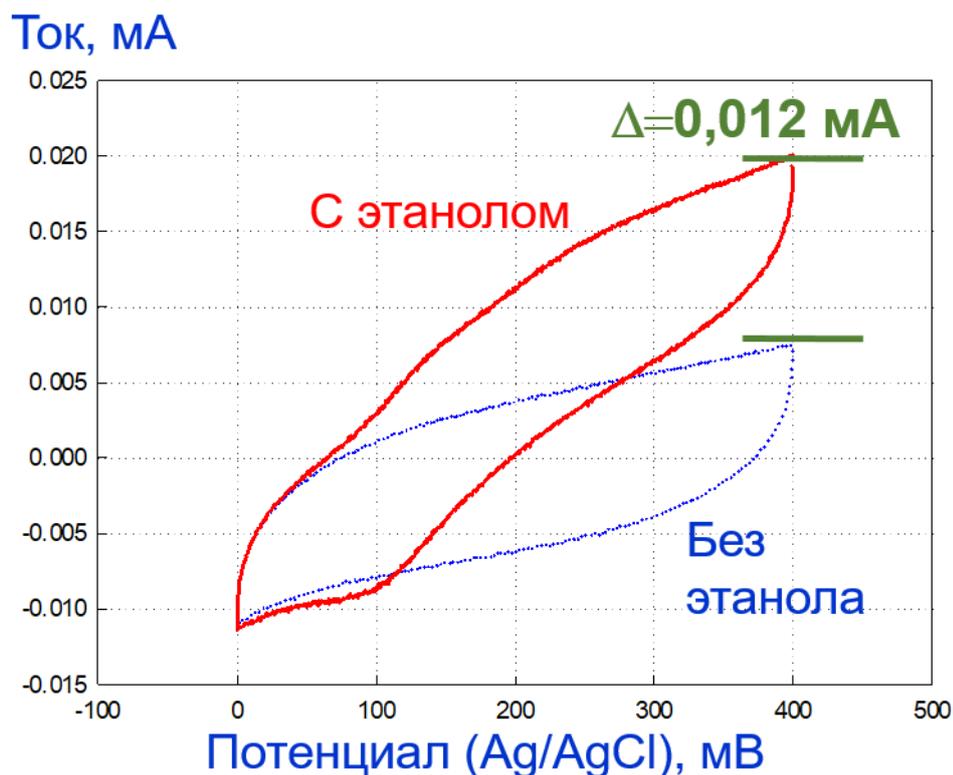


Рисунок 31 – ЦВА, записанные для ТРГ-электрода с иммобилизованными МФ в фосфатном буферном растворе, 30 ммоль, рН 6,0 и в присутствии ДХФИФ (8 мкмоль) и этанола (10 ммоль)

В работе был реализован также вариант биоанода на основе ТРГ с иммобилизованными интактными (целыми) клетками *G. oxydans*. В предварительных экспериментах было показано, что в отсутствие медиатора при добавлении этанола в раствор электролита не проходило никаких изменений стационарного потенциала биоанода. Это было связано с отсутствием безмедиаторного транспорта электронов от субстрата-донора (этанола) на электрод с участием иммобилизованных интактных клеток. Поэтому для усиления

биоэлектрохимической реакции окисления этанола в реакционную систему вводили редокс-медиатор ДХФИФ.

При внесении в реакционный электролит редокс-медиатора и этанола изменение потенциала электрода составляло 160 мВ от исходного значения.

ЦВА, зарегистрированные для биоанода из ТРГ с иммобилизованными интактными клетками в буферном растворе и в присутствии редокс-медиатора и этанола приведены на Рисунке 32.

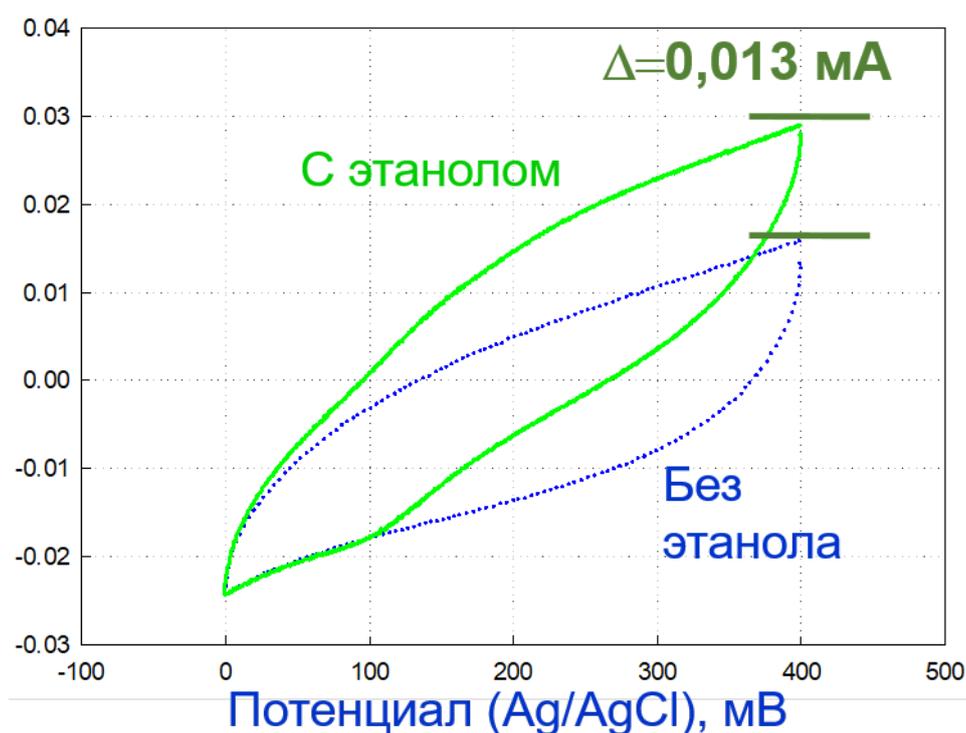


Рисунок 32 – ЦВА, зарегистрированные для ТРГ-электрода с иммобилизованными интактными клетками в фосфатном буферном растворе, 30 ммоль, рН 6,0) и в присутствии ДХФИФ (8 мкмоль) и этанола (10 ммоль)

Отклик биоанода на основе ТРГ с иммобилизованными интактными клетками *G. oxydans* и биоанода с иммобилизованными мембранными фракциями *G. oxydans* на этанол в присутствии редокс-медиатора ДХФИФ примерно одинаков, что подтверждает возможность использования для реализации БТЭ не только целые микроорганизмы, но и их мембранные фракции.

### 2.3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 2

Впервые показана принципиальная возможность создания биоанода топливного элемента на основе терморасширенного графита и сенсорного покрытия из иммобилизованных мембранных фракций бактерий *G. oxydans*, являющихся биоэлектродокатализаторами реакции окисления этилового спирта и исследованы электрические характеристики биоанода.

Сенсорное покрытие из мембранных фракций, иммобилизованных на ТРГ-электроде позволяют осуществить безмедиаторное биоэлектродокаталитическое окисление этанола на электроде, однако скорость процесса невысока.

Редокс-медиатор 2,6-дихлорофенолиндофенол значительно увеличивает скорость биоэлектрохимической реакции с участием иммобилизованных мембранных фракций бактерий *G. oxydans*, а также позволяет проводить электроокисление этанола с использованием иммобилизованных интактных клеток *G. oxydans*.

### 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И АКУСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СЕНСОРНЫХ ПЛЕНОК И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В АКУСТОЭЛЕКТРОННЫХ ДАТЧИКАХ

#### 3.1. РАЗРАБОТКА БЕСКОНТАКТНОГО АКУСТОЭЛЕКТРОННОГО МЕТОДА ИЗМЕРЕНИЯ ПРОВОДИМОСТИ ТОНКИХ ПЛЕНОК

Характеристики поперечно-горизонтальной волны нулевого порядка в тонкой пластине  $\text{LiNbO}_3$  сильно зависят от граничных условий на поверхности кристалла. Размещение на поверхности пластины, например, проводящей пленки, приведет к уменьшению скорости пьезоактивной акустической волны за счет экранировки тангенциальной компоненты электрического поля, которое ее сопровождает. Как известно, это электрическое поле может проникать на некоторое расстояние от пластины. Таким образом, проводящая пленка, размещенная на некотором расстоянии от пластины, также будет влиять на характеристики соответствующей акустической волны. Данный эффект позволяет бесконтактно измерять электрические свойства проводящего объекта. Подобный



Рисунок 33 – Геометрия задачи

подход известен для ПАВ, однако волны в пластинах характеризуются гораздо более высоким коэффициентом электромеханической связи и большей длиной

волны, что позволяет электрическому полю проникать в свободное пространство над пластиной на большие расстояния.

Для определения проводимости тонкой пленки с помощью данного эффекта необходимо знать величину изменения скорости волны и ее затухания в присутствии такой пленки. Был проведен теоретический анализ распространения  $SH_0$  волны в структуре «пьезоэлектрическая пластина — вакуумный зазор — пленка с произвольной проводимостью (проводящая пленка) — стеклянная подложка» (Рисунок 33).

Для решения поставленной задачи были записаны уравнение движения (8), уравнение Лапласа (9), уравнения состояния (10) и (11) для пьезопластины и уравнение Лапласа (12) с уравнением состояния (13) для воздуха (вакуума) и диэлектрической полубесконечной среды [111].

$$\rho^{pl} \frac{\partial^2 U_i^{pl}}{\partial t^2} = \frac{\partial T_{ij}^{pl}}{\partial x_j} \quad (8)$$

$$\frac{\partial D_j^{pl}}{\partial x_j} = 0 \quad (9)$$

$$T_{ij}^{pl} = C_{ijkl}^{pl} \frac{\partial U_l^{pl}}{\partial x_k} + e_{kij}^{pl} \frac{\partial \Phi^{pl}}{\partial x_k} \quad (10)$$

$$D_j^{pl} = -\varepsilon_{jk}^{pl} \frac{\partial \Phi^{pl}}{\partial x_k} + e_{jlk}^{pl} \frac{\partial U_l^{pl}}{\partial x_k} \quad (11)$$

$$\frac{\partial D_j^{vac}}{\partial x_j} = 0, \quad \frac{\partial D_j^{med}}{\partial x_j} = 0 \quad (12)$$

$$D_j^{vac} = -\varepsilon_0 \frac{\partial \Phi^{vac}}{\partial x_j}, \quad D_j^{med} = -\varepsilon^{med} \frac{\partial \Phi^{med}}{\partial x_j} \quad (13)$$

где  $U_i$  – компонент механического перемещения частиц,

$t$  – время,

$T_{ij}$  – компонент механического напряжения,

$x_j$  – координата,

$D_j$  – компонент электрического перемещения,

$\Phi$  – электрический потенциал,

$\rho$  – плотность,

$C_{ijkl}$ ,  $e_{jlk}$  и  $\varepsilon_{jk}$  – упругие, пьезоэлектрические, и диэлектрические постоянные соответственно

$\varepsilon_0$  – диэлектрическая проницаемость вакуума.

Индексы *pl*, *vac* и *med* означали, что соответствующая переменная относится к пьезоэлектрической пластине, вакууму или диэлектрической среде соответственно.

Из-за наличия воздушного зазора между пластиной и диэлектрической средой механические свойства среды были проигнорированы.

В качестве граничных условий использовалось равенство нулю механических напряжений на поверхностях пьезоэлектрических пластин и непрерывность электрического потенциала и электрического смещения на всех границах раздела.

$$x_3 = d, h_1 : \quad T_{i3}^{pl} = 0, \Phi^{pl} = \Phi^{vac}, \quad D_3^{pl} = D_3^{vac}, \quad i = 1 \div 3 \quad (14)$$

В дополнение к граничным условиям (14) использовались следующие электрические граничные условия:

$$x_3 = 0 : \quad \Phi^{med} = \Phi^f, \quad D_3^{med} = D_3^f \quad (15)$$

В плоскости  $x_3 = h_2$  размещался тонкий проводящий слой, чье присутствие учитывалось при помощи соответствующих электрических граничных условиях:

$$x_3 = h_2 : \quad \Phi^f = \Phi^{vac}, \quad D_3^f - D_3^{vac} = -\delta \quad (16)$$

где  $\delta = -i\sigma_s \Phi^f \omega / V^2$  – плотность поверхностного заряда,

$\sigma_s$ ,  $\omega$  и  $V$  – поверхностная проводимость пленки, частота круговой волны и скорость волны соответственно,

индекс *f* обозначает, что соответствующая переменная относится к исследуемой плёнке.

В результате теоретических расчетов были построены зависимости относительного изменения скорости и затухания  $SH_0$  волны в структуре «пьезоэлектрическая пластина — вакуумный зазор — пленка с произвольной

проводимостью — кварцевое стекло» для различных значений проводимости (Рисунок 34). Диэлектрическая проницаемость исследуемой пленки с произвольной проводимостью и кварцевого стекла составляли 2 и 3,3, соответственно.

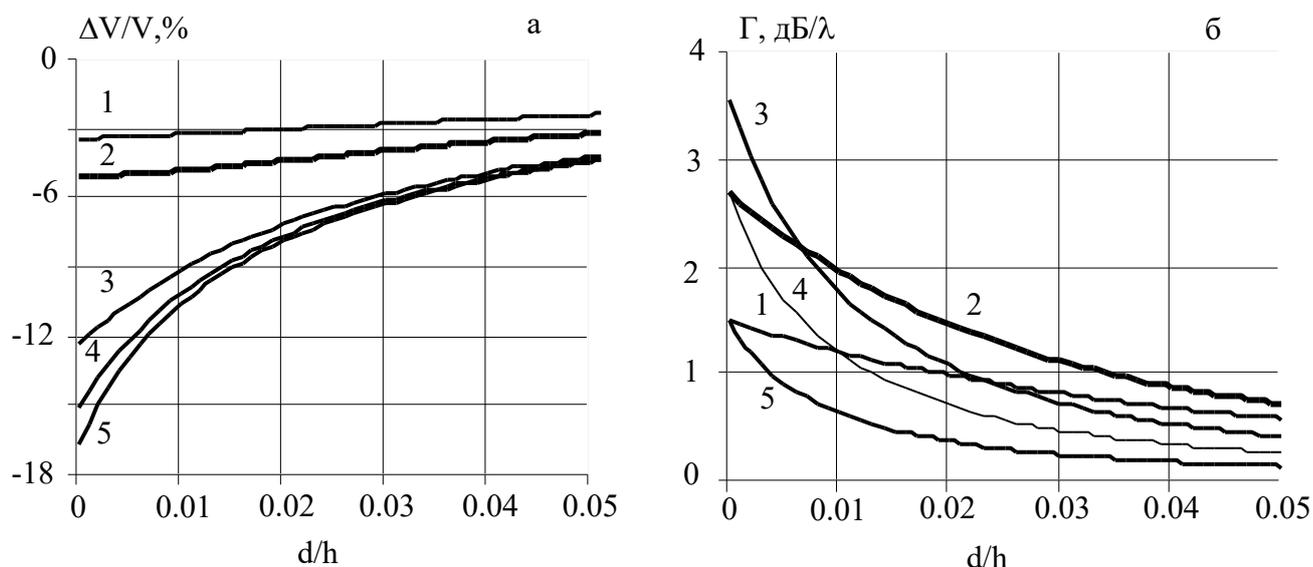


Рисунок 34 – Теоретические зависимости относительного изменения скорости (а) и затухания на длину волны (б)  $SH_0$  волны от нормализованной ширины вакуумного зазора в структуре «пластина  $YXLiNbO_3$  - вакуумный зазор — пленка с произвольной проводимостью — кварцевое стекло» при  $\sigma_s = 5 \cdot 10^{-7} \text{ Ом}^{-1}$  (1);  $10^{-6} \text{ Ом}^{-1}$  (2);  $3 \cdot 10^{-6} \text{ Ом}^{-1}$  (3);  $5 \cdot 10^{-6} \text{ Ом}^{-1}$  (4);  $10^{-5} \text{ Ом}^{-1}$  (5)

Видно, что с удалением структуры, содержащей проводящую пленку от поверхности пьезоэлектрика, относительное изменение скорости и затухание уменьшаются. Очевидно, это связано с тем, что электрическое поле волны по мере удаления от поверхности пьезоэлектрика уменьшается. Соответственно влияние проводимости пленки на характеристики волны также уменьшается по мере удаления от поверхности пластины. Из графиков также видно, что с ростом проводимости пленки, при одном и том же расстоянии структуры от пластины, затухание волны увеличивается, достигает максимума, а затем уменьшается. Это связано с тем, что в области низких проводимостей пленка является диэлектриком

и не вносит потерь в распространение волны, а в случае высоких проводимостей, пленка является металлом, что также не приводит к появлению затухания.

Промежуточная область характеризуется потерями на распространение в связи с наличием диссипации в среде. Что касается фазовой скорости волны, то с увеличением проводимости она уменьшается и достигается минимального значения при закороченной пластине. Это связано с экранировкой тангенциальных компонент электрического поля акустической волны в присутствии металла на поверхности пьезоэлектрика.

Следует отметить, что на графике приведены зависимости для тех значений проводимости, которые впоследствии были измерены прямыми экспериментальными методами, включая разрабатываемый акустический метод. На Рисунке 35 приведены рассчитанные зависимости для экспериментально реализованной структуры «пластина  $\text{YXLiNbO}_3$  200 мкм - вакуумный зазор 147 мкм — пленка с произвольной проводимостью — кварцевое стекло 170 мкм» при частоте 3,37 МГц.

В Таблице 1 приведены значения относительного изменения скорости и затухания, полученные в результате теоретического расчета.

Таблица 1

$\sigma$ , См	$\Delta V/V_{\text{теор}}$ , %	$\Gamma_{\text{теор}}$ , $10^{-3}$ дБ/мм
$4 \cdot 10^{-6}$	0,11	2,2
$10^{-5}$	0,12	0,9

Экспериментальный акустический метод был основан на использовании линии задержки на  $\text{SH}_0$  волне, распространяющейся в ниобате лития.

Для создания такой линии задержки на пластину ниобата лития ( $\text{LiNbO}_3$ )  $20 \times 50 \text{ мм}^2$  и толщиной 200 мкм методом магнетронного распыления были нанесены два встречно-штыревых преобразователя (ВШП), служившие для возбуждения и приёма акустических волн. Каждый ВШП содержал 5 пар штырей

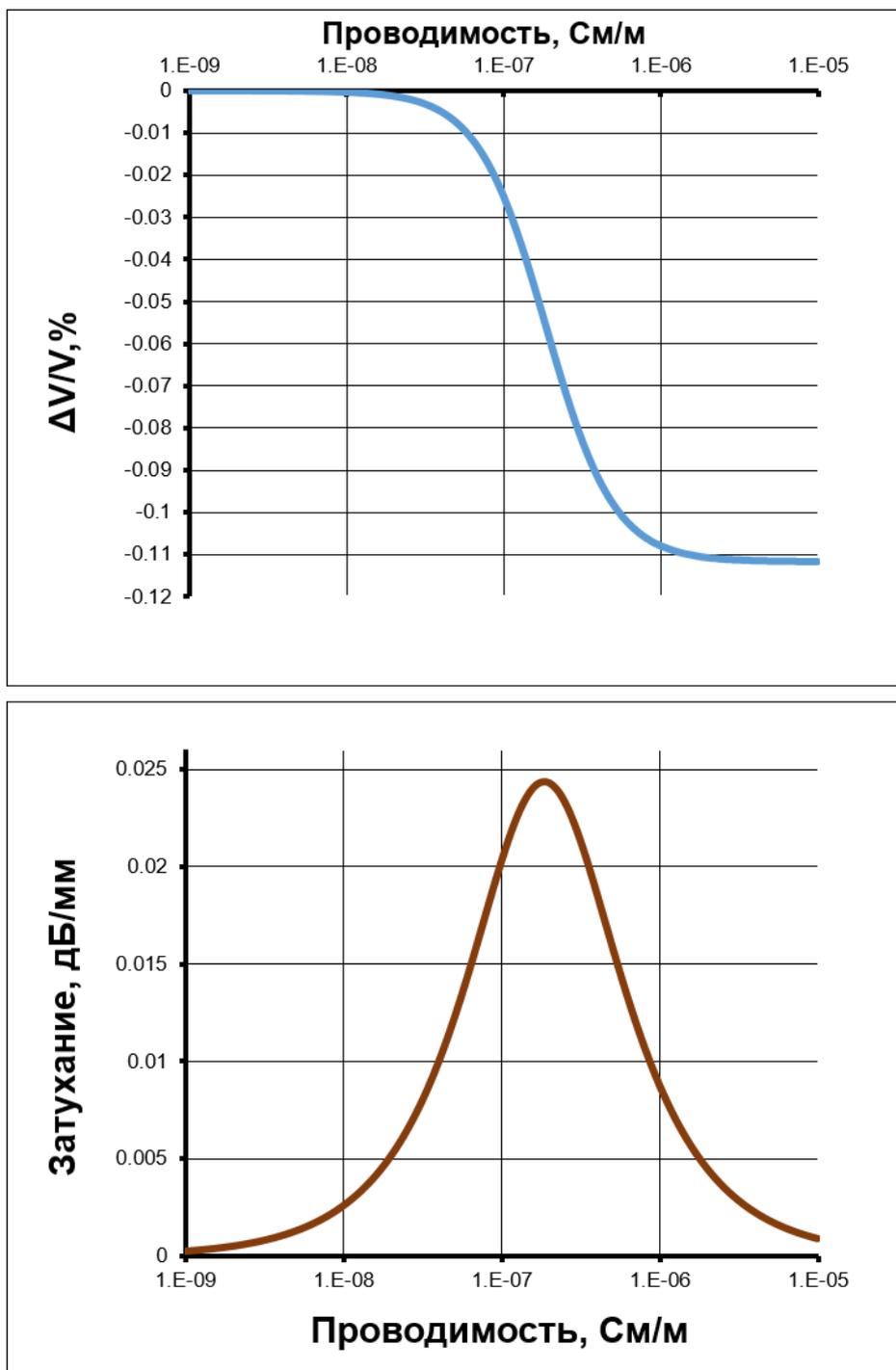


Рисунок 35 – Теоретические зависимости изменения затухания и скорости акустических волн нулевого порядка с поперечно-горизонтальной поляризацией в структуре «пластина YX ниобат лития 200 мкм – воздушный зазор 147 мкм – проводящая пленка – кварцевое стекло 170 мкм» от проводимости пленки при частоте 3,37 МГц

длиной 8 мм с шагом 1,2 мм. Расстояние между ВШП составляло 36 мм.  $SH_0$  волна возбуждалась вдоль кристаллографической оси X. Рабочая частота линии задержки

составляла 3,37 МГц. Электромеханический коэффициент передачи был равен ~ 30%.

Полученная линия задержки была помещена на специальную подставку, поддерживающую её по периметру, причем ВШП структуры были расположены внизу.

На покровное стекло 18x18 мм<sup>2</sup> методом магнетронного распыления было нанесено покрытие из резистивного сплава РС-37103 толщиной 17 мкм (два пыления по 35 и 40 минут, 175 Вт, DC). Полученный образец был помещен над центром линии задержки с зазором 147 мкм. Были измерены потери и задержка фазы сигнала в случае резистивной плёнки, размещенной на поверхности стекла, обращенной к линии задержки (Рисунок 36).

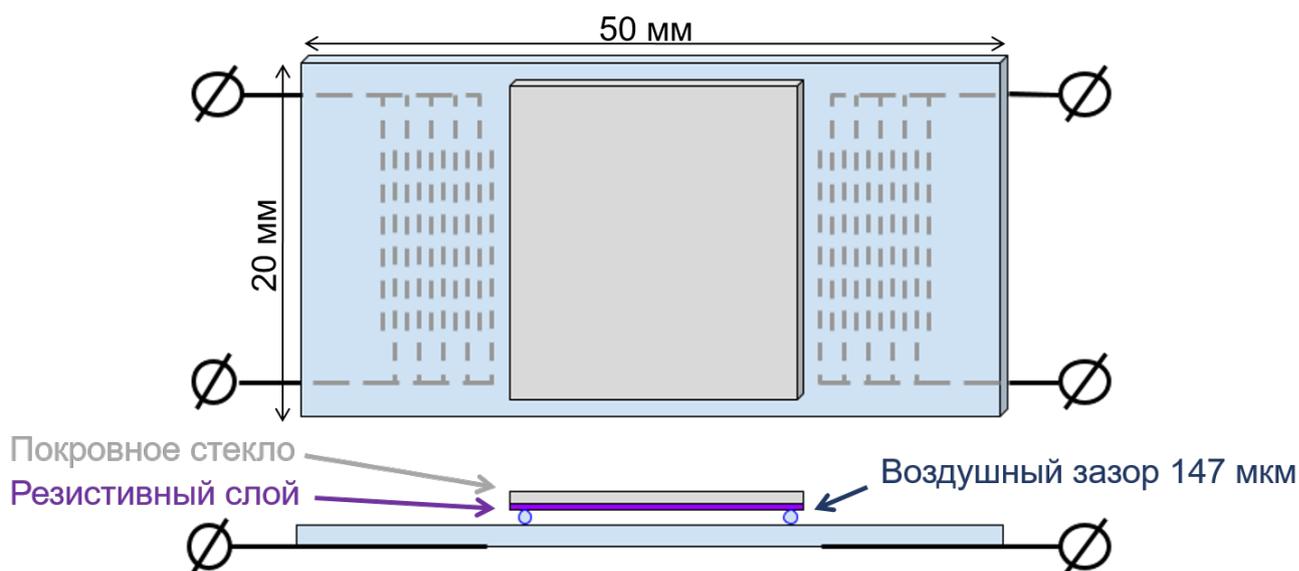


Рисунок 36 – Линия задержки с исследуемым образцом

Полученные результаты сравнивались с экспериментально полученными данными по проводимости плёнки с помощью вольтметра В7-40, с помощью мультиметра Fluke 15В и с помощью 4-зондового метода (Таблица 2). Измерения вольтметром В7-40 и мультиметром Fluke 15Вм были выполнены двухзондовым методом для удельного поверхностного сопротивления, измерялось сопротивление между противоположными сторонами квадрата исследуемой поверхности.

Тестовые квадратные образцы были покрыты резистивным сплавом в одних технологических циклах магнетронного пыления с образцами для линии задержки. Противоположные торцы тестовых квадратных образцов покрывались проводящей серебряной пастой (Silberleitlack, Германия), и измерялось сопротивление между полученными электродами. Измерения 4-зондовым методом проводились на установке ИУС-3 (Россия). Для исследования брались образцы после проведения экспериментов на линии задержки.

Таблица 2

Проводимость, См	Вольтметр В7-40	Мультиметр Fluke 15B	4-зондовый метод	Бесконтактное акустическое измерение
$\sigma_1$ , (T = 35 мин)	$4 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-6}$
$\sigma_2$ , (T = 40 мин)	$10^{-5}$	$10^{-5}$	-	$10^{-5}$

Необходимо заметить, что точность представленного бесконтактного акустического измерения зависит от соотношения между диэлектрическими проницаемостями пьезоэлектрика и подложки, в данном случае стекла. Отсутствие подложки позволит существенно повысить точность измерений.

Полученные результаты однозначно свидетельствуют о возможности нового бесконтактного акустического метода измерять проводимости тонких металлических плёнок. Возможными объектами этого метода могут стать графен, оксид графена, терморасширенный графит и другие углеродные мета-, наноструктурированные материалы — такие материалы, у которых поверхность чрезвычайно развита, а свойства материала чувствительны к изменению поверхностного состояния.

Бесконтактность является существенным преимуществом данного метода перед контактными методами в случаях, когда в области исследования не должны находиться любые электропроводящие зонды или присутствует агрессивная среда.

### 3.2. ИССЛЕДОВАНИЕ МОДУЛЕЙ УПРУГОСТИ И ДИЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ПЛЕНОК ОКСИДА ГРАФЕНА

Для теоретического анализа акустических волн, распространяющихся в структуре «пьезоэлектрический материал – пленка ОГ», необходимо знать значения продольных и сдвиговых модулей упругости, а также диэлектрической проницаемости многослойных пленок ОГ.

В качестве исходного материала для приготовления ОГ использовался китайский природный графит (содержание углерода 99,9%, 300 мкм, Qingdao Graphite Company), измельченный шаровым способом до размеров частиц в диапазоне 200–300 мкм. Порошок ОГ был получен модифицированным методом Хаммерса [112] из 1 г природного графита.

Для получения дисперсий ОГ в изопропиловом спирте 375 мг порошка оксида графита помещали в цилиндрический стакан с 250 мл изопропилового спирта и 15 минут обрабатывали ультразвуком. После ультразвукового исследования были получены темно-коричневые дисперсии ОГ в изопропиловом спирте с концентрацией 1,5 мг/мл.

Структура, морфология, строение хлопьев дисперсий ОГ были изучены с использованием рентгеноструктурных изображений, инфракрасной спектроскопии и спектроскопии комбинационного рассеяния, сканирующей электронной микроскопии, атомно - силовой микроскопии и метода анализа СНН. Рентгенографическую характеристику проводили на дифрактометре Bruker Advanced 8 с излучением CuK $\alpha$ ,  $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ . Спектры комбинационного рассеяния света были записаны на спектрометре Jobin Yvon T64000. АСМ анализ проводился на цифровых приборах Nanoscope III. Обработка изображений производилась с помощью программы «ФемтоСкан». Анализ СНН проводился с помощью анализатора EA1108 Carlo Ebra Instruments. Оптическую плотность пленки ОГ измеряли с помощью микроскопа Carl Zeiss AXIO.

Пленки на основе дисперсии оксида графена в изопропиловом спирте были сформированы на подложках с помощью аэрографа. Дисперсию ОГ (50 мл)

помещали в емкость для распыления и подавали воздух с помощью компрессора. Полученную дисперсию распыляли на вертикально закрепленные образцы. Для формирования пленок ОГ на поверхности кварцевых и лангаситовых резонаторов использовался циклический режим распыления. Время непрерывной работы аэрографа в режиме распыления в каждом цикле было равно 5 секундам. Затем распыленный слой высушивали феном в течение 5 секунд до полного испарения растворителя и распыляли новый слой. Количество циклов распыления было равно 20. В результате была получена пленка, представляющая собой многослойную структуру оксида графена толщиной 1,5–2 мкм. Такая толщина пленки обусловлена требованиями, предъявляемыми к акустоэлектронным датчикам.

Измерения акустических свойств пленки ОГ проводились с использованием продольного (лангасит) и сдвигового (кварц) резонаторов с резонансной частотой  $\sim 4$  МГц и  $\sim 3$  МГц соответственно (Рисунок 37).

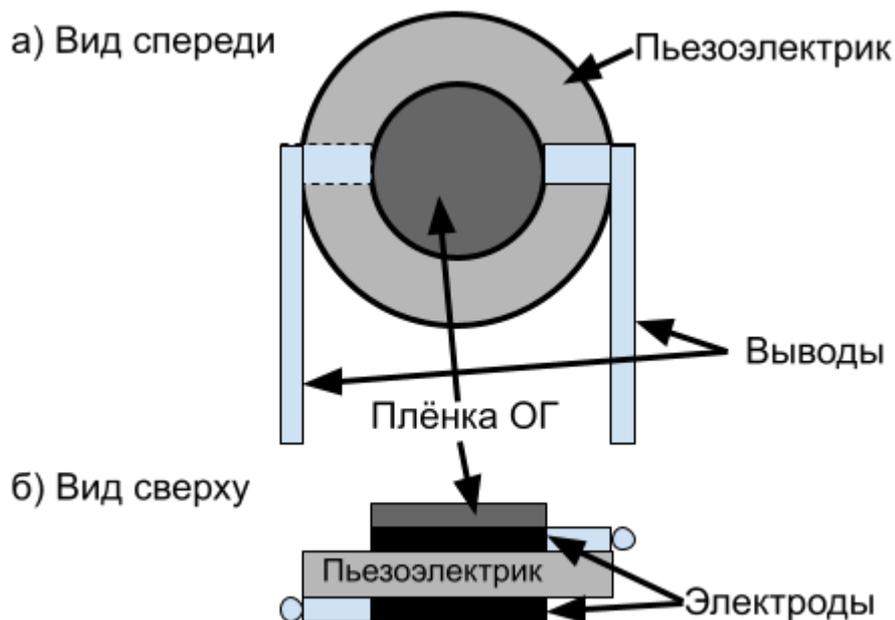


Рисунок 37 – Вид спереди (а) и сверху (б) пьезоэлектрического резонатора, покрытого пленкой ОГ

Диаметры электродов для лангаситового и кварцевого резонаторов были равны 8 мм и 7,5 мм соответственно. Толщины пластин из лангасита и кварца были равны 0,7 мм и 0,5 мм. Каждый резонатор был установлен на коммерческом

держателе, обеспечивающем в то же время надежные электрические контакты вместе с требуемой механической прочностью.

Плѐнку ОГ наносили аэрографом на одну из сторон резонатора. После этого резонатор сушили на воздухе в течение 24 часов. Толщина полученной непрозрачной пленки ОГ была измерена микрометром и составила 1,5 мкм.

Комплексные электрические импедансы для резонаторов из лангасита и кварца с плѐнкой ОГ и без были измерены с помощью прецизионного LCR-измерителя HP 4285A (Agilent Technologies).

Методом анализа CHN было показано, что массовое содержание элементов (в процентах) в полученных порошках оксида графита лежит в следующих пределах: С ( $57,5 \pm 1,0$ ), Н ( $1,5 \pm 0,5$ ), О ( $40,0 \pm 1,0$ ). Молярное соотношение углерода к кислороду в оксиде графита составляет примерно 2 к 1. На Рисунке 38 показана рентгенограмма оксида графита. Типичный дифракционный пик оксида графита наблюдался примерно при  $2\theta = 11,50$ . При волне излучения рентгеновского дифрактометра Bruker Advanced-8  $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$  такой максимум соответствует по известной формуле Вульфа-Брэгга межслоевому расстоянию  $d = 0,769 \text{ нм}$ . Это больше, чем в два раза межслоевого расстояния в графите ( $d = 0,3354 \text{ нм}$ ), и

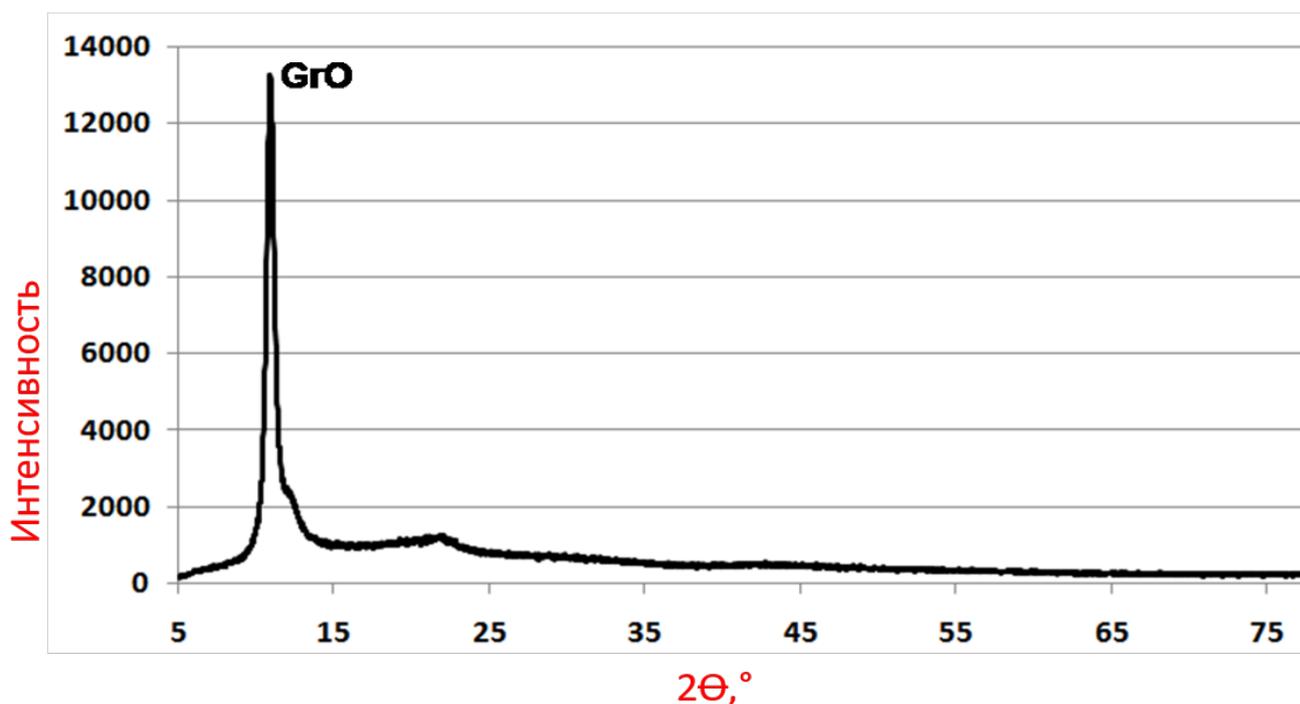


Рисунок 38 – Рентгенограмма полученного оксида графита

указывает на графено-подобные фрагменты в структуре. В качественном оксиде графена это межслоевое расстояние может достигать 1,4 нм, что позволяет окисленным графеновым слоям разделяться в воде и полярных растворителях.

Для достижения более высокой степени отшелушивания слоёв использовали ультразвуковую ванну. Благодаря кавитационному эффекту была получена стабильная дисперсия в изопропиловом спирте с хлопьями ОГ, содержащими один или несколько слоев графена.

Для измерения диэлектрической проницаемости пленки дисперсию оксида графена наносили методом аэрографии на слой оксида индия-олова (ITO), покрывающий стеклянную подложку, и сушили в течение 5 часов. Толщина полученной пленки ОГ была измерена АСМ (Solver NT-MDT P47) в контактном режиме и составила 0,4 мкм. Диэлектрическую проницаемость исследовали с помощью высокоточного LCR-измерителя (Agilent E4980), оснащенного диэлектрическим испытательным прибором (Agilent 16451B) для измерения диэлектрической проницаемости твердых тел в диапазоне частот 20 Гц – 2 МГц.

На Рисунке 39 показаны спектры комбинационного рассеяния света графита и пленки оксида графена.

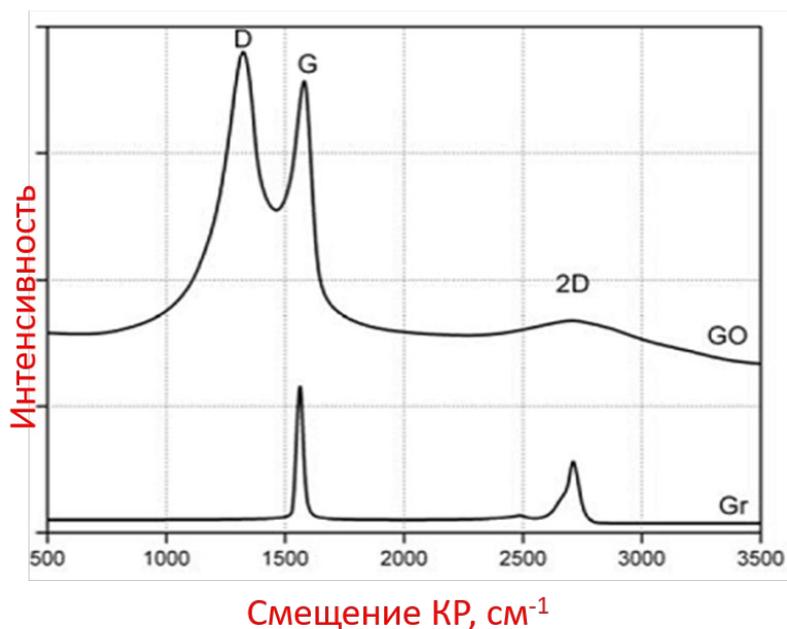


Рисунок 39 – Спектры комбинационного рассеяния исходного графита и полученного оксида графена.

На спектре КР графита и оксида графена видны три основные полосы: G из-за  $sp^2$ -связанного углерода ( $\sim 1580 \text{ см}^{-1}$ ), 2D ( $\sim 2700 \text{ см}^{-1}$ ) и вторая гармоника линии D ( $\sim 1330 \text{ см}^{-1}$ ). Полоса D в спектре оксида графена указывает на высокий процент дефектных областей в пленке оксида графена [113].

В Таблице 3 представлены частоты колебаний связей в различных функциональных группах оксида графена, изученные методом ИК-спектроскопии.

Таблица 3 – ИК спектроскопия пленок ОГ

Функциональные группы	Частота, $\text{см}^{-1}$
ОН и $\text{H}_2\text{O}$ (режим растяжения)	3214
$\text{C}=\text{O}$ или сопряженный $\text{C}=\text{O}$ (режим растяжения)	1721
$\text{H}_2\text{O}$ (режим изгиба)	1621
$\text{C}=\text{C}$	1562
С-ОН Ковалентные сульфаты С-ОН (остаточный $\text{HSO}_4$ , вероятно, при структурных дефектах ГО)	1348
С-О	1031
С-О-С (эпоксигруппы)	984

Методами АСМ (Рисунок 40) установлено, что поперечный размер чешуек ОГ и их толщина лежат в диапазоне 20 нм – 1,5 мкм и 1–3 нм соответственно.

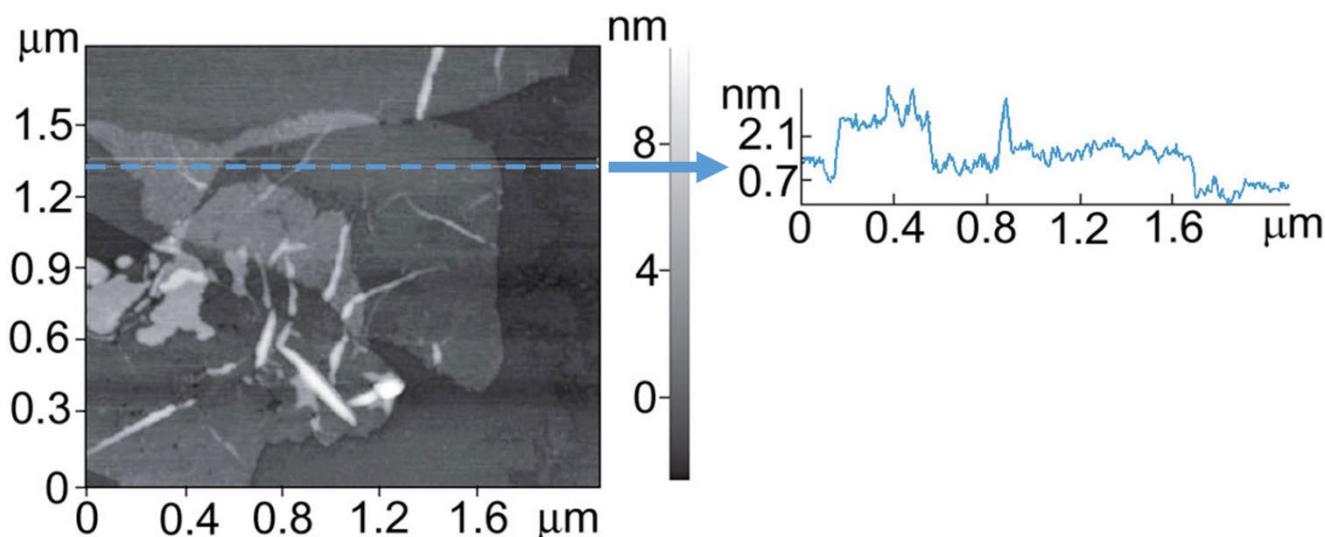
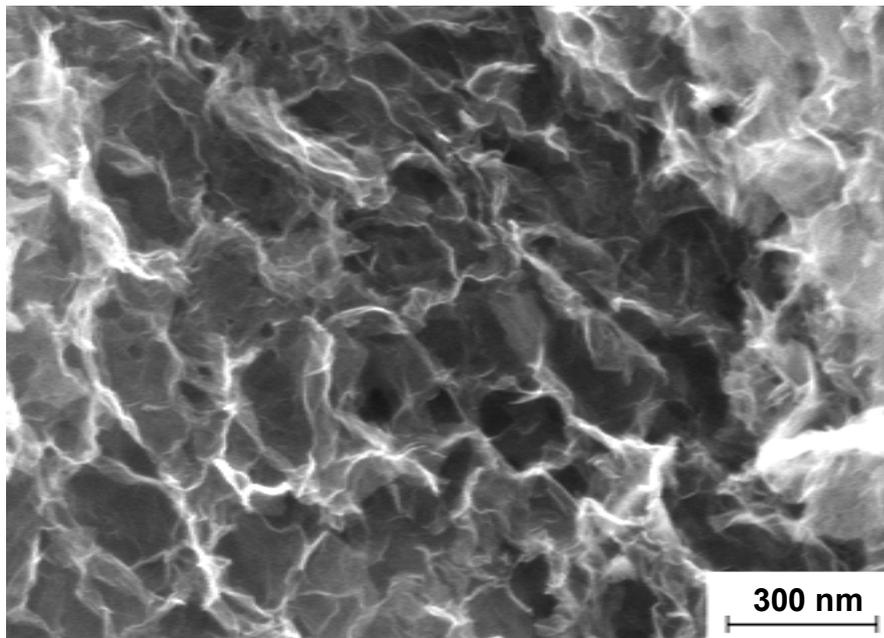
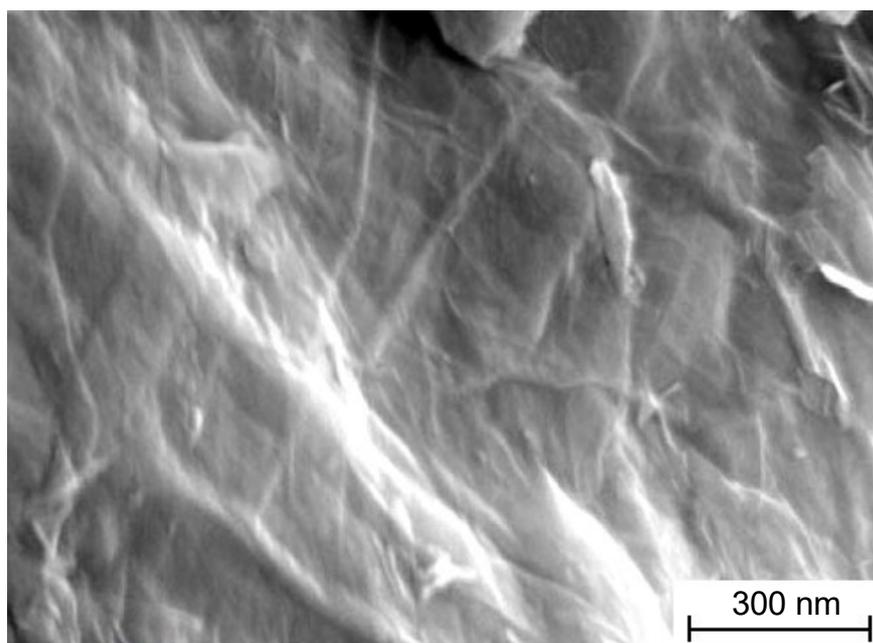


Рисунок 40 – Типичное АСМ-изображение хлопьев ОГ и вид поперечного сечения, снятые вдоль пунктирной линии

Исследования на сканирующем электронном микроскопе показали, что оксид графена имеет слоистую структуру, и его чешуйки хаотично расположены друг с другом (Рисунок 41). Однородность пленки ОГ была подтверждена измерением ее оптической плотности (Рисунок 42).



*Рисунок 41 – Изображение пленки ОГ в сканирующем электронном микроскопе*



*Рисунок 42 – Изображение пленки ОГ на сканирующем электронном микроскопе*

Первоначально для измерения акустических свойств пленки ОГ были измерены частотные зависимости действительной (R) и мнимой (X) частей комплексных электрических сопротивлений для ненагруженных лангаситового и кварцевого резонаторов. Для расчета теоретической зависимости электрического сопротивления от частоты использовалась эквивалентная схема Мейсона (Рисунок 8) ненагруженного резонатора [114, 115, 116].

Для комплексного импеданса резонатора и скорости акустической волны можно записать:

$$\begin{aligned} Z &= \sqrt{\left(c + \frac{e^2}{\varepsilon} + i\omega\eta\right)\rho}, \\ v &= \sqrt{\frac{c + \frac{e^2}{\varepsilon} + i\omega\eta}{\rho}}, \end{aligned} \quad (18)$$

где  $\eta$  – вязкость пьезоэлектрика;

$\rho$  – плотность пьезоэлектрика.

Уравнения Кирхгофа были применены к соответствующей эквивалентной схеме для расчета частотных зависимостей R и X частей импеданса резонатора с учетом конкретных материальных констант кварца, лангасита и материала электрода (модулей упругости и плотностей) [117,118,119]. Эти константы варьировались в ограниченных диапазонах, и метод наименьших квадратов использовался для нахождения набора материальных констант, обеспечивающих более тесное соответствие между вышеупомянутыми теоретическими и экспериментальными частотными зависимостями.

Затем была использована эквивалентная схема резонатора с пленкой ОГ с одной стороны [115,116], представленная на Рисунке 43.

Для комплексного импеданса резонатора с пленкой оксида графена и скорости акустической волны в пленке можно записать:

$$\begin{aligned} Z_{OG} &= \sqrt{(c_{OG} + i\omega\eta_{OG})\rho_{OG}}, \\ v &= \sqrt{\frac{c_{OG} + i\omega\eta_{OG}}{\rho_{OG}}}, \end{aligned} \quad (19)$$

где  $\eta_{OG}$  – вязкость пленки оксида графена;

$\rho_{OG}$  – плотность пленки оксида графена.

После применения еще раз уравнения Кирхгофа и следуя ранее описанной процедуре была рассчитана теоретическая зависимость комплексного сопротивления нагруженного резонатора с использованием набора материальных констант как лангасита и кварца, так и электродов, как было оценено на предыдущем шаге.

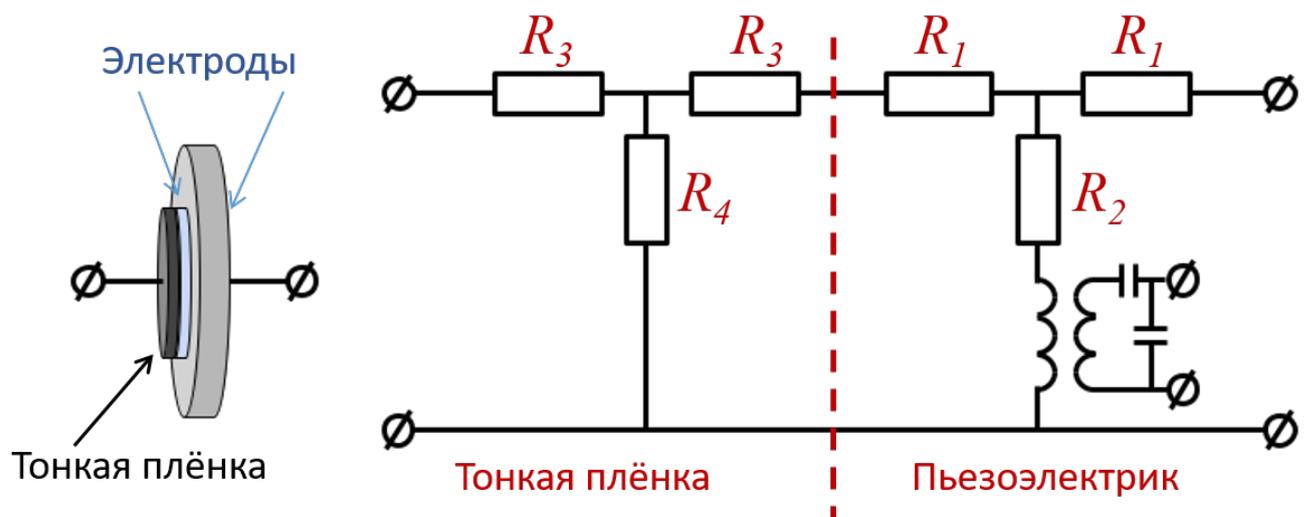


Рисунок 43 – Тонкую плёнку на резонаторе можно учесть добавлением нового участка эквивалентной схемы

Сравнение теоретических и экспериментальных частотных зависимостей  $R$  и  $X$  частей комплексного электрического сопротивления с использованием метода наименьших квадратов позволило найти толщину пленки ОГ, ее плотность и модули упругости, обеспечивающие максимальное соответствие теоретических и экспериментальных данных. На Рисунке 44 показаны теоретические частотные зависимости  $R$  (а) и  $X$  (б) частей электрического сопротивления (сплошные линии) для кварцевого резонатора, нагруженного электродами и пленкой ОГ, которые лучше соответствуют экспериментальным точкам. Точки на Рисунке 44 соответствуют экспериментальным данным.

Используя описанную выше процедуру, было определено, что модули продольной и поперечной упругости исследуемой пленки оксида графена равны  $12,3 \pm 0,1$  МПа и  $3,0 \pm 0,1$  МПа соответственно. При этом плотность пленки равна примерно  $\sim 850$  кг/м<sup>3</sup>. Эти данные могут быть использованы для расчета параметров акустической волны, распространяющейся в структурах, содержащих пленки оксида графена.

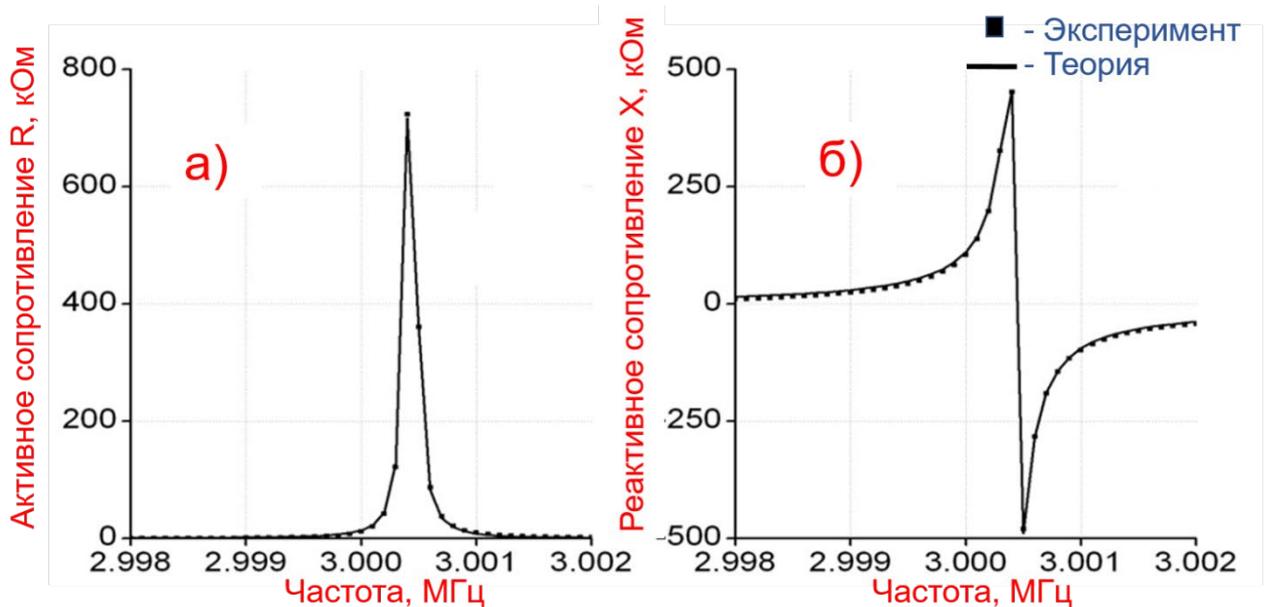


Рисунок 44 – Частотные зависимости действительной (а) и мнимой (б) частей электрического сопротивления для кварцевого резонатора, нагруженного пленкой ОГ. Квадраты и сплошные линии соответствуют экспериментальным и теоретическим данным соответственно

Диэлектрическая проницаемость образцов была исследована с помощью высокоточного LCR-измерителя (Agilent E4980), оснащенного диэлектрическим испытательным прибором (Agilent 16451B). В этом случае образец помещался между верхним и нижним электродами плоского конденсатора, и для регулировки межэлектродного расстояния и удержания электродов параллельно друг другу использовалось специальное устройство с микрометрическим драйвером. Диаметр измерительного электрода, контактирующего с пленкой оксида графена, был равен 38 мм. Нижний электрод был электрически соединен со слоем ИТО с помощью серебряной проводящей пасты. Была измерена емкость (С) пленки оксида графена

и рассчитана соответствующая относительная диэлектрическая проницаемость ( $\varepsilon$ ) по формуле для плоского конденсатора с толщиной пленки ( $d$ ), диэлектрической проницаемостью вакуума ( $\varepsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12}$  Ф/м) и диаметром образца ( $D$ ).

$$\varepsilon = C4d / \varepsilon_0 \pi D^2 . \quad (20)$$

Было установлено, что в прямом измерении при комнатной температуре относительная диэлектрическая проницаемость пленки оксида графена составляет 21 при частоте  $f = 20$  Гц. Этот результат существенно отличается от данных, представленных в [5]. Это связано с тем, что Вауер и др. рассматривают слой оксида графена как пористую структуру, пропитанную электролитом. В связи с этим метод, описанный в [5], определяет ёмкость двойного слоя Гельмгольца в модели «металл-электролит», недостаточно соответствующей фактической структуре оксида графена.

В результате были получены пленки оксида графена толщиной 0,4–2 мкм на пьезоэлектрических подложках и ИТО. Однородность полученных пленок оксида графена была подтверждена измерением оптической плотности пленки ОГ. Поперечный размер чешуек оксида графена и их толщина лежат в диапазоне 20 нм – 1,5 мкм и 1–3 нм соответственно. Большинство хлопьев оксида графена плоские. Плотность исследуемой пленки оксида графена была определена как  $\sim 850$  кг/м<sup>3</sup>. Было установлено, что модули продольной и поперечной упругости пленки ОГ равны  $12,3 \pm 0,1$  МПа и  $3,0 \pm 0,1$  МПа соответственно. Было установлено, что диэлектрическая проницаемость полученных пленок оксида графена равна 21 при частоте  $f = 20$  Гц. Полученные результаты могут быть очень полезны для дальнейшего применения пленок оксида графена в акустоэлектронных сенсорных устройствах. Они позволят рассчитать свойства акустических волн, распространяющихся в волноводных структурах, содержащих пленки оксида графена.

### 3.3. РАЗРАБОТКА АКУСТИЧЕСКОГО ДАТЧИКА ВЛАЖНОСТИ НА ОСНОВЕ ПЛЕНКИ ОКСИДА ГРАФЕНА И ВОЛН В ПЛАСТИНАХ

Схема экспериментальной установки представлена на Рисунке 45. В стеклянном сосуде 500 мл с герметичной крышкой на тефлоновой прокладке были смонтированы на дне два герметичных токоввода. К ним припаивался акустический резонатор в вертикальной плоскости. LCR-метр Agilent 4285A измерял частотные зависимости импеданса резонаторов. Калиброванный серийный термогигрометр непрерывно измерял влажность в объеме сосуда.

Природный графит (99,9% углерод, Китай) был размолот на шаровой мельнице до размеров 200–300 мкм, окислен модифицированным методом Хаммерса [120] и высушен в течение 6 часов при 50–60°C. 0,4–0,5 г оксида графена были добавлены в сосуд с дистиллированной водой 150 г и обработаны ультразвуковым диспергатором (20,4 кГц, 0,1–1 Вт) в течение 15 минут.

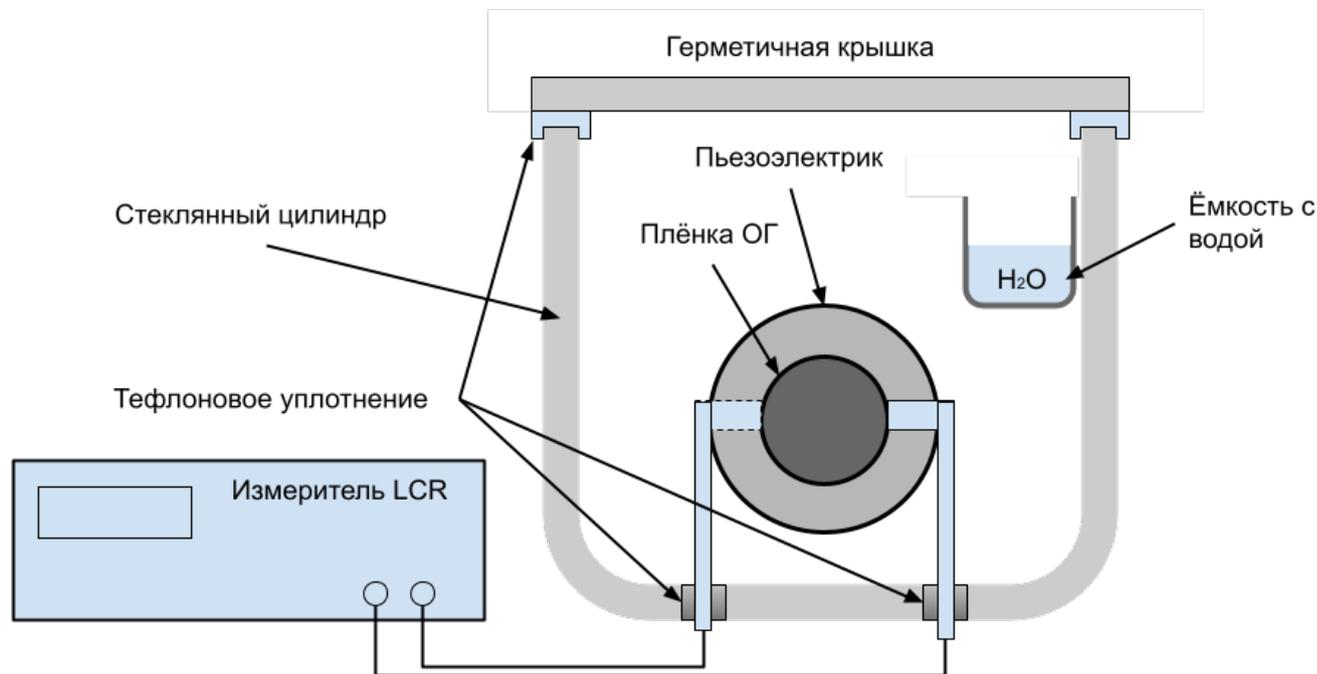


Рисунок 45 – Экспериментальная установка измерения свойств пленки оксида графена на резонаторах

Полученная взвесь помещена на 10 минут в центрифугу (8000 об./мин), отделена

от более темного отсепарированного остатка с большими по размеру и массе частицами, выдержана 6 часов при  $70^{\circ}\text{C}$ , распылена аэрографом на акустические резонаторы и линию задержки и высушена в течение 24 часов.

Первый акустический резонатор выполнен из 0,7 мм пластины лонгасита  $\text{La}_3\text{Ga}_5\text{SiO}_{14}$  с резонансной частотой  $\sim 4$  МГц, второй из 0,5 мм пластины кварца с резонансной частотой около 3 МГц.

На начало эксперимента относительная влажность (RH) внутри сосуда и в лаборатории составляла 0,47% при температуре  $22^{\circ}\text{C}$ . В сосуд была помещена ёмкость с 1 мл дистиллированной воды.

Через 10 минут RH = 56%, через 20 минут RH = 61%, через 30 минут RH = 67%. После этого резонатор извлекался из сосуда, но измерения продолжались еще 40 минут до полного возвращения измеряемых параметров плёнки оксида графена к исходным значениям. Полученные данные представлены на Рисунке 46.

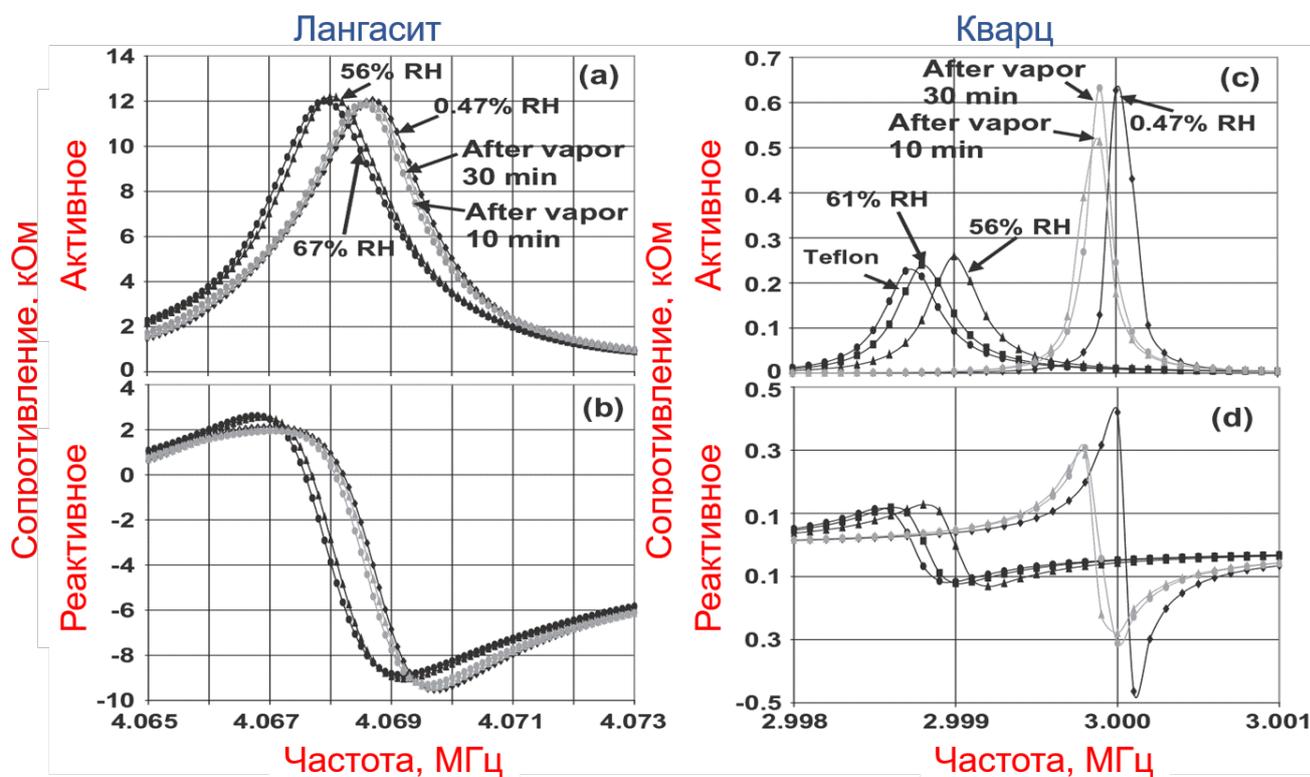


Рисунок 46 – Теоретическая (сплошная) и экспериментальная (точки) зависимости активного и реактивного сопротивления резонаторов из лангасита (слева) и кварца (справа)

Используя эквивалентную схему, можно рассчитать плотность, толщину пленки, ее модули упругости, исходя из полученных экспериментальных данных. Результаты теоретического анализа представлены в Таблице 4.

Таблица 4

	RH, %	h, мм	C <sub>11</sub> , МПа	C <sub>44</sub> , МПа
Перед испарением	0,47	0,8	18	4,5
10 минут испарения	56	1,4	12	2,7
20 минут испарения	61	2,0	13	2,0
30 минут испарения	67	2,0	13	1,4
		( $\Delta\rho/\rho = - 0,6$ )	( $\Delta C_{11}/C_{11} = - 0,28$ )	( $\Delta C_{44}/C_{44} = - 0,6$ )
10 минут без испарения	61	1,9	10	1,4
20 минут без испарения	56	1,1	9	4,7
30 минут без испарения	0,47	0,7	9	4,7

Воспользуемся выражением [121], связывающим толщину  $h$  сорбирующей влагу плёнки оксида графена, длину волны  $\lambda$ , КЭМС  $k^2$ , коэффициенты  $A$ ,  $B$ ,  $C$ , определяющие акустическую волну, относительные изменения плотности плёнки  $\Delta\rho/\rho$ , модуля упругости  $\Delta C_{11}/C_{11}$  и  $\Delta C_{44}/C_{44}$ , проводимости  $\Delta\sigma/\sigma$ , погонную ёмкость  $C^2_5$  и изменение температуры  $\Delta T$  из-за абсорбции газа в плёнку.

$$\frac{\Delta v}{v_0} = \left(\frac{\pi n}{2\lambda}\right) 10^{-3} \left[ -\frac{\Delta\rho}{\rho} A + \frac{\Delta C_{44}}{C_{44}} B + \left( \frac{\left(1 - \frac{\Delta C_{44}}{C_{44}}\right)^2}{1 - \frac{\Delta C_{11}}{C_{11}}} - 1 \right) C \right] + k^2 \frac{\Delta\sigma}{\sigma} \frac{\left(\frac{\sigma_s^2}{v_0^2 C_s^2}\right)}{\left(\frac{\sigma_s^2}{v_0^2 C_s^2} + 1\right)} + TCV \times \Delta T, \quad (21)$$

где  $v$  – скорость акустической волны;

$\rho$  – плотность пленки ОГ;

$\sigma$  – плотность пленки ОГ;

$C$  – элементы тензора упругости;

$T$  – температура;

$TCV$  – температурный коэффициент расширения.

Рассмотрим строку таблицы данных эксперимента с максимальной относительной влажностью (выделено серым цветом):  $RH = 67\%$ ,  $\Delta\rho/\rho = 0,6$ ,  $\Delta C_{11}/C_{11} = 0,28$ ,  $\Delta C_{44}/C_{44} = 0,69$ . При толщине слоя оксида графена  $h = 2$  мкм,  $\lambda = 105$  мкм, подложка: X-кварц (углы Эйлера  $0^\circ$  и  $132,75^\circ$ ), коэффициенты волны равны  $A = 2,85$ ,  $B = 1,26$ ,  $C = 0,26$  [121]. Подставив все данные в уравнение, получим, что вклад упругости в  $\Delta v/v_0 \approx 45$  ppm. Измеряем по методу, описанному в [122], с помощью векторного анализатора цепей Keysight E5061B при такой же относительной влажности на такой же подложке с такой же толщиной плёнку оксида графена. Получаем относительное изменение фазы акустической волны, зарегистрированное прибором  $\Delta\varphi/\varphi_0 = -\Delta v/v_0 = -550$  ppm, что составляет величину, на порядок большую рассчитанной. На основании этого можно сделать вывод, что вклад изменения упругих свойств плёнки при изменении влажности не является основным.

Чтобы оценить роль изменения температуры, плёнка оксида графена была в контакте с термопарой медь-константан. Изменение температуры плёнки при процессах абсорбции и десорбции влаги не было зафиксировано. Таким образом, температурный вклад в изменение  $\Delta v/v_0$  представляется малым.

Экспериментальная оценка роли изменения электрической проводимости плёнки оксида графена была проведена на слабом (ST, X-кварц) и сильном ( $128^\circ Y$ -LiNbO<sub>3</sub>) пьезоэлектрике в акустических линиях задержки. Измерялось изменение фазы и центральной частоты сигнала при комнатной температуре ( $20^\circ\text{C}$ ) с помощью векторного анализатора цепей HP 8753E. Чтобы избежать зависимости результатов измерений от расстояния  $L$  между ВШП и частоты  $f$ , измеренное изменение фазы было нормировано по общей фазе задержки волны между ВШП  $\varphi_0 = 2\pi L/\lambda = 2\pi Lf/v$  [42].

Зависимость результатов от длины пленки оксида графена на подложке  $L_{OG}$  и расстояния между ВШП была учтена нормировкой по  $L / L_{OG}$ : нормированный

отклик  $S = (\Delta\varphi / \varphi_0)(L / L_{\text{ог}})$  можно сравнивать с откликом от другой волны на другой подложке как выполненные при одинаковых начальных условиях эксперимента по  $L$ ,  $f$ ,  $L_{\text{ог}}$  (Рисунок 47).

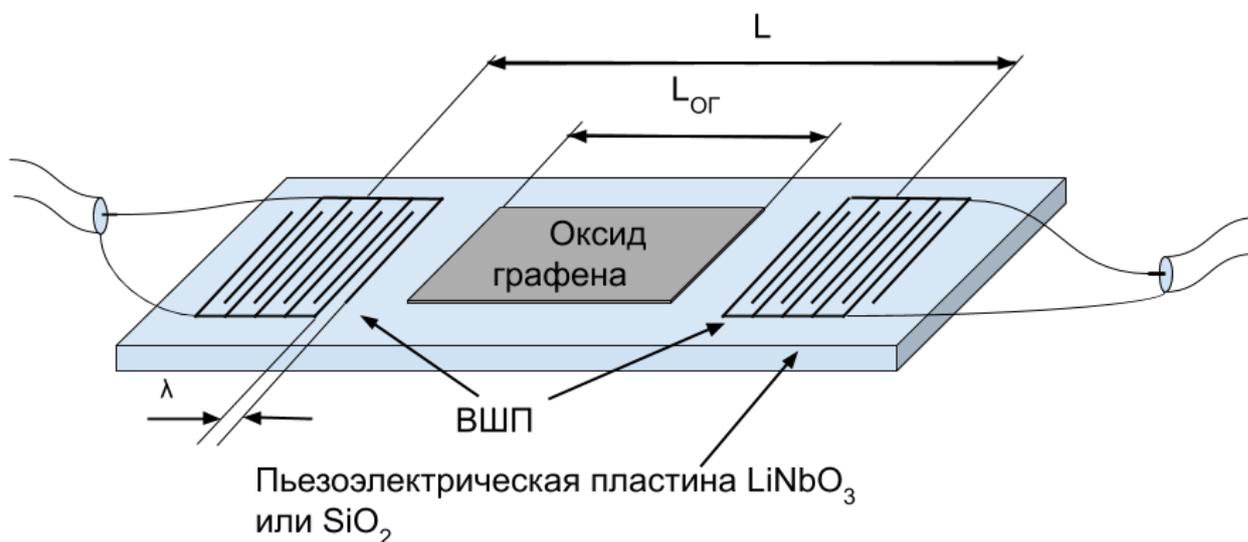


Рисунок 47 Проводящая плёнка оксида графена на пьезоэлектрической подложке

Как видно из Таблицы 5, кварцевая линия задержки показала гораздо более слабую чувствительность, чем линия на ниобате лития.

Таблица 5 – Чувствительность линий задержки на ниобате лития и на кварце

Материал подложки	$\lambda$ , мкм	$f$ , МГц	$L_{\text{ог}}$ , мм	$L$ , мм	$\varphi_0$ , °	$S$ , ppm, RH = 18%	$k^2$ , %	$\Delta\varphi_0$ , °
28°Y-LiNbO <sub>3</sub>	95	41,431	4	8,53	32,32	- 1450	5	22
ST, X-SiO <sub>2</sub>	105	29,906	18	24,4	83,66	- 376	0,11	23,2

Из этого можно сделать вывод, что именно изменение проводимости плёнки служит основной причиной  $\Delta v/v_0$ , что подтверждается экспериментами с акустическими волнами Лэмба  $S_0$  [123,124,125], когда образец с более высоким КЭМС  $k^2$  показывал более высокую чувствительность, чем образец с меньшим  $k^2$ .

Сенсор был выполнен на стандартной пластине  $128^\circ\text{YX}+90^\circ$   $\text{LiNbO}_3$  толщиной 500 мкм. Характеристики сенсора представлены в Таблице 6:

Таблица 6 – Характеристики сенсора на стандартной пластине  $128^\circ\text{YX}+90^\circ$  ниобата лития  $\text{LiNbO}_3$  толщиной 500 мкм

Материал подложки	$\lambda$ , мкм	f, МГц	$L_{\text{ог}}$ , мм	L, мм	$\varphi_0$ , °	S, ppm, RH=18%	$k^2$ , %
$128^\circ\text{YX}+90^\circ$ $\text{LiNbO}_3$	95	41,431	4	8,53	32,32	- 1450	5

Одна сторона пластины ниобата лития полированная, другая шлифованная. На полированную сторону были нанесены с помощью магнетронного распыления подслоя V (0,03 мкм) и основного слоя Al (0,2 мкм) и технологии отрыва (lift-off) два ВШП, состоящие каждый из 20 пар встречных электродов с периодом  $\lambda = 300$  мкм. Плёнка оксида графена была нанесена на противоположную электродам шлифованную поверхность.

Толщина пластины  $h$  была достаточно большой ( $h / \lambda = 1,67$ ) чтобы в пластине было сгенерировано семейство волн Лэмба нулевых и более высоких порядков. Наиболее подходящим оказалась симметричная волна Лэмба на частоте 23,06 МГц, имеющая наилучшую комбинацию низких вносимых потерь и высокий  $k^2$ . Свойства генерируемых волн в пластине  $\text{LiNbO}_3$  с плёнкой оксида графена представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Свойства генерируемых волн в пластине  $\text{LiNbO}_3$  с плёнкой оксида графена

f, МГц	16,233	20,119	23,05	28,555	36,6
Вносимые потери, дБ	21,6	20,9	10,4	14,2	12,4
$k^2$ , %	0,4	12,5	10,3	2,4	1,8

Для исследования влияния влажности на параметры акустической волны собрана экспериментальная установка, представленная на Рисунке 48. Датчик размещен в камере объемом 750 мл. Камера продувается азотом. Течение газа ламинарное, расход составляет 100 мл/мин. Влажность газа регулируется одновременным впрыском сухого и влажного газа и контролируется термогигрометром ИВТМ-7 (порог 0,1%), датчик которого расположен рядом с тестируемым датчиком. Измерения проводятся при комнатной температуре (22°C).

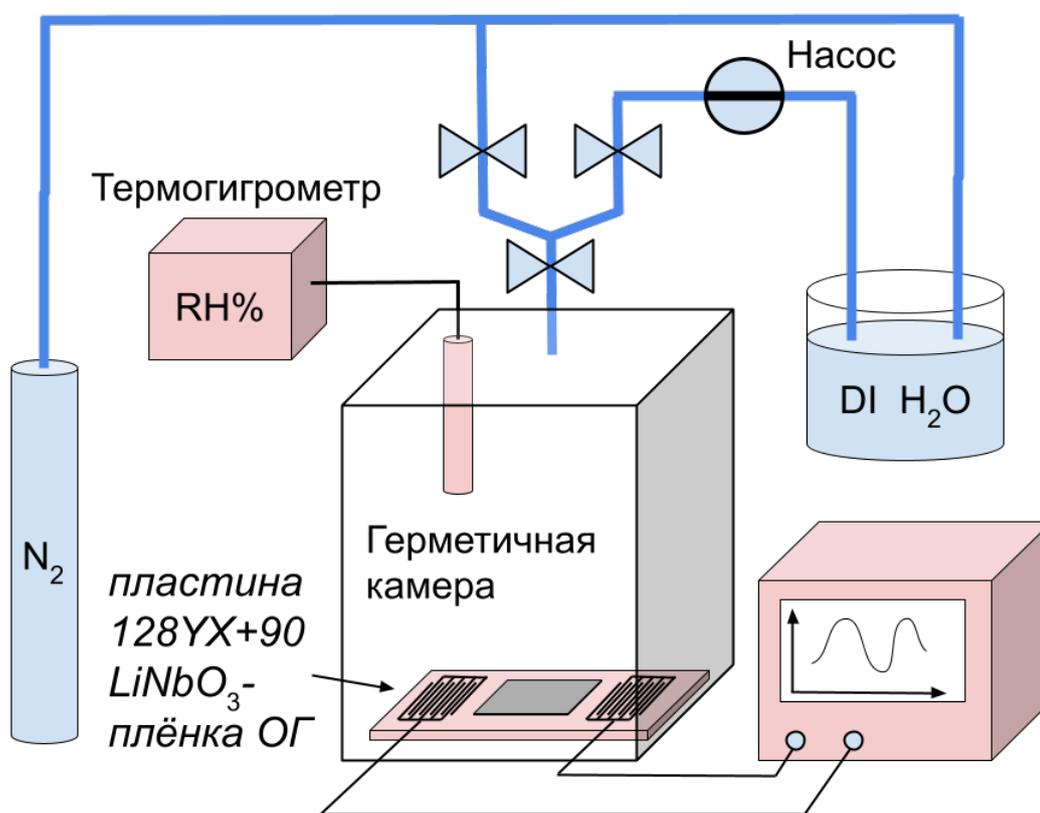


Рисунок 48 – Экспериментальная установка акустического датчика влажности

На Рисунке 49 представлена типичная временная зависимость фазы акустического сигнала в тестируемом датчике, снятая векторным анализатором цепей Keysight E5061B.

Можно оценить время реакции датчика на полезный сигнал: 60 секунд, и время полной релаксации после выключения сигнала: 120 секунд. По графику видно, что соседние сигналы идентичны, т.е. акустический датчик обладает

хорошей воспроизводимостью с точностью до 2,5%. После полного выключения подачи влажного газа датчик восстанавливает полностью свои параметры.

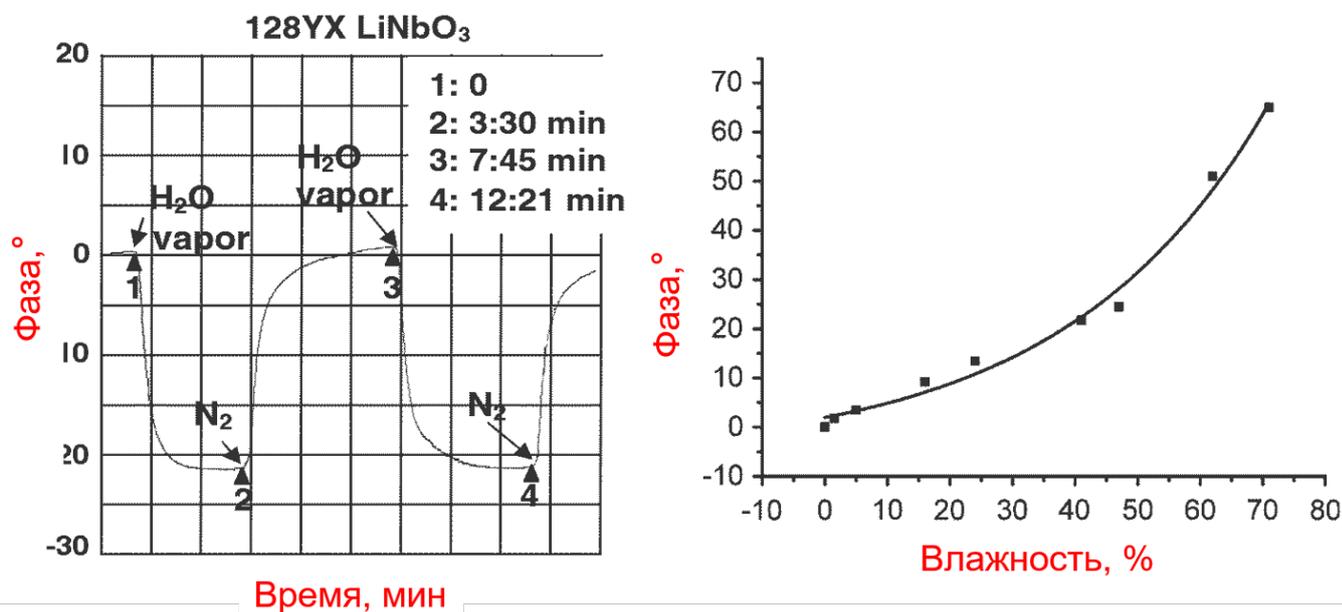


Рисунок 49 – Временная зависимость фазы сенсора и калибровочная кривая

Калибровочная кривая хорошо аппроксимируется экспоненциальной зависимостью с нулем сигнала  $\Delta\varphi/\varphi_0 = 0$  при нулевой влажности  $RH = 0$ . Тестирование не выявило гистерезиса при увеличении и уменьшении влажности. Термогигрометр ИВТМ-7 ограничен минимальным порогом регистрации влажности 0,1%, поэтому подгоночная кривая была продлена в сторону уменьшения до удвоенного уровня шума сигнала  $\Delta\varphi/\varphi_0 = -2$  ppm. При таком приближении порог срабатывания тестируемого акустического датчика оказывается равен  $RH = 0,03\%$ . Для сравнения психрометрический гигрометр ВИТ имеет время восстановления показаний 30 минут и нижний порог измерения  $RH = 17\%$ .

Было проведено исследование селективности датчика на водород (1% H<sub>2</sub>), угарный газ (0,74% CO), метан (1% CH<sub>4</sub>), закись азота (0,44% NO) и кислород (100% O<sub>2</sub>). Реакция на них была малы ( $\Delta\varphi/\varphi_0 \leq -1$  ppm) даже по сравнению с пороговым значением  $\Delta\varphi/\varphi_0 = -2$  ppm для  $RH = 0,003\%$ .

Плотность и модули упругости пленки оксида графена очень малы по сравнению с традиционными сорбирующими материалами ( $\text{SnO}_2$ ,  $\text{CeO}_2$ , Pd, Pt и т.д.) С другой стороны изменения одних и тех же констант из-за поглощения влаги в нашем случае очень большие. Главным механизмом определения влажности акустически датчиком является изменение проводимости плёнки. Эта пленка и пьезоактивная волна Лэмба обеспечивает обнаружение влажного воздуха с низким порогом чувствительности, хорошей селективностью и высокой воспроизводимостью. Лучшие показатели следует ожидать при использовании акустической волны с более высокой константой связи и плёнки оксида графена с лучшей чувствительностью.

#### 3.4. РАЗРАБОТКА АКУСТИЧЕСКОГО ДАТЧИКА ВЛАЖНОСТИ НА ОСНОВЕ ПЛЕНКИ ОКСИДА ГРАФЕНА И ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОЛН СЕЗАВА

Следующим шагом является разработка усовершенствованного датчика влажности на основе теоретического анализа и экспериментальной проверки распространения акустических волн в слоистой структуре «пленка ОГ – пленка  $\text{ZnO}$  – подложка Si».

Сначала был проведен теоретический анализ задачи (Рисунок 50).

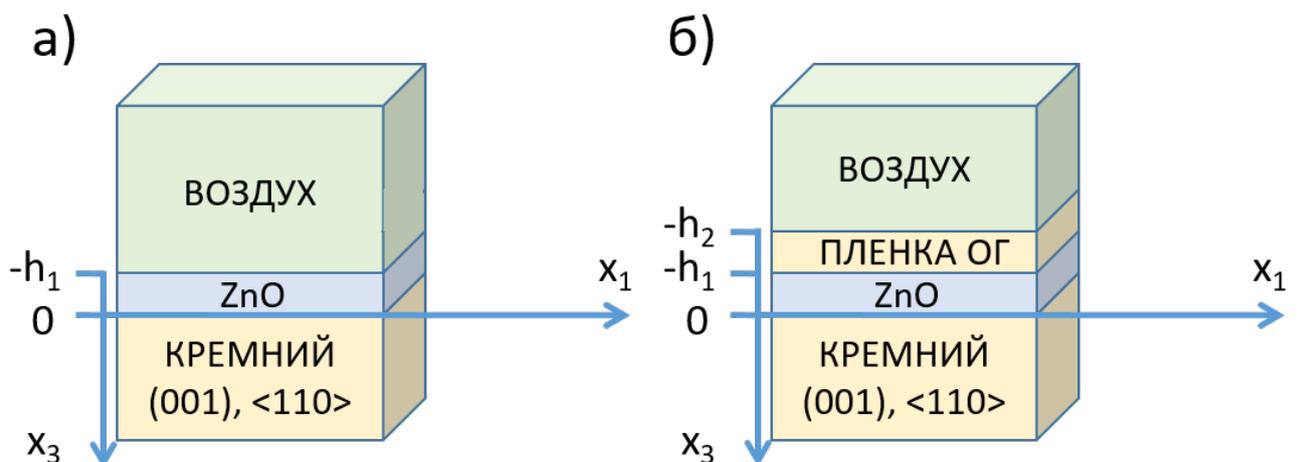


Рисунок 50 – Геометрия проблемы: (а) структура  $\text{ZnO} / \text{Si}$ , (б) структура  $\text{ОГ}/\text{ZnO}/\text{Si}$

Распространение акустических волн изучается в двумерных структурах с осью  $x_1$ , параллельной направлению распространения, и осью  $x_3$ , перпендикулярной поверхности структуры.

На Рисунке 50 а) области  $x_3 < -h_1$ ,  $-h_1 < x_3 < 0$  и  $x_3 > 0$  заняты соответственно воздухом, пленкой ZnO и полупространством Si. На Рисунке 50 б) воздух в полупространстве  $x_3 < -h_2$ , в то время как в  $-h_2 < x_3 < -h_1$  расположена пленка ОГ. Предполагается, что механические и электрические переменные являются постоянными в направлении оси  $x_2$ .

Используем для решения квазиэлектростатическое приближение [126]:

$$E_i = \partial\Phi / \partial x_i. \quad (22)$$

Напишем уравнение движения (23), уравнения Лапласа (24) и Пуассона (25), уравнение непрерывности для электрического заряда (26) и материальные уравнения (27–30) для среды ОГ, ZnO и Si:

$$\rho^{Si,OG,ZnO} \partial^2 U_i / \partial t^2 = \partial T_{ij} / \partial x_j, \quad (23)$$

$$\partial D_j^{Si,ZnO} / \partial x_j = 0, \quad (24)$$

$$\partial D_j^{GO} / \partial x_j = -\delta_v^{GO}, \quad (25)$$

$$\partial J_i^{GO} / \partial x_i + \partial \delta_v^{GO} / \partial t = 0, \quad (26)$$

$$T_{ij}^{Si,GO} = C_{ijkl}^{Si,GO} \partial U_l / \partial x_k, \quad D_j^{Si,GO} = -\varepsilon_{jk}^{Si,GO} \partial \Phi / \partial x_k, \quad (27)$$

$$J_i^{GO} = -\sigma_v^{GO} \partial \Phi / \partial x_i + d^{GO} \partial \sigma_v^{GO} / \partial x_i, \quad (28)$$

$$T_{ij}^{ZnO} = C_{ijkl}^{ZnO} \partial U_l / \partial x_k + e_{kij}^{ZnO} \partial \Phi / \partial x_k, \quad (29)$$

$$D_j^{ZnO} = -\varepsilon_{jk}^{ZnO} \partial \Phi / \partial x_k + e_{jlk}^{ZnO} \partial U_l / \partial x_k \quad (30)$$

где  $E_i$  – компоненты электрического поля,

$U_i$  – компоненты механического смещения частиц,

$J_i$  – компоненты электрического тока,

$t$  – время,

$T_{ij}$  – компоненты тензора механических напряжений,

$x_j$  – координаты,

$D_j$  – компоненты электрических смещений,

$\Phi$  – электрический потенциал,

$\rho$  – плотность электрического заряда,

$C_{ijkl}$  – компоненты константы упругости,

$e_{ikl}$  – компоненты пьезоэлектрической константы,

$\epsilon_{jk}$  – компоненты диэлектрической константы,

$\delta_V$  – объемный заряд,

$\sigma_V$  – объемная проводимость,

$d$  – коэффициент диффузии материала.

Индексы ZnO, Si и ГО относятся к разным материалам соответственно.

Вне пластины  $x_3 < -h_1$  (Рисунок 50, а);  $x_3 < -h_2$  (Рисунок 50, б) электрическое смещение волн удовлетворяет уравнению Лапласа:

$$\partial D_j^{ar} / \partial x_j = 0, \quad (31)$$

где  $D_j^{ar} = -\epsilon^{ar} \partial \Phi^{ar} / \partial x_j$ ,

индекс  $ar$  обозначает воздух,

$\epsilon^{ar}$  – диэлектрическая проницаемость воздуха.

Кроме того, волны удовлетворяют механическим и электрическим граничным условиям:

для структуры на Рисунке 50, а):

$$x_3 = 0: \quad T_{3j}^{Si} = T_{3j}^{ZnO}, \quad \Phi^{Si} = \Phi^{ZnO}, \quad D_3^{Si} = D_3^{ZnO}. \quad (32)$$

$$x_3 = -h_1: \quad T_{3j}^{ZnO} = 0, \quad \Phi^{ZnO} = \Phi^{ar}, \quad D_3^{ZnO} = D_3^{ar}. \quad (33)$$

для структуры на Рисунке 50, б):

$$x_3 = -h_1: \quad T_{3j}^{ZnO} = T_{3j}^{O\Gamma}, \quad \Phi^{ZnO} = \Phi^{O\Gamma}, \quad D_3^{ZnO} = D_3^{O\Gamma}, \quad J_3^{O\Gamma} = 0 \quad (34)$$

$$x_3 = -h_2: \quad T_{3j}^{O\Gamma} = 0, \quad \Phi^{O\Gamma} = \Phi^{ar}, \quad D_3^{O\Gamma} = D_3^{ar}, \quad J_3^{O\Gamma} = 0. \quad (35)$$

Если использовать соответствующие уравнения и граничные условия, задача распространения акустических волн решается следующим образом. Решение представлено в виде набора плоских неоднородных волн [127,128]:

$$Y_i(x_1, x_3, t) = Y_i(x_3) \exp[j\omega(t - x_1/V_{ph})], \quad (36)$$

где  $i = 1-8$  для ZnO;

$i = 1-6$  для механической части задачи для Si и OГ;

$i = 1, 2$  для воздушной и электрической части задачи для Si и OГ;

$V_{ph}$  – фазовая скорость;

$\omega$  – угловая частота акустической волны.

Затем вводится нормализация следующим образом:

$$\begin{aligned} Y_i &= \omega C_{11} U_i / V_{ph}, \quad Y_4 = T_{13}, Y_5 = T_{23}, Y_6 = T_{33}, \\ Y_7 &= \omega e \Phi / V_{ph}, Y_8 = e D_3 / \varepsilon_{11}, \end{aligned} \quad (37)$$

где  $i = 1, 2, 3$  – нормированные материальные константы ZnO, Si и OГ в кристаллографической системе координат;

$e^* = 1$  и имеет размерность пьезоэлектрической постоянной.

Подстановка (36) в (22) – (30) дает систему из 8, 6, 6, 4 и 2 обычных дифференциальных линейных уравнений для ZnO, Si (механическая часть), OГ (механическая часть), Si (электрическая часть), OГ (электрическая часть) и воздуха, соответственно, где каждая система может быть записана в матричной форме:

$$[A][dY/dx_3] = [B][Y], \quad (38)$$

где  $[dY/dx_3]$  и  $[Y]$  являются 8, 6, 6, 4 и 2-мерными векторами для ZnO, Si (механическая часть), OГ (механическая часть), Si (электрическая часть), OГ (электрическая часть) и воздуха соответственно, компоненты которых определяются в соответствии с формулами (37).

Матрицы  $[A]$  и  $[B]$  оказались квадратными и имеют размеры  $8 \times 8$  для ZnO,  $6 \times 6$  для Si и ОГ (механическая часть),  $4 \times 4$  для ОГ (электрическая часть) и  $2 \times 2$  для Si и воздуха.

Поскольку матрица  $[A]$  не является частной ( $\det[A] \neq 0$ ), мы можем записать следующие уравнения для каждой контактирующей среды:

$$[dY/dx_3] = [A^{-1}][B][Y] = [C][Y]. \quad (39)$$

После этого для решения системы уравнений (39) нам необходимо найти собственные значения  $\beta^{(i)}$  матриц  $[C]$  и соответствующие собственные векторы  $[Y^{(i)}]$ , отвечающие за параметры парциальных волн, для каждой из контактирующих сред. Общим решением будет линейная комбинация всех частичных волн для каждой среды:

$$Y_k = \sum_{i=1}^N A_i Y_k^{(i)} \exp(\beta^{(i)} x_3) \exp(j\omega[t - x_1/V_{ph}]), \quad (40)$$

где  $N$  (число собственных значений) = 8 для ZnO,

$N = 6$  для Si и ОГ (механическая часть),

$N = 4$  для ОГ (электрическая часть),

$N = 2$  для Si и воздуха.

Неизвестные  $A_i$  и фазовая скорость  $V_{ph}$  могут быть найдены с использованием механических и электрических граничных условий (32) – (35), которые также были записаны в нормализованной форме (37).

Более того, поскольку все переменные должны затухать в подложке Si, собственные значения с положительными вещественными частями исключаются из рассмотрения для пьезоэлектрического полупространства. Кроме того, для пьезоэлектрической среды учитываются только четыре собственных значения с отрицательными действительными частями, а также все собственные значения соответствующей матрицы  $[C]$  для пленки ZnO  $0 > x_3 > -h_1$  (Рисунок 50 а,б) и пленки ОГ  $-h_1 > x_3 > -h_2$  (Рисунок 50 б).

Наконец, поскольку все переменные должны иметь амплитуды затухания в воздухе, мы исключаем собственные значения с отрицательными действительными частями для воздуха  $x_3 < -h_1$  (Рисунок 50 а);  $x_3 < -h_2$  (Рисунок 50 б). В результате

описанная процедура позволила нам рассчитать фазовую скорость волны в исследуемых структурах.

Расчет коэффициента электромеханической связи выполняется с использованием хорошо известных формул [126]:

$$k^2 = 2 \frac{V_{ph} - V_{ph_m}}{V_{ph}} 100\%, \quad (41)$$

где  $V_{ph_m}$  – фазовая скорость акустических волн при электрическом замыкании плоскости  $x_3 = -h_1$ .

### Экспериментальная часть

Кремний хорошо известен как один из самых популярных и дешевых материалов в современной электронике. Поэтому конструкция любых датчиков, в частности, датчиков влажности на основе этого материала очень привлекательна. С другой стороны, Si не является пьезоэлектрическим, в то время как акустические волны обычно генерируются за счет использования пьезоэлектрического эффекта. Вот почему кремниевая подложка должна быть покрыта пьезоэлектрическим слоем, скажем, пленкой ZnO. Однако сама эта пленка не очень чувствительна к влажности [57,129]. Поэтому при проектировании датчика влажности на акустических волнах следует дополнительно наносить другую пленку сорбента над слоем ZnO (например, пленку оксида графена).

Как и ранее, пленка ОГ была изготовлена из китайского природного графита (99,9% C). Материал измельчали в шаровой дробилке до линейного размера 200-300 мкм, окисляли [120] и сушили в течение 6 часов при 50-60°C. После этого 0,4 - 0,5 г оксида графита помещали в камеру цилиндра (250 мл) вместе с дистиллированной водой (150 мл) и обрабатывали ультразвуком (20,4 кГц, 0,1-1 Вт/см<sup>3</sup>) в течение 15 минут. Полученную водную дисперсию с частицами ОГ центрифугировали в течение 10 мин при 8000 об/мин и сушили при 70°C в течение 6 часов [130].

## Конструкция датчика влажности

Экспериментальный образец представляет собой линию задержки, реализованный на (001), <110>-подложке Si (4,5 Вт/см, толщина 500 мкм) и пленке  $C_6$ -ZnO ( $h_1 = 3$  мкм). Встречно-штыревые преобразователи (20 пар штырей) из алюминия толщиной 300 нм с подслоем ванадия 30 нм напыляли на пленку  $C_6$ -ZnO в магнетроне (1,15 Ом/см). Период преобразователей составляет 32,1 мкм, расстояние между ними составляет  $L_{ВШП} = 5$  мм, апертура равна 2 мм, а общая фаза, принимающая акустическую волну между входным и выходным преобразователями, составляет  $\varphi_0 = 360^\circ(L_{ВШП} / \lambda) = 56075^\circ$ .

Изготовление с-ориентированных текстурированных пленок ZnO с зернами около 0,3 мкм выполняется в системе триодного распыления с постоянным током, мишенью ZnO, 80% Ag + 20% газовой смеси  $O_2$  и давлением 0,07 Па. Температура подложки составляет 250°C. Скорость распыления составляет 1,2–3 мкм в час.

Дисперсию на основе ГО наносили на пленку ZnO между ВШП с помощью аэрографии и сушили при комнатной температуре в течение 24 часов. Пленка имела площадь 2 x 2 мм<sup>2</sup> и толщину 0,45 мкм.

Схема и фотография спроектированного датчика влажности в держателе показаны на Рисунке 51.

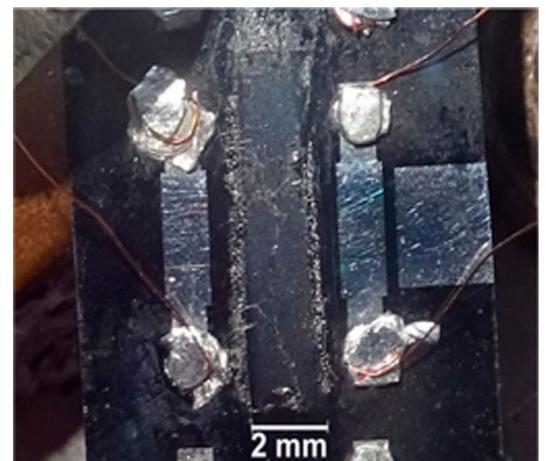
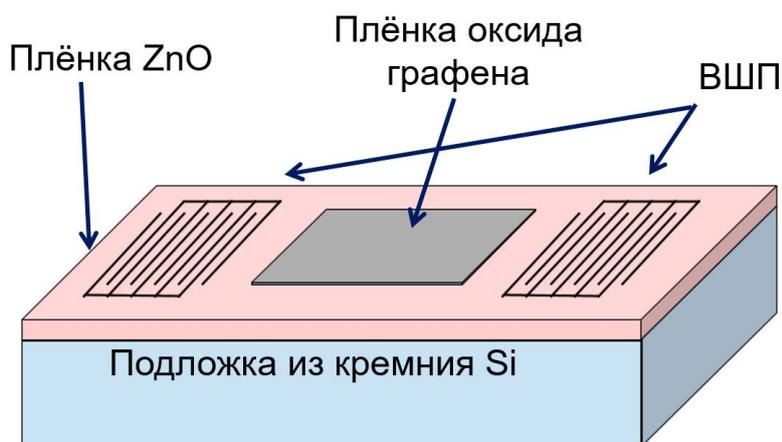


Рисунок 51 – Схема и фотография разработанного датчика влажности в держателе

Готовый образец проверяли сетевым анализатором (Keysight E5061B). Тип волны (Рэля/Сезава) определяется из сравнения расчетной фазовой скорости  $V_{ph}$  с экспериментальным значением, определенным как  $V_{ph} = f \times \lambda$ , где  $f$  - центральная частота волны, а  $\lambda$  - период преобразователя, равный акустической длине волны.

### **Измерение влияния влажности**

Изменения характеристик волн Рэля и Сезава, вызванные влажностью, измеряются с помощью той же экспериментальной установки, что и при разработке предыдущего датчика влажности (Рисунок 25).

Чтобы избежать взаимодействия влажного воздуха с неконтролируемыми газообразными частицами, предварительно поглощенными на поверхности и в объеме, пленку оксида графена предварительно очищали сухим азотом в течение примерно 5 минут. Затем азот отключали и сухой воздух вводили в камеру в качестве эталонного газа примерно на 2 минуты. Далее сухой воздух выключался, подавался влажный воздух и измерялся акустический отклик относительно сухого воздуха для очищенной пленки.

Чувствительность волн Рэля и Сезава к влажности оценивается по изменению фаз  $\Delta\varphi$ , измеренных на центральной частоте. Чтобы избежать зависимости измерений от длины пленки GO ( $L_{GO}$ ), значения  $\Delta\varphi$  нормируются на общую фазу  $\varphi_0 = 360^\circ(L_{VШП}/\lambda) = 56\,075^\circ$ , набегающую между входным и выходным преобразователями, и умножаются на коэффициент усиления ( $L_{VШП}/L_{GO}$ ). В результате нормализованные отклики  $R = (\Delta\varphi/\varphi_0)/(L_{VШП}/L_{GO})$  разных волн можно было сравнить друг с другом в идентичных экспериментальных условиях.

### **Измерение проводимости пленки оксида графена**

Измерение электропроводности пленки оксида графена проводилось с использованием двухконтактного метода и радиочастотного электрического моста (1 кГц) в герметичном ящике при комнатной температуре и влажности в диапазоне от 5 до 98%. Испытуемый образец ( $10 \times 3 \times 0,1$  мм<sup>3</sup>) помещали на стеклянную подложку с поверхностным сопротивлением  $r \gg 10^{14}$  Ом. На концах образца были

изготовлены два контакта из серебряной пасты ( $r \ll 10^{-1}$  Ом). Результаты измерений были пересчитаны на удельное сопротивление.

Было обнаружено, что проводимость пленки ОГ увеличивается с  $10^{-4}$  См/м до 5 См/м. Как и в [131], это свойство может быть связано с наличием гидроксильных и эпоксидных групп на поверхности графеновых листов и поглощением молекул воды карбонильными и карбоксильными группами, существующими на краях листов или дефектов.

## Результаты

На первом этапе акустические свойства структуры ZnO/Si, поддерживающей волны Рэлея и Сезава [132-134], анализируются с использованием материальных констант из [119] (Si) и [132,133] (ZnO) (рис.3). Ориентации кристаллов (001), <110> для Si (углы Эйлера  $0^0, 0^0, 45^0$ ) и (001), <100> для ZnO ( $0^0, 0^0, 0^0$ ).

На Рисунке 52 показано, что в случае  $h_1/\lambda > 0,1$   $k^2$  у 1-й моды Сезава больше, чем для волны Рэлея. Именно это свойство используется в настоящей работе для повышения чувствительности акустического датчика влажности на основе пленки сорбента ОГ, доминирующий механизм восприятия которого связан с изменением проводимости пленки, как это было подтверждено ранее двумя независимыми экспериментами. Первый эксперимент показал, что отклик, рассчитанный по предварительно измеренным плотности, модулю упругости и их изменениям, намного ниже, чем значение, измеренное для той же пленки ОГ и материала подложки, – так что вклад механических свойств пленки не является основным. Вторым экспериментом заключался в том, что реакция акустической волны на влажность была измерена для одной и той же пленки ОГ, нанесенной на прочную ( $\text{LiNbO}_3$ ) и слабую (кварцевую) пьезоэлектрические подложки. Оказалось, что первая подложка обеспечивала гораздо более высокий отклик, чем последняя, так что доминирующий вклад обусловлен электрическими свойствами пленки и электрическими полями акустических волн.

На втором этапе свойства волн Рэлея и Сезава исследуются для той же структуры с дополнительной пленкой ОГ. Предполагается, что пленка должна быть

изотропной. Материальные константы пленки при различной относительной влажности RH взяты из предварительных экспериментов.

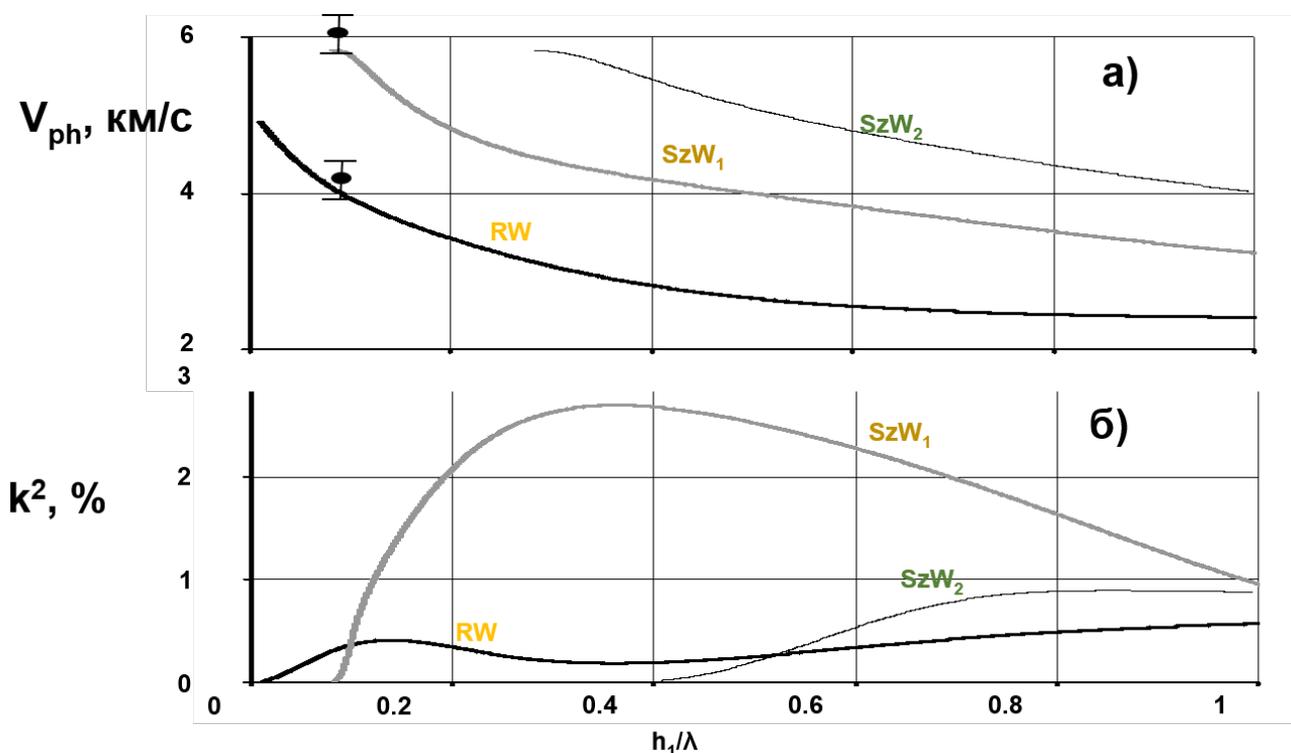


Рисунок 52 – (а) Фазовая скорость и (б) коэффициент электромеханической связи в зависимости от толщины пленки ZnO  $h_1/\lambda$  ( $\lambda$  – длина волны) в структуре ZnO/Si. RW – волна Рэлея;  $SzW_1$ ,  $SzW_2$  – 1-я и 2-я моды волны Сезава

Расчеты показывают, что до воздействия влажного воздуха («чистая» пленка ОГ) скорости и  $k^2$  волн при  $h_1(\text{ZnO}) = 3$  мкм,  $h_2(\text{ОГ}) = 0,45$  мкм,  $h_2/h_1 = 0,15$ :

$$V_{ph}^{RW} = 3521,5 \text{ м/с}, k^2 = 0,27\% \text{ и } V_{ph}^{SzW_1} = 5644,6 \text{ м/с}, k^2 = 0,52\%.$$

После экспозиции (пленка с молекулами воды), когда толщина пленки оксида графена удваивается  $h_2(\text{ОГ}) = 0,9$  мкм,  $h_2/h_1 = 0,3$ , скорости становятся больше:

$$V_{ph}^{RW} = 3546,4 \text{ м/с} \text{ и } V_{ph}^{SzW_1} = 5657,4 \text{ м/с}.$$

Увеличение скоростей в этом случае объясняется большим увеличением толщины пленки оксида графена. С другой стороны, для анализа, учитывающего увеличение проводимости пленки ОГ, влияние водяного пара приводит к

уменьшению скоростей волн:  $V_{ph}^{RW} = 3511,4$  м/с и  $V_{ph}^{SzW_1} = 5614,7$  м/с при  $h_2/h_1 = 0,15$ . Следовательно, отклики волн на влажность, предсказанные нашими расчетами, могут быть оценены как 0,3% и 0,53% при RH = 67% соответственно. Соответствующие теоретические данные представлены в Таблице 8.

Тот же расчет для датчика волны Лэмба и структуры пленки ГО/128Y-X+90<sup>0</sup> дает более низкий отклик на влажность (0,05%), хотя коэффициент связи  $k^2$  волны выше (10,3%). Такого рода противоречие может быть объяснено более сильной концентрацией энергии акустических волн Рэля и Сезава в пленке ОГ, чем для волны Лэмба, распределенной по всей структуре пленки / пластины.

Таблица 8 – Результаты теоретического анализа

$h_2^{ГО}$ , МКМ	$h_2/h_1$	RH,%	С учетом только изменений толщины пленки ОГ		С учетом только изменений электропроводности ОГ ( $\sigma_v = 5$ См/м)	
			$V_{ph}^{RW}$ , м/с	$V_{ph}^{SzW_1}$ , м/с	$V_{ph}^{RW}$ , м/с	$V_{ph}^{SzW_1}$ , м/с
0,45	0,15	0,47	3521,5	5644,6	3511,4	5614,7
0,6	0,2	26	3566,1	5651,5	3556,2	5629,2
0,84	0,28	56	3546,0	5650,1	3538,6	5628,1
0,9	0,3	67	3459,3	5641,5	3453,4	5611,5

В результате теоретический анализ, проведенный здесь, предсказывает, что датчик влажности на основе волны Сезава и структуры ОГ/ZnO/Si должен обеспечивать лучшую чувствительность, чем это было достигнуто ранее.

### Результаты эксперимента

Измеренная передаточная функция  $|S_{21}|$  волны Рэля (1) и волн семейства Сезава (2) в слоистой структуре пленки ОГ/ZnO/Si показана на Рисунке 53.

Центральные частоты волн, измеренные в эксперименте, составляют соответственно 134,75 МГц для волны Рэля и от 95 до 270 МГц для волн Сезава.

Измеренные скорости волн составляют  $4300 \pm 430$  м/с (волна Рэля 1) и  $6600 \pm 660$  м/с (волна Сезава 2), где погрешности эксперимента оцениваются по точности измерений частоты пульсаций  $|S_{21}|$  и усредненного периода ВШП, неидеального из-за процесса травления. Семейство волн Сезава состоит из нескольких режимов с различными характеристиками каждый (Рисунок 53).

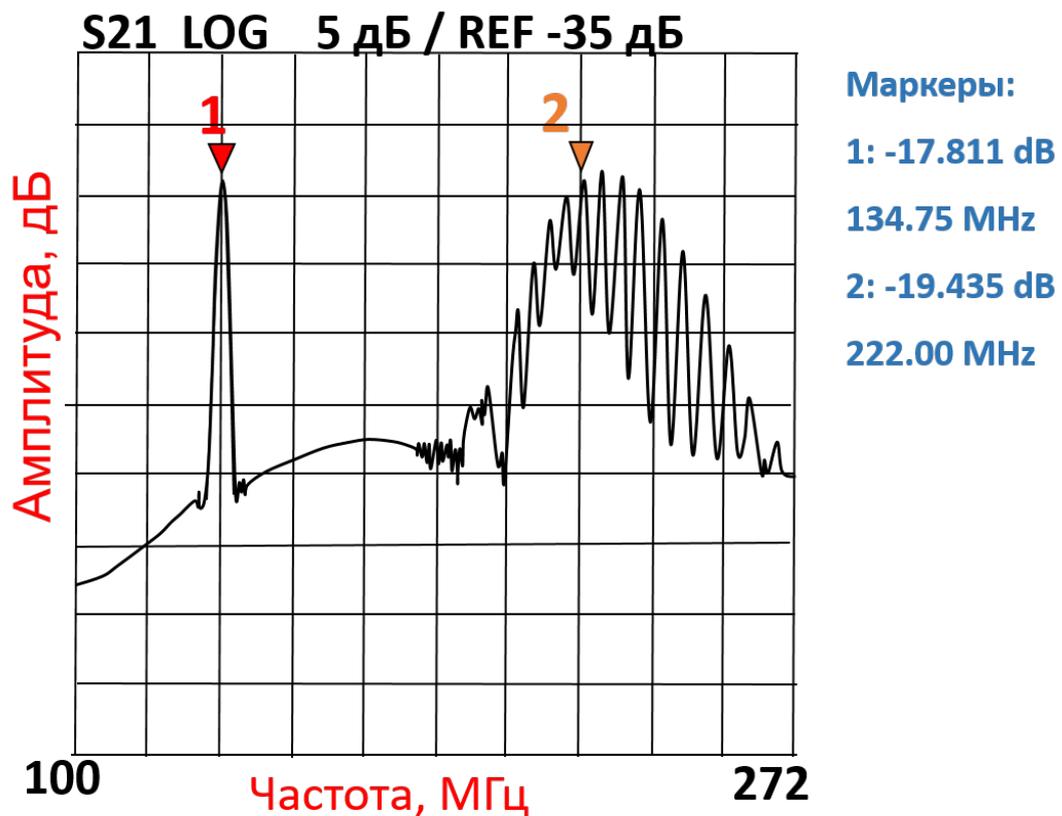


Рисунок 53 – Передаточная функция  $S_{21}$  волны Рэля (1) и волны Сезава (2) в слоистой структуре пленки ОГ/пленки ZnO/подложки Si

В качестве примера на Рисунке 54 показаны реакции на влажность для волн Рэля (а, в) и Сезава (б, г), измеренные в структурах ZnO/Si (а,б) и ОГ/ZnO/Si (в, г) при относительной влажности  $\approx 26$  %. Выбранная волна Сезава имеет самые низкие вносимые потери среди других режимов семейства. Видно, что 1) отклики обеих волн намного выше с пленкой ОГ (в, г), чем без нее (а, б);

2) отклики волны Сезава ( $\Delta\varphi_{\text{Sezawa}} = -4.46^\circ, -161.42^\circ$ ) больше, чем для волны Рэлея ( $\Delta\varphi_{\text{Rayleigh}} = -2.28^\circ, -16.48^\circ$ ) для обеих структур;

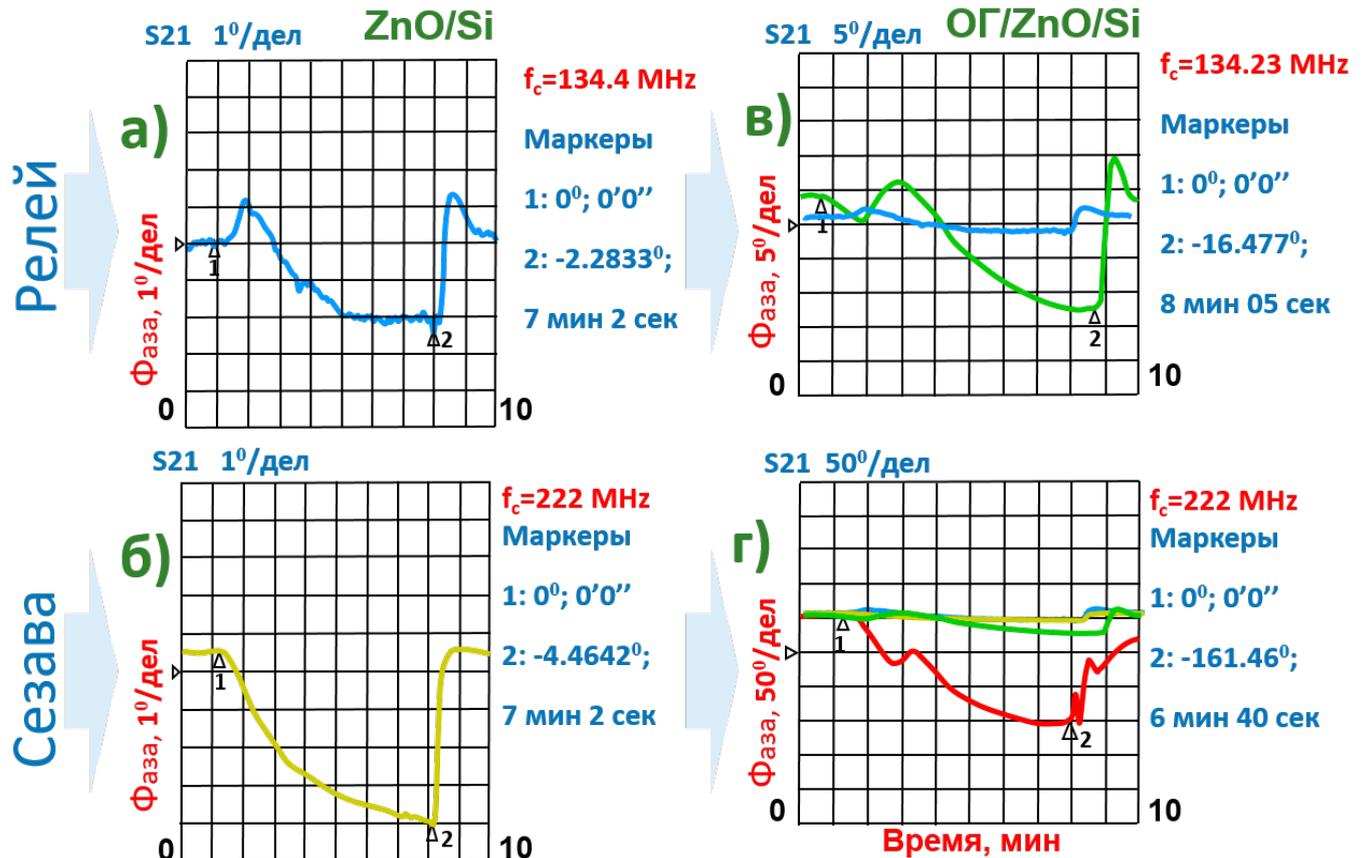


Рисунок 54 – Зависимость реакции на влажность от времени для (а, в) волн Рэлея и (б, г) Сезава, измеренных в (а, б) структурах ZnO/Si и (в, г) OГ/ZnO/Si при относительной влажности  $\approx 26\%$ .  $f_c$  - центральная частота волны. 1 - сухой воздух выключен, влажный воздух включен, 2 - влажный воздух выключен, сухой воздух включен. На четвертом графике г) все кривые приведены в едином масштабе. Видно, что отклик волны Сезава в структуре OГ/ZnO/Si максимален с большим отрывом среди других откликов

3) время отклика ( $\approx 600 \text{ с}$ ) намного больше, чем для восстановления ( $\approx 6 \text{ с}$ ) для обеих структур и обеих волн. Измерения при разной влажности показали, что значения времени отклика/восстановления увеличиваются с  $500 \text{ с} / 5 \text{ с}$  при относительной влажности  $5\%$  до  $700 \text{ с} / 18 \text{ с}$  при относительной влажности  $98\%$ . Как и в случае обнаружения водорода с поликристаллической пленкой Pd [45],

большие времена можно объяснить пористой природой чувствительной пленки ОГ, что затрудняет проникновение адсорбированных водных частиц в объем пленки;

4) после подачи сухого воздуха выходной сигнал полностью восстанавливается;

5) реакция волны Рэлея положительна в начале и отрицательна при ее насыщении, что указывает на то, что реакция волны представляет собой комбинацию различных чувствительных механизмов.

Возможным объяснением начального увеличения скорости волны Рэлея, вызванного адсорбцией водяного пара (Рисунок 54 а, в), является наличие двух противоположных чувствительных механизмов [135]. С одной стороны, молекулы воды изменяют механические свойства пленки оксида графена согласно предыдущим исследованиям и механические свойства пленки слоя ZnO [135], т.е. первым механизмом является эффект упругой нагрузки, приводящий к увеличению скорости волны Рэлея. С другой стороны, адсорбция водяного пара увеличивает проводимость пленки ОГ и массовую нагрузку [135], что приводит к уменьшению скорости волны. В результате на начальном этапе первый чувствительный механизм больше второго, в то время как через некоторое время второй механизм становится доминирующим.

Что касается волны Сезава, то увеличение толщины пленки оксида графена, создаваемой адсорбцией водяного пара, приводит к незначительному увеличению скорости волны (Таблица 7). Этот факт объясняется меньшей локализацией волны вблизи поверхности по сравнению с волной Рэлея [136]. В результате для волны Сезава в структуре ZnO/Si основным чувствительным механизмом является массовая нагрузка, которая каждый раз приводит к уменьшению скорости волны (Рисунок 54 б) [137]. В структуре ОГ/ZnO/Si основными чувствительными механизмами являются и массовая нагрузка, и электропроводность, также уменьшающая скорость волны (Рисунок 54 г).

Калибровочные кривые датчиков влажности на основе волн Рэлея и Сезава линейны в диапазоне от RH = 20 до 98 % (Рисунок 55). Наклон кривой для волны Сезава демонстрирует рекордную чувствительность датчика по сравнению как с

волной Рэлея в той же структуре (Рисунок 55), так и с другими известными до сих пор прототипами (Таблица 9).

Таблица 9. Сравнение известных датчиков влажности на основе пленок сорбента ОГ с разработанным датчиком (две нижние строки)

Тип волны	Материал пьезоэлектрика	Диапазон измерения влажности RH, %	Отклик / восстановление, с	Чувствительность по относительной влажности RH, кГц/%	Ссылки
Поверхностная волна	Кварц	5–100	–	1,54	[46]
Поверхностная волна	ZnO на стекле	0,5–85	19/<1	53	[47]
Волна Лява	Оксид кремния на кремнии	10-76	–	2,4	[57]
Кварцевый резонатор QCM	Кварц	6,4–93,5	18/12	2,6	[61]
Кварцевый резонатор QCM	Кварц/полиэфиримид	11,3–97,3	53/18	27,25	[63]
Кварцевый резонатор FBAR	ZnO на пленке оксида кремния на кремнии	5–83	–	25,5	[64]
A <sub>0</sub> волна Лэмба	Гибкая подложка ZnO/полиимид	10–85	22/5	22	[66]
S <sub>0</sub> волна Лэмба	Гибкая подложка ZnO/полиимид	10–85	16/5	35	[66]
волна Лэмба	Ниобат лития 128Y-X+90	0,03–75	87/50	80	[67]
Волна Сезава	ZnO на кремнии	3,6–98	600/6	91	–
Волна Рэлея	ZnO на кремнии	3,6–98	600/6	6	–

С другой стороны, температурная нестабильность датчика волн Рэлея, оцененная по данным [138], ниже (4100 Гц / °С), чем для устройства на основе волны Сезава (9050 Гц / °С), в то время как оба значения намного меньше, чем чувствительность тех же волн к влажности (17180 Гц / % и 91020 Гц / % соответственно). Следовательно, точность измерения для колебаний температуры  $\pm 1^\circ\text{C}$  составляет около  $\Delta\text{RH} = \pm 0.1\%$ .

Основные рабочие параметры разработанного датчика влажности представлены в Таблице 10.

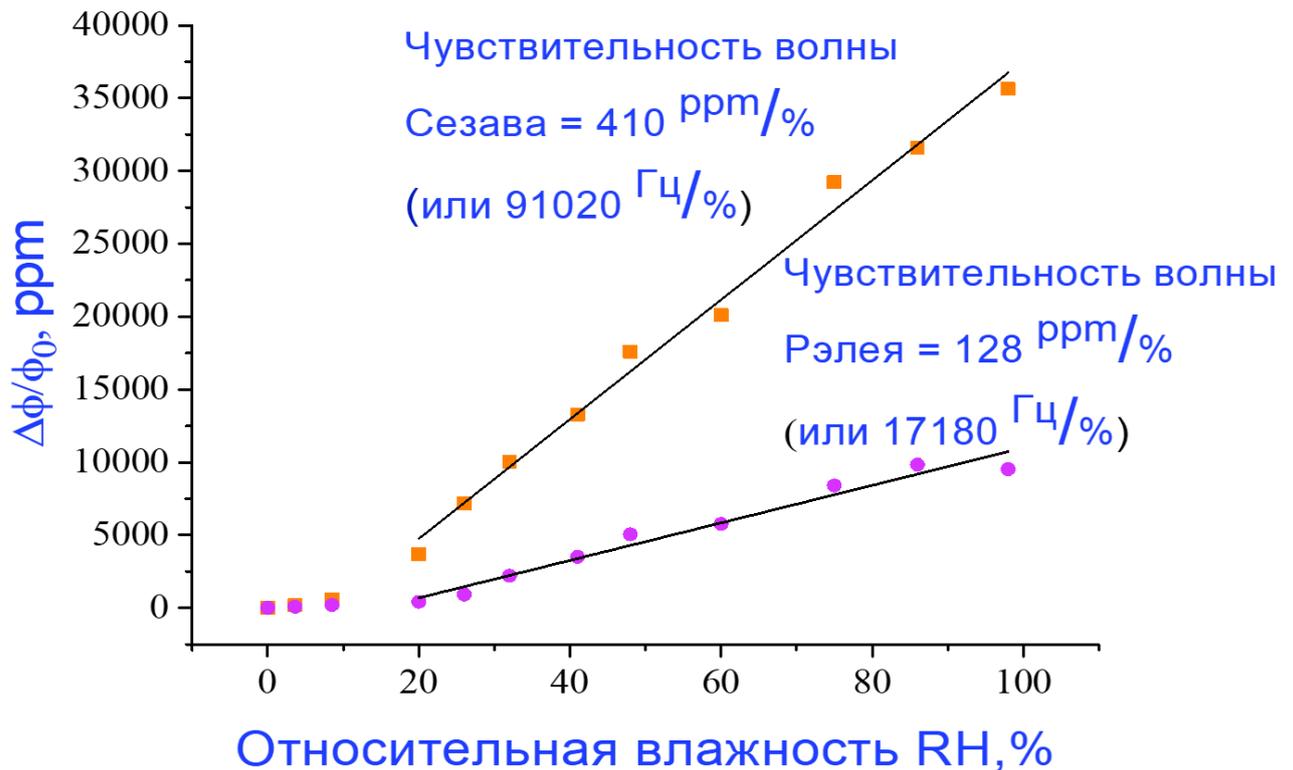


Рисунок 55 – Калибровочные кривые датчиков влажности на основе волн Рэлея (открытые круги) и Сезава (черные квадраты) в структуре ОГ/ZnO/Si. Сплошные линии представляют собой кривые подгонки, полученные с помощью программы Origin

Таким образом, теоретические предсказания и экспериментальные проверки, выполненные в статье, показали, что волна Сезава и структура ОГ/ZnO/Si обеспечивают улучшенный датчик влажности с лучшей производительностью по сравнению с другими прототипами на основе той же пленки.

Таблица 10. Основные рабочие параметры разработанного датчика влажности на основе волны Сезава, распространяющейся в структуре ОГ/ZnO/Si.

Рабочий параметр	Значение
Центральная частота, МГц	222
Ослабление сигнала, dB	19,4
Чувствительность по влажности, Гц/%	91020
Чувствительность по температуре, Гц/%	9050
Диапазон относительной влажности, RH, %	3,6 – 98
Точность измерения влажности ΔRH, %	± 0,1
Время отклика / время восстановления, с	600 / 6
Рабочая температура, °C	20 ± 5

Датчик обладает повышенной чувствительностью (91 кГц / %) и линейным откликом в диапазоне 20-98% относительной влажности. Для дальнейшего улучшения характеристик датчика следует найти акустическую волну с более сильными пьезоэлектрическими свойствами, распространяющуюся в структуре на основе оксида графена.

### 3.5. РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3

Проверена возможность измерять проводимости сенсорных покрытий из тонких металлических плёнок бесконтактным акустическим методом.

Прямые измерения емкости сенсорного покрытия из сухой однородной пленки ОГ при комнатной температуре толщиной до 2 мкм (размер чешуек ОГ 20 нм – 1,5 мкм на 1–3 нм толщины) показали плотность  $\sim 850 \text{ кг/м}^3$ , модули продольной и поперечной упругости пленки ОГ равны  $12,3 \pm 0,1 \text{ МПа}$  и  $3,0 \pm 0,1 \text{ МПа}$  соответственно, диэлектрическая проницаемость равна 21 при частоте  $f = 20 \text{ Гц}$ .

Создан прототип бесконтактного датчика влажности на пьезокристаллической линии задержки с сенсорным покрытием на основе оксида графена. Исследована применимость пленки ОГ в качестве сенсора в твердотельной акустике. Порог чувствительности датчика составил  $RH = 0,03\%$ , что значительно превышает возможности серийных измерителей влажности.

Теоретически и экспериментально доказано, что волна Сезава и структура GO-ZnO-Si обеспечивают улучшенный датчик влажности с лучшей производительностью по сравнению с другими прототипами на основе той же пленки. Датчик обладает повышенной чувствительностью (91 кГц / %) и линейным откликом в диапазоне 20–98% относительной влажности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы разработана технология создания макета наноэлектронного биосенсора на основе планарной наноструктуры с сенсорным покрытием из единичных ферментных комплексов, создана методика иммобилизации молекул фермента на электроды наноструктуры и методика регистрации биохимических ферментных реакций. Реализован и охарактеризован одномолекулярный ферментный биосенсор концентрации глюкозы с чувствительностью не менее 1 ммоль. Зарегистрировано изменение электрических параметров иммобилизованного фермента глюкозооксидазы при окислении глюкозы, и получена зависимость отклика биосенсора от ее концентрации в тестовом растворе.

В работе впервые показана принципиальная возможность создания биоанода топливного элемента на основе терморасширенного графита и сенсорного покрытия из иммобилизованных мембранных фракций бактерий *G. oxydans*, являющихся биоэлектрокатализаторами реакции окисления этилового спирта. Мембранные фракции, иммобилизованные на ТРГ-электроде позволяют осуществить безмедиаторное биоэлектрокаталитическое окисление этанола на электроде, однако скорость процесса невысока. Редокс-медиатор 2,6-дихлорофенолиндофенол значительно увеличивает скорость биоэлектрохимической реакции с участием иммобилизованных МФ, а также позволяет проводить электроокисление этанола с использованием иммобилизованных интактных клеток.

С помощью бесконтактного акустического метода измерены проводимости сенсорных покрытий из тонких металлических плёнок, измерена ёмкость сенсорного покрытия из сухой однородной пленки ОГ при комнатной температуре толщиной до 2 мкм (размер чешуек ОГ 20 нм – 1,5 мкм на 1–3 нм толщины) равная  $850 \text{ кг/м}^3$ , измерены модули продольной и поперечной упругости пленки ОГ равны  $12,3 \pm 0,1 \text{ МПа}$  и  $3,0 \pm 0,1 \text{ МПа}$  соответственно, диэлектрическая проницаемость пленки ОГ равна 21 при частоте  $f = 20 \text{ Гц}$ .

Создан прототип акустического бесконтактного датчика влажности на пьезокристаллической линии задержки с сенсорным покрытием на основе оксида графена. Исследована применимость пленки ОГ в качестве сенсора в твердотельной акустике. Порог чувствительности датчика составил  $RH = 0,03\%$ , что значительно превышает возможности серийных измерителей влажности.

Теоретически и экспериментально доказано, что волна Сезава и структура GO-ZnO-Si обеспечивают улучшенный датчик влажности с лучшей производительностью по сравнению с другими прототипами на основе той же пленки. Датчик обладает повышенной чувствительностью ( $91 \text{ кГц} / \%$ ) и линейным откликом в диапазоне 20-98% относительной влажности.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АДГ - алкогольдегидрагеназа

АСМ – атомно-силовая микроскопия (микроскоп)

АЦП – аналогово-цифровой преобразователь

БТЭ – биотопливный элемент

ВАХ – вольтамперная характеристика

ВОГ – восстановленный оксид графена

ВШП – встречно-штыревой преобразователь

ГОх – глюкозооксидаза

ДХФИФ - 2,6-дихлорфенолиндофенол, медиатор

ИК – инфракрасная (спектроскопия)

КР – (спектроскопия) комбинационного рассеяния

КЭМС – коэффициент электро-механической связи

МФ – мембранная фракция

ОГ – оксид графена

РФС - рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия

СТМ – сканирующая туннельная микроскопия (микроскоп)

ТРГ – терморасширенный графит

ЦАП – цифро-аналоговый преобразователь

ЦВА – циклическая вольтамперограмма

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

ITO – оксид индия-олова

RH - Relative Humidity – относительная влажность

RW – волна Рэлея

SzW – волна Сезава

QCM – quartz crystal microbalance (кварцевые микровесы)

FBAR – film bulk acoustic resonator (пленочный объемный акустический резонатор)

**СПИСОК РАБОТ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Паршинцев, А.А. Молекулярный нанобиосенсор на основе фермента глюкозооксидазы / Паршинцев А.А., Солдатов Е.С., Кашин В.В., Колесов В.В., Крупенин С.В., Решетилов А.Н., Азев В.Н. // Радиоэлектроника. Наносистемы. Информационные технологии. – 2013. – Т. 5. – № 2. – С. 45–61. – EDN QAITQU.
2. Kolesov, V.V. The nanobiosensor on the basis of glucose oxydase enzyme / V. V. Kashin, V. V. Kolesov, S. V. Krupenin, A.A. Parshintsev, A.N. Reshetilov, E.S. Soldatov // CriMiCo 2013 - 2013 23rd International Crimean Conference Microwave and Telecommunication Technology: Conference Proceedings. – 2013. – P. 867-868. – EDN SLHVZR.
3. Паршинцев, А.А., Создание планарных систем нанозлектродов для биосенсоров / Паршинцев А.А., Солдатов Е.С., Кашин В.В., Колесов В.В., Крупенин С.В., Решетилов А.Н. // Известия РАН. Серия физическая. – 2014. – Т. 78. – № 2. – С. 216. – DOI 10.7868/S0367676514020215. – EDN RUNVHB.
4. Алферов, В.А. Биотопливные элементы на основе нанокуглеродных материалов / Алферов В.А., Василев Р.Г., Кашин В.В., Китова А.Е., Колесов В.В., Губин С.П., Мачулин А.В., Решетилов А.Н., Решетилова Т.А. // Радиоэлектроника. Наносистемы. Информационные технологии. – 2014. – Т. 6. – № 2. – С. 187–208. – DOI 10.17725/RENSITE.0006.201402d.0187. – EDN UGJMHZ.
5. Kuznetsova I.E. The investigation of effect of thin films conductivity on the acoustic waves in structures containing piezoelectric plates / Kuznetsova I.E., Zaitsev B.D., Anisimkin V.I., Kolesov V.V., Fionov A.S., Melikhov M.Z., Kashin V.V., Teplykh A.A. // CriMiCo 2014. – 24th International Crimean Conference Microwave and Telecommunication Technology : Conference Proceedings. – 2014. – P. 765-766. – DOI 10.1109/CRMICO.2014.6959621. – EDN UFMNVD.
6. Колесов, В.В. Биосенсорные системы на основе планарных наноструктур / В. В. Кашин, В. В. Колесов, С. В. Крупенин, А.Н. Решетилов, Е.С. Солдатов // Современные проблемы биофизики, генетики, электроники и приборостроения : II Всероссийский семинар памяти профессора Ю.П. Волкова, Саратов, 16–18 декабря 2015 года / Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А. – 2015. – С. 61–68. – EDN XVXYDP.
7. Kolesov, V.V. Development of nanobiosensors based on acoustoelectronic technologies / Kolesov V.V., Kuznetsova I.E., Anisimkin V.I., Kashin V.V., Soldatov E.S., Dagesyan S.A., Melnikov A.E., Qian Z., Wang B., Zhu F. // 24th International Congress on Sound and Vibration, ICSV 2017, London, 23–27 июля 2017 года. – London: Без издательства, 2017. – EDN XNOERS.
8. Колесов, В.В. Разработка нанобиосенсоров на основе акустоэлектронных технологий / В. В. Колесов, И. Е. Кузнецова, Е. С. Солдатов, Анисимкин В.И., Кашин В.В., Дагесян С.А.,

Мельников А.Е. // Ученые записки физического факультета Московского университета. – 2017. – № 5. – С. 1750404. – EDN YPDBTC.

9. Verona, E. Elastic Properties of Graphene Oxide Films and Changes due to Gas Phase Adsorption / Verona E., Kuznetsova I.E., Anisimkin V.I., Gubin S.P., Tkachev S.V., Kolesov V.V., Kashin V.V., Zaitsev B.D., Shikhabudinov A.M. // 2017 Joint Conference of the European Frequency and Time Forum and IEEE International Frequency Control Symposium. – EFTF/IFC. – 2017. – Proceedings. – P. 345 – 346. – DOI: 10.1109/FCS.2017.8088888. – EDN XXTYKL.

10. Kuznetsova, I.E. Structural, electrical, and acoustical properties of graphene oxide films for acoustoelectronic applications / Kuznetsova I., Kolesov V., Zaitsev B., Tkachev S., Kashin V., Shikhabudinov A., Fionov A., Gubin S., Sun S // Physica Status Solidi. A: Applications and Materials Science. – 2017. – Vol. 214. – No 8. – P. 1600757. – DOI 10.1002/pssa.201600757. – EDN XNHLES.

11. Kuznetsova, I.E Super high sensitive plate acoustic wave humidity sensor based on graphene oxide film / Kuznetsova I.E., Anisimkin V.I., Gubin S.P., Tkachev S.V., Kolesov V.V., Kashin V.V., Zaitsev B.D., Shikhabudinov A.M., Verona E., Sun S. // Ultrasonics. – 2017. – Vol. 81. – P. 135–139. – DOI 10.1016/j.ultras.2017.06.019. – EDN XNKLAI.

12. Kolesov, V.V Development of tunnel nanostructures on a piezoelectric substrate/ Kolesov V.V., Anisimkin V.I., Kuznetsova I.E., Kashin V.V., Soldatov E.S., Dagesyan S.A., Melnikov A.E., Qian Z., Wang B., Zhu F. // 25th International Congress on Sound and Vibration 2018. – Hiroshima, – 2018. – P. 2339-2344. – EDN AHZTDP.

13. Kuznetsova, I.E. Sezawa wave acoustic humidity sensor based on graphene oxide sensitive film with enhanced sensitivity / Kuznetsova I.E., Anisimkin V.I., Kolesov V.V., Kashin V.V., Osipenko V.A., Gubin S.P., Tkachev S.V., Verona E., Sun S., Kuznetsova A.S. // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2018. – Vol. 272. – P. 236-242. – DOI 10.1016/j.snb.2018.05.158. – EDN XXRIVF.

14. Reshetilov, A. Bioelectrochemical Properties of Enzyme-Containing Multilayer Polyelectrolyte Microcapsules Modified with Multiwalled Carbon Nanotubes / Reshetilov A., Plekhanova Yu., Tarasov S., Tikhonenko S., Dubrovsky A., Kim A., Kashin V., Machulin A., Wang G.-J., Kolesov V., Kuznetsova I. // Membranes. – 2019. – Vol. 9. – No 4. – P. 53. – DOI 10.3390/membranes9040053. – EDN JMPEHA.

15. Мельников, А. Е. Акустоэлектронный нанобиосенсор / А. Е. Мельников, Е. С. Солдатов, В.А. Анисимкин, И. Е. Кузнецова, В. В. Кашин, В. В. Колесов // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2019. – Т. 83. – № 1. – С. 62-65. – DOI 10.1134/S0367676519010162. – EDN YVTWIX.

16. Kolesov, V.V. Hybrid acousto-nano-biosensor / V. V. Kolesov, V. V. Anisimkin, I. E. Kuznetsova, Kashin V.V., Smirnov A.V., Soldatov E.S., Dagesyan S.A., Melnikov A.E.// Proceedings

of SPIE - The International Society for Optical Engineering, Zvenigorod, 01–05 октября 2018 года. – Zvenigorod: SPIE, 2019. – P. 110220Y. – DOI 10.1117/12.2521796. – EDN FZDMEX.

17. Решетилов, А. Н. Терморасширенный графит в моделях биосенсоров и биотопливных элементов / А. Н. Решетилов, Ю. В. Плеханова, А. Е. Китова, С. Е. Тарасов, В. В. Кашин, В. В. Колесов // Труды 64-й Всероссийской научной конференции МФТИ Биологическая и медицинская физика. – 29.11–03.12 2021.

18. Plekhanova, Y. Modification of thermally expanded graphite and its effect on the properties of the amperometric biosensor / Y. Plekhanova, S. Tarasov, A. Kitova, A. Reshetilov, V. Kolesov, V. Kashin, A. Sundramoorthy // 3 Biotech. – 2022. – Vol. 12. – No 2. – DOI 10.1007/s13205-021-03107-w. – EDN UZJQHY.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Фрайден, Дж.. Современные датчики: Справочник // М. : Техносфера, - 2005. - 592 с. – ISBN 5-94836-050-4
2. Шека, Е. Ф. О техническом графене --- восстановленном оксиде графена --- и его природном аналоге --- шунгите / Е. Ф. Шека, Е. А. Голубев // Журнал технической физики. – 2016. – Т. 86. – № 7. – С. 74-80. – EDN XAXMVF.
3. Губин, С. П. Графен и материалы на его основе / С. П. Губин, С. В. Ткачев // Радиоэлектроника. Наносистемы. Информационные технологии. – 2010. – Т. 2. – № 1-2. – С. 99-137. – EDN NSXFTV.
4. Елецкий, А. В. И др. Графен: методы получения и теплофизические свойства / А. В. Елецкий, И. М. Искандарова, А. А. Книжник, Д. Н. Красиков // Успехи физических наук. – 2011. – Т. 181. – № 3. – С. 233-268. – EDN NULLPT.
5. Bayer, T. et al. Tunable mixed ionic/electronic conductivity and permittivity of graphene oxide paper for electrochemical energy conversion // ACS applied materials & interfaces. – 2016. – Т. 8. – №. 18. – С. 11466-11475
6. Karim, M. R. et al. Graphene oxide nanosheet with high proton conductivity // Journal of the American Chemical Society. – 2013. – Т. 135. – №. 22. – С. 8097-8100.
7. Jang, M. H. et al. Direct comparison of optical properties from graphene oxide quantum dots and graphene oxide // Applied Science and Convergence Technology. – 2015. – Т. 24. – №. 4. – С. 111-116.
8. Suk, J. W. et al. Mechanical properties of monolayer graphene oxide // ACS nano. – 2010. – Т. 4. – №. 11. – С. 6557-6564.
9. Gao, Y. et al. The effect of interlayer adhesion on the mechanical behaviors of macroscopic graphene oxide papers // ACS nano. – 2011. – Т. 5. – №. 3. – С. 2134-2141.
10. Liu, L. et al. Mechanical properties of graphene oxides // Nanoscale. – 2012. – Т. 4. – №. 19. – С. 5910-5916.
11. Cao, C. et al. High strength measurement of monolayer graphene oxide // Carbon. – 2015. – Т. 81. – С. 497-504.
12. Zhao, J., Liu L., Li F. Graphene oxide: physics and applications // London, – Springer, 2015. – Т. 1. – С. 161.
13. Perrozzi, F., Prezioso S., Ottaviano L. Graphene oxide: from fundamentals to applications // Journal of Physics: Condensed Matter. – 2014. – Т. 27. – №. 1. – С. 013002.
14. Wang, L. et al. Graphene oxide as an ideal substrate for hydrogen storage // ACS nano. – 2009. – Т. 3. – №. 10. – С. 2995-3000.

15. Eda, G., Chhowalla M. Chemically derived graphene oxide: towards large-area thin-film electronics and optoelectronics // *Advanced materials*. – 2010. – Т. 22. – №. 22. – С. 2392-2415.
16. Sayago, I. et al. Graphene oxide as sensitive layer in Love-wave surface acoustic wave sensors for the detection of chemical warfare agent simulants // *Talanta*. – 2016. – Т. 148. – С. 393-400.
17. Lerf, A. et al. Structure of graphite oxide revisited // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 1998. – Т. 102. – №. 23. – С. 4477-4482.
18. Zhu, Y. et al. Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications // *Advanced materials*. – 2010. – Т. 22. – №. 35. – С. 3906-3924.
19. Шиляева, Е. А. Функциональные группы оксида графита: Экспериментальные данные и неэмпирическое моделирование / Е. А. Шиляева, Ю. В. Новаковская // *Журнал физической химии*. – 2019. – Т. 93. – № 10. – С. 1506-1516. – DOI 10.1134/S0044453719100273. – EDN AXYUKQ.
20. Thiele, H. Graphit und graphitsäure // *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. – 1930. – Т. 190. – №. 1. – С. 145-160.
21. Hofmann, U. / Hofmann U., Frenzel A., Csalan E. // *Liebigs Ann. Chem.* – 1934. – V. 510. – № 1. – P. 1.
22. Lerf, A. A new structural model for graphite oxide / He H., Klinowski J., Forster M. and Lerf A. // *Chem. Phys. Lett.* – 1998. – 287. – 53–6
23. Szabó, T. et al. Evolution of surface functional groups in a series of progressively oxidized graphite oxides / Szabó T., Berkesi O., Forgó P., Josepovits K., Sanakis Y., Petridis D., Dékány I. // *Chemistry of materials*. – 2006. – Т. 18. – №. 11. – С. 2740-2749.
24. Meng, Q. L. et al. Mixed conduction properties of pristine bulk graphene oxide // *Carbon*. – 2016. – Т. 101. – С. 338-344.
25. Dimiev, A. M. Mechanism of the graphene oxide formation: the role of water, “reversibility” of the oxidation, and mobility of the C–O bonds / A. M. Dimiev, K. Shukhina, A. Khannanov // *Carbon*. – 2020. – V.166. – P.1-14.
26. Zhang, K. L. et al. Highly sensitive humidity sensor based on graphene oxide foam // *Applied Physics Letters*. – 2017. – Т. 111. – №. 15. – С. 153101
27. Yan, J. A., Xian L., Chou M. Y. Structural and electronic properties of oxidized graphene // *Physical review letters*. – 2009. – Т. 103. – №. 8. – С. 086802.
28. Dideikin, A. T. Graphene oxide and derivatives: The place in graphene family / A. T. Dideikin, A. Y. Vul' // *Frontiers in Physics*. – 2019. – Vol. 6. – No JAN. – P. 149. – DOI 10.3389/fphy.2018.00149. – EDN TKLWSQ.

29. Gao, X. Hydrazine and Thermal Reduction of Graphene Oxide: Reaction Mechanisms, Product Structures, and Reaction Design / X. Gao, J. Jang, S. Nagase // *J. Phys. Chem. C.* – 2010. – Vol. 114. – P. 832-842.
30. Kumar, P. V. et al. Scalable enhancement of graphene oxide properties by thermally driven phase transformation // *Nature chemistry.* – 2014. – Т. 6. – №. 2. – С. 151-158.
31. Masubuchi, S., Arai M., Machida T. Atomic force microscopy based tunable local anodic oxidation of graphene // *Nano letters.* – 2011. – Т. 11. – №. 11. – С. 4542-4546.
32. Nourbakhsh, A. et al. Bandgap opening in oxygen plasma-treated graphene // *Nanotechnology.* – 2010. – Т. 21. – №. 43. – С. 435203.
33. Шульга, Ю. М. Углеродные наноструктуры, восстановленные из оксида графита, как материалы для электродов суперконденсаторов / Ю. М. Шульга, Н. Ю. Шульга, Ю. Н. Пархоменко // *Известия высших учебных заведений. Материалы электронной техники.* – 2014. – Т. 17. – № 3. – С. 157-167. – DOI 10.17073/1609-3577-2014-3-157-167. – EDN TVVYJF.
34. Dimiev, A. M. Graphene oxide. Origin of acidity, its instability in water, and a new dynamic structural model / A. M. Dimiev, L. B. Alemany, J. M. Tour // *ACS Nano.* – 2013. – V.7. – №.1. – P.576 – 588.
35. Dimiev, A. M. Mechanism of formation and chemical structure of graphene oxide: graphene oxide: fundamentals and applications // Chichester, West Sussex: Wiley. – 2016. – P.36 – 84.
36. Tuinstra, F., Koenig J. L. Raman spectrum of graphite // *The Journal of chemical physics.* – 1970. – Т. 53. – №. 3. – С. 1126-1130.
37. Boehm, H. P., Clauss A., Hofmann U. Graphite oxide and its membrane properties // *Journal de Chimie Physique.* – 1961. – Т. 58. – С. 141-147.
38. Mason, W.P. Use of piezoelectric crystals and mechanical resonators in filters and oscillators / W. P. Mason, R. N. Thurston, editors // New York : Academic Press. – 1964. – Physical acoustics. – vol. 1A.
39. Дьелесан, Э. Упругие волны в твердых телах. Применение для обработки сигналов / Дьелесан Э., Руайе Д // М. : Наука. – 1982
40. Kuznetsova, I. et al. Structural, electrical, and acoustical properties of graphene oxide films for acoustoelectronic applications / I.E. Kuznetsova, V.V. Kolesov, B.D. Zaitsev, S.V. Tkachev, V.V. Kashin, A.M. Shikhabudinov, A.S. Fionov, S.P. Gubin, S. Sun // *Phys. Status Solidi A: Applications and Materials Science.* – 2017. – Vol. 214. – No 8. – P. 1600757. – DOI 10.1002/pssa.201600757. – EDN XNHLES.
41. Роцин, А. В. И др. Химические сенсоры на основе поверхностных акустических волн и молекулярно-импринтированных полимеров / А. В. Роцин, А. В. Медведь, И. В.

- Кумпаненко [и др.] // *Химическая физика*. – 2007. – Т. 26. – № 10. – С. 7-17. – EDN IAZNXP.
42. Caliendo, C. Surface acoustic wave humidity sensors: A comparison between different types of sensitive membrane / C. Caliendo, E. Verona, V. I. Anisimkin // *Smart Materials and Structures*. – 1997. – Vol. 6. – No 6. – P. 707-715. – DOI 10.1088/0964-1726/6/6/007. – EDN LEEYXX.
  43. Devkota, J. SAW sensors for chemical vapors and gases / J. Devkota, P. R. Ohodnicki, D. W. Greve // *Sensors*. – 2017. – Vol. 17. – No 4. – P. 801. – DOI 10.3390/s17040801. – EDN YYACPT.
  44. Tang, Y. Highly sensitive surface acoustic wave (SAW) humidity sensors based on sol-gel SiO<sub>2</sub> films: Investigations on the sensing property and mechanism / Y. Tang, Z. Li, J. Ma, L. Wang, J. Yang, B. Du, Q.K. Yu, X.T. Zu // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2015. – Т. 215. – С. 283-291.
  45. Anisimkin, V. I. Real time characterization of elastic variations in palladium films produced by hydrogen adsorption / V. I. Anisimkin, I.M. Kotelyanslii, V.I. Fedosov, C. Cfliendo, P. Verardi, E. Verona, // 1996 IEEE Ultrasonics Symposium. Proceedings. – IEEE, 1996. – Т. 1. – С. 293-297.
  46. Balashov, S.M. Surface acoustic wave humidity sensors based on graphene oxide thin films deposited with the surface acoustic wave atomizer / S.M. Balashov, O.V. Balachova, F.A. Pavani, M.C.Q. Bazetto, M.G. de Almeida // *ECS Trans*. – 49. – 2012. – С. 445-450.
  47. Xuan, W., Fast response and high sensitivity ZnO-glass SAW humidity sensors using graphene oxide sensing layer / W. Xuan, M. He, N. Meng, X. He, W. Wang, J. Chen, T. Shi, T. Hasan, Z. Xu, Y. Xu, J.K. Luo // *Science Rep*. – 4. – 2014. – 7206-7214.
  48. Guo, Y.J. Graphene/LiNbO<sub>3</sub> surface acoustic wave device based relative humidity sensor / Y.J. Guo, J. Zhang, C. Zhao, P.A. Hu, X.T. Zu, Y.Q. Fu // *Optik*. – 125. – 2014. – С. 5800–5802.
  49. Irani, F.S. SAW humidity sensor sensitivity enhancement via electrospinning of silver nanowires / F.S. Irani, B. Tunaboylu // *Sensors*. – 16. – 2016. – С. 2024.
  50. Liu, Y. Electrospun CeO<sub>2</sub> nanoparticles/PVP nanofibers based high-frequency surface acoustic wave humidity sensor / Y. Liu, H. Huang, L. Wang, D. Cai, B. Liu, D. Wang, Q. Li, T. Wang // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2016. – Т. 223. – С. 730-737.
  51. Rimeika, R. Fast-response and low-loss surface acoustic wave humidity sensor based on bovine serum albumin-gold nanoclusters film / R. Rimeika, D.Ciplies, V. Poderys, R. Rotomskis, M.S. Shur // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2017. – Т. 239. – С. 352-357.
  52. He, X. L. High sensitivity humidity sensors using flexible surface acoustic wave devices made on nanocrystalline ZnO-polyimide substrates / X. L. He, D.J. Li, J. Zhou, W.B. Wang, W.P.

- Xuan, S.R. Dong, H. Jin, J.K. Luo // *Journal of Materials Chemistry C*. – 2013. – T. 1. – №. 39. – C. 6210-6215.
53. Blanc, L. et al. Love wave characterization of the shear modulus variations of mesoporous sensitive films during vapor sorption / L. Blanc, A. Tetelin, C. Boissière, G. Tortissier, C. Dejous, D. Rebière // *IEEE Sensors Journal*. – 2011. – T. 12. – №. 5. – C. 1442-1449.
54. Kwan, J.K. High sensitivity Love-wave humidity sensors using glancing angle deposited thin films / J.K. Kwan, J.C. Sit // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2012. – T. 173. – C. 164-168.
55. Guo, Y. J. et al. Characterization and humidity sensing of ZnO/42 YX LiTaO<sub>3</sub> Love wave devices with ZnO nanorods / Y. J. Guo, J. Zhang, C. Zhao, J.Y. Ma, H.F. Pang, P.A. Hu, F. Placido, D. Gibson, X.T. Zu, H.Y. Zu, Y.Q. Fu // *Materials Research Bulletin*. – 2013. – T. 48. – №. 12. – C. 5058-5063.
56. Wang, L. The development of Love wave-based humidity sensors incorporating multiple layers / L. Wang, Liu J., He S. // *Sensors*. – 2015. – T. 15. – №. 4. – C. 8615-8623.
57. Wang, Y. et al. Surface Acoustic Wave Humidity Sensors Based on ZnO Piezoelectric Films Sputtered on R-Sapphire Substrates / Y. Wang, S.-Y. Zhang, L. Fan, X.-J. Shui, Y.-T. Yang // *Chinese Physics Letters*. – 2015. – T. 32. – №. 8. – C. 086802.
58. Nikolaou, I. et al. Inkjet-printed graphene oxide thin layers on love wave devices for humidity and vapor detection / I. Nikolaou, H. Hallil, V. Conédéra, G. Deligeorgis, C. Dejous, D. Rebiere // *IEEE Sensors Journal*. – 2016. – T. 16. – №. 21. – C. 7620-7627
59. Penza, M. et al. Thin film bulk acoustic resonator vapor sensors with single-walled carbon nanotubes-based nanocomposite layer / M. Penza, G. Cassano, P. Aversa, D. Suriano, E. Verona, M. Benetti, D. Cannatà, F. Di Pietrantonio, W. Wlodarski // *Sensors, 2007 IEEE*. – IEEE. – 2007. – C. 185-188.
60. Wang, X. et al. A highly sensitive humidity sensor based on a nanofibrous membrane coated quartz crystal microbalance / X. Wang, B. Ding, J. Yu, M. Wang, F. Pan // *Nanotechnology*. – 2009. – T. 21. – №. 5. – C. 055502.
61. Yao, Y. et al. Graphene oxide thin film coated quartz crystal microbalance for humidity detection / Y. Yao, Z. Chen, H. Guo, Z. Wu // *Applied Surface Science*. – 2011. – T. 257. – №. 17. – C. 7778-7782.
62. Yao, Y., Xue Y. Influence of the oxygen content on the humidity sensing properties of functionalized graphene films based on bulk acoustic wave humidity sensors / Y. Yao, Y. Xue // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2016. – T. 222. – C. 755-762.
63. Yuan, Z. et al. Novel highly sensitive QCM humidity sensor with low hysteresis based on graphene oxide (GO)/poly (ethyleneimine) layered film / Z. Yuan, H. Tai, Z. Ye, C. Liu, G. Xie, X. Du, Y. Jiang // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2016. – T. 234. – C. 145-154.

64. Xuan, W. et al. A film bulk acoustic resonator oscillator based humidity sensor with graphene oxide as the sensitive layer / W. Xuan, M. Cole, J.W. Gardner, S. Thomas, F.-H. Villa-Lopez, X. Wang, S. Dong, J.A. Luo // *Journal of Micromechanics and Microengineering*. – 2017. – T. 27. – №. 5. – C. 055017.
65. Liu, W. et al. A highly sensitive humidity sensor based on ultrahigh-frequency microelectromechanical resonator coated with nano-assembled polyelectrolyte thin films / W. Liu, H. Qu, J. Hu, W. Pang, H. Zhang, X. Duan // *Micromachines*. – 2017. – T. 8. – №. 4. – C. 116.
66. Xuan, W. et al. High sensitivity flexible Lamb-wave humidity sensors with a graphene oxide sensing layer / W. Xuan, X. He., J. Chen, W. Wang, X. Wang, Y. Xu, Z. Xu, Y.Q. Fuc, J.K. Luo // *Nanoscale*. – 2015. – T. 7. – №. 16. – C. 7430-7436.
67. Kuznetsova, I. E. et al. Super high sensitive plate acoustic wave humidity sensor based on graphene oxide film / I.E. Kuznetsova, V.I. Anisimkin, S.P. Gubin, S.V. Tkachev, V.V. Kolesov, V.V. Kashin, B.D. Zaitsev, A.M. Shikhabudinov, E. Verona, S. Sun, // *Ultrasonics*. – 2017. – T. 81. – C. 135-139.
68. Chen, Z. Humidity sensors: a review of materials and mechanisms / Z. Chen, C. Lu // *Sensor letters*. – 2005. – T. 3. – №. 4. – C. 274-295.
69. Hyodo, T. et al. Semiconductor-type SnO<sub>2</sub>-based NO<sub>2</sub> sensors operated at room temperature under UV-light irradiation / T. Hyodo, K. Urata, K. Kamada, Y. Shimizu // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2017. – T. 253. – C. 630-640.
70. Penza, M. Surface acoustic wave humidity sensor using polyvinyl-alcohol film / M. Penza, V.I. Anisimkin // *Sensors and Actuators A: Physical*. – 1999. – T. 76. – №. 1-3. – C. 162-166.
71. Bullen, R.A. Biofuel cells and their development / Bullen R.A., Arnot T.C., Lakeman J.B., Walsh F.C // *Biosensors and Bioelectronics*. - 2006. – Vol. 21(15). – P. 2015–2045.
72. Halme, J. T. et al. Alcohol consumption and all-cause mortality among elderly in Finland // *Drug and alcohol dependence*. – 2010. – T. 106. – №. 2-3. – C. 212–218.
73. Zebda, A. Membraneless microchannel glucose biofuel cell with improved electrical performances / Zebda A., Renaud L., Cretin M., Innocent C., Ferrigno R., Tingry S // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2010 – Vol. 149.– P. 44-50.
74. Rincón, R. Enzymatic fuel cells: Integrating flow-through anode and air-breathing cathode into a membrane-less biofuel cell design / Rincón R., Lau C., Luckarift H. R., Garcia K. E., Adkins E., Johnson G. R., Atanassov P. // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2011. – Vol. 27(15).– P. 132–136.
75. Giroud, G. A quinhydrone biofuel cell based on an enzyme-induced pH gradient / Giroud G., Chantal Gondran, Karine Gorgy, Aymeric Pellissier, François Lenouvel, Philippe Cinquin, Serge Cosnier // *Journal of Power Sources*. – 2011. – Vol. 196. – P. 1329–1332.

76. Arechederra, R. Organelle-based biofuel cells: Immobilized mitochondria on carbon paper electrodes / Arechederra R., Shelley D. Minter // *Electrochimica Acta*. – 2008. – Vol. 53(1). – P. 6698–6703.
77. Sayed, E. T. Catalytic activity of yeast extract in biofuel cell / Sayed E. T., Saito Y., Tsujiguchi T., Nakagawa N. // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2012. – Vol. 114. – P. 521–525.
78. Hubenova, Y. Potential application of *Candida melibiosica* in biofuel cells / Hubenova Y., Mitov M. // *Bioelectrochemistry*. – 2010. – Vol. 78. – P. 57–61.
79. Алферов, С.В. Анод биотопливного элемента на основе бактериальных клеток *Gluconobacter oxydans* и медиатора электронного транспорта 2,6-дихлорфенолиндофенола / С. В. Алферов, Л. Г. Томашевская, О. Н. Понаморева и др. // *Электрохимия*. – 2006. – Т. 42. – № 4. – С. 456-457. – EDN HTDYLP..
80. Katrlík, J. et al. A novel microbial biosensor based on cells of *Gluconobacter oxydans* for the selective determination of 1, 3-propanediol in the presence of glycerol and its application to bioprocess monitoring // *Analytical and bioanalytical chemistry*. – 2007. – Т. 388. – №. 1. – С. 287–295.
81. Tkac, J. et al. Membrane-bound dehydrogenases from *Gluconobacter* sp.: Interfacial electrochemistry and direct bioelectrocatalysis // *Bioelectrochemistry*. – 2009. – Т. 76. – №. 1-2. – С. 53-62.
82. Ikeda, T. Amperometric fructose sensor based on direct bioelectrocatalysis / Ikeda T., Matsushita F., Senda M. // *Biosensors and Bioelectronics*. – 1991. – Т. 6. – №. 4. – С. 299-304.
83. Treu, B. L. et al. Isolation and purification of PQQ-dependent lactate dehydrogenase from *Gluconobacter* and use for direct electron transfer at carbon and gold electrodes // *Bioelectrochemistry*. – 2008. – Т. 74. – №. 1. – С. 73–77.
84. Ramanavicius, A. Potentiometric study of quinohemoprotein alcohol dehydrogenase immobilized on the carbon rod electrode / Ramanavicius A., Kausaite A., Ramanaviciene A. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2006. – Т. 113. – №. 1. – С. 435–444.
85. Lovley, D. R. Bug juice: harvesting electricity with microorganisms // *Nature Reviews Microbiology*. – 2006. – Т. 4. – №. 7. – С. 497-508.
86. Richter, H. Electricity generation by *Geobacter sulfurreducens* attached to gold electrodes / H. Richter, K. McCarthy, K. P. Nevin, J. P. Johnson, V. M. Rotello, and D. R. Lovley // *Langmuir*. – 2008. – Т. 24. – №. 8. – С. 4376–4379.
87. Neto, S. A. et al. Direct electron transfer-based bioanodes for ethanol biofuel cells using PQQ-dependent alcohol and aldehyde dehydrogenases // *Electrochimica acta*. – 2013. – Т. 87. – С. 323–329.

88. Halámková, L. et al. Implanted biofuel cell operating in a living snail // *Journal of the American Chemical Society*. – 2012. – Т. 134. – №. 11. – С. 5040–5043.
89. Jia, W. et al. Epidermal biofuel cells: energy harvesting from human perspiration // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2013. – Т. 52. – №. 28. – С. 7233–7236.
90. Тёрнер, Э. Биосенсоры: основы и приложения / пол ред. Э. Тёрнера, И. Карубе, Дж. Уилсона // М. : Мир. – 1992.
91. Rai, M. (ed.) *Metal nanoparticles in microbiology* / Reshetilov A., Iliasov P., Reshetilova T. // Berlin : Springer Science & Business Media. – 2011. – P. 269.
92. Chao, J. et al. DNA nanotechnology-enabled biosensors // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2016. – Т. 76. – С. 68–79.
93. Amine, A. et al. Recent advances in biosensors based on enzyme inhibition // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2016. – Т. 76. – С. 180–194.
94. Slomovic, S. Synthetic biology devices for in vitro and in vivo diagnostics / Slomovic, S., Pardee K., Collins J. J. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2015. – Т. 112. – №. 47. – С. 14429-14435.
95. Pantelopoulos, A. A survey on wearable sensor-based systems for health monitoring and prognosis / A. Pantelopoulos, N. G. Bourbakis // *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics Part C: Applications and Reviews*. – 2010. – Vol. 40. – No 1. – P. 1-12. – DOI 10.1109/TSMCC.2009.2032660.
96. Harms, H. Whole-cell living biosensors — are they ready for environmental application? / Harms H., Wells M. C., Van der Meer J. R. // *Applied microbiology and biotechnology*. – 2006. – Т. 70. – №. 3. – С. 273-280.
97. De Benedetto G.E. One-step fabrication of a bienzyme glucose sensor based on glucose oxidase and peroxidase immobilized onto a poly(pyrrrole) modified glassy carbon electrode / De Benedetto G.E., Palmisano F., Zambonin P.G. // *Biosensors and Bioelectronics*. – 1996. – Т. 11. – №. 10. – С. 1001-1008.
98. Алферов, В.А. Электрохимический сенсор на основе алкогольоксидазы для экспресс-определения содержания низших спиртов / В. А. Алферов, М. Г. Зайцев, О. Н. Понаморёва [и др.] // *Журнал аналитической химии*. – 2011. – Т. 66. – № 12. – С. 1322. – EDN ONFVVZ.
99. Raba, J. Glucose Oxidase as an Analytical Reagent / J. Raba, H. A. Mottola // *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. – 1995. – Vol. 25. – No 1. – P. 1-42. – DOI 10.1080/10408349508050556.
100. Böhler T. et al. Mechanically controllable break-junctions for use as electrodes for molecular electronics / Böhler T., Grebing J., MayerGindner A. et al. // *Nanotechnology*. – 2004. – Т. 15. – №. 7. – С. S465.

101. Sapkov, I. V. Narrowing of nanogap for purpose of molecular single-electronics / Sapkov I. V., Soldatov E. S //International Conference Micro-and Nano-Electronics 2012. – SPIE, 2013. – T. 8700. – С. 210-215.
102. Heersche, H.B. et al. In situ imaging of electromigration-induced nanogap formation by transmission electron microscopy / Heersche H.B., Lientschnig G., O'Neill K. et al. // Applied Physics Letters. – 2007. – Т. 91. – №. 7. – С. 072107
103. O'Neill K, Osorio EA, van der Zant HSJ. Self Breaking in Planar Few-atom Au Constrictions for nm-Spaced Electrodes. Appl. Phys. Lett., 2007, 90:1331-1336.
104. Holzinger, M. Carbon nanotube/enzyme biofuel cells / Holzinger M., Goff A. L., Cosnier S. // Electrochimica Acta. – 2012. – Vol. 82(1). – P. 179–190.
105. Бектенова, Г. А. Актуальные вопросы иммобилизации ферментов // Наука и техника Казахстана. – 2003. – № 1. – С. 32–37.
106. Bergmeyer, H.U. Methods of Enzymatic Analysis // Ed. : Academic Press. – 1974. – V. 1. – P. 457.
107. West, P. Atomic Force Microscopy / West P., Eaton P. // Oxford university press, – 2010. – P. 69.
108. Горшенев, В.Н Электропроводящие материалы на основе терморасширенного графита / В.Н. Горшенев, С.Б. Бибиков, Ю.Н. Новиков // Журнал прикладной химии. – 2003. – Т. 76. – Вып 4. – С.624-627.
109. Горшенев, В.Н. Композиционные материалы на основе терморасширенного графита / Горшенев В.Н., Илюшин А.С., Колесов В.В., Фионов А.С., Петрова Н.Г. // Перспективные материалы. – 2008. – №. S6-2. – С. 351–355.
110. Wang, X. et al. A glucose biosensor based on Prussian blue-chitosan hybrid film // Biosensors and Bioelectronics. – 2009. – Т. 24. – №. 5. – С. 1527–1530.
111. Kuznetsova, I. E. Noncontact determination of thin films conductance by SH<sub>0</sub> plate acoustic waves / I.E. Kuznetsova, B. D. Zaitsev, V. I. Anisimkin, A. A. Teplykh, A. M. Shikhabudinov, V. V. Kolesov, and V. G. Yakunin // Journal of Applied Physics. – 2014. – Т. 115. – №. 4. – С. 044504.
112. Tian, L. Preparation of Bulk <sup>13</sup>C-Enriched Graphene Materials / L. Tian, X. Wang, L. Cao, M. J. Meziani, C. Y. Kong, F. Lu, and Y.-P. Sun, J. // Journal of Nanomaterials (Online). – 2010. – Т. 2010.
113. Ferrari, A. C. / A. C. Ferrari, J. C. Meyer, V. Scardaci, C. Casiraghi, M. Lazzeri, F. Mauri, S. Piscanec, D. Jiang, K. S. Novoselov, S. Roth, and A. K. Geim.// Phys. Rev. Lett. – 97. – 187401. – 2006.
114. Kuznetsova, I. E. / I. E. Kuznetsova, B. D. Zaitsev, and A. M. Shikhabudinov // IEEE Trans. on Ultras., Ferroel. and Freq. Contr. – 57. – 2099. – 2010.

115. Sabu, T. Polymer composites / T. Sabu, J. Kuruvilla, K. M. Sant, G. Koichi, S. S. Meyyarappallil, I. E. Kuznetsova, B. D. Zaitsev, and A. M. Shikhabudinov // Munich, Germany : Wiley. – 2013. – Vol. 2. – Ch. 2.
116. Kuznetsova, I. E. et al. Acousto-electronic gas sensor based on mushroom mycelial extracts / I. E. Kuznetsova, B. D. Zaitsev, A. M. Shikhabudinov, O.M. Tsvileva, A.N. Pankratov, and E. Verona, // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2017. – T. 243. – C. 525–531.
117. Kosinski, J. A. / J. A. Kosinski, R. A. Pastore, E. Bigler, M. Pereira da Cunha, D. C. Malocha, and J. Detaint // Proceedings IEEE Int. Frequency Control Symp. – 2001. – 278.
118. Chilla, E. et al. Elastic properties of langasite-type crystals determined by bulk and surface acoustic waves // Journal of Applied Physics. – 2001. – T. 90. – №. 12. – C. 6084–6091.
119. Slobodnik, A.J. Microwave acoustic handbook / A.J. Slobodnik, J. R. Conway, R.T. Delmonico // USA : Air Force CRL-TR-73-0597. – 1973. – V.1A.
120. Zhu, Y. New routes to graphene, graphene oxide and their related applications / Zhu Y., James D. K., Tour J. M. // Advanced materials. – 2012. – T. 24. – №. 36. – C. 4924–4955.
121. Anisimkin, V. I. New capabilities for optimizing SAW gas sensors / Anisimkin V. I., Verona E. // IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control. – 2001. – T. 48. – №. 5. – C. 1413–1418.
122. Anisimkin, V. I. Sensing properties of the Anisimkin Jr. acoustic modes in uncoated ST-quartz plates // IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control. – 2013. – T. 60. – №. 10. – C. 2204–2207.
123. Xuan, W. et al. High sensitivity flexible Lamb-wave humidity sensors with a graphene oxide sensing layer // Nanoscale. – 2015. – T. 7. – №. 16. – C. 7430–7436.
124. Borodina, I.A. Acoustic waves in thin plates of lithium niobite / I.A. Borodina, S.G. Joshi, B.D. Zaitsev, I.E. Kuznetsova // Acoustical Physics. – 2000. – T. 46. – №. 1. – C. 33–36.
125. Kuznetsova, I.E. Investigation of acoustic waves in thin plates of lithium niobate and lithium tantalite / I.E. Kuznetsova, B.D. Zaitsev, S.G. Joshi, I.A. Borodina //IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control. – 2001. – T. 48. – №. 1. – C. 322–328.
126. Auld, B.A Acoustic Fields and Waves in Solids // New York : Wiley. – 1973. – vol. 2.
127. Oliner, A.A. Acoustic Surface Waves // Berlin : Springer-Verlag. – 1978. – Topics in Applied Physics. – 24. – Chap. 2,
128. Zaitsev, B.D. Shear horizontal acoustic waves in piezoelectric plates bordered with conductive liquid / I.E. Kuznetsova, B.D. Zaitsev, S.G. Joshi, I.A. Borodina // IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control. – 2001. – T. 48. – №. 1. – C. 627–631.
129. Guo, Y.J. Characterization and humidity sensing of ZnO/42° YX LiTaO<sub>3</sub> Love wave devices with ZnO nanorods / Y.J. Guo, J. Zhang, C. Zhao, J.Y. Ma, H.F. Pang, P.A. Hu, F. Placido,

- D. Gibson, X.T. Zu, H.Y. Zu, Y.Q. Fu // *Materials Research Bulletin*. – 2013. – T. 48. – №. 12. – C. 5058-5063.
130. Tkachev, S.V. Reduced graphene oxide / S.V. Tkachev, A.V. Buslaeva, I.V. Laure, S.P. Gubin // *Inorganic Materials*. – 2012. – T. 48. – №. 8. – C. 796–802.
131. Smirnov, V.A. Effect of humidity on the conductivity of graphite oxide during its photoreduction / V.A. Smirnov, N.N. Denisov, A.E. Ukshe, Yu.M. Shul'ga // *High Energy Chemistry*. – 2013. – T. 47. – №. 5. – C. 242–246.
132. Carlotti, G. et al. Brillouin scattering by surface acoustic modes for elastic characterization of ZnO films // *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*. – 1991. – T. 38. – №. 1. – C. 56-61.
133. Mohanan, A. A. et al. Investigation into mass loading sensitivity of sezawa wave mode-based surface acoustic wave sensors // *Sensors*. – 2013. – T. 13. – №. 2. – C. 2164–2175.
134. Du, X. Y. et al. ZnO film thickness effect on surface acoustic wave modes and acoustic streaming // *Applied Physics Letters*. – 2008. – T. 93. – №. 9. – C. 094105
135. Raj, V. B. et al. Distinct detection of liquor ammonia by ZnO/SAW sensor: Study of complete sensing mechanism // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2017. – T. 238. – C. 83–90.
136. Talbi, A. et al. Pressure sensitivity of Rayleigh and Sezawa wave in ZnO/Si [001] structures // *IEEE Symposium on Ultrasonics, 2003*. – IEEE, 2003. – T. 2. – C. 1338–1341.
137. Prasad, M. Long-term effects of relative humidity on the performance of zno-based mems acoustic sensors / M. Prasad, V. Sahula, V.K. Khanna // *IEEE Transactions on Device and Materials Reliability*. – 2014. – T. 14. – №. 2. – C. 778–780.
138. Ono, S. Surface-acoustic-wave properties in ZnO-SiO<sub>2</sub>-Si layered structure / S. Ono, K. Wasa, S. Hayakawa // *Wave Electronics*. – 3. – 1977. – P. 35–49.