



Приета: 18.03.2016 г.  
Преработена: 11.04.2016 г.  
Одобрена: 22.04.2016 г.

## ВЪРХУ НЯКОИ НОВИ ЕФЕКТИ В НАНОТЪНКИ ОРГАНИЧНИ МОНОСЛОЕВЕ. ВЪЗМОЖНИ ПРИЛОЖЕНИЯ ЗА КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО НА ВОДАТА

Г. Иванов<sup>1</sup>

*Ключови думи:* Лангмюир-Блоджетови филми, Лангмюирови филми, тънки филми, фосфолипиди, биосензори, контрол на качеството на водата

### РЕЗЮМЕ

Замърсяването на водите е основен глобален проблем. Предполага се, че замърсяването на водата е най-големият в света причинител на смъртни случаи и заболявания, и че тя води до смъртта на повече от 14 000 души дневно. Предприети са политически действия, за да се справят с нови или появяващи се вещества като микро-пластмаси, фармацевтични продукти, омокотители и т.н. Европейският съюз въвежда по-ефективен мониторинг на питейната вода в края на 2015 г. Сред обещаващите разработки са биосензори, които използват свързването на прицелното съединение с биологични агенти като антитела, ензими, ДНК рецептори и клетки. Част от това развитие е представеното тук изследване на нанотънки органични монослоеви от флуоресцентно маркирани фосфолипиди, основно маркиран в главата с нитробензоксадиазол дипалмитоил фосфатидил етаноламин (DP-NBD-PE). NBD хромофорът е много подходящ и е бил успешно използван в биосензорни приложения благодарение на неговата висока чувствителност към полярността на средата в непосредствена близост. През годините сме открили 3 нови ефекта в NBD маркирани фосфолипиди, които могат значително да подобрят ефективността на биосензорите. Фосфолипид – матрицата осигурява гъвкава биосъвместима среда за обездвижване на селективно взаимодействащите ензими, микроорганизми, ДНК, имуноагенти, цели клетки. Първият нов ефект е самогасене на флуоресценцията в монослоеви на интерфейса вода-въздух и отложен като Лангмюир-Блоджетов (ЛБ) филм. Филмите в течна фаза проявяват нормална флуоресценция. При преход към твърда фаза

---

<sup>1</sup> Георги Иванов, доц. д-р, кат. „Физика“, УАСГ, бул. „Хр. Смирненски“ № 1, 1046 София, e-mail: george@at-equipment.com

интензитетът на флуоресценцията е почти напълно самозагасен и времето на живот на флуоресценцията намалява близо 2 пъти. Това са лесно измерими ефекти, които предлагаме как да се използват за биосензорни приложения. Обикновено големите тежки метални атоми гасят флуоресценцията. Ние наблюдавахме обратния нов ефект – възстановяване на флуоресценцията, когато ЛБ филм се нанася в твърда фаза и във водната подложка се съдържат тежки метали. Третият нов ефект е получаването на наноразмерни цилиндри, с дебелина от два слоя молекули, които остават стабилни най-малко в продължение на месеци, когато LB монослой се отлага в района на фазово съществуване при термодинамично равновесие. Това би увеличило значително взаимодействието повърхност и чувствителност на евентуални сензори.

## 1. Въведение

Замърсяването на водите е основен глобален проблем. Предполага се, че замърсяването на водата е най-големият в света причинител на смъртни случаи и заболявания [1], и че то е отговорно за смъртта на повече от 14 000 души дневно [2]. Около 580 души в Индия умират от заболявания, причинени от замърсяването на водите всеки ден, около 90% от водата в градовете на Китай е замърсена и спрямо 2007 г. половин милиард китайски жители не са имали достъп до безопасна питейна вода [3]. В допълнение към остри проблеми на замърсяването на водите в развиващите се страни, в развитите страни също продължават да се борят с проблемите на замърсяването. Така например, в най-новия национален доклад за качеството на водата в САЩ 45% от потоците, 47% от площта на езерата и 32% от заливите са били класифицирани като замърсени [4]. Политически действия се предприемат, за да се справят с нови или появяващи се вещества като микропластмаси, фармацевтични продукти, омекотители и т.н. Европейският съюз въвежда по-ефективен мониторинг на питейната вода за по-добра защита на общественото здраве в края на 2015 г. [5]. Окончателният проект на доклада за оценка на ЕС Директивата за питейните води (DWD) направи някои важни препоръки [6]. Той установява някои нови важни параметри, които трябва да бъдат наблюдавани, за да се защити здравето на човека като: хром Сг, перфлуорирани съединения, някои видове ендокринни разрушаващи съединения, и наночастици.

Последните постижения в комуникациите и сензорните технологии подпомагат напредъка при възможностите за отдалечен мониторинг на качеството на водата. В резултат на това, способността да се характеризират динамични хидроложки свойства при подходящи времеви и пространствени скали се е подобрила значително. Тези постижения са довели до подобряване на статистическата и механистична компонента при моделиране на тенденциите за качеството на водите. В допълнение те са увеличили значително бързо действието (дори в реално време) за откриване на хидроложката вариабилност, призната като критичен проблем от системите за ранно предупреждение и бързо реагиране на вредни цъфтежи на водорасли. Параметри, за които компаниите от сектора изразяват интерес от по-надеждна техника за наблюдение, включват: органичните замърсители с ниски концентрации, пестициди, въглеродороди, бромови съединения, озон, общ азот, ултравиолетови изследвания на дължина 254 nm, нитрати и бактерии [7]. Обещаващи разработки според тях са: биосензори, които използват селективното свързване на изследваното съединение с биологични молекули като антитела, ензими, ДНК рецептори и клетки. Част от това развитие е предлаганото тук изследване на неразтворими органични монослоеве на интерфейса вода-въздух (Лангмюирови филми) и отложени върху твърди подложки по метода на Лангмюир и Блоджет (ЛБ) филми. Изследвали сме

флуоресцентно маркирани фосфолипиди, най-вече маркиран в главата с Нитробензоксадиазол (NBD) дипалмитоил фосфатидил етаноламин (DP-NBD-PE).

Наблюдаваната силна чувствителност на спектралните характеристики на NBD хромофора (абсорбция при 465 nm, флуоресценция при 540 nm) от полярността на околната среда прави тази молекула отличен сензор за промени в мембраната. Сравнение на различни флуорофори, свързани към една и съща позиция на белтък показва, че NBD-групата дава най-висока чувствителност, обикновено 4 пъти по-добра от следващите флуорофори [8 и позоваванията там]. Поставянето на селективния протеин във фосфолипидната матрица, който симулира биологичната мембрана в живата природа, осигурява подобрена стабилност срещу денатурацията на протеина и дава възможност за биосензори с подобрен оперативен живот. Смесени липидни монослоеви, съдържащи малки количества от DP-NBD-PE, са показали, че са в състояние да конвертират промени в рН, дължащи се на хидролитичната активност на ензим на интерфейса на мембраната. Тази схема за преобразуване се използва за определяне на ацетилхолин от ацетилхолинестераза [9] и уреа с уреаза [10]. При тези изследвания се добавя малка концентрация (около 1 mol%) от DP-NBD-PE и съответния ензим във фосфолипидната мембрана. Промени в интерфейското рН, причинени от хидролитичната реакция на ензима, водят до промяна на йонизация на фосфолипидите глави на молекулите. Това води до промяна в силите на електростатичното отблъскване между съседните глави. Структурни промени в мембраната могат да доведат до аналитичен сигнал под формата на промяна на интензитета на флуоресценцията и позицията на максимума на пика. Напоследък NBD белязани молекули са използвани като сензори за фосфатидилсерин, съдържащи мембрани [11], цистеин/хомоцистеин [12] и за селективни химически изследвания на опасни съединения и наркотици [13].

Отвъд интереса към използване на NBD маркираните фосфолипиди за химически и биосензорни приложения те са и от значителен интерес за по-добро разбиране на Лангмюировите филми и за нанасянето им върху твърда подложка като ЛБ филми, и техните биомиметични свойства за изясняване например на взаимодействията между липидните молекули в биомембраните. Изследването на фосфолипидни молекули има две специфични предимства. Първо, тези молекули имат много богат полиморфизъм на интерфейс вода-въздух, който лесно се визуализира с помощта на флуоресцентна микроскопия с добавянето на обикновено 1 mol% от флуоресцентно багрило [14]. И второ, тъй като фосфолипидите са голям процент от биологичните мембрани, тяхното изследване в моделни системи може да подобри нашето разбиране за живата природа. Но тяхното изследване като ЛБ филми е трудно, защото почти винаги могат да се отложат максимум 2 слоя и така изследователските техники, които изискват периодична структура като например малко-ъглова рентгенова дифракция (XRD), са неизползваеми. Също например поляризираната Фурие-трансформирана инфрачервена спектроскопия не е достатъчно чувствителна за работа с монослоеви. Освен това добавянето на флуоресцентен маркер може да промени морфологията на филма [20]. Тези проблеми могат да бъдат отстранени, ако се използва монослой от само DP-NBD-PE молекули. Ние открихме, че възможността за наблюдения с висок контраст при използване на флуоресцентна микроскопия се дължи на самогасенето на флуоресценцията, когато молекулите се намират в твърда фаза на малки разстояния една от друга [16]. Висококачествени ЛБ многослойни структури с оглед ориентационна подреденост и повторяемост на бислойната структура бяха постигнати, когато отлагането се извършва в твърда фаза при високи налягания [17, 18]. Един въпрос, на който не може да се даде еднозначен отговор, е до каква степен DP-NBD-PE може да служи като модел на естествените фосфолипиди в биологичните мембрани. Ние показахме, че тази молекула има подобни изотерми, полиморфизъм, площ на молекула в кондензираната фаза [16] и конформация

[17] като съответния фосфолипид. Предишни изследвания са показали също, че DP-NBD-PE има подобни алкално-киселинно равновесни свойства [19] и подобни дифузионни коефициенти при различни температури [20] като DPPE молекулата. Въпреки че областта на използване на флуоресцентно маркирани липиди е нараснала през годините с въвеждането на нови флуоресцентни маркери, NBD маркираните липиди продължават да са популярен избор в мембранните и клетъчните биологични проучвания поради важни флуоресцентни характеристики на NBD хромофора [21, 22].

## 2. Материали и методи

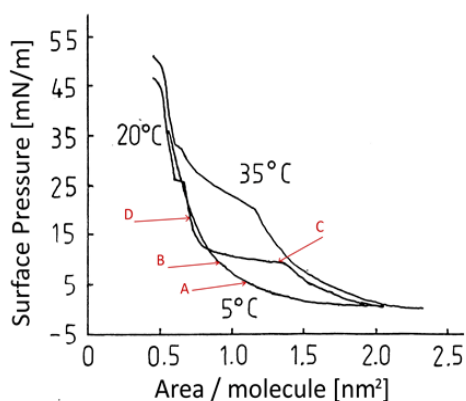
DP-NBD-PE (Sigma) се доставя в разтвор от хлороформ с концентрация 1 mg/ml. Декларираната чистота е над 98% и се използва без допълнително пречистване. Използвана е Milli Q филтрирана ултра-чиста вода. Флуоресцентната микроскопия на интерфейса въздух-вода използва режим на епифлуоресценция, осветление с мощна живачна лампа и фотокамера с висока чувствителност. ЛБ монослоеве се отлагат върху микроскопски слайдове или кварцово стъкло за подложка. В някои случаи отлагане се провежда едновременно на микроскопски предметни стъкла и на окислени Si шайби, които имат по-малка грапавост (под 0.1 nm) за измерванията с Атомно-Силова Микроскопия (АСМ). Предметните стъкла не гасят флуоресценцията. За по-добро почистване се използва средна по размер ЛБ вана, изработена от цяло парче от тефлон, произведена от Адванс Технолоджис ЕООД (София, България). Точността на измерване на площта е над 0.001 nm<sup>2</sup>/молекула и точността на измерване на повърхностното налягане е над 0.1 mN/m с 10 пъти по-висока разделителна способност. Бавни скорости на компресия, обикновено около 0.02 nm<sup>2</sup>/min се използват. Предишни данни показват [17], че при тези скорости не се наблюдават кинетични ефекти. ЛБ монослоеве бяха отложени при движение нагоре на подложката със скорост от 1.5 mm/min. За АСМ измерванията, които дават субмикронна разделителна способност, се използва SPI 3700 контролер със SPA-300 измервателната глава (Seiko Instruments Inc., Япония) в динамичен режим за отчитане на топографията.

## 3. Нови ефекти, открити от нас

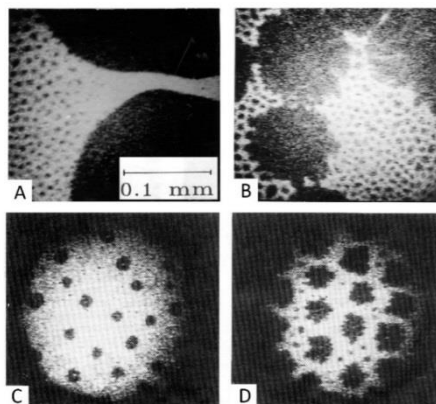
В последните 25 години ние сме фокусирали изследванията си върху Лангмюир и ЛБ филми от флуоресцентно маркирани фосфолипиди, най-вече DP-NBD-PE. Такъв продължителен фокус и систематичен подход с използване на почти всички възможни експериментални техники и числено моделиране ни позволи да открием 3 нови ефекта. Първият е самогасене на флуоресценцията в Лангмюир [16] и ЛБ филми [23]. Изотерми на Лангмюирови филми от DP-NBD-PE върху чиста водна субфаза бяха измерени при различни температури и са показани на фиг. 1.

По време на компресията на Лангмюировия филм беше измерена и флуоресцентната микроскопия на монослоя. Някои примерни снимки са показани на фиг. 2. При 5 °C няма фазов преход от първи род (характеризиращ се с почти хоризонталния участък на фиг. 1 при 20 °C). Преходът е директно от газова към твърда фаза. В твърдата фаза флуоресценцията е почти изцяло самозагасена (тъмните области на фиг. 2), дължащи се на безизлъчвателен енергиен трансфер между NBD групите, когато молекулите са достатъчно наблизо една до друга, както е в твърдата фаза. В течна фаза флуоресценцията остава силна, само частично намалява поради взаимодействие с водата. Този нов ефект

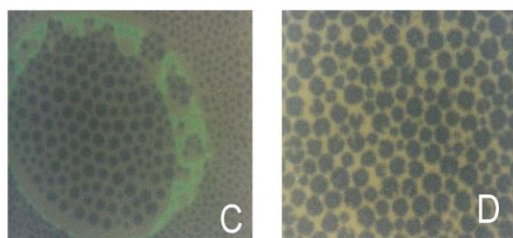
на самогасене на флуоресценцията, открит от нас, се запазва и при отлагане на монослой върху твърда подложка като ЛБ филм (фиг. 3). По време на процеса на прехвърляне се запазва структурата на филма, както се вижда от флуоресцентната микроскопия. По-подробно това е дискутирано от нас в [23].



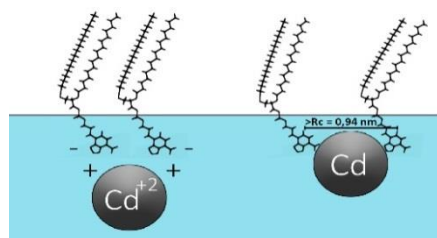
**Фиг. 1.** Изотерми на Лангмюрови филми от DP-NBD-PE върху чиста водна субфаза при различни температури (модифицирано от [24])



**Фиг. 2.** Флуоресцентна микроскопия на Лангмюров филм от DP-NBD-PE на интерфейса вода-въздух при различни повърхностни налягания, означени с червени стрелки на фиг. 1 и при различни температури: 5 °C – A) и B); 20 °C – C) и D) [24]



**Фиг. 3.** Флуоресцентна микроскопия на ЛБ монослой от DP-NBD-PE отложен от чиста вода върху подложка при стайна температура. Показани са някои дефекти (лявата картинка). Сравнението с фиг. 2C например показва, че при отлагане структурата се запазва

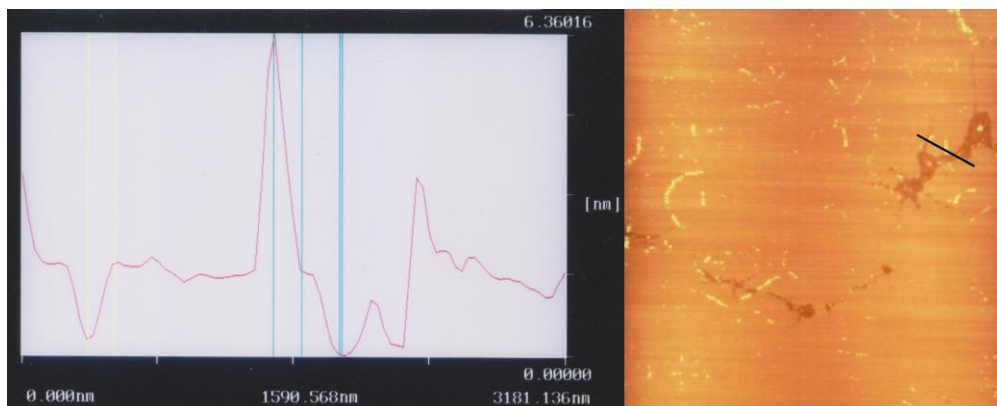


**Фиг. 4.** Приложение на втория нов ефект за откриване на замърсители на тежки метали във водата. Отдясно металният йон се е вмъкнал между молекулите в твърда фаза, раздалечил ги е и е възстановил флуоресценцията

Друго ново явление, открито от нас, е илюстрирано на фиг. 4. Големите парамагнитни метални атоми са известни като добри гасители на флуоресценцията. Въпреки това при нас наблюдаваме обратния ефект. Ако има големи многовалентни метални йони във водната субфазата и ЛБ монослой е отложен при големи налягания в твърдата фаза на DP-NBD-PE молекулата, то се наблюдава възстановяване на флуоресценцията. Големите многовалентни положително заредени метални йони електростатично взаимодействат с близко разположените в твърдата фаза отрицателно заредени DP-NBD-PE молекули като се вмъкват между главите и така увеличават разстоянието между тях над критичното разстояние  $R_c = 0.94 \text{ nm}$ , при което се гаси флуоресценцията и така флуорес-

ценцията се възстановява. Този ефект засега сме го наблюдавали само с кадмиеви (Cd) йони. Cd е много опасен за здравето замърсител, спадащ към групата на тежките метали. Предлагаме този ефект да се използва за експресен анализ на замърсяването с тежки метали във водата (фиг. 4). Причините и механизма, по който става самогасенето на флуоресценцията, подробно сме разгледали в [23].

Третият нов, открит от нас, ефект е получаването на 3-мерни цилиндри с диаметри от няколкостотин нанометра с бислойна височина от около 6 nm в условията на термодинамично равновесие. Той е илюстриран на фиг. 5. Този ефект противоречи на закона за фазовото съществуване в термодинамиката, който гласи, че при изотерма от еднокомпонентна система могат да съществуват само 2 фази, при нас течна фаза и твърда фаза. А бислойните цилиндри се явяват 3-та фаза. Такива явления са наблюдавани, но над състоянието на термодинамично равновесие. Докато при нас термодинамичното равновесие при стайна температура за DP-NBD-PE е при 19.6 mN/m [18], то 3-мерните цилиндри се наблюдават още при 7 mN/m. Това явление може би показва, че при наноразмерите класическата термодинамика не работи и затова дори е въведен терминът нанотермодинамика. Този ефект води до значително по-разгърнати повърхности и следователно до много по-голяма контактна повърхност на един потенциален сензор с изследваното вещество в разтвора. Това би могло да даде сензори с много по-голяма чувствителност.

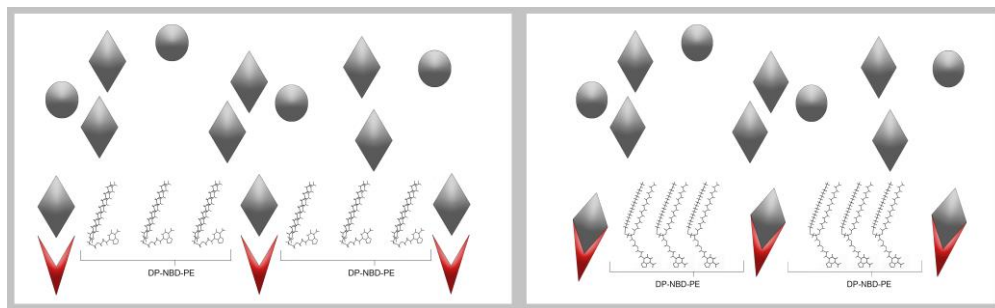


**Фиг. 5.** Визуализация на 3-тия нов ефект, открит от нас за ЛБ монослой от DP-NBD-PE молекули, отложен при стайна температура и при налягане от 27 mN/m, но ефектът се наблюдава още над 7 mN/m. Измерването е направено с Атомно-Силова Микроскопия и топографията вдясно е с размер 20  $\mu\text{m}$ . По-светлото е по-високо. Напречно сечение по черната линия е показано вляво. Дъното на картината е нивото на течната фаза, 1.6 nm високо е твърдата, а по средата е 3-мерния цилиндър с полуширина около 160 nm и височина около 6 nm

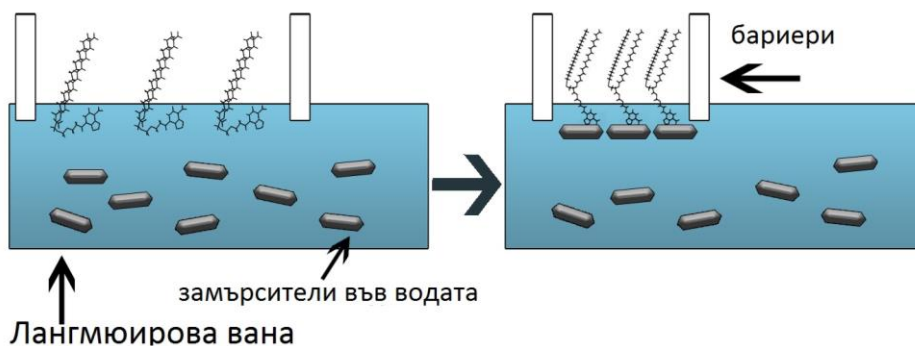
#### **4. Приложение на тези нови ефекти за контрол на качеството на водите**

Три варианта за приложение на тези 3 нови, открити от нас, ефекта за измерване на много малки замърсявания на водите сме разработили на концептуално ниво. Единият вариант, за изследване замърсителите от тежки метали, го показвахме на фиг. 4. Другите два варианта са представени по-надолу. Принципът на работа и на двата

варианта е илюстриран на фиг. 6. Флуоресцентно маркираните фосфолипиди са отлична биосъвместима матрица, в която могат да се смесят молекули (например белтъци), които селективно да реагират с изследваното вещество в разтвора (водата). На фиг. 6 тези селективно реагиращи молекули могат да се свързват само с ромбчетата от разтвора, но не и с кръгчетата. Това би могло да доведе до конформационни промени и нарастване на двумерното налягане, което от своя страна може да преобразува част от DP-NBD-PE молекулите от течна в твърда фаза и вследствие на ефекта на самогасене на флуоресценцията до лесно измерим оптичен сигнал.



**Фиг. 6.** Принцип на работа на някои от вариантите за приложение на монослоевете от DP-NBD-PE молекули са сензорни приложения. Селективно свързващите се молекули отляво са разположени сред матрица от DP-NBD-PE молекули в течна фаза – вляво. След свързването е възможно увеличение на двумерното налягане, което да преобразува част от DP-NBD-PE молекули от течна в твърда фаза (вдясно), което поради открития от нас ефект на самогасене на флуоресценцията ще доведе до лесно измерим оптичен сигнал



**Фиг. 7.** Вариант за експресен анализ на качеството на водата. Използва се Лангмюирова вана, на чиято повърхност е разстлан слой от DP-NBD-PE молекули. Слойта се компресира с барьерите до областта на фазово съществуване между течната и твърдата фаза. Замърсителите от водата могат да се адсорбират към слоя на повърхността (показано) или да проникнат между DP-NBD-PE молекулите (не е показано), което да доведе до конформационни промени от течна (вляво) в твърда фаза (вдясно) със съответно значително самогасене на флуоресценцията, която лесно може да бъде измерена. В монослоя на повърхността могат да се смесят и селективно реагиращи на замърсители молекули и да се използва ефектът, описан във фиг. 6

Повърхностните свойства на природните води вече успешно се използват за оценка на чистотата на водните басейни. Предложена е базирана на Лангмюиров моно-

слой техника, при която се измерват изотермите повърхностно налягане – площ за една молекула. Вземат се проби от различни естествени водоеми и се получават така наречените „структурни подписи“ на водата, които адекватно прогнозира качеството и чистотата на басейна [25]. Основно предимство на тази техника на Лангмюировия филм е, че той съчетава лесна употреба, висока чувствителност и възможност за бързо прилагане в полеви условия с много по-ниска цена в сравнение с най-често използваните техники на хроматография в лабораторни условия. Като използваме принципа на работа, описан от фиг. 6, ние предлагаме начин да се повиши чувствителността на измерванията при употребата на Лангмюиров филм от DP-NBD-PE молекули (фиг. 7). Сама по себе си тази молекула е чувствителна към полярността на близкото си обкръжение и ако към нея се абсорбира слой от замърсители (показано на фигурата), то това би дало измерим сигнал. Друга възможност е замърсителите да проникнат между DP-NBD-PE молекулите, което да доведе до повишаване на повърхностното налягане, преминаване на част от молекулите от течна в твърда фаза и поради ефекта на самогасенето до лесно измерим оптичен сигнал.

Друг вариант на приложение на ефекта, описан на фиг. 6, е смесеният слой от DP-NBD-PE молекули и селективно реагиращият на замърсители белтък да се отложи по ЛБ метода върху твърда подложка и така да се получи високо селективен сензор. Една матрица от такива сензори може да реагира на различни замърсители и да даде информация за различните замърсители, както и да елиминира фалшивите положителни сигнали. Допълнително повишаване на чувствителността на такъв твърдотелен сензор ще се получи поради описания на фиг. 5 ефект на значително повишаване на контактната повърхност. Поради факта, че активната част на тези сензори е изключително тънка – около 6 nm – и липсват бавни дифузионни процеси в обема на сензора, то те са и много бързи. Както беше написано в увода, индустрията е идентифицирала това направление на развитие – биосензори за органични замърсители с малки концентрации – като особено перспективно.

## 5. Заключение

През годините сме открили 3 нови ефекта за неразтворими монослоеве на интерфейса вода-въздух (Лангмюирови филми) и отложени по метода на Лангмюир и Блоджет (ЛБ) филми върху твърда подложка от флуоресцентно маркирани в главата фосфолипиди DP-NBD-PE. Първият ефект е самогасене на флуоресценцията в Лангмюирови филми, когато молекулите преминават от течна фаза в твърда фаза. Вторият ефект е свързан с възстановяването на флуоресценцията, когато монослой в твърда фаза взаимодейства с големи многовалентни метални йони. Третият ефект е формирането на 3-мерни цилиндри с бислойна височина в областта на термодинамичното равновесие. Тези фосфолипидни молекули са отлична матрица, в която могат да се смесят молекули, които селективно да реагират на малки замърсители във водата. Първият начин на приложение на тези ефекти е да се използва такава смес като Лангмюиров филм и с помощта на портативна Лангмюирова вана да се прави директен анализ на замърсители във водата. Наличието на тежки метали ще доведе до възстановяване на самозагасената флуоресценция поради втория, открит от нас, нов ефект и може да бъде експресен метод за анализа им. Сместа на DP-NBD-PE молекулите със селективно реагиращите молекули може да се отложи като ЛБ филм на твърда подложка и да бъде твърдотелен биосензор за откриване на малки замърсители. Индустрията счита това за перспективно направление за развитие. Третият нов ефект ще доведе до много по-голяма контактна площ на



активния биосензорен слой с изследвания замърсител във водата и до много по-висока чувствителност. Тези разработки подлежат на патентна защита, систематични измервания с това и други подобни вещества и последващи публикации на ефектите и приложенията им във висококачествени международни списания.

## Благодарности

Настоящата научноизследователска разработка по договор БН-176/2015 е подкрепена финансово от Център за научни изследвания и проектиране при УАСГ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Pink, D. H.* (19 April, 2006). Investing in Tomorrow's Liquid Gold.
2. *West, L.* (03-26-2006). World Water Day: A Billion People Worldwide Lack Safe Drinking Water.
3. Water pollution, Wikipedia, [https://en.wikipedia.org/wiki/Water\\_pollution](https://en.wikipedia.org/wiki/Water_pollution)
4. National Water Quality Inventory Report to Congress, <http://www.epa.gov/waterdata/national-water-quality-inventory-report-congress>
5. European Commission – Press release: EU introduces more efficient monitoring of drinking water for better protection of public health – Brussels, 28 October 2015, [http://europa.eu/rapid/press-release\\_IP-15-5940\\_en.htm](http://europa.eu/rapid/press-release_IP-15-5940_en.htm)
6. Draft Final Report 3 December 2015. Evaluation of the EU Drinking Water Directive, [http://www.safe2drink.eu/wp-content/uploads/2015/12/Draft\\_Final\\_DWD\\_Evaluation\\_Report.pdf](http://www.safe2drink.eu/wp-content/uploads/2015/12/Draft_Final_DWD_Evaluation_Report.pdf), Ecorys
7. Real-time on-line monitoring of contaminants in water, Kiwa Water Research, Nieuwegein, The Netherlands, 2008.
8. *Brennan, J. D., Flora, K. K., Bendiak, G. N., Baker, G. A., Kane, M. A., Pandey, S., Bright, F. V.* (2000). Phys. Chem. B, Vol. 104, p. 10100.
9. *Brennan, J. D., Krull, U. J.* (1992). Chemtech, Vol. 22, p. 227.
10. *Brennan, J. D., Brown, R. S., Delia Manna, A., Kallury, K. M. R., Piunno, P. A., Krull, U. J.* (1993). Sens. Act. B, Vol. 11, p. 109.
11. *Lakshmi, C., Hanshaw, R. G., Smith, B.D.* (2004). Tetrahedron 60 (49) pp 11307 – 11315.
12. *Chen, Y-H., Tsai, J-C., Cheng, T-H., Yuan, S-S., Wang, Y-M.* (2014). Biosensors and Bioelectronics, 56, pp 117 – 123.
13. *Sharma, P. S., D'Souza, F. Kutner, W.* (2012). Trends in Analytical Chemistry 34, pp 59 – 77.
14. *Kjaer, K., Als-Nielsen, J., Helm, C. A., Laxhuber, L. A., Mohwald, H.* Phys. Rev. Lett. 58 (1987) 2224.

15. *Chi, L. F., Anders, M., Fuchs, H., Johnston, R. R., Ringsdorf, H.* Science 259 (1993) 213.
16. *Ivanov, G. R.* Chem. Phys. Lett. 193 (1992) 323.
17. *Lukes, P. J., Ivanov, G. R., Petty, M. C., Yarwood, J., Greenhall, M. H., Lvov, Y.* Langmuir 10 (1994) 1877.
18. *Ivanov, G. R., Georgiev, G., Lalchev, Z.* Book chapter „Fluorescently Labelled Phospholipids – New Class of Materials for Chemical Sensors for Environmental Monitoring“ in „Relevant Perspectives in Global Environmental Change“. Julius Ibukun Agboola (Ed.), (2011) ISBN: 978-953-307-709-3, InTech, Rijeka.
19. *Chattopadhyay A., London, E.* Biochim. Biophys. Acta 938 (1988) 24.
20. *Rubenstein, J. L. R., Smith, B. A., McConnell, H. M.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76 (1979) 15.
21. *Haldar, S., Chattopadhyay, A.* Chapter „Fluorescent Methods to Study Biological Membranes“. Vol. 13 of the series Springer Series on Fluorescence (2012) pp 37 – 50.
22. *Lin, Q., London, E.* Biophysical J., 108 (2015) pp 2212 – 2222.
23. *Ivanov, G. R.*, J. Nanoscience and Nanoengineering, под печат.
24. *Ivanov, G. R., Geshev, N. I.* Journal of Physics: Conference Series 682 (2016) 012037.
25. *Pogorzelski, S. J.* Structural and thermodynamic characteristics of natural marine films derived from force-area studies. Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects., 189 (2001) pp 163 – 176.

## **ON THE SEVERAL NEW EFFECTS IN NANOTHIN ORGANIC MONOLAYERS. POSSIBLE APPLICATIONS FOR WATER QUALITY CONTROL**

**G. Ivanov<sup>1</sup>**

**Keywords:** *Langmuir-Blodgett films, Langmuir films, thin films, phospholipids, biosensors, water quality control*

### **ABSTRACT**

Water pollution is a major global problem. It has been suggested that water pollution is the leading worldwide cause of deaths and diseases, and that it accounts for the deaths of more than 14 000 people daily. Secondary water contamination poses significant challenges to the

---

<sup>1</sup> George Ivanov, Assoc. Prof. Dr. Eng., Dept. “Physics”, UACEG, 1 H. Smirnenki Blvd., Sofia1046, e-mail: george@at-equipment.com

sensitivity and selectivity of sensors used for its detection and monitoring. Currently only lab tests can detect these contaminants and by the time this happens the contaminated water has entered the city water supply system. Fluorescent chromophore nitrobenzoxadiazole (NBD) is very suitable and had been successfully used in biosensor applications due to its high sensitivity to close proximity polarity of the medium. Over the years we have discovered 3 new effects in NBD-labelled phospholipids which can significantly improve the performance of biosensors. The phospholipid matrix provides flexible biocompatible environment for immobilization of selectively reacting enzymes, microorganisms, DNA, immunoagents, whole cells. Use of single layer (3.1 nm thickness) films at the air-water interface (Langmuir films) or deposited on solid support as Langmuir-Blodgett (LB) film gives fast response times for real time monitoring (no slow diffusion processes) and precise molecule ordering and orientation. The first new effect was fluorescence self-quenching in Langmuir and LB films. In the liquid phase films exhibit normal fluorescence. Upon transition to solid phase fluorescence intensity is almost completely self-quenched and fluorescence lifetimes in the nanosecond region decrease 2 times. This is easily measured. Usually large heavy metal atoms quench fluorescence. We observed the opposite new effect when LB film is deposited in the solid phase from a subphase containing heavy metals. The third new effect is the obtaining of nanosized cylinders with bilayer thickness which remain stable at least for months, when LB monolayer is deposited in the phase coexistence region at thermodynamic equilibrium. This greatly increases reacting surface and sensitivity of possible sensors. Almost all possible optical experimental methods were used for this research.

