

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
"УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ"

Трикур Іван Іванович

УДК 539.23:539.25

**ОДЕРЖАННЯ ПЛІВКОВИХ СТРУКТУР НА ОСНОВІ
БАКТЕРІОРОДОПСИНУ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ВОЛОГОСТІ
Й АМІАКУ НА ЇХ ОПТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

01.04.10 – фізика напівпровідників і діелектриків

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

Ужгород - 2015

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Науково-дослідному інституті фізики і хімії твердого тіла та на кафедрі твердотільної електроніки з/с інформаційної безпеки ДВНЗ «Ужгородський національний університет» Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник - доктор фізико-математичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України
Різак Василь Михайлович,
ДВНЗ «Ужгородський національний університет» МОН України, завідувач кафедри твердотільної електроніки з/с інформаційної безпеки.

Офіційні опоненти - доктор фізико-математичних наук, старший науковий співробітник.
Гомоннай Олександр Васильович,
Інститут електронної фізики НАН України, завідувач відділу матеріалів функціональної електроніки.

доктор фізико-математичних наук, професор,
Свелеба Сергій Андрійович
Львівський національний університет імені Івана Франка МОН України, професор кафедри оптоелектроніки та інформаційних технологій.

Захист відбудеться «30» жовтня 2015 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 61.051.01 при державному вищому навчальному закладі "Ужгородський національний університет" Міністерства освіти і науки України за адресою: 88000, м Ужгород, вул. Волошина 54, ауд. 181.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці ДВНЗ «Ужгородський національний університет» (м. Ужгород, вул. Університетська, 14).

Автореферат розісланий « 29 » вересня 2015 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради



доктор фіз.-мат. наук,
проф. Міца В. М.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Бурхливий розвиток фундаментальних досліджень властивостей біоорганічних матеріалів, активне опрацювання проблем інтеграції матеріалів і принципів біотехнології для синтезу елементів і функціональних середовищ, які є базисом технічних систем реєстрації, перетворення, збереження та передачі інформації, дозволяють розробляти та створювати нові класи матеріалів та структур із розширеними функціональними можливостями та покращеними експлуатаційними характеристиками. Представником такого класу матеріалів є нанокомпозитні структури на базі бактеріородопсину (БР), які мають діелектричні властивості. Чутливість до всіх параметрів оптичного випромінювання, практично необмежена реверсивність, надшвидка фотоіндукована зміна властивостей при високих значеннях контрастності та відсутності рефрактерного періоду, висока роздільна здатність, можливість напрямленої модифікації параметрів матеріалу завдяки детальним відомостям про будову та механізм функціонування молекули разом з екологічною чистотою виробництва та практично необмеженими ресурсами робить БР одним із найбільш перспективних матеріалів для сучасних пристроїв.

З точки зору прикладного застосування найбільш зручним є використання плівкових структур на основі БР. Надзвичайно цікаві властивості можуть мати плівки на основі БР, до складу яких входять напівпровідникові квантові точки. Аналіз результатів досліджень різних авторів з вивчення оптичних властивостей плівкових структур на основі БР засвідчує можливість вирішення цілого ряду практичних завдань у галузі оптоелектроніки та біосенсоріки за допомогою таких матеріалів. Прикладний аспект використання передбачає функціонування БР в умовах, відмінних від умов нативного організму. Це вносить свої зміни в динаміку перебігу фотоциклу, що виражається у зміні фоточутливості, спектральних характеристик, динаміки фотоіндукованих змін тощо. Крім того, на характеристики плівок може впливати методика нанесення, матеріал матриці та наявність хімічних домішок, зміна параметрів навколишнього середовища (вологість, наявність певних газів, зміна температури, тиску). Водночас попри велику кількість робіт, спрямованих на дослідження механізму функціонування молекули БР та можливостей його модифікації у визначеному напрямку, на момент початку досліджень, результати яких викладено у дисертації, порівняно невелика кількість робіт була присвячена дослідженню безпосередньо плівкових структур і впливу таких факторів, як тип матриці та методика отримання на їх кінцеві властивості. Також недостатньо повно вивчено вплив різних газів на перебіг фотоциклу та динаміку зміни оптичних властивостей плівок на основі БР.

Таким чином, актуальність роботи обумовлена необхідністю проведення комплексних експериментальних досліджень залежності структури та характеристик плівок БР від методики отримання та очистки самого БР, типу матриці та методики нанесення плівок. Також, актуальним є дослідження впливу зміни вологості та хімічного складу навколишнього середовища на властивості плівок БР з метою використання цього матеріалу як активного середовища для біосенсорів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами. Робота виконана в Науково-дослідному інституті фізики і хімії твердого тіла та на кафедрі твердотільної електроніки з/с інформаційної безпеки ДВНЗ "Ужгородський національний університет". Дисертаційне дослідження є складовою частиною таких науково-дослідних тем: 2004-2005 рр. НДР-№0103U001705 «Світлочутливі плівкові структури на основі бактеріородопсину для оптоелектронних пристроїв» (тема ДБ-531); 2006-2008 рр. НДР-№0105U007691 «Чутливі елементи хімічних сенсорів на основі плівкових наноконкомпозитів з фотохромним компонентом та квантовими точками» (тема ДБ-619); 2009-2010 рр. НДР-01090000885 «Чутливі елементи біосенсорів на основі наноконкомпозитних оптичних структур з фотохромними біомолекулами та кальцій-фосфатних біосумісних матеріалів» (тема ДБ-726); 2011-2012 рр. НДР-0111U001651 «Біосенсори анестетиків з чутливим елементом на основі фотохромних біомолекулярних наноконкомпозитних оптичних структур» (тема ДБ-773); 20013-2014 рр. НДР-0113U002358 «Розробка наноконкомпозитних чутливих елементів біосенсорів на основі бактеріородопсину з використанням золь-гельних матриць та квантових точок» (тема ДБ-831П). У всіх науково-дослідних проектах автор є виконавцем.

Метою роботи є оптимізація методик отримання БР та виготовлення плівок на його основі, встановлення загальних закономірностей зміни характеристик плівок залежно від рівня вологості та концентрації аміаку в навколишньому середовищі, розробка та обґрунтування універсальних механізмів впливу зовнішніх факторів на динаміку фотоіндукованих процесів у плівках БР. Для досягнення поставленої мети передбачено вирішення таких **завдань**:

- вивчення впливу спектрального складу освітлення на продуктивність отримання БР;
- дослідження залежності оптичних параметрів плівок на основі БР від штаму галобактерій, з яких він отриманий, методики очистки БР та підготовки плівкоутворюючої суміші;
- вивчення можливості використання напівпровідникових квантових точок для створення наноконкомпозитних структур на основі БР, у яких запуск фотоциклу здійснюється люмінесцентним випромінюванням квантових точок;
- створення методики отримання плівок БР із визначеними оптичними характеристиками у неорганічних золь-гельних матрицях;
- дослідження та порівняння морфології поверхні та перерізів плівок БР, отриманих із використанням різних матриць та різних методів нанесення;
- проведення порівняльного дослідження впливу вологості на оптичні параметри плівок БР у різних матрицях;
- дослідження впливу аміаку у парогазових та водних розчинах на оптичні властивості плівок БР та вивчення залежності величини індукованих аміаком змін від типу матриці та хімічного складу плівок.

Об'єктом дослідження є процеси взаємодії фрагментів пурпурних мембран з матеріалом органічних та неорганічних матриць, водою, аміаком та іншими хімічними сполуками, а також явища, які відбуваються у плівках

бактеріородопсину, до складу яких входять напівпровідникові квантові точки з люмінесценцією в області спектру, де є fotocутливим бактеріородопсин.

Предметом дослідження є суспензії пурпурних мембран та плівкові структури на основі бактеріородопсину в полімерних та неорганічних SiO_2 -матрицях із різним хімічним складом.

Методи досліджень. Достовірність та обґрунтованість отриманих наукових результатів базується на використанні апробованих і загально визнаних експериментальних методик. Дослідження морфології поверхні та поперечного перерізу плівок проводилося з використанням атомно-силової (АСМ) та растрової електронної (РЕМ) мікроскопії. Пористість плівок досліджували з допомогою методу газової адсорбції з використанням установки Sorptomatic-1990. Для розрахунку питомої площі поверхонь і розподілу за розміром пор були використані теорія Брунауера-Емметта-Теллера (БЕТ) і метод Barret-Joyner-Halenda (ВЖН). Дослідження впливу вологості на дифракційну ефективність плівок бактеріородопсину проводилося з використанням методу запису тонких голограм, а спектральні характеристики та динаміка фотоіндукованих змін у плівках залежно від типу матриці та зовнішніх умов досліджувалися з допомогою автоматизованої установки на базі спектрофотометра СФ-46 та оптоволоконного спектрофотометра Ocean Optics USB4000 з використанням спеціально створених сенсорних камер у лабораторіях кафедри твердотільної електроніки з спеціальністю інформаційної безпеки та Науково-дослідного інституту фізики і хімії твердого тіла УжНУ.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що:

1. Отримало подальший розвиток дослідження умов отримання бактеріородопсину на властивості плівок на його основі. Уперше виявлено, що сенситометрична чутливість, величина фотоіндукованих змін та коефіцієнт участі молекул у фотоциклі для плівок на основі бактеріородопсину залежать від штаму галобактерій, з яких він був отриманий, і можуть бути покращені шляхом оптимізації режиму та часу обробки лізату ДНК-зою.

2. Уперше отримано нанокмпозитні плівкові структури, які містять бактеріородопсин і напівпровідникові квантові точки CdSe-ZnS , та проведено їх комплексне дослідження. Виявлено, що зміна вологості або концентрації аміаку в навколишньому середовищі приводить до зміни інтенсивності люмінесцентного випромінювання напівпровідникових квантових точок у таких структурах, і це дозволило створити чутливі елементи для волоконно-оптичних сенсорних систем із чутливістю до аміаку на рівні десятків ppm.

3. Показано, що незалежно від типу матриці внесення фрагментів пурпурних мембран у плівкоутворюючу суміш приводить до зростання шорсткості поверхні отриманої плівки більш ніж на порядок порівняно з плівками без бактеріородопсину. Виявлено, що ультразвукова обробка плівкоутворюючої суміші протягом 120 с приводить до покращення оптичної якості та fotocутливості плівок.

4. Встановлено, що плівки бактеріородопсину є мезопористими структурами, а об'єм пор для плівок на основі неорганічних матриць на 2,5 порядки перевищує аналогічний показник для плівок в органічних матрицях.

5. Експериментально доведено, що незалежно від типу матриці зростання вологості приводить до зменшення часу життя інтермедіату M_{412} та величини фотоіндукованих змін у плівках бактеріородопсину. Встановлено, що у водорозчинних желатинових матрицях при вологості вище 95% спостерігаються зміни, спричинені впливом води на желатину.

6. Уперше встановлено, що взаємодія плівки бактеріородопсину з аміаком як у водних розчинах, так і у парогазових сумішах приводить до зростання часу життя інтермедіату M_{412} . Запропоновано механізм взаємодії аміаку з бактеріородопсином. Виявлено залежність чутливості до аміаку від хімічного складу плівок.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що вони можуть бути використані:

- для збільшення продуктивності отримання бактеріородопсину під час культивування галобактерій за рахунок оптимізації спектрального складу освітлення;
- для покращення чистоти та характеристик отриманого бактеріородопсину за рахунок вибору штаму та оптимального режиму обробки лізату дезоксирибонуклеазою;
- для отримання плівок на основі бактеріородопсину із визначеними параметрами у неорганічних матрицях;
- для виготовлення датчиків вологості на базі плівок бактеріородопсину;
- для виготовлення датчиків концентрації аміаку в парогазових та водних розчинах на основі плівок бактеріородопсину.

Отримані результати використовуються в лекційному матеріалі та під час проведення лабораторних робіт на фізичному та медичному факультетах ДВНЗ "УжНУ" зі спецкурсів "Молекулярна електроніка", "Біоматеріалознавство", "Методи візуалізації в медицині" та інші.

Особистий внесок здобувача. Результати, що представлені та опубліковані у співавторстві, отримані за безпосередньої участі автора на всіх етапах роботи. Здобувач разом з н. с. Цьомою І. Й. та н. с. Ярошем В. В. брав активну участь у процесах культивування галобактерій та оптимізації технологічних умов їх вирощування, виділення та очистки бактеріородопсину, контролю його якості. Разом з н. с. Корпош О. І. та н. с. Фроловою Н. І. брав участь у процесі отримання плівкових структур на базі бактеріородопсину, оптимізації методики нанесення та експериментального підбору оптимальних умов висушування плівок для забезпечення їх високої оптичної якості. Спільно з н. с. Корпошем С. О. проводив дослідження структури та властивостей отриманих плівок, морфології їх поверхні та перерізів. Дослідження впливу зміни вологості, аміаку та ряду інших газів на характеристики плівок проводив безпосередньо здобувач. Разом з н. с. Корчемською О. Я. та н. с. Бурикіним М. М. проведено дослідження впливу вологості на дифракційну ефективність плівок бактеріородопсину з домішкою триетаноламіну. Дослідження впливу аміаку та зміни вологості на інтенсивність люмінесценції квантових точок у структурах *золь-гельна матриця-бактеріородопсин-квантові точки* проводилися спільно з н. с. Корпошем С. О. та

ст. н. с. Шарканем Й. П. Опрацювання всіх експериментальних результатів дисертант виконав самостійно. Поряд з цим автор разом з науковим керівником, д. ф.-м. н. Різаком В. М., к. ф.-м. н. Січкою М. Ю. та к. ф.-м. н. Шарканем Й. П. брав активну участь у інтерпретації одержаних результатів, формулюванні наукових положень та написанні всіх опублікованих статей. Автору також належать сформульовані основні положення та висновки до роботи, що представлені до захисту.

Апробація результатів дисертації. Основні результати роботи представлялися та обговорювалися на таких заходах:

- VII European Conference on Optical Chemical Sensors and Biosensors (Europt(R)ode VII) (Madrid, Spain, 2004);
- 17th International Conference on Optical Fibre Sensors (Bruges, Belgium, 2005);
- International Congress on Optics and Optoelectronics (Warsaw, Poland, 2005);
- Міжнародна конференція з фізики і технології тонких плівок і наносистем МКФТТПН-ХІІ (Ворохта, Україна, 2009);
- The 2nd International Meeting on Clusters and Nanostructured Materials (CNM-2) (Uzhgorod, Ukraine, 2009);
- Міжнародна конференція “Сенсорна електроніка та мікросистемні технології” (СЕМСТ-4) (Одеса, Україна, 2010);
- Fourth international conference on optical, optoelectronic and photonic materials and applications (ICOOPMA 2010) (Budapest, Hungary, 2010);
- Mediterranean-East-Europe Meeting Multifunctional nanomaterials: NanoEuroMed (Uzhgorod, Ukraine, 2011);
- International Meeting Cluster and Nanostructured Materials (CNM-3), (Uzhhorod, Ukraine, 2012);
- Український Міжнародний конгрес «Стоматологічна імплантація. Остеоінтеграція» (Ужгород, Україна, 2013);
- щорічних підсумкових наукових конференціях викладачів та наукових співробітників фізичного факультету Ужгородського національного університету (Ужгород, 2003-2015).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 21 роботу, з них 12 статей у фахових вітчизняних та іноземних наукових журналах, 8 тез доповідей на наукових конференціях та 1 патент на корисну модель.

Структура та обсяг роботи. Дисертація складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел (155 найменувань) і 6 додатків. Загальний обсяг роботи – 187 сторінок, включаючи 100 рисунків та 18 таблиць. Обсяг ілюстрацій, таблиць та додатків становить 37 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** наведено загальні характеристики дисертаційної роботи: обґрунтовано актуальність теми дослідження та сформульовано мету і завдання, які треба виконати для досягнення поставленої мети, показано наукову новизну та можливості практичного використання отриманих результатів, наведено інформацію про апробацію результатів досліджень та перелік публікацій автора за темою дисертації, описано структуру та обсяг роботи.

У **першому розділі** розглянуто оптичні властивості бактеріородопсину та перспективи його практичного використання, проведено критичний аналіз літературних даних, які стосуються впливу типу матриці, хімічних домішок та характеристик навколишнього середовища на оптичні характеристики плівкових структур на основі бактеріородопсину. У цьому розділі також наведено короткий опис основних експериментальних методик, які використовувалися у процесі досліджень.

У **другому розділі** представлено результати досліджень, спрямованих на оптимізацію методики культивування галобактерій, які є продуцентами бактеріородопсину, та методів його очистки. Детально описано розроблені або модифіковані методики отримання плівок на основі бактеріородопсину в різних матрицях та за допомогою різних методів нанесення. Наведено результати комплексних досліджень морфології поверхні та поперечного перерізу плівок на основі бактеріородопсину, зроблено порівняльні дослідження пористості різних матриць.

Дослідження монохроматичної сенситометричної чутливості на довжинах хвиль, які відповідають максимумам поглинання основного стану БР (S_{570}) та інтермедіату M_{412} (S_{412}), часу життя інтермедіату M_{412} ($\tau_{1/2}$), величини фотоіндукованих змін оптичної густини на відповідних довжинах хвиль (ΔD_{570} , ΔD_{412}) та коефіцієнта участі молекул у фотоциклі (k) для плівок бактеріородопсину засвідчило, що всі перераховані характеристики суттєво відрізняються залежно від того, з якого штаму галобактерій виділено білок (таблиця 1). Тому, крім продуктивності з вироблення бактеріородопсину та кількості каротиноїдів, слід враховувати характеристики отриманого бактеріородопсину під час вибору того чи іншого штаму бактерій-продуцентів.

Таблиця 1

Характеристики плівок БР, отриманого з різних штамів.

Штам галобактерій	Оптичні параметри					
	ΔD_{570}	ΔD_{412}	k , %	S_{570} , см ² /Дж	S_{412} , см ² /Дж	$\tau_{1/2}$, С
353-П	0,85	0,49	56	485	165	88
ET-1001	0,38	0,21	28	296	96	39
R1M1	0,41	0,26	30	395	84	14
S-9	0,57	0,36	56	258	145	79

Також встановлено, що спектральний склад освітлення, яке використовується при культивуванні галобактерій, впливає на продуктивність отримання бактеріородопсину. Для штаму ET1001 максимальна продуктивність досягається при освітленні зеленою лампою ($\lambda_{\text{max}} = 533$ нм), а для штаму RmR – білою ($\lambda_{\text{max}} = 543$ нм). Проведено оптимізацію технології виділення та очистки бактеріородопсину. Показано, що час обробки лізату дезоксирибонулеазою впливає на ефективність очистки бактеріородопсину. Експериментально встановлено, що оптимальною є обробка лізату ферментом протягом трьох годин при постійному перемішуванні. Також виявлено, що додаткова ультразвукова обробка плівкоутворюючої суміші приводить до покращення сенситометричної чутливості та збільшення величини фотоіндукованих змін у плівках на основі бактеріородопсину. Найкращі показники фоточутливості реєструються для плівок, отриманих у випадку, коли протягом 120 с ультразвуковій обробці піддавалася суспензія пурпурних мембран, після чого до неї додавався матеріал матриці та домішки.

Комплексні дослідження морфології поверхонь та поперечних перерізів плівок бактеріородопсину в різних матрицях за допомогою атомно-силової та растрової електронної мікроскопії показали, що оптимізовані методики нанесення плівок забезпечують рівномірний розподіл бактеріородопсину по об'єму плівки, а фрагменти пурпурних мембран орієнтуються переважно паралельно до поверхні підкладки. Встановлено, що незалежно від типу матриці внесення фрагментів пурпурних мембран у плівку приводить до зростання шорсткості її поверхні більш ніж на порядок порівняно з плівкою самої матриці. Виявлено, що плівки, отримані методом поливу та формування, характеризуються мінімальними значеннями шорсткості поверхні, а плівки, отримані методом центрифугування, – максимальними. Показано, що методом центрифугування неможливо отримати якісні плівки бактеріородопсину в неорганічній SiO_2 матриці. Мала в'язкість вихідного золю призводить до формування тонкої плівки з дуже неоднорідною поверхнею.

Виявлено, що за допомогою методики пошарового нанесення, яка полягає в послідовному нанесенні на скляну підкладку плівки чистого бактеріородопсину методом поливу, а потім шару чистого золь-гелю методом центрифугування, можна отримати водонерозчинні плівки бактеріородопсину з високою оптичною якістю. Виявлено, що бактеріородопсин у таких структурах зберігає фотоактивність. Нанесення тонкого шару золь-гельного скла приводить до вирівнювання поверхні, зменшення розсіювання та покращення оптичної якості плівок.

Порівняння результатів дослідження пористості матеріалів матриць, які використовуються для отримання плівок бактеріородопсину, засвідчили, що у плівках як з полімерними, так і з золь-гельними матрицями переважають пори діаметром від 1,5 до 50 нм, що вказує на те, що вони є мезопористими. Встановлено, що ефективний об'єм пор для плівок на основі неорганічних матриць на 2,5 порядки перевищує аналогічний показник для плівок в органічних матрицях (Табл. 2).

У результаті порівняння та аналізу властивостей різних квантових точок обґрунтовано використання квантових точок типу CdSe/ZnS для створення нанокompозитних плівок на основі бактеріородопсину. Розроблено та описано

методику отримання плівок бактеріородопсину з квантовими точками в різних матрицях. За допомогою дослідження люмінесценції квантових точок CdSe/ZnS ($\lambda_{\text{max}} = 576$ нм) у суспензіях та плівках, які містять фотохромний бактеріородопсин, встановлено, що люмінесцентне випромінювання квантових точок може запускати фотоцикл бактеріородопсину. Дослідження морфології поверхні плівкових структур на основі бактеріородопсину, до складу яких входять напівпровідникові квантові точки, показало, що внесення останніх не впливає на оптичну якість та структуру поверхні плівки. У результаті дослідження поперечних перерізів таких плівок виявлено, що при однакових методиках підготовки та нанесення плівкоутворюючої суміші для золь-гельних плівок характерний рівномірний розподіл квантових точок по об'єму плівки, а для желатинових вони переважно концентровані в одному шарі плівки.

Таблиця 2

Площа поверхні, ефективний об'єм та розподіл пор за розміром.

Зразок	Ефективна площа поверхні, м ² /г	Ефективний об'єм пор, см ³ /г	Величина пор		
			Від (нм)	До (нм)	A%
Желатинова плівка	2,6	0,003	0	1,5	13,9
			1,5	3	41,9
			3	5	8,9
			10	50	32
Плівка ПВС	1,7	0,001	0	1,5	15,5
			1,5	3	44,5
			3	5	13,9
			10	50	22,1
Золь-гельна плівка	676,6	0,519	0	1,5	17,9
			1,5	3	58,9
			3	5	13,9

Третій розділ присвячено дослідженню впливу вологості на властивості плівок бактеріородопсину в желатинових та золь-гельних матрицях. Представлено результати досліджень впливу аміаку в парогазових сумішах та водних розчинах на функціонування молекули бактеріородопсину. Проведено порівняльні дослідження чутливості плівок БР до аміаку залежно від типу матриці, хімічного складу та методики отримання.

Дослідження впливу зміни вологості на характеристики плівок БР показало, що і в желатинових, і в золь-гельних матрицях при зменшенні вологості навколишнього середовища спостерігається збільшення пропускання на 570 нм та зменшення на 412 нм, що свідчить про зростання кількості молекул, які знаходяться у формі інтермедіату M₄₁₂. Такий ефект спостерігається через збільшення часу життя інтермедіату M₄₁₂. Експериментально виявлено зростання величини

фотоіндукованої зміни пропускання плівок на 570 нм та збільшення часу розпаду форми M_{412} при зменшенні вологості (рис. 1).

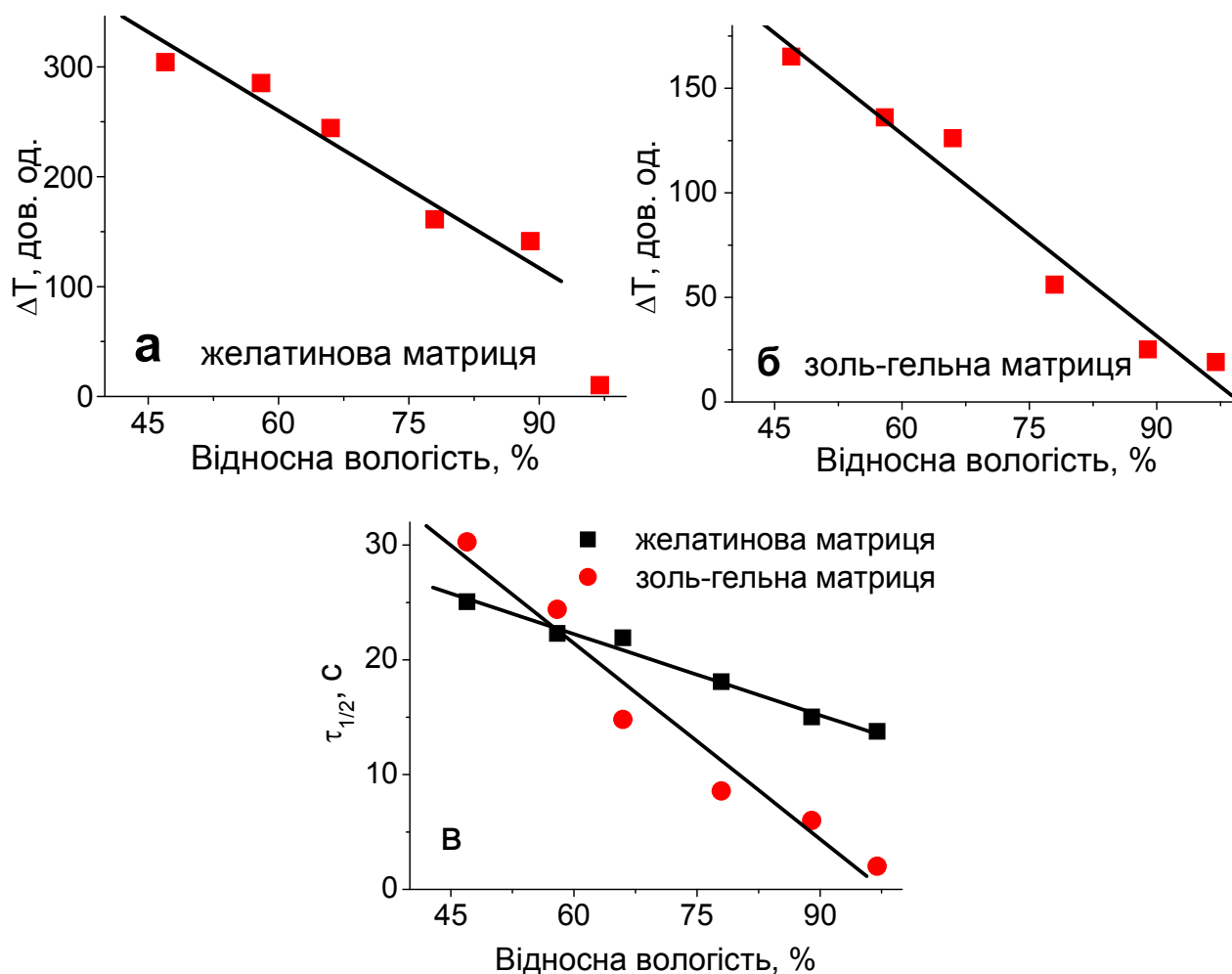


Рис. 1. Залежність величини фотоіндукованих змін ΔT (а, б) та напівперіоду життя інтермедіату M_{412} - $\tau_{1/2}$ (в) від вологості для плівок бактеріородопсину в різних матрицях.

Для обох типів плівок спостерігаються зміни, які добре узгоджуються з механізмом впливу вологості на перебіг фотоциклу бактеріородопсину. Водночас спостерігається різке зменшення величини фотоіндукованих змін пропускання на 570 нм для плівки в желатиновій матриці при вологостях вищих за 95%. Для плівки БР у золь-гельній матриці такі відмінності не спостерігаються. Аналіз часу життя інтермедіату M_{412} при різних значеннях вологості теж не виявив значних відхилень при вологостях близьких до насичення. Різке зменшення ΔT , засвідчене для желатинових плівок, пояснюється впливом високої вологості на матеріал матриці.

У випадку дослідження характеристик плівок при динамічній зміні вологості спостерігаються більші відмінності між полімерними та золь-гельними плівками, які пояснюються різною пористістю плівок. Якщо для золь-гельних матриць за рахунок високої пористості вологість в об'ємі плівки буде змінюватися практично синхронно з вологістю в камері, то для желатинових плівок гідратація плівки відбувається набагато повільніше. На основі отриманих результатів показано, що тип матриці впливає на чутливість плівок бактеріородопсину до зміни вологості, при чому для

плівок у золь-гельних матрицях, на відміну від желатинових плівок, зміни параметрів пояснюються змінами у проходженні фотоциклу в усьому досліджуваному діапазоні вологостей.

Показано, що наявність аміаку в повітрі або водному розчині довкола плівки приводить до його адсорбції і взаємодії з бактеріородопсином, у результаті якої збільшується час життя інтермедіату M_{412} та величина фотоіндукованих змін пропускання. Такий ефект спостерігається незалежно від типу матриці. Встановлено, що чутливість до аміаку залежить від хімічного складу плівки (Табл. 3). Найбільш чутливими до наявності аміаку є плівки без домішок.

Таблиця 3

Залежність характеристик плівок БР різного хімічного складу від наявності аміаку.

Склад плівки	Аміак відсутній		Аміак наявний (10%)	
	$\tau_{1/2}$, с	ΔT , %	$\tau_{1/2}$, с	ΔT , %
БР+желатина+ТЕА	17,3	19,24	25,2	23,30
БР+желатина	3,2	13,65	60,0	47,65
БР+желатина+АГХ	13,2	9,65	43,9	55,09
БР+желатина+ТЕА+АГХ	26,0	20,51	31,4	44,79

Хоча вплив аміаку на оптичні параметри плівок бактеріородопсину, отриманих з використанням різних матриць, однаковий, амплітуда та динаміка наростання змін оптичних характеристик суттєво відрізняються для плівок у полімерних та неорганічних матрицях. Плівки бактеріородопсину в золь-гельних матрицях демонструють найменший час відклику і водночас малу величину індукованих аміаком змін. Низька чутливість таких плівок до аміаку пояснюється меншою концентрацією в них бактеріородопсину. У випадку використання желатини як матриці можливість отримання плівок з високими концентраціями бактеріородопсину приводить до суттєвого збільшення амплітуди зміни поглинання під дією аміаку. В той же час низька, порівняно із золь-гельними, пористість таких плівок сповільнює дифузію аміаку в об'єм плівки, що проявляється у збільшенні часу відклику. Встановлено, що чутливість та час відклику залежать від структури матеріалу матриці та концентрації бактеріородопсину у плівці. На основі отриманих результатів запропоновано механізм впливу аміаку на процеси, що відбуваються у плівках бактеріородопсину. Він полягає в тимчасовому зв'язуванні вільних протонів молекулами аміаку, що створює їх дефіцит і ускладнює репротонування Asp96, чим, у свою чергу, блокується перехід молекули з інтермедіату M_{412} в основний стан.

У **четвертому розділі** розглянуто практичні аспекти використання плівок на основі бактеріородопсину. Зокрема наведено результати досліджень впливу зміни вологості на голографічні характеристики плівок бактеріородопсину з домішкою триетаноламіну, розглянуто використання плівок бактеріородопсину з напівпровідниковими квантовими точками для виготовлення оптичних датчиків аміаку, проаналізовано вплив різних газів на оптичні властивості плівкових структур на основі бактеріородопсину.

У результаті проведених досліджень виявлено, що зміна вологості навколишнього середовища впливає на дифракційну ефективність голограм, записаних на плівках бактеріородопсину з домішкою триетаноламіну, а саме: дифракційна ефективність проходить через мінімум в інтервалі вологостей 75-80%. З наукових джерел відомо, що зростання вологості приводить до збільшення дифракційної ефективності голограм, записаних на плівках бактеріородопсину. Наявність мінімуму в отриманих експериментальних даних пояснюється впливом триетаноламіну, оскільки ця домішка впливає на чутливість бактеріородопсину до зміни вологості. На основі отриманих експериментальних даних запропоновано механізм впливу вологості на дифракційну ефективність. Коротко його можна описати таким чином. За умови зростання вологості час життя інтермедіату M_{412} зменшується, що приводить до зміни швидкості "змивання" штрихів голограми у процесі її виходу на стаціонарний рівень, а також до зміни кількостей молекул, які перебувають в основному та проміжних станах, при його досягненні. Це, у свою чергу, приводить до зміни різниці пропускання та чіткості меж між засвіченими й затемненими областями голограми, що й відображається у зміні дифракційної ефективності.

Встановлено, що зміна вологості та концентрації аміаку в навколишньому середовищі приводить до зміни інтенсивності люмінесцентного випромінювання квантових точок CdSe/ZnS з максимумом люмінесценції при 576 нм у плівкових структурах золь-гельна матриця – БР – квантові точки (Рис.2). Для досліджень використовували плівки бактеріородопсину в золь-гельній матриці, отримані методом повільного висушування в ексікаторі.

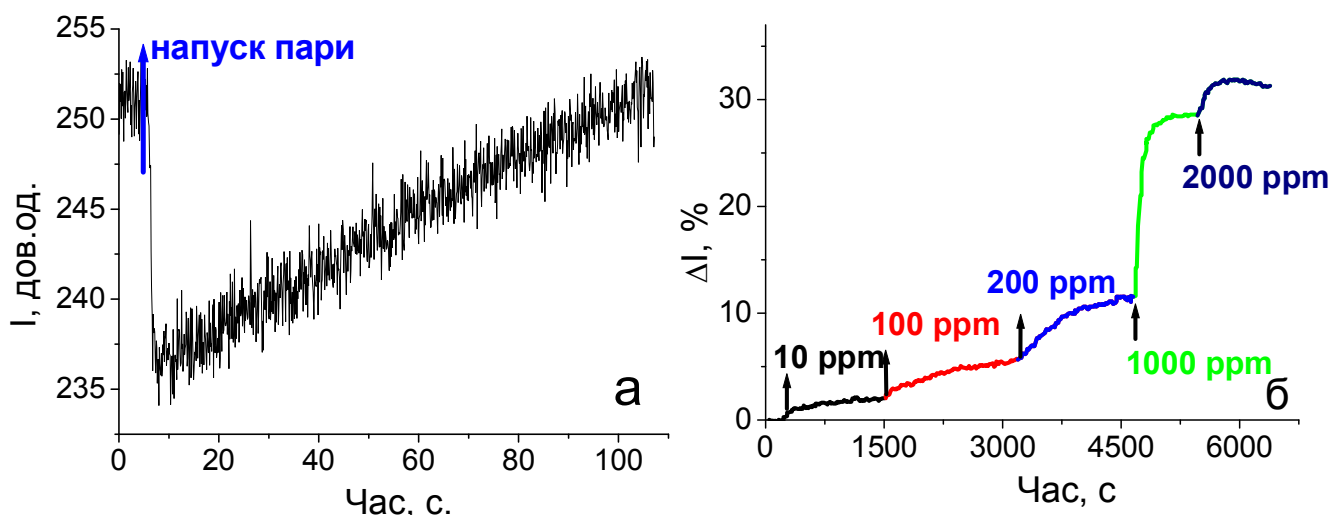


Рис. 2. Кінетика інтенсивності люмінесценції квантових точок у плівкових структурах золь-гельна SiO_2 матриця – БР – напівпровідникові квантові CdSe/ZnS точки при зміні вологості (а) та концентрації аміаку (б).

У першому випадку відносна вологість різко збільшувалась протягом кількох секунд від 55% до 93% шляхом напуску в камеру насиченої водяної пари. Оскільки камера залишалася відчиненою, вологість одразу починала вирівнюватися з кімнатною. Упродовж усіх цих маніпуляцій фіксувалася інтенсивність

люмінесцентного випромінювання квантових точок. Отримана кінетика інтенсивності люмінесцентного випромінювання при описаних вище змінах вологості зображена на рис. 2а. У випадку досліджень впливу аміаку плівку розташовували в герметичній камері і в кілька етапів збільшували концентрацію газу. Кінетику інтенсивності випромінювання квантових точок при різних концентраціях аміаку в камері наведена на рис. 2б. Стрілками показано час, коли в камеру вводили додаткову кількість газу, а цифрами – значення (в ppm) до якого у результаті збільшували концентрацію аміаку. Як видно з рисунку, інтенсивність люмінесцентного випромінювання квантових точок збільшується при зростанні концентрації аміаку. Отримані залежності пояснюються зміною поглинальної здатності бактеріородопсину в спектральній області люмінесценції квантових точок під дією вологості та аміаку відповідно. Час, амплітуда та динаміка відклику відрізняються залежно від типу матриці та технології отримання плівки. Максимальні зміни інтенсивності люмінесцентного випромінювання та малі часи відклику спостерігаються для плівок бактеріородопсину в золь-гельних матрицях, які мають розвинуту систему пор та високу оптичну якість.

Встановлено, що вплив CO_2 та аргону на оптичні властивості плівок бактеріородопсину незначний і спричинений не взаємодією відповідного газу з бактеріородопсином, а зменшенням вологості плівки у процесі продування кювети газом. Показано, що у випадку дії парів перекису водню на плівку бактеріородопсину виявлені зміни відрізняються від змін, спричинених високою вологістю, лише на початковому етапі взаємодії. Максимальною чутливістю до парів H_2O_2 характеризуються плівки з домішкою триетаноламіну, незалежно від типу матриці. Натомість мінімальні відхилення спостерігаються для плівки, у якій домішки відсутні. Встановлено, що хлор не впливає на оптичні властивості плівок бактеріородопсину. Водночас під дією парів етанолу виникають незворотні зміни поглинання на 570 нм, що вказує на денатурацію бактеріородопсину.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що максимальна продуктивність отримання бактеріородопсину досягається при використанні освітлення із заданим спектральним складом у процесі культивування (для штаму ET1001 максимальне утворення пурпурних мембран досягається при освітленні зеленою лампою з $\lambda_{\max}=533$ нм, а для штаму RmR – при освітленні білою з $\lambda_{\max}=543$ нм). Показано, що максимальні значення сенситометричної чутливості, величини фотоіндукованих змін та коефіцієнту участі молекул у фотоциклі досягаються для бактеріородопсину, отриманого з штаму 353-П під час обробки лізату ДНК-зою, протягом 3 годин.

2. Виявлено, що вдосконалені методики нанесення плівкових структур забезпечують рівномірний розподіл бактеріородопсину по об'єму плівки, при чому фрагменти бактеріородопсинвмісних пурпурних мембран орієнтуються переважно паралельно до поверхні підкладки; додаткова ультразвукова обробка плівкоутворюючої суміші протягом 120 с приводить до покращення оптичної якості та фоточутливості плівок. Внесення фрагментів пурпурних мембран приводить до зростання шорсткості поверхні плівки більш ніж на порядок, незалежно від типу використаної матриці, при чому плівки, отримані методом поливу, характеризуються мінімальними значеннями шорсткості, а плівки, отримані методом центрифугування, – максимальними. Виявлено, що у плівках як з полімерними, так і з золь-гельними матрицями переважають пори діаметром від 1,5 до 50 нм, що вказує на те, що плівки є мезопористими, а об'єм пор для плівок на основі неорганічних матриць на 2,5 порядки перевищує аналогічний показник для плівок в органічних матрицях.

3. Встановлено, що для плівок бактеріородопсину у золь-гельних матрицях, так само як і у плівках з полімерними матрицями, зростання вологості від 47% до 97% приводить до збільшення поглинання плівки бактеріородопсину на 570 нм, зменшення величини фотоіндукованої зміни пропускання та часу життя інтермедіату M_{412} . Для плівок бактеріородопсину в золь-гельних матрицях у всьому діапазоні вологостей зміни оптичних характеристик пояснюються зменшенням часу існування інтермедіату M_{412} і добре узгоджуються з представленими в науковій літературі даними. Водночас для желатинових плівок при вологостях вище 95% виявлені зміни частково спричинені впливом вологості на матеріал матриці.

4. Дослідження індукованих аміаком змін динаміки проходження фотоциклу та спектрів пропускання плівок бактеріородопсину показали, що наявність аміаку в навколишньому середовищі приводить до його адсорбції плівкою і, як наслідок, зростання часу життя інтермедіату M_{412} та амплітуди фотоіндукованих змін. Ці процеси відбуваються через тимчасове зв'язування вільних протонів молекулами аміаку, що створює їх локальний дефіцит і ускладнює репротонування ключових амінокислотних залишків. Показано, що описані вище зміни виникають під дією аміаку в плівках бактеріородопсину, отриманих з використанням як полімерних, так і золь-гельних матриць.

5. Виявлено, що, на відміну від плівок бактеріородопсину без домішок, де дифракційна ефективність постійно зростає при збільшенні вологості, для

світлоадаптованих плівок бактеріородопсину з домішкою триетаноламіну (БР/ТЕА=1/120) вона проходить через мінімум в області 75-80% при підвищенні вологості навколишнього середовища. Наявність мінімуму дифракційної ефективності пояснюється наявністю у складі плівки триетаноламіну, який модифікує чутливість бактеріородопсину до зміни вологості. Максимальні значення дифракційної ефективності зафіксовані для вологості 93%.

6. На основі нанокмпозитних структур, які включають фотохромний бактеріородопсин та напівпровідникові квантові точки, створено чутливі елементи для волоконно-оптичних сенсорних систем з чутливістю до аміаку на рівні десятків ppm. Встановлено, що внесення напівпровідникових квантових точок не впливає на оптичну якість та структуру поверхні плівок бактеріородопсину і в желатинових, і в золь-гельних матрицях, при чому для золь-гельних матриць характерний рівномірний розподіл квантових точок по об'єму плівки, а для желатинових плівок КТ концентровані переважно в одному шарі плівки.

7. Встановлено, що люмінесцентне випромінювання квантових точок може запускати фотоцикл бактеріородопсину. Зміна вологості або концентрації аміаку приводить до зміни інтенсивності люмінесцентного випромінювання, що спричинено зміною поглинальної здатності бактеріородопсину в спектральній області люмінесценції квантових точок під дією вологості та аміаку.

ПУБЛІКАЦІЇ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

1. Особливості спектрів поглинання лізатів галофільних бактерій різних штамів / Ю.В. Андрашко, І.І. Трикур, І.І. Цьома, І.Й. Шаркань, В.В. Ярош, Н.П. Фролова // Науковий вісник УжНУ. Серія Фізика. - 2002. - Випуск 11. - С. 25-28.
2. Sensitive elements based on bacteriorhodopsin for fiber-optics sensors of chemical components / J.P. Sharkany, I.I. Trikur, S.O. Korposh, J.J. Ramsden // Proc. SPIE. - 2005. - Vol. 5855. - P. 411-414.
3. Films based on bacteriorhodopsin in sol-gel matrices / S.O. Korposh, M.Y. Sichka, I.I. Trikur, Y.P. Sharkany, D.H. Yang, S.W. Lee, J.J. Ramsden // Proc. SPIE. - 2005. - Vol. 5956. - P. 312-320.
4. Bacteriorhodopsin-based biochromic films for chemical sensors / J.P. Sharkany, S.O. Korposh, Z.I. Batori-Tarci, I.I. Trikur, J.J. Ramsden // Sensors Actuators B. - 2005. - Vol. 107. - P. 70-81.
5. Вплив вологості на фотоіндуковані процеси у плівках бактеріородопсину / І.І. Трикур, О.І. Корпош, Н.П. Фролова, В.М. Різак // Науковий вісник УжНУ, серія Фізика. - 2006. - Випуск 19. - С. 68-74.
6. Трикур І.І. Вплив вологості на дифракційну ефективність голограм, записаних на плівках бактеріородопсину з домішкою ТЕА / І.І. Трикур, М. М. Бурикін, В. М. Різак // Науковий вісник УжНУ, серія Фізика. - 2008. - Випуск 20. - С. 69-73.

7. Одержання та структурні особливості нанокompозитних плівок бактеріородопсин - квантові точки CdSe/ZnS – мікропористазоль-гельна матриця / Й.П. Шаркань, Дж.Дж. Рамсден, І.І. Сакалош, М.Ю. Січка, С.О. Корпош, І.І. Трикур // Фізика і хімія твердого тіла. - 2010. - Т. 11/1. - С. 170-175.
8. Вплив параметрів оточуючого середовища на характеристики нанокompозитних плівкових структур золь-гельна SiO₂ матриця – бактеріородопсин – квантові точки CdSe/ZnS / І.І. Трикур, І.І. Сакалош, Г.Т. Горват, М.Ю. Січка, С.О. Корпош, Й.П. Шаркань, В.М. Різак // Науковий вісник УжНУ, серія Фізика. - 2012. - Випуск 31. - С. 211-219.
9. Вплив штаму галобактерій та методики очистки на оптичні характеристики плівок бактеріородопсину / І.І. Трикур, І.І. Сакалош, З.І. Баторі-Тарці, О.І. Корпош, Й.П. Шаркань, М.Ю. Січка, І.Й. Цьома, В.М. Різак // Науковий вісник УжНУ, серія Фізика. - 2013. - Випуск 34. - С. 68-71.
10. Одержання плівок бактеріородопсину в органічних та неорганічних матрицях на торці оптичного волокна / І.І. Сакалош, І.І. Трикур, Й. П. Шаркань, М.Ю. Січка, О.І. Корпош, І.Й. Цьома, В.В. Ярош, В.М. Різак // Науковий вісник УжНУ, серія Фізика. - 2013. - Випуск 34. - С. 230-235.
11. Дослідження впливу аміаку на чутливі елементи на торці Y-подібного волоконно-оптичного розгалуджувача / І.І. Сакалош, І.І. Трикур, Й.П. Шаркань, М.Ю. Січка, О.І. Корпош, В.М. Різак // Науковий вісник УжНУ, серія Фізика. - 2014. - Випуск 35. - С. 79-83.
12. Sensing elements based on photochromic nanocomposite film structures of the bacteriorhodopsin for biosensors of anesthetics. / A. Potapchuk, M. Sichka, I. Sakalosh, I. Trikur, I. Shevchuk, D. Melnichuk, V. Rizak // INTER Medical Journal, - 2014. - Vol 1. - P. 115-120.
13. Biochromic films based on the bacteriorhodopsin for chemical sensors / J.P. Sharkany, S.A. Korposh, J.J. Ramsden, I.I. Trikur // Proc. of VII Europt(R)ode, Madrid, Spain April 4-7, 2004, p. 13.
14. Sensitive elements based on bacteriorhodopsin for fiber–optics sensors of chemical components / J.P. Sharkany, I.I. Trikur, S.O. Korposh, J.J. Ramsden // 17th International Conference on Optical Fibre Sensors. Advanced program and materials, Bruges, Belgium, May 23-27, 2005, p. 23.
15. Одержання та структурні особливості нанокompозитних плівок фотохромний бактеріородопсин - квантові точки CdSe/ZnS - мікропориста золь-гельна матриця / Шаркань Й.П., Рамсден Дж.Дж., Сакалош І.І., Січка М.Ю., Корпош С.О., Трикур І.І. // Фізика і технологія тонких плівок і наносистем. Матеріали МКФТТПН-ХІІ: У 2т., Ворохта, Україна, 18-23 травня 2009 р., – Т.1, с. 346-347., – Івано-Франківськ: Плай, 2009.– 484с.
16. Multisensor fiber-optic system with bionanocomposite sensitive elements / Sharkan Y.P., Ramsden J.J., Kokenyesi S.S., Sakalosh I.I., Sichka M.Y., Trikur I.I. // Materials of The 2nd International Meeting on Clusters and Nanostructured Materials (CNM-2)., Uzhgorod, Ukraine, 27 September – 30 September, 2009, p. 165.

17. Sensitive elements for luminescent chemical sensors based on nanocomposite structures bacteriorhodopsin-semiconductor quantum dots CdSe/ZnS / Y.P. Sharkany, I.I. Trikur, I.I. Sakalosh, J.J. Ramsden // Proc. of ICOOPMA 2010., Budapest, Hungary, August 15 – 20, 2010, p. 207.
18. Modification of sensitive elements of chemical sensors on the base of bacteriorhodopsin in inorganic sol-gel matrices / I.I. Trikur, J.P. Sharkan, O.I. Korposh, J.J. Ramsden // Proc. of Mediterranean-East-Europe Meeting Multifunctional nanomaterials: NanoEuroMed 2011, Uzhgorod, Ukraine, May 12-14, 2011., p. 127-128.
19. Біосенсори анестетиків з чутливим елементом на основі фотохромних біомолекулярних нанокompatитних оптичних структур / Шаркань Й.П., Потапчук А.М., Січка М.Ю., Маляр Н.М., Трикур І.І., Сакалош І.І., Мельничук Д.В. // Український Міжнародний конгрес «Стоматологічна імплантатія. Осстеоінтеграція», Київ, Україна, 28-29 квітня 2012 р, с. 260-262.
20. Quantum Dots as a Source of Actinic Radiation in Sensor Based on Bacteriorhodopsin / Trikur I.I., Sakalosh I.I., Horvat G.T., Sichka M.Y., Korposh S.O., Sharkany J.P., Rizak V.M. // International Meeting Cluster and Nanostructured Materials (CNM-3)., Ukraine, Uzhhorod - Vodohraj 14-17 October, 2012, p. 50.
21. Патент на корисну модель 98455 Україна, МПК В 01 D 21/32 (2006/01). Волоконно-оптичний пристрій для дослідження мікрооб'ємів фізіологічних розчинів / Сакалош І. І., Шаркань І. Й., СічкаМ. Ю., Трикур І. І., Різак В. М.; заявник і власник ДВНЗ "УжНУ" - № u 2014 12698; заявл. 26.11.2014; опубл. 27.04.2015, Бюл. №8.

АНОТАЦІЯ

Трикур І. І. Одержання плівкових структур на основі бактеріородопсину та дослідження впливу вологості й аміаку на їх оптичні характеристики. – Рукопис

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 01.04.10 – фізика напівпровідників і діелектриків. – ДВНЗ "Ужгородський національний університет", Ужгород, 2015.

Дисертація присвячена вдосконаленню методики отримання бактеріородопсину та плівкових структур на його основі, комплексному дослідженню їх характеристик і впливу на них параметрів навколишнього середовища.

За рахунок оптимізації спектральних характеристик освітлення та оптимального вибору штаму мікроорганізмів покращено продуктивність отримання та характеристики отриманого бактеріородопсину. Проведено дослідження залежності характеристик бактеріородопсину від часу обробки лізату дезоксирибонуклеазою і визначено оптимальні параметри зазначеного процесу. Для покращення оптичної якості плівок розроблено методику ультразвукової обробки

плівкоутворюючої суміші.

Комплексні порівняльні дослідження морфології поверхні та поперечного перерізу плівок, отриманих методами поливу, формування та центрифугування з використанням різних матриць за допомогою атомно-силової та растрової електронної мікроскопії показали, що оптимізовані методики нанесення забезпечують рівномірний розподіл бактеріородопсину по об'єму плівки, а внесення пурпурних мембран приводить до зростання шорсткості поверхні порівняно з плівками без бактеріородопсину для всіх типів матриць. Дослідження пористості плівок, отриманих з використанням різних матриць показало, що для неорганічних золь-гельних плівок сумарний об'єм відкритих пор на 2,5 порядки перевищує аналогічний показник для полімерних матриць.

Показано, що для плівок бактеріородопсину і в золь-гельних, і в желатинових матрицях вологість впливає на спектральні та голографічні характеристики, що пояснюється різним ступенем гідратації ключових амінокислотних залишків при різних значеннях вологості і, як наслідок, відмінностями у проходженні фотоциклу. Встановлено, що аміак як у паро-газових сумішах, так і у водних розчинах адсорбується плівкою і взаємодіє з бактеріородопсином, що приводить до блокування розпаду інтермедіату M_{412} і зміни оптичних характеристик плівок. Запропонований механізм взаємодії полягає в тимчасовому зв'язуванні аміаком вільних протонів, що створює їх локальний дефіцит і ускладнює репротонування ключових амінокислотних залишків.

Розроблено методику створення нанокомпозитних плівкових структур *неорганічна золь-гельна матриця – бактеріородопсин – напівпровідникові квантові точки* та проведено дослідження морфології їх поверхні та поперечного перерізу за допомогою РЕМ. Показано, що люмінесцентне випромінювання квантових точок може запускати фотоцикл бактеріородопсину. Дослідження впливу вологості та аміаку на характеристики таких плівкових структур показали, що інтенсивність люмінесцентного випромінювання квантових точок суттєво залежить від параметрів навколишнього середовища. Модуляція інтенсивності люмінесцентного випромінювання пояснюється зміною поглинальної здатності бактеріородопсину під дією вологості або аміаку.

Ключові слова: бактеріородопсин, пурпурні мембрани, плівкові структури, золь-гельна технологія, шорсткість, пористість, вологість, аміак, квантові точки.

АННОТАЦІЯ

Трикур И. И. Получение пленочных структур на основании бактериородопсина и исследование влияния влажности и аммиака на их оптические характеристики. – Рукопись

Диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.10 – физика полупроводников и диэлектриков. – ГВУЗ "Ужгородский национальный университет", Ужгород, 2015.

Диссертационная работа посвящена усовершенствованию методики получения бактериородопсина и пленочных структур на его основании, комплексному исследованию их характеристик и влияния на них параметров окружающей среды.

В результате исследования влияния спектрального состава освещения культуры и штамма микроорганизмов на количество и качество получаемого бактериородопсина установлено, что максимальная производительность получения бактериородопсина для штамма ET1001 достигается при использовании в процессе культивирования освещения с $\lambda_{\max} = 495$ нм, а для штамма RmR - с $\lambda_{\max} = 532$ нм. Максимальные значения сенситометрической чувствительности, величины фотоиндуцированных изменений и коэффициента участия молекул в фотоцикле достигаются для бактериородопсина, полученного из штамма 353-П. Также установлено, что оптимальное время обработки лизата клеток ДНК-зой на этапе очистки составляет 3 часа. В результате исследования различных режимов ультразвуковой обработки пленкообразующей смеси показано, что оптимальными свойствами обладают пленки, полученные в результате обработки суспензии пурпурных мембран на протяжении 120 секунд с последующим добавлением материала матрицы и химических добавок.

На основании комплексных исследований морфологии поверхности и поперечных сечений пленок с помощью АСМ и РЭМ показано, что независимо от типа матрицы, используемые методики нанесения обеспечивают равномерное распределение бактериородопсина по объему пленки, причем фрагменты пурпурных мембран ориентируются преимущественно параллельно поверхности подкладки. Внесение фрагментов пурпурных мембран приводит к росту шероховатости поверхности пленки более чем на порядок, сравнительно с пленками чистых матриц. Для пленок полученных методом полива характерны минимальные значения шероховатости, а для пленок полученных методом центрифугирования - максимальные. Исследование пористости показало, что в пленках как с полимерными, так и с золь-гельными матрицами преобладают поры диаметром от 1,5 до 50 нм. Общий объем пор для пленок с использованием золь-гельных матриц на 2,5 порядка превышает аналогичный показатель для пленок в полимерных матрицах.

Исследование влияния изменения влажности на спектральные характеристики и динамику фотоиндуцированных изменений пленок бактериородопсина показали, что увеличение влажности приводит к увеличению поглощения на 570 нм, уменьшению величины фотоиндуцированного изменения пропускания и времени жизни интермедиата M_{412} для пленок бактериородопсина как в золь-гельных, так и желатиновых матрицах. В то же время для желатиновых пленок при влажностях выше 95% наблюдаются изменения, частично вызванные влиянием воды на материал матрицы. Выявлено наличие минимума в зависимости значения дифракционной эффективности от влажности для пленок бактериородопсина в желатиновых матрицах с примесью триэтанолamina. Наличие минимума объясняется присутствием в составе пленки триэтанолamina, который модифицирует чувствительность бактериородопсина к изменению влажности. Максимальные значения дифракционной эффективности зафиксированы для

влажности 93%. Исследование индуцированных аммиаком изменений динамики прохождения фотоцикла и спектров пропускания пленок бактериородопсина показали, что наличие даже незначительного количества аммиака (10 ppm) в окружающей среде приводит к увеличению времени жизни интермедиата M_{412} и величины фотоиндуцированных изменений поглощения. Наблюдаемые изменения возникают в пленках бактериородопсина, полученных с использованием как полимерных, так и золь-гельных матриц. Чувствительность к аммиаку зависит от химического состава пленок. Предложен механизм взаимодействия аммиака с молекулами бактериородопсина, согласно которому происходит временное связывание свободных протонов молекулами аммиака, которое создает их локальный дефицит и в результате затрудняет репротонирование ключевых аминокислотных остатков.

Разработана методика изготовления и создана серия пленок, которые содержат бактериородопсин и полупроводниковые квантовые точки, с использованием разных матриц. Проведены исследование морфологии поверхности и поперечного сечения таких пленок. Показано, что люминесцентное излучение квантовых точек может запускать фотоцикл бактериородопсина. Установлено, что изменение влажности или концентрации аммиака приводит к изменению интенсивности фиксированного люминесцентного излучения пленки. Предложен механизм влияния окружающей среды на интенсивность люминесценции, согласно которому изменение интенсивности вызвано изменением поглощательной способности бактериородопсина в спектральной области люминесценции квантовых точек под действием влажности или аммиака.

Ключевые слова: бактериородопсин, пурпурные мембраны, пленочные структуры, золь-гельная технология, шероховатость, пористость, влажность, аммиак, квантовые точки.

ABSTRACT

Trikur I. I. Preparation film structures based on bacteriorhodopsin and study the influence of humidity and ammonia on their optical characteristics. - Manuscript

Dissertation for the degree of candidate of physical and mathematical sciences, specialty 01.04.10 - physics of semiconductors and dielectrics - "Uzhgorod National University", Uzhgorod, 2015.

The dissertation is aimed on improvement of techniques for obtaining bacteriorhodopsin and film structures based on it. Work also describe the process of films synthesis as well as results of a comprehensive evaluation of the films, study of their characteristics and effect of the environmental parameters during their exposure.

Efficiency of the bacteriorhodopsin synthesis as well as its quality are increased by optimizing the spectral characteristics of light illumination during cultivation and optimal selection of strain Dependence of the bacteriorhodopsin characteristics from the time of

treatment of lysate by deoxyribonuclease was studied and optimum parameters of the process were determined. To improve the optical quality of films, method of ultrasonic treatment of film-forming mixture has been developed. Comprehensive studies of the cross-section and surface morphology of films, obtained by different methods with different matrices, using AFM and SEM showed that the methods used for film deposition provide uniform distribution of bacteriorhodopsin in film volume. Introducing purple membrane leads to an increase of surface roughness compared to films without bacteriorhodopsin for all types of matrices. Study of the films porosity have shown that total volume of open pores for inorganic sol-gel films is more than 2.5 orders higher than for polymer matrices.

It is shown that humidity has effect on the spectral characteristics and holographic properties of bacteriorhodopsin films in case of both, sol-gel and gelatin matrices. The observed changes are explained by differences in the photo-cycle of bacteriorhodopsin due to varying degrees of hydration of key amino acid residues at different values of humidity. It is established that film adsorb ammonia which interacts with bacteriorhodopsin in both, vapour-gas mixtures and aqueous solutions, that leads to an increase of the life-time of the M_{412} intermediate and changes the optical characteristics of the films. The proposed mechanism of interaction of ammonia with bacteriorhodopsin molecules, whereby ammonia is temporary binding free protons, creates a local deficiency of hydrogen ions and complicates the protonation of key amino acid residues.

The method of creating nanocomposite film structures of type inorganic sol-gel matrix - bacteriorhodopsin - quantum dots is developed and morphology of the surface of these structures and their cross-section were studied using SEM. It is shown that the fluorescent emission of quantum dots can initiate bacteriorhodopsin photo-cycle. Investigation of influence of moisture and ammonia on the characteristics of film structures showed that the intensity of the fluorescent radiation of quantum dots significantly varies depending on the environment. Modulation of the intensity of fluorescent radiation is explained by a change in absorbance of bacteriorhodopsin under the influence of moisture and ammonia.

Key words: bacteriorhodopsin, purple membrane, film structure, sol-gel technique, roughness, porosity, humidity, ammonia, quantum dots.

Формат 60x84/16. Папір офс. Гарнітура Times New Roman.
Друк офс. Ум. друк. арк. 1,17. Обл.-вид. арк. 0,91.
Тираж 100 шт. Замовлення № 40.

Видавництво Бреза.
м. Ужгород, вул. Університетська, 21/220. Тел./факс: (0312) 64-37-22
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4815 від 25.02.2015 р.
Друк: ФОП Сабов А.М., тел.: 050-43-22-437