

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

Завідувач кафедри нанофізики конденсованих середовищ

проф. Валерій Антонович Скришевський

Протокол №_____засідання кафедри

від “_____” _____2022р.

**ОПТИЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЙ В
БІОНАНОСИСТЕМАХ**

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра

студента спеціальності

105 Прикладна фізика та наноматеріали

ОП «Нанофізика та комп’ютерні технології»

Диби Василя Ігоровича

Науковий керівник

асистент кафедри нанофізики

конденсованих середовищ

к.ф.-м.н. Русінчук Наталя Миколаївна

Оцінка захисту роботи

Київ – 2022 р.

АНОТАЦІЯ

Дибба В.І. Оптичні методи дослідження взаємодій в біонаносистемах.
– Випускна кваліфікаційна робота бакалавра за спеціальністю 105 Прикладна фізика та наноматеріали ОП «Нанофізика та комп'ютерні технології».

У роботі досліджено спектри поглинання препаратів наночастинок з біооб'єктами у видимому діапазоні. Взаємодія наночастинок з біомолекулами та біооб'єктами широко використовується в біоелектроніці, наприклад, у біосенсоріці. У роботі досліджено зміни оптичних властивостей (спектрів поглинання) наночастинок з бактеріями *Bacillus clausii*. Теоретично показано, що адсорбція наночастинок на бактеріях призводить до зміни плазмонних властивостей наночастинок і повинна призводити до зміни спектрів поглинання цих рідких біонаносистем з часом. Експериментально було помічено, що дійсно інтенсивність поглинання світла на піку наночастинок з часом стає менш інтенсивною, поглинання бактерій також зменшується залежно від концентрації доданих наночастинок. Ці явища вказують на адсорбцію наночастинок бактеріями та пригнічення росту бактерій.

Ключові слова: наночастинки, бактерії, ближньопольова взаємодія, плазмон, спектр поглинання.

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	5
1.1. Оптичні методи дослідження наночастинок	5
1.2. Оптичні методи дослідження біооб'єктів	9
1.3. Ближньопольова взаємодія в наобіосистемах з точки зору теорії локального поля.....	11
РОЗДІЛ 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	17
2.1. Схема експерименту	17
2.2. Результати Експерименту.....	18
ВИСНОВКИ.....	24
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	25
ДОДАТОК А.....	26

ВСТУП

Взаємодія наночастинок з біомолекулами та біооб'єктами широко використовується в біоелектроніці, наприклад, у біосенсориці. У роботі досліджено зміни оптичних властивостей (спектрів поглинання) наночастинок з бактеріями *Bacillus clausii*. Теоретично показано, що адсорбція наночастинок на бактеріях призводить до зміни плазмонних властивостей наночастинок і повинна призводити до зміни спектрів поглинання цих рідких біонаносистем з часом. Експериментально було помічено, що дійсно інтенсивність поглинання світла на піку наночастинок з часом стає менш інтенсивною, поглинання бактерією також зменшується залежно від концентрації доданих наночастинок. Ці явища вказують на адсорбцію наночастинок бактеріями та пригнічення росту бактерій.

Об'єктом дослідження у роботі є рідкі наносистеми, що складаються з металевих наночастинок різної структури (однорідний матеріал та біметалеві) та складу (наночастинки золота, срібла, та біметалеві наночастинки типу сплаву з золота та срібла у різних співвідношеннях) у поєднанні із біооб'єктами (бактеріями). Предметом дослідження є оптичні властивості розчинів біооб'єктів з наночастинками.

Мета роботи. Експериментально дослідити спектри поглинання біопрепаратів з наночастинками у видимому діапазоні та виявити зміни, викликані взаємодією наночастинок з бактеріями.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Оптичні методи дослідження наночастинок

Особливістю оптичних властивостей наночастинок (НЧ) є локалізований поверхневий плазмонний резонанс (ЛППР), який проявляється у різкому зростанні поглинання та розсіювання електромагнітного випромінювання наноб'єктами при певній довжині хвилі падаючого світла, що потрапляє в резонанс із власною частотою коливань електронного газу на поверхні наноструктури. Відомо, що інтенсивність, півширина піку та положення на спектральній шкалі плазмонного резонансу наноструктур, в основному, залежать від матеріалу, геометричних параметрів (форми, розміру, структури) та навколишнього середовища [5].

При взаємодії електромагнітного випромінювання з металевими НЧ вільні електрони провідності частинок зміщуються щодо позитивно заряджених іонів (рис. 1.1).

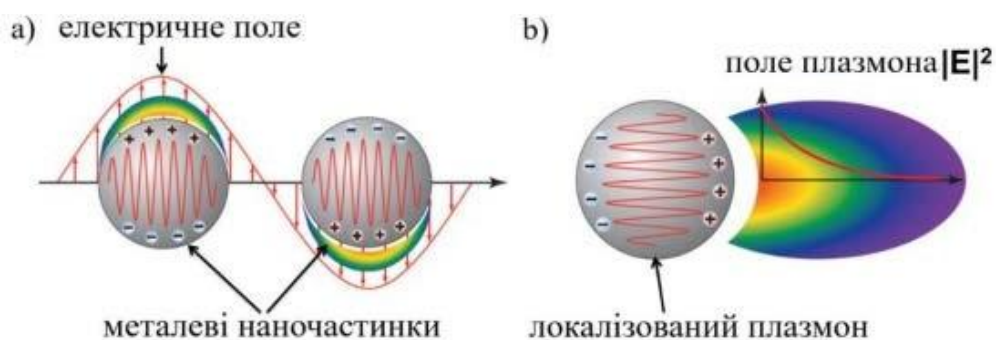


Рис. 1.1. Збудження ЛППР електричним полем (а) та розподіл інтенсивності поля навколо наночастинок зі збудженим плазмоном (b) {[13]}

Ці заряди коливаються колективно а рух електронів узгоджений по фазі. Якщо розмір металевої частинки значно менший за довжину хвилі падаючого світла, то зміщення електронів призводить до виникнення диполя. В результаті виникає сила, пропорційна величині зсуву, яка прагне повернути електрони в положення рівноваги породжуючи один власний резонанс електронів у частинці. Якщо частота коливань падаючого світла збігається з власною частотою коливань вільних електронів поблизу поверхні металевої наночастинки то дотримується резонансна умова (Рис.1.1, а) та спостерігається різке збільшення амплітуди коливання «електронної плазми». Це резонансне коливання створює великі, селективні по довжині хвилі, збільшення поглинання та розсіювання електромагнітного поля наночастинками.

ЛППР проявляється у виникненні інтенсивного піку на спектрі поглинання наночастинок благородних металів (срібло, золото, мідь) з розміром порядку 10-100 нм у видимому та ближньому інфрачервоному діапазоні. Наприклад, наночастинки золота сферичної форми з діаметром 10-25 нм мають пік поглинання поблизу 520 нм та насичений бордовий колір колоїду, аналогічні наночастинки срібла характеризуються жовтим кольором колоїду та максимумом поглинання поблизу 400 нм. Причому, положення та інтенсивність цього піку залежить в основному від розміру, форми наночастинок та параметрів діелектричного середовища, в яке поміщені частинки [5].

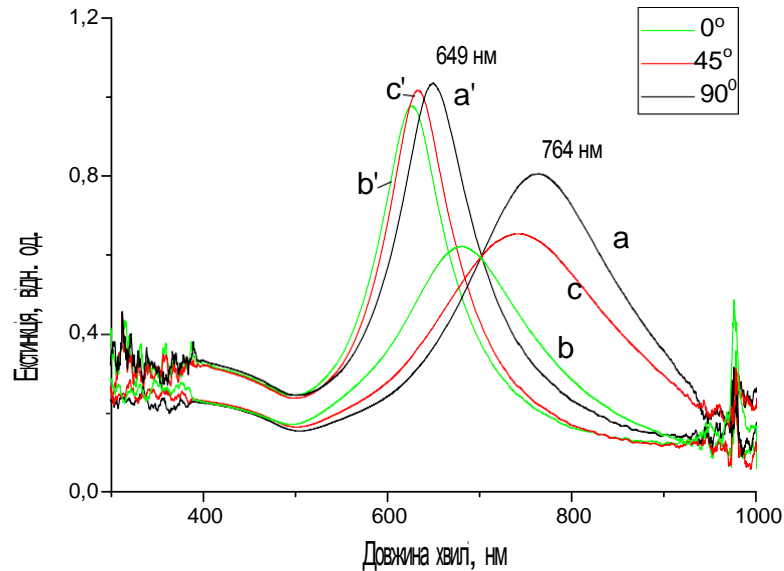


Рис. 1.2. ЛППР-спектри НЧ золота з різними розмірами та відстанню: 120×110×50 нм (справа) та 105×95×50 нм (зліва). Колір кривих відповідає лінійній поляризації падаючого світла з кутом повороту 0°, 45° та 90°.

Збудження смуг ЛППР дозволяє посилювати та налаштовувати електромагнітні поля, поглинання та розсіювання світла, змінюючи фізичні та елементарні параметри наночастинок. ЛППР може застосовуватися для моніторингу будь-яких фізичних явищ, що призводять до зміни “показника заломлення” на поверхні наночастинок, що робить метод універсальним та придатним для багатьох застосувань. Особливо значним є його потенціал для біосенсорних та біомедичних методик, а також для спектральних молекулярно-резонансних методів досліджень.

Описані вище властивості можна побачити на спектрі поглинання біметелевих НЧ. Варто зазначити, що профіль кривої поглинання НЧ типу «ядро-оболонка» відрізняється від такого для біметалевої НЧ типу «сплав», максимум якої знаходиться між максимумами смуг індивідуальних металів (рис. 1.3а), а також суміші наночастинок, у випадку якої формується два максимуми, і яка є сумою поглинання окремих складових частин (рис. 1.3б).

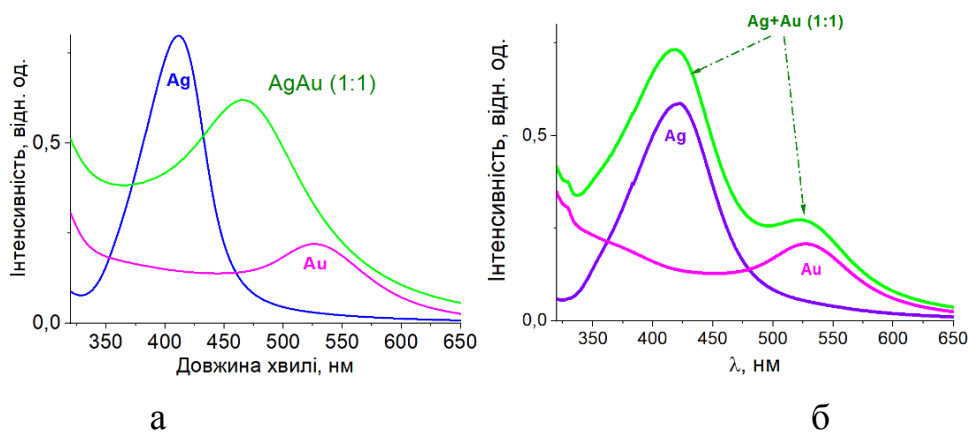


Рис. 1.3. – Спектри поглинання НЧ зі співвідношенням металів Ag:Au = 1:1 типу «сплав» (а), суміші наночастинок металів «НЧ Ag + НЧ Au» (б).

При формуванні таких структур відбувається різка зміна забарвлення колоїдних розчинів – смуга поглинання ядра екранується смугою поглинання оболонки, а система має спектр поглинання, який містить лише одну смугу, що свідчить про утворення оболонки одного металу на поверхні раніше сформованих наночастинок іншого. Зі збільшенням співвідношення металів Au:Ag від 1:0,75 до 1:1,125 у композитній наночастиці відбувається зростання на третину інтенсивності смуги металу, що складає оболонку – срібла (рис. 1.4а), і навпаки (рис. 1.4б).

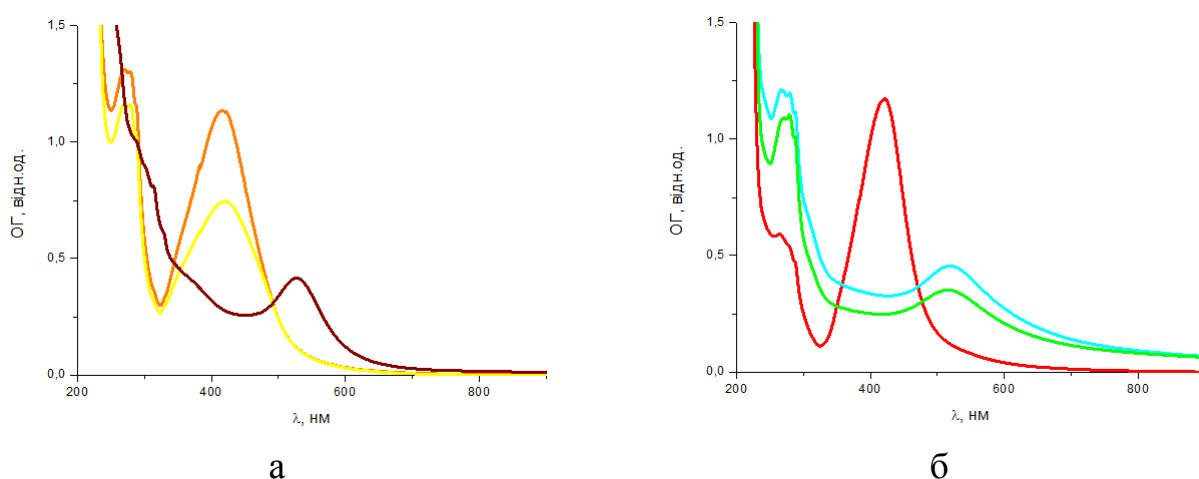


Рис. 1.4. – Спектри поглинання НЧ Au_{ядро} Ag_{оболонка} (а) та НЧ Ag_{ядро} Au_{оболонка} (б). Співвідношення металів складає Au:Ag = 1:0,75 та 1:1,125 (а), та Ag:Au = 1:0,75 та 1:1,125 (б).

1.2. Оптичні методи дослідження біооб'єктів

Основним із сучасних методів дослідження біооб'єктів є спектральний аналіз. Він належить до фізико-хімічних методів якісного й кількісного визначення атомного та молекулярного складу речовин, ґрунтується на дослідженні спектрів, що поглинаються або випромінюються речовинами, які аналізують. В основі цих методів лежить принцип вимірювання зміни інтенсивності світлового потоку.

Спектрофотометрія, або, у ширшому розумінні, колориметрія, - вимірювання інтенсивності забарвлення розчину досліджуваної речовини відносно інтенсивності забарвлення еталонного розчину з достовірно відомою концентрацією.

Власне спектрофотометрія - це вимірювання поглинання (і пропускання) прозорих розчинів в ультрафіолетовій, видимій та інфрачервоній ділянках спектра (220-1100 нм).

Прилади, принцип роботи яких ґрунтується на вимірюванні світлопоглинання речовин, називають абсорбціометрами. До них належать фотоелектроколориметри (ФЕК) і спектрофотометри (СФ). ФЕК дають змогу проводити вимірювання у видимій частині спектра, тоді як СФ - у широкому діапазоні хвиль, від ультрафіолетового до інфрачервоного (210-1100 нм), і досліджувати забарвлені та безбарвні розчини у вузькій частині спектра, у зоні максимального поглинання монохроматичного потоку світла[6].

Спектрофотометрія у видимій області і УФ-областях дозволяє оцінювати ступінь чистоти речовини, ідентифікувати по спектру різні сполуки, визначити константи дисоціації кислот і основ.

Інфрачервоні (ІЧ) спектри дають характеристику речовин. Наявність в ІЧ-спектрах тих чи інших полос поглинання дозволяє розшифрувати структуру речовини. УФ-спектрофотометричне вимірювання проводять в розчинах. Як розчинники використовують очищену воду, кислоти, луги, спирти (метанол, етанол), деякі інші органічні розчинники. Розчинник не

повинен поглинати в тій чи іншій області спектра, що і аналізуємо речовина. Характер спектра (структура і положення полос поглинання) може змінюватися в різних розчинниках, а також при зміні рН середовища. Метод УФ-спектрофотометрії використовують для визначення ідентичності, чистоти і кількісного вмісту лікарських препаратів.

Принцип роботи абсорбціометрів полягає у поглинанні оптичного випромінювання електромагнітного спектру. Речовина, що аналізується, у рідкому стані прозора для видимого світла. Ця речовина розпоршується, і створюються частинки аерозолі. Випромінювання проходить через аерозоль і змінюється за рахунок поглинання. Ця зміна випромінювання реєструється фотоприймачем, який і вимірює цей параметр. Але деякі речовини при контакті з хімічними реагентами забарвлюються або забарвлюють хімічні реагенти. Інтенсивність забарвлення вимірюється за допомогою колориметричних аналізаторів безперервної або дискретної дії. Таким чином, вимірюють концентрацію аналізованої речовини. Колориметри являються селективними за спектральним діапазоном за допомогою спеціальних реагентів[7].

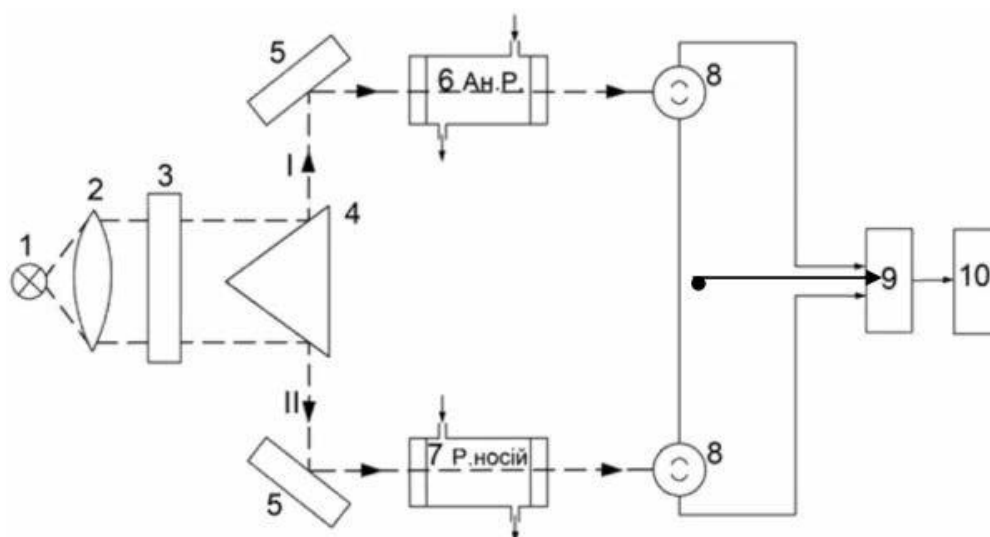


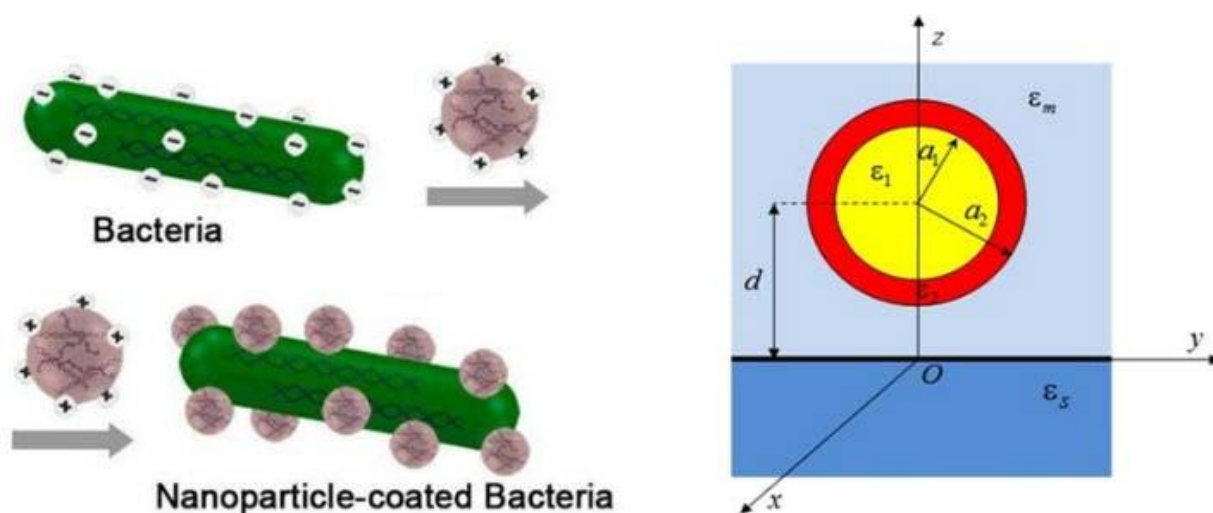
Рис. 1.5. – Оптична схема фотоколориметричного двопроменевого аналізатора безперервної дії

- 1 – джерело випромінювання;
- 2 – конденсор або об'єктив;
- 3 – світлофільтр;
- 4 – призма;
- 5 – дзеркало;
- 6 – кювета з аналізованою речовиною;
- 7 – кювета з речовиною-носієм.

Випромінювання джерела 1 після конденсора або об'єктива 2 направляєється через світлофільтр 3, після якого призмою 4 поділяється на два пучки рівної інтенсивності I і II. Промінь I дзеркалом 5 направляєється у вимірювальну кювету 6 з аналізованою речовиною, а промінь II направляєється у порівняльну кювету 7 із зразковим розчином відомої концентрації. Фотоприймачі 8 на виході кювет 6 і 7 підключаються на вхід вимірювальної системи 9 по зустрічній схемі. Різниця сигналів фотоприймачів 8 підсилюється і направляєється на вторинний прилад 10, який відградуваний в одиницях вимірювальної концентрації.

1.3. Ближньопольова взаємодія в наобіосистемах з точки зору теорії локального поля

У роботі [1] показано, що біологічні наслідки взаємодії наночастинок з вірусами можна пояснити в рамках теорії локального поля та через взаємодію ближнього поля. Була використана модель ближнього поля взаємодії двох наночастинок, оскільки віруси мають розміри до 200 нм і з фізичної точки зору є наночастинками. Проте, якщо вивчати біонаносистеми з більшими біооб'єктами (бактеріями, грибами, клітинами чи внутрішньоклітинними взаємодіями), здається, що модель взаємодії ближнього поля не можна застосувати. Проте давайте поглянемо на фігури різних нанобіосистем та їх фізичні моделі (рис. 1). Видно, що дійсно навіть у великомасштабних біосистемах з наночастками можна виділити підсистеми наночастинка-наночастинка, наночастинка-поверхня, наночастинка-нанооб'єкт. У цьому випадку основний вплив ближньої взаємодії на властивості всієї біосистеми відбувається всередині такої підсистеми і може бути описано за допомогою раніше розроблених моделей, частково описаних у [1,2].



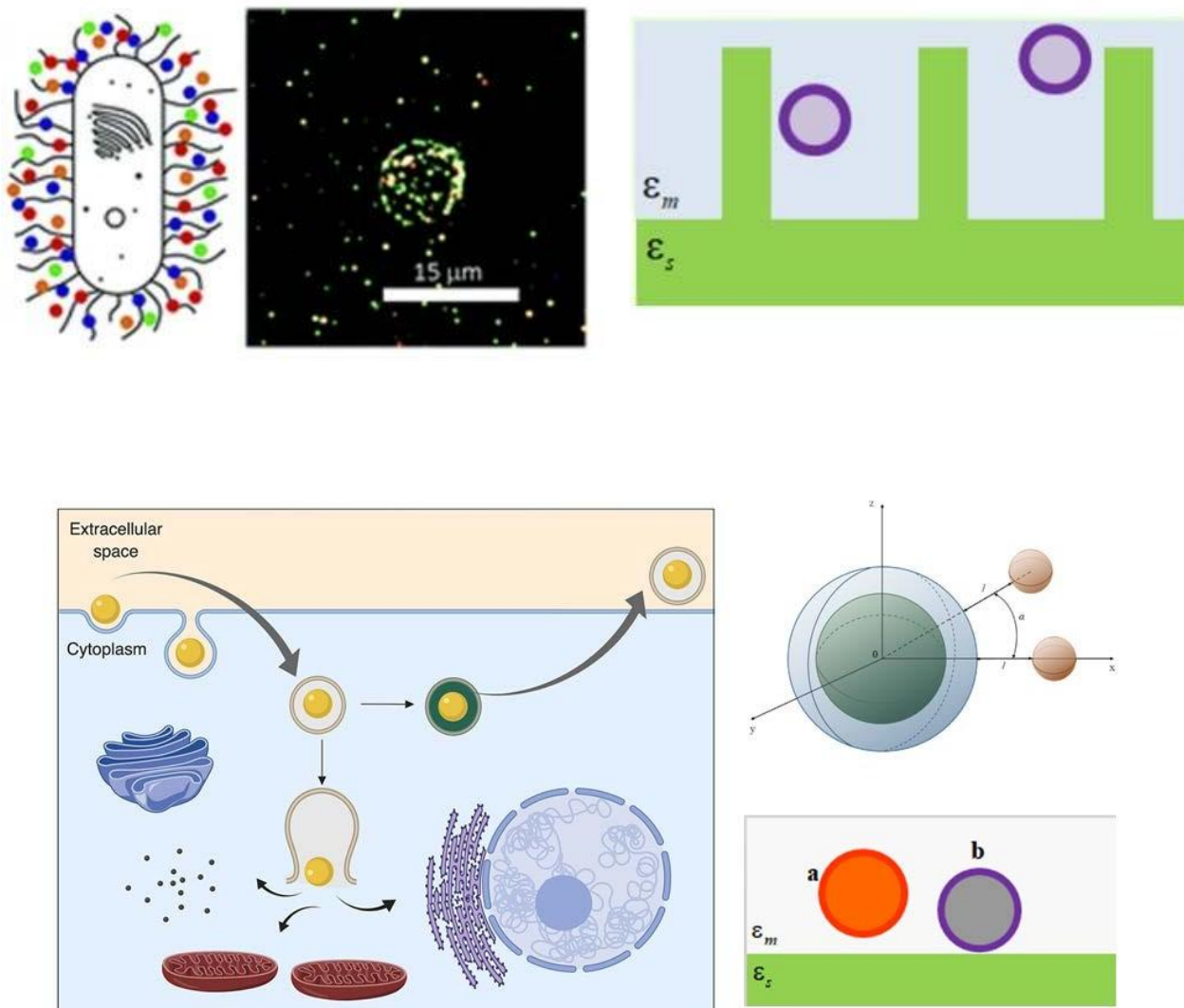


Рис. 1.6. Різні нанобіосистеми, що складаються з мікроорганізмів і наночастинок (ліворуч) та еквіваленти цих систем з точки зору взаємодії ближнього поля (праворуч)

Тому взаємодія наночастинок з оболонкою мікроорганізму подібна до взаємодії мікроорганізму з поверхнею неоднорідної структури; взаємодія наночастинок з джгутиками бактерій - еквівалентна взаємодії наночастинок з наноструктурованою поверхнею; взаємодія наночастинок з внутрішньоклітинними об'єктами схожа на взаємодію двох або більше наночастинок різної форми, розміру та матеріалу. Це означає, що в усіх описаних системах при взаємодії ближнього поля ми можемо спостерігати зміни видимих спектрів поглинання зразків.

Виходячи з вищесказаного, можна припустити, що зміни видимих спектрів біонанозразків можуть бути наслідком взаємодії ближнього поля між наночастинками та біооб'єктами. Результатом взаємодії є формування стабільної структури «біооб'єкт-наночастинка», оптичні властивості якої (в основному за рахунок плазмонного резонансу) відрізняються від оптичних властивостей наночастинок без біооб'єктів. А саме, ця ідея є основою деяких біосенсорів. Розглянемо систему, що складається з біооб'єктів (нанорозмірних) і наночастинок (рис. 2). Нехай зовнішнє світло падає на систему. Кут між напрямком поширення світла та віссю симетрії системи OZ дорівнює θ . Для демонстрації впливу дії плазмонного резонансу на взаємодію наночастинок з біооб'єктами розрахуємо ефективну сприйнятливість [3] розглянутої системи. Для його створення скористаємося методом псевдовакуумної функції Гріна [4].

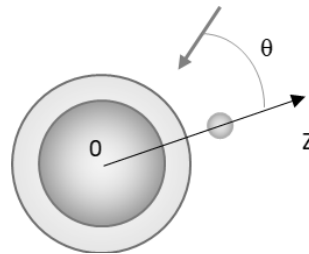


Рис. 1.7. Ескіз системи «біооб'єкт-наночастинка»

Розглянемо середовище, що складається з середовища, в яке вбудована наночастинка. Ефективна сприйнятливість наночастинок становить $X_{ij}^{(p)}(\mathbf{R}, \omega)$. Електродинамічною функцією Гріна середовища є $G_{ij}^{(0)}(\mathbf{R}, \mathbf{R}', \omega)$. Потім, використовуючи метод, запропонований у [4], запишемо псевдовакуумну функцію Гріна системи «наночастинка-середовище»

$$G_{ij}^{(m)}(\mathbf{R}, \mathbf{R}', \omega) = G_{ij}^{(0)}(\mathbf{R}, \mathbf{R}', \omega) - k^2 \int_0 V_p d\mathbf{R}'' G_{ik}^{(0)}(\mathbf{R}, \mathbf{R}'', \omega) X_{kl}^{(p)}(\mathbf{R}'', \omega) G_{lj}^{(0)}(\mathbf{R}'', \mathbf{R}', \omega) \quad (1)$$

де інтегрування відбувається по об'єму наночастинки, $k_0 = \omega/c$.

Тепер давайте обговоримо плазмонний резонанс в системі «біооб'єкт-наночастинка». Треба визначити, що означає плазмонний резонанс для розглянутої системи. Відомо, що в однорідних системах можна переходити у обернений простір і розглядати перетворення Фур'є ефективної сприйнятливості

$$\chi_{ij}^{(bio)}(\mathbf{k}, \omega) = \frac{\beta_{ij}(\mathbf{k}, \omega)}{n(\mathbf{k}, \omega)} \quad (2)$$

У цьому випадку маємо умову плазмонного резонансу

$$Re \Omega(\mathbf{k}, \omega) = 0 \quad (3)$$

Рівняння (3) дає зв'язок між частотою та хвильовим вектором, який зазвичай називають дисперсійними відношеннями.

Тоді дисипативну функцію системи можна визначити як:

$$Q(\omega) = \omega \int_{V_v} d\mathbf{R}' \operatorname{Im} \chi_{ij}^{(bio)}(\mathbf{R}', \omega) E_j^{(0)}(\omega)^2, \quad (4)$$

де

$$\chi_{ij}^{(bio)}(\mathbf{R}, \omega) = \chi_{ij}^{(v)}(\mathbf{R}, \omega)^{-1} - k_0^2 \int_{V_{bio}} d\mathbf{R}' G_{ji}^{(m)}(\mathbf{R}, \mathbf{R}', \omega)^{-1} \quad (5)$$

визначає ефективну сприйнятливість біооб'єкта з ефективною сприйнятливістю біооб'єкта $\chi_{ij}^{(v)}(\mathbf{R}, \omega)$, вбудованого в середовище, описане функцією Гріна $G_{ij}^{(0)}(\mathbf{R}, \mathbf{R}', \omega)$, а саме середовище без наночастинок.

Дисипативна функція - це тривимірний ландшафт. Приклад проєкції дисипативної функції на $(\sin\theta, \omega)$ з дисперсійними кривими показано на рис.3. Тоді, використовуючи значення ω та $\sin\theta$ із світлових доменів двохвимірної проєкції ландшафту дисипативної функції, можна отримати умови, за яких розглянута наносистема буде перебувати в резонансі. Оскільки резонанс означає дуже сильні дисипативні процеси, він формально означає дуже високі значення ефективних сприйнятливостей і визначає спектри поглинання такої системи.

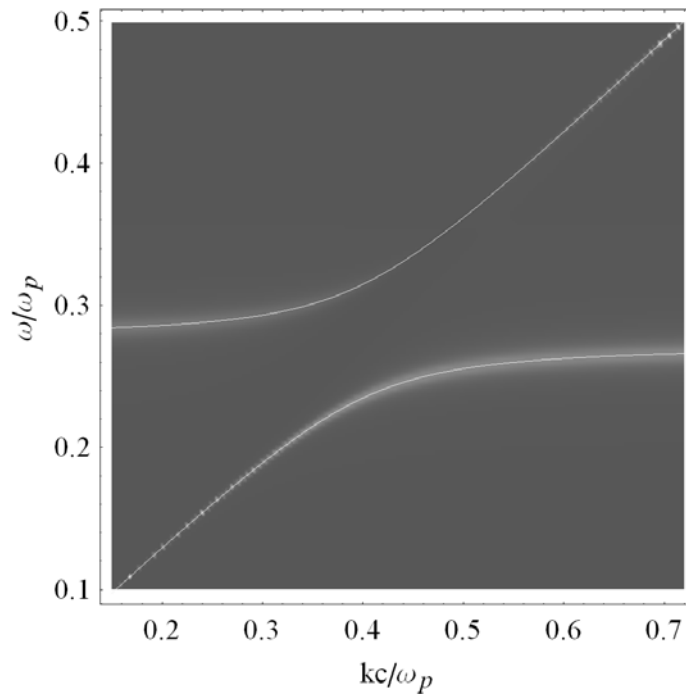


Рис. 1.8. Карта ландшафту поглинання як функція частоти та хвильового вектора з відповідними кривими дисперсії (суцільні світлові лінії).

З (1,4,5) видно, що при зміні геометрії системи (тобто адсорбції наночастинок на поверхні біооб'єктів) змінюється локальний розподіл поля і, як наслідок, змінюється поглинута енергія. Оскільки плазмонний резонанс наночастинок знаходиться у видимому діапазоні, це означає, що, вимірюючи видимі спектри зразків наночастинок з біооб'єктами, ми можемо з'ясувати, чи є адсорбція наночастинок на поверхні біооб'єктів.

З іншого боку, якщо в нанобіосистемах спостерігається пригнічення росту бактерій, то оптична густина на відповідній довжині хвилі має бути меншою, ніж у інтактних зразків. Отже, ми будемо експеримент двома способами: вища концентрація бактерій, щоб спостерігати за змінами в поглинанні бактерій, і вища концентрація наночастинок, щоб спостерігати за змінами поглинання наночастинок.

РОЗДІЛ 2

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

2.1. Схема експерименту

Для вивчення спектрів поглинання препаратів було використано пластикові кювети для спектрофотометрів, кожна з яких заповнювалась досліджуваним розчином у кількості 2 мл. Кювети підписують відповідно до концентрації та типу розчину НЧ і заповнюють 1 мл бульйону бактерій у водному розчині 1:10 та 1 мл розчину наночастинок. Потім кювети закривають лабораторною плівкою і переносять у спектрофотометр для першого аналізу (час = 00). Потім серію інкубації та аналізу організовують за такими часовими етапами: 21 година, 26 годин, 44 години, 45 годин, 69 годин і 165 години.

	A	B	C	D	F	F	G	H	I	J	K
1	1 мл НЧ Ag + 1 мл Бак1	1 мл НЧ Ag + 1 мл Бак1	1 мл НЧ Ag + 1 мл Бак01	1 мл НЧ Ag + 1 мл Бак01	1 мл НЧ Ag + 1 мл Бак001	1 мл НЧ Ag + 1 мл Бак001	1 мл НЧ Ag + 1 мл ПС	1 мл НЧ Ag + 1 мл ПС	1 мл НЧ Ag + 1 мл вода	1 мл НЧ Ag + 1 мл вода	Ag розведення 1:10
2	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл Бак1	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл Бак1	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл Бак01	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл Бак01	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл Бак001	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл Бак001	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл ПС	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл ПС	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл вода	1 мл НЧ AgAu31 + 1 мл вода	Ag:Au 3:1 розведення 1:10
3	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл Бак1	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл Бак1	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл Бак01	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл Бак01	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл Бак001	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл Бак001	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл ПС	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл ПС	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл вода	1 мл НЧ AgAu11 + 1 мл вода	Ag:Au 1:1 розведення 1:10
4	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл Бак1	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл Бак1	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл Бак01	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл Бак01	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл Бак001	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл Бак001	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл ПС	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл ПС	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл вода	1 мл НЧ AgAu13 + 1 мл вода	Ag:Au 1:3 розведення 1:10
5	1 мл НЧ Au + 1 мл Бак1	1 мл НЧ Au + 1 мл Бак1	1 мл НЧ Au + 1 мл Бак01	1 мл НЧ Au + 1 мл Бак01	1 мл НЧ Au + 1 мл Бак001	1 мл НЧ Au + 1 мл Бак001	1 мл НЧ Au + 1 мл ПС	1 мл НЧ Au + 1 мл ПС	1 мл НЧ Au + 1 мл вода	1 мл НЧ Au + 1 мл вода	Au розведення 1:10
6	1 мл вода + 1 мл Бак1	1 мл вода + 1 мл Бак1	1 мл вода + 1 мл Бак01	1 мл вода + 1 мл Бак01	1 мл вода + 1 мл Бак001	1 мл вода + 1 мл Бак001	1 мл вода + 1 мл ПС	1 мл вода + 1 мл ПС	1 мл вода + 1 мл вода	1 мл вода + 1 мл вода	Контроль
11	Бактерії, вихідна концентрація		Бактерії, 1:10		Бактерії, 1:100		Поживне середовище		Вода		
12											04 - додаємо по 0.4

Рис. 2.1. Схема експерименту

Схема експерименту показана на рис. 2.1. Для контролю в роботі використовувались чисті розчини наночастинок, чистий бульйон бактерій, розчин поживного середовища, а також окремо досліджувалась взаємодія наночастинок з поживним середовищем. Кожен досліджуваний зразок було приготовано у двох кюветах. Витримка препаратів відбувалась в шейкері-інкубаторі.

Спектри поглинання розчинів та колоїдних систем біметалевих наночастинок та біопрепаратів реєстрували методом *абсорбційної спектроскопії* в УФ- та видимій області (300-800 нм) за допомогою спектрофотометра (UV-1800PCSERIES) з діапазоном вимірювання 190-1100 нм. Препарати були приготовані в пластмасових кюветах, призначених для проведення оптичних вимірювань, розмірами 1*1*4.5 см та об'ємом 4.5 мл.

Вимірювання проводились з використанням програми UV-VIS analyst.

2.2. Результати Експерименту

У результаті роботи було отримано багато нових результатів. Зокрема, було також показано, що взаємодія наночастинок з бактеріями залежить від складу наночастинок. Проте експеримент мав другу частину: перевірку біологічних наслідків такої взаємодії, яку не вдалось реалізувати через обставини в країні. Тому частина отриманих результатів не може бути проаналізована в повній мірі. Далі наведено ті результати, які можна трактувати на даний момент.

Спочатку розглянемо оптичні властивості інтактних бактерій (рис. 2.2). Видно, що інтактні бактерії живуть і ростуть в інтактному зразку в присутності середовища вирощування. Через 24 години інкубації можна спостерігати збільшення всмоктування. Отже, можна зробити висновок, що три піки на довжинах хвиль нижче 450 нм відповідають поглинанню чистих бактерій.

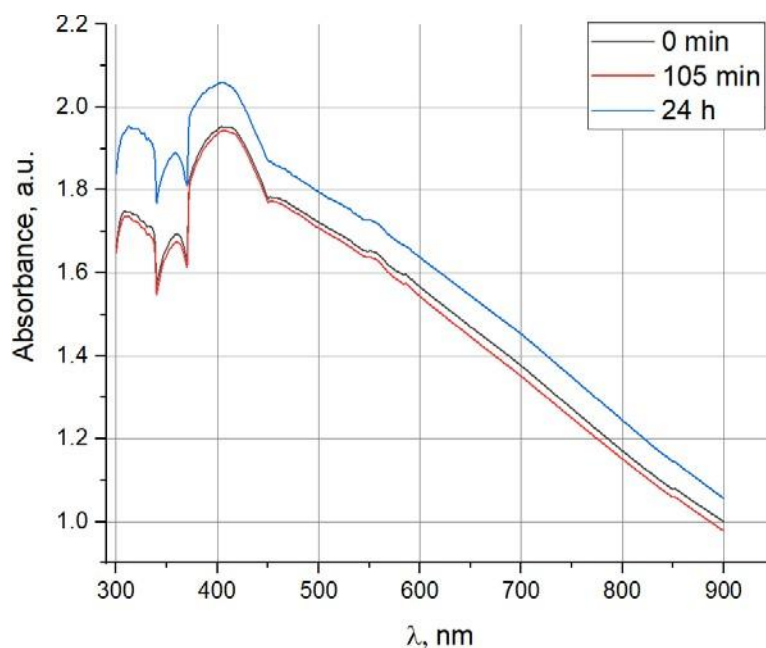


Рис. 2.2. Спектри поглинання інтактних бактерій.

У разі інкубації бактерій з наночастинками з різними стабілізаторами (рис. 2.3-2.5) видно, що на зазначених довжинах хвилі збільшення поглинання не спостерігається. Оскільки наночастинки пригнічують активність бактерій, очевидно, що поглинання світла бактеріями має бути нижчим.

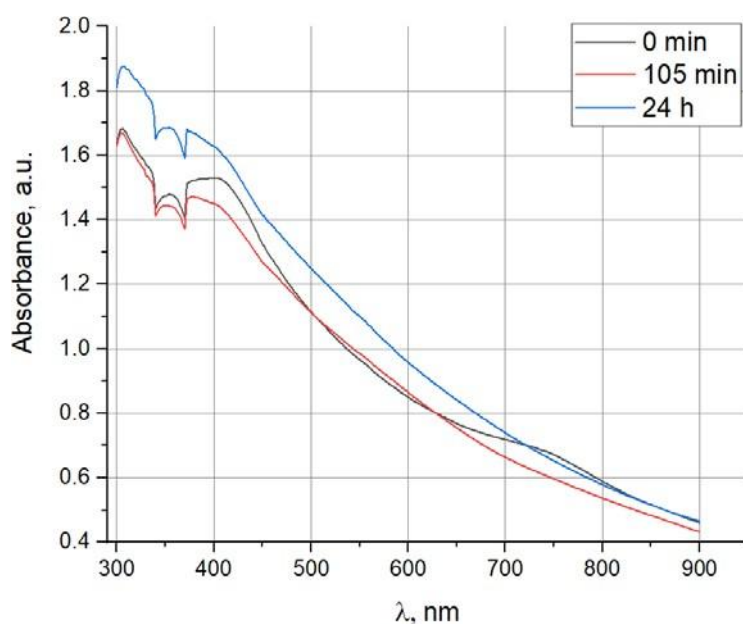
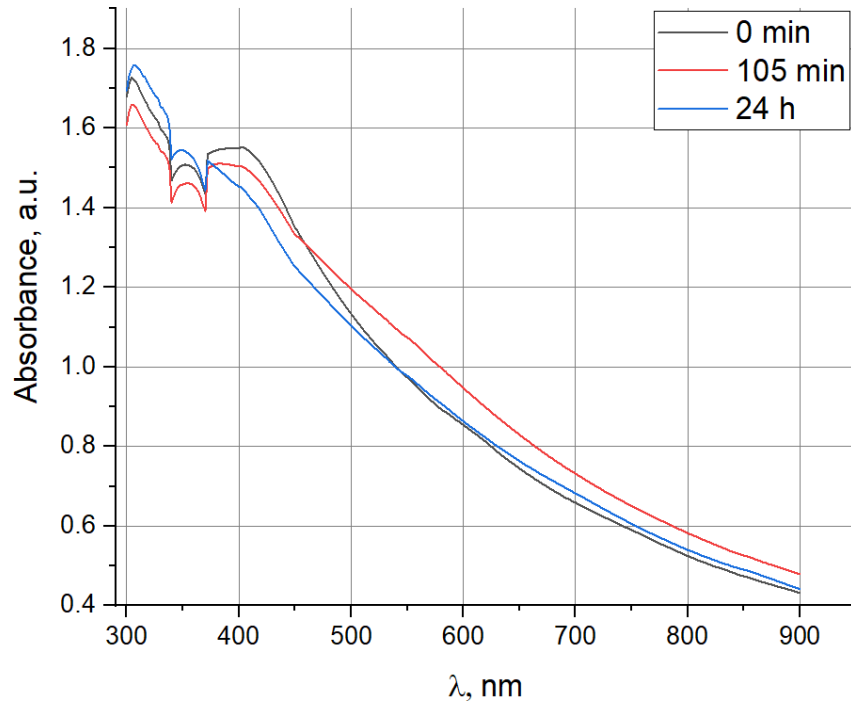
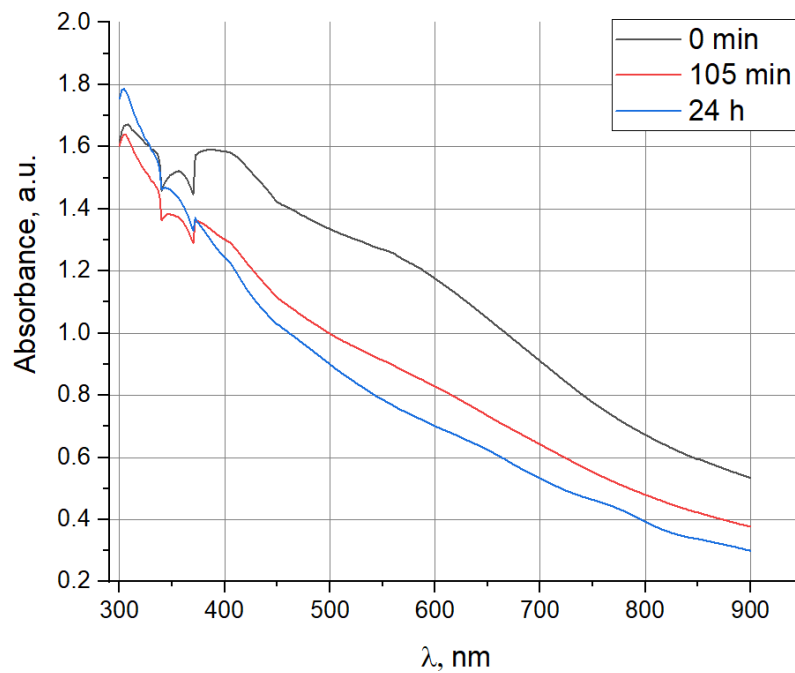


Рис. 2.3. Спектри поглинання бактерій, інкубованих з наночастинками Ag,



стабілізованими додецилсульфатом натрію.

Рис. 2.4. Спектри поглинання бактерій, інкубованих з наночастинками Ag,



стабілізованими цитратом натрію.

Рис. 2.5. Спектри поглинання бактерій, інкубованих з наночастинками Ag, стабілізованими триптофаном.

На рис. 2.6 показана залежність оптичних властивостей бактерій, інкубованих з наночастинками Ag, від стабілізатора. Оскільки стабілізатор утворює оболонку навколо наночастинок, його параметри змінюють геометрію системи і, як було показано раніше, змінюють взаємодії в біонаносистемі та її оптичні властивості.

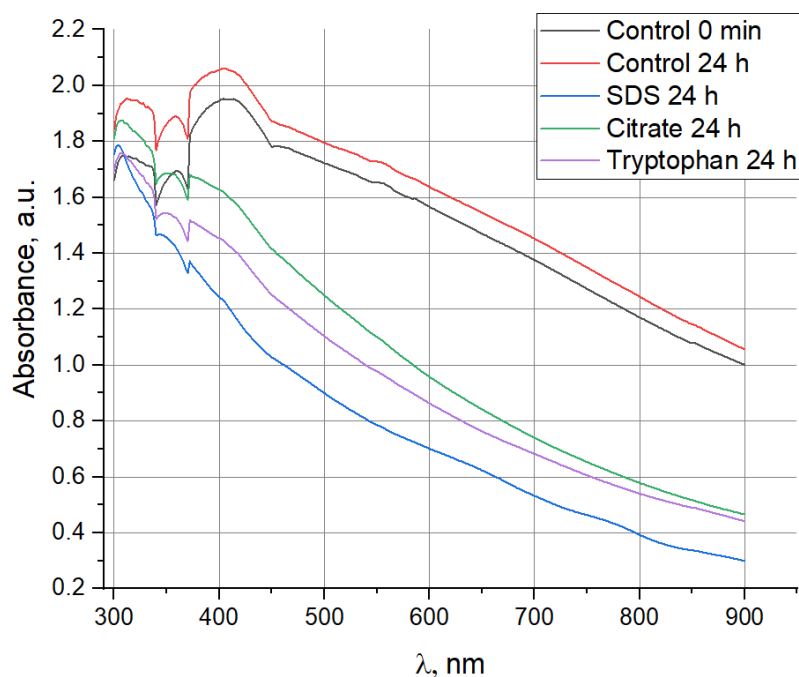


Рис. 2.6. Спектри поглинання бактерій, інкубованих з наночастинками Ag з різними стабілізаторами.

На рис. 2.7 видно, що оптичні властивості бактерій, інкубованих з наночастинками Ag, чутливі до концентрації наночастинок (залежність немонотонна). Зауважимо, що у всіх досліджених випадках концентрація бактерій досить висока, тому пік поглинання світла наночастинками неможливо визначити на всіх спектрах. Це означає, що оскільки взаємодія в досліджуваних системах залежить від концентрації, цю властивість можна також оцінити за допомогою видимих спектрів.

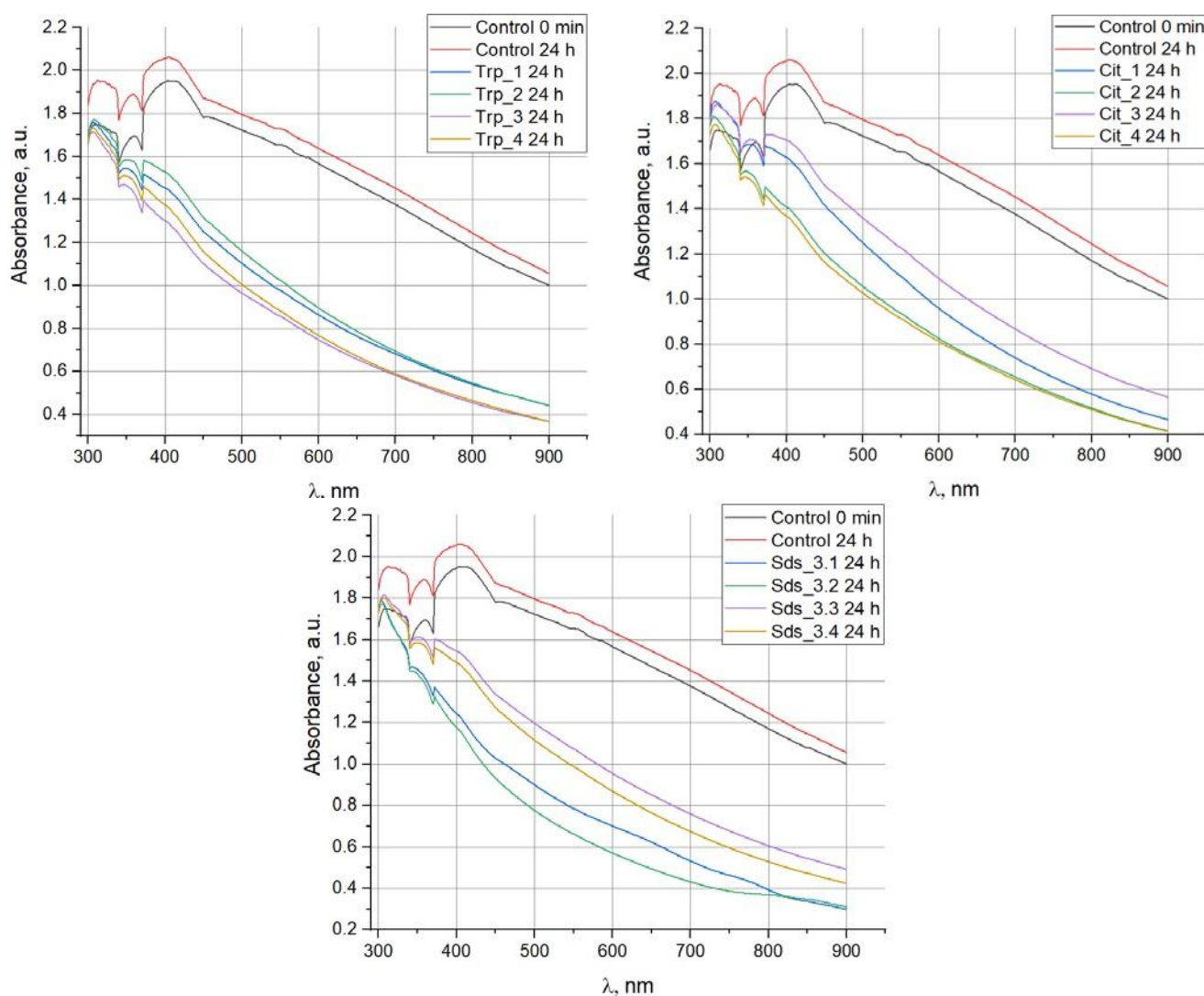


Рис. 2.7. Спектри поглинання бактерій, інкубованих з наночастинками Ag з різними стабілізаторами залежно від концентрації наночастинок.

Якщо в експерименті використовувати нижчу концентрацію бактерій, то абсорбція бактерій буде набагато нижчою, ніж у наночастинок, результати показують (приклад для наночастинок, стабілізованих триптофаном на рис. 2.8), що концентрація ізольованих наночастинок у розчині зменшується з часом. Очевидно, це пов'язано з адсорбцією наночастинок на поверхні бактерій або проникненням всередину бактерій.

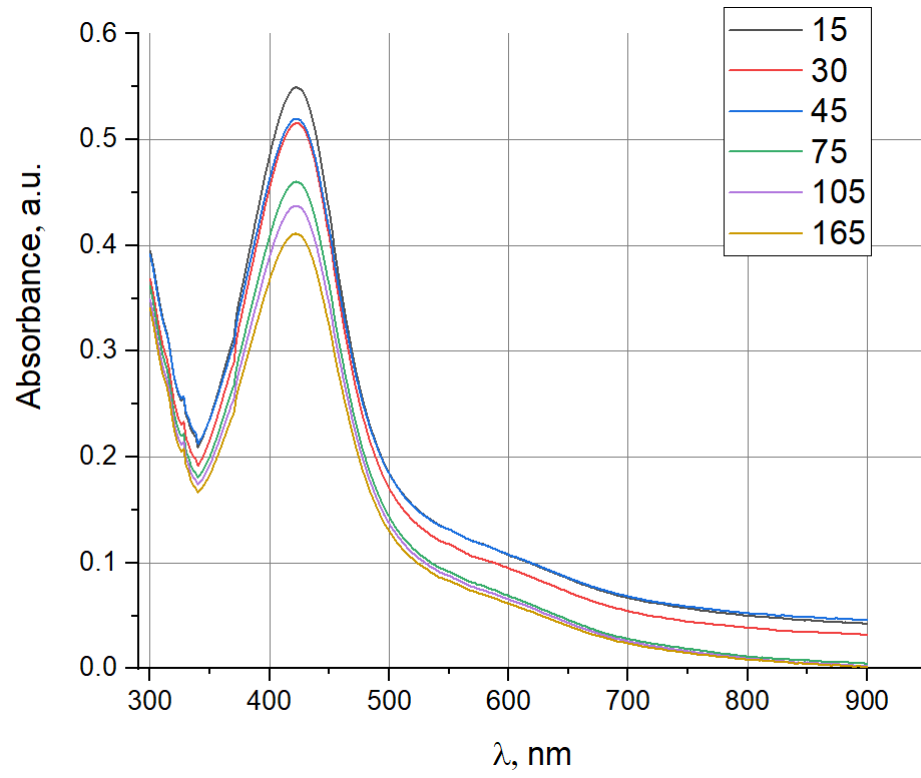


Рис. 2.8. Спектри поглинання бактерій, інкубованих з наночастинками Ag, стабілізованими триптофаном.

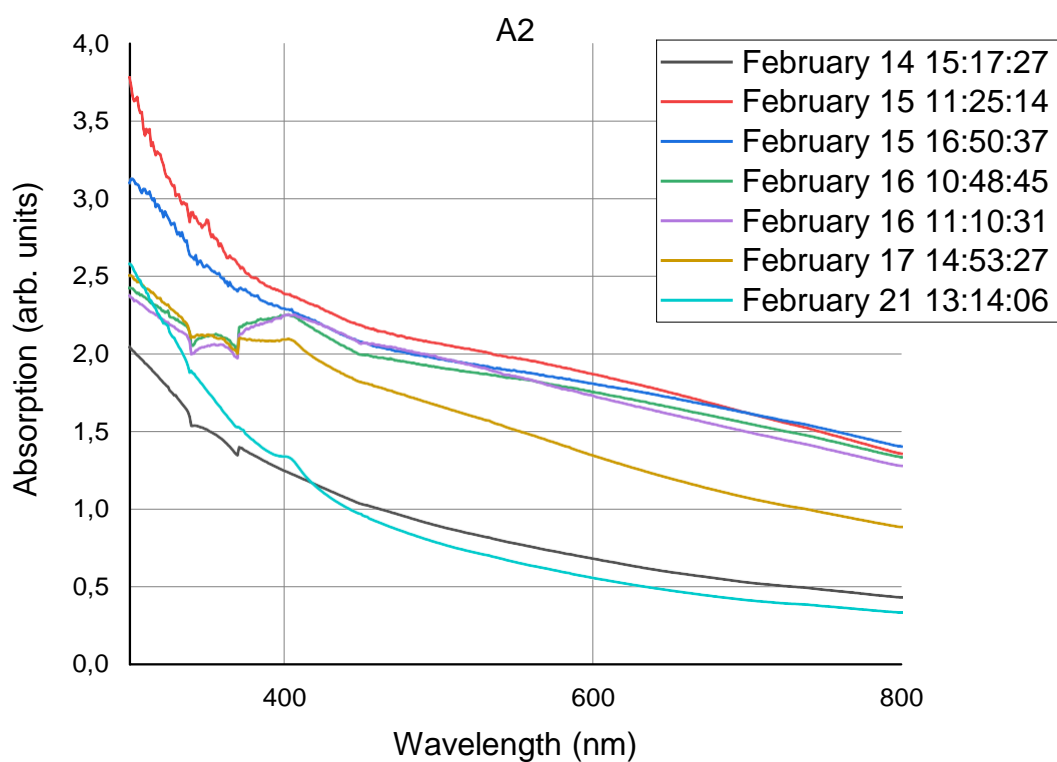
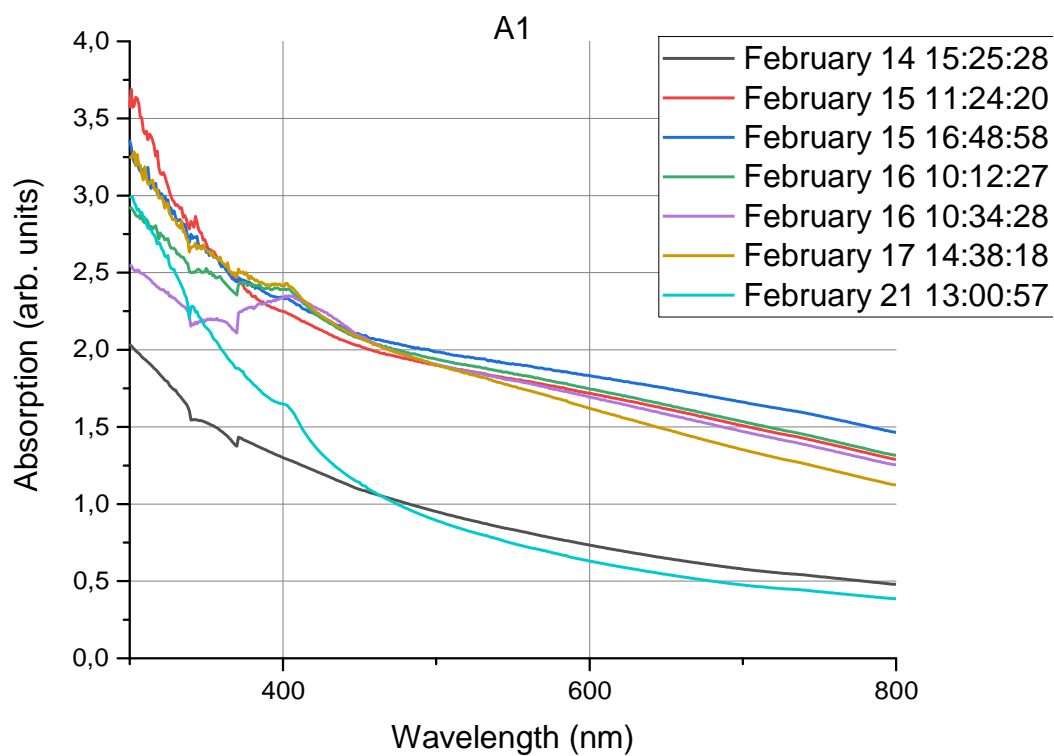
ВИСНОВКИ

Проведено експериментальне та теоретичне дослідження оптичних властивостей біонаносистем на прикладі бактерій *Bacillus clausii* з наночастинками Ag. Результати дослідження демонструють основи використання вимірювань видимих спектрів поглинання розчинів бактерій у ростовому середовищі з наночастинками для дослідження взаємодій у біонаносистемі та оцінці біологічних наслідків такої взаємодії. Результати також свідчать про те, що такі вимірювання є занадто чутливими і відображають вплив стабілізатора наночастинок, їх складу і концентрації.

Також було показано, що поєднуючи вимірювання розчинів з різними концентраціями бактерій, можна окремо оцінити зміни, що відбуваються в бактеріях і в наночастинках.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1] V. Lozovski, V. Lysenko, N. Rusinchuk, «Near-field interaction explains features of antiviral action of non-functionalized nanoparticles», *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 2020, V. 11;
- [2] V. Lozovski, P. Mai, N. Rusinchuk «Influence of the Surface Roughness on the Nanoparticle Adsorption: Theoretical Consideration», 2018 IEEE 38th International Conference on Electronics and Nanotechnology, ELNANO 2018 – Proceedings, pp. 335 – 339;
- [3] V. Lozovski «The Effective Susceptibility Concept in the Electrodynamics of Nano-Systems», *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, V. 7, 2010, pp. 01-17;
- [4] O. Keller «Local fields in the electrodynamics of mesoscopic media», *Physical Reports*, 268, 1996, pp. 85-262;
- [5] Булавець Т. О. «Фотодинамічні властивості наноструктур в умовах плазмонного резонансу», Національний університет «Львівська Політехніка», 2020, ст. 27 – 29;
- [6] Гураль О., Змішовський Н., Кіцак І. «Спектрофотометрія та її застосування», *Природничі та Гуманітарні Науки. Актуальні питання*, 2017, ст. 202;
- [7] М.Ф. Богомолів, В.Б. Максименко, В.В. Шликов «Методи та засоби діагностики. Сучасні оптоелектронні діагностичні прилади», КПІ ім. Ігоря, 2021, ст. 93 – 97;



ДОДАТОК А

