

Шифр «бактеріородопсин»

**Вплив водних розчинів аміаку на оптичні характеристики
багатошарових плівок бактеріородопсин-SiO₂ золь-гельне скло**

АНОТАЦІЯ

наукової роботи під шифром «бактеріородопсин»

У роботі проаналізовано наукову літературу та вказано перспективні напрямки практичного використання матеріалів на основі бактеріородопсину. Наведено основні методи отримання плівок на основі бактеріородопсину з використанням різних матриць, та описана методика дослідження впливу водних розчинів аміаку на параметри цих плівок.

Представлені результати досліджень впливу водних розчинів аміаку на властивості плівок бактеріородопсину в золь-гельних та желатинових матрицях. Наявність аміаку у водному розчині, який оточує плівку, приводить до змін у проходженні фотоциклу, а величина змін залежить від типу матриці плівки. На основі отриманих результатів запропоновано молекулярний механізм взаємодії аміаку з молекулами бактеріородопсину.

Загальна характеристика наукової роботи. Робота містить: вступ, два розділи, висновки, список використаних джерел. Кількість сторінок – 32; кількість рисунків – 20; кількість використаних наукових джерел – 34.

Ключові слова: бактеріородопсин, фотоцикл, плівки, фотоіндуковані зміни пропускання.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	2
ВСТУП.....	3
РОЗДІЛ 1. ОПТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІОРОДОПСИНУ ТА ПЛІВОК НА ЙОГО ОСНОВІ	4
1.1. Структура і оптичні властивості бактеріородопсину. Фотоцикл.....	4
1.2. Вплив типу матриці та методу отримання на властивості плівок бактеріородопсину	8
1.3. Сфери практичного використання унікальних властивостей бактеріородопсину	12
РОЗДІЛ 2. ВПЛИВ ВОДНИХ РОЗЧИНІВ АМІАКУ НА ОПТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ПЛІВОК БАКТЕРІОРОДОПСИНУ	16
2.1. Вплив водних розчинів аміаку на параметри плівок бактеріородопсину в желатинових та золь-гельних матрицях.....	16
2.2. Дослідження впливу водних розчинів аміаку на характеристики багатошарових структур на основі бактеріородопсину та золь-гельного скла.....	23
2.3. Аналіз отриманих результатів в рамках молекулярного механізму взаємодії аміаку з молекулами бактеріородопсину	26
ВИСНОВКИ	28
ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА.....	29

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БР – бактеріородопсин

ПМ - пурпурні мембрани

РЕМ - растрова електронна мікроскопія

АСМ - атомно-силова мікроскопія

ТЕОС – тетраетилортосилікат

ПВС - полівініловий спирт

ШО - шифова основа

ВСТУП

Актуальність роботи визначається підвищеним інтересом до проблеми створення та керування властивостями нових оптичних матеріалів. Вивчення фізичних властивостей біоматеріалів на прикладі унікальних матеріалів на основі бактеріородопсину є, безперечно, актуальним для розв'язку широкого кола проблем, над якими працюють розробники високочутливих пристроїв для біосенсорики, голографічної інтерферометрії, нелінійної фільтрації оптичного випромінювання і т. д. Біосенсорика – одна з найдинамічніших в останню декаду областей дослідження, розробок і виробництва технічних засобів детектування та визначення концентрації речовин. Чутливість біологічних систем дозволяє їм реагувати при концентраціях на 5-10 порядків величини менших, ніж границя чутливості традиційних технічних засобів. Ця та ряд інших обставин привели до створення нової галузі науки і техніки пов'язаної із створенням біосенсорів. Для створення останніх необхідно поєднання чутливого матеріалу біологічного походження та технічна реалізація перетворювача. Для біомедичних застосувань найбільш зручними є оптичні, зокрема волоконно- та інтегрально-оптичні біосенсиори, в яких під дією певних хімічних компонентів, або цілих біологічних комплексів змінюються оптичні параметри чутливих елементів і, відповідно, модулюється реєстроване випромінювання. В ролі чутливих елементів можуть бути як пасивні (волокно або планарний хвилевод), так і оптично активні шари з складних матеріалів у яких під дією хімічних реагентів змінюється ряд оптичних параметрів. Останні є найбільш чутливими із досліджених на сьогодні. До таких матеріалів відносяться біополімери, серед яких найбільш вивченими, на сьогоднішній день, є фотохромні плівки на основі бактеріородопсину в органічній або неорганічній матриці, які раніше знайшли використання в пристроях запису та відображення інформації. Метою даної роботи є дослідження впливу водних розчинів аміаку на оптичні параметри плівок бактеріородопсину та розробка чутливих елементів для сенсорів на основі бактеріородопсину.

РОЗДІЛ 1. ОПТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІОРОДОПСИНУ ТА ПЛІВОК НА ЙОГО ОСНОВІ.

1.1. Структура і оптичні властивості бактеріородопсину. Фотоцикл.

За 100 років досліджень зорового родопсину інтерес до нього ніколи не привертав увагу такої кількості вчених різних спеціальностей, який привернув до себе менш ніж за десять років його структурний близнюк бактеріальний родопсин – бактеріородопсин (БР). Назву бактеріородопсин отримав завдяки подібності до зорового пігменту – родопсину.

Його історія розпочалася в 1971 році, коли були виявлені ділянки пурпурового кольору в клітинних мембранах [4] галофільних мікроорганізмів, які складалися з родопсиноподібного білка. В 1973 році був виявлений оборотний фотоліз цього нового ретиналь-білкового комплексу, який був названий бактеріородопсином. Виявилося, що молекула бактеріородопсину трансформує сонячне світло в енергію життєдіяльності галофільних мікроорганізмів і є найпростішим біоенергетичним перетворювачем світла. Спосіб запасання і трансформації енергії світла у бактеріородопсині надзвичайно простий, як і проста по конструкції молекула бактеріородопсину. Дослідження бактеріородопсину проводиться різноманітними фізичними та біохімічними методами. Результати, отримані внаслідок таких масштабних досліджень, дозволили досить швидко розпочати дослідження практичного застосування бактеріородопсину спочатку в якості фоторегіструючого середовища типу фотохром.

Галофільні мікроорганізми - продуценти бактеріородопсину. БР виробляється галобактеріями (рис. 1.1) і є ключовим білком, який забезпечує їх фотосинтетичні можливості. Досить швидко після його відкриття, були запропоновані перші пропозиції для його технічного застосування. Різні технічні, і в особливості оптичні, варіанти застосування БР з того часу активно

досліджуються багатьма дослідницькими групами в різних країнах, а молекулу БР можна вважати найбільш детально дослідженою білковою молекулою.

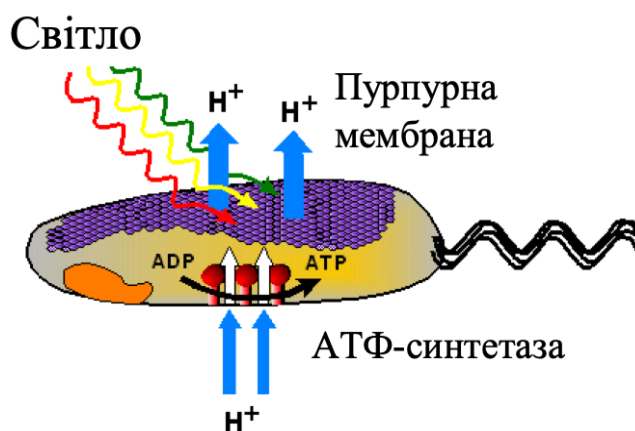


Рис. 1.1. Будова Halobacterium salinarum [4].

Зв'язок з навколишнім середовищем клітина здійснює через мембрану, де відбувається обмін речовин, передача інформації, перетворення енергії світла в хімічну енергію, що є життєво необхідним для всіх живих організмів.

Бактеріородопсин – це трансмембранний ретиналь-білковий комплекс галофільних мікроорганізмів, що належать до класу Halobacteria, який виконує функцію аналогічну до функції хлорофілу в інших організмів і забезпечує перетворення енергії сонячного світла на енергію хімічних зв'язків. На рисунку 1.2 зображена амінокислотна послідовність БР.

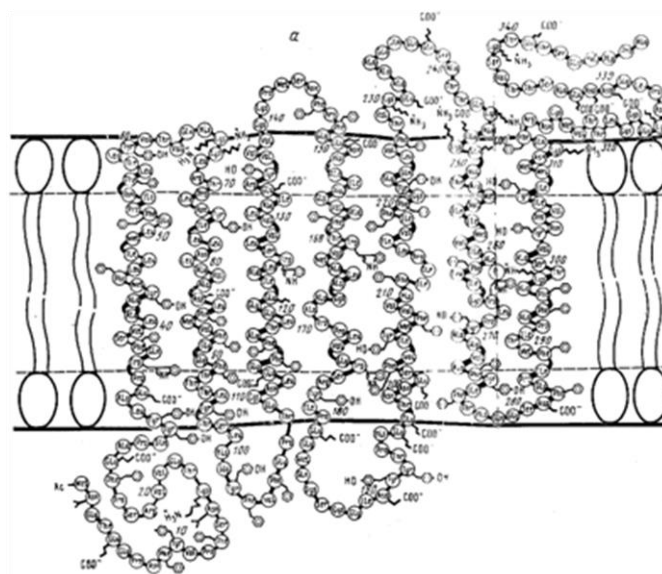


Рис. 1.2. Амінокислотна послідовність БР [2].

В пурпурній мембрані *Halobacterium salinarum* молекули БР впорядковані в тримери (рис. 1.3) та формують двовимірну кристалічну структуру з комірками розміром близько 6 нм.

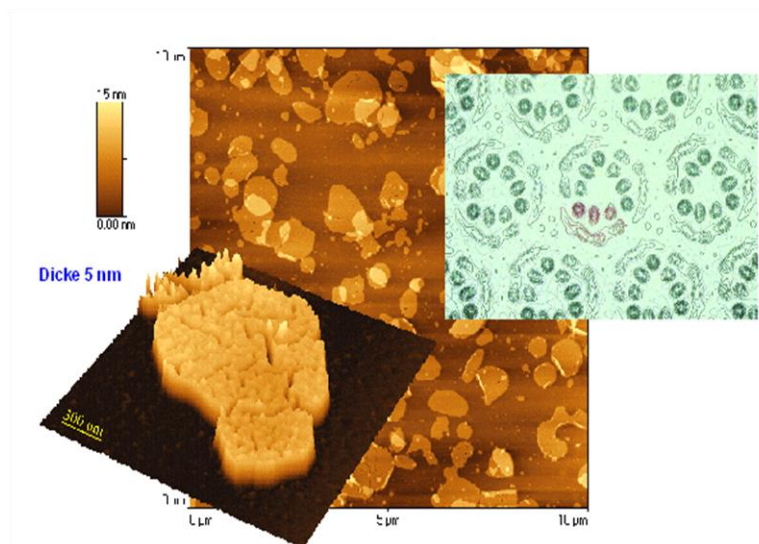


Рис. 1.3. Структура пурпурної мембрани [3].

Хромофорна група БР складається з ретиналю та внутрішньої оболонки взаємодіючих амінокислотних залишків, що визначають спектр поглинання та фотохімічний рух ретиналю. Ці внутрішні амінокислотні залишки можуть розглядатися як ферменти які мають специфічність до all-trans/13-cis стану ретиналю і каталізують цей ізомеризаційний процес при кімнатних температурах. Більш того, амінокислотне оточення хромофору відповідальне за пригнічення ізомеризаційних процесів відмінних від all-trans $\leftrightarrow$ 13-cis переходів, які мають місце у вільному ретиналі, наприклад ізомеризація яка веде до виникнення 9-cis, 7-cis та 11-cis ретиналю. Інша частина білкової складової утворює протонний канал та захищає внутрішні фотохромні групи від впливу зовнішнього середовища. Молекулярна функція БР – світлокерована протонна помпа. Молекула у диких штаммах потребує близько 10 мс для повного завершення каталітичного циклу. Оскільки БР характеризується повною відсутністю рефрактерного періоду, при наявності світлового збудження, одна молекула може перенести близько 100 протонів з внутрішнього середовища

мікроорганізму назовні за 1 с. На рисунку 1.6 зображено основні молекулярні функції БР і відповідні їм фізичні ефекти для прикладного використання (оптичні комутатори, запис інформацій, нелінійна фільтрація, опріснення води, сонячні батареї).

Однак навіть при яскравому сонячному освітленні молекула далека від світлового насичення. Оскільки фотоцикл БР містить декілька термічних кроків, сумарний час фотоциклу залежить від температури, незначною мірою від концентрації солі та рівня рН середовища. Транспорт протону розпочинається з випуску протону із зовнішньоклітинної сторони і закінчується його захопленням на цитоплазматичній поверхні мембрани. Перенос протону супроводжується циклічною серією спектральних змін у білку які називають фотоциклом БР.

Фотохромні властивості бактеріородопсину. Фотоцикл.

Під дією світла молекула бактеріородопсину проходить через фотохімічний цикл реакцій, послідовність яких викликає серйозні дискусії серед вчених. Поглинання фотону переводить молекулу БР у збуджений стан, цю енергію молекула на протязі термічних реакцій фотоциклу в декілька стадій втрачає, після чого білок повертається в початковий стан. Ефект розвивається за пікосекунди, при кімнатній температурі та рН 7 тривалість повного циклу ~ 10 мс. У перебігу фотоциклу, який має світлові та темнові стадії, утворюються проміжкові форми молекули, так звані інтермедіати, з різними максимумами поглинання у видимій області спектра. Вони позначаються символами J₆₂₅, K₆₁₀, L₅₅₀, M₄₁₂, N₅₃₀, O₆₄₀, де індекси вказують на відповідні їм максимуми поглинання. Під час одного циклу фотохімічних реакцій енергія, поглинута хромофором, передається білку, здійснюються конформаційні зміни і відбувається транспорт одного протона через мембрану [15].

Про єдиний, загальноприйнятий фотоцикл БР (рис. 1.4) не можемо говорити внаслідок перекриття спектрів проміжкових станів фотоциклу БР, але

розгляд сукупності виявлених інтермедіатів та шляхів фотоперетворень показує декілька характерних рис:

- переходи між інтермедіатами, як правило, реверсивні;
- фотоцикл може розгалужуватися;
- можуть здійснюватись безпосередні переходи;
- існують переходи, які не можна спектрально відрізнити, але вони суттєво відрізняються один від одного за швидкістю й тому є потреба вводити кінетичні форми.

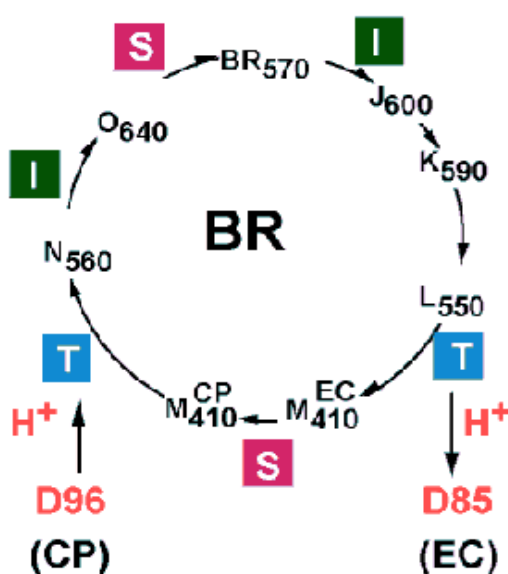


Рис. 1.4. Циклічна модель фотоциклу БР [13].

Відомі різні моделі фотоциклу і всі вони за певних припущень мають своє місце.

1.2. Вплив типу матриці та методу отримання на властивості плівок бактеріородопсину.

Найбільш зручними для використання у сферах оптичної обробки, перетворення, збереження і передачі інформації, є плівкові структури на основі бактеріородопсину. Фізичні властивості плівкових матеріалів залежать від таких факторів як: хімічний склад, структура, пористість та однорідність вказаних характеристик по всьому об'єму плівки. На перераховані характеристики плівок впливає: тип підкладки, методика підготовки

плівкоутворюючої суміші, методика нанесення та висушування самої плівки. З таких факторів постає питання дослідження впливу методики отримання та хімічного складу плівок на морфологію їх поверхні та перерізу.

Плівки на основі БР можна отримувати на різних підкладках, без використання матриці або з використанням золь-гельного або полімерного матеріалу в якості матриці. Для отримання плівок БР в полімерних матрицях використовували желатину та полівініловий спирт. Як желатина, так і полівініловий спирт, є водорозчинними, добре суміщаються з водною суспензією ПМ, дають оптично прозорі покриття, змочують поверхню підкладки, легко та рівномірно розподіляються на очищеній поверхні скла. Але оскільки вони є водорозчинними тому плівки з використанням желатини в якості матриці не підходять для контролю водних розчинів.

Альтернативою є золь-гельні покриття, які мають такі переваги над органічними полімерами: механічна міцність, хімічна інертність, водонерозчинність та висока пористість. Для таких плівок однорідність залежить від товщини. У випадку формування плівки в діапазоні товщини від 1 до 40 мкм на етапі старіння і висихання золь-гелю відбувається розтріскування плівки та зменшення оптичної прозорості (рис 1.5).

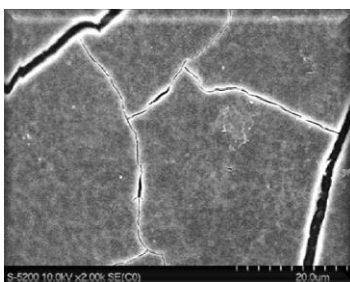


Рис. 1.5. Зображення дефектів в товстій плівці на основі БР в золь-гельній матриці, які виникають при висушуванні [32].

Для різних типів матриць та методик нанесення використовують різні методи висушування плівок. Для плівок у желатинових матрицях найбільш сприятливими є режим висушування в ексікаторі при кімнатних температурах протягом 24 годин. В той же час при виготовленні плівок в матриці золь-

гельного скла достатню оптичну якість можна отримати тільки при висушуванні у закритій чашці Петрі при температурі 4°C.

При виготовленні плівок БР в золь-гельній матриці вимоги до технології висушування зразків сильно зростають. Під час висушування золь-гелю за рахунок випаровування розчинника формується пориста структура, що в свою чергу приводить до появи внутрішніх механічних напруг у зразку. У чистому золь-гелі, при правильній технології виготовлення, механічних напруг недостатньо для руйнування зразка будь-якої форми.

Морфологія поверхні плівок на основі БР визначається багатьма чинниками. До них належить: методика нанесення, параметри плівкоутворюючої суміші, тип матриці та підкладки. Для дослідження поверхні та об'єму плівок були використані такі методики, як растрова електронна мікроскопія (РЕМ) та атомно-силова мікроскопія (АСМ). Дослідження морфології поверхні за допомогою АСМ показало, що для плівки чистого БР шорсткість поверхні зростає у 8-10 разів порівняно з шорсткістю для чистої підкладки (рис. 1.6).

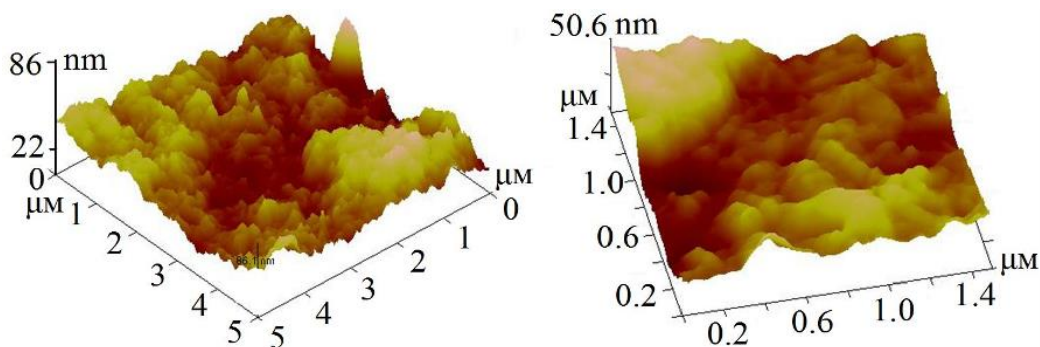


Рис. 1.6. Поверхня плівок ПМ без матриці на скляних підкладках. а) $R_{\max}=86$ нм при $S=25$ мкм²; б) $R_{\max}=50$ нм при $S=2,25$ мкм² [32].

Для матриці желатини та ПВС морфологія поверхні та перерізу практично не відрізняється. (рис. 1.7)

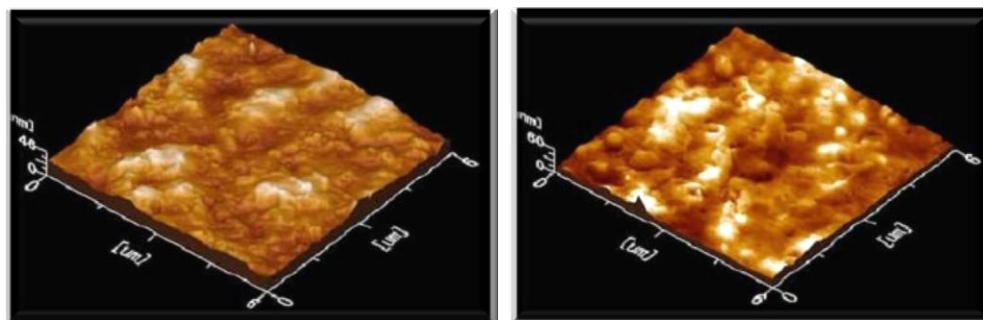


Рис. 1.7. Морфології поверхні плівок БР у желатиновій матриці (а) та в полівінілової матриці (б) [32].

Шорсткість поверхні плівок для желатинової матриці складає 3,46 нм, для полівінілової матриці 3,10 нм. Максимальна неоднорідність поверхні плівок по висоті, для желатинової становить - 45 нм, для полівінілової 60 нм. У результаті порівняння характеристик, желатинової та полівінілової плівок, нанесених методом поливу та формування, не виявили суттєвих відмінностей. Для плівок чистого ТЕОС скла характерна однорідність та мала шорсткість на рівні 0,586 нм. Неоднорідності таких плівок не перевищують неоднорідностей скляної підкладки.

Завдяки тому що, поверхні плівок з товщиною 10 мкм майже однакові, фрагменти ПМ виступають над поверхнею плівки, змінюється морфологія не лише поверхні, а й перерізу плівок. Результати досліджень морфології поверхні БР у полімерних матрицях дають можливість зробити певні висновки. Плівки мають розвинуту систему пор. Методики, які використовуються для отримання плівкових структур, забезпечують рівномірний розподіл БР по об'єму плівки, причому фрагменти ПМ в основному орієнтуються паралельно поверхні підкладки.

Результати досліджень морфології поверхні плівок БР в золь-гельних матрицях виглядають наступним чином. При використанні методів поливу та формування, чистий золь-гель утворює однорідну гладку поверхню, шорсткість якої не перевищує нерівностей підкладки. Однак навіть незначні відхилення від технології висушування через внутрішні напруги, які виникають в плівках, приводять до утворення тріщин і неоднорідностей по всьому об'єму плівки.

На основі комплексних досліджень морфології поверхні та перерізів плівок БР в різних матрицях за допомогою АСМ та РЕМ показано, що незалежно від типу матриці, внесення фрагментів ПМ приводить до зростання шорсткості поверхні плівки більш ніж на порядок. Причому плівки, отримані методом поливу, характеризуються мінімальними значеннями шорсткості, а плівки, отримані методом центрифугування – максимальними.

Підсумовуючи бачимо, що властивості плівок можна змінювати у широкому діапазоні. Їх можна змінювати як за допомогою хімічного складу так і використовуючи різні методики нанесення. Кінцеві характеристики плівок на основі БР залежать від цілого ряду факторів: методика підготовки плівкоутворюючої суміші та використана методика нанесення плівок [27, 28]; суттєвий вклад вносить тип та підготовка підкладки та матеріал матриці [11, 20]; на характеристики плівки може суттєво впливати зміна хімічного складу [19, 22, 24, 26, 31-34] та параметри навколишнього середовища такі як вологість та температура [25, 29, 30, 33].

1.3. Сфери практичного використання унікальних властивостей бактеріородопсину.

Аналіз численних досліджень багатьох наукових колективів показав, що унікальні властивості, які притаманні плівковим структурам на основі БР, можуть мати широке практичне використання.

Оптичні властивості дозволяють використовувати БР як фотохромний матеріал для оптичного запису. Перехід молекули БР з основного у проміжний стан із значною зміною поглинання середовища на фіксованій довжині хвилі приводить до виникнення нелінійного поглинання, що можна використовувати для оптичної обробки інформації та у створенні нейронних мереж. Фотоперетворення БР дає в результаті транспорт протону, що може бути використано у макроскопічних масштабах для штучного фотосинтезу та опріснення морської води [16, 17, 18].

На рисунку 1.8. нижче підсумовано та об'єднано в групи, залежно від базової молекулярної функції, всі практичні застосування для БР описані у літературі. На сьогоднішній день найбільше літературних даних стосується використання фотохромних властивостей БР.

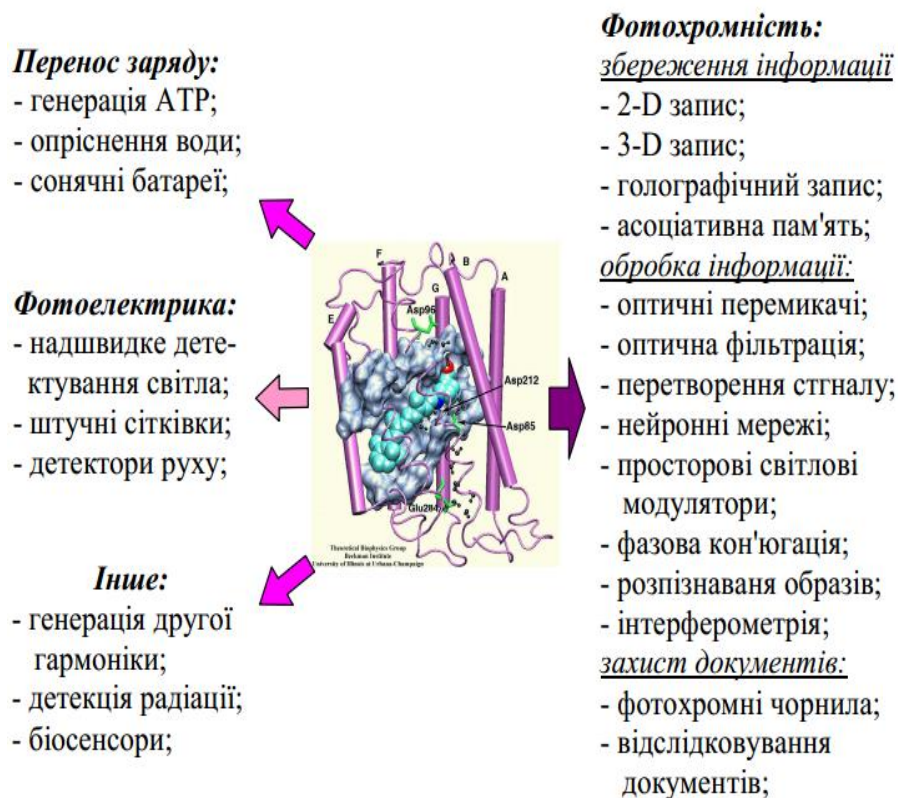


Рис. 1.8. Практичні застосування для бактеріородопсину [18].

Властивості БР як середовища для оптичного запис.

З практичної точки зору найбільш привабливими є плівкові структури на базі БР. Для 3D запису інформації використовувалися кубоподібні зразки. В літературі були описані спроби використання навіть суспензій. На даний момент відпрацьовані методики по отриманню високоякісних плівкових структур із заданою товщиною та концентрацією БР як в органічних так і в золь-гельних матрицях на різних підкладах.

Основні характеристики плівок БР, як матеріалу для оптичного запису інформації, наведені в таблиці 1.1.

Таблиця 1.1. Характеристики плівок БР, як матеріалу для оптичного запису інформації [15].

Спектральний діапазон	400 - 700 нм
<i>Динамічний запис</i>	
V→M	520 нм – 640 нм
M→V	400 нм – 430 нм
<i>Запис для довготривалого зберігання</i>	
O→P	630 нм – 700 нм
P→V	430 нм – 530 нм
Роздільна здатність (оптична)	≥5000 ліній/мм
Оптична густина (570 нм)	1-5
Максимальне відсоток зміни кольору	95%
Показник заломлення	1.47
Зміна показника заломлення	0.001-0.01
Дифракційна ефективність	1-3% (мах – 7%)
Світлова чутливість	0.1-20 мДж/см ²
Поляризаційний запис	Можливий
Реверсивність	≥10 ⁶ циклів
Час зберігання	Роки
Товщина плівок	10 – 500 μм (20-40 μм)
Час запису/стирання	мс-с
Апертура	необмежена

Нелінійна фільтрація. Два типи використання БР для нелінійної фільтрації описано на даний час. Перший базується на нелінійності фотовідгуку матеріалу, другий – використання для Фур'є фільтрації. У обох випадках використання світла іншої довжини хвилі дозволяє активно контролювати пропускання на конкретній ділянці плівки. Нелінійна залежність пропускання плівки БР від інтенсивності падаючого світла буде приводити до того, що випромінювання з низькою інтенсивністю буде поглинатися набагато більшою мірою ніж високоінтенсивне випромінювання [21].

Нейронні мережі. Фотохромні властивості БР, а саме його здатність переходити з основного в проміжний стан під дією однієї довжини хвилі і повертатися під дією іншої, дає можливість реалізувати на його основі елементарні комірки, які зможуть заданим чином моделювати та аналізувати світлові потоки [21]. Тобто реалізувати оптичні нейронні мережі. Значною перевагою в даному випадку є практично необмежена реверсивність. Для

керування та аналізу вторинної інформації можна також використовувати оптоелектричні характеристики.

Просторові світлові модулятори – є універсальними пристроями в яких реалізується принцип управління світлом за допомогою світла.

Голографічне розпізнавання образів – це порівняння двох подібних вхідних зображень з метою виявлення співпадіння та оцінки його величини. Голографічна інтерферометрія – це потужна методика яка дозволяє оцінити деформацію об'єкту на рівні $1/10 - 1/100$ довжини хвилі. Область використання цієї методики – недеструктивний та вібрацій аналіз [23]. При інтерференції з опорним пучком формується голограма, яка записується у плівці. Після цього об'єкт деформують і процедуру повторюють. Для зчитування обох записаних голограм предметний промінь вимикають, записані голограми накладаються і фіксуються камерою. Наявність поляризатора перед камерою дозволяє відсікти розсіяне світло. Для використання в таких приладах матеріал повинен мати широку апертуру, високу світлочутливість та контраст, високу швидкість переходів та роздільну здатність. Для плівок БР розміром 120x120 мм область з необмеженою апертурою складає 90x90 мм. Висока реверсивність та інші параметри роблять його ідеальним матеріалом для такого типу практичного використання.

Ще один аспект практичного використання матеріалів на основі БР – фотохромні чорнила. Доступність високоякісної копіювальної техніки приводить до посилення мір захисту важливих документів та грошових банкнот від підробки [23]. Температурна стабільність, висока роздільна здатність дозволяє використовувати БР для створення інформаційних та захисних смуг на індивідуальних пластикових картках. Висока роздільна здатність дозволяє проводити високоякісний оптичний мікродрук, що можна використати як ще один рівень захисту персональних документів [21, 23].

2. ВПЛИВ ВОДНИХ РОЗЧИНІВ АМІАКУ НА ОПТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ПЛІВОК БАКТЕРІОРОДОПСИНУ.

2.1. Вплив водних розчинів аміаку на параметри плівок бактеріородопсину в желатинових та золь-гельних матрицях.

Для проведення попередніх досліджень використовувалися плівки бактеріородопсину в різних матрицях, отримані з використанням різних технологій. А саме: плівки бактеріородопсину у полімерних желатинових та неорганічних золь-гельних матрицях отриманих методом поливу.

Дослідження впливу водних розчинів на плівки бактеріородопсину в желатинових матрицях. Плівкові структури отримані, з використанням желатини, мають високу оптичну якість, однорідність та адгезію.

Ми провели дослідження впливу води на параметри плівки чистої желатини. Результати дослідження зміни відбивання на різних довжинах хвиль від плівки желатини під дією води наведено на рис. 2.1.

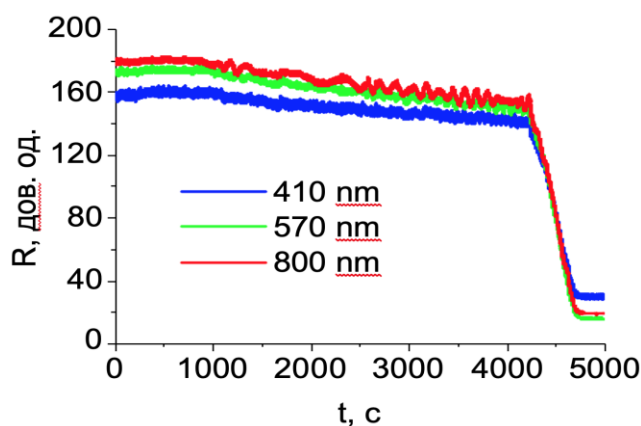


Рис. 2.1. Динаміка зміни відбивання від желатинової плівки під дією води.

Як видно з графіків, під дією води желатинова плівка набухає і поступово розчиняється. Набухання желатини приводить до зміни величини зазору між торцем волокна та поверхнею плівки, за рахунок чого виникає інтерференція, яка чітко спостерігається на графіках. У кінцевому результаті відбувається повне руйнування плівки. В результаті заміщення матеріалу плівки водою зменшується різниця показників заломлення на межу торець волокна -

досліджуваний матеріал, що відображається в суттєвому зменшенні інтенсивності відбивання на всіх довжинах хвиль.

Наступним етапом було проведення досліджень для плівок БР у матриці желатини. На початковому етапі були проведені дослідження зміни характеристик плівки БР у желатиновій матриці зануреної у дистильовану воду. Проводився моніторинг на характерних для бактеріородопсину довжинах хвиль – 410 та 570 нм, а також на 800 нм. Також проводилися дослідження спектрів відбивання плівки. Результати наведені на рис. 2.2.

Як видно з рис. 2.2, після напуску води відбуваються зміни інтенсивності відбивання на всіх довжинах хвиль, за рахунок зміни різниці показників заломлення на межах розділу торець-плівка та підкладка-повітря. Після цього спостерігається незначне зростання відбивання на 410 нм та спад на 570 нм. Це можна пояснити зменшенням часу життя інтермедіату M_{412} , внаслідок чого рівновага $BR_{570} \leftrightarrow M_{412}$ зсувається в бік основного стану, тому поглинання на 570 нм зростає, а на 410 нм – зменшується. Після цього ніяких змін на протязі години не реєструється. На спектрі відбивання (рис. 2.2) до початку експерименту чітко спостерігається смуга поглинання бактеріородопсину. Після витримування у воді та висушування смуга поглинання бактеріородопсину зникає.

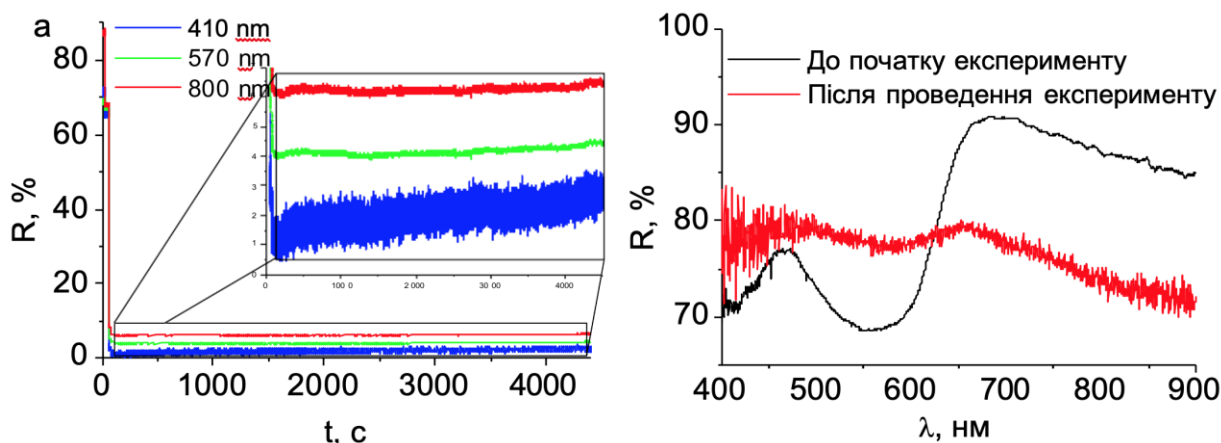


Рис. 2.2. Динаміка зміни відбивання (а) та спектри відбивання (б) плівки БР в желатиновій матриці у процесі занурення та витримування у воді.

На рис. 2.3 наведено фотографії плівки до та після витримувannya у воді. Як видно з фотографій, однорідна плівка у місці контакту з волокном зруйнувалася. Розбухання желатинової матриці під час витримувannya у воді привело до перерозподілу матеріалу плівки і після зливу рідини частина плівкоутворюючої суміші сконцентрувалася довкола торця волокна, в той час як під самим торцем бактеріородопсину не залишилося, чим і пояснюється відсутність смуги поглинання на спектрі.

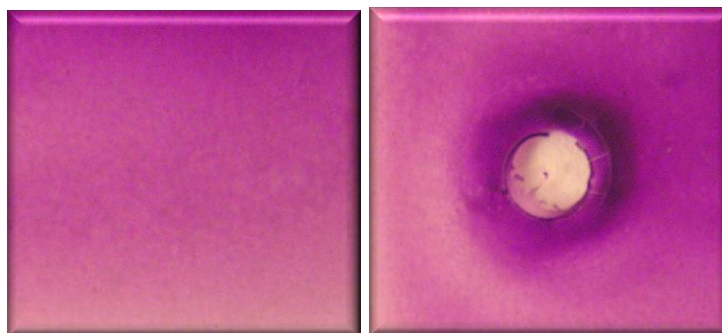


Рис. 2.3. Плівка бактеріородопсину у желатиновій матриці до та після витримувannya у воді протягом 24 годин.

З отриманих результатів можна зробити висновок, що через свою водорозчинність желатина не підходить для ролі матриці у плівках, що будуть використовуватися для досліджень водних розчинів.

Дослідження впливу водних розчинів аміаку на плівки бактеріородопсину в золь-гельних матрицях. Для використання у датчиках для водних розчинів більше підходять плівки на основі неорганічних матриць. Для проведення досліджень використовували плівки БР у SiO_2 -матриці.

Для дослідження впливу води на характеристики плівок БР у золь-гельній матриці проводили моніторинг відбивання на довжинах хвиль 410, 570, та 800 нм і запис спектрів відбивання у процесі напуску води, витримувannya у ній плівки та зливу води. Результати моніторингу відбивання для плівки БР у золь-гельній матриці у процесі напуску, витримувannya, зливу води та висихання плівки наведено на рис. 2.4.

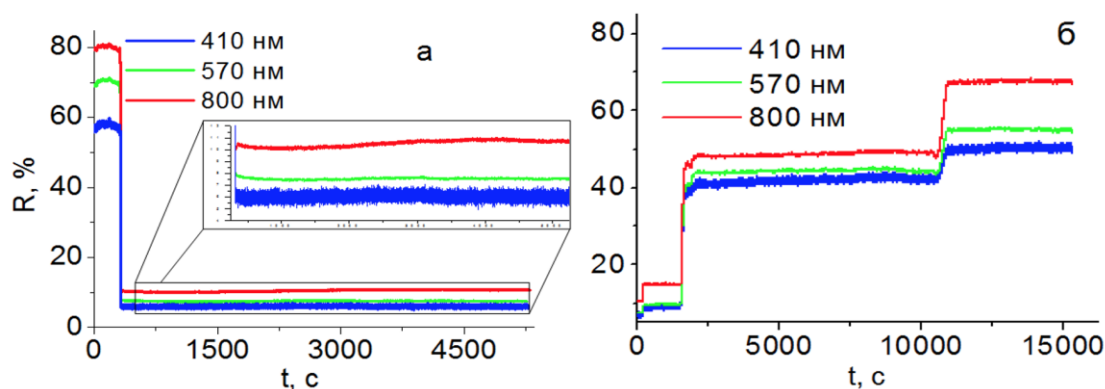


Рис. 2.4. Динаміка зміни відбивання від плівки БР у золь-гельній матриці на скляній підкладці у процесі напуску (а) та зливу (б) води.

Як видно з результатів, ніяких змін крім перепадів інтенсивності відбивання, які викликані зміною різниці показників заломлення у процесі заміщення водою прошарків повітря, не спостерігається. Незначні зміни інтенсивності відбивання на 570 та 410 нм одразу після напуску води можна пояснити зміною часу життя інтермедіату M_{412} , спричинені зміною вологості.

На рис. 2.5 наведені спектри відбивання плівки до та після витримання у воді.

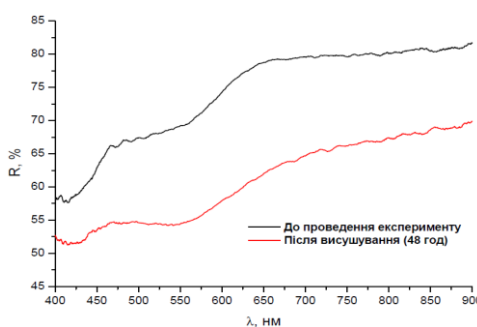


Рис. 2.5. Спектри відбивання від плівки БР у матриці золь-гелю на скляній підкладці у процесі занурення у воду і висихання.

Як видно з результатів, навіть до напуску води смуга бактеріородопсину на спектрі відбивання, досить слабка. Значна розбіжність у розмірах між молекулами золь-гелю та фрагментами пурпурних мембран приводить до виникнення механічних напруг під час висихання плівки. Механічні напруги, в свою чергу, приводять до виникнення тріщин та різного роду дефектів як на

поверхні, так і в об'ємі плівки. В результаті низької оптичної якості виникає значне розсіювання, що і пояснює слабку смугу бактеріородопсину на спектрі відбивання.

За результатами досліджень динаміки та спектрів відбивання видно, що під дією води ніяких змін у плівці бактеріородопсину у золь-гельній матриці не спостерігається. Мікроскопічні дослідження поверхні плівки бактеріородопсину у золь-гельній матриці (рис. 2.6), на відміну від плівки у желатиновій матриці, не виявили змін у структурі поверхні плівки ні в центральній області, ні на периферії.

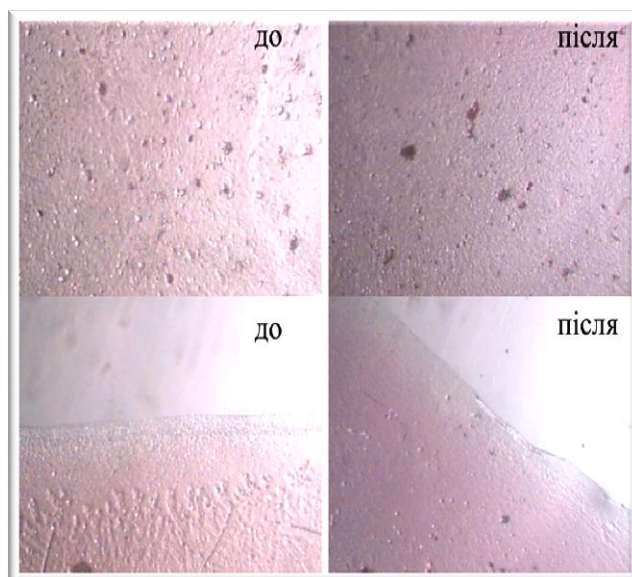


Рис. 2.6. Фотографії різних ділянок плівки БР у матриці золь-геля на скляній підкладці до та після витримування у воді і висихання.

Оскільки після витримування у воді ніяких змін у плівці виявлено не було, наступним кроком було дослідження впливу водного розчину аміаку на параметри плівки. Як і в попередніх експериментах, контроль проводився в динамічному режимі на довжинах хвиль 410, 570 та 800 нм, також фіксувалися спектри в ключові моменти часу. Результати досліджень наведено на рис. 2.7 - 2.9. Створення розчину аміаку заданої концентрації досягалося введенням у камеру концентрованого водного розчину аміаку відомої концентрації. Із

співвідношення об'ємів дистилляту у камері і розчину аміаку, який вводився, вираховувалася концентрація розчину, в якому знаходилася плівка.

Як видно з рис. 2.7, після додавання першої порції аміаку (загальна концентрація розчину в камері складала 1%) фіксується зростання поглинання на всіх трьох довжинах хвиль. Найбільші зміни відбуваються на 570 нм. Реакція плівки на додавання ще однієї порції аміаку була аналогічна.

Оскільки на довжині хвилі 800 нм ніяких смуг поглинання у плівок БР немає, зміни відбивання на даній довжині хвилі будуть відображати зміни, не пов'язані з БР. Таким чином, розділивши значення відбивання на 410 та 570 нм на значення відбивання на 800 нм, ми можемо виключити небажані впливи на результат експерименту.

На рис. 2.7-б наведена динаміка відбивання в процесі додавання аміаку отримана в результаті такої обробки даних.

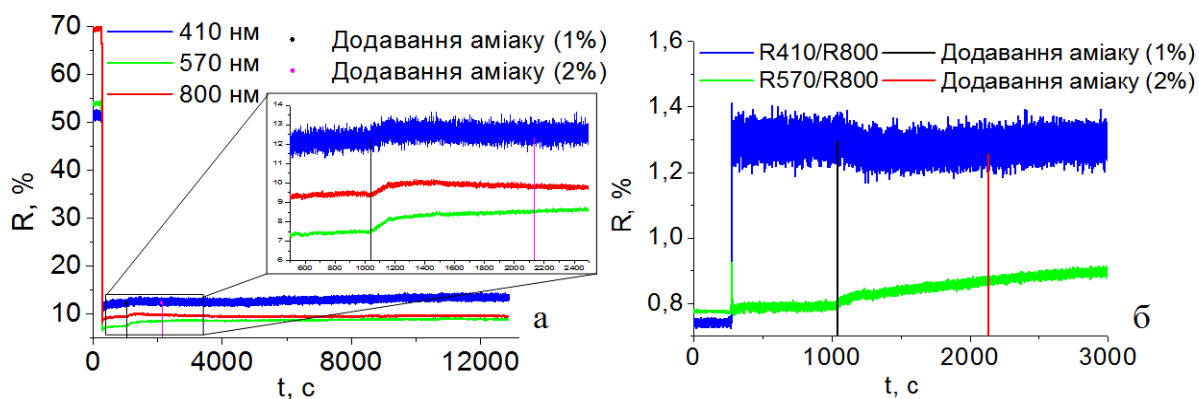


Рис. 2.7. Динаміка зміни відбивання (а) та приведеної зміни відбивання (б) від плівки БР у матриці золь-геля при зануренні у воду і додаванні аміаку.

Як видно з даного графіку, після додавання аміаку фіксується зростання інтенсивності відбивання на 570 нм та зменшення інтенсивності на 410 нм. Це можна пояснити тим, що наявність аміаку збільшує час життя інтермедіату M_{412} , це, в свою чергу, приводить до зростання кількості молекул, які заходяться проміжному стані і зменшення кількості молекул в основному стані. Звідси маємо зменшення інтенсивності поглинання (а значить зростання інтенсивності відбивання) на 570 нм. Протилежний процес можна спостерігати

на 410 нм. Динаміка відбивання у процесі зливання розчину та висихання плівки наведена на 2.8.

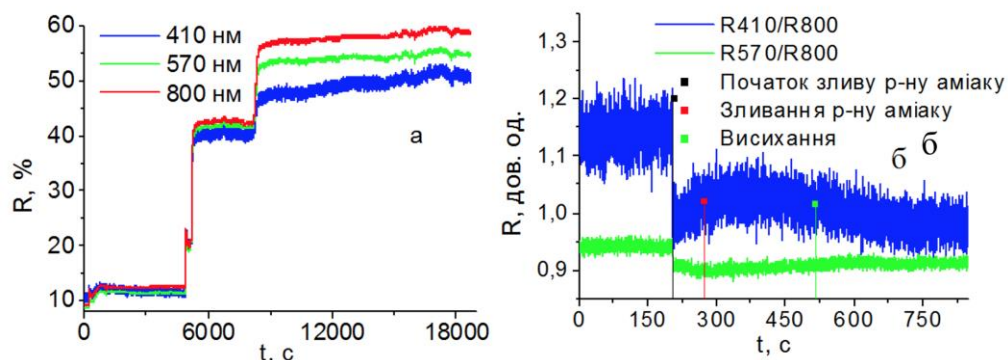


Рис. 2.8. Динаміка зміни відбивання плівки БР у матриці золь-геля у процесі висихання: а – проста, б - приведена діленням на значення сигналу на 800 нм.

Як видно з результатів, у даному випадку спостерігаємо процес зворотній до попереднього. Після зливання розчину в місці контакту торця з плівкою, залишається частина розчину. Однак, за рахунок випаровування аміаку концентрація розчину падає. Відповідно до цього відбуваються зміни і у відбиванні плівки. З приведенного до 800 нм графіка чітко видно зростання поглинання на 410 нм (за рахунок зменшення часу життя інтермедіату M_{412}) і зменшення відбивання на 570 нм. Результати досліджень спектрів відбивання плівок під впливом водного розчину аміаку різної концентрації наведено на рис. 2.9 та табл. 2.1.

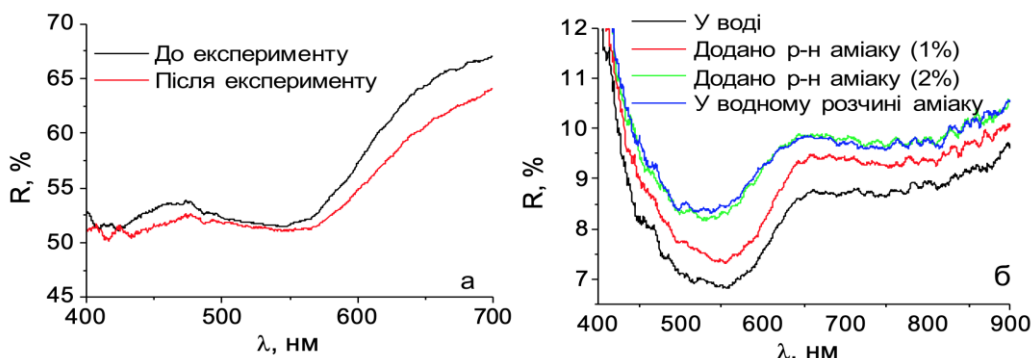


Рис. 2.9. Спектри відбивання плівки БР у матриці золь-геля до та після витримання у розчині аміаку (а) та розчині аміаку різної концентрації (б).

Як видно з рис. 2.9-б, зростання концентрації аміаку приводить до зростання інтенсивності відбивання смуги поглинання основного стану БР. Це теж підтверджує той факт, що наявність аміаку впливає на перерозподіл швидкостей прямих та зворотних реакцій у фотоциклі. Також відмічено зсув максимуму смуги поглинання БР (близько 20 нм) під дією аміаку. При чому спектри відбивання плівки до початку та після закінчення експерименту (рис. 2.9-а) майже не відрізняються, що свідчить про хорошу реверсивність.

Таблиця 2.1

Зміна параметрів плівки БР у SiO_2 матриці під дією аміаку.

C(NH ₃), %	R, %		$\lambda_{\text{мін}}$, нм
	570 нм	$\lambda_{\text{мін}}$	
вода	6,999	6,847	551
1%	7,481	7,315	555
2%	8,507	8,168	531

Виходячи з даних результатів, можна зробити висновок, що плівки бактеріородопсину у водонерозчинних золь-гельних матрицях підходять для використання для хімічних датчиків водних розчинів. До недоліків даних плівкових структур слід віднести їх погану оптичну якість, що приводить до зменшення корисного сигналу і в результаті погіршення чутливості датчика.

2.2. Дослідження впливу водних розчинів аміаку на характеристики багат шарових структур на основі БР та золь-гельного скла.

Для покращення якості плівок та уникнення їх руйнування під дією води, було виготовлено та проведено дослідження двошарових плівок. У таких плівках шар чистого БР наносився методом поливу на скляну підкладку. Після повного висихання плівки, за допомогою методу центрифугування вона покривалася плівкою чистого золь-гелю.

Зразки, що були отримані в ході експерименту мають хорошу оптичну якість та однорідну поверхню. Однак покривний шар золь-гелю не повинен

обмежувати доступ аналітів до БР за рахунок високої пористості та малої товщини. Для плівок такого типу були проведені спектральні дослідження та дослідження динаміки відбивання на фіксованих довжинах хвиль. Результати даних досліджень динаміки відбивання зображені на рис. 2.10 та рис. 2.11.

Таблиця 2.2.

Зміна параметрів багатошарового чутливого елемента на основі БР та SiO_2 золь-гельного скла під дією аміаку.

C(NH ₃), %	R, %		$\lambda_{\text{мін}}$, нм
	570 нм	$\lambda_{\text{мін}}$	
вода	5,39	5,348	562
1%	6,124	6,112	560
2%	6,992	6,756	541

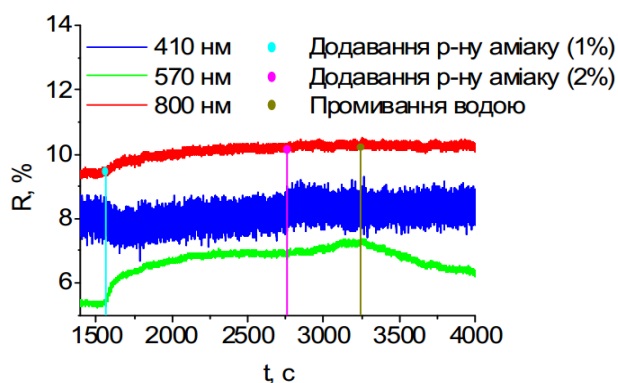


Рис. 2.10. Динаміка зміни відбивання від плівки БР, вкритої золь-гелем у процесі зміни концентрації аміаку у розчині.

Вплив аміаку на спектри відбивання плівки можемо спостерігати на рис. 2.12 та табл. 2.2. Стадії проведення експерименту не відрізняється від попередніх досліджень. Для початку в кювету напускали дистильовану воду і після стабілізації сигналу додавалися порції концентрованого розчину аміаку для того, щоб отримання потрібної концентрації розчину в камері. Для дослідження реакції даної плівки на поступове зменшення концентрації аміаку у розчині ми використали промивання камери дистильованою водою.

Як бачимо з рисунку 2.11 після додавання першої порції аміаку, відбувається зростання відбивання на 570 нм і зменшення відбивання на 410

нм. Зазначені зміни, як і у попередньому випадку, можна пояснити змінами у проходженні фотоциклу БР. Після додавання другої порції аміаку – спостерігаємо аналогічний процес. Після того як камеру почали промивати дистильованою водою, інтенсивність відбивання на 570 зменшується а на 410 зростає, спостерігаємо зворотній процес. Даний процес свідчить про реверсивність процесів, які проходять у плівці БР.

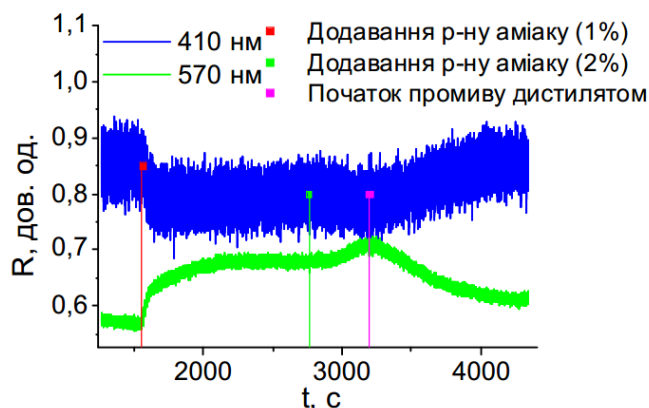


Рис. 2.11. Динаміка приведенної зміни відбивання від плівки БР вкритої золь-гелем у додавання аміаку.

Як бачимо з рисунку 2.12-а, на 570 нм реєструється чітка смуга поглинання БР. Це відбувається завдяки хорошій оптичній якості та однорідності плівки менше випромінювання втрачається на розсіювання та поглинання на дефектах плівки, в результаті чого ми отримуємо більшу інтенсивність відбитого сигналу. Якщо занурити у воду та додати аміак різних концентрацій реєструється зменшення смуги поглинання БР із зростанням концентрації аміаку у розчині (рис. 2.12-б). Окрім цього реєструється зсув максимуму поглинання у синю область приблизно на 20 нм.

Відносно аналогічних змін до результатів отриманих для плівки БР у матриці золь-гелю, можна зробити висновок про те, що тип матриці та метод отримання плівки не впливає на механізм взаємодії бактеріородопсину з аміаком. Після того як розчин аміаку злили і плівка висохла, смуга поглинання повернулася до вихідного положення, що дозволяє судити про реверсивність змін спричинених впливом аміаку.

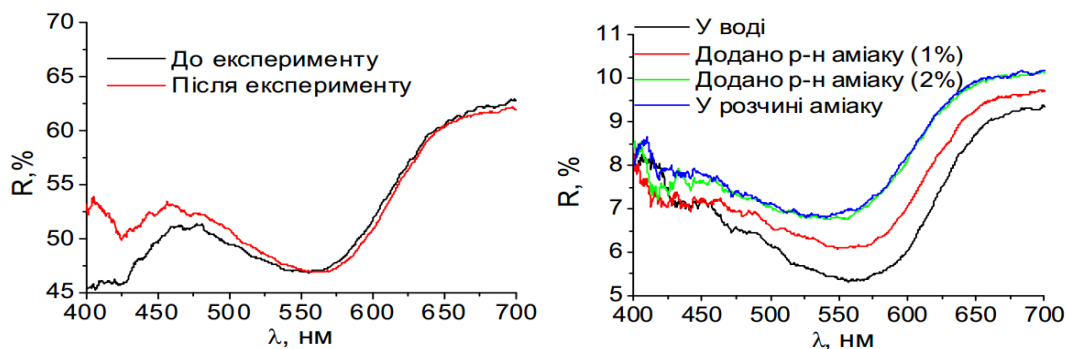


Рис. 2.12. Спектри відбивання плівки БР вкритої золь-гелем до та після витримування у розчині аміаку (а) та у розчині аміаку різної концентрації (б).

2.3. Аналіз отриманих результатів в рамках молекулярного механізму взаємодії аміаку з молекулами бактеріородопсину.

По отриманим залежностям видно, що напівперіод життя $\tau_{1/2}$ інтермедіату M_{412} та загальна фотоіндукована зміна пропускання плівки БР ΔT залежать від концентрації аміаку. При збільшенні концентрації парів аміаку спостерігається збільшення $\tau_{1/2}$ та ΔT .

Характер зміни оптичних параметрів плівок у присутності парів аміаку нагадує зміну оптичних властивостей плівок з азотовмісними домішками [11, 19]. Хоча немає загального механізму взаємодії даних домішок з БР та желатиною матрицею, гіпотетичний механізм полягає в тому, що всі ці домішки містять атоми азоту, які мають неподілену електронну пару. Завдяки цьому молекули домішок можуть приєднувати вільні протони і ефективно затримувати їх. Оскільки основна роль у фотоциклі БР відводиться фотоіндукованому трансмембранному переміщенню протона, присутність речовин, які можуть його затримувати, приводить до збільшення часу репротонування Asp96, ШО і збільшення часу життя інтермедіату M_{412} .

На нашу думку, аналогічним є вплив аміаку. Аміак має неподілену електронну пару, за рахунок якої може затримувати протонний транспорт шляхом тимчасового приєднання протону. Зростання часу життя при збільшенні концентрації парів аміаку свідчить про те, що присутність

останнього приводить до значних змін у фотоциклі БР. Збільшення $\tau_{1/2}$ є доказом того, що присутність аміаку утруднює розпад M_{412} , а значить репротонування ШО. Донором протону для ШО виступає амінокислотний залишок Asp96. Отже, аміак може блокувати процес передачі протону від Asp96 до ШО. Однак, такий механізм взаємодії потребує знаходження молекул аміаку у транспортному каналі, а на даний час немає експериментальних даних, які б свідчили про те, що молекули аміаку можуть проникати у транспортний канал з цитоплазматичної сторони. В той же час, присутність молекули аміаку біля хромофору привела б до перерозподілу електричних полів і зміщення протона Шифової основи, що одразу знайшло б відображення у структурі спектру основного стану. Таких змін не спостерігається навіть при високих концентраціях аміаку, в той час як зменшення гідратації протиіону ШО при зміні вологості приводить до змін спектру поглинання основного стану БР. Це теж є доказом того, що аміак не проникає у транспортний канал БР.

Іншим механізмом впливу може бути блокування процесу репротонування Asp96 з цитоплазматичної сторони мембрани. Якщо даний залишок залишиться непротонованим, то у наступному циклі він не зможе виступити донором протону для ШО, що й викличе зростання $\tau_{1/2}$ для M_{412} . Для з'ясування, який процес з двох наведених має місце, потрібні подальші більш поглиблені дослідження. Відмінності в амплітуді та динаміці змін оптичних параметрів плівок БР під дією аміаку та вологості в залежності від хімічного складу та типу матриці вказують на те, що чутливість, селективність та час відклику можна варіювати, підбираючи оптимальний хімічний склад та тип матриці. Чиста плівка БР демонструє найбільшу чутливість до аміаку, але питання покращення слабкої адгезії цієї плівки до підкладки (скляна пластина або кварцове оптичне волокно) потребує більш детального вивчення. Альтернативою таким плівкам можуть служити плівки БР у золь-гельній матриці, які володіють аналогічними часами відклику та хорошою адгезією при умові підвищення їх оптичної якості.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено методику нанесення нанокомпозитних двошарових плівкових структур, які складаються з плівки чистого бактеріородопсину покритого тонким шаром чистого SiO_2 скла, отриманого за допомогою золь-гель технології.

2. Встановлено, що присутність аміаку у водному розчині довкола плівки БР приводить до зростання часу життя інтермедіату M_{412} та величини фотоіндукованих змін пропускання незалежно від типу матриці. Показано, що плівки з використанням неорганічної золь-гельної SiO_2 матриці та двошарові плівки з покривним шаром із золь-гельного SiO_2 скла не руйнуються під дією води, і чутливі до дії аміаку в розчині.

3. Встановлено, що двошарові плівки бактеріородопсину з покривним шаром із золь-гельного SiO_2 скла мають покращену оптичну якість порівняно з плівками БР у золь-гельних матрицях, забезпечують достатню інтенсивність відбитого сигналу і можуть бути використані як чутливий елемент у сенсорах аміаку.

4. Запропоновано механізм впливу аміаку на параметри БР, який полягає у тимчасовому зв'язуванні вільних протонів молекулами аміаку, що створює їх дефіцит та утруднює репротонування відповідних амінокислотних залишків. Встановлено що даний ефект має реверсивний характер і зменшується при зменшенні концентрації аміаку.

ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Hampp N. Bacteriorhodopsin as a Photochromic Retinal Protein for Optical Memories / N. Hampp // Chem Rev. - 2000. - Vol. 100. - P. 1755-1776.
2. M. Giordano, M. Russo, A. Cusano, and G. Mensitieri “An high sensitivity optical sensor for chloroform vapours detection based on nanometric film of δ -form syndiotactic polystyrene” // Sens. Actuators B, 2004.
3. A. Cusano, G. V. Persiano, M. Russo, and M. Giordano “Novel optoelectronic sensing system for thin polymer films glass transition investigation” // IEEE Sens. J., 1-8, 2004.
4. Корчемская Е.Я., Соскин М.С., Тараненко В.Б. Пространственно-поляризационные ОВФ при четырехволновом смещении в пленках биохром // Квантовая электроника. - 1987. - Т.14, №4. - С.714-721.
5. Gerion, D., et al., Room-temperature single-nucleotide polymorphism and multiallele DNA detection using fluorescent nanocrystals and microarrays. Anal. Chem., 2003. 75(18): p. 4766-4772.
6. Immuno-Atomic Force Microscopy of Purple Membran / D. J. Muller, C. Schoenenberger, G. Buldt // Biophys. Journ. - 1996. - Vol. 70. - P. 19-26.
7. Medintz, I.L., et al., Self-assembled nanoscale biosensors based on quantum dot FRET donors. Nat. Mater., 2003. 2(9): p. 630-638.
8. Robelek, R., et al., Multiplexed hybridization detection of quantum dot-conjugated DNA sequences using surface plasmon enhanced fluorescence microscopy and spectrometry. Anal. Chem., 2004. 76(20): p. 6160-6165.
9. From Images to Interactions: High-Resolution Phase Imaging in Tapping-Mode Atomic Force Microscopy / M. Stark, C. Muller, D. J. Muller, R. Guckenberger // Biophysical Journal. - 2001. - Vol. 80. - P. 3009–3018.
10. Грег С. Адсорбция. Удельная поверхность. Пористость / С. Грег, К. Синг // - М. : Наука. - 1984. - С. 220.
11. Одержання плівок бактеріородопсину в органічних та неорганічних

матрицях на торці оптичного волокна / Сакалош, І. І. Трикур, Й. П. Шаркань, [та інші] // Науковий вісник УжНУ, серія Фізика. - 2013. - Випуск 34. - С. 230-235.

12. Ramos, M.C., M.C. Torijas, and A.N. Diaz, Enhanced chemiluminescence biosensor for the determination of phenolic compounds and hydrogen peroxide. *Sens. Actuators B Chem.*, 2001. 73(1): p. 71-75.

13. Zhu, L.D., et al., Electrochemiluminescent determination of glucose with a sol-gel derived ceramic-carbon composite electrode as a renewable optical fiber biosensor. *Sens. Actuators B Chem.*, 2002. 84(2-3): p. 265-270.

14. Marquette, C.A., B.D. Leca, and L.J. Blum, Electrogenated chemiluminescence of luminol for oxidase-based fibre-optic biosensors. *Luminescence*, 2001. 16(2): p. 159-165.

15. Iadicicco, A., et al., Thinned fiber Bragg gratings as high sensitivity refractive index sensor. *IEEE Photon. Tech. L.*, 2004. 16(4): p. 1149-1151.

16. Iadicicco, A., et al., Nonuniform thinned fiber Bragg gratings for simultaneous refractive index and temperature measurements. *IEEE Photon. Tech. L.*, 2005. 17(7): p. 1495-1497.

17. Bhatia, V., Applications of long-period gratings to single and multi-parameter sensing. *Opt. Express*, 1999. 4(11): p. 457-466.

18. DeLisa, M.P., et al., Evanescent wave long-period fiber bragg grating as an immobilized antibody biosensor. *Anal. Chem.*, 2000. 72(13): p. 2895-2900.

19. Влияние азотосодержащих добавок и смачивателя на оптические свойства бактериородопсина / И. К. Бандровская, Б. Н. Зинзиков, С. Н. Ратушняк, [и др.] // Метрологическое обеспечение производства и контрольно-измерительная техника. - Ужгород. - 1988. - № 6. - С. 15-18.

20. Бандровская И. К. О механизме взаимодействия пурпурной мембраны с матрицей и химическими добавками / И. К. Бандровская, Ю. Д. Шершун, З. И. Батори-Тарци, Т. А. Красницкая // Разработка и исследование активной и элементарной базы устройств оптической обработки информации. - К.: Изд. ИП

МЭ АН УССР. - 1989. - Вып.3. - С. 172-180.

21. O, B.H., et al., Vapor sensor realized in an ultracompact polarization interferometer built of a freestanding porous-silicon form birefringent film. IEEE Photon. Tech. L., 2003. 15(6): p. 834-836.

22. Batori-Tarsi Z. The effect of chemical additives on the bacteriorhodopsin photocycle / Z. Batori-Tarsi, K. Ludmann, G. Varo // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. - 1999. - Vol. 49. - P. 192-197.

23. Galeazzo, E., et al., Gas sensitive porous silicon devices: responses to organic vapors. Sens. Actuators B Chem., 2003. 93(1-3): p. 384-390.

24. Одержання та структурні особливості нанокмпозитних плівок бактеріородопсин - квантові точки CdSe/ZnS – мікропористазоль-гельна матриця / Й. П. Шаркань, Дж. Дж. Рамсен, І. І. Трикур, [та інші] // Фізика і хімія твердого тіла. - 2010. - Т. 11/1. - С. 170-175.

25. Вплив параметрів навколишнього середовища на характеристики нанокмпозитних плівкових структур золь-гельна SiO₂ матриця – бактеріородопсин – квантові точки CdSe/ZnS / І. І. Трикур, І. І. Сакалош, Г. Т. Горват, [та інші] // Науковий вісник УжНУ, серія Фізика. - 2012. - Випуск 31. - С. 211-219.

26. Modification of properties of light-sensitive bacteriorhodopsin layers /Z. Bathori-Tarczy, O. I. Korposh, N. P. Frolova, V. V. Jarosh // International workshop on advanced Technologies of multicomponent solid films and structures - Uzhgorod. - 1994. - P. 53-54.

27. Оптические параметры пленок на основе БР / И. К. Бандровская, Ю. Д. Шершун, А. В. Склянкин, [и др.] // Вопросы оборонной техники. - 1989. – Т. 22/№6. – С. 21-25.

28. Плівкові структури фотохромного матеріалу бактеріородопсину (ФХМБР). ТУ У 02070832.008 – 97. від 25.12.1997.

29. Соли поливалентных металлов как ингибиторы фотохимических превращений бактериородопсина / Л. А. Драчев, А. Д. Каулен, Л. В. Хитрина //

Биохимия. - 1988. - Т. 53 - С. 663-667.

30. Ингибирование актериородопсина формалином и лантаном / Л. В. Хитрина, Л. А. Драчев, А. Д. Каулен, Л. Н. Чекулаева // Биохимия. - 1982. - Т.47. - С. 1763-1772.

31. Одержання та структурні особливості нанокмпозитних плівок фотохромний бактеріородопсин - квантові точки CdSe/ZnS - мікропориста золь-гельна матриця / Шаркань Й.П., Рамсен 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.

32. Фотохромний матеріал на основі бактеріородопсину (ФХМБР). ТУ У 02070832.007-97. від 25.12. 1997.

33. Bakteriorodopszin-alapanyagu fotochrom retegek / Z. Bathori-Tarczy, J. Sarkany, I. Bandrovszkaja, [et al.] // Tudomanyos talalkozo. Budapest. - 1992. - P. 110-112.

34. Denaturation of bacteriorhodopsin by organic solvents / S. Mitaku, K. Ikuta, H. Itoh, [et al.] // Biophys Chem. - 1988. - Vol. 30/1. - P. 69-79.