

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

ГЛИБИЦЬКИЙ ДМИТРО МИХАЙЛОВИЧ

УДК 577.32+544.023.26+004.932.2

**ТЕКСТУРИ ПЛІВОК БІОПОЛІМЕРНО-СОЛЬОВИХ СИСТЕМ:
КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ ПРИ ФІЗИЧНИХ І ХІМІЧНИХ ВПЛИВАХ**

03.00.02 – біофізика
(фізико-математичні науки)

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Інституті радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова НАН України

Науковий керівник: доктор фізико-математичних наук, професор **Шестопалова Ганна Вікторівна**, Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова НАН України, завідувач відділу біологічної фізики.

Офіційні опоненти: доктор фізико-математичних наук, доцент **Трусова Валерія Михайлівна**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, професор кафедри ядерної та медичної фізики;

доктор фізико-математичних наук, професор **Лисецький Лонгін Миколайович**, Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, провідний науковий співробітник.

Захист відбудеться «11» квітня 2019 р. о 15:15 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.051.13 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ауд. 7-4.

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розісланий 5 березня 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

В.П. Берест

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. У біофізиці, медицині та екології існує задача визначення впливу зовнішніх умов та їх змін на структуру і функції біологічних систем. Одним з важливих напрямків досліджень у молекулярній біофізиці є вивчення поведінки модельних систем, які містять біополімери у сольових розчинах, оскільки у розчинах з концентраціями солей, близькими до фізіологічних, біополімери мають нативну структуру, яка може дестабілізуватися або руйнуватися при додаванні сторонніх хімічних агентів або при фізичних впливах.

У даний час одним з активно досліджуваних різновидів таких модельних систем є розчини ДНК і білків, що висихають на плоскій підкладці, і формують в результаті плівку на її поверхні. Такі плівки знайшли застосування як інструмент дослідження біополімерів, оскільки стан біополімеру у водному оточенні впливає на характер процесів на різних стадіях випаровування – від яких, у свою чергу, залежить характер видимих візерунків (текстур, патернів) на отриманій плівці.

Теоретичні та експериментальні роботи, присвячені вивченню плівок висушених розчинів біополімерів чи біологічних рідин, зазвичай акцентують увагу на моделюванні фізичних процесів при випаровуванні краплі або на встановленні кореляцій між станом біомолекул у вихідному розчині та характеристиками текстур, що утворюються на поверхні плівок при висушуванні.

Однак питанню комплексного дослідження зв'язку між дією чинників різної природи на біополімери в розчині та текстурами отриманих плівок, а також розробці методів кількісної характеристики текстур, чутливих до певного типу патернів, досі приділялося мало уваги.

У даній роботі проаналізовано, які зміни стану ДНК або білка при зміні складу розчину, додаванні органічних або неорганічних домішок та дії фізичних факторів відповідають змінам чисельних характеристик текстур та зигзагоподібних патернів на плівках.

Отримані результати, за умови подальшого розвитку методу аналізу патернів, можуть в перспективі знайти застосування у фармакологічній та біотехнологічній галузях для розв'язання зворотної задачі – за змінами параметрів текстур оцінювати стан біополімеру і вплив на нього молекулярного оточення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження за темою дисертації проводились згідно з планом науково-дослідних робіт відділу біофізики Інституту радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова НАН України в рамках фундаментальних держбюджетних НДР: «Молекулярні моделі комплексів біологічно активних речовин з нуклеїновими кислотами за умовами мультимодального та конкурентного зв'язування» (шифр «Модель», номер держреєстрації 0107U001079); «Механізми впливу біологічно-активних речовин і електромагнітних полів гіга- та терагерцевого діапазонів на біооб'єкти різного рівню організації (біополімери, біомембрани, клітини)» (шифр «Модель-2», номер держреєстрації 0111U010475).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертації було виявлення зв'язку між впливом хімічних і фізичних факторів на текстури плівок, отриманих з водно-сольових розчинів біополімерів, та з'ясування механізмів впливу стану біополімеру на текстури.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити *такі завдання*:

1. Встановити, як структурний стан та агрегація біополімеру впливає на формування патернів.
2. Визначити критичність ролі катіонів Na^+ і аніонів Cl^- у формуванні текстур на плівках.
3. Встановити, як впливає на утворення текстур дестабілізація та пошкодження біополімеру під дією іонів солей металів.
4. З'ясувати, як впливає на утворення текстур наявність у розчині органічних домішок різних концентрацій.
5. Визначити вплив на характеристики текстур термічної денатурації біополімеру.
6. Визначити вплив на характеристики текстур змін стану біополімеру під дією різних доз гамма-опромінення.

Об'єкт дослідження – особливості текстур плівок, отриманих при висушуванні водно-сольових розчинів біополімерів.

Предмет дослідження – взаємозв'язок структурного та агрегаційного стану біополімерів з формованими текстурами їхніх сухих плівок.

Методи дослідження – інфрачервона і ультрафіолетова спектроскопії та флуориметрія для відстеження змін структурного стану біополімерів. Діелектрометрія в надвисокочастотному діапазоні довжин хвиль для визначення стану водного оточення біополімерів. Динамічне і електрофоретичне розсіювання світла для визначення розміру, дисперсності та електрокінетичного потенціалу біополімерів. рН-метрія для оцінки кислотності розчину. Оптична мікроскопія та цифрова обробка зображень, які дозволили кількісно охарактеризувати зміни у текстурах плівок.

Наукова новизна отриманих результатів.

1. Вперше надано докази впливу структурного стану біополімеру на площу і фрактальну розмірність текстур і на характеристики зигзагоподібних патернів на поверхні плівок, отриманих з розчину біополімеру.
2. Запропоновано новий метод аналізу впливу біологічно активних речовин на біополімери з використанням визначення площі і фрактальної розмірності текстур плівок, а також характеристик зигзагоподібних патернів.
3. Показано, що зигзагоподібні структури на плівках біополімерів формуються у присутності іонів Cl^- , але не іонів F^- або Br^- .
4. Виявлено, що найбільш інформативними (чутливими до впливів) характеристиками зигзагоподібних патернів є кількість і довжина сегментів зигзагів.

Практичне значення отриманих результатів. Результати роботи та їх ґрунтовний аналіз дають внесок у розуміння ролі біополімерів, води та іонів солі при формуванні текстур плівок, а також зв'язку структурних змін і агрегації біополімерів з утворенням регулярних патернів. Розроблений програмно-апаратний комплекс для отримання плівок з розчинів

біополімерів та запропонована методика кількісної характеристики текстур за властивостями зигзагоподібних патернів у подальшому можуть бути використані для оцінки рівня нативності структури біополімерів при дії хімічних та фізичних денатуруючих чинників на рівні лабораторних досліджень. Отриманий за результатами роботи патент України №110130 «Спосіб визначення впливу речовини на біополімери» створює підґрунтя для застосування запропонованої методики в галузях експрес-фармакології та біотехнології для відбору лікарських і біологічно активних речовин за ступенем їх впливу на стан біополімерів.

Публікації. Основні результати дисертації опубліковано в 18 наукових працях; з них: 7 статей у міжнародних та вітчизняних фахових наукових журналах, 1 патент України та 10 тез доповідей на міжнародних і вітчизняних конференціях.

Особистий внесок здобувача. Автором дисертаційної роботи самостійно проведено аналіз наукової літератури, створено програмно-апаратний комплекс для отримання плівок біополімерів, отримано результати експериментальних досліджень і проведено їхню обробку. Автором особисто виконано первинний аналіз результатів і сформульовано попередні висновки. Разом з науковим керівником, д.ф.-м.н., проф. Шестопаловою Г.В., було визначено мету, задачі роботи і способи їх вирішення, здійснено інтерпретацію отриманих результатів і зроблено остаточні висновки. В опублікованих спільно зі співавторами працях особистий внесок здобувача полягає: в роботах [1-18] – участь у постановці задачі дослідження, аналіз літературних даних, підготовка зразків, зйомка та обробка фотографій плівок, вимірювання електричної провідності розчинів, отримання спектрів УФ-поглинання та флуоресценції, аналіз та інтерпретація отриманих експериментальних даних, написання статей, патенту і тез.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на таких міжнародних та вітчизняних конференціях: II Міжнародна науково-практична конференція "Нанотехнології та наноматеріали". – Яремче-Львів (Україна), 2014; III і IV Міжнародна науково-практична конференція "Нанотехнології та наноматеріали". – Львів (Україна), 2015, 2016; V Міжнародна науково-практична конференція "Нанотехнології та наноматеріали". – Чернівці (Україна), 2017; IV International Conference "Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects". – Kyiv (Ukraine), 2015; V International Conference "Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects". – Kharkiv (Ukraine), 2017; International Young Scientists Forum on Applied Physics and Engineering. – Kharkiv (Ukraine), 2016; 1st International Symposium on Mechanics. – Aberdeen (UK), 2018.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 2 додатків. Обсяг загального тексту дисертації складає 8,0 а.а. (175 стор.), з них основного тексту 5,5 а.а. (120 стор.). Робота ілюстрована 16 таблицями та 70 рисунками. Список використаних джерел містить 223 найменування.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету і завдання дослідження, визначено наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, зазначено особистий внесок здобувача, наведено відомості про апробацію результатів та показано зв'язок роботи з науковими програмами і темами.

У першому розділі «Моделі формування текстур плівок, методи аналізу текстур та вплив хімічних і фізичних факторів на біополімери» представлено огляд літератури за темою дисертації. Розглянуто існуючі теоретичні моделі процесів при висушуванні крапель біорідин та розчинів біополімерів. Проаналізовано експериментальні роботи, у яких спостерігалися різні типи текстур на плівках, отриманих з колоїдних розчинів. Визначено фактори та умови, що можуть впливати на вид отримуваних текстур, зокрема зигзагоподібних (гексагональних) патернів. Розглянуто підходи до кількісного аналізу текстур плівок, які застосовувалися іншими авторами. Наведено загальні уявлення про вплив неорганічних речовин, органічних сполук та фізичних чинників на ДНК і білки. Визначено аспекти досліджень плівок біополімерів, яким у публікаціях інших авторів не було приділено достатньо уваги.

У другому розділі «Експериментальні методи визначення стану біополімерів (ДНК, БСА) та методи кількісної характеристики їхніх текстур» описано методи приготування розчинів та плівок біополімерів, експериментальні та теоретичні методи досліджень стану біополімеру та його оточення, методи чисельної характеристики текстур отриманих плівок та результати чисельного моделювання перерозподілу компонентів розчину при його висушуванні у квадратній кюветі.

Для приготування плівок та для вимірювань поглинальної і флуоресцентної спектроскопії використовувалися розчини біополімеру (ДНК або білка) та солі у дистильованій воді: 0,2 мг/мл Na-ДНК тимуса теляти з 10 mM NaCl, та 0,5 мг/мл БСА (бичачого сироваткового альбуміну) або САЛ (сироваткового альбуміну людини) з 20 mM NaCl. Для вимірювань за методом надвисокочастотної (НВЧ) діелектрометрії використовувалися розчини зі збільшеною у 20 раз концентрацією біополімеру та солі.

Отримання плівок виконувалося шляхом висушування 0,5 мл розчину біополімеру у скляній кюветі об'ємом $20 \times 20 \times 1 \text{ мм}^3$, яка витримувалася у герметичному контейнері впродовж 3 год. за умов $40 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ температури, $5 \pm 3\%$ відносної вологості та $0,5 \pm 0,1$ атм. повітряного тиску.

Для оцінки структурного стану біополімеру в роботі були застосовані методи спектроскопії ІЧ та УФ поглинання, та УФ флуоресценції.

ІЧ спектри плівок ДНК були отримані в області $900\text{--}1850 \text{ см}^{-1}$ за допомогою двопроменевого спектрофотометра UR-20 (Carl Zeiss, Jena, Німеччина) і з використанням призми NaCl. Плівки для отримання ІЧ спектрів висушувалися на флюоритових підкладках.

Реєстрування спектрів УФ поглинання розчинів біополімерів здійснювалося за допомогою спектрофотометра Hitachi U2310 (Hitachi, Ltd, Токіо, Японія) у діапазоні довжин хвиль $240\text{--}450 \text{ нм}$.

Спектри флуоресценції розчинів та плівок були отримані в діапазоні довжин хвиль 290-460 нм за допомогою спектрофлуориметра Hitachi 850 (Hitachi, Ltd, Токіо, Японія) зі збудженням на довжині хвилі 280 нм. Для спектрів флуоресценції плівок також додатково використовувався високочастотний фільтр на 290 нм.

Оцінка розмірів і дисперсності частинок БСА у розчині здійснювалася методом динамічного розсіювання світла (ДРС), а поверхневого потенціалу частинок БСА – методом електрофоретичного розсіювання світла, з використанням приладу Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd.), обладнаного He-Ne лазером (633 нм). Вимірювання проводились при 298 К в квадратних полістирольних кюветах або вигнутих (U-подібних) капілярних кюветах, і для запобігання агрегації білка на електродах ζ -потенціали визначалися методом дифузійного бар'єру.

Для оцінки взаємодії компонентів розчину з водним оточенням, дійсна ϵ' і уявна ϵ'' частини комплексної діелектричної проникності розчинів вимірювалися за допомогою методу НВЧ-діелектрометрії на частоті 9,2 ГГц і при температурі $22,9 \pm 0,1$ °C, з поправками на присутність неорганічних іонів (на основі вимірів провідності при частоті 1 кГц).

Для визначення рН розчинів був використаний рН-метр "рН-150МИ" ("Вимірювальна техніка", Москва).

Фотографування загального вигляду плівок здійснювалося дзеркальним фотоапаратом Zenit-3М (із послідуочим скануванням негативів), а зйомка детальних зразків текстури – з використанням мікроскопа Meopta (Meopta - Optika, s. r. o., Чехія), оснащеного веб-камерою, у 10-кратному наближенні.

Для чисельного опису текстур плівок використовувалися такі величини, як відносна площа текстур (ступінь заповненості площі кювети текстурями), фрактальна розмірність Мінковського-Булінганда (обчислювана методом підрахунку квадратів), а також характеристики зигзагоподібних патернів (Z-структур) на плівці (рис. 1).

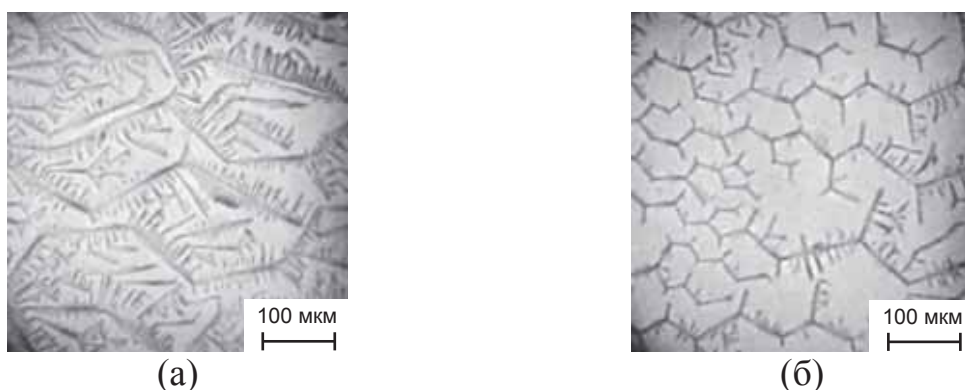


Рисунок 1. Мікрофотографія ділянок плівки, отриманої з розчину 0,5 мг/мл БСА + 20 мМ NaCl: (а) центральна частина; (б) периферійна частина.

Для обчислення характеристик зигзагоподібних патернів було розроблено спеціальне програмне забезпечення, яке дозволило переходити від растрового представлення зигзагоподібних патернів (зображення) до векторного (де зигзагоподібна структура є графом з'єднаних між собою

прямих відрізків). У цьому програмному забезпеченні на кожній мікрофотографії відмічалися сегменти зигзагоподібних патернів, і далі проводилось обчислення необхідних параметрів сегментів. Аналіз статистичних розподілів цих характеристик показав, що найбільш інформативними (чутливими до дії досліджуваних чинників) є сумарна кількість ($L_{\text{кількість}}$), питома довжина ($L_{\text{питома}}$) та середня довжина ($L_{\text{середня}}$) сегментів зигзагоподібних структур.

Чисельне моделювання випаровування рідини здійснювалося у пакеті моделювання суцільних середовищ OpenFOAM із застосуванням модулю interThermalPhaseChangeFoam, а перерозподіл концентрацій частинок (БСА, Na^+ і Cl^-) у розчині моделювався методом зміщеного випадкового блукання на дискретній Декартовій решітці. Результати моделювання підтримують припущення про те, що площа текстур на плівці залежить від локальної концентрації біополімеру, а зигзагоподібні патерни формуються у ділянках з високою швидкістю висушування.

У третьому розділі «Вплив компонентів буферних розчинів (катиони, аніони, органічні сполуки) на текстури плівок» розглянуто вплив на формування текстур плівок біополімерів наявності та заміни компонентів буферних розчинів – Трис (трис(гідроксиметил)амінометану) і ЕДТО (етилендіамінтетраоцтової кислоти), а також іонів Na^+ і Cl^- (на K^+ або Rb^+ та F^- або Br^- , відповідно).

Було проведено дослідження впливу Трис і ЕДТО на формування текстур плівок ДНК. Розчин 0,2 мг/мл Na-ДНК з 10 мМ NaCl і 10 мМ Трис та розчин 0,2 мг/мл Na-ДНК з 10 мМ NaCl і 1 мМ ЕДТО після висушування не формували текстур на поверхні плівок. Однак розчин 0,2 мг/мл Na-ДНК з 10 мМ NaCl, 10 мМ Трис і 1 мМ ЕДТО через 40-50 годин після висушування призводив до формування текстур, аналогічних текстурам сфероліта (рис. 2). Це може бути пов'язано з повільною рекристалізацією при кімнатних умовах, що обумовлена неповною іммобілізацією ДНК.

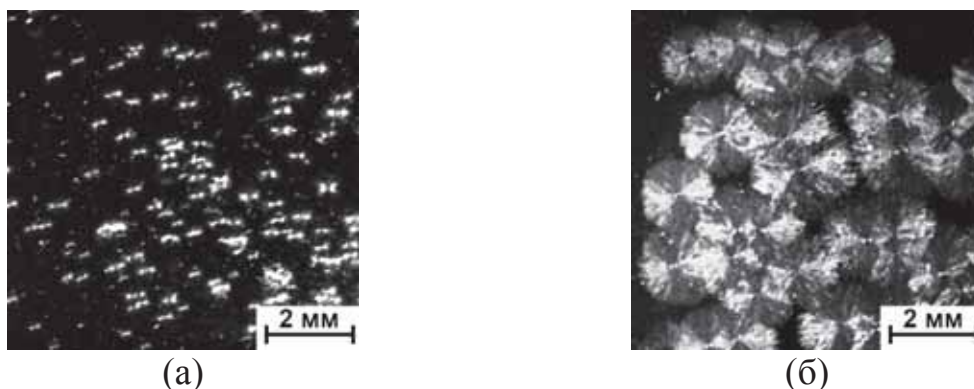


Рисунок 2. Фотографії плівки, отриманої з розчину Na-ДНК + NaCl + Трис + ЕДТО: (а) через 20 год. після вилучення з сушильної камери; (б) через 44 год.

Було виявлено, що заміна катіонів натрію на калій або рубідій не перешкоджає формуванню зигзагоподібних патернів на плівках ДНК або

білка. При цьому площа текстур ДНК знижується, що може бути пов'язано зі збільшенням маси іона та його розміру в ряду Na, K, Rb.

Було досліджено ефект заміни NaCl у розчині БСА на NaF та NaBr. На відміну від Cl^- , аніони Br^- та F^- не створюють умов для формування зигзагоподібних патернів, що свідчить про високу специфічність зигзагоподібного режиму агрегації до фізичних параметрів аніонів. Присутність Br^- та F^- має різні ефекти: при 8 мМ Br^- кількість сегментів зигзагів помітно зменшується (рис. 3а), тоді як F^- помітно зменшує середню довжину сегментів зигзагів (рис. 3б).

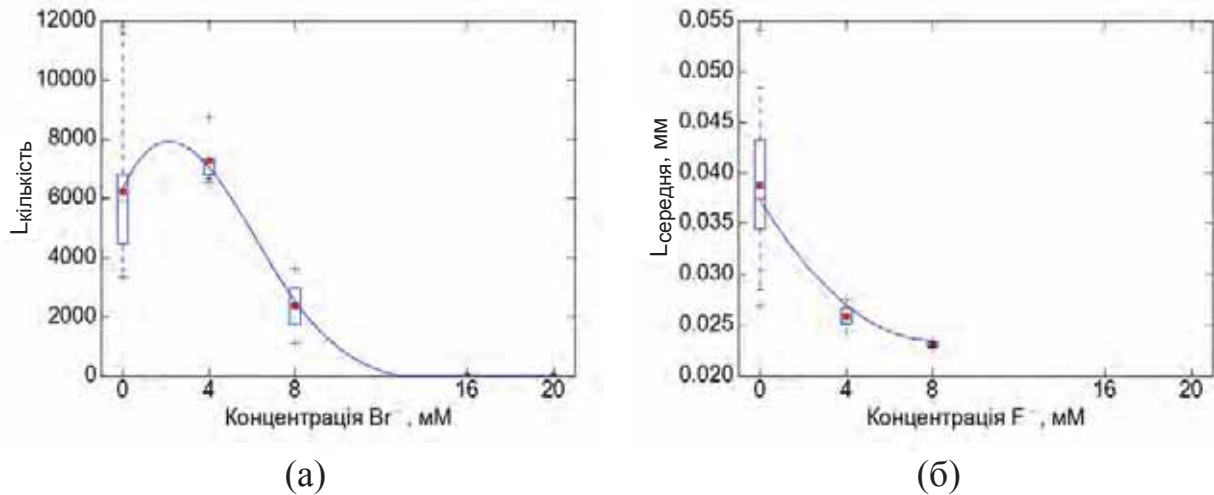


Рисунок 3. Кількість сегментів зигзагів при заміні NaCl на NaBr у розчинах БСА (а); середня довжина сегментів зигзагів при заміні NaCl на NaF у розчинах БСА (б).

Порівняно з Cl^- , в розчинах з іонами F^- або Br^- УФ-поглинання смуги $\lambda = 280$ нм зростає на $8\% \pm 2\%$ (рис. 4а), що свідчить про зміну структури білка, тоді як ефективна інтенсивність флуоресценції знижується на $54\% \pm 9\%$ (рис. 4б), що вказує на зміни в мікрооточенні триптофану.

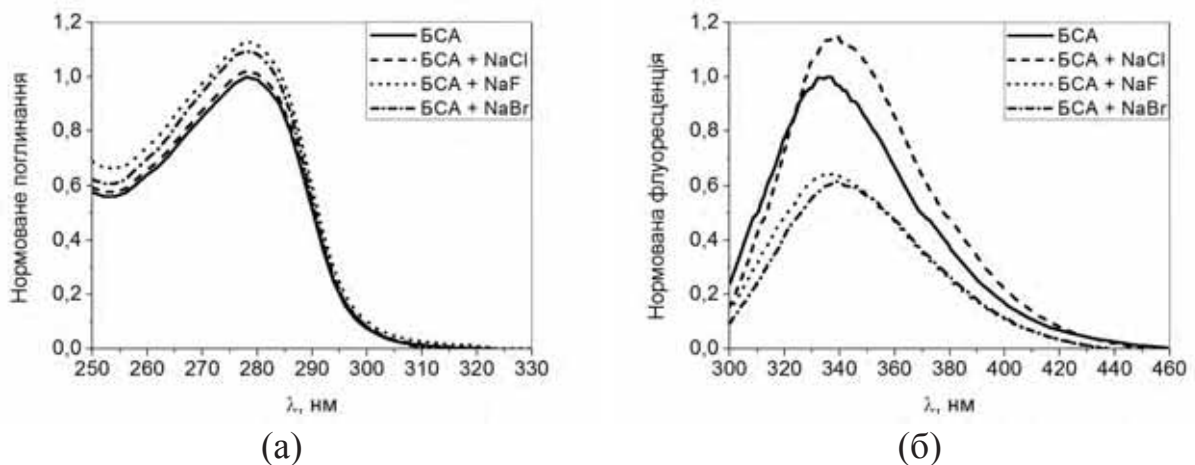


Рисунок 4. Спектри УФ-поглинання (а) і флуоресценції (б) розчинів 10 мг/мл БСА (1); 10 мг/мл БСА + 0,4 М NaCl (2); 10 мг/мл БСА + 0,4 М NaF (3); 10 мг/мл БСА + 0,4 М NaBr (4).

Оскільки стабільність структури білка впливає на здатність білка до кристалізації, це може бути одним з можливих пояснень отриманих результатів. Розрахунки за даними мікрохвильової діелектрометрії також показали, що NaF зв'язує 10,5 молекул води, а NaCl та NaBr зв'язують 12,6 та 11,8 молекул води відповідно. Гідратація компонент розчину позначається на характері взаємодій між ними – зокрема, на здатності солі до осаджування білка – що теж може змінювати умови кристалізації білка.

Контрольні експерименти показали, що висушування розчину 20 мМ NaCl без ДНК або білка за розробленою у роботі методикою не призводить до утворення зигзагоподібних структур, що підтверджує участь біополімерів у формуванні цих патернів.

Було виявлено, що подвоєння концентрації білка та солі (1 мг/мл БСА, 40 мМ NaCl) призводить до зростання середньої величини та розкиду довжин сегментів зигзагоподібних патернів порівняно з нормальною концентрацією (0,5 мг/мл БСА, 20 мМ NaCl). Відповідно, більш висока концентрація компонентів дозволяє кристалам рости в одному напрямку протягом більш тривалого часу.

На підставі літературних даних було зроблено висновок, що плівка складається з комплексів біополімер-вода-сіль, як в ділянках з текстурями, так і в ділянках без видимих текстур. Текстури, в свою чергу, є неоднорідностями розподілу цих комплексів по поверхні підкладки, обумовлені ростом агрегаційних або кристалічних структур у пересиченому розчині. Також було зроблено висновок, що ступінь однорідності розмірів (монодисперсності) молекул білка або ДНК, як одна з важливих умов кристалізації біополімерів, має відігравати суттєву роль у процесі росту зигзагоподібних патернів на плівці. Це дає підстави очікувати, що дестабілізація структури, фрагментація та агрегація біополімеру повинні позначатися на формуванні зигзагоподібних патернів.

У четвертому розділі «Вплив органічних і неорганічних домішок на структурний стан біополімерів та текстури їхніх плівок» наведено результати досліджень змін стану ДНК і БСА та змін у чисельних характеристиках текстур при додаванні іонів та наночасток срібла, іонів Al^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , і органічної сполуки ФМН (флавінмононуклеотид).

Було проведено дослідження впливу іонів срібла і наночасток срібла на ДНК та текстури плівок ДНК. Порівняно з контролем, розчини з $AgNO_3$ або наносріблом (НС) формують текстури з удвічі меншою площею. Зі зростанням концентрації іонів срібла і НС, УФ поглинання на довжині хвилі $\lambda = 260$ нм зростає; в зволоженій (92% відносної вологості) плівці ДНК з НС (рис. 5) ІЧ смуга азотистих основ (1712 см^{-1}) та дезоксирибозна смуга (1053 см^{-1}) відсутні, а антисиметричні коливання фосфатів (1224 см^{-1}) проявилися на частоті 1234 см^{-1} . Це говорить про руйнування спіральної структури ДНК. Отримані результати свідчать на користь гіпотези, що зменшення площі текстур пов'язане з неоднорідністю пошкоджених молекул ДНК, яка послаблює їх здатність до кристалізації.

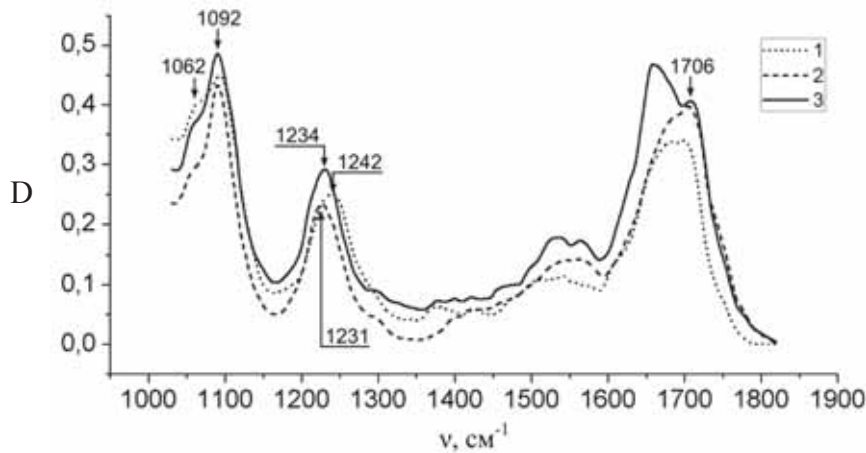


Рисунок 5. ІЧ-спектри поглинання плівок ДНК з наночастками срібла при різних відносних вологостях: 1 – 40%, 2 – 76%, 3 – 92%. D – оптична густина, ν – хвильове число.

Було визначено, що додавання 0,2 мМ CuCl_2 або 0,2 мМ ZnCl_2 до розчинів ДНК перешкоджає формуванню зигзагоподібних патернів, але не заважає формуванню інших типів патернів.

Для плівок 0,5 мг/мл БСА з 20 мМ NaCl та домішками міді або заліза (0,05 мМ FeCl_3 , 0,05 мМ CuCl_2 , 0,1 мМ FeCl_3) було показано, що зигзагоподібні патерни в основному спостерігаються на відстані 3-7 мм від країв кювети (розмір кювети – 20 x 20 мм), тоді як фрактальна розмірність текстур не має великої розбіжності між центром і краями для плівок з 0,05 мМ CuCl_2 , але знижується на краях кювети для плівок з 0,05 мМ FeCl_3 . Показано, що питома довжина зигзагоподібних патернів є більш чутливою до впливу FeCl_3 , ніж відносна площа текстур та фрактальна розмірність текстур.

Було проведено аналіз змін у кількості зигзагоподібних патернів на плівках при додаванні 0,025-0,4 мМ FeCl_3 до розчину БСА. При додаванні FeCl_3 до розчину БСА+ NaCl змінюється кількість сегментів зигзагоподібних патернів (рис. 6), але не їхні геометричні параметри.

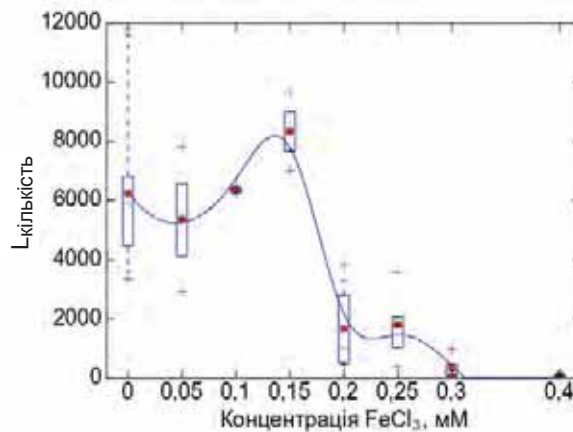


Рисунок 6. Кількість сегментів зигзагів при додаванні FeCl_3 до розчинів БСА.

Водночас, збільшення концентрації FeCl_3 призводить до переважання інших типів патернів. За даними методу динамічного розсіювання світла (ДРС), у досліджуваних розчинах при концентраціях FeCl_3 до 0,05 мМ переважають молекули неагрегованих білків (частинки діаметром 9-10 нм), а ζ -потенціал частинок зменшується зі збільшенням концентрації FeCl_3 (на 6 мВ і 8 мВ відносно контролю при 0,025 і 0,05 мМ FeCl_3 , відповідно), що є типовим для колоїдних систем проявом екранування поверхневого потенціалу розчином електроліту. Але оскільки гідроксид заліза сам по собі утворює колоїдні частинки, полідисперсність частинок у розчині та погіршення кристалізації не обов'язково пов'язані з агрегацією білка.

При додаванні 0,025 і 0,05 мМ AlCl_3 до розчинів БСА+NaCl ζ -потенціал зменшувався на 5 мВ і 9,6 мВ відносно контролю, відповідно, і при 0,4 мМ AlCl_3 змінював знак. Додавання AlCl_3 з концентрацією 0,025, 0,05 і 0,4 мМ призводить до збільшення розміру частинок на 2-3 нм, однак у розчинах з 0,1-0,3 мМ AlCl_3 спостерігались ознаки агрегації та седиментації БСА (у цьому діапазоні концентрацій AlCl_3 ζ -потенціал близький до нуля, що сприяє агрегації молекул білка). З іншого боку, кількість сегментів зигзагоподібних патернів (рис. 7) до 0,2 мМ AlCl_3 знаходиться у межах значень контролю, і знижується починаючи з 0,4 мМ AlCl_3 . Можна припустити, що ступінь агрегації БСА при 0,1-0,3 мМ AlCl_3 не є достатньо значною для порушення умов кристалізації.

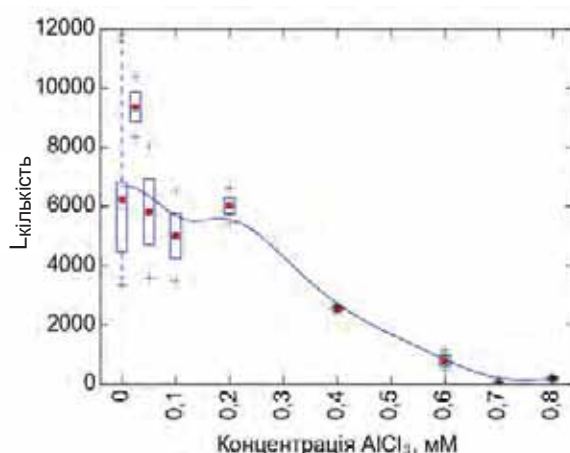


Рисунок 7. Кількість сегментів зигзагів при додаванні AlCl_3 до розчинів БСА.

Було досліджено вплив додавання 0,01-0,3 мМ ФМН до розчинів БСА на формування зигзагоподібних патернів. Кількість сегментів зигзагоподібних патернів (рис. 8) для 0,01 мМ ФМН залишається у діапазоні контрольних значень, але вже при 0,03 мМ ФМН зменшується (6% від середнього значення для контролю) і стає нульовою при 0,3 мМ ФМН. Результати мікрохвильової діелектрометрії свідчать про те, що у розчині БСА за наявності ФМН відбувається додаткове зв'язування води. Але більш впливовою причиною порушення умов кристалізації в даному випадку може бути полідисперсність, викликана наявністю самоасоціатів ФМН або неоднорідністю складу розчину.

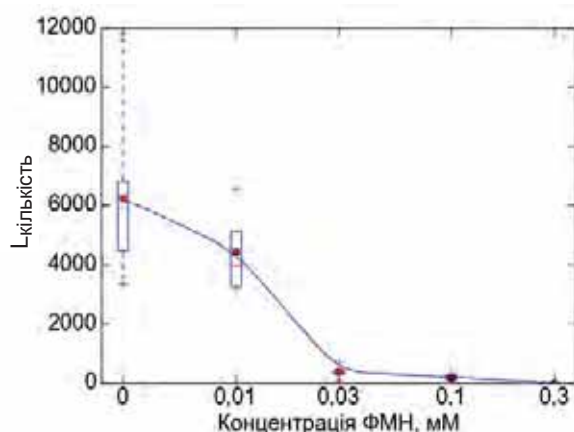


Рисунок 8. Кількість сегментів зигзагів при додаванні ФМН до розчинів БСА.

У п'ятому розділі «Вплив температури і γ -радіації на структурний стан біополімерів та текстури їхніх плівок» проаналізовано зміни текстур плівок, викликаних денатурацією, фрагментацією і агрегацією білка внаслідок термічної обробки та гамма-опромінення.

При нагріванні розчину БСА з NaCl до 45, 70 та 95 °C було виявлено, що кількість сегментів зигзагоподібних патернів на відповідних плівках знижується при температурі утворення вторинних агрегатів (70 °C) і зигзагоподібні патерни повністю зникають при температурі утворення агрегатів великих розмірів (80-95 °C), тоді як середня довжина сегментів практично не змінюється. Фрактальна розмірність текстур знижується майже вдвічі при 45 °C і залишається у межах довірчого інтервалу при подальшому нагріванні, що пов'язано з іншими типами патернів на поверхні плівки. Денатурація білка була підтверджена зниженням інтенсивності флуоресценції на $\lambda = 345$ нм (72% і 65% від інтенсивності контролю для 70 °C і 95 °C, відповідно). Ці результати погоджуються з гіпотезою, що зигзагоподібні патерни є результатом кристалізації біополімерів, яка стає менш можливою з ростом ступеня агрегації (та, відповідно, дисперсності частинок).

Було проведено дослідження впливу ефектів гамма-опромінення розчину БСА з NaCl (зміна вторинної структури, фрагментація, агрегація) у діапазоні доз 0,16-12000 Гр на формування зигзагоподібних патернів (рис. 9).

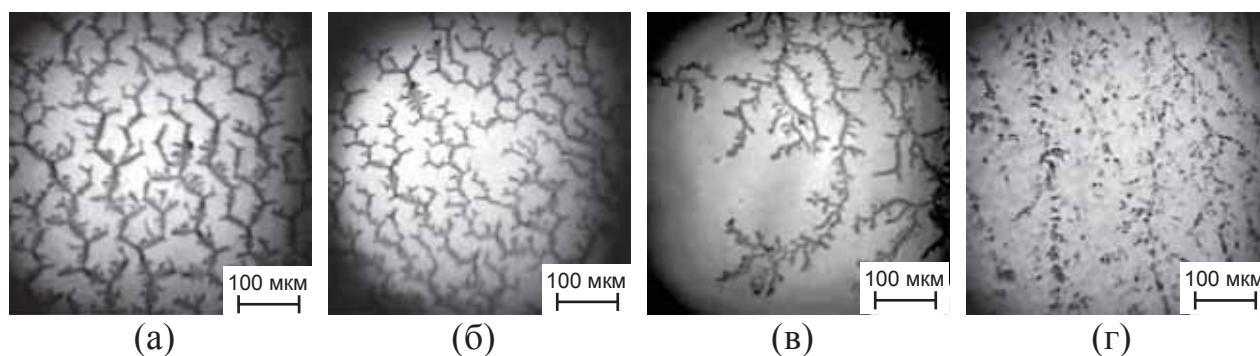


Рисунок 9. Типові текстури плівок БСА, отримані з розчинів: (а) неопроміненого, та опромінених: (б) 200 Гр; (в) 2 кГр; (г) 12 кГр.

Порушення структури БСА було підтверджене спектрами УФ-поглинання і флуоресценції (рис. 10). При цьому, порівняно з контролем (8 ± 2 нм), середнє значення та розкид діаметру частинок БСА дещо збільшуються у діапазоні доз 1-200 Гр (9 ± 3 нм) і більш істотно збільшуються при 2 кГр (13 ± 4 нм), а при 12 кГр дисперсність частинок стає надто високою для вимірювання методом ДРС.

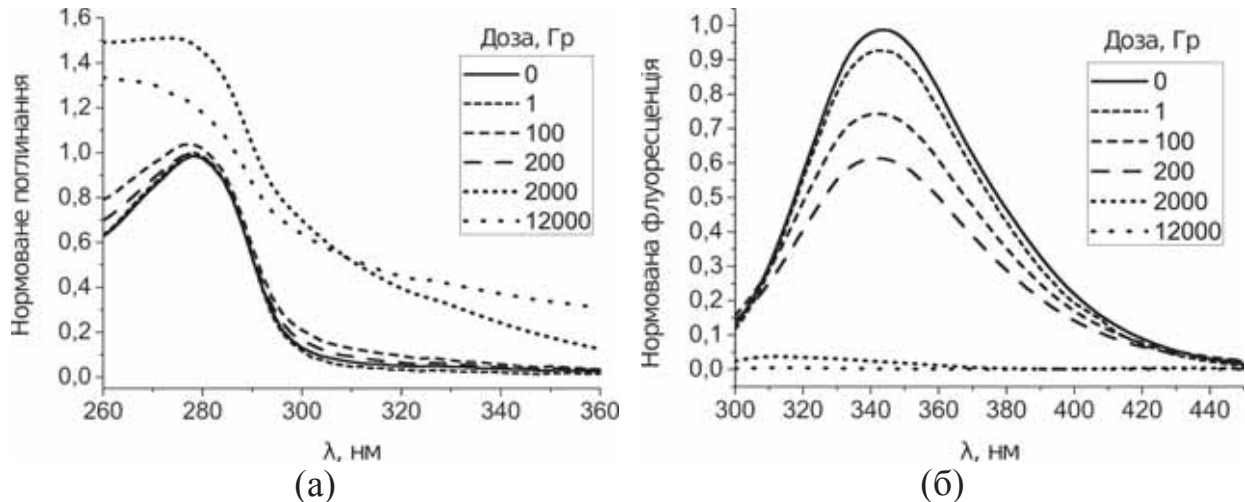


Рисунок 10. Спектри розчинів БСА після гамма-опромінення різними дозами: (а) поглинання; (б) флуоресценція.

Статистичний аналіз відмінності між розподілами питомої довжини зигзагоподібних патернів ($L_{\text{питома}}$) показав, що при рівні значущості 0,05 дози опромінення можна умовно поділити на 3 групи (рис. 11): "непошкоджена" (контроль і 0,16 Гр), "повністю зруйнована" (12000 Гр) та "проміжна" (1-2000 Гр), всередині яких вплив на $L_{\text{питома}}$ статистично не відрізняється.

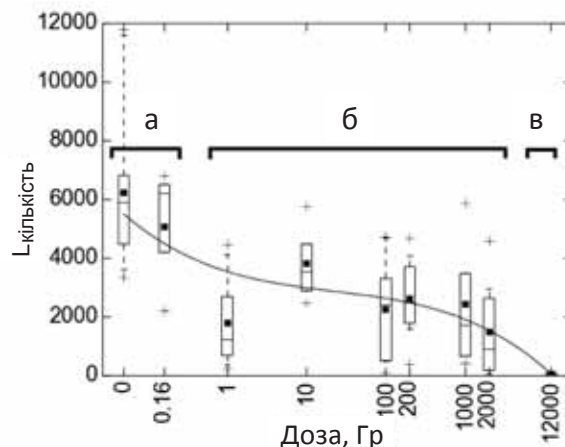


Рисунок 11. Кількість сегментів зигзагів після гамма-опромінення розчину БСА: (а) "непошкоджена" група; (б) "проміжна" група; (в) "повністю зруйнована" група.

Зокрема, у діапазоні доз 1-2000 Гр кількість зигзагоподібних структур на плівці варіюється від практично нульової до значень, порівнянних з контрольними, а при 12 кГр зигзагоподібні патерни фактично відсутні. Найбільш ймовірно, цей ефект пов'язаний з дисперсністю молекул білка, яка

залишається приблизно на тому ж рівні при зміні вторинної структури та фрагментації молекул білка.

Зроблені у результаті проведеної роботи спостереження можна підсумувати таким чином. Деякі з досліджуваних речовин здатні самостійно утворювати колоїдні частинки, перешкоджаючи формуванню зигзагоподібних структур без впливу на стан біополімеру. Спостережувані зміни стану ДНК або білка полягали в дестабілізації, руйнуванні структури або агрегації частинок біополімеру під впливом галогенід-іонів, катіонів металів, а також дії температури та гамма-опромінення. Зазвичай це призводить до зменшення кількості сегментів зигзагоподібних патернів, але в деяких випадках позначається на середній довжині сегментів, площі текстур і фрактальній розмірності текстур. Виявлені ефекти відкривають можливості для створення методу діагностики стану біомолекул у розчині за текстурами висушених з них плівок.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено важливу біофізичну задачу, яка полягає у встановленні зв'язку між змінами стану біополімеру (дестабілізація, порушення структури, агрегація) у водно-сольовому розчині під дією фізичних і хімічних факторів, та змінами чисельних характеристик текстур на плівках, висушених з цих розчинів. Отримані експериментальні дані наочно показують, що агрегація біополімеру є одним з основних механізмів впливу його стану на зигзагоподібні патерни, і закладають основу для розв'язання зворотної задачі – за змінами параметрів текстур оцінювати стан біополімеру і вплив на нього молекулярного оточення.

Отримані результати дозволяють сформулювати такі узагальнюючі висновки:

1. Вперше показано, що при дії хімічних чи фізичних факторів на водно-сольові розчини ДНК або білка формування текстур на плівках висушених водно-сольових розчинів біополімерів пригнічується внаслідок дестабілізації, пошкодження структури та агрегації біополімерів.

2. Вперше створена, обґрунтована і застосована програма кількісного аналізу параметрів зигзагоподібних патернів на плівках (кількість сегментів зигзагів, їх питома і середня довжина), які виявилися чутливими до фізико-хімічних впливів на біополімери у вихідному розчині.

3. Встановлено вплив катіонів та аніонів неорганічних солей на текстури плівок біополімерів. За допомогою спектроскопічних методів вперше виявлено, що для формування зигзагоподібних патернів критичним є наявність у вихідних розчинах аніонів хлору, але не є критичним тип катіонів лужних металів.

4. Вперше показано, що зміна площі, фрактальної розмірності текстур і кількості сегментів зигзагоподібних патернів відповідає зміні структурного стану або нейтралізації поверхневого потенціалу молекул ДНК і білка іонами металів (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+}).

5. Вперше показано, що низькомолекулярна органічна сполука флавінмононуклеотид порушує умови формування зигзагоподібних патернів при концентраціях, які перевищують концентрацію біополімеру.

6. Вперше встановлено, що утворення агрегатів при тепловій денатурації бичачого сироваткового альбуміну частково або повністю перешкоджає формуванню зигзагоподібних патернів, в залежності від ступеня агрегації білка.

7. Вперше показано, що зміна структурного стану білка при гамма-опроміненні його розчинів різними дозами позначається на характеристиках зигзагоподібних патернів, насамперед, на кількості сегментів зигзагів.

Перелік опублікованих праць за темою дисертації

1. Glibitskiy G. M., **Glibitskiy D. M.**, Gorobchenko O. A., Nikolov O. T., Roshal A. D., Semenov M. A., Gasan A. I. Textures on the surface of BSA films with different concentrations of sodium halides and water state in solution // *Nanoscale Res. Lett.* 2015. Vol. 10(1). Article ID 155. DOI: 10.1186/s11671-015-0860-0. Web of Science, Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті)*
2. **Glibitskiy D. M.**, Gorobchenko O. A., Nikolov O. T., Cheipesh T. A., Roshal A. D., Zibarov A. M., Shestopalova A. V., Semenov M. A., Glibitskiy G. M. Effect of gamma-irradiation of bovine serum albumin solution on the formation of zigzag film textures // *Rad. Phys. Chem.* 2018. Vol. 144. P. 231–237. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2017.08.019. Web of Science, Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті)*
3. Глибицкий Г. М., Семенов М. А., **Глибицкий Д. М.** Текстуры пленок Na-DNA, полученные из растворов, содержащих ТРИС и ЭДТА // *Біофіз. вісн.* 2011. Вип. 27(2). С. 26–30. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті)*
4. Glibitskiy G. M., Jelali V. V., Semenov M. O., Roshal A. D., **Glibitskiy D. M.**, Volyanskiy O. Yu., Zegrya G. G. Interaction of DNA with Silver Nanoparticles // *Ukr. J. Phys.* 2012. Vol. 57(7). P. 695–699. Web of Science, Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті)*
5. **Glibitskiy D. M.**, Glibitskiy G. M., Semenov M. A., Shestopalova A. V. Textures of BSA films with iron and copper ions // *Biophys. Bull.* 2016. Vol. 35(1). P. 21–27. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті)*

6. **Glibitskiy D. M.**, Gorobchenko O. A., Nikolov O. T., Shestopalova A. V., Semenov M. A. Characterization of zigzag patterns on the surface of bovine serum albumin films // Biophys. Bull. 2017. Vol. 37(1). P. 16–29. DOI: 10.26565/2075-3810-2017-37-03 (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті*)
7. **Glibitskiy D. M.** Modeling of protein and salt redistribution during drying of a solution from a square cell // Biophys. Bull. 2018. Vol. 39(1). P. 55–74. DOI: 10.26565/2075-3810-2018-39-05
8. **Glibitskiy D. M.**, Glibitskiy G. M., Gorobchenko O. O., Nikolov O. T., Semenov M. A. Textures of BSA films with sodium halides // Nanotechnology and nanomaterials : abstr. Intern. research and practice conf., 23–30 Aug. 2014. Yaremche-Lviv, 2014. P. 538. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*)
9. Glibitskiy G. M., **Glibitskiy D. M.**, Gorobchenko O. A., Nikolov O. T., Roshal A. D., Semenov M. A. Properties of films of bovine serum albumin with sodium halides // Nanobiophysics 2015: Fundamental and Applied Aspects : abstr. IV Intern. Conf., 1–4 Oct. 2015. Kyiv, 2015. P. 44. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*)
10. Gorobchenko O. A., Nikolov O. T., **Glibitskiy D. M.**, Roshal A. D., Shestopalova A. V., Semenov M. A., Glibitskiy G. M. Effect of gamma irradiation of protein solution on the formation of film textures // Nanotechnology and nanomaterials : abstr. Intern. research and practice conf., 26–29 Aug. 2015. Lviv, 2015. P. 386. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*)
11. **Glibitskiy D. M.**, Gorobchenko O. A., Nikolov O. T., Zibarov A. M., Roshal A. D., Semenov M. A., Glibitskiy G. M. Effect of flavin mononucleotide on the texture of BSA films // Nanotechnology and nanomaterials : abstr. Intern. research and practice conf., 24–27 Aug. 2016. Lviv, 2016. P. 132. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*)
12. **Glibitskiy D. M.**, Zibarov A. M. Effect of Fe(III) on BSA and its film textures // Applied Physics and Engineering : abstr. 2nd Intern. Young Scientists Forum, 10–16 Oct. 2016. Kharkiv, 2016. 1 electronic optical disc (CD-ROM). (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*)

13. **Glibitskiy D. M.**, Gorobchenko O. A., Zibarov A. M., Cheipesh T. A., Nikolov O. T., Roshal A. D., Semenov M. A., Glibitskiy G. M. Zigzag patterns on the surface of BSA+AlCl₃ films // Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2017) : abstr. Intern. research and practice conf., 23–26 Aug. 2017. Chernivtsi, 2017. P. 601. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*)
14. **Glibitskiy D. M.**, Cheipesh T. A., Gorobchenko O. A., Zibarov A. M., Nikolov O. T., Roshal A. D., Semenov M. A., Glibitskiy G. M. Comparison of spectral, light scattering and zigzag pattern analysis methods // Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2017) : abstr. Intern. research and practice conf., 23–26 Aug. 2017. Chernivtsi, 2017. P. 602. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*)
15. **Glibitskiy D. M.**, Gorobchenko O. A., Zibarov A. M., Cheipesh T. A., Nikolov O. T., Roshal A. D., Semenov M. A., Glibitskiy G. M. Dynamic light scattering, spectral and zigzag pattern analysis of solutions and films of BSA with FeCl₃ // NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects (NBP-2017) : abstr. 5th Intern. Conf., 2–5 Oct. 2017. Kharkiv, 2017. P. 60. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*)
16. **Glibitskiy D.** Modeling of particle redistribution in protein-salt solution evaporating from a square cell // Abstr. 1st Intern. Symp. on Mechanics, 9–12 July 2018. Aberdeen (UK), 2018. URL: https://conferences-nscj.co.uk/abstract/files/10/abstract/me01_A0878.pdf (retrieved 2018-03-25).
17. **Glibitskiy D.**, Gorobchenko O., Nikolov O., Cheipesh T., Roshal A., Zibarov A., Semenov M., Glibitskiy G. Statistical differences of zigzag patterns on films obtained from gamma irradiated BSA solutions // Abstr. 1st Intern. Symp. on Mechanics, 9–12 July 2018. Aberdeen (UK), 2018. URL: https://conferences-nscj.co.uk/abstract/files/10/abstract/me01_A0877.pdf (retrieved 2018-03-25). (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*)
18. Спосіб визначення впливу речовини на біополімери : пат. на винахід №110130 Україна / Глибицький Г. М., **Глибицький Д. М.** ; Ін-т радіофізики та електроніки імені О. Я. Усикова НАН України. № а2013 12 123 ; заявлено 16.10.2013 ; опубл. 25.11 2015, Бюл. № 22. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні патенту*)

АНОТАЦІЯ

Глибицький Д.М. Текстури плівок біополімерно-солевих систем: кількісний аналіз при фізичних і хімічних впливах. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика. – Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова Національної академії наук України; Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України. – Харків, 2019.

Дисертаційну роботу присвячено встановленню зв'язку між характеристиками текстур, зокрема, зигзагоподібних патернів, на висушених плівках, отриманих з водно-солевих розчинів біополімерів, та впливом хімічних і фізичних факторів на структурний стан біополімерів.

Із застосуванням ІЧ-, УФ- та флуоресцентної спектроскопії, динамічного та електрофоретичного розсіювання світла і НВЧ діелектрометрії було надано докази впливу стану біополімеру на кількісні характеристики текстур. Встановлено, що зигзагоподібні патерни утворюються за умов однорідності частинок біополімеру і наявності аніонів Cl^- у розчині. На підставі встановлених відповідностей між дією хімічних і фізичних факторів та змінами характеристик текстур було запропоновано метод оцінки агрегаційного стану біополімеру у вихідному розчині за текстурами плівок.

Ключові слова: біополімер, ІЧ спектроскопія, УФ спектроскопія, флуоресцентна спектроскопія, динамічне розсіювання світла, висушена плівка, текстура, зигзагоподібний патерн.

ABSTRACT

Glibitskiy D.M. Textures of films of biopolymer-salt systems: quantitative analysis of physical and chemical influences. – Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis for a Candidate Degree in Physics and Mathematics, Specialty 03.00.02 – Biophysics. – O. Ya. Usikov Institute for radiophysics and electronics of the National Academy of Sciences of Ukraine; V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine. – Kharkiv, 2019.

The dissertation is devoted to determining the relationship between the characteristics of textures, in particular, zigzag patterns, on dried films obtained from water-salt solutions of biopolymers, and the influence of chemical and physical factors on the structural state of biopolymers.

A study of the effects of tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris) and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on the formation of DNA texture patterns was carried out. Adding either Tris or EDTA to DNA + NaCl solutions prevented the formation of textures, but adding both Tris and EDTA led to the formation of spherulite-like textures 2 days after drying. This may be caused by slow recrystallization at room conditions due to incomplete immobilization of DNA.

It was found that the replacement of NaCl with KCl or RbCl did not prevent the formation of zigzag patterns (Z-patterns) on DNA or bovine serum albumin (BSA) films.

The effect of replacing NaCl in BSA solution with NaF and NaBr was investigated. Br^- and F^- anions, unlike Cl^- , did not create conditions for the formation of zigzag patterns. Comparison of UV absorption and fluorescence spectra for solutions with NaCl, NaF and NaBr indicated changes in protein structure and microenvironment, which affects protein stability and dispersity. Microwave dielectrometry indicated that NaCl binds more water than NaF and NaBr, which affects protein precipitation. Since both of these factors influence protein crystallization, this might be a likely explanation for the observed results. These results show for the first time that one of the basic conditions for the formation of zigzag patterns is the presence of Cl^- .

The effect of silver ions and silver nanoparticles on DNA and on the textures of DNA films was investigated. The addition of AgNO_3 or nanosilver (NS) reduced the area of the textures, and UV absorption data and IR spectra indicated the destruction of the helical DNA structure by Ag^+ and NS. This damage results in heterogeneity of DNA molecules, which weakens their ability to crystallize and, correspondingly, to create textures on the films.

For films of BSA with NaCl and FeCl_3 or CuCl_2 , the maximum of the distribution of the number of Z-patterns was found to be located between the center and the edges of the cell. The fractal dimension of the textures decreased at the edges of the cell for films with FeCl_3 but not with CuCl_2 . Addition of FeCl_3 was found to reduce the amount of zigzag patterns while increasing the prevalence of other types of patterns. The specific length (L_{specific}) and the number (L_{count}) of zigzag segments were shown to be more sensitive to the influence of FeCl_3 than the relative area or the fractal dimension of the textures.

Addition of AlCl_3 to BSA + NaCl solutions decreased the number of zigzag segments at the concentrations of AlCl_3 that corresponded to the sign change in ζ -potential of the protein. Presumably, the degree of aggregation at lower AlCl_3 concentrations is not significant enough to violate the conditions of crystallization.

In the presence of flavin mononucleotide (FMN), the number of zigzag segments decreased at the 1:4 BSA to FMN molar ratio and became zero at the 1:40 ratio, which is may be caused by the presence of FMN self-associates or the inhomogeneity of the solution composition.

Heating BSA + NaCl solution resulted in a decrease in the number of zigzag segments at 70 °C, and disappearance of Z-patterns at 95 °C. Fractal dimension of the textures almost halved at 45 °C and did not change significantly with further heating.

Gamma-irradiation of BSA + NaCl solution in the 1-12000 Gy dose range was observed to disrupt BSA structure (according to UV absorption and fluorescence spectra) and to increase BSA particle diameter and dispersity (according to DLS data). At 12 kGy, Z-structures did not form, but in the 1-2000 Gy dose range, the distributions of L_{specific} were found to be statistically indistinguishable. These results show for the first time that the change in the structural state of a biopolymer under the influence of physical factors, such as temperature or gamma irradiation, affects the characteristics of zigzag patterns.

The analysis of statistical distributions of zigzag patterns has shown that the most informative (sensitive to the effect of the investigated factors) are the specific length of zigzags (L_{specific}), the number of segments of zigzags (L_{count}) and their mean length (L_{mean}).

The numerical simulation of the processes of liquid evaporation and particle redistribution, conducted for the first time for a square cell filled with liquid, suggests that zigzag patterns are formed in the areas of the cell where water is rapidly removed.

Using IR, UV and fluorescence spectroscopy, dynamic and electrophoretic light scattering methods and microwave dielectrometry, the evidence was presented for the influence of the state of biopolymer on the quantitative characteristics of textures. It was established that zigzag patterns are formed under the conditions of homogeneity of biopolymer particles and the presence of Cl^- anions in solution. Based on the established correspondences between the effect of chemical and physical factors and changes in the characteristics of textures, a method was proposed for estimating the aggregational state of a biopolymer in the initial solution by the film textures.

Keywords: biopolymer, IR spectroscopy, UV spectroscopy, fluorescence spectroscopy, dynamic light scattering, dried film, texture, zigzag pattern.

АННОТАЦИЯ

Глибицкий Д.М. **Текстуры пленок биополимерно-солевых систем: количественный анализ при физических и химических воздействиях.** – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.00.02 – биофизика (физико-математические науки). – Институт радиофизики и электроники им. А. Я. Усикова Национальной академии наук Украины; Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина Министерства образования и науки Украины. – Харьков, 2019.

Диссертационная работа посвящена установлению связи между характеристиками текстур, в частности, зигзагообразных паттернов, на высушенных пленках, полученных из водно-солевых растворов биополимеров, и воздействием химических и физических факторов на структурное состояние биополимеров.

С применением ИК-, УФ- и флуоресцентной спектроскопии, динамического и электрофоретического рассеяния света и СВЧ диэлектromетрии были представлены доказательства влияния состояния биополимера на количественные характеристики текстур. Установлено, что зигзагоподобные паттерны образуются в условиях однородности частиц биополимера и наличия анионов Cl^- в растворе. На основании выявленных соответствий между действием химических и физических факторов и изменениями характеристик текстур, был предложен метод оценки агрегационного состояния биополимера в исходном растворе по текстурам пленок.

Ключевые слова: биополимер, ИК спектроскопия, УФ спектроскопия, флуоресцентная спектроскопия, динамическое рассеяние света, высушенная пленка, текстура, зигзагоподобный паттерн.

Наукове видання

Глибицький Дмитро Михайлович

ТЕКСТУРИ ПЛІВОК БІОПОЛІМЕРНО-СОЛЬОВИХ СИСТЕМ:
КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ ПРИ ФІЗИЧНИХ І ХІМІЧНИХ ВПЛИВАХ

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата фізико-математичних наук

Підписано до друку 27.02.2019 р.

Формат паперу 60×84 1/16. Папір для множинних апаратів

Друк цифровий. Умовн. друк. арк. 0,9. Обл.-вид. арк. 1,1

Тираж 100 прим. Зам. № 1/27.02 від 27.02.19

Надруковано у копії-центрі «Panda Print»

(ФО-П Панарін В.С.).

м. Харків, вулиця Фейербаха, 11-б

