

ГИДРАТАЦИЯ БИОПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОК, СОДЕРЖАЩИХ ОРГАНИЧЕСКИЕ КРАСИТЕЛИ

Лантух Ю.Д., Летута С.Н., Пашкевич С.Н., Алиджанов Э.К., Чайченко К.В.
Оренбургский государственный университет, г. Оренбург

1. Введение

Материалы на основе комплексов краситель-полимер активно используются в настоящее время в качестве активных элементов лазеров, преобразователей солнечной энергии, регистрирующих сред для оптической записи информации [1].

Свойства таких материалов существенно зависят не только от применяемого красителя, но и от типа используемой полимерной матрицы, которая может влиять на положение в спектре полос электронного поглощения и люминесценции активатора, а также на распределение вероятностей дезактивации энергии электронного возбуждения в молекуле красителя. Выбор полимерной матрицы важен с учетом таких характеристик устройств как светостойкость, технологичность изготовления и, на что также обращается внимание в последнее время, простота последующей утилизации.

Настоящая работа посвящена изучению спектральных характеристик пленочных образцов органических красителей в ряде полимерных матриц (желатин, ДНК) при их увлажнении парами воды.

Изучение процессов, связанных с проникновением влаги через биополимерные пленки и мембраны, важно для понимания закономерностей гидратации – взаимодействия веществ с водой, при котором молекулы воды не разрушаются, т.е. процессов присоединения молекул воды к молекулам или ионам вещества. В свою очередь изучение гидратации макромолекул биополимеров – белков и нуклеиновых кислот – необходимо для понимания механизмов функционирования этих молекул [2].

Влагопроницаемость (паропроницаемость) полимеров и биополимеров материалов является важной характеристикой, которая влияет на возможности практического применения тех или иных материалов в различных областях науки и техники (изоляционные материалы, текстильная промышленность, медицина).

Содержание влаги в окружающей среде оказывает влияние на характер и интенсивность происходящих в живых объектах биохимических и физико-химических процессов. От влажности зависят физические, химические, механические и технологические свойства значительной части используемых человеком материалов. Для её регистрации используются различные датчики влажности, однако потребность в безынерционных чувствительных сенсорных методиках в настоящее время актуальна.

Цель настоящей работы состояла в установлении влияния увлажнения биополимерных пленок с внедренными молекулами органических красителей (акридиновый оранжевый, метиленовый голубой) парами воды на спектрально-люминесцентные свойства таких систем.

2. Материалы и методы исследования

Для приготовления пленок использовались водные растворы красителей акридиновый оранжевый (АО) и метиленовый голубой (МГ) (концентрация растворов 10^{-3} моль/л), водный раствор ДНК (MP Biomedicals Inc., Ohio, USA) с концентрацией 10^{-1} моль/л, водный раствор фотографической желатины (10% по массе).

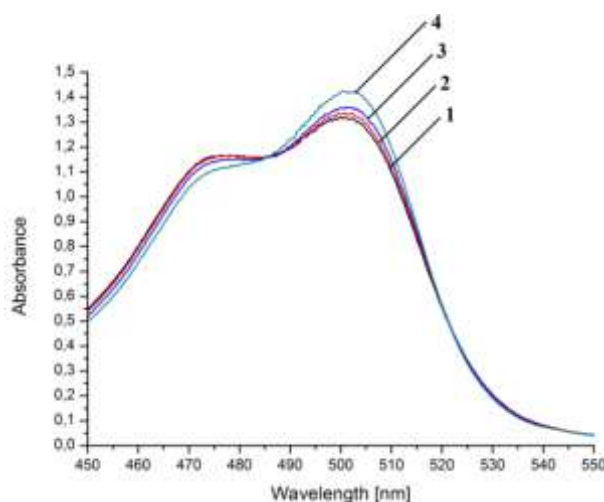
Растворы красителей готовились путём растворения навески сухого красителя в рассчитанном объёме бидистиллированной воды.

Плёнки получали путём полива водного раствора полимера и красителя на стеклянные подложки.

Спектры поглощения и люминесценции образцов регистрировали на оптоволоконном спектрометре AvaSpec 2048 (Avantes). Спектры флуоресценции красителя в полимерных матрицах возбуждали излучением непрерывного DPSS-лазера (KLM-473) с длиной волны генерации 473 нм и He-Ne лазером (ЛГН-222), $\lambda=633$ нм.

3. Результаты и обсуждение

На рисунке 1 приведены спектры поглощения акридинового оранжевого в плёнке ДНК при изменении относительной влажности окружающей среды от 50% (комнатная влажность) до 95%. При увеличении влажности оптическая плотность димерной составляющей спектра понижается, а мономерной – возрастает.



1 – 50%; 2 – 65%; 3 – 80%; 4 – 95%

Рисунок 1 – Спектры поглощения акридинового оранжевого в плёнке ДНК при увеличении уровня относительной влажности воздуха.

Данный результат свидетельствует о том, что пленка ДНК обладает заметной проницаемостью для паров воды. Наблюдаемый эффект может быть положен в основу методики анализа влагопроницаемости пленочных материалов, а также метода определения влажности среды, в которой находится пленочный образец.

Процессы, лежащие в основе наблюдаемых спектральных изменений, связаны с обратимыми переходами между различными комплексами связывания АО и ДНК [3]. Так, при увлажнении сухой пленки [4] происходит диссоциация димеров красителя с последующей интеркаляцией мономерных молекул между парами оснований. По мере понижения относительной влажности происходит перераспределение красителя: часть молекул высвобождается из двойной спирали, образуя димерные агрегаты, связанные с ДНК по внешнему типу.

С целью увеличения чувствительности образцов к влиянию гидратации на спектральные свойства было предложено использовать люминесцентный канал дезактивации энергии возбуждения красителя.

На рисунке 2 представлены спектры флуоресценции акридинового оранжевого в пленке ДНК в зависимости от относительной влажности воздуха при росте о.в. от комнатных значений до 95%. Концентрация красителя в образце АО-ДНК подобрана так, что существенную долю в нем составляют димеры люминофора.

Флуоресценцию возбуждали излучением с $\lambda=473$ нм, мощностью 250 мкВт.

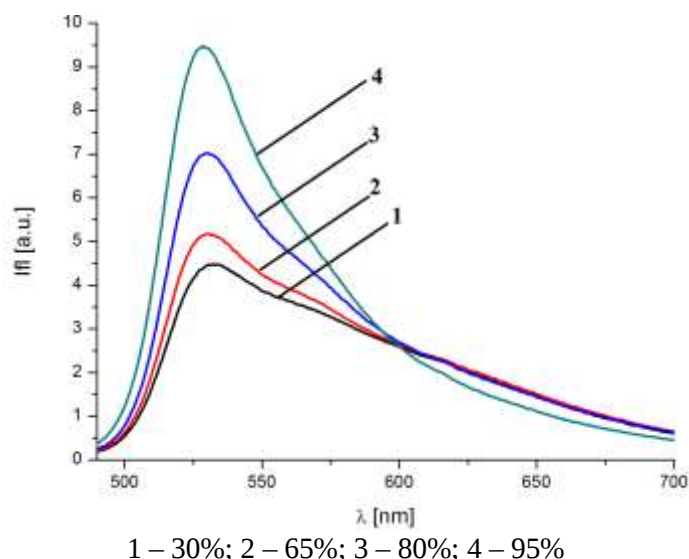


Рисунок 2 – Спектры флуоресценции акридинового оранжевого в плёнке ДНК при увеличении уровня относительной влажности воздуха

Из рисунка видно, что при увеличении влажности воздуха от комнатной (30% о.в.) до 95% происходит постепенное увеличение («разгорание») флуоресценции (более чем на 100%) красителя в пределах всего спектра. Но заметны и структурные изменения. Наиболее существенно возрастает интенсивность флуоресценции мономеров АО ($\lambda = 530$ нм). В области же флуоресценции димеров красителя на рисунке 2 наблюдается «кажущийся» рост интенсивности свечения димеров при 580 нм, который в действительности обусловлен увеличением вклада флуоресценции мономеров АО (спектры флуоресценции мономеров и димеров АО перекрываются).

Данный результат свидетельствует о существенном увеличении чувствительности метода регистрации влияния увлажнения на спектральные свойства образцов АО-ДНК.

С целью проверки предложенного механизма для объяснения эффекта гидратации на электронные спектры АО в матрице ДНК были проведены контрольные эксперименты.

На рисунке 3 представлены спектры флуоресценции акридинового оранжевого в плёнке желатина, λ возбуждения 473 нм.

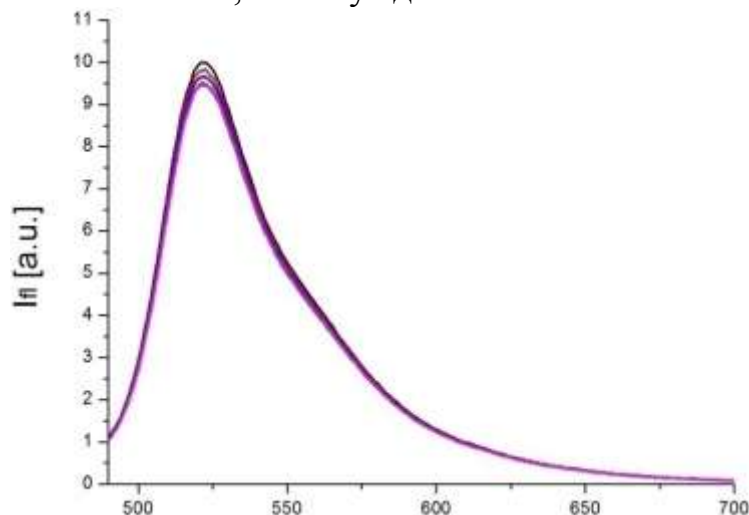


Рисунок 3 – Спектры флуоресценции акридинового оранжевого в матрице желатина при увеличении уровня относительной влажности воздуха от 40 до 90%. Концентрация красителя в пленке желатина $0,75 \cdot 10^{-1}$ моль/л

Как видно из рисунка 3, практически никаких видимых изменений в спектрах при гидратации пленок не происходит. Это, по нашему мнению, свидетельствует о том, что увлажнение пленок желатина не приводит к изменению типа связывания красителя с биополимером в этой матрице.

На рисунке 4 представлены спектры флуоресценции пленки МГ-ДНК при различных уровнях влажности окружающего воздуха. Возбуждение люминесценции красителя производилось He-Ne лазером, длина волны 633 нм, мощность возбуждения 500 мкВт.

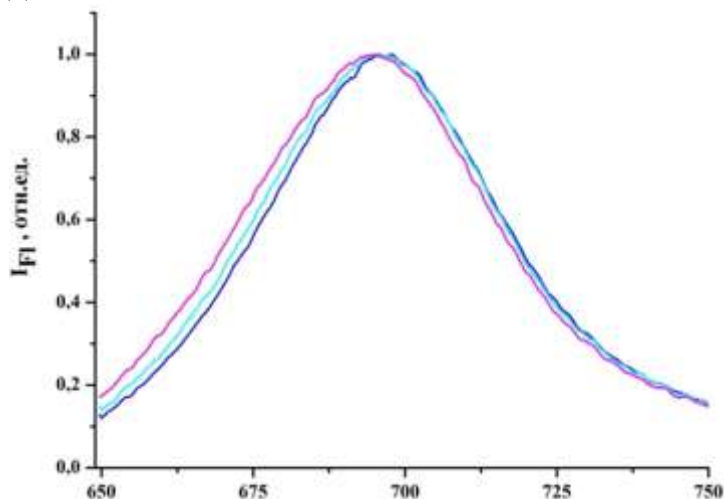


Рисунок 4 – Спектры флуоресценции красителя метиленового голубого в гидратированной пленке ДНК. Концентрация красителя в плёнке ДНК $1,25 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Относительная влажность воздуха изменялась от 50 до 92%.

Из рисунка видно, что спектр флуоресценции МГ, представляющий свечение мономеров красителя, практически не изменяется при гидратации пленки. Это, по нашему мнению, свидетельствует о том, что увлажнение пленок МГ-ДНК также не приводит к изменению характера связывания красителя с биополимером в этой системе.

Известно [5], что МГ образует при связывании с ДНК комплексы более сложного типа, чем АО. МГ при связывании с ДНК интеркалирует в двойную спираль в виде мономеров, как и АО, но при внешнем связывании образует димеры, состоящие из пары молекул, одна из которых закреплена в малой бороздке ДНК, а другая частично интеркалирована.

Полученные результаты могут служить основой для разработки метода предварительного контроля за состоянием и структурой комплексов связывания органических красителей с ДНК.

4. Заключение

Методом спектрофотометрии исследованы превращения электронных спектров органического красителя акридинового оранжевого, внедренного в биополимерные пленки ДНК, происходящие вследствие изменения влагосодержания пленок при изменении относительной влажности в окружающей среде.

Следствием процесса конформационных перестроек макромолекулы ДНК является обратимое изменение типа связывания с ней молекул лиганда – красителя акридинового оранжевого: часть молекул АО, связанных с ДНК по внешнему типу преимущественно в виде димеров, при увлажнении ДНК переходит к связыванию интеркаляционного типа. Отмеченный процесс доступен для мониторинга спектрофотометрически в видимой области (поглощение димеров красителя уменьшается, а мономеров – растет), что может быть положено в основу создания оптического датчика влажности.

В пленочных системах АО-желатин и МГ-ДНК трансформация спектров флуоресценции красителя в видимой области при гидратации практически отсутствует. Это, по нашему мнению, свидетельствует о том, что увлажнение указанных пленок не приводит к изменению типа связывания красителя с биополимером в этих матрицах.

Список литературы

1. Steckl, A.J., Spaeth H., et al. DNA as an Optical Material // *OPN Optics & Photonics News*. – 2011 – P.35-39.
2. Лантух, Ю.Д. Спектроскопические свойства биополимерных плёнок ДНК-акридиновый оранжевый / Ю.Д. Лантух, С.Н. Пашкевич, С.Н. Летута,

Э.К. Алиджанов, А.А. Кульсарин // *Оптика и спектроскопия*, 2011. – №6. – С. 932–937.

3. Лантух, Ю.Д. Фотофизика оптических функциональных материалов на основе комплексов биополимеров с органическими красителями / Ю.Д. Лантух, С.Н. Пашкевич, С.Н. Летута, Э.К. Алиджанов – Оренбург, Вестник ОГУ, 2015. №13. С. 162–167.

4. Falk, M. Hydration of deoxyribonucleic acid / M. Falk, K.A. Hartman, // *Am. Chem.* – 1962, – Vol. 84, – P. 3843-3846

5. Nordén, B., Tjerneld F . Structure of methylene blue – DNA complexes studied by linear and circular dichroism spectroscopy. / *Biopolymers* 1982, – V 21.pp.1713–1734.

