

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДРОГОБИЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

УДК 539.2

КУХАЖ ЮЛІЯ ЮРІЇВНА

**МЕТАЛЕВІ НАНОЧАСТИНКИ ТА ХАЛЬКОГЕНІДНІ КЛАСТЕРИ
У ПОЛІМЕРНИХ КОМПОЗИТАХ**

01.04.07 – фізика твердого тіла

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

Науковий керівник:
кандидат фізико-
математичних наук,
доцент Кавецький Т.С.

Дрогобич – 2021

АНОТАЦІЯ

Кухаж Ю.Ю. Металеві наночастинки та халькогенідні кластери у полімерних композитах. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 01.04.07 – фізика твердого тіла. – Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка. Південноукраїнський національний педагогічний університет імені К.Д. Ушинського, Одеса, 2021.

Дисертаційна робота присвячена вивченню властивостей металевих наночастинок на основі срібла та золота, а також халькогенідних кластерів, інкорпорованих у полімерну матрицю.

Однією з найбільш важливих проблем біосенсорних технологій є формування біорозпізнаючої мембрани, яка містить іммобілізовані біоелементи, зокрема, ферменти. В останні роки особливий інтерес викликає використання нанорозмірних матеріалів у поєднанні із біоселективними елементами (ферментами) для розробки технологій одержання біонаноматеріалів з каталітичними властивостями. Це зумовлено тим, що основні особливості нанорозмірних матеріалів полягають у тому, що вони мають велику площу поверхні, здатність до адсорбції, утворення міцних зв'язків із адсорбованими частинками та високу електрохімічну активність. Підвищена здатність до іонного обміну дає змогу створення біонаночастинок (зв'язаних ферментів на поверхні наночастинок) з їх подальшим використанням у біосенсоріці. Очікується, що нанокompозитні шари, в яких полімерна матриця є основою, імплантована металевими наночастинками та/чи напівпровідниковими кластерами, добре утримають іммобілізований фермент в середині біорозпізнаючої плівки і матимуть покращені електрохімічні та механічні властивості.

В роботі встановлено закономірності еволюції іонів срібла, імплантованих у чисту полімерну матрицю і полімерну матрицю, яка містить у собі

халькогенідні кластери. В результаті іонної імплантації Ag в полімері з інкорпорованими халькогенідними кластерами виявлено формування гібридних систем As_2S_3+Ag , причому адсорбовані халькогенідними кластерами іони Ag утворюють наночастинки. Встановлено дозову залежність накопичення адсорбованих іонів Ag у халькогенідних кластерах і запропоновано кінетичну модель формування гібридних систем As_2S_3+Ag у полімерній матриці. Вивчено каталітичні властивості фермента, зв'язаного з наночастинками золота, в залежності від розмірів наночастинок золота і їх структури. Встановлено, що ферментативний ефект посилюється із зменшенням розміру наночастинок золота за умови збереження їх кристалічної структури. Показано, що виявлені властивості наночастинок срібла та золота можуть бути використані для вдосконалення та створення нових біосенсорних систем.

Ключові слова: наночастинки срібла та золота, халькогенідні кластери, полімерні композити, ферменти, каталітичні властивості, амперометричні біосенсиори.

АННОТАЦІЯ

Кухаж Ю.Ю. Металлические наночастицы и халькогенидные кластеры в полимерных композитах. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук (доктора философии) по специальности 01.04.07 – физика твердого тела. – Дрогобычский государственный педагогический университет имени Ивана Франко. Южноукраинский национальный педагогический университет имени К.Д. Ушинского, Одесса, 2021.

Диссертация посвящена исследованию свойств металлических наночастиц на основе серебра и золота, а также халькогенидных кластеров, инкорпорированных в полимерную матрицу.

Одна из важнейших проблем биосенсорных технологий – формирование биораспознаваемой мембраны, содержащей иммобилизованные биоэлементы, в частности ферменты. В последние годы особый интерес вызывает использование наноразмерных материалов в сочетании с биоселективными элементами (ферментами) для разработки технологий получения бионаноматериалов с каталитическими свойствами. Это связано с тем, что основными особенностями наноразмерных материалов являются большая площадь поверхности, способность к адсорбции, образование прочных связей с адсорбированными частицами и высокая электрохимическая активность. Повышенная способность к ионному обмену позволяет создавать бионаночастицы (связанные ферменты на поверхности наночастиц) с последующим их использованием в биосенсорах. Слои нанокompозитов, в которых полимерная матрица является основой, имплантированной металлическими наночастицами и/или полупроводниковыми кластерами, как ожидается, будут хорошо удерживать иммобилизованный фермент в середине биораспознаваемой пленки и иметь улучшенные электрохимические и механические свойства.

В работе установлены закономерности эволюции ионов серебра, имплантированных в чистую полимерную матрицу и полимерную матрицу, содержащую халькогенидные кластеры. В результате имплантации ионов Ag в полимер с инкорпорированными халькогенидными кластерами обнаружено образование гибридных систем As_2S_3+Ag , при этом ионы Ag, адсорбированные халькогенидными кластерами, образуют наночастицы. Установлена дозовая зависимость накопления адсорбированных ионов Ag в халькогенидных кластерах и предложена кинетическая модель образования гибридных систем As_2S_3+Ag в полимерной матрице. Изучены каталитические свойства фермента, связанного с наночастицами золота, в зависимости от размера наночастиц золота и их структуры. Обнаружено, что ферментативный эффект увеличивается с уменьшением размера наночастиц золота при сохранении их

кристаллической структуры. Показано, что обнаруженные свойства наночастиц серебра и золота могут быть использованы для улучшения и создания новых биосенсорных систем.

Ключевые слова: наночастицы серебра и золота, халькогенидные кластеры, полимерные композиты, ферменты, каталитические свойства, амперометрические биосенсоры.

SUMMARY

Kukhazh Y.Y. Metal nanoparticles and chalcogenide clusters in polymer composites. – Manuscript.

Thesis for scientific degree of Candidate of Physical and Mathematical Sciences (Doctor of Philosophy) in specialty 01.04.07 – Solid State Physics. – Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University. South-Ukrainian K.D. Ushynsky National Pedagogical University, Odessa, 2021.

Thesis is devoted to the study of the properties of metal nanoparticles based on silver and gold, as well as chalcogenide clusters incorporated into the polymer matrix.

A new direction of analytical technology is the development of biosensors – bioanalytical devices that combine the best features of bioelements (selectivity), as well as physical transducers (high sensitivity and accuracy). One of the most important problems of biosensor technologies is the formation of a biorecognizable membrane that contains immobilized bioelements, in particular enzymes. Biosensors are not only the subject of basic and applied research, but also an important commercial product of industrialized countries.

In recent years, the use of nanosized materials in combination with bioselective elements (enzymes) for the development of technologies for the production of bionanomaterials with catalytic properties is of particular interest. This is due to the fact that the main features of nanosized materials are that they have a large surface area, the ability to adsorb, the formation of strong bonds with adsorbed particles and

high electrochemical activity. Increased ability to ion exchange allows the creation of bionanoparticles (bound enzymes on the surface of nanoparticles) with their subsequent use in biosensors. It is expected that the nanocomposite layers, in which the polymer matrix is the base implanted with metal nanoparticles and/or semiconductor clusters, will retain the immobilized enzyme well in the middle of the biorecognizable film and will have improved electrochemical and mechanical properties. It is assumed that the modification of such nanocomposite layer of working electrodes will combine the total ability of nanoparticles/clusters and the enzyme to promote enzymatic and electrochemical reactions, as well as increase the life of the coated bioelectrode.

Development of new polymeric materials with the necessary characteristics and their subsequent application in biosensors is of fundamental importance. The development of nanotechnology allows creating bioselective elements based on metal nanoparticles and semiconductor clusters. Such approaches help to achieve a high concentration of the enzyme in the biorecognizable membrane, and thus expand the range of linearity and increase the sensitivity and selectivity of the biosensor to the studied analytes. Therefore, the study of the properties of metal nanoparticles and semiconductor clusters in polymer composites is an urgent problem, in particular, for the creation of highly efficient biosensor systems.

In the thesis, the regularities of the evolution of silver ions implanted in a pure polymer matrix and a polymer matrix containing chalcogenide clusters are established. By using local X-ray spectral analysis, it is found that implanted silver ions are adsorbed by As_2S_3 clusters. Thus, hybrid systems As_2S_3+Ag are formed, which play an important role in the creation of new amperometric biosensors. A kinetic model of the formation of hybrid systems As_2S_3+Ag in a polymer matrix is proposed. This takes into account the role of radiation-stimulated diffusion of implanted silver ions, which establishes a stationary uniform distribution of silver ions in the process of ion implantation. Thus, in the layers surrounding the chalcogenide clusters, the ion density is the same as in the surrounding space. The

solution of the kinetic equations gives the dose dependence of the accumulation of adsorbed Ag ions in chalcogenide clusters and the formation of $\text{As}_2\text{S}_3+\text{Ag}$ clusters. The interaction of Au nanoparticles with the enzyme laccase is studied. The optimal ratio of nanoparticle and enzyme volumes is determined. A nonlinear relationship is established between these volumes by which the volume of bound enzyme on which its catalytic activity depends can be regulated. The catalytic properties of gold nanoparticles depending on their size and structure are studied. It is found that the enzymatic effect increases with decreasing size of gold nanoparticles, provided that their crystal structure is preserved. Therefore, XRD analysis of gold nanoparticles was performed to confirm their crystal structure. Studies showed an increase in the sensitivity of bioelectrodes of laccase-based amperometric biosensors using enzyme-bound gold nanoparticles. These bionanoparticles combine with the polymer matrix of the ureasil/ As_2S_3 composite, forming a polymer-enzyme-metal nanoparticles system that enables the sensor to function. It is shown that the discovered properties of silver and gold nanoparticles can be used to improve and create new biosensor systems.

Keywords: silver and gold nanoparticles, chalcogenide clusters, polymer composites, enzymes, catalytic properties, amperometric biosensors.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

В яких опубліковані основні наукові результати:

Статті:

1. Kavetskyu T., Smutok O., Gonchar M., Demkiv O., Klepach H., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Petkov P., Stepanov A.L. Laccase-containing ureasil-polymer composite as the sensing layer of an amperometric biosensor // Journal of Applied Polymer Science. – 2017. – V. 134. – P. 45278(1-7). (IF – 1,901, Scopus, WoS) *(Здобувачем спільно зі співавторами проведено дослідження, взято участь в аналізі отриманих даних, написанні та оформленні публікації)*
2. Kavetskyu T., Šauša O., Čechová K., Švajdlenková H., Mařko I., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Smutok O., **Kukhazh Y.**, Gonchar M. Network properties of ureasil-based polymer matrixes for construction of amperometric biosensors as probed by PALS and swelling experiments // Acta Physica Polonica A. – 2017. – V. 132. – N 5. – P. 1515-1518. (IF – 0,857, Scopus, WoS) *(Здобувачем спільно з науковим керівником сформульовано ідею цієї роботи, проведено структурні дослідження методом позитронної анігільційної спектроскопії та обробку результатів, взято участь в написанні та оформленні публікації)*
3. Kavetskyu T., Stasyuk N., Smutok O., Demkiv O., **Kukhazh Y.**, Hoivanovych N., Boev V., Ilcheva V., Petkova T., Gonchar M. Improvement of amperometric laccase biosensor using enzyme-immobilized gold nanoparticles coupling with ureasil polymer as a host matrix // Gold Bulletin. – 2019. – V. 52. – N 2. – P. 79-85. (IF – 1,767, Scopus, WoS) *(Здобувачем спільно з науковим керівником та співавторами сформульовано ідею цієї роботи, спільно зі співавторами проведено основні дослідження, взято участь в аналізі отриманих даних, написанні та оформленні публікації)*

4. Kavetskyu T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M., Šauša O., Švajdlenková H., Kasetaitė S., Ostrauskaite J., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. Controlling the network properties of polymer matrices for improvement of amperometric enzyme biosensors: Contribution of positron annihilation // Acta Physica Polonica A. – 2020. – V. 137. – N 2. – P. 246-249. (IF – 0,857, Scopus, WoS) *(Здобувачем спільно з науковим керівником сформульовано ідею цієї роботи, проведено структурні дослідження методом позитронної анігільційної спектроскопії та обробку результатів, взято участь в написанні та оформленні публікації)*
5. Kavetskyu T., Boev V., Ilcheva V., **Kukhazh Y.**, Smutok O., Pan'kiv L., Šauša O., Švajdlenková H., Tatchev D., Avdeev G., Gericke E., Hoell A., Rostamnia S., Petkova T. Structural and free volume characterization of sol-gel organic-inorganic hybrids, obtained by co-condensation of two ureasilicate stoichiometric precursors // Journal of Applied Polymer Science. – 2021. – P. e50615(1-10), DOI: 10.1002/app.50615. (IF – 2,520, Scopus, WoS) *(Здобувачем спільно з науковим керівником та співавторами сформульовано ідею цієї роботи, проведено структурні дослідження методом позитронної анігільційної спектроскопії та обробку результатів, взято участь в написанні та оформленні публікації)*

Розділи в монографіях:

6. Kavetskyu T.S., Borc J., **Kukhazh Y.Y.**, Stepanov A.L. The influence of low dose ion-irradiation on the mechanical properties of PMMA probed by nanoindentation (Chapter 7) // Nanoscience Advances in CBRN Agents Detection, Information and Energy Security; Eds. P. Petkov, D. Tsiulyanu, W. Kulisch, C. Popov. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology; Dordrecht: Springer. – 2015. – P. 65-71. (Scopus) *(Здобувачем спільно зі співавторами проведено дослідження, взято участь в аналізі отриманих даних, написанні та оформленні публікації)*

7. Kavetskyu T.S., Smutok O., Gonchar M., Šauša O., **Kukhazh Y.**, Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Ureasil-based polymer matrices as sensitive layers for the construction of amperometric biosensors (Chapter 30) // Advanced Nanotechnologies for Detection and Defence against CBRN Agents; Eds. P. Petkov, D. Tsiulyanu, C. Popov, W. Kulisch. NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics; Dordrecht: Springer. – 2018. – P. 309-316. (Scopus) *(Здобувачем спільно зі співавторами проведено дослідження, взято участь в аналізі отриманих даних, написанні та оформленні публікації)*
8. Kavetskyu T.S., Švajdlenková H., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Čechová K., Maňko I., Hoivanovych N., Dytso O., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Swelling behavior of organic-inorganic ureasil-based polymers (Chapter 32) // Advanced Nanotechnologies for Detection and Defence against CBRN Agents; Eds. P. Petkov, D. Tsiulyanu, C. Popov, W. Kulisch. NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics; Dordrecht: Springer. – 2018. – P. 333-338. (Scopus) *(Здобувачем спільно зі співавторами проведено дослідження, взято участь в аналізі отриманих даних, написанні та оформленні публікації)*
9. Kavetskyu T., **Kukhazh Y.**, Stasyuk N., Smutok O., Demkiv O., Pan'kiv I., Kulinska O., Kavchak V., Gonchar M., Stepanov A. Using metal nanoparticles in biosensing // Acta Carpathica 31-32; Eds. J. Gąsior, S. Voloshanska, B. Alvarez, N. Hoivanovych, V. Fil, V. Stakhiv; Rzeszów: Department of Soil Science, Environmental Chemistry and Hydrology Faculty of Biology and Agriculture, University of Rzeszow with Faculty of Biology and Natural Science, Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University. – 2019. – P. 97-106. *(Здобувачу належить ідея, теоретичне обґрунтування і опис кінетичної моделі накопичення іонів Ag у композитній плівці уреасил/As₂S₃, спільно зі співавторами проведено*

дослідження, взято участь в аналізі отриманих даних, написанні та оформленні публікації)

10. Smutok O., Kavetskyu T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Kravtsiv M., Mushynska O., Nykolaishyn-Dytso O., Serkiz R., Voloshanska S., Gonchar M. Non-invasive *L*-lactate analysis of human liquids using a third generation biosensor based on gold nanolayer and flavocytochrome *b*₂ (Chapter 1) // Human Health: Realities and Prospects. Monographic series. Volume 4. “Health and Biosensors”; Eds. N. Skotna, S. Voloshanska, T. Kavetskyu, O. Smutok, M. Gonchar; Drohobych: Posvit. – 2019. – P. 8-20. *(Здобувачем взято участь в аналізі отриманих даних, написанні та оформленні публікації)*
11. Demkiv O., Smutok O., Kavetskyu T., Banah S., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Klepach H., Gonchar M. Laccase as a perspective tool for monitoring and detoxication of phenolic environmental pollutions (Chapter 2) // Human Health: Realities and Prospects. Monographic series. Volume 4. “Health and Biosensors”; Eds. N. Skotna, S. Voloshanska, T. Kavetskyu, O. Smutok, M. Gonchar; Drohobych: Posvit. – 2019. – P. 21-34. *(Здобувачем взято участь в аналізі отриманих даних, написанні та оформленні публікації)*
12. Kavetskyu T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Starchevskyu M., Šauša O., Švajdlenková H., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M. Novel polymer matrixes for construction of laccase-based amperometric biosensors as probed by positrons and swelling (Chapter 4) // Human Health: Realities and Prospects. Monographic series. Volume 4. “Health and Biosensors”; Eds. N. Skotna, S. Voloshanska, T. Kavetskyu, O. Smutok, M. Gonchar; Drohobych: Posvit. – 2019. – P. 45-56. *(Здобувачем спільно з науковим керівником сформульовано ідею цієї роботи, спільно зі співавторами проведено дослідження, взято участь в написанні та оформленні публікації)*

13. Kavetskyy T., Fink D., Kiv A., Bondaruk Yu., Šauša O., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Gonchar M. Polymer lattice and track nanostructures to create novel biosensors (Chapter 19) // *Advanced Nanomaterials for Detection of CBRN*; Eds. J. Bonca, S. Kruchinin. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology; Dordrecht: Springer. – 2020. – P. 267-273. (Scopus) *(Здобувачем взято участь в аналізі отриманих даних, написанні та оформленні публікації)*

Які засвідчують апробацію матеріалів:

Матеріали та тези доповідей на наукових конференціях:

1. Kavetskyy T.S., Borc J., **Kukhazh Y.Y.**, Stepanov A.L. The influence of low dose of ion-irradiation on mechanical properties of polymethylmethacrylate probed by nanoindentation // NATO Advanced Study Institute “Nanoscience Advances in CBRN Agents Detection, Information and Energy Security” (Sozopol, Bulgaria, 29 May - 6 June, 2014) Book of Abstr. – Sozopol, 2014. – P. 14.
2. Kavetskyy T.S., **Kukhazh Y.Y.**, Borc J., Stepanov A.L. Nanoindentation study of boron-ion implanted polymethyl-methacrylate with ultra nano hardness tester: Methodological aspects // *Physics and Technology of Thin Films and Nanosystems / Materials of the XV International Conference ICPTTFN-XV* (Ivano-Frankivsk, Ukraine, 11-16 May, 2015) Conference Materials. – Ivano-Frankivsk, 2015. – P. 103.
3. Kavetskyy T.S., **Kukhazh Y.Y.**, Borc J., Stepanov A.L. Nanoindentation of boron-ion implanted polymethylmethacrylate up to 1100 nm indentation depth // XXII International Conference “Ion-Surface Interactions (ISI-2015)” (Moscow, Russia, 20-24 August, 2015) Proceedings. – Moscow, 2015. – V. 2. – P. 132-135.

4. Kavetsky T.S., **Kukhazh Y.Y.**, Borc J., Stepanov A.L. Impact of boron-ion-irradiation on the mechanical properties of PMMA: Nanoindentation study in the 300-1100 nm depth // IX International Conference on Topical Problems of Semiconductor Physics (Truskavets, Ukraine, 16-20 May, 2016) Book of Abstr. – Truskavets, 2016. – P. 82-83.
5. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., Demkiv O., Klepach H., **Kukhazh Y.**, Sausa O., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Petkov P., Stepanov A.L. Urea-silicate composite with chalcogenide particles as a perspective polymer matrix for construction of amperometric biosensors // IV International Conference on Oxide and Non-Oxide Materials for Optoelectronics and Energy Applications (ICONMO-4) (Borovetz, Bulgaria, 16-19 March, 2017) Book of Abstr. – Borovetz, 2017. – P. 26.
6. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Borc J., Stepanov A.L. Nanoindentation of PMMA nanocomposites formed by boron-ion implantation // IV International Conference on Oxide and Non-Oxide Materials for Optoelectronics and Energy Applications (ICONMO-4) (Borovetz, Bulgaria, 16-19 March, 2017) Book of Abstr. – Borovetz, 2017. – P. 27.
7. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Kravtsiv M., Zubrytska K., Mushynska O., Beyba T., Stepanov A. SRIM simulation of low-energy ion bombardment into PMMA matrix // International Scientific and Technical Conference “Laser Technologies. Lasers and Their Application” (Truskavets, Ukraine, 7-9 June, 2017) Conference Materials. – Truskavets, 2017. – P. 151-153.
8. Kavetsky T., Šauša O., Čechová, Švajdlenková H., Mat'ko I., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Smutok O., **Kukhazh Y.**, Gonchar M. Network properties of ureasil-based polymer matrixes for construction of amperometric biosensors as probed by PALS and swelling experiments // 12th International Workshop on Positron and Positronium Chemistry (PPC12) (Lublin, Poland, 28 August - 1 September, 2017) Book of Abstr. – Lublin, 2017. – P. O13.

9. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Čechová K., Švajdlenková H., Mat'ko I., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Swelling behavior of organic-inorganic ureasil-based polymers // NATO Advanced Study Institute “Advanced Technologies for Detection and Defence Against CBRN Agents” (Sozopol, Bulgaria, 12-20 September, 2017) Book of Abstr. – Sozopol, 2017. – P. 4.5-9.
10. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., Demkiv O., Klepach H., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Petkov P., Stepanov A.L. Ureasil-based polymer matrices as sensitive layers for construction of amperometric biosensors for monitoring the level of wastewater pollution // NATO Advanced Study Institute “Advanced Technologies for Detection and Defence Against CBRN Agents” (Sozopol, Bulgaria, 12-20 September, 2017) Book of Abstr. – Sozopol, 2017. – P. 5.2-2.
11. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., Leshko R., **Kukhazh Y.**, Kravtsiv M., Zubrytska K., Mushynska O., Šauša O., Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Novel polymer matrixes for construction of amperometric biosensors // 18th Israel Materials Engineering Conference (IMEC-18) (Leonardo Club Hotel Dead Sea, Israel, 6-8 February, 2018) Book of Abstr. – Dead Sea, 2018. –
<https://events.eventact.com/ProgramView2/Agenda/Lecture?id=168155&code=3246517>.
12. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Kasetaitė S., Ostrauskaite J. Correlation between network properties of polymer matrix and parameters of amperometric enzyme biosensor based on polymer matrix // 8th International Scientific and Technical Conference “Sensor Electronics and Microsystem Technologies (SEMST-8)” (Odessa, Ukraine, 28 May - 1 June, 2018) Book of Abstr. – Odessa, 2018. – P. 49.

13. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Novel ureasil-based polymers for construction of amperometric enzyme biosensors // Composite Materials Congress & Biosensors and Bioelectronics Materials Symposium 2018 (CMC-BBS 2018) (Stockholm, Sweden, 3-6 June, 2018) Proceedings & Abstr. Book. – Stockholm, 2018. – DOI: 10.5185/cmc2018.
14. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Kasetaitė S., Ostrauskaite J. Amperometric enzyme biosensors based on novel organic-inorganic and photocross-linked polymers // X International Conference “Topical Problems of Semiconductor Physics” (Truskavets, Ukraine, 26-29 June, 2018) Conference Materials. – Truskavets, 2018. – P. 190-192.
15. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. Ureasil-chalcogenide glass organic-inorganic hybrids for construction of amperometric enzymatic biosensors: Recent achievements and future prospects // VIII Ukrainian Scientific Conference on Physics of Semiconductors (USCPS-8) (Uzhhorod, Ukraine, 2-4 October, 2018) Book of Abstr. – Uzhhorod, 2018. – P. 481-482.
16. Stasyuk N., **Kukhazh Y.**, Hoivanovych N., Smutok O., Demkiv O., Kavetsky T., Gonchar M. Improvement of amperometric laccase biosensor using gold nanoparticles coupling with ureasil polymer as a host matrix // International Conference “Advances in Microbiology and Biotechnology” (Lviv, Ukraine, 29-31 October, 2018) Book of Abstr. – Lviv, 2018. – P. 113.
17. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Kravtsiv M., Mushynska O., Hoivanovych N., Smutok O., Gonchar M., Demkiv O., Šauša O., Švajdlenková H., Kasetaitė S., Ostrauskaite J., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. A role of free-volume and crosslink density in the host polymer matrixes for improvement of operational parameters of amperometric biosensors // Vth

International Conference on Oxide and Non-Oxide Materials for Optoelectronics and Energy Applications (ICONMO-5) (Borovetz, Bulgaria, 20-23 March, 2019) Book of Abstr. – Borovetz, 2019. – P. OP4.

18. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Kravtsiv M., Zubrytska K., Mushynska O., Klepach H., Voloshanska S., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M. Novel polymer matrixes for construction of third-generation amperometric laccase-based biosensors // II International Scientific Congress SMART SOCIETY 2019, Scientific Conference “Ecology and Health Issues” (Czestochowa, Poland, 11-12 April, 2019) Conference Program. – Czestochowa, 2019. – P. 3.
19. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Kravtsiv M., Zubrytska O., Fil N., Boev V., Ilcheva V., Petkova T., Kasetaitė S., Ostrauskaitė J., Švajdlenková H., Šauša O. Free-volume characteristics of polymers with different crosslink density used for construction of laccase-based amperometric biosensors // 4th International Congress on Biomaterials & Biosensors (BIOMATSEN 2019) (Oludeniz/Mugla, Turkey, 12-18 May, 2019) Book of Abstr. – Oludeniz/Mugla, 2019. – P. 132-133.
20. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M., Šauša O., Švajdlenková H., Boev V., Ilcheva V., Petkova T., Kasetaitė S., Ostrauskaitė J. A correlation between network properties of polymer matrix and parameters of amperometric biosensor based on polymer matrix // XVII International Freik Conference on Physics and Technology of Thin Films and Nanosystems (Ivano-Frankivsk, Ukraine, 20-25 May, 2019) Book of Abstr. – Ivano-Frankivsk, 2019. – P. 95.
21. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M., Šauša O., Švajdlenková H., Kasetaitė S., Ostrauskaitė J., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. Controlling the network properties of polymer matrixes for improvement of amperometric enzyme biosensors: Contribution of positron

annihilation // 15th International Workshop on Slow Positron Beam Techniques and Applications (SLOPOS-15) (Prague, Czech Republic, 2-6 September, 2019) Book of Abstr. – Prague, 2019. – P. 79.

22. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. Network properties of ureasil-based polymers with elastic and fragile matrixes studied by positron annihilation and swelling // NATO Advanced Study Institute “Nanoscience and Nanotechnology in Security and Protection Against CBRN Threats” (Sozopol, Bulgaria, 12-20 September, 2019) Book of Abstr. – Sozopol, 2019. – P. 57.
23. Kavetsky T., Fink D., Kiv A., Donchev I., Šauša O., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Gonchar M. Polymer lattice and track nanostructures to create novel biosensors // NATO Advanced Research Workshop “Advanced Nanomaterials for Detection of CBRN” (Odessa, Ukraine, 2-6 October, 2019) Conference Programme. – Odessa, 2019. – P. 4.
24. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Krasnevykh E., Zubrytska O., Boev V., Ilcheva V., Petkova T., Kasetaitė S., Ostrauskaitė J., Švajdlenková H., Šauša O. Investigating the network properties of polymer matrixes for controlling a functionality of laccase-based amperometric biosensors // 5th International Congress on Biomaterials & Biosensors (BIOMATSEN 2020) (Oludeniz/Mugla, Turkey, 14-20 October, 2020) Book of Abstr. – Oludeniz/Mugla, 2020. – P. 11-12.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
АННОТАЦІЯ.....	3
SUMMARY	5
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.....	8
ЗМІСТ	18
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1. КОМПОЗИЦІЙНІ ПОЛІМЕРНІ ПЛІВКИ В БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНІ	28
1.1. Органічно-неорганічні уреасилікатні полімерні матриці	28
1.1.1. Структурне дослідження гібридних органічно-неорганічних полімерних гелів.....	28
1.1.2. Структура органічно-неорганічного уреасилікатного полімеру....	38
1.2. Використання металевих наночастинок для модифікації полімерних матеріалів	40
1.2.1. Металеві наночастинки для модифікації уреасильних полімерних матеріалів	40
1.2.2. Металеві наночастинки для іммобілізації ферментів	54
1.3. Біосенсорні прилади на основі полімерних плівок	57
1.3.1. Біосенсорні прилади на основі самоорганізованих шарів	57
1.3.1.1. Самоорганізовані шари (СОШ)	57
1.3.1.2. Біосенсорні системи на СОШ плівках	60
1.3.2. Біосенсорні прилади на основі лаккази та наноносіїв	62
Висновки до розділу 1	70
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПОЗИЦІЙНИХ ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛІВ.....	71
2.1. Методи одержання полімерних матриць	71
2.2. Дослідження методами електронної мікроскопії	78

2.3. Позитронна анігіляційна спектроскопія (ПАС).....	79
2.3.1. Коротка теорія ПАС.....	79
2.3.2. ПАС для визначення вільного об'єму у полімерних матеріалах	84
2.4. Інші методи	86
2.4.1. Метод іонної імплантації	86
2.4.2. Рентгеноструктурний аналіз	90
2.4.3. Конструювання біосенсора і амперометричні вимірювання.....	91
Висновки до розділу 2	94
РОЗДІЛ 3. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КОМПОЗИЦІЙНИХ	
ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛІВ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПРИРОДИ ЛЕГУЮЧИХ	
ЕЛЕМЕНТІВ	
95	
3.1. Фізико-хімічні властивості уреасилікатних полімерних матриць	95
3.2. Фізико-хімічні особливості композиційних полімерів з халькогенідними мікрочастинками	114
3.3. Дослідження параметрів композиційних полімерних матриць в залежності від концентрації введених іонів металів	127
Висновки до розділу 3	132
РОЗДІЛ 4. БІОСЕНСОРНІ СИСТЕМИ ЗАСНОВАНІ НА ДОСЛІДЖУВАНИХ	
ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛАХ.....	
133	
4.1. Нові амперометричні сенсори.....	133
4.2. Формування композиційних плівок з полімер-фермент-металевими наночастинками.....	141
4.3. Вдосконаленні параметри у порівнянні з існуючими приладами.....	154
4.4. Перспективи подальшого вдосконалення.....	158
Висновки до розділу 4	163
ВИСНОВКИ.....	165
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	167
ДОДАТКИ.....	181
Додаток 1.....	181

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

НМ	– наноматеріали
НЧ	– наночастинки
ЕП	– електропровідні полімери
СОШ	– самоорганізовані шари
ПАР	– поверхнево-активні речовини
СЕМ	– сканувальна електронна мікроскопія
АСМ	– атомно-силова мікроскопія
ПАС	– позитронна анігіляційна спектроскопія
РСА	– рентгеноспектральний аналіз
EDX	– (англ. energy-dispersive X-ray spectroscopy) енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія
TGA	– (англ. thermogravimetric analysis) термогравіметричний аналіз
MELT	– (англ. maximum entropy lifetime) максимальна ентропія часу життя позитронів
o-Ps	– (англ. ortho-positronium) орто-позитроній

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Новим напрямом аналітичної технології є розробка біосенсорів – біоаналітичних пристроїв, які поєднують у собі найкращі риси біоелементів (селективність), а також фізичних перетворювачів (висока чутливість і точність). Однією з найбільш важливих проблем біосенсорних технологій є формування біорозпізнаючої мембрани, яка містить іммобілізовані біоелементи, зокрема, ферменти. Біосенсиори є не лише об'єктом фундаментальних і прикладних досліджень, а й важливим комерційним продуктом промислово розвинених країн.

В останні роки особливий інтерес викликає використання нанорозмірних матеріалів у поєднанні із біоселективними елементами (ферментами) для розробки технологій одержання біонаноматеріалів з каталітичними властивостями. Це зумовлено тим, що основні особливості нанорозмірних матеріалів полягають у тому, що вони мають велику площу поверхні, здатність до адсорбції, утворення міцних зв'язків із адсорбованими частинками та високу електрохімічну активність. Підвищена здатність до іонного обміну дає змогу створення біонаночастинок (зв'язаних ферментів на поверхні наночастинок) з їх подальшим використанням у біосенсориці.

Очікується, що нанокмпозитні шари, в яких полімерна матриця є основою, імплантована металевими наночастинками та/чи напівпровідниковими кластерами, добре утримають іммобілізований фермент в середині біорозпізнаючої плівки і матимуть покращені електрохімічні та механічні властивості. Передбачається, що модифікація таким нанокмпозитним шаром робочих електродів буде поєднувати сумарну здатність наночастинок/кластерів та ферменту промотувати ензиматичні та електрохімічні реакції, так і збільшення ресурсу покритого біоелектроду.

Розробка нових полімерних матеріалів з необхідними характеристиками і подальше їх застосування в біосенсориці має принципове значення. Розвиток

нанотехнологій дозволяє створювати біоселективні елементи на основі металевих наночастинок та напівпровідникових кластерів. Такі підходи сприяють досягнути високої концентрації ферменту в біорозпізнаючій мембрані, а отже, розширити діапазон лінійності та підвищити чутливість та селективність біосенсора на досліджувані аналіти. Тому вивчення властивостей металевих наночастинок та напівпровідникових кластерів у полімерних композитах є **актуальною** проблемою, зокрема, для створення високоефективних біосенсорних систем.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертаційна робота відповідає основним напрямкам наукової діяльності науково-дослідної лабораторії матеріалів твердотільної мікроелектроніки імені проф. В.М. Цмоця та кафедри біології та хімії Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка. Основні результати одержані в рамках виконання наступних тем:

1) “Дослідження нових композиційних матеріалів з іонно-синтезованими металевими наночастинками для сенсорики” (2016-2018 рр., № ДР: 0116U004737, у проєкті автор приймав участь як виконавець);

2) “Дослідження нових органічно-неорганічних полімерних композиційних матеріалів з халькогенідними та металевими частинками для конструювання лакказо-вмісних біосенсорів” (2017-2020 рр., № ДР: 0117U007142, у проєкті автор приймав участь як відповідальний виконавець);

3) “Оптимізація умов іммобілізації ферментів на наночастинках у полімерних матрицях для покращення операційних параметрів лактат-селективних біосенсорів” (2018-2020 рр., № ДР: 0118U000297, у проєкті автор приймав участь як виконавець).

Робота виконувалась також в рамках міжнародного індивідуального проєкту “Investigating the network properties of ureasil polymer matrixes with different crosslink density for construction of amperometric enzyme biosensors” в Інституті фізики Словацької академії наук (м. Братислава, Словаччина) у межах

Національної стипендіальної програми Словацької Республіки для підтримки мобільності студентів та аспірантів, викладачів ВНЗ, дослідників і митців (2019 р.).

Мета роботи – вивчення властивостей біонаночастинок на основі срібла та золота, а також халькогенідних кластерів, інкорпорованих у полімерну матрицю.

Завдання, які виконувалися згідно з поставленою метою:

1. Одержання полімерних композитів з біонаночастинками на основі срібла та золота.
2. Одержання полімерних композитів, що містять халькогенідні кластери As_2S_3 .
3. Дослідження полімерних композитів з металевими біонаночастинками та халькогенідними кластерами, використовуючи методи електронної мікроскопії, позитронної анігіляційної спектроскопії та рентгеноспектрального аналізу.
4. Вивчення взаємодії іонів срібла з халькогенідними кластерами у полімерній матриці.
5. Вивчення особливостей взаємодії іонів золота з органічними наноструктурами.
6. Вивчення можливостей використання полімерних композитів з металевими біонаночастинками і халькогенідними кластерами для створення нових біосенсорів.

Об'єкт дослідження – композиційні полімерні матриці з різними легуючими елементами.

Предмет дослідження – фізичні властивості органічно-неорганічних уреаซิลікатних полімерних матриць з металевими біонаночастинками і халькогенідними кластерами.

Методи досліджень: сканувальна електронна мікроскопія (SEM), атомно-силова мікроскопія (АСМ), позитронна анігіляційна спектроскопія (ПАС), рентгеноспектральний аналіз (РСА), амперометричні методи.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у тому, що вперше:

- встановлено закономірності еволюції іонів срібла, імплантованих у чисту полімерну матрицю і полімерну матрицю, яка містить у собі халькогенідні кластери;
- в результаті іонної імплантації у полімерах має місце формування гібридних систем As_2S_3+Ag , причому адсорбовані халькогенідними кластерами іони Ag утворюють наночастинки;
- встановлено дозову залежність накопичення адсорбованих іонів Ag у халькогенідних кластерах;
- вивчено каталітичні властивості фермента, зв'язаного з наночастинками золота, в залежності від розмірів наночастинок золота і їх структури.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані результати мають практичне значення у зв'язку з широкими перспективами їх використання у біотехнологіях. На основі одержаних результатів вперше на поверхні золотих планарних електродів були сконструйовані нові амперометричні біосенсиори з ферментом лаккази та утримуючою органічно-неорганічною полімерною матрицею. Встановлено, що біосенсор, побудований з уреасил/ As_2S_3 композитом, виявляє надзвичайно високу (рекордну у порівнянні з існуючими аналогами) чутливість та великий відклик біосенсора. Біонаноккомпозити на основі наночастинок срібла та золота з іммобілізованою лакказою, включені в органічно-неорганічну уреасилікатну полімерну матрицю продемонстрували можливість як цілеспрямованого керування характеристиками біосенсора у випадку срібла, так і покращення характеристик біосенсора для визначення похідних фенолу у випадку золота. В результаті отримано нові біоелектроди для простого та швидкого аналізу фенолів у довікллі та для оцінки якості питної води. Розроблені лакказо-вмісні біосенсиори

спрощують та пришвидшують процедуру виявлення похідних фенолу в стічних водах і не мають аналогів в Україні, а їх прогнозована ціна може бути суттєво нижчою у порівнянні із відомими комерційними підходами аналізу фенолів.

Особистий внесок здобувача. Здобувачу належить частково вибір об'єктів, а також вибір методів дослідження та постановка експериментів. Визначення теми, а також обговорення результатів і підготовку до друку статей за результатами дисертаційної роботи здійснено спільно з науковим керівником к.ф.-м.н., доц. Кавецьким Т.С. Експериментальні дослідження, результати яких викладені в дисертації, проведено спільно зі співавторами відповідних публікацій. Дисертантом особисто проведено експериментальні дослідження уреасилкатних полімерних матриць з використанням методу позитронної анігіляційної спектроскопії. Також ідея, теоретичне обґрунтування і опис кінетичної моделі накопичення іонів Ag у композитній плівці уреасил/As₂S₃ належить автору. Здобувач виступала з доповідями на наукових конференціях.

Апробація роботи. Матеріали дисертаційної роботи були представлені на 22 міжнародних наукових конференціях: NATO Advanced Study Institute “Nanoscience Advances in CBRN Agents Detection, Information and Energy Security” (Sozopol, Bulgaria, 29 May - 6 June, 2014), Physics and Technology of Thin Films and Nanosystems / Materials of the XV International Conference ICPTTFN-XV (Ivano-Frankivsk, Ukraine, 11-16 May, 2015), XXII International Conference “Ion-Surface Interactions (ISI-2015)” (Moscow, Russia, 20-24 August, 2015), IX International Conference on Topical Problems of Semiconductor Physics (Truskavets, Ukraine, 16-20 May, 2016), IV International Conference on Oxide and Non-Oxide Materials for Optoelectronics and Energy Applications (ICONMO-4) (Borovetz, Bulgaria, 16-19 March, 2017), International Scientific and Technical Conference “Laser Technologies. Lasers and Their Application” (Truskavets, Ukraine, 7-9 June, 2017), 12th International Workshop on Positron and Positronium Chemistry (PPC12) (Lublin, Poland, 28 August - 1 September, 2017), NATO Advanced Study Institute “Advanced Technologies for Detection and Defence

Against CBRN Agents” (Sozopol, Bulgaria, 12-20 September, 2017), 18th Israel Materials Engineering Conference (IMEC-18) (Leonardo Club Hotel Dead Sea, Israel, 6-8 February, 2018), 8th International Scientific and Technical Conference “Sensor Electronics and Microsystem Technologies (SEMST-8)” (Odessa, Ukraine, 28 May - 1 June, 2018), Composite Materials Congress & Biosensors and Bioelectronics Materials Symposium 2018 (CMC-BBS 2018) (Stockholm, Sweden, 3-6 June, 2018), X International Conference “Topical Problems of Semiconductor Physics” (Truskavets, Ukraine, 26-29 June, 2018), VIII Ukrainian Scientific Conference on Physics of Semiconductors (USCPS-8) (Uzhhorod, Ukraine, 2-4 October, 2018), International Conference “Advances in Microbiology and Biotechnology” (Lviv, Ukraine, 29-31 October, 2018), Vth International Conference on Oxide and Non-Oxide Materials for Optoelectronics and Energy Applications (ICONMO-5) (Borovetz, Bulgaria, 20-23 March, 2019), II International Scientific Congress SMART SOCIETY 2019, Scientific Conference “Ecology and Health Issues” (Czestochowa, Poland, 11-12 April, 2019), 4th International Congress on Biomaterials & Biosensors (BIOMATSEN 2019) (Oludeniz/Mugla, Turkey, 12-18 May, 2019), XVII International Freik Conference on Physics and Technology of Thin Films and Nanosystems (Ivano-Frankivsk, Ukraine, 20-25 May, 2019), 15th International Workshop on Slow Positron Beam Techniques and Applications (SLOPOS-15) (Prague, Czech Republic, 2-6 September, 2019), NATO Advanced Study Institute “Nanoscience and Nanotechnology in Security and Protection Against CBRN Threats” (Sozopol, Bulgaria, 12-20 September, 2019), NATO Advanced Research Workshop “Advanced Nanomaterials for Detection of CBRN” (Odessa, Ukraine, 2-6 October, 2019), 5th International Congress on Biomaterials & Biosensors (BIOMATSEN 2020) (Oludeniz/Mugla, Turkey, 14-20 October, 2020).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 13 наукових праць, серед яких 5 статей у фахових виданнях (5 – у закордонних виданнях (Scopus, Web of Science), з сумарним імпаکت фактором – 7,902) та 8 розділів монографій (4 – у

закордонних виданнях (Scopus) та 4 – у вітчизняних виданнях), і 24 матеріалів та тез доповідей на міжнародних наукових конференціях.

Структура та об'єм дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел (131 найменувань) та 1 додатку. Робота викладена на 189 сторінках, містить 71 рисуноків і 17 таблиць.

РОЗДІЛ 1. КОМПОЗИЦІЙНІ ПОЛІМЕРНІ ПЛІВКИ В БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНІ

1.1. Органічно-неорганічні уреасилікатні полімерні матриці

Дослідження органічних/силікатних гібридів, отриманих із золь-гелю, та дослідження відносин між структурою та властивістю – це швидко зростаюча область. Найбільш привабливою особливістю органічно-неорганічних гібридів є можливість поєднання вихідних компонентів таким чином, що може забезпечити точне налаштування властивостей кінцевого матеріалу (механічного, оптичного тощо), а також унікальні конструктивні можливості [1-3]. Предметом інтенсивного вивчення є так звані уреасилікати, що характеризуються високою оптичною прозорістю у видимій області, хорошою гнучкістю та тривалою стабільністю оптичних та механічних властивостей.

В основному синтез органічно-неорганічної уреасилікатної матриці складається з реакції між подвійними функціоналізованими поліетерамінами (Jeffamines) з 3- (ізоціанатпропіл) триетоксисиланом, що діє як зшиваючий агент [4]. Структура цих матеріалів може бути представлена у вигляді сітчастого кремнієвого каркасу, ковалентно зв'язаного з сегментами на основі поліефіру за допомогою зв'язок сечовини (-NHCONH-).

Гібридна структура складається з твердих кремнієвих нанодоменів, з'єднаних з м'якими ланцюгами поліокси (етилен) / поліокси (пропілен) (POE/POP). Тверді, жорсткі сегменти розділяються на склоподібний домен, а поліоксиалкіленові м'які сегменти утворюють аморфну або гумову матрицю, в якій тверді сегменти дисперговані [5].

Додавання різних наповнювачів, отриманих в результаті реакції гідролізу та конденсації *in situ* різних алкоксидів діоксиду кремнію (TEOS, TMOS, ARTES, MTEOS), може посилити відносну слабкість та вплинути на поверхневі властивості матеріалів. Доведено, що органічно-неорганічні гібриди, отримані із золь-гелю, можуть бути використані як інтерфейсний матеріал, що покращує

контакт між шкірою людини та електродами та робить їх менш схильними до коливань через міжфазний імпеданс шкіри до електродів. Також у нашій попередній роботі повідомлялося про можливість використання уреазил-халькогенідних скляних композитів як опори для іммобілізації лакази на поверхні перетворювача біосенсора [6].

Було встановлено, що біосенсор демонструє високу чутливість для контролю рівня забруднення ксеноестрогеном, що містить стічні води. Чутливість датчика також може залежати від складу уреасілікатної матриці, що використовується як середовище для прийому для вбудовування різних типів гостьових матеріалів.

1.1.1. Структурне дослідження гібридних органічно-неорганічних полімерних гелів

Дослідження золь-гель-синтезованих органічно-неорганічних нанокompозитних гелів, що містять полі (етиленоксид) ланцюги, прищеплені на наночастинки силікату, – це швидко зростаюча область, яка застосовується як в оптиці, так і в оптоелектроніці. Як описано в [7], такі гелі використовувались як іонопровідні твердотільні електроліти і як господарі люмінесцентних катіонних видів. Вони також служать самими цікавими люмінесцентними джерелами завдяки кластеризації, викликаній їх подвійним органічним/неорганічним характером. Крім того, органічний вміст гелів забезпечує їм ступінь механічної гнучкості та можливість показника варіації та контролю заломлення. Дослідження структур та динамічних аспектів таких матеріалів проводились у минулому, використовуючи ряд різних методів.

Ці гелі, загалом, можна вважати нанокompозитними сумішами органічних та неорганічних доменів, які утворюють взаємопроникні мережі. Їх неупорядкованість природи, малі розміри їхніх доменів і великі відмінності між їх динамічною поведінкою вимагають широкого спектру спектроскопічних методів для їх належної характеристики. Однією з методик, особливо

пристосованою для вивчення мезоскопічних наногетерогенних систем, є аналіз стаціонарного стану та з часом гасіння флуоресценції між розміщеними зондами.

Ця методика систематично застосовується для вивчення структур та динаміки організованих молекулярних зв'язків, таких як міцели, мікроемульсії та ліпідні пухирці. Гібридні органічно-неорганічні нанокompозити мають кілька характеристик рідких гелів. Обидва мають розміри доменів в нанометровому діапазоні, обидва є макроскопічно однорідними, але мікроскопічно двофазними та гетерогенними, і обидва мають великі інтерфейси, що розділяють домени різних гідрофобних/гідрофільних характеристик. Таким чином, ми дійшли висновку, що флуоресцентне зондування, яке може надати цінну первинну або додаткову інформацію щодо неупорядкованих систем на мезоскопічному рівні, було б потенційно корисним для дослідження органічно-неорганічних нанокompозитів.

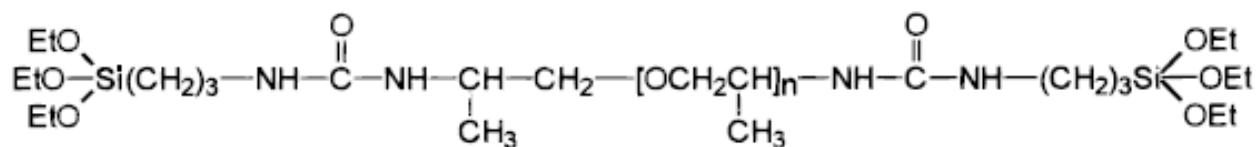
Авторами [7] використовуються процеси зондування флуоресценції як при стаціонарному, так і при аналізі з роздільною здатністю, щоб дослідити структурно-динамічні властивості шести різних нанокompозитних плівок, виготовлених з одного типу силікату, але що містять полі (оксид етилену) (PEO) або полі (пропіленоксид) (PPO) ланцюги трьох різних довжин. Цілями авторів [7] було, з одного боку, вивчити варіації структури та динаміки плівки щодо змін довжини поліефірного ланцюга, а з іншого – представити часову модель флуоресцентного гасіння, яка може бути особливо пристосована до неупорядкованих систем.

Гелі на основі діоксиду кремнію, приготовані методом золь-гель, попередньо досліджували на флуоресцентних зондах. Типовою практикою було введення флуорофорів у попередник гелю та моніторинг еволюції гелю для оптимізації макроскопічних параметрів, що впливають на цю еволюцію. У деяких інших випадках флуорофор вводили в матрицю для створення датчика (наприклад, датчик кисню). Інтерес [7] зосереджений на здатності

використовуваних зондів виявляти важливі відмінності між матеріалами приблизно однакової хімічної структури. Матеріали, були виготовлені у вигляді тонких плівок. Причиною такого вибору є те, що ці плівки використовуються в лабораторіях як тверді електроліти для застосування в електрохромних та фотоелектрохімічних елементах. Таким чином, було б корисно повністю їх охарактеризувати, щоб оптимізувати пристрої, що базуються на них.

Шість різних негідролізованих гібридних прекурсорів силікату були приготовані в основному за допомогою процедури, розробленої Dahmouche та співав [8] для синтезу полі (пропіленгліколю) (4000) та полі (етиленгліколю) (800) модифікованих етоксисиланів. У цій роботі представлені PP4000, PP2000 та PP230 для попередників, що містять полі (оксипропілен), та PE1900, PE800 та PE500 для попередників, що містять полі (оксиетилен). Хімічна структура прекурсорів представлена на рис. 1.1.

PP 4000/2000/230 (n ~ 68, 33, 3)



PE 1900/800/500 (n ~ 43, 18, 12)

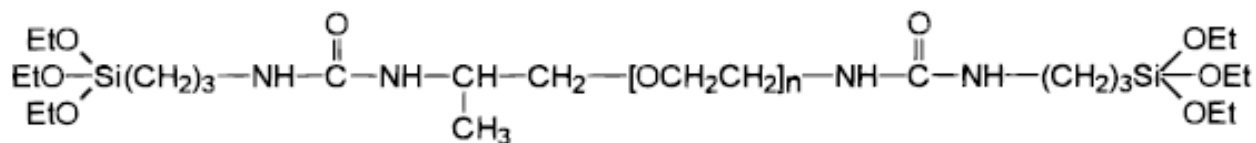


Рис. 1.1. Хімічні структури полі (пропіленоксиду) та полі (етиленоксиду), що містять прекуртори.

Пірен розчиняли в розчині попередника в концентрації 1 мМ. Потім отриманий розчин переносили у плівку, отримуючи матеріал зі спектроскопічними характеристиками піренових мономерів. Таким чином, при цій концентрації зонда не були виявлені неагреговані види та відсутні ексимери пірену.

На рис. 1.2 показаний спектр флуоресценції такого мономеру пірену [7]. Деформації спектру флуоресценції виявлено не було. Деформації можуть виникнути внаслідок самопоглинання пірену внаслідок спектрального перекриття поглинання та флуоресценції, як це могло б відбуватися в об'ємних розчинах або гелях при таких концентраціях.

Тонка плівка ускладнює виявлення спектральної деформації через самопоглинання, якщо таке є. Спектральна деформація також може бути спричинена агрегацією пірену або осадженням. У сучасних гібридних плівках таких явищ не спостерігалося.

Вібронна структура спектра флуоресценції пірену дуже чутлива до середовища зонда. Значення I_1/I_3 були виміряні для шести плівок з вищевказаними попередниками РЕО та РРО і показані в таблиці 1.1 (стовпець 2) [7]. Значення I_1/I_3 , виміряні в різних характерних розчинниках, а також у чистому діоксиді кремнію, виготовлені методом золь-гель, також наведені в таблиці 1.1.

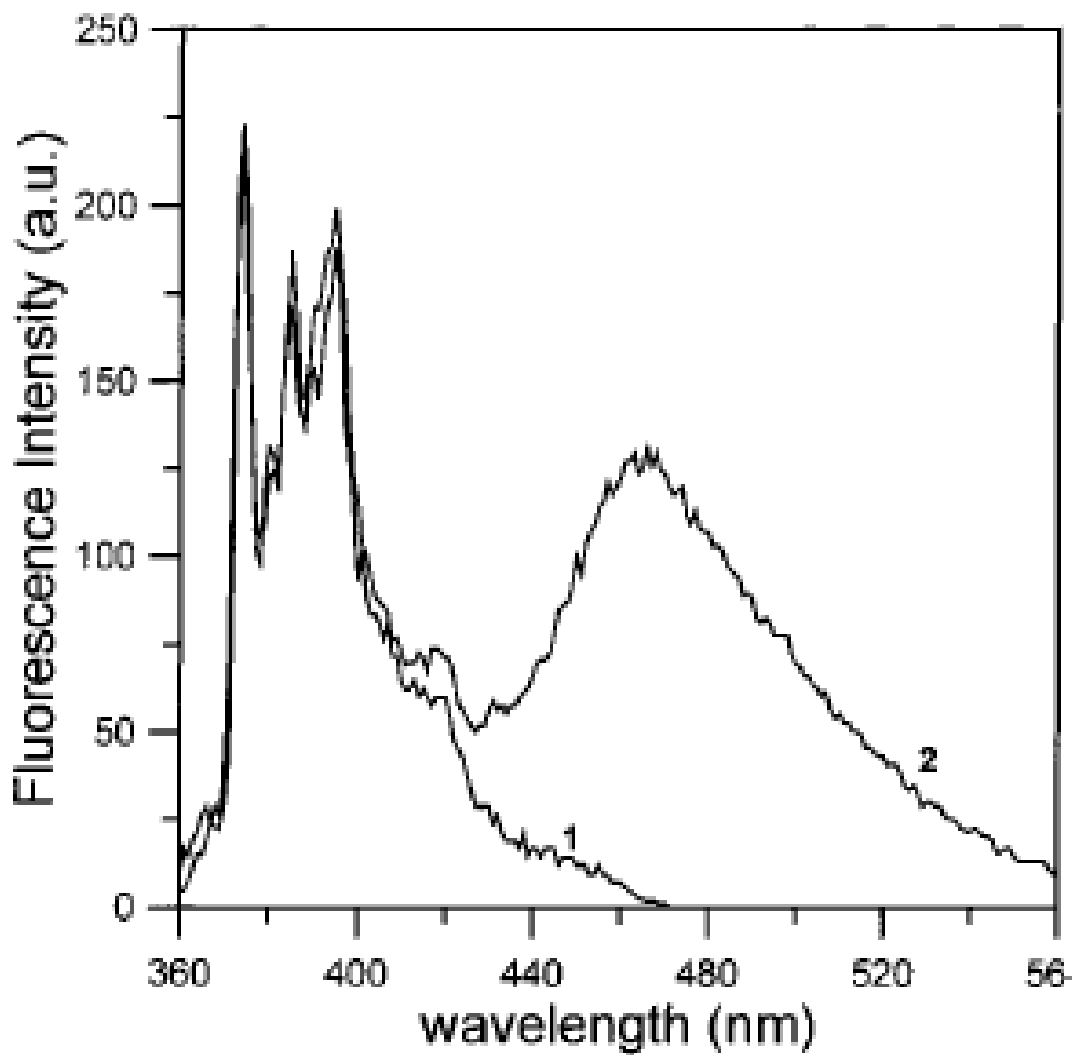


Рис. 1.2. Спектри флуоресценції мономеру пірену (1) та ексимеру пірену (2) у плівці PP4000. Концентрації пірену в розчинах прекурсорів становили 1 та 30 мМ відповідно [7].

Таблиця 1.1. Значення I_1/I_3 та I_E/I_M (ексімер/мономер) для пірену, об'єднаного у шість фільмів, виготовлених з попередниками РЕО та РРО [7].

precursor or solvent	I_1/I_3	I_E/I_M
PE500	1.69	0.74
PE800	1.57	0.69
PE1900	1.53	0.48
PP230	1.61	0.67
PP2000	1.38	0.63
PP4000	1.30	0.64
cyclohexane	0.61	
pentanol	1.03	
methanol	1.34	
PEG-200	1.42	
pure silica film	1.62	0.00

Таким чином, коли пірен включається в гібридну плівку, він потрапляє в дуже полярне середовище, більш полярне, ніж те, що міститься в дуже полярних розчинниках, таких як метанол або рідкі олігомери полі (етиленгліколю), і порівнянно з таким в чистому діоксиді кремнію. Однак місцем локалізації молекул пірену не є неорганічний (тобто кремнезем) домен. Лише у випадку найменших ланцюгів РЕО та РРО мікросередовище пірену наближається до середовища чистого діоксиду кремнію.

У випадку довших ланцюгів, особливо для РР2000 та РР4000, пірен, очевидно, локалізований в органічній фазі, де він відчуває полярність, що наближається до полярності метанолу та ПЕГ-200. Пірен – це гідрофобна молекула з легко поляризується електронною хмарою. З цієї причини він має спорідненість до органічних підфаз, де можна створювати гідрофобні домени, демонструючи водночас тенденцію до локалізації на гідрофобних/гідрофільних інтерфейсах. З даних стовпця 2 таблиці 1 очевидно, що коли ланцюги РЕО або РРО є досить значними, вони забезпечують місця розміщення для молекул пірену.

Пірене молекули великі, і навряд чи вони можуть бути солубілізовані одиничними ланцюгами, навіть коли вони також великі. Більш вірогідно, що органічно-неорганічні полімери самостійно збираються, щоб дозволити утворення органічних доменів, що містять кілька ланцюгів PEO або PPO. Така модель сумісна зі структурою органічних доменів, наведеною в посиланні [9].

Коли концентрації пірену в розчині органічного прекурсора були збільшені (тобто 30 мМ), ми спостерігали утворення ексимеру як у розчинах попередника, так і в наступних плівках. У колонці 3 таблиці 1 показано співвідношення максимальних інтенсивностей смуг флуоресценції ексимеру та мономеру, тоді як на рис. 1.2 наведено приклад спектра флуоресценції, де з'являються обидві смуги. Знову ж таки, тонка плівка запобігає деформації спектра флуоресценції мономеру шляхом самопоглинання. Це не стосується сипучих розчинників, і тому для них не представлені значення для I_E/I_M (ексімер/мономер). Спектри на рис. 1.2 також показують, що в плівках не існує агрегованих видів пірену, незважаючи на збільшення концентрації пірену. Виключення агрегації та підтвердження (динамічного) утворення ексимеру також були здійснені шляхом аналізу профілів розпаду мономеру пірену та розпаду ексимеру. Значення стовпця 3 у таблиці 1 вищі у випадках, коли утворюється більше ексимеру, що досить дивно. У матрицях із чистого кремнезему немає ексимеру. Це очікується, оскільки молекули пірену дисперговані та знерухомлені.

Отже, формування ексимеру, який є контрольованим дифузійним процесом, неможливий. Тоді можна було б очікувати, що у випадку малих ланцюгів PEO або PPO, де молекули пірену навряд чи будуть пов'язані з будь-якою органічною підфазою, утворення ексимеру буде дуже низьким, якщо не нульовим. Однак отримані дані свідчать про протилежне. Існує більше ексимеру, коли ланцюжки коротші, а також більше ексимеру у випадку менш громіздких ланцюгів PEO. Єдиний спосіб раціоналізувати ці дані – прийняти, що молекули пірену пов'язані виключно з органічним доменом і що загальна об'ємна частка органічного домену пропорційна розміру ланцюга.

Після утворення органічних доменів молекули пірену можуть розміщуватися в органічній підфазі, де вони можуть утворювати ексимери. Коли розмір ланцюга більший, загальний обсяг органічної субфазы також більший. У такому більшому обсязі ефективна концентрація пірену зменшується з негайними наслідками для кількості утвореного ексимеру. Також необхідно надати пояснення щодо відносно високого середнього значення I_E/I_M у випадку ланцюгів РРО і того факту, що це співвідношення дуже мало змінюється із розміром ланцюга РРО. Ця відмінність від помітної поведінки ланцюгів РЕО, очевидно, пов'язана з по суті гідрофобним характером ланцюгів РРО (пор. відповідні значення I_1/I_3). Ланцюги РРО забезпечують більш сприятливе середовище для сольобілізації пірену завдяки більшій гідрофобності. Очікується також, що ланцюги РРО мають тенденцію до скупчення через гідрофобні взаємодії.

Поєднання пірену з такими скупченнями полегшує ексимер формування, отже, вищі середні значення I_E/I_M та невеликі варіації з розміром ланцюга. На відміну від них, ланцюги РЕО, які по суті гідрофільні, матимуть слабку тенденцію до кластеризації та утворення гідрофобних доменів, не вдаючись до локалізації молекул пірену. Дані, наведені в наступному абзаці, надають більше інформації про цей останній проблема. Висновки, зроблені з цього пункту, полягають у тому, що об'ємна частка органічної субфазы зростає із збільшенням розміру ланцюга, очевидно, за рахунок об'ємної частки неорганічної субфазы, і що ланцюги РРО, як правило, організуються за допомогою гідрофобних взаємодій.

Поведінка значень I_1/I_3 доводить безперечне існування органічної підфазы. Значення I_E/I_M вказують на те, що об'ємна частка органічної субфазы збільшується, коли ланцюг РЕО або РРО подовжується, і що полієфірні ланцюги, як правило, організуються за допомогою гідрофобних взаємодій. Дані про передачу енергії також вказують на те, що органічна субфазы структурована внаслідок гідрофобних взаємодій. Очевидно, що ці попередники

створюють матеріали з цікавою поведінкою, створюючи виклик для фізичного хіміка. Дані авторів [7] узгоджуються із структурною моделлю, показаною на рис. 1.3, яка є еволюцією оригінальної моделі, представленої в посиланні [9], і сумісна з моделлю, представленою в посиланні [10]. Модель на рис. 1.3 особливо придатна для великих ланцюгів РЕО або РРО, базується на трьох основних характеристиках: (1) кластери кремнезему сильно дисперговані і малі, (2) об'єм гелю в основному є “органічним”, і (3) органічна підфаза утворює кластери, тобто організовані домени, в основному в результаті гідрофобних взаємодій.

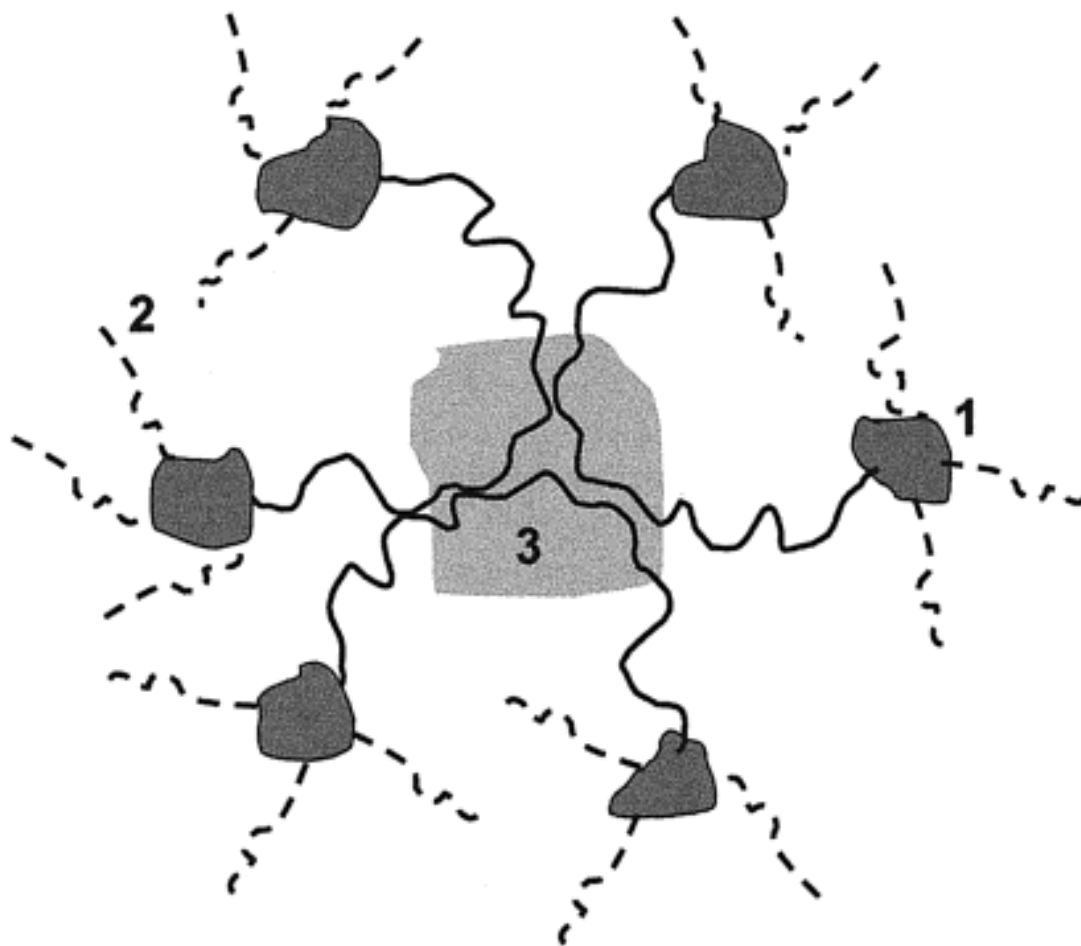


Рис. 1.3. Схематичне представлення структурної моделі використаних неорганічних/органічних матеріалів: (1) кластери силікату; (2) органічні фрагменти; (3) органічний кластер в результаті гідрофобних взаємодій [7].

Дуже ймовірно, що третя особливість не буде дотримана у випадку малих ланцюгів РЕО або РРО, але її існування є досить очевидним у випадку РР4000. Ланцюги РРО в будь-якому випадку є гідрофобними утвореннями та сприяють гідрофобним взаємодіям.

Дані SAXS, представлені Dahmouche та співавт. [10], приводять до висновку, що ці нанокompозитні матеріали є двофазними системами, що складаються з дисперсних та просторово корельованих нанокластерів силоксану, пов'язаних на кінцях ланцюгів полієфіру та утворюють однорідну безперервну матрицю. Dahmouche et al. [10] також дійшов висновку, що полімерні ланцюги повинні бути сильно складеними і заплутаними, утворюючи майже неперервну матрицю.

Дані авторів [7] сумісні з результатами посилання [10], і вони кваліфікують і доповнюють поняття однорідної матриці. Організація органічного домену гідрофобними взаємодіями та організація неорганічного домену реакціями неорганічної полімеризації пропонують ступінь організації, достатній для створення матриці з упорядкованим розташуванням її мезоскопічних компонентів. Очевидно, що методи флуоресцентного зондування мають велику цінність у вивчення цих нанокompозитних матеріалів.

1.1.2. Структура органічно-неорганічного уреасилікатного полімеру

Уреасили – це сімейство гібридних органічно-неорганічних матеріалів з внутрішньою структурою, визначеною дією силікату, до якої змішані олігополіоксиетиленові/олігополіоксипропіленові ланцюги [РОЕ, $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$, РОР, $(\text{OCHCH}_3\text{CH}_2)_n$] прищеплюють через поперечні зв'язки сечовини, як показано на рис 1.4 [11]. Таким чином, уреасильна кремнеземна матриця забезпечує хороший механічний опір, тоді як змішані ланцюги РОЕ/РОР забезпечують високий ступінь гнучкості.

Ми зупинились на так званому уреасилі U (600), для якого середні числа повторень складають а + с) 2,5 та b) 8,5. Ureasils мають переваги перед іншими

полімерними матеріалами, оскільки їх можна легко синтезувати за допомогою (низькотемпературного) процесу золь-геля, а також перед традиційними силікагелями та окуляри, оскільки вони більш гнучкі і мають меншу щільність, вищий показник заломлення та меншу пористість. Спочатку ці органічно-неорганічні матеріали були розроблені для синтезу високолюмінесцентних полімерів шляхом включення легуючих іонів, таких як Eu^{3+} , але вони також є прекрасними кандидатами для включення подальших функціональних можливостей, якщо наночастинки можуть бути рівномірно розподілені в гібридній матриці.

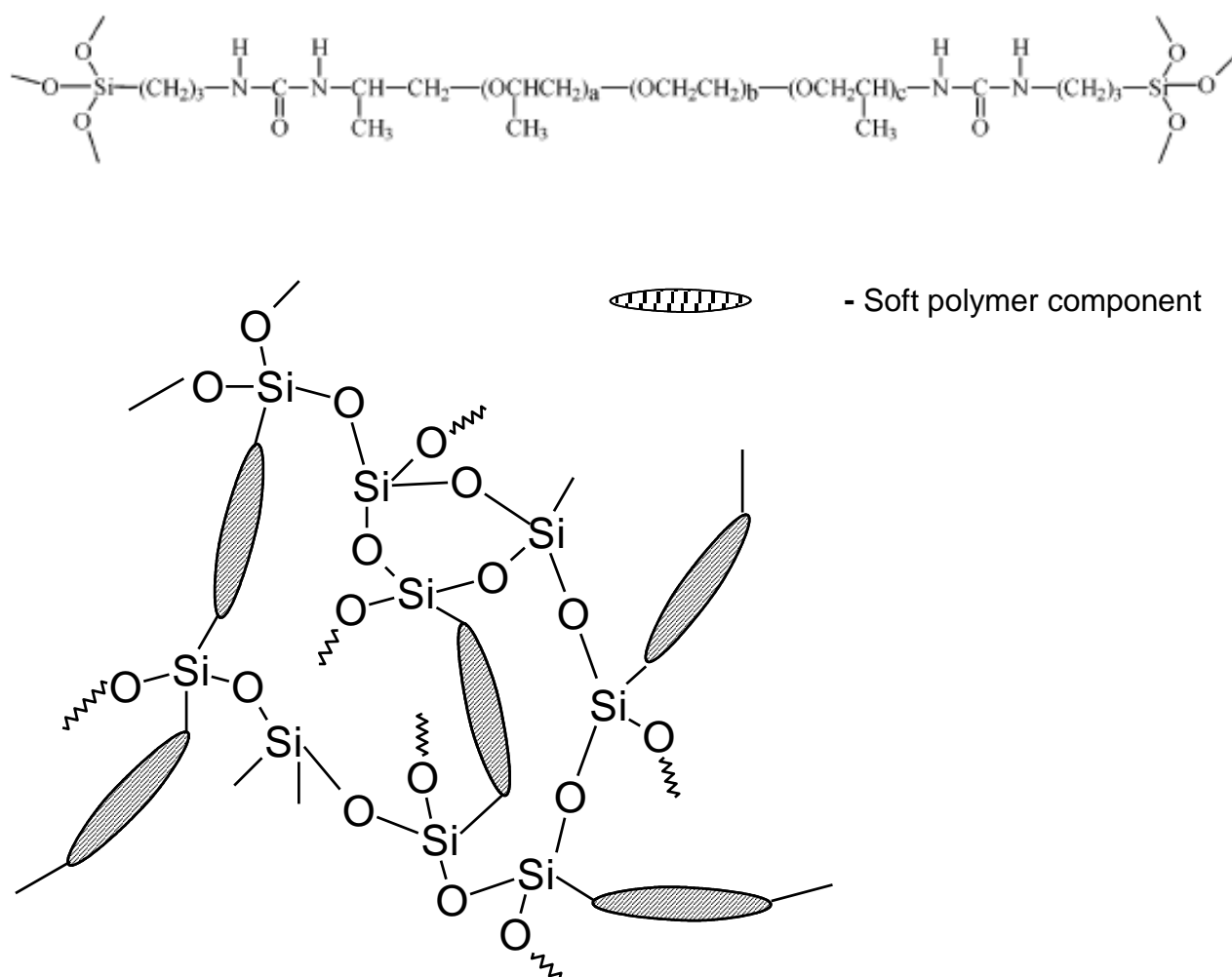


Рис. 1.4. Схема та структура гібридних органічно-неорганічних уресилікатних матеріалів [11].

1.2. Використання металевих наночастинок для модифікації полімерних матеріалів

1.2.1. Металеві наночастинок для модифікації уреасильних полімерних матеріалів

Завдяки своїм особливим властивостям поверхні металеві наночастинок пропонують великий потенціал для застосування в нелінійних оптичних приладах, таких як надшвидкі оптичні перемикачі та фільтри, та для використання в якості каталізаторів або датчиків, серед інших. Хоча колоїдна хімія зараз досить добре розроблена, щоб забезпечити методи синтезу наночастинок металів з різним складом, розміром і формою, більшість таких методів дають дисперсію в рідинах, і перенесення наночастинок у тверді субстрати з високою оптичною ефективністю не є простим. Якість при збереженні характерних властивостей одиничних частинок, тобто запобігання агрегації. Щоб уникнути цієї проблеми та отримати однорідний розподіл наночастинок в окулярах та полімерах, багато підходів до отримання композитів наночастинок металів передбачають відновлення *in situ in situ* металевих солей.

Однак ці методи страждають від поганого контролю над монодисперсністю розмір, а особливо форма і склад частинок. Отже, нові процедури вивчаються для включення попередньо сформованих (металевих) наночастинок всередині полімерів. Повідомлено в [11], що завдяки покриттю металевих наночастинок тонкими силікатними оболонками колоїдна стійкість достатньо підвищується, щоб забезпечити пряму обробку золь-гелем та отримати силікагелі та окуляри з чітко визначеними оптичними властивостями.

Недоліком таких гелів є їх відносно погані механічні властивості, які ускладнюють переробку на справжні пристрої, а отже, інші основи, такі як органічно модифіковані силікати, пропонують набагато привабливішу альтернативу для отримання оптично активних матеріалів. В даний час такі гібридні системи є матеріалом вибору для багатьох захисних прозорих

покриттів, а також для гнучких оптичних компонентів, таких як контактні лінзи, і отже, можна легко переконатися, що включення оптичних функціональних можливостей може значно розширити спектр застосування цих матеріалів.

Автори [11] показують, що наночастинки металів, покриті тонкими оболонками силікату та дисперговані в етанолі, можуть бути легко введені в сечовини, отримуючи гнучкі нанокомпозити, які зберігають чітко визначені оптичні властивості (вузьке поглинання завдяки поверхневим плазмонам) колоїдів наночастинок-попередників.

Оскільки покриття наночастинок силікатом можна наносити не тільки на наночастинки металів, такі як золото, срібло, та їхні сплави, але і на напівпровідникові квантові точки або магнітні наночастинки, ця процедура показує величезний потенціал для синтезу гібридів з великою різноманітністю функціональних можливостей [11]. Метод дозволяє повністю контролювати морфологію наночастинок (їх властивості) перед гелеутворенням і в той же час забезпечує однорідний розподіл у кінцевому нанокомпозиті. Продемонстровано в [11] рівномірний розподіл наносфер золота та срібла, а також нанородів золота за рахунок збереження їх характерні оптичні властивості, які виникають із чітко визначених смуг поглинання плазмону у видимій та ближній інфрачервоній областях спектра.

Вибір наночастинок металу в якості легуючих речовин був мотивований, з одного боку, можливим застосуванням отриманих гібридних нанокомпозитів, а з іншого боку, можливістю контролю будь-якого процесу агрегації спектроскопічно або навіть неозброєним оком. Загальновідомо, що наночастинки благородних металів демонструють інтенсивність і чітко визначені смуги поглинання внаслідок поверхневих плазмонних резонансів, а конкретне положення поверхневої плазмонної смуги в основному чутливе до хімічної природи частинок, їх розміру та форми, показника заломлення навколишнього середовища та відділення від іншого металу.

Таким чином, плазмонна смуга може використовуватися як датчик щодо агрегації наночастинок під час процесу. Додатково, керуючи формою нанокристалів золота, і, зокрема, використовуючи наностержниці з різним співвідношенням сторін, положення плазмонної смуги може бути налаштоване таким чином, щоб можна було охопити весь видимий діапазон довжин хвиль.

Ключовим етапом під час синтезу нанокомпозитних гібридів є суміш прекурсора (уреапропілтріетоксисилан, UPTS, що утворюється в результаті реакції Jeffamine та ICPTS) з колоїдом наночастинок в етанолі [11], оскільки хімічна природа середовища, в якому наночастинки помітно розпорошені змінюється і агрегація неминуче відбувається, якщо властивості поверхні наночастинок не були належним чином розроблені.

Випробували кілька колоїдів металів, стабілізованих в етанолі, використовуючи різні стабілізатори, і виявили, що лише ті, що покриті однорідними кремнеземними оболонками, залишаються стабільними (судячи з оптичних характеристик) при змішуванні з UPTS. Такий стабілізуючий ефект силікатних оболонок використовувався в минулому для численних досліджень, які були б в основному неможливими з використанням інших водних колоїдів металів, таких як хімічне зарядження або ріст пористих силікатних оболонок.

Подібний ефект був виявлений під час “стандартного” золь-гелю обробки, оскільки хімічна природа покриття була однаковою з гелем, що утворюється [11].

Структура уреасилів визначається молекулярною послідовністю, показаною на рис. 1.4, з органічними розпірними елементами між силоксановими одиницями, що, швидше за все, вимагає, щоб покриті кремнієвим покриттям знаходилися в основному поблизу силоксанових груп і, таким чином, добре відокремлені інший, щоб отримати додатковий ступінь стабілізації щодо чистого діоксиду кремнію.

Для отримання рівномірного розподілу наночастинок у гелі важливо використовувати каталізатор щоб збільшити швидкість гелеутворення. Як

зазначено в [11], аміак використовували для зразків з наночастинками Au, але замість лимонної кислоти використовували композити срібла, оскільки вони окислювались і повністю розчинялися аміаком, як повідомлялося раніше. У експериментах, де не використовували каталізатор, повільне агрегування і спостерігалось часткове осідання Au@SiO₂.

Універсальність методу демонструється гемом шляхом включення не тільки наночастинок різних металів (золото і срібло), але і наночастинок з різною формою (кулі та стрижні), що дозволяє нам забезпечити нанокompозити оптичними характеристиками в діапазоні довжин хвиль більше 400 нм.

Промінні електронні мікрофотографії, репрезентативні для різних досліджених зразків, показані на рис. 1.5, і можна помітити, що частинки досить монодисперсні, навіть у випадку нанородів, і що вони однорідно покриті тонкими силікатними оболонками.

Фактичний вигляд недопірованих і недопірованих гібридів показано на рис. 1.6, що наочно демонструє, що, хоча нелегований уреасіл абсолютно безбарвний і прозорий (поглинання менше 0,07 для оптичної довжини шляху > 425 нм і 7 мм), зразки, леговані срібною та золотою сферами (діаметр 30 і 15 нм відповідно) та короткими золотими стержнями (співвідношення сторін 2,13) відображають характерний жовтий, червоний та сині кольори завдяки інтенсивним смугам поглинання з центром при 428, 526 та 677 нм відповідно (див. рис. 1.7 нижче).

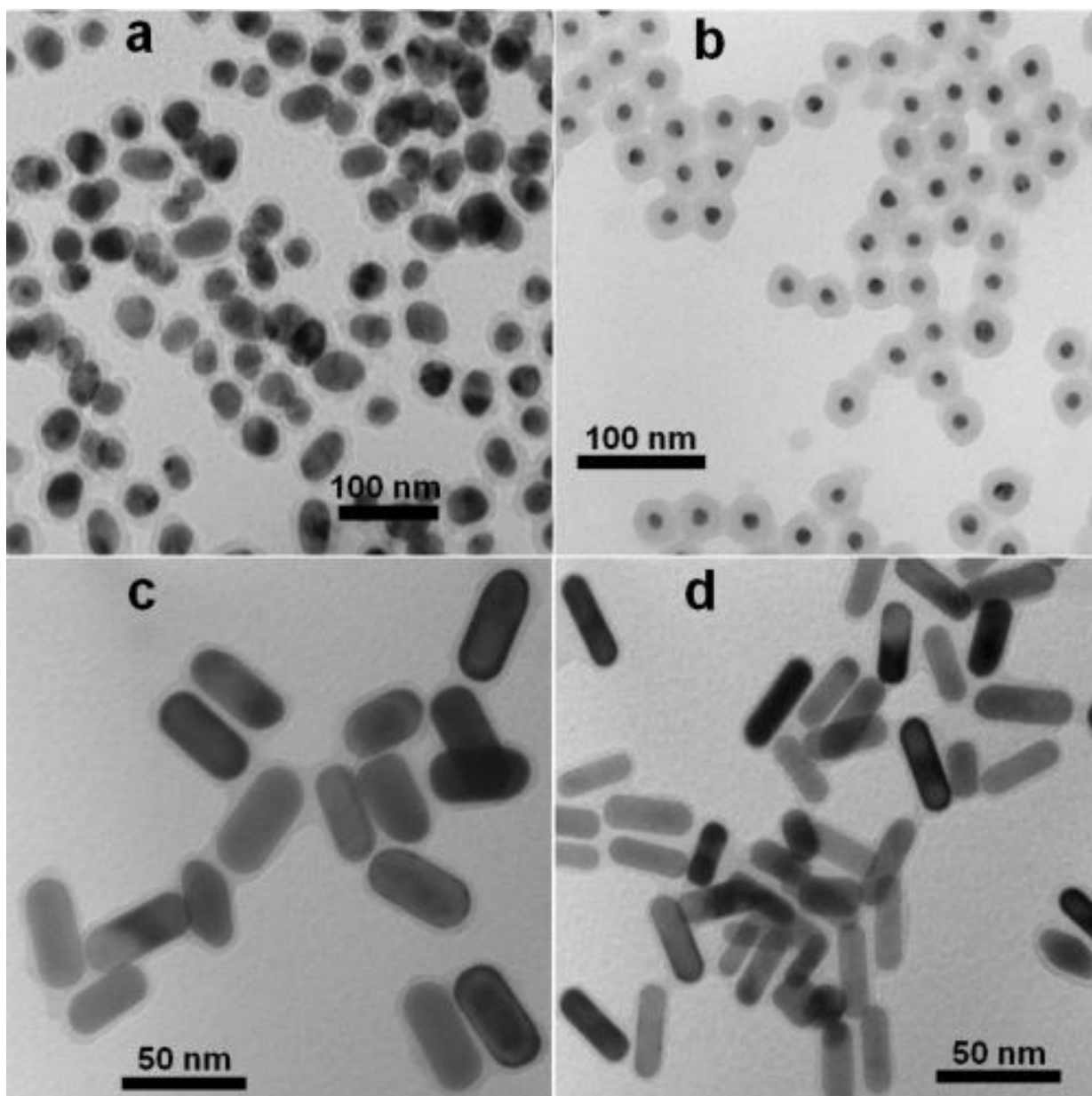


Рис. 1.5. Промінні електронні мікрофотографії наночастинок Ag та Au різної форми, що використовуються для легування уресалів. (a) 30-нм Ag-сфери, (b) 15-нм Au-сфери, (c) Au-наностержні з пропорцією) 2,13 і (d) Au-нано-стрижні з пропорцією) 2,99 [11].

Однак для гібридного нанокompозиту, що містить довші нанотропи Au (співвідношення сторін) 2,99), колір має коричневий колір, що вказує на те, що основна (поздовжня) смуга поглинання плазмону розташована в NIR («макс.» 761 нм). У той час як зразки на рис. 1.6а отримували шляхом полімеризації в полікарбонатній кюветі (довжина шляху 1 см), наведені на рис. 1.6b і с готували за допомогою тефлонової ємності діаметром 45 мм як форми, щоб отримати тонкі диски і продемонструвати гнучкість нанокompозитів. У всіх цих зразках етанолу, що використовується як розчинник для дисперсій наночастинок, дозволялося повністю випаровуватися при кімнатній температурі, що спричиняло утворення прозорих гелів. Подальше сушіння при 35 °C призвело до усадки приблизно на 30%.

Після висушування зразків і зберігання при кімнатній температурі всі досліджувані властивості залишаються незмінними протягом декількох місяців. Слід наголосити на двох важливих спостереженнях щодо зображень, зображених на рис. 1.6. Перш за все, кольори дуже однорідні в кожному зразку, і вони в основному ідентичні (неозброєним оком) таким, як у вихідних колоїдів у етанолі, тим самим підтверджуючи, що оптичні функціональні можливості легованих гібридів повністю визначаються функціями легуючих речовин наночастинок. Цю однорідність розподілу наночастинок у зразках додатково підтвердили систематичним вимірюванням спектральних характеристик на різних плямах зразків за допомогою маски з отвором діаметром 1 мм. У всіх випадках виміряні спектри були однаковими в межах експериментальної похибки (рис. 1.8-1.10).

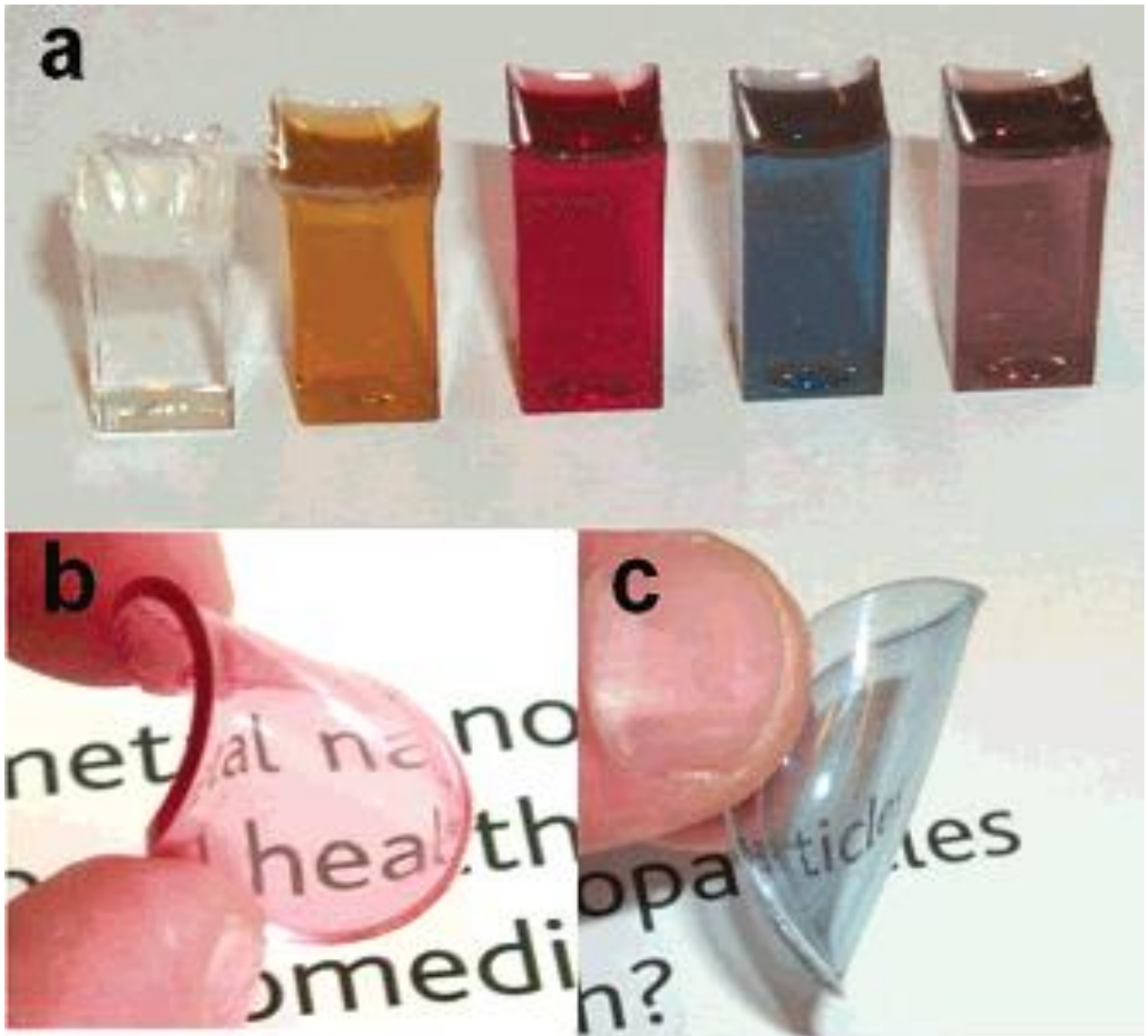


Рис. 1.6. (а) Фотографії монолітів, виготовлених з (зліва направо) недопірованого уреазилу та уреазилу, легованого наносферами Ag, наносферами Au та короткими та довгими наностержнями Au. (b, c) Фотографії уреазилкових дископодібних плівок, легованих низькою концентрацією наносфер Au@SiO₂ (b) та коротких нанородів (c). Чітко видно прозорість, однорідність кольорів та гнучкість [11].

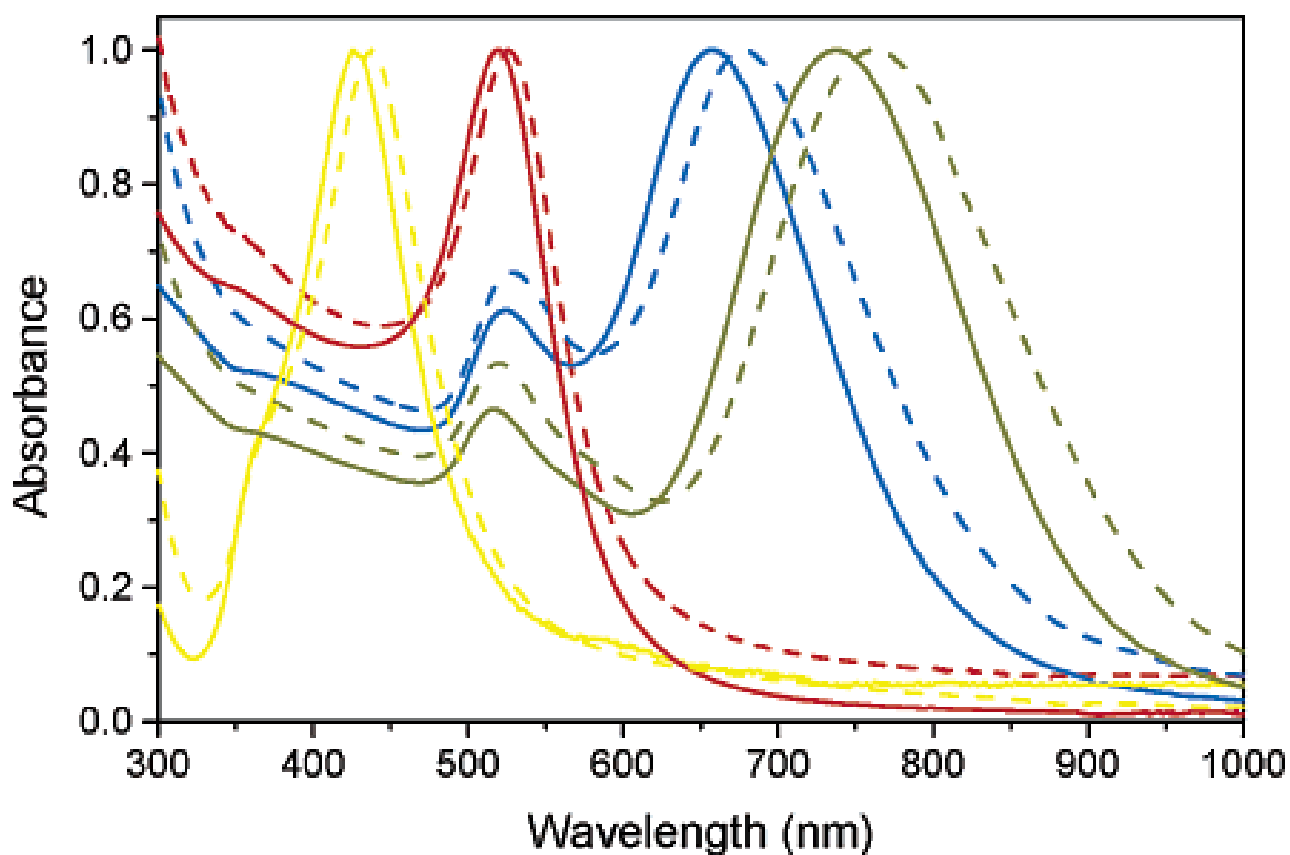


Рис. 1.7. Нормалізовані UV-VIS-NIR-спектри наносфер Ag (жовтий) та Au (червоний), а також коротких (синій) та довгих (коричневих) наностержнів Au, покритих діоксидом кремнію, диспергованих у етанолі (суцільні лінії), і всередині твердий монологіт уреасилу товщиною 6,5 мм (штрихові лінії) [11].

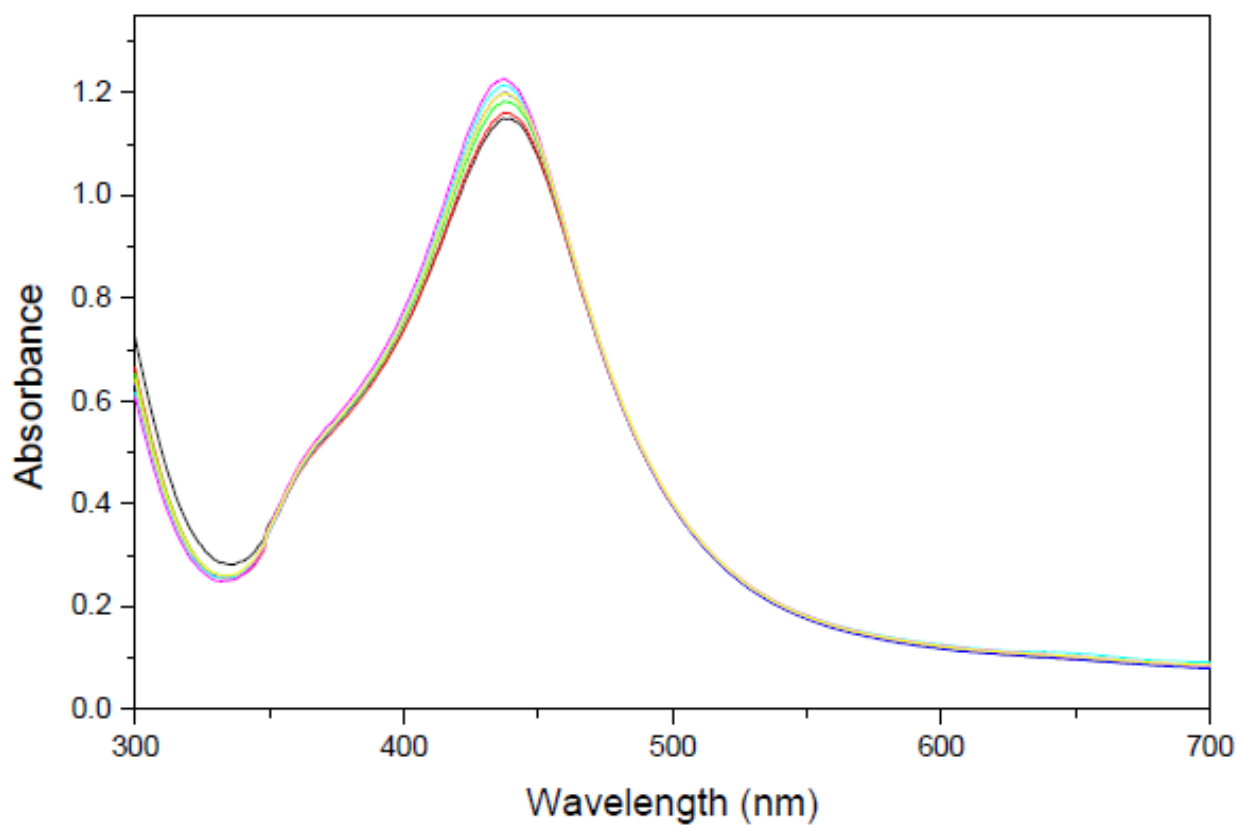


Рис. 1.8. УФ-видимі NIR-спектри нанокompозитів уреасилу, що містять наносфери Ag. Подібність спектрів демонструє дуже рівномірний розподіл наночастинок усередині нанокompозиту [11].

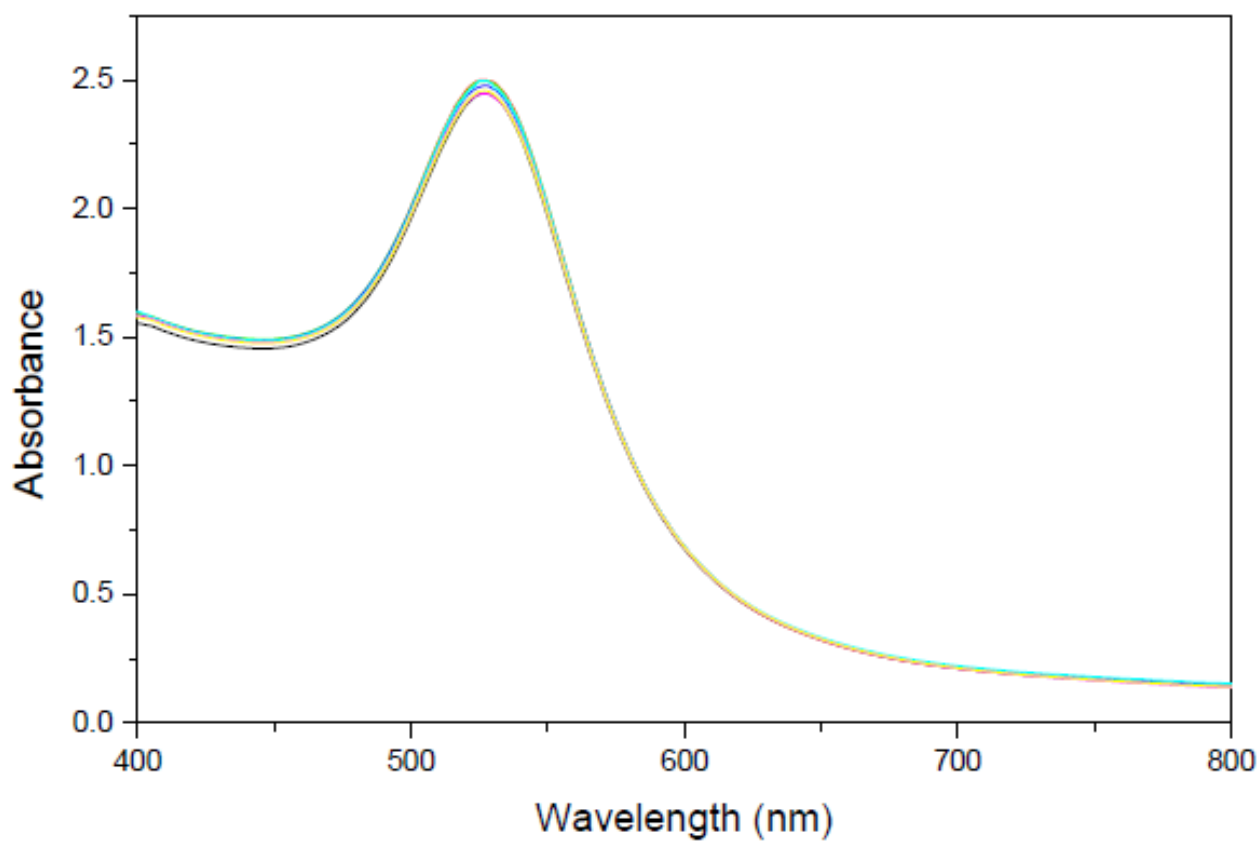


Рис. 1.9. УФ-видимі NIR-спектри нанокompозитів уреасилу, що містять наносфери Au. Подібність спектрів демонструє дуже рівномірний розподіл наночастинок усередині нанокompозиту [11].

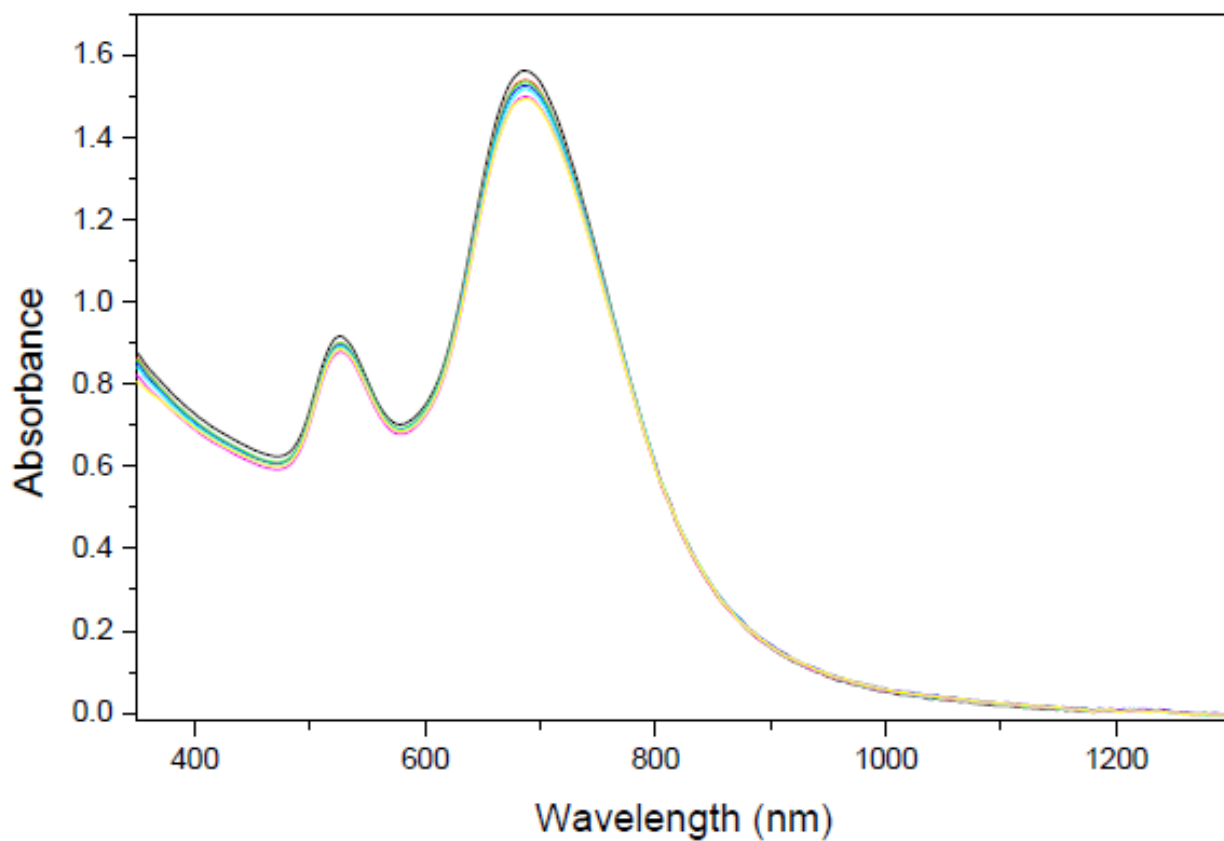


Рис. 1.10. УФ-видимі NIR-спектри наноконполітів уреасилу, що містять наностержні Au. Подібність спектрів демонструє дуже рівномірний розподіл наночастинок усередині наноконполіту [11].

Крім того, наноккомпозити є повністю прозорими, що означає, що внесок розсіювання світла є дуже низьким порівняно з поглинанням дисперсних наночастинок, хоча в цих прикладах концентрація є досить низькою (порядку 1 мМ). Оптичні властивості були додатково вивчені за допомогою УФ-VIS-NIR-спектроскопії, як показано на рис. 1.11 для чотирьох описаних зразків. Очевидно, що спектри твердих монолітів цілком нагадують спектри вихідних алкоголів, хоча спостерігаються незначні коливання положень піків, як передбачається теорією Мі. Піки постійно зміщуються в червоному каналі, що обумовлено збільшення показника заломлення при зміні дисперсійного середовища з етанолу ($n = 1,359$) на уреасил ($n = 1,508$).

У випадку наносфер зміщення становить лише 5-7 нм, тоді як для нанородів поперечна плазмонна смуга показує подібний зсув, але поздовжній зсувається на 20 і 25 нм для наностержнів із співвідношенням сторін 2,13 та 2,99 відповідно. Цей більш тривалий зсув для подовжених частинок відповідає передбаченням за допомогою теорії Мі і спостерігався при диспергуванні стрижнів у розчинниках з різним показником заломлення. Ці відносно невеликі спектральні варіації підтверджують неагреговану природу наночастинок у наноккомпозитному матеріалі. Також примітно, що форми спектрів в основному однакові, що демонструє оптичну якість цих матеріалів, а це означає, що внесок розсіювання від підкладки незначний.

Концентрацію наночастинок у гібридному матеріалі можна легко регулювати простим центрифугуванням колоїду наночастинок та редисперсією у відповідній кількості етанолу перед змішуванням з UPTS. Таким чином, оптична щільність може бути легко налаштована для різних застосувань. Як приклад, УФ-видимі спектри наноккомпозитів, що містять наносфери Au@SiO₂ з концентраціями від 0,01 до 0,09 мас.%, показані на рис. 1.8, а фото зразків на рис. 1.9. Єдиним ефектом підвищеної концентрації є більш високе поглинання на всіх довжинах хвиль, що чітко вказує що у всіх випадках наночастинок

однорідно розподіляються в гелі. Фотографії відповідних монолітів доступні в якості допоміжної інформації.

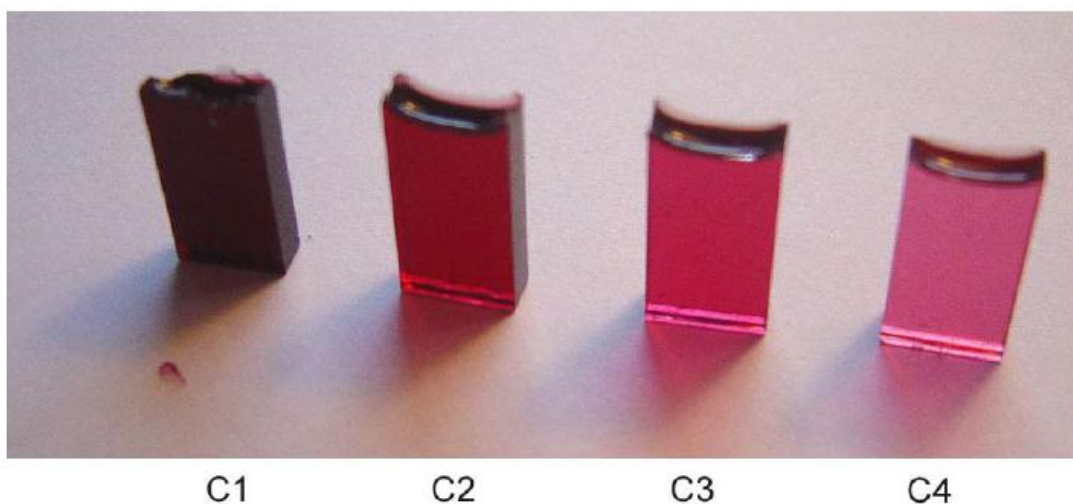
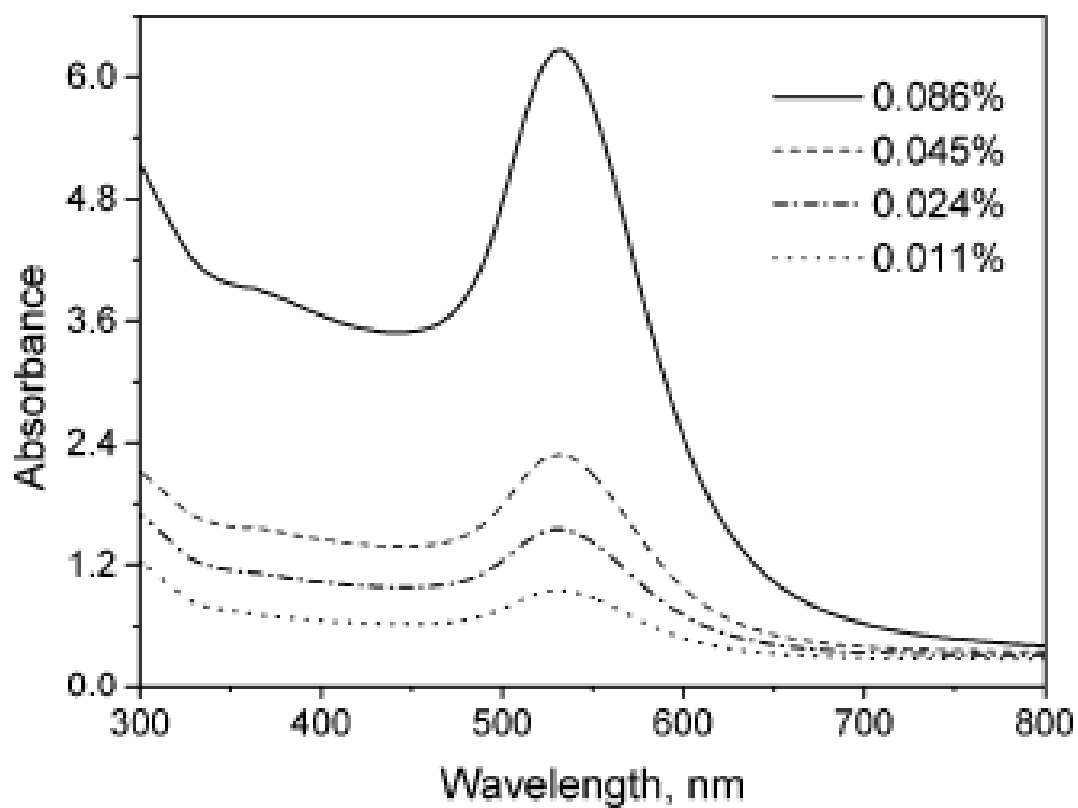


Рис. 1.11. УФ-видимі спектри твердих монолітів уреасилу, що містять наносфери Au з різними концентраціями, як зазначено. Довжина оптичного шляху становить 3 мм (верхній). Фотографії нанокомпозитів уреасилу, що містять наносфери Au з різною концентрацією: 0,086% (C1); 0,045% (C2); 0,024% (C3); 0,011% (C4) (нижній).

Що стосується стабільності композиту, автори [11] протестували розчинення або матриці уреазилу, або вкладених наночастинок у різних розчинниках (вода, етанол, N, N-диметилформамід, толуол, гептан та циклогексан), і ми виявили, що хімічна деградація з будь-якої. Замочування в полярних розчинниках (вода, етанол, толуол) призводить до оборотного набухання, тоді як при неполярних розчинниках (гептан і циклогексан) набрякання не відбувається, що безпосередньо пов'язано зі змішуваністю прекурсора Jeffamine з різними розчинниками. Щоб уникнути руйнування під час сушіння, це слід робити повільно.

Хімічна деградація спостерігалася лише тоді, коли нанокompозит занурювали у концентровану (1 M) сірчану кислоту або у водну зону на кілька годин. Поки сірчана кислота атакує органічні поліоксіетиленові ланцюги, скелет силікату, здається, залишається неушкодженим, оскільки зразок зберігає форму після висихання незмінною. Обробка акварегією призводить до розпаду уреасилікатного ксерогелю та розчинення наночастинок металу.

Повідомляється про термічну стабільність сечовивідних каналів до 250 °C. Хоча автори [11] також спостерігали подібну стабільність, існує певна чутливість до температури як у нелегованих, так і в легованих уреасилікатах, що в основному відображається в сильному збільшенні абсорбції нижче 500 нм, коли нанокompозити обробляють при температурі вище 100 °C протягом декількох годин. Цей ефект, який візуально спостерігається як поступове жовте забарвлення, ілюструється рис. 1.12, де спектри для нелегованого зразка, а також для легованого сферами Au@SiO₂, показані після нагрівання у звичайній печі протягом 2 годин.

Даний ефект, який систематично спостерігали автори [11], найімовірніше пов'язаний з окисненням оксиетиленових груп, оскільки жовте забарвлення при нагріванні може спостерігатися і в чистому джефаміні. Такі теплові зміни слід враховувати при практичних розробках на основі цих систем.

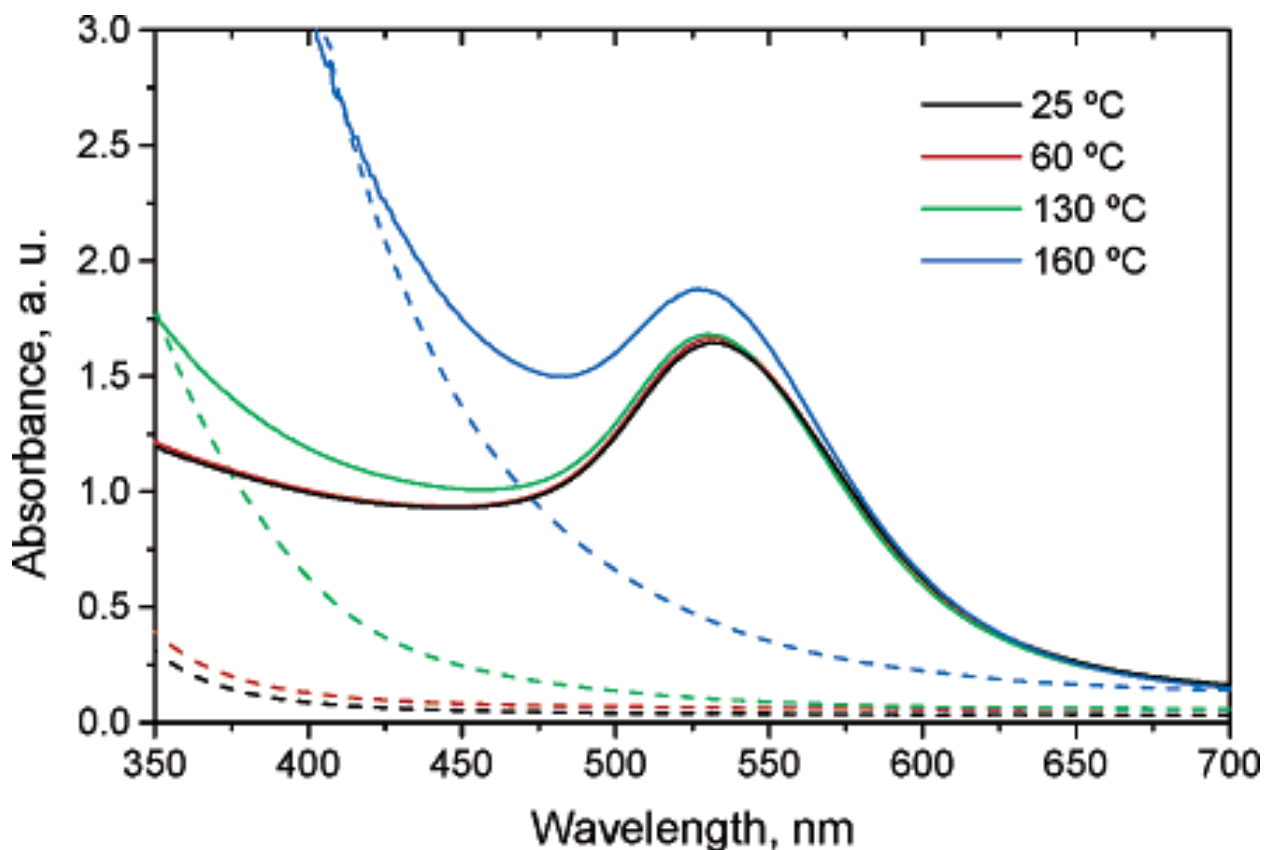


Рис. 1.12. УФ-видимі спектри недопірованого уреазилу (штрихові лінії) і уреасил, легований наносферами Au (суцільні лінії) після термічна обробка протягом 2 год при вказаних температурах.

1.2.2. Металеві наночастинки для іммобілізації ферментів

В останні роки сформовано новий напрям науково-технічних та біохімічних досліджень, що об'єднує нанонауку, нанотехнологію, нанобіотехнологію, наномедицину. Основним продуктом нанотехнологій є наночастинки – органічні та неорганічні структури, що мають розмір менше ста нанометрів. Нанотехнологічні дослідження та розробки включають контрольовані маніпуляції з нанорозмірними структурами, інтеграцію їх у більш великі компоненти, системи і архітектури [12].

Специфічні властивості наноматеріалів (НМ) забезпечують широкі можливості для створення продуктів з новими властивостями і призначеннями: ефективних каталізаторів, сенсорних систем, препаратів з високою біологічною

активністю для використання у медицині, біотехнологічних процесах та сільському господарстві [13].

Однією з основних особливостей НМ є хімічна активність, зумовлена їхньою підвищеною здатністю до іонного чи атомного обміну, адсорбції на різноманітних поверхнях, утворення поверхневих зв'язків з іншими адсорбатами та ін. [14]. Висока реакційна здатність НМ спричиняє їхню нестабільність [15], тому важливою проблемою є синтез НМ заданого розміру, які протягом достатньо тривалого часу зберігають високу хімічну або біологічну активність [16].

У разі хімічного синтезу НМ використовують різноманітні варіанти, що відрізняються типом відновника і системи, у якій відбувається процес [17, 18]. Процес формування металевих колоїдів зазвичай проводять за гранично допустимої концентрації відновника, що забезпечує високу швидкість відновлення йонів металів і стабільність колоїдних НМ, які утворилися [19].

НМ, зокрема золоті (Au) та срібні (Ag), є важливим об'єктом досліджень у галузі хімії, фізики та біології завдяки унікальним оптичним, електричним і фототермічним властивостям [20]. Такі НМ мають потенційне застосування в аналітичній хімії як зонди в мас-спектрометрії [21], а також для колориметричного визначення молекул білків і ДНК [22]. Проста процедура синтезу НМ та їхнє споріднення до зв'язування багатьох біологічних молекул робить їх привабливими для досліджень у сенсорних технологіях [23]. Оскільки застосування НМ надзвичайно актуальне, особливо у поєднанні з біоселективними елементами – ферментами [24], то перспективним напрямом є розробка технологій одержання біонаноматеріалів з каталітичними властивостями [25].

Відома велика кількість методів синтезу Au-НЧ та Ag-НЧ. Так, зокрема, синтез Au-НЧ здійснюють шляхом відновлення гідрогентетрахлороаурумату L-триптофаном [18], однак використовують і інші відновники, такі, як тринатрій цитрат [26-28], натрій боргідрид [29], гідразин [30], аскорбінову кислоту [31].

Синтезовані металічні НЧ стабілізують додатково поверхнево-активними речовинами для запобігання подальшої агрегації [32].

Ag-НЧ одержують методом відновлення аргентум нітрату етилен гліколем [33] або глюкозою [13]. Отримані НЧ придатні для подальшого використання в наномедицині та нанобіотехнології [34]. Оскільки розмір наночастинок складає декілька десятків нанометрів, то досліджено можливість їх використання носіями для іммобілізації біологічних молекул (ферментів, рецепторів, антитіл) [35]. Відомо, що Au-НЧ та Ag-НЧ можуть бути використаними в терапії раку [36].

В літературі описано використання Au-НЧ при створенні імуносенсорів [37], як біо-детекторів в масс-спектрометрії [38], капілярному електрофорезі [39], а також для виявлення ракових клітин [40]. У сфері терапії спостерігається швидке розповсюдження використання НЧ як переносників для доставки лікарських препаратів і інструментів для гіпертермії [41].

Розробка методів цільової доставки лікарських засобів є перспективним напрямом використання НЧ в онкології (менше 1% протипухлинних препаратів досягає мети – ракових клітин, а основна частина вражає здорові тканини організму).

Суть методу – цілеспрямована доставка терапевтичних агентів до мішені, наприклад до клітин пухлини, на основі застосування магнітних НЧ і зовнішнього магнітного поля, сфокусованого на пухлині. Багато досліджень підтвердили принципову можливість адресної доставки НЧ із магнітними властивостями до певних тканин і органів організму [42, 43].

1.3. Біосенсорні прилади на основі полімерних плівок

1.3.1. Біосенсорні прилади на основі самоорганізованих шарів

1.3.1.1. Самоорганізовані шари (СОШ)

Самоорганізованими шарами (СОШ) називають впорядковані молекулярні ансамблі, які самочинно формуються в результаті адсорбції поверхнево-активної речовини (ПАР), головні функціональні групи якої володіють специфічним спорідненням до субстрату, тобто утворюють з ним хімічні зв'язки [44, 45]. СОШ утворюють зручні, гнучкі і прості системи із адаптованими властивостями поверхні металів, оксидів металів і напівпровідників [46]. Процес “самоорганізації” відбувається у поверхневому шарі внаслідок взаємодії частинок адсорбованої речовини з поверхневими центрами адсорбенту завдяки електростатичному притяганню [47], утворення водневих зв'язків [48], ковалентного, координаційного та донорно-акцепторної зв'язування [49, 50]. Загалом, СОШ є ланкою між органічними та неорганічними речовинами і ідеально підходять як інтерфазні біологічні матеріали та біосумісні носії [51, 52]. СОШ здатні реагувати із хімічними та біологічно активними сполуками, тому використовуються для створення високочутливих і селективних хемо- та біосенсорів [53].

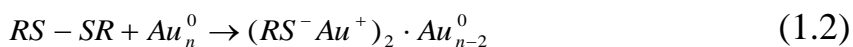
Самочинна адсорбція і “самоорганізація” частинок адсорбату відбувається при контакті твердотільних субстратів з розведеними розчинами плівкоутворювача. На ранніх стадіях даний процес описують рівнянням Венейблса [54], яке пов'язує кількість утворених кластерів N_{et} зі швидкістю їхнього осадження w_{sed} :

$$N_{et} = \omega_{sed}^{i/(1+2)}, \quad (1.1)$$

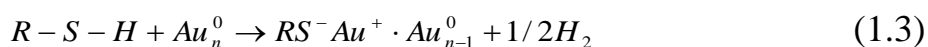
де i – змінюваний параметр.

Найпоширенішими твердими поверхнями для отримання СОШ є SiO_2 , Al_2O_3 , Ag, Au та Pt. Зокрема описано методику функціоналізації алкантіолів на

поверхні золота із утворенням міцних зв'язків Au-S [55, 56]. Окиснювальне приєднання S-S-зв'язку до поверхні золота відбувається за механізмом:



У випадку алкантіолів взаємодія може формально розглядатись як окиснювальне приєднання до золотої поверхні SH-групи, що супроводжується, за відсутності кисню, відновлювальним відщепленням водню:



За подібним механізмом можна одержувати СОШ біологічно активних речовин. Зокрема, описано використання ферменту азурину, який виділяють із культури *Pseudomonas aeruginosa* [57]. Молекула азурину в активному центрі містить іони міді, координовані із п'ятьма амінокислотними групами та містить дисульфідні групи від залишків цистеїну. Це робить можливим пряме зв'язування цих груп з поверхневими атомами золота з утворенням стабільного моношару на Au (111), до того ж, іони Cu^{2+} -центри не контактують із поверхнею. Висока спорідненість тіолів до поверхні благородних металів робить можливим генерацію структур із визначеною органічною поверхнею та змінною хімічною функціональністю на експонованій поверхні. У випадку впорядкованого моношару на поверхні металу, поверхневі властивості визначаються хімічною природою кінцевої групи тіолів на межі моношар-зовнішня інтерфаза, гідрофобністю та кислотно-основними властивостями [58, 59]. Реакційна здатність модифікованого металу у цьому випадку може бути відрегульована підбором кінцевої групи тіолу.

На процес упаковки моношару впливають природа і час контакту з поверхнею субстрату, природа адсорбату, а також його концентрація і температура розчину. Як правило, СОШ одержують зануренням субстрату в

розведений розчин ($\sim 1\text{mM}$) адсорбату при кімнатній температурі. Товщина СОШ тіолів, осаджених на поверхню твердих субстратів, становить 1-3 нм, тому СОШ є типовими наноструктурованими системами. У випадку нанорозмірних субстратів спостерігається сильний синергізм між наночастинками (НЧ) поверхні і поверхневими органічними молекулами [60]. У випадку полімерних адсорбатів безпосереднє самовпорядкування полімеру на твердотільному субстраті досягається завдяки дії сил електростатичного притягання, утворення полімерних зв'язків, донорно-акцепторної взаємодії між макромолекулярними лігандами та іонами [61, 62].

Електричні і оптичні властивості електропровідних полімерів (ЕП), а також унікальна властивість їх ефективно переносити електрони до поверхні електрода, разом із можливістю інкорпорації ферментів у полімерній матриці під час електрохімічної полімеризації, роблять їх перспективними матеріалами для створення різноманітних сенсорних пристроїв [63]. Так, на основі ЕП відомі біосенсорні системи для визначення глюкози [64], креатинину [65], лактату [66], карбаміду [67] та ін.

Полімерні сенсорні системи можна одержувати хімічним або електрохімічним шляхом. ЕП та їхні похідні, які містять у своєму складі систему спряжених π -зв'язків, і функціональні групи, здатні до редокс перетворень за низьких потенціалів. ЕП можуть виконувати роль полімерних матриць та медіаторів в процесах електронного перенесення між електродом і аналітом завдяки своїй здатності до реакцій зворотного окиснення-відновлення [68].

Найпоширенішими електропровідними полімерами є плівки поліаніліну (ПАН) та поліпіролу (ПП). Електроактивність таких комбінованих плівок підтверджують циклічні вольтамперограми. Так, збільшення висоти піків відновлення та окиснення є прямо пропорційним до збільшенням числа моношарів у плівці. Якщо поверхня субстрату заряджена позитивно, то адсорбція ПАН на ній є незначною і основну роль відіграє наявність кислоти на

поверхні субстрату. Тому реакція нейтралізації карбоксигруп кислоти аміногрупами ПАН є рушійною силою плівкоутворення [69].

Для аналізу СОШ придатні різні фізичні методи, такі як вимірювання контактного кута змочування, інфрачервона і рентгенівська фотоелектронна спектроскопія, скануюча електронна мікроскопія, еліпсометрія та інші. Товщину мультишарової плівки контролюють зміною тривалості осадження й концентрації вихідного розчину адсорбату [70].

1.3.1.2. Біосенсорні системи на СОШ плівках

Функціоналізовані СОШ, із найрізноманітнішими кінцевими функціональними групами (CH_3- , CF_3- , $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ та ін.), є перспективними для розробки високочутливих хемо- та біосенсорів [71]. СОШ в сенсорі виконують функцію проміжного шару між поверхнею благородного металу та частинками у розчині або в газовій фазі. Метод Ленгмюра-Блоджет (ЛБ) дає змогу виготовляти високоорганізовані органічні фталоціанінових плівки з контрольованою товщиною і високою чутливістю як хемосенсори для тестування газів. Завдяки великому відношенню площі поверхневого шару до об'єму (S/V), провідність плівок ЛБ у присутності NO_2 може збільшуватись на порядок [72, 73].

Біосенсори на основі СОШ придатні для вивчення різного типу взаємодії, зокрема з такими лігандами, як ферменти чи нуклеїнові кислоти. Головною стадією виготовлення ферментних сенсорів являється іммобілізація білка на твердій поверхні. Для цього придатні різні методи: іммобілізація на поверхні золота з використанням безпосередньої (прямої) адсорбції [74] та ковалентна іммобілізація ензима за рахунок кінцевих аміногруп або зшивання поверхневими агентами, наприклад, глутаровим альдегідом [75].

Описано метод електрохімічного детектування антиоксидантів, який ґрунтується на визначенні кількості радикалів з використанням модифікованого цитохрому С [76]. Як електрод використовували золотий дріт, який

модифікували 5 мМ розчином 11-меркаптогексадеканової кислоти (МГДК) в етанолі із наступним внесенням на сформовану плівку 20-30 мкМ розчину цитохрому С [77].

Запропоновано процедуру виготовлення електрода із використанням електрохімічно осаджених Au-НЧ та ацетилхолін естерази [77]. Сконструйований біосенсор чутливий до ацетилхоліну і дозволяє визначати потенційно небезпечні нейротоксини. Подібна технологія була використана при конструюванні біосенсора, чутливого до фенолу [78].

Описано сенсорні системи, що містять НЧ, які не іммобілізовані на поверхні робочого електрода [79]. Такий біосенсор чутливий до гідроген пероксиду із використанням пероксидази, іммобілізованої на поверхні Au-НЧ. Електричний сигнал прямує від фермента, іммобілізованого на поверхні НЧ, до поверхні вуглецевого електрода [80].

Іммобілізовані на поверхні НЧ ферменти мають низку істотних переваг порівняно з нативними: висока питома поверхня отриманих НЧ дозволяє модифікувати більші кількості ферментів [81]. Іммобілізація або модифікація ферментів полегшує цілеспрямовану зміну властивостей каталізатора, включаючи специфічність, залежність каталітичної активності від рН, іонного складу та інших параметрів середовища [82]. Іммобілізація ферментів дає можливість регулювати їх каталітичну активність за рахунок зміни властивостей носія при дії деяких фізичних чинників, таких як світло, звук, тощо [83]. НЧ впливають на фізико-хімічні властивості кон'югованого фермента. До того ж, питома активність ферментів на наноносіях не зменшується при подальшій їх іммобілізації на поверхні полімерної матриці [84]. Запропоновано амперометричний сенсор для визначення поліфенолу, де на поверхні робочого карбонового електрода міститься полімерна матриця, що містить поліфенолоксидазу, іммобілізовану на поверхні Au-НЧ, а також для порівняння, електрод з ферментом у відсутності НЧ [85]. У першому випадку,

де фермент з Au-НЧ, чутливість визначення поліфенолу збільшується на 50 % у порівнянні із електродом виготовленим у їх відсутності.

Описано методику модифікації поверхні робочого електрода Au-НЧ з високою пористістю, що значно збільшує площу робочого електрода та підвищує порогову чутливість та селективність до аналіту. Так, колоїдне Au вдало використовується для збільшення чутливості ДНК сенсора. Суть цього методу полягає у формуванні самоорганізованого шару Au-НЧ розміром 16 нм на поверхні електрода, модифікованого цистеїном, що підвищує чутливість сенсора у 50 разів [86]. Чутливість та селективність електрода можна оптимізувати шляхом зміни організації, складу, металу з якого його синтезовано, а також розміру НЧ [87]. Описано процедуру модифікації поверхні робочого електрода НЧ родію розміром (50-75 нм) із наступною ковалентною іммобілізацією на його поверхні уреазі. Сконструйований амперометричний біосенсор було використано для визначення концентрації карбаміду. Лінійний діапазон вимірюваних концентрацій карбаміду – в межах 1,6-8,2 мМ, із нижньою межею визначення 0,5 мМ та чутливістю $3,19 \text{ мкА} \cdot \text{мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [88, 89]. Таким чином, використання НЧ у поєднанні з ферментами при аналізі біологічних матеріалів дозволяє збільшити лінійний діапазон роботи сенсорів та знизити нижню межу визначення, що є надзвичайно перспективним у медичній діагностиці. Широке застосування розроблених методик обмежене через відсутність комерційно придатних методик синтезу НЧ та психологічний бар'єр, що базується на відсутності досвіду у роботі з НЧ. Однак, ці обставини можна подолати і методики за використання НЧ можуть стати важливим доповненням до класичних фізико-хімічних методів.

1.3.2. Біосенсорні прилади на основі лаккази та наноносіїв

Техногенний тиск на навколишнє середовище відчутно впливає на рівень забруднення водних ресурсів. Зростає мікро- і макро-забруднення фенольними речовинами, що зумовлює необхідність створення технологічної платформи,

яка би включала біосенсори для моніторингу, а також біореактори - для біоремедіації цих шкідливих речовин. Через високу токсичність та зростаючу присутність у стічних водах фенолу та його похідних, міжнародні стандарти встановлюють суворі вимоги щодо допустимого вмісту цих сполук. Фенольні похідні потрапляють до природних водойм разом з промисловими стоками хімічного сектору, наприклад, нафтопереробних та деревообробних заводів, фармацевтичних та лако-фарбових виробництв, текстильної та нафтохімічної промисловості, включаючи виробництво самого фенолу. Європейська Комісія та Агентство США з охорони навколишнього середовища відзначили більшість фенольних сполук як потенційно небезпечні забруднювачі довкілля, що зумовлює необхідність їх моніторингу в ґрунтових водах та питній воді через їх високу токсичність та канцерогенний вплив на тварин і людей. Європейською Комісією визначена допустима межа концентрації фенолів у природних водах на рівні 0,001 мг/л [90], а центральний комітет з контролю за забрудненням Індії, встановив поріг для фенольних сполук, як стандарт для стічних вод, на рівні 1,0 мг/л.

Особливо небезпечним є те, що фенольні похідні діють на організм ссавців, як ксенобіотики – хімічні черовини, які негативно впливають на фізіологічний стан і мають канцерогенні властивості навіть при дуже низьких концентраціях [91]. Ці речовини хімічного походження потрапляючи в організми людини, здатні викликати вплив, подібний до ефекту високих доз природного гормону естрогену [92], негативно впливаючи на синтез, секрецію, транспорт, метаболізм, зв'язування або виведення натуральних гормонів, які наявні в тілі людини і відповідають за гомеостаз та репродуктивні процеси [93]. З ксеноестрогенами людині доводиться контактувати постійно – це пластиковий посуд та пляшки, поліетиленові пакети та упаковки, пластмасові дитячі іграшки та засоби догляду за дітьми, синтетичні будівельні матеріали, пестициди, пальне, фарби, розчинники, засоби гігієни та догляду, засоби для прибирання, одяг, медичні системи та шприци, деякі лікарські препарати і

навіть їжа. Наприклад, ксеноестроген біс- фенолу А являє собою мономер, який використовується для виготовлення полікарбонатних пластиків і епоксидних смол, які є сировиною для виробництва пакувальних матеріалів для продуктів харчування і напоїв. При гідролізі ефірних зв'язків з полімерів бісфенол А вивільняється та потрапляє в навколишнє середовище, що призводить до негативного впливу на людину і тварин. Світовий ринок бісфенолу А перевищує 6,4 мільярда фунтів на рік, і, таким чином, він є одним з хімічних речовин, який має найбільший обсяг виробництва в усьому світі.

Список речовин з ендокринною активністю постійно розширюється. Він включає хлор-органічні та поліароматичні сполуки, джерелом яких є пластик, який використовується для упаковки питної води [94], та деякі фармацевтичні препарати широкого використання, такі як, наприклад, ібупрофен. При використанні ібупрофену порядку сотень тисяч тонн (Німеччина), як протизапального препарату, його метаболіти виявляються у всіх зразках стічних вод і морської води в концентрації від 0,1 до 20 мкг/л [95]. Основними джерелами речовин з ксеноестрогенним ефектом є стічні води міст і тваринницькі комплекси, високий вміст яких часто зберігається навіть після очистки води [96].

Оскільки, ксеноестрогени, класифіковані як канцерогени, токсичні для здоров'я сполуки, які викликають порушення ендокринної системи людини і тварин, розробка нових підходів до моніторингу та біоремедіації цих небезпечних речовин у ґрунтових водах та питній воді є актуальною проблемою для поліпшення якості життя людини.

Цей огляд представляє важливість використання мікробних лакказ, як перспективного інструменту для виявлення та біоремедіації токсичних сполук, таких як феноли.

Лакказа (КФ 1.10.3.2, пара-дифенол: кисень оксидоредуктаза, *p*-дифенол оксидоредуктаза) – це мідь вмісний фермент, що каталізує окислення великої кількості як фенольних так і нефенольних сполук, молекулярним киснем з

подальшим його відновленням безпосередньо до води, минаючи стадію утворення пероксиду водню (рис. 1.13).

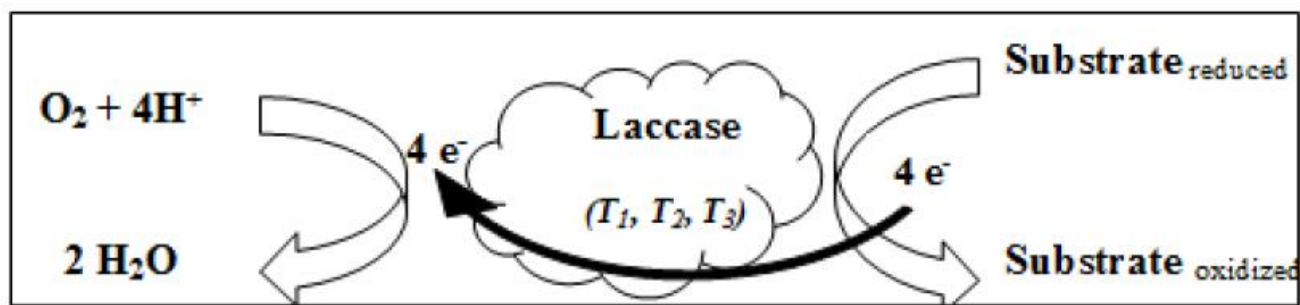


Рис.1.13. Типова каталітична реакція лаккази [97].

Активний центр фермента містить чотири атома міді (T_1 , T_2 , T_3), що зв'язуються із біомолекулою двома радикалами гістидину та одним цистеїну, інколи - метіоніну. Цей фермент є типовим для представників грибів, що спричинюють гниль деревини, і бере участь у деградації лігніну на лігноцелюлозних субстратах деревини. Лакказа є глікопротеїном і зазвичай має молекулярну масу в межах 60-80 кДа і рІ 3-6 [98]. Вона бере участь у широкому діапазоні біологічних функцій: формування пігментів у грибах, ектомікоризний симбіоз, метаболізм проантоціанідинів, вірулентність патогенних грибів і їх статевий розвиток. Цей фермент, переважно синтезується як позаклітинний, і був отриманий з різних біотичних типів, таких як бактерії, вищі та нижчі гриби, рослини та комахи. Найпоширеніші джерела лаккази, а також комерційно доступні їх препарати отримано із: *Trametes versicolor*, *Aspergillus oryzae*, *Coriolus hirsutus*, *Cerrena unicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Rhus vernicifera* [99].

У зв'язку з широкою специфічністю до великого спектру субстратів, таких як: феноли (включаючи орто- і пара-дифеноли), амінофеноли, метоксифеноли, поліфеноли, поліаміни, арили діамін і аскорбат; високою активністю і стабільністю, лакказа має особливий потенціал у біоремедіації ґрунтів та

грунтових вод [100] та при конструюванні нових біосенсорів і біопаливних елементів [101].

Серед нових біоаналітичних систем останнім часом особливого розвитку набули дослідження в області біоелектронних систем аналізу, в яких аналітичний пристрій – біосенсор – є гібридом селективного біоелемента – генератора первинного метаболічного чи біохімічного сигналу та чутливого трансдуктора – фізичного чи фізико-хімічного перетворювача первинного відгуку в певний інструментальний сигнал. Під спільним терміном “електрохімічні біосенсори” об’єднуються сенсори, що мають спільну електрохімічну природу, але відрізняються за характером перетворювача. Основна принципова відмінність між ними полягає у природі вимірюваного електрохімічного сигналу: сили струму (амперометричні), різниці потенціалу (потенціометричні), електричної провідності (кондуктометричні). Використання амперометричних біосенсорів на основі ферментів є дуже перспективним завдяки вигідному поєднанню високої селективності біорозпізнаючого елемента та чутливості електрохімічного перетворювача, вони є надійні, портативні і прості в експлуатації.

Біосенсори на основі лаккази для ефективного біокаталізу не вимагають пероксиду водню, як ко-субстрату, чи будь-яких інших кофакторів, що зумовлює просту процедуру їх приготування і перспективність використання для кількісного визначення токсичних фенольних сполук, азидів, пестицидів, тощо [99]. Розроблено лакказні біосенсори для виявлення ароматичних амінів, фенольних сполук і широкого спектру відновлюючих субстратів [102], де досліджували характеристику графітових електродів з іммобілізованою лакказою з *T. versicolor*, та проводили їх тестування при визначенні фенольних сполук за використання проточного аналізу. Представлено також біосенсор на основі лаккази для виявлення фенольних сполук у стічних водах [103].

Однією з найбільш важливих проблем існуючих біосенсорних технологій є формування біорозпізнаючої мембрани, яка містить іммобілізовані

біоелементи, зокрема, ферменти. Описано велику кількість біосенсорів на основі лаккази з використанням різних методів іммобілізації фермента: адсорбція, захоплення в гелі або утримання мембранами, інкапсулювання, ковалентне зв'язування тощо. Методи іммобілізації біокомпонентів сенсорів впливають на їх операційні параметри. Для лакказних біосенсорів було продемонстровано, що іммобілізація ферменту має важливий вплив на чутливість біосенсора [104]. Це було нещодавно підтверджено [105, 106] за використання лаккази з *T. versicolor* та уреасильних полімерних матриць різної структури. Було продемонстровано, що змінюючи структурні характеристики полімерних матриць, можна суттєвим чином контролювати чутливість біосенсора [105, 106]. Лакказа з *T. versicolor* у вигляді кристалів, поперечно зшитих циклодекстриновими полімерами, є високоактивною біоплівкою по відношенню до фенолів і їх похідних, таких як 2-амінофенол, гваякол, катехол, пірогваякол і АВТС [107]. Розроблено ефективний біосенсор з іммобілізованою лакказою з *Coriolus versicolor* на N-гідроксисукцинімідних моношарах на поверхні золота [108]. На основі скловидних вуглецевих електродів з іммобілізованою, за посередництва осмій-вмісного катодного полімеру, лакказою *T. versicolor*, розроблено ультрочутливий амперометричний біосенсор для виявлення катехоламінових нейромедіаторів, дофаміну, адреналіну і норадреналіну [109].

Багато із розроблених біосенсорів базуються на принципі інгібування ферментів, зокрема лаккази. Такі біосенсори використовувались для контролю залишкового рівня пестицидів в навколишньому середовищі та продуктах харчування [110]. Описано біосенсор для кількісного визначення карбаматів, що ґрунтувався на інгібуванні лаккази за використанням 4-амінофенолу в якості субстрату. Аналіз карбаматних пестицидів здійснювали біоелектродом на основі вуглецевої пасти біофункціоналізованої лакказою з *T. versicolor* на плівці «Берлінської блакиті», в якості медіатора перенесення електронів на функціоналізованій вуглецевій пасті [111]. Для виявлення іншого пестициду -

форметанату також розроблено біосенсор на сонові лаккази іммобілізованої на поверхні золотого електроду, модифікованого електроосадженими наночастинками золота. Біосенсор проявляв добру чутливість для моніторингу форметанату в реальних зразках харчових продуктів [112].

В останні роки особливий інтерес викликає використання нанорозмірних матеріалів, особливо у поєднанні із біоселективними елементами – ферментами, для розробки технологій одержання біонаноматеріалів із каталітичними властивостями. Це зумовлюється тим, що однією із основних особливостей нанорозмірних матеріалів є велика площа поверхні, здатність до адсорбції на різноманітних поверхнях і утворення поверхневих зв'язків із іншими адсорбуючими частинками та висока хімічна активність, що обумовлена їхньою підвищеною здатністю до іонного обміну. Це дає змогу створення біочастинок (іммобілізованих ферментів на поверхні наноносіїв) із подальшим їх використанням у конструюванні амперометричних біосенсорів з покращеними операційними характеристиками [97].

В літературі описано використання, в якості іммобілізаційної матриці для лаккази, різних типів наноносіїв: вуглецевих наноматеріалів [113], наночастинок металів [114], оксидів металів [114], електропровідних полімерів [115] та іонних рідин [116].

При розробці біосенсорів для виявлення фенольних сполук підвищення чутливості сенсора підтверджено за використання вуглецевих нанотрубок. Вуглецеві нанотрубки володіють унікальними електричними та механічними властивостями. Велике значення також має їх біосумісність і здатність підвищувати ефективність перенесення електронів у біоселективному шарі біосенсора [111]. Описано ферментативний біосенсор на основі лаккази іммобілізованої на вуглецевих нанотрубках для виявлення фенольних сполук та пестицидів у напоях, рослинах, тощо [111]. При розробці біосенсорів широко використовується графен – 2D вуглецевий наноматеріал, який унікальними властивостями, порівняно з іншими наноформи вуглецю – фулеренами та

вуглецевими нанотрубками [117]. Пряма іммобілізація ферментів на поверхні графенів ускладнюється його сильною гідрофобною природою і наявністю тільки sp^2 -гібридизованих атомів вуглецю. Проте, нещодавно описано чутливий і селективний біосенсор для аналізу катехолу, де як матрицю для іммобілізації лаккази, використано графен зв'язаний з полімерними целюлозними мікрОВОлокнами [118]. Аналіз катехолу в зразках навколишнього середовища має велике значення, оскільки він класифікується як токсичний забруднювач через його повільне біологічне розкладання і високу токсичність для здоров'я людини та екосистеми.

Описано електрохімічний біосенсор для визначення поліфенолів у зразках прополісу. Біосенсор побудований на нанокompозитній плівці утвореній лакказою, іммобілізованою на електроосаджених наночастинках золота. Отримані біонаночастинки осаджували на вуглецевому електроді, модифікованому *in situ* поліпіролом [119]. За використання лаккази з *T. versicolor* іммобілізованої на поверхні графітового електроду, модифікованого паладієвими наночастинками, сконструйовано біосенсор для аналізу бісфенолу та ABTS [120]. Використання такого типу наночастинок впливає на властивості сенсора розширюючи діапазон його лінійності до фенольних сполук.

Підсумовуючи варто відзначити, що біосенсори на основі лаккази представляють собою швидкий і надійний метод моніторингу великої кількості небезпечних для людини і тварин речовин і мають практичне використання у харчовій, фармацевтичній, медичній промисловості та для моніторингу стану довкілля.

Підсумовуючи варто відзначити, що біосенсори на основі лаккази представляють собою швидкий і надійний метод моніторингу великої кількості небезпечних для людини і тварин речовин і мають практичне використання у харчовій, фармацевтичній, медичній промисловості та для моніторингу стану довкілля.

Висновки до розділу 1

Розробка нових полімерних матеріалів з необхідними характеристиками і подальше їх застосування в біосенсориці має принципове значення. Розвиток нанотехнологій дозволяє створювати біоселективні елементи на основі металевих наночастинок та напівпровідникових кластерів. Такі підходи сприяють досягнути високої концентрації ферменту в біорозпізнаючій мембрані, а отже, розширити діапазон лінійності та підвищити чутливість та селективність біосенсора на досліджувані аналіти. Тому вивчення властивостей металевих наночастинок та напівпровідникових кластерів у полімерних композитах є актуальною проблемою, зокрема, для створення високоефективних біосенсорних систем.

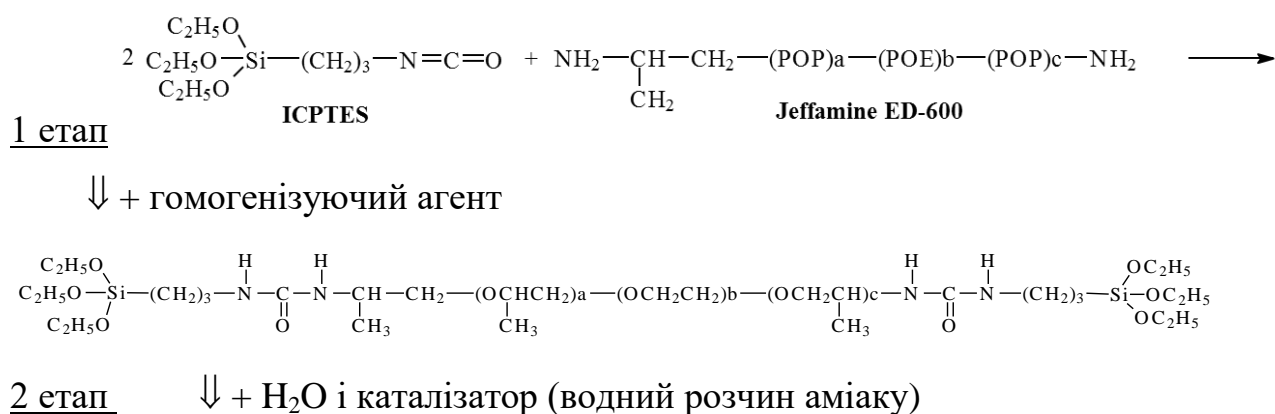
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПОЗИЦІЙНИХ ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛІВ

2.1. Методи одержання полімерних матриць

Полімерні уреасильні зразки отримувалися в Інституті електрохімії та енергетичних систем Болгарської академії наук (м. Софія, Болгарія) у межах існуючої тісної співпраці.

Задача 1. Синтез гнучких полімерних матеріалів на основі органічно-неорганічних уреасилікатів.

Силікатні моноліти серії 1 отримують реакцією між модифікованим алкоксидом кремнію 3-ізоціанатпропілтриетоксисиланом (ICPTES) та O,O'-біс (2-амінопропіл)-поліпропіленгліколем-блоком-поліетиленгліколем-блоком-поліпропіленгліколем-500 (Джефамін ED-600). Процес складається з двох етапів. На першому етапі в результаті реакції між ізоціанатом та аміногрупами утворюється мономер силікату (прекурсор). На другому етапі суміш утворює гель у присутності води шляхом реакцій гідролізу та конденсації. Висихання гелю призводить до утворення твердого ксерогелю. У першому наближенні структура мономеру являє собою мережу, в якій три зв'язки кремнію зв'язані трьома загальними атомами кисню, а четвертий – з поліефірною ланцюгом подвійно заміщеною сечовиною, що утворюється в результаті реакції між ізоціано та аміно групи. Схема реакції показана на рис. 2.1.



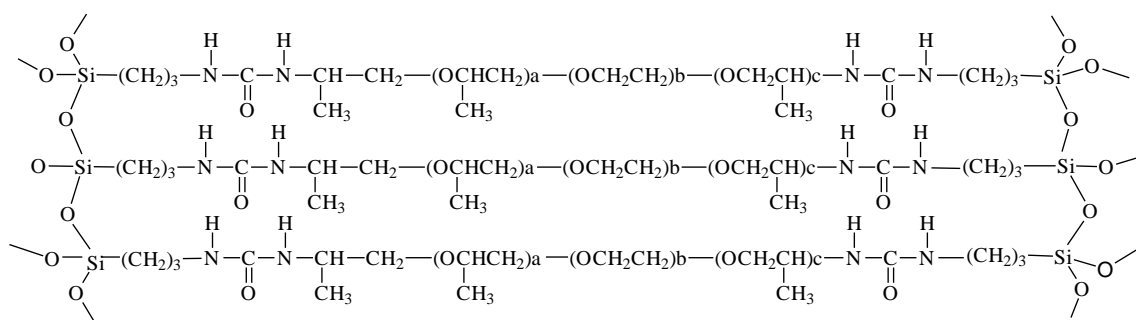


Рис. 2.1. Схема утримання уреасилікатного матеріалу через золь-гель процес. Коефіцієнти a , b і c відповідають кількості структурних фрагментів ланцюгів поліоксиетилену та поліоксипорпілену в поліоксиалкіленаміні. Для Jeffamine ED-600 вони є: $a+c = 2,5$ і $b = 8,5$.

З літератури відомо, що при традиційному способі отримання такого матеріалу стехіометричне молярне відношення (R) між ICPTES та Jeffamine дорівнює 2, а гелеутворення та сушіння проводять при температурі $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом приблизно 3 тижнів. Для вивчення зміни оптичних та механічних властивостей була отримана серія зразків з різними молярними співвідношеннями між ICPTES та Jeffamine (табл. 2.1).

Таблиця 2.1. Молярні співвідношення між компонентами, що використовуються при синтезі силікатних монолітів серії 1.

	Зразок	Молярне співвідношення ICPTES/Jeffamine
Серія 1	V_{A1}	2
	V_{A2}	2.5
	V_{A3}	3
	V_{A4}	3.5
	V_{A5}	4

Синтез проводили при кімнатній температурі, змішуючи ICPTES і Jeffamine при $R = 2, 2,5, 3, 3,5, 4$. В якості гомогенізуючого агента використовували етиловий спирт, а в якості каталізатора гідролізу і 25% водного розчину аміаку реакції конденсації. Після енергійного перемішування протягом 20 хвилин отриману суміш виливали в полістирольні кювети та круглі полістирольні форми. В результаті були отримані моноліти у формі паралелепіпеда з основою 7x7 мм та ті, що мають круглу форму діаметром приблизно 30 мм і товщиною близько 0,5 мм, придатні для вимірювань SAXS. Зразки, отримані в описаних умовах синтезу, мають помітно хорошу еластичність та високу прозорість.

Задача 2. Модифікація матеріалу шляхом зміни співвідношення органічного та неорганічного компонентів. На виконання завдань цієї діяльності було синтезовано дві нові серії зразків.

Зразки серії 2 отримували за однакових молярних співвідношень між ICPTES та Jeffamine ($R = 2, 2,5, 3, 3,5, 4$) та додаванням алкоксиду кремнію – амінопропілтриетоксисилану (APTES), дотримуючись співвідношення $APTES/Jeffamine = 1$ (таблиця 2.2). Фото типового зразка з цієї серії показано на рисунку 2.2.

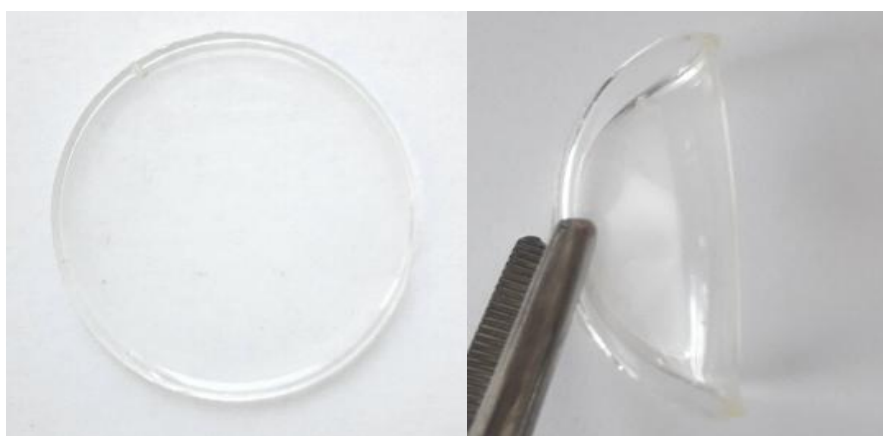
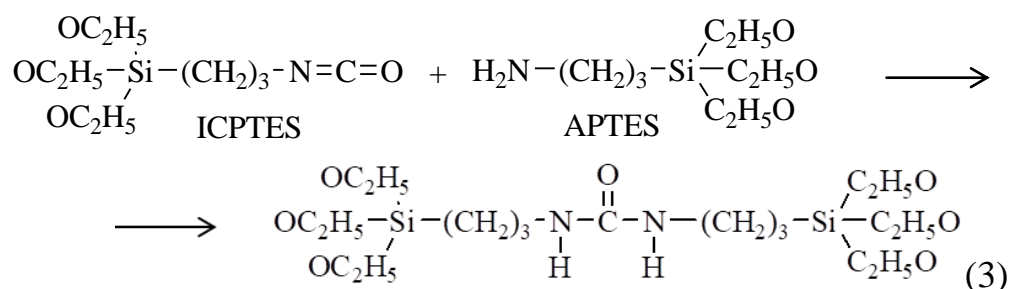


Рис. 2.2. Фотографія зразка A2t діаметром 30 мм і товщиною 0,3 мм.

Синтез проводили в умовах, описаних для серії 1, у присутності того самого каталізатора та гомогенізуючого агента, у такій послідовності:

1. Змішування ICPTES та APTES у зазначеному молярному співвідношенні у присутності гомогенізуючого агента етанолу та перемішування при 200 об/хв протягом 10 хвилин.
2. Додайте Джеффамін, дотримуючись співвідношення R = 2, 2,5, 3, 3,5, 4.
3. Додавання каталізатора до золь-гелевого процесу – 25% водний розчин аміаку.
4. Розливання в полістирольні кювети та полістирольні форми з круглим перетином.

Приготування монолітів силікатних карбаміду з цієї серії проводиться в результаті реакцій (1) і (2), показаних у зразках серії 1, і одночасно відбувається реакція (3):



Таблиця 2.2. Молярні співвідношення між компонентами, що використовуються при синтезі силікатних монолітів серії 2.

	Зразок	Молярне співвідношення ICPTES/Jeffamine	Молярне співвідношення APTES/Jeffamine
	A1	2	1
	A2	2.5	1
Серія 2	A3	3	1
	A4	3.5	1
	A5	4	1

Зразки, отримані в описаних умовах синтезу, мають видимі відмінності щодо еластичності та прозорості.

Зразки силікату серії 3 були отримані в результаті взаємодії двох попередників силікату сечовини, розташованих в різних об'ємних співвідношеннях між собою (табл. 2.3).

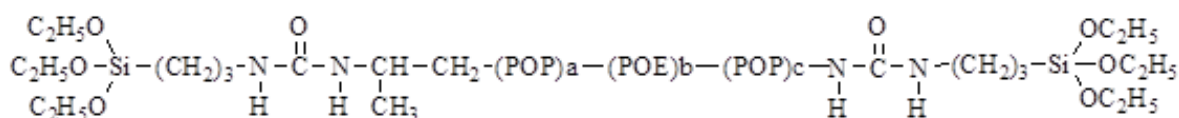
Таблиця 2.3. Співвідношення обсягів між попередниками силікатних карбаміду, що використовуються для синтезу монолітів силікатних серії 3.

	Зразок	Прекурсор 1, мол. %	Прекурсор 2, мол. %
	E1	100	0
	E2	75	25
Серія 3	E3	50	50
	E4	25	75
	E5	0	100

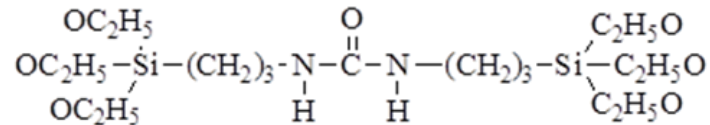
Прекурсор 1 містить ICPTES і Jeffamine ED-600 у стехіометричному молярному співвідношенні (ICPTES / Jeffamine = 2), а прекурсор 2 отримують взаємодією ICPTES і APTES у співвідношенні ICPTES/APTES = 1.

Синтез проводили в такій послідовності: 1. Змішування ICPTES та Jeffamine у стехіометричному співвідношенні (R = 2) у присутності гомогенізуючого агента етанолу. Енергійно перемішуйте при 200 об/хв протягом 20 хвилин, утворюючи **уресилікатний прекурсор 1**.

Уресилікатний прекурсор 1



1. Змішування ICPTES та APTES у мольному співвідношенні ICPTES/APTES = 1, у присутності гомогенізуючого агента етанолу. Потім перемішували при 200 об/хв протягом 20 хвилин, утворюючи **уреasilікатний прекурсор 2**.



Уреasilікатний прекурсор 2

2. Змішування прекурсора 1 та прекурсора 2 у присутності етанолу та каталізатора процесів гідролізу та конденсації – 25% водний розчин аміаку.
3. Розливання в полістирольні кювети та полістирольні форми з круглим перетином. Час гелеутворення коливається від 24 до 48 годин залежно від складу.

Отримані моноліти у формі паралелепіпеда з основою 7x7 мм і круглі діаметром приблизно 30 мм і товщиною близько 0,5 мм.

Було отримано понад 45 зразків з 3 різних серій, по 5 різних складів у кожній серії, гелевані та висушені у двох різних формах - моноліти у формі паралелепіпеда та ті, що мають круглу форму. Зразки в більшості випадків прозорі та однорідні. Тріщини утворюються при швидкому желированні або інших непридатних умовах.

Отримання композитів з гібридних органічно-неорганічних силікатів з інкорпорованими частинками

Задача 3. Включення аморфних частинок халькогеніду в тверде дисперсійне середовище (уреasilікатна матриця)

➤ Синтез

Були синтезовані зразки з різною кількістю включених частинок, зразки позначені K0 (без частинок), K2, K3, K4 - частинками. Синтез чистої силікатної матриці сечовини (K0) проводили наступним чином: (i) O, O'-біс (2-амінопропіл) поліпропілен, блок гліколевого поліетиленгліколю, блок поліпропіленгліколю, гліколь 500 (Jeffamine ED-600) сушили в протягом 30 хвилин; (ii) 3-ізоціанатпропілтріетоксисилан (ICPTES), тетраетоксисилан (TEOS, 98%) та н-бутиламін використовували у відповідності з приготівленими; (iii) Джеффамін та ICPTES змішували у стехіометричному співвідношенні 1:2, отримуючи рідкий силікатний мономер сечовини; (iv) Потім до суміші додавали TEOS (1,12 ммоль) і н-бутиламін, і перемішування проводили більше 20 хвилин; (v) суміш переноситься в пластикову чашку Петрі, де їй дозволяють гелеувати у відповідних умовах; (vi) отримані гелі нагрівають у вакуумній печі при 60 °C; (vii) протягом 1 доби отримували твердий прозорий ксерогель у формі диска діаметром 40 мм і товщиною 0,25 мм.

Синтез композиційного матеріалу, що складається з As_2S_3 та силікатної матриці сечовини (зразок K4), виконується наступним чином: (i) халькогенід склоподібний As_2S_3 синтезується методом розплавного глазурування. В якості вихідних матеріалів використовували As (5N) і S (5N) в герметичних кварцових ампулах при 650 °C; (ii) розплав охолоджується до кімнатної температури. Отримані склоподібні зразки тонко подрібнювали і розчиняли в органічному розчиннику (3 мл н-бутиламіну) до концентрації 0,4 М; (iii) розчинений As_2S_3 змішується з попередником мономеру силікатного сечовини. Отриманий гель сушили при кімнатній температурі, отримуючи твердий композит.

➤ Фотозображення отриманих гібридних структур

Фотографії зразків чистої матриці та композиту з частинками халькогеніду показують, що отримані зразки чистої матриці прозорі у видимій області спектра. Після введення частинок халькогеніду колір змінюється на блідо-

жовтий, а потім на темно-жовтий, залежно від концентрації та старіння матеріалу.

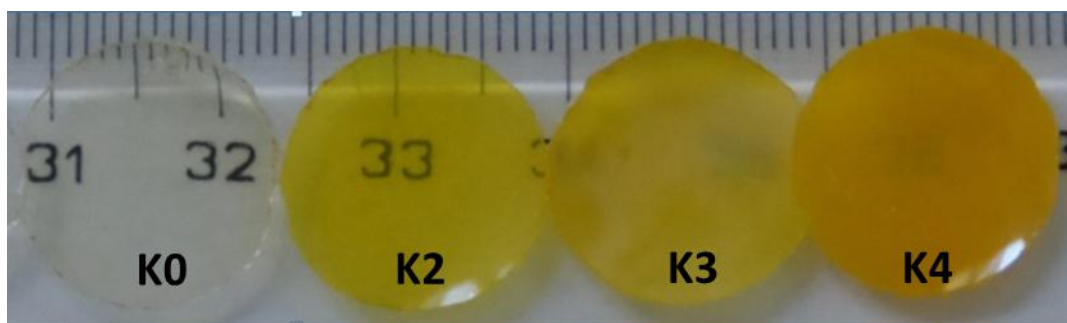


Рис. 2.3. Фотозображення отриманих матеріалів з частинками халькогеніду та без них: K0 (свіжоприготований) – уреасилікатна матриця чиста та K2, K3 та K4 (свіжоприготований) – з різним вмістом As_2S_3 .

2.2. Дослідження методами електронної мікроскопії

Сканувальна електронна мікроскопія (SEM): Зразки аналізували за допомогою енергетично-дисперсійної рентгенівської (EDX) спектроскопії при прискорювальній напрузі 20 кВ за допомогою скануючого електронного мікроскопа Zeiss EVO 50. Також скануючий електронний мікроскоп (SEM-мікроаналізатор REMMA-102-02, м. Суми, Україна) був використаний для морфологічних аналізів зразків на графітовому стрижні (товщина – 0,5 см, діаметр – 0,5 см). Спеціальна покривна плівка на зразках з розчином Бутвара В-98 (Sigma, Сент-Луїс, Міссурі, США) у 1,5% хлороформі була сформована за допомогою ультразвукового методу. В експериментах відстань від останньої лінзи мікроскопа до зразка (WD) становила від 21,2 мм до 24,5 мм; напруга прискорювача була в 20 кВ; масштабування становило 4000.

Атомно-силова мікроскопія (АСМ): Розмір і структуру НЧ вивчали атомно-силовим мікроскопом Solver P47-PRO (NT-MDT). Аликвоту досліджуваного зразка розповсюджували на поверхні свіжовищепленої слюди, сушили та аналізували на повітрі, використовуючи режим відбивання з

резонансною частотою 160 кГц, швидкістю сканування 1 Гц / с та роздільною здатністю 256×256 пікселів.

Отримані результати обробляли за допомогою програми Image Analyser. Обробка результатів зводилась до одержання просторового зображення морфології поверхні, побудови гістограм розмірного розподілу частинок на поверхні платформи та виявлення найбільш характерних ділянок поверхні при заданій кількості сканувань.

2.3. Позитронна анігіляційна спектроскопія (ПАС)

2.3.1. Коротка теорія ПАС

Методика позитронної анігіляційної спектроскопії (ПАС) заснована на вивченні особливостей анігіляції позитронів. Анігіляція позитронів (e^+) в речовині відбувається в результаті квазівільних співударів з електронами середовища або із зв'язаних станів. Залежно від властивостей середовища переважає той чи інший механізм. При виникненні зв'язаного стану появляється атом позитронію (Ps). Великий інтерес для вирішення багатьох фізико-хімічних задач викликають спостереження утворення і загибелі позитрона.

Позитроній – це найпростіший воднеподібний атом, в якому протон заміщений позитроном. Наведена маса Ps вдвічі менша і, відповідно, потенціал іонізації також вдвічі менший (6,77 eV), а борівський радіус вдвічі більший (1,06 Å). В залежності від орієнтації спінів електрона і позитрона існують два основні стани позитронію: триплетний або ортопозитроній (o-Ps) з паралельним напрямком спінів, що розпадаються на три гама-кванти; та синглетний або пара-позитроній (p-Ps) з антипаралельними спінами, що розпадаються на два гама-кванти. Час життя τ_t^0 вільного атома o-Ps дорівнює $\tau_t^0 = 140$ нс; ймовірність I_t утворення o-Ps складає 3/4 від загальної ймовірності утворення Ps. Час життя τ_s^0 вільного атома p-Ps дорівнює $\tau_s^0 = 0.125$ нс; ймовірність I_s утворення p-Ps складає 1/4 від загальної ймовірності утворення Ps. Приведені

часи τ_t^0 і τ_s^0 характеризують вакуумні часи життя орто- і парапозитронію (o-Ps и p-Ps). В конденсованому середовищі стан часу життя p-Ps практично не змінюється, а час життя o-Ps зменшується до $\tau_3 = 1-4$ нс за рахунок анігіляції позитрона ортопозитронію при співударях з електронами середовища (так звана *pick-off-анігіляція*) [121-123].

Основним каналом отримання позитронів є радіоактивні джерела (РД) позитронів, в яких відбувається реакція β -розпаду [121, 122]. Схема наведена на рис. 2.4. Атомне ядро ${}_Z^A$ випускає позитрон (він позначається β^+) і нейтрино (на схемі β -розпаду нейтрино зазвичай не показують) і перетворюється в атомне ядро ${}_{Z-1}^A$ другого хімічного елемента. Причому кінцеве атомне ядро може виявитися або в основному (випускається β_1^+), або в збудженому (випускається β_2^+) стані. Збудження атомного ядра знімається шляхом випускання γ -кванта. Наявність таких γ -квантів (на рис. 2.4 (верхній) позначено γ_1) відіграє важливу роль у методі визначення часу життя позитронів у речовині.

В силу законів β -розпаду [121, 122] позитрони мають неперервний розподіл по енергії. Форма спектру позитронів представлена на рис. 2.4 (нижній) і визначається виразом

$$N(E)=AF(Z,E)E(E_\beta-E)^2, \quad (2.1)$$

де A – нормована константа; $F(Z,E)$ – функція Фермі, враховуючи взаємодію вилітаючих із атомного ядра позитронів із самим ядром; Z - заряд атомного ядра; E – кінетична енергія позитронів; E_β – енергія β -розпаду (верхня границя β -спектру). Значення величини E_β для позитронів радіоактивних джерел, які найчастіше використовуються в методі анігіляції, представлені і таблиці 2.4.

Таблиця 2.4. Основні параметри радіоактивних джерел позитронів, які використовуються в дослідженні речовини з допомогою ПАС [121, 122].

РД	E_{β} , МеВ	%	μ , см ² /г	Період піврозпаду
²² Na	0,54	99,94	41,7	2,6 років
⁶⁴ Cu	0,65	19	31,2	13 год.

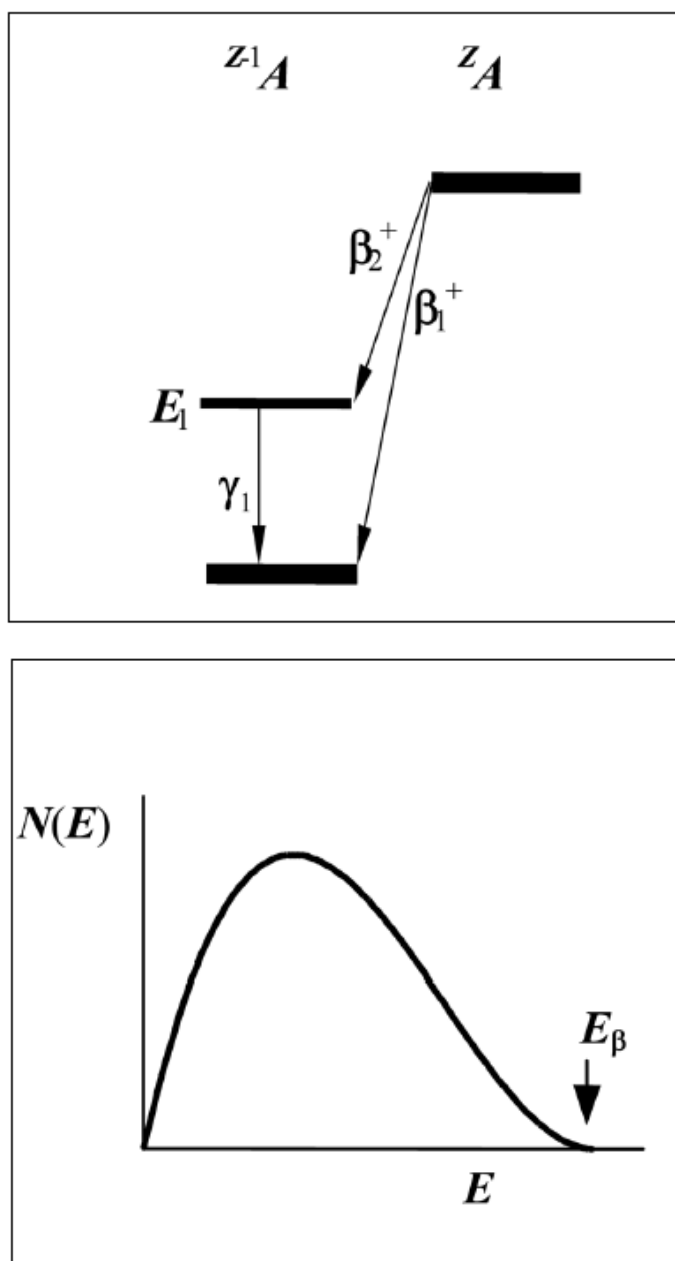


Рис. 2.4. Схема β -розпаду радіоактивного джерела позитронів, який використовують у методі анігіляції позитронів (верхній), та форма β -спектру радіоактивного джерела позитронів (нижній) [121, 122].

Послаблення пучка позитронів із РД при проходженні речовини товщиною z відбувається по експоненціальному закону [121, 122]:

$$I_+ = I_0 \exp(-\mu \rho z), \quad (2.2)$$

де μ – масовий коефіцієнт поглинання позитронів (послаблення позитронного пучка); ρ – густина поглинаючої (послаблюючої) речовини; I_0 – інтенсивність падаючого випромінювання, а I_+ – інтенсивність випромінювання, що вже минуло. Залежність μ від E_β має досить простий вигляд [121, 122]:

$$\mu = 17,0 E_\beta^{-1,43}. \quad (2.3)$$

Тут μ в $\text{см}^2/\text{г}$, а E_β в МеВ. Видно, що масовий коефіцієнт поглинання позитронів із РД не залежить від виду речовини, а визначається лише енергією β -розпаду.

У багатьох випадках зручно користуватися не виразом (2.2), а формулою:

$$I_+ = I_0 \exp(-z/l), \quad (2.4)$$

яка визначає довжину l поглинання (послаблення) позитронів із РД в речовині

$$l = (\mu \rho)^{-1}. \quad (2.5)$$

Використовуючи вираз (2.5) можна показати (див. табл. 2.4), що пробіг позитронів із радіоактивних джерел у більшості речовин складає десятки або сотні мікрон. Таким чином бачимо, що найбільш зручними у всіх відношеннях є РД позитронів на основі ^{22}Na та ^{64}Cu .

Використання позитронної анігіляційної спектроскопії дозволяє визначати як електронну структуру досконалих кристалів, так і різні дефекти особливо

малих розмірів у твердих тілах і пористих системах, таких, як вакансії, вакансійні кластери та вільні об'єми до одного кубічного нанометра (нанооб'єкти, пустоти). ПАС включає в себе основні три класичні методи [121, 122]:

- метод вивчення часового розподілу анігіляційних фотонів;
- метод кутового розподілу анігіляційних фотонів;
- метод доплерівського розширення анігіляційної лінії з енергією 0,511 МеВ.

На сьогоднішній день існує тільки одна експериментальна методика, яка дозволяє безпосередньо вимірювати вільний об'єм (пустоти), це – метод вивчення часового розподілу анігіляційних фотонів (ЧРАФ). За останні кілька років дослідження вільного об'єму з використанням методу ЧРАФ істотно збільшилися для металів, полімерів та топологічно-невпорядкованих матеріалів (стекол, кераміки, тонких плівок) (рис. 2.5.).

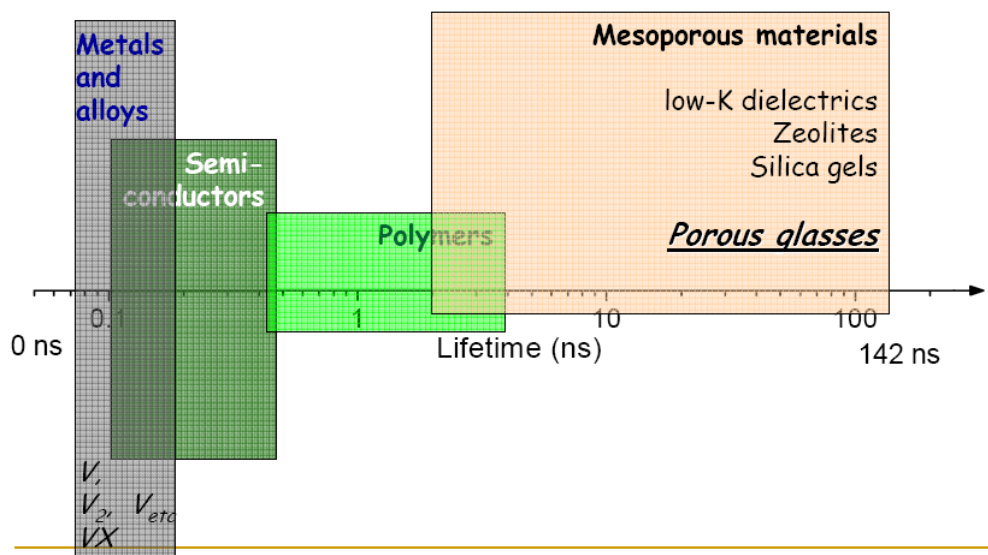


Рис. 2.5. Типові часи життя позитронів у пустотах [123].

2.3.2. ПАС для визначення вільного об'єму у полімерних матеріалах

Метод часового розподілу анігіляційних фотонів (ЧРАФ) ґрунтується на факті, що час життя позитронів та його зв'язаної форми, позитронію (Ps), є дуже чутливим до присутності дефектів та мікроструктурних неоднорідностей у матриці (рис. 2.6). Термалізовані позитрони можуть трепінгувати та анігілювати у вакансійно-подібних дефектах з навколишніми електронами, даючи інформацію про локальне електронне середовище навколо дефекту.

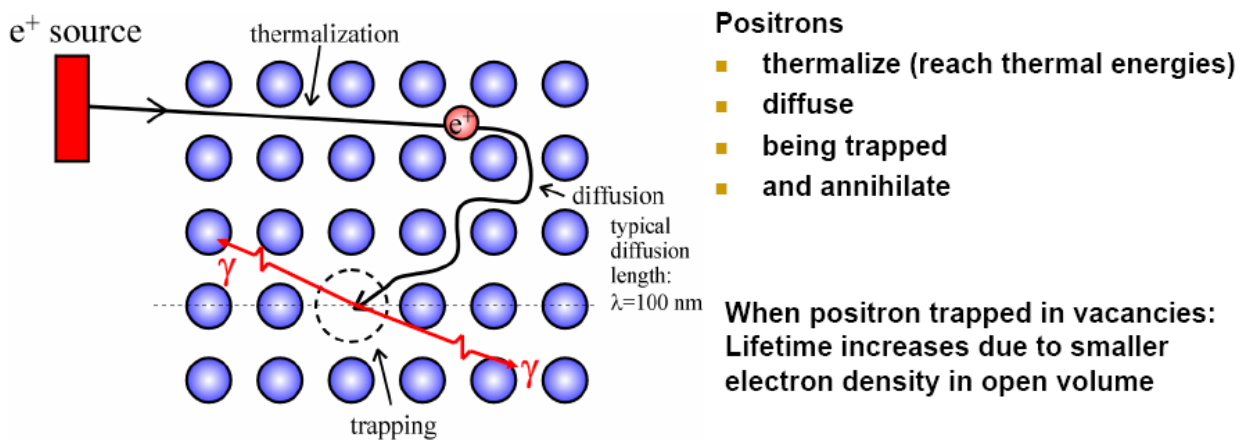
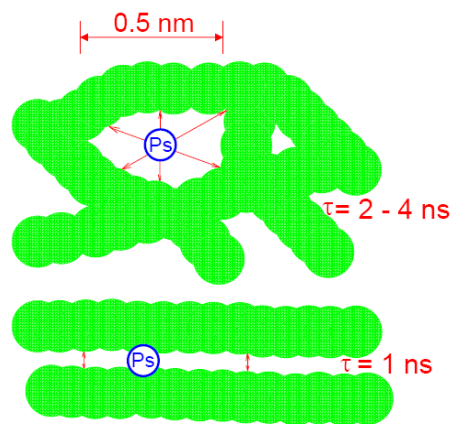
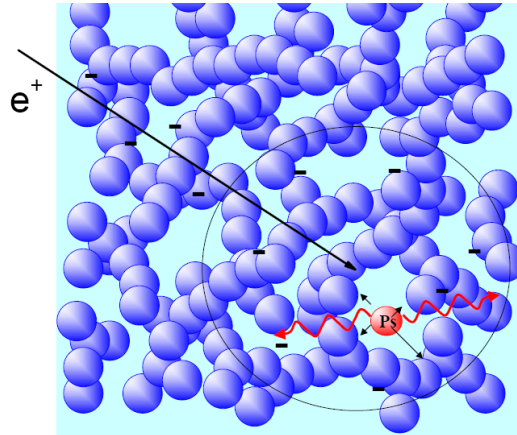


Рис. 2.6. Ілюстрація захоплення (трепінгу) позитронів та їх наступної анігіляції у вакансії (пустоті) [123].

У твердотільному середовищі в залежності від орієнтації спінів позитрона та електрона додатково до анігіляції e^+ спостерігається утворення та анігіляція системи двох зв'язаних форм ($e^+ e^-$) (див. рис. 2.7). Синглетний стан пара-позитронію (p -Ps) з антипаралельною спіноювою орієнтацією характеризується часом життя $\tau_{p\text{-Ps}} = 0.125$ нс у вакуумі. Триpletний стан орто-позитронію (o -Ps) характеризується часом життя $\tau_{o\text{-Ps}} = 142$ нс у вакуумі. В рідинах та твердих субстанціях $\tau_{o\text{-Ps}}$ зменшується до кількох нс (pick-off анігіляція) через взаємодію з електронами оточуючого середовища. Вважається, що o -Ps утворюється позитронами e^+ після їх швидкої термалізації та наступного захоплення в областях пониженої електронної густини, таких як пустоти, вакансії, і т.п.



Ps localization in a hole of the (excess) free volume

Ps localization in interstitial free volume gives the packing coefficient 'C' of the crystals

In materials without free electrons Positronium may be formed (Polymers, glass, liquids, gases).

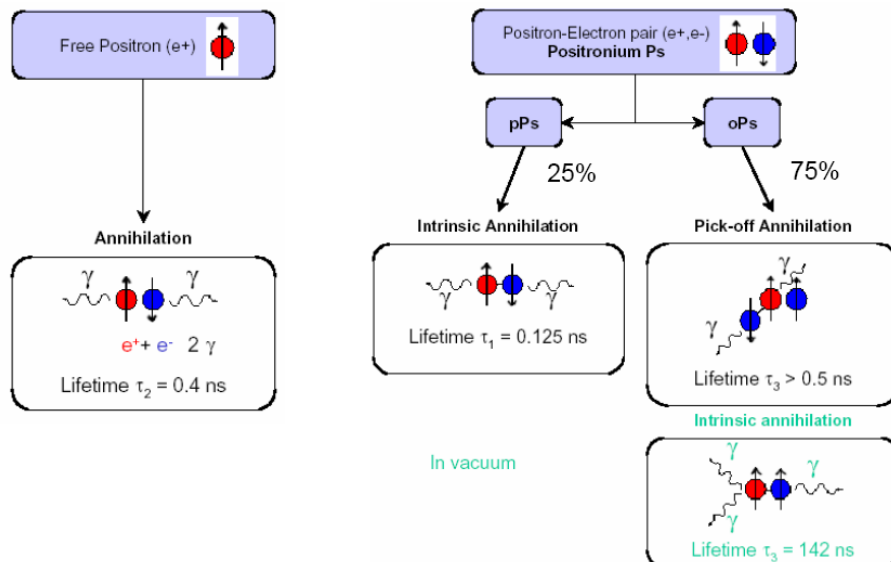


Рис. 2.7. Позитрон та позитроній Ps [123].

Найбільш важливою компонентою є τ_{o-Ps} чи τ_3 , яка дає інформацію про пустоти (вільний об'єм) в яких відбулася анігіляція позитронів. Використовуючи просту квантово-механічну модель частинки в сферичному просторі [121-123] можна обчислити радіус пустоти (вільного об'єму) R з відомого часу життя τ_3 ортопозитронію o -Ps

$$\tau_3 = 0.5 [1 - R/(R + \Delta R) + 1/2\pi \times \sin(2\pi R/(R + \Delta R))]^{-1}, \quad (2.6)$$

де $\Delta R = 0.1656$ нм є емпірично знайдена стала. Далі, обчислюємо значення об'єму пустоти за формулою

$$V_f = 4/3 \pi R^3. \quad (2.7)$$

Використовуючи це припущення, в літературі запропоновано напівемпіричне рівняння для визначення долі вільного об'єму f_v в полімерах [121-123]:

$$f_v = CV_f I_3, \quad (2.8)$$

де V_f – вільний об'єм, розрахований за даними τ_3 , у сферичному наближенні за формулою (3), I_3 (%) – інтенсивність відповідної компоненти, C – стала.

2.4. Інші методи

2.4.1. Метод іонної імплантації

Одним з перспективних основних способів формування композиційних матеріалів з металевими наночастинками (МН) являється метод іонної імплантації, для реалізації якого використовується модернізований промисловий іонно-променеви́й прискорювач, який дозволяє отримати іонний пучок необхідного хімічного елемента. Імплантація зразків здійснювалася на іонному прискорювачі ІЛУ-3, призначеного для отримання в умовах високого

вакууму моноізотопних пучків іонів різних елементів з енергією до 100 кеВ при струмі в декілька мікроампер [124].

За своїми фізико-технічними параметрами даний прискорювач належить до проміжного типу електрофізичних установок – між вимірювальними мас-спектрометрами і високо промисловими електромагнітними ізотопними сепараторами. За принципами дії ИЛУ-3 аналогічний мас-спектрометру секторного типу з симетричними розташуванням джерела і колектора іонів відносно магнітного аналізатора.

Прискорення іонів в ИЛУ-3 здійснюється в два етапи: до 50 кеВ забезпечується іонно-оптичною системою джерела; додаткову (до 50 кеВ) енергію однозарядні іони можуть отримати в області приймача (так звана система післяприскорення). З метою збільшення іонної пропускної здатності на ИЛУ-3 здійснюється вертикальне фокусування пучка в область середньої частини електромагніту аналізатора.

Принципова схема іонного прискорювача ИЛУ-3 зображена на рис. 2.8, а схематичний вигляд установки на рис. 2.9 [124, 125].

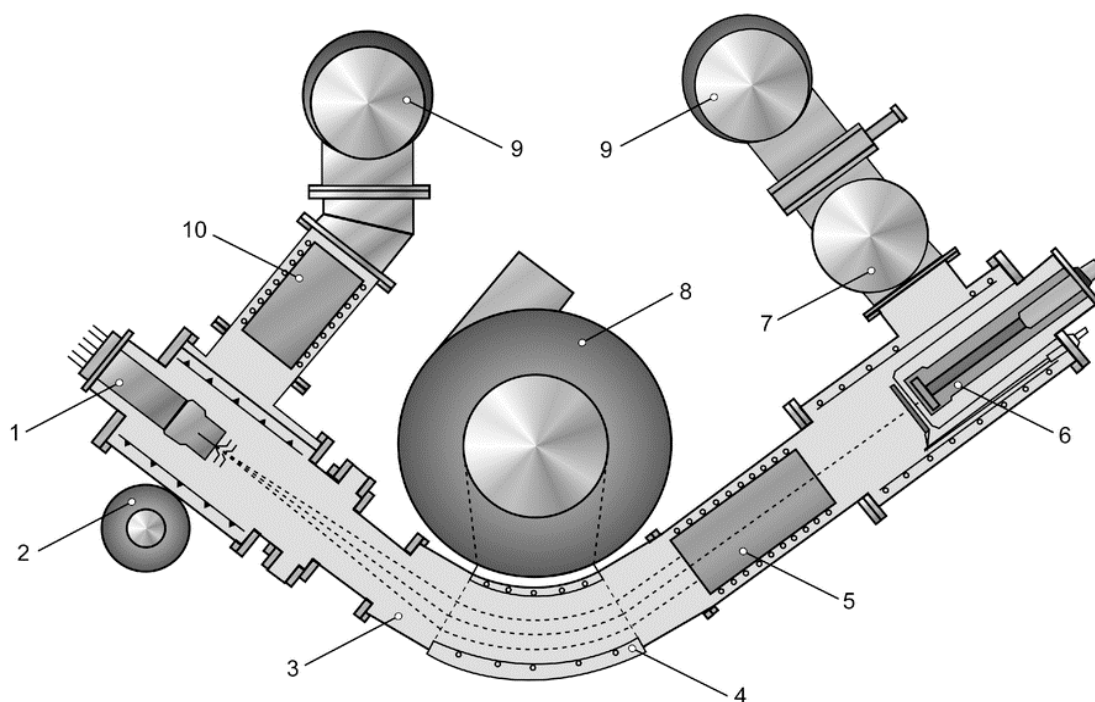


Рис. 2.8. Принципова схема іонного прискорювача ИЛУ-3 (КФТІ КазНЦ РАН):

- 1 - іонний пучок;
- 2 - допоміжний електромагніт джерела;
- 3 - вакуумна камера;
- 4 - система водяного охолодження;
- 5 - азотна пастка;
- 6 - приймач з системою післяприскорення іонів;
- 7 - форвакуумний насос;
- 8 - магнітний сепаратор;
- 9 - дифузійні насоси;
- 10 - азотна пастка.

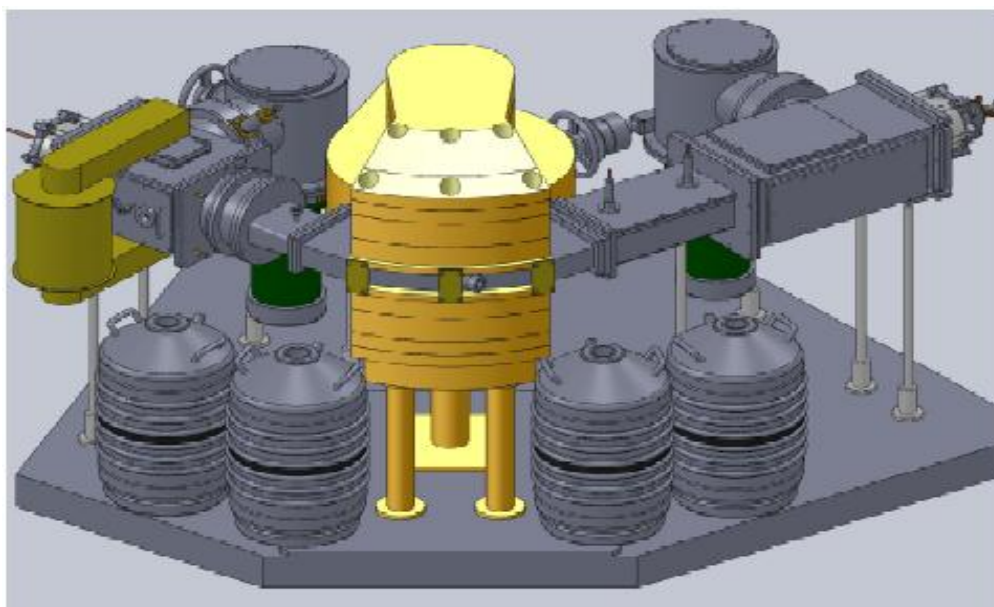


Рис. 2.9. Схематичний вигляд іонного прискорювача ІЛУ-3 (КФТІ КазНЦ РАН) [124, 125].

Генерація іонів здійснюється в плазмі дугового розряду джерела іонів. Робоча речовина у виді хімічної сполуки загрузається в тигель джерела. Тигель поміщується в середині біциліндричної печі омичного нагріву, і своєю горловиною він повернутий до газорозрядної камери. Емітовані електрони підтримують дуговий розряд в камері в парах робочої речовини. Контрольована термпарою температура тигеля може регулюватися в межах від кімнатної до 900°C. Головка джерела розташована між полюсами допоміжного електромагніту (2), внаслідок чого іонний пучок має вертикальний фокус. Через емісійну щілину газорозрядної камери іони витягуються з плазми дугового розряду з допомогою “квзіпірсової” іонно-оптичної системи, прискорюються

до необхідної енергії і поступають в простір дрейфу, де на ділянках від джерела іонів до вхідної границі магнітного поля аналізатора і від вихідної границі того поля до заземленого електроду приймача на них не діють ніякі електричні чи магнітні поля, окрім електричного поля об'ємного заряду самого пучка.

В ИЛУ-3 застосовується електромагнітний сепаратор (8) з однорідним магнітним полем з кутом сектора 60° . В області аналізатора іони рухаються по круговим траєкторіям, радіус яких залежить від енергії і маси іона. Обмотка електромагніту охолоджується проточною водою. Після проходження електромагнітного аналізатора пучки сепарованих по масі іонів попадають в камеру приймача (6) і фокусуються на заземленому рухомому електроді приймаючого пристрою, який оснащено спеціальним репером для вимірювання густини іонного струму.

При проведенні іонної імплантації тиск залишкових газів в камері приймача не перевищував 10^{-2} Па, що дозволяло уникнути утворення іонної плазми на поверхні зразка і, тим самим, стабілізувати положення іонного пучка. Температура зразка при опроміненні контролювалася шляхом охолодження тримача зразків проточною водою. Густина струму в іонному пучку визначалася за допомогою спеціальних реперів (циліндри Фарадея), встановлених поблизу опромінюючого зразка. Інтегральний пучок іонів (доза) на зразку вимірювалася інтегратором іонного струму. Однорідність розподілу дози іонів по площі опромінюваного зразка ($\sim 90\%$) забезпечувалася електростатичним скануванням іонного пучка в горизонтальному напрямі в межах $\pm 6^\circ$.

Синтезовані нові уреазил-вмісних композити з халькогенідними та металевими наноносіями (наночастинки срібла зв'язані на їх поверхні, приготовані методом іонної імплантації) показано на рис. 2.10.

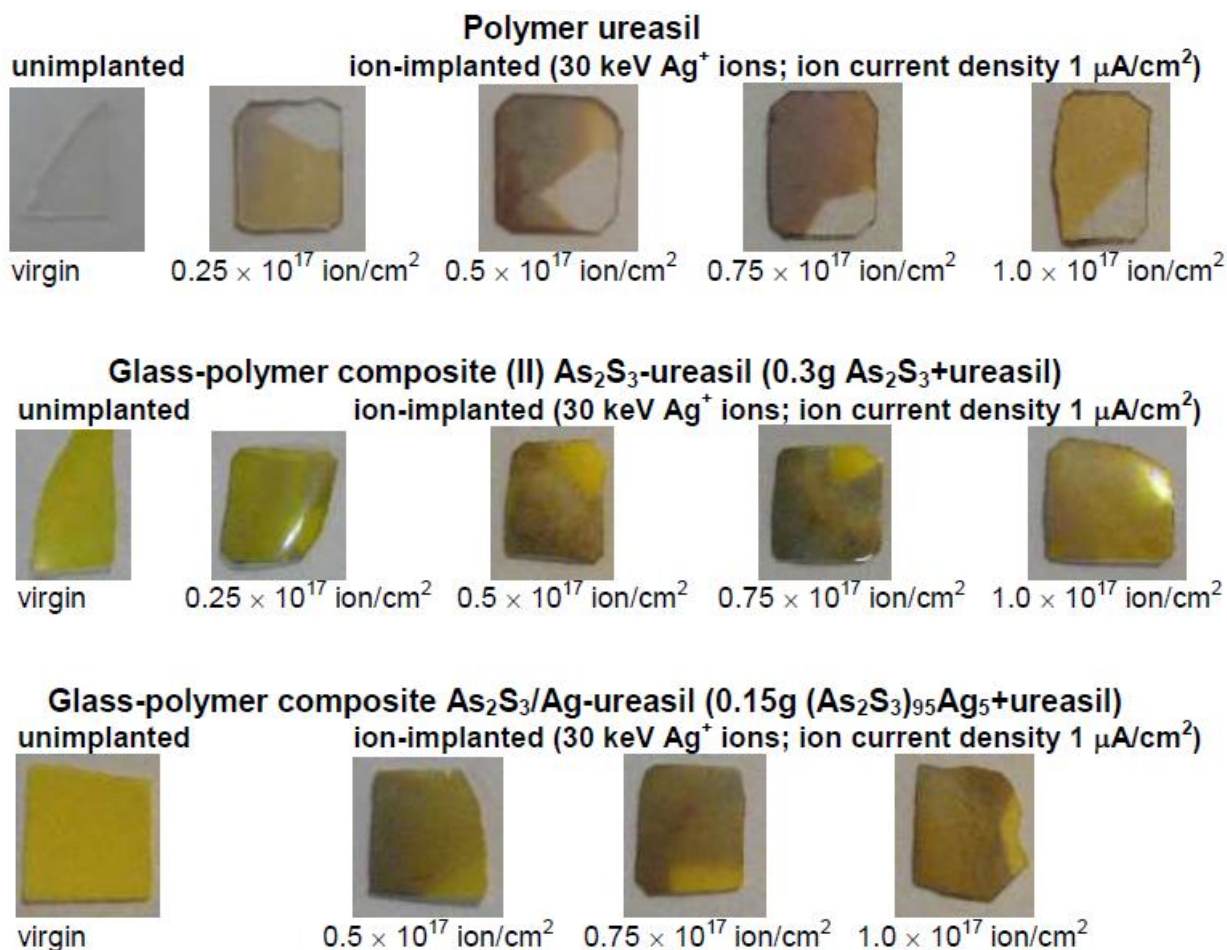


Рис. 2.10. Синтезовані нові уреазил-вмісні композити з халькогенідними та металевими наноносіями (наночастинки срібла зв'язані на їх поверхні, приготовані методом іонної імплантації).

2.4.2. Рентгеноструктурний аналіз

Розміри синтезованих Au-NPs визначали також методом рентгеноструктурного аналізу (РСА) на дифрактометрі ДРОН-3. Спектр дифракції рентгенівських променів досліджували в далекій кутовій області (10-80°).

2.4.3. Конструювання біосенсора і амперометричні вимірювання

У ролі каталітичного біоселективного елемента амперометричного біосенсора для моніторингу рівня забруднення та оцінки ефективності процесу очистки стічних вод використано комерційну лакказу. Лакказа (КФ 1.10.3.2 *p*-дифенол: оксиген оксидоредуктаза із *Trametes versicolor*) – це мідь-вмісний фермент, здатний каталізувати окислення низки фенольних сполук і ароматичних амінів. В типовій лакказній реакції фенольний субстрат піддається одно-електронному окисленню з утворенням арильного радикалу, що в наступній стадії ензиматичної реакції перетворюється в хінон (рис. 2.11).

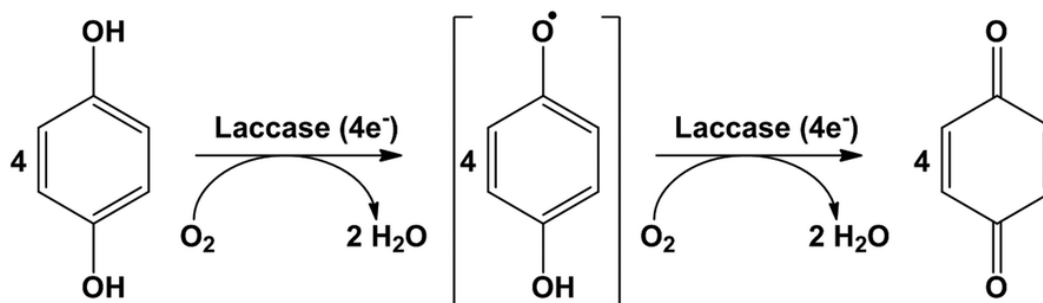


Рис. 2.11. Схема ензиматичного окислення фенольних сполук у типовій лакказній реакції.

Лакказа не потребує пероксиду водню в ролі ко-субстрату чи додаткових кофакторів для ферментативної реакції, що робить її використання надзвичайно перспективним при створенні біосенсорів для моніторингу вмісту феноловмісних сполук, у тому числі, деяких ксеноестрогенів.

Ензимний біосенсор конструювали на базі стандартного амперометричного потенціостату *CHI 1200A* (IJ Cambria Scientific Ltd, Порт Барі, Великобританія), з'єданого з персональним комп'ютером для реєстрації та обробки результатів.

У ролі робочих електродів застосовували комерційні 4 мм золоті планарні електроди *C220AT* ("DropSens", Овіедо, Іспанія) (рис. 2.12).



Рис. 2.12. Комерційний 4 мм золотий планарний електрод C220AT «DropSens».

Біорозпізнаючий шар біосенсора формували на поверхні твердотілих перетворювачів, у зв'язку з чим виникла проблема фіксації ферменту із збереженням його каталітичних властивостей. Лакказу було іммобілізовано на поверхні планарних електродів із використанням полімеру «К4» (уреазил + 0.5 мл розчину К4 (0.3 г As_2S_3 + 3 мл N-бутиламіну) в ролі іммобілізуючого агента. Іммобілізацію проводили за наступною схемою: 10 мкл препарату фермента (з концентрацією $1 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ і об'ємною активністю $13.6 \text{ Од} \cdot \text{мл}^{-1}$, у 50 мМ ацетатному буфері, рН 4.5) наносили капельним методом на поверхню робочого електроду. Після висихання розчину ферменту при кімнатній температурі (до 10 хв), поверх наносили 3 мкл розчиненого полімеру «К4» (розчинення його проводили у 99 % диметилсульфоксиді, перед розчиненням полімер подрібнювали розтираючи у фарфоровій ступці). Модифікований ферментом та полімером електрод залишали протягом 24 год у холодильній камері при $+4 \text{ }^\circ\text{C}$. При цьому відбувалось висихання ферментно-полімерної суміші і, поверх ферменту, формувалась міцна полімерна плівка. Перед використанням, біоелектроди зберігали в 50 мМ ацетатному буфері рН 4.5 при $+4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Лакказа – один із перших ферментів, для якого було описано здатність прямого переносу електронів на поверхню амперометричного трансдуктора. Цю здатність лаккази було використано нами для створення безмедіаторного біосенсора “третього покоління”. Пряме перенесення електронів можливе лише з молекул моношару ферменту, що безпосередньо контактують із поверхнею

електроду, за умови належної орієнтації активного центру фермента в достатній відстані для переносу електронів віддалі до електроду (рис. 2.13).

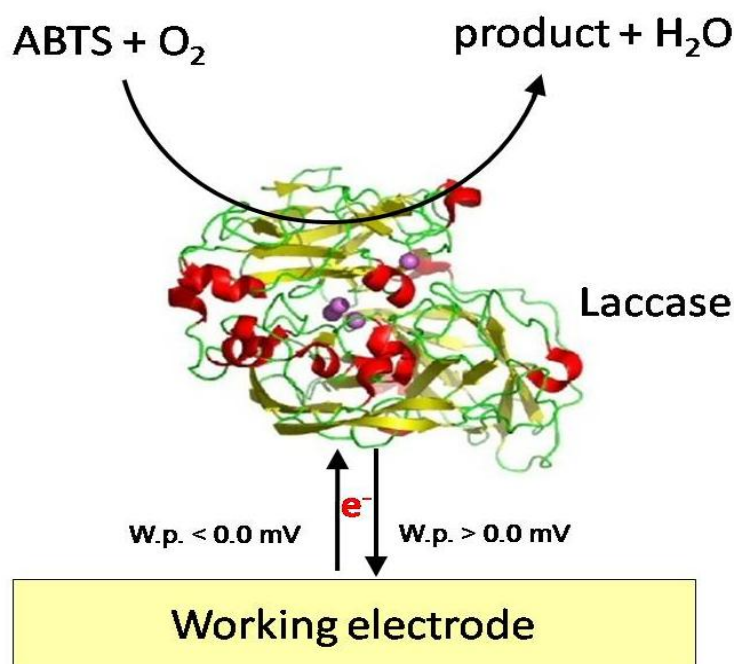


Рис. 2.13. Схема прямого переносу електронів від відновленої форми лаккази на поверхню амперометричного трансдуктора.

Для перевірки можливості прямого перенесення електронів від відновленої форми лаккази на поверхню золотого планарного електроду та визначення оптимального робочого потенціалу для цього процесу, було використано циклічну вольтамперометрію. Дослідження проводились у 50 мМ ацетатному буфері, рН 4.5 зі швидкістю сканування $7 \text{ мВ} \cdot \text{с}^{-1}$ на безмедіаторних ензимних біоселективних мембранах, сформованих на поверхні комерційного 4 мм золотого планарного електроду *C220AT* «DropSens». Як субстрат було використано 2,2'-азино-біс(3-етилбензотіазолін-6-сульфонат) (ABTS), в ролі іммобілізуючого агенту – полімер «К4».

Детальніше дослідження фізико-хімічних характеристик ABTS-селективних електродів проводилось за допомогою хроноамперометричного аналізу. Дослідження проводились при кімнатній температурі в скляній

електрохімічній мініатюризованій комірці з робочим об'ємом 4 мл, заповненій 50 мл ацетатним буфером, рН 4.5. Біоелектроди поміщали в інтенсивно перемішуваний розчин і, після встановлення базового сигналу при робочому потенціалі -100 мВ проти Ag/AgCl, в комірку вносили зростаючі концентрації ABTS. За допомогою амперометричного потенціостату *CHI 1200A* (J Cambria Scientific Ltd, Порт Барі, Великобританія), з'єданого з ПК, реєстрували та обробляли результати вимірювань у відносних одиницях зміни струму.

Висновки до розділу 2

Даний розділ присвячений методам одержання та дослідження композиційних полімерних матеріалів. Приведено детальний опис формування гібридних органічно-неорганічних полімерних композитів золь-гель методом. Наведено опис дослідження методами електронної мікроскопії (сканувальної електронної мікроскопії (SEM) та атомно-силової мікроскопії (АСМ)), позитронної анігільційної спектроскопії (ПАС) та рентгеноспектрального аналізу (РСА), а також методи оцінки ефективності іммобілізації ферменту на електропровідних наноносіях різної природи за допомогою уреасил-вмісних композитів з металевими наночастинками і халькогенідними кластерами за допомогою амперометричних підходів – циклічної вольтамперометрії та хроноамперометрії

місток, утворений в результаті реакції між NCO- та NH₂-функціональними групами. Два попередники змішували при різних молярних фракціях і перемішували протягом 15 хв при 300 об/хв перед додаванням інших інгредієнтів.

Другим етапом було приготування твердого матеріалу за допомогою золь-гелевого процесу. Його проводили у присутності гомогенізуючого агента етанолу (17 ммоль), води (27,7 ммоль) та аміаку в якості каталізатора (2,20 ммоль). Рідку суміш попередників трансформували в гель після завершення процесу золь-гель (~ 12 годин). Отриманий гель сушили протягом тижня в атмосферних умовах і далі сушили при 45 °С для видалення залишкової вологи із зразків. Серія зразків була отримана в результаті змішування двох попередників у таких пропорціях: зразок 1 (100 мол.% Прекурсор 1:0 мол. % Прекурсор 2), зразок 2 (56,6 мол.% Прекурсор 1:43,4 мол.% Прекурсор 2), зразок 3 (30,8 мол.% Прекурсор 1:69,2 мол.% Прекурсор 2), зразок 4 (12,7 мол.% Прекурсор 1:87,3 мол.% Прекурсор 2) та зразок 5 (0 мол.% Прекурсор 1:100 мол.% Прекурсор 2).

Отримані прозорі диски діаметром 18 мм і товщиною близько 3 мм, без тріщин. Фотографія типового зразка 2 представлена на рис. 3.1.

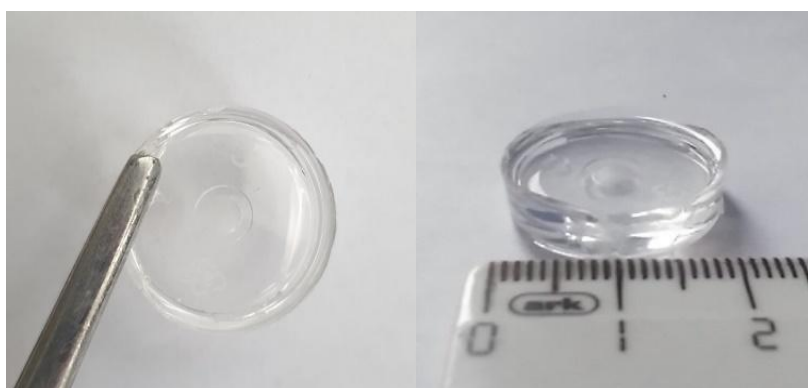
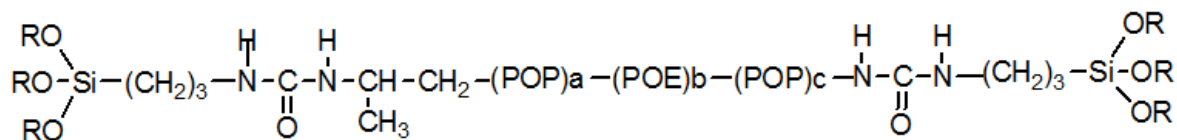


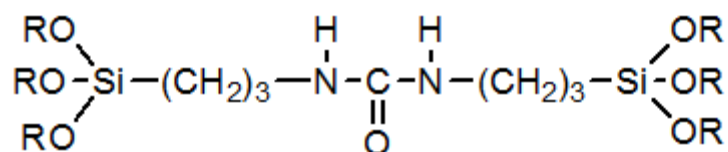
Рис. 3.1. Фотографія типового зразка 2, що використовується в поточному дослідженні [127].

Зразки серії “Е” синтезувалися при змішуванні двох прекурсорів, які мають наступні хімічні формули:

Прекурсор 1:



Прекурсор 2:



Хімічні формули прекурсорів для синтезу зразків серії “Е”.

Легко побачити, що довжина полімерного ланцюжка між атомами Si у цих двох прекурсорах помітно відрізняється. Такий вибір зразків допоможе краще зрозуміти структурні особливості уреазильного полімеру. Прекурсори змішувалися у певних співвідношеннях (табл. 3.1). Слід зауважити, що зразок E2/0 (pure) був приготований без добавки прекурсорю 2, а зразок E0/2 (pure) був приготований без добавки прекурсорю 1. Фотографії цих зразків показано на рис. 3.2.

Таблиця 3.1. Співвідношення між прекурсорами для зразків серії “Е”.

	vol % Precursor 1	vol % Precursor 2	mol % Precursor 1	mol % Precursor 2
E2/0	100	0	100	0
E1.5/0.5	75	25	56.6	43.4
E1/1	50	50	30.8	69.2
E0.5/1.5	25	75	12.7	87.3
E0/2	0	100	0	100

Синтезовані зразки серії “Е” істотно відрізняються механічними властивостями. Так, наприклад, зразок E2/0 (pure) достатньо еластичний, тоді як зразок E0/2 (pure) достатньо крихкий (рис. 3.2). В цей же час механічна твердість для зразків E1.5/0.5, E1/1 та E0.5/1.5 матиме проміжний характер. Зразки характеризуються хорошою оптичною якістю, прозорість залежить від вмісту прекурсору 2 (рис. 3.3).



Рис. 3.2. Фотографії зразка E2/0 (pure), приготованого без добавки прекурсору 2, та зразка E0/2 (pure), приготованого без добавки прекурсору 1.

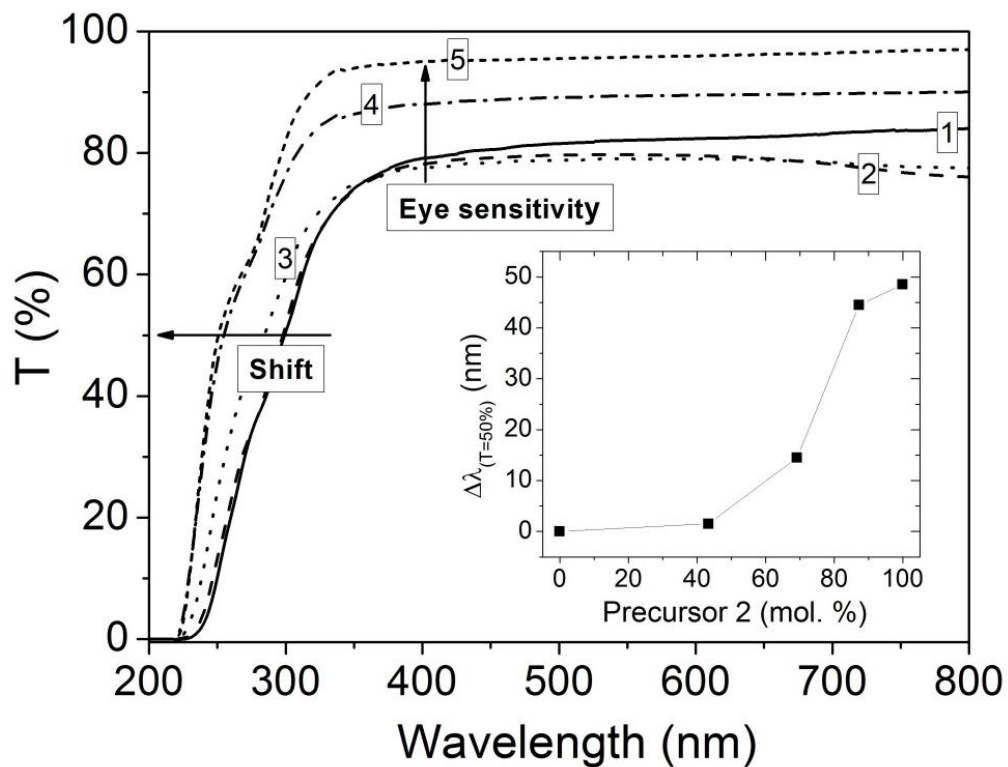


Рис. 3.3. Оптичні спектри пропускання UV-VIS досліджуваних зразків уреасилу. Врізка показує зсув краю поглинання при $T = 50\%$ проти молярного відсотка прекурсора 2 [126].

Криві ідентування, отримані для всіх випробуваних зразків, представлені на рис. 3.4. Дослідження експериментальних кривих показує, що механічна поведінка зразків різна залежно від складу та співвідношення між попередниками. Як видно на вбудованому малюнку, зразки 1 (“E1”) і 2 (“E2”) не демонструють повзучості, яка є типовою для еластичного твердого тіла.

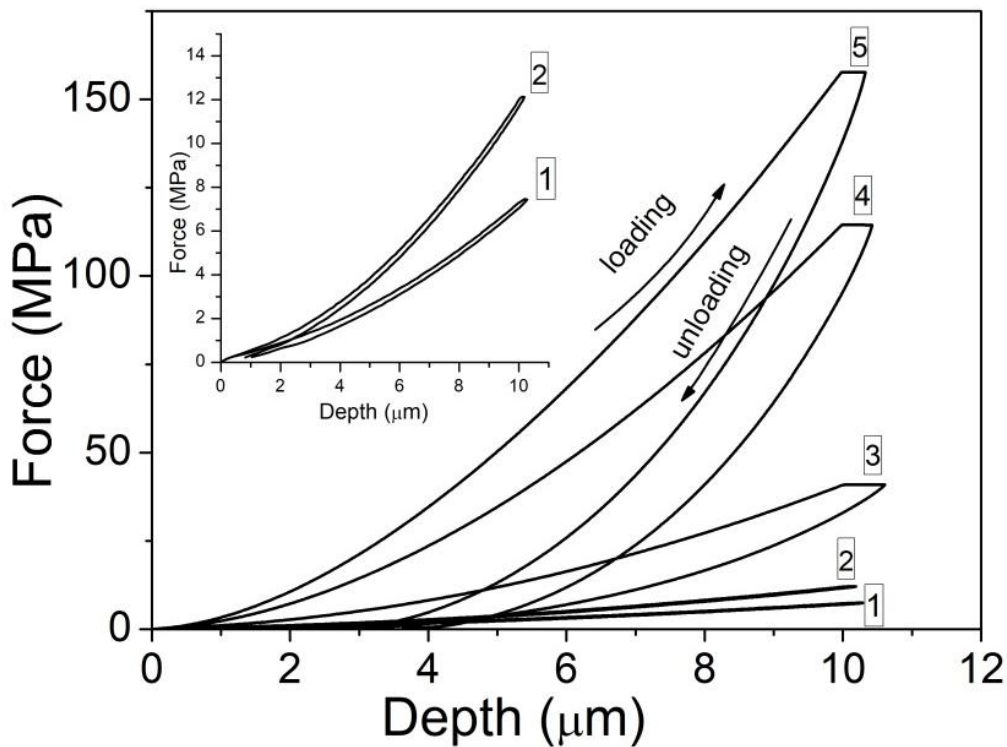


Рис. 3.4. Криві індентування, отримані для зразків серії 3 (“Е”) [126].

Залежності різних параметрів (динамічна твердість, твердість Мартенса, ідентифікаційна твердість та еластична частина ідентифікаційної роботи), які можна отримати з ідентифікаційних кривих, показані на рис. 3.5.

Отримані результати показують, що при меншому вмісті попередника 2 (Зразок 1 (“Е1”) і Зразок 2 (“Е2”)) динамічна твердість, твердість Мартенса та твердість за вдавненням демонструють незначне збільшення. У той же час ці зразки демонструють дуже високу еластичність, судячи з отриманих значень для еластичної частини ідентифікаційної роботи.

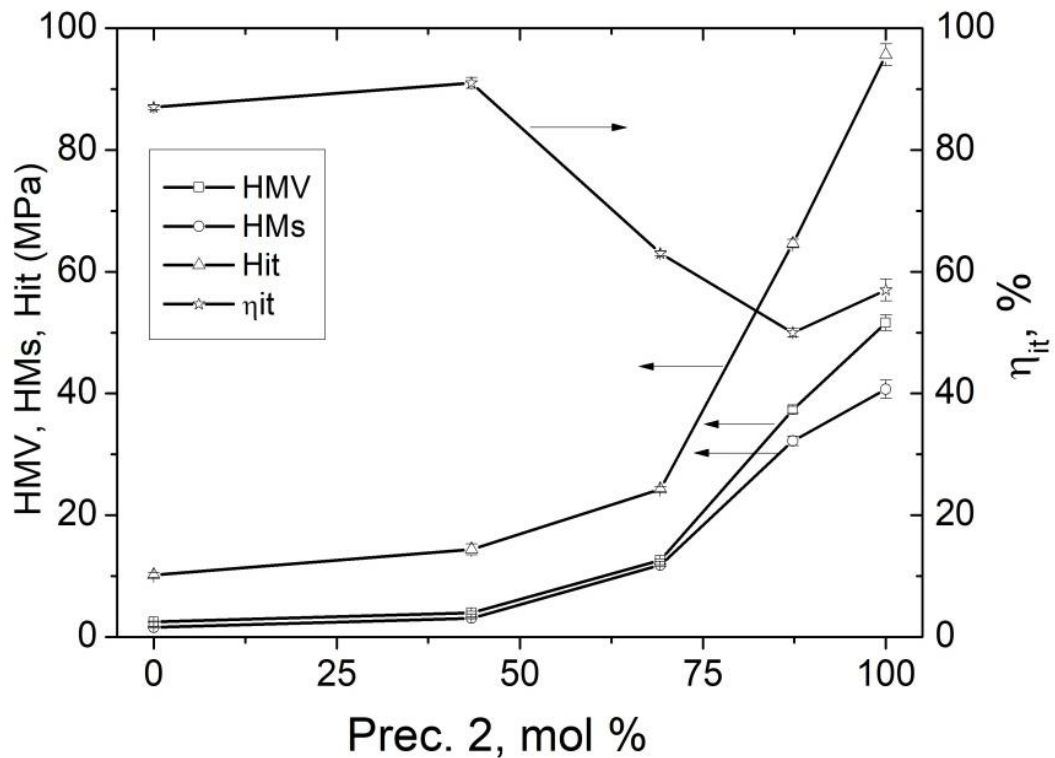


Рис. 3.5. Зависимости на динамичната твърдост (H_{MV}), твърдостта на Мартенс (H_{Ms}), идентификационната твърдост (H_{it}) и еластичната част на идентификационната работа (η_{it}) от съдържанието на Прекурсор 2 [126].

Подальше додавання Прекурсора 2 призводить до різкої зміни параметрів. Динамічна твердість, твердість Мартенса та твердість ідентифікації показали значне збільшення зразків 3 (“E3”), 4 (“E4”) та 5 (“E5”). Еластична частина роботи з ідентифікації показує протилежну поведінку. Отримані результати демонструють, що зразки 1 (“E1”) та 2 (“E2”) характеризуються високим ступенем еластичності та низькою твердістю, тоді як інші три зразки набагато твердіші. Виконані вимірювання показують, що динамічна твердість, твердість Мартенса, ідентифікаційна твердість та еластична частина роботи з ідентифікації залежать головним чином від вмісту діоксиду кремнію, що значно сприяє загальній твердості матеріалу.

Рентгенівські криві для зразків серії “E” показано на рис. 3.6. Рентгенівські спектри демонструють головний широкий пік центрований при 21.5-21.9°,

який пов'язаний з упорядкуванням силіко-оксидних (siloxane, $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$) доменів, що відповідає структурним одиницям на відстані порядку 4.1 \AA , і виявляє, що синтезовані сполуки мають аморфну структуру. Когерентна довжина L , яка пов'язана з цим піком і визначається на основі рівняння Шерера, складає порядку $16\pm 1 \text{ \AA}$. Другий порядок цього піку проявляється як широке слабе плече поблизу $35\text{-}50^\circ$. Окрім того, піки при менших кутах, приблизно $9\text{-}10^\circ$, на кривих рентгенівської дифракції можна інтерпретувати за рахунок інтерференції розсіювання між частинками.

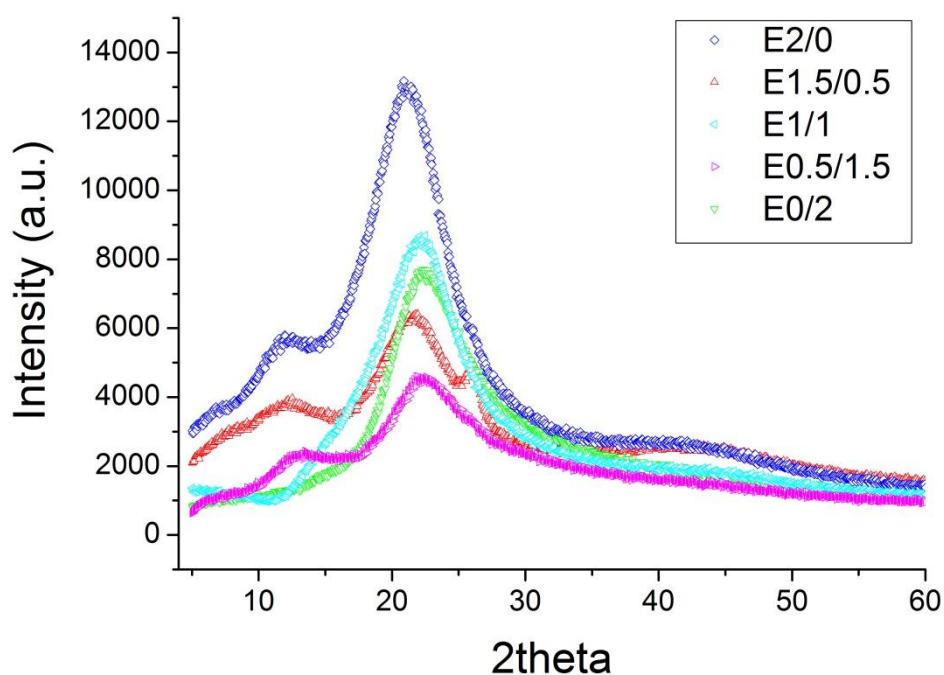


Рис. 3.6. Рентгенівські криві для зразків серії “Е” (номенклатура зразків наведено в табл. 3.1) [126].

Зразки з різним співвідношенням попередників досліджували за допомогою спектроскопії FTIR. Вібраційні спектри, що показують зміну поглинання в інфрачервоному низькочастотному діапазоні залежно від складу, представлені на рис. 3.7.

Верхній і нижній спектри являють собою відбитки пальців зразків, отриманих з "чистих" прекурсори (прекурсор 1 і прекурсор 2), тоді як три середні спектри відповідають зразкам, отриманим змішуванням прекурсора 1 і прекурсора 2 при різних співвідношеннях. Хвильові числа смуг поглинання, отримані в цій області для «чистого» прекурсора 1, сильно нагадують дані, про які повідомляється в літературі Бермудесом та ін. вібрації, відповідальні за утворення фази кремнезему. Для матеріалу уреазилу, приготованого з «чистого» Прекурсора 1, пікове положення вібрацій Si-O-Si досить складно вирішити, оскільки вони екрановані інтенсивними коливальними коливаннями C-O, що виникають від груп полієфірів.

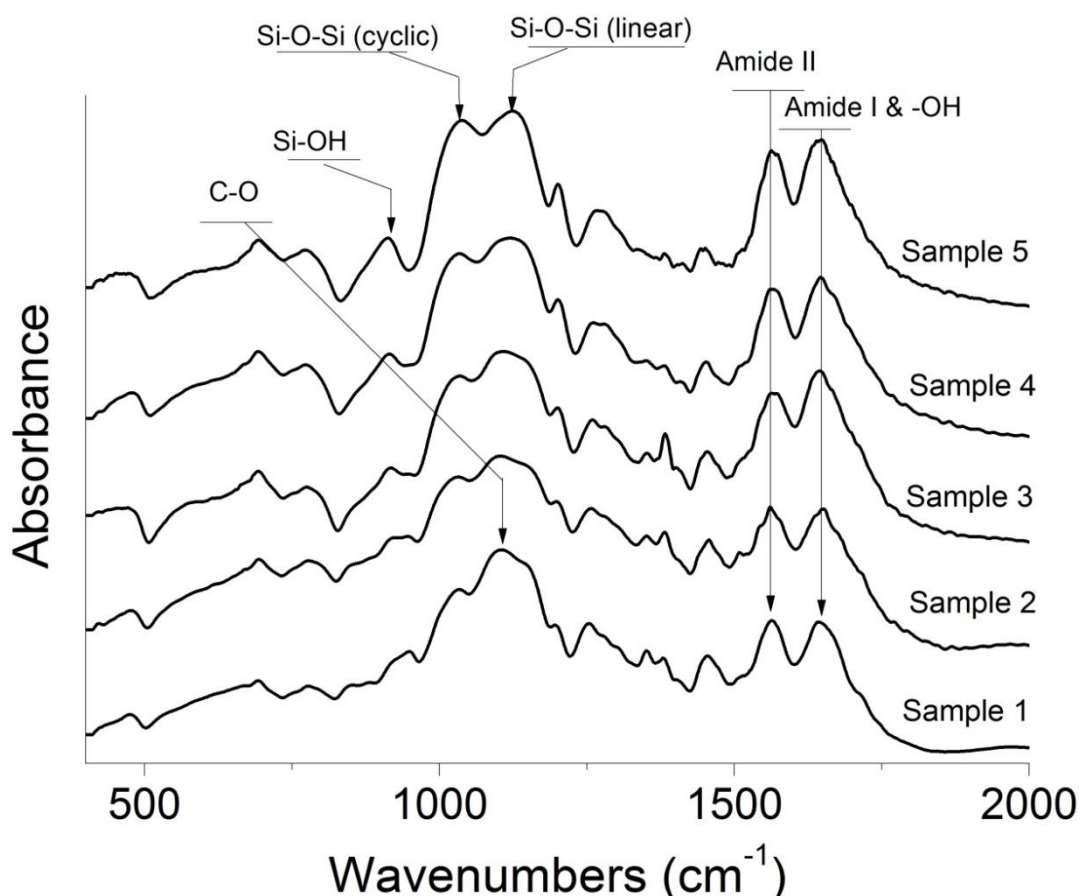


Рис. 3.7. ІЧ-спектри зразків, отриманих при різних співвідношеннях Прекурсор 1 / Прекурсор 2 [127].

Таблиця 3.2. Основні коливні моди [127].

Довжина хвилі (cm^{-1})	Віднесення
1650	amide I (C=O str.)
1640	-OH (adsorbed H ₂ O)
1560	amide II (N-H in-plane bending & C-N str.)
1120	CH ₂ twisting
1088	ν CO assym.
1030	ν CC, ν CO, rCH ₂
921	molten state
912	ν Si-OH
1033	ν Si-O-Si, assym.- cyclic
1123	ν Si-O-Si, assym.- linear

Спектральні особливості коливань Si-O-Si різко модифікуються із збільшенням додавання Прекурсора 2. Чітко видно, що при більш високому вмісті Прекурсора 2 інтенсивність цих коливальних режимів суттєво сприяє цій частині спектрів. Дві чітко визначені смуги поглинання при 1040 cm^{-1} та 1130 cm^{-1} можна легко розпізнати у зразку, позначеному як “чистий” прекурсор 2.

Залежність інтенсивності розглянутих смуг поглинання від молярних відсотків прекурсора 2 наведена на рис. 3.8. Очевидно, що зі збільшенням вмісту Прекурсора 2 кількість діоксиду кремнію постійно зростає.

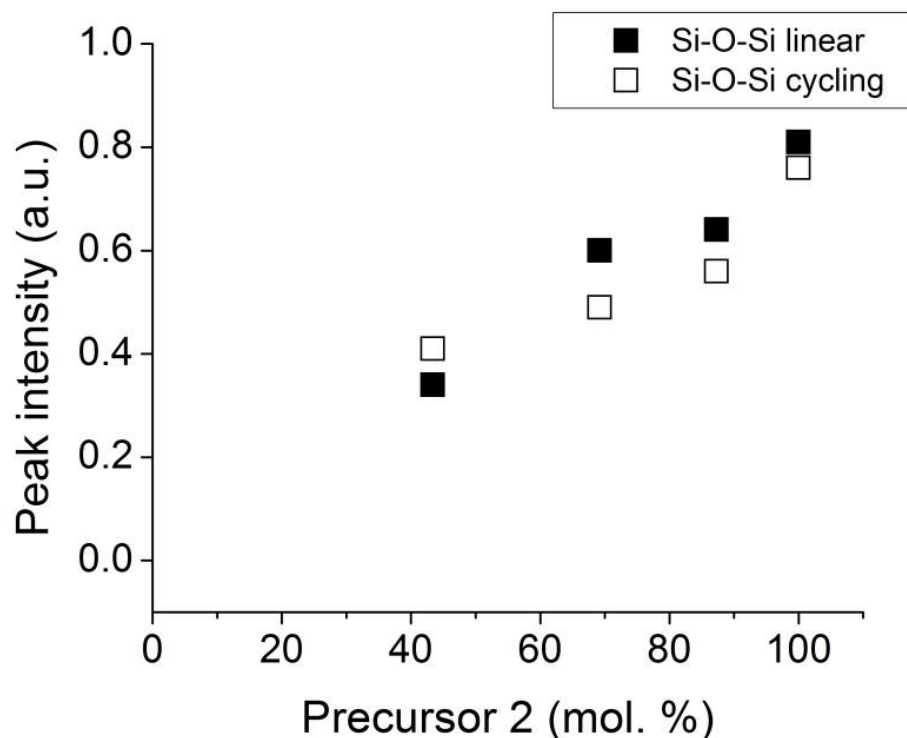


Рис. 3.8. Інтенсивність смуг поглинання Si-O-Si проти молярних відсотків прекурсора 2 [127].

SAXS

На рис. 3.9 показані профілі SAXS для двох зразків, отриманих із “чистого” прекурсора 1 (нижня крива) та прекурсора 2 (верхня крива), а також трьох зразків, приготованих із їх суміші. Профіль SAXS “чистого” прекурсора 1 характеризується добре вираженим одиночним піком з локальним максимумом, що знаходиться на рівні $2,59 \text{ nm}^{-1}$. Цей пік пояснюється інтерференційним ефектом в амплітуді розсіювання рентгенівських променів, спричиненого існуванням просторово корельованих кремнієвих нанокластерів, також відомих як кремнієві нанодомени, вбудовані в органічну матрицю (фаза 1, зображена на графіку) [127]. Знайдено хорошу узгодженість між теоретичною функцією $I(q)$ та експериментальним SAXS з використанням моделі апроксимації двофазної системи.

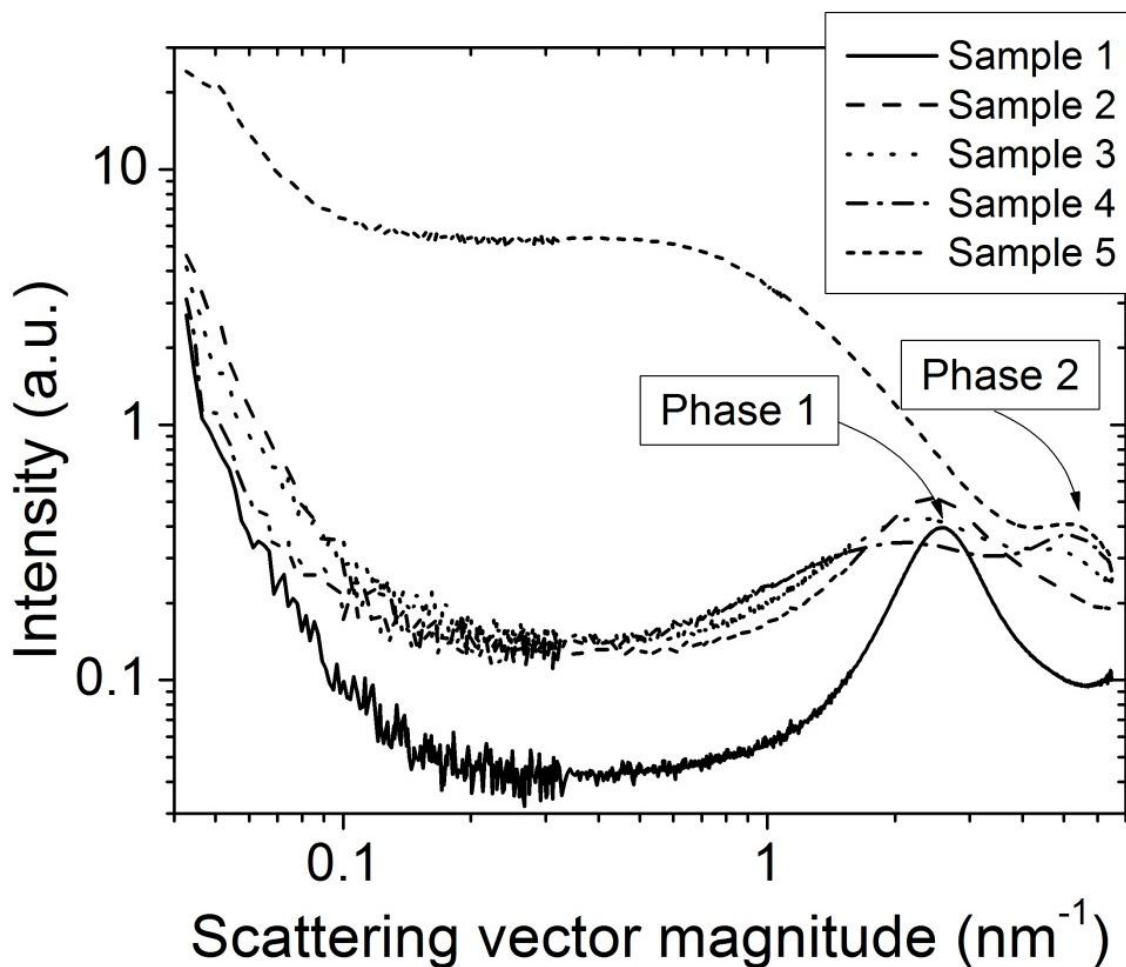


Рис. 3.9. Інтенсивність розсіювання в порівнянні з величиною вектора розсіювання для гібридних сумішей, приготованих з різними співвідношеннями Прекурсор 1 / Прекурсор 2 [127].

Додавання прекурсора 2 сильно впливає на форму експериментальних кривих. Пік, пов'язаний з просторово корельованими кремнієвими нанокластерами, стає ширшим і зміщується до меншого q [127]. Збільшення розширення піку та падіння амплітуди розсіювання вказує на те, що ступінь упорядкованості кластерів стає менш визначеною з додаванням прекурсора 2. При нижчому вмісті прекурсора 2 просторова кореляція частинок фази 1 все ще зберігається. При більш високому вмісті прекурсора 2 виявляється виражене зменшення просторової кореляції фази 1. Зі збільшенням вмісту прекурсора 2 ідентифікується новий пік, розташований на $5,18 \text{ nm}^{-1}$ (Фаза 2, як зображено на

графіку). Це пов'язано з утворенням нанокластерів кремнію, отриманих конденсацією прекурсора 2, але набагато менш корельованих. Експериментальний профіль SAXS зразка 5 (“чистий” прекурсор 2) свідчить про те, що фаза 2 силосану є сильно полідисперсною, але також визнана незначна просторова кореляція частинок силосану.

Середня відстань (d_s) між нанодоменами силосану фази 1, оцінена за формулою $d_s = 2\pi/q_{\max}$ (q – модуль вектора розсіювання), представлена в таблиці 3.3. Існує очевидна тенденція зростання середньої відстані між нанодомени силосану фази 1. Це означає, що ця фаза стає більш «розбавленою» із збільшенням вмісту прекурсора 2 .

Таблиця 3.3. Кореляційні відстані, пов'язані з мікрофазним поділом між твердими сегментами (скупченнями силосану, хімічно пов'язаними мітками сечовини) та м'якими сегментами (полімерні ланцюги) [127].

Sample	Precursor 1 (mol %)	Precursor 2 (mol %)	Average distance d_s for Phase 1 (nm)
Sample 1	100	0	2.41
Sample 2	56.6	43.4	2.53
Sample 3	30.8	69.2	2.66
Sample 4	12.7	87.3	2.85
Sample 5	0	100	n/a

Для структури зразка, отриманого з прекурсора 1, ми спробували створити морфологічну модель, що виражає структуру отриманих матеріалів (рис. 3.10) [127].

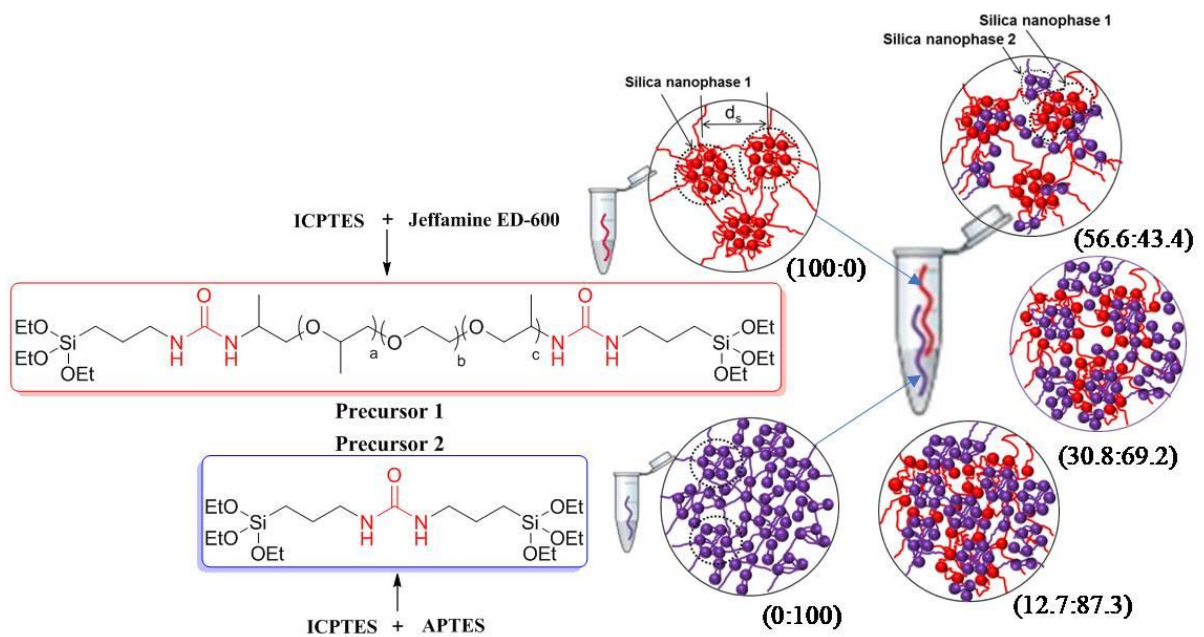


Рис. 3.10. Морфологічна модель структури зразків, отриманих з прекурсора 1 (зразок 1 - (100: 0)) та прекурсора 2 (зразок 5 - (0: 100)), та трьох зразків, приготованих з їх суміші (зразки 2 - (56,6: 43,4), 3 - (30,8: 69,2), 4 - (12,7: 87,3) [127].

Згідно з моделлю, кластери силоксану (червоні сфери, показані на малюнку зліва) агрегуються в доменах, утворюючи дворівневу ієрархічну структуру. Первинний структурний рівень складають нанокластери силоксану, утворені в результаті реакцій поліконденсації між видами на основі кремнію, розташованими на кінцях полімерних ланцюгів. Вторинний структурний рівень складається з доменів з високою середньою електронною густиною, в яких кластери силоксану відокремлені в органічній фазі низької щільності. Очевидно, що полімерні ланцюги знаходяться в складеному стані всередині доменів і в майже розширеному стані між ними.

Додавання прекурсора 2 призводить до руйнування просторово корельованих частинок діоксиду кремнію фази 1 через утворення фази 2, багатой кремнеземом (фіолетові сфери). Ця принципова діаграма молекулярної структури демонструє, як частинки фази 2 розсовують частинки діоксиду кремнію фази 1, тим самим руйнуючи їх просторову кореляцію. Чистий

прекурсор 2 представлений злегка корельованими частинками (пік близько 5 нм⁻¹) і випадковим чином розподіленими частинками (широка смуга при нижньому q).

Аналіз спектрів життя проводився за допомогою програми LT Polymers із використанням трьох дискретних компонентів для досліджуваних зразків 1, 3 та 5 досліджуваних уреасилів [127]. Додатковий компонент тривалості життя o- P_s повинен був бути використаний у випадку зразка 5, через гіршу дисперсію припасування при аналізі трьох компонентів. Слабкий компонент тривалого життя був зафіксований на рівні 12,2 нс, оскільки він мало залежав від температури. Температурні залежності часу життя o- P_s (у випадку зразка 5 представлений основний компонент o- P_s) досліджуваних зразків показані на рис. 3.11. Температурні залежності демонструють кілька важливих фактів. Зокрема, спостерігається значне зменшення розширення вільного об'єму порожнин вище температури склування T_g із збільшенням вмісту прекурсора 2 у зразках. T_g визначається методом PALS як перетин схилів залежностей $V_h(T)$. Зі збільшенням вмісту прекурсора 2 температура T_g зростає і не виявляється для зразка 5. Нижчі температури, коли змінюється нахил $V_h(T)$ також визначали і позначали як другу або температуру переходу під склом T_g' . Напевно до Chen та співавт. 20, ми вважаємо T_g' скляним переходом у міжфазній області між органічною частиною полімеру та нанофазою кремнезему в нанокompозитах. У таблиці 3 показані температури T_g , T_g' , коефіцієнти теплового розширення об'єму вільної порожнини для областей нижче і вище T_g , а також їх відмінності. Вищезазначені факти, які пов'язані з температурними проявами (тобто розширенням) вільного об'єму, вказують на більш жорсткий і більш зшитий зразок 5 з найбільшим вмістом прекурсора 2. Більша або менш гістерезисна поведінка $V_h(T)$ у зразку під час охолодження відбулися цикли нагрівання. Це вказує на систему з довшим часом релаксації для структурної реорганізації. Коли температура змінюється, мережі потрібно деякий час, щоб досягти певного стану рівноваги.

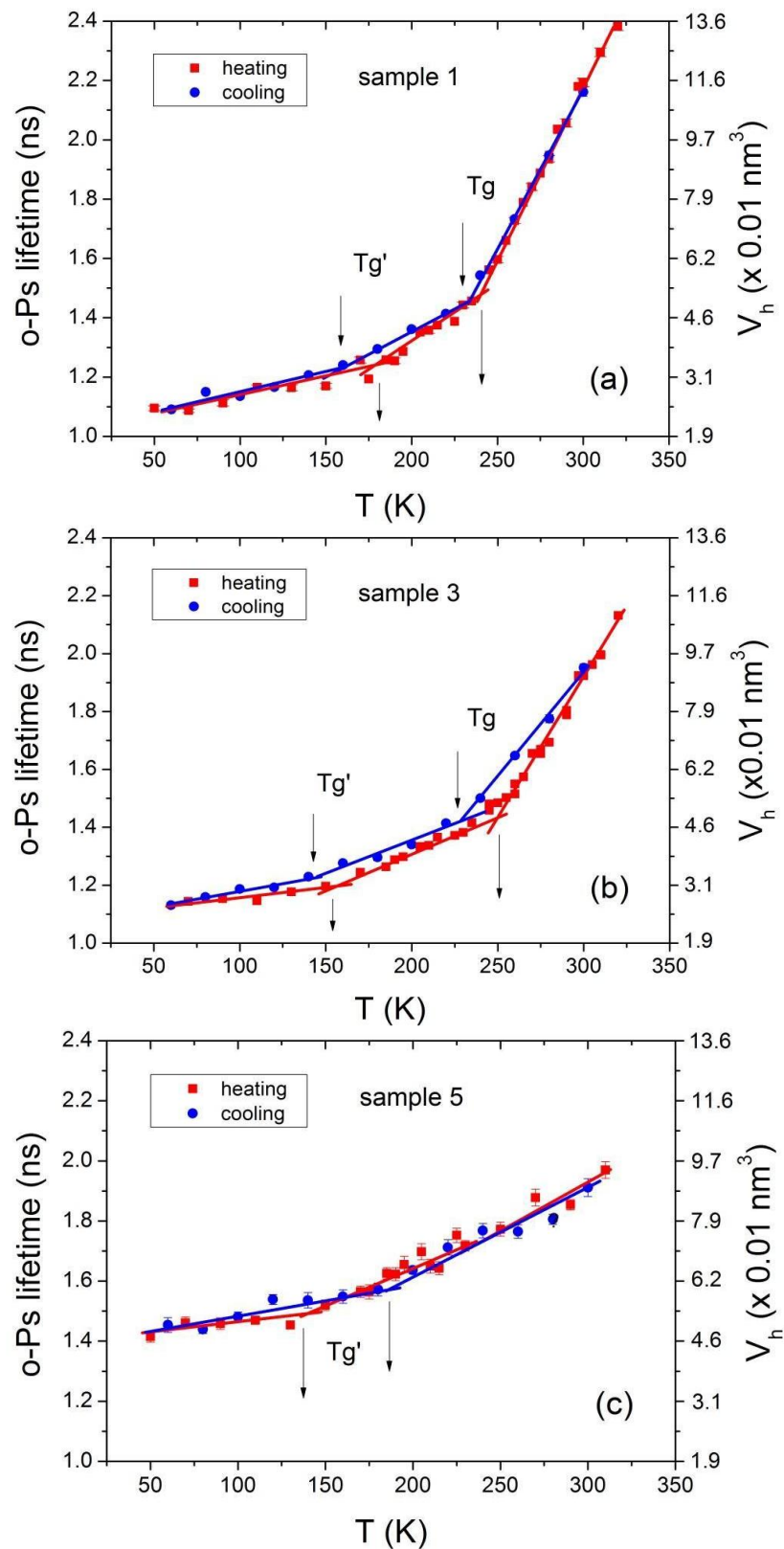


Рис. 3.11. Температурна залежність основного часу життя o-Ps зразків уреазилу, досліджених PALS та оцінених програмою LT Polymers: а) зразок 1, б) зразок 3 та в) зразок 5. Вільний об'єм порожнин V_h , розрахований за рівняннями. 1 і 2 знаходяться на правій вертикальній осі [127].

Таблиця 3.4. Температура склування (T_g) і температура склування (T_g'), а також їх різниця ($T_g - T_g'$), об'єм отвору (V_h) при T_g , нахили α_{F1} , α_{F2} залежностей $V_h(T)$ нижче і вище T_g , а також їх різниця ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$), а також набряклість (S_{sat} – перше значення при насиченому стані, і S_{max} – максимальне значення насиченого стану) в EtOH для досліджуваних полімерів [127].

Sample	T_g (K)	T_g' (K)	$T_g - T_g'$ (K)	$V_h(T_g)$ (nm ³)	α_{F1} (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	α_{F2} (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	$\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$ (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	S_{sat}/S_{max} (%)
Sample 1, h	239 (14)	169 (37)	70	0.050 (0.009)	53 (11)	213 (40)	160	36.2
Sample 1, c	232 (21)	156 (26)	76	0.050 (0.005)	44 (5)	181 (20)	137	/ 37.8
Sample 3, h	250 (20)	153 (31)	97	0.049 (0.005)	39 (5)	163 (19)	124	19.6
Sample 3, c	231 (28)	143 (79)	88	0.048 (0.01)	34 (9.00)	131 (27)	97	/ 22.3
Sample 5, h	n/a	137 (50)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	9.3 /
Sample 5, c	n/a	184 (83)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	-

h - heating, c - cooling

Найбільший гістерезис відбувається при охолодженні зразка 3 поблизу температури T_g . У цьому випадку зразок охолоджували від 300 К до 245 К з максимальною швидкістю охолодження, заданою технічними можливостями криогенератора (2,5 К/хв), а потім зразок вимірювали ізотермічно при 245 К протягом декількох годин. Характерний час досягнення рівноваги при даній температурі становить 1,3 (+/- 0,2) години.

Існування більших дірок, встановлених аналізом спектрів життя зразка 5 за допомогою програми LT Polymers, також було підтверджено іншим методом аналізу спектрів життя програми MELT. Були проаналізовані спектри при кімнатній температурі та для великої кількості подій у спектрі. У цьому випадку оцінки (рис. 3.12) розщеплення компонента o-Prs на два компоненти зі збільшенням вмісту прекурсора 2 спостерігалось при нижчих значеннях

ентропії. Для максимального вмісту Прекурсора 2 (зразок 5) спостерігали до трьох компонентів o -Ps, що свідчить про значну неоднорідність. Ця неоднорідність мережі в поєднанні з жорсткістю пояснює проблеми набрякання та швидкого розпаду зразків, як обговорюється нижче.

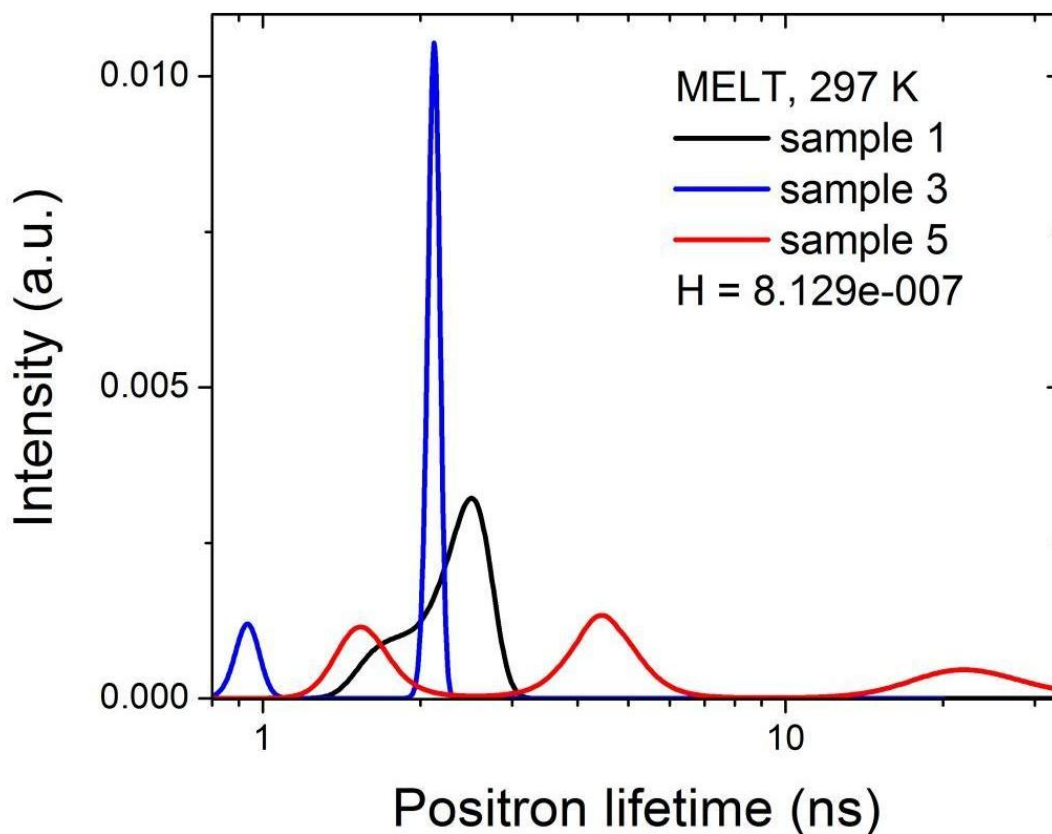


Рис. 3.12. Результати аналізу максимальної тривалості ентропії (MELT) позитронного часу досліджуваних зразків уреасилу при кімнатній температурі 297 К. H на вставці означає параметр ентропії, який був обраний для оптимальної підгонки [127].

Оцінені середні розміри порожнини за допомогою сферичного наближення з аналізу MELT наведені в таблиці 3.5. Як видно з таблиці, зразок 5 демонструє високу неоднорідність вільного об'єму в діапазоні розмірів 0,5-2 нм (діаметр). Це відображає його зшивання, хімічний склад та стабільність зв'язку. Виявляється, під час набухання структура порушується, а під час нагрівання та

оохолодження система дуже жорстка з невеликим тепловим розширенням вільних порожнин. Питання полягає в тому, чи присутність полярних груп ОН у зразку 5 (див. рис. 3.7) не спричиняє додаткових фізичних зв'язків (Н-зв'язків) між частинами ланцюга і тим самим збільшує жорсткість та неоднорідність вільного об'єму системи. Наявність більших дірок можна більше зрозуміти як прояв широкої дисперсії порожнин у зразку 5, що виявляється в оцінці спектру життя за допомогою підходу MELT при певній вибраній ентропії у вигляді трьох дуже широких розподілів. Це явище наявності великих дірок у зразку 5 варто вивчити окремо в майбутньому.

Таблиця 3.5. Розрахункові радіуси сферичних порожнин у зразках 1, 3 та 5 з аналізу MELT при температурі 297 К. Використовували $\Delta R = 0,1656$ нм.

Sample	R_{h1} (nm)	R_{h2} (nm)	R_{h3} (nm)
Sample 1	0.27	0.33	-
Sample 3	0.16	0.30	-
Sample 5	0.24	0.46	0.98

Рис. 3.13 показує залежне від часу набухання трьох зразків (1, 3, 5). Набухаючість (S_{sat} – перше значення в насиченому стані, і S_{max} – максимальне значення насиченого стану) в EtOH для досліджуваних полімерів представлена в таблиці 3.5. У цій серії зразок 5 демонструє структурну дестабілізацію в EtOH через 1 добу та насичення ваги передбачає сильно зшиту структуру мережі. Обидва параметри, тривалий час насичення до стійкого стану та низька набухаючі здатність зразка означають, що зразок 3 має вищу щільність зшитих зразків 1.

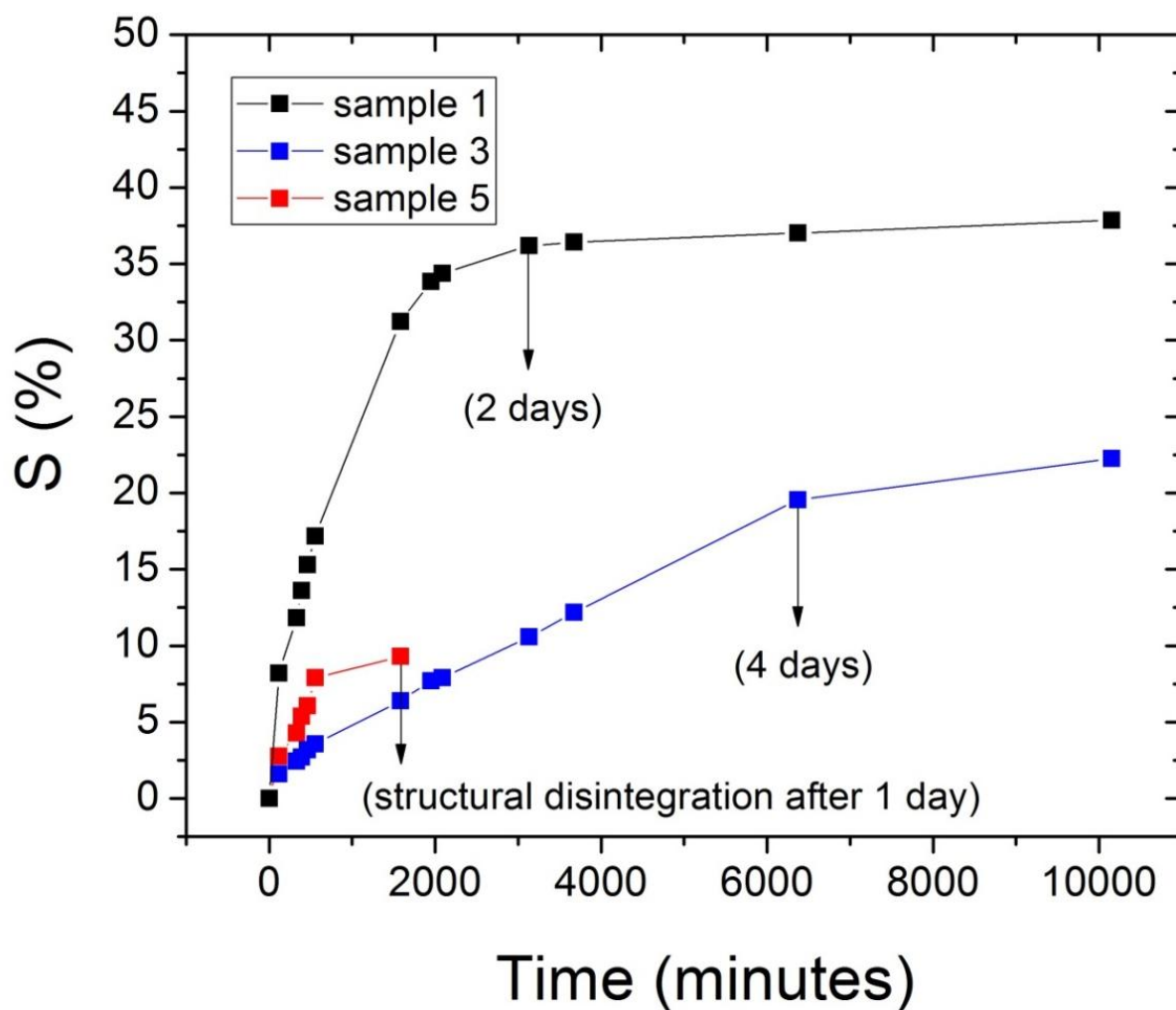


Рис. 3.13. Залежність набрякання (S) від EtOH від часу для трьох досліджуваних полімерів (зразки 1, 3 та 5) [127].

3.2. Фізико-хімічні особливості композиційних полімерів з халькогенідними мікрочастинками

Схематичне представлення структури уреасильного полімеру наведено на рис. 3.14. Результати, отримані методом скануючої електронної мікроскопії (SEM), які представлені на рис. 3.15-3.17, щодо структурних особливостей As_2S_3 -вмісних уреасильних скло-полімерних матеріалів відомі з літератури [128]. Встановлено, що синтез металевих наночастинок срібла в чистому полімері приводить до так званої мозаїчної структури, в той час як введення в матрицю уреазилу халькогенідних частинок демонструє формування

наночастинок срібла на халькогенідних мікросферах розміром 3-6 мкм, причому більш ефективно у випадку As_2S_3 -Ag наноструктури. Це говорить про можливість утворення обірваних зв'язків на поверхні цих мікросфер.

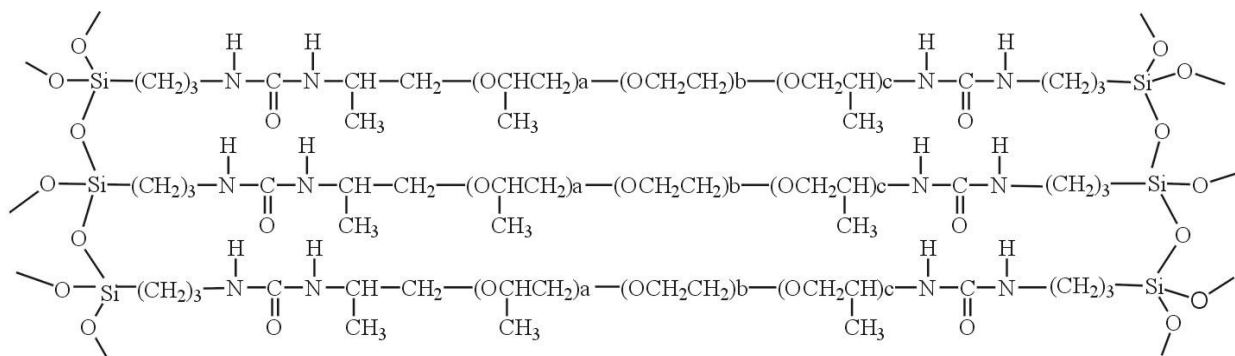


Рис. 3.14. Схематичне представлення структури уреазильного полімеру з халькогенідними мікрочастинками.

СЕМ зображення не імплантованих та імплантованих зразків композиційних полімерів з халькогенідними мікрочастинками показано на рис. 3.15-3.17, а зображення деяких зразків на рис. 3.18.

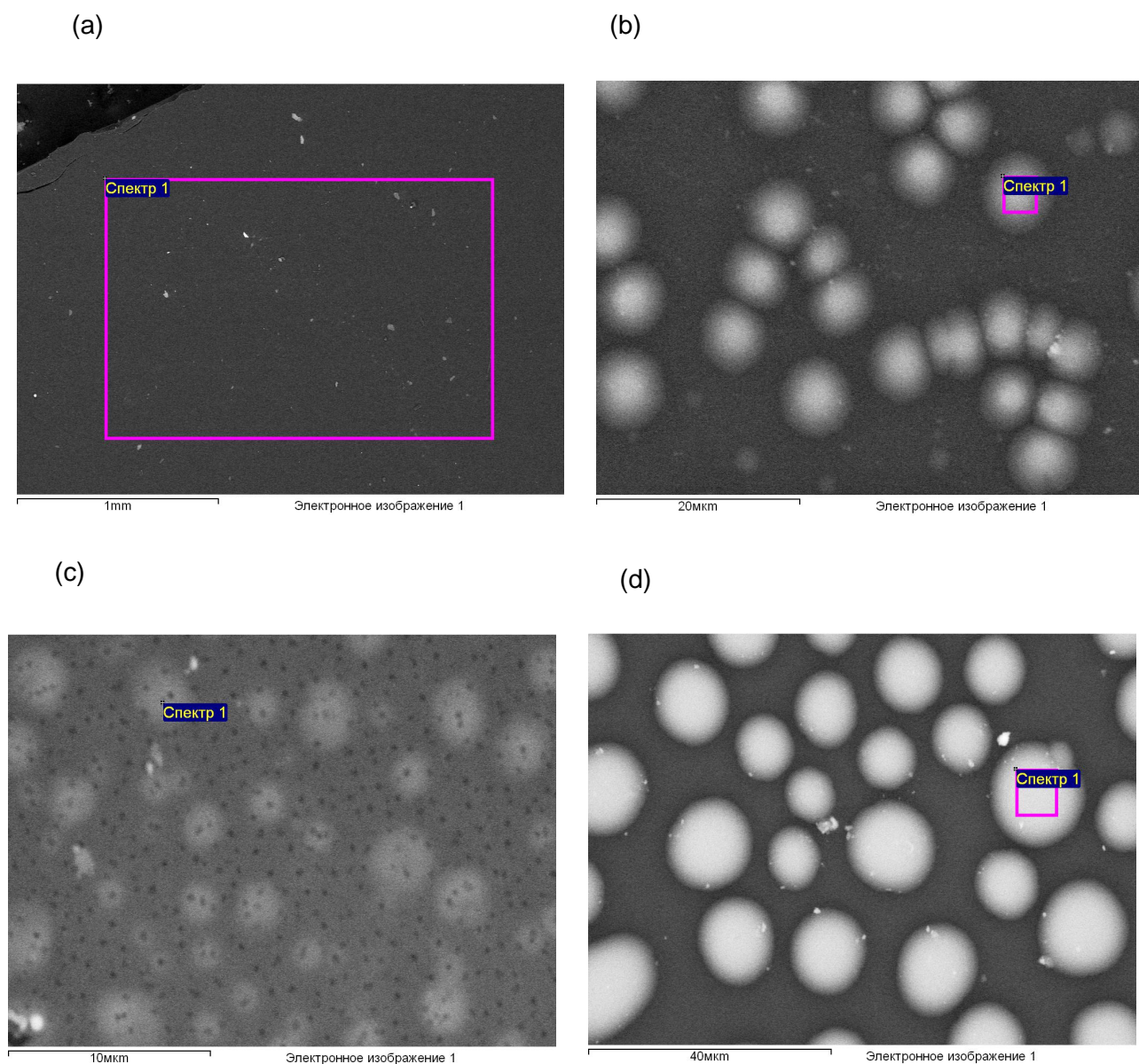


Рис. 3.15. SEM зображення не імплантованих (a) ureasil, (b) (0.1g) $As_2S_3/ureasil$, (c) (0.3g) $As_2S_3/ureasil$, та (d) (0.15g) $(As_2S_3)_{95}Ag_5/ureasil$ [128].

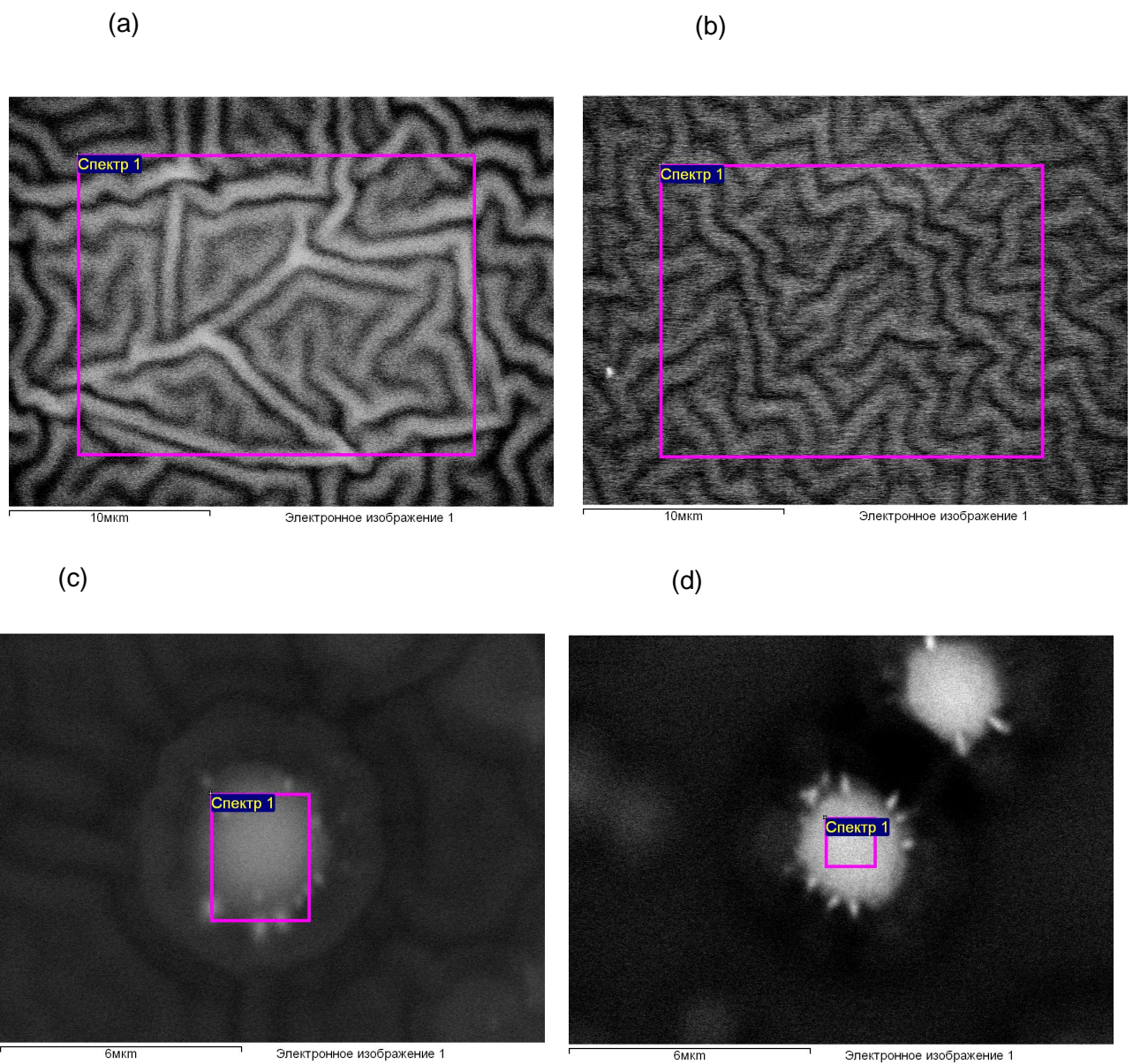


Рис. 3.16. SEM зображення імпантованих (a) ureasil з дозою $5.0 \cdot 10^{16}$ іон/см², (b) ureasil з дозою $7.5 \cdot 10^{16}$ іон/см², (c) (0.1g) As₂S₃/ureasil з дозою $5.0 \cdot 10^{16}$ іон/см², та (d) (0.1g) As₂S₃/ureasil з дозою $1.0 \cdot 10^{17}$ іон/см² [128].

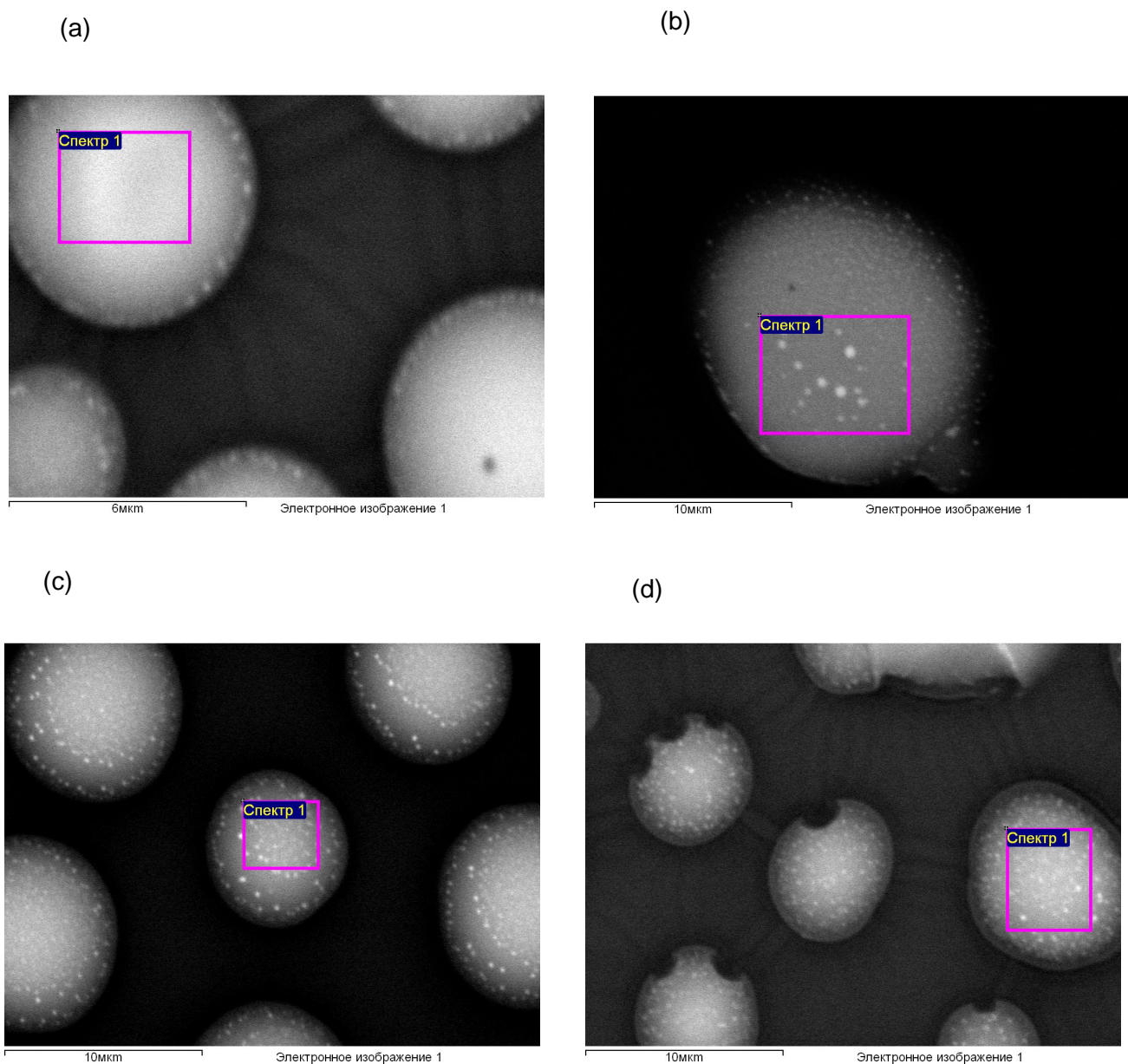


Рис. 3.17. СЕМ зображення імплантованих (0.15g) $(As_2S_3)_{95}Ag_5/ureasil$ (a, b, c) з дозою $5.0 \cdot 10^{16}$ іон/см², та (d) з дозою $7.5 \cdot 10^{16}$ іон/см² [128].

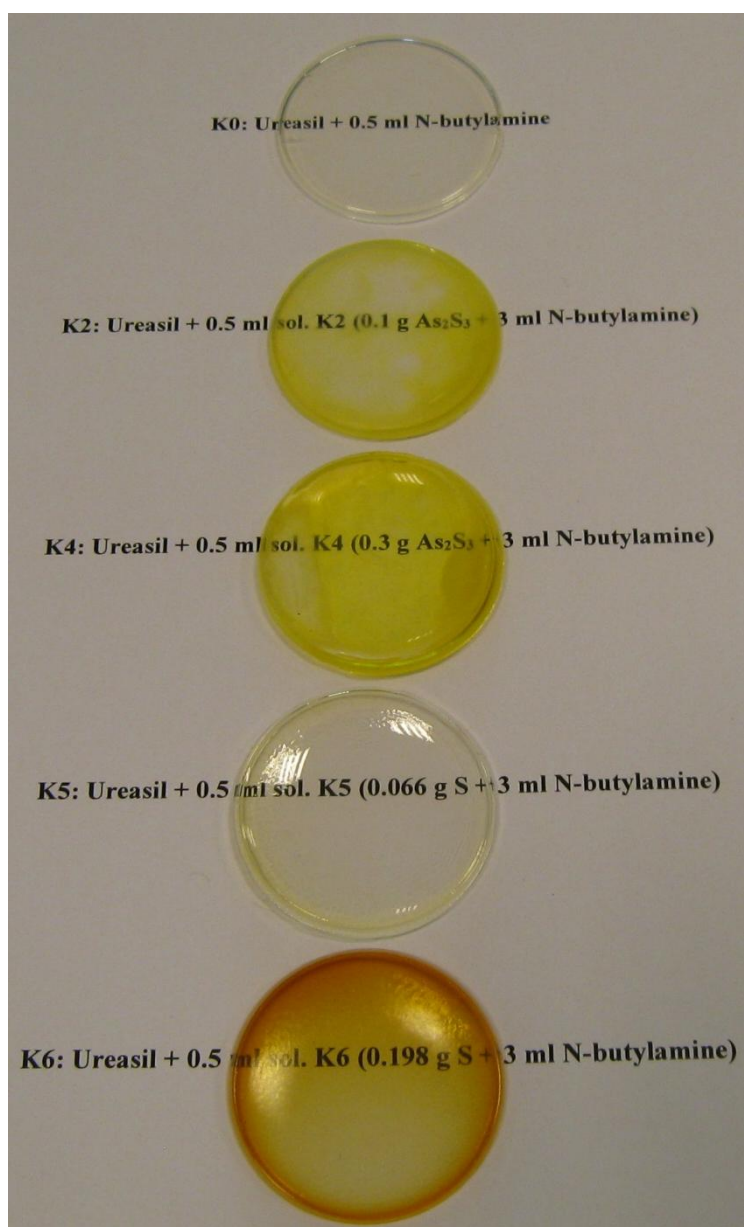


Рис. 3.18. Синтезовані уреазил-вмісні композити з халькогенідними наноносіями (As_2S_3 та S).

Результати УФ-видимої спектроскопії для уреазил-вмісних композитів з халькогенідними частинками показано на рис. 3.19. Номенклатура зразків взята відповідно до рис. 3.18. З отриманих спектрів оптичного поглинання видно, що для матриць уреазил-вмісних композитів з халькогенідними частинками К2 (0.1 г As_2S_3) та К4 (0.3 г As_2S_3) спостерігається зростання оптичного поглинання та зсув краю оптичного поглинання у довгохвильову область спектру за рахунок збільшення вмісту As_2S_3 . Аналогічний ефект спостерігається для матриці К6 (0.198 г S) з достатнім вмістом сірки, що свідчить про однорідний розподіл сірки в матриці уреазилу. Для порівняння, при недостатньому вмісті сірки у випадку зразка К5 (0.066 г S), ефекту зростання оптичного поглинання та зсуву краю оптичного поглинання у довгохвильову область спектру не спостережено.

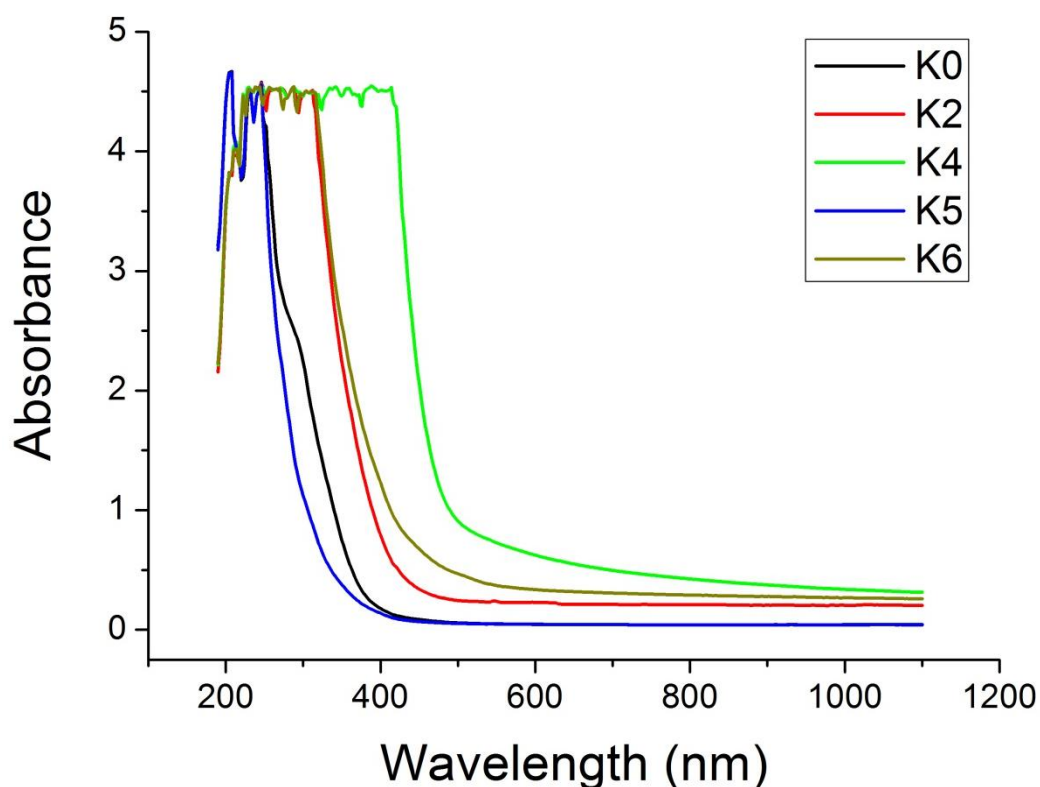


Рис. 3.19. Спектр оптичного поглинання для уреазил-вмісних композитів з халькогенідними частинками (номенклатура зразків відповідно до рис. 3.18).

Дослідження синтезованих уреазил-вмісних композитів з халькогенідними частинками за допомогою методів позитронної анігіляційної спектроскопії (ПАС) та термогравиметрії (ТГА) проводилися в Інституті фізики Словацької академії наук (м. Братислава, Словаччина) у межах існуючої тісної науково-технологічної співпраці.

У методі ПАС середній розмір сферичної порожнини R визначається часом життя компоненти *орто*-позитронію o -Ps на основі напівемпіричного співвідношення (1), де $\Delta R = 0.166$ nm – емпірична константа. Відповідний середній об’єм порожнини V_h визначається формулою (3.2):

$$\tau_{o-Ps} = 0.5 \left\{ 1 - \frac{R}{R + \Delta R} + \frac{1}{2\pi} \sin \left[\frac{2\pi R}{R + \Delta R} \right] \right\}^{-1} \quad (3.1)$$

$$V_h = \frac{4}{3} \pi R^3 \quad (3.2)$$

Температурні залежності часу життя *орто*-позитронію o -Ps дають можливість отримати інформацію також про температуру склування полімеру T_g та коефіцієнти α_{F1} та α_{F2} лінійного термічного розширення вільного об’єму нижче та вище T_g та їх різницю ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$), що є надійними характеристиками мікроструктурного вільного об’єму полімерної сітки. Результати проведених досліджень методом ПАС показано на рис. 3.20, 3.21 та підсумовано в табл. 3.6.

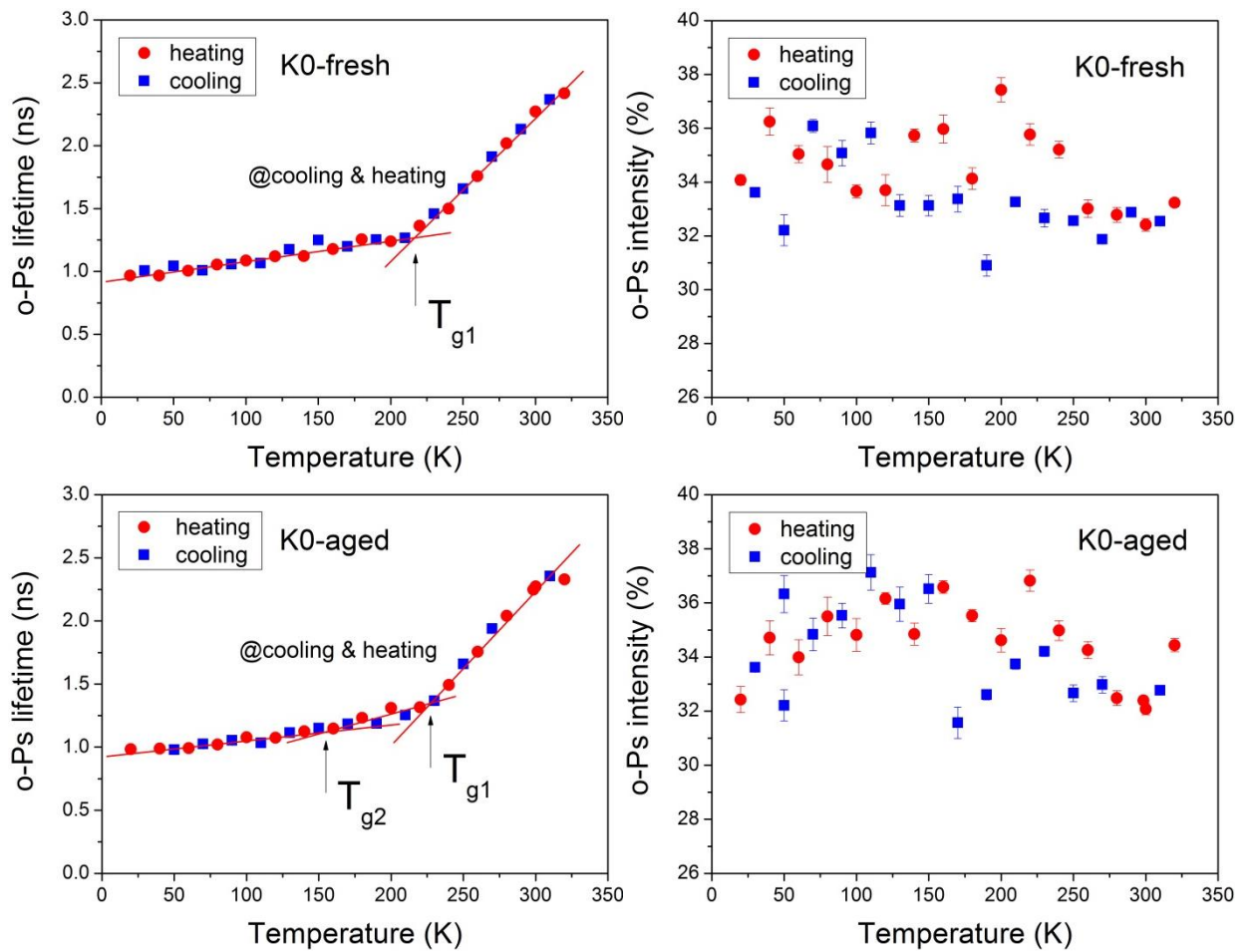


Рис. 3.20. Температурні залежності часу життя компоненти *орто*-позитронію *o*-Ps (зліва) та інтенсивності (справа) для досліджуваних зразків уреасильних полімерних матриць K0 (номенклатура зразків наведено на рис. 3.18) [106].

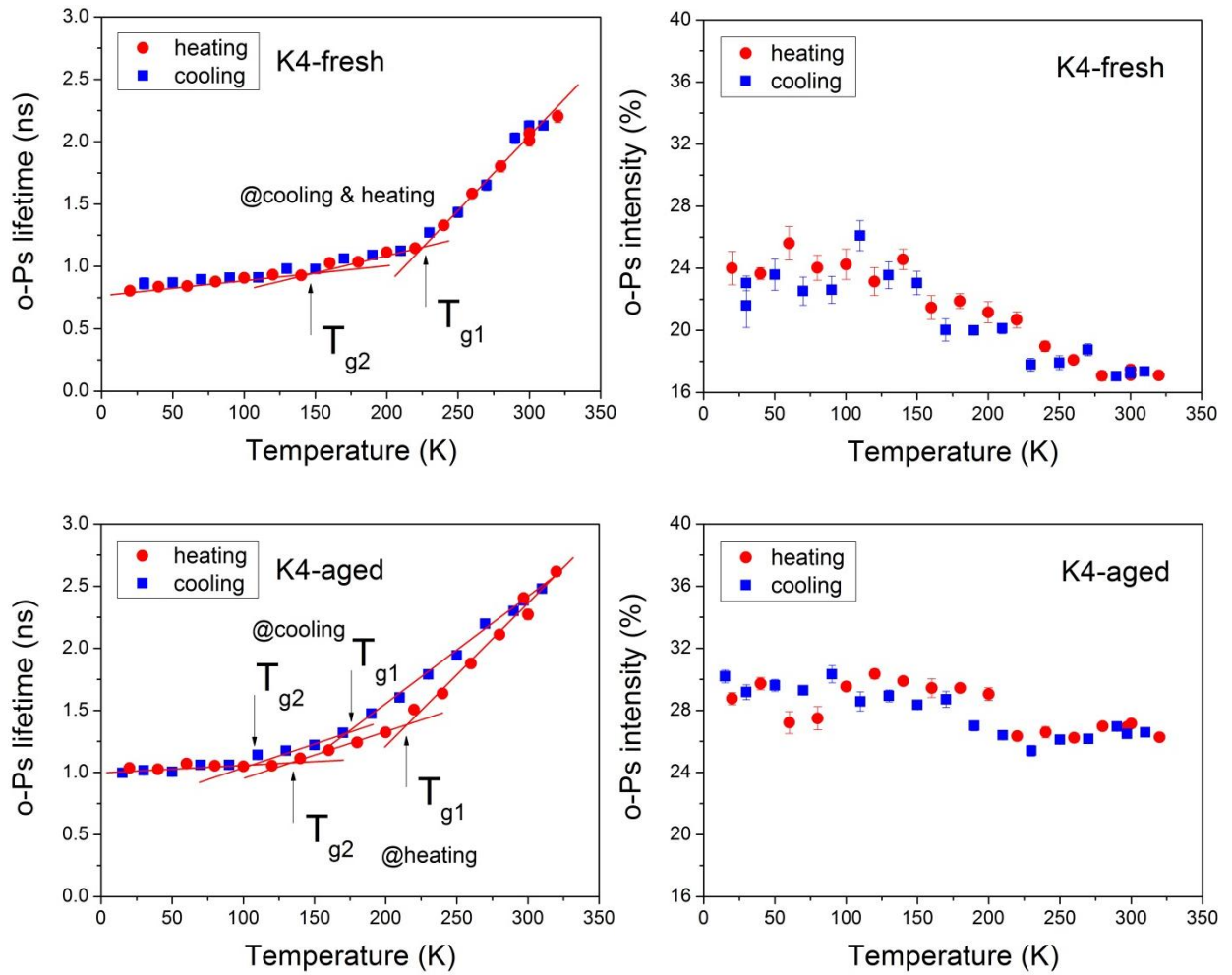


Рис. 3.21. Температурні залежності часу життя компоненти τ_3 орто-позитронію *o*-Ps (зліва) та інтенсивності I_3 (справа) для досліджуваних зразків урезильних полімерних матриць з халькогенідними частинками К4 (номенклатуру зразків наведено на рис. 3.18) [106].

Таблиця 3.6. Вільний об'єм V_{h1} при температурі склування T_{g1} , найнижча температура при якій залежність $V_h(T)$ змінює свій нахил і визнається як друга температура склування T_{g2} , та коефіцієнти термічного розширення α_{F1} та α_{F2} мікроскопічного вільного об'єму нижче та вище T_{g1} для досліджуваних полімерів (c: cooling (цикл охолодження); h: heating (цикл нагрівання) [106].

Зразок	V_{h1} (nm ³)	T_{g1} (K)	T_{g2} (K)	$\alpha_{F1} (T < T_{g1})$ (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	$\alpha_{F2} (T > T_{g1})$ (10 ⁻⁴ K ⁻¹)
K0-fresh (c & h)	0.123 ± 0.002	216 ± 13	-	25 ± 3	286 ± 21
K0-aged (c & h)	0.123 ± 0.003	230 ± 19	166 ± 89	53 ± 22	273 ± 99
K4-fresh (c & h)	0.104 ± 0.001	227 ± 18	126 ± 38	48 ± 10	344 ± 63
K4-aged (c)	0.134 ± 0.001	178 ± 19	88 ± 58	46 ± 17	206 ± 56
K4-aged (h)	0.123 ± 0.004	228 ± 38	130 ± 38	56 ± 22	237 ± 84

У методі ТГА реєстрували зміну маси зразка досліджуваної речовини в залежності від часу та порівнювали отримані результати із експериментом набухання для відповідних зразків з використанням етанолу (EtOH) в якості розчинника. Аналіз кривих ТГА дозволяє встановити момент часу при якій зміна ваги відбувається найшвидше. Результати проведених досліджень методом ТГА показано на рис. 3.22. Результати проведеного експерименту набухання з використанням етанолу (EtOH) показано на рис. 3.23.

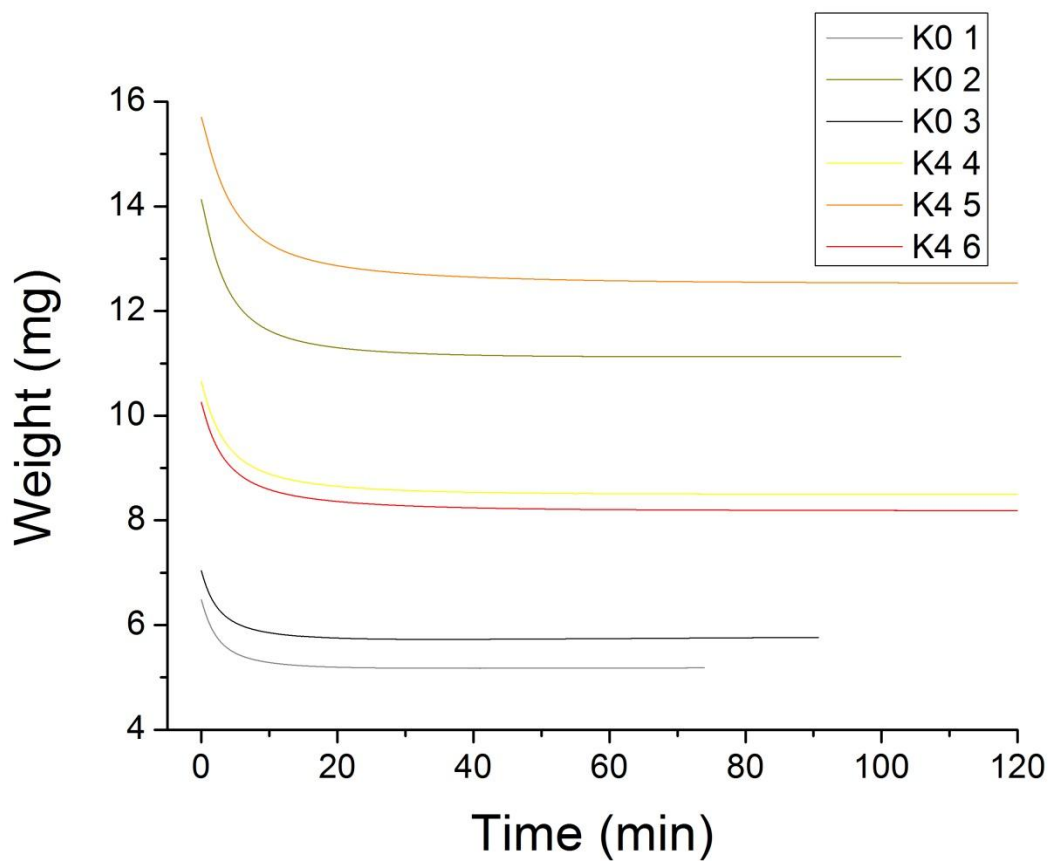


Рис. 3.22. ТГА криві зміни маси досліджуваних зразків урезильних полімерних матриць без (K0) та з халькогенідними частинками (K4) в залежності від часу (номенклатура зразків наведено на рис. 3.18).

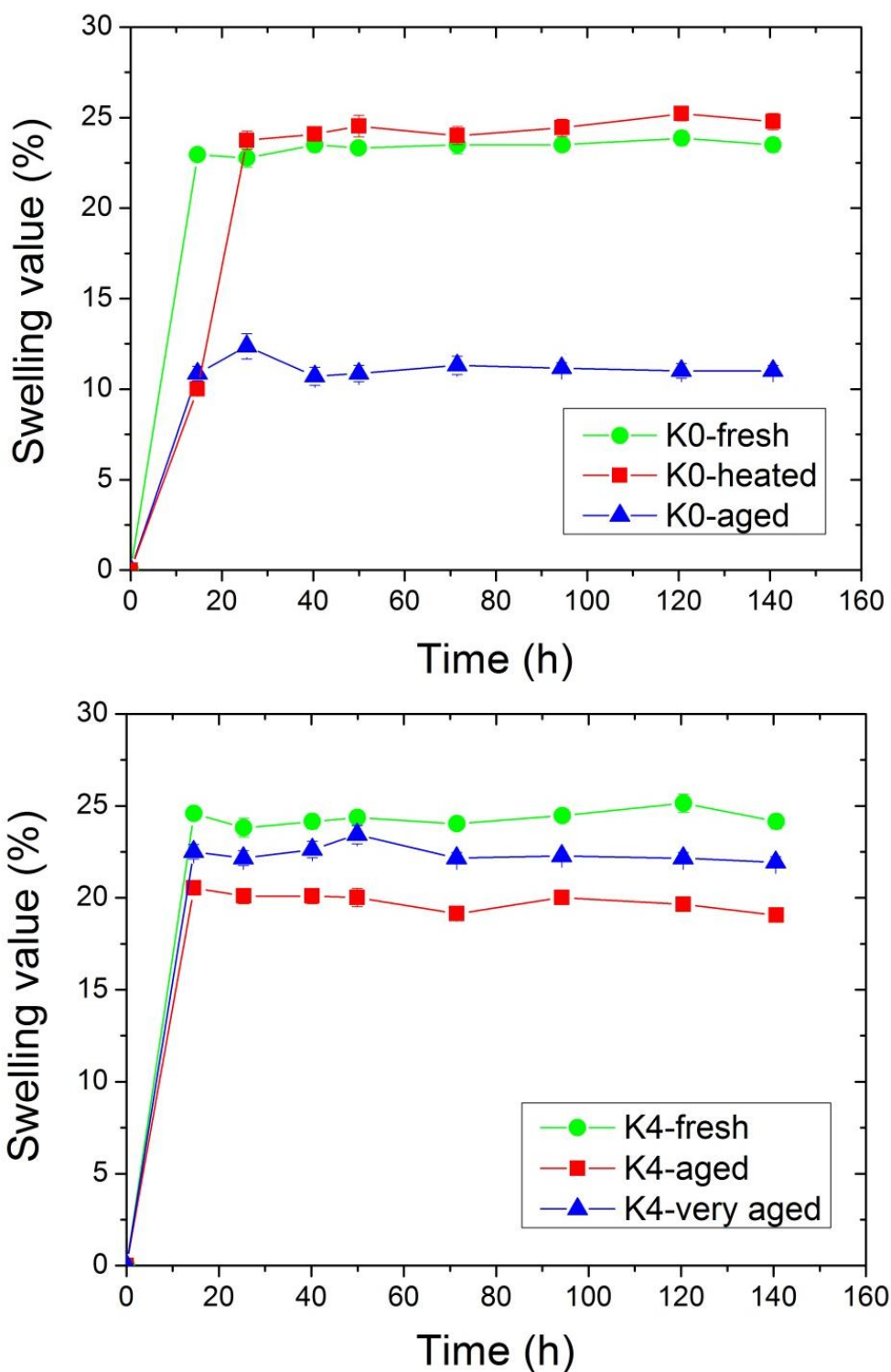


Рис. 3.23. Експеримент набухання для досліджуваних зразків урезильних полімерних матриць без (K0) та з халькогенідними частинками (K4) в залежності від часу (номенклатуру зразків наведено на рис. 3.18) [106].

Результати експериментів ТГА та набухання корелюють між собою, з яких слідує, що уреазильні полімерні матриці з халькогенідними частинками К4 характеризуються більшими значеннями набухання (меншим ступенем зшивки) у порівнянні з чистими уреазильними полімерними матрицями К0.

3.3. Дослідження параметрів композиційних полімерних матриць в залежності від концентрації введених іонів металів

На рис. 3.24 показано СЕМ зображення імплантованого уреасил/ As_2S_3 композиту з дозою $1,0 \cdot 10^{17} \text{ Ag}^+/\text{см}^2$. Імплантація Ag^+ іонів призводить до утворення наночастинок срібла (Ag-НЧ) безпосередньо на поверхнях халькогенідних кластерів. Це підтверджується рентгеноспектральним аналізом в областях чистої матриці (спектр 3) і кластера (спектр 2). Результати представлені на рис. 3.25. Бачимо, що пік Ag збільшується, коли доза іонів змінюється від $5,0 \cdot 10^{16}$ до $1,0 \cdot 10^{17} \text{ Ag}^+/\text{см}^2$ (рис. 3.25 та 3.26).

Підтвердженням, що дійсно утворюються наночастинки срібла в імплантованих уреасилікатни полімерних матрицях служать спектри оптичного пропускання, де спостережувана смуга поглинання відповідає за поглинання наночастиками срібла (рис. 3.27).

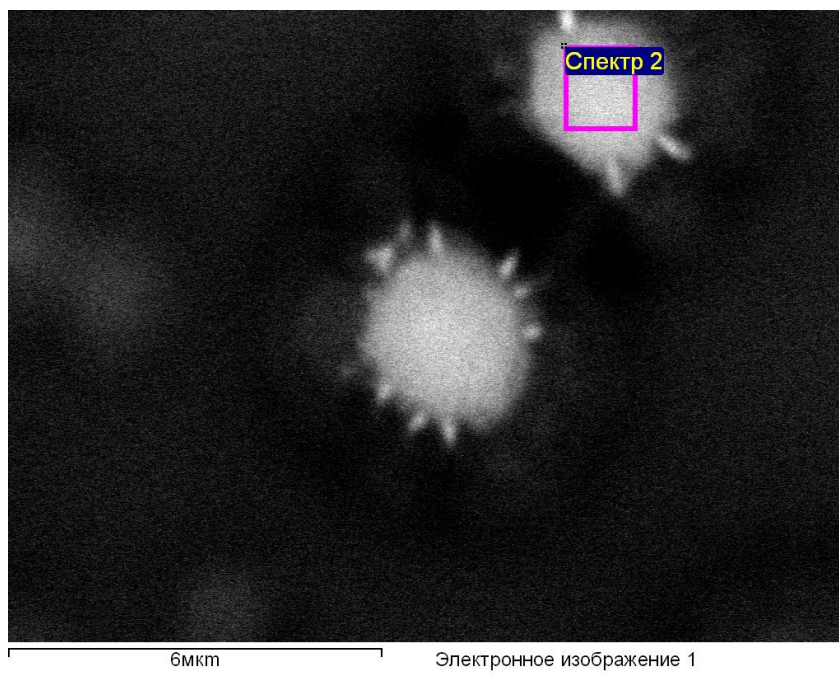
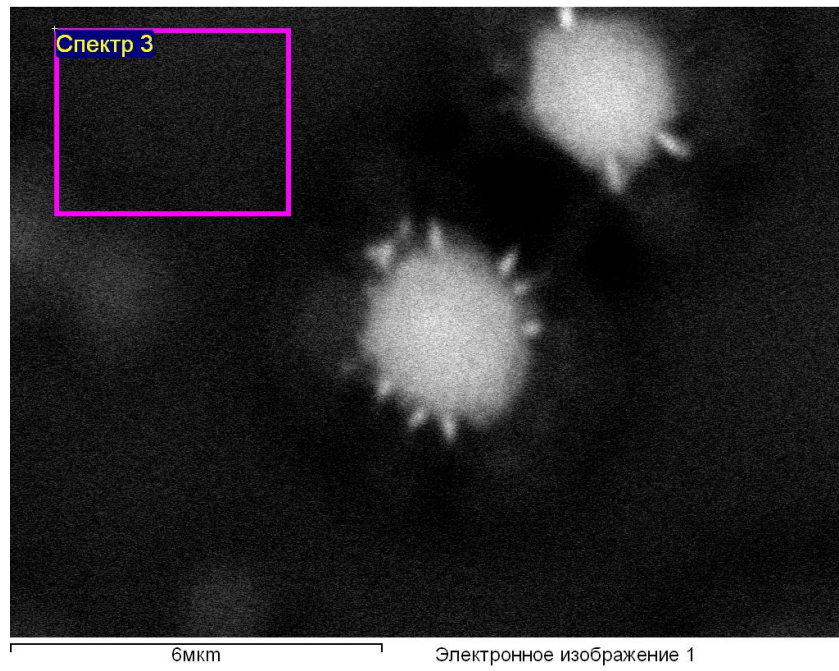


Рис. 3.24. СЕМ зображення уреасил/ As_2S_3 композиту з наночастинками срібла [129].

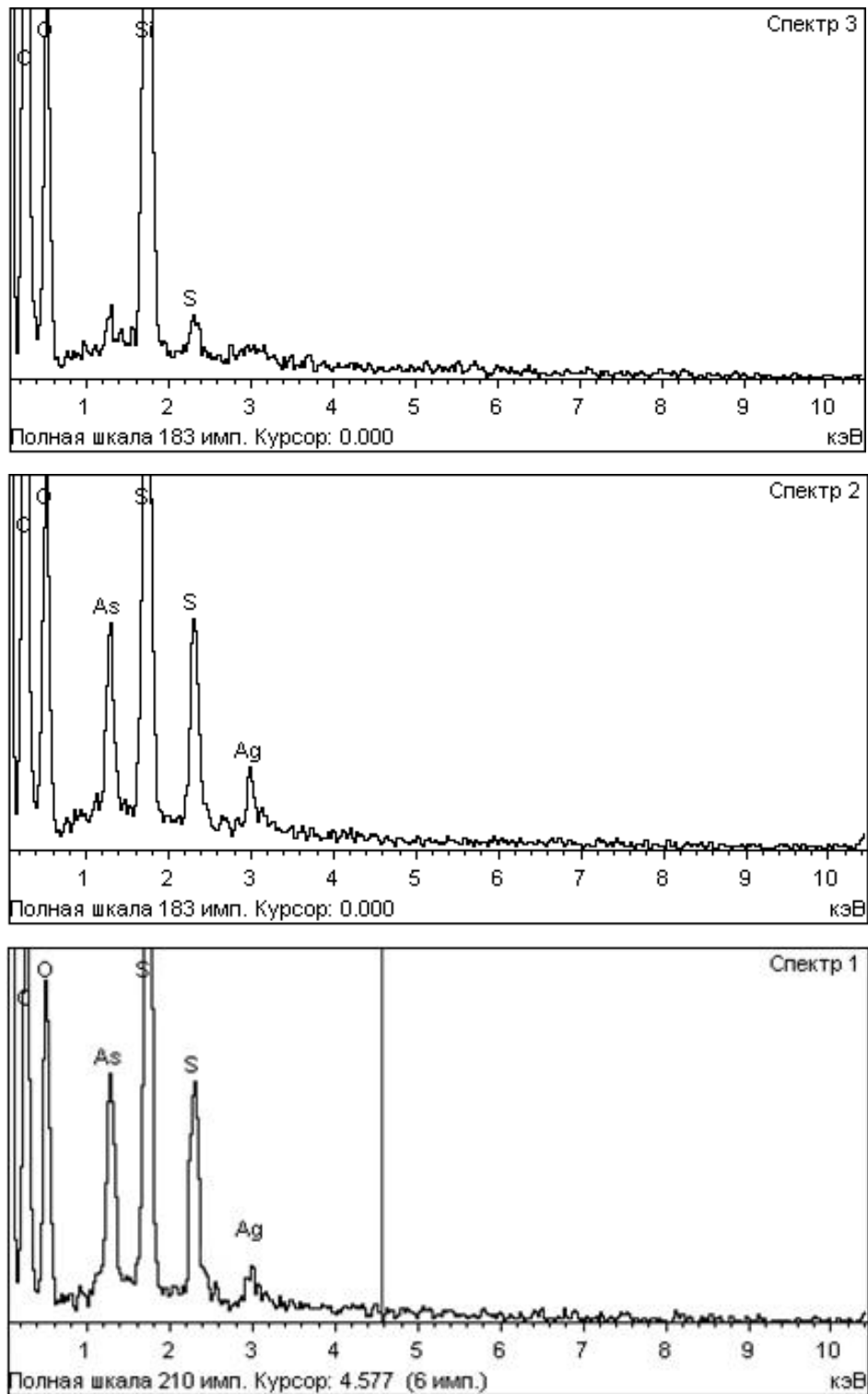


Рис. 3.25. Локальний рентгеноспектральний аналіз уреасил/ As_2S_3 композиту з дозою $1,0 \cdot 10^{17} \text{Ag}^+/\text{см}^2$ в області матриці (верхній, спектр 3), кластеру (середній, спектр 2) та з дозою $5,0 \cdot 10^{16} \text{Ag}^+/\text{см}^2$ в області кластеру (нижній, спектр 1) [129].

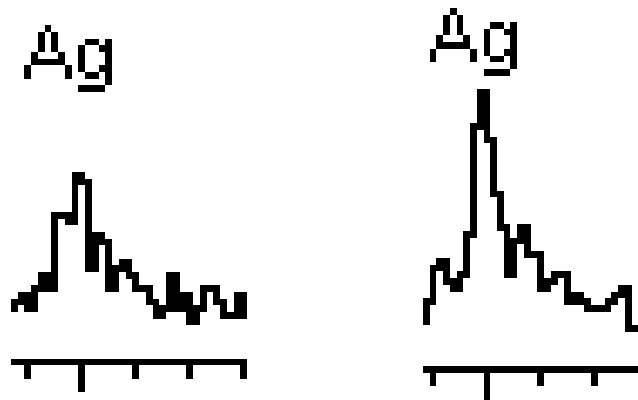


Рис. 3.26. Локальний рентгеноспектральний аналіз Ag для уреасил/ As_2S_3 композиту з дозами $5,0 \cdot 10^{16} \text{ Ag}^+/\text{cm}^2$ (зліва) та $1,0 \cdot 10^{17} \text{ Ag}^+/\text{cm}^2$ (справа) [129].

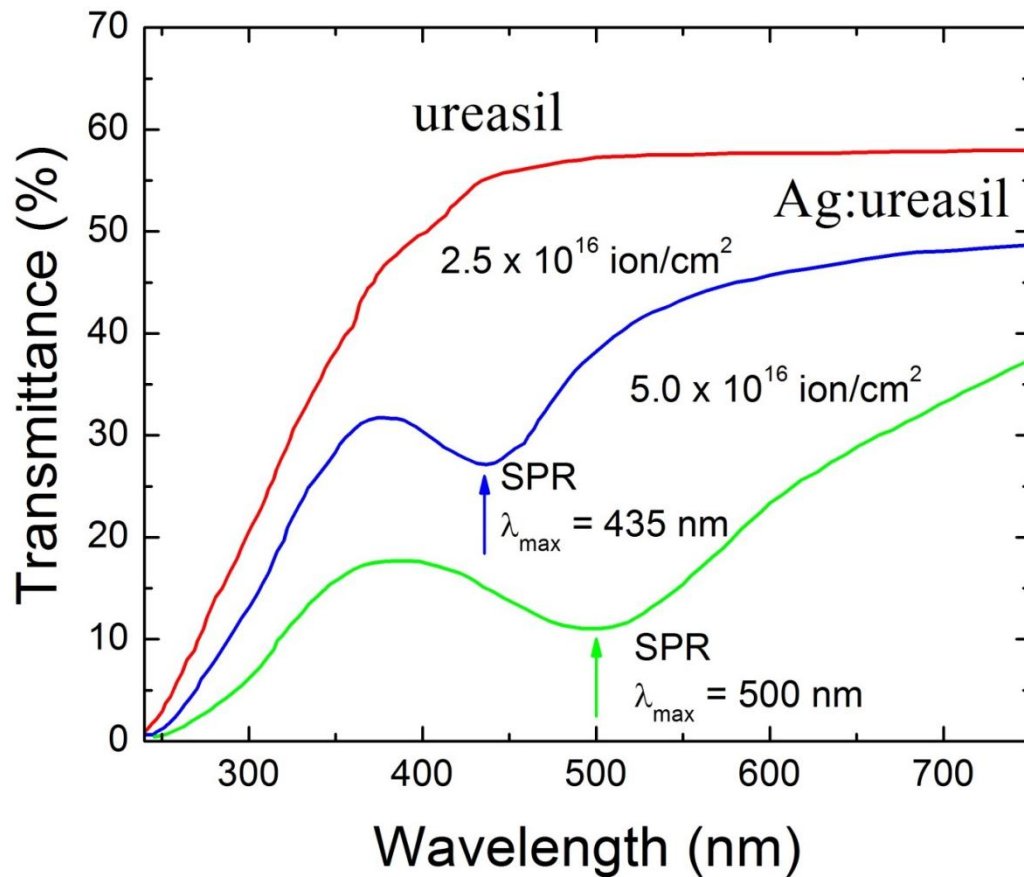


Рис. 3.27. Спектри оптичного пропускання не імплантованого та імплантованого сріблом уреасилу з дозою $2,5 \cdot 10^{16}$ та $5,0 \cdot 10^{16} \text{ Ag}^+/\text{cm}^2$ [128].

Розроблено модель, що дає дозову залежність накопичення адсорбованих іонів Ag на халькогенідних кластерах As_2S_3 [129]. Згідно цієї моделі кінетика імпантованих іонів Ag визначається трьома процесами: 1) надходженням в матрицю імпантованих іонів, 2) коагуляцією імпантованих іонів з утворенням кластерів Ag (ймовірність α) та 3) адсорбцією халькогенідними кластерами іонів Ag з утворенням гібридних кластерів As_2S_3+Ag (ймовірність β), де $\alpha \ll \beta$. Це співвідношення зумовлено тим, що кластери As_2S_3 мають достатню кількість вільних валентностей (хімічних зв'язків), що сприяють зв'язуванню срібла. Ймовірність адсорбції Ag на таких кластерах значно більша ніж ймовірність зв'язування іонів срібла між собою.

Рівноважна щільність імпантованих іонів Ag дорівнює: $n_0 = I\tau$, $\tau = \beta^{-1}$. Відповідно до моделі, така ж щільність іонів Ag, n_1 , у шарі, прилеглому до халькогенідного кластеру, що пояснюється швидкою радіаційно-стимульованою дифузиею Ag у плівці підчас імпантації. Тобто: $n_1 = n_0$. Позначимо число іонів Ag, адсорбованих халькогенідними кластерами через n , а число вільних валентностей на халькогенідних кластерах через $N \sim N_0$. Тоді можна записати кінетичні рівняння:

$$dn/dt = \beta n_1 N = IN, \quad (3.3)$$

$$-dN/dt = \beta n. \quad (3.4)$$

Наближений розв'язок рівнянь (3.3) і (3.4) для випадку $\beta\sqrt{It} < 1$ має вигляд: $n \approx \sqrt{It}$ або $n \approx \sqrt{ID}$. Це означає, що в нашому наближенні має місце більш сильна залежність накопичення адсорбованих іонів Ag у халькогенідних кластерах від іонної дози, D , ніж від потужності дози, I .

Висновки до розділу 3

Встановлено закономірності еволюції іонів срібла, імплантованих у чисту полімерну матрицю і полімерну матрицю, яка містить у собі халькогенідні кластери. Шляхом використання локального рентгеноспектрального аналізу встановлено, що імплантовані іони срібла адсорбуються кластерами As_2S_3 . Таким чином утворюються гібридні системи As_2S_3+Ag , які відіграють важливу роль при створенні нових амперометричних біосенсорів.

Запропоновано кінетичну модель формування гібридних систем As_2S_3+Ag у полімерній матриці. При цьому враховується роль радіаційно-стимульованої дифузії імплантованих іонів срібла, завдяки якій встановлюється стаціонарний рівномірний розподіл іонів срібла в процесі іонної імплантації. Таким чином в шарах, що оточують халькогенідні кластери, щільність іонів така ж, як в навколишньому просторі. Рішення кінетичних рівнянь дає дозову залежність накопичення адсорбованих іонів Ag у халькогенідних кластерах і формування кластерів As_2S_3+Ag .

РОЗДІЛ 4. БІОСЕНСОРНІ СИСТЕМИ ЗАСНОВАНІ НА ДОСЛІДЖУВАНИХ ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛАХ

4.1. Нові амперометричні сенсори

Вперше на поверхні золотих планарних електродів були сконструйовані нові амперометричні біосенсори з ферментом лаккази та утримуючою органічно-неорганічною полімерною матрицею. Встановлено, що біосенсор, побудований з уреасил/ As_2S_3 композитом, виявляє надзвичайно високу (рекордну у порівнянні з існуючими аналогами) чутливість та великий відклик біосенсора. Результати наведено нижче (рис. 4.1) [105].

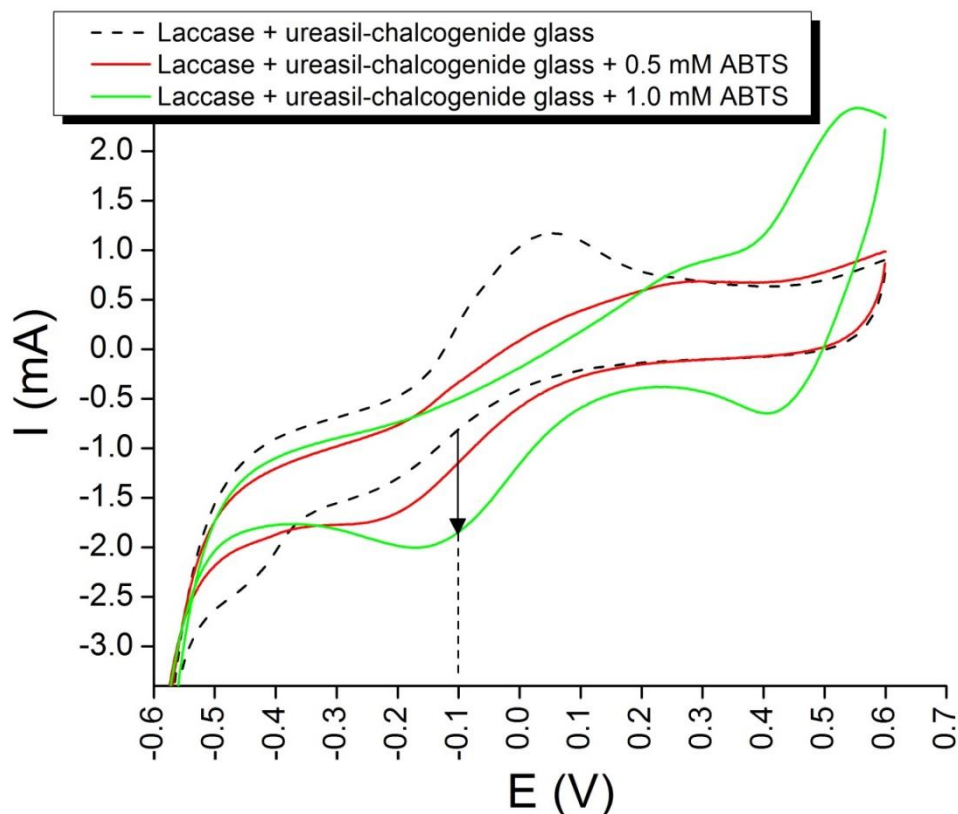


Рис. 4.1. Циклічна вольтамограма лакказо-модифікованого електроду за відсутності медіатора без внесення (штрих-пунктир) та після внесення зростаючих концентрацій субстрату (прямі лінії). Умови: швидкість сканування $7 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ проти $Ag/AgCl$, 50 мМ ацетатний буфер, рН 4.5 [105].

Як видно із рис. 4.1, після внесення зростаючих концентрацій ABTS як субстрату спостерігається поява чітко вираженого піку відновлення при потенціалі -100 мВ проти Ag/AgCl. Висота піку відновлення яскраво свідчить про високу ефективність прямого перенесення електронів із відновленої форми лаккази на поверхню золотого планарного електроду. Окрім того, це дозволяє встановити оптимальний робочий потенціал цього процесу, який відповідає -100 мВ проти Ag/AgCl. Саме цей потенціал було вибрано нами для подальшої роботи по дослідженню характеристик отриманих біоелектродів.

Детальніше дослідження фізико-хімічних характеристик ABTS-селективних електродів проводилось за допомогою хроноамперометричного аналізу. Дослідження проводились при кімнатній температурі в скляній електрохімічній мініатюризованій комірці з робочим об'ємом 4 мл, заповненій 50 мл ацетатним буфером, рН 4.5. Біоелектроди поміщали в інтенсивно перемішуваний розчин і, після встановлення базового сигналу при робочому потенціалі -100 мВ проти Ag/AgCl, в комірку вносили зростаючі концентрації ABTS. За допомогою амперометричного потенціостату *CHI 1200A* (IJ Cambria Scientific Ltd, Порт Барі, Великобританія), з'єданого з ПК, реєстрували та обробляли результати вимірювань у відносних одиницях зміни струму (рис. 4.2) [105].

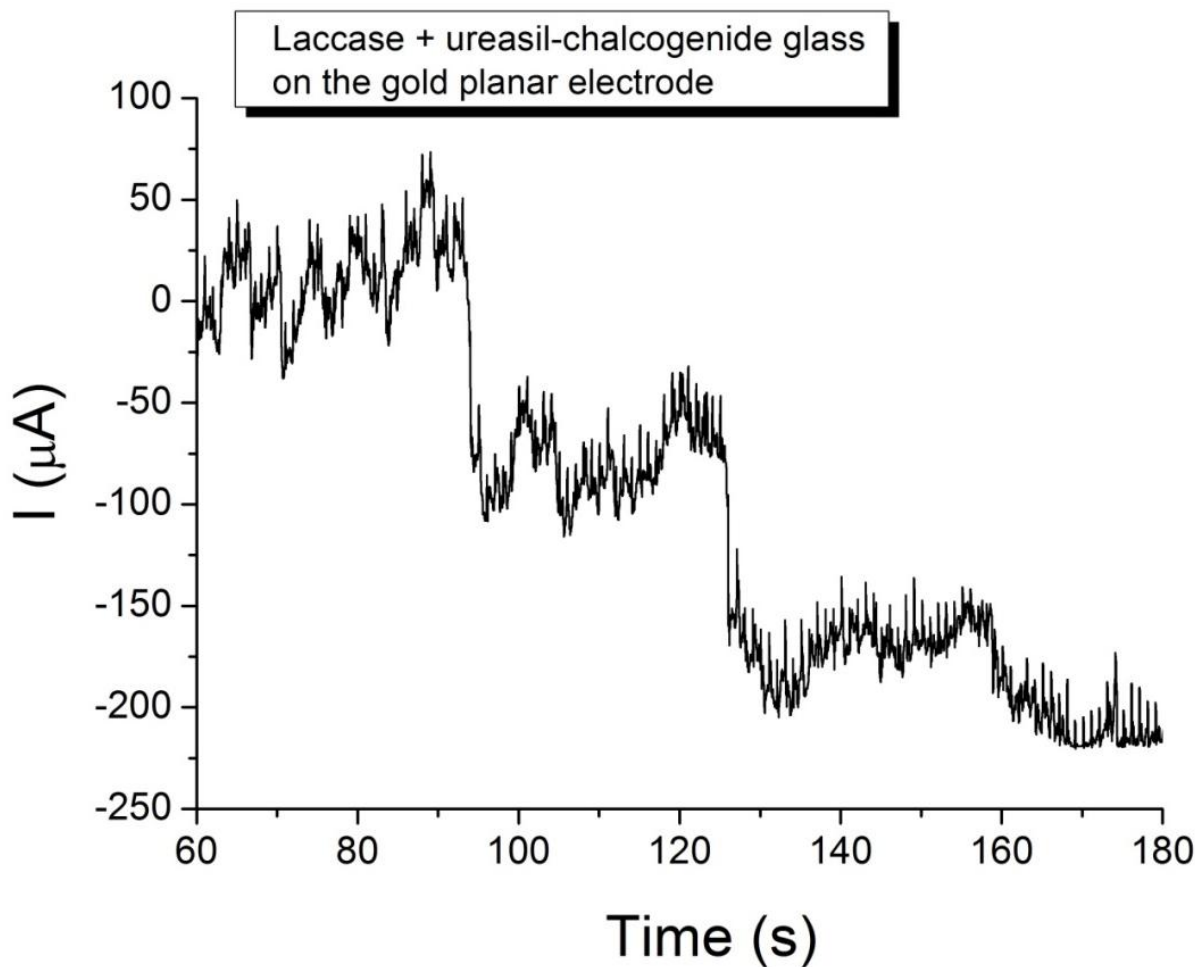


Рис. 4.2. Хроноамперограма біоелектроду, сконструйованого на основі лаккази, іммобілізованої полімером «К4» на поверхні золотих планарних електродів C220 «DropSens». Умови: 50 мМ ацетатний буфер, рН 4.5, робочий потенціал - 100 мВ проти Ag/AgCl при постійному перемішуванні на магнітній мішалці [105].

На основі хроноамперограми біоелектроду, сконструйованого на основі лаккази іммобілізованої полімером «К4» на поверхні золотих планарних електродів C220 «DropSens» (рис. 3.1), було побудовано калібрувальну криву відносно зростаючих концентрацій ABTS (рис. 4.3) [105].

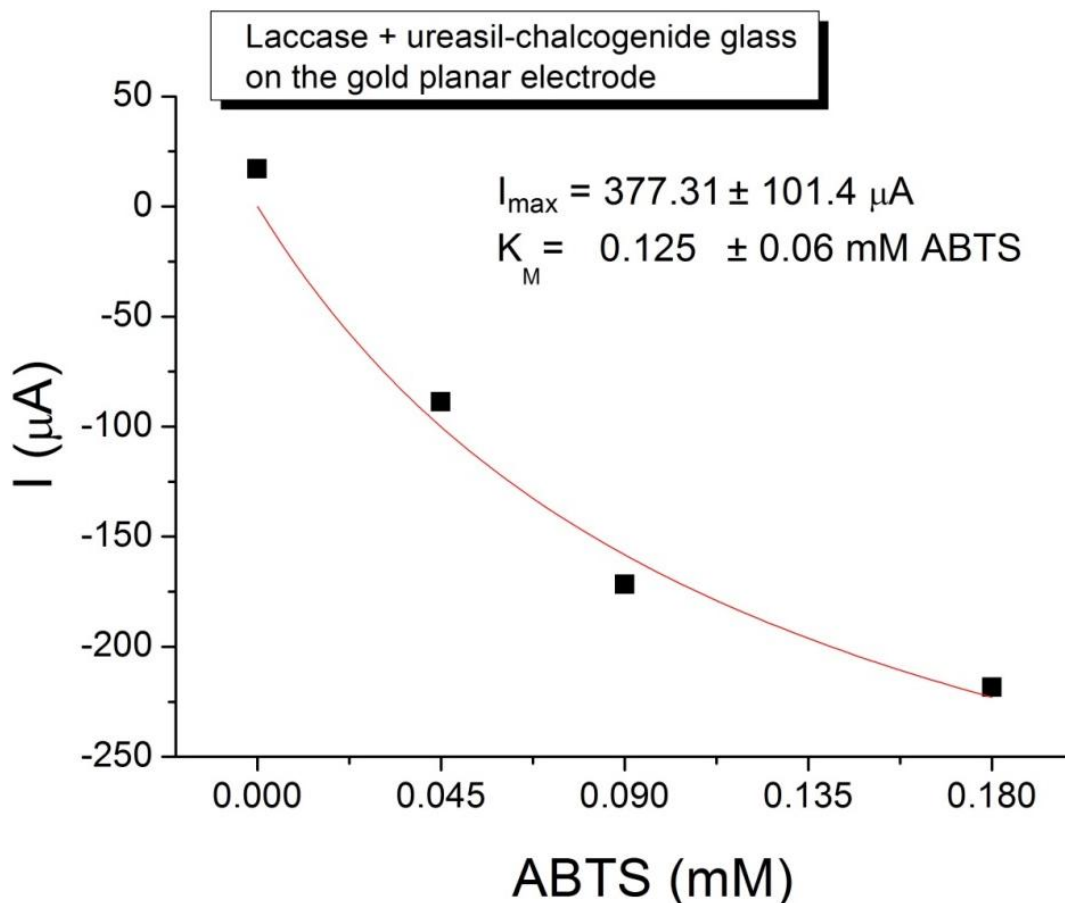


Рис. 4.3. Калібрувальна крива відгуку на зростаючі концентрації ABTS для 4 мм золотих планарних біоелектродів «DropSens», модифікованих лакказою, іммобілізованою полімером «К4» [105].

Як видно із калібрувальної кривої (рис. 4.3), відгук біосенсора (I_{\max}) відповідав 377.3 μA , а позірна константа Міхаеліса-Ментена (K_M^{app}) до ABTS як субстрату становила 0.125 мМ. Із літературних джерел відомо, що значення K_M до ABTS для лаккази, виділеної із *Trametes versicolor*, становить 0,29 мМ [17], а отже, низьке значення K_M для біоелектроду (0.125 мМ) свідчить про високу ефективність прямого електронного переносу із відновленої форми ферменту на поверхню золотого планарного електроду.

Для встановлення меж лінійності біоелектродів, модифікованих лакказою, іммобілізованою полімером «К4» на золотому планарному електроді, було проведено додаткові хроноамперометричні дослідження (рис. 4.4) [105].

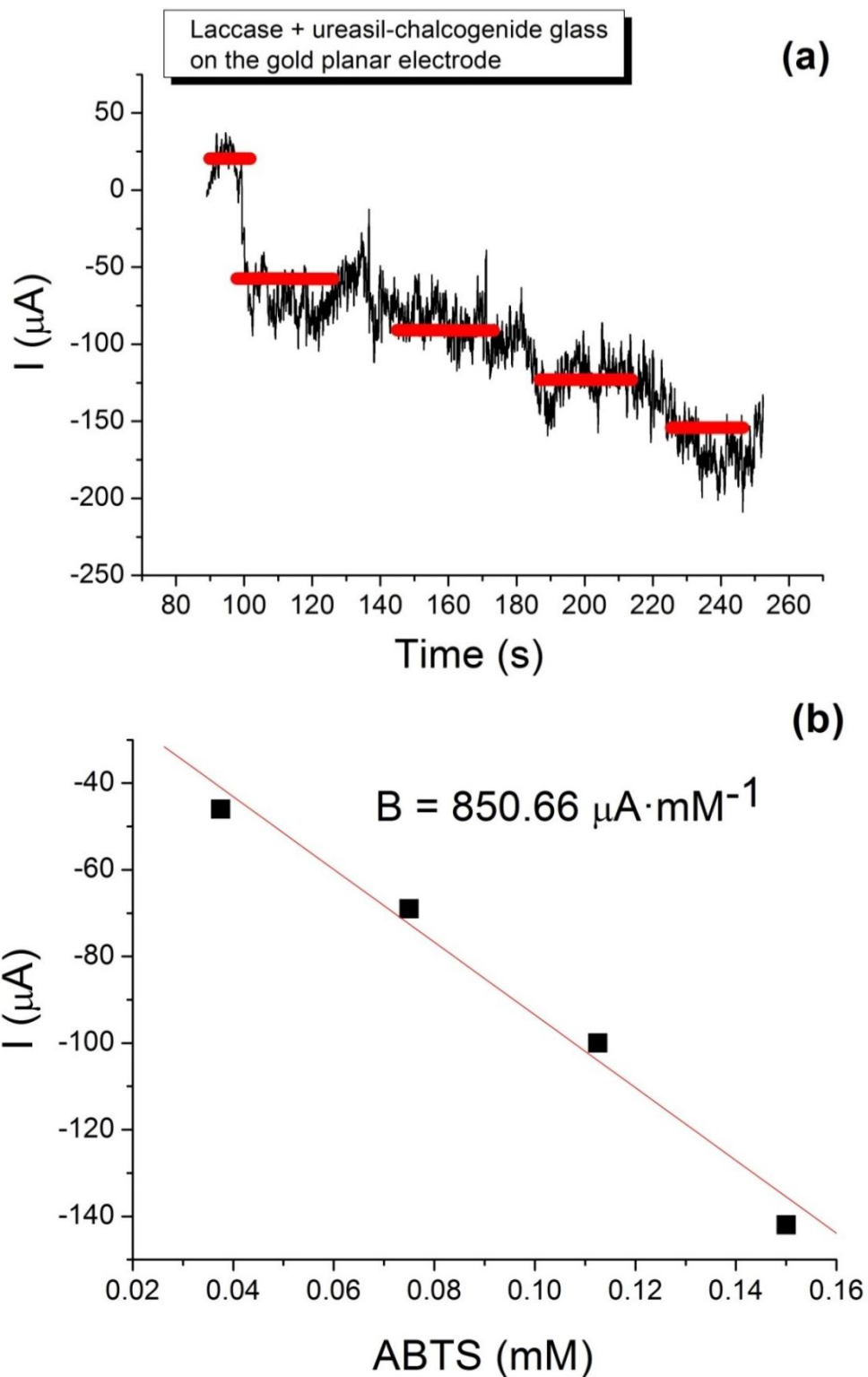


Рис. 4.4. Хроноамперограма (а) та калібрувальна крива відгуку (b) на зростаючі концентрації ABTS для 4 мм золотих планарних електродів «DropSens» C220, модифікованих 10 мкл лаккази ($13.6 \text{ Од} \cdot \text{мл}^{-1}$) та 4 мкл полімеру «К4». Умови: 50 мМ ацетатний буфер, рН 4,5, робочий потенціал -100 мВ проти Ag/AgCl при постійному перемішуванні на магнітній мішалці [105].

Як видно із калібрувальної кривої (рис. 4.4), лінійність біоелектродів, модифікованих лакказою і полімером «К4», знаходиться в межах 0.037 – 0.15 мМ для АВТС. Водночас, проведені дослідження дали змогу обрахувати і чутливість біоелектроду. Оскільки кут нахилу кривої (В) (становить 851 $\mu\text{A}\cdot\text{мМ}^{-1}$), а площа електроду – 12.6 мм^2 , впливає, що чутливість біоелектроду є рівною 67540 $\text{A}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{м}^{-2}$.

Для оцінки ефективності іммобілізації лаккази полімером «К4» на поверхні золотого планарного електроду, було проведено порівняння сенсорних характеристик аналогічного біоелектроду, сконструйованого за посередництва полімеру «К0» (уреазил + 0.5 мл N-бутиламіну). Перед використанням полімер «К0» розчиняли аналогічно до полімеру «К4» (після розтирання у фарфоровій ступці з наступним розчиненням у 99 % диметилсульфоксиді).

Біоелектрод, модифікований лакказою і полімером «К0» продемонстрував у 38.3 рази нижчу чутливість у порівнянні із аналогічним біоелектродом, модифікованим полімером «К4» (1762 $\text{A}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{м}^{-2}$ проти 67500 $\text{A}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{м}^{-2}$), що може свідчити про менш ефективну іммобілізацію фермента на поверхні електроду і часткове його вимивання, у випадку полімера «К0» (рис. 4.5).

Також проводились дослідження можливого впливу на пряме електронне перенесення із лаккази на золотий електрод за посередництва полімеру, модифікованого сріблом («К4-Ag16000»). Усі стадії підготовки біоелектродів і проведення аналізу були аналогічними попереднім. Хроноамперометричний аналіз біоелектродів на основі лаккази та полімеру «К4-Ag16000» представлено на рис. 4.6 [105].

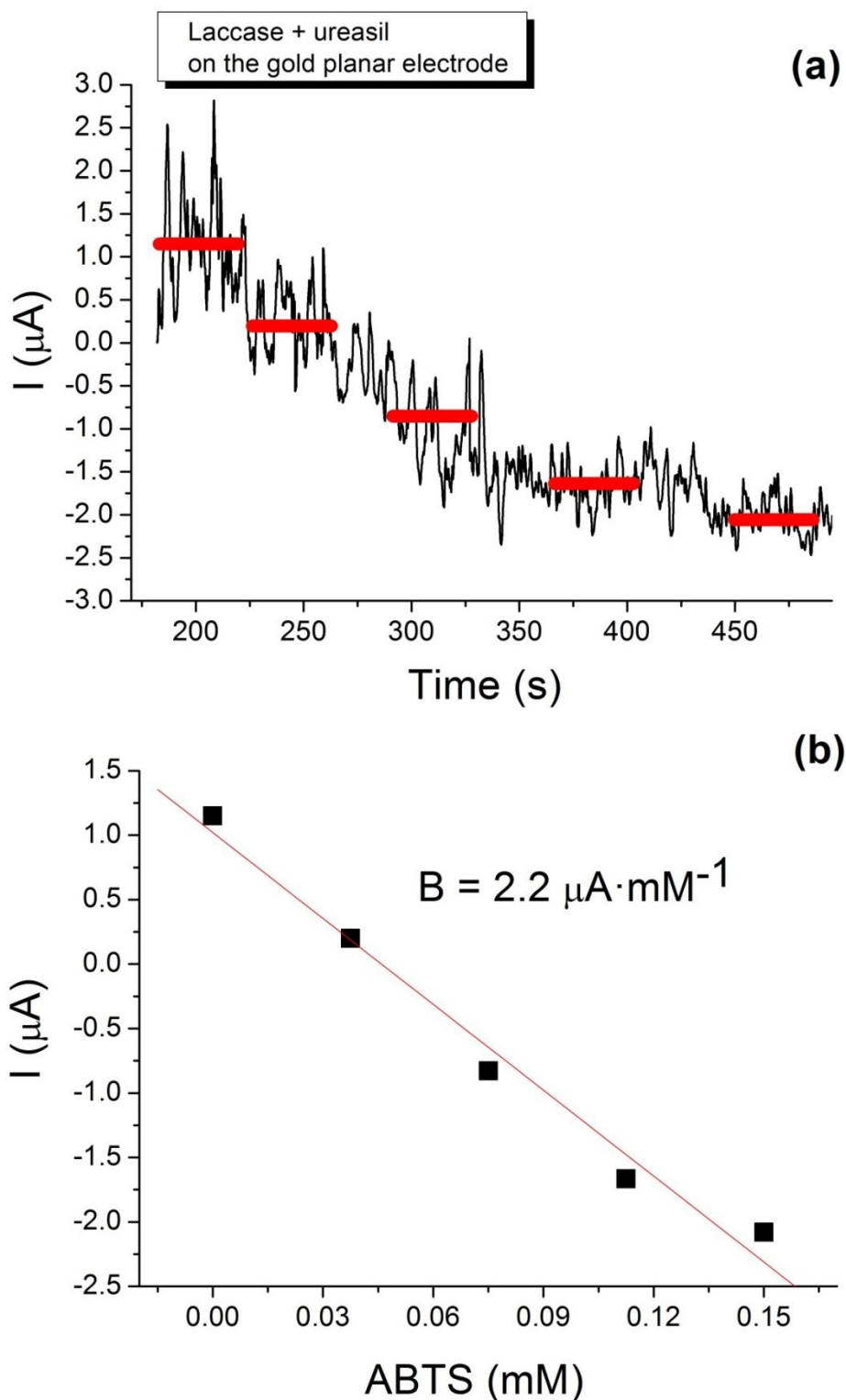


Рис. 4.5. Хроноамперограма (а) та калібрувальна крива відгуку (б) на зростаючі концентрації ABTS для 4 мм золотих планарних електродів «DropSens» C220, модифікованих 10 мкл лаккази ($OA = 13.6 \text{ Од} \cdot \text{мл}^{-1}$) та 4 мкл полімеру «K0». Умови: 50 мМ ацетатний буфер, рН 4.5, робочий потенціал -100 мВ проти Ag/AgCl при постійному перемішуванні на магнітній мішалці [105].

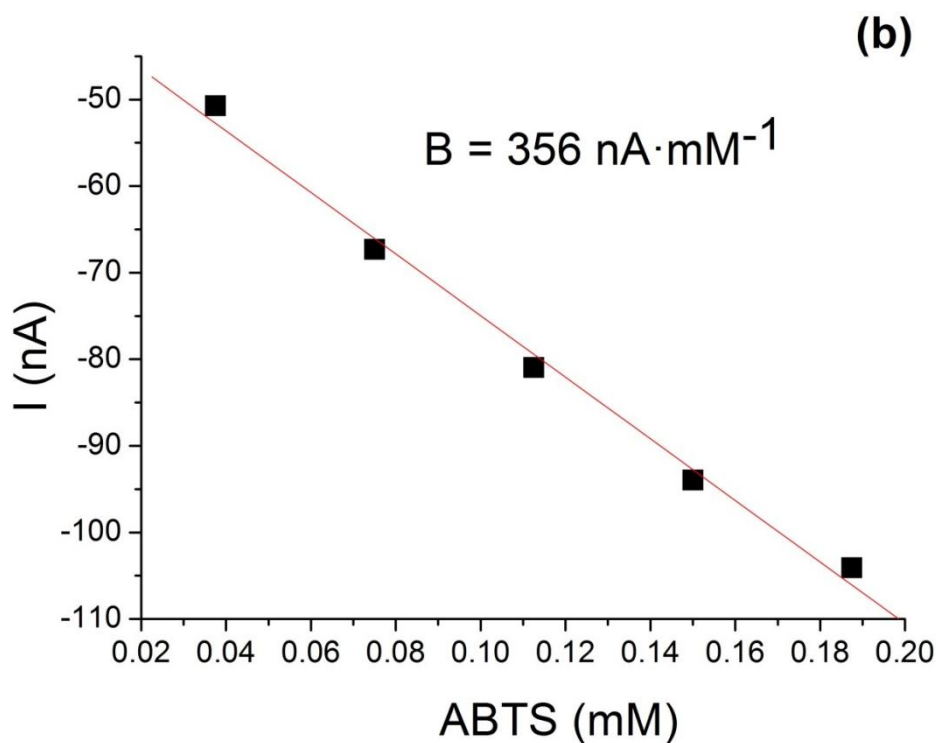
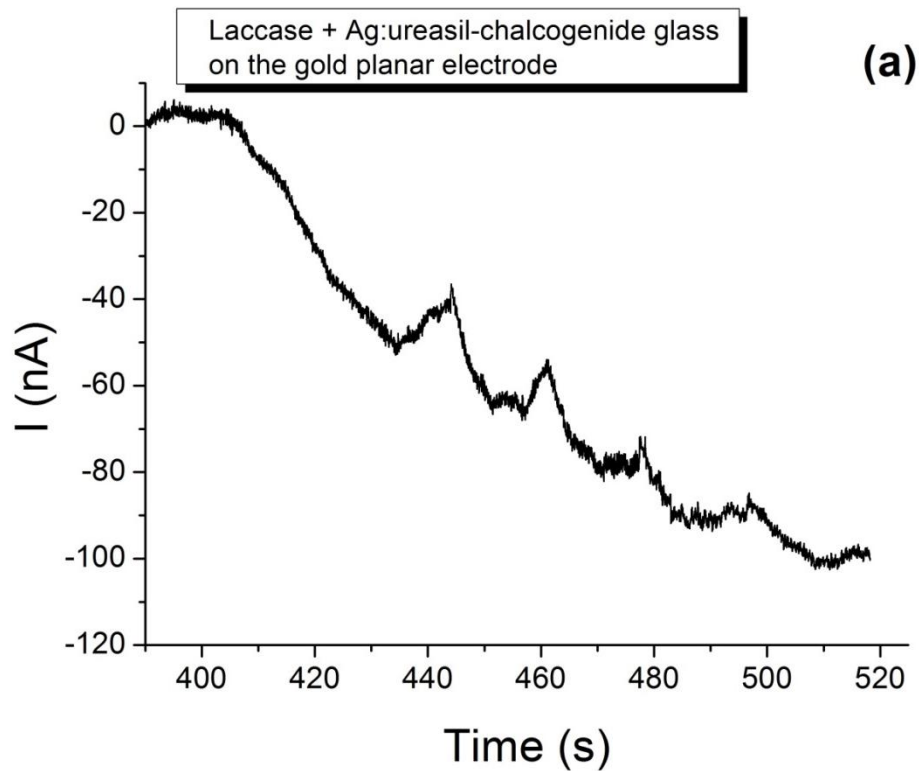


Рис. 4.6. Хроноамперограма (а) та калібрувальна крива відгуку (b) на зростаючі концентрації ABTS для 4 мм золотих планарних електродів «DropSens» C220, модифікованих 10 мкл лаккази ($OA = 13.6 \text{ Од} \cdot \text{мл}^{-1}$) та 4 мкл полімеру «K4-Ag16000». Умови: 50 мМ ацетатаний буфер, рН 4.5, робочий потенціал -100 мВ проти Ag/AgCl при постійному перемішуванні на магнітній мішалці [105].

Використання полімеру, модифікованого сріблом («К4-Ag16000»), продемонструвало можливість контрольованого впливу на сенсорні характеристики сконструйованого біосенсора у широкому діапазоні чутливості [105]. Так, чутливість біосенсора, у порівнянні із не модифікованим Ag полімером «К4», знизилась у 2390 разів – до $28.3 \text{ A}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Таке різке зниження чутливості біоелектродів може свідчити про інактивацію лаккази іонами срібла. Із літературних джерел відомо, що для лаккази, виділеної із *Shiraia sp.*, інгібуючий вплив йонів срібла концентрацією 10 мМ становить 8.13%, водночас для лаккази із гриба *Fusarium solani* описано 100 % інактивацію фермента йонами срібла (I) при його концентрації 20 мМ.

Отже, при модифікації іммобілізуючого полімеру «К4» сріблом, з використанням в нашому випадку методу іонної імплантації, можна при відповідних іонних дозах (тобто вводячи відповідну концентрацію срібла чи наночастинок срібла у полімерну матрицю) суттєво впливати на сенсорні характеристики сконструйованого на його основі біосенсора. Подальші дослідження спрямовані на синтез та вивчення нових складів гібридних нанокompatитних полімерних матеріалів на основі уреазилу та халькогенідних кластерів і відповідних матеріалів модифікованих сріблом для встановлення діапазону чутливості даного типу біосенсорів.

4.2. Формування композиційних плівок з полімер-фермент-металевими наночастинами

Викладаються результати дослідження взаємодії іонів Au з органічними наноструктурами та можливість створення біосенсорних систем на основі досліджуваних полімерних матеріалів. В цьому розділі розглядається і підкреслюється важливість застосування полімерних матеріалів як матриць, у яких зручно утримувати іммобілізований фермент. Такий підхід є інноваційним у конструюванні амперометричних біосенсорів.

У роботі [130] вивчено роль наночастинок золота (Au-НЧ) для іммобілізації ферменту при створенні амперометричних біосенсорів. Використовувалися Au-НЧ, отримані хімічним шляхом у відділі аналітичної біотехнології Інституту біології клітини НАН України.

Специфічні властивості наноматеріалів відкривають широкі можливості для створення продуктів із новими властивостями і призначеннями: ефективних каталізаторів, сенсорних систем, препаратів із високою біологічною активністю та проникливістю для використання їх в медицині, біотехнологічних процесах та сільському господарстві.

Успіхи у дослідженні та використанні наночастинок металів у значній мірі залежать від можливостей методів синтезу – від того, чи дозволяє вибраний метод отримувати НЧ, які відповідають вимогам даної наукової чи практичної задачі нанотехнологій.

Однією із основних особливостей НЧ є хімічна активність, що обумовлена їх підвищеною здатністю до іонного чи атомного обміну, адсорбції на різноманітних поверхнях, до утворення поверхневих зв'язків із іншими адсорбуючими частинками та ін. Висока реакційна здатність НЧ спричиняє їх нестабільність, тому важливою проблемою є синтез НЧ заданого розміру, які протягом достатньо довгого часу зберігають високу хімічну або біологічну активність.

При хімічному синтезі НЧ використовують різноманітні варіанти, що відрізняються типом відновника і системи, в якій здійснюється процес. На кінетику утворення і ріст НЧ, а відповідно і дисперсність, впливає природа і концентрація відновника. Зменшенню середніх розмірів НЧ сприяє зниження концентрації реагуючих речовин і температури розчину, введення в нього комплексоутворюючих реагентів або поверхнево активних речовин. Процес формування металічних колоїдів зазвичай проводиться при гранично допустимій концентрації відновника, що забезпечує високу швидкість відновлення іонів металів і стабільність колоїдних НЧ, які утворилися.

НЧ благородних металів, зокрема Au і Ag, є важливим об'єктом досліджень в області хімії, фізики та біології через їхні унікальні оптичні, електрохімічні і фототермічні властивості. Такі НЧ мають потенційне застосування в аналітичній хімії як зонди в мас-спектрометрії, а також при колориметричному визначенні молекул білків і ДНК. Проста процедура синтезу НЧ, а також їх споріднення для зв'язування багатьох біологічних молекул робить їх привабливими кандидатами для досліджень у сенсорних технологіях.

Оскільки застосування НЧ є надзвичайно актуальним, особливо у поєднанні із біоселективними елементами – ферментами, перспективним напрямком є розробка технологій одержання біонаноматеріалів із каталітичними властивостями.

Золоті наночастинки (Au-НЧ) готували методом відновлення цитратом натрію відповідно до Turkevich [25] за наступною схемою: 1,25 мл 1 мМ HAuCl_4 і 125 мкл 38,8 мМ тринатрій цитрату змішували при температурі 100 °С та струшували протягом 15 хв. до отримання суміші світло-червоного кольору (рис. 4.7).



Рис. 4.7. Загальний вигляд отриманих колоїдних розчинів Au-НЧ.

Отримані Au-НЧ промивали кілька разів дистильованою водою за допомогою центрифугування (16000 об./хв., 20 хв.) та використовували для подальшої іммобілізації лаккази. Вихід золотих наночастинок складав близько 80% (розрахунок вели на підставі калібрування гравіметричним методом).

Для вивчення можливості використання Au-NPs як носіїв для ферментів їх характеризували за розміром та стабільністю в часі.

Аналіз літературних джерел показав, що стабільність NPs при зберіганні можна оцінювати різними методами. Візуальне спостереження за системою, в якому фіксується зміна забарвлення системи чи утворення у ній осаду, дає попередні і загальні закономірності відносної седиментаційної стійкості досліджуваної дисперсії. Для Au-NPs колір колоїдного розчину змінюється від світло-рожевого до темно-вишневого.

До надійних інструментальних методів відносять оптичний метод, який базується на вимірюванні спектра поглинання колоїдних розчинів НЧ. Спектральні характеристики розмірів та стабільності Au-НЧ реєстрували на спектрофотометрі Shimadzu (UV – 1650 PC), в діапазоні 300-700 нм (рис. 4.8). Аналізуючи спектри, можна передбачити можливість коагуляції при виникненні додаткової смуги поглинання на графіку залежності оптичної густини від довжини хвилі чи нового максимуму в довгохвильовій частині спектра.

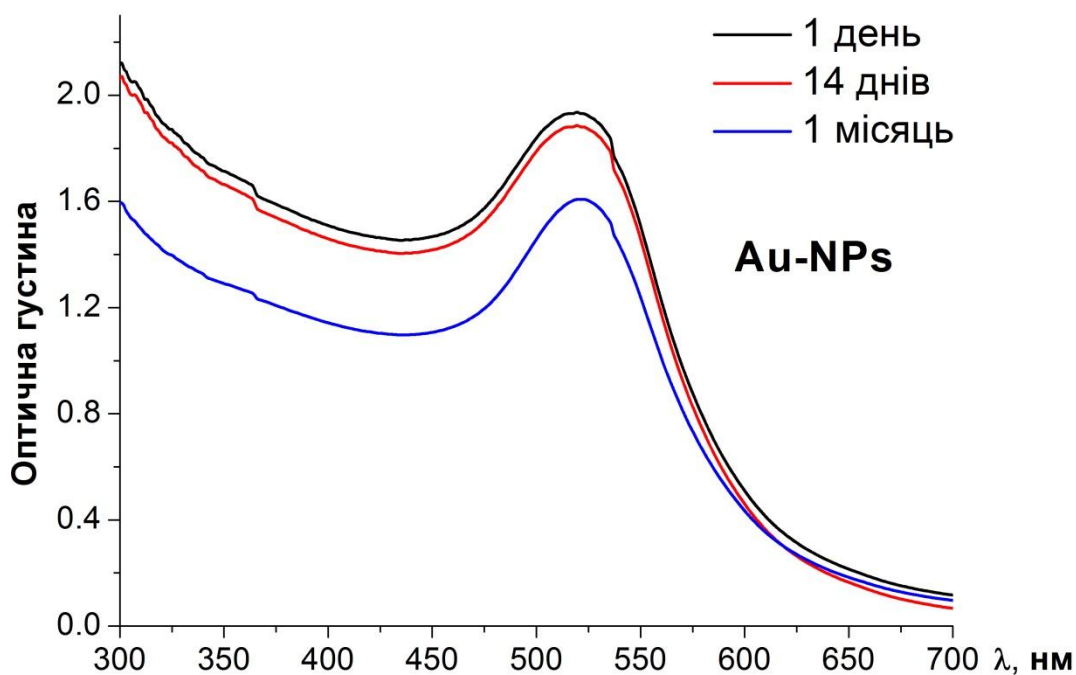


Рис. 4.8. Зміна спектральних характеристики розчину Au-НЧ в часі.

Попередні результати дослідження біосумісності синтезованих Au-НЧ і Ag-НЧ із лакказою із *Trametes versicolor* продемонстрували, що наночастинки срібла (Ag-НЧ) демонструють яскраво виражений інгібуючий ефект на активність ферменту [105], тому для подальших структурно-морфологічних досліджень використовувались лишень наночастинки золота (Au-НЧ).

Приблизний розмір та структуру синтезованих Au-НЧ визначали на растровому електронному мікроскопі-мікроаналізаторі РЕММА-102-02, шляхом нанесення проби об'ємом 10 мкл на графітову основу товщиною – 0,5 см, діаметром – 0,5 см. Спеціальна покривна плівка для утримання зразків Au-НЧ формувалась за допомогою ультразвукового методу за використання розчину Бутвара В-98 (Sigma, Сент-Луїс, Міссурі, США) у 1,5% хлороформі. В експериментах відстань від останньої лінзи мікроскопа до зразка (WD) коливалася в межах від 21,2 мм до 24,5 мм, напруга прискорювача відповідала 20 еВ, а зум – х4000 (рис. 4.9) [130].

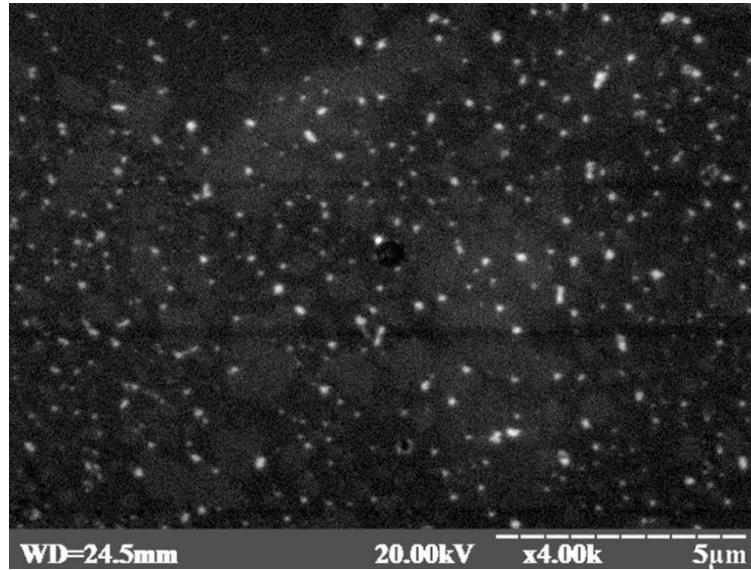


Рис. 4.9. Скануюча електронна мікроскопія Au-NPs. *Примітка:* WD – відстань від останньої лінзи мікроскопа до проби (мм); kV – прискорююча напруга (eV); x4.0k - кратність збільшення; 5 µm – масштабна одиниця [130].

За допомогою СЕМ-аналізу було продемонстровано, що середній діаметр Au-НЧ є меншим 30 нм (рис. 4.9). Дані рентгеноспектрального аналізу Au-НЧ підтвердили утворення Au⁰ з типовим піком Ка при 2,1 кеВ (рис. 4.10) [130].

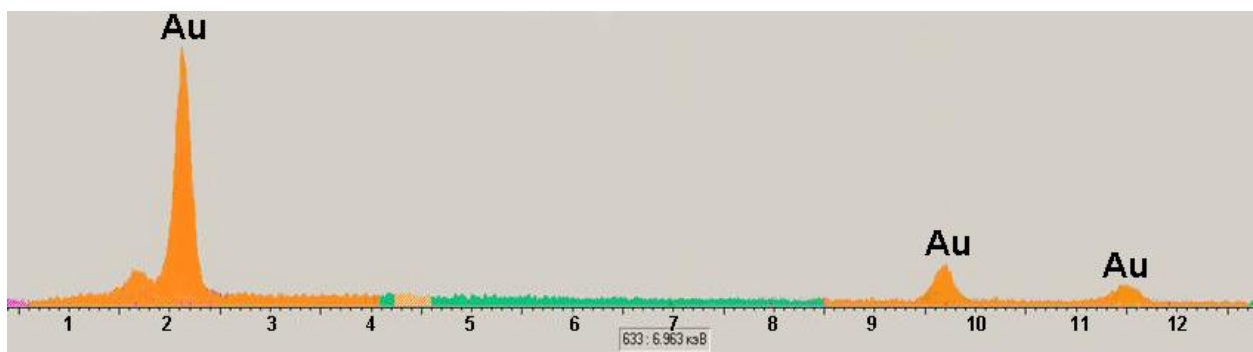


Рис. 4.10. Рентгеноспектральний аналіз синтезованих Au-НЧ [130].

Розміри і структуру наночастинок золота охарактеризовано методом атомно-силової мікроскопії (АСМ) на мікроскопі Solver P47-PRO (NT-MDT). Аліквоту суспензії золотих наночастинок було нанесено на поверхню очищеної слюди та висушено на повітрі. Проби аналізували «tapping» методом з резонансною частотою 160 кГц, скануючою швидкістю 1 Гц/с та роздільною здатністю 256×256 пікселів (рис. 4.11) [130].

Зображення АСМ та дані кривої розподілу Гаусса за розмірами підтвердили попередні результати СЕМ-аналізу, що середній розмір синтезованих Au-НЧ є рівний 20 нм (рис. 4.11).

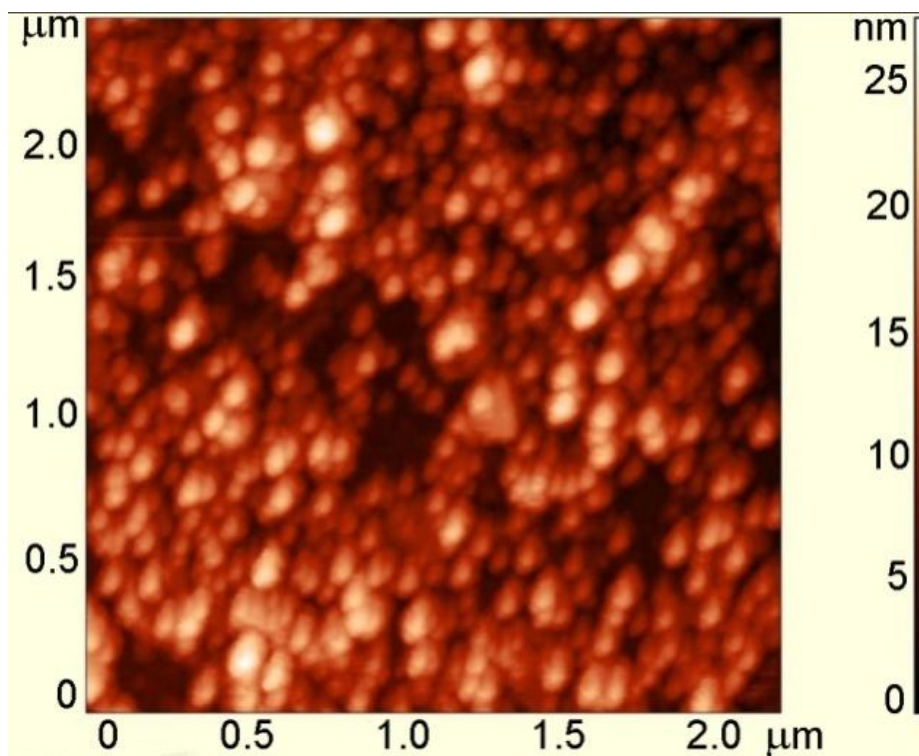




Рис. 4.11. Топографічна атомно-силова мікроскопія Au-NPs (зверху) та гістограма розподілу наночастинок за розміром (знизу). На осі абсцис показано розмір поперечних частинок (нм), а на осі ординат – число сканованих частинок [130].

Розмір отриманих наночастинок золота, визначений методом рентгено-структурного аналізу, відповідав результатам отриманим за використання АСМ.

Для ковалентної іммобілізації лаккази на поверхні Au-НЧ були випробувані два різних підходи [130].

1) *Іммобілізація лаккази на Au-NPs за допомогою EDC-NHS.* Au-NPs інкубували протягом ночі в 5 мМ 16-меркаптогексадекановій кислоті (МНДА) в етанолі при 4 °С. Після промивання Au-NPs диметилформамідом (DMF), покриті МНДА Au-NPs інкубували протягом ночі при 4 °С в етанольному розчині, що містив 2 мМ карбодіїмід гідрохлорид (EDC) і 5 мМ N-гідроксисукцинімід (NHS). Після повторного промивання DMF проводилася конденсація активованих Au-пов'язаних карбонових груп з аміногрупами ферменту. Для цього 90 мкл розчину ферменту (230 Од./мл) в 50 мМ

ацетатному буфері (AcB), рН 5,5 інкубували з Au-NPs протягом 5 год при 4 °С. Біофункціоналізовані Au-NPs промивали AcB і зберігали при 4 °С до їх використання.

2) *Імобілізація лаккази за допомогою CMC-PFP-DIPEA.* Au-NPs інкубували протягом ночі в 5 мМ MHA в етанолі при 4 °С. Після промивання DMF покриті MHA Au-NPs інкубували в розчині DMF 20 мМ з карбодіімід гідрохлоридом (CMC), 20 мМ пентафторфенолу (PFP) і 20 мМ N,N-диізопропілетиламіну (DIPEA) протягом 30 хв при 25 °С. Після повторного промивання DMF проводилася конденсація активованих Au-пов'язаних карбонових груп з аміногрупами ферменту. Для цього 90 мкл розчину ферменту (230 Од./мл) в 30 мМ AcB, рН 5,5 інкубували з Au-NPs протягом 1 год при температурі 25 °С. Після промивання AcB проводили блокування неактивованих карбонових груп 0,1 М розчином 2-(2-аміноетокси) етанолом (AEE) в 0,1 М AcB, рН 5,5. Біофункціоналізовані Au-NPs промивали AcB і зберігали при 4 °С до їх використання.

Біофункціоналізовані Au-НЧ методом за використання EDC-NHS були названі E-Au-НЧ1, Біо-Au-НЧ отримані на основі CMC-PFP-DIPEA як E-Au-НЧ2. Ефективність імобілізації лаккази з використанням обох підходів представлена як відносний вихід (%), обчислений з ферментативної активності до та після процедури імобілізації (табл. 4.1) [130].

Таблиця 4.1. Активність лаккази в ході її іммобілізації на поверхнях Au-НЧ. Скорочення: V – об’єм; C_{білку} - концентрація білку; B_{загал.} - загальна кількість білка; A - об’ємна ферментативна активність; A_{загал.} - загальна кількість одиниць активності ферменту; NA - нижче вимірювальної чутливості [130].

Тип Біо-Au-НЧ	Препарат ферменту	Супернатант після іммобілізації		Іммобілізована лаккази	
	-	Е-Au-НЧ1	Е-Au-НЧ2	Е-Au-НЧ1	Е-Au-НЧ2
V, мл	0,1	0,09	0,09	0,02	0,02
C _{білку} , мг/мл	17,0	14,0	13,0	NA	NA
B _{загал.} мг	1,7	1,26	1,17	NA	NA
A, Од./мл	230 ± 1,1	159 ± 3,3	179 ± 2,0	435 ± 3,5	335 ± 4,1
A _{загал.} , Од.	23 ± 2,3	14,3 ± 0,5	16,1 ± 0,7	8,7 ± 0,4	6,7 ± 0,6
Вихід (%)	= 100	62	70	38	29

Вихід E-Au-NP1 становив 38% (при ферментативній активності 435 ± 3,5 Од./мл), а для E-Au-NP2 - 29% (при ферментативній активності 335 ± 4,1 Од./мл) відповідно (табл. 4.1). Окрім того, для обох типів ковалентної іммобілізації ферменту спостерігалось підвищення питомої об’ємної активності лаккази порівняно з вихідним препаратом ферментів. Для E-Au-НЧ1 активність лаккази була в 1,98 рази, а для E-Au-НЧ2 на 1,46 рази вищою порівняно із вихідною ферментативною активністю (230 ± 1,1 Од./мл). Це значне збільшення питомої об’ємної ферментативної активності після іммобілізації лаккази на Au-НЧ зумовлене високою адсорбційною здатністю поверхні НЧ. З іншого боку, відносно низький вихід іммобілізованого лаккази залежить від низької концентрації Au-НЧ в розчині реагенту. У разі збільшення концентрації Au-НЧ, вихід іммобілізованого ферменту може становити близько 100%.

Розмір біофункціоналізованих Au-НЧ визначали на растровому електронному мікроскопі-мікроаналізаторі РЕММА-102-02 (рис. 4.12), шляхом нанесення проби об'ємом 10 мкл на графітову основу (товщина – 0,5 см, діаметр – 0,5 см) [129].

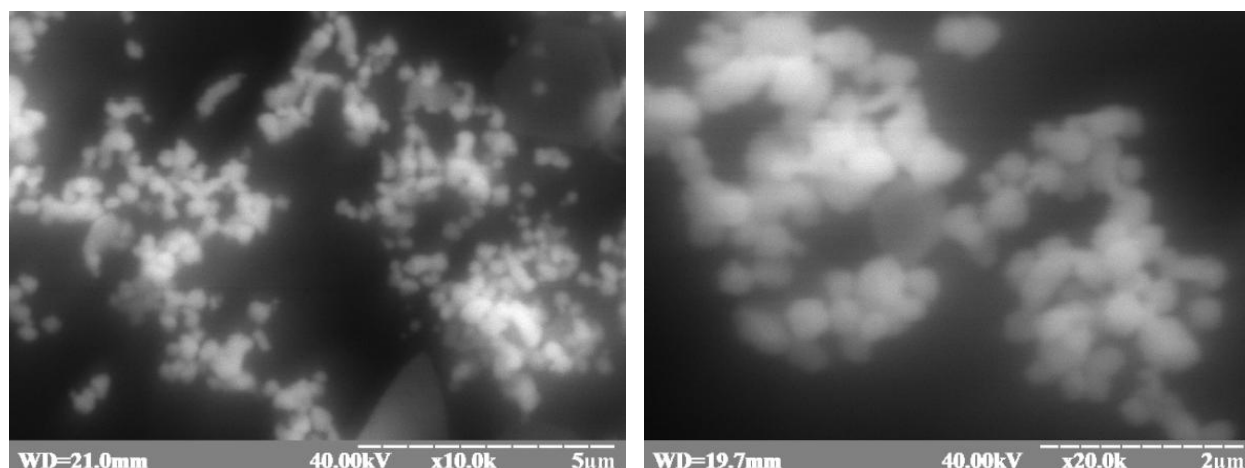


Рис. 4.12. Скануюча електронна мікроскопія Au-НЧ до (зліва) та після (справа) іммобілізації лаккази (E-Au-НЧ). *Примітка:* WD – відстань від останньої лінзи мікроскопа до проби (мм); kV – прискорююча напруга (eV); x 10.0k x20.0k – 10000 та 20000-кратне збільшення; 2 та 5 μm – масштабні одиниці [129].

Як видно із рис. 4.12, біофункціоналізація Au-НЧ лакказою призводить до агрегації наночастинок з формуванням нанокластерів. Для перевірки цього припущення було проведено дослідження розміру немодифікованих Au-НЧ та E-Au-НЧ за допомогою АСМ (рис. 4.13) [129].

На рис. 4.13 представлено криві розподілу Au-НЧ та E-Au-НЧ за розмірами. На основі отриманих кривих розподілу Гауса за розміром НЧ, а також результатів СЕМ, встановлено розміри E-Au-НЧ в межах 20-80 нм. Ці дані свідчать про суттєве збільшення розмірів наночастинок після їх хімічної модифікації з наступною біофункціоналізацією ферментом, від 20 нм (для немодифікованих Au-НЧ) до 80 нм (для E-Au-НЧ).

Було важливо встановити, яке співвідношення об'ємів наночастинки і ферменту при їх зв'язуванні є оптимальним. Результати представлені на рис. 4.13. Видно, що зростання об'єму ферменту, який зв'язується з наночастинкою Au, є пропорційним розміру наночастинки. Однак залежність є нелінійною. Об'єм ферменту зростає швидше об'єму наночастинки. Це важливо враховувати у зв'язку з тим, що надмірне зростання об'єму ферменту негативно позначається на чутливості сенсора (табл. 4.2).

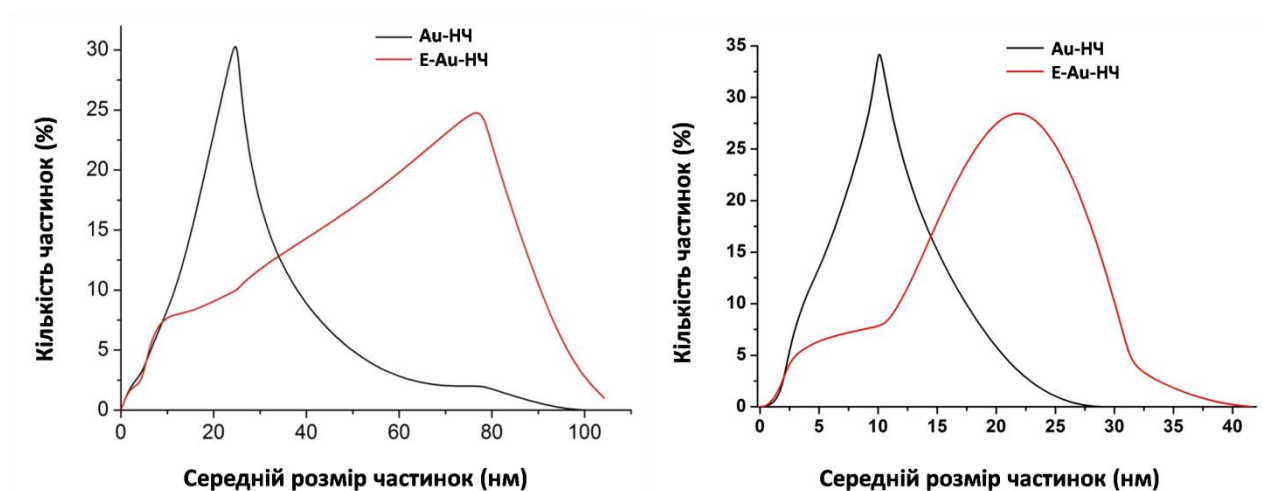


Рис. 4.13. Розподіл на основі даних АСМ за розмірами наночастинок золота не зв'язаних з ферментом (Au-НЧ) та наночастинок золота зв'язаних з ферментом (E-Au-НЧ): 20-80 нм (зліва) та 10-25 нм (справа) [129].

Таблиця 4.2. Ферментативна активність лаккази в залежності від розміру наночастинок золота [129].

Розмір наночастинок золота не зв'язаних з ферментом, d_1 (нм)	Розмір наночастинок золота зв'язаних з ферментом, d_2 (нм)	Відносна зміна, $(d_2-d_1)/d_1$ (відн. од.)	Ферментативна активність лаккази у вихідному стані, A_1 (Од./мл)	Ферментативна активність лаккази, зв'язаної з наночастинками золота, A_2 (Од./мл)	Відносна зміна, $(A_2-A_1)/A_1$ (відн. од.)
10	25	1,5	$39,4 \pm 0,1$	$82,0 \pm 1,2$	1,08
20	80	3,0	$230 \pm 1,1$	$335 \pm 4,1$	0,46

Відомо, що каталітичні властивості наночастинок Au виражені найкращим чином, якщо наночастинки зберігають структуру кристалу. У зв'язку з цим було проведено рентгеноструктурний аналіз наночастинок. Спектр дифракції рентгенівських променів досліджували в далекій кутовій області (10-80°). На рентгенограмі (рис. 4.14) проявляються рефлексії (111), (200), (220), (311) та (222), типові для кубічної гранецентрованої решітки золота. Середній розмір кристалітів визначали по розширенню найбільш інтенсивної і окремо розміщеної лінії (111) за методикою для полікристалічних твердих тіл згідно з рівнянням Шерера: $D = (0.9\lambda)/(V\cos\theta)$, де θ – брегівський кут, °; λ – довжина хвилі рентгенівського випромінювання, нм; V – розширення піку. Розмір наночастинок Au, визначений на дифрактометрі ($8,1\pm 0,7$ нм), відповідає результатам, отриманим за допомогою АСМ [129].

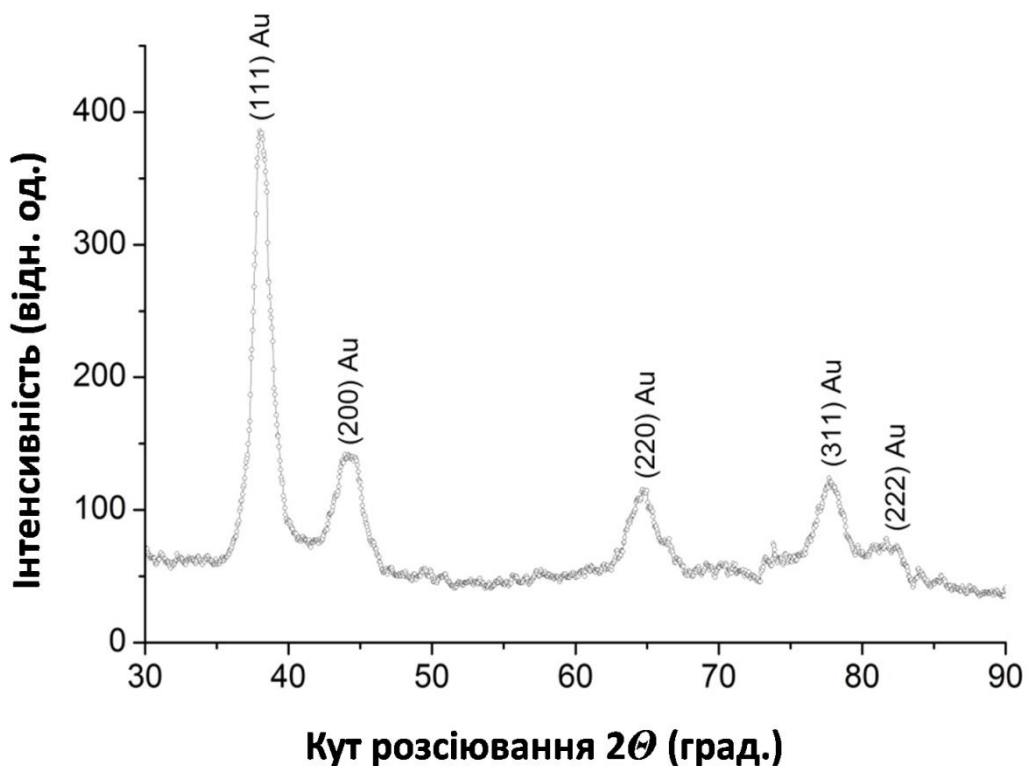


Рис. 4.14. Спектр дифракції рентгенівських променів наночастинками золота [129].

4.3. Вдосконаленні параметри у порівнянні з існуючими приладами

Дослідження біосумісності синтезованих наносіїв із лакказою проводилось за допомогою біосенсорного підходу. При цьому вільний фермент та фермент ковалентно з'єднаний із Au-НЧ (E-Au-НЧ1 та E-Au-НЧ2), іммобілізувався на поверхні золотих планарних електродів «DropSens» C220 (Llanera, Астурія, Іспанія) у середині уреасил-вмісного (As_2S_3 -ureasil) композиту К4 [130].

Для порівняння впливу ефекту ковалентної іммобілізації фермента на Au-NPs використовувався біоелектрод з іммобілізованою вільною лакказою в якості контролю.

Іммобілізацію вільної лаккази та E-Au-НЧ проводили наступним чином. 4-10 мкл лаккази або E-Au-НЧ (із загальною ферментативною активністю близько 3,0 Од.) наносили крапельним методом на поверхню робочого електроду. Після висушування розчину ферменту чи E-Au-НЧ при кімнатній температурі (до 10 хв) поверх ензимної плівки наносили 3 мкл розчиненого As_2S_3 -уреасилового композиту. Розчинення As_2S_3 -уреасилового композиту проводили в 99% диметилсульфоксиді (ДМСО); перед розчиненням полімерний композит розмелювали в порцеляновій посудині. Електрод, модифікований ферментом і полімером, витримували протягом 24 годин у холодильнику при 4 °С. За цей час відбулося формування міцної біо-полімерної плівки на основі суміші полімеру із ферментом або E-Au-НЧ. Перед використанням біоелектроди зберігали в ацетатному буфері 50 мМ (рН 4,5) при 4 °С. Фотографію золотих планарних електродів з іммобілізованими уреасил-вмісним композитом (As_2S_3 -ureasil), що містить лакказу, без наночастинок золота та з біо-наночастинками золота E-Au-НЧ1 та E-Au-НЧ2 представлено на рис. 4.15.



Рис. 4.15. Фотографія золотих планарних електродів модифікованих лакказою, без наночастинок золота (К) та з біо-наночастинками золота E-Au-НЧ1 (1) та E-Au-НЧ2 (2) іммобілізованих в уреасил-вмісному композиті (As_2S_3 -ureasil) [130].

На рис. 4.15 представлено утворення біокомпозитної плівки на золотих планарних електродах *DRP-C220AT*, що складалась з лаккази; E-Au-НЧ1 чи E-Au-НЧ2, включених у полімерну плівку As_2S_3 -ureasil. Спостерігається чітка візуальна відмінність між сформованими біоелектродами без та з використанням Au-НЧ. Біоплівки на основі біофункціоналізованих наночастинок (E-Au-НЧ1 та E-Au-НЧ2) характеризувались забарвленням у червоний або винно-червоний колір (це залежить від процедури ковалентної іммобілізації ферменту на Au-НЧ). Лакказа – це один із перших ферментів, для якого було доведено здатність прямого перенесення електронів на поверхню амперометричного перетворювача. Ця здатність лакказу була доведена нами нещодавно, при конструюванні безмедіаторного біосенсора «третього покоління». Саме базуючись на цій здатності фермента, при побудові біосенсорів на основі використання лаккази та Au-НЧ, для сенсорної системи не використовувалось внесення будь-яких медіаторів перенесення електронів. Отримані біоелектроди аналізували за допомогою хроноамперометричного підходу (рис. 4.16) [130].

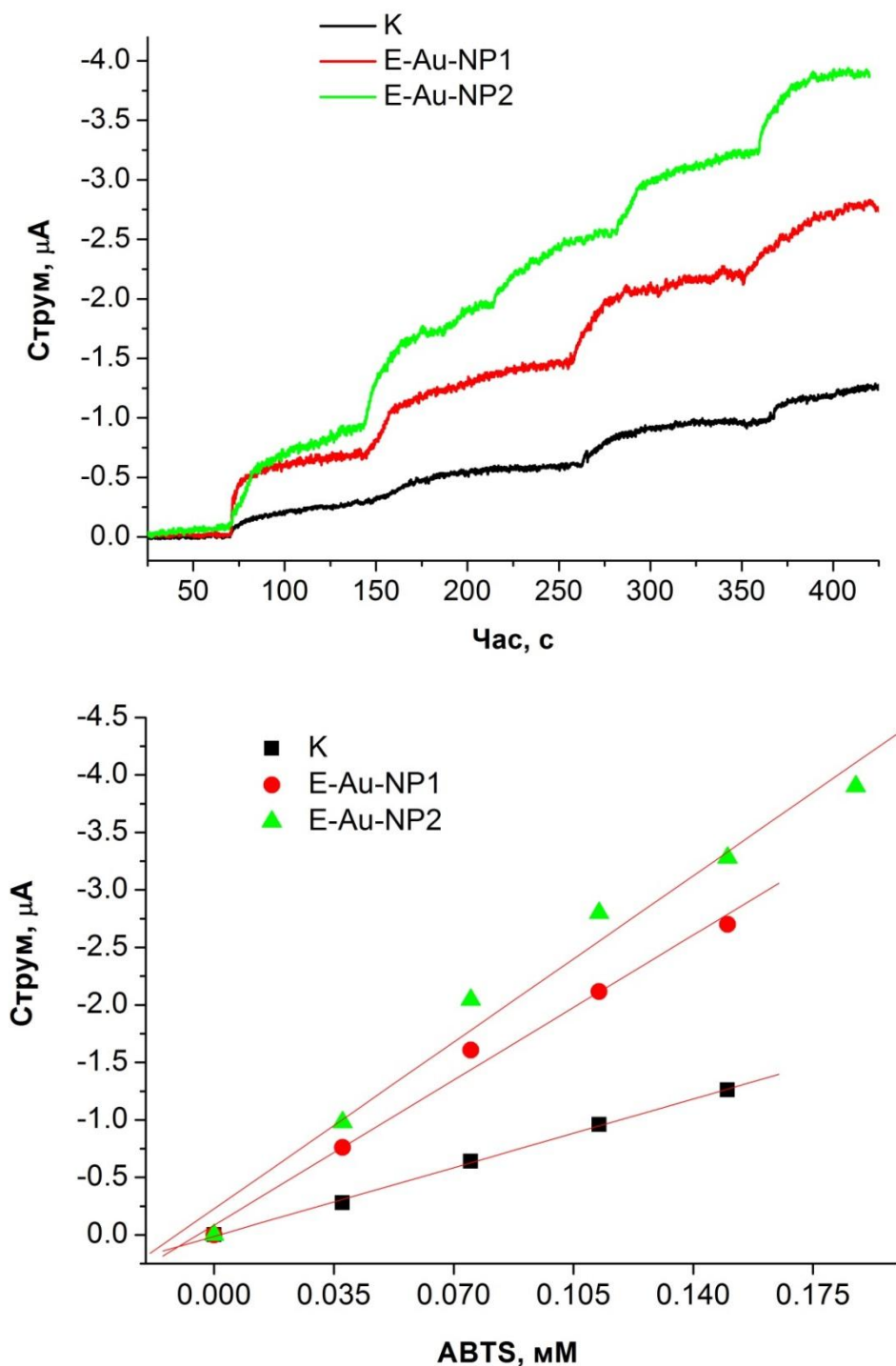


Рис. 4.16. Типові хроноамперометричні (зверху) і калібрувальні (знизу) криві на зростаючі внесення ABTS для планарних біоелектродів *DRP-C220AT* з іммобілізованими у полімерному композиті (As_2S_3 -ureasil) вільної лаккази (К) та E-Au-НЧ1 і E-Au-НЧ2. Умови: робочий потенціал -100 мВ проти Ag/AgCl електроду порівняння в 20 мМ ацетатному буфері, рН 5,5 при кімнатній температурі та при постійному перемішуванні [130].

На рис. 4.17 представлені хроноамперограми сконструйованих біоелектродів та відповідні калібрувальні криві реакції на зростаючі внесення ABTS у лінійному діапазоні. Як видно з калібрувальної кривої, лінійність біоелектрода, модифікованого вільною лакказою та E-Au-NЧ1, знаходиться у діапазоні 5-150 мкМ для ABTS, а лінійність E-Au-NЧ2 для ABTS збільшується до 190 мкМ. Описані в роботі [130] аналоги біосенсора показали значно коротші лінійні діапазони для ABTS: 2-9,5 мкМ, до 25 мкМ, 1-10 мкМ, 0,5-15 мкМ, 0,5-100 мкМ і т.п. Широка лінійність біосенсора робить його більш перспективним для точного аналізу зразків, міняючи етап їх розведення. Чутливість біоелектродів розраховували з нахилу кривої (B) з урахуванням робочої площі планарного електрода ($12,6 \text{ мм}^2$) (рис. 4.17) [130].

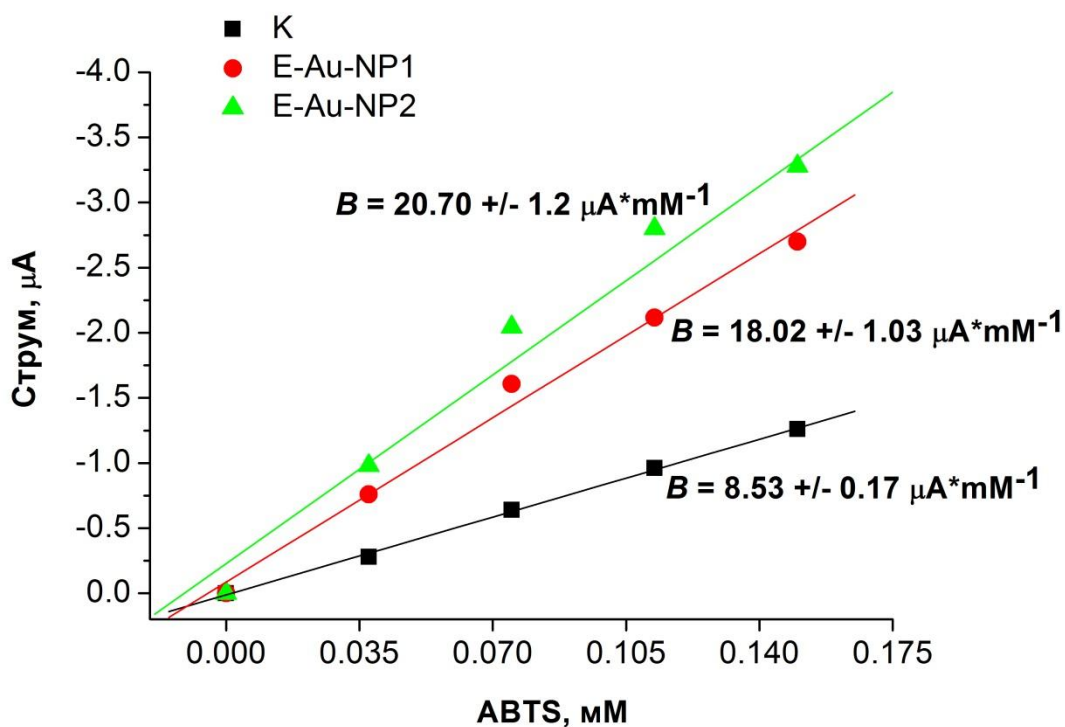


Рис. 4.17. Дослідження чутливості сконструйованих біоелектродів (площа робочої поверхні $12,6 \text{ мм}^2$) з іммобілізованими у полімерному композиті (As_2S_3 -ureasil) вільної лаккази (K) та E-Au-NЧ1 і E-Au-NЧ2. Позначення: B – нахил кривої [130].

Чутливість контрольного біоелектроду на основі вільної лаккази (без використання Au-НЧ) становила $677 \pm 14 \text{ А} \cdot \text{М}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$. У випадку використання електрода на основі E-Au-НЧ1 чутливість відповідає $1430 \pm 82 \text{ А} \cdot \text{М}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$, а для варіанта з іммобілізованим E-Au-НЧ2 - $1642 \pm 95 \text{ А} \cdot \text{М}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$ (рис. 4.17). Отже продемонстровано, що при включенні у біорозпізнаючий шар Au-НЧ з ковалентно іммобілізованою лакказою, чутливість сенсора підвищується у 2,11 рази для E-Au-НЧ1 та 2,43 рази для E-Au-НЧ2 порівняно з вільною лакказою (без використання Au-НЧ).

Зроблено висновок, що уреасил-вмісні композити (As_2S_3 -ureasil), з включеними наночастинками золота (Au-НЧ) характеризуються високою біосумісністю з ковалентно іммобілізованою лакказою та є надзвичайно перспективними для формування біоплівки амперометричних біосенсорів. Сформовані біоплівки слід продовжувати тестувати в якості чутливих матриць для конструювання нових амперометричних біосенсорів із покращеними операційними параметрами.

4.4. Перспективи подальшого вдосконалення

Таким чином, знайдено нові подальші перспективи використання полімерів на основі досліджуваних уреасилікатних матриць при конструюванні амперометричних біосенсорів. За допомогою методу позитронної анігіляційної спектроскопії та експерименту набухання встановлена кореляція між сітковими властивостями біорозпізнаючого шару (а саме, вільний об'єм V_h при температурі склування T_g та коефіцієнти теплового розширення порожнин вільного об'єму α_{F1} та α_{F2} в областях нижче і вище T_g , і їх різниця ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$), а також щільність зшивання полімерних ланцюгів) на основі чистого уреасилу та уреасил/ As_2S_3 композиту та біосенсорними характеристиками (зокрема, максимальний струм насичення I_{\max} , константа Міхаеліса-Ментена K_M до субстрату, нахил калібрувальної кривої B та чутливість біоелектродів), отриманими за допомогою методів амперометрії. Одержані результати

вказують на широкі можливості прогнозованого конструювання амперометричних біосенсорів з необхідними параметрами на основі органічно-неорганічних уреасилікатних полімерних матриць та їх композитів з металевими наночастинками і халькогенідними кластерами.

Температурні залежності $V_h(T)$ були розраховані на основі первинних вимірюваних спектрів життя досліджуваних зразків. Рис. 4.18 порівнює температурну залежність часу життя o-Ps для полімерів на основі уреасилу та двох фотозшитих полімерів [131].

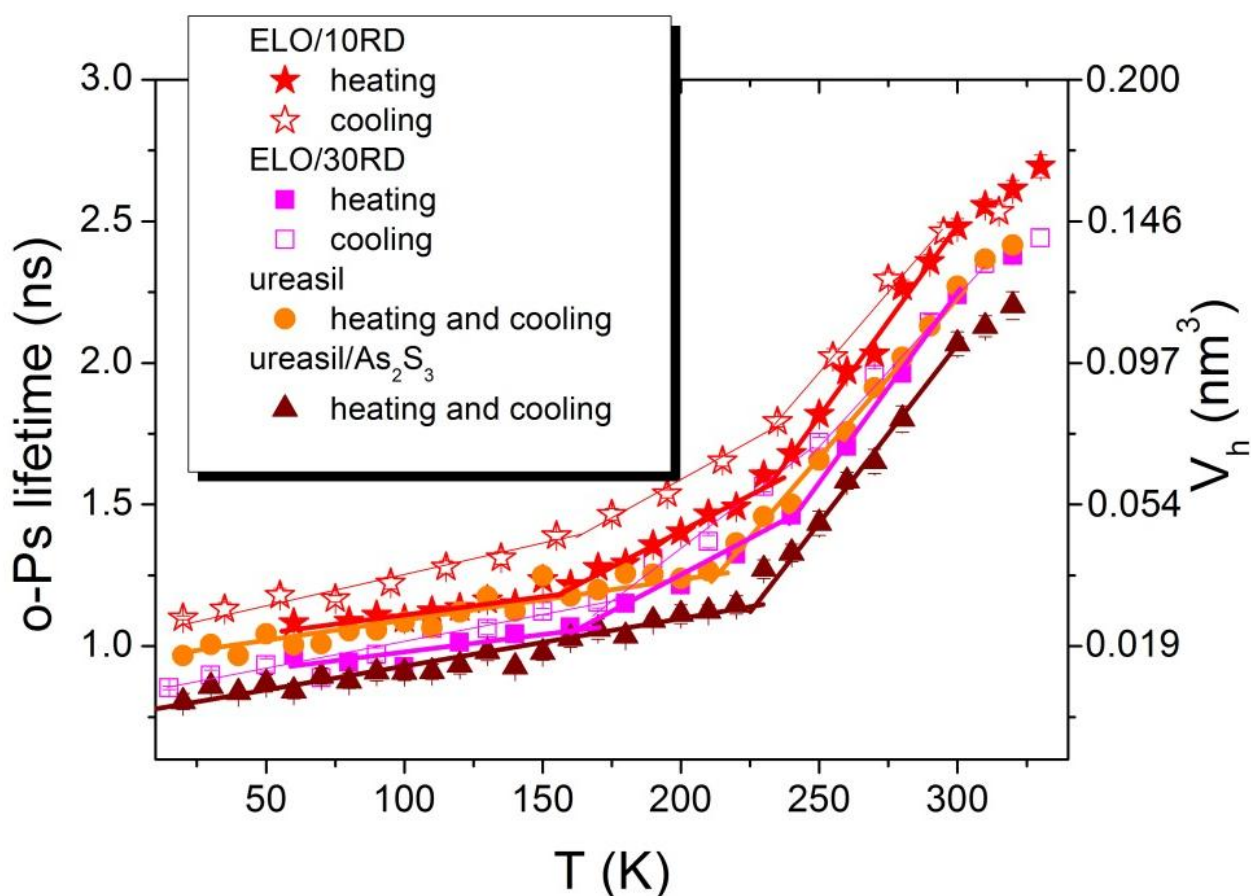


Рис. 4.18. Температурна залежність часу життя o-Ps для полімерів на основі уреасилу (немає різниці між режимами нагрівання та охолодження) та двох фотозшитих полімерів (представлений гістерезис). Права горизонтальна вісь показує вільний об'єм порожнин для порівняння [131].

Визначені значення порожнин із вільним об'ємом V_h при температурі склування, температурі склування (T_g), коефіцієнті теплового розширення ($\alpha_F = (1/V_h)(\Delta V_h/\Delta T)$) мікроскопічного вільного об'єму та набрякості S для полімерів на основі уреасилу наведені в таблиці 4.3 [131]. Включення кластерів As_2S_3 в матрицю уреасилу призводить до зменшення об'єму порожнин V_h при температурі склування T_g і збільшення T_g , різниці ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$) коефіцієнтів для теплового розширення дірок вільного об'єму α_{F1} , α_{F2} нижче і вище T_g відповідно і набряклість S .

Аналізуючи параметри амперометричних ферментних біосенсорів, побудованих на основі полімерних матриць на основі уреасилу (табл. 4.4 [131]), основний вплив кластерів As_2S_3 на чутливість біосенсора виявляється несподівано занадто сильним, тобто чутливість біосенсора в 50 разів вище для композиту уреасил/ As_2S_3 порівняно з немодифікованим матеріалом.

Визначені значення порожнин вільного об'єму V_h , температури склування T_g , коефіцієнта теплового розширення мікроскопічного вільного об'єму α_F та набухання S для фотозшитих полімерів зібрані в таблиці 4.5 [131]. Полімер ELO/10RD характеризується нижчим T_g , меншою набухаючістю або вищою щільністю зшивання, більшими порожнинами вільного об'єму та більшою зміною мікроскопічного вільного об'єму нижче і вище T_g порівняно з полімером ELO/30RD.

Конфлікт між нижчим T_g і більш щільною зшитою системою у випадку полімерного ELO/10RD обумовлений, ймовірно, наявністю слабких фізичних зв'язків, які також можуть відігравати значну роль у поведінці мережі, спричинюючи більш щільну структуру та зменшуючи гнучкість мережі. Іншим можливим поясненням є спотворення параметра S через менш підходящі параметри взаємодії розчинника, тобто недостатня взаємодія між розчинником та упакованою зшитою структурою.

Таблиця 4.3. Об'єм порожнин V_h при температурі склування T_g , нахили α_{F1} , α_{F2} залежностей $V_h(T)$ відповідно в областях нижче і вище T_g , а також їх різниця ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$) та набухання S в EtOH для полімерів на основі уреасилу [131].

Sample	$V_h (T_g)$ (nm ³)	T_g (K)	α_{F1} (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	α_{F2} (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	$\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$ (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	S (%)
Ureasil (c & h)	0.035	216	25	286	261	23.50
Ureasil/As ₂ S ₃ (c & h)	0.027	227	48	344	296	24.14

c – cooling; h – heating

Таблиця 4.4. Біосенсорний відгук I_{max} , постійна K_M^{app} Міхаеліса-Ментена до ABTS як основи, нахил калібрувальної кривої B , чутливість біоелектродів (площа робочої поверхні 12,6 мм²), побудованих на основі лакази, іммобілізованої полімерами на основі уреасилу, та діапазон лінійності побудованих біоелектродів до ABTS [131].

Polymers	I_{max} (μA)	K_M^{app} (mM)	B (μA·mM ⁻¹)	Sensitivity (A·M ⁻¹ ·m ⁻²)	Range of linearity (mM)
Ureasil	7.62	0.64	10.0	794	0.0-0.15
Ureasil/As ₂ S ₃	43.77	0.045	501.7	39817	0.0-0.04

Таблиця 4.5. Об'єм порожнин V_h при температурі склування T_g , нахили α_{F1} , α_{F2} залежностей $V_h(T)$ відповідно в областях нижче і вище T_g , а також їх різниця ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$) та набухання S в EtOH для фотозшитих полімерів [131].

Sample	$V_h (T_g)$ (nm ³)	T_g (K)	α_{F1} (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	α_{F2} (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	$\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$ (10 ⁻⁴ K ⁻¹)	S (%)
ELO/10RD (c)	0.068	233	3.31	11.16	7.85	24.09
ELO/10RD (h)	0.057		3.53	13.02	9.49	
ELO/30RD (c)	0.049	245	3.87	8.96	5.09	24.81
ELO/30RD (h)	0.051		3.47	12.42	8.95	

c – cooling; h – heating

Аналізуючи параметри амперометричних ферментних біосенсорів, побудованих на основі фотозшитих полімерних матриць (табл. 4.6 [131]), виявлено поліпшення чутливості та діапазону лінійності біосенсора для полімеру ELO/10RD, що використовується як утримуюча матриця.

Таблиця 4.6. Біосенсорний відгук I_{\max} , постійна K_M^{app} Міхаеліса-Ментена до ABTS як основи, нахил калібрувальної кривої B , чутливість біоелектродів (площа робочої поверхні $7,35 \text{ мм}^2$), побудованих на основі лакази, іммобілізованої фотозшитими полімерами, та діапазон лінійності побудованих біоелектродів до ABTS [131].

Polymers	I_{\max} (μA)	K_M^{app} (mM)	B ($\mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}$)	Sensitivity ($\text{A}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$)	Range of linearity (mM)
ELO/10RD	4.9	0.36	12.3	1.673	0.006-0.15
ELO/30RD	1.25	0.11	9.07	1.234	0.025-0.10

Загальними ознаками, що спостерігаються для обох досліджуваних полімерів, є більша різниця ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$) коефіцієнтів теплового розширення дірок вільного об'єму α_{F1} , α_{F2} нижче і вище T_g , відповідно, в полімерних матрицях, найвища чутливість амперометричного ферменту біосенсори, побудовані на основі полімерних матриць. Припускають, що виявлена кореляція може бути більш загальною.

В резюме, зміна мікроскопічного вільного об'єму нижче і вище T_g , представлене ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$), слід додатково перевірити як можливий контрольний параметр в експерименті ПАС, який залежить від температури, який може бути використаний для поліпшення експлуатаційних параметрів біосенсорів.

Узагальнюючи результати, виявляється, що чим більша різниця ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$) як відображення мікроструктурних властивостей полімерних матриць, тим найбільша чутливість амперометричних ферментних біосенсорів, побудованих на основі полімерних матриць. Передбачається, що ця мікроструктурна характеристика порожнин вільного об'єму в полімерній сітці, отриманих за

допомогою ПАС, повинна бути додатково перевірена як контрольний параметр для поліпшення функціональності амперметричних ферментних біосенсорів. Причина цього співвідношення досі не зрозуміла. Потрібні додаткові дослідження, щоб зрозуміти внутрішнє розташування полімерної матриці, а також її динаміку. Неможливо це узагальнити з двох вивчених систем [131], і тому подальші дослідження ще тривають.

Висновки до розділу 4

Проведено дослідження взаємодії наночастинок Au з ферментом лакказою. Визначено оптимальне співвідношення об'ємів наночастинки і ферменту. Встановлена нелінійна залежність між тими об'ємами, за допомогою якої можна регулювати об'єм зв'язаного ферменту, від якого залежить його каталітична активність.

Вивчено каталітичні властивості наночастинок золота в залежності від їх розміру та структури. Встановлено, що ферментативний ефект збільшується при зменшенні розмірів наночастинок золота при умові збереження їх кристалічної структури. У зв'язку з тим, проведено рентгеноструктурний аналіз наночастинок золота для підтвердження їх кристалічної структури.

Дослідження показали підвищення чутливості біоелектродів амперметричних біосенсорів на основі лаккази з використанням наночастинок золота зв'язаних з ферментом. Ці біонаночастинки з'єднуються з полімерною матрицею композиту уреасил/ As_2S_3 , утворюючи систему полімер-фермент-металеві наночастинки, яка забезпечує функціонування сенсора.

Знайдено нові подальші перспективи використання полімерів на основі досліджуваних уреасилікатних матриць при конструюванні амперметричних біосенсорів. За допомогою методу позитронної анігіляційної спектроскопії та експерименту набухання встановлена кореляція між сітковими властивостями біорозпізнаючого шару (а саме, вільний об'єм V_h при температурі склування T_g та коефіцієнти теплового розширення порожнин вільного об'єму α_{F1} та α_{F2} в

областях нижче і вище T_g , і їх різниця ($\alpha_{F2} - \alpha_{F1}$), а також щільність зшивання полімерних ланцюгів) на основі чистого уреасилу та уреасил/ As_2S_3 композиту та біосенсорними характеристиками (зокрема, максимальний струм насичення I_{max} , діапазон лінійності, нахил калібрувальної кривої B та чутливість біоелектродів), отриманими за допомогою методів амперометрії.

Одержані результати вказують на широкі можливості прогнозованого конструювання амперометричних біосенсорів з необхідними та керованими операційними параметрами на основі органічно-неорганічних уреасилікатних полімерних матриць та їх композитів з металевими наночастинками і халькогенідними кластерами.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі шляхом проведення комплексного дослідження фізичних властивостей органічно-неорганічних композитних полімерних матриць з наночастинками срібла та золота і халькогенідними кластерами одержано основні результати та зроблено висновки, які полягають у наступному:

1. Встановлено закономірності еволюції іонів срібла, імплантованих у чисту полімерну матрицю і полімерну матрицю, яка містить у собі халькогенідні кластери. Шляхом використання локального рентгеноспектрального аналізу встановлено, що імплантовані іони срібла адсорбуються кластерами As_2S_3 . Таким чином утворюються гібридні системи As_2S_3+Ag , які відіграють важливу роль при створенні нових амперометричних біосенсорів.
2. Запропоновано кінетичну модель формування гібридних систем As_2S_3+Ag у полімерній матриці. При цьому враховується роль радіаційно-стимульованої дифузії імплантованих іонів срібла, завдяки якій встановлюється стаціонарний рівномірний розподіл іонів срібла в процесі іонної імплантації. Таким чином в шарах, що оточують халькогенідні кластери, щільність іонів така ж, як в навколишньому просторі. Рішення кінетичних рівнянь дає дозову залежність накопичення адсорбованих іонів Ag у халькогенідних кластерах і формування кластерів As_2S_3+Ag .
3. Проведено дослідження взаємодії наночастинок Au з ферментом лакказою. Визначено оптимальне співвідношення об'ємів наночастинок і ферменту. Встановлена нелінійна залежність між тими об'ємами, за допомогою якої можна регулювати об'єм зв'язаного ферменту, від якого залежить його каталітична активність.
4. Вивчено каталітичні властивості наночастинок золота в залежності від їх розміру та структури. Встановлено, що ферментативний ефект

збільшується при зменшенні розмірів наночастинок золота при умові збереження їх кристалічної структури. У зв'язку з тим, проведено рентгеноструктурний аналіз наночастинок золота для підтвердження їх кристалічної структури.

5. Дослідження показали підвищення чутливості біоелектродів амперометричних біосенсорів на основі лаккази з використанням наночастинок золота зв'язаних з ферментом. Ці біонаночастинки з'єднуються з полімерною матрицею композиту уреасил/ As_2S_3 , утворюючи систему полімер-фермент-металеві наночастинки, яка забезпечує функціонування сенсора.
6. Показано, що виявлені властивості наночастинок срібла і золота можуть бути використані для вдосконалення та створення нових біосенсорних систем.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. G. Kickelbick. Hybrid materials. Synthesis, characterization and applications, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007.
2. P.C. Barbosa, M.M. Silva, M.J. Smith, A. Gonçalves, N. Fortunato, S.C. Nunes, V. de Zea Bermudez. Di-ureasil xerogels containing lithium bis(trifluoromethanesulfonyl)imide for application in solid-state electrochromic devices, *Electrochim. Acta* 54 (2009) 1002-1009.
3. M. Guglielmi, G. Kickelbick, A. Martucci. Sol-Gel nanocomposites. Springer, New York, 2014.
4. V.Z. Bermudez, L.D. Carlos, L. Alcácer. Sol-gel derived urea cross-linked organically modified silicates. 1. Room temperature mid-infrared spectra. *Chem. Mater.* 11 (1999) 569-580.
5. K. Dahmouche, L.D. Carlos, V.Z. Bermudez, R.A.S. Ferreira, C.V. Santilli, A.F. Craievich. Structural modelling of Eu³⁺-based siloxane-poly(oxyethylene) nanohybrids, *J. Mater. Chem.* 11 (2001) 3249-3257.
6. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., Demkiv O., Klepach H., Kukhazh Y., Šauša O., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Petkov P., Stepanov A.L. Laccase-containing ureasil-polymer composite as the sensing layer of an amperometric biosensor, *J. Appl. Polym. Sci.* 134 (2017) 45278(1-7).
7. E. Stathatos, P. Lianos, U.L. Stangar, B. Orel, P. Judeinstein. Structural study of hybrid organic/inorganic polymer gels using time-resolved fluorescence probing, *Langmuir* 16 (2000) 8672-8676.
8. K. Dahmouche, M. Atik, N.C. Mello, T.J. Bonagamba, H. Panepucci, M.A. Aegerter, P.J. Judeinstein. Investigation of new ion-conducting ORMOLYTES: Structure and properties, *Sol-Gel Sci. Technol.* 12 (1997) 711-715.

9. M.E. Brik, J.J. Titman, J.P. Bayle, P.J. Judeinstein. Mapping of motional heterogeneity of organic-inorganic nanocomposite gels, *Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* 34 (1996) 2533-2542.
10. K. Dahmouche, C.V. Santilli, S.H. Pulcinelli, A.F. Craievich. Small-angle x-ray scattering study of sol-gel-derived siloxane-PEG and siloxane-PPG hybrid materials, *J. Phys. Chem. B* 103 (1999) 4937-4942.
11. V.I. Boev, J. Perez-Juste, I. Pastoriza-Santos, C.J. R. Silva, M. de J.M. Gomes, L.M. Liz-Marzan. Flexible ureasil hybrids with tailored optical properties through doping with metal nanoparticles, *Langmuir* 20 (2004) 10268-10272.
12. C. Buzea, I.I. Pacheco, K. Robbie. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity, *Biointerphas* 2(4) (2007) MR17-MR71.
13. M.M. Kemp, A. Kumar, S. Mousa et al. Synthesis of gold and silver nanoparticles stabilized with glycosaminoglycans having distinctive biological activities, *J. Bio. Macromol.* 10 (2009) 589-595.
14. L.V. Vu, N.N. Long, S.C. Doanh et al. Preparation of silver nanoparticles by pulse sonoelectrochemical method and studying their characteristics, *J. Phys. Conf. Ser.* 187 (2009) 1-9.
15. G. Maribel, M.G. Guzman, J. Dille et al. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity, *World Acad. Sci., Eng. Tech.* 43 (2008) 357-364.
16. X.P. Sun, Z.L. Zhang, B.L. Zhang et al. Preparation of gold nanoparticles protected with polyelectrolyte, *Chin. Chem. Lett.* 14(8) (2003) 866-869.
17. А.В. Вегера, А.Д. Зимон. Синтез и физико-химические свойства наночастиц серебра, стабилизированных желатином, *Журн. прикл. химии* 79(9) (2006) 1419-1422.
18. J. Xu, X. Han, H. Liu et al. Synthesis of monodisperse gold nanoparticles stabilized by gemini surfactant in reverse micelles, *J. Disper. Sci. Technol.* 26 (2005) 473-476.

19. Особенности коллоидно-химических свойств наночастиц: Труды XII Междунар. научной конф., М.: МГУТУ, 3 (2006) 132-136.
20. K.S. Lee, M.A. El-Sayed. Gold and silver nanoparticles in sensing and imaging: sensitivity of plasmon response to size, shape and metal composition, *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 19220-19225.
21. N.I. Cade, T. Ritman-Meer, K.A. Kwakwa et al. The plasmonic engineering of metal nanoparticles for enhanced fluorescence and Raman scattering, *Nanotechnol.* 20 (2009) 285201-285206.
22. Y. Chen, J. Aveyard, R. Wilson. Gold and silver nanoparticles functionalized with known numbers of oligonucleotides per particle for DNA detection, *Chem. Commun.* 24 (2004) 2804-2805.
23. S.K. Arya, S. Saha, J.E. Ramirez-Vick et al. Recent advances in ZnO nanostructures and thin films for biosensors applications: Review, *Anal. Chim. Acta.* 737 (2012) 1-21.
24. L. Dongxiang, H. Qiang, C. Yue. Immobilization of glucose oxidase onto gold nanoparticles with enhanced thermostability, *BBRC* 355 (2007) 488-493.
25. S.L. Frances. Perspective on optical biosensors and integrated sensor systems, *Anal. Chem.* 81 (2009) 519-526.
26. K.C. Grabar, R.G. Freeman, M.B. Hommer et al. Preparation and characterization of gold colloid monolayers, *Anal. Chem.* 67 (1995) 735-743.
27. J.J. Storhoff, R. Elghanian, R.C. Mucic et al. One-pot colorimetric differentiation of polynucleotides with single base imperfections using gold nanoparticle probes, *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998) 1959-1964.
28. H.K. Patra, S. Banerjee, U. Chaudhuri et al. Cell selective response to gold nanoparticles, *NanoMed.* 3(2) (2007) 111-119.
29. X. Zhang, J.Z. Xing, J. Chen et al. Enhanced radiation sensitivity in prostate cancer by gold-nanoparticles, *Clin. Invest. Med.* 31(3) (2008) 160-167.
30. H. Kawasaki, R. Nishimura, R. Arakawa. Influence of the counterions of cetyltrimethylammonium salts on the surfactant adsorption onto gold surfaces

- and the formation of gold nanoparticles, *J. Phys. Chem. C* 111 (2007) 2683-2690.
31. N.R. Jana, L. Gearheart, C.J. Murphy. Wet chemical synthesis of high aspect ratio cylindrical gold nanorods, *J. Phys. Chem. B* 105 (2001) 4065-4067.
 32. M. Bodnar, J.F. Hartmann, J. Borbely. Synthesis and study of cross-linked chitosan-N-poly (vinyl alcohol) nanoparticles, *J. Bio. Macromol.* 7 (2006) 3030-3034.
 33. J. Chen, F. Saeki, B.J. Wiley et al. Gold nanocages: bioconjugation and their potential use as optical imaging contrast agents, *Nano Lett.* 5 (2005) 473-477.
 34. A. Hutten, D. Sudfeld, I. Ennen et al. New magnetic nanoparticles for biotechnology, *J. Biotechnol.* 112(1-2) (2004) 47-63.
 35. K. Gilles, J. Irudayara, G. McCarty. Activity of glucose oxidase functionalized onto magnetic nanoparticles, *Biomagn. Res. Technol.* 3(1) (2005) 1-10.
 36. W. Cai, T. Gao, H. Hong et al. Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology, *Nanotechnol. Sci. Appl.* 1 (2008) 17-32.
 37. L.R. Hirsch, J.B. Jackson, A. Lee et al. A whole blood immunoassay using gold nanoshells, *Anal. Chem.* 75 (2003) 2377-2381.
 38. Y.P. Kim, E. Oh, M.Y. Hong et al. Gold nanoparticle-enhanced secondary ion mass-spectrometry imaging of peptides on self-assembled monolayers, *Anal. Chem.* 78 (2006) 1913-1920.
 39. W.L. Tseng, M.F. Huang, Y.F. Huang et al. Nanoparticle-filled capillary electrophoresis for the separation of long DNA molecules in the presence of hydrodynamic and electrokinetic forces, *Electrophoresis* 26 (2005) 3069-3075.
 40. C.D. Medley, J.E. Smith, Z.W. Tang et al. Gold nanoparticle-based colorimetric assay for the direct detection of cancerous cells, *Anal Chem.* 80 (2008) 1067-1072.
 41. R.K. Visaria, R.J. Griffin, B.W. Williams et al. Enhancement of tumor thermal therapy using gold nanoparticle-assisted tumor necrosis factor-alpha delivery, *Mol. Cancer Ther.* 5 (2006) 1014-1020.

42. R. Goel, D. Swanlund, J. Coad et al. TNF-alpha-based accentuation in cryoinjury – dose, delivery, and response, *Mol. Cancer Ther.* 6 (2007) 2039-2047.
43. S.R. Sershen, S.L. Westcott, N.J. Halas et al. Temperature-sensitive polymer-nanoshell composites for photothermally modulated drug delivery, *J. Biomed. Mater. Res.* 51 (2000) 293-298.
44. L.H. Dubois, R.G. Nuzzo. Synthesis, structure, and properties of model organic surfaces, *Annu. Rev. Phys. Chem.* 43 (1992) 437-463.
45. C. Lee, Yo. Kang, K. Lee et al. Molecular wires and gold nanoparticles as molewares for the molecular scale electronics, *Curr. Appl. Phys.* 2(1) (2002) 39-45.
46. S.L.D. Gibb, B.C. Gibb Estimating the efficiency of self-assemblies, *J. Supramol. Chem.* 1(1) (2001) 39-52.
47. G. Decher, Yu. Lvov, J. Shmitt. Proof of multilayer structural organization in self-assembled polycation-polyanion molecular films, *Thin Solid. Film.* 244(1-2) (1994) 772-777.
48. W.B. Stockton, M.F. Rubner. Polyaniline via hydrogen-bonding interactions, *Macromol.* 30(9) (1997) 2717-2725.
49. M.A. Ansell, E.B. Cogan, G.A. Neff et al. Self-assembly of thin film superstructures based on alternating metal-*bis*- phosphonate and cobalt diisocyanide layers, *Supramol. Sci.* 4(1) (1997) 21-26.
50. Y. Shimazaki, M. Mitsiushi, S. Ito et al. Preparation of the Layer-by-Layer deposited ultrathin film based on the charge transfer interactions, *Langmuir.* 13(6) (1997) 1385-1387.
51. K.L. Prime, G.M. Whitesides. Self-assembled organic monolayers: model systems for studying adsorption of proteins at surfaces, *Ibid.* 252 (1991) 1164-1167.
52. M.J. Wirth, R.W.P. Fairbank, H.O. Fatunmbi. Mixed self-assembled monolayers in chemical separations, *Ibid.* 264(5159) (1997) 696-698.

53. S. Ferretti, S. Paynter, D.A. Russell et al. Self-assembled monolayers: a versatile tool for the formulation of bio-surfaces, *Trends Anal. Chem.* 19(9) (2000) 530-540.
54. R.M. Nyquist, A.S. Eberhardt, L.A. Silks et al. Characterization of Self-Assembled Monolayers for biosensors applications, *Ibid.* 16(4) (2000) 1793-1800.
55. J.A. Vanables. Rate equation approaches to thin film nucleation kinetics, *Phil. Mag.* 27 (1973) 697-738.
56. E.A. Ramirez, E. Cortes, A.A. Rubert et al. Complex Surface Chemistry of 4-mercaptopyridine self-assembled monolayers on Au (111), *Langmuir* 28(17) (2012) 6839-6847.
57. Th. Wink, S.J. van Zuilen, A. Bult et al. Self-assembled monolayers for biosensors, *Analyst* 122 (1997) 43R-50R.
58. Sang-Uk Kim, Ajay Kumar Yagati, Ravindra P. Singh et al. Charge storage investigation in self-assembled monolayer of redox-active recombinant azurin, *Current Appl. Phys.* 9 (2009) e71-e75.
59. M.K. Rawat, A. Jain, A. Mishra et al. Development of repaglinide loaded solid lipid nanocarrier: selection of fabrication method, *Curr. Drug Deliv.* 1 (2010) 44-50.
60. T. Nakamura, K. Aoki, J. Chen. Temperature-variation of capacitance of alkanethiol monolayer films, *Electrochim. Acta.* 47 (2002) 2407-2411.
61. Z.X. Xie, Z.F. Huang, X. Xu. Influence of reconstruction on the structure of self-assembled normal-alkane monolayers on Au(111) surfaces, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 4 (2002) 1486-1489.
62. M.D. Malinsky, K.L. Kelly, G.C. Schatz et al. Chain length dependence and sensing capabilities of the localized surface plasmon resonance of silver nanoparticles chemically modified with alkanethiol self-assembled monolayers, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 1471-1482.

63. E. Karakus, S. Pekyardimci, K. Esmâ. Urea biosensor based on PVC membrane containing palmitic acid, *Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol.* 33(3) (2005) 329-341.
64. L. Setti, A. Fraleoni-Morgera, B. Ballarin et al] An amperometric glucose biosensor prototype fabricated by thermal inkjet printing, *Biosens. Bioelectron.* 20 (2005) 2019-2026.
65. Y.T. Shih, H.J. Huang. A creatinine deaminase modified polyaniline electrode for creatinine analysis, *Anal. Chim. Acta.* 392 (1999) 143-150.
66. A. Chaubey, K.K. Pande, B.D. Malhotra. Application of polyaniline/sol-gel derived tetraethylortho- silicate films to an amperometric lactate biosensor, *Anal. Sci.* 19(11) (2003) 1477-1480.
67. B. Gupta, S. Singh, S. Mohan, R. Prakash. Urea Biosensor based on Conducting Polymer Transducers, *In-Tech: Biosensors*, 2010, P. 93-114.
68. P.S. Rao, S. Subrahmanya, D.N. Sathyanarayana. Inverse emulsion polymerization: a new route for the synthesis of conducting polyaniline, *Synth. Met.* 128 (2002) 311-316.
69. A.D. McFarland, C.L. Haynes, C.A. Mirkin et al. Color my Nanoworld, *J. Chem. Edu.*, 81 (2004) 544A-544B.
70. A. Ulman, J.F. Kang, Yi. Shnidman et al. Self-assembled monolayers of rigid thiols, *Rev. Mol. Biotechnol.* 74 (2000) 175-188.
71. M. Angelopoulos, G.E. Asturias, S.P. Ermer et al. Polyaniline: Solutions, Films and Oxidation state, *Mol. Cryst. and Liquid Cryst.* 160 (1988) 151-163.
72. N. Matsumoto, Y. Hu, G.S. Wilson. Electrochemically mediated electrodeposition/electropolymerization to yield a glucose microbiosensor with improved characteristics, *Anal. Chem.* 74 (2002) 368-372.
73. A. Dieguez, A. Romano-Rodriquez, J.R. Morante et al. Nanoparticle engineering for gas sensor optimization: improved sol-gel fabrication nanocrystalline SnO₂ thick film gas sensor for NO₂ detection by calcinations,

- catalytic metal introduction and grinding treatment, *Sens. Actuat.* 60 (1999) 125-137.
74. J.H. Shin, S.W. Weinman, M.H. Schoenfish. Sol gel derived amperometric nitric oxide microsensor, *Sol Anal. Chem.* 77 (2005) 3494-3501.
 75. S.R. Forrest, B.B. Elmore, J.D. Palmer. Activity and lifetime of urease immobilized using layer-by-layer nano self-assembly on silicon microchannels, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 26 (2005) 85-91.
 76. L.P. Xu, S. Wang, H. Dong et al. Fractal gold modified electrode for ultrasensitive thrombin detection, *Nanoscale* 4(12) (2012) 3786-3790.
 77. K. Arshar, K. Twomey. Thin films of $\text{In}_2\text{O}_3/\text{SiO}$ for humidity sensing applications, *Sensors* 2 (2002) 205-218.
 78. O. Shulga, J.R. Kirchhoff. Anacetylcholinesterase enzyme electrode stabilized by an electrodeposited gold nanoparticle layer, *Electrochem. Comm.* 9 (2007) 935-940.
 79. S.Q. Liu, J.H. Yu, H.X. Ju. Renewable phenol biosensor based on a tyrosinase colloidal gold modified carbon paste electrode, *J. Electroanal. Chem.* 540 (2003) 61-67.
 80. R.M. Nashar. Flow injection catalase activity measurement based on gold nanoparticles/carbon nanotubes modified glassy carbon electrode, *Talanta* 96 (2012) 161-167.
 81. J. Manso, M.L. Mena, P. Yanez-Sedeno et al. Electrochemical biosensors based on colloidal gold-carbon nanotubes composite electrodes, *J. Electroanal. Chem.* 603 (2007) 1-7.
 82. P.J. Halling, P. Dunnill. Magnetic supports for immobilized enzymes and bioaffinity adsorbents, *Enzyme Microbiol. Technol.* 2 (1980) 2-10.
 83. M.H. Liao, D.H. Chen. Immobilization of yeast alcohol dehydrogenase on magnetic nanoparticles for improving its stability, *Biotechnol. Lett.* 23 (2001) 1723-1727.

84. B. Orlich, H. Berger, M. Lade et al. Stability and activity of alcohol dehydrogenases in w/o-microemulsions: enantioselective reduction including cofactor regeneration, *Biotechnol. Bioeng.* 70 (2000) 638-646.
85. J. Bailes, S. Gazi, R. Ivanova et al. Preparation of enzyme nanoparticles and studying the catalytic activity of the immobilized nanoparticles on polyethylene films, *Methods Mol. Biol.* 906 (2012) 89-99.
86. J. Hong, W. Wang, K. Huang et al. A highly efficient nano-cluster artificial peroxidase and its direct electrochemistry on a nano complex modified glassy carbon electrode, *Anal. Sci.* 28(7) (2012) 711-716.
87. N. Louise, A.S. Hazell. Manganese neurotoxicity: an update of pathophysiologic mechanisms, *Metabol. Brain Disease* 17(4) (2002) 375-387.
88. Z. Yin, H. Jiang, E.S. Lee et al. Ferroportin is a manganese-responsive protein that decreases manganese cytotoxicity and accumulation, *J. Neuro Chem.* 112(5) (2010) 1190-1198.
89. X. Li, Z. Lou, X. Li et al. Structure of human cytosolic X-prolyl aminopeptidase: a double Mn(II)-dependent dimeric enzyme with a novel three-domain subunit, *J. Biol. Chem.* 238(33) (2008) 22858-22866.
90. F. Karim, A. N. M. Fakhruddin. Recent advances in the development of biosensor for phenol: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol.* 11 (2012) 261-274.
91. B.J. Danzo. The effects of environmental hormones on reproduction, *Cell. Mol. Life Sci.* 54 (1998) 1249-1264.
92. J.R. Roy, S. Chakraborty, T.R. Chakraborty. Estrogen-like endocrine disrupting chemicals affecting puberty in humans-a review, *Med. Sci. Monit.* 15 (2009) 137-145.
93. R. Rozati, P.P. Reddy, P. Reddanna, R. Mujtaba. Role of environmental estrogens in the deterioration of male factor fertility, *Fertil. Steril.* 78 (2002) 1187-1194.

94. J. Oehlmann, U. Schulte-Oehlmann. Endocrine disruption in invertebrates, *Pure Appl. Chem.* 75 (2003) 2207-2218.
95. V. Contardo-Jara, C. Lorenz, S. Pflugmacher, G. Nützmann, W. Kloas, C. Wiegand. Exposure to human pharmaceuticals Carbamazepine, Ibuprofen and Bezafibrate causes molecular effects in *Dreissena polymorpha*, *Aquat. Toxicol.* 105 (2011) 428-437.
96. Y. Zhou, L. Wang, J. Liu, W. Li, J. Zheng. Options of sustainable groundwater development in Beijing Plain, China, *Phys. Chem. Earth* 47-48 (2012) 99-113.
97. S.R. Yashas, B.P. Shivakumara, T.H. Udayashankara, B.M. Krishna. Laccase Biosensor: Green Technique for Quantification of Phenols in Wastewater (A Review), *Orient. J. Chem.*, 34(2) (2018) 631-637.
98. P. Giardina, V. Faraco, C. Pezzella, A. Piscitelli, S. Vanhulle, G. Sannia. Laccases: a never-ending story, *Cell. Mol. Life Sci.*, 67 (2010) 369-385.
99. M.M. Rodríguez-Delgado, G.S. Alemán-Nava, J.M. Rodríguez-Delgado, G. Dieck-Assad, S.O. Martínez-Chapa, D. Barceló, R. Parra. Laccase-based biosensors for detection of phenolic compounds. *Trends Anal. Chem.*, 74 (2015) 21-45.
100. Li, F. Xu. K.H.L. Eriksson. Comparison of fungal laccases and redoxmediators in oxidation of a nonphenolic lignin model compound. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (1999) 2654-2660.
101. G. Tayhas, R. Palmore, H.H. Kim. Electro-enzymatic reduction of dioxygen to water in the cathode compartment of a biofuel cell. *J Electroanal Chem.*, 565 (1999) 110-117.
102. A. Kushwaha, S. Agarwal, K.K. Gupta, S. Maurya, P.K. Chaurasia, A.K. Singh, M.P. Singh. Laccase Enzyme from white rot fungi: An overview and its Application. In: *Incredible world of Biotechnology*. Nova Science Publishers Inc., 2017, Chapter 3, P. 25-41.
103. R.C. Minussi, G.M. Pastore, N. Duran. Potential applications of laccase in the food industry, *Trends Food Sci. Technol.*, 13 (2002) 205-216.

104. R.S. Freire, N. Durán, L.T. Kubota. Effects of fungal laccase immobilization procedures for the development of a biosensor for phenol compounds, *Talanta*, 54(4) (2001) 681-686.
105. T. Kavetsky, O. Smutok, M. Gonchar, O. Demkiv, H. Klepach, Y. Kukhazh, O. Šauša, T. Petkova, V. Boev, V. Ilcheva, P. Petkov, A.L. Stepanov. Laccase-containing ureasil-polymer composite as the sensing layer of an amperometric biosensor, *J. Appl. Polym. Sci.*, 134 (2017) 45278(1-7).
106. T. Kavetsky, O. Šauša, K. Čechová, H. Švajdlenková, I. Maňko, T. Petkova, V. Boev, V. Ilcheva, O. Smutok, Y. Kukhazh, M. Gonchar. Network properties of ureasil-based polymer matrixes for construction of amperometric biosensors as probed by PALS and swelling experiments, *Acta Phys. Pol., A*, 132(5) (2017) 1515-1518.
107. J.J. Roy, T.E. Abraham, K.S. Abhijith, P.V.S. Kumar, M.S. Thakur. Biosensor for the determination of phenols based on Cross-Linked Enzyme Crystals (CLEC) of laccase, *Biosensors & Bioelectronics*, 21(1) (2005) 206-211.
108. J.F. Cabrita, L.M. Abrantes, A.S. Viana. N-Hydroxysuccinimide-terminated self-assembled monolayers on gold for biomolecules immobilisation, *Electrochimica Acta*, 50(10) (2005) 2117-2124.
109. Y. Ferry, D. Leech. Amperometric detection of catecholamine neurotransmitters using electrocatalytic substrate recycling at a laccase electrode, *Electroanalysis*, 17(2) (2005) 2113-2119.
110. B. Bucur, F.-D. Munteanu, J.-L. Marty, A. Vasilescu. Advances in enzyme-based biosensors for pesticide detection, *Biosensors* 8(2) (2018) 27.
111. T.M.B.F. Oliveira, M. Fa Barroso, S. Morais, P. Lima-Neto, A.N. Correia, M.B.P.P. Oliveira, C. Delerue-Matos. Biosensor based on multi-walled carbon nanotubes paste electrode modified with laccase for pirimicarb pesticide quantification, *Talanta*, 106 (2013) 137-143.
112. F.W. Ribeiro, M.F. Barroso, S. Morais, S. Viswanathan, P. de Lima-Neto, A.N. Correia, M.B. Oliveira, C. Delerue-Matos. Simple laccase-based

- biosensor for formetanate hydrochloride quantification in fruits, *Bioelectrochemistry*, 95 (2014) 7-14.
113. Y. Liu, L. Huang, S. Dong. Electrochemical catalysis and thermal stability characterization of laccase-carbon nanotubes-ionic liquid nanocomposite modified graphite electrode, *Biosens. Bioelectron.* 23 (2007) 35-41.
114. S. Chawla, R. Rawal, D. Kumar, C.S. Pundir. Amperometric determination of total phenolic content in wine by laccase immobilized onto silver nanoparticles/zinc oxide nanoparticles modified gold electrode, *Anal. Biochem.* 430 (2012) 16-23.
115. A. Rahman, H. Noh, Y. Shim. Direct electrochemistry of laccase immobilized on Au nanoparticles encapsulated-dendrimer bonded conducting polymer: application for a catechin sensor, *Anal. Chem.* 80 (2008) 8020-8027.
116. A.C. Franzoi, I.C. Vieira, J. Dupont, C.W. Scheeren, L.F. Oliveira. Biosensor for luteolin based on silver or gold nanoparticles in ionic liquid and laccase immobilized in chitosan modified with cyanuric chloride, *Analyst* 134 (2009) 2320-2328.
117. I.V. Pavlidis, M.P. Patila, U.T. Bornscheuer, D. Gournis, H. Stamatis. Graphene-based nanobiocatalytic systems: recent advances and future prospects, *Trends Biotechnol.*, 32 (2014) 312-320.
118. S. Palanisamy, S.K. Ramaraj, S.M. Chen, T.C. Yang, P. Yi-Fan, T.W. Chen, V. Velusamy, S. Selvam. A novel laccase biosensor based on laccase immobilized graphene-cellulose microfiber composite modified screen-printed carbon electrode for sensitive determination of catechol, *Sci. Rep.* 7 (2017) 41214.
119. L.G. Mohtar, P. Aranda, G.A. Messina, M.A. Nazareno, S.V. Pereira, J. Raba, F.A. Bertolino. Amperometric biosensor based on laccase immobilized onto a nanostructured screen-printed electrode for determination of polyphenols in propolis, *Microchem. J.*, 144 (2018) 13-18.

120. G.Z. Gayda, O.M. Demkiv, N.Ye. Stasyuk, R.Ya. Serkiz, M.D. Lootsik, A. Errachid, M.V. Gonchar, M. Nisnevitch. Metallic nanoparticles obtained via “green” synthesis as a platform for biosensor construction, *Appl. Sci.* 9 (2019) 720(1-16).
121. В.И. Графутин, Е.П. Прокопьев. Применение позитронной аннигиляционной спектроскопии для изучения строения вещества, *Успехи физических наук*, 172 (1) (2002) 67-83.
122. В.И. Графутин, О.В. Илюхина, Г.Г. Мясищева, Е.П. Прокопьев, С.П. Тимошенко, Ю.В. Фунтиков, Ю.А. Чаплыгин. Применение и развитие методов позитронной аннигиляционной спектроскопии для определения размеров нанобъектов в пористых системах, дефектных материалах и наноматериалах, *Наноструктуры. Математическая физика и моделирование*, 2(2) (2010) 15-42.
123. Krause-Rehberg and H.S. Leipner. *Positron Annihilation in Semiconductors. Defect Studies*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1999.
124. А. Степанов. Фотонные среды с наночастицами, синтезированными ионной имплантацией // LAP LAMBERT Academic Publishing, 2014, 353 с.
125. A.L. Stepanov, V.I. Nuzhdin, V.F. Valeev, V.V. Vorobev, T.S. Kavetskyu, Y.N. Osin. Synthesis of porous silicon by ion implantation, *Rev. Adv. Mater. Sci.*, 40 (2015) 155-164.
126. V. Ilcheva, V. Boev, G. Zamfirova, V. Gaydarov, V. Lilova, T. Petkova. Transparent Organic-Inorganic Hybrids Obtained from Covalently Bonded Ureasilicate Monomers: Optical and Mechanical Properties. In: *NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics “Nanoscience and Nanotechnology in Security and Protection against CBRN Threats”* (P. Petkov, M.E. Achour, C. Popov, eds.), Dordrecht: Springer, 2020, Chapter 4, P. 59-65.
127. T. Kavetskyu, V. Boev, V. Ilcheva, Y. Kukhazh, O. Smutok, L. Pan’kiv, O. Šauša, H. Švajdlenková, D. Tatchev, G. Avdeev, E. Gericke, A. Hoell, S. Rostamnia, T. Petkova. Structural and free volume characterization of sol-gel

- organic-inorganic hybrids, obtained by co-condensation of two ureasilicate stoichiometric precursors, *J. Appl. Polym. Sci.*, 138 (2021) e50615(1-10).
128. T. Kavetsky, N. Lyadov, V. Valeev, V. Tsmots, T. Petkova, V. Boev, P. Petkov, A.L. Stepanov. New organic-inorganic hybrid ureasil-based polymer and glass-polymer composites with ion-implanted silver nanoparticles, *Phys. Status Solidi C*, 9(12) (2012) 2444-2447.
129. T. Kavetsky, Y. Kukhazh, N. Stasyuk, O. Smutok, O. Demkiv, I. Pan'kiv, O. Kulinska, V. Kavchak, M. Gonchar, A. Stepanov. Using metal nanoparticles in biosensing, In: *Acta Carpathica* 31-32 (J. Gašior, S. Voloshanska, B. Alvarez, N. Hoivanovych, V. Fil, V. Stakhiv, eds.), Rzeszów: Department of Soil Science, Environmental Chemistry and Hydrology Faculty of Biology and Agriculture, University of Rzeszow with Faculty of Biology and Natural Science, Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University, 2019, P.97-106.
130. T. Kavetsky, N. Stasyuk, O. Smutok, O. Demkiv, Y. Kukhazh, N. Hoivanovych, V. Boev, V. Ilcheva, T. Petkova, M. Gonchar. Improvement of amperometric laccase biosensor using enzyme-immobilized gold nanoparticles coupling with ureasil polymer as a host matrix, *Gold Bull.*, 52(2) (2019) 79-85.
131. T. Kavetsky, Y. Kukhazh, K. Zubrytska, O. Smutok, O. Demkiv, M. Gonchar, O. Šauša, H. Švajdlenková, S. Kasetaitė, J. Ostrauskaite, V. Boev, V. Ilcheva, T. Petkova. Controlling the network properties of polymer matrices for improvement of amperometric enzyme biosensors: Contribution of positron annihilation, *Acta Phys. Pol., A*, 137(2) (2020) 246-249.

ДОДАТКИ

Додаток 1

Список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації

В яких опубліковані основні наукові результати:

Статті:

1. Kavetskyy T., Smutok O., Gonchar M., Demkiv O., Klepach H., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Petkov P., Stepanov A.L. Laccase-containing ureasil-polymer composite as the sensing layer of an amperometric biosensor // Journal of Applied Polymer Science. – 2017. – V. 134. – P. 45278(1-7). (IF – 1,901, Scopus, WoS)
2. Kavetskyy T., Šauša O., Čechová K., Švajdlenková H., Maňko I., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Smutok O., **Kukhazh Y.**, Gonchar M. Network properties of ureasil-based polymer matrixes for construction of amperometric biosensors as probed by PALS and swelling experiments // Acta Physica Polonica A. – 2017. – V. 132. – N 5. – P. 1515-1518. (IF – 0,857, Scopus, WoS)
3. Kavetskyy T., Stasyuk N., Smutok O., Demkiv O., **Kukhazh Y.**, Hoivanovych N., Boev V., Ilcheva V., Petkova T., Gonchar M. Improvement of amperometric laccase biosensor using enzyme-immobilized gold nanoparticles coupling with ureasil polymer as a host matrix // Gold Bulletin. – 2019. – V. 52. – N 2. – P. 79-85. (IF – 1,767, Scopus, WoS)
4. Kavetskyy T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M., Šauša O., Švajdlenková H., Kasetaitė S., Ostrauskaite J., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. Controlling the network properties of polymer matrices for improvement of amperometric enzyme biosensors: Contribution of positron

annihilation // *Acta Physica Polonica A.* – 2020. – V. 137. – N 2. – P. 246-249.
(IF – 0,857, Scopus, WoS)

5. Kavetsky T., Boev V., Ilcheva V., **Kukhazh Y.**, Smutok O., Pan'kiv L., Šauša O., Švajdlenková H., Tatchev D., Avdeev G., Gericke E., Hoell A., Rostamnia S., Petkova T. Structural and free volume characterization of sol-gel organic-inorganic hybrids, obtained by co-condensation of two ureasilicate stoichiometric precursors // *Journal of Applied Polymer Science.* – 2021. – P. e50615(1-10), DOI: 10.1002/app.50615. (IF – 2,520, Scopus, WoS)

Розділи в монографіях:

6. Kavetsky T.S., Borc J., **Kukhazh Y.Y.**, Stepanov A.L. The influence of low dose ion-irradiation on the mechanical properties of PMMA probed by nanoindentation (Chapter 7) // *Nanoscience Advances in CBRN Agents Detection, Information and Energy Security*; Eds. P. Petkov, D. Tsiulyanu, W. Kulisch, C. Popov. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology; Dordrecht: Springer. – 2015. – P. 65-71. (Scopus)
7. Kavetsky T.S., Smutok O., Gonchar M., Šauša O., **Kukhazh Y.**, Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Ureasil-based polymer matrices as sensitive layers for the construction of amperometric biosensors (Chapter 30) // *Advanced Nanotechnologies for Detection and Defence against CBRN Agents*; Eds. P. Petkov, D. Tsiulyanu, C. Popov, W. Kulisch. NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics; Dordrecht: Springer. – 2018. – P. 309-316. (Scopus)
8. Kavetsky T.S., Švajdlenková H., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Čechová K., Mat'ko I., Hoivanovych N., Dytso O., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Swelling behavior of organic-inorganic ureasil-based polymers (Chapter 32) // *Advanced Nanotechnologies for Detection and Defence against CBRN Agents*; Eds. P. Petkov, D. Tsiulyanu, C. Popov, W. Kulisch. NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics; Dordrecht: Springer. – 2018. – P. 333-338. (Scopus)

9. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Stasyuk N., Smutok O., Demkiv O., Pan'kiv I., Kulinska O., Kavchak V., Gonchar M., Stepanov A. Using metal nanoparticles in biosensing // Acta Carpathica 31-32; Eds. J. Gąsior, S. Voloshanska, B. Alvarez, N. Hoivanovych, V. Fil, V. Stakhiv; Rzeszów: Department of Soil Science, Environmental Chemistry and Hydrology Faculty of Biology and Agriculture, University of Rzeszow with Faculty of Biology and Natural Science, Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University. – 2019. – P. 97-106.
10. Smutok O., Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Kravtsiv M., Mushynska O., Nykolaishyn-Dytso O., Serkiz R., Voloshanska S., Gonchar M. Non-invasive *L*-lactate analysis of human liquids using a third generation biosensor based on gold nanolayer and flavocytochrome *b*₂ (Chapter 1) // Human Health: Realities and Prospects. Monographic series. Volume 4. “Health and Biosensors”; Eds. N. Skotna, S. Voloshanska, T. Kavetsky, O. Smutok, M. Gonchar; Drohobych: Posvit. – 2019. – P. 8-20.
11. Demkiv O., Smutok O., Kavetsky T., Banah S., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Klepach H., Gonchar M. Laccase as a perspective tool for monitoring and detoxication of phenolic environmental pollutions (Chapter 2) // Human Health: Realities and Prospects. Monographic series. Volume 4. “Health and Biosensors”; Eds. N. Skotna, S. Voloshanska, T. Kavetsky, O. Smutok, M. Gonchar; Drohobych: Posvit. – 2019. – P. 21-34.
12. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Starchevsky M., Šauša O., Švajdlenková H., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M. Novel polymer matrixes for construction of laccase-based amperometric biosensors as probed by positrons and swelling (Chapter 4) // Human Health: Realities and Prospects. Monographic series. Volume 4. “Health and Biosensors”; Eds. N. Skotna, S. Voloshanska, T. Kavetsky, O. Smutok, M. Gonchar; Drohobych: Posvit. – 2019. – P. 45-56.

13. Kavetsky T., Fink D., Kiv A., Bondaruk Yu., Šauša O., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Gonchar M. Polymer lattice and track nanostructures to create novel biosensors (Chapter 19) // Advanced Nanomaterials for Detection of CBRN; Eds. J. Bonca, S. Kruchinin. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology; Dordrecht: Springer. – 2020. – P. 267-273. (Scopus)

Які засвідчують апробацію матеріалів:

Матеріали та тези доповідей на наукових конференціях:

1. Kavetsky T.S., Borc J., **Kukhazh Y.Y.**, Stepanov A.L. The influence of low dose of ion-irradiation on mechanical properties of polymethylmethacrylate probed by nanoindentation // NATO Advanced Study Institute “Nanoscience Advances in CBRN Agents Detection, Information and Energy Security” (Sozopol, Bulgaria, 29 May - 6 June, 2014) Book of Abstr. – Sozopol, 2014. – P. 14.
2. Kavetsky T.S., **Kukhazh Y.Y.**, Borc J., Stepanov A.L. Nanoindentation study of boron-ion implanted polymethyl-methacrylate with ultra nano hardness tester: Methodological aspects // Physics and Technology of Thin Films and Nanosystems / Materials of the XV International Conference ICPTTFN-XV (Ivano-Frankivsk, Ukraine, 11-16 May, 2015) Conference Materials. – Ivano-Frankivsk, 2015. – P. 103.
3. Kavetsky T.S., **Kukhazh Y.Y.**, Borc J., Stepanov A.L. Nanoindentation of boron-ion implanted polymethylmethacrylate up to 1100 nm indentation depth // XXII International Conference “Ion-Surface Interactions (ISI-2015)” (Moscow, Russia, 20-24 August, 2015) Proceedings. – Moscow, 2015. – V. 2. – P. 132-135.
4. Kavetsky T.S., **Kukhazh Y.Y.**, Borc J., Stepanov A.L. Impact of boron-ion-irradiation on the mechanical properties of PMMA: Nanoindentation study in the 300-1100 nm depth // IX International Conference on Topical Problems of

- Semiconductor Physics (Truskavets, Ukraine, 16-20 May, 2016) Book of Abstr. – Truskavets, 2016. – P. 82-83.
5. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., Demkiv O., Klepach H., **Kukhazh Y.**, Sausa O., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Petkov P., Stepanov A.L. Urea-silicate composite with chalcogenide particles as a perspective polymer matrix for construction of amperometric biosensors // IV International Conference on Oxide and Non-Oxide Materials for Optoelectronics and Energy Applications (ICONMO-4) (Borovetz, Bulgaria, 16-19 March, 2017) Book of Abstr. – Borovetz, 2017. – P. 26.
 6. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Borc J., Stepanov A.L. Nanoindentation of PMMA nanocomposites formed by boron-ion implantation // IV International Conference on Oxide and Non-Oxide Materials for Optoelectronics and Energy Applications (ICONMO-4) (Borovetz, Bulgaria, 16-19 March, 2017) Book of Abstr. – Borovetz, 2017. – P. 27.
 7. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Kravtsiv M., Zubrytska K., Mushynska O., Beyba T., Stepanov A. SRIM simulation of low-energy ion bombardment into PMMA matrix // International Scientific and Technical Conference “Laser Technologies. Lasers and Their Application” (Truskavets, Ukraine, 7-9 June, 2017) Conference Materials. – Truskavets, 2017. – P. 151-153.
 8. Kavetsky T., Šauša O., Čechová, Švajdlenková H., Maťko I., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Smutok O., **Kukhazh Y.**, Gonchar M. Network properties of ureasil-based polymer matrixes for construction of amperometric biosensors as probed by PALS and swelling experiments // 12th International Workshop on Positron and Positronium Chemistry (PPC12) (Lublin, Poland, 28 August - 1 September, 2017) Book of Abstr. – Lublin, 2017. – P. O13.
 9. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Čechová K., Švajdlenková H., Maťko I., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Swelling behavior of organic-inorganic ureasil-based polymers // NATO Advanced Study Institute “Advanced

- Technologies for Detection and Defence Against CBRN Agents” (Sozopol, Bulgaria, 12-20 September, 2017) Book of Abstr. – Sozopol, 2017. – P. 4.5-9.
10. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., Demkiv O., Klepach H., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Petkov P., Stepanov A.L. Ureasil-based polymer matrices as sensitive layers for construction of amperometric biosensors for monitoring the level of wastewater pollution // NATO Advanced Study Institute “Advanced Technologies for Detection and Defence Against CBRN Agents” (Sozopol, Bulgaria, 12-20 September, 2017) Book of Abstr. – Sozopol, 2017. – P. 5.2-2.
11. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., Leshko R., **Kukhazh Y.**, Kravtsiv M., Zubrytska K., Mushynska O., Šauša O., Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Novel polymer matrixes for construction of amperometric biosensors // 18th Israel Materials Engineering Conference (IMEC-18) (Leonardo Club Hotel Dead Sea, Israel, 6-8 February, 2018) Book of Abstr. – Dead Sea, 2018. –
<https://events.eventact.com/ProgramView2/Agenda/Lecture?id=168155&code=3246517>.
12. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Kasetaitė S., Ostrauskaite J. Correlation between network properties of polymer matrix and parameters of amperometric enzyme biosensor based on polymer matrix // 8th International Scientific and Technical Conference “Sensor Electronics and Microsystem Technologies (SEMST-8)” (Odessa, Ukraine, 28 May - 1 June, 2018) Book of Abstr. – Odessa, 2018. – P. 49.
13. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Novel ureasil-based polymers for construction of amperometric enzyme biosensors // Composite Materials Congress & Biosensors and Bioelectronics Materials Symposium 2018 (CMC-

- BBS 2018) (Stockholm, Sweden, 3-6 June, 2018) Proceedings & Abstr. Book. – Stockholm, 2018. – DOI: 10.5185/cmc2018.
14. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V., Kasetaitė S., Ostrauskaite J. Amperometric enzyme biosensors based on novel organic-inorganic and photocross-linked polymers // X International Conference “Topical Problems of Semiconductor Physics” (Truskavets, Ukraine, 26-29 June, 2018) Conference Materials. – Truskavets, 2018. – P. 190-192.
15. Kavetsky T., Smutok O., Gonchar M., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. Ureasil-chalcogenide glass organic-inorganic hybrids for construction of amperometric enzymatic biosensors: Recent achievements and future prospects // VIII Ukrainian Scientific Conference on Physics of Semiconductors (USCPS-8) (Uzhhorod, Ukraine, 2-4 October, 2018) Book of Abstr. – Uzhhorod, 2018. – P. 481-482.
16. Stasyuk N., **Kukhazh Y.**, Hoivanovych N., Smutok O., Demkiv O., Kavetsky T., Gonchar M. Improvement of amperometric laccase biosensor using gold nanoparticles coupling with ureasil polymer as a host matrix // International Conference “Advances in Microbiology and Biotechnology” (Lviv, Ukraine, 29-31 October, 2018) Book of Abstr. – Lviv, 2018. – P. 113.
17. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Kravtsiv M., Mushynska O., Hoivanovych N., Smutok O., Gonchar M., Demkiv O., Šauša O., Švajdlenková H., Kasetaitė S., Ostrauskaite J., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. A role of free-volume and crosslink density in the host polymer matrixes for improvement of operational parameters of amperometric biosensors // Vth International Conference on Oxide and Non-Oxide Materials for Optoelectronics and Energy Applications (ICONMO-5) (Borovetz, Bulgaria, 20-23 March, 2019) Book of Abstr. – Borovetz, 2019. – P. OP4.
18. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Kravtsiv M., Zubrytska K., Mushynska O., Klepach H., Voloshanska S., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M. Novel

- polymer matrixes for construction of third-generation amperometric laccase-based biosensors // II International Scientific Congress SMART SOCIETY 2019, Scientific Conference “Ecology and Health Issues” (Czestochowa, Poland, 11-12 April, 2019) Conference Program. – Czestochowa, 2019. – P. 3.
19. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Kravtsiv M., Zubrytska O., Fil N., Boev V., Ilcheva V., Petkova T., Kasetaitė S., Ostrauskaite J., Švajdlenková H., Šauša O. Free-volume characteristics of polymers with different crosslink density used for construction of laccase-based amperometric biosensors // 4th International Congress on Biomaterials & Biosensors (BIOMATSEN 2019) (Oludeniz/Mugla, Turkey, 12-18 May, 2019) Book of Abstr. – Oludeniz/Mugla, 2019. – P. 132-133.
20. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M., Šauša O., Švajdlenková H., Boev V., Ilcheva V., Petkova T., Kasetaitė S., Ostrauskaite J. A correlation between network properties of polymer matrix and parameters of amperometric biosensor based on polymer matrix // XVII International Freik Conference on Physics and Technology of Thin Films and Nanosystems (Ivano-Frankivsk, Ukraine, 20-25 May, 2019) Book of Abstr. – Ivano-Frankivsk, 2019. – P. 95.
21. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Demkiv O., Gonchar M., Šauša O., Švajdlenková H., Kasetaitė S., Ostrauskaite J., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. Controlling the network properties of polymer matrixes for improvement of amperometric enzyme biosensors: Contribution of positron annihilation // 15th International Workshop on Slow Positron Beam Techniques and Applications (SLOPOS-15) (Prague, Czech Republic, 2-6 September, 2019) Book of Abstr. – Prague, 2019. – P. 79.
22. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Šauša O., Švajdlenková H., Boev V., Ilcheva V., Petkova T. Network properties of ureasil-based polymers with elastic and fragile matrixes studied by positron annihilation and swelling // NATO Advanced Study Institute “Nanoscience and Nanotechnology in Security and

- Protection Against CBRN Threats” (Sozopol, Bulgaria, 12-20 September, 2019) Book of Abstr. – Sozopol, 2019. – P. 57.
23. Kavetsky T., Fink D., Kiv A., Donchev I., Šauša O., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Smutok O., Gonchar M. Polymer lattice and track nanostructures to create novel biosensors // NATO Advanced Research Workshop “Advanced Nanomaterials for Detection of CBRN” (Odessa, Ukraine, 2-6 October, 2019) Conference Programme. – Odessa, 2019. – P. 4.
24. Kavetsky T., **Kukhazh Y.**, Zubrytska K., Krasnevych E., Zubrytska O., Boev V., Ilcheva V., Petkova T., Kasetaitė S., Ostrauskaite J., Švajdlenková H., Šauša O. Investigating the network properties of polymer matrixes for controlling a functionality of laccase-based amperometric biosensors // 5th International Congress on Biomaterials & Biosensors (BIOMATSEN 2020) (Oludeniz/Mugla, Turkey, 14-20 October, 2020) Book of Abstr. – Oludeniz/Mugla, 2020. – P. 11-12.