

TARTU ÜLIKOOL

LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

TARTU OBSERVATOORIUM

Happesuse sensori prototüüpimine Veenuse pilvede elukõlblikkuse

uurimiseks

Magistritöö

30 EAP

Laila Kaasik

Juhendajad dr. Mihkel Pajusalu ja prof. Angela Ivask

TARTU 2022

Infoleht

Happesuse sensori prototüüpimine Veenuse pilvede elukõlblikkuse uurimiseks

Käesolevas magistritöös tehakse kokkuvõtte Veenusest astrobioloogia uurimisobjektina ning atsidofiilidest ja nende kohastumustest maal. Töö praktilise tulemusena valmisid pH-tundlikud sensorplaadid, mida kasutati edasisel Tartu Observatooriumi pH-sensor (TOPS) varajase prototüübi loomisel ja katsetamisel. Samuti sai tehtud kindlaks mitmete erinevate materjalide happeskindlus, et jätkata tööd prototüübi arendamisel. Tartu Observatooriumi pH-sensor sisaldub MITi juhitud missioonis "*Venus Life Finder Mission Study*", mille eesmärk on Veenuselt elu otsida.

Märksõnad: atsidofiilid, astrobioloogia, kosmosetehnoloogia

CERCS kood ja nimetus:

P520 - Astronoomia, kosmoseuuringud, kosmosekeemia

T320 - Kosmosetehnoloogia

B100 - Biomeditsiini ajalugu ja filosoofia, teoreetiline bioloogia, evolutsiooni üldised küsimused

Prototyping an acidity sensor to research habitability of the clouds of Venus

This master's thesis summarises knowledge about Venus as an astrobiological object, as well as acidophiles and their adaptations on Earth. As a practical result of the work, pH-sensitive sensor plates were made, which were then used in the development and testing of an early prototype of the Tartu Observatory pH Sensor (TOPS). To continue working on prototype development, the acid resistance of several different materials was also identified. The Tartu Observatory's pH sensor is part of the MIT-led mission "Venus Life Finder Mission Study," the aim of which is to search for life on Venus.

Keywords: acidophiles, astrobiology, space technology

CERCS code and designation:

P520 - Astronomy, space research, cosmic chemistry

T320 - Space technology

B100 - History and philosophy of biomedical sciences, theoretical biology, general aspects of evolution

Sissejuhatus	4
1. Kirjanduse ülevaade	5
1.1. Elu Universumis	5
1.2. Veenus kui astrobioloogiliste uuringute sihtmärk	7
1.2.1. Üldine ülevaade	7
1.2.2. Atmosfääri keemiline koostis ja Veenuse pilved	8
1.3. Atsidofiilid	13
1.3.1. Varieeruvus ja esinemine	13
1.3.2. Kohastumine ja kohanemine happeliste keskkondadega	14
1.4. Veenuse pH-sensori kontseptsioon - Tartu Observatooriumi pH-sensor (TOPS)	18
2. Eksperimentaalosa	23
2.1. Töö eesmärgid	23
2.2 Materjal ja meetodika	24
2.2.1. Maatriksi leidmine UV-kiirguse mõjul fluorestseeruva pigmendi sidumiseks	24
2.2.2. Maatriksi ja pigmendi suhe.	26
2.2.3. Maatriksi ja pigmendi pinnale kandmine	27
2.2.4. Materjalide happekindlus	27
2.3. Tulemused ja arutelu	28
Kokkuvõte	35
Summary	36
Tänuõnad	37
Kasutatud kirjandus	38

Sissejuhatus

Meie praeguste teadmiste kohaselt eksisteerib elu ainult planeedil Maa ja vajab eksisteerimiseks kindlaid keemilisi ja füüsikalisi tingimusi. Astrobioloogia valdkond uurib võimalike tingimuste piire, kus elu saab eksisteerida ja tekkida ning seda, kas elu võiks eksisteerida ka mujal lisaks planeet Maale.

Veenus on kauguse poolest Maale lähim planeet ja ka suuruselt Maale kõige sarnasem, kuid Veenust pole *in situ* uuritud alates 1980. aastatest. Veenusel on tihe CO₂ atmosfäär ja selle tekitatava kasvuhooneefekti tõttu on temperatuur ja rõhk Veenuse pinnal elu eksisteerimiseks liiga kõrged. Veenuse pilvedes aga on temperatuur ja rõhk eluks sobilikud. Veenuse keemia ja tingimuste osas on seni palju vastamata küsimusi, sealhulgas pole täpselt teada Veenuse pilvede happesus. Oluline on kindlaks teha, milline keemia (kaasa arvatud elu) seal eksisteerida võiks.

Magistritöö eesmärk on anda ülevaade Veenuse tingimustest ja atsidofiilide teadaolevatest kohastumistest kõrge happesusega keskkonnale ja töötada välja meetodika sensorplaatide tootmiseks Tartu Observatooriumi pH sensori (TOPS) jaoks ning neid katsetada et mõõta Veenuse pilvede happesust missiooni Venus Life Finder raames.

1. Kirjanduse ülevaade

1.1. Elu Universumis

Hiljutiste hinnangute kohaselt on ainuüksi praegu jälgitavas universumis 100–200 miljardit galaktikat (Conselice et al., 2016; Lauer et al., 2020). Tähtede arv galaktikas võib olla väga erinev, kuid näiteks meie Linnutee sisaldab 100–400 miljardit tähte, kusjuures enamusel neist tähtedest on vähemalt üks planeet. Meie universumi võimalikke maailmu näib olevat võimatu loendada (Cassan et al., 2012), kuid praegu teame vaid üht, mis kannab elu – see on Maa.

Selle magistritöö kirjutamise ajal, 2022. aasta mais, on kinnitatud 5036 eksoplaneedi olemasolu, kusjuures 822 teadaolevat eksoplaneetidega süsteemi sisaldavad mitut planeeti (The Extrasolar Planet Encyclopaedia). Erilist huvi pakuvad planeedid, mis asuvad tähte ümbritsevas elukõlblikus vööndis (nn Kuldkihara vöönd (*Goldilock's zone*)) (Huang, 1959), kus planeedi pinnal saab esineda eluks vajalik vedelas olekus vesi (Chandler et al., 2016).

Tegelikult tuleks aga arvesse võtta ka rohkem tegureid. Näiteks väljaspool traditsioonilist elamiskõlblikku vööndit asuvate hiidplaneetide kuud on astrobioloogiliste uuringute sihtmärgid (Marion et al., 2003; Seager, 2013). Väljaspool traditsioonilist elamiskõlblikku vööndit on loodejõudude töö ja radioaktiivne lagunemine kaks hüpoteetilist soojusallikat, mis võivad aidata kaasa vedela vee olemasolule. Isegi tähesüsteemist väljasattunud hulkurplaneetide kohta on oletatud, et radioaktiivsel lagunemisel tekkiva soojuse ja paksu jääkihi tõttu nende pinnal võivad need olla jääkihi all elamiskõlblikud (Abbot ja Switzer, 2011).

Enamik teadusuuringuid, mida tehakse lootuses leida elu mujal peale Päikesesüsteemi, otsivad elu läbi kaudsete tunnuste nagu planeedi tihedus ja suurus (Hill et al., 2018), otsivad kus võiks leiduda vedelat vett ja uuritakse potentsiaalseid atmosfäärides elule viitavaid (*biosignature*) gaase ja tunnuseid (Seager et al., 2016) ning otsivad tehnosignaale (Sheikh, 2020; Traas et al., 2021), nagu raadioteleskoopide abil kosmilistest raadiolainetest signaale (Cocconi ja Morrison, 1959).

Kaugete tähtede juurde kiiremas korras jõudmine on meie praeguse tehnoloogiaga võimatu ja füüsikaseadused piiravad ka oluliselt osade paikadeni jõudmist, seetõttu ei ole lähitulevikus lootust kohapealseid analüüse sealt teha. Kuni me pole saanud otsest kinnitust signaalide vastuvõtust kosmoseolenditelt, ei saa kosmosesignaalid kunagi lõplikult kinnitada elu olemasolu teisel planeedil. Seetõttu on parim võimalus pöörata tähelepanu meie Päikesesüsteemile, kus leidub mitmesuguseid uurimisväärsete tingimustega paiku, ning kaudselt aitavad need teadmised omakorda tulevikus ka mõista andmeid mida kogutakse eksoplaneetide kohta.

Kuigi kosmosest ei ole veel elu leitud, pole haruldane, et sealt leitakse keerukaid orgaanilisi aineid. Missiooni Stardust kosmosesondiga Maale toodud aine analüüsimisel leiti, et komeet Comet 81P/Wild (tuntud ka Wild 2 nime all) sisaldab glütsiini ja ϵ -amino-kaproonhapet (EACA) (Elsila et al., 2009). Meteoriididest on varem leitud mitmeid aminohappeid ja ka lämmastikaluseid (Kvenvolden et al., 1970; Martins et al., 2008).

Glükoolaldehüüdi on leitud raadioteleskoopidest koosneva interferomeetri *Atacama Large Millimeter Array* (ALMA) vaatluste põhjal koguni väljaspool Päikesesüsteemi, ühe noore Päikese tüüpi tähe juures. Orbitaalspektromeetri ROSINA (Rosetta Orbiter Spectrometer for Ion and Neutral Analysis) abil uuriti komeedist 67P/Churyumov-Gerasimenko kogutud ainet ja leiti sellest glütsiini, metüülamiini, etüülamiini ja fosforit (Altwegg et al., 2016). Need ja mitmed muud tulemused näitavad seda, et elu koostisosad eksisteerivad lisaks Maale ka mujal universumis.

Viimastel aastakümnetel on planeedi uuringute keskmes olnud Marss ja sealt on leitud märke, mis võivad viidata minevikus eksisteerinud elule, kuid konkreetseid tõendeid elu kohta Marsil veel ei ole (House et al., 2022). Samuti on arutletud gaasist hiidplaneetide kaaslaste edasise uurimise üle Päikesesüsteemi kaugemas osas. Kuid meile kõige lähemat planeeti Veenust on viimastel aastakümnetel üsna põhjendatult suuresti eiratud – Veenuse pinnatemperatuur on 735 K (461°C) ja selle pilved koosnevad peamiselt väävelhapest. Vastavalt meie arusaamale keemiast ja bioloogiast pole need tingimused kuigi tõenäoliselt elamiskõlblikud.

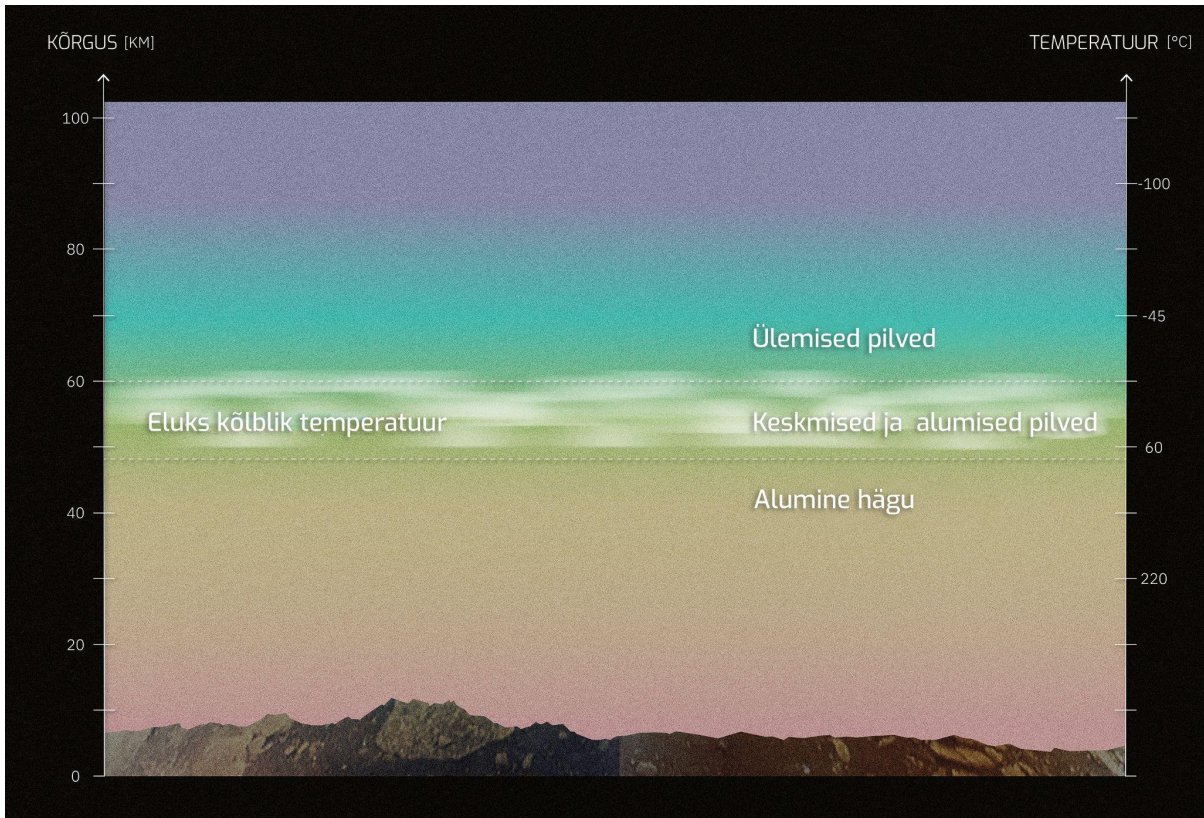
1.2. Veenus kui astrobioloogiliste uuringute sihtmärk

1.2.1. Üldine ülevaade

Veenusest hakati astrobioloogia kontekstis rääkima 2020. aasta septembris, kui Veenuse atmosfääris avastati märke fosfaanist (PH_3) (Greaves et al., 2020). Fosfaan on elu olemasolule viitav nn biosignatuurgaas ja Maal toodavad seda ainult elusorganismid. Pole teada viisi, kuidas fosfaan saaks tekkida Veenuse-sarnastel kiviplaneetidel, kuigi gaasist koosnevatel hiidplaneetidel tekib see looduslikult (Sousa-Silva et al., 2020). Mõned artiklid on Veenusel fosfaani tuvastamise algusest peale kahtluse alla seadnud (Thompson, 2020; Villanueva et al., 2020). Sõltumatul kordusanalüüsil massispektromeetri *Pioneer Venus Large Probe Neutral Gas Mass Spectrometer* (LNMS) andmetest leiti taas tõendeid selle kohta, et pilvedes esineb fosfaani ja muid mittetasakaalulisuse märke (Mogul et al., 2021). Arutelu fosfaani esinemise üle Veenuse pilvedes ja nende pilvede koostise üle tõenäoliselt jätkub kuni edasiste kohapealsete uuringute tegemiseni.

Viimased *in situ* mõõtmised Veenusel toimusid 36 aastat tagasi. Enne seda oli Veenus 60ndatel ja 70ndatel aastatel esimese eduka planeetidevahelise reisi ja maandumise sihtmärk. Nüüd on kavas mitu lendu Veenusele, sealhulgas seeria *Venus Life Finder Mission*, mis koosneb kolmest lennust eesmärgiga otsida elu tunnuseid (Seager et al., 2021a).

Veenuse pind võis olla minevikus elamiskõlblik ja seal võis leiduda vedelat vett, enne kui kontrollimatu kasvuhooneefekt põhjustas temperatuuri tõusu eluks kõlbmatule tasemele ning põhjustas seal vee aurustumise (Way et al., 2016). Kuigi praegu Veenuse pinnal elu ei ole, jääb pilvede alumiste kihtide temperatuurivahemik Maa bakterite kasvuks sobilikku piirkonda. Pilved on dünaamilised, seal on tuul ja pilvekomponentide ringlus; temperatuurid on vahemikus $-20\text{ }^\circ\text{C}$ (253 K) 62 km juures kuni $100\text{ }^\circ\text{C}$ (373,15 K) 47 km juures (Cockell, 1999; Seager et al., 2021b). Ka kiirgus ei paista olema elu piirav tegur: 54 km kõrgusel Veenuse pinnast on bioloogilise mõju teguriga kaalutud ultraviolettkiirgus väiksem kui Maa pinnal (Dartnell et al., 2015; Patel et al., 2022). Veenuse pilvkatet ja sealseid temperatuure on kujutatud joonisel 1.



Joonis 1. Veenuse pilvkate on terviklik ja alaline, selle temperatuur on eluks kõlblik keskmises ja alumises pilvekihis. Pilvkate asub 48 km kuni 70 km kõrgusel. Joonis kohandatud allikast (Seager et al., 2021b), uuesti kohandatud Rute Marta Jansone'i poolt (Kaasik, 2022).

1.2.2. Atmosfääri keemiline koostis ja Veenuse pilved

Veenuse atmosfäär on palju tihedam kui Maa atmosfäär (Knollenberg, 1982) ja see koosneb peamiselt süsinikdioksiidist (üle 96 %). Sisalduselt teine komponent on lämmastik: keskmiselt on atmosfääris 3,5 % molekulaarset lämmastikku, 64 km kõrgusel kuni 5,0 %. Atmosfääri piirkonnad erinevad keemilise koostise poolest (Peplowski et al., 2020; Taylor ja Hunten, 2014). Muid ühendeid ja elemente leidub mikrokogustes, kuid mõned neist on huvipakkuvad: näiteks paljud gaasid, mille leidmine seal oli ootamatu. Osasid neist on peetud artefaktideks. Lisaks sellele, et mõned neist on võimaliku elu tunnused, viitavad mõned neist anomaalsetest gaasidest keemilisele mittetasakaalulisusele. Maal valitsev mittetasakaalulisus on tingitud eluga seotud protsessidest ning mittetasakaalulisus teistel planeetidel on peamisi võimalikule elule viitavaid tunnuseid (Krissansen-Totton et al., 2016; Lovelock, 1965).

Automaatjaamade Vega ja Venera abil tehtud kohapealsed pilveosakeste elemendilise koostise mõõtmised näitasid, et seal on olemas eluks vajalikud mittelenduvad elemendid. Pilveosakeste analüüsides leiti olulises koguses väävlit, kloori ja fosforit, tõenäoliselt esinevad neis ka Fe, Se, I, Br, Al, Hg, Pb, Al, As ja Sb (Petryanov-Sokolov et al., 1981; Surkov et al., 1986; Taylor ja Hunten, 2014). Elu vajab ülesehituseks ja katalüüsiprotsessideks mitmesuguseid mittelenduvaid elemente nagu metallid. Kui pilvedes leidub tavaliselt mittelenduvaid elemente, on see üks võimalik näitaja selle kohta, et pilvedes võib olla elu.

Veenuse pilvepiisad koosnevad väga happelisest väävelhappest (H_2SO_4) (Hansen ja Hovenier, 1974), kuid happe täpne kontsentratsioon ja osakestevaheline varieeruvus pole täpselt teada. Grinspoon ja Bullock (2007) hindasid, et pilvede pH väärtused on vahemikus $-1,3-0$ (Grinspoon ja Bullock, 2007). Pilvepiiskade mõõtmistest tuletatud murdumisnäitaja vastab sellele, et pilved koosnevad vähemalt 70 % väävelhappest (Young, 1973).

Kogu Veenuse pinda katvas kihilises pilvkattes on kolm peamist osakeste suurusfraktsiooni, nende keskmine läbimõõt on vahemikus $0,5 \mu m$ (1. fraktsioon), $2-3 \mu m$ (2. fraktsioon) ja $> 3 \mu m$ (3. fraktsioon) (Ragent et al., 1985; Young, 1983). Väikseimate osakeste täpne koostis ei ole teada, kuid arvatakse, et tegemist on väävelhappe lahusega, mis sisaldab erinevaid mineraale. See fraktsioon on sagedasem suurematel kõrgustel. Kõigis pilvekihtides leidub $2-3 \mu m$ läbimõõduga osakesi, suuremad osakesed esinevad pilvede alumises kihis (Titov et al., 2018; Young, 1983).

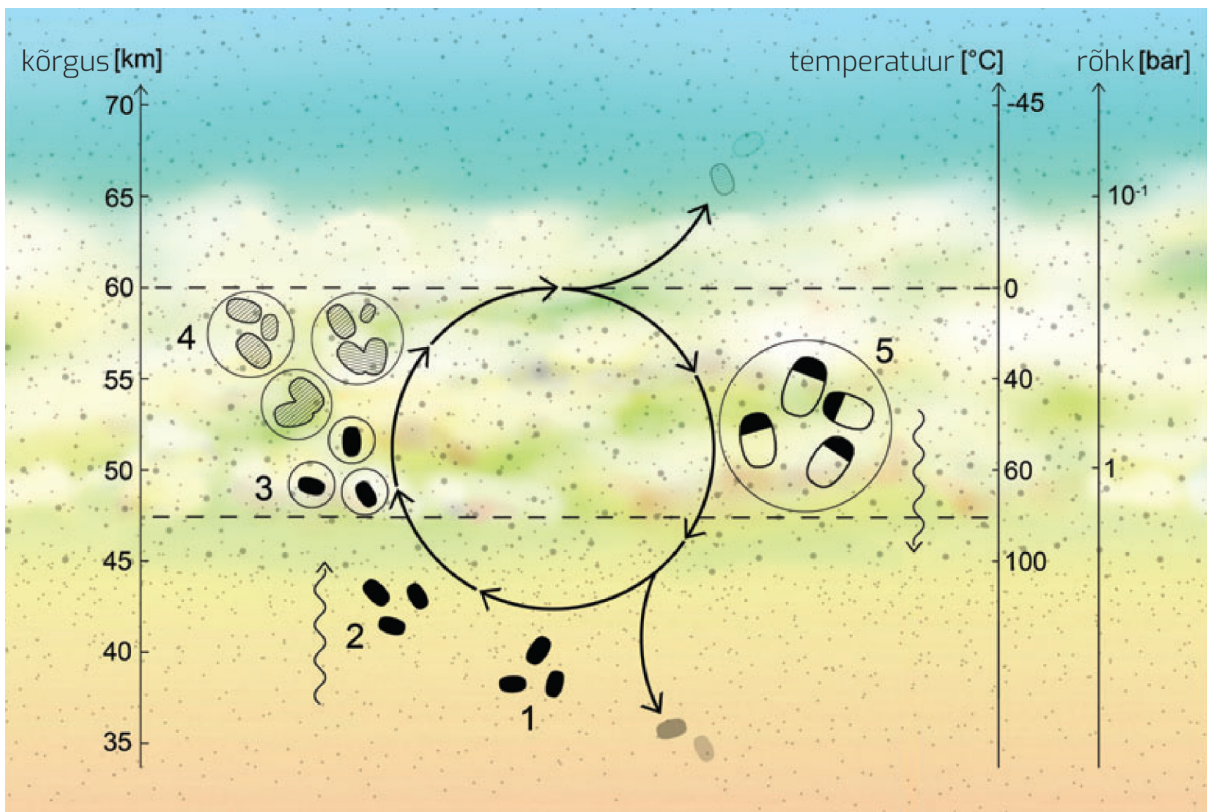
H_2SO_4 kontsentratsioon on väikseim pilvede ülaosas ja suureneb alakihtide suunas. Pilvede alumise piiri lähedal (42 kilomeetri kõrgusel) on vee moolimurd mõnede andmete kohaselt kuni 0,52 %, kuigi andmetes esineb endiselt lahknevusi (Hoffman et al., 1980). Nende andmete kohaselt on pilveosakeste koostis vertikaalteljel suures ulatuses heterogeenne. Pilvepiiskade happesuse, kontsentratsioonide ja muude omaduste varieeruvuse väljaselgitamine oleks elu otsivate uuringute jaoks väga oluline.

Kui Veenusel on elu, peab see tõenäoliselt veetma suurema osa ajast pilvedes vedelikupiiskades (vt joonis 2). Elupaikadeks olevad piisad muutuvad lõpuks sademeteks, seega peavad Veenuse eluvormid moodustama spoorilaadseid struktuure, mis peavad vastu allasadavate tilkade aurustumisele kõrge temperatuuri tõttu (Seager et al., 2021b). Kuivanud

spoorid kogunevad Veenuse pilvedealusesse udukihti ja võivad liikuda sealt tagasi ülespoole atmosfääri lainetamisest põhjustatud vertikaalse segunemise tõttu (Fukuhara et al., 2017; Medvedev ja Yiğit, 2019; Seager et al., 2021b).

Veenuse pilvede elamiskõlblikkuse suurimad piirangud on suur happelisus ja veepuudus. Mõne allika hinnangul on vee termodünaamiline aktiivsus alla 0,02 (Gentry ja Dahlgren, 2019) või isegi alla 0,004 (Hallsworth et al., 2021). See on mitu suurusjärku väiksem kui mis tahes keskkonnas, kus on leitud aktiivset elu metabolismi ja kasvu (Stevenson et al., 2017). Samas tuleb märkida, et samuti kui Maa atmosfäär on muutlik nii ajas kui ruumis, on seda kuigivõrd ka Veenuse atmosfäär ning üldkeskmiste või mittetäielike andmete põhjal arvatud väärtused ei kajasta kõiki võimalikke elupaiku.

Kirjanduses pakutud atmosfääri veesisaldus on väga laias vahemikus, 5 ppm kuni 200 ppm (Bell et al., 1991). Sealse vee tegelik kontsentratsioon ja liikumine atmosfääris pole teada (Rimmer et al., 2021). Eluks sobivate tingimuste otsingul oleks oluline teada ka vee kontsentratsiooni varieeruvust. Samuti on spekuleeritud, et hüpoteetilistel Veenuse mikroobidel võib olla kohastumusi vee püüdmiseks ja kogumiseks (Seager et al., 2021b).



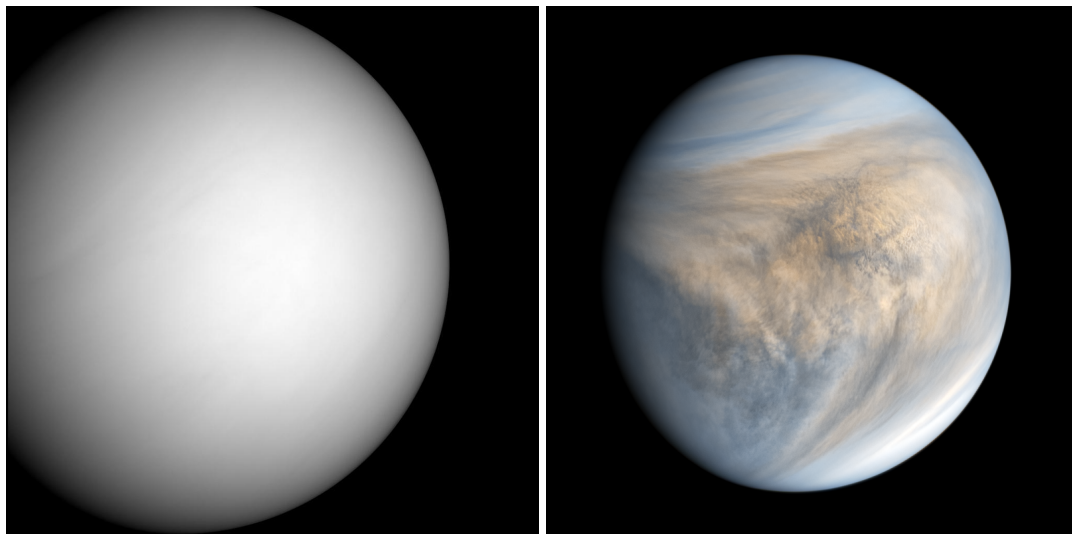
Joonis 2. Hüpotetiline elutsükkel Veenuse pilvedes. 1) Mikroskoopilised organismid on kuivanud spooridena “depoos” kuumades tingimustes pilvede all olevas kihis. 2) Ülesvool kannab sealt spoorid elukõlblikku vööndisse. 3) Spoorid toimivad pilvede kondensatsioonituumadena. 4) Metaboolset aktiivseks muutunud organismid kasvavad ja paljunevad. Gravitatsiooni toimel suured pilvetilgad sadenevad välja, kuid tekkinud kuivavad spoorid langevad uuesti tagasi “depoosse” (Seager et al., 2021b).

Pioneer Venus ja *Venera 14* leidsid Veenuse pilvede alumistes kihtides ja allpool pilve molekulaarset hapnikku (O_2) kontsentratsioon on mõned osakesed miljoni kohta (Oyama et al., 1980). Neid avastusi on peetud artefaktideks, sest ükski teadaolev füüsikaline või keemiline mehhanism ei suudaks säilitada sellist O_2 kontsentratsiooni atmosfääri kõrge temperatuuriga alakihtides (Krasnopolsky, 2006). Vaba hapnik on äärmiselt reaktiivne ja peaks Veenuse termodünaamilistes tingimustes atmosfäärist kiiresti kaduma, seega võib see olla märk elu olemasolust (juhul kui mõõtmistulemused kinnitust leiavad).

Veenuse atmosfääris avastati ootamatult ka ammoniaak (NH_3). Seda peeti artefaktiks, kuid paistab, et on potentsiaalseid tõendeid terve lämmastikuringe olemasolu kohta Veenuse pilvedes (Mogul et al., 2021). Sondi *Pioneer Venus* andmete uuesti analüüsimisel leitud lämmastikuühendite hulgas on selliseid, mis osalevad Maa bioloogilises lämmastikutsükli.

Sond *Pioneer Venus* tuvastas kohapealsete mõõtmistega Veenuse atmosfääris lenduvad süsivesinikud: metaani (CH_4), etaani (C_2H_6) ja benseeni (C_6H_6). Eriti metaani sisaldust hinnati väga suureks, kuid see on tõenäoliselt artefakt, sest kaugvaatlustega saadud piirmäär on seal mõõdetud kontsentratsioonist palju madalam.

Kuigi mainitud ühendite kontsentratsioonide määramises on palju ebakindlust, ootab lahendamist veel üks mõistatus – tundmatu ultravioletineelaja (*the unknown UV absorber*). Nähtavas valguses Veenust vaadeldes on Veenus ühtlane valge kera, kuid Veenust UV-vahemikus vaadeldes ilmnevad suure kontrastsusega piirkonnad, mis aja jooksul muutuvad (vt joonis 3). UV (320 - 400 nm) neelamise eest vastutava aine kindlakstegemiseks on tehtud palju tööd, kuid ükski pakutud kandidaat ei vasta kõigile kriteeriumidele (Seager et al., 2021a). Mõned artiklid on võrrelnud Veenuse tundmatut UV-neelajat isegi vetikate õitsengute mustritega (Limaye et al., 2018).



Joonis 3. Veenus nähtavas lainepikkuses (vasakul; NASA) ja ultraviolettvalguses (365 nm ja 283 nm kombinatsioon) (paremal; JAXA/ISAS/DARTS/Kevin M. Gill).

Elul (sellisena nagu me seda planeedil Maa teame) on ilmselt väga keeruline Veenuse kõrge kontsentratsiooniga väävelhappe tingimustes eksisteerida. Samuti ei ole siiani andmeid organismidest, mille kogu elutsüklil toimiks atmosfääris, ehkki ka kõrgelt Maa atmosfäärist on leitud metaboolselt aktiivseid mikroorganisme (Klein et al., 2016). Kuid olenemata sellest, kas Veenuse pilvedest leitakse elu, annaks Veenuse pilvepiiskade happesuse kohapealne mõõtmine inimkonnale palju informatsiooni, mille olulisust on raske eelnevalt hinnata.

1.3. Atsidofiilid

Kuna selle magistritöö eksperimentaalne osa on seotud just tööga pH sensori väljatöötamise juures Veenuse eeldatavasse madala pHga tingimustesse, siis peatun põgusalt just happesuse mõjul organismidele ja elu võimalikkusele madala pH keskkonnas Maa organismide näitel.

1.3.1. Varieeruvus ja esinemine

Atsidofiilid on üldiselt määratletud kui organismid, kes elavad happelises keskkonnas – see tähendab keskkonda, mille pH on tunduvalt madalam kui 7. Organisme, kelle eelistatud pH on 3 või alla selle, käsitletakse mõnikord ekstreemsete atsidofiilidena (Johnson ja Quatrini, 2020; Quatrini, 2016). Teised on määratlenud atsidofiilidena mikroorganismid, mille kasvuks optimaalne pH on alla 3 (Baker-Austin ja Dopson, 2007).

Määratlus ja selle kohaldamine on erinevad sõltuvalt olukorrast ja valdkonnast, kus seda kasutatakse. Nagu pideva suuruse alusel klassifitseerimine ikka, võib atsidofiilide määratlemine kergesti takerduda semantilistesse detailidesse. Käesoleva töö kontekstis on kõige huvitavamad väga madalal pH tasemel elavad atsidofiilid, sest need on kõige asjakohasemad elamiskõlblikkuse võimalike piirmäärade seisukohast. Kuid erinevaid kohastumisi (olenemata sellest, kas need esinevad ekstreemsetel või mõõdukamatel atsidofiilidel) käsitletakse mõistmaks erinevaid viise, kuidas elu saab kohaneda kõrge vesinikioonide kontsentratsiooniga keskkonnas.

Esimene teadaolev organism, mida võiks kirjeldada ekstreemse atsidofiilina, oli bakter, mis suutis elada lahjendatud väävelhappes, mis oli toodetud vääveli oksüdeerimise kõrvalsaadusena. See oli esimene organism, mida kirjeldati elamas nii madala pH juures kui 3 või isegi 0,6 (Waksman ja Joffe, 1922). Algselt anti sellele bakterile nimi *Thiobacillus thiooxidans*, 2000. aastal liigitati see ümber kui *Acidithiobacillus thiooxidans* (Kelly ja Wood, 2000). Praeguseks on kõigi kolme eludomeeni organisme leitud äärmiselt happelistes keskkondades. Mõned arhede perekonda *Picrophilus* kuuluvad liigid paljunevad pH 0 juures

ja nende optimaalne pH on 0,7. Kaks selle perekonna liiki, *Picrophilus oshimae* ja *Picrophilus tomidus* on termofiilsed ja väga atsidofiilsed arhed, mis leiti Jaapani hüdrotermilisest piirkonnast, kus eraldub väävlirikkeid gaase (Schleper et al., 1996).

Väga happelises keskkonnas elab ka eukarüoote. Seen *Scytalidium acidophilum* on aktiivne ja kasvab pH 0 juures, kusjuures kasvuks optimaalne pH on piirkonnas 1–2 (Sigler ja Carmichael, 1974; Starkey ja Waksman, 1943). Enamik ekstreemseid atsidofiile on mikroobid, kuid ka keerulisem hulkrakuline elu võib esineda üsna happelistes keskkondades, kuigi bioloogiline mitmekesisus on nendes tingimustes väike. Loomade liike, enamasti keriloomi on leitud keskkonnas, mille pH on alla 3 (Deneke, 2000; Pejler ja Bērziņš, 1993a, 1993b).

1.3.2. Kohastumine ja kohanemine happeliste keskkondadega

Happelised keskkonnad võivad maal olla looduslikud (Jones et al., 2012; Urbietta et al., 2012) või inimtekkelised happelised kaevanduse drenaažid (Baker ja Banfield, 2003; Hedrich ja Schippers, 2021; Slonczewski et al., 2009; Zhang et al., 2017), mõlemil puhul on tegu tihti väävelhappega mis on ekstreemselt madalate pH tingimuste põhustaja ning tihti koosnevad mikrobikooslused suure osas väävlioksüdeerijatest. Lisaks esineb ka rauaoksüdeerijaid. Hape on definitsioonikohaselt aine, mis loovutab prootoneid ehk vesinikioone (H⁺). On teada, et kogu elu toimimine on suuresti sõltuv just vesinikiooni gradiendist ning elusorganismid on kohanenud kindlate vesinikioonide kontsentratsiooni vahemikega. Et elada madala pH tingimustes, on atsidofiilid kohastunud taluma rakumembraanil mitme ühiku suurust pH gradienti (Baker-Austin ja Dopson, 2007). Kohastumismehhanismid võib jagada aktiivseteks ja passiivseteks. Suure happesusega kohastumise passiivsed mehhanismid on näiteks sellised füüsilised piirpinnad (membraanid), mis suure vesinikioonide gradiendi (ΔpH) korral neid ioone vähem läbi lasevad.

Kuna ΔpH on atsidofiilides prootonite liikumapaneva jõu (*proton motive force*, PMF) peamine põhjustaja, on ΔpH tsütoplasma membraanil lahutamatu seotud prokarüootse raku bioenergeetikaga. ATP tootmine prootonide läbiminekul ATP süntaasist suurendab raku prootonite kontsentratsiooni. Kui seda ei reguleeritaks, põhjustaks see kiire ΔpH vähenemise. Maapealsete organismide puhul häiriks ebasobiv vesinikioonide hulk raku ka

biomolekulide normaalset talitlust, sest need toimivad vajalikul viisil ainult teatavas pH vahemikus (Baker-Austin ja Dopson, 2007; Madshus, 1988).

Atsidofiilidel on väga läbilaskmatud rakumembraanid, mis piiravad prootonite sissevoolu tsütoplasmasse, et aidata säilitada ΔpH -d. Arhede rakumembraanid, mis koosnevad tetraeeterlipiididest, on hea näide väga läbilaskmatust rakumembraanist võrreldes bakterite ja eukarüootide rakumembraanide estersidemetega (van de Vossenberget al., 1998).

Lisaks on paljude arhede rakuseinad väga keeruka struktuuriga – selle eesmärk on kaitsta neid karmide keskkondade eest, kus nad sageli elavad (Albers ja Meyer, 2011). On huvitav märkida, et mõnedel äärmuslikel atsidofiilidel on üksnes rakumembraanid ilma selgesti eristuva rakuseinata. On tõenäoline, et raku terviklikkuse säilitamine sõltub membraaniga seotud glükoproteiinidest. *Thermoplasma glycoalyx*'i rakumembraaniga seotud lipoglükaanidel on tõenäoliselt mõned rakuseina funktsioonid (Seegerer et al., 1988; Yang ja Haug, 1979).

Membraani läbilaskvus prootonitele määrab, kui kiiresti prootonid raku sisse liiguvad. Tasakaal membraani läbilaskvuse, energia- ja transpordisüsteemide tööst tuleneva prootonite sissevoolu ning prootoneid rakust välja toimetava prootonpumba kiiruse vahel määrab, kas rakk suudab säilitada sobiva prootonite liikumapaneva jõu (PMF) (Baker-Austin ja Dopson 2007). pH homöostaasis võib olla oluline osa ka membraani kanalite läbilaskvusel ja suurusel. Reaktsioonina välise pH muutumisele kohandab *Acidithiobacillus ferrooxidans* mitut rakumembraani komponenti ja transkriptsiooni regulaatorit (Chao et al., 2008). *Acidithiobacillus ferrooxidans*'i välismembraanis on poorivalk Omp40, millel on suur välimine L3-silmus, mis reguleerib pooriava suurust ja ioonselektiivsust sõltuvalt pH-st. Madalama pH juures selle süntees kiireneb (Amaro et al., 1991; Baker-Austin ja Dopson, 2007; Guiliani ja Jerez, 2000).

Lisaks membraani väikesele läbilaskvusele kaitsevad raku sisemust prootonite kõrge kontsentratsiooni eest transpordiprotsessid, mis vähendavad membraanipotentsiaali. Kaaliumioonide ülekandmisel läbi membraani raku sisse muutub membraani potentsiaal Gibbsi-Donnani efekti tõttu vastassuunalisemaks. Positiivselt laetud osakeste nagu K^+ või

muude positiivselt laetud komponentide hulga suurendamine rakus on üks viis prootonite sissevoolu ärahoidmiseks (Baker-Austin ja Dopson, 2007; Fütterer et al., 2004). Donnani potentsiaaliefekt ilmneb siis, kui membraani mitteläbivad ained muudavad membraanipotentsiaali. Donnani potentsiaal takistab prootonite sissevoolu (Baker-Austin ja Dopson, 2007; Matin, 1999).

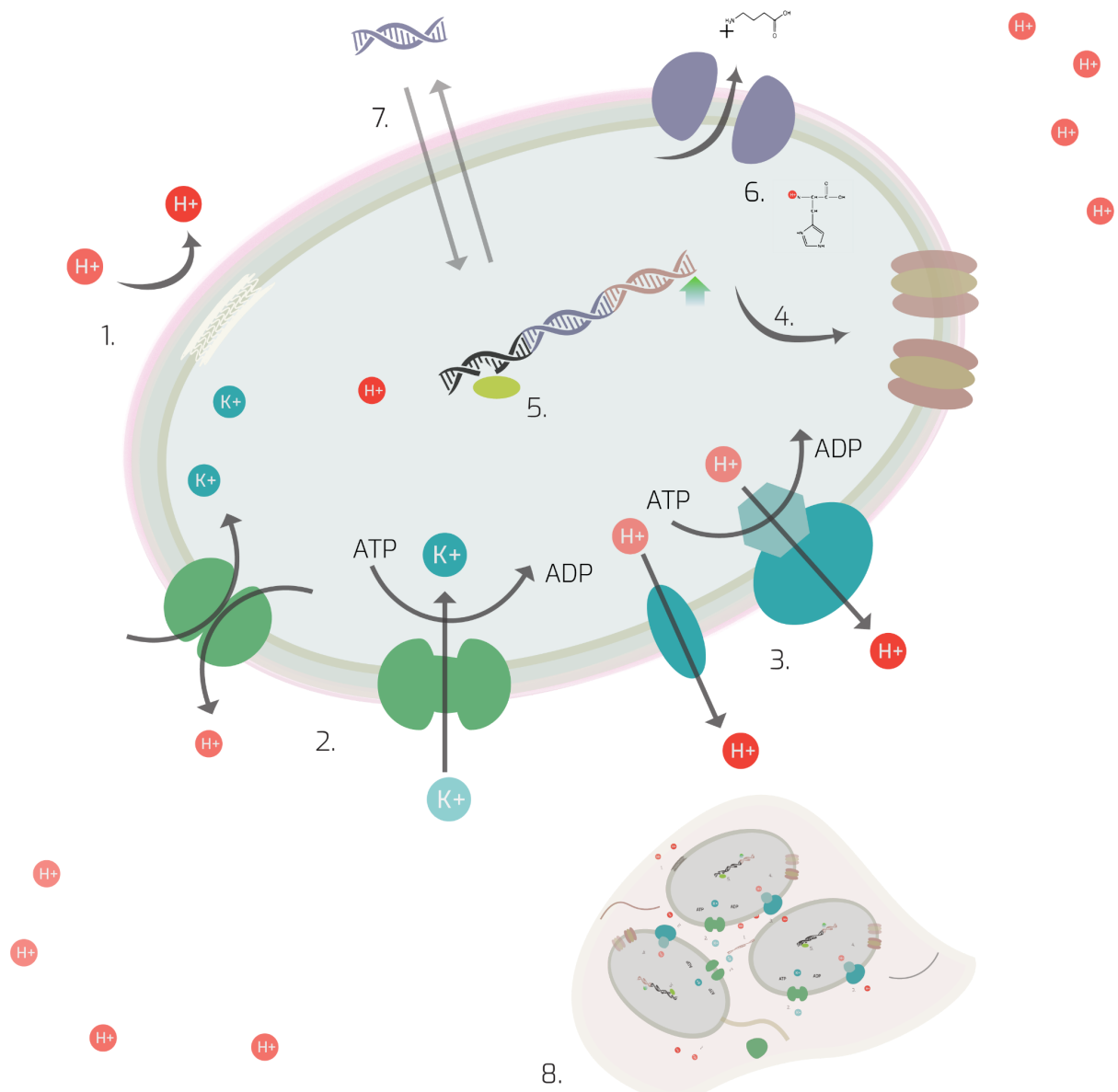
Tsütoplasma pH-d puhverdavad väikesed orgaanilised molekulid, nt aminohapped, aga ka valkude ja anorgaaniliste molekulide ioniseeritavad rühmad (Slonczewski et al., 2009). Kuigi atsidofiilide puhul on pH puhverdamine oluline rakusisese pH reguleerimise mehhanism, näiteks *Thiobacillus acidophilus*'el toetab see koos membraani omadustega tsütoplasma pH homöostaasi, pole tõendeid selle kohta, et atsidofiilidel oleks parem puhverdusvõime kui neutrofiilidel (Baker-Austin ja Dopson, 2007; Goulbourne et al., 1986; Zychlinsky ja Matin, 1983).

Kuigi kõik ekstreemsed atsidofiilid on mikroobid, on happetaluvuses oma osa ka rakkude tihedusel ja rakuvälistel komponentidel. Kilejaid "prebiootilise geeli" moodustisi on isegi ühe hüpoteesi kohaselt pakutud elu alguse keskkonnaks, millest arenesid esimesed elusorganismid, mis elasid biokilega ühendatult (Trevors, 2011). Selle hüpoteesiga sobib kokku ka see, et ühed varaseimad teadaolevad eluvormid, stromatoliidid, on biokile moodustised (Allwood et al., 2006). Happeliste keskkondade biokiledest on leitud üllatavalt suurt bioloogilist mitmekesisust. pH 0,8 - 1,74 juures leiti transkriptoomika meetoditega organisme kõigist kolmest domeenist, kokku kuni 159 eri taksonit (Aliaga Goltsman et al., 2015). Arvestades, et Veenusel oleks hüpoteetiline elu praegusel ajal võimalik ainult pilvedes, siis ulatuslik biokilede moodustamine ei oleks seal võimalik. Veenuse pilvede piisad on mõõtmete poolest samas suurusjärgus bakteritele ja arhedega. Samuti ei peaks biokile vastu Seager jt. (Seager et al., 2021b) poolt välja pakutud elutsüklile pilvedes.

Erinevaid atsidofiilidele iseloomulikke kohastumusi (kokkuvõtet vt joonisel 4) võidakse teistele liikidele edasi anda horisontaalse geeniülekanne teel. Atsidofiilid *Thermoplasma acidophilum* ja *Picrophilus torridus* jagavad omavahel 65% geenidest ning sama palju ka *Sulfolobus solfataricus*-ega, samas jagades ainult 35% geenidest *Pyrococcus furiosus*'ega, mis on neile fülogeneetiliselt lähedasem (Fütterer et al., 2004). Ka eukarüootse atsidofiili *Chlamydomonas eustigma* puhul on tõendeid horisontaalsest geeniülekandest arhedelt ja

bakteritelt (Hirooka et al., 2017; Schönknecht et al., 2013). Sarnaseid näiteid on teisigi (González-Rosales et al., 2021; Zhang et al., 2017), seega võib öelda, et horisontaalne geeniülekanne on atsidofiilide kohastumise üks hädavajalike mehhanisme.

Kuigi enamus atsidofiile hoiavad rakusisese pH neutraalsena, on võimalik kohastumus ka nõrgalt happeline tsütoplasma *Acetobacter aceti* näitel, kes oma elutegevuse tulemusena toodab etanoolist äädikhapet ja talub raku tsütoplasma hapestumist (Menzel ja Gottschalk, 1985). *Acetobacter aceti* valgud on kohastunud töötama happelises keskkonnas (Francois ja Kappock, 2007) ja samuti on metabolismirajad erinevad (Mullins et al., 2008). See näitab et vähemalt mingisugune varieeruvus saab eksisteerida rakkude sisemise tsütoplasma jaoks ja makromolekulide ning metabolismi kohastumine happelisemas keskkonnas toimimiseks on võimalik.



Joonis 4. Happelises keskkonnas hakkama saamise mehhanismid. 1. Rakk ei lase prootoneid sisse. 2. Positiivse laengu tekitamine ioonide (nt K^+) raku sisse pumpamisega. 3. Prootonite rakust välja pumpamine. 4. Rakumembraani komponentide geenide ekspressiooni ja hulga membraanil muutmine vastavalt keskkonna pH-le. 5. DNA parandus kahjustuste korral. 6. Puhverdamine ja H^+ sidumine teiste molekulidega ning nende rakust eemaldamine. 7. Horisontaalne geeniülekanne. 8. Biokiled ja rakkude tihedus kaitsevad rakke keskkonnamõjude eest. Osaliselt adapteeritud joonisest (Baker-Austin ja Dopson, 2007).

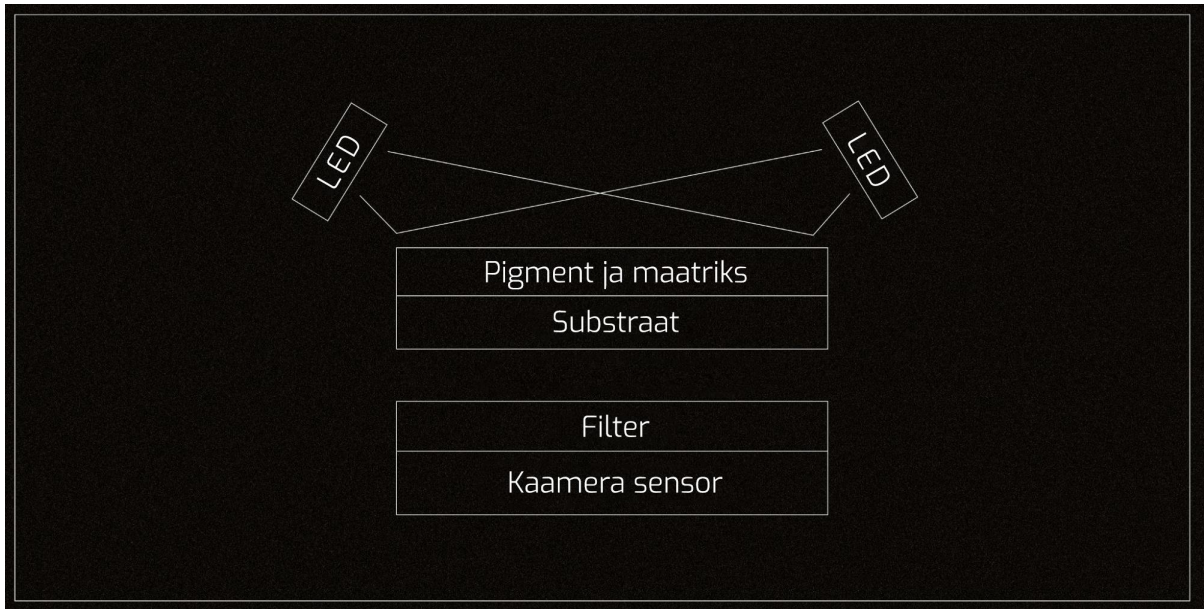
Ekstremofiilide uurimine on üks viis astrobioloogia valdkonda panustada. Eelnevalt loetletud viisid happelises keskkonnas toime tulla võivad aidata mõista, kuidas elu võiks toime tulla teistel planeetidel meie mõistes ekstreemsetes tingimustes. Kuid kui me just ei poolda panspermia hüpoteesi, siis võime eeldada, et kui elu peaks eksisteerima Veenusel või mõnes teises keskkonnas peale Maa, siis potentsiaalsetel happelise keskkonnaga toimetuleku mehhanismidel ei ole rohkem ühist kui põhimõtted, ehk kõik atsidofiilide kohastumiste sarnasused oleks konvergentse evolutsiooni tulemus.

1.4. Veenuse pH-sensori kontseptsioon - Tartu Observatooriumi pH-sensor (TOPS)

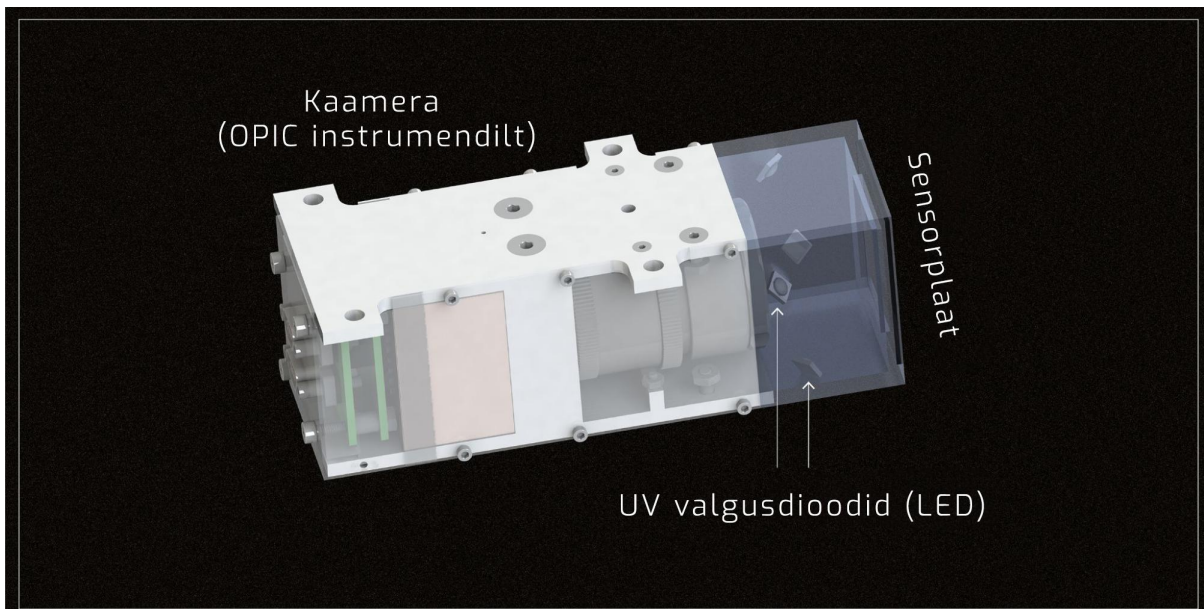
Tänapäeval kasutatakse pH mõõtmiseks fluorestsentspektroskoopiat, kuna see on mitteinvasiivne, suure selektiivsuse ja tundlikkusega, lühikese reageerimisajaga ja põhineb suhteliselt lihtsal protsessil, mis võimaldab paljude proovide paralleelset jälgimist (Sharma et al., 2019; Zhang et al., 2015). Veenuse tingimused on suure happesuse tõttu ainulaadsed ja tööstuslikult toodetavad pH-sensorid ei ole ette nähtud mõõtmisteks Veenuse pilvedes huvipakkuvas pH vahemikus. Ka kogu mehhanismi ülesehitus peab olema vastupidav ja lihtne, et vähendada seadme komponentide rikke ohtu missiooni eluea jooksul.

Seetõttu on kavas üsna lihtsa ja robustse ülesehitusega seade (joonis 5), mis koosneb ultraviolettkiirgusega ergastatavast plaadist ja sellele suunatud kaamerast (joonis 6). Klaasplaat on kaetud matriksisse fikseeritud fluorestseeruva pH-tundliku pigmendiga, mida ergastavad UV-valgusdiodid. Kui klaasplaadile satuvad Veenuse pilvede piisad, mõõdab kaamera pigmendi fluorestsentskiirgust, mis annab teavet piiskade happesuse kohta.

Selline ehitus on sobilik ka pilvepiiskade heterogeensuse mõõtmiseks, sest samal ajal jääb kaamera ette palju erinevaid pilvepiisku ja olenevalt nende happesusest on fluorestsentskiirgus erinev (vt joonis 7).

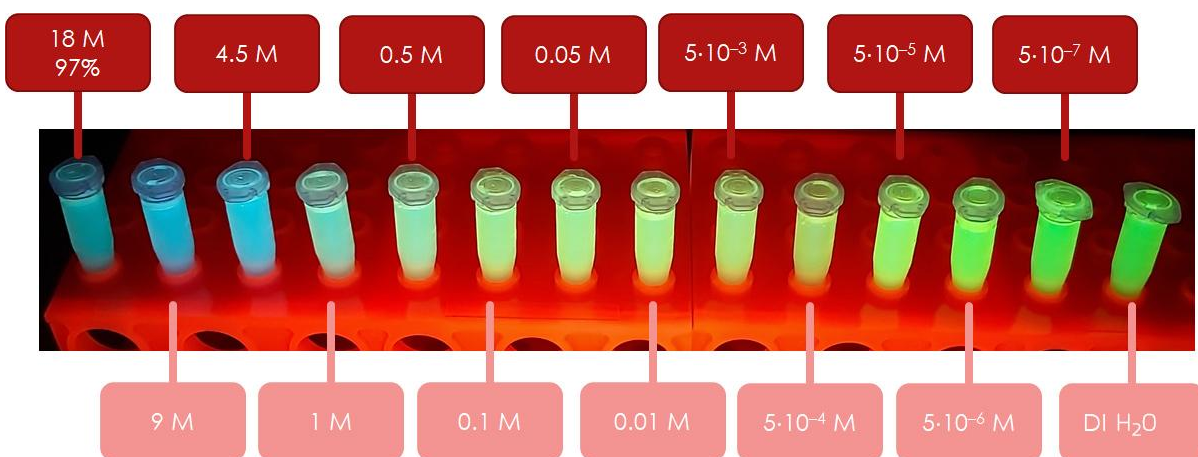


Joonis 5. Tartu Observatooriumi pH-sensori (TOPS) põhimõtteskeem.

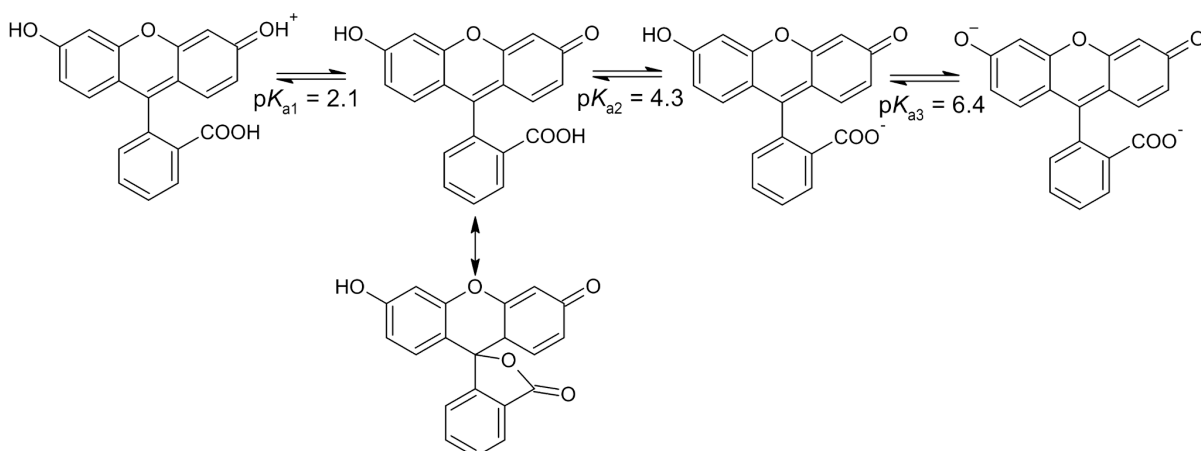


Joonis 6. Seadme kaameraosa pärineb ESA F-klassi missiooni *Comet Interceptor* jaoks mõeldud OPIC-seadmest (Pajusalu et al.; Slavinskis et al., 2019). Sellel joonisel on OPIC seade, milles periskoop on asendatud pH-sensori mooduliga, millel on ergastamiseks UV-valgusdiodid.

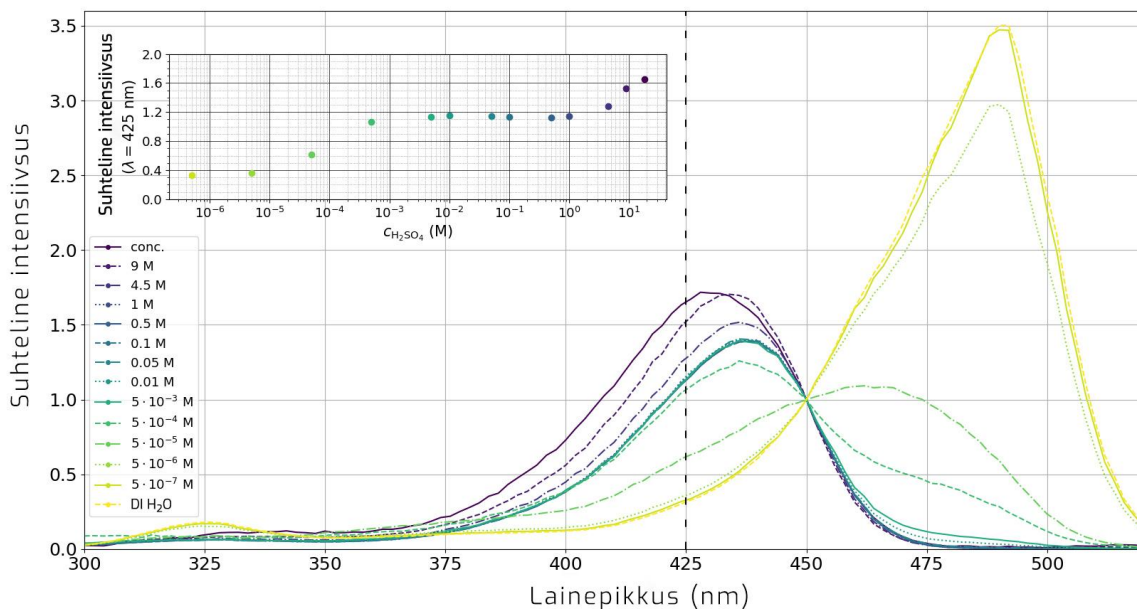
pH-sensori kavandamisel Veenuse atmosfääri tingimuste jaoks on oluline stabiilne indikaatormolekul või indikaatormolekulide segu, mis töötab madala pH juures. Fluorestseiin, mille molekulaarne vorm (joonis 8) ja vastavalt ka fluorestsentspekter (joonis 9) sõltuvad pH-st, on Dr. Ida Rahu poolt tehtud katsete järgi olema seni sobivaim variant (Seager et al. 2021).



Joonis 7. Fluorestsiiini fluorestsentskiirguse värvus sõltuvalt happe kontsentratsioonist. Foto: Ida Rahu

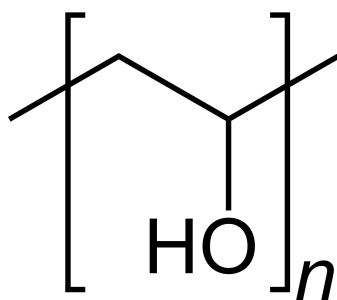


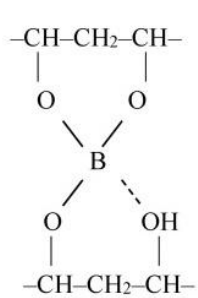
Joonis 8. Fluorestsiiini keemilised struktuurid erinevates pH piirkondades: katioon, neutraalse molekuli vormid, monoanioon ja dianioon (Zhang et al. 2015).



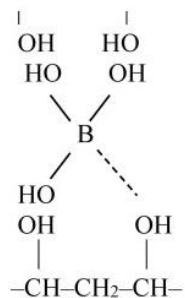
Joonis 9. Fluorestseiini kiirgusspekter happe erinevatel kontsentratsioonidel. Spektrid on normaliseeritud lainepikkuse 450 nm suhtes. Joonise suurendatud osa: suhtelised intensiivsused 425 nm juures näitavad selget sõltuvust väävelhappe kontsentratsioonist ($5 \cdot 10^{-7}$ kuni 9M) (Seager et al. 2021).

Polüvinüülalkohol (PVA) on üks olulisemaid kommertskasutuses olevaid vees lahustuvaid polümeere ja see on käesolevas töös peamine fluorestsiini siduva matriksi kandidaat. Selle töö eksperimentaalses osas testiti fluorestsiini matriksina nii PVA-d kui selle boorhappega seotud varianti (joonis 10), samuti kommertskasutuses olevat lahust Nafion™.

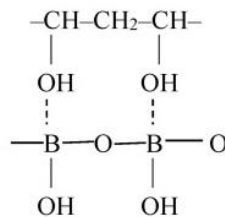




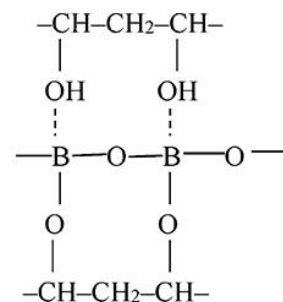
1



2



3



4

Joonis 10. PVA (ülal) ja kirjanduses väljapakutud PVA ning boorhappe ühendstruktuurid (all). Kõige tõenäolisemaks peetakse struktuuri nr. 4 (Prosanov et al., 2018).

2. Eksperimentaalosa

2.1. Töö eesmärgid

Käesolev töö on osa Tartu Observatooriumi käimasolevast projektist, mille eesmärgiks on välja töötada lihtne, kergekaaluline ja töökindel sensor Veenuse pilvede pH kohapealseks mõõtmiseks (Tartu Observatooriumi pH-sensor, TOPS). Käesoleval tööil olid projekti raames järgmised konkreetsed eesmärgid.

1. Leida keemiliste ja füüsikaliste omaduste poolest sobiv maatriks, millega siduda ultraviolettkiirguse mõjul fluorestseeruvat pigmenti pH-tundliku kile kujul alusplaadile. Kile kokkupuutel pilvepiiskadega peab maatriks võimaldama pigmendi fluorestsentsi registreerida.
2. Leida maatriksi ja pH tundliku pigmendi sobiv suhe sensorplaadi jaoks, mida kasutada edasises töös instrumendi esialgse prototüübiga. Tarvis on selliseid plaate, mis kuivana ei kiirgaks ja alles kokkupuutel uuritavate piiskadega tekiks fluorestsents.
3. Leida meetod maatriksi ja pH tundliku pigmendi kandmiseks klaasplaadi pinnale. Eelistatud oleks viis, mis tekitaks õhukese, ühtlase, hüdrofiilse ja kiiresti kuivava kile. Kile paksus peaks jääma samasse suurusjärku Veenuse pilvedes leiduvate piiskadega.
4. Erinevate materjalide happekinduse uurimine selleks, et leida nende seast piisavalt happekindlaid materjale, mida kasutada edasises töös Veenusele saadetava instrumendi prototüübiga.

2.2 Materjal ja metoodika

2.2.1. Maatriksi leidmine UV-kiirguse mõjul fluorestseeruva pigmendi sidumiseks

Et kasutada pigmenti tilkade happesuse tuvastamiseks, tuleb pigment maatriksisse immobiliseerida. Projekti käigus katsetasin polüvinüülalkoholi (PVA) kilesid lisanditeta ja boorhappe lisandiga. PVA puhul kasutasin osaliselt metoodikat, mida kirjeldasid (Gadhav et al., 2019). Katsetasin ka kommertsiaalset kilede valmistamiseks kasutatavat Nafion™ polümeerilahust (vt alapunkti pealkirjaga “Nafion™”). Järgnevalt kirjeldan nende kolme maatriksi kandidaadiga (PVA, PVA boorhappega ja Nafion™) läbiviidud katseid.

PVA

PVA (tootja: Alquera; puhtusaste teadmata) lahusele lõppkontsentratsiooniga 10 massiprotsenti lisasin fluorestseiini (F) laboris saadaolevat töölahust (F täpne kontsentratsioon polnud siinkohal oluline, kuna tegu oli esialgse katsetamisega). PVA lahustasin vees kuumutades kuumaplaadil (kuni 90 °C juures) ja samal ajal magnetsegajaga segades. Lahustumiseks kulus 2-3 tundi. Seejärel katsetasin sama meetodiga PVA kontsentratsioone 1% kuni 18%, kasutades eelneva ebatäpse kontsentratsiooniga fluorestseiini lahuse asemel uraniini (tootja: Hanse Pro) ehk fluorestseiini naatriumsoola, kuna uraniin lahustub vees palju paremini kui fluorestseiin ja nii on võimalik saavutada pigmendi suuremaid kontsentratsioone lahuses. Saadud segu sobis edasisteks katseteks pH-tundlike kilede valmistamise eesmärgil.

Kuumaplaadil 90°C juures PVA lahustamine, mis kestis ligikaudu 2-3 tundi, muutus korduskatsetes väga ajamahukaks. Otsisin kirjandusest informatsiooni ja leidsin researchgate.net veebilehel ühe kommentaari, mis soovitas PVA ja vee segu kuumutamise asemel külmkappi panna (Miller, 2019). Miller seletab oma kommentaaris: “Miks see töötab? Lahuses olev polümeer peab tasakaalustama kahte mõju – hüdratatsiooni, mis paneb polümeeri molekulaarselt lahti hargnema, ja entroopiat, mis nõuab, et polümeer keriks end mõnevõrra kokku. Hüdratsioon on madalatel temperatuuridel lihtsam ja tänu termodünaamikale on lahti harutamine lihtsam ja seega lahustub polümeer kergemini.”

Otsustasin teha katse, milles võrdlesin PVA lahustumist vees kuumutamisel, toatemperatuuril ja külmkapis. Temperatuurid olid vastavalt 90°C; 20°C ja 2°C, kõigil juhtudel oli PVA kontsentratsioon 5%. Kõiki tuubidesse valmistatud deioniseeritud vee ja PVA segust koosnevaid katseobjekte raputasin 10 korda peale esimest tundi seismist. Peale teist tundi raputasin neid 30 korda ja segasin vortexil 10 sekundit, seejärel segasin klaaspulgaga. 90°C juures hoitud tuubis oli PVA tekitanud klombid ja sellist segu oli pulgaga raske segada. 20°C ja 2°C juures hoitud tuubides olevat segu oli palju kergem segada. Peale kolmandat tundi segades tundus kõigis tuubides PVA lahustuvat, kuid igaks juhuks lasin neil seista hommikuni.

PVA boorhappega

Valmistasin 10% massiprotsent PVA lahuse koos fluorestseiiniga, seda boorhappega (tootja Nord Reahim) ristsidudes. Järgisin kolm aastat tagasi ilmunud teadusartiklis (Gadhav et al., 2019) kirjeldatud meetodikat: lisades boorhape pulbrina u 50°C juures ja edasi kuumutades kõrgemal temperatuuril.

Vastavalt meetodikale valmistati deioniseeritud veest ja PVAst PVA lahus. Lahusele lisati 50°C juures ettenähtud kogus boorhapet. Seejärel tõsteti temperatuur vahemikku 92°C - 95°C. Katsed tein boorhappe kontsentratsioonidel 0,5% ja 1%, mis olid eelnevalt kirjeldatud meetodika korral autorite väitel toimunud. Paraku minu katsetes sel viisil toimides tõmbus lahuses olev PVA kokku üheks ümara kujuga tükiks ja enam ei lahustunud, mistõttu polnud võimalik sellest kilet valmistada. Seejärel katsetasin teisi viise.

Lahustasin boorhappe eelnevalt vees (5% (w/w) lahus). Lisasin 5 g seda boorhappe lahust 20 g-le eelnevalt valmistatud 10% PVA lahusele, hoides segu kuumaplaadil ja segades tund aega. Sel viisil toimides tekkis ühtlasena paistev segu, mis oli sarnane eelmises PVA katses tekkinule, kuid oli viskoossem. Suurema viskoossuse tõttu ei toimunud magnetsegaja selles segus piisavalt efektiivselt ja segu tuli täiendavalt segada klaaspulga abil.

Boorhappega ristsidumist proovisin ka silikoonvormide abil ja madalakontsentratsioonilise PVA lahusega: 1% PVA segati erinevate boorhappe kontsentratsioonidega (0,1%; 0,05%; 0,024%; 0,01%).

Nafion™

Nafion™ on kommertsiaalselt saadaolev perfluorosulfoonhape ja tetrafluoroetüleen kopolümeeri (CAS number 31175-20-9) lahust vee ja alkoholide (2-propanooli ja 1-propanooli) segus, tootja LIQUION™ Solutions. Seda lahust kasutatakse laboratoorselt mitmesuguste kilede ja pinnakatete ning (segus tahkete ainetega) elektrodide valmistamiseks. Lisasin 15% LIQUION™ Nafion™ lahusele eelkirjeldatud fluorestseiini lahust. Üritasin kanda saadud segu klaasplaadile, kuid ilmnes, et selline lahust käitub eelmistes katsetes saadud lahustest erinevalt ega märga klaasi hästi. Seetõttu proovisin lahuse lisakihi plaadile kandmiseks kasutada ka plastikvormi.

2.2.2. Maatriksi ja pigmendi suhe.

Optimaalse maatriksi ja pigmendi suhte leidmiseks valmistasin 25 erinevat lahust, varieerides samaaegselt PVA ja fluorestseiini kontsentratsioone. Kasutasin laboris olevat fluorestseiini lahust, tabelis on kirjas laboris oleva töölahuse protsent (täpne kontsentratsioon teadmata). Kõigepealt valmistasin 10% (w/w) PVA alglahuse seda 2 tundi (u 90 °C juures) kuumaplaadil magnetsegajaga segades. Sellest lahusest valmistasin 25 lahuseproovi (vt tabel 1) 1,5 ml tuubidesse, igasse tuubi kokku 1 ml lahust.

Tabel 1. PVA ja fluorestseiini kontsentratsioonide kombinatsioonid. Kombineerisin omavahel 5 erinevat PVA lahuse kontsentratsiooni ja 5 erinevat fluorestseiini (F) lahuse kontsentratsiooni, kokku 25 erinevat testlahust.

	2% PVA	1% PVA	0,5% PVA	0,2% PVA	0,1% PVA
80% F lahust	1) 2% PVA; 80% F lahust	2) 1% PVA; 80% F lahust	3) 0,5% PVA; 80% F lahust	4) 0,2% PVA; 80% F lahust	5) 0,1% PVA; 80% F lahust
60% F lahust	6) 2% PVA; 60% F lahust	7) 1% PVA; 60% F lahust	8) 0,5% PVA; 60% F lahust	9) 0,2% PVA; 60% F lahust	10) 0,1% PVA; 60% F lahust
40% F lahust	11) 2% PVA; 40% F lahust	12) 1% PVA; 40% F lahust	13) 0,5% PVA; 40% F lahust	14) 0,2% PVA; 40% F lahust	15) 0,1% PVA; 40% F lahust
30% F lahust	16) 2% PVA; 30% F lahust	17) 1% PVA; 30% F lahust	18) 0,5% PVA; 30% F lahust	19) 0,2% PVA; 30% F lahust	20) 0,1% PVA; 30% F lahust
20% F lahust	21) 2% PVA; 20% F lahust	22) 1% PVA; 20% F lahust	23) 0,5% PVA; 20% F lahust	24) 0,2% PVA; 20% F lahust	25) 0,1% PVA; 20% F lahust

Valmistasin mikroskoobi slaidide peale kahekomponentnest silikoonist vormid pipeteerimiseks. Pipeteerisin 250 mikrolitrit igasse vormi ning kuivatasin ahjus ca 40 °C juures (koos ringleva õhuga kiirema kuivatamise tarvis) 6 tunni jooksul ning lasin edasi kuivada kogu öö tõmbekapi all. Seda tegevust sai korratud kaks korda.

2.2.3. Maatriksi ja pigmendi pinnale kandmine

Proovisin mitme kuu vältel kolme eri meetodit:

1. Pipetiga mikroskoobislaidile pealekandmine
2. Kahekomponentsest silikoonist valmistatud vormide abil madala kontsentratsiooniga PVA lahuse mikroskoobislaidile kandmine.
3. Spetsiaalse seadmega (*bar coater*) (kihi paksused 20 µm, 76 µm, 100 µm ja 200 µm) pealekandmise meetod, kasutades pigmendina fluorestseiniist paremini lahutuvat uraniini. Kasutasin käsitsi kasutamiseks mõeldud seadet.

2.2.4. Materjalide happekindlus

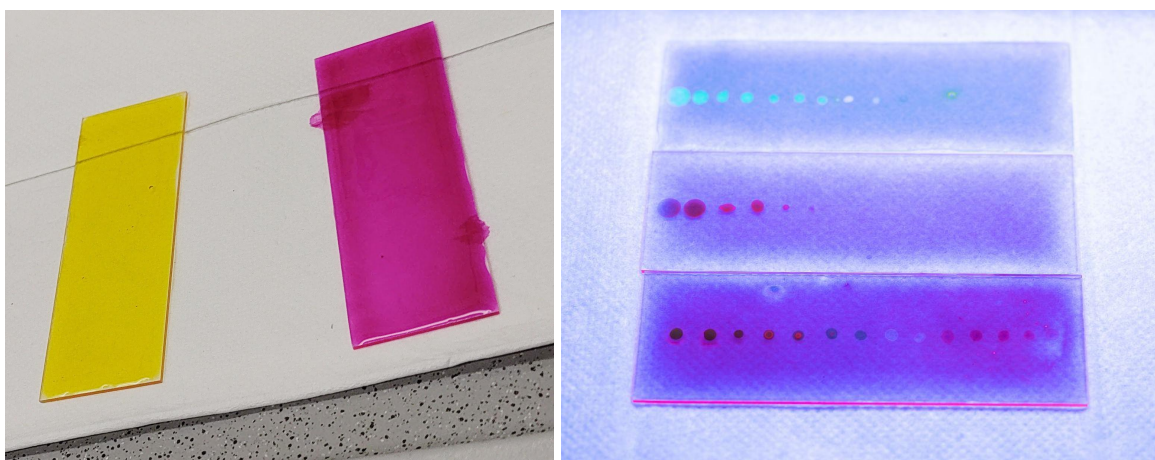
Katsetasin 13 erineva materjali happekindlust edasise töö tarvis instrumendi prototüübi jaoks. Nende seas oli erinevaid materjale nagu 3D- printeri filament, erinevad teibid ja kiled. Lõikasin materjalidest 2 ml tuubi mahtuvad ribad. Esimese sammuna tegin kindlaks laboris olevate 2 ml tuubide happekindluse, hoides neis kontsentreeritud H₂SO₄ ja 9M H₂SO₄ tund aega. Seejärel lisasin iga materjali tuubi kolmes korduses, kontsentreeritud H₂SO₄ (a) ja 9M H₂SO₄ (b) ning deioniseeritud veega (c). Uuritud materjalid olid järgmised.

1. 3D-printeri filament "FormFutura" polüpropüleenist (PP)
2. Telgi parandamiseks mõeldud teip "Tent Repair Tape ECOOE" polüeteentereftalaadist (PET)
3. Teip "Mastertape FALINGO"
4. Polüimiidteip "youmile 50mm" silikoonliimiga
5. Lähipaistev silikoonteip "Popstar"
6. Polüpropüleen (PP), kile
7. Teflonteip PTFE "E-CrossStu"
8. Butüülteip "FLASBAND tapel"
9. Teflonteip "REKALRO"
10. Polüimiidteip akrüülliiimiga 3M
11. Polütetrafluoroetüleen (PTFE) lint
12. Polüarüüleeter (PAE), kile
13. Polüpropüleen (PP), kile

2.3. Tulemused ja arutelu

Nafion™ ei sobinud pH tundliku värvipigendi maatriksiks, kuna see ei katnud klaasi hästi ja kuivades kohati pragunes, ei lahustunud ühtlaselt ja oli hüdrofoobne. 10% PVA tekitas käsitsi slaidile kandes suhteliselt paksu kihi, mis ei olnud ühtlane (joonis 11), kuid see meetod oli esialgseteks lahuse slaidile kandmise katsetusteks sobiv. Suurema kontsentratsiooniga PVA lahust kui 10% oli keeruline magnetsegajaga segada, väiksema kontsentratsiooniga lahus aga kuivas kaua ning jooksis laiali.

Kuigi kõigil proovitud temperatuuridel (90°C; 20°C ja 2°C) lahustus PVA lõpuks pika aja jooksul, siis tulevikus on praktilisem seda külmas lahustada, sest nii saab suuremat hulka lahuseid korraga teha. Lisaks on külmas vees lahustades vähem võimalust segades kokku kleepunud PVA kogemata pulgaga eemaldada ja seeläbi PVA kontsentratsiooni vähendada. Kuumutamisel oli pidevalt probleemiks, et PVA kleepus pulgale ja koonilise kolbi külgedele.

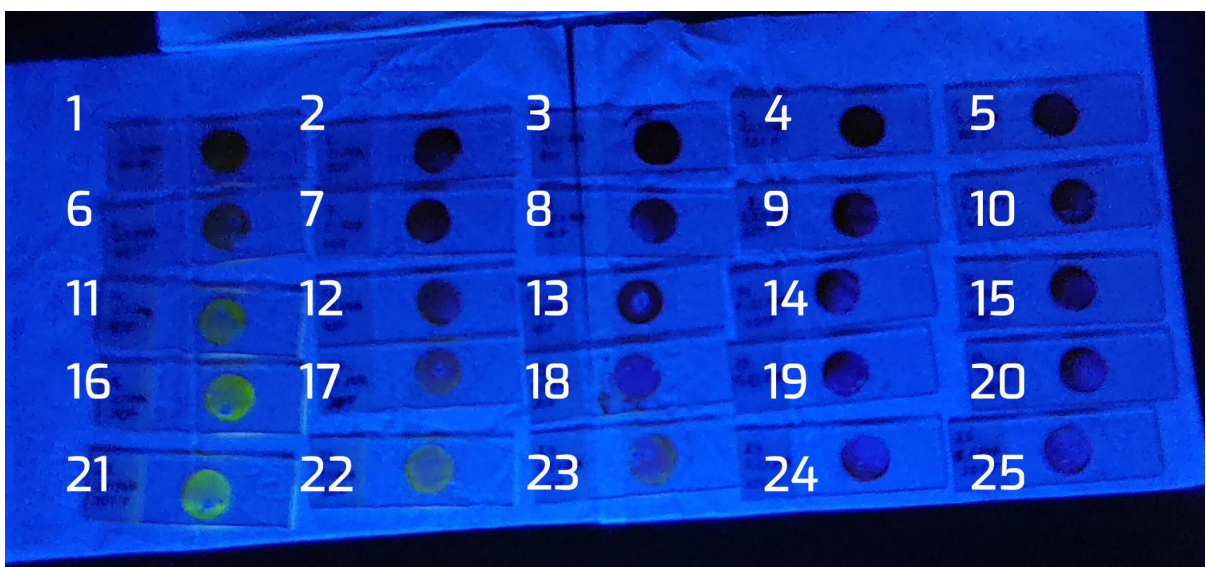
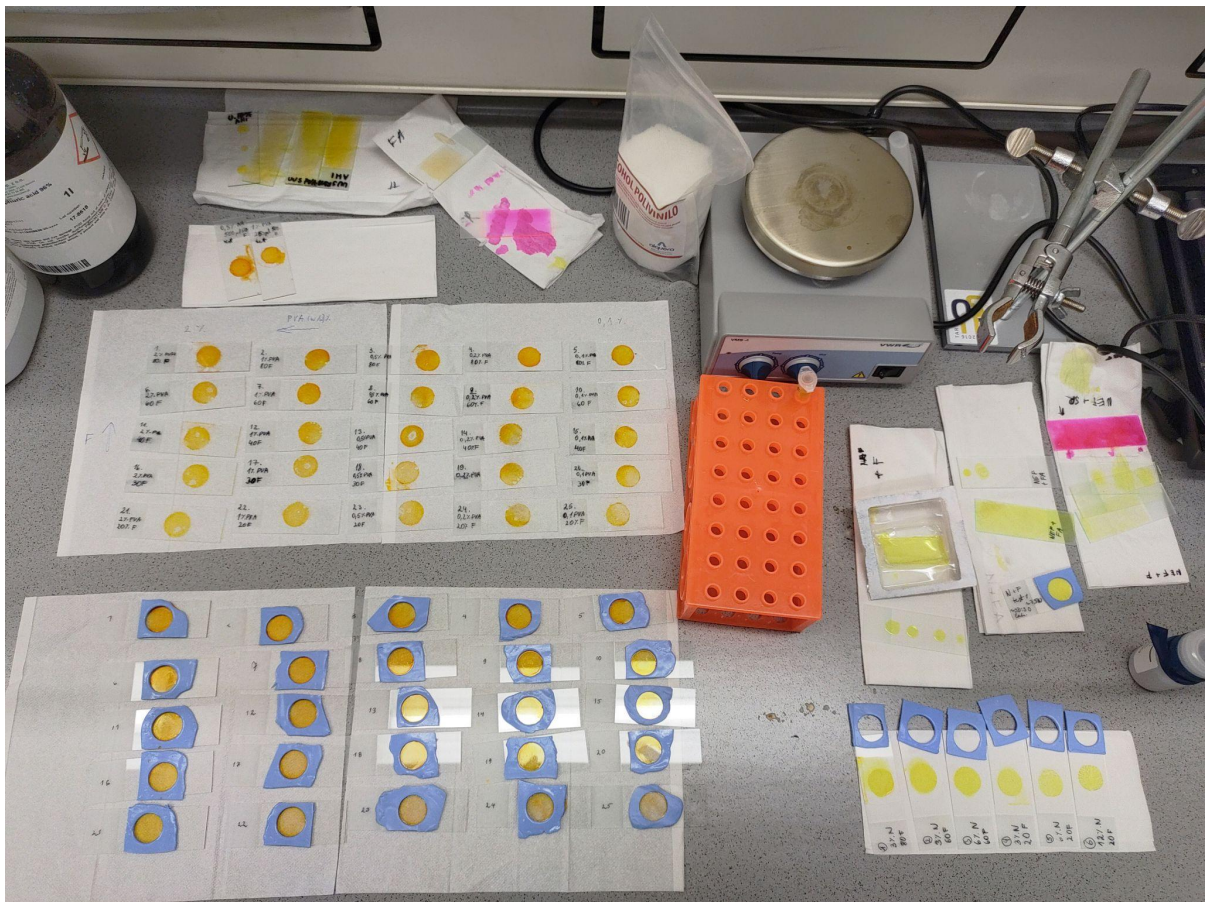


Joonis 11. Vasakul on fluorestseiini ja sulforodamiiniga värskelt kaetud mikroskoobislaidid. Paremalt on väävelhappe eri lahjenduste tilgad kontsentreeritud happest (vasakult paremale) ($9M \cdot 5 \cdot 10^{-7}$) kuni destilleeritud veeni.

Slaididel silikoonvorme kasutades tekkisid õhukesed kiled, kuid need kohati lekkisid pikaajalise kuivamise jooksul. Siiski õnnestus nii saada mitmeid slide, mida sai kasutada edasises instrumendi prototüübi loomiseks. Seda meetodit sai kasutatud ka PVA ja fluorestseiini optimaalse omavahelise suhte leidmise katses (joonis 12).

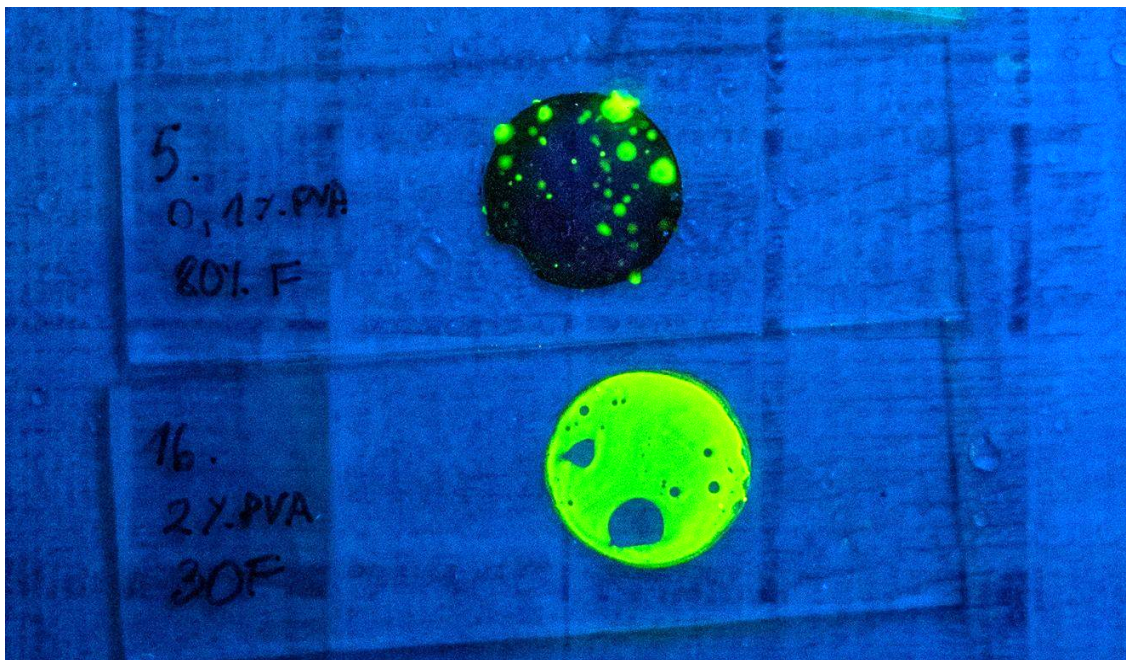
Selgus, et madala fluorestseiini ja kõrge PVA sisaldusega slaidid fluorestseerusid ka kuivana

isegi peale pikaajalist kuivamist (vt joonis 12 alumine foto ja joonis 13) ning ka vaakumpumbaga kuivatamine ei kaotanud nende fluorestsentsi. Madala PVA kontsentratsiooni ja kõrge fluorestseiini kontsentratsiooniga slaidid kuivana ei fluorestseerunud (joonis 13), mis on katse eesmärki silmas pidades eelistatav.



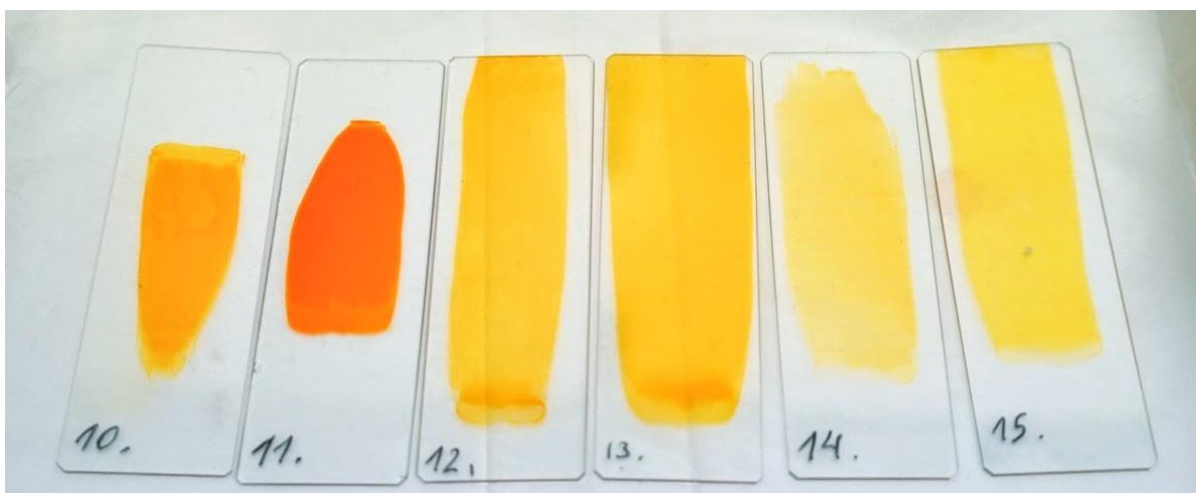
Joonis 12. Kahekomponentsest silikoonist valmistatud vormide abil fluorestsiiini sisaldava PVA-matriksi mikrokoobislaididele kandmise tulemused. Katseobjektide numbrid vastavad

tabelis 1 toodud kontsentratsioonide kombinatsioonidele. Ülemisel fotol on kaks komplekti valmistatud katseobjekte laborivalguses. Ülemine neist kahest komplektist on alumisel fotol pildistatud kuivana ultraviolettkiirguses, milles on näha kõrge PVA ja madala fluorestsiiini kontsentratsiooniga katseobjektide (all vasakus nurgas) fluorestsents.

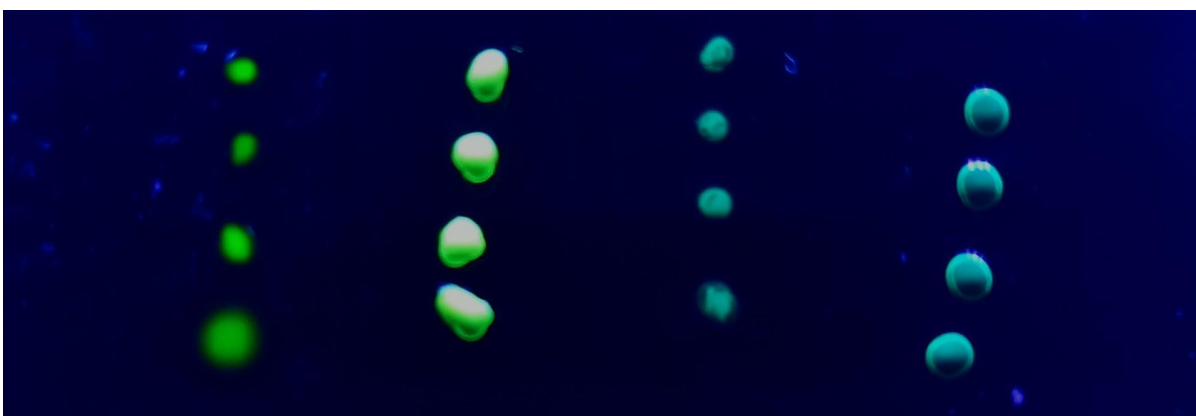


Joonis 13. Ülal madala PVA kontsentratsiooniga (0,1%) ja katseobjekt nr 5 ja all kõrge PVA kontsentratsiooniga (2%) katseobjekt nr 16. Näha on fluorestsentsi erinevus.

Katse eesmärgi jaoks sobivad, st kuivana mittefluorestseeruvad slaidid saadi kõrge fluorestsiiini vs PVA suhte korral. Kuid selle meetodiga slide toota on ajakulukas: kõrgema PVA sisaldusega maatriksist ja *bar coateri* abil kilesid tekitades kuivaksid slaidid kiiremini. Selleks oli aga tarvis olemasolevast fluorestsiiini lahusest kõrgema kontsentratsiooniga pigmendi lahust. Sel eesmärgil kasutati pigmendina fluorestsiiini asemel selle naatriumsoola uraniini, mis vees paremini lahustub. Joonisel 14 on näidatud pigmendina uraniini kasutades saadud katseobjektid, mille korral lahustatakse kanti slaidile 20 μm *bar coateriga*. Nii tekkisid kiiresti kuivavad õhukesed kiled, selleks optimaalne PVA kontsentratsioon oli vahemikus 6-10%. Uraniini sobiv kontsentratsioon selleks, et saada läbipaistvat, aga samas piisava pigmendiga kilet oli 6-8 %.



Joonis 14. 20 μm *bar coateriga* valmistatud slaidid, millel uraniin on fikseeritud PVA maatriksis. Optimaalse PVA ja uraniini kontsentratsiooni juures tekkisid kiiresti kuivavad, õhukesed, läbipaistvad, aga samas piisava pigmentiga kiled.



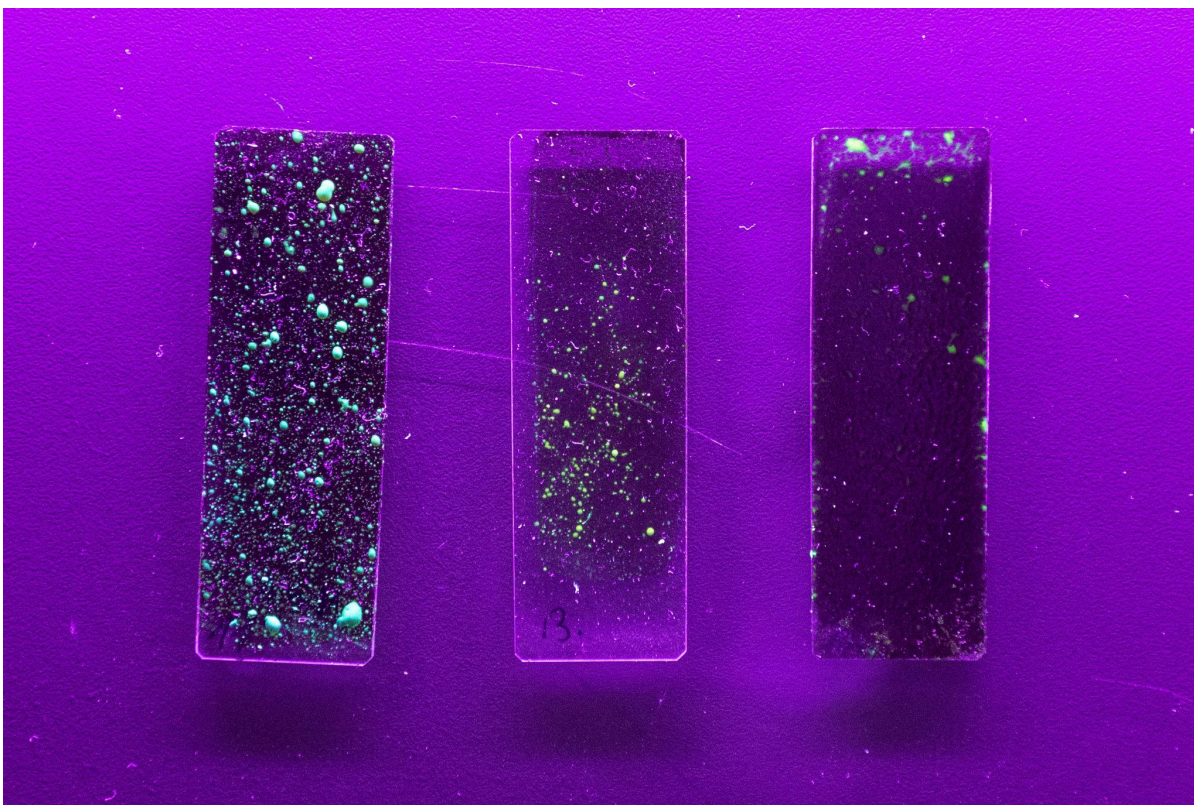
Joonis 15. *Bar coateri* abil valmistatud slaid (PVA 7%; Uraniin 5,3%), millel on testtilgad (vasakult paremale) deioniseeritud veega ning 0,1 M, 4,5 M ja kontsentreeritud väävelhappega.

Boorhappega slaidid oli veidi keerulisem valmistada ning osadel juhtudel (kui boorhappe ja PVA kontsentratsioonide suhe oli suurem) tekkis slaidile peale kuivamist krobeline pind ja sade. Kuna boorhape mõjutab ka pHd ning slaidide kiirgusspektrit, tuleb edaspidi täpsemalt uurida, kas boorhappe kasutamine PVA ristsidumiseks sensorplaadi funktsionaalsust piisavalt parandab, kui arvesse võtta nimetatud segavaid kõrvalefekte.

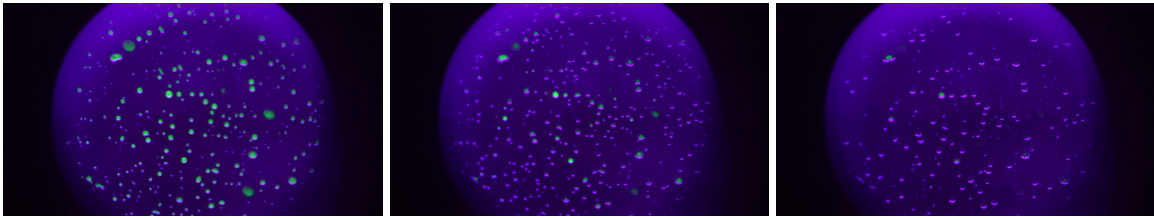
Nafion™ osutus tehtud katsetes füüsikaliste omaduste poolest maatriksina ebasobivaks.

Tulevikus kavatsen kilede paksuse pärast kuivamist üle mõõta, kuid selle suurusjärg on õige, arvestades Veenuse pilve tilkade oletatavat suurust. Proovitudest kõige õhemat kilet moodustav 20µm *bar coater* tekitas õhukese ühtlase kile. Veel ühe variandina on kavas tulevikus proovida tsentrifugaalkatmise seadet (*spin coater*).

Tulevikus peab kindlasti tegema uuesti eri väävelhappe kontsentratsioonide juures mõõtmised perspektiivse uue pigmendiga uraniiniga, juhul kui on plaanis seda kasutada. Plaanis on ka katsed selle väljaselgitamiseks, kuidas orgaanika lisamine lahusesse mõjutab lahusest saadava kile fluorentsentspektrit. Lisaks on vaja lahendada tolmu slaididele kogunemise probleem - ka tõmbekapi all kuivades satub peen tolm slaididele, muudab fluorentsentspilti (joonis 16) ning seda sealt eemaldada ei ole võimalik.



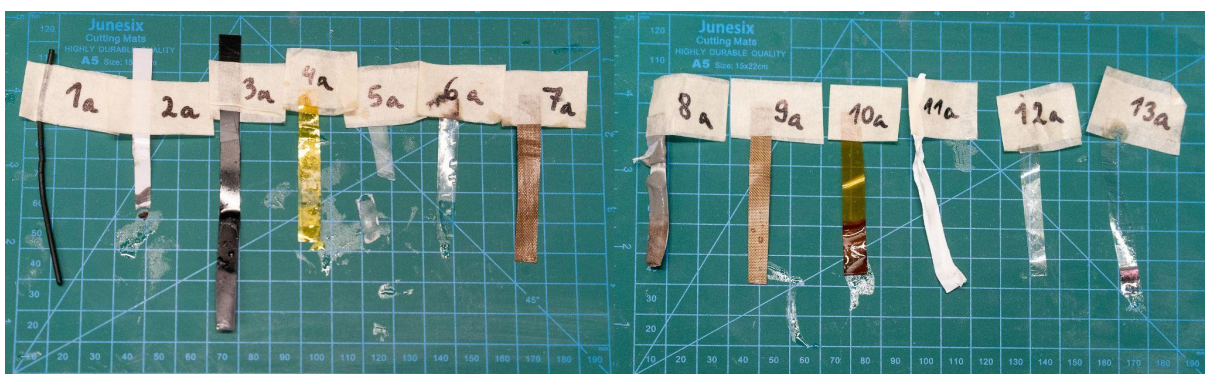
Joonis 16. 4,5 M väävelhappe (vasakul), 0,1 M väävelhappe (keskel) ja deioniseeritud vee (paremal) tilgad slaididel. Pihustuspudelit kasutati umbes 20 cm kauguselt. Kontsentreeritumad väävelhappepiisad jäävad nähtavaks pikemaks ajaks, samas kui veepiiskadest tulenev fluorentsents kaob mõne sekundiga. Samuti on kõikidel slaididel näha tolmuosakesi.



Joonis 17. Fluorestsentsi ajaline kustumine. 0,05 M H_2SO_4 tilgad (teadmata suurendusega) mikroskoobi all mikroskoobislaidil. Mikroskoobislaid kaeti lahusega *bar coateri* abil, PVA sisaldus kasutatud lahuses oli 10% ja uraniini sisaldus 5.3%. Pildil u. 1 sekundi vahemik. Slaidi kuivades helendus kaob kiiresti.

Materjali happekindluse katsetest selgus, et edasiseks tööks instrumendi väljatöötamisel sobivad kõik katsetatud materjalid peale materjalide numbritega 2, 5, 8 ja 10 (polüeteentereftalaadist teip, silikoonteip, butüülteip ja polüimideit), mille omadused nähtavalt muutusid kontsentreeritud H_2SO_4 mõjul (vt joonis 18). Materjalid 2 ja 8 muutusid ka 9 M H_2SO_4 kontsentratsiooni puhul. 10 ja 4 on mõlemad polüimideidid, kuid neil on erinev liim. Kosmetehnoloogias laialdaselt kasutatav akrüüllimiga polüimideit (10) muutis happe mõjul oma omadusi, silikoonliimiga polüimideit (4), mida silikooni mitesobivate omaduste tõttu kosmetehnoloogias tavaliselt ei kasutata, aga silmaga nähtavalt mitte. See näitab, et traditsioonilised kosmetehnoloogias kasutatavad materjalid ei pruugi olla Veenuse tingimustesse sobilikud.

Kuigi osad materjalid ei paistnud olevat mõjutatud ka kõrgest happe kontsentratsioonist, siis ei saa kindel olla, et nende mikrostruktuuris ei toimunud muutusi, mis pikemal kasutamisel nende töömoodi mõjutaks. Seega on kindlasti tarvis edasisi katseid, et materjalide happekindlust kindlaks teha.



Joonis 18. Materjalid 1-13 pärast tundi aega seismist kontsentreeritud väävelhappes. (1) 3D-printeri filament "FormFutura" polüpropüleenist (PP); (2) Telgi parandamiseks mõeldud teip "Tent Repair Tape ECOOE" polüeteentereftalaadist (PET); (3) Teip "Mastertape

FALINGO”; (4) Polümiidteip “youmile 50mm” silikoonliimiga; (5) Läbipaistev silikoonteip “Poppstar”; (6) Polüpropüleen (PP), kile; (7) Teflonteip PTFE “E-CrossStu”; (8) Butüülteip “FLASBAND tapel”; (9) Teflonteip “REKALRO”; (10) Polümiidteip akrüüllimiga 3M; (11) Polütetrafluoroetüleen (PTFE) lint; (12) Polüarüüleeter (PAE), kile; (13) Polüpropüleen (PP), kile

Projekti järgmise faasi jaoks on vaja välja mõelda, kuidas sensorplaatte realistlikumas keskkonnas katsetada ja selleks tuleb ehitada keskkonna simuleerimise kamber, kus sees saaks tekitada kontrollitult happelist udu. Töös valminud sensorplaatte katsetati esialgses keskkonnakambris, kuid see ei pidanud vastu ka vähem happelistele tingimustele. Selle tõttu sai töö lõppfaasis katsetatud kättesaadavaid materjale, millega keskkonna happekindlust tõsta. Selle katse tulemused lähevad käiku sensori arenduse järgmises faasis.

Kokkuvõte

Käesoleva magistritöö esimeses osas, kirjanduse ülevaates, tehakse teaduspublikatsioonide põhjal kokkuvõtte Veenusest astrobioloogia uurimisobjektina. Kirjeldatakse potentsiaalselt eluks sobivate tingimuste esinemise võimalikkust Veenuse happelistes pilvedes ja bioloogilisi mehhanisme, mille abil Maal elavad atsidofiilsed mikroorganismid on kohastunud eluks happelistes keskkondades.

Kuna Veenuse pilvede happesuse ja selle varieeruvuse uurimine on elu võimalikkuse seisukohast oluline, saadetakse MITi juhitud missiooni "*Venus Life Finder Mission Study*" raames pH-sensor Veenusele sealsete pilvede happesust mõõtma. Tartu Observatooriumis on väljatöötamisel selleks sobilik mõõteseade, Tartu Observatooriumi pH-sensor (TOPS). Töös kirjeldatakse selle kavandatava seadme ehitust ja tööpõhimõtet.

Töö eksperimentaalses osas kirjeldatakse tehtud katseid, mille tulemusena töötati välja TOPSi ühe põhielemendi, Veenuse pilvede happesuse mõõtmiseks sobiva pH-tundliku sensorplaadi valmistamise meetodika. Katsetes leiti pH-tundliku fluorestseeruva pigmendi klaasplaadile fikseerimiseks sobiv maatriks (PVA) ja katsetati konkreetseid fluorestseeruvaid pigmente (fluorestseiin ja uraniin). Määrati kindlaks PVA ja fluorestseeruva pigmendi optimaalsed kontsentratsioonid sensori pH-tundliku kihi valmistamiseks vajalikus lahuses ning leiti meetodid selle lahuse klaaspinnale kandmiseks. Töö praktilise tulemusena valmisid pH-tundlikud sensorplaadid, mida kasutati edasisel TOPS instrumendi varajase prototüübi loomisel ja katsetamisel. Samuti sai tehtud kindlaks mitmete erinevate materjalide happekindlus, et jätkata tööd prototüübi arendamisel. Tartu Observatooriumi pH-sensor sisaldub MITi juhitud missioonis "*Venus Life Finder Mission Study*", mille eesmärk on Veenuselt elu otsida.

Prototyping an acidity sensor to research habitability of the clouds of Venus

Laila Kaasik

Summary

Venus is the closest planet to Earth in terms of distance and most similar in size, but it hasn't been explored in situ since Soviet *Vega* balloons and landers in 1985. While temperature and pressure on the surface of Venus are too high for any known form of life to exist due to the planet's dense CO₂ atmosphere and the extreme greenhouse effect, the temperature and pressure in the clouds are potentially suitable for life. Even when the clouds are highly acidic due to sulphuric acid, organisms on Earth are known to be hardy and can live and thrive in a variety of extreme environments, including pH 0 and high up in the atmosphere.

There is much we do not know about the actual conditions on Venus, including yet unknown chemicals that have been observed to absorb UV light and a large number of unexpected gases, some of which have been previously regarded as artefacts due to the lack of known chemical or physical processes capable of producing them. Determining the acidity of clouds on Venus is critical for determining the type of chemistry (including life) that could exist there. While it is known that these clouds are predominantly composed of sulphuric acid, the precise concentrations are unknown. Tartu Observatory pH-sensor (TOPS) is designed to be used in *Venus Life Finder in situ* measurement missions to determine acidity and heterogeneity of the droplets in the clouds of Venus.

To measure the distribution of acidities, these droplets could be sampled using a pigment-covered plate that reacts to the composition of different droplets by changing its fluorescent properties and this fluorescence can be read out by a camera. The functional portion of the plate will be made up of a matrix and a fluorescent dye that will be excited by LEDs. According to the results of this thesis, PVA is suitable as a matrix in combination with fluorescein or uranine as the fluorescent dye. It was also discovered that polyimide tape with acrylic adhesive, a common material used in space technology, is not suitable for the extremely acidic environment.

Tänuõnad

Aitäh Mihkel Pajusalu, Angela Ivask, Andris Slavinskis, Siim Kõre ja Helle Kaasik juhendamise, aitamise ja õpetamise eest.

Tänu ka fondile Breakthrough Initiatives, kes töös kirjeldatud uurimust osaliselt rahastasid Massachusettsi Tehnoloogiainsituudi (MIT) vahendusel.

Kasutatud kirjandus

Abbot, D.S., and Switzer, E.R. (2011). The Steppenwolf: A proposal for a habitable planet in interstellar space. *Astrophys. J. Lett.* 735, L27.

Albers, S.-V., and Meyer, B.H. (2011). The archaeal cell envelope. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 414–426.

Aliaga Goltsman, D.S., Comolli, L.R., Thomas, B.C., and Banfield, J.F. (2015). Community transcriptomics reveals unexpected high microbial diversity in acidophilic biofilm communities. *ISME J.* 9, 1014–1023.

Allwood, A.C., Walter, M.R., Kamber, B.S., Marshall, C.P., and Burch, I.W. (2006). Stromatolite reef from the Early Archaean era of Australia. *Nature* 441, 714–718.

Altwegg, K., Balsiger, H., Bar-Nun, A., ... Wurz, P. (2016). Prebiotic chemicals-amino acid and phosphorus-in the coma of comet 67P/Churyumov-Gerasimenko. *Sci Adv* 2, e1600285.

Amaro, A.M., Chamorro, D., Seeger, M., Arredondo, R., Peirano, I., and Jerez, C.A. (1991). Effect of external pH perturbations on in vivo protein synthesis by the acidophilic bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Bacteriol.* 173, 910–915.

Baker, B.J., and Banfield, J.F. (2003). Microbial communities in acid mine drainage. *FEMS Microbiol. Ecol.* 44, 139–152.

Baker-Austin, C., and Dopson, M. (2007). Life in acid: pH homeostasis in acidophiles. *Trends Microbiol.* 15, 165–171.

Bell, J.F., 3rd, Crisp, D., Lucey, P.G., Ozoroski, T.A., Sinton, W.M., Willis, S.C., and Campbell, B.A. (1991). Spectroscopic observations of bright and dark emission features on the night side of Venus. *Science* 252, 1293–1296.

Cassan, A., Kubas, D., Beaulieu, J.-P., ... Wyrzykowski, Ł. (2012). One or more bound planets per Milky Way star from microlensing observations. *Nature* 481, 167–169.

Chandler, C.O., McDonald, I., and Kane, S.R. (2016). The Catalog of Earth-Like Exoplanet Survey Targets (Celesta): A Database of Habitable Zones around Nearby Stars. *AJS* 151, 59.

Chao, J., Wang, W., Xiao, S., and Liu, X. (2008). Response of *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 gene expression to acid stress. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 2103–2109.

Cocconi, G., and Morrison, P. (1959). Searching for Interstellar Communications. *Nature* 184, 844–846.

Cockell, C.S. (1999). Life on Venus. *Planet. Space Sci.* 47, 1487–1501.

Conselice, C.J., Wilkinson, A., Duncan, K., and Mortlock, A. (2016). The Evolution of Galaxy

- Number Density at $z < 8$ and its Implications. *The Astrophysical Journal* 830 (2): 83.
- Dartnell, L.R., Nordheim, T.A., Patel, M.R., Mason, J.P., Coates, A.J., and Jones, G.H. (2015). Constraints on a potential aerial biosphere on Venus: I. Cosmic rays. *Icarus* 257, 396–405.
- Deneke, R. (2000). Review: rotifers and crustaceans in highly acidic environment soft pH values ≤ 3 . *Hydrobiologia* 433, 167–172.
- Elsila, J.E., Glavin, D.P., and Dworkin, J.P. (2009). Cometary glycine detected in samples returned by Stardust. *Meteorit. Planet. Sci.* 44, 1323–1330.
- Francois, J.A., and Kappock, T.J. (2007). Alanine racemase from the acidophile *Acetobacter acetii*. *Protein Expr. Purif.* 51, 39–48.
- Fukuhara, T., Futaguchi, M., Hashimoto, G.L., ... Yamazaki, A. (2017). Large stationary gravity wave in the atmosphere of Venus. *Nat. Geosci.* 10, 85–88.
- Fütterer, O., Angelov, A., Liesegang, H., Gottschalk, G., Schleper, C., Schepers, B., Dock, C., Antranikian, G., and Liebl, W. (2004). Genome sequence of *Picrophilus torridus* and its implications for life around pH 0. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 9091–9096.
- Gadhve, R.V., Mahanwar, P.A., and Gadekar, P.T. (2019). Study of cross-linking between boric acid and different types of polyvinyl alcohol adhesive. *Open J. Polym. Chem.* 09, 16–26.
- Gentry, D., and R. Dahlgren. 2019. "Venus Aerosol Sampling Considerations for in Situ Biological Analysis." NASA Ames Research Center.
- González-Rosales, C., Vergara, E., Dopson, M., Valdés, J.H., ja Holmes, D.S. (2021). Integrative Genomics Sheds Light on Evolutionary Forces Shaping the *Acidithiobacillia* Class Acidophilic Lifestyle. *Front. Microbiol.* 12, 822229.
- Goulbourne, E., Jr, Matin, M., Zychlinsky, E., and Matin, A. (1986). Mechanism of delta pH maintenance in active and inactive cells of an obligately acidophilic bacterium. *J. Bacteriol.* 166, 59–65.
- Greaves, J.S., Richards, A.M.S., Bains, W., ... Hoge, J. (2020). Phosphine gas in the cloud decks of Venus. *Nature Astronomy* 5, 655–664.
- Grinspoon, D.H., and Bullock, M.A. (2007). Astrobiology and Venus exploration. In *Exploring Venus as a Terrestrial Planet*, (Washington, D. C.: American Geophysical Union), 191–206.
- Guiliani, N., and Jerez, C.A. (2000). Molecular cloning, sequencing, and expression of omp-40, the gene coding for the major outer membrane protein from the acidophilic bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2318–2324.
- Hallsworth, J.E., Koop, T., Dallas, T.D., Zorzano, M.-P., Burkhardt, J., Golyshina, O.V., Martín-Torres, J., Dymond, M.K., Ball, P., and McKay, C.P. (2021). Water activity in Venus's uninhabitable clouds and other planetary atmospheres. *Nature Astronomy* 5, 665–675.
- Hansen, J.E., and Hovenier, J.W. (1974). Interpretation of the Polarization of Venus. *J. Atmos. Sci.* 31, 1137–1160.

- Hedrich, S., and Schippers, A. (2021). Distribution of Acidophilic Microorganisms in Natural and Man-made Acidic Environments. *Curr. Issues Mol. Biol.* *40*, 25–48.
- Hill, M.L., Kane, S.R., Duarte, E.S., Kopparapu, R.K., Gelino, D.M., and Wittenmyer, R.A. (2018). Exploring Kepler Giant Planets in the Habitable Zone. *ApJ* *860*, 67.
- Hirooka, S., Hirose, Y., Kanesaki, Y., ... Miyagishima, S. (2017). Acidophilic green algal genome provides insights into adaptation to an acidic environment. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *114*, E8304–E8313.
- Hoffman, J.H., Oyama, V.I., and von Zahn, U. (1980). Measurements of the Venus lower atmosphere composition: A comparison of results. *J. Geophys. Res.* *85*, 7871.
- House, C.H., Wong, G.M., Webster, C.R., Mahaffy, P.R. (2022). Depleted carbon isotope compositions observed at Gale crater, Mars. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *119*.
- Huang, S.-S. (1959). The Problem of Life in the Universe and the Mode of Star Formation. *PASP* *71*, 421.
- Johnson, D.B., and Quatrini, R. (2020). Acidophile Microbiology in Space and Time. *Curr. Issues Mol. Biol.* *39*, 63–76.
- Jones, D.S., Albrecht, H.L., Dawson, K.S., Schaperdoth, I., Freeman, K.H., Pi, Y., Pearson, A., and Macalady, J.L. (2012). Community genomic analysis of an extremely acidophilic sulfur-oxidizing biofilm. *ISME J.* *6*, 158–170.
- Kelly, D.P., and Wood, A.P. (2000). Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* *50 Pt 2*, 511–516.
- Klein, A.M., Bohannon, B.J.M., Jaffe, D.A., Levin, D.A., and Green, J.L. (2016). Molecular Evidence for Metabolically Active Bacteria in the Atmosphere. *Front. Microbiol.* *7*, 772.
- Knollenberg, R.G. (1982). Clouds and hazes. *Nature* *296*, 18–18.
- Krasnopolsky, V.A. (2006). Chemical composition of Venus atmosphere and clouds: Some unsolved problems. *Planet. Space Sci.* *54*, 1352–1359.
- Krissansen-Totton, J., Bergsman, D.S., and Catling, D.C. (2016). On Detecting Biospheres from Chemical Thermodynamic Disequilibrium in Planetary Atmospheres. *Astrobiology* *16*, 39–67.
- Kvenvolden, K., Lawless, J., Pering, K., Peterson, E., Flores, J., Ponnampereuma, C., Kaplan, I.R., and Moore, C. (1970). Evidence for extraterrestrial amino-acids and hydrocarbons in the Murchison meteorite. *Nature* *228*, 923–926.
- Lauer, T.R., Postman, M., Weaver, H.A., ... Young, L. (2020). New Horizons Observations of the Cosmic Optical Background. *The Astrophysical Journal.* *906*, 2
- Limaye, S.S., Mogul, R., Smith, D.J., Ansari, A.H., Słowik, G.P., and Vaishampayan, P. (2018). Venus' Spectral Signatures and the Potential for Life in the Clouds. *Astrobiology* *18*, 1181–1198.

- Lovelock, J.E. (1965). A physical basis for life detection experiments. *Nature* 207, 568–570.
- Madshus, I.H. (1988). Regulation of intracellular pH in eukaryotic cells. *Biochem. J* 250, 1–8.
- Marion, G.M., Fritsen, C.H., Eicken, H., and Payne, M.C. (2003). The search for life on Europa: limiting environmental factors, potential habitats, and Earth analogues. *Astrobiology* 3, 785–811.
- Martins, Z., Botta, O., Fogel, M.L., Sephton, M.A., Glavin, D.P., Watson, J.S., Dworkin, J.P., Schwartz, A.W., and Ehrenfreund, P. (2008). Extraterrestrial nucleobases in the Murchison meteorite. *Earth and Planetary Science Letters* 270, 1-2
- Matin, A. (1999). pH homeostasis in acidophiles. *Novartis Found. Symp.* 221, 152–163; discussion 163–166.
- Medvedev, A.S., and Yiğit, E. (2019). Gravity Waves in Planetary Atmospheres: Their Effects and Parameterization in Global Circulation Models. *Atmosphere* 10, 531.
- Menzel, U., and Gottschalk, G. (1985). The internal pH of *Acetobacterium wieringae* and *Acetobacter aceti* during growth and production of acetic acid. *Arch. Microbiol.* 143, 47–51.
- Mogul, R., Limaye, S.S., Way, M.J., ja Cordova, J.A. (2021). Venus' Mass Spectra Show Signs of Disequilibria in the Middle Clouds. *Geophys. Res. Lett.* 48, e2020GL091327.
- Mullins, E.A., Francois, J.A., ja Kappock, T.J. (2008). A specialized citric acid cycle requiring succinyl-coenzyme A (CoA):acetate CoA-transferase (AarC) confers acetic acid resistance on the acidophile *Acetobacter aceti*. *J. Bacteriol.* 190, 4933–4940.
- Oyama, V.I., Carle, G.C., Woeller, F., Pollack, J.B., Reynolds, R.T., ja Craig, R.A. (1980). Pioneer Venus gas chromatography of the lower atmosphere of Venus. *J. Geophys. Res.* 85, 7891.
- Pajusalu, M.; Kivastik, J.; Iakubivskiy, I.; Slavinskis, A. (2020). Developing autonomous image capturing systems for maximum science yield for high fly-by velocity small solar system body exploration. *Proceedings of the International Astronautical Congress, IAC, 2020-October.*
- Patel, M.R., Mason, J.P., Nordheim, T.A., and Dartnell, L.R. (2022). Constraints on a potential aerial biosphere on Venus: II. Ultraviolet radiation. *Icarus* 373, 114796.
- Pejler, B., and Bērziņš, B. (1993a). On the ecology of *Trichocercidae* (Rotifera). *Hydrobiologia* 263, 55–59.
- Pejler, B., and Bērziņš, B. (1993b). On the ecology of *Cephalodella*. *Hydrobiologia* 259, 125–128.
- Peplowski, P.N., Lawrence, D.J., and Wilson, J.T. (2020). Chemically distinct regions of Venus's atmosphere revealed by measured N₂ concentrations. *Nature Astronomy* 4, 947–950.
- Petryanov-Sokolov, I. V., Andreichikov, B.M., Korchuganov, B.N., Ovsyankin, E.I., Ogorodnikov, B.I., Skitovich, V.I., and Khristianov, V.K. (1981). Iron in Venus clouds. In *Doklady Akademii Nauk*, (Russian Academy of Sciences), lk 834–836.
- Prosanov, I.Y., Abdulrahman, S.T., Thomas, S., Bulina, N.V., and Gerasimov, K.B. (2018).

- Complex of polyvinyl alcohol with boric acid: Structure and use. *Materials Today Communications* *14*, 77–81.
- Quatrini, R. (2016). *Acidophiles life in extremely acidic environments*. (Norfolk, UK: Caister Academic Press).
- Ragent, B., Esposito, L.W., Tomasko, M.G., Marov, M.Y., Shari, V.P., and Lebedev, V.N. (1985). Particulate matter in the Venus atmosphere. *Adv. Space Res.* *5*, 85–115.
- Rimmer, P.B., Jordan, S., Constantinou, T., Woitke, P., Shorttle, O., Hobbs, R., and Paschodimas, A. (2021). Hydroxide Salts in the Clouds of Venus: Their Effect on the Sulfur Cycle and Cloud Droplet pH. *Planet. Sci. J.* *2*, 133.
- Schleper, C., Pühler, G., Klenk, H.-P., and Zillig, W. (1996). *Picrophilus oshimae* and *Picrophilus torridus* fam. nov., gen. nov., sp. nov., Two Species of Hyperacidophilic, Thermophilic, Heterotrophic, Aerobic Archaea. *Int. J. Syst. Bacteriol.* *46*, 814–816.
- Schönknecht, G., Chen, W.-H., Ternes, C.M. ... Weber, A. (2013). Gene transfer from bacteria and archaea facilitated evolution of an extremophilic eukaryote. *Science* *339*, 1207–1210.
- Seager, S. (2013). Exoplanet habitability. *Science* *340*, 577–581.
- Seager, S., Bains, W., and Petkowski, J.J. (2016). Toward a List of Molecules as Potential Biosignature Gases for the Search for Life on Exoplanets and Applications to Terrestrial Biochemistry. *Astrobiology* *16*, 465–485.
- Seager, S., Petkowski, J.J., Carr, C.E., ... Worden, P. (2021a). Venus Life Finder Mission Study.
- Seager, S., Petkowski, J.J., Gao, P., Bains, W., Bryan, N.C., Ranjan, S., and Greaves, J. (2021b). The Venusian Lower Atmosphere Haze as a Depot for Desiccated Microbial Life: A Proposed Life Cycle for Persistence of the Venusian Aerial Biosphere. *Astrobiology* *21*, 1206–1223.
- Segerer, A., Langworthy, T.A., and Stetter, K.O. (1988). *Thermoplasma acidophilum* and *Thermoplasma volcanium* sp. nov. from Solfatara Fields. *Syst. Appl. Microbiol.* *10*, 161–171.
- Sharma, M., Graham, J.Y., Walczak, P.A., Nguyen, R., Lee, L.K., Carson, M.D., Nelson, L.Y., Patel, S.N., Xu, Z., and Seibel, E.J. (2019). Optical pH measurement system using a single fluorescent dye for assessing susceptibility to dental caries. *J. Biomed. Opt.* *24*, 1–8.
- Sheikh, S.Z. (2020). Nine axes of merit for technosignature searches. *Int. J. Astrobiology* *19*, 237–243.
- Sigler, L., and Carmichael, J.W. (1974). A new acidophilic *Scytalidium*. *Can. J. Microbiol.* *20*, 267–268.
- Slavinskis, A., Näsilä, A., Pajusalu, M., Praks, J., Reinart, A., Iakubivskyi, I., Kohout, T., Snodgrass, C., and Jones, G. (2019). OPTical Imager for Comets (OPIC) for proposed F mission Comet Interceptor. EPSC – DPS2019–DPS2680.
- Slonczewski, J.L., Fujisawa, M., Dopson, M., and Krulwich, T.A. (2009). Cytoplasmic pH measurement and homeostasis in bacteria and archaea. *Adv. Microb. Physiol.* *55*, 1–79, 317.

- Sousa-Silva, C., Seager, S., Ranjan, S., Petkowski, J.J., Zhan, Z., Hu, R., and Bains, W. (2020). Phosphine as a Biosignature Gas in Exoplanet Atmospheres. *Astrobiology* 20, 235–268.
- Starkey, R.L., and Waksman, S.A. (1943). Fungi Tolerant to Extreme Acidity and High Concentrations of Copper Sulfate. *J. Bacteriol.* 45, 509–519.
- Stevenson, A., Hamill, P.G., O’Kane, C.J., Kminek, G., Rummel, J.D., Voytek, M.A., Dijksterhuis, J., and Hallsworth, J.E. (2017). *Aspergillus penicillioides* differentiation and cell division at 0.585 water activity. *Environ. Microbiol.* 19, 687–697.
- Surkov, Y.A., Ivanova, V.F., Pudov, A.N., Volkov, V.P., ja Imbault, D. (1986). VEGA 1 mass spectrometry of Venus cloud aerosols - Preliminary results. *Pisma v Astronomicheskii Zhurnal* 12, p. 110-113
- Taylor, F.W., ja Hunten, D.M. (2014). Chapter 14 - Venus: Atmosphere. In *Encyclopedia of the Solar System (Third Edition)*, T. Spohn, D. Breuer, and T.V. Johnson, (Boston: Elsevier), p. 305–322.
- Thompson, M.A. (2020). The statistical reliability of 267 GHz JCMT observations of Venus: No significant evidence for phosphine absorption.
- Titov, D.V., Ignatiev, N.I., McGouldrick, K., Wilquet, V., ja Wilson, C.F. (2018). Clouds and Hazes of Venus. *Space Sci. Rev.* 214.
- Traas, R., Croft, S., Gajjar, V., Worden, P. (2021). The Breakthrough Listen Search for Intelligent Life: Searching for Technosignatures in Observations of TESS Targets of Interest. *AJS* 161, 286.
- Trevors, J.T. (2011). Hypothesized origin of microbial life in a prebiotic gel and the transition to a living biofilm and microbial mats. *C. R. Biol.* 334, 269–272.
- Urbietta, M.S., González Toril, E., Aguilera, A., Giaveno, M.A., and Donati, E. (2012). First prokaryotic biodiversity assessment using molecular techniques of an acidic river in Neuquén, Argentina. *Microb. Ecol.* 64, 91–104.
- Villanueva, G., Cordiner, M., Irwin, P. ... Koppurapu, R. (2020). No evidence of phosphine in the atmosphere of Venus by independent analyses. *Nature Astronomy* 5 (7): 631–35.
- van de Vossenberg, J.L.C.M., Driessen, A.J.M., and Konings, W.N. (1998). The essence of being extremophilic: the role of the unique archaeal membrane lipids. *Extremophiles* 2, 163–170.
- Waksman, S.A., and Joffe, J.S. (1922). Microorganisms Concerned in the Oxidation of Sulfur in the Soil: II. *Thiobacillus Thiooxidans*, a New Sulfur-oxidizing Organism Isolated from the Soil. *J. Bacteriol.* 7, 239–256.
- Way, M.J., Del Genio, A.D., Kiang, N.Y., Sohl, L.E., Grinspoon, D.H., Aleinov, I., Kelley, M., Clune, T. (2016). Was Venus the First Habitable World of our Solar System? *Geophys. Res. Lett.* 43, 8376–8383.
- Yang, L.L., and Haug, A. (1979). Purification and partial characterization of a procaryotic glycoprotein from the plasma membrane of *Thermoplasma acidophilum*. *Biochim. Biophys.*

Acta 556, 265–277.

Young, A.T. (1973). Are the clouds of Venus sulfuric acid? *Icarus* 18, 564–582.

Young, A.T. (1983). Venus cloud microphysics. *Icarus* 56, 568–577.

Zhang, X., Song, G.-J., Cao, X.-J., Liu, J.-T., Chen, M.-Y., Cao, X.-Q., and Zhao, B.-X. (2015). A new fluorescent pH probe for acidic conditions. *RSC Adv.* 5, 89827–89832.

Zhang, X., Liu, X., Liang, Y., ... Yin, H., (2017). Adaptive Evolution of Extreme Acidophile *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* Potentially Driven by Horizontal Gene Transfer and Gene Loss. *Appl. Environ. Microbiol.* 83. <https://doi.org/10.1128/AEM.03098-16>.

Zychlinsky, E., and Matin, A. (1983). Cytoplasmic pH homeostasis in an acidophilic bacterium, *Thiobacillus acidophilus*. *J. Bacteriol.* 156, 1352–1355.

Kasutatud veebiaadressid

Kaasik, L. (2022). Life on... Venus?
<https://space-travel.blog/vlf-a0fe51c112ae> (15.05.2022)

The Extrasolar Planet Encyclopaedia — Catalog Listing.
<http://exoplanet.eu/catalog/> (15.05.2022)

Miller, J. (2019).
https://www.researchgate.net/post/How_to_dissolve_pva_100_hydrolyze_in_water2/5da7d4b411ec736dc11e0d66/citation/download (28.05.2022)

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina,

Laila Kaasik,
(autori nimi)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose

“Happesuse sensori prototüüpimine Veenuse pilvede elukõlblikkuse uurimiseks”

(lõputöö pealkiri)

mille juhendajad on

dr. Mihkel Pajusalu ja prof. Angela Ivask,
(juhendaja nimi)

reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Laila Kaasik
30.05.2022