УДК 539.19
PACS 87.15.-v
DOI: https://doi.org/10.24144/2415-8038.2016.39.106-112
Ю.Ю. Свида, М.І. Шафраньош, Е. Шамудовський, І.І. Перчак,
М.О. Маргітич, М.І. Суховія, М.М. Чаварга, І.І. Шафраньош
Ужгородський національний університет, 88000, Ужгород, вул. Волошина, 54
e-mail: ivanshafr@gmail.com

ЛЮМІНЕСЦЕНЦІЯ МОЛЕКУЛ ГУАНІНУ В ГАЗОВІЙ ФАЗІ ПІД ДІЄЮ ПУЧКА ЕЛЕКТРОНІВ

Отримано спектри люмінесценції ізольованих молекул гуаніну в області довжин хвиль 250-500 нм під дією пучка повільних електронів. У спектрі спостерігаються біля 19 спектральних смуг і ліній. Показано, що спектр випромінювання гуаніну формують процеси дисоціативного збудження молекул, дисоціативного збудження з іонізацією, збудження електронних рівнів вихідної молекули. Спостерігається явище трансмутації азотистої основи гуаніну. Обговорюються біофізичні наслідки отриманих результатів.
Ключові слова: електронний пучок, паронаповнена комірка, гуанін, спектр, спектральні смуги, фрагменти.

Вступ

Азотисті основи: аденін, гуанін, тимін, урацил і цитозин є найважливішими складовими макромолекул ДНК і РНК. Природний енергетичний стан і нативна структура цих компонентів зумовлює функціонування нуклеїнових кислот як генетичних біомолекул, а також забезпечує синтез білків і регуляторні процеси на молекулярному і клітинному рівнях. Водночас, характеристики енергетичного стану нуклеотидних основ і їх цілісність можуть бути зміненими зовнішніми факторами. До таких факторів відносяться, зокрема, потоки повільних електронів, які у великій кількості утворюються в біоструктурах при проходженні через них високоенергетичного випромінювання. Повільні електрони при зіткненнях з нуклеїновими кислотами збуджують їх енергетичні стани, іонізують або ж взагалі руйнують (фрагментують) молекули. Фізична картина цих процесів може бути отримана в дослідженнях люмінесценції азотистих основ під дією електронів, що і є метою даної роботи. Зазначимо, що подібні дослідження молекул гуаніну у відомій нам літературі відсутні.

Експериментальна установка та методика дослідження

У роботі був використаний оптичний метод дослідження. Газова фаза молекул гуаніну формувалася шляхом нагрівання полікристалічного порошку гуаніну в окремому металевому контейнері (див. рис. 1). Зазначимо, що цей етап досліджень виявився складним і представляв собою окрему задачу. Визначальною вимогою для розв’язання цієї задачі є уникнення термічної фрагментації гуаніну. Успіху в цьому етапі досліджень було досягнуто спеціальною методикою тривалого вакуумного помпування та повільним зростанням температури контейнера. Температура контейнера з порошком гуаніну контролювалася заздалегідь прокаліброваною термопарою з похибкою ± 1 К. При досягненні температури, при якій концентрація газової фази гуаніну дозволяла реєструвати свічення, починалась реєстрація спектрів люмінесценції гуаніну із поступовим підвищенням температури контейнера на 10 К. Температурний діапазон, в якому відносні інтенсивності молекулярних смуг в оптичних спектрах були незмінними, а також аналіз мас-спектрів гуаніну,

отриманих нами раніше [1], дозволили визначити робочу температуру, при якій термічна фрагментація була нехтовно мала. У дослідженнях використовувався препарат гуаніну фірми Sigma-Aldrich (чистота 99 %). Температура, при якій проводилися дослідження, становила 390 К.

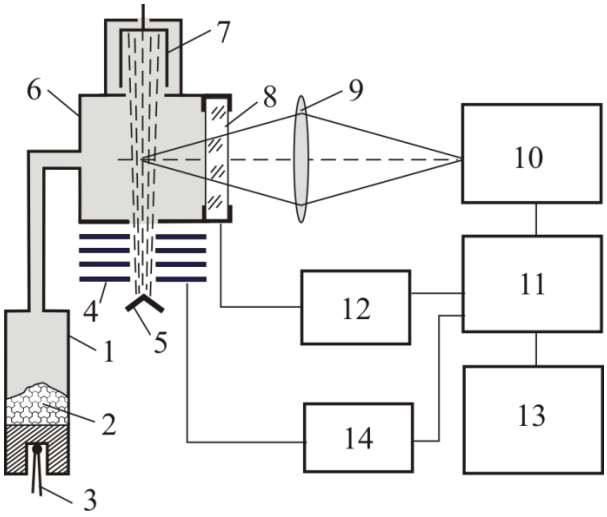

Рис. 1. Блок-схема експерименту для дослідження люмінесценції молекул гуаніну
1 – контейнер з кристалічним гуаніном; 2 – препарат гуаніну; 3 – термопара; 4 – електронна гармата; 5 – вольфрамовий катод; 6 – паронаповнена комірка; 7 − циліндр Фарадея; 8 – кварцове віконце; 9 – конденсор; 10 – спектрофотометр; 11 − блок реєстрації та управління експериментом; 12 − джерело скануючого потенціалу електронного пучка; 13 – принтер; 14 – джерело модуляції електронного пучка.

Утворена газова фаза гуаніну по паропроводу поступала у замкнену комірку (кубічної форми) об'ємом ~ 2 см^3. Випромінювання крізь кварцове віконце виходило із комірки і за допомогою конденсора фокусувалося на вхідну щілину дифракційного монохроматора МДР-23, обернена лінійна дисперсія якого становить 1,3 нм/мм (у діапазоні λ = 200 – 800 нм). Виділене монохроматором випромінювання детектувалося фотоелектронним помножувачем (ФЕП) типу ФЕУ-106, вихідний сигнал якого поступав у блок реєстрації та управління експериментом.

Пучок електронів формувався триелектродною гарматою з вольфрамовим катодом. На одній із зовнішніх граней комірки монтувалася діафрагма (діаметр 1,5 мм) для вводу електронного пучка та його електронно-оптична система, а на протилежній – приймач пучка електронів (циліндр Фарадея). Комірка поміщалась у магнітне поле так, що його силові лінії були паралельними електронному пучку. Калібрування шкали енергій електронів здійснювалося за величиною енер-гетичного порогу збудження спектральної лінії з довжиною хвилі λ = 486,1 нм (H_β серія Бальмера) з точністю ± 0,3 еВ.

Індукція магнітного поля становила ~ 1,2 · 10^{-2} Тл. Експерименти проводились при таких умовах: сила струму пучка електронів складала ~ 4 · 10^{-5} А при енергетичній неоднорідності електронів на пів-висоті їх енергетичного розподілу $\Delta E_{½}$ ~ 0,3 еВ; тиск залишкових газів у камері, де розміщалася комірка з парами гуаніну, становив ~ 1 · 10^{-5} Па. Для уникнення конденсації парів гуаніну на віконцях та електродах електронної гармати комірка нагрівалася до температури 430 К.

Результати досліджень та їх обговорення

У даній роботі вперше отримано спектри люмінесценції молекул гуаніну в газовій фазі в діапазоні довжин хвиль 250 – 500 нм під дією пучка електронів різних енергій. Результати експериментальних вимірів для енергій електронів 100 еВ приведені на рис 2, де по осі ординат відкладена інтенсивність випромінювання у відносних одиницях, а по осі абсцис – довжини хвиль у нанометрах (нм). У приведеному спектрі враховано спектральну чутливість спектрофотометра. Як видно з рис. 2, у спектрі препарату гуаніну виразно проявляються 19 молекулярних смуг і ліній, максимуми яких знаходяться при таких довжинах хвиль: $\lambda_м\lambda_м$ = 289,2; 304,2; 307,2; 315,9; 326,5; 337; 355,3; 357,7; 362; 367,1; 386,1; 388,2; 391,6; 395,7; 415,5; 430,5; 434,4; 447,3; 486,1 нм. Кількість і форма спектральних смуг свідчать про те, що

природа їх походження пов'язана із збудженням електронних станів як цілої молекули, так і її іонізованих чи нейтральних фрагментів (дисоціативне збудження, дисоціативне збудження з іонізацією). Практично всі смуги мають складний характер, що свідчить про їх суперпозиційну природу.

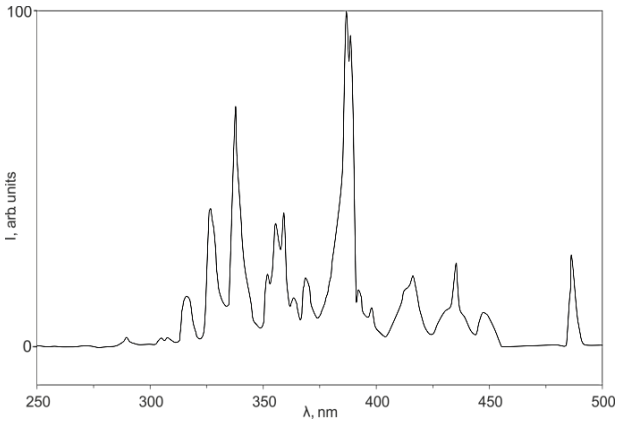

Рис. 2. Спектр люмінесценції молекул гуаніну для енергії електронів 100 еВ.

Відзначимо, що наведений на рис. 2 спектр істотно відрізняється від спектрів люмінесценції молекул гуаніну в розчинах або полікристалічних плівках [2].

Здійснити повну коректну ідентифікацію спектральних смуг, базуючись на існуючій базі літературних даних, досить складно. Однак, незважаючи на це, нам вдалося провести наступний аналіз природи походження смуг у спектрі люмінесценції гуаніну. Для цієї мети були використані отримані нами у роботі [1] результати мас-спектрометричних досліджень молекул гуаніну та аденіну, дані про ефективні перерізи повної та дисоціативної іонізації електронним ударом обох пуринових основ [1], проаналізовані фотоемісійні спектри багатоатомних хімічних сполук [3-6].

Спекральна лінія з довжиною хвилі λ = 486,1 нм належить атому гідрогену (H_β серія Бальмера) і, до речі, спостерігається у спектрах інших азотистих основ [7]. Звідси випливає важливий фізичний висновок, що під дією електронів у біоструктурах утворюється значна кількість атомів гідрогену. Смуги з довжинами хвиль λ = 447,3; λ = 430,5 нм ймовірно належать групі CO ($B\ ^1\Sigma^+ \rightarrow A\ ^1\Pi$). У формуванні смуги з λ = 434,4 нм можуть брати участь збуджені фрагменти CH ($A\ ^2\Delta \rightarrow X\ ^2\Pi$), N_2 ($C\ ^3\Pi_u \rightarrow B\ ^3\Pi_g$), H_2CN_2 ($\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$). Ми схиляємося до думки про переважний внесок фрагменту H_2CN_2, а вузька лінія при λ = 434,1 належить Hγ серії Бальмера. Широку смугу з максимумом при λ = 415,5 нм формують декілька груп: зокрема, CO ($B\ ^1\Sigma^+ \rightarrow A\ ^1\Pi$), з довжиною хвилі λ = 412,4 нм і CO^+ ($B\ ^2\Sigma^+ \rightarrow A\ ^2\Pi$), λ = 395,4 нм. Інтенсивна смуга з λ = 388,2 нм формується фрагментами CO ($C\ ^1\Sigma^+ \rightarrow A\ ^1\Pi$) і CN ($B\ ^2\Sigma \rightarrow A\ ^2\Pi$). Тут основний внесок слід віддати групі CO, оскільки ефективний переріз збудження електронного переходу ($C\ ^1\Sigma^+ \rightarrow A\ ^1\Pi$) в CO є значний [6]. Інтенсивна смуга з λ = 386,6 нм формується фрагментами CN ($B\ ^2\Sigma \rightarrow A\ ^2\Pi$) і CNC ($\Delta^2 \rightarrow {}^2\Pi$). Внесок від радикалу CN можна вважати переважаючим. Незначної інтенсивності смуга з λ = 368,7 нм належить CO^+ ($B\ ^2\Sigma^+ \rightarrow A\ ^2\Pi$). Смугу з λ = 359,2 нм може утворювати фрагмент HCN_2. Смуга з λ = 355,5 нм, ймовірно формується фрагментами HNCN ($\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$) та N_2 ($C\ ^3\Pi_u \rightarrow B\ ^3\Pi_g$), причому внесок кожного з них у формування цієї смуги поки що невідомий. Смугу з λ = 337,6 нм слід ідентифікувати як суперпозицію переходів ($C\ ^3\Pi_u \rightarrow B\ ^3\Pi_g$) N_2 та ($^3\Pi_u \rightarrow {}^2\Sigma_g^-$) NCN. Смуга з λ = 326,8 нм може формуватися фрагментами CN^+ та NCN ($\Delta^2 \rightarrow {}^2\Pi$), однак внесок кожного на даний час ще не визначений. Звертаємо увагу, що випромінювання в діапазоні довжин хвиль 368,7 нм – 395,4 нм знаходиться на дуже широкій смузі, яка для них є своєрідною підкладкою. На нашу думку, ця широка смуга є проявом люмінесценції внаслідок збудження π − електронів молекул гуаніну.

Гуанін і аденін – це похідні пурину, а тому логічним є порівняння їхніх спектрів люмінесценції за подібних фізичних умов. Спектр аденіну ініційований електронами вперше був отриманий в роботі [8] в умовах електронного та молекулярного пучків, що перетинаються, при енергії електронів 100 еВ. Авторами цього дослідження була також виконана ідентифікація отриманого спектру.

Порівняльний аналіз вказує на загальну подібність спектрів гуаніну та аденіну. Зокрема, смуги з $\lambda_м\lambda_м$ = 308; 326,5; 337; 354; 388,2; 434,4 нм виявлені у люмінесцентних спектрах обох пуринових основ.

Має також зміст порівняння оптичного спектру гуаніну з його мас-спектром (див. рис. 3).

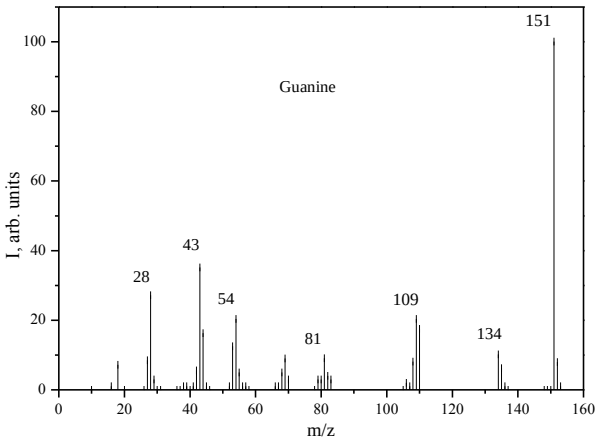

Рис. 3. Мас-спектр молекул гуаніну для енергії електронів 100 еВ [1].

В першу чергу таке порівняння є допоміжним кроком в непростій ідентифікації спектру гуаніну. Виконаний аналіз свідчить, що більшість смуг належать нейтральним фрагментам. Важливо звернути увагу на лінію m/z = 135 у мас-спектрі гуаніну. Ця лінія, є ніщо інше як молекулярний іон аденіну, який утворюється в процесі фрагментації молекулярного іону гуаніну на заряджений фрагмент $C_5H_5N_5$ (молекулярний іон аденіну) та нейтральний атом оксигену. При цьому, утворений атом оксисену може бути в збудженому стані, а отже випромінити фотон відповідної частоти. І дійсно в спектрі гуаніну, є лінія яка по довжині хвилі належить атому оксигену λ=398 нм [9]. З цього випливає, що при непружній взаємодії гуанін може трансформуватися в молекулярний іон аденіну. Тобто має місце явище трансмутації азотистої основи. На винятково радіобіологічну значимість цього явища було вказано в роботах [10-12].

Висновки

Взаємодія повільних електронів з молекулами гуаніну в газовому стані супроводжується виникненням у діапазоні 250-500 нм спектру люмінесценції складної форми, що свідчить про інтенсивну фрагментацію молекул. Спектр люмінесценції гуаніну формують процеси дисоціативного збудження молекул, дисоціативного збудження з іонізацією, збудження електронних рівнів вихідної молекули. Експериментально встановлено, що електрони з енергіями 100 еВ ефективно руйнують молекулу гуаніну продукуючи при цьому атомарний гідроген. Спостерігається явище трансмутації азотистої основи гуаніну. Отримані дані можуть бути використані для оцінки радіаційних змін у молекулах ДНК і РНК при внутрішньому β – опроміненні біоб'єктів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Minaev B.F., Shafranyosh M.I., Svida Yu.Yu., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I., Baryshnikov G.V., Minaeva V.A. Fragmentation of the adenine and guanine molecules induced by electron collisions // J. Chem. Phys. − 2014. − V. 140. − №. 17. − pp. 175101-15.
2. Vinogradov I. P., Zemskikh V., Dodonova N. Ya. Absorption spectra of nucleic acid bases (110-300 nm) and their luminescence excited in VUV spectral region // Opt. Spectrosc. – 1974. − V. 34. pp. 596-599.
3. Huber K.P., Herzberg G. Molecular spectra and molecular structure. IV. Constants of diatomic molecules. − New York: Van Nostrand Reinhold, 1979. − 716 p.
4. Herzberg G. Molecular spectra and molecular structure. III. Electronic spectra and electronic structure of polyatomic molecules. − New Jersey: Van Nostrand, 1966. – 745 p.

5. Pearse R.W., Gaydon A.G. The identification of molecular spectra. − London: Chapman, 1963. – 562 p.
6. Skubenich V.V., Zapesochnyi I.P. Excitation of diatomic molecules by collisions with monoenergetic electrons // High Energy Chem. – 1975. – V. 9. − № 5. – pp. 339-346.
7. Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I. Inelastic collisions of the uracil molecules with electrons // J. Chem. Phys. − 2012. − V. 137. – №. 18. – pp. 184303-9.
8. Sukhovija M.I., Voshchepinec E.I., Shafranyosh M.I., Shimon L.L. Electron-impact excitation and ionization of the adenine // Biopolym. Cell. – 1996. – V. 12. – №. 3. – pp. 97-100.
9. Стриганов А.Р., Свентицький Н.С. Таблицы спектральных линий нейтральных и ионизованных атомов – Москва: Атомиздат, 1966. − 899 с.
10. Шафраньош І.І., Петрушко І.А., Славік В.М., Суховія М.І. Структурні зміни азотистих основ нуклеїнових кислот, викликані низькоенергетичними електронами // Науковий вісник УжНУ, серія: Фізика. – 2000. – №. 6. – С. 259-263
11. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Margitich M.O., Shafranyosh I.I. Negative ions formation of the cytosine molecule by electron impact // Biopolym. Cell. – 2005. – V. 21. – №. 6. – pp. 531-535.
12. Стецович В.В., Павлючок–Гогерчак О.В., Суховія М.І., Шваб Р.Л., Шафраньош І.І. Про радіобіологічне значення повільних електронів // Науковий вісник УжНУ, серія: Біологія. – 2010. – №27. − С. 198–201.

Стаття надійшла до редакції 30.06.2016

Ю.Ю. Свида, М.И. Шафраньош, Е. Шамудовський, И.И. Перчак, Н.А. Маргитич, М.И. Суховия, Н.Н. Чаварга, И.И. Шафраньош
Ужгородский национальный университет, 88000, Ужгород, ул. Волошина, 54

ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ МОЛЕКУЛ ГУАНИНА В ГАЗОВОЙ ФАЗЕ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПУЧКА ЭЛЕКТРОНОВ

Получены спектры люминесценции изолированных молекул гуанина в области длин волн 250-500 нм под действием пучка медленных электронов. В спектре наблюдаются у 19 спектральных полос и линий. Показано, что спектр излучения гуанина формируют процессы диссоциативного возбуждения молекул, диссоциативного возбуждения с ионизацией, возбуждение электронных уровней исходной молекулы. Наблюдается явление трансмутации азотистого основания гуанина. Обсуждаются биофизические последствия полученных результатов.
Ключевые слова: электронный пучок, паронаполненная ячейка, гуанин, спектр, спектральные полосы, фрагменты.

PACS 87.15.-v

Yu.Yu. Svyda, M.I. Shafranyosh, E. Shamudovskyi, I.I. Perchak,
M.O. Margitych, M.I. Sukhoviya, M.M. Chavarga, I.I. Shafranyosh
Uzhhorod National University, 88000, Uzhhorod, Voloshin Str., 54

THE LUMINESCENCE OF GUANINE MOLECULES IN THE GAS PHASE UNDER THE ELECTRON BEAM

Background: Information about the physical structure of molecules is necessary for understanding of the role of primary physical processes in ensuring the functioning of biological systems and for identification of the mechanisms of influence of the various environmental factors. Among these factors, special attention is given to natural and artificial radiation. The interaction of high-energy radiation with living cells, mostly does not lead directly to degradation of biopolymer molecules, in particular, to the breaking of covalent bonds in the primary structure of nucleic acids. This feature performs secondary electrons, which are produced in great quantity in biological matter.

Materials and methods: Optical method of investigation was used in experiments. The gas phase of guanine molecules was formed by heating of guanine polycrystalline powder in a separate metal container. The temperature at which the research was conducted was 390 K. The electron beam was formed by three-electrode gun with tungsten cathode.

Results: The luminescence spectra of isolated guanine molecules in the wavelength region from 200 nm to 500 nm under the beam of slow electrons were obtained. Near 19 spectral bands and lines were observed in the spectrum. Spectral bands were identified based on existing literature data. Experimentally was found that 100 eV energy electrons effectively destroy the guanine molecule with producing of atomic hydrogen. The phenomenon of transmutation of nucleic acid base is observing.

Conclusion: The interaction of slow electrons with guanine molecules in the gas state is accompanied by the occurrence of a complicated emission spectrum in the range of 200–500 nm, which is indicative of an intense fragmentation of molecules. The emission spectrum of guanine is formed by processes of dissociative excitation of molecules, dissociative excitation with ionization, and excitation of electronic levels of the initial molecule. The obtained data can be used to estimate radiation changes in DNA and RNA molecules upon internal β irradiation of bioobjects.

Keywords: electron beam, vapor filled cell, guanine, spectrum, spectral bands, fragments.
PACS NUMBER: 87.15.-v

REFERENCES

1. Minaev B.F., Shafranyosh M.I., Svida Yu.Yu., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I., Baryshnikov G.V., Minaeva V.A. Fragmentation of the adenine and guanine molecules induced by electron collisions // J. Chem. Phys. − 2014. − V. 140. − №. 17. − pp. 175101-15.
2. Vinogradov I. P., Zemskikh V., Dodonova N. Ya. Absorption spectra of nucleic acid bases (110-300 nm) and their luminescence excited in VUV spectral region // Opt. Spectrosc. – 1974. − V. 34. pp. 596-599.
3. Huber K.P., Herzberg G. Molecular spectra and molecular structure. IV. Constants of diatomic molecules. − New York: Van Nostrand Reinhold, 1979. − 716 p.
4. Herzberg G. Molecular spectra and molecular structure. III. Electronic spectra and electronic structure of polyatomic molecules. − New Jersey: Van Nostrand, 1966. – 745 p.
5. Pearse R.W., Gaydon A.G. The identification of molecular spectra. − London: Chapman, 1963. – 562 p.

6. Skubenich V.V., Zapesochnyi I.P. Excitation of diatomic molecules by collisions with monoenergetic electrons // High Energy Chem. – 1975. – V. 9. − № 5. – pp. 339-346.
7. Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I. Inelastic collisions of the uracil molecules with electrons // J. Chem. Phys. − 2012. − V. 137. – №. 18. – pp. 184303-6.
8. Sukhovija M.I., Voshchepinec E.I., Shafranyosh M.I., Shimon L.L. Electron-impact excitation and ionization of the adenine // Biopolym. Cell. – 1996. – V. 12. – №. 3. – pp. 97-100.
9. Striganov, A.R., Sventitskii, N.S. (1966), Tables of spectral lines of neutral and ionized atoms [Tablitsy spektralnykh linii nyeitralnykh i ionizovannykh atomov], Atomizdat, Moscow, 899 p.
10. Shafranyosh, I.I., Petrushko, I.A., Slavik, V.M., Sukhoviya, M.I. (2000), "Structural changes of nucleic acid bases under influence of low energetic electrons", ["Strukturni zminy azotystykh osnov nukleyinovykh kyslot, vyklykani nyzkoenerhetychnymy elektronamy"], Scientific Herald of Uzhhorod University. Series Physics [Nauk. Visn. Uzhhorod. Univ. Ser. Fiz.], № 6, pp. 259-263.
11. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Margitich M.O., Shafranyosh I.I. Negative ions formation of the cytosine molecule by electron impact // Biopolym. Cell. – 2005. – V. 21. – №. 6. – pp. 531-535.
12. Stetsovych, V.V., Pavlyuchok-Gogerchak, O.V., Sukhoviya, M.I., Shvab, R.L., Shafranyosh, I.I. (2010), "About radiobiological importance of slow electrons", ["Pro radiobiolohichne znachennia povilnykh elektroniv"], Scientific Herald of Uzhhorod University. Series Biology [Nauk. Visn. Uzhhorod. Univ. Ser. Boil.], № 27, pp. 198-201.

© Ужгородський національний університет