

УДК 535.37:547.672

ВОЗБУЖДЕНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ МОЛЕКУЛ УРАЦИЛА ЭЛЕКТРОННЫМ УДАРОМ

© 2012 г. И. И. Шафраньш, В. В. Стецович, Н. Н. Чаварга, М. И. Суховия

*Ужгородский национальный университет, Ужгород, Украина**E-mail: ivanshafr@gmail.com*

Поступила в редакцию 11.07.2011 г.

Получены спектры люминесценции изолированных молекул урацила в области длин волн 200–500 нм под воздействием медленных электронов. В спектре наблюдаются более 20 спектральных полос и линий. Показано, что спектр излучения урацила формируют процессы диссоциативного возбуждения молекул, диссоциативного возбуждения с ионизацией, возбуждения электронных состояний исходной молекулы и молекулярного иона.

ВВЕДЕНИЕ

Информация о физической структуре молекул необходима для понимания роли первичных физических процессов в обеспечении функционирования биосистем и влияния на них разных факторов окружающей среды. Среди этих факторов особое внимание уделяется естественной и искусственной радиации. Взаимодействие высокоэнергетичной радиации с живыми клетками в основном не приводит прямо к деградации биополимерных молекул, в частности, к разрывам ковалентных связей в первичной структуре нуклеиновых кислот. Эту функцию выполняют вторичные электроны, которые образуются в значительном количестве (4×10^4 электронов на 1 МэВ налетающей высокоэнергетичной частицы) в биовеществе [1]. Большинство вторичных электронов являются низкоэнергетичными (медленными) с энергиями от долей до десятков эВ [1]. Именно с медленными электронами связывают сегодня основную часть деструктивных изменений на молекулярном уровне биоструктур. При этом главной мишенью становятся генетические макромолекулы ДНК и РНК.

В предыдущих исследованиях [2, 3] мы изучали процессы возбуждения молекул оснований нуклеиновых кислот цитозина и тимина в газовой фазе медленными электронами. Настоящее исследование посвящено урацилу.

ЭКСПЕРИМЕНТ

Формирование газовой фазы урацила осуществлялось путем подогрева исследуемого вещества в отдельном металлическом контейнере (рис. 1). Образовавшаяся газовая фаза урацила по паропроводу поступала в ячейку кубической формы объемом $\sim 2 \text{ см}^3$. Температура контейнера с порошком урацила не превышала 350 К. На одной

из внешних граней ячейки монтировалась диафрагма (диаметр отверстия 1.5 мм) для ввода электронного пучка, на ней размещался источник пучка, а на противоположной – приемник пучка электронов (цилиндр Фарадея). Пучок электронов формировался пятиэлектродной пушкой с вольфрамовым катодом. Ячейка помещалась в магнитное поле так, что его силовые линии были параллельными электронному пучку. Калибровка шкалы энергий электронов осуществлялась по значению энергетического порога возбуждения полосы молекулярного азота с $\lambda = 315.9 \text{ нм}$ (электронный переход $X^1\Sigma_g^+ - C^3\Pi_u$ – вторая положительная система) с погрешностью $\pm 0.25 \text{ эВ}$. Индукция магнитного поля составляла $\sim 1.2 \times 10^{-2} \text{ Тл}$. Для вывода излучения из ячейки на ее двух гранях монтировались кварцевые окошки, оптические оси которых перпендикулярны электронному пучку. Для регистрации излучения использовался спектрофотометр, который состоял из дифракционного монохроматора (МДР-23) с обратной линейной дисперсией 1 нм/мм, фотоэлектронного умножителя (ФЭУ-106) и системы регистрации фотосигнала. Для улучшения соотношения сигнал/шум система регистрации работала в режиме подсчета фотоэлектронных импульсов вместе с модулирующей электронного пучка [4].

Эксперименты проводились при следующих условиях: сила тока пучка электронов была в пределах $(3-4) \times 10^{-5} \text{ А}$ при энергетической неоднородности электронов на полувысоте их энергетического распределения $\Delta E_{1/2} \sim 0.5 \text{ эВ}$, степень разрежения в камере, в которой помещалась ячейка, составляла $\sim 1 \times 10^{-5} \text{ Па}$. Для того чтобы избежать конденсации паров урацила на окошках и электродах электронной пушки, ячейка нагревалась до температуры 370 К. Препарат урацила изготов-

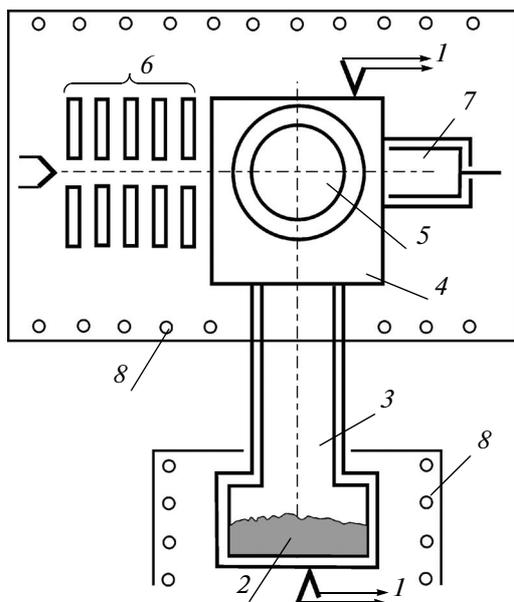


Рис. 1. Схема формирования газовой фазы урацила: 1 – термопара, 2 – исследуемое вещество, 3 – паропровод, 4 – ячейка, 5 – кварцевое окошко, 6 – электронная пушка, 7 – приемник электронов, 8 – нагреватель.

лен фирмой Sigma-Aldrich. Химическая чистота образца составляла 99.9%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе экспериментально были получены спектры фотоэмиссии (люминесценции) урацила под воздействием электронного удара в области длин волн 200–500 нм для разных энергий бом-

Абсолютные величины сечений образования положительных ионов молекул урацила при энергии электронов 95 эВ в единицах 10^{-16} см^2

m/z	ионы	Работа [8]	Работа [7]
112	$\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$	2.7	4.5
96	$\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}$	0.1	
83	$\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_2\text{O}$	0.3	
70	$\text{C}_3\text{H}_4\text{NO}$	0.3	
69	$\text{C}_3\text{H}_3\text{NO}$	1.1	2.3
68	$\text{C}_3\text{H}_2\text{NO}, \text{C}_4\text{H}_4\text{O}$	0.6	
56	$\text{C}_2\text{H}_2\text{NO}, \text{C}_3\text{H}_4\text{O}$	0.2	
42	$\text{CNO}, \text{C}_2\text{H}_2\text{O}, \text{CH}_2\text{N}_2$	1.0	2.0
41	$\text{CHN}_2, \text{C}_2\text{H}_3\text{N}$	0.3	
40	$\text{C}_2\text{H}_2\text{N}, \text{CN}_2$	0.3	
28	CO	0.5	

бардирующих электронов. На рис. 2 приведен фотоэмиссионный спектр урацила при энергии электронов 100 эВ. В спектре четко проявляются молекулярные полосы, максимумы которых находятся при следующих длинах волн: $\lambda_m, \lambda_m = 205.5, 218.5, 241.9, 254.0, 265.3, 277.4, 297.2, 310.0, 317.1, 328.4, 333.5, 344.5, 35.3, 377.1, 387.9, 398.0, 412.3, 421.0, 427.3, 451.1, 486.1 \text{ нм}$. Как видно из рис. 2, практически все полосы имеют сложный характер, что свидетельствует об их суперпозиционной природе. Для сравнения отметим, что при фотовозбуждении поликристаллических пленок и растворов урацила спектр его люминесценции представляет собой плавную широкую полосу в диапазоне длин волн от ~ 300 до $\sim 550 \text{ нм}$ [5, 6].

Осуществить полную корректную идентификацию спектральных полос, исходя из существующей базы литературных данных, довольно сложно. Однако, несмотря на это, нам удалось провести следующий анализ природы происхождения полос в полученном спектре. С этой целью были использованы результаты масс-спектрометрических исследований урацила, данные об интегральном сечении ионизации и сечениях диссоциативной ионизации урацила электронным ударом [7–9], проанализированы фотоэмиссионные спектры соответствующих химических соединений [10–13]. Также нами были рассчитаны уровни электронного возбуждения молекулы урацила.

В работах [7, 8] были определены абсолютные величины полных и парциальных сечений образования положительных ионов урацила (таблица). Полученные данные свидетельствуют о высокой вероятности фрагментации молекулы урацила под воздействием электронного удара. Очевидно, что часть заряженных фрагментов будет находиться в возбужденных состояниях. При этом в первую очередь следует обратить внимание на те фрагменты, парциальные сечения которых наибольшие. Это молекулярный ион – $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2^+$ и фрагменты $\text{CO}^+, \text{CNO}, \text{C}_3\text{H}_3\text{NO}^+, \text{C}_3\text{H}_2\text{NO}^+, \text{C}_4\text{H}_4\text{O}^+$. Кроме того, схема фрагментации урацила предусматривает образование и нейтральных фрагментов, которые также могут находиться в возбужденных состояниях (диссоциативное возбуждение). Прежде всего это фрагменты – CO (при распаде иона $\text{C}_3\text{H}_3\text{NO}^+$), $\text{HNCO}, \text{C}_3\text{H}_3\text{NO}$ (при распаде молекулярного иона $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2^+$) и H (при распаде иона CHNO^+).

Радиационный распад возбужденных состояний заряженных и нейтральных фрагментов проявится в эмиссионном спектре урацила в виде спектральных полос и линий. Так, полоса с максимумом при длине волны $\lambda = 205.5 \text{ нм}$, очевидно, является суперпозицией нескольких эмиссионных полос, принадлежащих иону CO^+ (первая

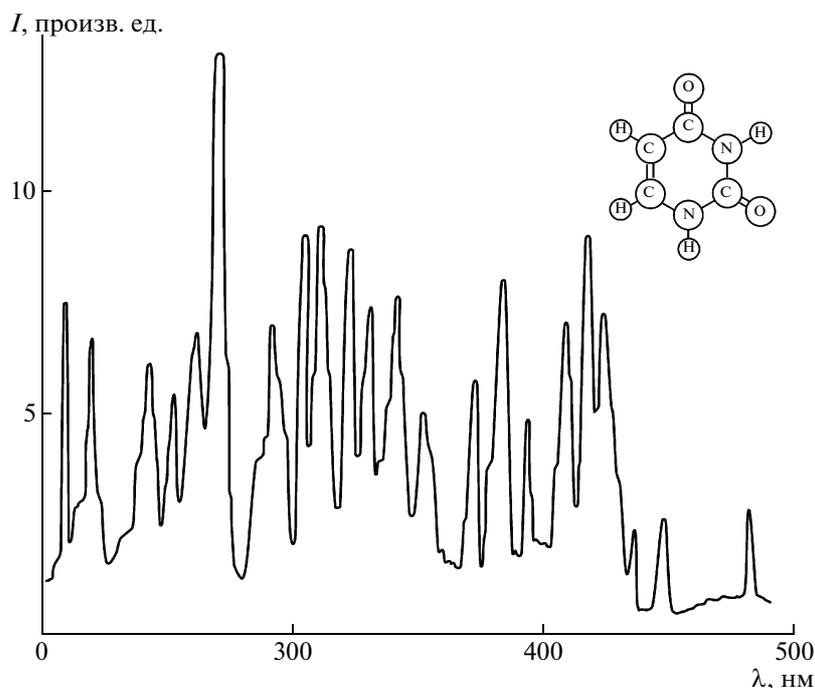


Рис. 2. Спектр люминесценции молекул урацила при энергии возбуждающих электронов 100 эВ.

отрицательная система, электронный переход $B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+$, $\lambda_m \lambda_M = 206.8, 206.1, 204.2$ нм). Полоса с максимумом при длине волны $\lambda = 218.5$ нм является суперпозицией нескольких эмиссий: молекулы CO (четвертая положительная система, переход $A^1\Pi \rightarrow X^1\Sigma^+$, $\lambda = 217$ нм) и иона CO^+ (первая отрицательная система, электронный переход $B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+$, $\lambda = 241.9$ нм) [14]. В полосах с максимумами при длинах волн $\lambda = 256.4$ и 297.2 нм присутствуют полосы нейтрального фрагмента CO (третья положительная система, переход $A^1\Pi \rightarrow X^1\Sigma^+$, $\lambda = 256.2, 297.3$ нм). Полоса с максимумом при длине волны $\lambda = 265.3$ нм, очевидно, есть суперпозиция двух эмиссионных линий иона CO^+ (первая отрицательная система, электронный переход $B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+$, $\lambda_m \lambda_M = 267.2, 263.9$ нм).

Отдельного внимания заслуживает наиболее интенсивная в спектре полоса с максимумом при длине волны $\lambda = 275$ нм. Мы полагаем, что ее появление связано с радиационным распадом первого возбужденного электронно-колебательного состояния молекулярного иона урацила в его основное состояние. Подтверждением этому являются следующие факторы. Во-первых, как показывает таблица, сечение образования молекулярных ионов наибольшее. Логично будет ожидать, что и сечения образования молекулярных ионов в возбужденных состояниях, в первую очередь наиболее низко расположенных, будут большими, чем сечения образования других заряженных фрагментов в возбужденных состояниях. Этот

фактор объясняет наибольшую интенсивность в спектре полосы с максимумом при длине волны $\lambda = 275$ нм. Во-вторых, в фотоэлектронном спектре урацила, который приведен в работе [15], обнаружен интенсивный пик при энергии ~ 14 эВ. Если сложить энергию спектрального перехода (для $\lambda = 275$ нм) с энергией ионизации урацила, которая, согласно работе [8], составляет 9.4 ± 0.2 эВ, то получим величину ~ 13.9 эВ, которая практически совпадает с энергетическим положением пика в фотоэлектронном спектре. Таким образом, можно предположить, что в молекулярном ионе урацила существует возбужденное электронно-колебательное состояние при энергии ~ 13.9 эВ, с которого возможен радиационный переход в основное состояние иона.

Полоса $\lambda = 317.1$ нм может быть излучена пиримидиновым кольцом (переходы $A-X$). В формирование полосы $\lambda = 328.4$ нм вносят вклад эмиссии фрагментов CN^+ (переходы $c^1\Sigma - a^1\Sigma$) и NCN (переход ${}^3\Pi_u - {}^3\Sigma_g$). Полосу с максимумом при $\lambda = 333.5$ нм излучает группа NCN переход (${}^3\Pi_u - {}^3\Sigma_g$), а полосы с максимумами при $\lambda = 344.5, 357.3$ нм принадлежат группе $HNCN$ (переходы $A-X$). В полосах с максимумами при $\lambda = 377.1, 388.3$ нм проявляется излучение нейтрального фрагмента CO кометной системы (379.6 нм) и системы Герцберга (389.3 нм). В формировании полосы $\lambda = 411.5$ нм принимают участие фрагменты CO (переходы в системе Герцберга, 412.5) и водород (H_δ 410.1 нм). Интенсивная линия при $\lambda =$

= 421.0 нм принадлежит фрагменту CN^+ (переход $A - X$, $\lambda = 421.0$ нм). Излучение нейтрального фрагмента CO проявляется в полосе с длиной волны 427,3 нм (кометная система $\lambda = 427.3$ нм), а также в полосе с длиной волны 451,1 нм (система Ангстрема $\lambda = 451.0$ нм). Возбуждение вышеуказанных полос CO и CO^+ электронным ударом подробно изучались в работе [14]. Результаты этих исследований были нами приняты как особо важные при идентификации спектра урацила.

Для отдельных полос спектра возможен вклад линий атома водорода серии Бальмера. В частности, это полосы с максимумами при $\lambda = 398.4$ нм ($H_\epsilon = 397.07$ нм), $\lambda = 412.3$ нм ($H_\delta = 410.1$ нм), $\lambda = 427.3$ нм ($H_\gamma = 434.05$ нм). Особенно четко наблюдается эмиссионная линия H_β атома водорода при $\lambda = 486.1$ нм.

Как видно из рис. 1, в области длин волн 300–440 нм прослеживаются две широкие молекулярные полосы, которые частично перекрываются и являются подложкой (фоном) для узких полос. Первую из этих полос мы отождествляем с излучением синглетного состояния молекулы урацила, а вторую – триплетного состояния этой же молекулы. Такая интерпретация не противоречит нашим расчетам, которые были выполнены с помощью полуэмпирического метода AM1 пакета программ HyperChem 8.0. Так, один из колебательных уровней 1-го синглетного состояния S_1 молекулы урацила будет иметь энергию 4,1 эВ, а длина волны спектрального перехода из этого состояния в основное соответствует 301.5 нм. Для триплетного состояния наши расчеты дают значение энергии 2,8 эВ, что соответствует переходу на длине волны $\lambda = 442.2$ нм. Следует отметить, что при фотовозбуждении поликристаллических пленок урацила на широкой полосе его люминесценции проявляются два максимума при длинах волн ~350 и ~420 нм [5, 6].

Для более точной и подробной интерпретации полученных данных необходимо экспериментально исследовать функции возбуждения соответствующих спектральных полос и их энергетические пороги. Такие задачи имеются в планах наших дальнейших исследований.

Таким образом, подводя итоги приведенного выше анализа природы и причин возникновения сложного фотоэмиссионного спектра молекул урацила, возбуждаемых электронами низких энергий, можно сказать следующее. Спектр излучения урацила, инициированный электронным ударом в данной области энергий, возникает вследствие различных процессов. Во-первых, это спектральные переходы между электронно-колебательно-вращательными состояниями исходной молекулы урацила и ее молекулярного иона. При этом обращаем внимание на то, что для такой многоатомной молекулы наиболее вероятными будут лишь переходы

из нижних синглетных и триплетных состояний в основное состояние. Это же касается и молекулярного иона. Во-вторых, это спектральные переходы между электронно-колебательно-вращательными состояниями фрагментов молекул, которые образовались под воздействием электронного удара (процессы диссоциативного возбуждения и процессы диссоциативной ионизации с возбуждением).

Следует подчеркнуть, что эти результаты получены нами для молекулярного объекта, который имеет исключительное биологическое значение. Урацил вместе с другими азотистыми основаниями (тиминном, аденином, цитозином и гуанином) является важной составляющей генетических макромолекул нуклеиновых кислот. Ионизация и фрагментация молекул нуклеотидных оснований будут приводить к химическим изменениям структуры РНК и ДНК. Вследствие этого даже при незначительных энергиях электронов в живых клетках будут инициироваться необратимые деградиационные и мутагенные процессы.

ВЫВОДЫ

Взаимодействие медленных электронов с молекулами урацила в газовом состоянии сопровождается возникновением в диапазоне 200–490 нм эмиссионного спектра сложной формы, что свидетельствует об интенсивной фрагментации молекул. Спектр излучения урацила формируют процессы диссоциативного возбуждения молекул, диссоциативного возбуждения с ионизацией, возбуждения электронных уровней исходной молекулы и молекулярного иона. Полученные данные могут быть использованы для оценки радиационных изменений в молекулах ДНК и РНК при внутреннем β -облучении биообъектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cobut V., Frongillo Y, Patau J.P., Goulet T., Fraser M.J., Jay-Gerin J.P. // *Radiat. Phys. Chem.* 1998. V. 51. P. 229–243.
2. Суховия М.И., Славик В.Н., Шафраньош И.И., Шимон Л.Л. // *Биополимеры и клетка.* 1991. Т. 7. № 6. С. 77–82.
3. Шафраньош И.И., Суховия М.И. // *Опт. и спектр.* 2007. Т. 102. № 4. С. 553–555.
4. Shafranyosh I.I., Snegurskaya T.A., Margitich N.A., Bogacheva S.P., Lengyel V.I., Zatsarinny O.I. // *J. Phys. B.* 1997. V. 30. P. 2261–2285.
5. Виноградов И.П., Земских В.В., Додонова Н.Я. // *Опт. и спектр.* 1974. Т. 36. В. 3. С. 596–599.
6. Малкин В.М., Панопорт В.Л. // *Биофизика.* 1999. Т. 44. В. 6. С. 1027–1030.
7. Feil S., Gluch K., Matt-Leuber S., Scheier P., Limtrakul J., Probst M., Deutsh H., Becker K., Stamatovic A., Mark T.D. // *J. Phys. B.* 2004. V. 37. P. 3013–3020.

8. *Шафраньош М.И.* // Науковий вісник Ужгородського університету. Сер. Фізика. 2009. В. 25. С. 208–213.
9. *Shafranyosh M.I., Sukhoviya I.I., Shafranyosh I.A., Petrushko V.V., Medulych R.O., Fedorko A.*, Freiburg (Germany): XXV ICPEAC, Book of Abstr. 2007. P. Fr 110.
10. NIST Standard Reference Database. Webpage (<http://webbook.nist.gov/chemistry>). National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Spectral Database for Organic Compounds (SDBS). Webpage (http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi).
11. *Хюбер К.-П., Герцберг Г.* Константы двухатомных молекул. М.: Мир, 1984. 366 с.
12. *Герцберг Г.* Электронные спектры и строение многоатомных молекул. М.: Мир, 1969. 772 с.
13. *Pearse R.W., Gaydon A.G.* The Identification of Molecular Spectra. London: Chapman, 1963. 562 p.
14. *Скубенич В.В., Повч М.М., Запесочный И.П.* // VII Всес. конф. по физике электронных и атомных столкновений. Тез. докл. Ч. 1. Петрозаводск, 1978. С. 102.
15. *Johims H-W., Schwel M., Baumgärtel H., Leach S.* // Chem. Phys. 2005. 215. P. 263–283.