

ДІЯ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

УДК 541.124

ОТЖИГ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ В γ -ОБЛУЧЕННЫХ КРИСТАЛЛАХ АМИНОКИСЛОТ**О.Т. Николов***Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, 61077, Харьков, Украина*

Поступила в редакцию 20 октября 2003 г.

В работе методом ЭПР исследованы процессы отжига свободных радикалов (СР) в γ -облученных кристаллах аминокислот. Предложен механизм гибели радиационных СР, основанный на диффузии фрагментарных радиационных вакансий или междоузельных фрагментов. Реакция рекомбинации СР является вторичной причиной радиационного разрушения кристалла, следствием диффузии радиационных вакансий или фрагментов внедрения. Кислород воздуха не играет существенной роли в процессах гибели СР в кристаллах аминокислот.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ЭПР, диффузия, радиационная вакансия, отжиг, свободные радикалы

Хорошо известно, что действие ионизирующего излучения на молекулярные кристаллы приводит к образованию вторичных электронов, ионизации и возбуждению молекул, образованию и стабилизации в матрице кристаллов радиационных свободных радикалов (СР), которые являются основной причиной радиационного разрушения молекулярных кристаллов.

Процессы, происходящие при отжиге радиационных СР в ряде органических веществ исследовались ранее [1, 2]. В кристаллах аминокислот этот процесс систематически не исследован, несмотря на то, что данная проблема представляет значительный интерес для радиационной биофизики и молекулярной физики.

Не исследованы также механизмы стабилизации и гибели СР в указанных кристаллах. Стабилизирующие свойства кристаллической матрицы по отношению к радиационным дефектам, прежде всего, должны проявляться в особенностях их диффузии в решетке кристалла. Возможность диффузионной подвижности СР в молекулярных кристаллах обсуждалась ранее [3], однако для случая молекулярных кристаллов аминокислот прямых экспериментальных доказательств диффузии радикалов при отжиге не было. Были попытки [2] формального описания процесса отжига уравнениями, учитывающими диффузионные эффекты, причем исследования в основном касались участков наиболее активного спада кривых отжига, где влияние диффузии, по-видимому, незначительно.

Данная работа посвящена исследованию методом ЭПР процесса отжига радиационных СР, стабильных при температурах 300 К и выше, в γ -облученных молекулярных кристаллах аминокислот. Исследовано влияние дозы облучения, температуры и времени отжига, кислорода воздуха, линейных размеров, типа и качества кристаллов на процесс отжига СР. Экспериментально показано, что при отжиге СР имеет место их диффузия. Предложен механизм гибели радиационных СР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для экспериментального исследования зависимости скорости гибели СР от дозы облучения и температуры отжига выбирались мелкие ($l < 0,25$ мм) и крупные ($l = 2-5$ мм) монокристаллы глицина, валина, гистидина HCl, серина, α -аланина, триглицинсульфата, и некоторых других аминокислот. Эти вещества являются удобным объектом исследования, поскольку структура их радиационных СР, кристаллографические данные веществ и другие их физические свойства хорошо изучены [4-8].

Образцы облучались при комнатной температуре в диапазоне доз облучения $5 \cdot 10^5 - 10^9$ р (интенсивность облучения $(4-6) \cdot 10^3$ р/мин) и отжигались главным образом в атмосфере воздуха, аргона или этипаянных ампулах при температурах $70-180$ °С ($0,6-0,9 T_{пл}$). После облучения дозами $\leq 5 \cdot 10^5 - 10^7$ р и отжига образцы оставались по данным рентгеноструктурного анализа совершенными монокристаллами; при дозах облучения больше $5 \cdot 10^8$ р кристаллы становились хрупкими и текстурированными.

Измерения были выполнены на спектрометре с ВЧ модуляцией магнитного поля ($\nu = 9,3$ ГГц). Регистрация спектров ЭПР проводилась главным образом, при комнатной температуре в атмосфере воздуха. В процессе экспериментов снимались различные наборы изотермических кривых отжига.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На кривых отжига СР в кристаллах аминокислот в общем виде можно увидеть три характерных участка, обусловленных различными этапами отжига. При определенных условиях экспериментов

можно отдельно наблюдать каждый из этих участков. Это начальные почти горизонтальные участки замедленного отжига СР, участки активного отжига СР и участки резкого торможения процессов отжига СР, наблюдаемые при достаточно больших температурах и временах отжига.

Начальные участки отжига СР характерны тем, что в этой области отжига убывь СР практически не имеет места. Экспериментально они наблюдались в больших и мелких монокристаллах валина, серина, гистидина $\cdot\text{HCl}$ и триглицинсульфата в диапазоне доз облучения $\leq 10^7$ р и температуре отжига $\approx 0,6-0,7 \cdot T_{\text{пл}}$ (рис. 1-4).

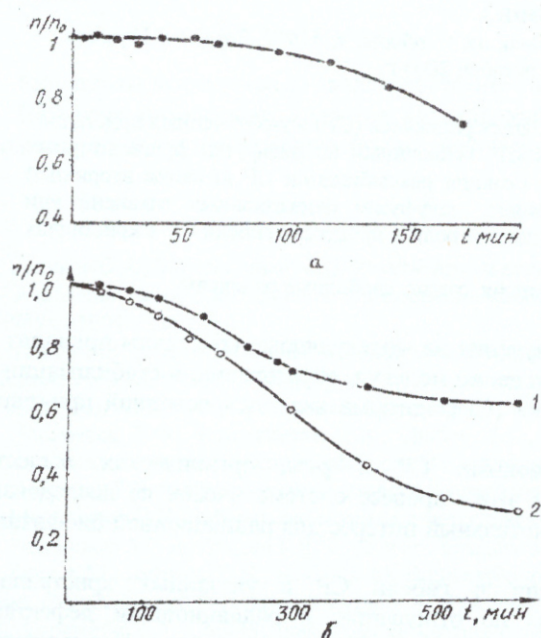


Рис. 1 Начальные участки кривых отжига СР: а) крупный (6,5·2,2·0,5 мм) монокристалл DL-валина, доза облучения 10^7 р, температура отжига 130 °С; б) мелкие ($\leq 0,25$ мм) монокристаллы триглицинсульфата; температура отжига 130 °С, дозы облучения 10^6 р - 1, 10^7 р - 2.

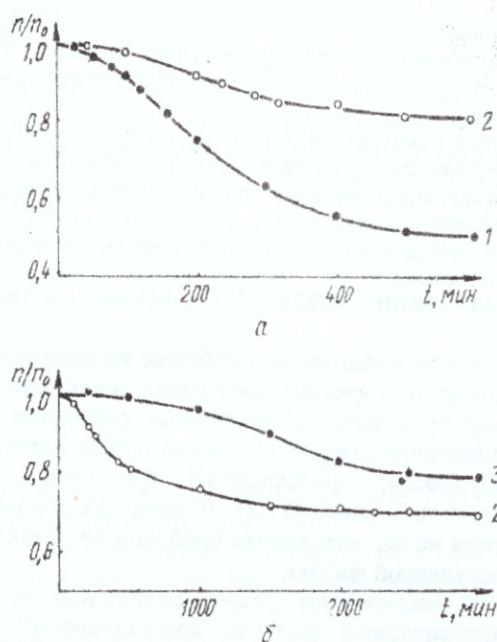


Рис. 2 Начальные участки кривых отжига СР в крупных монокристаллах DL-гистидина $\cdot\text{HCl}$, доза облучения $3 \cdot 10^6$ р: а) температура отжига 130 °С - 1, 150° - 2; б) температура отжига 150° - 2, 100 °С - 3.

Ход активных участков кривых отжига вплоть до их выхода на ступеньку лучше всего может быть описан уравнением двух параллельных процессов кинетики первого и второго порядков. Вклад процессов первого порядка уменьшается с увеличением дозы облучения, температуры отжига и при дозах облучения $\geq 10^8$ р кривая практически описывается уравнением второго порядка. В области участков резкого торможения процесса отжига СР имеет место кинетическая остановка этого процесса.

Характер кривых отжига СР зависит от линейных размеров (0,25-3 мм) монокристаллов. Кривые отжига крупных (3 мм) монокристаллов имеют начальные участки замедленного отжига СР. С уменьшением линейных размеров кристаллов протяжённость начальных участков уменьшается и у мелких образцов (0,25 мм) последние практически отсутствуют. Отжиг СР на активном участке кривых у крупных монокристаллов происходит с меньшей скоростью (рис. 5). Следует отметить, что зависимость скорости отжига от линейных размеров оказывается существенной только для образцов облученных дозами $\leq 10^7$ р, поскольку кривые отжига мелких и больших монокристаллов исследованных аминокислот, например, DL-гистидина $\cdot\text{HCl}$, облученных дозой $\geq 5 \cdot 10^8$ р, наложились друг на друга в пределах погрешностей измерений. У этих кривых отсутствует и начальный участок замедленного отжига СР.

Зависимость скорости отжига СР от линейных размеров кристаллов можно объяснить определяющим влиянием на процесс гибели СР диффузии радикалов на поверхность кристаллов, поскольку в совершенных реальных кристаллах дефекты решётки, на которых радикалы рекомбинируют, имеют малые размеры, плотность их не велика. Поэтому с увеличением линейных размеров кристаллов увеличивается время диффузии СР и уменьшается скорость их гибели.

Кривые отжига СР реальных монокристаллов с одинаковыми линейными размерами зависят также и от качества монокристаллов.

Кривые отжига совершенных монокристаллов (рис. 4) имеют начальный участок замедленного отжига СР. На кривых отжига несовершенных кристаллов начальный участок замедленного отжига СР

практически отсутствует. Отсутствие начального горизонтального участка на кривых отжига несовершенных кристаллов указывает на то, что путь диффузионного пробега СР до гибели в таких кристаллах мал, а гибель СР преимущественно происходит в областях дефектов решётки, плотность которых в несовершенных кристаллах значительна. Замедление скорости отжига СР на активном участке кривой у таких монокристаллов можно объяснить тем, что концентрация СР, а, следовательно, и скорость их рекомбинации в областях дефектов решётки у этих кристаллов меньше. Общее число СР, которые образуются при облучении, одинаковое у совершенных и блочных монокристаллов, но плотность дефектов структуры, на которых СР накапливаются, у блочных больше.

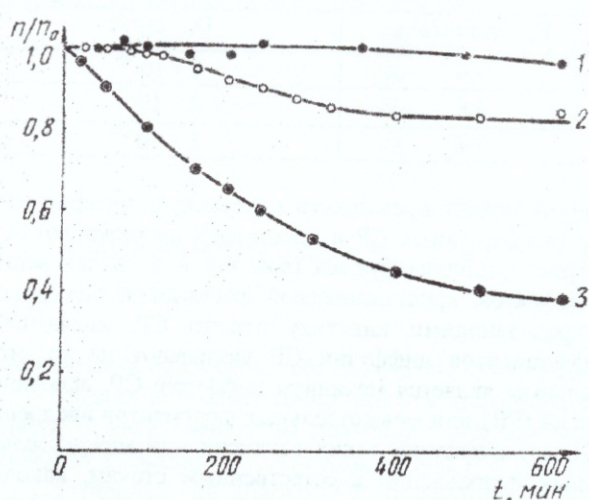


Рис. 3. Начальные участки кривых отжига СР в мелких ($0,25 \geq l \geq 1,0$ мм) монокристаллах DL-гистидина-HCl, доза облучения $5 \cdot 10^5$ р, температура отжига 100°C - 1, 115°C - 2, 130°C - 3.

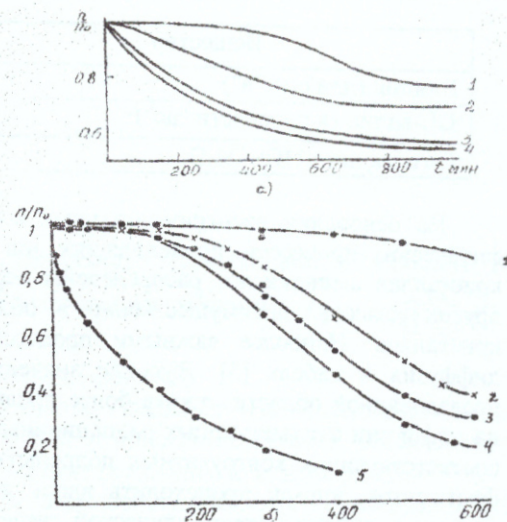


Рис. 4. Начальные участки кривых отжига СР: а) DL-серин, 1 - 10^6 р, 2 - 10^7 р, 3 - 10^8 р, 4 - 10^{10} р при 80°C ; б) DL-гистидин-HCl, 1 - 10^8 р при 100°C , 2 - 10^7 р, 3 - $5 \cdot 10^7$ р, 4 - 10^8 р, 5 - 10^9 р при 130°C .

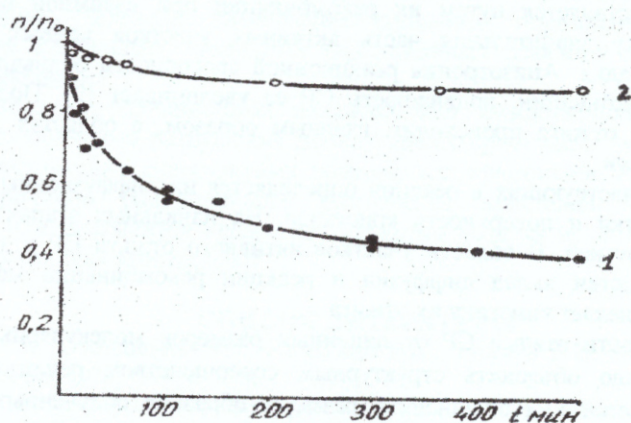


Рис. 5. Кривые отжига СР в DL-серине, доза облучения $7 \cdot 10^6$ р, температура отжига 100°C , 1 - мелкие ($\leq 0,25$ мм) монокристаллы, 2 - крупные (≈ 2 мм) монокристаллы.

Кислород воздуха существенного влияния на процессы отжига СР в кристаллах аминокислот не оказывает, поскольку кривые отжига мелких кристаллических образцов, отжигаемых в атмосфере воздуха, аргона и в вакуумированных ампулах совпали. Этот факт можно объяснить совершенством кристаллической решетки образцов, плотной упаковкой молекул аминокислот, большими размерами молекул кислорода и радикалов. Поэтому диффузия молекул кислорода вглубь образца и их взаимодействие там с радикалами представляются маловероятными.

ЭПР спектры исследованных аминокислот известны [5-8], отметим лишь, что величины сверхтонких расщеплений, соотношение их интенсивностей и ширины отдельных компонент практически не зависят от дозы облучения, температуры и времени отжига. При понижении температуры регистрации образцов до 77 K заметных изменений спектров не наблюдается.

Отжиг свободных радикалов в γ -облученных кристаллах аминокислот

Локальная концентрация СР, полученная из значений ширины СТ компонент спектров ЭПР и средняя концентрация СР, полученная из измерений площадей под кривыми поглощения, могут различаться в зависимости от дозы облучения, температуры и времени отжига в несколько раз, что свидетельствует о неравномерном распределении радикалов.

Экспериментально обнаружена и измерена в γ -облученных монокристаллах глицина, DL-валина и DL-гистидина HCl диффузия СР, которая анизотропна и происходит вдоль определенных направлений. Измерены диффузионно-кинетические характеристики СР в указанных монокристаллах. Результаты измерений приведены в таблице 1.

Таблица 1

Вещество	E_d , ккал/моль	D_0 , см ² /с
Глицин (для оси "в")	9,6	$2 \cdot 10^{-3}$
DL-валин (в плоскости "ac")	8,4	$2 \cdot 10^{-4}$
L-гистидин · HCl · H ₂ O	7,8	$1 \cdot 10^{-3}$

На основании экспериментальных исследований можно предложить следующую интерпретацию физических процессов, происходящих при отжиге радиационных СР в кристаллах аминокислот. СР в кристаллах аминокислот распределены неравномерно. Стабилизируются они, как и в случае веществ других классов, преимущественно в областях дефектов кристаллической решетки и поверхности кристаллов. Наиболее важными процессами, определяющими кинетику отжига СР, являются их диффузия и гибель [3]. Высокие значения коэффициентов диффузии СР указывают на то, что в исследованной области отжига более предпочтительным является механизм диффузии СР, основанный на диффузии фрагментарных радиационных вакансий (РВ) или междоузельных фрагментов внедрения в соответствующих конгруэнтных подрешетках. Процесс диффузии таких вакансий или междоузельных фрагментов должен происходить вдоль выделенных направлений к естественным стокам, каковыми являются дефекты кристаллической решетки и поверхность образца. Дефекты решетки в реальных совершенных кристаллах имеют малые размеры и плотность, и остается принципиальная возможность для диффузии некоторой части РВ на поверхность кристалла. Поэтому диффузионный путь пробега до гибели для некоторой части СР, а, следовательно, и скорость их гибели будут зависеть от линейных размеров монокристаллов; с их увеличением она уменьшается. Разориентация молекул в дефектных областях кристаллов приводит к тому, что эти области являются также областями торможения и захвата радикалов, в которых СР накапливаются в результате диффузии и гибнут.

Гибель СР осуществляется путем их рекомбинации при взаимной встрече по схеме реакции димеризации, поскольку значительная часть активных участков кривых отжига СР описывается процессом второго порядка. Анизотропия реакционной способности радикалов существенно понижает скорость реакции рекомбинации, подвижность СР ее увеличивает [9]. Поэтому рекомбинация СР в исследованной области отжига происходит, главным образом, в областях дефектов кристаллической решетки и на поверхности.

Количество СР, участвующих в реакции определяется их диффузионным потоком РВ на дефекты кристаллической решетки и поверхность кристалла. На начальных этапах отжига гибель радикалов лимитируется их диффузией. В области участков активного отжига СР в зависимости от температур отжига и свойств решетки вклад диффузии и реакции рекомбинации может быть различным, но последняя обычно определяет кинетику их отжига.

Зависимость скорости отжига СР от линейных размеров молекулярных кристаллов облученных дозами $\leq 10^7$ р можно объяснить структурным совершенством решетки кристаллов. Отсутствие зависимости скорости отжига СР от линейных размеров образцов, облученных дозами $\geq 5 \cdot 10^8$ р, является результатом значительного (по данным рентгеноструктурного анализа) радиационного разрушения кристаллической решетки исследованных аминокислот. Совершенные монокристаллы, облученные такими дозами, теряют прозрачность, становятся хрупкими и текстурированными. Плотность дефектов решетки в кристаллах различных размеров увеличивается настолько, что диффузия СР на поверхность практически отсутствует. Это приводит к тому, что параметры отжига СР перестают зависеть от линейных размеров образцов.

Следует отметить, что ЭПР спектры облученных текстурированных кристаллов после их отжига и повторного облучения дозой $3 \cdot 10^6$ р совпадают со спектрами совершенных монокристаллов, облученных такой же дозой, что может указывать на то, что даже после облучения дозами $5 \cdot 10^8$ р и отжига монокристаллов разрушается их незначительная часть.

Процесс рекомбинации СР приводит к уменьшению средней концентрации СР, образованию в областях дефектов решетки продуктов радиационно-химических реакций, плотность которых постепенно с ростом дозы облучения, температуры и времени облучения увеличивается. Качество кристалла при этом ухудшается. В области температур отжига и доз облучения, соответствующих этапу

резкого торможения процессов отжига СР плотность продуктов радиационно-химических реакций велика, что препятствует диффузии СР.

Для интерпретации экспериментальных данных по отжигу СР в реальных совершенных кристаллах аминокислот предложена модель, учитывающая диффузию РВ в решетке кристалла и рекомбинацию СР на дефектах структуры и внешней поверхности. Дефекты решетки имеют малые размеры (области v_j) и плотность, диффузия РВ происходит на дефекты решетки и внешнюю поверхность кристалла. В областях дефектов структуры и внешней поверхности происходит рекомбинация СР, константы которой определяются диффузионным потоком РВ. Предполагаем, что стоки РВ являются ненасыщаемыми. Диффузией РВ внутри областей v_j пренебрегаем вследствие их малых размеров. Подобная модель описывается следующей системой уравнений:

$$\begin{aligned}\frac{\partial C}{\partial t} &= D \cdot \Delta C \quad \text{в области } V, \\ \frac{\partial N}{\partial t} &= \frac{M}{b} - k \cdot N^2 \quad \text{в области } \sigma, \\ \frac{\partial N_{v_j}}{\partial t} &= -k \cdot N_{v_j}^2 \quad \text{в области } v_j,\end{aligned}$$

где C – концентрация СР в области V ; $D = \text{const}$ – коэффициент диффузии, N – концентрация СР в области σ ; N_{v_j} – концентрация СР в области v_j , k – константа скорости реакции рекомбинации; $M = -D \iint_s \frac{\partial C}{\partial n} dS$ –

диффузионный поток СР из объема V в σ , S – граница между областями V и σ .

Модель позволяет точно описать экспериментальные кривые гибели СР. По экспериментальным кривым отжига вычислены значения коэффициентов диффузии и констант скоростей рекомбинации радикалов в кристаллах DL-гистидина-HCl и валина, которые оказались близки к измеренным.

Полученные по отжигу СР результаты в кристаллах аминокислот видимо, справедливы для молекулярных кристаллов различной природы, имеющие большие размеры, для кристаллов биополимеров и биологических структур. Есть основания полагать, что в организме происходят аналогичные процессы, но протекают там они очень быстро и экспериментально наблюдается только конечный результат в виде радиационного поражения организма.

ВЫВОДЫ

Действие ИИ на молекулярные кристаллы аминокислот в нормальных условиях приводит к ионизации и возбуждению молекул, химическим реакциям, образованию и стабилизации в кристаллической решетке стабильных вторичных радиационных дефектов типа СР, фрагментарных вакансий и фрагментов внедрения.

Диффузия фрагментарных радиационных вакансий или междоузельных фрагментов является первичной причиной радиационного разрушения молекулярных кристаллов аминокислот. Диффузия их осуществляется в соответствующих конгруэнтных подрешетках кристаллов. Реакция рекомбинации СР является вторичной причиной радиационного разрушения кристалла, следствием диффузии радиационных вакансий или фрагментов внедрения. Кислород воздуха не играет существенной роли в процессах гибели СР в кристаллах аминокислот.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пшежецкий С.Я., Котов А.Г., Милинчук В.К., Рогинский В.А., Тушиков В.И. ЭПР свободных радикалов в радиационной химии. М., Химия, 1972, - 480 с.
2. Николов О.Т., Гаташ С.В., Сердюк А.Д. //Укр. физ. журн., 1980, №10, с. 1604-1610.
3. Михайлов А.И., Большаков А.И., Лебедев Я.С., Гольданский В.И. //ФТТ, 1972, №4, с. 1172-1179.
4. Каюшкин Л.П., Львов К.М., Пулатова М.К. Исследование парамагнитных центров облученных белков. М., Наука, 1970, - 264 с.
5. Гурская Г.В. Структура аминокислот. М., Наука, 1966, - 160 с.
6. Комарь И.Н., Николов О.Т. Майер И. //Теоретическая и экспериментальная химия, 1970, Т. 6, № 4, с. 561-566.
7. Ландар С.В., Комарь И.М., Николов О.Т. // 36. Радіоспектроскопія молекулярних кристалах і клітин. Харків, Вища школа, 1973, с. 29-38.
8. Комарь И.М., Николов О.Т. //Вісник ХДУ, Т. 2, № 92, Радіофізика, Харків, Вища школа, 1973, с. 89-90.
9. Салихов К.М. //ТЭХ, 1977, 13, № 6, с. 731-739.