МІНІСТЕРСТВО ОСІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н.КАРАЗІНА

НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ

КОМП'ЮТЕРНОЇ ФІЗИКИ ТА ЕНЕРГЕТИКИ

Кафедра теплофізики, молекулярної фізики та енергоефективності

ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА

до дипломної роботи
за освітньо-професійним рівнем «бакалавр»

ТЕМА

Коливальні ІЧ-Фур'є спектри молекул піримідинових нуклеозидів в низькотемпературних інертних матрицях Ar і композитних плівках з оксидом графену

Виконав студент 4 курсу, групи НФ-42

Ковальов В.Р.

Напрям підготовки: 105 - прикладна фізика та наноматеріали: прикладна фізика енергетичних систем

Керівник: д. ф-м. н., с. н. с. Чаговець В. К.

Консультант: к. ф-м. н., с. н. с. Іванов О. Ю.

Рецензент _____
(науковий ступінь, прізвище та ініціали)

Харків – 2020

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна

Навчально-науковий інститут комп'ютерної фізики та енергетики
Кафедра теплофізики, молекулярної фізики та енергоефективності
Рівень вищої освіти (освітньо-кваліфікаційний рівень) бакалавр
Напрям підготовки: 105 - прикладна фізика та наноматеріали: прикладна фізика енергетичних систем

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ Ю.М. Мацевитий
підпис ініціали, прізвище

"____" _____20___року

З А В Д А Н Н Я
НА ДИПЛОМНУ РОБОТУ (ПРОЕКТ)

_____Ковальов Валентин Романович _____
(прізвище, ім'я, по батькові студента)

1. Тема роботи «Коливальні ІЧ-Фур'є спектри молекул піримідинових нуклеозидів в низькотемпературних інертних матрицях Ar і композитних плівках з оксидом графену».
керівник роботи Чаговець Валерій Костянтинович, д. ф. м. н., с. н. с.,_____
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом по університету від "___"_____20__року №___

2. Строк подання студентом роботи_____
3. Перелік питань, які потрібно розробити:
Освоїти методи дослідження коливальних ІЧ-Фур'є спектрів молекул, ізольованих у низькотемпературних інертних матрицях. .
Отримати ІЧ-Фур'є спектри низки нуклеозидів, ізольованих у низькотемпературних Ar матрицях, а також у композитних плівках з оксидом графену.
Провести розрахунки коливальних спектрів для деяких молекул та їх комплексів. Зробити аналіз експериментальних ІЧ-Фур'є спектрів, та встановити особливості структури досліджених молекул.

Реферат

Ковальов Валентин Романович «Коливальні ІЧ-Фур'є спектри молекул піримідинових нуклеозидів в низькотемпературних інертних матрицях Ar і композитних плівках з оксидом графену» (випускна робота «бакалавра»). – Харків: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2020. –67с.

Робота складається з вступу, трьох розділів, висновків; містить 24 рисунків, 2 таблиці, список використаних джерел з 45 найменування.

Проаналізовано способи отримання спектрів органічних молекул з використанням низьких температур. Представлено метод Фур'є-спектроскопії для дослідження спектрів. Досліджена молекулярна структура та особливості коливальних спектрів піримідинових нуклеозидів в ізольованому стані та в композитних плівках оксиду графену. Проаналізовано можливість створення стабільних композитних структур з нуклеозидів і графену, які можуть бути використані для подальших досліджень у нанофізиці і наномедицині.

Ключові слова: Фур'є-спектроскопія, нуклеозид, спектр, оксид графену, частота.

Report

Kovalev Valentin Romanovich «Vibrational IR-Fourier spectra of pyrimidine nucleoside molecules in low-temperature inert Ar matrices and composite films with graphene oxide» (bachelor graduation work). – Karazin Kharkiv National University 2020 - 67c.

The work consists of an introduction, three chapters, conclusions; 24 contains drawings, 2 tables, list of sources of 45 items.

Methods for obtaining spectra of organic molecules using low temperatures are analyzed. The method of Fourier spectroscopy for the study of spectra is presented. The molecular structure and features of the vibrational spectra of pyrimidine nucleosides in an isolated state and in composite films of graphene oxide are studied. The possibility of creating stable composite structures with nucleosides and graphene, which can be used for further research in Nanophysics and nanomedicine, is analyzed.

Keywords: Fourier spectroscopy, nucleoside, spectrum, graphene oxide, frequency.

Перелік скорочень та абревіатур

ЯМР – ядерно магнітний резонанс

ІЧ – інфрачервоний випромінювання

УФ – ультрафіолетове випромінювання

СВЧ – мікрохвильове випромінювання

АЦП – аналого-цифровий перетворювач

ДПФ – дискретне Фур’є перетворення

ЗМІСТ

ВСТУП **8**

РОЗДІЛ 1. МЕТОДИ СПЕКТРОСКОПІЇ МОЛЕКУЛ **11**

1.1. Методи дослідження біомолекул та їх порівняння 11

1.2. Метод спектроскопії біомолекул, ізольованих всередині нанокапель гелію 15

1.3. Спектроскопія внутрішньо резонаторного затухання 16

1.4. Спектроскопія двох - та багатофотонного поглинання 18

1.5. Спектроскопія подвійного резонансу 20

1.6. Спектроскопія випалювання провалів 21

1.7. Резонанс двохфотонної іонізації та ІЧ-УФ двохрезонансна спектроскопія 22

РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТУ І РОЗРАХУНКУ **24**

2.1. Введення у Фур'є спектроскопію 24

2.2. Фізичні основи спектроскопії з перетворенням Фур'є 25

2.3. Реєстрація спектрів 31

2.4.Переваги та особливості спектроскопії з перетворенням Фур'є 34

2.5. Опис методу матричної ізоляції 37

2.6. Опис експериментальної установки 39

2.7. Основні параметри проведення експерименту 43

2.8. Методика квантово-механічних розрахунків 44

РОЗДІЛ 3. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ЕКСПЕРИМЕНТУ **46**

3.1. Структури dU в ізольованому стані 46

3.2. Структури 5BDU в ізольованому стані 52

3.3. Біокомпозитні плівки з оксидом графена (GO) 55

3.3.1. Особливості створення біокомпозитних плівок 55

3.3.2. Модельні структури та спектри біокомпозитних плівок 5BrU/GO 56

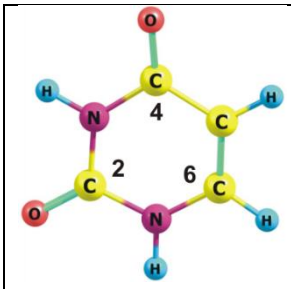
3.3.3. Модельні структури та спектри біокомпозитних плівок 5BDU/GO 59

ВИСНОВКИ **62**

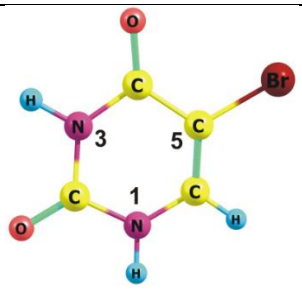
ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА **63**

ВСТУП

Дослідження структури складових фрагментів біополімерних молекул в ізольованому стані становить фундаментальний інтерес для сучасної науки [1 - 7]. Наприклад, такі структурні елементи ДНК і РНК, як основи і нуклеозиди, вивчають найсучаснішими методами високочутливої спектроскопії [6,7].



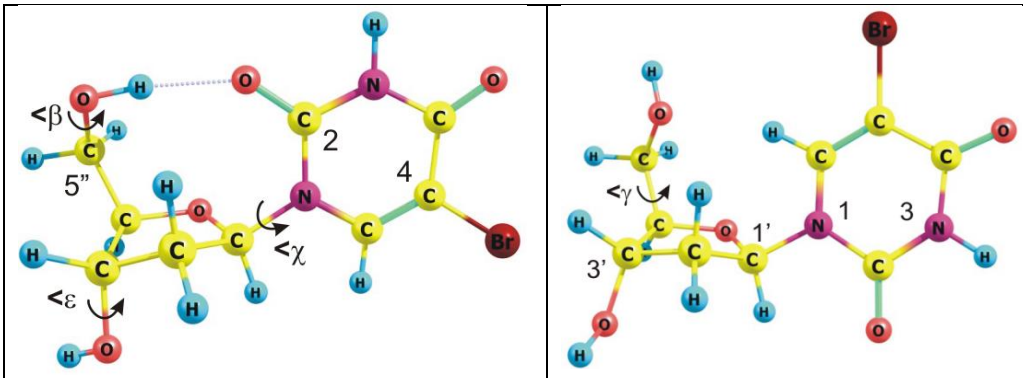
Ur



5BUr

Рис. 1 Нумерація атомів в найбільш стабільних структурах (дікето-ізомери): основа РНК уридин (Ur) та модифікована основа 5Br-уридин (5BUr)

Нуклеозид складається з гетероциклічної основи ДНК (РНК) Рис. 1. з’єднаного глікозидним зв'язком з п'ятичленним фуранозним кільцем (рибоза або дезоксирибоза) [8] Рис. 2. Навіть незначна модифікація основи або фуранозного кільця може зробити істотний вплив на конформаційну структуру і біологічні функції нуклеозиду. Модифіковані нуклеозиди використовують для створення нових лікарських препаратів [8].



5Bs2_0	5Ba2_0

Рис. 2 Нумерація атомів, торсіонні кути і найбільш стабільні структури основних син- (5Bs2_0) і анти- (5Ba2_0) конформаційних ізомерів 5BDU з
С2-ендо конформацією цукрового кільця.

Наявність глікозидного зв'язку зумовлює більш низьку термічну стабільність нуклеозидів порівняно з основами ДНК. Для переведення таких термонестабільних молекул в ізольований стан, як правило, використовують лазерне випаровування [6, 7]. Однак було показано, що для дослідження нуклеозидів в ізольованому стані можна використовувати менш ресурсомісткий класичний метод спектроскопії матричної ізоляції [9] в якому застосовується термодинамічно рівноважний процес випаровування з комірки Кнудсена.

Зараз сучасна наука демонструє, підвищений інтерес до створення композитних матеріалів на основі вуглецевих наноструктур і біологічних молекул. Проводяться інтенсивні фундаментальні і прикладні дослідження завдяки перспективам застосування в різних областях: нанотехнології, приладобудуванні (датчики, сенсори і т.д.), біології та медицині. Можна відзначити проведення численних експериментів з гібридними матеріалами на основі графена / оксиду графену та графеноподібних 2D-матеріалів з метою створення біосенсорів, здійснення візуалізації біологічних процесів,

секвенування ДНК, розробки біосумісних та сорбуючих матеріалів, а також використання їх у фототермальній терапії, доставці ліків тощо [10-13].

Перспективним компонентом біонанокомпозитних матеріалів може бути ряд галогенопохідних азотистих основ ДНК / РНК. Ці біологічно активні молекули демонструють широкий спектр біофізичних ефектів [8,14-16]. Наприклад, всі 5-галогенпохідні урацила здатні заміщати тимін в молекулах ДНК, і це широко застосовують в різних дослідженнях. Так, завдяки ефективному пригніченню синтезу тиміну 5-фторурацил (5FU) використовують як протираковий препарат. 5Cl - 5I-і 5Br-урацил (Рис. 1а) використовують у дослідженнях процесів мутагенезу [14] та радіаційного пошкодження ДНК [15]. Крім того, 5-бромурацил (5bru) цікавий для створення фоточутливих електронних нанопристроїв на основі ДНК [16]. Іншим цікавим об'єктом є модифікований нуклеозид 5BR-2' - дезоксиуридин (5brdu), який може конкурувати з канонічним нуклеозидом тимідином за включення до складу ДНК, що призводить до мутацій в ДНК і придушення проліферації клітин. Завдяки такій біологічній активності цей нуклеозид використовують, як у лікарській практиці, так і в біомедичних дослідженнях. Також молекули 5BrdU демонструють радіосенсибілізаторний ефект, пригнічуючи відновлення радіаційно-індукованих розривів у дволанцюговій ДНК. Створення композитної структури нуклеозиду з наночастинкою може бути одним із шляхів реалізації управління біологічною активністю нуклеозиду.

Основна мета дипломної роботи полягає у вивченні молекулярної структури та особливостей коливальних спектрів піримідинових нуклеозидів в ізольованому стані та в композитних плівках оксиду графену за допомогою ІЧ-Фур'є спектроскопії.

РОЗДІЛ 1. МЕТОДИ СПЕКТРОСКОПІЇ МОЛЕКУЛ

1.1. Методи дослідження біомолекул та їх порівняння

Широко поширеними методами в дослідженні конформаційної структури біомолекул є ЯМР спектроскопія і кристалографія. Однак обидва ці методи дають не зовсім коректну інформацію в разі молекул, здатних легко змінювати свою конформацію. Відзначимо, що кристалографічний метод вимагає впорядкованої кристалічної структури, а метод ЯМР дає тільки усереднені дані по всіх конформерах, присутніх в розчині .

У зв'язку з цим, зараз набувають все більшої популярності обчислювальні квантово-хімічні методики для дослідження конформації біомолекул [17].

На сьогоднішній день відбувається безперервне вдосконалення комп'ютерних технологій, завдяки чому вже зараз можливе застосування досить строгих методів розрахунку і відносно швидко отримувати інформацію про конформаційної структурі молекул. Однак всі обчислювальні методи мають деяку ступінь наближення, яка залежить як від вибору методу розрахунку, так і від вибору базису. Результати, отримані різними методами, або в різних базисах можуть значно розрізняються, а часом навіть суперечити один одному. Так, наприклад, за даними перших квантово-хімічних розрахунків конформаційної рівноваги вуглеводів було зроблено висновок про те, що спостережуване домінування аномера у водних розчинах пояснюється впливом розчинника [19]. Тоді як, в більш пізніх роботах з використанням інших обчислювальних методик був отриманий протилежний результат, що показує, що вплив розчинника становить не більше 1 ккал/моль [20]. Крім того, основна проблема при використанні розрахункових методів полягає в тому, що поверхня потенційної енергії молекули, навіть простої,

досить складна [21] і має багато енергетичних мінімумів, обчислення яких є дуже складним завданням.

Найбільш оптимальним підходом до проблеми пошуку глобального мінімуму енергії є порівняння з експериментальними даними. При цьому в ході експерименту визначаються будь-які параметри конформерів, а фіксація цих параметрів в початкових структурах дає можливість виділити тільки реально існуючі конформери і, тим самим, значно скоротити кількість початкових структур. У роботах [24] в якості початкових конфігурацій для розрахунку структур нуклеозидів і вуглеводів були використані дані з рентгеноструктурного аналізу. Але вплив решітки у випадку кристалів, або міжмолекулярних зв'язків у випадку розчинів, можуть сильно змінити структуру молекули [23]. Тому, адекватне порівняння квантово-хімічних розрахунків можливо тільки з експериментальними даними по ізольованому стану молекули.

Ізольованим станом молекули можна вважати, розріджену газову фазу або стан, коли молекула перебувати в середовищі зі слабкими міжмолекулярними взаємодіями. В якості такого середовища можуть бути використані неполярні розчинники або заморожені інертні гази. На жаль, більшість молекул і, зокрема, вуглеводи і нуклеозиди, не розчиняються в неполярних розчинниках [22]. У разі використання заморожених інертних газів існує дві основні експериментальні методики: матрична ізоляція [25] і спектроскопія в надзвукових пучках інертних газів [26,27]. Для проведення спектроскопії газової фази, а також для приміщення молекули в заморожений інертний газ, молекулу необхідно перевести в газову фазу. Для біологічно важливих молекул, особливо для вуглеводів і нуклеозидів, цей процес ускладнений через їх низьку термостабільність. Так, наприклад, довідкові дані взагалі не вказують на можливість випаровування цих молекул. Тому, при виборі методики експерименту необхідно враховувати чутливість використовуваного методу до змін молекулярної структури, а також

абсолютну чутливість методу. Для вивчення молекулярної структури найбільш універсальним і чутливим методом є коливальна спектроскопія [28]. Можливість однозначного віднесення смуги в ІЧ спектрі до певного коливання молекули робить цю методику унікальною для дослідження внутрішньо молекулярних водневих зв'язків. Найбільш простим методом отримання ІЧ спектрів ізольованої молекули є спектроскопія газової фази. Однак, як показано в роботі [29], чутливість цього методу збігається з чутливістю методу матричної ізоляції тільки за умови, що довжина газової кювети l дорівнює:

$$L = \frac{1}{4} V_C t K_e S_e \qquad (1.1)$$

де V_c - середня швидкість молекул газу,

t - час напилення зразка,

K_e - коефіцієнт втрат,

S_e - площа перетину сопла випарної комірки.

У стандартному газофазному експерименті отримати такі довжини не представляється можливим. Значно збільшити чутливість газофазного експерименту можна з використанням методу загасання у внутрішній порожнині [30-32]. При використанні дзеркал з високим коефіцієнтом відбиття (99,99 і більше) чутливість цього методу значно перевершує метод матричної ізоляції. Однак цей метод досить складний у виконанні і обмежений вузькою спектральної областю використаних дзеркал. Крім цього, великим недоліком спектроскопії газової фази є обертальне розширення смуг. На Рис.1.1 [29] представлений спектр урацилу, отриманий в різних агрегатних станах речовини. Видно, що величина напівсмуги в газовій фазі практично збігається з величиною напівсмуги в аморфної плівці. Те, що відбувається

внаслідок цього перекривання смуг створює перешкоди для однозначного віднесення смуг.

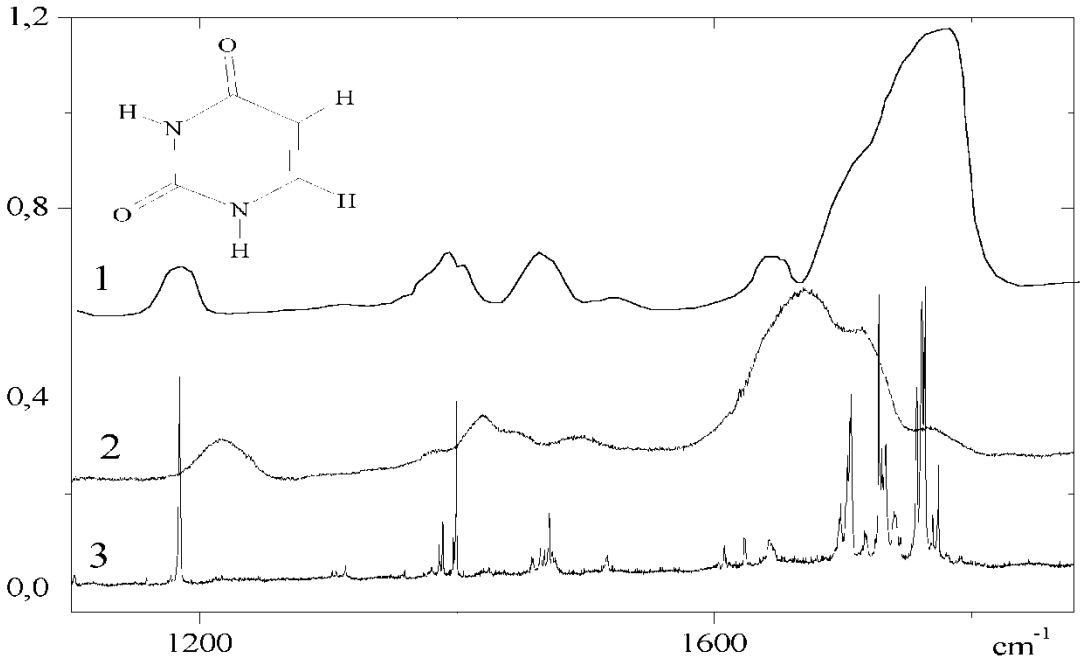


Рис.1.1. ІЧ-Фур'є спектри урацила в різних агрегатних станах: 1- газова фаза (Т=570К), 2- аморфна плівка (Т=12К), 3- Ar матриця (Т=12К).[29].

З розвитком лазерної техніки для дослідження молекул все ширше почала застосуються лазерна спектроскопія в надзвукових пучках [31]. Перевага даного методу полягає у виморожуванні обертальних рівнів молекули і звуженні спектральних ліній. Перші експериментальні докази існування двох типів поворотних ізомерів з внутрішньо молекулярним водневим зв'язком у гліцину [32] і урацилу [33] були отримані методами мікрохвильової спектроскопії надзвукових пучків.

Недоліками цього методу є складність експериментальної установки і вузький діапазон безперервної перебудови використовуваних лазерів.

1.2. Метод спектроскопії біомолекул, ізольованих всередині нанокапель гелію

Одним з важливих досягнень у фізиці і хімії останнього десятиліття є розробка методу дослідження спектрів одиночних молекул всередині надтекучих нанокапель (кластерів) гелію і отримані з його допомогою результати. Цей метод дозволяє не тільки отримувати спектри високого дозволу поодиноких, у тому числі нестабільних молекул при дуже низькій температурі ($T \leq 0{,}4$ K), але і відкриває великі можливості для вивчення властивостей надплинного гелію на мікроскопічному рівні і для дослідження багатьох фізико-хімічних процесів, при гранично низьких температурах. За допомогою зазначеного методу можна одержувати довгі ланцюжки певним чином орієнтованих полярних молекул всередині нанокапель надплинного гелію, що представляє особливий інтерес у випадку біологічно важливих молекул, а також здійснювати пряме спектроскопічне спостереження елементарних збуджень у надплинні гелієвих кластерах.

Даний метод є синтезом методів молекулярних пучків і методу матричної ізоляції, і суть його полягає в наступному. Пучок кластерів інертного газу, в якому кожен з кластерів складається з 105-106 атомів, перетинає молекулярний (атомний) пучок або проходить через камеру низького тиску з молекулярним (атомним) газом. При своєму русі кластери захоплюють одну або кілька молекул (атомів). Далі вони досліджуються методами лазерної спектроскопії.

Метод отримав істотний розвиток після поширення на кластери рідкого гелію і, особливо, після того, як група тенісу показала, що молекули, впроваджені в кластери рідкого гелію ^{4}He, мають спектри, аналогічні спектрам вільних молекул в газовій фазі.

Можливість отримання спектрів молекул з дозволеною обертальною структурою в надтекучих гелієвих кластерах висунула цей метод на самий

передній фронт досліджень нестабільних частинок. Крім того, метод дозволяє вивчати надтекучість ^{4}He на рівні наночастинок, що саме по собі є досить цікавою областю фізики конденсованих середовищ. В результаті над цими проблемами працюють десятки лабораторій у світі. І за останні 10-15 років публіковано кілька сотень робіт.

1.3. Спектроскопія внутрішньо резонаторного затухання

Внутрішньо резонаторна лазерна спектроскопія-метод лазерної спектроскопії, в якому досліджувана речовина поміщається всередину резонатора лазера з широкою спектральною смугою генерації. Як правило абсорбційної спектроскопії для вивчення спектра поглинання речовини світло від зовнішнього широкосмугового джерела інтенсивністю I_0 пропускають через шар поглинаючої речовини. Світло, що пройшло виявляється ослабленим відповідно до закону Бугера-Ламберта-Бера тим більше, чим вище показник поглинання досліджуваного речовини. Для дослідження слабкого поглинання необхідно збільшувати оптичну довжину шляху L; з цією метою застосовують багатоходові оптичні кювети, в яких світло, відбиваючись від торцевих дзеркал, багаторазово проходить через досліджувану речовину. Число таких проходів обмежене втратами світла при відбитті від дзеркал [30].

У методі внутрішньо резонаторної спектроскопії ці втрати компенсуються посиленням в активному середовищі, тобто, по суті, роль багатоходової кювети грає резонатор лазера. При стаціонарній генерації через конкуренцію процесів накачування і вимушеного випромінювання посилення в активному елементі з точністю до впливу спонтанного випромінювання виявляється рівним втрат резонатора. Однак ця рівність виконується не для кожної конкретної частоти, а для усереднених (в межах однорідно розширеного контуру посилення активного середовища). Якщо лінії поглинання речовини вузькі в порівнянні з величиною однорідного

розширення контуру посилення активного середовища лазера, то поглинання не компенсується посиленням і проявляється в спектрі генерації лазера.

У стаціонарному режимі в області, де відсутнє поглинання, інтенсивність генерації I (λ, t) залишається постійною, а на частоті лінії поглинання вона змінюється за законом:

$$I(\lambda, t) = I_0 e^{\{[-(1-R)+\sum \sigma_i(\lambda) N_i L] c \frac{t}{L}\}} = I_0 \left(\frac{-t}{\tau}\right) \qquad (1.2)$$

де t - час,

λ - довжина хвилі лазерного випромінювання,

I_0 - початкова інтенсивність лазерного імпульсу,

R - дзеркало відбиття, як правило, R> 99,99%,

Σ_i (λ) - перетин поглинання і-го виду на довжині хвилі λ,

N_i - його концентрація,

c - Швидкість світла,

L - оптична довжина резонатора,

τ – постійна часу експоненціального загасання сигналу [31].

Вираз (1.2) аналогічний закону Бугера - Ламберта - Бера, а величина ефективного оптичного шляху L визначається добутком швидкості світла с на тривалість t імпульсу генерації лазера в околиці досліджуваної лінії поглинання. При тривалості імпульсу 10^{-2} с, L досягає $3*10^8$ см, що дозволяє виявляти поглинання~10^{-9} $см^{-1}$, тобто домішки атомів з концентрацією до 10^4 атомів/$см^3$. Принципове обмеження зростання чутливості приладів, заснованих на методі внутрішньо резонаторної спектроскопії, з ростом тривалості імпульсу генерації виникає внаслідок неточної компенсації широкосмугових втрат через спонтанне випромінювання. Теоретичні оцінки показують, що граничний рівень чутливості, обмежений впливом спонтанного випромінювання, повинен бути ~10^{-12} $см^{-1}$. Реально чутливість визначається

або тривалістю імпульсу (при використанні імпульсних лазерів), або технічними нестабільностями, що переривають генерацію або змінюють її спектр (для безперервного лазера). Досягнута експериментально чутливість становить ~10^{-9} $см^{-1}$ (що відповідає товщині поглинаючого шару ~10^{9} см) і дозволяє виявляти по спектру поглинання домішки атомів з концентрацією до 10^{4} атомів/$см^{3}$ [32].

У методі внутрішньо резонаторної спектроскопії застосовуються практично всі типи лазерів, в тому числі і відносно малопотужні 10-20 мВт діодні лазери.

Метод внутрішньо резонаторної спектроскопії знаходить застосування для дослідження спектрів поглинання газів, дослідження малих домішок, що забруднюють атмосферу, збуджених станів атомів і молекул, моделювання оптичних властивостей великих товщин газів, наприклад атмосфер великих планет, дослідження процесів в плазмі і кінетики хімічних реакцій, для пошуку нових активних середовищ лазерів і т. д.

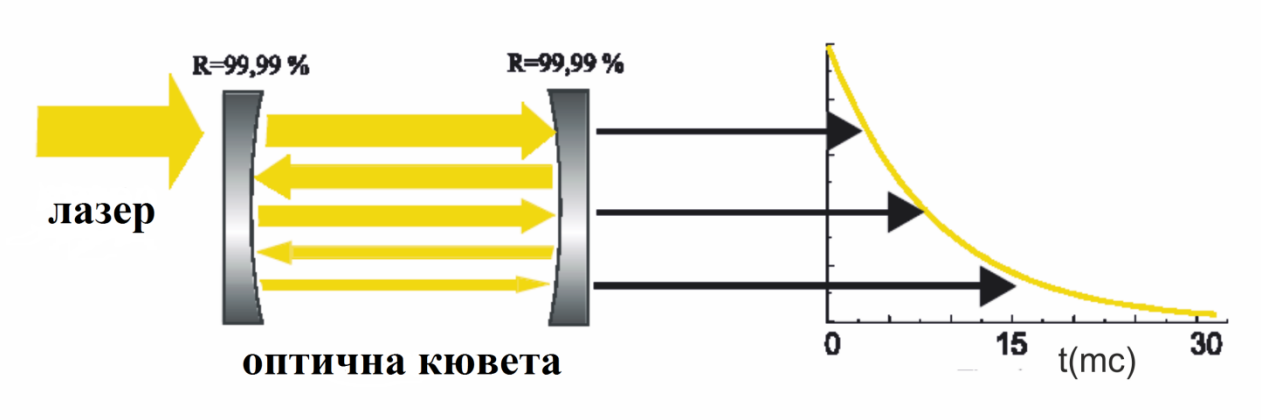


Рис 1.2. Стандартна схема внутрішньо резонаторної лазерної спектроскопії

Для дослідження спектрів складних багатоатомних молекул необхідне охолодження цих молекул у надзвукових пучках для виморожування коливально-обертальних смуг.

1.4. Спектроскопія двох - та багатофотонного поглинання

У цьому методі досліджувана пара рівнів квантової системи (атома, молекули) збуджується зустрічними двома або декількома лазерними пучками, причому сума частот збудження (w1+ w2 або w1+ w2+ w3) повинна збігатися з частотою переходу 1-2. Відбувається одночасне поглинання двох (або декількох) фотонів з лазерних пучків, супроводжуване квантовим переходом 1-2 Рис.1.3. Про порушення системи судять або по зменшенню інтенсивності одного (обох, декількох) пучка накачування на виході з досліджуваного середовища, або по вторинних ефектах: люмінесценції порушених атомів, локальному нагріванню середовища в області взаємодії пучків за рахунок без випромінюваного переходу енергії електронного збудження атома в коливальну і поступальну енергію, генерації акустичних коливань при поглинанні модульованого випромінювання, зміни транспортного перетину атомів при порушенні.

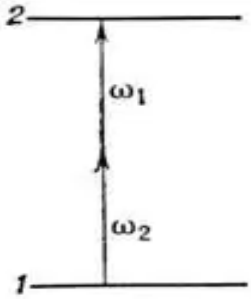


Рис. 1.3. Спектроскопія двохфотонного поглинання. Кванти випромінювання з частотами w1 і w2 поглинаються одночасно.

При впливі на газ з досліджуваних частинок двох зустрічних світлових хвиль однакової частоти доплерівське розширення двухфотонного переходу повністю пригнічується: доплерівський зсуву частот поглинається атомом однакових фотонів, що рухаються в протилежних напрямках, компенсуються;

форма лінії двухфотонного поглинання при скануванні частоти зустрічних хвиль збігається з формою однорідно розширеною лінії одиночного атома; цей метод називається бездоплерівскою двофотонною спектроскопією. Спектроскопія двофотонного поглинання дозволяє вивчати різні поляризаційні ефекти, що визначаються станом поляризації взаємодіючих хвиль і властивостями симетрії багатофотонного переходу.

1.5. Спектроскопія подвійного резонансу

Вона реалізується при резонансній взаємодії двох досить інтенсивних монохроматичних світлових полів з однією і тією ж квантовою системою (атомом, молекулою Рис. 1.4). Резонансне лазерне випромінювання з частотою w1 змінює розподіл зайнятих енергетичних станів поглинаючої системи, а лазерне випромінювання з частотою w2 викликає переходи між збудженими (раніше не зайнятими) станами квантової системи. При цьому спектри поглинання з збудженого стану виявляються вільними від доплерівського розширення. Можлива також нелінійна спектроскопія потрійного і більш високої кратності резонансу. На відміну від спектроскопії двох - або багатофотонного поглинання, в спектроскопії подвійного резонансу відбувається реальне заселення проміжних енергетичних станів досліджуваної квантової системи, так що збудження проміжних рівнів і їх зондування можуть бути рознесені в часі [27]. Залежно від того, в якому діапазоні довжин хвиль лежать w1 і w2, спостерігаються подвійні резонанси: у видимому діапазоні (w1 і w2 - у видимому діапазоні), ІЧ-видимий, УФ - видимий, ІЧ-ІЧ, ІЧ-СВЧ, ІЧ-УФ. Переходи з збуджених станів в більш енергетичні можна зондувати не тільки по поглинанню, але і вивчати по вторинним ефектам: люмінесценції зі збудженого стану рівень 3 на Рис.1.4. додатковому локальному нагріванню середовища, що викликається поглинанням фотонів з частотами w1, w2 і подальшою безвипромінювальною передачею енергії

збудження в поступальну кінетичну енергію частинок; генерації акустичних коливань при поглинанні модульованих світлових хвиль і т. п. Можлива також реєстрація спектрів за схемою когерентної активної спектроскопії з збуджених станів та за іншими схемами чотирихвильового зміщення [27].

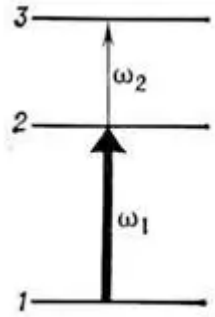


Рис. 1.4. Спектроскопія подвійного резонансу. Сильне поле з частотою w1 збуджує квантову систему (перехід 1-2), а слабке поле з частотою w2 реєструє наявність резонансного поглинання на частоті переходу 2-3.

1.6. Спектроскопія випалювання провалів

Цей метод відноситься до спектроскопії насичення. Вона заснована на селективному збудженні монохроматичним лазерним випромінюванням однорідної групи атомів (молекул) домішок в охолодженій твердотільній матриці, яке супроводжується фотохімічним або іншим перетворенням збуджених частинок, кардинально змінює їх спектри поглинання. В результаті в неоднорідно розширеному спектральному контурі поглинання (випускання) домішкових частинок утворюється вузький провал, який виявляється при скануванні частоти слабоінтенсивного зондуючого випромінювання по смузі поглинання (або при вивченні спектрального складу люмінесценції) домішкових частинок. Форма спектральної лінії і ширина "випаленого" провалу визначаються однорідною формою і шириною лінії поглинання

(випускання) даної частинки. Час життя спектрального провалу може тривати від декількох мікросекунд до багатьох годин, діб і бути ще більш тривалим в залежності від природи фотоперетворення, випробуваного домішковою часткою, і температури зразка. У граничному випадку незворотного фотоперетворення і повного виключення міграції незбуджених частинок по матриці за рахунок глибокого охолодження зразка спектральний провал може існувати необмежено довго.

Метод дозволяє досліджувати тонку структуру оптичних спектрів домішкових частинок, що знаходяться в неоднорідному кристалічному полі матриці, і в звичайних умовах приховану під широким неоднорідно розширеним контуром, і, отже, отримувати спектроскопічну інформацію, недоступну іншим методам.

1.7. Резонанс двохфотонної іонізації та ІЧ-УФ двохрезонансна спектроскопія

Регульовані лазери використовуються для управління концетрації надзвукового пучка домішковими молекулами. Коли частота лазера потрапляє на частоту електронно-коливального переходу, відбувається двохфотонна іонізація та іон, що вилетів, реєструється мас-спектрометром (TOF = Time Of Flight mass-spectrometer). Для отримання спектрів в УФ або ІЧ діапазонах використовують два лазера «пробний» (налаштований на характеристичну частоту необхідної молекули) і «випалюючий» (іншими словами це спектроскопія випалювання провалів). Спочатку надзвуковий пучок підсвічують перебудовується «пропалює» лазером, а потім через короткий часовий інтервал пробним лазером, за допомогою якого реєструють інтенсивність потоку. Скануючий (УФ або ІЧ) лазер модулює інтенсивність потоку при збігу частоти з частотою смуги поглинання.

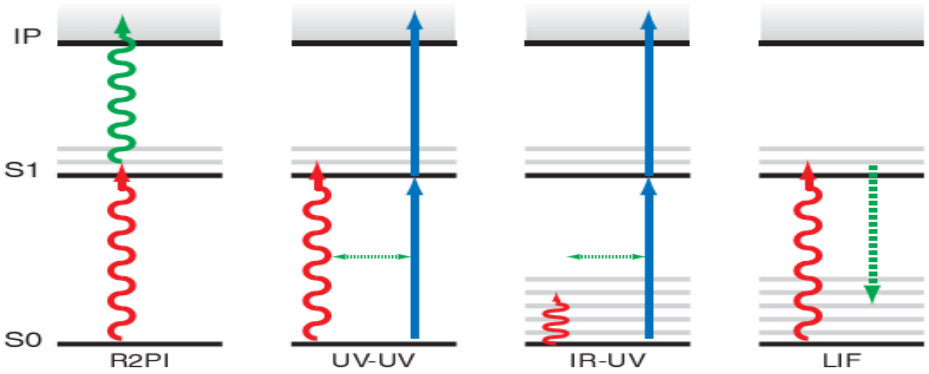


Рис. 1.5. Схема спектроскопії резонансної двохфотонної іонізації і УФ-УФ і ІЧ-УФ спектроскопії подвійного резонансу.

РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТУ І РОЗРАХУНКУ

2.1. Введення у Фур’є спектроскопію

Як відомо, основне призначення ІК спектрофотометрів полягає в отриманні коливального спектру досліджуваної сполуки. До кінця 20 століття були розроблені різні конструкції спектральних приладів. ІЧ спектрофотометри, в яких інформація про по черзі, що вирізаються щілиною в спектральних інтервалах реєструється послідовно в часі, називають скануючими. У міру сканування кожного такого спектрального інтервалу, ширина якого визначається спектральною шириною щілини, енергія випромінювання сприймається одноканальним приймачем. Прилади з просторовим поділом, що використовують багатоканальні приймачі, в середній ІЧ-області, на відміну від видимої, практично не застосовуються. Прикладом багатоканального приладу для видимої області служить спектрограф, який реєструє спектр випромінювання на фотопластинку. Багатоканальні спектрометри - це такі прилади, в яких приймач одночасно отримує багато сигналів, відповідних різним ділянкам спектра. Ці сигнали дешифруються таким чином, що дають інформацію про кожен окремий спектральний елемент. Так як ІЧ області властива низька енергія, то конструювання ІЧ – спектрофотометрів направлено на максимальне збільшення енергії, що проходить через прилад і потрапляє на приймач. Зі свого боку користувач повинен пам'ятати про це обмеження і вибирати, особливо, при кількісних вимірах оптимальні з точки зору енергетики режими роботи і методи підготовки проб.

В ході класичного спектроскопічного експерименту входить в призмовий або гратковий монохроматор поліхроматичне випромінювання (біле світло) розділяється на нескінченне число монохроматичних пучків. Спектр виходить шляхом просторового поділу виходять з призми пучків з різними довжинами

хвиль. Дифракційна решітка працює подібним же чином, за винятком того, що число пучків дорівнює числу штрихів решітки і для кожної довжини хвилі на виході виходить більше одного максимуму. Різні порядки спектру, які перекриваються, необхідно розділяти. Роздільна здатність, що досягається в спектрометрі, визначається шириною щілини, що задає смугу довжин хвиль, яка потрапляє на фотоприймач і порядком спектра. У 1970 - ті роки класичні скануючі спектрометри почали витіснятися приладами нового покоління-на основі інтерферометрів з використанням перетворення Фур'є, і до теперішнього часу цей процес завершився.

2.2. Фізичні основи спектроскопії з перетворенням Фур'є.

Всі ІЧ-спектрофотометри незалежно від конструкції мають загальні елементи: джерело випромінювання, оптичну систему, приймач, систему посилення сигналу.

Джерело випромінювання. Ідеальним джерелом для ІЧ-спектроскопії був би монохроматичний випромінювач високої інтенсивності, що безперервно перебудовується в широкому частотному інтервалі. Незважаючи на те, що існують лазери з регульованою частотою, в даний час найбільш поширеними є нагріваються до температури 1200 – 1400 К джерела з широкою областю випромінювання: глобар (карбід кремнію), штифт Нернста (оксиди цирконію, торію, ітрію), ніхромовий спіраль, платиновий дріт з керамічним покриттям. У низькій ІЧ області використовується випромінювання стінок ртутної лампи низького тиску. Випромінювальна здатність теплових джерел підпорядковується закону Планка для випромінювання абсолютно чорного тіла. Ведуться дослідження щодо застосування терагерцового випромінювання (субміліметровий діапазон) в спектроскопії.

Оптична система. Призначення оптичної системи-направляти випромінювання джерела по потрібному шляху з мінімальними втратами.

Використання відбивних дзеркал із зовнішнім покриттям (напилений алюміній, просвітлюючі покриття) дозволяє уникнути хроматичної аберації. Відбивна оптика може мати плоскі, сферичні, параболічні, еліптичні або тороїдальні поверхні. Розроблено велику кількість типів оптичних систем спектрофотометрів.

Приймач випромінювання. Приймачі ІЧ випромінювання діляться на дві групи: теплові і фотоелектронні. Перша група включає термоелементи (термопари), болометри (опору з великим температурним коефіцієнтом), пневматичні приймачі, піроелектричні приймачі. Піроелектричні Детектори (на основі тригліцинсульфату $(NH_2CH_2COOH)_3\ H_2SO_4$) використовуються в інтерферометрах через їх високу чутливість в широкій ІЧ області.

В основі роботи фотоелектронних напівпровідникових приймачів, до яких відносяться фоторезистори і фотодіоди, лежить явище внутрішнього фотоефекту. У ближньому ІЧ діапазоні найбільш поширені фотодіоди на основі германію і твердого розчину InGaAs. В середньому ІЧ діапазоні застосовуються охолоджувані рідким азотом фотодіоди на основі твердого розчину HgCdTe (МСТ Mercury-Cadmium-Tellurium). Напівпровідникові детектори для роботи в низькочастотній області вимагають охолодження до низьких (азотних або гелієвих) температур. Ширина забороненої зони визначає довгохвильову межу чутливості фотоелектронних приймачів.

Оптичні матеріали. Так як звичайне оптичне скло поглинає середнє і довгохвильове ІЧ випромінювання, то в якості матеріалів для виготовлення вікон кювет і светоделителей використовують монокристали різних солей. У спектроскопії внутрішнього відбиття застосовують матеріали з високими показниками заломлення.

В основі оптичної схеми типового Фур’є-спектрометра лежить схема інтерферометра Майкельсона, розроблені і інші системи [23]. Принципова схема інтерферометра Майкельсона показана на Рис. 2.1.

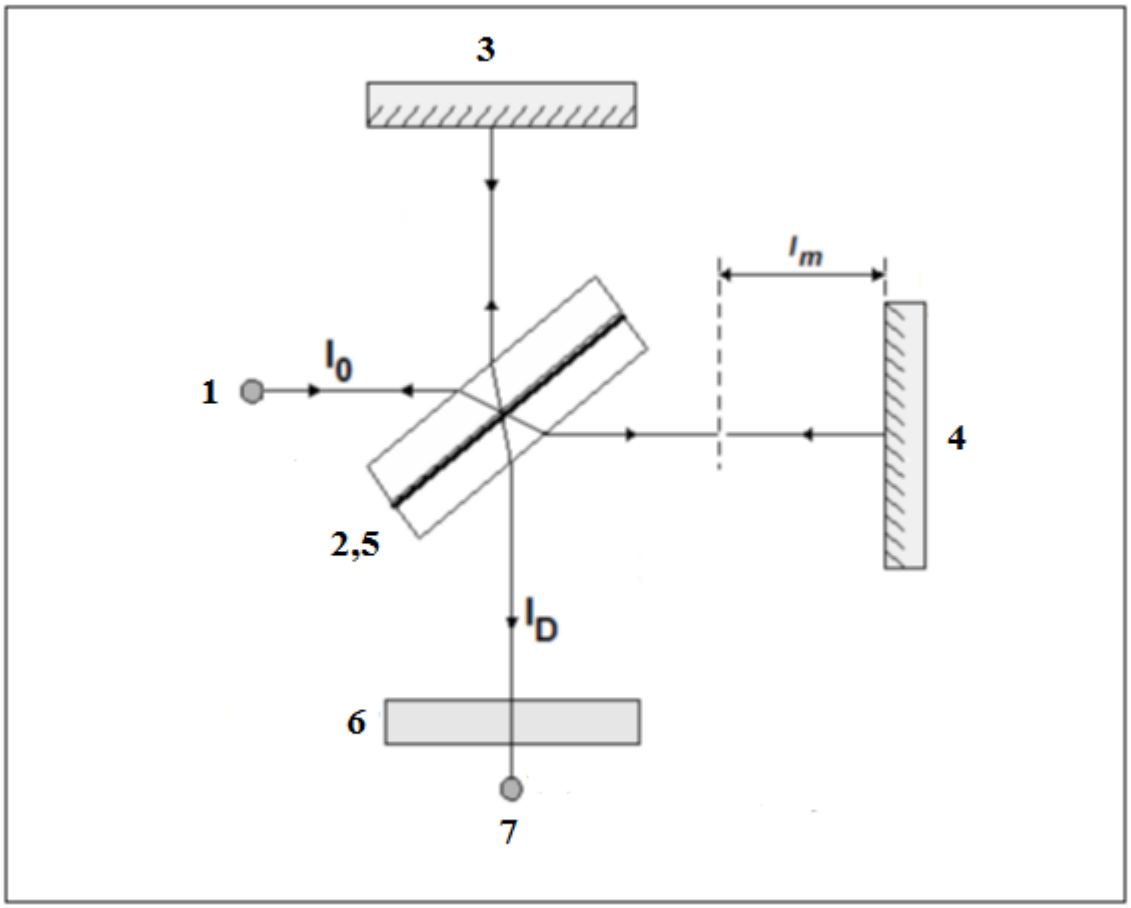


Рис. 2.1. Схема інтерферометра Майкельсона.

1. Джерело ІЧ-випромінювання,
2. Світлодільник,
3. Нерухоме дзеркало,
4. Рухоме дзеркало,
5. Компенсатор,
6. Проба досліджуваного речовини,
7. Детектор ІЧ-випромінювання.

Світло, що йде від джерела випромінювання 1 (I_0), розділяється напівпрозорим пласким дзеркалом – світлодільником 2 на два когерентних пучка. Матеріали, з яких виготовляють світлодільник, підбирають в залежності від досліджуваної області спектра. Один пучок направляється до

нерухомого плоскому дзеркала 3 і відбивається від нього на світлодільник, інший йде до плоского дзеркала 4 і також повертається, на світлодільнику вони з'єднуються. Ці два когерентних пучка інтерферують між собою, в результаті чого вони можуть або посилювати, або послаблювати один одного в залежності від різниці фази між ними. У фокальній площині об'єктива виникають інтерференційні смуги, які можна спостерігати візуально, або реєструвати будь-яким способом (детектор 7). Дзеркало 4 здійснює зворотно-поступальне переміщення уздовж променя. Зсув цього дзеркала відбувається щодо нульового положення, в якому оптична різниця ходу інтерферометра дорівнює нулю. Найбільші зміщення дзеркала складають $\pm l_m$. При зміщенні рухомого дзеркала 4 на чверть довжини хвилі світлі смуги в інтерферограмі замінюються на темні, а темні на світлі.

Детектор 7 реєструє інтерферограму - залежність світлового потоку з інтерферометра від оптичної різниці ходу, яка може бути різною - від сантиметрів до метрів. В інтерферограмі міститься повна інформація про спектральний склад випромінювання, що йде від джерела (глобар). Інтерферограма є результатом робочого циклу інтерферометра - сканування по осі l від 0 до l_m - одностороннє сканування, або від -lm до + lm - двостороннє сканування. У міру руху дзеркала 4 на приймач потрапляє світловий пучок, інтенсивність якого в разі монохроматичного джерела змінюється за косинусоїдальним законом. Якщо - I (x) інтенсивність світла, що потрапляє на приймач, зміщення дзеркала 4 в сантиметрах, B (ν) - інтенсивність джерела як функція хвильового числа ν в $см^{-1}$, то інтенсивність сигналу для монохроматичного джерела ν_1 змінюється за законом:

$$I(x) = B(\nu_1)\cos(2\pi\nu_1 x) \qquad (2.1)$$

У випадку «класичного» скануючого спектрометра спектр складатиметься з єдиної смуги з максимумом ν_1 Рис.2.2.

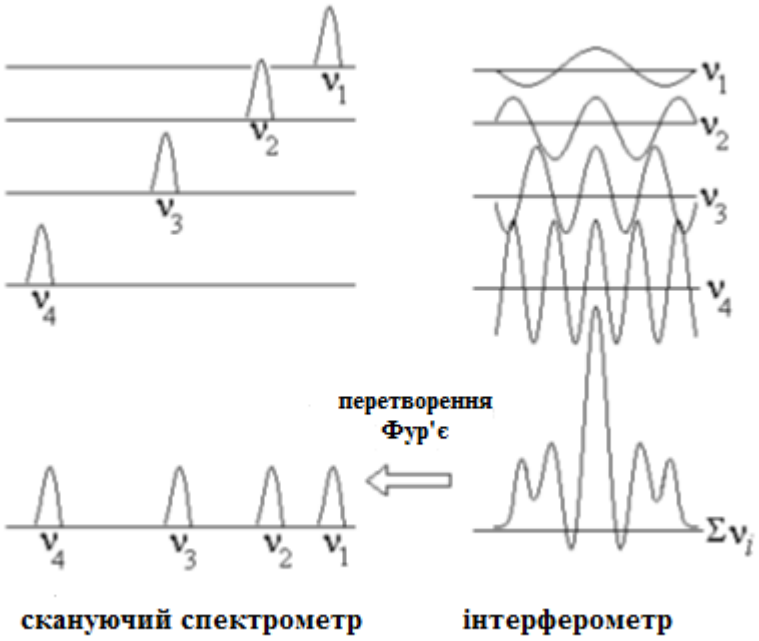


Рис.2.2. Порівняння сигналів, одержуваних за допомогою скануючого спектрометра та інтерферометра.

Якщо в джерело випромінювання додати другу частоту ν_2, то результуюча залежність в координатах «положення дзеркала – інтенсивність» буде представлятися у вигляді суми двох косинусоїдальних хвиль:

$$I(x) = B(\nu_1)\cos(2\pi\nu_1 x) + B(\nu_2)\cos(2\pi\nu_2 x) \qquad (2.2)$$

Якщо додавати третю, четверту і т. д. до нескінченного числа частот (тобто розглядати поліхроматичні джерела, якими є лампа розжарювання або теплове джерело - глобар, то в приймачі виникає сигнал від суми косинусоїдальних хвиль - інтерферограма (2.3):

$$I(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} B(\nu)\cos(2\pi x\nu)\, d\nu \qquad (2.3)$$

Реальна інтерферограма типового спектру, показана на Рис.2.3. В інтерферограмі в закодованому вигляді міститься вся спектральна інформація про потрапляє в інтерферометр випромінювання.

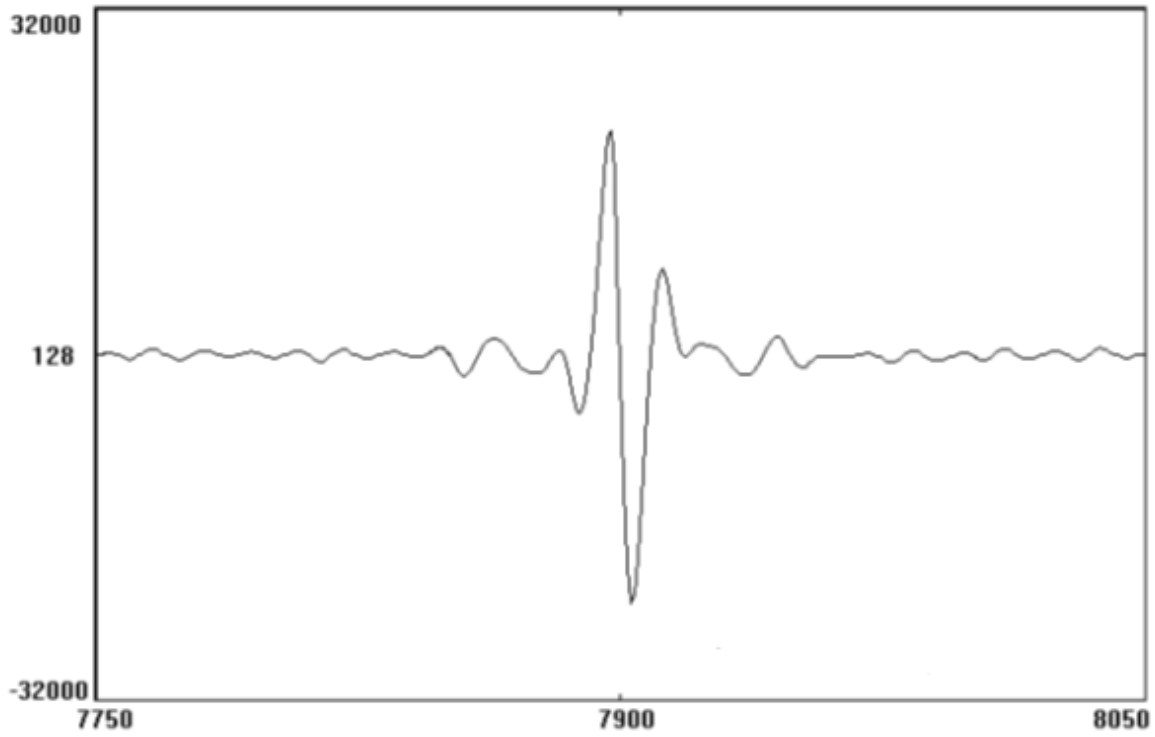


Рис.2.3. Типова інтерферограма.

На практиці ідеального поліхроматичного джерела випромінювання не існує, так як є власний спектр випромінювання матеріалу, з якого виготовлений джерело. Це призводить до появи в області крил інтерферограми джерела додаткових загасаючих коливання.

Для отримання спектра випромінювання джерела потрібно вираз (2.3) піддати перетворенню Фур'є по косинусам. Відновлений спектр описується рівнянням наступного виду (2.4):

$$B(\nu) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(x)\cos(2\pi x\nu)\,dx \qquad (2.4)$$

Рівняння (2.3) і (2.4) визначають взаємозв'язок між інтерферограмою і спектром.

Якщо в один з каналів інтерферометра поміщена поглинаюча проба 6 Рис. 2.1., то використовуються подібні міркування. При цьому з поліхроматичного випромінювання джерела віднімається ряд хвильових чисел, що відповідають смугам поглинання проби. Результуюча інтерферограма проби утворюється всіма хвильовими числами, за винятком тих, що поглинені.

Перетворення Фур'є являють собою взаємно обернені інтегральні перетворення. У цьому сенсі можна сказати, що спектр є Фур'є-образом інтерферограми по косинусам, а інтерферограма є Фур'є-образом спектра по косинусам.

2.3. Реєстрація спектрів.

Для отримання спектра проби необхідно зареєструвати при однакових умовах еталонну інтерферограму (порівняння) B_{ref} (ν) і інтерферограму з пробою B_{sample} (ν), відношення їх Фур'є-образів спектр пропускання (Т) проби:

$$T = \frac{B_{sample}(\nu)}{B_{ref}(\nu)} \qquad (2.5)$$

Зареєстрований за відсутності проби спектр називається еталонним або спектром порівняння (reference) дивися Рис. 2.4., 1-верхній. Тут необхідно звернути увагу на те, що Фур'є-спектрометр є однопроменевим приладом. З цієї причини спектр порівняння являє собою спектр випромінювання теплового джерела, на який накладено спектр поглинання парів атмосферної води (~3700, 1500-1700 $см^{-1}$), вуглекислого газу (~2350 $см^{-1}$) та інших речовин, можливо знаходяться в атмосфері. Ті ж смуги реєструються і в спектрі проби

полістиролу див. Рис. 2.4., 2-середній, однак, при діленні одного спектра на інший в результуючому спектрі залишається тільки поглинання проби див. Рис. 2.4., 3-нижній, що представляє в даному випадку звичайний спектр поглинання полістиролу. Можна також отримати спектр поглинання проби в координатах оптична щільність - хвильове число, що важливо при проведенні кількісних вимірювань. Для виконання зазначених перетворень розроблено стандартне програмне забезпечення.

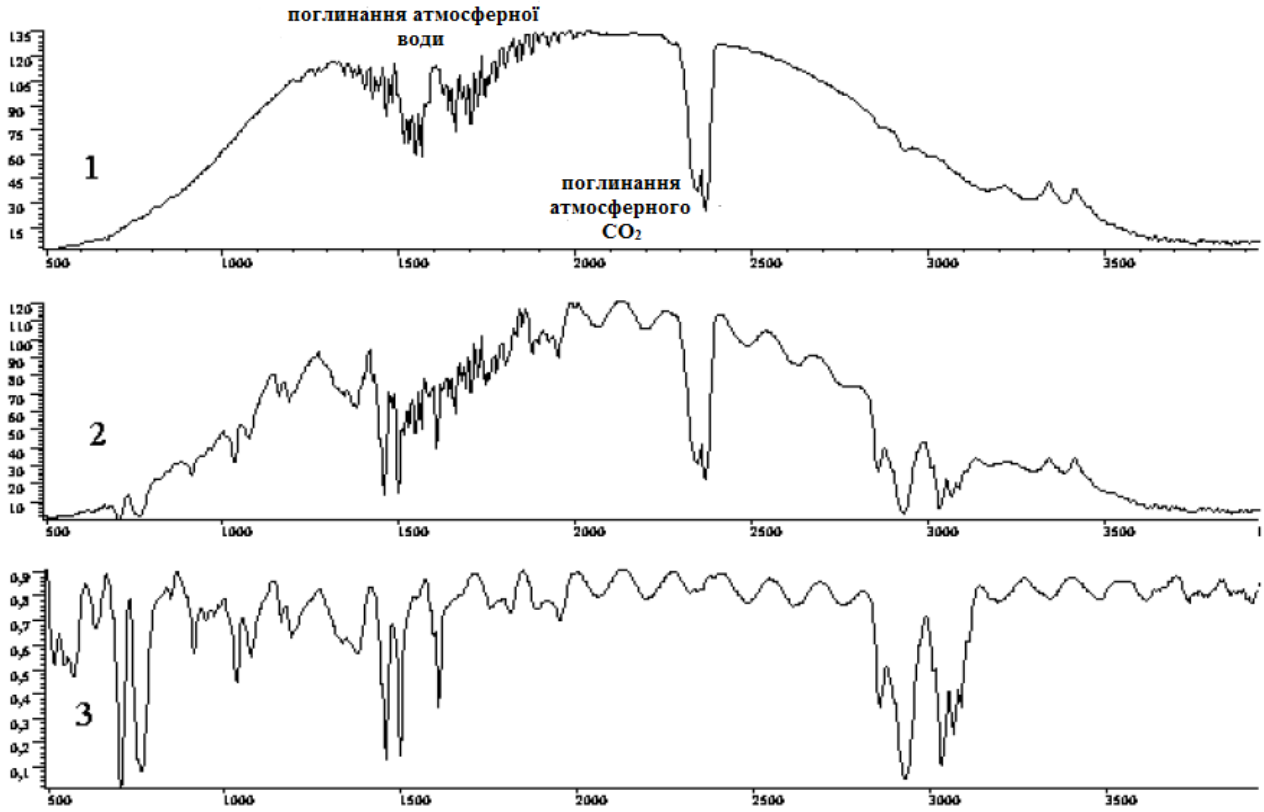


Рис. 2.4.

1-еталонний (референтний) спектр,

2-спектр проби,

3-спектрпропусканняпроби.

Зареєстровану фур'є-спектрометром інтерферограму можна представити у вигляді:

$$I(\sigma) = \left(\frac{1}{2}\right)\int_0^{+\infty} F(\nu)\, d\nu + \left(\frac{1}{2}\right)\int_0^{+\infty} F(\nu)\cos(2\pi\nu\sigma)\, d\nu = I_0 + I(\sigma) \qquad (2.6)$$

де σ - оптична різниця ходу.

Фур'є-перетворення змінної частини інтерферограми відновлює досліджуваний спектр:

$$F(\nu) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\sigma) e^{-i2\pi\nu\sigma} d\nu \qquad (2.7)$$

При русі рухомого дзеркала інтерферометра Майкельсона з постійною швидкістю V оптична різниця ходу змінюється за законом 2Vt і кожна спектральна складова з оптичної частотою ν модулюється низькою частотою f = 2νV. Діапазон частот корисного сигналу, що записується з приймача фур'є-спектрометра визначається співвідношенням $2\nu_1 V < f < 2\nu_2 V$, де $\nu_1 - \nu_2$ досліджуваний спектральний інтервал. При досить високій швидкості сканування вплив низькочастотних фліккер-шумів приймального тракту можна звести до мінімуму. Тому непотрібно використовувати обтюратор або внутрішню модуляцію, що застосовуються при повільному або кроковому скануванні, що вдвічі збільшує ефективність приймального тракту спектрометра.

Реальна інтерферограма реєструється дискретно АЦП через інтервали часу T задаються лазерним вимірником. Дискретне Фур'є-перетворення (ДПФ) двосторонньої інтерферограми I(nT) довжиною N можна представити у вигляді:

$$F(k) = \sum_{j=0}^{N-1} I(j) W_N^{kj} \qquad (2.8)$$

де $W_N^{kj} = e^{(-\frac{i2\pi kj}{N})}$

Розрахунок спектра безпосередньо за цією формулою вимагає N^2 множень і складань. Тому для реальних обчислень використовуються методи FFT [24, 25] , і найбільш часто алгоритм Кулі-Тьюкі [24, 25].

2.4. Деякі особливості та переваги спектроскопії з перетворенням Фур'є

У класичних спектрофотометрах реєстрація спектра відбувається при послідовному запису його руху в часі. Цей процес називається скануванням по хвильових числах. Спектрометри з перетворенням Фур'є належать до типу багатоканальних приладів, що призводить до значного зниження енергетичних втрат.

Фелжетт і Жакіно незалежно один від одного показали, що відновлення спектра за допомогою Фур'є-перетворення інтерферограми має велику перевагу перед послідовною, покроковою реєстрацією того ж самого спектра. Використовуючи один приймач, можна досліджувати всі спектральні елементи одночасно, подібно до того, як це робиться в разі фотографічної реєстрації спектрів. У зв'язку з цим Фелжетт і назвав метод «мультиплексспектрометрією».

Якщо на скануючому спектрометрі вимірюється м спектральних елементів за час Т, то кожен елемент спостерігається протягом часу Т/М, А при використанні «мультиплексспектрометра» (або спектрографа) кожен елемент спостерігається протягом усього часу вимірювання інтерферограми. Наближено рівень випадкових шумів пропорційний кореню квадратному з часу вимірювання $T^{1/2}$. Тому величина виграшу в чутливості буде порядку $M^{1/2}$ (виграш Фелжетта). В інфрачервоній області метод Фур'є-спектроскопії виявляється досить дієвим незалежно від необхідної роздільної сили і стає тим

вигіднішим, чим більше спектральних елементів містить шуканий спектр. Цей виграш в чутливості можна використовувати по-різному:

1) якщо час вимірювань т таке ж, як і в класичному методі, то в $M^{1/2}$ раз збільшується відношення сигналу до шуму;

2) при одному і тому ж відношенні сигналу до шуму в м раз скорочується час вимірювання спектра;

3) при заданому відношенні сигналу до шуму і заданому часу вимірювання можна збільшити роздільну силу і, таким чином, вирішувати завдання, недоступні для вирішення іншими методами.

Роздільна здатність є найважливішою характеристикою як класичних так і Фур'є-спектрофотометрів. Роздільна здатність звичайного скануючого спектрометра визначається шириною щілини і дифракцією на ній світлових хвиль. В інтерферометрі межа роздільної здатності дорівнює зворотній величині максимальної різниці ходу в інтерферограмі. Інтерферограма вимірюється від нульової різниці ходу до деякого максимального значення x_1, на якому вона обривається.

Гармонічний аналіз дозволяє обчислювати всі частоти, для яких на інтервалі від $-x_1$ до $+x_1$ укладається ціле число періодів. Якщо спектр розглядається в шкалі хвильових чисел, то межу дозволу інтерферометра в $см^{-1}$ можна вважати рівною $1/2\ x_1$, де x_1 – різниця ходу виражена в сантиметрах. Ж. Конн використовувала в своєму інтерферометрі різницю ходу до 200 см і отримала роздільну здатність 0,006 $см^{-1}$, що на два порядки перевершує можливості кращих класичних спектрофотометрів з дифракційними решітками. У разі серійних Фур'є-спектрометрів для звичних вимірювань спектрів газів прийнятою є роздільна здатність 0,1 $см^{-1}$. На відміну від дисперсійних спектральних приладів роздільна здатність постійна по всьому спектральному діапазону і її легко змінювати, змінюючи величину ходу дзеркала.

Висока точність визначення частот. Фур’є-спектрометри не потребують зовнішніх стандартів для градуювання шкали хвильових чисел. У них використовується внутрішній стандарт, зазвичай одночастотний газовий лазер (для гелій-неонового лазера $\lambda_л$= 632,8 нм $\nu_л$= 15804 $см^{-1}$) для від калібрування різниці ходу за рахунком інтерференційних смуг під час реєстрації інтерферограми. При цьому досягається дуже висока точність визначення хвильових чисел. Так, у Фур’є-спектрометрі з криптоновим стандартом була досягнута точність визначення хвильових чисел до 10^{-4} $см^{-1}$, що більш ніж на порядок краще, ніж у найточніших дифракційних приладів.

Широка область реєстрації спектру. За один прохід дзеркала (один скан) отримується інтерферограма, що містить інформацію про весь спектральному діапазоні для даного світлодільника. Так, світлодільник на основі плівки Ge, напиленої на KBr перекриває область 5000 – 400 $см^{-1}$, тобто всю середню ІЧ-область, в якій проявляються коливальні спектри органічних сполук. Перехід в довгохвильову область (менше 400 або 300 $см^{-1}$) досягається зміною світлодільника, джерела випромінювання і приймача. Набір світлодільників з плівок лавсану (майлару) різної товщини дозволяє отримувати спектри в області до 10 $см^{-1}$. Низька енергія джерела в цій області може бути частково компенсована збільшенням числа сканувань, що, звичайно, збільшує час отримання спектра. Однак, в порівнянні з приладами класичного типу отримувати довгохвильові ІЧ-спектри на Фур'є-спектрометрі значно простіше. Отримання ІЧ спектрів в цій області надзвичайно важливо, так як там розташовуються частоти коливань кристалічних решіток, зв'язків метал-вуглець, напівпровідникових структур, власних коливань водневих зв'язків.

Малий час реєстрації спектра. Фур'є-спектрометр дозволяє істотно скоротити час реєстрації спектра. Цей виграш тим більш істотний, чим вище необхідний дозвіл. Іноді, особливо при використанні охолоджуваних до температури рідкого азоту детекторів, що мають дуже низький рівень власних шумів, можна отримати спектри хорошої якості від єдиного ходу дзеркала, на

що потрібно близько 1 с. При реєстрації рутинних спектрів з роздільною здатністю 4 $см^{-1}$ час одного сканування також становить близько 1 с.

Можливість реєстрації слабких сигналів. Високе пропускання енергії і можливість поліпшення співвідношення сигнал / шум шляхом накопичення інтерферограм дозволяє отримувати спектри задовільної якості в умовах, коли отримання спектра на дифракційному приладі навряд чи можливо. Відношення сигнал / шум для Фур'є-спектрометрів має величину порядку десятків тисяч.

Відсутність розсіяного світла. Розсіяне світло в спектрометрі дуже сильно впливає на точність вимірювань в дисперсійних приладах. Усунення його представляє складну задачу для конструкторів" класичних " приладів. У Фур'є-спектрометрах проблеми розсіяного не існує.

2.5. Опис методу матричної ізоляції

Метод матричної ізоляції виник, як спроба подолати труднощі при дослідженні хімічно активних молекул, які пов'язані з міжмолекулярною взаємодією, а також нестабільних молекул, які існують протягом декількох мікро- або мілісекунд після утворення [23]. Він полягає в заморожуванні досліджуваних молекул в жорсткому оточенні (матриці) хімічно інертної речовини при низьких температурах. Жорсткість матриці перешкоджає дифузії активних молекул, тобто ускладнює їх взаємодію з іншими подібними частинками. Молекули середнього і малого розміру в матрицях не обертаються. А значить, за допомогою матриць можна уникнути обертального розширення коливальних смуг поглинання. У деяких випадках жорсткості матриці можна домогтися зміною будови або конформації молекули в матриці під впливом УФ. У свою чергу інертність матричної речовини необхідна, щоб запобігти реакції активних частинок з матрицею. Низька температура не тільки обумовлює жорсткість оточення, але і знижує швидкість можливих

внутрішньомолекулярних перегрупувань, для яких необхідна певна енергія активації. В таких умовах молекули навіть з дуже невеликим часом життя можуть існувати невизначено довго, і можуть вивчатися без труднощів [23].

Найбільш очевидні матеріали для матриці-інертні (або благородні) гази: He, Ne, Ar, Kr, Xe. Інші популярні матричні матеріали-молекулярні гази N_2, CO. В останні роки як матричний матеріал привертає увагу молекулярний водень H_2. При низьких температурах (близько 10 К) ці речовини можуть бути переведені в тверду фазу тієї чи іншої міри впорядкованості, і в просторах між вузлами решітки можуть розташовуватися сторонні молекули. Решітка матриці виступає як «господар», досліджувана (або матрично-ізольована) молекула — як «гість» в створеній складній системі. Технічно матриця формується при напиленні потоку інертного носія, тобто матричного матеріалу, підхоплює потік речовини, що поставляє матрично-ізольовані молекули, на охолоджувану підкладку. У свою чергу, для отримання газового потоку майбутніх матричноізольованих молекул відповідну речовину випаровують термічно, або лазерним опроміненням [23].

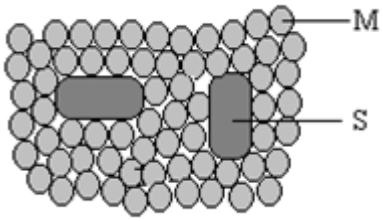


Рис.2.5. Схематичне зображення молекули «гостя» (S-зразок) в оточенні молекул решітки – «господаря» (M-матриця) .

Для переважної більшості матричних речовин необхідне застосування рідкого водню або рідкого гелію. У матричної ізоляції використовуються досягнення різних областей техніки, тісно пов'язаних між собою. Основний

фактор - низька температура для отримання жорстких матриць - досягається застосуванням кріогенної техніки, що призводить до використання високовакуумної апаратури, без якої підтримання низьких температур неефективно. Природа матриці, низькі температури і необхідність дослідження зразків у вакуумі - всі ці фактори говорять про те, що вивчення матрично-ізольованих об'єктів можливо тільки за допомогою спектроскопічних методів. І при цьому, конструкція апаратури повинна забезпечувати доступ спектрального випромінювання у високому вакуумі до зразка з одночасним підтриманням його низької температури.

Основні переваги використання ізольованих матриць такі:

1. Безпосереднє спостереження і характеристика учасників реакції.

2. Отримання та вивчення нових зразків.

3. Визначення структури зразків.

4. Характеристика молекулярних комплексів і вивчення слабких взаємодій між зразками.

5. Заморожування і вивчення окремих молекулярних конформацій.

Матрична ізоляція дозволяє тестувати запропоновані механізми реакцій або порівнювати розрахункові структури з експериментальними даними [23].

2.5. Опис експериментальної установка

Корпус фур’є-спектрометра кріпиться до несучої рами за допомогою газових демпферів з робочим тиском 1-2 атм. Кріостата розміщується безпосередньо на корпусі приладу. Щоб не ускладнювати доступ до випарників і оптичного вікна кріостат кріпиться на перехідному фланці зовнішньої стінки блоку зразків дивись Рис. 2.6.

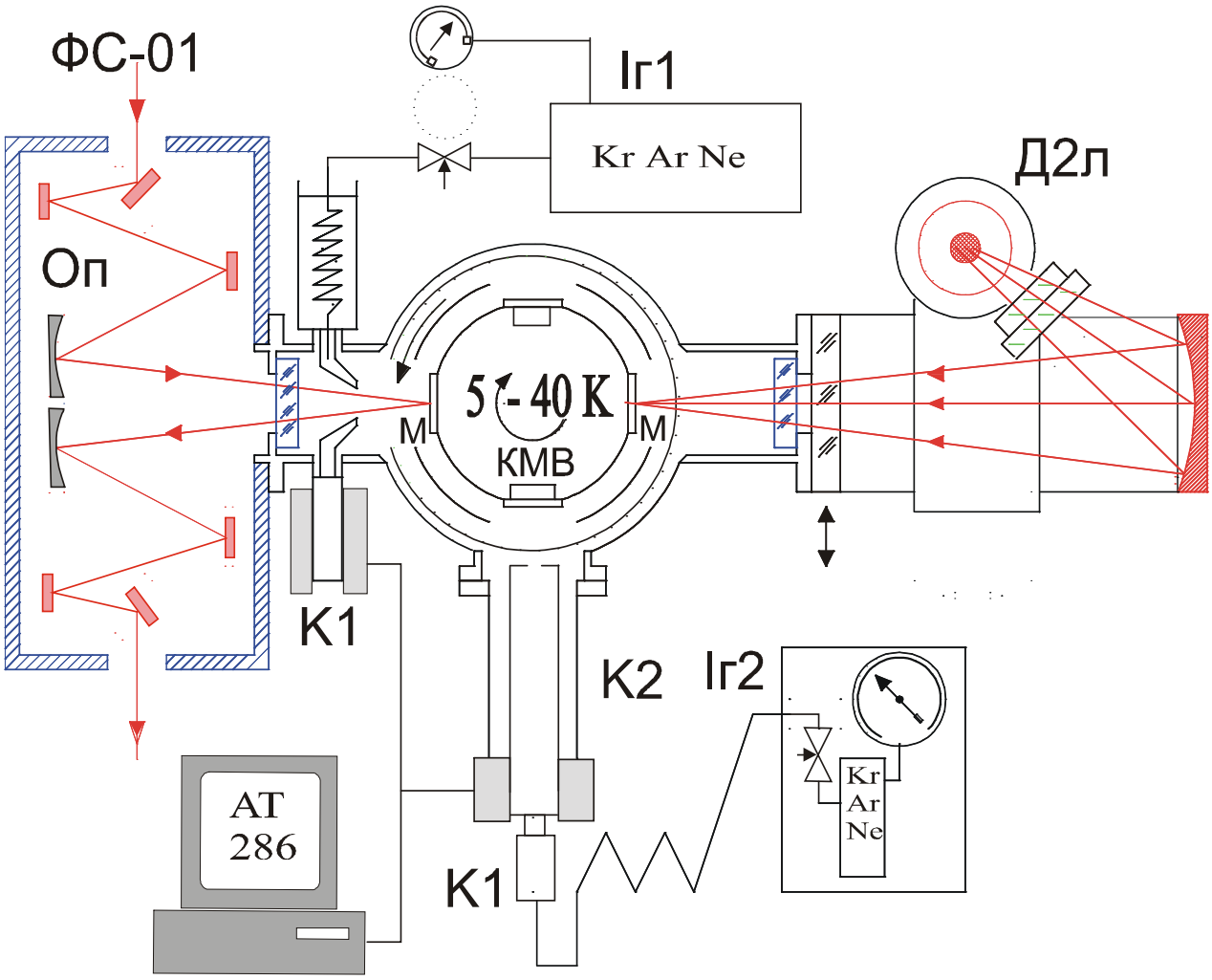


Рис. 2.6. Оптична схема установки: Оп - оптична приставка у відсіку зразків ФС-01; К1- осередок Кнудсена; К2 - осередок Кнудсена поліпшеної ефективності; КМВ – кварцові мікроваги на поворотному кріогенному блоці; Д2л - дейтерієва лампа; Іг1,Іг2 - система закачування інертних газів; М - кріогенні дзеркала (температура 5-40 К).

Кріплення є вакуумно-щільним і дозволяє відкачувати спектрометр до тиску нижче 1 Тор. Таке кріплення накладає деякі обмеження на масу кріостата. У даній роботі був використаний малогабаритний гелієвий Кріостат Р118 виробництва ФТІНТ. До гелієвого хвостовика кріпиться мідний блок з

дзеркалами і кварцевими датчиками. Охолодження дзеркал і кварців до потрібної температури здійснюється найбільш простим способом - за допомогою охолоджуючого проводу потрібної теплопровідності.

На охолоджуючому проводі поруч з дзеркалом або кварцем намотаний та приклеєний низькотемпературної епоксидною смолою резистивний дротяний нагрівач для регулювання температури підкладки і екстреного підігріву. Усередині трубчастого охолоджуючого проводу, безпосередньо біля нагрівача кріпляться мініатюрні AsGa термометри виробництва СКТБ ФТІНТ. Це дозволяє ввести ефективний зворотний зв'язок для комп'ютерної регулювання температури. Перевагою такої схеми регулювання температури є мала постійна часу, а недоліком підвищені витрати гелію при максимальних температурах підкладки. Час випаровування рідкого гелію з базового варіанту кріостата Р118 становить близько 18 годин. Це відповідає теплопритоку до гелієвої ємності (об'єм 1.2 літра) близько 45 мвт, який в основному визначається теплопровідністю підвісу (трубки з нержавіючої сталі) гелієвої ємності. Під час роботи у кріостата з'являються додаткові джерела теплопритоку через дроти електронних схем і отвори в азотному екрані. Якщо не вжити спеціальних заходів, саме ці теплопритоки визначатимуть час безперервної роботи кріостата. Наприклад, теплове випромінювання від деталей установки з Т = 300к через отвір в азотному екрані (S=2 $см^2$) може досягати 90 мвт. Навіть при гарній поліровці поверхонь, значна частина цього випромінювання може поглинатися гелієвим блоком, через багаторазові перевідбиття випромінювання від гелієвого блоку і азотного екрану. Тому, щоб ізолювати гелієвий блок від теплового випромінювання кімнати, коефіцієнт поглинання теплового випромінювання внутрішньою стінкою азотного екрану повинен бути близький до 1 (в цьому випадку відсутні багаторазові перевідбиття і все випромінювання поглинається азотним екраном). У даній установці азотний екран складається з двох частин, нерухомого (щодо гелієвого блоку) алюмінієвого кожуха з чотирма отворами і

рухомого мідного екрану з незалежним входом обертання і одним отвором див. Рис. 2.6.. Внутрішня поверхня алюмінієвого кожуха див. Рис. 2.6. анодована і має коефіцієнт поглинання близько 0.9. У проводах електроживлення нагрівачів і термометрів зроблений розрив при переході між азотної і гелієвої ємностями. У місцях розриву кінці проводів припаяні до плат, що мають температуру 77 і 4.5 К відповідно. Між платами впаяні дуже тонкі (діаметр - 0.05 мм) мідні дроти довжиною 10 см. Дані конструктивні заходи дозволяють забезпечити безперервну роботу кріостата протягом 10 годин.

Дзеркальна приставка, що складається з 8 дзеркал (6 плоских і 2 сферичних) переносить зображення діафрагми фур'є-спектрометра з відсіку зразків на дзеркальну матричну підкладку без трансформації розміру див. Рис. 2.6. Кут між віссю світлового пучка і нормаллю до підкладки становить 5^0 . Ця відносно довгофокусна схема приставки дозволяє розмістити частину випарників з боку приладу див. Рис. 2.6. і вести контрольний запис спектрів без переривання процесу напилення.

Для ультрафіолетового опромінення матричних зразків використовувалася дейтерієва лампа потужністю 45W від спектрофотометра "Хітачі". Зображення анода лампи проектувалося на матрицю сферичним дзеркалом див. Рис.2.6. з відносним отвором 1:2. В окремих експериментах на шляху випромінювання встановлювався оптичний фільтр див. Рис. 2.6.

Необхідно відзначити перспективність для майбутньої реалізації короткофокусної схеми дзеркальної приставки, що формує зменшене (в 2-3 рази) зображення діафрагми. Це дозволить застосовувати більш ефективні схеми матричних дзеркал, випарників і лазерного опромінення матричних зразків.

2.7. Основні параметри проведення експерименту

У даній роботі вимірювання інфрачервоних фур'є-спектрів виконувалися з аподизованою роздільною здатністю 0.3 $см^{-1}$ в діапазоні 200-3800 $см^{-1}$. Процес осадження матриць на кріогенні дзеркала проводився під контролем низькотемпературних диференціальних кварцових мікровагів (КМВ) [26,27]. За допомогою КМВ вимірювали інтенсивність молекулярних потоків dU, 5Br, 5BDU Ar і відповідно, концентрацію домішкових молекул в матриці (matrix-to-sample ratio = M/S). Інтенсивність молекулярного потоку комерційних зразків цих молекул (Sigma,) становила близько 50-60 нг/сек*см2, при температурах випаровування 395-430 К, залежно від молекули. Молекулярні потоки молекул, і Ar осаджувалися на кріодзеркало з температурою 8К протягом 40 хвилин при концентрації M/S=700-800. Чистота інертного газу Ar перевищувала 99.99% .

В роботі досліджували ІЧ-Фур'є спектри композитних плівок 5BrU/GO, 5BDU/GO отриманих з суміші розчинів окремих компонентів і нанесених на дзеркало крапельним методом. Спектри вимірювалися в оптичній схемі "на відбиття" [26] в діапазоні 2500-500 $см^{-1}$ з аподизованим розділенням 3.0 $см^{-1}$. Використовувався GO фірми GRAPHENEA який був у формі водного розчину з концентрацією біля 2 мг/мл. Додатково застосовувалось подрібнення зразків у розчинах за допомогою УЗДН.

Квантово-хімічні розрахунки виконувалися за допомогою програми Gaussian 09 [29] і програми Firefly (версія 8.01) [30], яка частково використовує код програми GAMESS (US) [31]. Розрахунки виконувалися на персональній робочій станції і об'єднаному грід-кластері Інституту монокристалів та Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, грід-кластері ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України, а також за участю ресурсів віртуальної організації Gaussian польського грід. Оптимізацію молекулярних структур проводили за допомогою методів теорії функціоналу щільності

DFT/B3LYP [17]. Використовували різноманітні базисні набори функцій 6-311++G(df,pd) і 6-31G(dp). Також виконувалися розрахунки коливальних спектрів методом DFT / B3LYP з базисом 6-31++G(d,d). Стандартні методи програми Firefly використовувалися для оцінки відносних вільних енергій Гіббса (ΔG) конформаційних ізомерів. Для апроксимації смуг поглинання експериментальних спектрів та візуальне порівняння експериментальних і розрахункових спектрів були застосовані програми “Fityk” [31] и SYNSPEC [32].

2.8. Методика квантово-механічних розрахунків

Точний опис дуже великих багатоелектронних систем є недосяжним з практичної точки зору. Цю проблему має частково вирішити метод DFT, який заснований на розрахунку не хвильової функції, а електронної щільності [17]. Перевага такого методу в тому, що електронна щільність залежить від трьох змінних. У методі DFT час розрахунку пропорційно ~ M^3, де M - число базисних атомних функцій, в той час, як при повному розрахунку всіх можливих конфігураційних взаємодій АТ в хвильової функції, буде потрібно час ~ M!

Метод DFT заснований на теоремі Хоенберга-Кона. Згідно з теоремою Хоенберга і Кона енергія основного стану молекули є функціоналом електронної щільності E_{total} [ρ], і енергія мінімальна, якщо ρ є точною електронною щільністю основного стану.

Практична реалізація теорії DFT здійснюється в рамках методу Кона-Шема. У цьому методі структура матриці щільності визначаться аналогічно теорії Хартрі-Фока. У методі Кона-Шема вводиться поняття фіктивних незалежних електронів, поведінка яких описується набором одноелектронні щільності системи взаємодіючих електронів.

Рівняння Кона-Шема можна записати у формі, аналогічній рівнянню Хартрі-Фока.

$$\left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + V(r) + \int \frac{\rho(r')}{|r-r'|}dr + V_{xc}(r)\right)\varphi_i = \varepsilon_i\varphi_i \qquad (2.9)$$

де $V_{xc}(r)$ – обмінно-кореляційний потенціал, що визначає відповідну компоненту енергії E_{xc}. Найбільші успіхи теорії DFT останнім часом пов'язані з введенням так званого узагальненого градієнтного наближення [17].

РОЗДІЛ 3. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ЕКСПЕРИМЕНТУ

3.1. Структури dU в ізольованому стані

Відомо, що нуклеозиди мають досить складну структуру [8]. Зокрема, особливостями будови 2'-дезокси-нуклеозидів є чотири осі обертання окремих груп молекули і нежорстка структура дезокси-рибозного кільця Рис. 3.2. Так, в найбільш докладних квантово-хімічних розрахункових дослідженнях конформацій dU [3.1, 3.2] було знайдено 94 стабільні структури. Однак, в діапазоні відносних енергій 0-1.5 ккал моль знаходиться значно менше конформерів (близько 20), і тільки частина з них мають чітко помітні характеристичні смуги. Метод матричної ізоляції дозволяє зробити таку складну систему більш придатною для спектрального аналізу ІЧ-Фур'є спектроскопією. Добре відомо, що конформаційна рівновага газової фази може бути точно зафіксована в низькотемпературній матриці (або в надзвуковому пучку) тільки при досить високому бар’єрі між конформерами [3.3-3.5].

Якщо знати величину такого бар'єру, можна зробити наближену оцінку часу інтерконверсії половини молекул $T_{1/2}$ на основі класичної теорії перехідного стану та рівняння Ейрінга:

$$T_{\frac{1}{2}} = \frac{h * \ln(2)}{k_b T e^{\frac{-\Delta G^{\#}}{RT}}} \qquad (3.1)$$

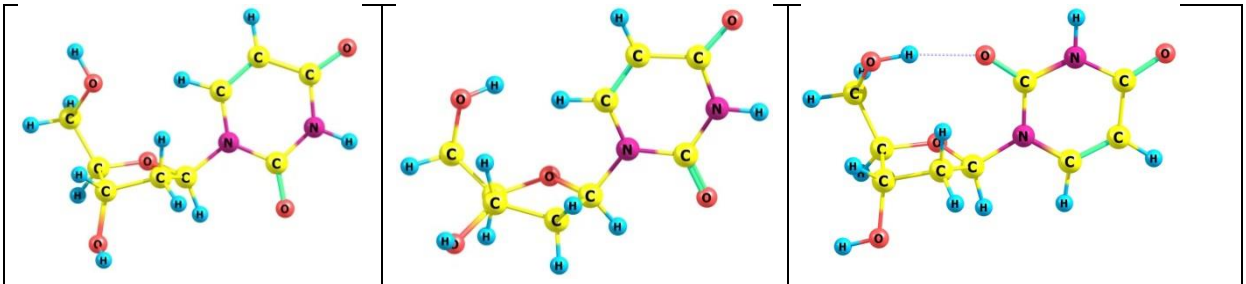
Де $\Delta G^{\#}$ - вільна енергія перехідного бар'єру між конформерами,

h і k_b - постійні Планка і Больцмана відповідно,

T-температура інертної матриці,

R-універсальна газова стала.

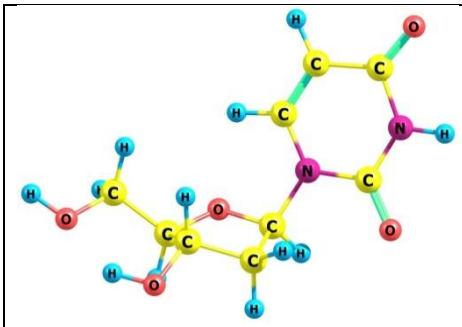
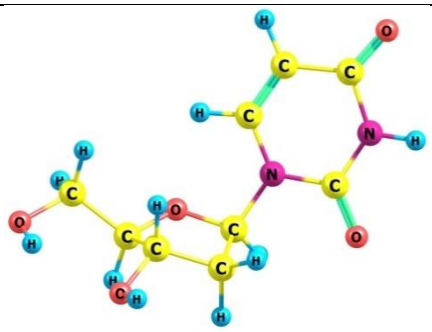
Розрахунки за допомогою рівняння (3.1) показують, що для бар'єрів великих 1.5-2 ккал/моль і нашого температурного діапазону Ar матриць: 8-12K, $T_{1/2}$ перевищує 10^{10} сек і отже за час реального експерименту (3000-6000 сек) зсувом конформаційної рівноваги можна знехтувати. Але якщо висота бар'єру менше, тоді протягом динамічного процесу охолодження відповідні конформації переходять в енергетично вигідні структури. У піримідинових 2'-дезокси-нуклеозидів (dU, тимідин, дейтеро-тимідин) тільки 5 конформацій можуть бути зафіксовані в AR матрицях [3.8, 3.9]. Сумарна зайнятість 3-х основних конформацій Рис. 3.1 знаходиться на рівні 90%.



dua2_0	dua3_0	dus2_0

Рис. 3.1 Структури найбільш заселених конформаційних ізомерів dU з по данним попередніх досліджень [3.8, 3.9] і розрахунками цієї роботи.

Сумарна зайнятість 2-х мінорних конформацій з C3' - ендо структурою цукрового кільця і внутрішньомолекулярними водневими зв'язками O5'H-O3', O3'H-O5' Рис . 3.2 не перевищує 10% [3.9] тому в даному дослідженні розглядалися тільки три основні конформації Рис. 3.1.

	
Dua3_1	Dua3_2
Рис. 3.2 Структури мінорних конформаційних ізомерів dU з по даним попередніх досліджень [3.8, 3.9].	

Для цих конформацій були проведені розрахунки методом DFT з використанням нового функціоналу M062x і функціоналу B3LYP з емпіричною D3(BJ) корекцією [3.10]. Вибір цих функціоналів був обумовлений їх придатністю для коректного розрахунку стекінг-взаємодій, або іншими словами нековалентних π –π взаємодій ароматичних кілець. А саме такі взаємодії будуть важливі для вивчення комплексів нуклеозидів з оксидом графену. Результати розрахунку для конформерів dU представлені у Таблиці 3.1.

У багатьох випадках, знання тільки відносних енергій ΔE замало для коректної оцінки заселеності конформерів. Коректна оцінка заселеності конформера j при температурі T може бути зроблена по стандартній формулі:

$$O_j(T) = \frac{e^{-\Delta G(T)/RT}}{\sum_{i=0}^{n} e^{-\Delta G/RT}} 100\% \qquad (3.2)$$

Де ΔG – відносна вільна енергія Гіббса відповідного конформера, яку квантово-хімічні програми розраховують, як правило, у наближені.

Таблиця 3.1.

Відносні енергії ΔE (ккал/моль) основних конформерів dU розраховані різними методами, а - за результатами літературних даних з попередніх досліджень [3.8,3.9].

Конформери	dua2_0	dua3_0	dus2_0
Торсіонні кути			
<C1'C2'C3'C4'	-31	25	-32
<χ	-129	-133	62
<γ	52	65	44
<β	177	72	64
<ε	174	-167	-65
Методи розрахунків та енергії			
ΔE DFT/B3LYP/ 6-31++G(d,p)	1.22	1.86	(-835. 86329) 0
ΔE DFT/M062x/ 6-311++G(df,pd)	1.88	2.52	(- 835.78657) 0
ΔE DFT/B3LYP/D3(BJ) 6-311++G(df,pd)	1.4	2.03	(- 836.10540) 0
ΔE MP2/aug-cc-pVDZ	1.7[a]	1.9 [a]	0 [a]
заселеність в матриці (%) розрахунок + експеримент	29[a]	43[a]	20[a]

За сприятливих умов, оцінки ΔG(T) для деяких конформерів можна зробити з урахуванням експериментальних спектральних даних за допомогою рівняння:

$$\Delta G_{AB}(T) = -RT \ln K_{AB} = -RT \ln(I_{A_E} I_{B_C} / I_{A_C} I_{B_E}) \qquad (3)$$

де I_{A_E}, I_{B_E} це експериментальні інтенсивності характеристичних смуг поглинання конформерів A та B,

I_{A_C} та I_{B_C} розрахункові інтенсивності відповідних конформерів.

У даній роботі використовувалися дані про заселеність конформерів dU з попередніх досліджень [3.8,3.9].

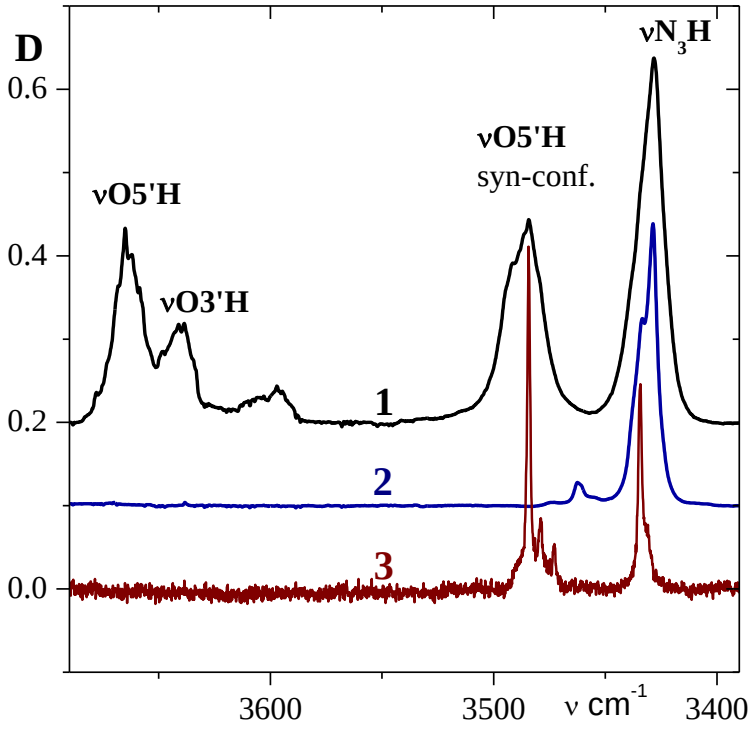


Рис. 3.3 ІЧ-Фур'є спектр області валентних коливань νOH, νNH конформерів 2'-дезоксіуридіну (1), 1-CH3-урацилу (2), урацилу (3) ізольованих в Ar матриці.

При дослідженні нуклеозидів методом матричної ізоляції важливо бути впевненим, що не відбувається розвалу молекули на окремі частини при випаровуванні. У випадку нуклеозидів, саме метод матричної ізоляції дозволяє це зробити просто порівнявши характеристичні смуги поглинання

нуклеозиду та відповідної основи. Таке порівняння для діапазону валентних коливань νOH, νNH показано на Рис. 3.3. Можна побачити, що смуги поглинання dU в Ar матриці. є значно ширшими ніж смуги поглинання 1-CH3-урацилу (2), та особливо, урацилу в Ar матриці Рис. 3.3. Смуги поглинання урацилу в Ar матриці є такими вузькими тому, що пласка молекула урацилу може вбудована поміж шарами решітки Ar без суттєвого спотворення структури решітки Ar [ ]. Натомість нуклеозиди мають об'ємну Рис. 3.2 і досить рухому структуру на яку деякий вплив може мати матричне оточення. Також можлива суперпозиція смуг поглинання декількох конформерів. У підсумку це призводить до відчутного розширення смуг поглинання dU
Рис. 3.3. Зрозуміло, що такі спектральні відмінності є гарантією збереження глікозидного зв'язку при випаровуванні нуклеозиду, а саме dU.

Для аналізу експериментальних спектрів більш складних систем, наприклад різноманітних біокомпозитних плівок за участю нуклеозидів важливо набуття досвіду роботи з так званим «finger print» спектральним діапазоном (1500-500 $см^{-1}$). Для цього було проведено порівняння експериментального спектру dU у цьому діапазоні та візуалізованого розрахункового спектру Рис. 3.4. Розрахунковий спектр представляв суперпозицію спектрів трьох конформерів з урахуванням відповідної заселеності Таб. 3.1. Розрахункові смуги поглинання були представлені контурами з шириною біля 3 $см^{-1}$. Видно, що на якісному рівні експериментальний та розрахунковий спектр добре узгоджуються Рис. 3.4. В області 1300-1000 $см^{-1}$ розташовано багато смуг деформаційних та валентних смуг поглинання кільця основи цукрового кільця, та екзоциклічних груп, які перекриваються. Це приводить до появи достатньо широких смуг поглинання Рис. 3.4. Змінити рівень перекриття можливо за рахунок модифікації окремих груп молекули, найпростіше за допомогою дейтерування.

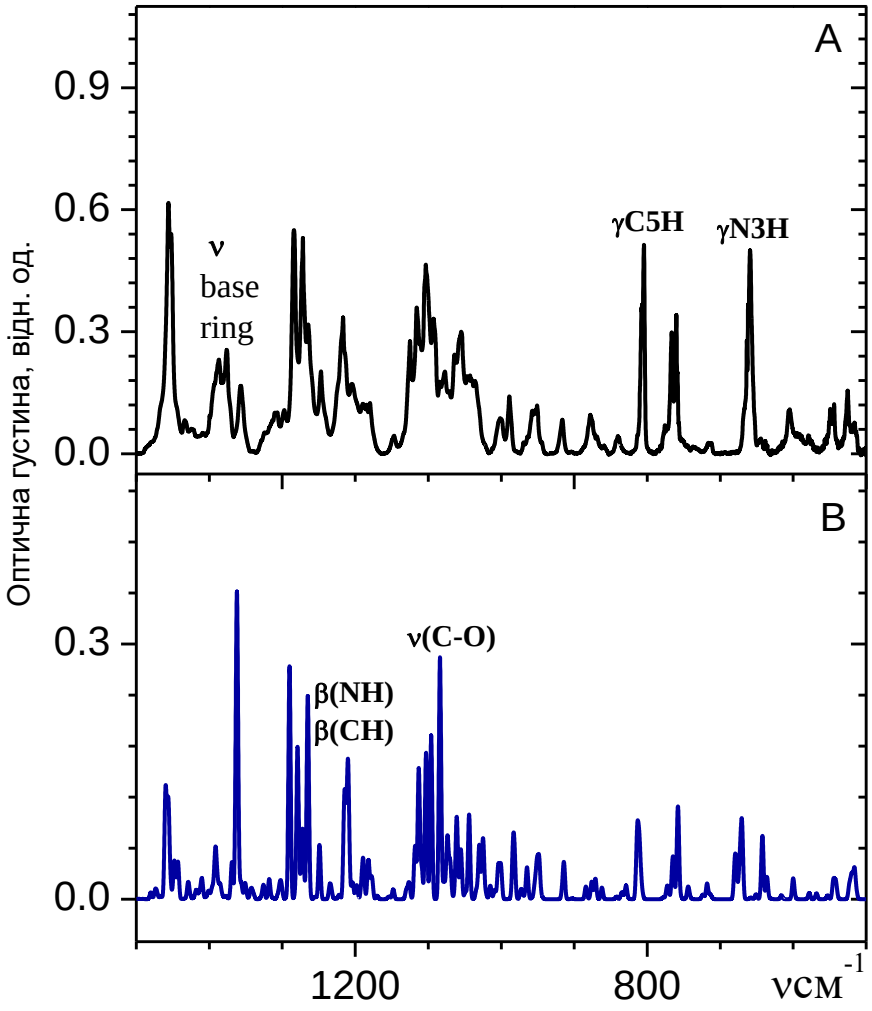


Рис. 3.4. ІЧ-Фур'є спектр «finger print» спектрального діапазону (1500-500 $см^{-1}$) конформерів 2'-дезоксіуридіну: А – експериментальний спектр Ar матриці В – розрахунковий спектр.

3.2. Структури 5BDU в ізольованому стані

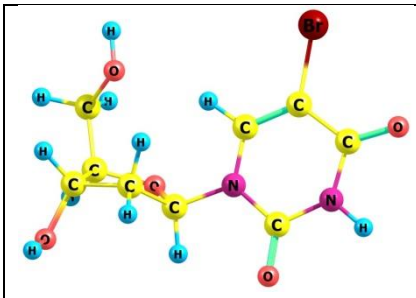
Розрахунки показують (Таб. 2), що відносні енергії та заселеність конформаційних ізомерів 5BDU є достатньо близькими до аналогічних параметрів вже отриманих нами для 2'-дезокси-уридину та тимідину [1].

Найбільш характерні представники конформаційних син- та анти-підмножин 5BDU показані на Рис. 3.5.

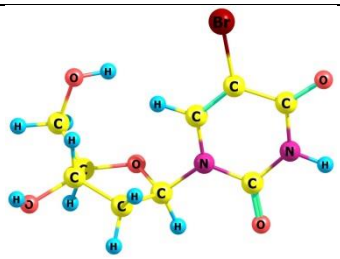
Таблиця 3.2.

Відносні енергії ΔE (ккал/моль) основних конформерів 5BDU розраховані методам DFT

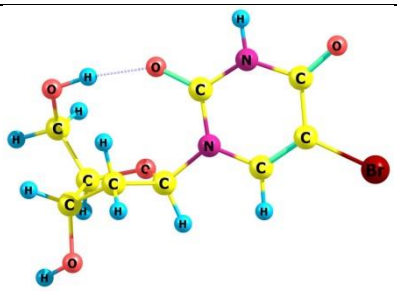
Конформери	bda2_0	bda3_0	bds2_0
Торсіонні кути			
<C1'C2'C3'C4'	-31	23	-33
<χ	-129	-119	62
<γ	53	59	45
<β	179	71	65
<ε	179	-160	-69
Методи розрахунків та енергії			
ΔE DFT/B3LYP/ 6-31++G(d,p)	0.44	1.69	(-3406. 66188) 0



bdua2_0



bdua3_0



bdus2_0

Рис. 3.5. Структури найбільш заселених конформаційних ізомерів 5BDU з по данним попередніх досліджень [3.8, 3.9] і розрахунками цієї роботи.

Можна вважати, що, як і для тимідину, анти-конформери 5BDU домінують в ізольованому стані за рахунок значної кількості конформацій-сателітів, які переходять в процесі заморожування до основних конформацій. Також слід підкреслити, що основа 5Br-урацил має у ізольованому стані тільки один ізомер → дікето-форму, як і урацил.

На відміну від таких нуклеозидів, як 2'-дезокси-уридин та тимідин, 5BDU виявився більш складним об'єктом для вивчення. Експерименти показали що цей нуклеозид має значно меншу термічну стійкість. На Рис. 3.6 видно, що ІЧ-Фур'є спектри ізольованих молекул 5BDU та dU суттєво відрізняються.

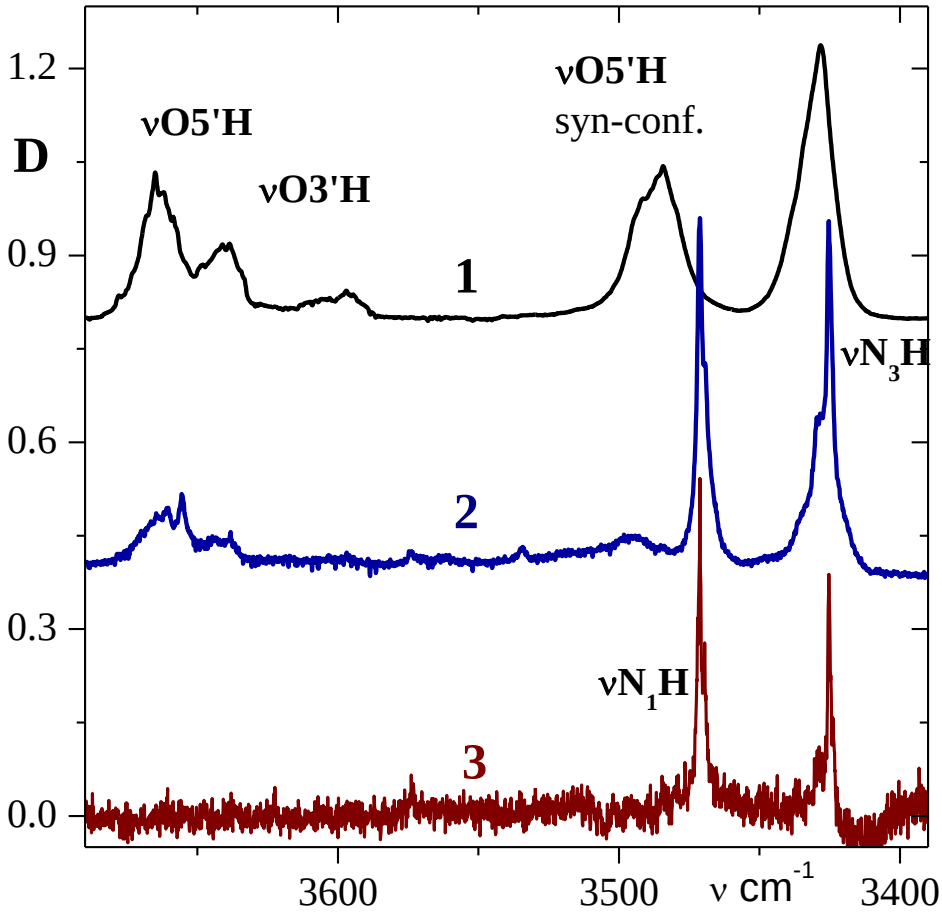


Рис. 3.6. Область валентних коливань νOH, νNH конформерів 2'-дезоксіуридіну (1), 5Br-2'-дезоксіуридіну (2), 5Br-урацилу (3) в Ar матриці.

Якщо в області νOH, спектр 5BDU має дві смуги схожі до смуг dU, то в області νNH у спектрі 5BDU присутні дві відносно вузькі смуги поглинання (Рис. 3.6). Вони занадто вузькі для смуг поглинання нуклеозиду, та дуже добре співпадають зі смугами валентних коливань 5Br-урацилу (Рис. 3.6). Це чітко вказує на розрив глікозидного зв'язку при випаровуванні при температурі 430 К.

3.3. Біокомпозитні плівки с оксидом графена (GO).

3.3.1. Особливості створення біокомпозитних плівок.

В цьому дослідженні біокомпозитні плівки створювались простим крапельним методом. Але відомо, що при крапельному осадженні плівок часто з'являється особливість у вигляді кільцевого стовщення на краю плівки. Таке кільцеве стовщення або «coffee ring» притаманне багатьом плівкам, отриманим крапельним випаровуванням колоїдного розчину. Ефект «coffee ring» викликають потоки рідини від центру до краю краплі, обумовлені випаровуванням рідини та піннінгом, або іншими словами фіксацією кордону розділу фаз [3.13, 3.14]. При піннінгу площа контакту краплі з підкладкою залишається постійною, а крайовий кут краплі постійно зменшується в процесі випаровування. Як результат градієнти товщини плівки різко ускладнюють кількісні спектральні вимірювання.



А Б

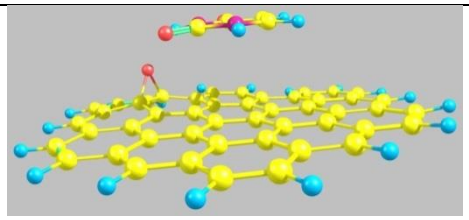
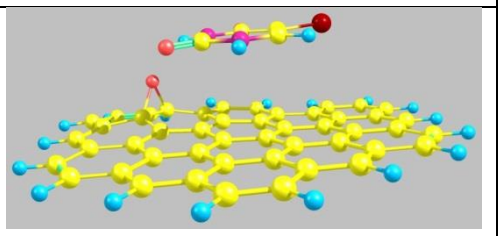
Рис. 3.7. Зображення композитної плівки 5BU/GO (А) та композитної плівки 5BU/MoS2 (Б) нанесених крапельним методом на дзеркала у кріостаті. Плівка Б демонструє кільцеподібний осад «coffee ring», обумовлений піннінгом кордону розділу фаз при висиханні.

Можливо за рахунок впливу сітки міжмолекулярних водневих зв’язків на перенос наночастинок до краю краплі, зразки 5BU/GO (або 5BDU/GO) демонструють практичну відсутність «coffee ring», і відповідно придатність до кількісних вимірювань Рис. 3.7А. Натомість, для зразків композитних плівок 5BU/MoS2 ефект «coffee ring» є чітко вираженим Рис. 3.7Б.

3.3.2. Модельні структури та спектри біокомпозитних плівок 5BrU/GO.

Спочатку були розглянуті прості модельні системи з молекули урацилу або 5BrU і фрагментом пелюстка GO. Розрахунки показали, що енергія стекінг-взаємодії між основою та фрагментом пелюстка GO знаходиться на рівні 12-17 ккал/моль. Ці цифри помітно перевищують енергію в стекінг–димерах 5BrU та інших піримідинових основ. [3.12]. Але якщо молекула основи утворює міжмолекулярний водневий зв'язок з епоксі-групою GO, повна енергія взаємодії зростає ще більше Рис. 3.8.

Рис. 3.8 Модельні структури урацил/GO (A), 5Br_uracil/GO (B) та енергії взаємодії модельних кластерів (ккал/моль), розраховані різними методами ДФТ.

Метод	 A	 B
M062	12.9	15.2
D3(BJ)	17.1	19.9

На основі цих даних можна передбачити , що взаємодія 5BrU/GO з включенням епоксі-груп може суттєво впливати на асоціацію молекул 5BrU у композитних плівках. Для аналізу цього впливу були отримані спектри композитних плівок 5BrU/GO з різною концентрацією молекул 5BrU Рис 3.9. В спектрі плівки з найбільшою концентрацією 5BrU частина смуг поглинання має асиметричну форму Рис. 3.9А. Оскільки для вимірювання ІЧ-Фур'є спектрів композитних плівок використовувалась схема дзеркального відбиття то таку асиметрію може викликати відображення інфрачервоного випромінювання від досить великих мікрокристалів 5BrU, що утворилися в композитної плівці в процесі висихання. Цей фундаментальний ефект пов'язаний з аномальною дисперсією в частотному діапазоні смуги поглинання і відповідно зміною коефіцієнта відбиття плівки в цій смузі [35]. При зменшенні концентрації молекул 5BrU асиметрія смуг практично зникає Рис. 3.8Б. Також зменшується інтенсивність смуг поглинання, але, не завжди пропорційно концентрації. Це може свідчити про суттєве зменшення розмірів кластерів 5BrU, і їх більш рівномірному розподілі в композитної плівці. Відповідно, при зменшені розміру кластеру зростає вплив епоксі-груп на структуру кластерів 5BrU через міжмолекулярний водневий зв'язок.

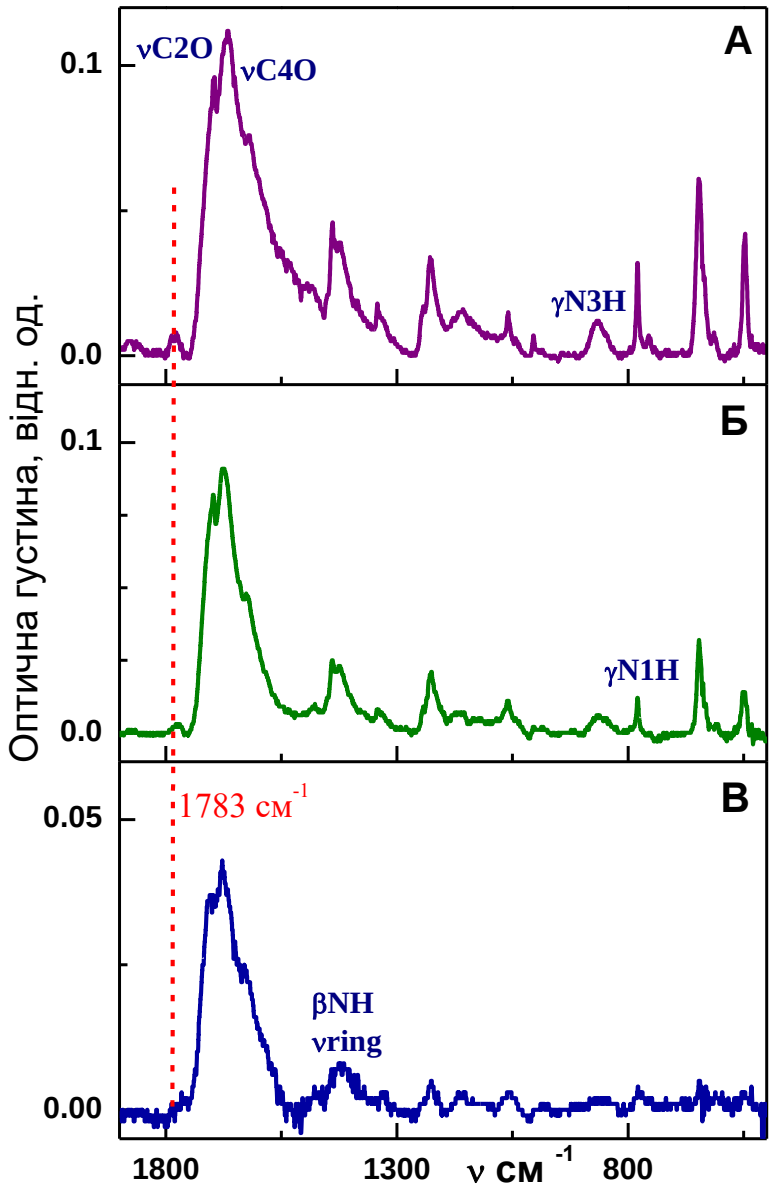


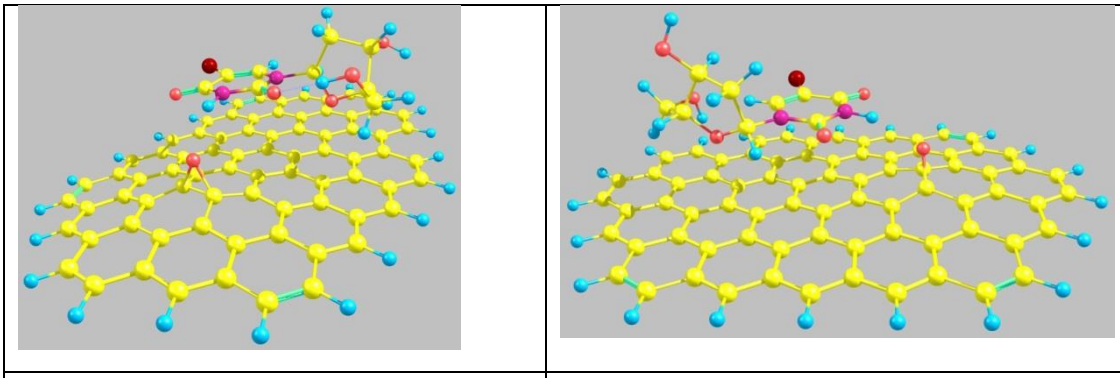
Рис. 3.9. ІЧ-Фур'є спектри композитних плівок 5BU/GO при різній питомій густині біомолекул в області 1900-500 $см^{-1}$: А - питома густина 5Br-урацилу- 50 10^{-6} г / $см^2$; Б - питома густина 5BU -25 10^{-6} г /$см^2$; В - питома густина 5BU -12 10^{-6} г /$см^2$; Зі спектрів композитних плівок віднято спектр контрольної плівки GO.

Можна припустити, що стохастичний розкид епоксі-груп по поверхні графену (слід відмітити, що епоксі-групи, можуть бути розташовані з обох сторін графенового пелюстка), призведе до великої кількості варіантів

структури кластерів 5BrU. При подальшому двократному зменшенні концентрації молекул 5BrU в експериментальному спектрі спостерігається розширення смуг поглинання деформаційних коливань і зниження їх пікової інтенсивності, особливо для смуг з частотами менше 1000 $см^{-1}$ (Рис. 3.8В). Причому практично зникають смуги поглинання позаплощинних деформаційних коливань γNH Рис. 3.8Б. Також при мінімальній концентрації молекул 5BrU в композитній плівці практично зникає смуга поглинання з частотою 1783 $см^{-1}$ (Рис. 3.8В). Раніше подібна смуга поглинання реєструвалася в композитних плівках 5Cl-урацил/GO і фактично
може слугувати ознакою кристалічності структури композитної плівки. Також наслідком зменшення концентрації 5BrU є помітне збільшення ширини деяких смуг поглинання у спектрі композитних плівок 5BrU/GO (Рис. 3.8). Це відображає участь молекул 5BrU у формуванні сітки міжмолекулярних водневих зв'язків з наночастинками GO (переважно через епоксі-групи, які можуть бути розташовані з обох сторін графенового листа).

3.3.3. Модельні структури та спектри біокомпозитних плівок 5BDU/GO.

Розрахункові квантово-механічні дослідження модельних систем 5BDU/GO є значно складнішими у порівнянні з композитами 5BrU/GO не тільки через збільшення кількості базисних функцій і відповідно витрат комп'ютерного часу. Також кожна основна конформація нуклеозиду має два початкові варіанти розташування біля площини графенового пелюстка, які пов'язані з розворотом на 180^0 кільця основи по відношенню до базальної площини графену. Розрахунки показали, що структури зі стекінг- (або π-π) взаємодією між піримідиновим кільцем нуклеозиду і базальної площиною GO значно вигідніше енергетично. Дві такі структури, (найвигідніші з точки зору міжмолекулярної взаємодії) показані на Рис. 3.10.



bdus2_0/GO	bdua3_0/GO

Рис. 3.10. Модельні структури син- та анти- конформаційних ізомерів 5BDU з найбільшими енергіями міжмолекулярної взаємодії (ккал/моль)

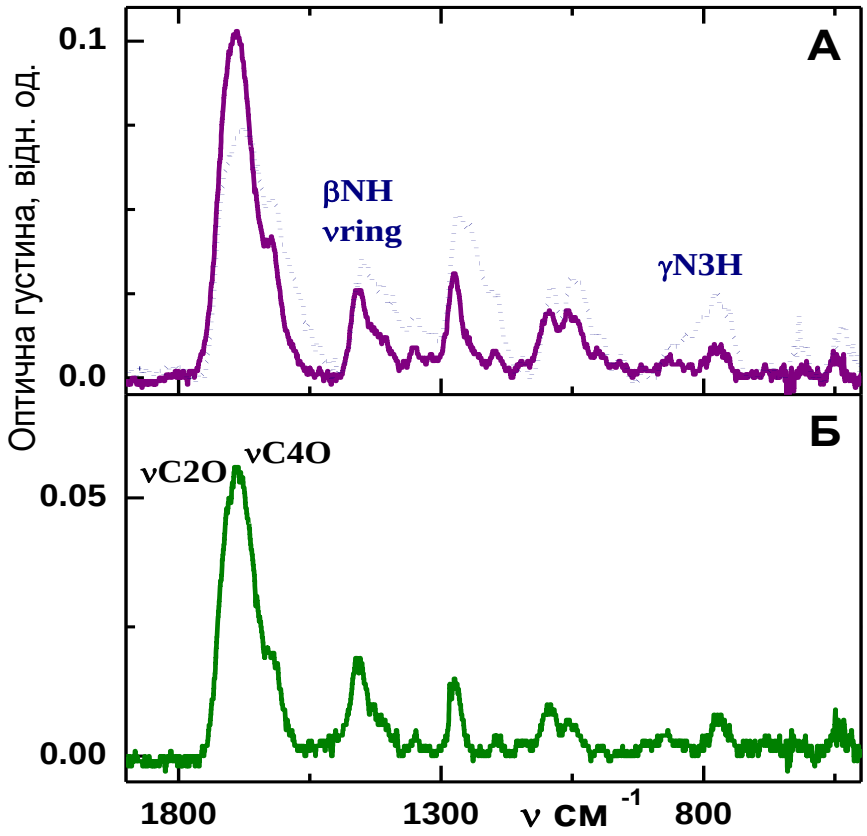


Рис. 3.11. ІЧ-Фур'є спектри композитних плівок 5BDU/GO при різній питомій густині біомолекул в області 1900-500 $см^{-1}$:

А - питома густина 5BDU 100 10^{-6} г / $см^2$;

В - питома густина 5BDU -50 10^{-6} г /$см^2$;

пунктир плівка 5BDU на дзеркалі;

Зі спектрів композитних плівок віднято спектр контрольної плівки GO.

Можна побачити, що ширина смуг поглинання композиту плівки 5BDU/GO в області 1800-1300 $см^{-1}$ майже не змінюється, але в діапазоні 1300-500 $см^{-1}$ смуги поглинання цього композиту трохи ширше, ніж в композитних плівках 5BrU/GO Рис. 3.8, 3.11. Таке розширення смуг поглинання у спектрі композиту 5BDU/GO можна пояснити наявністю смуг поглинання деформаційних коливань дезоксирибозного кільця. Важливо відмітити, що смуги поглинання в плівці чистого нуклеозиду 5BrdU виявляються помітно ширше ніж смуги в спектрі композиту 5BDU/GO Рис. 3.11A практично у всьому діапазоні 1800-1300 $см^{-1}$. Такі спектральні особливості добре корелюють з результатами розрахунків модельних структур Рис. 3.10. Розрахунки показують не тільки енергетичну вигідність стекінгу у системі нуклеозид/GO, але також наявність значно енергетично вигідніших конформацій нуклеозиду для такої взаємодії Рис. 3.10. Це, безсумнівно, звужує конформаційне різноманіття 5BBDU в композитної плівці, що відповідно приводить до зменшення ширини смуг поглинання. Також слід відмітити зниження інтенсивності смуг поглинання валентних коливань νCO в експериментальних спектрах композиту 5BDU/GO Рис. 3.11. в порівнянні з спектром 5BrU/GO Рис. 3.9. Розрахунки коливальних спектрів показують, що в стекінг-структурах з’являється помітний гіпохромний ефект (зниження інтенсивності) для смуг поглинання багатьох коливань. Тоді причиною цього зниження інтенсивності в спектрах композиту 5BDU/GO, можна пояснити гіпохромним ефектом, якщо припустити що стекінг-структури в такому композиті переважають.

Всі ці особливості спектрів композитних плівок треба буде ретельно враховувати при створені та досліджені плівок зі значно меншою концентрацією біомолекул у графеновому композиті. А таке зменшення концентрації може бути вельми потрібним для покращення корисних властивостей композитних плівок.

ВИСНОВКИ

За результатами експериментів і квантово-механічних розрахунків, будо встановлено, що рівновага газової фази між основними анти та син-конформерами піримідинових нуклеозидів зберігається при заморожуванні в інертних матрицях Ar.

Підтверджено, що в ізольованому стані домінують два анти-конформери , 2’-дезоксиуридину, що відрізняються структурами дезоксирибозного кільця: C2'-ендо та C3'-ендо-.

Під час експерименту встановлено, що 5Br-2’-дезоксиуридин має меншу температурну стабільність чим 2’-дезоксиуридин.

Була продемонстрована можливість формування крапельним методом однорідних композитних плівок за оксидом графену, чому сприяє розгалужена сітка міжмолекулярних водневих зв’язків у такому композиті.

Продемонстровано вплив оксиду графену на спектральні характеристики композитних плівок нуклеозидів.

Встановлено, що оксид графену може впливати на конформаційну рівновагу анти/син 5Br-2’-дезокси-уридину при утворенні комплексів у композитних плівках.

Ці експериментальні результати, а також розрахунки демонструють можливість створення стабільних композитних структур з нуклеозидів і графену, які можуть бути використані для подальших досліджень у нанофізиці і наномедицині.

ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Nucleic acid in the Gas Phase Ed. V. Gabelica, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (2014).
https://*doi*.org/10.1007/978-3-642-54842-0

2. M. S. de Vries and P. Hobza // Annu. Rev. Phys. Chem. 58, 585 (2007)
https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.57.032905.104722

3. R. Weinkauf, J.-P. Schermann, M.S. de Vries, and K. Kleinermanns, *Eur. Phys. J.* D 20, 309 (2002).
https://doi.org/10.1140/epjd/e2002-00185-0

4. R.N. Casaes, J.B. Paul, R.P. McLaughlin, R.J. Saykally, and T. van Mourik, *J. Phys. Chem*. A 108, 10989 (2004). https://*doi*.org/10.1021/jp040302d

5. J.P. Simons, R.A. Jockusch, P. Carcabal, I.H. Nig, R.T. Kroemer, N.A. MacLeod, and L.C. Snoek, *Int. Rev. Phys.Chem*. 24, 489 (2005). https://doi.org/10.1080/01442350500415107

6. R. R. Wu, Bo Yang, G. Berden, J. Oomens, and M. T. Rodgers J. Phys. Chem. B 119, 2795 (2015)
https://*doi*.org/10.1021/jp509267k

7 J.-Y. Salpin, D. Scuderi, Rapid Communications in Mass Spectrometry 29 (20),1898 (2015)
https://doi.org/10.1002/rcm.7296

8. W. Saenger, *Principles of Nucleic Acids Structure*, Springer- Verlag, New York (1984).
https://*doi*.org/10.1007/978-1-4612-5190-3

9. S.A. Krasnokutski, A.Yu. Ivanov, V. Izvekov, G.G. Sheina, and Yu.P. Blagoi, *J. Mol. Struct*. 482–483, 249 (1998). https://doi.org/10.1016/S0022-2860(98)00665-6

[10] Yin P.T., Shah S., Chhowalla M., Lee K.-B. Design, synthesis, and characterization of graphene−nanoparticle hybrid materials for bioapplications. *Chem. Rev.* 2015; 115 (7): 2483-532.

[11] Heerema S.J., Dekker C. Graphene nanodevices for DNA sequencing. *Nature Nanotechnology*. 2016; 11: 127-36.

[12] Xiao L, Xu L., Gao Ch. Zhang Yu. Yao Q., and Zhang G.-J. A MoS2 nanosheet-based fluorescence biosensor for simple and quantitative analysis of DNA methylation. *Sensors*. 2016; 16, 1561-71.

[13] Yadav V., Roy S., Singh P., Khan Z., and Jaiswal A. 2D MoS2-Based Nanomaterials for Therapeutic, Bioimaging, and Biosensing Applications. *Small*. 2019; 15, 1803706-39.

[14] Danilov V.I., van Mourik T., Kurita N., Wakabayashi H., Tsukamoto T, and Hovorun D.M. On the Mechanism of the Mutagenic Action of 5-Bromouracil: A DFT Study of Uracil and 5-Bromouracil in a Water Cluster. *J. Phys. Chem.* A, 2009; 113, 2233-35.

[15] Abdoul-Carime H., Huels M.A., Illenberger E., and Sanche L. Sensitizing DNA to Secondary Electron Damage: Resonant Formation of Oxidative Radicals from 5-Halouracils *J. Am. Chem. Soc*. 2001; 123, 5354-55.

[16] F. Hashiya, A. Saha, S. Kizaki, Y. Li , H. Sugiyama, Locating the uracil-5-yl radical formed upon photoirradiation of 5-bromouracil-substituted DNA. *Nucleic Acids Research*, 2014; 42(22), 13469-73.

[17] Introduction to Computational Chemistry Ed. Frank Jensen, John Wiley & Sons Ltd, (1999)

[18] Иванов А.Ю. Молекулярная структура и термодинамические параметры изомерных переходов примесных биоорганических молекул, конденсированных в низкотемпературных матрицах инертных газов// Дисс. канд. физ.-мат. наук, Харьков. ФТИНТ им. Б.И. Веркина НАН Украины. 1999. с. 186.

[19] M. Hartmann, R.E. Miller, J.P. Toennis, and A. Vilesov, *Phys. Rev. Lett.* **75**, 1566 (1995).

[20] R. N. Casaes, J. B. Paul, R. P. McLaughlin, R. J. Saykally, van Mourik T. Infrared Cavity Ringdown Spectroscopy of Jet-Cooled Nucleotide Base Clusters and Water Complexes J. Phys. Chem. A, 108, 10989 – 96 (2004)

[21] R. Weinkauf, J.-P. Schermann, M.S. de Vries and K. Kleinermanns Molecular physics of building blocks of life under isolated or defined conditions Eur. Phys. J. D 20 , 309-316 (2002)

[22] M.S. de Vries and P. Hobza, Gas-Phase Spectroscopy of Biomolecular Building Blocks Annu. Rev. Phys. Chem. 58, 585 (2007).

[23] S. Cradock and A.J. Hinchliffe, Matrix Isolation, Cambridge University Press, New York (1975).

[24]. Р. Дж. Белл. Введение в Фурье-спектроскопию. - Москва: Мир, 1975.- 380 стр.

[25] P. R. Griffiths and J. A. de Haseth, Fourier Transform, Infrared Spectrometry Second Edition, Wiley, New York (2007).

[26] A.Yu. Ivanov, A.M. Plokhotnichenko, E.D. Radchenko, G.G. Sheina, and Yu.P. Blagoi, *J. Mol. Struct.* **372**, 91 (1995). https://doi.org/10.1016/0022-2860(95)08976-4

[27] A.Yu. Ivanov and A.M. Plokhotnichenko, *Instr. Experim.Techn.* **52**, 308 (2009).

[28] Gaussian 16, Revision B.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand,

K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.

[29] Alex A. Granovsky, *Firefly Version 7.1.G*, http://classic.-chem.msu.su/gran/firefly/index.html (2009).

[30] M.W. Schmidt, K.K. Baldridge, J.A. Boatz, S.T. Elbert, M.S. Gordon, J.H. Jensen, S. Koseki, N. Matsunaga, K.A. Nguyen, S. Su, T.L. Windus, M. Dupuis, and J.A. Montgomery, *J. Comput. Chem*. 14, 1347 (1993). *http://dx.doi.org/10.1002/jcc.540141112*

[31] M.Wojdyr, J. Appl. Cryst.43, 1126 (2010)

[32] K. Irikura, *Program SYNSPEC*, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899, USA (1995). *http://dx.doi.org/10.1107/S0021889810030499*

[33] Жураківський Р.О., Говорун Д.М. // Біополімери і клітина. 2006.,Т. 22, № 5., с. 465_474.

[34] Жураківський Р.О., Говорун Д.М. // Ukr Bioorg Acta 4, №1 2006, 34-41

[35] P. Felder, Hs.H. Gunthard, Chem. Phys. 71 (1982), p. 9.

[36] Barnes A.J., // J.Mol. Struct. 113, (1984), p.161-174

[37] R.S.Ruoff, T.D.Klots, T.Emilsson, H.S.Gutowsky, J. Chem. Phys. 93 ,1990, p. 3142.

[38] J.H. Jensen and M.S.Gordon J.Am.Chem.Soc. 113, 1991, p.7917-7924

[39] Ivanov A.Yu. Features of the conformational structures of 2′ -deoxyuridine, matrix isolated in Ar and Kr Low Temperature Physics 34, 762 (2008);

[40] Ivanov A.Yu., Stepanian S.G., Karachevtsev V.A., Adamowicz L. Nucleoside conformers in low-temperature argon matrices: Fourier transform IR spectroscopy of isolated thymidine and deuterothymidine molecules and quantum-mechanical calculations. *Low Temp. Phys*. 2019; 45, 1008-18.

[41] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, and H. Krieg, *J. Chem. Phys*. **132**, 154104 (2010).

[42] Holroyd L.F., van Mourik T. Stacking of the mutagenic base analogue 5-bromouracil: energy landscapes of pyrimidine dimers in gas phase and water. *Phys.Chem.Chem.Phys.* 2015; 17, 30364-70.

[43] J.H. Jensen and M.S. Gordon J. Am. Chem. Soc. 113, 7917

[44] Deegan R.D., Bakajin O., Dupont T.F., Huber G., Nagel S.R., and Witten T.A. Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops. *Nature.* 1997; 389, 827-29.

[45] Deegan R.D., Bakajin O., Dupont T.F., Huber G., Nagel S.R., and Witten T.A. Contact line deposits in an evaporating drop. *Phys. Rev. E* 2000; 62, 756-65.