

АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН
ФИЗИКО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. С.У. УМАРОВА

На правах рукописи

УДК 535.34.375.34. 541.64.543.422.23

Умаров Насимджон Негматович

**ВЛИЯНИЕ РАДИАЦИОННОГО ФОНА НА КОЛЕБАТЕЛЬНУЮ И
ВРАЩАТЕЛЬНУЮ ДИНАМИКУ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП
РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ (ДОННИКА,
РЕПЕЙНИКА, ПОДОРОЖНИКА)**

01.04.07- физика конденсированного состояния

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание учёной степени кандидата
физико-математических наук

Научные руководители:

доктор химических наук Шукуров Т.
кандидат физ.-мат. наук, доцент Юсупов И.Х.

Душанбе-2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|---|----|
| ВВЕДЕНИЕ | 4 |
| ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР | |
| 1.1. Общие представления о физико-химических свойствах органических природных соединений | 10 |
| 1.2. ИК-спектры природных соединений в области колебаний гидроксильных и карбоксильных групп | 13 |
| 1.3. Физические свойства биополимеров по данным электронного парамагнитного резонанса | 22 |
| 1.4. Изучение молекулярной динамики биополимеров и функциональных групп природных соединений методом спиновых меток | 26 |
| ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ | |
| 2.1. Объекты исследования | 31 |
| 2.2. Метод инфракрасной спектроскопии и его информативность | 31 |
| 2.3. Метод электронного парамагнитного резонанса | 35 |
| 2.4. Метод спиновых меток | 40 |
| 2.5. Определение динамических параметров характеристического вращения спиновой метки | 45 |
| 2.6. Оценка энергии межмолекулярного взаимодействия методом спектроскопии | 47 |
| ГЛАВА III. ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СВОЙСТВ ОРГАНИЧЕСКИХ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ | |
| 3.1. Исследование влияния уровня радиационного фона среды произрастания на спектральные характеристики репейника | 51 |
| 3.2. Исследования влияния радиационного фона на спектральные | 61 |

| | |
|---|-----|
| свойства молекул донника | |
| 3.3. Молекулярные свойства донника в зависимости от места произрастания | 65 |
| 3.4. Влияние места произрастания подорожника ланцетного на его спектральные характеристики | 70 |
| 3.5. Влияния пестицидов на молекулярное структурообразование природных соединений | 77 |
| ГЛАВА IV. ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЙ МЕТОДАМИ ЭПР-СПЕКТРОСКОПИИ И СПИНОВЫХ МЕТОК | |
| 4.1. Исследование влияния уровня радиационного фона на кинетику образования парамагнитных центров в растениях | 82 |
| 4.2. ЭПР-исследование спектроскопических свойств подорожника ланцетного | 86 |
| 4.3. Качественный анализ спектров ЭПР спин-меченых листьев репейника при разных уровнях радиационного фона | 88 |
| 4.4. Количественный анализ спектров ЭПР спин-меченых листьев репейника при разных уровнях радиационного фона | 91 |
| 4.5. Исследование корреляции между молекулярно-динамическими и механическими характеристиками репейника | 95 |
| 4.6. Молекулярная динамика функциональных групп донника в зависимости от места прорастания | 99 |
| 4.7. Влияние пестицидов на динамические параметры природных соединения | 101 |
| ОБЩИЕ ВЫВОДЫ | 104 |
| ЛИТЕРАТУРА | 106 |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Изучение свойств органических и неорганических соединений растительного происхождения, синтезирующихся в условиях непрерывного воздействия внешних факторов (радиационный фон, химический состав почвы, высота произрастания, температурный режим окружающей среды и пр.) является одной из важных задач физики, химии и других смежных с ними наук. Формирование молекулярной и надмолекулярной структур растительных соединений напрямую зависит от влияния внешних факторов. Анализ литературных данных показывает, что довольно часто исследования природных соединений проводятся на примере образцов растений, выращенных в условиях нормального радиационного фона. Однако бурное развитие промышленных предприятий, автотранспорта, добычи радиоактивного сырья и производства ядерного топлива привели к серьёзным нарушениям состояния окружающей среды, природных ландшафтов, к загрязнению атмосферы, почвы, воды, что стало представлять серьёзную экологическую опасность, в том числе и для роста и развития растений. Естественно, что изменение условий произрастания растений может отразиться на формирование как молекулярной, так и надмолекулярной структуры и свойствах лекарственных и пищевых растений. В связи с этим, возникает вопрос о необходимости исследования влияния внешних факторов на физико-химические свойства и химический состав органических соединений растений. Одним из эффективных способов изучения молекулярно-динамических и конформационных характеристик молекул биополимеров является их спектроскопическое исследование с привлечением метода ИК-спектроскопии и метода спиновых меток.

Актуальность подобных исследований определяется ещё и тем, что их результаты могут служить научной основой биомониторинга окружающей среды, на основе которого можно вырабатывать обоснованные предложения по улучшению качества лекарственных и пищевых продуктов растительного происхождения.

Цель работы заключалась в выявление влияния уровня радиационного фона места произрастания репейника, донника и подорожника на колебательную и вращательную динамику их гидроксильных групп спектроскопическими методами.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

-исследование влияния радиационного фона и места произрастания на изменение количества гидроксильных групп в составе молекул донника, репейника и подорожника;

-оценка энергии межмолекулярного взаимодействия гидроксильных групп в молекулах соединений изученных растений;

-изучение влияния уровня радиационного фона и места произрастания на вращательную подвижность гидроксильных групп молекул исследованных объектов;

-разработка метода модификации структуры растений спиновыми метками;

-исследование зависимости подвижности гидроксильных групп молекул растений от температуры и дозы радиации.

Научная новизна работы заключается в следующем:

-**установлено**, что количество гидроксильных групп в листьях растений с ростом уровня радиационного фона нелинейно уменьшается, а в корневищах изменяется экстремально (через максимум);

-**показано**, что после катионной обработки зависимость количества гидроксильных групп от уровня радиационного фона в листьях растений переходит от нелинейного падения к экстремальному, а для корневищ- от экстремального к линейному падению;

-**выявлено** общее уменьшение энергии межмолекулярного взаимодействия гидроксильных групп молекул для всех растений, не зависимо от составных частей, по мере роста уровня радиации;

-обнаружен рост вращательной подвижности молекул растений с ростом уровня радиации и концентрации пестицидов в почве;

-определены параметры молекулярной подвижности молекул растений в зависимости от уровня радиационного фона места произрастания в широком интервале температур;

-оценена эффективная энергия активации ($\Delta E_{эфф}$) вращательной диффузии молекул репейника и показана её корреляция с энергией механического разрушения образцов растения.

-установлено, что концентрация свободных радикалов в веществе растений уменьшается с ростом уровня радиационного фона по экспоненциальному закону;

Научно-практическая значимость работы заключается в том, что полученные молекулярно-динамические и спектроскопические характеристики соединений растений могут быть использованы в пищевой промышленности, медицине, фармакологии, парфюмерии и других отраслях народного хозяйства, способствуют развитию фундаментальных представлений о молекулярном строении биообъектов, при разработке путей целенаправленной модификации их структуры и свойств, а также при эко-мониторинге окружающей среды.

Защищаемые положения:

-влияние уровня радиационного фона на спектральные характеристики функциональных групп молекул растений;

-влияние уровня радиационного фона и концентрации пестицидов почвы на энергию межмолекулярного взаимодействия гидроксильных групп молекул растений;

-влияние температуры и уровня радиационного фона на частоту корреляции молекулярного движения нитроксильных радикалов, присоединённых к молекулам растений, в трехсантиметровом диапазоне;

-высокая эффективность использования метода спиновых меток в качестве метода исследования структуры растительных соединений;

-обратная пропорциональность между эффективной энергией активации вращательной подвижности гидроксильных групп и уровнем радиационного фона в широком интервале температур.

Достоверность полученных результатов подтверждается применением современных спектральных методов, использованием калиброванной аппаратуры, хорошей воспроизводимостью результатов в широком диапазоне внешних условий и согласием полученных результатов с экспериментальными данными других авторов.

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в разработке и подготовке объектов исследования, измерениях и обработке результатов, их обсуждении и подготовке основных материалов к публикации.

Апробация результатов исследований. Материалы диссертации доложены на: Международной конференции по физике конденсированного состояния, посвящённой 85-летию академика А.А. Адхамова (Душанбе, 17-18 октября 2013 г.); IV международной конференции «Современные проблемы физики» (Душанбе, 5 декабря 2014 г.); республиканской научно-практической конференции «Проблемы современной физики», (Худжанд, 2015 г.); Международной научно-практической конференции «Современные проблемы математических и естественных наук» (Казань, 8 июня 2015 г.); республиканской научной конференции «Современные проблемы физики конденсированного состояния» (Душанбе, 24 октября 2015г.); Международной научно-практической конференции «Новейшие достижения и успехи развития естественных и математических наук» (Краснодар, 25 июня 2016 г.); V международной конференции «Современные проблемы физики» (Душанбе, 18 ноября 2016 г.); Международной конференции «Перспективы развития физической науки» (Душанбе, 14 апреля 2017 г.); Международной конференции «Актуальные проблемы современной физики» (Душанбе, 18 апреля 2018 г.).

Публикации. По результатам исследования опубликовано 25 научных трудов, из которых 8 статей в рецензируемых научных журналах из Пе-

речня ВАК при Президенте Республики Таджикистан, 17 - в материалах докладов на международных и республиканских конференциях.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 122 страницах компьютерного текста и состоит из введения, литературного обзора, методической и экспериментальной частей, выводов и практических рекомендаций, списка литературы из 164 наименований и приложения. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 29 рисунками.

Ключевые слова: функциональная группа, радиационный фон, спектроскопия, энергия, спиновая метка, радикал, вращательная подвижность.

Краткое содержание работы.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цели и задачи диссертационной работы, отражена её научная и практическая значимость.

В первой главе диссертации приводится анализ литературных данных по исследованию структуры и свойств природных органических соединений растительного происхождения различными физико-химическими методами. Показано, что подавляющая часть этих исследований относится к растительным объектам, выращенным в лабораторных высокостерильных условиях, которые существенно отличаются от дикорастущих растений, находящихся в условиях постоянного действия окружающей среды. Всё ещё остаются недостаточно изученными вопросы о влиянии техногенных (антропогенных) факторов на структурные свойства функциональных групп растений, состава атмосферы и радиационного фона на параметры межмолекулярного взаимодействия, конформацию и молекулярную динамику и многие др. Совершенно не изучена связь между механическими свойствами растений и их структурными характеристиками. Исходя из этого формулируется постановка задачи исследования.

Во второй главе приведено краткое описание использованных в работе экспериментальных методов исследования, методики приготовления

образцов материалов исследуемых растений, метода расчёта средней энергии межмолекулярного взаимодействия водородных связей и определения среднего значения эффективного энергии активации, метода определения количества привитых к образцам нитроксильных радикалов, времени корреляции и частоты вращения в области медленного вращения радикалов.

В третьей главе приведены результаты исследования влияния внешних факторов (уровня радиационного фона, высоты произрастания над уровнем моря и др.) на колебательно-вращательные спектры и энергию межмолекулярного взаимодействия функциональных групп молекул репейника и донника, что выражается в изменении количества гидроксилсодержащих веществ в растениях. Показана существенная зависимость некоторых свойств образцов растений от его составных частей (корневище, стебли, листья). Показано, что жизнедеятельность растений связана с аккумуляцией внешней энергии и экологическими условиями места произрастания. Эти факторы существенно влияют на структуру и физико-химические свойства молекул растений и их спектральные характеристики. Установлено, что внешние факторы и условия произрастания влияют на колебательно-вращательную подвижность и энергию взаимодействия функциональных групп, т.е. на структуру и свойства макромолекул растений.

В четвёртой главе приведены результаты исследования кинетики накопления парамагнитных центров и молекулярно-динамических параметров растений методом ЭПР-спектроскопии. Приведены результаты сравнительного анализа спектроскопических параметров материалов растений с параметрами их механической деструкции. Оценена эффективная энергия активации вращательной подвижности функциональных групп в зависимости от уровня радиационного фона.

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Общие представления о физико-химических свойствах природных соединений

Известно, что растительный мир состоит из органических и неорганических соединений самого различного строения и структуры. Изучение соединений природного происхождения на примере лекарственных и пищевых растений было и остаётся одной из актуальнейших задач естествознания.

Многие ценные продукты, извлекаемые из растений, широко применяются как в народной, так и официальной медицине. На территории бывшего Союза растёт более 20 000 видов высших и низших растений, более 2 500 из которых имеют лекарственные свойства. В официальной медицине используют около 250 видов [1]. В Таджикистане растёт более 1 500 видов лекарственных растений, используемых в народной медицине. Из них около 150 видов применяются или рекомендованы к применению в официальной медицине [2]. Около 40 % лекарственных средств изготавливаются из растений или содержат в своём составе действующие вещества растительного происхождения. В последние годы потребность в лекарственных растениях растёт.

В период роста и созревания в растениях непрерывно происходят самые разнообразные химические превращения. При фотосинтезе, дыхании, обмене веществ, синтезе белков, жиров, углеводов, витаминов и других соединений происходят сложнейшие реакции, которые с трудом воспроизводятся вне растений. Между тем, в клетках растений эти реакции протекают легко и с большой скоростью.

Среди пигментов зелёного листа, несомненно, важное место принадлежит хлорофиллу. Хлорофилл – самое интересное из всех созданных природой органических соединений. Хлорофиллы являются Mg – производными порфирина – соединения, состоящего из четырех колец пиррола, связанных друг с другом метиновыми мостиками (-CH=). В центре молекулы хлорофилла находится магний. Кроме магния в образовании хлорофилла участвуют

ионы железа, которые содержатся в ряде дыхательных ферментов. Указанные микроэлементы оказывают положительное действие на процесс роста растений, на их устойчивость к климатическим факторам, болезнетворным микроорганизмам и т.д. [3].

Вся растительность содержит, кроме того, целлюлозу, массовое содержание которой для различных растений колеблется в пределах 30-60 масс.%. Целлюлоза является одним из основных компонентов клеточных стенок растений, хотя содержание данного полимера в различных клетках растений или даже частях стенки одной клетки сильно варьирует [4].

Целлюлоза в клеточных стенках организована в микрофибриллы, представляющие несколько отдельных макромолекул, связанных между собой водородными связями и силами Ван-дер-Ваальса. Макромолекулы, находящиеся в одной плоскости и связанные между собой водородными связями, формируют лист в пределах микрофибриллы. Между собой макромолекулы на листьях связаны большим числом водородных связей. Сами по себе водородные связи достаточно слабые, но большое количество микрофибрилл целлюлозы обладает высокой механической прочностью и устойчивостью к действию различных ферментов [5].

Важнейшей отличительной особенностью растительной клетки является наличие прочной целлюлозной клеточной стенки. Клеточная стенка высших растений представляет собой сложноорганизованную, преимущественно полимерную, внеклеточную матрицу, окружающую каждую клетку. Химический состав и пространственная организация элементов клеточной стенки разных видов клеток ткани одного растения, а иногда у разных частей стенки вокруг одного протопласта, отличаются.

Растительные клеточные стенки выполняют целый ряд функций: обеспечивают жёсткость клетки для структурной и механической поддержки, придают форму клетке, направление её росту и, в конечном счёте, морфологию всему растению. Клеточная стенка также противодействует осмотическому давлению, когда в растения поступает дополнительное количество во-

ды, они защищают растение от патогенов окружающей среды и запасают углеводы [6].

Большинство лекарственных растений содержит биологически активные вещества разнообразного состава, относящихся к разным классам химических органических соединений [7]. Это витамины, эфирные масла, гликозиды, кумарины и фурукумарины, алкалоиды, флавоноиды, сапонины, дубильные вещества и т.д. Кроме перечисленных веществ лечебные свойства лекарственных растений могут быть обусловлены наличием других видов химических соединений (органических кислот, слизи и камеди, жирных масел, фитонцидов, пигментов, ферментов, минеральных солей, микроэлементов и т.д.) [8-17]. В основном лечебное действие растений связано не с каким-либо одним веществом, а с комплексом входящих в него веществ. Биологически активные вещества в составе лекарственных растений в отдельности существуют как в кристаллическом, так и аморфном видах [6]. В работе [2] исследованы биохимические свойства некоторых лекарственных растений, например, донника лекарственного, подорожника ланцетного и репейника.

Донник лекарственный. В наземной части донника содержатся: кумарин – в листьях до 0,5 а в цветках до 0,88 %; гликозид мелилотозид, а также дигидрокумарин и мелилотовая кислота. Кроме того, в наземных частях донника содержится около 0,01% эфирного масла и 18 % белка. В листьях находится 0,002-0,004% аскорбиновой кислоты, больше 0,0004% витамина Е, около 0,0001 % каротина. Также обнаружено некоторое количество сапонинов и алкалоид тригонеллин (0,1-0,5 %) [1, 11].

Подорожник ланцетный. В листьях растения обнаружены гликозид аукубин, горькие и дубильные вещества, лимонная кислота, каротин, витамин С (15 мг на 100 г сырья), в них содержится до 10 % полисахаридов, стеблях–до 3 а в цветках–до 15 % [12,17].

Репейник. В подземных частях репейника содержится 20-30 % инулина, 0,17-0,6 % эфирного масла, дубильные вещества, кумарин и др. В листьях

обнаружено 0,0001% каротина, 0,0003-0,0005 % витамина С, значительное количество сахара, слизи дубильных веществ, около 0,03 % эфирного масла, 1,5-2,5 % флавоноидов 8,7-14,6 % органических кислот (винной, лимонной и яблочной) [2, 13, 14].

1.2. ИК-спектры природных соединений в области колебаний гидроксильных и карбоксильных групп

Первые ИК-спектроскопические исследования соединений целлюлозы и её производных были предприняты в середине двадцатого века. Авторы работ [18-22] более детально исследовали ИК-спектры целлюлозы и ряда её естественных производных в области обертонов водородных связей. В этих работах, в основном, исследована прозрачность целлюлозных материалов в ИК-области спектра. На основе полученных данных был сделан вывод о том, что в природной и мерсеризованной целлюлозе гидроксильные группы включены в образование водородных связей. Сравнительного анализа спектров целлюлозы различной модификации в области валентных колебаний гидроксильных групп проведён в работах [18, 19].

Спектры природной целлюлозы и гидратцеллюлозы в поляризованном инфракрасном излучении изучены в работах [20, 21]. Сделано отнесение полос поглощения в структуре макромолекул в области валентных колебаний гидроксильных групп и в длинноволновой области частот $640-1700\text{ см}^{-1}$. В [21] показано, что в природной целлюлозе имеются водородные связи типа $\text{O}_3\text{H} \dots \text{O}_5'$. Авторами [22] предложена схема водородных связей, учитывающая особенности строения различных структурных модификаций целлюлозы. В данной работе рассматриваются возможные типы водородных связей на более упорядоченных участках целлюлозы. На менее упорядоченных участках этот объект может различаться более широким набором различных типов водородных связей.

В работе [23] были рассмотрены спектры модифицированных целлюлоз, выделенных из однолетних растений хлопка, льна, кукурузы и соломы после молочной обработки по методу выделения α -целлюлозы. Авторами установлено значительное различие между гидратцеллюлозой и природной целлюлозой в области частот 1430, 1340, 1329 и 900 см^{-1} . В [24] изучены ИК-спектры волокон льна, рами и хлопковой целлюлозы в поляризованном инфракрасном излучении, дана интерпретация полос поглощения полученных спектров. Качественное сопоставление спектров волокнообразующих полимеров, таких как хлопок, лён, конопля, кокон и джут проведено в работе [25].

ИК-спектры ряда эфиров целлюлозы, полученных у разновозрастной древесины, рассмотрены в работе [26]. Авторами было установлено различие спектров нитратов и ацетатов целлюлозы в области частот валентных колебаний гидроксильных групп и обнаружено слабое влияние возраста древесины (от 1 до 100 000 лет), из которой выделялась целлюлоза.

Для выяснения природы связи целлюлозы со спутниками в растительных тканях авторами работы [27] были изучены спектры целлюлозы, выделенной методом дейтероварки. Для сопоставления были получены спектры хлопковой целлюлозы, обработанной 12 % раствором NaOD, где характерная полоса поглощения групп OD в области 2600-2400 см^{-1} имела чётко выраженную структуру (полосы 2520, 2480 и 2450 см^{-1}). По мнению авторов, это обусловлено изотопным обменом гидроксильных групп в трёх возможных положениях. В спектрах целлюлозы, полученной из спелой сосновой древесины методом дейтероварки, не наблюдалось появление подобной структуры полос OD, что было объяснено иным механизмом образования OD-групп. В спектре целлюлозы, полученной варкой 12 % раствором NaOD и D₂O, наблюдалось уменьшение интенсивности полосы 1340 и исчезновение полосы 1320 см^{-1} по сравнению со спектрами целлюлоз, выделенных варкой с 12 % OH в H₂O. Это различие, по мнению авторов, было объяснено наличием химической связи между целлюлозой и её спутниками у C₆ некоторой части элементарных звеньев макромолекул целлюлозы.

Авторами [28] исследованы характерные особенности спектров поглощения ряда моно- и дисахаридов, а также некоторых многоатомных спиртов в области частот 400–3800 см⁻¹. В спектрах моно- и дисахаридов в области 3150–3550 см⁻¹ обнаружена широкая полоса поглощения, которая отнесена к валентным колебаниям гидроксильных групп, участвующих в водородной связи.

В [29-32] исследованы структура и химический состав хлопкового волокна, выращенного из γ -облученных семян и свойства целлюлозы, выделенной из этого хлопка. Авторами доказано, что по мере увеличения дозы облучения семян происходит уменьшение содержания минеральных веществ и степени полимеризации в волокнах, выращиваемых из этих семян. Предстояло выяснить влияние облучения семян на структуру выращенных хлопковых волокон. Для этих целей применён метод ИК-спектроскопии в сочетании с дейтерообменом и обработкой волокон растворами дейтерированной щёлочи. Было установлено, что доступность к дейтерообмену групп ОН анализируемых волокон более низкая по сравнению с контрольными образцами. Отмечено, что имеется корреляция между спектральными характеристиками хлопковых волокон и их вегетационными свойствами.

Такой подход к исследованию надмолекулярной структуры дает возможность определить содержание легкогидролизуемых веществ, неупорядоченной части целлюлозы, промежуточной и упорядоченной частей волокна. Установлено, что все образцы, выращенные из γ -облучённых семян, имеют более высокий коэффициент тепловыделения, чем волокно контрольного образца. Такое изменение коэффициента тепловыделения говорит о более рыхлом состоянии камбиального слоя волокна хлопчатника, выращенного из γ -облучённых семян [30].

В работах [33-35] исследованы ИК-спектры здоровых и поражённых “вилтом” стеблей и листьев хлопчатника. Авторами установлены закономерности изменения интенсивности полос поглощения, соответствующих валентным колебаниям ОН групп и показано, что изменение интенсивности

полос валентных колебаний поражённых вилтом ОН-групп характеризуется меньшей степенью, чем у здоровых образцов.

В [36] было исследовано влияние предпосевного лазерного облучения семян хлопчатника на структуру и свойства хлопкового волокна. Установлено, что предпосевное лазерное облучение семян позволяет регулировать степень ориентации участков цепи волокон хлопка, а также их разрывную прочность. Предварительное лазерное облучение семян хлопчатника влияет на механизм формирования физической структуры целлюлозы на стадии её биосинтеза.

В [37] экспериментально демонстрируются возможности использования ИК-Фурье спектроскопии для изучения ИК-спектров поглощения белков в области $1000-2000 \text{ см}^{-1}$. Авторы проводили исследования обычных спектров поглощения прессованных таблеток KBr, содержащих исследуемые образцы, а также спектры диффузионного отражения смесей исследуемых образцов с порошкообразным KBr.

В [38] установлено наличие двух полос в ИК-спектрах поглощения растворов кумарина в области валентных колебаний карбонильных групп этого соединения. Показано что наличие такого дублета связано с валентными колебаниями $\text{C}=\text{O}$, связанными с обертоном. Получены значения частот валентных колебаний связей $\text{C}=\text{O}$, $\nu(\text{C}=\text{O})$, скорректированных на наличие ряда растворителей и их смесей. Найдено, что смещение $\nu(\text{C}=\text{O})$ является результатом диэлектрических свойств растворителя основной карбонильной группы.

В работах [39,40] впервые исследовали возможность использования метода спектроскопии в ближней ИК-области для определения содержания белка, влаги, а также других показателей качества зерна пшеницы. Полученные результаты решают проблему организации оперативного и аналитического контроля различных параметров качества при производстве и продаже ценного зерна. Для компьютеризированных систем ИК-анализа впервые разработаны уравнения по определению показателей качества фуражного зерна.

Разработан метод для определения показателей качества продукции растениеводства на основе ИК-спектроскопии, который является крупным достижением в сельском хозяйстве. На основе этого метода обеспечивается развитие нового направления анализа кормов..

В [41] изучены ИК-спектры целлюлозы, связанные с валентными колебаниями ОН-групп, включённых в водородные связи. Показано, что низкочастотная область полосы ν_{OH} характеризует гидроксилы, включённые в более сильные водородные связи, а высокочастотная – в более слабые. Также в [42] изучены спектры модифицированной целлюлозы в области 3000–2800 см^{-1} . Показано, что в спектрах модифицированной целлюлозы эти валентные колебания накладываются на поглощение группы CH_2 , входящей в состав бороазотных соединений. Это приводит к увеличению интенсивности полосы поглощения 2900 см^{-1} .

В работе [43] для установления структуры полыни горькой использовали методы ИК-, УФ-, ПМР-спектроскопий, сопоставив данные разновидности с достоверно известными образцами. В ходе идентификации в необходимых случаях проведен кислотный гидролиз. В ИК-спектрах выделенных флавоноидов имеются характерные полосы поглощения: 3385-2850 см^{-1} (фенольные оксигруппы), 1680-1615 см^{-1} (карбонильная группа пирона), 1620-1470 см^{-1} (скелетные колебания ароматических колец), а максимумы при 2950-2880 см^{-1} свидетельствуют о наличии метоксильных групп.

В [44] установлено синергетическое действие формальдегида и стирола на изменение электрофизиологической, физиологической и биохимической активностей древесных растений. Также с помощью метода ИК-спектроскопии определён механизм взаимодействия молекул формальдегида с функциональными группами химических соединений гумуса почвы.

В [45] приведены результаты ИК- и КР-исследования состава семян пожитника греческого и зверобоя, перфарированного без химической обработки. Отношения поглощательных способностей, определённых по ИК-полосам А (3009) / А (2924), А (3009) / А (2854), А (3009) / А (1740) исполь-

зовались для измерения йодного числа. Эти отношения (0.3609, 0.4916 и 0.4129) показали, что йодное число для масла пажитника выше, чем у других масел. С другой стороны, зола пажитника очень богата фосфатными соединениями. Спектры поглощения содержат полосы с частотами 1082, 1000, 618 и 566 см^{-1} , а спектры КР (с фурье-преобразованием) демонстрируют интенсивную полосу при 793 см^{-1} , обусловленную фосфатными соединениями.

В [46] проведено исследование эффективности побочных продуктов сахарной промышленности. Наряду с традиционными методами при оценке их качества использована ИК-спектроскопия. ИК-спектры поглощения фильтрационных осадков получены на универсальном Фурье-спектрометре среднего ИК диапазона ИнфраЛЮМ ФТ-02 (спектральный диапазон $6500\text{-}350\text{см}^{-1}$). При сравнении их с ИК-спектрами кормового мела, традиционно, используемого в производстве комбикормов и трепела карбонатного измельченного, рекомендуемого в последние годы для комбикормового производства, отмечено, что на всех спектрах наблюдаются одинаковые характерные полосы поглощения в области $714, 880, 1440\text{-}1480 \text{ см}^{-1}$, что свидетельствует о присутствии CaCO_3 в образцах. Отсутствие минимумов в спектрах фильтрационных осадков при длине волны 1050 см^{-1} указывает на отсутствие посторонних примесей, как это имеет место в случае мела (песка). Поэтому мел в кормах можно заменить на осадки, что значительно улучшит их качество.

Авторами [47] показана возможность создания калибровок для анализа пшеницы на содержание белка, влаги, количества и качества клейковины.

В работах [48-51] приводятся результаты изучения свойств листьев одуванчика лекарственного в зависимости от места прорастания методом ИК-спектроскопии. На основании полученных данных сделан вывод о том, что формирование водородных связей в корнях одуванчика зависит от места прорастания и положения частот максимума водородных связей по данным катионообмена (КО) различны, что свидетельствует о различной прочности водородных связей [48]. Отнесение полос поглощения в широком диапазоне частот $3800\text{-}2400$ и $1800\text{-}1000 \text{ см}^{-1}$ сделано в [49]. Была рассчитана энергия

водородных связей по сдвигу частот после КО для листьев лекарственного одуванчика с различных мест прорастания. Авторами [50] также исследованы ИК-спектры цветов лекарственного одуванчика в зависимости от экологии места прорастания. Ими сделано отнесение полос поглощения 1600 см^{-1} к валентным колебаниям -C=C- и -C=N- ароматических соединений и слабого выступа при 1700 см^{-1} к поглощениям валентных колебаний C=O групп. На основании экспериментальных данных сделаны выводы: максимум полосы поглощения валентных колебаний OH и NH групп, входящих в состав лепестка цветов, различается и зависит от места их прорастания. Форма и полуширина полосы поглощения в области частот $1800\text{-}1250\text{ см}^{-1}$ в спектрах лепестков, собранных вблизи и вдали от автомагистрали свидетельствуют об однородности их химического состава.

Работа [51] посвящена изучению спектроскопических свойств листьев лекарственного одуванчика в зависимости от экологии места его прорастания. На основании спектроскопических исследований структуры листьев лекарственного одуванчика сделан вывод: максимум полосы поглощения в области проявления межмолекулярных и внутримолекулярных водородных связей сильно зависит от места произрастания и наибольший сдвиг наблюдается в образцах, собранных у притока Малый Игизак. Оценка энергии межмолекулярных водородных связей показала, что наибольшей энергией обладают образцы из берегов Малого Игизака.

В работе [52] исследованы спектроскопические свойства корней, стеблей и листьев дикорастущего цикория обыкновенного. Проведено соотношение полос поглощений в областях валентных колебаний гидроксильных и карбоксильных групп ($3800\text{-}2600$, $1800\text{-}1200\text{ см}^{-1}$). Совпадения ν_{max} полос поглощения OH групп (NH), содержащихся в структуре вещества и проявляющихся в области частот $3800\text{-}3000\text{ см}^{-1}$, объяснено возможностью идентичности состава молекулярной структуры корней и листьев цикория. На основании спектральных характеристик листьев, стебля и корня цикория сделан вывод, что химический состав структуры брутто-органических ве-

ществ мало содержит карбоксильных групп. Расчёт энергии водородных связей указывает на то, что физическое состояние структурообразующих брутто-органических веществ энергетически неравновесны. По форме и изменению полуширины и интенсивности полосы при 1600 см^{-1} показано, что в листьях цикория содержание сахаров, пигмента и других веществ больше, чем в корне и стебле.

В [53, 54] методом Фурье ИК-спектроскопии проведено исследование воздействия различных антропогенных факторов на надземные части *H. perforatum*. Авторами обнаружена относительная устойчивость исследуемого образца, что проявляется в частом его произрастании на нарушенной территории. Однако детальное изучение ИК-спектров позволило выявить изменение химического состава исследованных растений, обусловленное загрязнением мест произрастания. Материалы исследования позволяют рекомендовать метод Фурье-ИК в качестве эффективного метода биомониторинга загрязнённых водных объектов.

Авторы [55] методом ИК-спектроскопии установили, что ИК-спектры полученных полисахаридов характеризуются высоким коэффициентом поглощения в диапазоне от 1110 до 1018 см^{-1} , что характерно для уроновых кислот. Наличие полос поглощения в диапазоне 825 и 870 см^{-1} подтверждает присутствие в структуре полисахарида β -гликозидной связи пиранозного кольца. Таким образом, наличие уроновых кислот, способных к образованию комплексов, позволяет рассматривать бубенчик как потенциальный источник пектина-основы для производства детоксикационных средств.

Работа [56] посвящена идентификации лекарственных средств методом ближней инфракрасной спектроскопии. В работе изучены возможности использования этого метода для идентификации субстанций лекарственных препаратов ряда российских и зарубежных производителей. В результате было создано шесть различных электронных библиотек ближних ИК-спектров.

В [57] изучены спектроскопические свойства составных частей азиатской мяты различных районов Северного Таджикистана в широком диапа-

зоне частот ($3800-400\text{ см}^{-1}$), проведено отнесение полос поглощения в области валентных колебаний и карбоксильных групп. Авторы указывают, что спектральные свойства азиатской мяты сильно зависят от их места произрастания. Положение максимумов полос поглощения в области валентных колебаниях гидроксильных и карбоксильных групп ($3800-3000$, $1800-1450\text{ см}^{-1}$) зависит от места произрастания мяты, что является свидетельством наличия групп, участвующих в образовании энергетически неравновесных меж- и внутримолекулярных водородных связей.

В работе [58] методами ИК- и ПМР-спектроскопии определено сравнительное содержание логохолина в логохилусе опьяняющем, как дикорастущем, так и культивированном. Сделан вывод об идентичности структуры логохолина и доказано, что содержание логохолина в культивированном растении на 17-20 % выше, чем в дикорастущем.

Работа [59] посвящена исследованию комплекса биологически активных веществ растения синюхи голубой (*Polemonium coeruleum* L). Автором показано, что корневище и трава синюхи голубой имеют различный состав тритерпеновых сапонинов и фалвоноидов. В работе оптимизирована спектрофотометрическая методика для количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов.

Анализ ИК-спектров листьев крапивы из разных мест сбора [60] позволяет утверждать, что жизнедеятельность растений связана с аккумуляцией внешней энергии и экологии места произрастания. На основе данных о специфичности формирования физико-химической структуры листьев крапивы в зависимости от мест и условий её произрастания, можно сделать вывод о том, что их свойства будут зависеть от общей структуры составных частей растения. Так, в [61] исследованы спектроскопические свойства корневища радиолы холодной в зависимости от места её прорастания и экологии. Авторы заключают, что система водородных связей в корневищах радиолы, произрастающей в различных регионах высокогорной зоны Таджикистана, неоднородна, биосинтез веществ органов жизнедеятельности радиолы суще-

ственным образом зависит от экологического состояния окружающей среды и высоты её произрастания над уровнем моря. Независимо от мест произрастания в радиоле происходит накопление определённого количества оксифенольных групп и флавоноидов, о чём свидетельствует положение максимумов полосы поглощения 1600 см^{-1} , относящегося к колебаниям сокращённых -C=C- двойных связей и следы полосы при 1680 (1650 см^{-1}), относящегося к связям карбонильных >C=O групп. Спектроскопические данные свидетельствуют об отсутствии карбоксильных -COOH -групп в составе структуры корневищ радиолы.

Авторами работ [62-64] исследовано влияние факторов окружающей среды и места прорастания на процесс биосинтеза и физико-химические свойства составных частей одуванчика лекарственного, собранного в горных районах Памира Республики Таджикистан [62], его листьев, собранных в разные годы из одной местности [63], влияние периода роста на формирование молекулярно-динамических структур листьев одуванчика, собранных в одной местности [64]. Исследована возможность применения метода ИК-Фурье-спектроскопии для идентификации плодового ягодного сырья отдельно, и в сложной пищевой системе [65]. Экспериментально установлено, что метод ИК-Фурье-спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения позволяет идентифицировать плодово-ягодное сырьё. Полученные индивидуальные ИК-спектры и спектральные характеристики являются строго специфичными для каждого вида сырья и обусловлены, по-видимому, морфологическими особенностями строения и химического состава растений.

1.3. Физические свойства биополимеров по данным электронного парамагнитного резонанса

Парамагнитным резонансом называется явление резонансного поглощения энергии переменного электромагнитного поля системой, включающей в себя частицы (атомы, молекулы, ионы), обладающие магнитным моментом.

Это поглощение индуцирует переходы между энергетическими уровнями, обусловленными различными ориентациями магнитных моментов частиц в пространстве. Если поглощение индуцирует переходы между уровнями, обусловленными различной пространственной ориентацией магнитного момента электрона, это говорит об электронном парамагнитном резонансе (ЭПР). Парамагнитные частицы, помещённые в постоянное магнитное поле, поглощают микроволновое электромагнитное излучение определенной частоты [66].

Метод ЭПР широко применяется в исследовании парамагнитных центров или свободных радикалов в полимерах [67-70], биополимерах, в том числе, растениях [71-79].

Первые работы по исследованию биологических объектов методом ЭПР выполнены в 1954 году Барри Коммонером с сотрудниками (США). Объектом их исследования были лиофильно высушенные препараты печени и растений. В Европе первое исследование биообъектов выполнено в 1955 году Л.А. Блюменфельдом и А.И. Калмансоном. Эти пионерские исследования положили начало широкому применению метода ЭПР в биологии и медицине [80].

Следует отметить одну методическую особенность. Для регистрации спектров ЭПР электронных переносчиков, у которых неспаренные электроны локализованы на ионах металлов, приходится проводить измерения спектров при достаточно низких температурах. Это связано с тем, что во многих биологических системах у парамагнитных ионов металлов наблюдается очень сильное тепловое взаимодействие неспаренного электрона с его окружением. В результате такого взаимодействия линия спектра расширяется и соответственно уменьшается величина сигнала ЭПР. Для наблюдения сигналов ЭПР от этих переносчиков необходимо ослабить спин-решёточное взаимодействие. Это можно сделать, понизив температуру объекта [81]. Р. Малкин и А. Берден в 1971 году обнаружили в цепи электронного транспорта хлоропластов новый переносчик-белок. Этот белок принадлежит к числу ферредокси-

нов–электронных переносчиков, в активном центре которых находятся атомы железа, окружённые атомами серы [82].

Авторы [83] обнаружили в пекарских дрожжах новый сигнал ЭПР, который имел дублетный вид со значением g-фактора 2,03. В [84] показано, что, наблюдая за сигналами ЭПР, можно определить физико-химические и биологические свойства веществ. Установлено, что синглетный сигнал характеризует отсутствие сверхтонкого взаимодействия, дублетные и триплетные состояния сигнала ЭПР указывают на возникновение сверхтонкого взаимодействия в магнитном поле.

По данным работы [84] в дублетной системе в основном присутствуют алкильные радикалы с 5-эквивалентными протонами, в триплетной–радикальные пары с 10-эквивалентными протонами.

В работе [76] при исследовании структурных и физико-химических свойств кератина шерсти по сравнению было установлено наличие свободных радикалов. В качестве эталона использовали двухзарядные ионы Mn^{2+} в MgO . Интенсивность сигнала образца сравнивалась с интенсивностью сигнала эталонной навески двухвалентного Mn^{2+} в окиси магния MgO по количеству парамагнитных центров. В [77] исследовано содержание свободных радикалов в корневищах дикорастущей родиолы холодной в зависимости от места произрастания. Установлено, что количество свободных радикалов родиолы зависит от места, экологических условий и высоты произрастания растения над уровнем моря.

В работах [78, 79] исследованы ЭПР-спектры составных частей корня и стебля дикорастущего цикория и одуванчика лекарственного в зависимости от места их прорастания, определено содержание свободных радикалов в их листьях и лепестках цветков. На примере цикория лекарственного, собранного в различных районах Горно-Бадахшанской области Таджикистана (Хорог–2200, Шугнан–2800, Дарвазский–2160 м) показано, что количество свободных радикалов, содержащихся в наземных частях одуванчика, зависит от места произрастания и экологии местности.

Наряду с биологическими парамагнитными центрами естественного происхождения, к которым относятся рассмотренные электронные переносчики хлоропластов и NO радикалы, в биологических системах могут возникать парамагнитные центры, вызванные радиационными повреждениями биомолекул. Так, в работе [70] методом ЭПР исследованы образцы целлюлозы, подвергнутые радиационному и термическому воздействию. Установлена идентичность природы парамагнитных центров с g -фактором 2,0025, образующихся при имплантации и термообработке, что позволило сделать вывод об образовании углеродных областей sp^2 -гибридизации, характеризующихся делокализацией π -электронов в обоих случаях. Обнаруженный сигнал ЭПР с формой линии Дайсона для пиролизованых полимеров в условиях вакуума, а также анизотропное поведение параметров спектров ЭПР имплантированной целлюлозы при воздействии жидкого кислорода свидетельствует о наличии высокочастотной проводимости образцов, которая обусловлена либо образованием графитоподобной микрофазы, либо началом формирования фуллереноподобных структур.

В работах [85-87] показано, что методами ИК- и ЭПР-спектроскопии можно регистрировать свободные радикалы и радикальные ионы в твёрдых системах [85], радикалы типа $HFC=N$ в твёрдом аргоне [86] и в пищевых продуктах [87]. Кроме того, метод ЭПР используется для анализа радиационно-обработанных продуктов, содержащих целлюлозу, например, земляники, фисташек и молотого красного перца. Спектры ЭПР целлюлозосодержащих пищевых продуктов имеют специфический сигнал даже в необлучённых образцах. Спектры облучённых образцов обычно имеют значительно более высокую интенсивность сигнала и дополнительную пару линий слева (при более слабом внешнем магнитном поле) и справа (при более сильном магнитном поле) от центрального сигнала. Эта пара линий обусловлена радикалами целлюлозы, появляющимися под действием ионизирующего излучения [88].

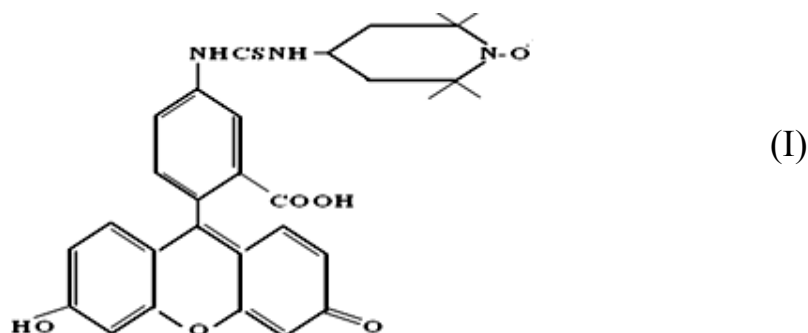
Согласно [66-89], метод ЭПР позволяет идентифицировать химическую природу радикалов, исследовать кинетику процесса их превращения и гибели, рекомбинации, а также определить суммарную суперпозицию свободных радикалов в составе молекул вещества. Исследования структуры радикалов по спектрам ЭПР показали, что разрушение химических соединений происходит с образованием радикалов практически независимо от вида воздействия: термического, фотохимического, ионизирующего, механодеструкционного. Однако при исследовании свободных радикалов в биополимерах, в частности, растениях, возникают трудности при расшифровке спектров, вызванные анизотропией сверхтонкого взаимодействия и g-фактора, что проявляется в уширении линии и уменьшении интенсивности спектра. Кроме того, трудно разделить сигналы, принадлежащие радикалам разной химической природы с близкими значениями магнитно-резонансных параметров. Поэтому, для определения конформации и молекулярно-динамических свойств макромолекул при физико-химических воздействиях применяют метод спиновых меток и зондов.

1.4. Изучение молекулярной динамики биополимеров и функциональных групп природных соединений методом спиновых меток

Первые экспериментальные данные по применению метода спиновых меток в исследованиях биополимеров приведены в работах [90-106]. В последнее время этот метод широко применяется в различных областях физики, химии и молекулярной биологии. Авторы [92-100] считают, что несмотря на то, что тонкая и сверхтонкая структура жидкостей, полимеров и биологических структур изучается различными физико-химическими методами, однако многие из них не дают подробной информации о динамической структуре молекул, конформационных переходах, содержании различных дефектов и микропустот. Для получения этой информации широкое применение нашёл

метод спиновых меток на основе стабильных нитроксильных радикалов. Спиновые метки играют роль молекулярных датчиков и дают уникальную информацию о различных динамических процессах в исследуемых системах [93, 100].

Важную роль в реализации физико-химических превращений в биополимерах, в том числе и растительных, играют конформационные и молекулярно-динамические свойства их молекул, сегментов и функциональных групп. Метод спиновых меток дополняет другие физические методы, такие, как спектроскопические, механические, релаксационные и др. Он позволяет получить уникальную информацию, которую невозможно получить другими методами [32, 99, 100]. Метод основан на использовании стабильных парамагнитных нитроксильных радикалов (НР), которые ковалентно связаны с молекулами или вводятся в исследуемую матрицу в небольших количествах. Они представляют собой молекулы, содержащие парамагнитный фрагмент.



В спектре НР проявляются электрон-ядерное сверхтонкое и спин-орбитальное взаимодействия, которые моделируются вращательной подвижностью НР, определяемой молекулярной динамикой микроокружения [66, 93-97]. Вклад в ширину линии спектров ЭПР даёт информацию о трансляционной подвижности, а по вкладу диполь-дипольного взаимодействия можно оценить локальные концентрации и распределение парамагнитных центров, то есть свободных радикалов. По спектрам ЭПР нитроксильных меток и зондов можно получать информацию об их вращательных и трансляционных

движениях, следовательно, о структуре и молекулярной динамике, а также о характере распределения НР в полимерах и биополимерах [96].

В работах [99-115] методом спиновых меток исследовались волокна хлопчатника различного генетического происхождения, шёлка и шерсти при влиянии различных факторов [101, 102, 107], в [111] изучена молекулярная структура холестерина, а в [100-102] дана оценка времени корреляции вращательной диффузии и частоты «вращения» радикала. Отмечены гетерогенность микроокружения спиновых меток и анизотропный характер их вращения в волокнах хлопчатника и шёлка [76, 101]. Авторами работ [99, 100] указанным методом исследованы конформационные свойства и молекулярная динамика волокон хлопка, выращенного из γ -облучённых семян. Были обнаружены конформационные изменения хлопковой целлюлозы, обусловленные γ -радиационной модификацией культуры ещё в зародышевом состоянии.

В работах [110-115] проведено исследование молекулярных и структурно-динамических свойств некоторых растений методом спин-метки. Авторы этих работ считают, что изменение ЭПР-параметров и появление сверхтонкой структуры в спектрах лекарственных растений, одинаковых по генам происхождения, в зависимости от места и высоты произрастания над уровнем моря связано с влиянием почвенно-климатических условий на формирование молекулярной структуры.

В работах [99, 100, 105, 108, 109] было установлено, что модификация хлопковой целлюлозы спиновой меткой протекает по её гидроксильным группам. По химической структуре хлопковое волокно и растения очень близки друг другу, поэтому можно утверждать, что радикал (1) ковалентно взаимодействует с гидроксильной группой структуры, преимущественно с гидроксильной группой целлюлозной основы растений [114,115].

Анализ литературы, посвящённой исследованию влияния экологических факторов на структурообразование, биохимические и фармакологические свойства растений, показывает, что для качественного и количественного анализа природных соединений широко применяются различные физико-

химические методы. В цитированных работах показано, что использование современных спектроскопических методов позволяет детально анализировать биохимические и структурные изменения биополимеров под действием техногенных и антропогенных факторов.

Из приведённого обзора вытекает, что исследованию влияния техногенных факторов на процессы роста и развития растений, на их биохимический состав посвящено достаточно много работ, хотя систематических и целенаправленных исследований в этом направлении, например, с учётом радиационного фона, пестицидов почвы и др. до настоящего времени никем не проведено. До настоящего времени не исследовано влияние указанных факторов на структурообразование и формирование функциональных групп, системы меж- и внутримолекулярных водородных связей в молекулах растений Северного Таджикистана.

В [1-17] в основном исследованы биологические и химические характеристики лекарственных растений. В [116-124] были исследованы спектральные, радиоспектроскопические и некоторые механические характеристики растений под влиянием радиации и экологических условий места прорастания.

Следует заметить, что в результате длительной работы обогатительных комбинатов по добыче радиоактивных материалов в Северном Таджикистане накопилось огромное количество отходов, которые не рекультивированы. Отходы урановой промышленности в виде «хвостохранилищ» находятся в ряде ареалов Согдийской области и представляют угрозу для экосистемы в целом. В связи с этим, важным и актуальным является исследование влияния уровня и продолжительности действия радиации на структурные и биохимические свойства растений, особенно лекарственных и пищевых. В работах [125, 126] приведены результаты мониторинга радиационного фона населённых пунктов Согдийской области и окрестностей хвостохранилищ радиоактивных отходов. О количественных данных относительно влияния радиации на живые и неживые биологические объекты не сообщается.

В связи с этим в настоящей работе была поставлена задача систематического исследования влияния техногенных и антропогенных факторов на структуру и биохимический состав ряда растений Северного Таджикистана с привлечением метода ЭПР и метода спиновых меток, а также других физических и механических методов исследования.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

В работе в качестве объектов исследования были выбраны дикорастущие растения: репейник (*Arctium tomentosum Mill.*), донник лекарственный (*Melilotus officinalis (L.)*), подорожник ланцетный (*Plantago lanceolata. L*), собранные из различных регионов Северного Таджикистана.

Сбор образцов производился во время цветения растений: репейник в июне-августе, донник в мае-июне, подорожник ланцетный в апреле-мае. После сбора образцы очищались от экстрактивных веществ, промывались обычной и дистиллированной водой, высушивались в естественных условиях в тени и хранились в стеклянных банках и бумажных пакетах в сухом помещении.

Образцы репейника и донника лекарственного были собраны с полей над хвостохранилищем «Дигмай» (Б. Гафуровский район) с различными уровнями радиационного фона. Поскольку данное хранилище существует многие годы, то состав почвы вокруг него и окрестностях можно считать стабильным. Расстояние между местами отбора образцов составляло около 50 ± 2 м (координаты приведены в таблице 3.1). Аналогичным образом донник был собран на территории гг. Худжанда, Гулистана и вблизи хвостохранилища «Дигмай».

Образцы подорожника были собраны в Исфаре, Гафурове и Спитаменском районе с относительно близкими климато-экологическими условиями местности.

2.2. Метод инфракрасной спектроскопии и его информативность

Инфракрасная спектроскопия (ИКС)- раздел спектроскопии, который включает в себя получение и изучение инфракрасных (колебательных) спектров веществ и занимается, главным образом, изучением молекулярных спектров поглощения, испускания и отражения, так как в инфракрасной об-

ласти расположено большинство колебательных и вращательных спектров молекул. Метод ИКС является одним из самых эффективных методов исследования строения и свойств многоатомных молекул, важнейшим физическим методом исследования конформационной подвижности, межмолекулярного взаимодействия и строения вещества.

Поглощение веществом ИК-излучения специфично, то есть ИК-спектр является однозначной характеристикой вещества. Сведения, получаемые при анализе ИК-спектров, позволяют делать важные заключения о строении и динамике молекул. Характеристичность ИК-спектров проявляется в том, что они чувствительны как к структурным изменениям в молекуле, например, конформационным переходам, так и к действию внешних факторов.

Большинство колебательных переходов в молекулах природных соединений реализуется в диапазоне длин волн от 2,5 до 25 мкм ($4000-400\text{ см}^{-1}$). Именно в этом диапазоне волновых чисел осуществляют регистрацию ИК-спектров этих соединений [127-129].

В работе использован спектрометр «SPECORD-75IR» и Фурье ИК-спектрометр IRAffinity-1 японского производства.

Спектрофотометр SPECORD-75IR относится к спектральным приборам средней дисперсии, который в определённой мере искажает истинное распределение энергии в спектре. Аппаратные искажения связаны с тем, что движение пера по шкале прибора запаздывает к моменту подачи или прекращения сигнала на приёмник. Это приводит к смещению максимума, уменьшению интенсивности и размытию полосы поглощения. Однако устройство прибора таково, что многие искажающие спектр факторы взаимно компенсируются. Для достижения хорошего разрешения эксперименты проводятся с минимальной скоростью записи спектра при узких щелях и высокой чувствительности усилительно-регистрирующей системы. Разрешающая способность прибора при этих условиях составляет $1-3\text{ см}^{-1}$ [134]. Спектральная ширина щели монохроматора в наших экспериментах составляла $2-4\text{ см}^{-1}$ и учитывалась автоматически в зависимости от ширины полос.

Инфракрасный спектрофотометр IRAffinity-1 с Фурье-преобразованием позволяет проводить измерение ИК-спектров путём Фурье-преобразования интерферограмм [135]. В оптической системе спектрофотометра модели IRAffinity-1 используется интерферометр Майкельсона (рис. 2.1). Свет, после прохождения через щель-диафрагму и отражения от зеркала коллиматора, преобразуется в параллельный поток, который проходит далее через разделитель луча. Разделитель луча представляет собой пластину из бромистого калия с напыленным германием. Он разделяет луч света на два: один падает на подвижное зеркало, а другой - на неподвижное зеркало. Луч, отражённый от неподвижного зеркала, вновь проходит через разделитель и на пути к зеркалу коллиматора накладывается на луч, отражённый от подвижного зеркала, вызывая интерференцию.

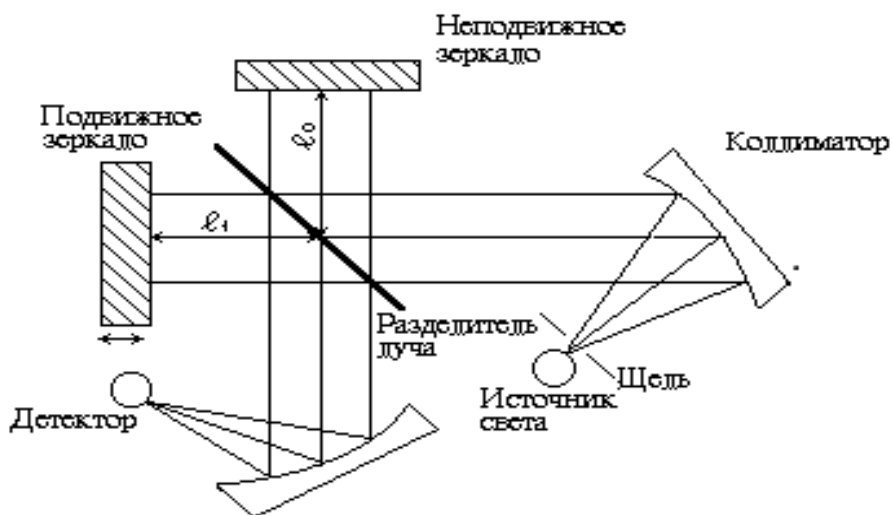


Рис. 2.1. Интерферометр Майкельсона.

В случае регистрации ИК-спектров соединений в растворах необходимо вычитать полосы поглощения растворителей. При интерпретации ИК-спектров растворов веществ в CHCl_3 и CCl_4 нужно учитывать то, что в зонах собственного поглощения этих растворителей отнесение линий спектра может быть неоднозначным. Для CHCl_3 характерно интенсивное собственное поглощение в диапазонах: $3100\text{--}3000$, $1250\text{--}1200$, $800\text{--}650\text{ см}^{-1}$. Растворитель CCl_4 имеет поглощение в интервалах $1560\text{--}1540$, $800\text{--}700\text{ см}^{-1}$. В указанных

областях поглощение растворителя может маскировать полосы анализируемых веществ.

Другим методом является метод суспензии, в котором образец тщательно измельчается и помещается в среду парафинового масла «nujol». Этот метод хотя и уменьшает светорассеяние, однако может привести к серьёзным деструктивным изменениям образца. Кроме того, при использовании этого метода нужно учитывать наличие сильных полос «nujol» в области валентных и деформационных колебаний групп CH_3 и CH_2 , что затрудняет анализ спектра на этих участках [31, 32].

В работе применён метод запрессовки образца в твёрдой иммерсионной среде. В качестве твёрдых иммерсионных сред обычно применяют галогидные соли щелочных металлов, прозрачных в инфракрасной области: KBr , KCl , AgCl . Этот метод позволяет получать удовлетворительные спектры. При подготовке образца сверхчистого KBr его тщательно размельчают в агатовой ступке до получения однородного порошка, который сушится в течение 4-5 часов при температуре $150\text{-}200\text{ }^\circ\text{C}$. Исследуемое вещество также предварительно измельчается на вибрмельнице или в агатовой ступке и сушится при температуре $50\text{-}60\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 3-5 часов, затем 8 мг пробы тщательно перемешивается с 600 мг порошка KBr .



Рис. 2.2. Пресс-форма для прессования образца с KBr .

Процесс перемешивания проводится следующим образом: сначала 8 мг исследуемого вещества перемешиваются с 300-400 мг порошка KBr в агато-

вой ступке в течение 4-5 мин., а затем добавляются остальные 300-200 мг KBr и также перемешиваются в течение 3-5 мин. Полученная смесь порошка из KBr и исследуемого образца прессуется в специальной пресс-форме в условиях форвакуума (рис. 2.2). При прессовании соблюдаются следующие условия: до подачи нагрузки прессования производится откачка воздуха из формы в течение 2-3 мин., а давление $6-7 \text{ т/см}^2$ следует держать неизменным в течение 5-6 мин. Прежде чем снять давление, необходимо предварительно отсоединить пресс-форму от вакуумного насоса, а затем постепенно снимать нагрузку, чтобы избежать помутнения образца. Кроме того, желательно до начала использования пресс-форму и порошок KBr прогреть в сушильном шкафу при температуре около 40°C . Это предотвратит конденсацию влаги воздуха на их поверхности [31,128, 129].

2.3. Метод электронного парамагнитного резонанса

Метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) нашёл широкое применение в физике, химии, биологии и медицине. В частности, этот метод является одним из основных прямых методов обнаружения парамагнитных центров (свободных радикалов) и нестабильных комплексов металлов переменной валентности, имеющих неспаренный электрон и применяется для исследования парамагнитных частиц. Известно, что при помещении парамагнетиков в постоянное магнитное поле они втягиваются в это поле. Это связано с наличием у парамагнетиков магнитных моментов. Магнитные моменты создаются неспаренными электронами [66-68, 80, 81, 130].

Магнитный момент неспаренного электрона во внешнем магнитном поле может ориентироваться двумя способами—по направлению распространения поля и против него. Таким образом, если в исследуемой системе имеются неспаренные электроны, наложение внешнего магнитного поля приводит к разделению электронов по группам: магнитные моменты одних электронов ориентированы по направлению поля, других—против. Каждой из

ориентаций магнитных моментов электронов соответствует свободная энергия. Разница в энергии электронов определяется выражением:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = g \cdot \beta \cdot H, \quad (1)$$

где β —магнетон Бора ($9.27 \cdot 10^{-24}$ Дж/Тл), g —константа, называемая g -фактором ($g = 2.0023$ когда магнитный момент электрона является спиновым магнитным моментом), H —напряженность постоянного магнитного поля. Как следует из выражения (1), величина ΔE зависит от напряжённости внешнего магнитного поля. При величине $H = 3000$ Гс, $\Delta E = 4 \cdot 10^{-5}$ эВ или 1 кал/моль, что при комнатной температуре существенно меньше средней энергии теплового движения молекул.

Величина ΔE может быть выражена и другим способом, а именно:

$$\Delta E = h\nu, \quad (2)$$

где: $h\nu$ —величина кванта энергии, необходимого для перевода электрона из одного состояния в другое. Объединяя оба выражения, для ΔE можно записать:

$$h\nu = g \cdot \beta \cdot H. \quad (3)$$

Из этого выражения, носящего название условия резонанса, можно понять и смысл явления электронного парамагнитного резонанса. Действительно, если к находящейся в магнитном поле системе, содержащей неспаренные электроны, подвести высокочастотное излучение с частотой ν , определяемой условием (3), то в ней возникают вынужденные электронные переходы между соседними уровнями E_1 и E_2 . Переходы с одинаковой вероятностью будут происходить как из состояния E_1 в состояние E_2 , так и наоборот. Однако число переходов снизу вверх больше числа переходов сверху вниз, поскольку в соответствии с законом Больцмана заселённость нижнего уровня всегда выше. Переходы из верхнего состояния в нижнее происходят с испусканием энергии, а переходы из нижнего в верхнее—с поглощением. Поскольку число переходов снизу вверх больше, то, в целом, при выполнении условия резонанса (3) в образце будет наблюдаться поглощение высокочастотного излучения. Частота, при которой наблюдается резонансное поглощение

высокочастотного излучения, связана с напряжённостью магнитного поля, что следует из уравнения (3), а именно:

$$\nu = g\beta H / h . \quad (4)$$

Из (4) видно, что резонансное поглощение можно наблюдать:

- а) при изменении частоты ν электромагнитного излучения и постоянстве H ;
- б) при изменении H и постоянстве ν .

На практике из технических соображений применяется второй способ регистрации.

Спектр ЭПР можно представить в виде кривой зависимости интенсивности поглощения от напряжения приложенного магнитного поля. Однако спектры ЭПР представляют в виде первой производной, т.е. зависимости первой производной поглощения от напряжённости магнитного поля. Соотношение между двумя видами спектров показано на рис. 2. 3, где представлены одиночная линия, не имеющая тонкой структуры (а) и, соответствующая ей, первая производная (б) [66, 67, 75].

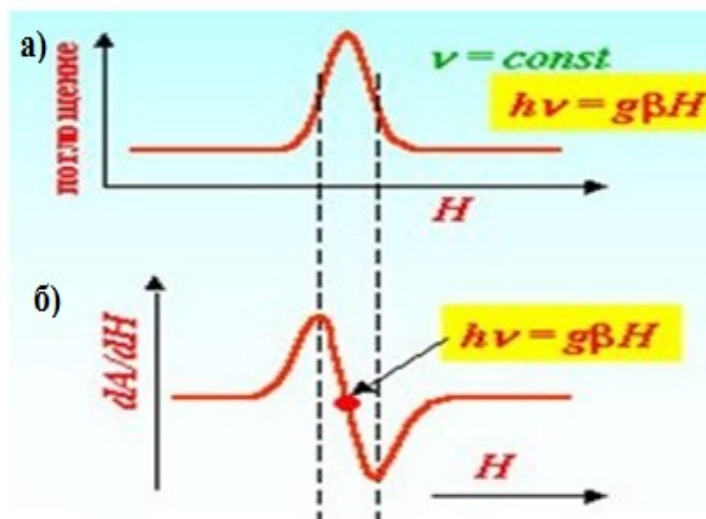


Рис. 2.3. Два способа представления спектров ЭПР: спектр поглощения (а) и соответствующая ему первая производная (б).

Спектрометр ЭПР устроен таким образом, что он работает при фиксированной частоте микроволнового излучения. Напряжённость магнитного поля изменяется и горизонтальная ось прокалибрована в эрстедах (А/м). Можно установить любую величину напряжённости поля и проводить регистрацию спектра с этой точки. Предполагается, что развертка поля является

линейной, поэтому g -факторы для других линий можно отсчитывать от линии стандарта. Зондирующую частоту находят с помощью частотомера [131].

В работе использован радиоспектрометр РЭ-1306 [132], принципиальная блок-схема которой представлена на рис. 2.4. В серийных приборах частота электромагнитного излучения задаётся постоянной, а условие резонанса достигается путём изменения напряженности магнитного поля.

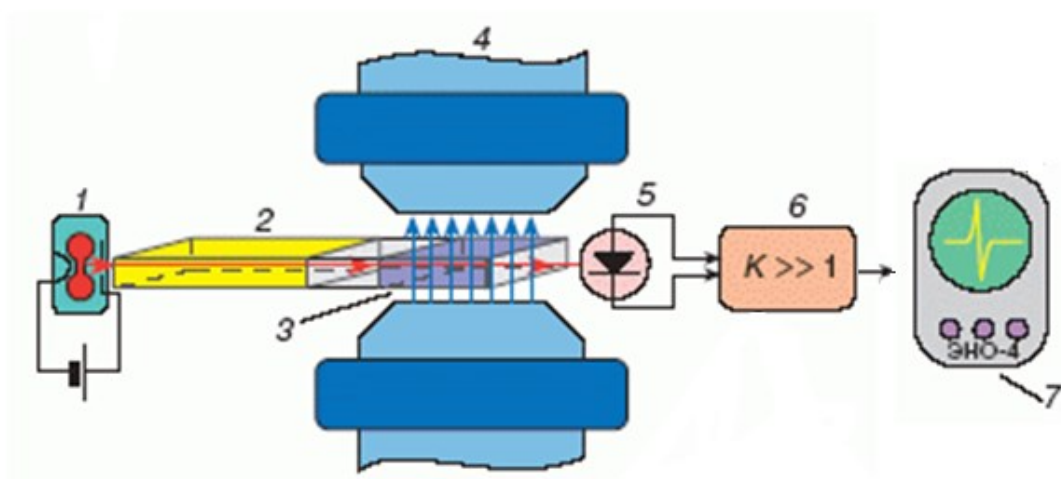


Рис. 2.4. Блок-схема спектрометра ЭПР: 1–источник СВЧ излучения; 2–волноводы; 3–объемный резонатор; 4–электромагнит; 5–усилитель; 6–детектор СВЧ излучения; 7–регистрирующее устройство.

Большинство спектрометров работает на частоте $\nu = 9000$ МГц, соответствующей длине волны 3,2 см и с магнитной индукцией 0,3 Тл. Электромагнитное излучение сверхвысокой частоты (СВЧ) от источника 1 по волноводам 2 поступает в объёмный резонатор 3, содержащий исследуемый образец и помещённый между полюсами электромагнита 4.

В условиях резонанса СВЧ-излучение поглощается спиновой системой. Модулированное поглощением СВЧ-излучение по волноводу 2 поступает на детектор 6. После детектирования сигнал усиливается на усилителе 5 и подаётся на регистрирующее устройство 7. В этих условиях регистрируется и интегральная линия поглощения ЭПР. Для повышения чувствительности и разрешения спектрометров ЭПР используют высокочастотную (ВЧ) модуляцию

(обычно 100 кГц) внешнего магнитного поля, осуществляемую с помощью модуляционных катушек. ВЧ-модуляция и специальное фазочувствительное детектирование преобразуют сигнал ЭПР в первую производную кривой поглощения, в виде которой и происходит регистрация спектров ЭПР в большинстве серийных спектрометров.

Часть нашей работы посвящена определению парамагнитных центров (свободных радикалов). Метод обработки и подготовки образцов описан в [85] и согласуется с ГОСТом [88].

Для полного удаления примесей инородных веществ образцы до записи спектров тщательно промывались обычной, затем дистиллированной водой в два три приёма. Потом образцы выкладывались на фильтровальную бумагу для полного удаления влаги с их поверхности и сушились в сублимационной сушилке или 2 часовой вакуумной сушкой при температуре $(40 \pm 5)^\circ\text{C}$. Затем образцы измельчались до порошкообразного состояния и помещались на дно молибденовой ампулы диаметром 3 мм. Предварительно молибденовую ампулу проверяют на отсутствие в ней фоновых сигналов ЭПР, выполняя процедуру на спектрометре с выбранными режимами измерений. Ампулы промывают дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу при температуре $90-100^\circ\text{C}$ в течение 2 ч. Затем ампулы вынимают из сушильного шкафа, выдерживают 1 ч при комнатной температуре и хранят в условиях, исключающих попадание на них влаги и пыли до использования их в работе. Далее, ампулу с образцом помещают в резонатор спектрометра ЭПР на фиксированную глубину, соответствующую центру резонатора. Спектр ЭПР три раза регистрируют при соблюдении условий записи.

ЭПР-спектры записывались при следующих условиях: затухание СВЧ мощности – 5 дБ, амплитуда развёртки магнитного поля - 200 Э, скорость развёртки магнитного поля – 40 Э/мин, амплитуда ВЧ-модуляции - 0,3 Э, постоянная времени - 0,3 с и частота ВЧ-модуляции - 100 Гц. Интенсивность сигнала образца сравнилась с интенсивностью сигнала эталонной навески

двухвалентного Mn^{+2} в окиси магния MgO по количеству парамагнитных центров [77-79, 120, 121].

2.4. Метод спиновых меток

Метод спиновых меток и зондов основан на анализе изменений ширины линий спектров ЭПР введённых в полимерную матрицу свободных нитроксильных радикалов (НР), вызванных их вращением и колебательно-поступательным движением [93-97].

Необходимо заметить, что метод ЭПР является не только удобным, но часто единственным способом регистрации динамики внутриклеточных процессов в полимерах и биополимерах, в том числе, растениях. Однако возможности метода не ограничиваются лишь измерениями собственных сигналов ЭПР от различных компонент исследуемой системы. Другое направление применения метода ЭПР для изучения биополимеров заключается в использовании искусственных и некоторых природных парамагнитных соединений. Эти соединения вводят в исследуемую систему в качестве молекулярных зондов (спиновых меток). Наблюдая за сигналами парамагнитных спиновых меток, можно следить за структурной перестройкой биополимеров, макромолекулярных комплексов и молекулярной подвижностью различных биологических систем, а также других надмолекулярных структур клетки растений и пр. [80-83].

Широкое применение для получения информации о динамической структуре молекул нашёл метод спиновых меток на основе стабильных НР [93-100]. Во многих свободных радикалах неспаренный электрон находится на орбите, охватывающей несколько атомов. Если хотя бы один из атомов имеет ядерный магнитный момент, то при взаимодействии между ядерным и электронным спинами энергетический уровень неспаренного электрона дополнительно расщепляется и в спектре ЭПР возникает сверхтонкая структура (СТС). Электрон-ядерное взаимодействие, которое вызывает расщепление одного электронного уровня на несколько подуровней, называется сверхтон-

ким взаимодействием, а соответствующее расщепление спектральных линий—сверхтонким расщеплением.

Если в таком радикале наблюдается СТС только от ядра азота, спектр представляет собой триплет с соотношением интенсивностей 1:1:1. В условиях малой подвижности в спектре проявляется анизотропия g -фактора и СТС. Метод ЭПР позволяет определить времена корреляции τ_c в диапазоне $10^{-7} - 10^{-10}$ с. Расчет τ_c может быть произведён с использованием некоторых простых параметров спектра спиновых меток. При этом оказывается возможным обнаруживать и характеризовать случаи, когда вращение зонда является анизотропным, т.е. когда частоты вращения вокруг различных осей различаются. В зависимости от природы связи метки с исходной молекулой, геометрии окружения и других причин парамагнитная группа может быть жёстко закреплена (СТС будет анизотропной), движение этой группы может быть заторможенным или свободным. Характер движения отчётливо проявляется в форме спектра и служит важным источником информации об исходной молекуле.

Применение метода ЭПР в условиях матричной изоляции позволило не только изучить спектры многих парамагнитных центров, но также существенно продвинуло вперёд понимание механизмов радиационно-химических и фотохимических процессов. Удалось также получить ценные сведения о подвижности реакционно-способных центров в твёрдой фазе, вращении, поступательной диффузии и связи подвижности с химическими процессами.

Важная информация может быть получена при анализе формы линии. Эта информация не ограничивается случаями, приведёнными выше. Так, например, по эффектам диполь-дипольного уширения и обменного сужения можно судить о том, является ли пространственное распределение парамагнитных центров статистически однородным или они сгруппированы в более плотные «сгустки» в определённых областях образца. Решение этих вопросов, а также оценка среднего расстояния между парамагнитными центрами важны для понимания кинетических особенностей радиационных и фотохи-

мических процессов в твёрдой фазе, явлений адсорбции. По изменению формы линии можно изучать кинетику быстрых процессов, таких, как спиновый обмен между радикалами, реакции переноса электрона и др.

Метод спиновых меток позволяет анализировать форму линий спектра ЭПР исходя из влияния локального окружения на подвижность радикала [99, 100, 119, 123]. В действительности в жидкостях или в системах с малой вязкостью (вода, этиловый спирт, ацетон) радикал вращается быстро и свободно и его спектр состоит из трёх линий с хорошо разрешённой СТС и малой одинаковой шириной линии ΔH (рис.2.5 а). При повышении вязкости (например, в глицерине) вращение радикала замедляется и линии ЭПР уширяются (рис. 2.5 б.).

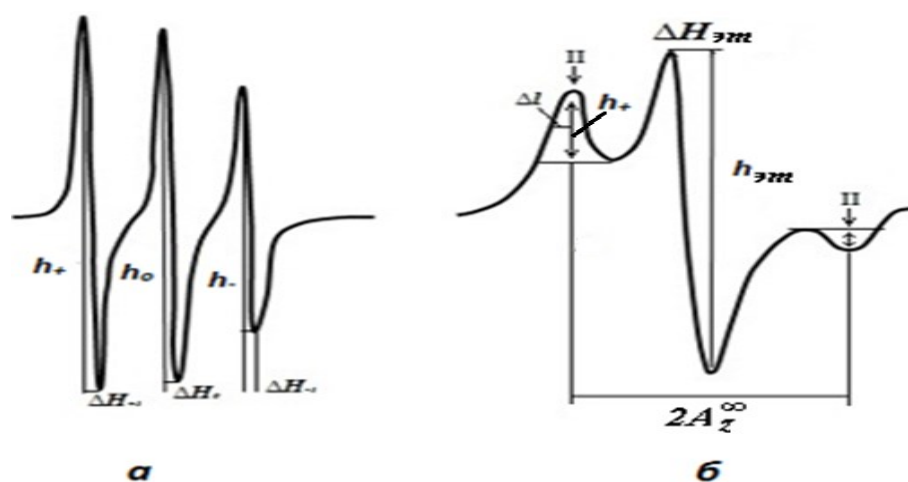


Рис. 2.5. ЭПР-спектры свободного нитроксильного радикала (I):
a - в спиртовом растворе с концентрацией $4 \cdot 10^{-3}$ моль/л и с временем корреляции $\tau_c < 10^{-7}$ с; *б* - эталон 50 % водно-глицеринового раствора при 77 К.

Анализируя эти уширения, можно вычислить частоту вращения радикала или обратную величине времени корреляции τ и периоды вращения. Они связаны с коэффициентом вращательной диффузии $D_{вр}$ соотношением

$$\tau = \frac{1}{D_{вр}} . \quad (5)$$

Величина τ связана с микровязкостью исследуемой системы соотношением Стокса-Эйнштейна

$$\tau = \frac{4\pi\eta a^3}{3kT}, \quad (6)$$

где η —вязкость растворителя, a —эффективный гидродинамический радиус спин-меченной молекулы, k —постоянная Больцмана, T —температура, К.

Таким образом, спиновые метки, присоединённые к молекуле вещества, играют роль датчика информации о молекулярной структуре и динамике в исследуемой системе [93-96].

Количество НР, присоединившихся к образцу, определяли путем сравнения спектра ЭПР меченого образца со спектром эталонного водно-глицеринового раствора при температуре 77 К с использованием формулы

$$R_{обп} = R_{эм} \frac{h_{обп} (\Delta H_{обп})^2}{h_{эм} (\Delta H_{эм})^2}, \quad (7)$$

где $R_{эм}$, $R_{обп}$ — концентрации спин-меток в эталоне и образце соответственно, $h_{эм}$, $h_{обп}$ — амплитуда центрального компонента спектра ЭПР-эталона и образца соответственно, $\Delta H_{обп}$, $\Delta H_{эм}$ — ширина центральной компоненты спектра ЭПР эталона и образца соответственно.

В 3-х сантиметровой ЭПР-спектроскопии время корреляции вращения спин-метки определяется в интервале 10^{-11} - 10^{-7} с [132]. Время корреляции вращения радикалов в интервале $5 \cdot 10^{-11} < \tau < 1 \cdot 10^{-9}$ с (быстрые вращения) [67] можно определить из соотношения:

$$\tau = 6.65 \Delta H_+ (\sqrt{I_+/I_-} - 1) 10^{-10} \text{с}, \quad (8)$$

где ΔH_+ —ширина компоненты спектра в низком поле в гауссах, I_+ , I_- —интенсивности компоненты спектра в низких и высоких полях соответственно. В области быстрых вращений время корреляции можно определить [95-97] по следующим формулам:

$$\nu_{(+1)} = \frac{1}{\tau_{c(+1)}} = \frac{2 \cdot 10^8}{\left(\sqrt{\frac{h_0}{h_{+1}}} - 1 \right) \Delta H_0} \text{с}^{-1}, \quad (9)$$

$$v_{(-1)} = \frac{1}{\tau_{c(-1)}} = \frac{3,6 \cdot 10^9}{\left(\sqrt{\frac{h_0}{h_{-1}}} - 1 \right) \Delta H_0} c^{-1}, \quad (10)$$

$$v_{(\pm)} = \frac{1}{\tau_{c(\pm)}} = \frac{1,2 \cdot 10^{10}}{\left(\sqrt{\frac{h_{+1}}{h_{-1}}} - 1 \right) \Delta H_{+1}} c^{-1}, \quad (11)$$

где ΔH_0 и ΔH_{+1} —ширина центральной и низкопольной компоненты спектра ЭПР в гауссах соответственно; h_0 , h_{+1} , h_{-1} —амплитуды центральной, низкопольной и высокопольной компонент спектра с моментом $M = 0, +1$ и -1 соответственно, $\nu = 1/\tau$ —величина, условно называемая «частотой вращения» радикала, τ_c —время корреляции вращательной диффузии радикала.

В области медленных движений ($1 \cdot 10^{-9} \leq \tau \leq 1 \cdot 10^{-7}$ с) время корреляции определяют несколькими способами:

а) с использованием параметра χ :

$$\chi = \frac{H(\tau) - H(\tau \rightarrow 0)}{H(\tau \rightarrow \infty) - H(\tau \rightarrow 0)}. \quad (12)$$

В этой формуле $H_+(\tau)$ —значение напряжённости поля, соответствующее максимуму компоненты спектра в слабом или низком поле, $H_+(\tau \rightarrow 0)$ и $H_+(\tau \rightarrow \infty)$ —значения напряжённости поля, соответствующие максимумам этой же компоненты в условиях предельно быстрого и предельно медленного вращения НР [95].

б) Время корреляции вращательной диффузии радикалов τ_c в области медленных движений определяли по формуле:

$$\tau_c = 8 \cdot 10^{-10} \left(1 - \frac{2A_{\underline{z}}}{2A_{\underline{z}}^{\infty}} \right)^{-1,16} c, \quad (13)$$

где $2A_{\underline{z}}$ —расстояние между внешними экстремумами спектра ЭПР образца при заданной температуре опыта, $2A_{\underline{z}}^{\infty}$ —расстояние между внешними экстре-

мумами спектра ЭПР 50 % водно-глицеринового раствора при температуре 77 К (рис. 2.5) [93,133].

В ряде случаев эффективные энергию $E_{эфф}$ и энтропию $\Delta S_{эфф}$ активации вращения радикала [94-97, 136-140] оценивали по уравнению Аррениуса:

$$\nu = \frac{\kappa T}{h} \exp \frac{\Delta S_{эфф}^{\pm}}{R} \exp - \frac{\Delta E_{эфф}^{\pm}}{RT} . \quad (14)$$

Исследуемые образцы химически модифицировали по гидроксильным группам спиновой метки (I) следующим образом: навески образца по 30 мг помещали в 0.9 мл раствора в фосфатном буфере (рН=9-10) с добавлением 0.1 мл этанолового раствора спиновой метки (I) с концентрацией (10^{-2} моль/л), после чего концентрация радикала (I) в инкубационной среде достигала $4 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Смесь выдерживали в течение пяти суток при комнатной температуре, затем нагревали два часа при 333-343 К. Модифицированные образцы отмывали от непрореагировавшего радикала в следующей последовательности: вода-этанол, вода до получения неизменного сигнала ЭПР. После многократного промывания образцы сушили при комнатной температуре [99, 100]. Спектры ЭПР регистрировали при условии, приведённом в разделе 2.3. По форме спектра, регистрируемого сигнала поглощения можно оценить время корреляции вращательных движений радикала в диапазоне $5 \cdot 10^{-11} \div 1 \cdot 10^{-7}$ с и другие динамические параметры [99-101].

2.5. Определение динамических параметров характеристического вращения спиновой метки

Изучению влияния структуры микроокружения на вращательную диффузию нитроксильных радикалов в полимерах, в том числе биополимерах, посвящено большое количество работ [94-100, 136-139]. Обычно для количественного описания результатов подвижности спин-меток пользуются следующими параметрами: временем корреляции вращательной диффузии (τ_c); частотой вращения радикала ($\nu = 1/\tau$); эффективной энергией ($E_{эфф}$) и энтро-

пией ($S_{\text{эфф}}$) активации, определяемой уравнением температурной зависимости ν (14) [115, 136].

В ряде работ [136-139] температурная зависимость частоты вращения радикала даётся в виде

$$\nu = \nu_0 e^{-\frac{E_{\text{эфф}}}{RT}}, \quad (15)$$

где ν —частота вращения радикала, ν_0 —частота вращательных колебаний радикала вокруг положения равновесия, $E_{\text{эфф}}$ —эффективная энергия активации вращения радикала, R —молярная газовая постоянная, T —температура (К).

Уравнение (15) можно написать в следующем виде:

$$\nu = \nu_0 10^{\lg e \cdot \left(-\frac{E_{\text{эфф}}}{RT}\right)}.$$

Логарифмируя обе стороны этого уравнения, получаем

$$\lg \nu = \lg \nu_0 - \left(\frac{E_{\text{эфф}}}{R} \cdot \lg e\right) \cdot \left(\frac{1}{T}\right). \quad (16)$$

Очевидно, что это уравнение правильно описывает экспериментальную зависимость логарифма частоты вращения радикала от температуры.

На основе выражения (16) с использованием экспериментальной зависимости логарифма частоты вращения радикала от обратной температуры составим систему линейных уравнений для определения $E_{\text{эфф}}$ и $\lg \nu_0$:

$$\left. \begin{aligned} \lg \nu_1 &= \lg \nu_0 - \left(\frac{E_{\text{эфф}}}{R} \cdot \lg e\right) \cdot \left(\frac{1}{T}\right)_1 \\ \lg \nu_2 &= \lg \nu_0 - \left(\frac{E_{\text{эфф}}}{R} \cdot \lg e\right) \cdot \left(\frac{1}{T}\right)_2 \end{aligned} \right\}, \quad (17)$$

где $\lg \nu_1$, $\lg \nu_2$ и $(1/T)_1$, $(1/T)_2$ - соответственно два произвольных значения логарифма частоты вращения радикала и обратной температуры.

Пользуясь этой системой линейных уравнений, мы оценивали значения энергии активации вращения НР ($E_{\text{эфф}}$), частоты вращательных колебаний радикала вокруг положения равновесия (ν_0) для молекул репейника в зависимости от поглощённой дозы радиации.

Таким образом, имеются реальные предпосылки для количественной оценки эффективной энергии активации и локальной подвижности молекул растений методом спиновых меток.

2.6. Оценка энергии межмолекулярного взаимодействия методом спектроскопии

Одним из важнейших факторов межмолекулярного взаимодействия является энергия межмолекулярной водородной связи. Водородные связи играют заметную роль в физических, химических процессах в полимерах, при структурообразовании растений, оказывают решающее влияние на физико-химические и механические свойства веществ. Именно водородные связи являются причиной столь выраженных аномалий свойств веществ [140, 141].

Водородная связь влияет и на характер колебания группы молекул в составе веществ, участвующих в образовании этой связи. Это влияние может наблюдаться в виде сдвига частот, приращения интенсивности и ширины полос поглощения, обусловленных колебаниями протонно-донорных групп, таких как C=O, C-O, C=N, OH и др. Известно, что сдвиги частот, изменение интенсивности, ширины полос или отсутствие того или иного изменения в спектре основания, величина и направление этих изменений зависят от природы и свойств взаимодействующих молекул и от формы колебаний.

Образование водородных связей между молекулами воды, спирта, карбоновой кислоты, фенолов и др. и молекулами таких оснований, как нитриты, амины и др. установлено по изменениям колебательного спектра группы O-H донора протонов; такая связь приводит к радикальному изменению спектра электродонорного соединения.

Таким образом, водородная связь приводит к комплексообразованию и изменению спектральных характеристик. Величина этих параметров определяется прочностью H-связей. Поэтому для определения другой основной ха-

рактические характеристики водородной связи-энергии применяют чаще всего именно величины сдвига частот и интенсивности полос поглощения [142-146].

Впервые Беджером и Бауером была обнаружена почти линейная зависимость между сдвигом полос и энергией водородной связи в виде эмпирического соотношения [142, 147]:

$$-\frac{\Delta\nu}{\nu} \approx \Delta H 0,012. \quad (18)$$

Позже на основе квантомеханических расчетов было выведено [147, 148] соотношение между сдвигом частоты $\Delta\nu$ и энергией разрыва связи ΔE следующее приближительное равенство:

$$\frac{\Delta\nu}{\nu} \approx \frac{\Delta E}{D} \left(\rho_1 + \rho_2 \frac{h\nu_0}{D} \right), \quad (19)$$

где D —энергия диссоциации группы в свободной молекуле, ρ_1 , ρ_2 —коэффициенты, ν_0 —частота колебания свободной молекулы. Применительно к связи О – Н ...О это соотношение принимает вид

$$-\frac{\Delta\nu}{\nu} \approx \Delta E \frac{\rho}{D}, \quad (20)$$

где $\frac{\rho}{D} \approx 1,6 \cdot 10^{-2} - 1,9 \cdot 10^{-2}$.

В работе [149] методом наименьших квадратов получены корреляционные соотношения между сдвигом $\Delta\nu$ полосы и энергией водородной связи ΔE , между шириной полос $\Delta\nu_{1/2}$ и ΔE

$$\Delta\nu = 9,5 \Delta E^2 + 38; \quad \Delta\nu_{1/2} = 0,74 \Delta\nu; \quad \Delta\nu_{1/2} = 7,08 \Delta E^2 + 28. \quad (21)$$

Здесь отмечается, что соотношения (21) выполняются для самых разнообразных систем с водородными связями, образуемыми функциональными группами ОН, NH, С-Н и др. В [150] впервые получено корреляционное соотношение между энергией связи и корнем квадратным из приращения интегральной интенсивности полос при образовании водородной связи.

Известно, что для определения вклада гидроксильных групп, частоты поглощения в широкой спектральной области объекты исследования растворяются в инертных растворителях и по положению максимума полос погло-

щения определяют вклад ОН-групп в меж- и внутримолекулярное взаимодействие. При растворении некоторых молекул или полимеров в солях спектры в области полос валентных и деформационных колебаний содержат новые полосы, наблюдается смещение полос и изменение интегральной интенсивности [143, 151, 152]. Интенсивности смешанных полос с ростом концентрации растворов увеличиваются, а величины смещений существенно зависят от природы катиона растворённой соли. Положение полос поглощения молекул, возмущённых взаимодействием со свободными катионами, показывает, что изменение под влиянием катионов испытывают те полосы, которые изменяются и при межмолекулярном взаимодействии, причём характер изменений в том и другом случае качественно одинаков [151, 152].

В [48] для определения межмолекулярного взаимодействия в веществе растений был проведен катионообмен (КО). Известно, что составные части лекарственных растений не растворяются в обычных растворителях, поэтому измельчённые образцы выдерживали в течение 24 часов в 2 % растворе медного купороса CuSO_4 для КО. Затем образцы тщательно промывали обычной и дистиллированной водой, сушили и спрессовывали с KBr для получения таблеток.

Как показано в работах [48-51, 116-118, 122], после КО почти у всех образцов происходит смещение максимума полос поглощения, изменение интенсивности и значения интегральной интенсивности. По смещению пика полосы ОН- групп и эмпирическому соотношению (20) в [147, 148] дана оценка энергии водородной связи (E в кДж/моль, $\Delta\nu$ в см^{-1}). На основании этого соотношения (20) в настоящей работе исследовано влияние различных уровней радиационного фона и экологии места произрастания на прочность водородных связей для некоторых растений.

Таким образом, можно заключить, что методы ИК-спектроскопии и спиновых меток достаточно широко применяются для исследования структуры и свойств растений. Об этом свидетельствует целый ряд других работ [47-55, 58-65, 76-79, 109-115]. Однако, как показывает анализ, в этом направле-

нии ещё много невыясненных вопросов. Например, не достаточно исследованными остаются вопросы влияния техногенных (антропогенных) факторов на структурные особенности функциональных групп лекарственных растений, состава атмосферы и радиационной дозы на параметры межмолекулярного взаимодействия, конформацию молекул, молекулярную динамику, время корреляции подвижности спин-меток. Совершенно не исследована связь между физико-механическими свойствами биополимеров с их структурными параметрами. Изменится ли активационная энергия и энтропия вращательной подвижности молекул под действием техногенных факторов, пока неясно, поскольку этот случай также систематически не исследован.

В связи с этим, нам представляется интересным и важным провести более подробное и тщательное исследование влияния внешних и техногенных факторов на структуру и физические свойства вещества растений с использованием спектроскопических методов и метода спиновых меток.

ГЛАВА III. ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СВОЙСТВ ОРГАНИЧЕСКИХ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ

Физико-химические исследования последних лет показывают, что структура и свойства биополимеров, в том числе растительных, являются многофакторной функцией, зависящей от целого ряда внешних, как чисто природных, так и техногенных факторов. Среди многих существующих методов исследования биополимеров спектроскопические методы являются наиболее результативными. С их помощью можно получить достоверные количественные данные о закономерностях влияния комплекса внешних факторов на структуру и свойства биополимеров.

3.1. Исследование влияние уровня радиационного фона среды произрастания на спектральные характеристики репейника

ИК-спектры органических соединений дают качественную и количественную информацию о составе, строении и динамике структурных единиц функциональных групп веществ как в кристаллическом, так и в аморфном состояниях. С помощью колебательных спектров можно получать сведения о состоянии молекул не только в объёме объекта, но и в приповерхностных слоях и на границе раздела с окружающей средой.

Известно, что любая молекула или индивидуальное вещество имеют собственный колебательный спектр, отличающийся от спектров других веществ индивидуальным рядом полос поглощения с определёнными интенсивностью и частотами, по которым можно идентифицировать вещество. В ИК-спектроскопии важным является понятие характеристичности нормальных колебаний, т.е. соответствия их определенным группам атомов, например, $C=O$, $C-H$, $O-H$ и др. Характеристичность по частоте проявляют колебания многих групп органических соединений. Именно характеристич-

ность колебаний позволяет использовать ИК-спектроскопию для идентификации органических соединений.

В табл. 3.1. приведены радиационные характеристики некоторых мест произрастания лекарственного растения репейника (*Arctium tomentosum* Mill.), образцы для исследования которого были отобраны в хвостохранилище «Дигмай» в зонах с разными уровнями радиации. Координаты места

Таблица 3.1

Характеристики места произрастания

| Место произрастания | Радиационный фон, мкЗв/час |
|---------------------|----------------------------|
| точка А | 0,7 |
| точка В | 2,7 |
| точка С | 8,4 |

сбора растений: точка А (С 40° 13' 35", В 69°38' 9"); точка В (С 40° 13' 32", В 69° 38' 2"); точка С (С 40° 13' 28", В 69° 37' 50").

ИК-спектры образцов снимались на ИК-Фурье спектрометре IRAffinity-1 фирмы «SHIMADZU» (Япония). Образцы для исследования готовились с использованием методики таблетирования в КВг в соотношении 8:600 мг (см. раздел 2.2).

На рис. 3.1. приведены примеры ИК-спектров образцов листьев репейника в области частот 4000-400 см⁻¹, собранных в точках (А, В, С). Можно видеть (кривые 1-3), что в спектре листьев репейника в области частот валентных колебаний гидроксильных групп наблюдаются широкие полосы поглощения с частотой максимума ($\nu_{\text{макс.}}$) при 3440, 3410 и 3362 см⁻¹, соответствующие меж- и внутримолекулярным связям ОН-групп, которые различаются по интенсивности.

Сильный сдвиг в спектре листьев от 30 до 78 см⁻¹ свидетельствует об изменении силовых констант меж- и внутримолекулярного взаимодействий. Возможно, это смещение связано как с изменением количественного содер-

жания гидроксильных групп, так и вкладом атомов азота, входящие в структуру хлорофилла.

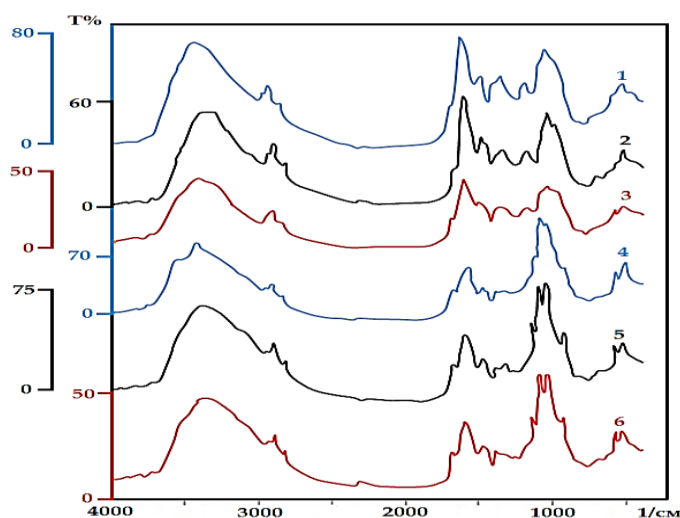


Рис. 3.1. ИК-спектры листьев репейника, собранного в точке: *A* (1–до, 4–после катионообмена (КО)); *B* (2–до, 5–после КО); *C* (3–до, 6–после КО).

Согласно [2, 13, 14], в составе листьев репейника содержится около 10 % каротина, 15 % органических кислот, витамин С, сахар, слизи, дубильные вещества и другие соединения, которые под действием радиационного фона повреждаются, что и приводит к изменению количества функциональных групп.

Самую высокую интенсивность имеют образцы, собранные в точке (*A*)- более 75 %, самую низкую- из точки (*C*) около 50 %. Интегральная интенсивность пропорциональна количеству функциональных групп и при изменении мощности радиационного фона она изменяется.

В области частот $3000 - 2800 \text{ см}^{-1}$ наблюдается слабая полоса поглощения при 2920 и 2922 см^{-1} , относящаяся к ассиметричному валентному колебанию CH_2 на высоко- и низкочастотном крыле, где наблюдаются следы полос валентных колебаний метильных и метиленовых групп. Положения $\nu_{\text{макс}}$ приведены в табл.3 2. Как видно из рис. 3.1 и табл. 3.2, положение максимума полос поглощения в этой области мало изменяется. Это свидетельствует об изменении количества метильных и метиленовых групп в структуре репей-

ника. В области частот $1800 - 400 \text{ см}^{-1}$ проявляется ряд полос поглощения, характерных для валентных и деформационных колебаний $\text{C} - \text{O} - \text{H}$, CH , OH и $\text{C} = \text{O}$, $\text{C} = \text{C}$, $\text{C} = \text{N}$ – групп и др., положения $\nu_{\text{макс}}$ которых приведены в табл. 3.2.

Таблица 3.2.

Характерные полосы спектров поглощения
листьев (Л) и корневища (К) репейника.

| № | точка А | | точка В | | точка С | | Отнесение полос согласно работ [153, 154] |
|---|-------------------|---------|---------|---------|---------|-------|---|
| | катионообмен (КО) | | | | | | |
| | До | после | до | после | До | после | |
| Л | 3440 | 3398 | 3363 | 3394 | 3410 | 3387 | Валентные колебания ОН (межмол. водородные связи) |
| К | 3416 | 3396 | 3395 | 3380 | 3392 | 3385 | |
| Л | 2922 | 2920 | 2920 | 2920 | 2920 | 2920 | Антисимметричные валентные колебания CH_2 |
| К | 2928 | 2927 | 2926 | 2927 | 2925 | 2924 | |
| Л | 2850 | 2850 | 2850 | 2850 | 2850 | 2850 | Симметричные валентные колебания CH_2 |
| К | 2854 | сл.2852 | 2854 | сл.2852 | 2854 | 2860 | |
| Л | 1734 | 1760 | 1734 | 1750 | 1730 | 1740 | Валентные колебания $\text{C} = \text{O}$ |
| К | 1740 | 1750 | 1745 | 1740 | 1745 | 1740 | |
| Л | 1643 | 1624 | 1635 | 1627 | 1633 | 1635 | |
| К | 1610 | 1630 | 1635 | 1650 | 1640 | 1650 | |
| Л | 1510 | 1550 | 1544 | 1530 | 1577 | 1535 | Валентные колебания $\text{C} = \text{O}$, амид ($\text{O} - \text{C} - \text{N}$), $\text{C} = \text{N}$ |
| К | 1530 | 1550 | 1541 | 1540 | 1540 | 1550 | |
| Л | - | - | - | - | - | - | |
| К | 1506 | 1510 | 1503 | 1505 | 1503 | 1505 | Деформационные CH_2 , $\text{N} - \text{H}$, валентные SO_2 |
| Л | - | 1430 | 1466 | 1470 | 1430 | 1450 | |
| К | 1460 | 1420 | 1450 | 1417 | 1440 | 1415 | Деформационные колебания ОН |
| Л | 1384 | 1340 | 1420 | 1400 | 1333 | - | |
| К | 1386 | 1380 | 1384 | 1400 | 1365 | 1380 | |
| Л | - | - | - | - | - | - | |
| К | 1340 | 1340 | 1338 | 1345 | 1340 | 1350 | Веерные колебания CH_2 |
| Л | - | - | - | - | - | - | |
| К | 1319 | 1320 | 1319 | 1310 | 1300 | 1310 | Деформационные колебания CH , $\text{N} - \text{H}$ |
| Л | 1238 | 1240 | 1240 | - | 1240 | - | |
| К | 1260 | - | 1240 | - | 1240 | - | Валентные $\text{C} - \text{O}$, деф. ОН |
| Л | - | 1195 | - | 1197 | - | 1199 | |
| К | - | 1197 | - | 1199 | - | 1200 | Валентные колебания $\text{C} - \text{O} - \text{C}$ |
| Л | 1105 | 1147 | 1111 | 1147 | 1111 | 1147 | |
| К | сл.1140 | 1151 | сл.1150 | 1155 | 1151 | 1157 | Валентные колебания CO |
| Л | 1060 | 1109 | 1060 | 1093 | 1058 | 1095 | |
| К | 1100 | 1101 | 1097 | 1095 | 1100 | 1095 | Антисимметричные внефазные валентные колебания, деформационные колебания $\text{C} - \text{H}$ |
| Л | 970 | 997 | - | 997 | 966 | 997 | |
| К | - | 997 | - | 997 | - | 997 | |
| Л | - | - | - | 900 | 905 | 966 | |
| К | - | 992 | - | 980 | - | 960 | Деформационные колебания $\text{C} - \text{H}$ |
| Л | 830 | 800сл. | 796 | 796 | 778 | 770 | |
| К | 780 | 760 | 760 | 770- | 780 | 800 | Внеплоскостные деформационные колебания $\text{O} - \text{H}$ |
| Л | 669 | 667 | 696 | 696 | 669 | 666 | |
| К | 667 | 660 | 667 | 659 | 667 | 665 | |

В спектре всех образцов наблюдается стабильная полоса поглощения при 1735 см^{-1} . Однако в области $\nu_{\text{макс}}$ полосы при 1630 см^{-1} наблюдается изменение интенсивности и смещение на 15 см^{-1} в низкочастотную область (табл. 3.2).

В спектре образцов, отобранных в точке (A), на низкочастотном крыле полос при 1510 см^{-1} , а также на высокочастотном и низкочастотном крыльях полос при 1105 и 601 см^{-1} наблюдаются следы полос поглощения. В спектре образцов из точки (B) максимум полосы проявляется при 1544 см^{-1} и становится интенсивным, а следы полос на высокочастотном крыле полосы в области 1105 см^{-1} сглаживаются.

Интенсивность всех полос в спектре образцов точки (C) по сравнению с образцами точки (A) снижается, только слабый пик на высокочастотном крыле полосы при 596 см^{-1} приобретает более чёткий вид при 669 см^{-1} .

Для выяснения вклада гидроксильных и карбоксильных групп в формирование ИК-полос поглощений в исследованной области частот и для определения энергии межмолекулярного взаимодействия (ЭММВ) гидроксильных групп листа репейника подвергались КО с 2 % водным раствором CuSO_4 по методике, изложенной в разделе 2.6.

На кривых 4-6 рис.3.1 приведены ИК-спектры образцов после КО, где наблюдаются различия в спектрах поглощений в области $3800\text{--}3000\text{ см}^{-1}$. В спектре образцов (A) наблюдается незначительный рост интенсивности полосы ОН-групп и высокочастотное смещение $\nu_{\text{макс}}$ на 58 см^{-1} . На высокочастотном крыле проявляются следы полосы при 3564 см^{-1} . Для образцов из точек (B) и (C) наблюдается изменение интенсивности полосы гидроксильных групп и смещение максимума на 31 и 23 см^{-1} в высокочастотной области спектра.

В области частот $3000\text{--}2700\text{ см}^{-1}$ для всех образцов после КО сильного смещения максимумов полос не обнаружено, однако наблюдается увеличение интенсивности до 10-15 %.

В области частот $1800 - 400 \text{ см}^{-1}$ (кривые 4-6) после КО наблюдается появление новых полос в области 1195 и $970, 997 \text{ см}^{-1}$ для всех образцов и сглаживание некоторых полос ($1335, 1240, 597 \text{ см}^{-1}$) для образца из точки (С). Более заметные изменения наблюдаются в спектре образцов (В) и (С) для полосы, лежащей в области частот $1300-900 \text{ см}^{-1}$. Интенсивные полосы в области максимума расщепляются на дублет при 1147 и 1094 см^{-1} на высоко- и низкочастотном крыльях, где наблюдаются слабые полосы (кривые 5, 6). Анализ ИК-спектров для всех образцов (А, В, С) после КО привлекает особое внимание изменением ряда характеристических полос поглощения, а также различием в интенсивностях полос, сдвигом максимума полосы, изменением формы полосы, появлением новых и сглаживанием некоторых полос. Это свидетельствует об энергетической неравнозначности меж- и внутримолекулярного взаимодействия функциональных групп в составе листьев репейника при воздействия радиации.

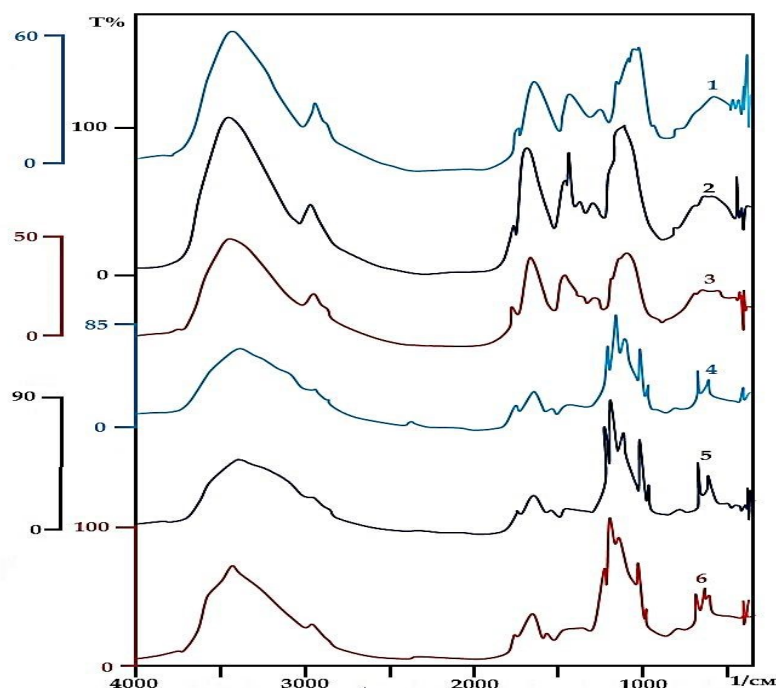


Рис.3.2. ИК-спектры корневища репейника: точка А (1–до КО, 4–после КО); точка В (2–до КО, 5–после КО); точка С (3–до КО, 6–после КО).

На рис. 3.2 приведены спектры корневища репейника. Из рисунка видно, что в области частот $3800-3000 \text{ см}^{-1}$ наблюдается относительно широкая и

интенсивная полоса поглощения с максимумом $\nu_{\text{мак}}$ в области 3416, 3395, 3392 см^{-1} , где обычно проявляются валентные колебания ОН-групп (кривые 1-3, табл. 2). Можно видеть, что рост уровня радиации места произрастания приводит к смещению максимума полос поглощения в низкочастотную сторону, снижению интенсивности и изменению формы спектра.

Необходимо отметить, что в зависимости от уровня радиационного фона в спектрах образцов репейника наблюдаются существенные (почти в два раза) изменения интенсивности полос поглощения ОН-групп. Низкая интенсивность указанных полос наблюдается в образцах, отобранных из точки (С), а самая высокая – в образцах точки В. ИК-спектр корневища репейника показывает, что положение частоты максимума $\nu_{\text{мак}}$ полосы поглощения ОН-групп и их интенсивность зависят от места произрастания.

В области частот 3000-2700 см^{-1} наблюдаются полосы при 2928, 2926 и 2925 см^{-1} , относящиеся к ассиметричным валентным колебаниям СН_2 , и на низкочастотном крыле этих спектров наблюдаются полосы, относящиеся к валентным колебаниям СН-групп при 2854 см^{-1} для всех образцов. После КО в этой области происходит сглаживание полос, наблюдаются только следы (кривые 4-6 рис.3.2).

В спектрах поглощения корневища репейника после КО наблюдаются изменения в области частот 1800-400 см^{-1} . В спектре образцов из точки (А) (кривые 1,4) наблюдается смещение максимума полосы поглощения при частоте 1530 см^{-1} в сторону высоких частот на 20 см^{-1} . При этом полоса 1240 см^{-1} сглаживается для всех образцов, прошедших КО и появляется очень слабая полоса при 1197, 997, 992 см^{-1} .

В спектрах образцов (В, С), (кривые 2, 3 и 5, 6 рис. 3.2) наблюдается смещение $\nu_{\text{макс}}$ полос и снижение интенсивности в области частот 1600-1200, максимум полосы 1419 см^{-1} у образцов из точки (А) расщепляется на дублет, а полоса 1384 см^{-1} становится более острой. После КО интенсивность в области частот 1800-400 см^{-1} заметно изменяется. Так, в области 1740-1530 см^{-1}

происходит смещение в сторону высоких частот, а в области $1506-667 \text{ см}^{-1}$ – в сторону низких частот.

Сравнительный анализ спектров после КО (кривые 4-6) показывает, что положение полос $3396, 3385, 3380 \text{ см}^{-1}$, характерных для ОН-групп, сдвигается в низкочастотную область спектра до 16 см^{-1} . На правом крыле полосы с максимумом $(2927 \pm 2) \text{ см}^{-1}$ во всех образцах полосы поглощения размазываются и проявляются следы полос при 2854 см^{-1} (кривые 4-6).

Для численного определения степени влияния радиационного фона и места произрастания на спектроскопические характеристики растений проведена оценка ЭММВ ОН-групп согласно эмпирической формулы (20) (см. табл.3.3). Расчётные значения ЭММВ для полос ОН-групп в области частот $3800-3000 \text{ см}^{-1}$ свидетельствуют о том, что формирование водородных связей в структуре репейника существенным образом зависит от уровня радиационного фона местности. Изменение положений максимума ИК-полос поглощений в области валентных колебаний ОН-групп в спектрах после взаимодействия с водным раствором соли CuSO_4 свидетельствует о различной прочности водородных связей.

Таблица 3.3

Спектральные характеристики и расчёт ЭММВ
листьев и корневища репейника

| Место сбора, хвостохранилище Дигмай | | $\nu, \text{ см}^{-1}$ | | $\Delta\nu, \text{ см}^{-1}$ | E, кДж/моль | $\Delta\nu \frac{1}{2}, \text{ см}^{-1}$ | | Интегральная интенсивность | |
|-------------------------------------|---------|------------------------|----------|------------------------------|-------------|--|----------|----------------------------|----------|
| | | До КО | После КО | | | До КО | После КО | До КО | После КО |
| Листья | точка А | 3340 | 3398 | 58 | 4,07 | 700 | 660 | 4015 | 3150 |
| | точка В | 3363 | 3394 | 31 | 2,18 | 660 | 700 | 3869 | 4096 |
| | точка С | 3410 | 3387 | 23 | 1,62 | 570 | 720 | 2665 | 4064 |
| Корень | точка А | 3415 | 3394 | 21 | 1.48 | 520 | 525 | 2920 | 3011 |
| | точка В | 3396 | 3380 | 16 | 1.13 | 470 | 565 | 4424 | 2632 |
| | точка С | 3392 | 3385 | 7 | 0.5 | 460 | 540 | 2873 | 1770 |

Сравнительный анализ ИК-спектров листьев и корневища репейника из мест с различными уровнями радиационного фона позволяет утверждать, что

жизнедеятельность растений связана с аккумуляцией внешней энергии и экологией места произрастания.

По данным табл.3.3 можно определить зависимости энергии межмолекулярного взаимодействия и относительной интегральной интенсивности полос поглощения объектов от мощности радиационного фона местности.

Так, на рис. 3.3 приведена зависимость относительной интегральной интенсивности полос поглощения листьев и корневища репейника от уровня радиации. Как видно из кривой 1 рисунка, для листьев репейника до КО по мере роста уровня радиации интегральная интенсивность гидроксильных групп нелинейно уменьшается, а после КО зависимость приобретает экстремальный характер (кривая 3): вначале с ростом дозы наблюдается быстрый рост, а затем происходит её слабое падение. Однако для образцов корневища наблюдается обратная картина (кривая 2): до КО зависимость имеет экстремальный характер, после КО (кривая 4) переходит к практически линейному падению.

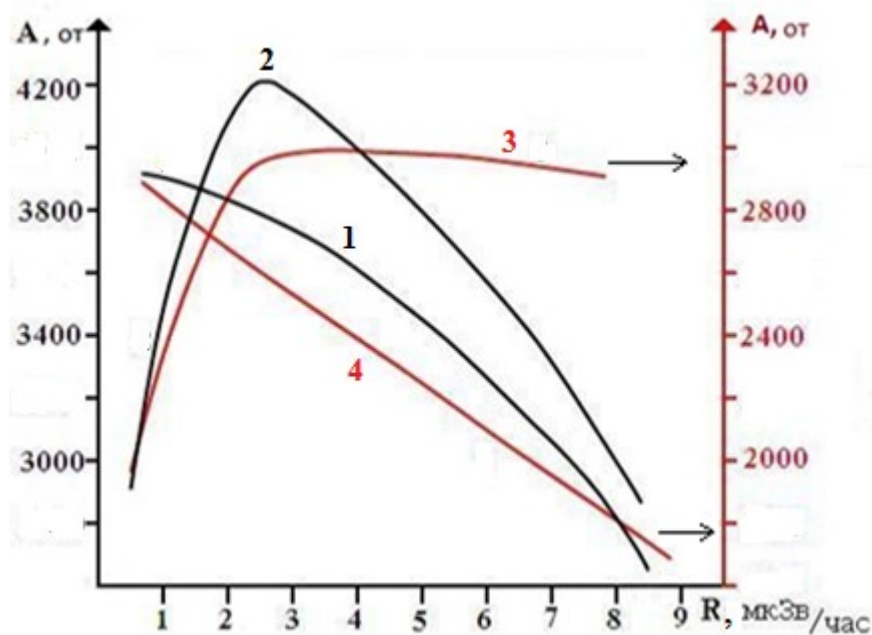


Рис.3.3 Зависимость относительной интегральной интенсивности полос поглощения от уровня радиации: 1-листья до КО , 3–листья после КО; 2– корневища до КО, 4– корневища после КО.

На рис.3.4 представлены зависимости энергии межмолекулярного взаимодействия и смещения максимума полос поглощения гидроксильных групп от мощности радиационного фона. Можно видеть, что по мере увеличения уровня радиационного фона энергия межмолекулярного взаимодействия и смещение максимума полосы поглощения для листьев и корней репейника нелинейно уменьшаются.

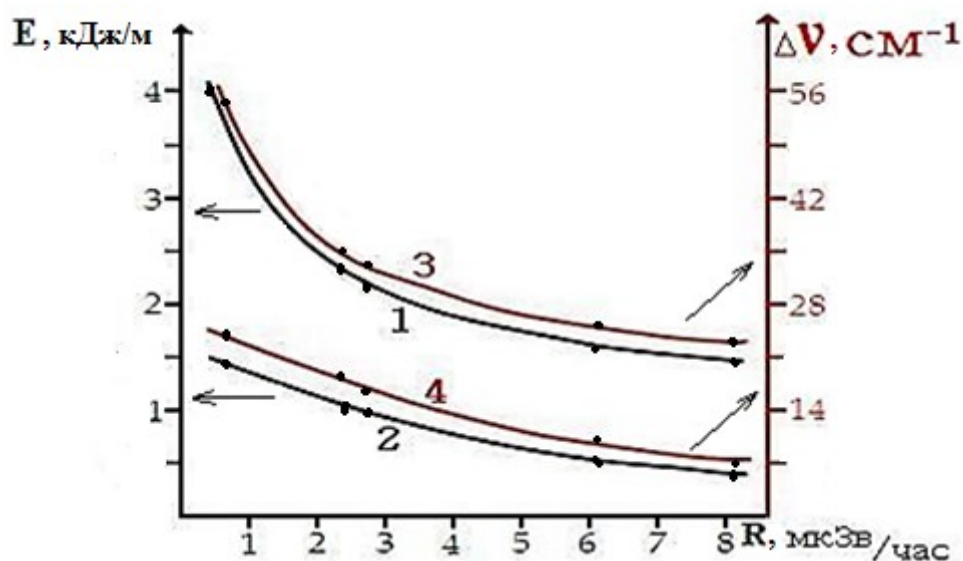


Рис.3.4. Зависимость энергии межмолекулярного взаимодействия и смещения частоты полосы поглощения $\Delta\nu(\text{cm}^{-1})$ в репейнике от уровня радиации: 1, 3 – листья; 2, 4 – корень.

Таким образом, приведённые данные свидетельствуют о том, что формирование системы меж- и внутримолекулярных водородных связей и молекулярно-динамической структуры лекарственных растений зависит от уровня радиационного фона места их произрастания. Радиационный фон однозначно влияет на спектральные характеристики растений.

При ИК-спектроскопическом анализе листьев и корневища репейника было установлено, что максимумы полос смещаются в высокочастотную (для листьев) и низкочастотную (для корневища) область спектра, а интенсивности полос уменьшаются под действием радиационного фона. Этот фактор существенно влияет на свойства функциональных групп растений и их спек-

тральные характеристики, о чём свидетельствует уменьшение интенсивности полос поглощения и интегральной интенсивности до 1.5 раза, изменение положения частоты максимума и формы полос поглощения, уменьшение энергии межмолекулярного взаимодействия до 2.5 раза для листьев и 3 раза – для корней.

3.2. Исследования влияния радиационного фона на спектральные свойства молекул донника

В работе образцы донника, широко применяемого в народной и официальной медицине [1, 2, 11], были отобраны из разных точек хвостохранилища «Дигмай». В точке *A* средняя мощность радиационного фона составляла 0.22 мкЗв/час, в точке *B* - 0.7 мкЗв/час, в точке *C* - 2.6 мкЗв/час. Эксперименты проводились на образцах, приготовленных из корневища и стебля донника. На рис. 3.5 приведены ИК-спектры корня донника.

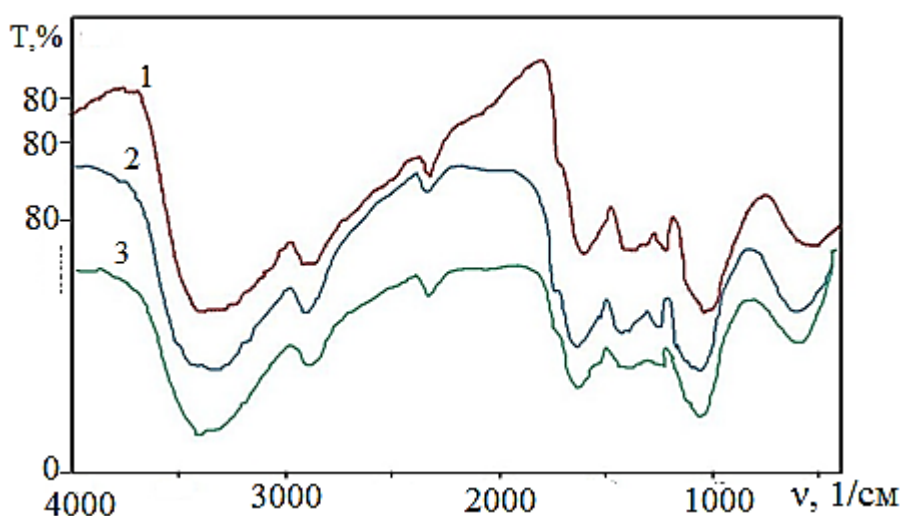


Рис.3.5. ИК-спектры корня донника: 1-точка А; 2-точка В; 3-точка С.

Из рисунка видно (кривая 1), что в области частот валентных колебаний гидроксильных групп образца из точки *A* появляются полосы поглощения при частотах 3400 и 3250 см⁻¹, соответствующие валентным колебаниям сильных межмолекулярных и внутримолекулярных связей NH- и OH-групп.

В области валентных колебаний метильных и метиленовых групп имеются полосы поглощения при 2900 и 2850 см^{-1} . В спектре образцов из точки *B* в области колебаний гидроксильных групп (кривая 2) наблюдается появление полос при частотах 3400, 3350 см^{-1} , соответствующих валентным колебаниям меж- и внутримолекулярных связей ОН- и NH-групп. В области метильных и метиленовых групп исчезает полоса в 2850 и наблюдается уже при частоте 2900 см^{-1} .

В спектрах корня донника из точки *C* (кривая 3) наблюдаются полоса при частоте 3420 см^{-1} и исчезновение полос в области 3250-3350 см^{-1} . В области валентных колебаний метильных и метиленовых групп появляется полоса при частоте 2900 см^{-1} . В области валентных колебаний гидроксильных метильно-метиленовых групп происходит существенное изменение, а именно изменение интенсивности, смещение максимумов полос от 10 до 30 см^{-1} , изменение полуширины полос и относительной интегральной интенсивности.

В области частот 1800-1200 см^{-1} в образцах из точки *A* появляются ряд полос (кривая 1), соответствующих валентным и деформационным поглощениям -C=C- , C=N , C-O-H , CH и OH групп при частотах 1610, 1380, 1230 и выступах в 1700, 1510, 1320 см^{-1} . В спектрах корня из точки *B* в этой же области появляются полосы поглощения при 1620, 1400, 1360, 1235 и выступы при 1700, 1510, 1300 см^{-1} (кривая 2). Для образцов корня донника из точки *C* наблюдаются характерные полосы в области 1630, 1420, 1380, 1240 см^{-1} , которые соответствуют валентным колебаниям C=O , C=N , C=C , деформационным колебаниям C-O-H , CH и OH -групп, а также выступам в 1720, 1530 и 1320 см^{-1} . Все эти полосы, в зависимости от радиационного фона местности, смещены относительно друг друга в сторону увеличения частоты от 20 до 40 см^{-1} , а также интегральная интенсивность уменьшается соответственно от точки *A* к точке *C* с 5457 до 2873 в относительных единицах.

На рис.3.6 приведены ИК-спектры поглощения стебля донника, из чего видно (кривая 1), что для образца из точки *A* в области валентных колебаний гидроксильных групп появляются полосы поглощения при частотах 3370,

3300 cm^{-1} , соответствующих валентным колебаниям сильных межмолекулярных и внутримолекулярных связей NH- и OH-групп [98, 153, 154]. В области валентных колебаний метильных и метиленовых групп имеется полоса поглощения при частоте 2880 cm^{-1} . В спектре также наблюдается относительно широкая полоса поглощения при 2245 cm^{-1} , которая соответствует колебаниям ионов неорганических молекул.

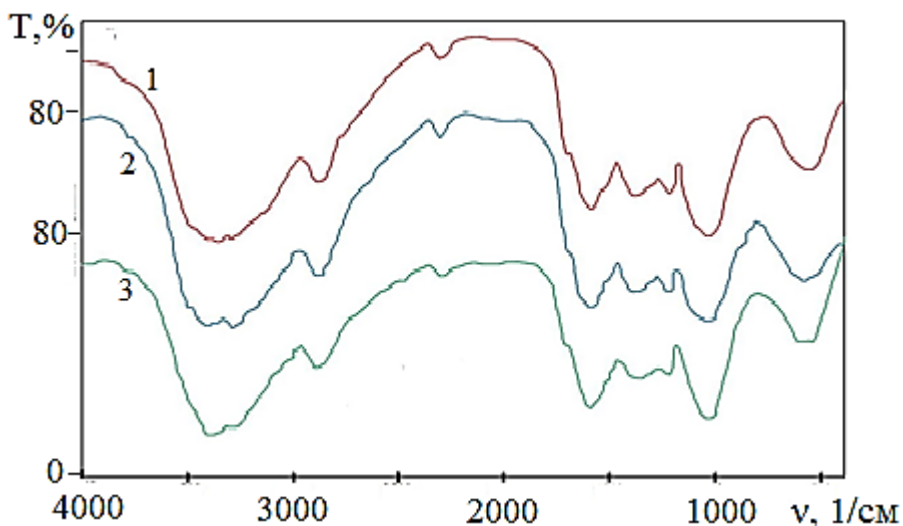


Рис. 3.6. ИК-спектры стеблей донника из Дигмая:
1-точка *A*, 2-точка *B*, 3-точка *C*.

В спектрах донника из точки *B* в области колебаний гидроксильных групп (кривая 2) наблюдается появление полос при частотах 3405 и 3295 cm^{-1} , соответствующих валентным колебаниям меж- и внутримолекулярных связей OH- и NH-групп. В области колебаний метильных и метиленовых групп наблюдается полоса поглощения при частоте 2890 cm^{-1} , а также слабая полоса поглощения ионов неорганических молекул. В спектрах стебля донника из точки *C* (кривая 3) в области гидроксильных, метильных и метиленовых групп наблюдаются полосы при частотах 3400 и 2900 и появление выступов в области 3300 cm^{-1} .

В области частот 1800-1200 cm^{-1} в стебле донника из точки *A* появляются полосы валентных и деформационных поглощений C=O, C=C, C-O-C, C-O-N, CH- и OH- групп при частотах 1600, 1400, 1345, 1230 и выступы в 1700,

1310 см^{-1} . В спектрах стебля из точки *B* в этой же области появляются ряд полос поглощения при частотах 1590, 1400, 1350, 1230 и выступы в 1685, 1500, 1300 см^{-1} . В спектре образцов из точки *C* исчезает полоса при частоте 1400 и наблюдаются полосы при частотах 1610, 1370 и 1225 см^{-1} и выступы в 1700, 1510, 1310 см^{-1} .

Как видно из рис. 3.6, все эти полосы смещены друг относительно друга в сторону увеличения частот от 20 до 35 см^{-1} , а также отличаются по интенсивности максимумов, изменению полуширины и интегральной интенсивности. Для определения влияния радиационного фона на спектральные характеристики были вычислены коэффициенты поглощения в максимумах, полуширины полос и интегральные интенсивности гидроксильных групп (табл. 3.4).

Таблица 3.4

Оптические характеристики стебля и корня донника
при различных уровнях радиационного фона

| Стебель | | | | |
|---------------------|-------------------------------|------------------|--|----------------------------|
| Место произрастания | $\nu, \text{см}^{-1}\text{м}$ | K_{max} | $\Delta\nu\frac{1}{2}, \text{см}^{-1}$ | Интегральная интенсивность |
| точка <i>A</i> | 3370 | 2,91 | 630 | 4880 |
| точка <i>B</i> | 3405 | 3,51 | 670 | 4661 |
| точка <i>C</i> | 3400 | 2,02 | 620 | 3496 |
| Корень | | | | |
| точка <i>A</i> | 3990 | 2,33 | 780 | 5457 |
| точка <i>B</i> | 3400 | 2,45 | 650 | 4050 |
| точка <i>C</i> | 3420 | 1,71 | 570 | 2873 |

Из табл.3.4 видно, что влияние уровня радиации для некоторых спектральных параметров, например, частота в максимуме поглощения, коэффициент поглощения и полуширина полос слабо выражено. Однако значение относительной интегральной интенсивности гидроксильных групп по мере роста фона радиации уменьшается.

На рис.3.7 представлены зависимости интегральных интенсивностей поглощения стебля и корня донника от уровня радиации. Можно видеть, что по мере увеличения уровня радиации значение относительной интегральной

интенсивности для стеблей уменьшается почти в 1.5, а для корневища около 2 раз. Это свидетельствует о том, что количество гидроксильных групп в растениях в процессе роста под действием радиации уменьшается. Довольно существенное изменение в спектре донника наблюдается в области метильных, метиленовых и карбоксильных групп.

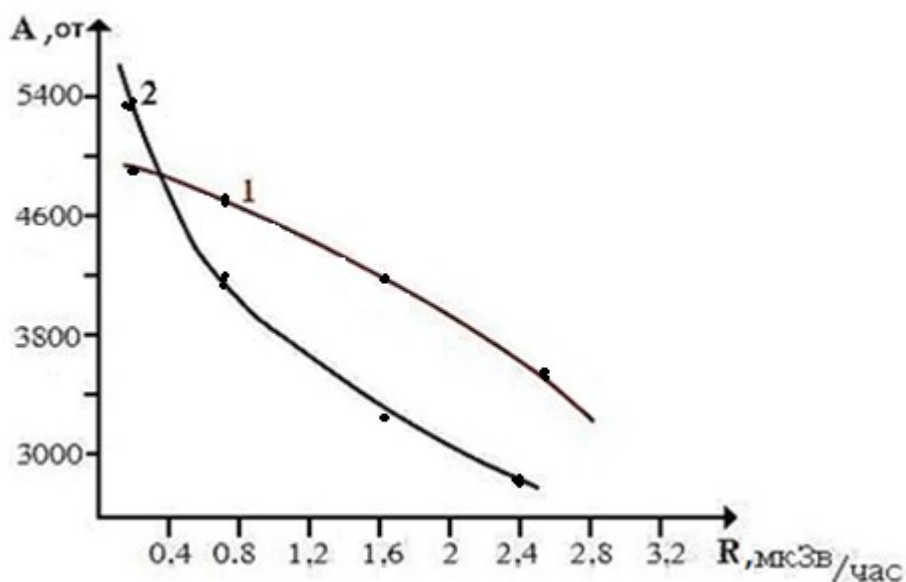


Рис.3.7. Влияние уровня радиации места произрастания на относительную интегральную интенсивность поглощения донника: 1-стебель, 2-корень.

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что максимумы и интенсивности полос поглощения зависят от уровня радиационного фона места произрастания. Об этом свидетельствует смещение максимума полос поглощения ($10-40 \text{ см}^{-1}$) и изменение интенсивности полос гидроксильных групп. С ростом уровня радиационного фона уменьшается количество гидроксильных групп.

3.3. Молекулярные свойства донника в зависимости от места произрастания

Качество роста, созревания и накопления органических веществ в растениях зависит от места произрастания, экологических показателей окружающей среды, а также от содержания почвы. В связи с этим представляется

важным исследовать физико-химические свойства составных частей растений в зависимости экологических показателей места их произрастания.

В табл. 3.5 представлены некоторые характеристики места произрастания донника.

Таблица 3.5

Физические характеристики места произрастания донника

| Место произрастания | Высота над уровнем моря, м | Радиационный фон, мкЗв/час |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|
| Худжанд | 380 | 0.28 |
| Гулистон | 400 | 0.10 |
| Дигмай | 450 | 3.00 |

В формировании структуры составных частей растений и их физико-химических свойств важную роль играют листья, так как в них под действием солнечной энергии происходит синтез жизненно важных органических веществ [12].

На рис.3.8 представлены ИК-спектры образцов листьев донника.

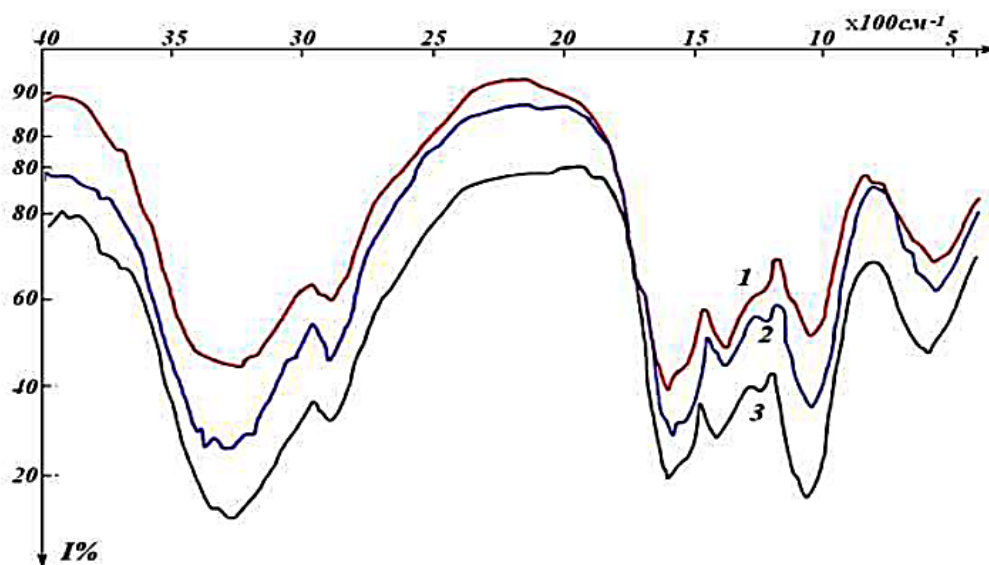


Рис.3.8. ИК-спектры листьев донника, собранных в:
1–Худжанде; 2– Дигмае; 3–Гулистане.

В спектре образца из Худжанда в области частот 3800-3000 см^{-1} проявляется широкая интенсивная полоса с максимумом частоты 3245 см^{-1} , а в спектре образцов из Дигмая данная полоса более интенсивная и этот максимум расщепляется на три пика: 3390, 3285 и 3200 см^{-1} . Более сильную интенсивность в данной области частот имеет полоса поглощений листьев донника из Гулистана с $\nu_{\text{макс}}$ при 3250 см^{-1} .

В спектрах листьев донника полосы поглощения в области частот 2970-2830 см^{-1} валентных колебаний метильных (CH_2) и метиленовых (CH_3) групп отличаются как по форме, так и по интенсивности и положению $\nu_{\text{макс}}$. В спектрах образцов из Дигмая полоса поглощения с $\nu_{\text{макс}}$ при 2895 см^{-1} более интенсивная по сравнению со спектрами образцов из Худжанда и Гулистана. Сравнительный анализ спектров образцов из Худжанда, Дигмая и Гулистана указывает также на различие молекулярной структуры листьев в области частот 1800-400 см^{-1} . Для образцов из Худжанда и Гулистана максимум полос поглощения в данной области частот лежит при 1600 и 1595 см^{-1} с заметным выступом при 1550 см^{-1} , а для образцов из Дигмая – при 1510 см^{-1} .

Аналогичные изменения в спектрах поглощения наблюдаются в области частот 1450-400 см^{-1} , то есть максимумы полос при 1370, 1065 и 574 см^{-1} , характерные для образца из Худжанда, для образцов из Дигмая проявляются при 1342, 1000 и 520 см^{-1} , а для образцов из Гулистана при 1390, 1000 и 587 см^{-1} соответственно (рис. 3.8). Сопоставление спектра листьев донника из Гулистана со спектрами образцов из Худжанда и Дигмая показывает, что характер поглощения образцов из Гулистана отличается по положению $\nu_{\text{макс}}$ полос поглощения, что свидетельствует о различии молекулярной структуры отдельных функциональных групп составных частей донника. Об этом также свидетельствуют особенность поглощения в области водородных связей (3800-2970 см^{-1}), форма полосы при 2890 см^{-1} и положение частот полос при 1595, 1390 и 1060 см^{-1} , сдвинутых в высокочастотную область.

На рис. 3.9 приведены спектры листьев донника, обработанных в 2 % растворе CuSO_4 . Видно, что в спектрах обработанных листьев донника су-

щественно изменяется поглощение в области частот $3800-400\text{ см}^{-1}$, то есть интенсивность полос поглощения ОН-групп уменьшается, форма полосы в области $2970-2800\text{ см}^{-1}$ меняется, положение полос 1600 и 1580 см^{-1} , характерных для образцов из Худжанда, смещается соответственно на 30 и 50 см^{-1} и проявляется при 1630 и 1530 см^{-1} (табл. 3.6).

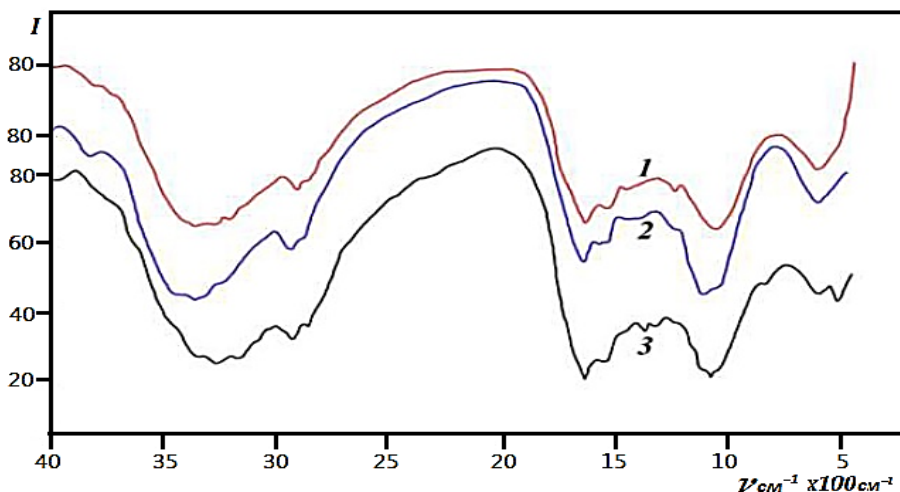


Рис. 3.9. ИК-спектры листьев донника после КО, собранных в:
1–Худжанде, 2– «Дигмае» и 3–Гулистане.

Таблица 3.6

Динамика изменения и соотношение интенсивностей полос
поглощения листьев донника до и после КО

| Место сбора | КО | 1 | 2 | 3 | 4 | ν_{\max} | $\Delta \nu_1$ | E | ν_{\max} | $\Delta \nu_2$ | E |
|-------------|-------|----|----|----|----|--------------|----------------|-----|--------------|----------------|-----|
| Худжанд | До | 65 | 15 | 12 | 16 | 3220 | 50 | 3.5 | 1620 | 20 | 1,6 |
| | После | 55 | 7 | 0 | 20 | 3270 | | | 1600 | | |
| «Дигмай» | До | 72 | 20 | 5 | 27 | 3420 | 30 | 2.1 | 1600 | – | – |
| | После | 48 | 13 | 10 | 25 | 3350 | | | 1600 | | |
| Гулистон | До | 85 | 27 | 4 | 34 | 3250 | 160 | 7,7 | 1584 | 46 | 3,2 |
| | После | 46 | 1 | 2 | 17 | 3360 | | | 1630 | | |

Примечание: 1 – максимум интенсивности полос ОН-групп; соотношение интенсивностей полос (%): 2 – $3200/2900$, 3 – $1600/1050$ и 4 – $1050/600$, смещение ν_{\max} полос; $\Delta \nu_1$ - ОН- и $\Delta \nu_2$ - С=О-групп, E – ЭММВ, в кДж/моль.

Сдвиг максимумов указанных полос поглощения после КО свидетельствует о наличии кислотных групп в структуре низкомолекулярных компонентов листьев донника. Полосу поглощения при $1610 (\pm 20) \text{ см}^{-1}$ следует отнести к валентным колебаниям $\text{C}=\text{O}$ кислотных групп, а полосу при $1515 (\pm 15) \text{ см}^{-1}$ – к поглощениям двойных $\text{C}=\text{C}$ связей низкомолекулярных ароматических компонентов.

Сравнение спектров образцов стебля и корневища показывает, что разница смещений максимума полос между образцами, отобранными в гг. Худжанде и Гулистане составляет $10\text{-}15 \text{ см}^{-1}$, а между Худжандом и Дигмаем она составляет $65\text{-}80 \text{ см}^{-1}$, что, очевидно, связано с влиянием радиации.

В табл. 3.7 приведены оптические характеристики составных частей донника в зависимости от места произрастания и радиационного фона местности. Из таблицы видно, что в зависимости от указанных факторов изменяются величина интегральной интенсивности, смещение максимума полос поглощения, ЭММВ как у образцов из стеблей, так и из корневища донника, что, очевидно, связано с одинаковым процессом структурообразования составных частей растений в этих условиях.

Таблица 3.7

Оптические характеристики составных частей донника в зависимости от места произрастания и радиационного фона местности

| | Место произрастания | $\nu, \text{ см}^{-1}$ | | $\Delta \nu, \text{ см}^{-1}$ | K_{max} | | $\Delta \nu \frac{1}{2}, \text{ см}^{-1}$ | | Интегральное интенсивность | | E, кДж/Моль |
|--------|---------------------|------------------------|-------|-------------------------------|------------------|-------|---|-------|----------------------------|-------|-------------|
| | | до | п. КО | | До | п. КО | До | п. КО | До | п. КО | |
| | | | | | | | | | | | |
| Корень | Худжанд | 3265 | 3340 | 75 | 3.16 | 2.44 | 610 | 620 | 5191 | 4476 | 5.51 |
| | Гулистон | 3345 | 3360 | 15 | 3.55 | 1.35 | 610 | 580 | 5585 | 3082 | 1.07 |
| | «Дигмай» | 3230 | 3340 | 110 | 2.79 | 2.56 | 490 | 535 | 3625 | 4167 | 8.17 |
| Листья | Худжанд | 3220 | 3270 | 50 | 3.27 | 1.53 | 640 | 590 | 3120 | 3008 | 3.73 |
| | Гулистон | 3250 | 3350 | 160 | 1.55 | 1.33 | 540 | 600 | 4663 | 3082 | 11.82 |
| | «Дигмай» | 3420 | 3350 | 30 | 3.80 | 3.76 | 610 | 590 | 5068 | 4167 | 2.10 |
| Стебли | Худжанд | 3260 | 3360 | 100 | 2.90 | 2.80 | 615 | 580 | 4841 | 3268 | 7.36 |
| | Гулистон | 3350 | 3225 | 75 | 4.20 | 1.13 | 620 | 505 | 5010 | 2020 | 5.37 |
| | «Дигмай» | 3340 | 3270 | 70 | 4.10 | 2.30 | 610 | 585 | 4713 | 3570 | 5.02 |

Для объективности оценки спектральных изменений нами проведён расчёт ЭММВ групп, вносящих вклад в поглощение в областях частот 3800-3000 и 1800-1500 см^{-1} . Полученные значения ЭММВ (табл. 3.7) зависят от экологии места сбора.

Данные таблицы показывают, что происходит существенное изменение спектральных характеристик функциональных групп объектов. Выявленные изменения полуширины полос поглощения, максимального коэффициента поглощения и интегральной интенсивности полос поглощения, возможно, происходят за счёт изменения условий биосинтеза под влиянием внешних факторов.

Полученные результаты позволяют заключить, что экологические условия и радиационный фон места произрастания существенно влияют на молекулярную структуру, в частности, на меж- и внутримолекулярные водородные связи составных частей растений.

В целом, изучение ИК-спектров поглощения образцов донника в области валентных колебаний ОН и NH метильных, метиленовых и деформационных колебаний -C=O- , -C=C- групп, 1800-1200 см^{-1} даёт основание полагать о явном влиянии экологических условий местности на образование молекулярной структуры, меж- и внутримолекулярных водородных связей.

3.4. Влияние места произрастания подорожника ланцетного на его спектральные характеристики

Для полноты полученных результатов аналогичные исследования нами были проведены на примере подорожника ланцетного (ПЛ). Образцы подорожника отбирались из разных регионов Северного Таджикистана. Расстояние между местами отбора образцов составляло от 35 до 120 км. Физические характеристики отобранных образцов приведены в табл.3.8.

На рис.3.10 приведены ИК-спектры пропускания корня ПЛ (сплошная линия-до КО, пунктир-после КО) для разных мест произрастания. Для образ-

цов из г. Гафурова в области поглощения валентных колебаний гидроксильных и метильно-метиленовых групп $3800-2400 \text{ см}^{-1}$ характерно появление широкой полосы поглощения с максимумом 3290 см^{-1} . Это относится к меж- и внутримолекулярным валентным колебаниям ОН- и NH-групп.

Таблица 3.8

Высота и радиационный фон места произрастания подорожника ланцетного

| № | Место произрастания | Высота над уровнем моря, м | Радиационный фон, мкЗв/час |
|---|---------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1 | Гафуров | 365 | 0.39 |
| 2 | Спитамен | 410 | 0.14 |
| 3 | Исфара | 863 | 0.12 |

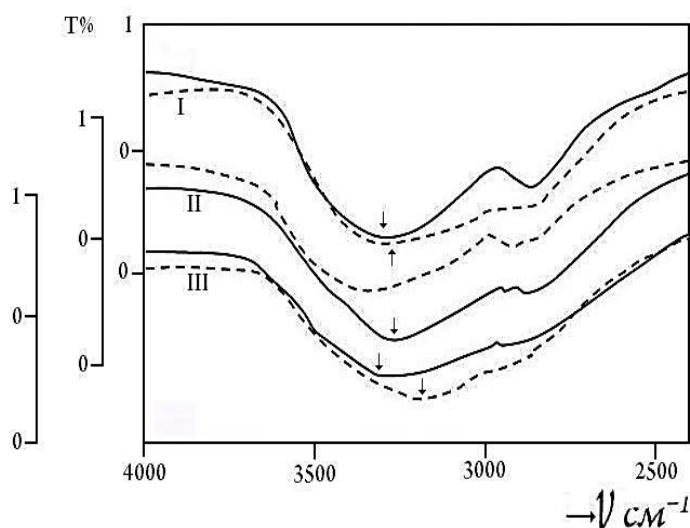


Рис. 3.10. Спектры пропускания корней подорожника ланцетного: сплошная - до КО, пунктир - после КО; I-Гафуров, II-Спитамен, III-Исфара.

Максимум 2880 см^{-1} относится к колебаниям CH_2 -групп (рис. 3.10, I-сплошная). Идентично для корня ПЛ из Спитамена в этой области поглощения наблюдаются широкие полосы поглощения при 3280 и 2880 см^{-1} (II-сплошная). Для образцов из Исфары также имеет место широкая полоса поглощения при 3290 см^{-1} и слабая полоса поглощения при 2925 см^{-1} (III-сплошная).

Наблюдаемое совпадение ν_{max} полос поглощения валентных колебаний ОН- и NH-групп в области частот $3800-3000 \text{ см}^{-1}$ можно объяснить

одинаковым содержанием вещества в структуре растений. Для образцов корней ПЛ из Гафурова в области частот валентных колебаний CH_2 - и CH_3 -групп наблюдается достаточно чёткая полоса при 2880 см^{-1} , а для образцов из Спитамена – появление новой полосы при 2930 см^{-1} (CH_2 -). Слабая по интенсивности полоса поглощения при 2925 см^{-1} наблюдается для образцов из г.Исфара.

На рис.3.11 (кривые I, II, III) приведены ИК-спектры корней ПЛ из разных мест с разной экологией в области $1800\text{-}1200 \text{ см}^{-1}$. Как можно видеть из рисунка, в спектрах корня ПЛ наблюдается ряд полос с различными интенсивностями $1600, 1500$ и 1375 см^{-1} (Гафуров), $1560, 1500, 1350 \text{ см}^{-1}$ (Спитамен) и $1590, 1540, 1410, 1330$ и 1280 см^{-1} (Исфара).

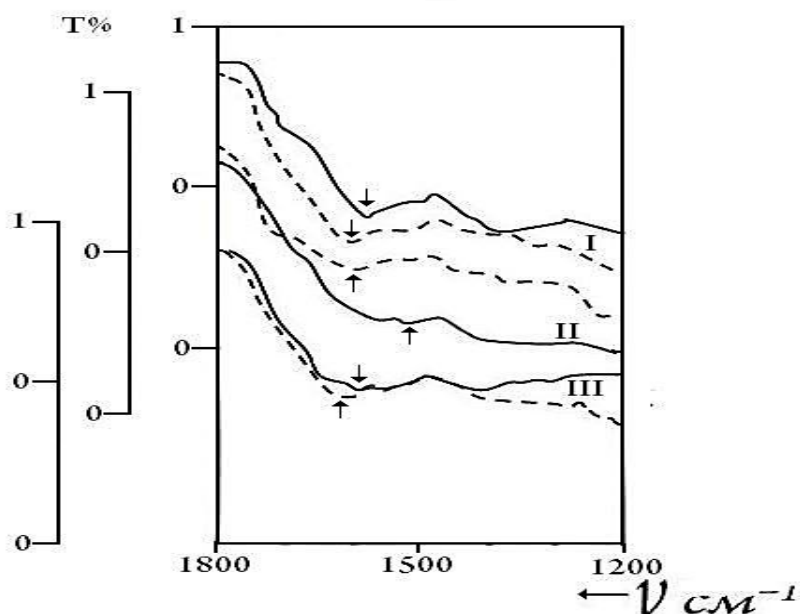


Рис. 3.11. Спектры поглощения корней ПЛ (сплошная–до, пунктир– после КО): I–Гафуров, II–Спитамен и III–Исфара.

Полосы поглощений $1610, 1590$ или 1580 см^{-1} следует отнести к $\text{C}=\text{O}$ связям амидной цепочки белков, содержащихся в составе растений. С целью определения вклада гидроксильных групп в структурообразование, оценки энергии связей OH - и карбоксильных групп, включённых в меж- и внутримолекулярные водородные связи в области $1800\text{-}1500 \text{ см}^{-1}$, нами были проведе-

на КО образцов в растворе медного купороса. ИК-спектры образцов корней ПЛ после КО приведены на рис. 3.11 пунктирными линиями.

Можно видеть, что максимумы полосы поглощения в области частот валентных колебаний ОН-, NH- групп ($3800-3000\text{ см}^{-1}$) в спектрах корней образцов смещены на $\Delta\nu=40$ до 80 см^{-1} . Изменение положения $\nu_{\text{макс}}$ полосы поглощения в области частот $3800-3000\text{ см}^{-1}$ после КО, а также форма и интенсивность после КО в области частот $2700-1200\text{ см}^{-1}$, показывают на различие состояния структурообразующих органических веществ составных частей ПЛ и об их энергетической неравнозначности. Этот факт подтверждается значением рассчитанной энергии межмолекулярного взаимодействия для корней образцов (табл. 3.9).

Как оказалось, величина интегральной интенсивности полос поглощения гидроксильных групп также зависит от места произрастания и экологических условий (радиационного фона). В экологически нормальных условиях (Исфара) количество валентных колебаний гидроксильных групп изменяется незначительно после КО а в образцах, собранных в более неблагоприятных условиях (Спитамен и Гафуров) происходит резкое снижение интегральной интенсивности.

Таблица 3.9

Спектральные характеристики и ЭММВ связей корней ПЛ
с различных мест произрастания.

| Место произрастания | $\nu, \text{см}^{-1}$ | | $\Delta\nu, \text{см}^{-1}$ | E, кДж / моль | K_{max} | | Интегр. интенсив. | | $\Delta\nu_{1/2}$ | |
|---------------------|-----------------------|----------|-----------------------------|---------------|------------------|----------|-------------------|----------|-------------------|----------|
| | до КО | после КО | | | До КО | после КО | До КО | после КО | до КО | После КО |
| Гафуров | 3290 | 3250 | 40 | 2.91 | 3.97 | 4.11 | 4900 | 4700 | 600 | 670 |
| Спитамен | 3280 | 3340 | 60 | 4.39 | 3.01 | 2.31 | 5200 | 3900 | 650 | 610 |
| Исфара | 3270 | 3350 | 80 | 5.87 | 3.15 | 3.54 | 4500 | 4600 | 740 | 660 |
| Гафуров | 1580 | 1600 | 20 | 3.03 | 1.84 | 2.1 | | | | |
| Спитамен | 1570 | 1600 | 30 | 4.58 | 1.65 | 1.2 | | | | |
| Исфара | 1540 | 1600 | 50 | 7.79 | 1.50 | 1.6 | | | | |

Интегральная интенсивность в корнях ПЛ, собранных вблизи шоссе-ной дороги Спитамена резко уменьшается после КО. Такое же уменьшение интегральной интенсивности наблюдается для образцов, собранных вблизи шоссе-ной дороги г. Гафурова, но не так резко, т.е. наблюдается количе-ственное уменьшение валентных колебаний меж- и внутримолекулярных во-дородных связей.

На рис. 3.12. приведены ИК-спектры листьев ПЛ из окрестностей Га-фурова, Спитамена и Исфары. В спектрах листьев ПЛ, собранных из окрест-ностей Гафурова, в области частот $4000-3000\text{ см}^{-1}$ наблюдаются полосы по-глощения при $3270, 3350\text{ см}^{-1}$, соответствующие валентным колебаниям меж- и внутримолекулярных связей ОН- групп. Полосы 3270 и 3350 см^{-1} для ли-стьев смещены на величину $\Delta\nu = 20\text{ см}^{-1}$. В области частот $1800-400\text{ см}^{-1}$ в спектрах листьев тоже проявляется ряд полос при частотах $1550, 1490, 1370, 1010\text{ см}^{-1}$.

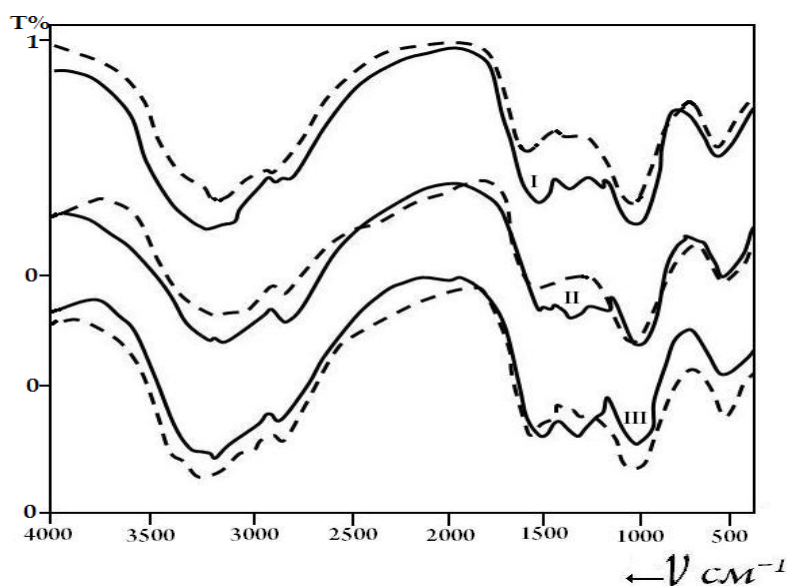


Рис. 3.12. ИК-спектры листьев ПЛ: I–Гафуров, II–Спитамен , III–Исфара (сплошные – до КО, пунктир – после КО).

Для выяснения природы возникновения этих полос проведено КО. Как видно из рисунка 3.12 (I- пунктирные линии), в спектрах образцов листьев ПЛ происходят существенные изменения. Отмечается сужение полос в обла-

сти поглощения гидроксильных групп для листьев, относительное смещение максимумов полос после КО на величину 20 см^{-1} (листья) в сторону низких частот. В области частот $1800 - 400 \text{ см}^{-1}$ для листьев происходит заметное увеличение интенсивности существующих полос и смещение полосы 1550 см^{-1} на величину 70 см^{-1} в сторону высоких частот.

На рисунке 3.12, II приведены спектры листьев ПЛ, собранных вблизи шоссеной дороги Спитамена. Видно, что в области колебаний гидроксильных групп $4000-3000 \text{ см}^{-1}$ появляются максимумы при $3200, 3320 \text{ см}^{-1}$, что соответствует валентным колебаниям гидроксильных групп, участвующих в меж- и внутримолекулярных водородных связях. А в области $1800-1200$ (II – пунктирные линии) полосы при $1570, 1520, 1480$ и 1360 см^{-1} и широкие полосы при 1550 и 1440 см^{-1} становятся незаметными по краям. Необходимо отметить, что после КО интенсивности всех полос поглощения и максимумы гидроксильных, метильных и метиленовых групп смещаются в сторону низких частот (табл. 3.10 и 3.11).

Как видно из рис.3.12 (кривые III), в спектре поглощения листьев ПЛ из Исфары в области гидроксильных групп характерно появление полосы поглощения при частотах 3200 и 3300 см^{-1} ОН- и NH- групп. В области частот метильных и метиленовых групп появляется полоса поглощения при 2900 и 2860 см^{-1} для исходных листьев.

Таблица 3.10

Спектральные характеристики листьев ПЛ с различных мест произрастания в области колебаний гидроксильных групп

| Место произрастания | $\nu, \text{ см}^{-1}$ | | $\Delta\nu, \text{ см}^{-1}$ | $E, \text{ кДж/моль}$ | $K_1 \text{ max}$ | | $\Delta\nu_{1/2}, \text{ см}^{-1}$ | | Интегральная интенсивность | |
|---------------------|------------------------|----------|------------------------------|-----------------------|-------------------|----------|------------------------------------|----------|----------------------------|----------|
| | до КО | после КО | | | до КО | после КО | до КО | после КО | до КО | после КО |
| Гафуров | 3270 | 3250 | 20 | 1.46 | 3.70 | 3.42 | 670 | 690 | 5600 | 5720 |
| Спитамен | 3205 | 3220 | 15 | 1.11 | 3.54 | 3.58 | 710 | 700 | 5410 | 4930 |
| Исфара | 3260 | 3240 | 20 | 1.48 | 3.31 | 3.45 | 640 | 690 | 5280 | 5985 |

В области частот от $1800-400 \text{ см}^{-1}$ (крив. III – сплошная) ПЛ также появляются чёткие широкие полосы поглощения с максимумами $1550, 1380, 1070$ и

540 см^{-1} . После КО происходит резкое изменение спектра по всей области 1800-400 см^{-1} . Появляется ряд новых полос поглощения при частотах 1600, 1540, 1450, 1350, 1330 см^{-1} и наблюдается их смещение в сторону высоких частот на 20 см^{-1} . В спектрах исходных листьев ПЛ в области частот гидроксильных групп также наблюдаются полосы поглощения, соответствующие внутри- и межмолекулярным водородным связям ОН- и NH- групп при частотах 3260, 3350 см^{-1} . Полоса, соответствующая колебаниям метильных метиленовых групп, появляется при 2925 см^{-1} .

Таблица 3.11

Спектральные характеристики листьев ПЛ с различных мест произрастания в области частот 1200 -1800 см^{-1}

| Место произрастания | ν , см^{-1} | | $\Delta\nu$, см^{-1} | E, кДж/моль | K_{max} | |
|---------------------|--------------------------|----------|--------------------------------|-------------|------------------|----------|
| | До КО | После КО | | | До КО | После КО |
| Гафуров | 1550 | 1620 | 70 | 10.32 | 2.65 | 1.84 |
| Спитамен | 1570 | 1550 | 20 | 3.08 | 2.30 | 1.67 |
| Исфара | 1550 | 1630 | 80 | 11.72 | 3.18 | 2.54 |

В области 1800-400 см^{-1} после КО происходит изменение по всей области, т.е. изменение интенсивности и полуширины полос, смещение максимумов, появление новых полос и т.д. Как отмечалось [31, 32, 52, 53], смещение полос поглощения связано с изменением химических связей. Как видно из табл. 3.11, смещение полос до и после КО имеет место и составляет значение от 20 до 80 см^{-1} . Кроме того, наблюдается смещение полос гидроксильных групп, также наблюдаются полосы, соответствующие внутри- и межмолекулярным водородным связям для исходных (листья) образцов ПЛ, что отвечает разным величинам энергии водородных связей в зависимости от места произрастания. Нами с помощью программы «Автокад» рассчитаны интегральные интенсивности полос поглощения гидроксильных групп для листьев ПЛ (табл.3.10).

Величина интегральной интенсивности тоже изменяется в зависимости от места произрастания. На основе ИК-спектров листьев ПЛ можно сде-

лать следующее заключение: изменение энергии водородных связей при структурообразовании зависит от места произрастания растений. В зависимости от экологии места произрастания возможно изменение длины водородных связей, что подтверждается изменением их энергии.

3.5. Влияние пестицидов на молекулярное структурообразование природных соединений

Известно, что сорняковые растения, обильно произрастая в сельхозгодях, сильно снижают вал и качество продукции культурных и дикорастущих лекарственных растений [155]. Снижение урожая на засорённых полях происходит вследствие того, что сорняки буквально отнимают у культурных растений свет, воду, питательные вещества почвы.

Имеются различные методы борьбы с сорной растительностью: агротехнические, биологические, химические. Одним из широко распространённых методов борьбы с ними является химическая обработка пестицидами [155-158]. Однако, при этом, пестициды остаются в составе растений на несколько недель. Определение остатков пестицидов в объектах растительного происхождения возможно методами колориметрии, спектрофотометрии, различных видов хроматографии, электрохимическими методами и методом масс-спектрометрии.

Для определения влияния пестицидов на формирование структуры и свойства функциональных групп молекул растений нами был применён метод ИК-спектроскопии. Образцы были приготовлены из составных частей подорожника ланцетного (ПЛ) и каперстника колючего (КК) согласно разделу 2.2.

В табл.3.12 приведены основные положения максимумов полос поглощения листьев ПЛ и КК до и после КО. Видно, что до и после КО в спектрах листьев растений происходит изменение положение максимумов полос поглощения валентных и деформационных колебаний функциональных ОН-, -

CH₂, -C=O-, -C=C- и др. групп. Это, очевидно, связано с взаимодействием пестицидов с функциональными группами растений, которое чётко отражается в ИК-спектрах. Положения частот некоторых функциональных групп были определены и для других частей растений.

Таблица 3.12

Положение максимумов полос поглощения листьев подорожника ланцетного (ПЛ) и капарестника колючего (КК)

| ПЛ исходный | | ПЛ обработанный | | КК исходный | | КК обработанный | |
|-------------|----------|-----------------|----------|-------------|----------|-----------------|----------|
| до КО | после КО | до КО | после КО | до КО | после КО | до КО | после КО |
| 3200 | 3120 | 3100 | 3140 | 3200 | 3150 | 3180 | 3150 |
| 2900 | 2900 | 2910 | 2900 сл. | 3020 | 3080 | - | 3050 |
| 1580 | 1600 | 1600 сл | 1600 | 2890 | 2910 | 2900 | 2900 |
| 1520 | 1500 | 1510 | 1500 | 1600 | 1620 | 1590 | 1600 |
| 1410 | 1390 | 1430 сл | - | 1500 | 1520 | 1510 | 1490 |
| 1370 | 1330 | 1370 | - | 1380 | 1370 | 1400 | 1440 |
| 1230 | - | 1210 | - | 1300 | - | 1250 | - |

В табл.3.13 приведены сравнительные результаты расчёта ЭММВ и спектральных параметров. Видно, что все параметры, характеризующие состояние функциональных групп, претерпевают изменение.

Для выяснения вклада некоторых микроэлементов в структурообразование и рост растений было проведено исследование содержания тяжёлых металлов (ТМ) в составе растений. В табл.3.14 приведены результаты анализа микроэлементов ТМ исходных и обработанных пестицидами растений. Видно, что пестициды влияют на количественное содержание ТМ в составе растений. Также, видно, что, кроме Zn, Cu и V, в обработанных пестицидами листьях ПЛ количество других ТМ уменьшается, а в КК, кроме Ni и Co, происходит их уменьшение.

Таким образом, можно предположить, что пестициды влияют на содержание как органических веществ, так и неорганических ТМ, т.е. эти вещества в обработанных пестицидами растениях уменьшаются.

Таблица 3.13

Спектральные характеристики и расчет ЭММВ связи
составных частей ПЛ и КК

| Вид | | $\nu, \text{см}^{-1}$ | | $\Delta\nu, \text{см}^{-1}$ | Е кДж/ моль | $\Delta\nu \frac{1}{2}, \text{см}^{-1}$ | | Интегральная интенсивность | |
|----------|-----------------|-----------------------|-------------|-----------------------------|-------------------|---|-------------|-------------------------------|-------------|
| | | До КО | После КО | | | До КО | После КО | До КО | После КО |
| Л | исходный ПЛ | 3200 | 3120 | 80 | 6.0 | 700 | 820 | 4210 | 5013 |
| | обработанный ПЛ | 3100 | 3140 | 60 | 4.6 | 720 | 710 | 2861 | 3626 |
| С | исходный ПЛ | 3210 | 3180 | 30 | 2.3 | 680 | 670 | 1811 | 3239 |
| | обработанный ПЛ | 3205 | 3220 | 15 | 1.1 | 720 | 590 | 1942 | 2736 |
| К | исходный ПЛ | 3250 | 3160 | 90 | 6.6 | 630 | 710 | 2337 | 3203 |
| | обработанный ПЛ | 3220 | 3140 | 60 | 5.2 | 610 | 790 | 1943 | 2813 |
| Л | исходный КК | 3200 | 3150 | 50 | 3.6 | 780 | 820 | 2583 | 5237 |
| | обработанный КК | 3180 | 3150 | 30 | 2.3 | 710 | 790 | 1982 | 4305 |
| С | исходный КК | 3240 | 3190 | 50 | 3.7 | 820 | 850 | 2126 | 4173 |
| | обработанный КК | 3210 | 3170 | 40 | 3.0 | 720 | 760 | 2047 | 3990 |
| К | исходный КК | 3230 | 3170 | 60 | 4.5 | 790 | 810 | 1998 | 3843 |
| | обработанный КК | 3200 | 3160 | 40 | 3.0 | 770 | 800 | 2105 | 4038 |

Примечание: **Л** – листья, **С** – стебли, **К** – корневища

Таблица 3.14

Содержание ТМ в листьях ПЛ и КК, обработанных пестицидами и на
чистой территории, мг/кг воздушно-сухой массы

| Вид | Sr | Pb | As | Zn | Cu | Ni | Co | Fe ₂ O ₃ , % | MnO | Cr | V |
|---------|-------|------|-------|-------|------|------|------|---------------------------------------|-------|------|-------|
| ПЛ-исх. | 105.3 | 2.84 | 32.68 | 55.29 | 44.1 | 54.5 | 18.2 | 1.119 | 249.3 | 77.1 | 22.3 |
| ПЛ-обр. | 102.3 | 2.24 | 11.13 | 84.88 | 46.5 | 1.17 | 10.6 | 1.112 | 187.2 | 48.4 | 112.9 |
| КК-исх. | 114.7 | 95.8 | 41.99 | 119.1 | 46.8 | 1.76 | 11.1 | 1.092 | 152.9 | 799 | 2856 |
| КК-обр. | 110.6 | 84.6 | 8.5 | 95.61 | 46.4 | 112 | 39.9 | 1.090 | 71.99 | 228 | 1165 |

Поведение ИК-спектров образцов растений под действием техногенных факторов неоднозначно во всей исследованной области их спектра поглощения. Установлено, что для образцов листьев и корней репейника и донника по мере роста уровня радиационного фона уменьшается интенсивность полос поглощения и относительная интегральная интенсивность, а также уменьшается значение ЭММВ. Для листьев и стеблей донника по мере роста техногенных нагрузок уменьшается энергия водородных связей, а для корней наоборот- увеличивается. Относительная интегральная интенсивность для листьев и корней донника по мере роста техногенных нагрузок падает, а для стеблей - увеличивается. Изменение спектральных характеристик происходит также для образцов ПЛ, произрастающих в разных экологических условиях. Изменяются интенсивности, полуширины полос интегральной интенсивности и ЭММВ. В листьях это приводит к уменьшению интенсивности полос поглощения гидроксильных групп и уменьшению ЭММВ.

Изменения спектральных характеристик, а равно колебательной подвижности функциональных групп ОН, NH, CH, CO, C=C, C–C молекул растений, свидетельствует об участии этих групп в структурообразовании органических соединений растений. Результаты напрямую свидетельствуют о том, что физико-химические условия мест произрастания растений существенно влияют на сорбцию микроэлементов, образование функциональных групп, формирование молекулярной и надмолекулярной структуры и свойства меж- и внутримолекулярных водородных связей.

ГЛАВА IV. ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЙ МЕТОДАМИ ЭПР-СПЕКТРОСКОПИИ И СПИНОВЫХ МЕТОК

Одними из основных методов наблюдения физико-химических превращений молекул веществ, в том числе в биополимеров, являются спектроскопические методы. Изменение молекулярной структуры веществ под действием внешних факторов (температура, радиация и т.д.) непременно приводит к изменениям в спектрах поглощения. Сравнительный анализ спектров позволяет судить о качественных и количественных изменениях, происходящих в их структуре под действием указанных факторов.

Как было показано выше, методом ИК-спектроскопии можно качественно и количественно установить влияние внешних факторов на структуру и свойства природных соединений, в частности, функциональных групп молекул растений. Однако существующие способы анализа по данным ИК-спектроскопии не позволяют следить за всеми внутриклеточными образованиями. Этот недостаток можно восполнить, применив метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

Метод ЭПР-спектроскопии дает возможность регистрировать появление парамагнитных центров непосредственно в процессе функционирования биологических систем на разных уровнях их структурно-функциональной организации, таких, как макромолекулярные комплексы и субклеточные структуры. Методом ЭПР можно изучать накопление свободных радикалов в растениях в зависимости от места произрастания [77-79] и данный метод является единственным способом изучения внутриклеточных процессов в биобъектах.

Для определения молекулярно-динамических параметров и конформации молекул составных частей растений при воздействии внешних факторов можно применять метод спиновых меток и зондов.

4.1. Исследования влияния уровня радиационного фона на кинетику образования парамагнитных центров в растениях

Изучение парамагнитных характеристик объектов растительного происхождения даёт важную информацию о механизме структурообразования веществ в составе растений и представляет не только научный, но и практический интерес. Известно, что биологические эффекты воздействия радиации на растения зависят от поглощённой дозы. Наиболее чувствительными к радиации являются дикорастущие растения. Различные растения поглощают радиацию по-разному, более того, радионуклиды впитываются растениями и, очевидно, воздействуют на процесс структурообразования изнутри. Количество накопленных радионуклидов в растениях зависит от типа почв и от степени загрязнённости места произрастания. Известно также, что радиация на растения действует на клеточном уровне, что сопровождается деструкцией молекул.

Для выяснения особенностей влияния радиационного фона и степени загрязнённости почв места прорастания растений на механизм молекулярного структурообразования в них в качестве объекта исследования нами был выбран репейник (лопух большой), собранный из разных точек хвостохранилища Дигмай во время цветения (табл. 4.1).

Таблица 4.1.

Радиационный фон места произрастания репейника

| Место произрастания | Радиационный фон, мкЗв/час |
|---------------------|----------------------------|
| точка А | 0.20 |
| точка В | 2.70 |
| точка С | 8.40 |

Спектры ЭПР объектов снимали на радиоспектрометре РЭ-1306, условия записи для которого приведены в разделе 2.3. Интенсивность сигнала образца сравнивалась с интенсивностью сигнала эталонной навески двухвалентного Mn^{+2} в окиси магния MgO по количеству парамагнитных центров.

На рис. 4.1 представлены спектры ЭПР сухих листьев репейника в зависимости от радиационного фона места произрастания. Видно, что спектры ЭПР растений из разных точек имеют различную интенсивность, но одинаковую ширину (ΔH_0). Спектры синглетны, что свидетельствует о суперпозиции сигналов ЭПР, то есть о наличии свободных радикалов разного типа и отсутствии сверхтонкого взаимодействия (СТВ).

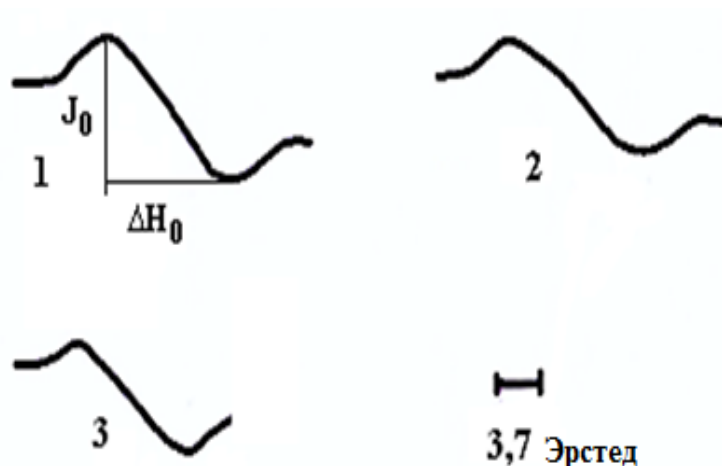


Рис. 4.1. Спектры ЭПР листьев репейника из разных точек Дигмая: 1 – из точки А; 2 – из точки В; 3 – из точки С.

Количество свободных радикалов (парамагнитных центров) рассчитывали по формуле:

$$C_R = C_{\text{эт}} \frac{J_0}{J_{\text{эт}}}, \quad (22)$$

где $C_{\text{эт}}$ – количество свободных радикалов в эталоне, $J_{\text{эт}}$, J_0 – интенсивность спектров ЭПР эталона и исследуемого образца соответственно.

В табл. 4.2 приведены количественные параметры спектров ЭПР в зависимости от точек сбора (уровня радиационного фона).

На рис.4.2 представлен график зависимости количества парамагнитных центров C_R образцов листьев репейника от мощности радиационного фона местности R . Как видно из рисунка, максимальное количество свободных радикалов содержится у образцов из точки А с мощностью радиационного фона 0,20

мкЗв/ч, что не превышает норму. В точке *C* радиационный фон составляет 8,4 мкЗв/час, а содержание свободных радикалов наименьшее из всех.

Таблица 4.2

Параметры спектров ЭПР и количество парамагнитных центров в листьях репейника из разных мест произрастания

| Место сбора образцов | J_0 , мм | ΔH_0 , мм | $C_R \cdot 10^{12}$, спин/мг |
|----------------------|------------|-------------------|-------------------------------|
| точка <i>A</i> | 22.0 | 12 | 15.7 |
| точка <i>B</i> | 18.0 | 12 | 12.8 |
| точка <i>C</i> | 16.3 | 12 | 11.6 |

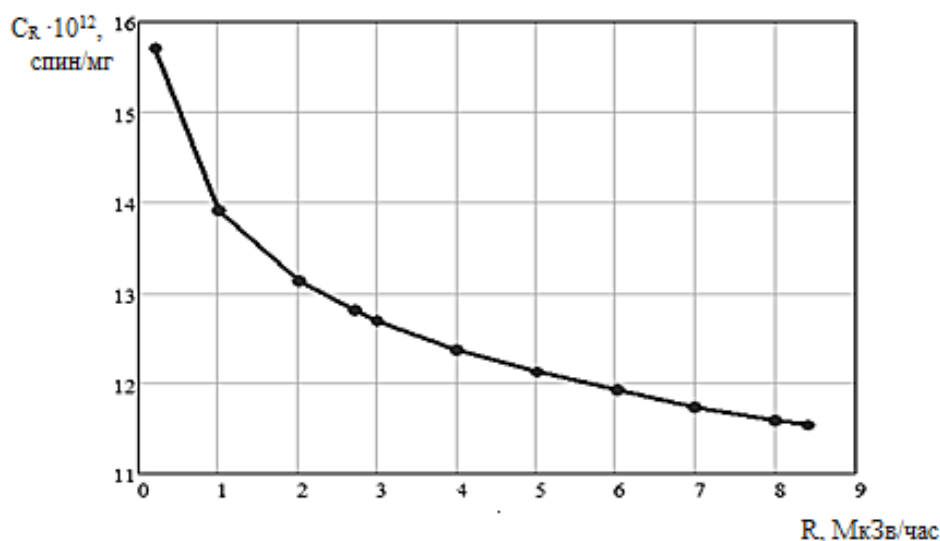


Рис.4.2. Зависимость количества свободных радикалов C_R в листьях репейника от мощности радиационного фона местности R .

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что: количество парамагнитных центров в листьях репейника зависит от экологических условий места произрастания; радиационный фон подавляет парамагнитные центры в листьях репейника.

На рис. 4.3 приведены спектры ЭПР стебля донника. Видно, что спектры ЭПР стебля при комнатной температуре имеют широкое синглетное состояние, с шириной линии ΔH_0 , что также свидетельствует о суперпозиции сигналов ЭПР, то есть о присутствии нескольких видов свободных радикалов.

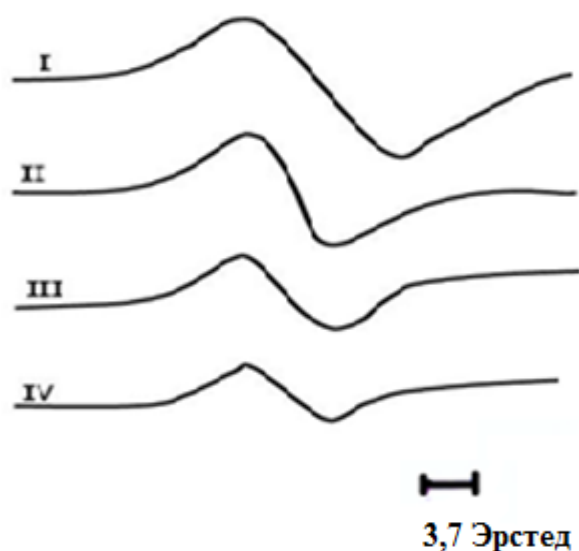


Рис.4.3. Спектры ЭПР стебля донника, отобранных в разных точках Дигмая: I–А; II –В; III –С; IV- D.

Параметры спектров ЭПР и количество парамагнитных центров в образцах стебля донника в зависимости от радиационного фона приведены в табл. 4.3.

Таблица 4.3

Параметры спектров ЭПР и количество парамагнитных центров в стебле донника

| Место сбора образцов | Радиационный фон, мкЗв/час | J_0 , мм | ΔH_0 , мм | $C_R \cdot 10^{12}$, спин/мг |
|----------------------|----------------------------|------------|-------------------|-------------------------------|
| точка А | 0.12 | 25 | 16 | 17.8 |
| точка В | 0.22 | 22 | 13 | 15.7 |
| точка С | 0.70 | 14 | 13 | 10,0 |
| точка D | 2.40 | 9 | 13 | 6.40 |

Полученные результаты свидетельствуют о том, что радиационный фон влияет на химическую структуру стеблей донника, следовательно, накопление свободных радикалов зависит от радиационного фона местности.

4.2. ЭПР-исследование спектроскопических свойств подорожника ланцетного

В настоящем разделе представлены результаты ЭПР-спектроскопических исследований стеблей и листьев дикорастущего подорожника ланцетного (ПЛ) в зависимости от места произрастания (Гафуров, Исфара, Спитамен).

На рис. 4.4 приведены спектры листьев и стеблей подорожника из разных мест прорастания. Как видно из рисунка, при комнатной температуре спектры имеют синглетное состояние с шириной спектральной линии $\Delta H_0 = 31-40$ мТ, кроме того интенсивность сигнала от листьев намного больше, чем от стеблей.

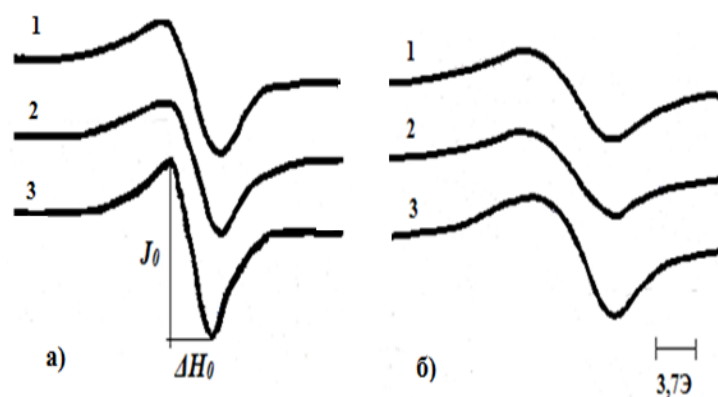


Рис. 4.4. ЭПР-спектры подорожника : 1– Гафуров; 2– Исфара;
3– Спитамен; а) – листья; б) – стебли

В табл.4.4 приведены спектральные параметры сигнала ЭПР для листьев и стеблей ПЛ. Как видно из таблицы, самая большая интенсивность J_0 наблюдается у образцов растений из Спитамена. Ширина линии ΔH_0 в зависимости от образцов меняется от 31 до 40 мТ. Это свидетельствует об устойчивости и стабильности радикалов в составе растений.

В табл. 4.5 приведены сравнительные данные о количестве парамагнитных центров в сухих образцах составных частей ПЛ при комнатной температуре в зависимости от места прорастания. Для установления влияния места прорастания составных частей ПЛ на его структурные и физико-химические свой-

ства определяли наличие парамагнитных центров. Количество парамагнитных центров определяли по формуле (22).

Таблица 4.4

Параметры спектров ЭПР составных частей подорожника при комнатной температуре

| № | Название составных частей | Место сбора образцов | | | | | |
|---|---------------------------|----------------------|-------------------|------------|-------------------|------------|-------------------|
| | | Гафуров | | Спитамен | | Исфара | |
| | | J_0 , мм | ΔH_0 , мм | J_0 , мм | ΔH_0 , мм | J_0 , мм | ΔH_0 , мм |
| 1 | Листья | 42 | 31 | 53 | 30 | 45 | 34 |
| 2 | Стебли | 24 | 40 | 33 | 35 | 23 | 40 |

Таблица 4.5

Сравнительные данные о количестве парамагнитных центров в составных частях ПЛ в зависимости от места прорастания

| № | Место сбора образцов | Количество свободных радикалов $C_R \cdot 10^{12}$, спин/мг | |
|---|----------------------|--|--------|
| | | Листья | Стебли |
| 1 | г. Гафуров | 46.3 | 21.1 |
| 2 | Спитаменский район | 49.1 | 26.7 |
| 3 | г. Исфара | 23.9 | 17.5 |

Полученные результаты свидетельствуют о том, что место произрастания ПЛ оказывает сильное влияние на накопление биохимических продуктов жизнедеятельности растения и формирование структуры его органов.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что накопление парамагнитных центров, содержащихся в составе ПЛ, зависит от места произрастания, экологического состояния окружающей среды и составных частей растения.

Электронный парамагнитный резонанс в всех исследуемых объектах обнаруживает синглетный сигнал который по всей вероятности происходит от природного стабильного радикала вероятнее всего семихенонна. Этот радикал может служить естественной спиновой меткой ловушкой для активных радикалов. Последние, появившейся вследствие радиации или других внеш-

них факторов, могут реагировать со спиновой ловушкой уменьшая её концентрацию. Таким образом, мониторинг сигнала ЭПР спиновой ловушки позволяет сравнить препараты растительных объектов по степени воздействию на них активных радикалов при различных условиях.

4.3. Качественный анализ спектров ЭПР спин-меченых листьев репейника при разных уровнях радиационного фона

При исследовании парамагнитных центров растений возникают трудности расшифровки спектров ЭПР, связанные с анизотропией сверхтонкого взаимодействия и g -фактора а также невозможностью разделения сигналов от радикалов разной химической природы, но с близкими значениями магнитно-резонансных параметров. Для определения молекулярно-динамических параметров и конформации молекул целесообразно применять методы спиновых меток и зондов. В качестве объекта исследования выбраны листья репейника, собранные из мест с различным уровнем радиационного фона и модифицированные спиновой меткой НР (I) согласно методикам [115, 119, 125].

Спектры снимались при комнатных условиях на радиоспектрометре РЭ – 1306 в стандартных молибденовых ампулах с внутренним диаметром 3.0 мм., в которые помещали по 30 мг спин-меченого образца.

Спектры ЭПР спин-меченых образцов листьев репейника представлены на рис. 4.5. Из рисунка видно, что с ростом радиационного фона проникновение спин-метки (R) в образцы уменьшается (кривая г). Концентрацию спиновых меток определяли путём сравнения интенсивностей спектров образца и эталонного водно-глицеринового раствора радикала-I при 77 К согласно формулы (7).

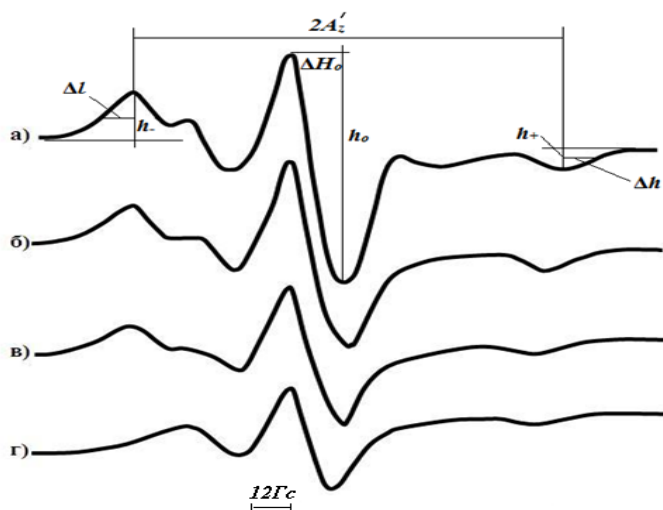


Рис.4.5. ЭПР-спектры спин-меченых листьев репейника в зависимости от радиационного фона места прорастания в мкЗв/час:

а) 0.2, б) 0.7, в) 2.7, г) 8.4

Из рис. 4.5 видно, что ЭПР-спектры радикалов листьев репейника состоят из двух перекрывающихся сигналов. Можно предположить, что в структуре листьев имеются жёсткие упорядоченные и неупорядоченные области, где радикалы довольно свободно вращаются. Слабая заторможенность вращательных движений радикала позволяет сделать вывод о том, что, вероятно, в структуре растений имеются микропустоты, куда проникает нитроксильный радикал, что и даёт узкий сигнал на фоне широкого спектра. Вид спектров модифицированы радикалами образцов соответствует сильно заторможенному вращению. Внешне форма спектров ЭПР образцов из разных мест прорастания идентична, однако с ростом уровня радиационного фона интенсивность сигнала ЭПР уменьшается, а при мощностях выше 8.4 мкЗв/час сигнал полностью исчезает.

На рис. 4.6 представлена зависимость количества гидроксильных групп от количества присоединившихся спин-меток к молекулам репейника. Видно, что между этими параметрами имеется линейная зависимость. Это означает, что в результате изменений в структуре растения под действием радиационного фона уменьшается число участков или групп молекул, кото-

рые могут быть местом присоединения радикала в процессе его диффузионного внедрения в образец.

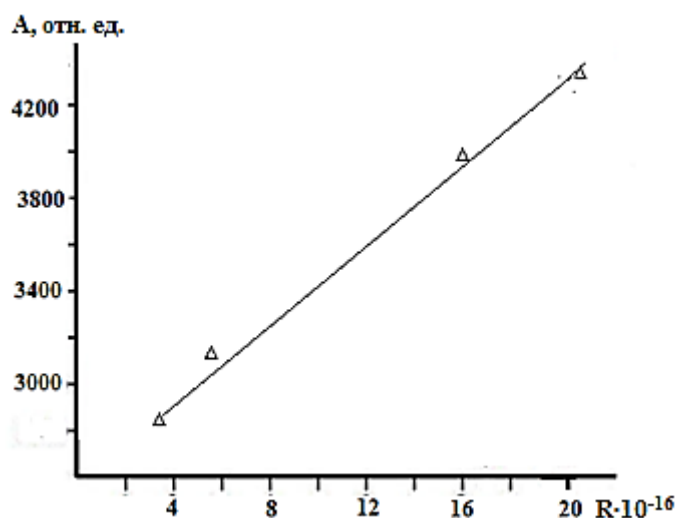


Рис.4.6. Зависимость интегральной интенсивности гидроксилных групп от количества присоединившихся спин-меток.

Возможно, для радикала эти участки недоступны в силу уменьшения количества гидроксильных групп и парамагнитных центров в структуре растений.

Концентрацию спиновых меток можно установить по оценке вклада диполь-дипольного взаимодействия неспаренных электронов НР–I в форму спектров ЭПР.

Для оценки этого взаимодействия определим спектральный параметр h'/h . Результаты показывают, что параметр h'/h с повышением уровня радиации уменьшается от 0.40 до 0.17, что связано с уменьшением объёмной доли аморфных областей, которые могут быть модифицированы меткой. По литературным данным, для нескольких видов целлюлоз медленно вращающийся компонент НР локализован в более «жёстких» частях аморфной области, а быстро вращающийся компонент НР внедрён в более «рыхлые» участки.

Проанализируем параметры спектра $2A'_z$ и ΔI , которые содержат информацию о вращении НР. Следует отметить, что низкопольные и высокопольные компоненты неоднородно уширены. Неоднородное уширение линий связано, как правило, с гетерогенностью структуры исследуемой матрицы, которая может быть следствием того, что разные структурные части

растений по-разному реагируют на радиацию. Поэтому спектральные параметры, измеренные по огибающим неоднородно уширенных крайних компонент спектра, представляют собой, вообще говоря, усреднённые характеристики поведения меток НР в различных микроокружениях.

Поскольку изменение константы сверхтонкого взаимодействия отражает изменение микроокружения спин-метки, локализованной в более «жёсткой» части аморфной области, можно сделать вывод, что радиационный фон разрушает более менее упорядоченные части аморфной области, что становится заметно при высоких показателях радиационного фона. Параметр $2A'_z$ уменьшается с ростом радиационного фона, что свидетельствует об увеличении подвижности меток НР. Изменение ширины низкочастотного параметра ΔI с изменением уровня радиации происходит по тем же закономерностям, которые типичны для гетерогенных систем, т.е. является результатом наложения двух процессов: сужения гауссова распределения по резонансным частотам вследствие низкотемпературных мелкомасштабных движений ближайшего окружения и лоренцева уширения сигнала вращения спин-метки. Следовательно, рост радиационного фона местности приводит к увеличению подвижности меток НР, т.е. к падению микрожёсткости матрицы в местах локализации её меток.

4.4. Количественный анализ спектров ЭПР спин-меченых листьев репейника при разных уровнях радиационного фона

Оценка частот и активационных параметров вращения спин-меток модифицированных растений позволяет более точно сформулировать, как радиационный фон сказывается на молекулярно-динамических свойствах растений.

Время корреляции вращений τ_c спин-меток определяется по относительным изменениям спектрального параметра $2A'_z$ с помощью уравнения (13) [93], которая справедлива для изотропного вращения нитроксильного фрагмента спиновой метки по механизму броуновской диффузии. Однако ре-

альное вращение фрагмента спиновой метки в матрице репейника может быть анизотропным. Выбор модели вращения в рамках данных ЭПР в 3^x сантиметровом диапазоне представляет сложную, во многих случаях не решаемую задачу. Как показано в [93], имеет место прямая пропорциональность между значениями τ_c , рассчитанными теоретически и значениями τ_c^0 , заложенными в расчёт для анизотропного вращения.

При исследовании образцов листьев репейника установлено сходство ЭПР- спектров со всех точек сбора. Однако, как видно из рис.4.5, при изменении параметров местности ЭПР-спектры для спин-меченых образцов отличаются друг от друга.

Спектры ЭПР спин-меченых образцов при комнатной температуре представляют собой суперпозицию двух сигналов и показывают сильную заторможенность вращательной подвижности спиновой метки со временем корреляции $\tau_c \leq 10^{-8}$ с. Это свидетельствует о неоднородности аморфных областей в образцах в местах присоединения метки и свидетельствует об изменении системы меж- и внутримолекулярных водородных связей в области частот гидроксильных групп, что подтверждает данные ИК-спектроскопии.

На рис. 4.7 представлены ЭПР-спектры свободного НР (I) в спиртовом растворе (а), эталона (50% водно-глицериновый раствор НР) (б) и спин-меченных образцов репейника (в). Как видно из рис. 4.6 а, в спектрах ЭПР спектрах спиртового раствора НР наблюдается свободная вращательная подвижность спиновой метки со временем корреляции $\tau_c \leq 10^{-7}$ с. Спектр спин-меченого репейника имеет сильно заторможенный вид, свидетельствующий о суперпозиции двух радикалов.

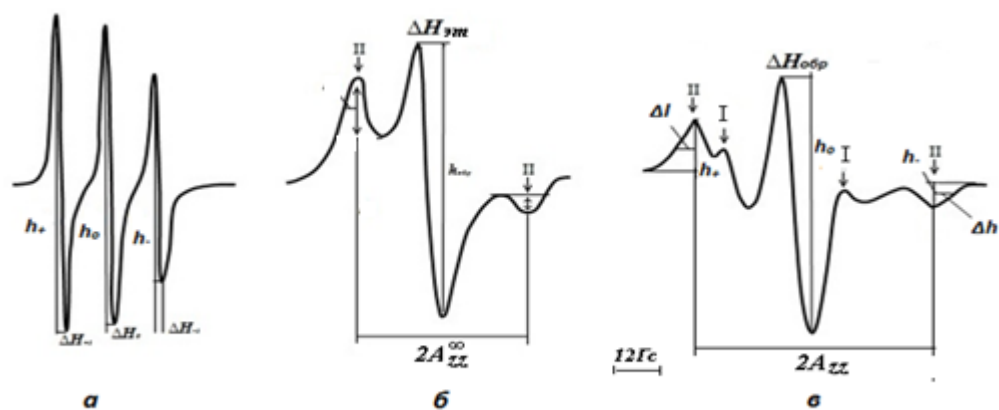


Рис. 4.7. ЭПР-спектры: *а*- свободного нитроксильного радикала (I) в спиртовом растворе концентрации 0,004 моль/литр; *б*-эталона (50 % водно-глицериновый раствор при 77 К; *в*-спин-меченного листа репейника при 293К.

Радикал (I) относится к быстровращающемуся (показано стрелками I) компонентам сигнала, а радикал (II) относится к медленно вращающемуся компонентам (показано стрелками II) сигнала спектра ЭПР (рис.4.7 *в*).

Из этих данных были определены следующие параметры спектров спин-меченых образцов при комнатной температуре: $2A'_z$ - расстояние между внешними экстремумами; Δl и Δh - полуширины линий в низком и высоком поле соответственно; h'/h - отношение амплитуд низкопольных линий слабо иммобилизованных меток и ΔH_0 - ширина линии центрального компонента спектра, а также времена корреляции.

В табл. 4.6 приведены параметры спектров ЭПР спин-меченых листьев репейника в зависимости от радиационного фона места произрастания. Из этой таблицы и рис. 4.5 и 4.7 следует, что для листьев репейника параметры Δl и Δh в спектрах ЭПР изменяются в зависимости от радиационного фона, а параметр h'/h является особо чувствительным, что характеризует появление нового компонента сигнала ЭПР, относящегося к быстро вращающемуся радикалу (указаны стрелками I на рис. 4.7). Это говорит о появлении сверхтонкой структуры (СТС) в спектрах исследуемых образцов, связанном с уменьшением низкопольных и высокопольных компонентов в сигнале ЭПР и из-

менением системы меж- и внутримолекулярных водородных связей в области присоединения метки.

Таблица 4.6

Параметры спектров ЭПР спин-меченых листьев репейника в зависимости от радиационного фона места произрастания

| Место Произрастания | Δl , Гс | Δh , Гс | $\Delta H_{обр}$, Гс | $2A'_{z_s}$, Гс | h'/h | $\tau_c \cdot 10^{-8}$ с | $R_{обр} \cdot 10^{16}$ спин/Г |
|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------------|------------------|--------|--------------------------|--------------------------------|
| точка А | 12 | 10.8 | 24 | 218 | 0.4 | 0.47 | 22 |
| точка В | 9.6 | 10 | 21.6 | 210 | 0.25 | 0.41 | 13 |
| точка С | 8.4 | 7.2 | 18 | 204 | 0.17 | 0.36 | 5.3 |
| точка D | 7.2 | 5.6 | 16.8 | 177 | - | 0.25 | 3.7 |

Примечание: $R_{обр}$ - количество присоединившихся спин-меток

На рис. 4.8 приведён график изменения относительного параметра h'/h от уровня радиационного фона. Можно видеть, что параметр h'/h с ростом уровня фона нелинейно уменьшается и в пределе стремится к нулю.

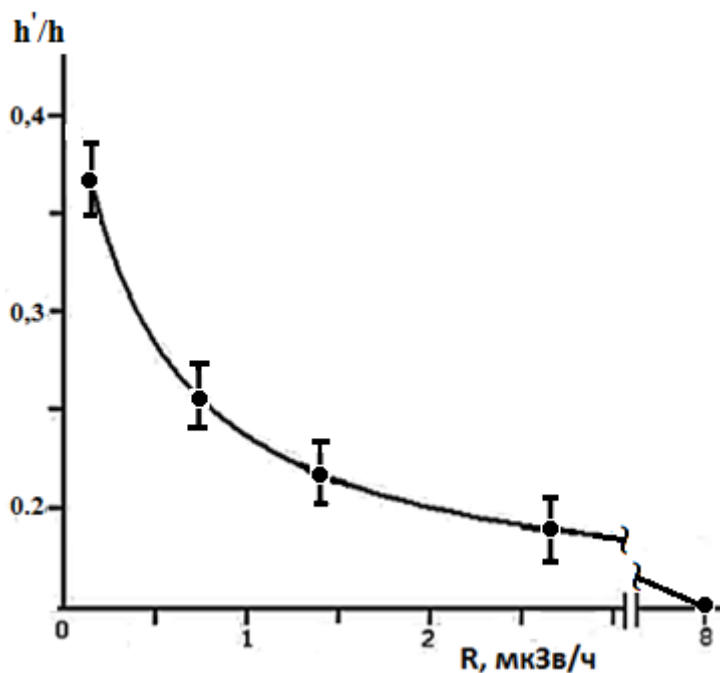


Рис.4.8. Зависимость параметра h'/h от радиационного фона места произрастания листьев репейника.

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить:

- изменение значений ЭПР- параметров и появление сверхтонкой структуры в спектрах листьев репейника связаны с радиационным фоном местности, т.е. радиация влияет на формирование молекулярной структуры в процессе биосинтеза компонентов соединений растений:

- в спектрах ЭПР спин-меченого репейника при больших уровнях радиационного фона сокращаются низкопольные и высокопольные компоненты ΔI и Δh ; возможно, это связано с изменением конформационной подвижности молекул репейника;

- листья репейника под действием радиации, по видимому, подвергаются окислению, которое, вероятно, катализируется содержащимися в них ионами биогенных металлов.

4.5. Исследование корреляции между молекулярно-динамическими и механическими характеристиками репейника

Известно [159-164], что по температурно-временным зависимостям прочности можно получать достоверную информацию о величине энергии межатомных связей, различного рода локальных структурных неоднородностях и дефектах в твёрдых телах. В связи с этим нам представлялось интересным изучить температурно-временные зависимости прочности растительных материалов и сравнить их с их спектроскопическими параметрами.

Эксперименты по прочности и долговечности растений на примере листьев репейника проводились с помощью специального рычажного устройства [162]. Образцы готовились в виде двойных лопаток с шириной рабочей части 3.5 мм, длиной 15 мм. Толщина образцов листьев колеблется в интервале 0.25 - 0.35 мм. Образцы вырезались специальным ножом по направлению ориентации волокон растения.

На рис. 4.9 представлена зависимость разрывной прочности (σ) листьев репейника от уровня радиации (R) при комнатной температуре. Можно ви-

деть, что прочность образцов с ростом уровня радиации достаточно быстро и не линейно падает.

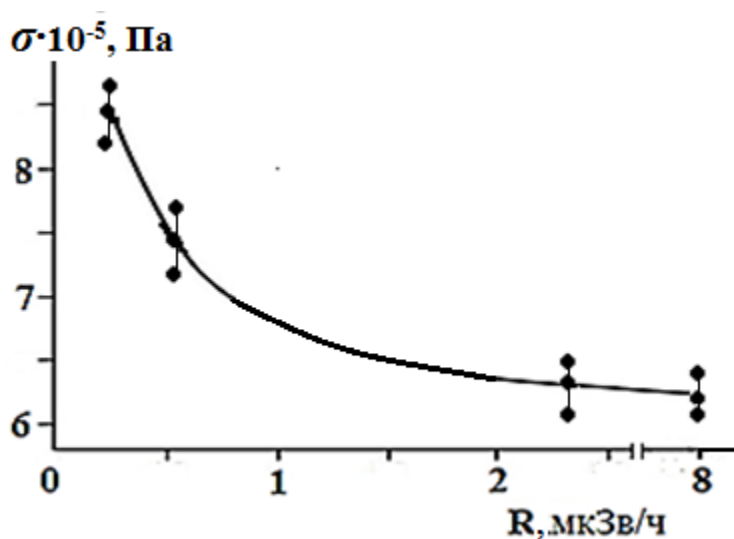


Рис. 4.9. Зависимость разрывной прочности листьев репейника от уровня радиации места прорастания.

На рис. 4.10 приведены температурные зависимости разрывной прочности для образцов с двумя разными предысториями: 1 – из точек с допустимым уровнем радиации, 2 – из точек с уровнем радиации 8,4 мкЗв/час. Можно видеть, что вначале, с ростом температуры, в обоих случаях наблюдается небольшой рост прочности образцов. Это, вероятно, связано с тем, что с повышением температуры происходит сушка образцов. Уменьшения влаги, как известно, приводит к возрастанию прочности полимеров. Далее, повышение температуры приводит к линейному спаду прочности.

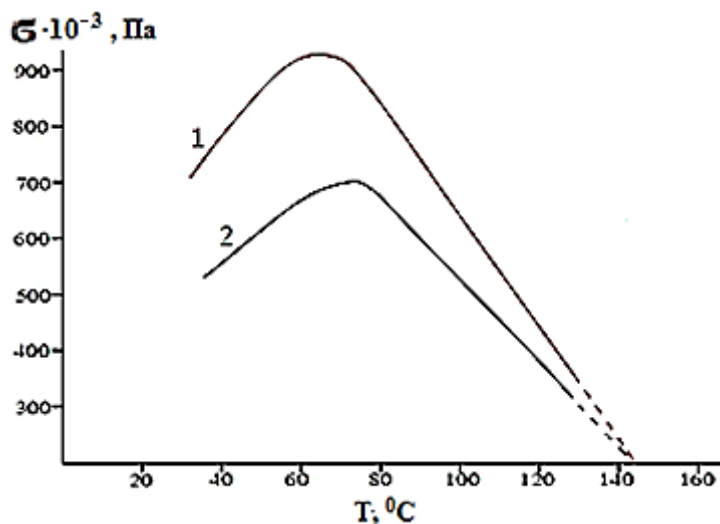


Рис.4.10. Температурная зависимость прочности листьев репейника:

- 1- образцы из точек с допустимым радиационным фоном;
- 2-образцы из точек с радиационным фоном 8,4 мкЗв/час.

Максимум кривой 1 приходится на температуру $\sim 60-65$ °С, а для кривой 2-на температуру ~ 75 °С. Для определения величины энергии механического разрушения U_0 и структурно-чувствительного коэффициента γ в уравнении долговечности [159-161] нами сначала были найдены значения T_0 и σ_0 по данным рис. 4.10 экстраполяцией зависимостей $\sigma=f(T)$ к значениям $\sigma=0$ и $T=0$. Далее с помощью уравнений

$$U_0=2.3RT_0(\lg \tau+13) \quad (23) \quad \text{и} \quad \gamma= U_0/ \sigma_0 \quad (24)$$

были определены значения кинетических параметров в уравнении долговечности

$$\tau = \tau_0 \exp [(U_0 - \gamma\sigma) / RT], \quad (25)$$

где τ - долговечность-время с момента нагружения образца до разрыва, σ - напряжение в момент разрыва полимера, T - абсолютная температура, R - универсальная газовая постоянная, U_0 - энергия активации разрушения в отсутствие напряжения, γ - структурно-чувствительный коэффициент, τ_0 - предэкспоненциальный множитель, принимаемый равным 10^{-13} с [159].

В табл. 4.7 приведены физико-механические характеристики листьев репейника из точек с разными уровнями радиационного фона. Видно, что значения энергий активации разрушения U_0 для образцов из обеих точек практически одинаковы, а вот структурно-чувствительный коэффициент γ для образца из точки *B* увеличивается, разрывная прочность падает. Постоянство U_0 свидетельствует о том, что в обоих случаях разрушению подвергаются одни и те же внутримолекулярные межатомные связи.

Таблица 4.7

Сравнительные физико-механические характеристики листьев репейника из точек с разными уровнями радиационного фона

| Место | Мощность | σ , | U_0 , | γ , | $E_{эфф}$, |
|-------|----------|------------|---------|------------|-------------|
|-------|----------|------------|---------|------------|-------------|

| произрас- тания | радиации R, мкЗв/ч | 10 ⁵ Па | ккал/моль | ккал/Па моль | ккал/моль |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|-----------------|-----------|
| точка A | 0.22 | 8.39 | 8.55 | 0.5 | 0,703 |
| точка B | 8.40 | 6.45 | 8.28 | 0.7 | 0,520 |

Как было показано в [125], уровень радиации отражается на форме спектров ЭПР [125]. В табл. 4.8 приведены спектральные параметры образцов репейника, отобранных с мест произрастания с уровнями радиации 0.2 и 8.4 мкЗв/час в зависимости от температуры.

Таблица 4.8

Параметры спектров ЭПР спин-меченого репейника из различных точек Дигмая при разных температурах

| Место произ- растания | T, К | Δl , Гс | Δh , Гс | $2A'_z$, Гс | ν , 10 ⁸ 1/с | τ_{c_2} , 10 ⁻⁸ с |
|--------------------------|------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| точка A | 303 | 12 | 10.8 | 218 | 2.17 | 0.46 |
| | 323 | 14 | 12 | 215 | 2.27 | 0.44 |
| | 353 | 17 | 11 | 208 | 2.56 | 0.39 |
| точка B | 303 | 7.2 | 5.6 | 177 | 3.84 | 0.25 |
| | 323 | 8.0 | 6.0 | 173 | 4.16 | 0.24 |
| | 353 | 8.6 | 7.2 | 169 | 4.35 | 0.23 |

Примечание: мощность радиационного фона места произрастания в точке A–0.2, в точке B–8.4 мкЗв/час.

Как видно из таблицы, при изменении температуры и уровня радиации наблюдается уширение спектра и уменьшение времени корреляции, что свидетельствует об увеличении подвижности спиновой метки в структуре репейника. На основе данных этой таблицы и уравнения (17) оценена эффективная энергия активации вращательной диффузии спиновой метки для репейника.

Анализ результатов ИК- и ЭПР- спектроскопий позволил установить, что при увеличении уровня радиации происходит уменьшение интенсивности валентных колебаний гидроксильных групп, а также количества парамагнитных центров, что приводит к изменению структуры вещества в целом.

Из табл. 4.7 видно, что эффективная энергия активация ($E_{эфф}$) вращательной диффузии спиновых меток для поражённых образцов уменьшается.

Таким образом, можно предположить, что механическая прочность листьев растений в значительной мере зависит от наличия «дефектных» рыхлых областей, внутри которых происходит интенсивное молекулярное движение. При росте уровня фоновой радиации увеличивается доля этих областей, нарушается надмолекулярная структура, падает интегральная разрывная прочность растительного материала. Структурно-чувствительный параметр γ может быть использован в качестве показателя механических характеристик растений. Эти выводы находятся в согласии с современными представлениями о связи прочности полимеров с их микроструктурой.

4.6. Молекулярная динамика функциональных групп донника в зависимости от места прорастания

Чтобы убедиться в универсальности полученных результатов по влиянию радиации на структурообразование биополимеров нами были продолжены эксперименты на примере других растений.

На рис. 4.11 и в табл. 4.9 приведены параметры спектров ЭПР спиномеченых образцов составных частей донника, собранного из разных мест.

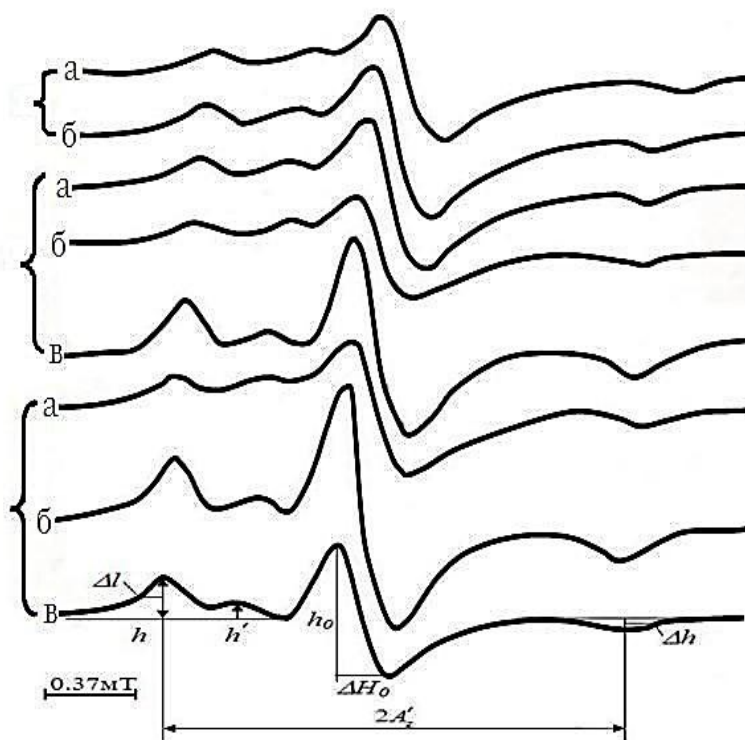


Рис.4.11. ЭПР-спектры спин-меченных образцов составных частей донника в зависимости от места прорастания: 1– Худжанд; 2– Гулистон; 3– Дигмай; а–стебли, б–листья, в–коренья. Температура опытов-комнатная.

Таблица 4.9
 Параметры спектров ЭПР спин-меченных образцов составных частей донника в зависимости от места произрастания

| Место произрастания и высота над ур. моря, м | R, мкЗв/ч. | Сост. части | Δl , Гс | Δh , Гс | ΔH_0 , Гс | $2A'_{zz}$, Гс | $\tau_c \cdot 10^{-8}$ с | h'/h |
|--|------------|-------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|--------------------------|--------|
| Худжанд, 380 | 0.28 | Стебель | 12.0 | 13.2 | 30.0 | 190.8 | 0.304 | 1.00 |
| | | Листья | 12.0 | 12.0 | 27.6 | 183.6 | 0.277 | 0.90 |
| | | Корень | - | - | - | - | - | - |
| Гулистон, 400 | 0.10 | Стебель | 10.8 | 19.2 | 16.8 | 181.2 | 0.269 | 0.41 |
| | | Листья | 9.60 | 7.2 | 28.8 | 183.6 | 0.277 | 1.08 |
| | | Корень | 9.60 | 13.2 | 25.2 | 183.6 | 0.277 | 0.43 |
| Дигмай, 450 | ~3.90 | Стебель | 13.2 | 14.4 | 27.6 | 190.8 | 0.304 | 1.00 |
| | | Листья | 8.40 | 12.0 | 26.4 | 183.4 | 0.271 | 0.36 |
| | | Корень | 7.20 | 9.60 | 26.4 | 193.2 | 0.314 | 0.33 |

Как видно из рисунка, спектры ЭПР спин-меченных образцов изменяются в зависимости как от места сбора, так и от составной части растения. Это, очевидно, связано с неоднородностью аморфных областей в местах локализации НР исследуемых образцов и изменением системы меж- и внутримолекулярных функциональных групп.

Из табл. 4.9 следует, что параметры Δh и Δl в спектрах ЭПР, относящиеся к медленно вращающемуся радикалу, изменяются в зависимости от радиационного фона места произрастания и составной части растения.

Наблюдается корреляция между изменениями параметров $2A'_{zz}$ и Δl , Δh (табл. 4.9). Судя по данным [93, 99, 133], эти изменения трактуются как появление нового компонента в сигнале ЭПР, относящегося к быстровращающемуся радикалу, что является доказательством увеличения вращательной подвижности спиновой метки с временем корреляции $\tau_c \leq 10^{-7}$ с.

Таким образом, можно заключить, что параметры вращательной диффузии радикала, привитого в молекулы растений одного и того же генетического происхождения, зависят от дозы поглощённой радиации и др. физических факторов окружающей среды. По мере роста уровня радиации параметр, характеризующий медленно вращающийся радикал, изменяется незначительно, а параметр h'/h – отношение амплитуды низкопольных линий слабо иммобилизованных меток весьма чувствителен к конформационной подвижности молекул, что свидетельствует о структурных изменениях в составных частях донника. При значении уровня радиации $R \geq 0,28$ мкЗв/ч для донника, возможно, происходят структурные переходы, сопровождающиеся заметным увеличением вращательной диффузии радикала во всех изученных образцах.

4.7. Влияние пестицидов на динамические параметры природных соединений

Пестициды – химические средства, предназначенные для уничтожения или подавления вредителей растений, паразитов, возбудителей болезней, грибков, сорняков и инфекций [158]. Существуют достоверные факты о вредном воздействии пестицидов на растительный мир, живые организмы. Для определения остатков пестицидов в сельхозпродуктах применяют разные методы, однако они не дают информации об их влиянии на молекулярную динамику растений. Среди редких результативных в этом смысле методов прямого изучения молекулярной динамики материалов следует назвать метод спиновых меток, который и был использован в работе.

На рис. 4.12 приведены спектры спин-меченых образцов исходных и обработанных пестицидами листьев ПЛ. В спектре исходного ПЛ в заторможенном виде все параметры ясно проявляются (рис. 4.12 б), а в спектрах обработанных пестицидами образцов (рис. 4.12 в) некоторые параметры поглощаются и уменьшаются.

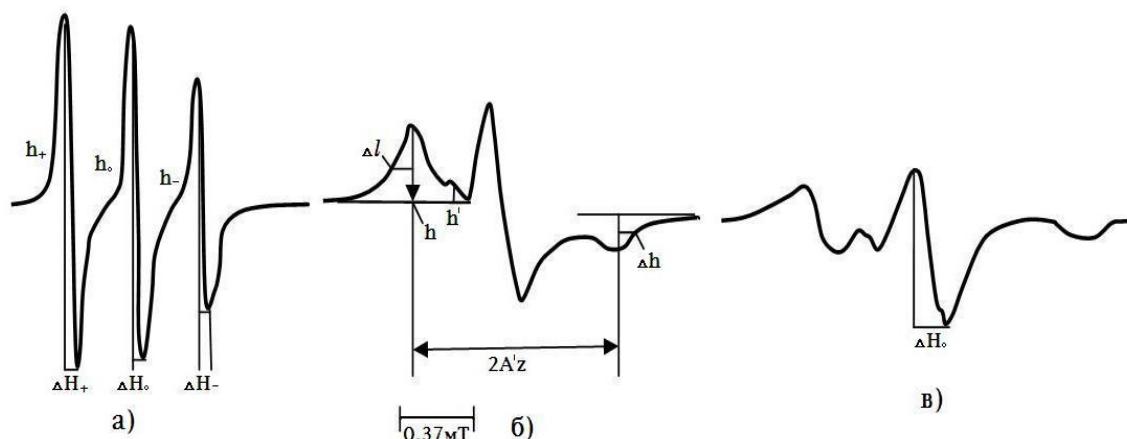


Рис. 4.12. ЭПР-спектры нитроксильного свободного радикала (I): а- в этаноловом растворе с концентрацией $4 \cdot 10^{-3}$ М/л; б-в исходных листьях ПЛ; в-в обработанных пестицидами листьях ПЛ.

Очевидно, это связано с изменением сверхтонкой структуры (СТС) и свойств макромолекул в составе растений. Кроме того, это изменение, возможно, связано с неоднородностью аморфных областей в обработанных образцах; места присоединения метки свидетельствуют о неравнозначности меж- и внутримолекулярных водородных связей гидроксильных групп.

В табл. 4.10 приведены экспериментальные параметры спин-меченых ПЛ. В спектрах ЭПР листьев ПЛ параметры Δl и Δh , относящиеся к медленно вращающемуся радикалу, изменяются, также интенсивно уменьшается параметр h'/h , что характеризует появление нового компонента сигнала ЭПР, относящегося к быстро вращающемуся радикалу. Это свидетельствует о появлении СТС в спектрах исследуемых образцов и характеризует изменение системы меж- и внутримолекулярных водородных связей в областях присоединения метки.

Таблица 4.10

Параметры спектров ЭПР спин-меченых образцов
листьев ПЛ, обработанных пестицидами

| Образец | Δl , Гс | Δh , Гс | ΔH_0 , Гс | $2A'z$, Гс | h'/h | $\tau_c \cdot 10^{-8}$ с | $R_{\text{обр}} \cdot 10^{16}$, спин/г |
|---------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------|--------|--------------------------|--|
|---------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------|--------|--------------------------|--|

| | | | | | | | |
|------------------------------------|------|------|------|-------|------|------|------|
| ПЛ исходный | 12.0 | 16.8 | 24.8 | 213.6 | 0.56 | 0.42 | 24.2 |
| ПЛ, обработанный пестицидами | 10.8 | 13.2 | 22.0 | 192.0 | 0.3 | 0.31 | 13.7 |

Параметр $2A'_z$ уменьшается для обработанных пестицидами образцов, что свидетельствует об увеличении подвижности спин-меток. Следовательно, уменьшение ΔI для обработанных образцов приводит к увеличению подвижности меток НР и уменьшению микрожесткости матрицы в местах их локализации. Количество присоединивших спин-меток ($R_{обр}$) к молекулам растений для обработанных образцов становится меньшим, что, очевидно, связано с уменьшением объёма части аморфной области, которая может быть местом посадки меток.

Таким образом, можно заключить, что пестицид непосредственно влияет на значения спектроскопических параметров и сверхтонкую структуру ПЛ; при влиянии пестицидов уменьшаются низкопольный и высокопольный компоненты ΔI и Δh . Возможно, это связано с изменением конформации молекул ПЛ. Кроме того, наблюдается заторможенность вращательной подвижности спиновой метки с временем корреляции $\tau_c \leq 10^{-7}$ с, что свидетельствует об изменении системы меж- и внутримолекулярных водородных связей в области присоединения метки.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Впервые с использованием метода ИК-спектроскопии проведено исследование влияния радиационного фона места произрастания на количественное содержание функциональных групп молекул соединений дикорастущих репейника, донника и подорожника ланцетного. Установлено, что концентрация функциональных групп в молекулах указанных растений с ростом мощности радиационного фона точки сбора в зависимости от составной части растения, предварительного катионного обмена меняется от экстремального (с максимумом) до линейного и нелинейного падения [*Межд. конф. «Перспективы развития физической науки».- Душанбе .- 2017.- С.72-74.*].
2. Проведена оценка энергии межмолекулярного взаимодействия (ЭММВ) гидроксильных групп в репейнике, доннике и подорожнике ланцетном в зависимости от мощности радиационного фона, высоты над уровнем моря точки сбора, составной части растения и предварительной химической обработки. Показано, что с ростом мощности фона во всех изученных случаях энергия межмолекулярного взаимодействия нелинейно снижается от ~12 кДж/моль до 1,5 кДж/моль [*Вестник ТНУ.-2014.- 1/4(153) .- С.208-213., Учёные записки ХГУ.- 2016.- №4(39).- С.52-59., V-межд. конф. «Современные проблемы физики».-Душанбе.-2016.- С.108-110.*].
3. Методом ЭПР в сочетании с методом спиновых меток исследовано влияние радиационного фона и высоты над уровнем моря точки сбора, составной части растения и предварительной химической обработки на молекулярную динамику репейника, донника и подорожника ланцетного. Установлено, что с ростом мощности фона вращательная подвижность (обратная времени корреляции) функциональных групп молекул растений увеличивается, в то время как концентрация привитых меток (равно концентрация функциональных гидроксильных групп) заметно падает, что, очевидно, связано с деструкцией

материала растений, образованием микродефектов и пр [ДАН РТ.- 2015.- Т.58.- №4.- С. 309-315., ДАН РТ.- 2016.- Т.59.- № 9-10.- С. 392-398.].

4. Найдена корреляция между изменениями в ИК-спектрах и количества спин-меток присоединённых к функциональным группам молекул растений

5. Показано, что под влиянием радиационного фона и пестицидов возрастает вращательная подвижность спиновых меток (ν), присоединившихся к макромолекулам образцов растений, радиация разрушает структуру веществ на всех уровнях формирования функциональных групп структуры растений, начиная с листьев и кончая корнями [ДАН РТ.- 2016.- Т.59.- № 9-10.-С. 392-398., Межд. конф. «Актуальные проблемы современной физики».- Душанбе .- 2018.- С.153-155.].

6. Оценена эффективная энергия активации ($\Delta E_{эфф}$) вращательной диффузии спиновой меток для образцов репейника. Показана строгая корреляция между прочностными характеристиками и структурой растений, что согласуется с современными представлениями о связи прочности материалов с их микроструктурой [ДАН РТ.-2017.- Т.60.-№5-6. С.230-235., Вестник.- ТНУ.- 2017.- №1/4. С.117-121].

Благодарности

Выражаю искреннюю благодарность своим научным руководителям Шукурову Т. и Юсупову И.Х. за их постоянную поддержку и руководство при работе над диссертацией, академику Марупову Р. и доценту Усманову А. за помощь в интерпретации экспериментальных данных, всему коллективу ФТИ им. С. Умарова и, особенно, руководителю института академику Муминову Х.Х. и доцентов Холову А. и Тоирова А. за поддержку в проведении экспериментов и полезные советы, моему школьному учителю физики Зарипову М. за то, что он пробудил во мне тягу к науке, сотрудникам НИИ ТНУ за помощь в проведении части экспериментов и полезные советы, особенно доценту Табарову С.Х., коллективу физико-технического факультета ХГУ, особенно профессору Абдуманнову А., за полезные советы, своей семье, особенно матери, жене и сыновьям за всестороннюю моральную поддержку.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаммерман, А.Ф. Дикорастущие лекарственные растения СССР / А.Ф. Гаммерман, И.И. Гром // М: Медицина.- 1976.- 288с.
2. Ходжиматов, М. Дикорастущие лекарственные растения Таджикистана . М. Ходжиматов // Гл. научн. ред. ТСЭ.- 1989.- 368 с.
3. Глик, Б. Молекулярная биотехнология: Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак // М.: Мир.- 2002.- 589 с.
4. Билич, Г.Л. Биология. Полный курс / Г.Л. Билич, В.А. Крыжановский // М: Изда-во Оникс.- 2009.- Т.1.- 864 с.
5. Глинка, Н.Л. Общая химия / Н.Л. Глинка // Л.: Химия.- 1977.- 719 с.
6. Ладыгина, Е.Я. Химический анализ лекарственных растений / Е.Я. Ладыгина, Л.Н. Сафронич, В.Э. Отряшенкова и др. // М.: Высшая школа.- 1983.- 176 с.
7. Валягина, Е.Т. Лекарственные растения России / Е.Т. Валягина // С.-Пб.: Издатель.- 1997.- 284 с.
8. Орехов, А.П. Химия алкалоидов растений СССР / А.П. Орехов // М.: Наука.- 1965.- 234 с.
9. Соколов, С.Я. Справочник по лекарственным растениям / С.Я. Соколов, И.П. Замотаев // М.: Недра.- 1987.- 512 с.
10. Кузнецова, Г.А. Природные кумарины и фурукумарины / Г.А. Кузнецова // М.: Наука.- 1967.- 126 с.
11. Турова, А.Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А.Д. Турова // М.: Медицина.- 1974.- 424 с.
12. Хаитов, И. Фармакогнозия в медицине (фитотерапия) / И. Хаитов // Худжанд: «Илм».- 2004.- 628 с.
13. Землинский, С.Е. Лекарственные растения СССР / С.Е. Землинский // Медгиз.- 1951.- 524 с.
14. Корсун, У.Ф. Фитотерапевтический оздоровительный комплекс / У.Ф. Корсун // М.: Фитосан-Интер.- 1994.- 31с.

15. Гаммеран, А.Ф. Лекарственные растения научной медицины СССР, не включенные в фармакопею / А.Ф. Гаммеран, И.А. Дамиров и др. // Ашхабад.- 1970.- 340с.
16. Лекарственные растения. Каталог // М.: Медицина.- 1985.- 265с.
17. Растения и животные / Н. Кристоф, П. Иоханнес, Ш. Петер, Ш. Бренд // М:Мир.- 1991.- 264 с.
18. Marrimann, H.J. Infrared spectra of the crystalline modifications of cellulose / H. J. Marrimann, J. Mann // J. Polymer Sci.- V.21.- L.98.- 1956.- P.301-311.
19. Mann, J. Polarized infrared spectra of cellulose I / J. Mann, H.J. Marrimann // Polymer Sci., V. 27.- L.115.- 1958.- P.595-596,
20. Liang, C.Y. Infrared spectra of crystalline polysaccharides. II. Native celluloses in the region from 640 to 1700 cm^{-1} / C.Y. Liang, R. H. Marchessault // J. Polymer Sci.- V.37.- L.132.- 1959.- P.385-395.
21. Marchessault, R. H. Infrared spectra of crystalline polysaccharides. III. Mercerized cellulose / R.H. Marchessault, C.Y. Liang // J. Polymer Sci.- V.43.- L.141.- 1960.- P.71-84.
22. Heritage, K.J. Crystallinity and the structure of celluloses / K.J. Heritage, J. Mann, L. Roldan – Gonzalez // J. Polymer Sci.- V.1.- L2.- 1963.- P.671-685.
23. Инфракрасные спектры α -целлюлозы / В.И. Степанов, Р.Г. Жбанков, А.И. Скирган, А.М. Шишко // Изв. АН БССР.- 1957.- № 4.- С.105-113.
24. Tsubol, M. Infrared spectrum and crystal structure of cellulose / M. Tsubol // J. Polymer Sci.- V.25.- L.109.- 1957.- P.159-171.
25. O' Connor, R.T. Applications of infrared absorption spectroscopy to investigations of cotton and modified cottons. Part 1 / R.T. O'Connor, E.P. Du Pre, D. Mitcham // Text. Research. J.- V.28.- 1958.- P.382-392.
26. Беллами, Л. Инфракрасные спектры сложных молекул / Л. Беллами // М.: Иностран. лит., 1963.-344 с.
27. О связи целлюлозы со супниками в ткани / Б.И. Степанов, А.И. Скригин, А.М. Шишко, Р.Г. Жбанков // Доклады АН. СССР.- 1960.- Т.135.- №3.- С.624-626.

28. Прима, А.М. Изучение особенности инфракрасных спектров моно и дисахаридов / А.М. Прима, Р.Г. Жбанков, Р. Марупов // Журнал структурной химии.- 1964.- Т.5.- №6.- С.845-852.
29. Жбанков, Р.Г. Спектроскопическое исследование структуры целлюлозы, выделенной из хлопка с подвергнутыми γ -облучению семенами / Р. Г. Жбанков, Р. Марупов, Н.В. Иванова и др. // Докл. АН Тадж. ССР.- 1973.- Т.16.- № 12.- С.16-20.
30. Марупов, Р. О химическом составе и структуре волокна хлопчатника, выращенного из семян подвергнутых γ -облучению / Р. Марупов, А.М. Шишко, Р. Г. Жбанков и др. // Извест. АН Тадж. ССР.- 1975.- Т.55.- №1.- С.39-43.
31. Спектроскопия хлопка / Р.Г. Жбанков, Р. Марупов, Н.В. Иванова, А.М. Шишко // М.: Наука.- 1976.- 248с.
32. Марупов, Р. Спектроскопия волокнообразующих полимеров / Р. Марупов // Душанбе: Дониш.- 1977.- 114с.
33. Марупов, Р. Исследование ИК- спектров здоровых и пораженных вилтом стеблей хлопчатника / Р. Марупов, Р.Г. Жбанков, А. Усманов, Х. Садуллаев // ДАН Тадж. ССР.- 1976.- Т.19.- №6.- С.25-27.
34. Жбанков, Р.Г. Спектроскопическое исследование листьев хлопчатника, пораженных вилтом / Р.Г. Жбанков, Р. Марупов, А. Усманов и др. // Извест. АН Тадж. ССР.- 1977.- №1.- С.28-33.
35. Марупов, Р. Спектроскопическое исследование составных частей хлопчатника, пораженных вилтом растений в зависимости от вегетационного развития / Р. Марупов, Р.Г. Жбанков, Х. Сайдуллаев // Извест. АН Тадж. ССР.- 1978.- № 3.- С.94-99.
36. Хабибуллоев, Х. О влиянии предпосевного лазерного облучения семян хлопчатника на структуру и свойств хлопкового волокна / Х. Хабибуллоев, М. Гадоев, Х. Садуллоев и др. // ДАН Тадж. ССР.- 1987.- Т.30.- № 6.- С.360-362.

37. Okado, K Ozoviv. The usefulness of infrared mikrospactroscopu for IR spectroscopic measurements of solid prolelns / Okado K Ozoviv // Appl sptctrosc -1990.- V.44.- № 8.- P.1412-1414.
38. Nyquist, Richard A. Infrared stady of coumarin in different solvent systems / A.Nyquist Richard, E .Settineti Sam // Appl. Spectrose.- 1990.- V.44.- № 5.- P.791-796.
39. Крищенко, В.П. Применение спектроскопии ближнего инфракрасного отражения для определения белка, клейковины и золы в зерне и продуктах его переработки / В.П. Крищенко, Г. Боллинг // М.: Агрехимия.- 1982.- С.124-129.
40. Крищенко, Е.Е. Содержание растворимых и нерастворимых белков у яровой пшеницы и использование растениями азота некорневых подкормок при разных уровнях питания / Е.Е. Крищенко, А.А. Пантелеева // Известия ТСХА.- 1986.- Вып.6.- С.60-65.
41. Петропавловский, Г.А. Гидрофильные частично замещенные эфиры целлюлозы и их модификация путем химического сшивания / Г.А. Петропавловский // Л.: - 1988.- 298 с.
42. Карпова, Е.В. Изучение модифицированной древесины методом ИК-Фурье спектроскопии: автореф. дис. канд. хим. наук. Красноярск.- 2002.- 19с.
43. Сальникова, Е.Н. Химическое исследование флавоноидов полыни горькой (*Artemisia absinthium* L.) / Е.Н. Сальникова, Г.И. Калинкина, С.Е. Дмитрук // Химия растительного сырья.- 2001.- №3.- С.71-78.
44. Кондаурова, В.А. Влияние отходов мебельного производства на биологические показатели древесных растений: автореф. дис. кандидат биологических наук. Воронеж.- 2001.- 17с.
45. Эл-Бахи, Г. М. С. Изучение семян пажитника греческого (*Trigonella foenum graecum* L.) с помощью КР- и ИК-фурье-спектроскопии/ Г. М. С. Эл-Бахи// ЖПС.- 2005.- Т.72.- № 1.- С.106-111.
46. Шаршуно, В.А. Перспективы использования нетрадиционных кормовых добавок при производстве комбикормов для животноводства и птицеводства

- / В.А. Шаршуно, Л.В. Рукшан, А.А. Ветошкина // Вестник НАН Белоруссии.- 2006.- №4.- С.82-91.
47. Панков, С.А. Использование ближней инфракрасной спектроскопии для анализа зерна пшеницы / С.А. Панков, А.Г. Борзенко // Вестник Моск. ун-та.- 2006.- Т.47.- №3.- С.174-176.
48. Формирование водородных связей в одуванчике лекарственном (*Taraxacum officinale* Wigg.) в зависимости от места их произрастания / Т.Шукуров, З.М. Хаитова, Ан.А. Джураев, Р. Марупов // ДАН РТ.- 2007.- Т.50.- №4.- С. 334-339.
49. Спектроскопические свойства одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) в средней ИК – области частот / Т. Шукуров, А.А. Джураев, З.М. Хаитова и др. // ДАН РТ.- 2007.- Т.50.- №7.- С.607-612.
50. Спектроскопические свойства листьев одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) в зависимости от места произрастания / Т. Шукуров, А.А. Джураев, З.М. Хаитова и др. // ДАН РТ.- 2008.- Т.51.- № 3.- С.193-199.
51. Study of molecular dynamic characteristics of herbs depending on place of vegetation by the ir spectroscopy method / T.Shukurov, A.A. Juraev, Z.M.Khaitov и др.//–Supplement to the Health Physics Society Journal, Abstracts of Papers Presented at the Fifty-Third Annual Meeting of the Health Physics Society, Pittsburgh, Pennsylvania, Health Phys.- 2008.- v. 95.- №1.- S18 July.- PP.18.
52. Шукуров, Т. Спектроскопические свойства дикорастущего лекарственного растения цикория обыкновенного / Т. Шукуров, З.М. Рахматов, Р. Марупов // ДАН РТ.- 2009.- Т.52.- №6.- С.449-454.
53. Устойчивость химического состава надземных частей *Hypericum perforatum* L. К антропогенному воздействию. Данные метода Фурье- ИК спектроскопии / В.Д. Ильяшенко, Н.В. Ильяшенко, С.М. Дементьева и др. // Вестник Тверь. ГУ.- 2008.- Вып. 8.- С.71-76.

54. Ильяшенко, Н.В. Влияние антропогенного фактора на химический состав лекарственного и кормового растительного сырья. Автореферат.-Тверь.- 2012.- 18 с.
55. Бубенчик лилиелистный *Adenophora lilifolia* (L.) a.dc как источник пектина/ Р.М. Баширова, Д.И. Грицаенко, Н.В. Кудашкина и др.// Вестник ОГО.- 2009. -№ 6/ Июнь.- С.67-69.
56. Долбнев, Д.В. Идентификация лекарственных средств методом ближней инфракрасной спектроскопии. Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук.- Москва.- 2010.- 110 с.
57. Марупов, Р. Спектроскопические свойства мяты азиатской (*Mentheasiatica* Boriss.) в зависимости от места произрастания / Р. Марупов, Т. Шукуров, Д.А. Шукурова, С.Ш. Давлатмамадова // Известия АН РТ.- 2011.- № 1(142). - С.39-46.
58. Сравнительное изучение дикорастущей и культурной форм *Iagochilus inebrians*/У.Н. Зайнутдинов, Д.Н. Далимов, А.Д. Матчанов// Ж. Химия растительного сырья.- 2011.- № 2.- С.185-190.
59. Мальцева, А. А. Исследование комплекса биологически активных веществ растения *Polemonium coeruleum* L. Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук.- Москва.- 2011.- 128 с.
60. Шукуров, Т. Исследование спектральных свойства листьев крапивы двудомной методом ИК – спектроскопии / Т. Шукуров, С.Ш. Давлатмамадова, Р. Марупов // Материалы международной конференции по физике конденсированного состояния: Дониш: Душанбе.- 2013.- С.196-199.
61. Давлатмамадова, С.Ш. Спектроскопические свойства корневищ родиолы холодной (*Rodiola cgelida* Schrenk) в зависимости от места произрастания / С.Ш. Давлатмамадова, Т. Шукуров, Р.Марупов // Изв. АН РТ.- 2013.- №1(150).- С.60-66.
62. Давлатмамадова, С.Ш. Влияние экологических факторов на составные части лекарственного растения одуванчика (*Taraxacum officinale* Wigg.), со-

- бранные из разных местностей Памира / С.Ш. Давлатмамадова, Т. Шукуров, Р. Марупов // Вестник ТНУ.- 2015.- №1-2.- С.112-117.
63. Шукуров, Т. Исследование спектральных характеристик одуванчика лекарственного(*Taraxacum officinale* Wigg.)собранного в разные времена из одной местности / Т. Шукуров, С.Ш., Давлатмамадова, Р.Марупов // Наука и инновация ТНУ.- 2014.- №1.- С.59-62.
64. Давлатмамадова, С.Ш. Исследование спектральных свойств листьев одуванчика лекарственного(*Taraxacum officinale* Wigg.), собранных в одной местности в разные периоды роста / С.Ш. Давлатмамадова, Т. Шукуров, Р. Марупов // Вестник ТНУ.- 2015.- №1-1(192).- С.172-176.
65. Голубцова, Ю.В. Изучение возможности применения метода ИК-Фурье спектроскопии для идентификации плодово-ягодного сырья в многокомпонентных пищевых системах / Ю.В. Голубцова // Успехи современного естествознания. Издательский Дом «Академия Естествознания».- 2016.- №10.- С.20-25.
66. Эмануэля, Н.М. Экспериментальные методы химической кинетики / Н.М. Эмануэля, М.Г. Кузьмина // М: Изд-во Моск. уни-та.- 1985.- С. 3-50.
67. Инграм, Д. Электронный парамагнитный резонанс биологии / Д. Инграм // М.: Мир.- 1972.- 296с.
68. Бучаченко, А.Л. Стабильные радикалы / А.Л. Бучаченко, А.И. Вассерман // М.: Химия.- 1973.- 407с.
69. Парамагнитные свойства целлюлозы, модифицированной радиационной и термической обработкой / И.И. Азарко, И.А. Карпович, О.Н. Янковский, Р.И. Хайбуллин // 3-я международная конференция «Взаимодействие излучений с твердым телом» Беларусь г.Минск.- 6-8 октября.- 1999.- С.79-81.
70. Berliner, L. Magnetic Resonance in Biology / L Berliner, S. Eaton, G Eaton. (eds.) // Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.- 2000. V.18.
71. Азизова, О.А. Изучение свободных радикалов в облученных УФ-светом аминокислотах и белках методом ЭПР: Дисс.канд. физ.-мат. наук.-М.: - 1966.- 143с.

72. Aripova, D.F. On the mechanism of oxygen effects of free radicals appearing in dry proteins under UV and γ -irradiation / D.F. Aripova, L.P. Kayushin, L.Kh. Eydys // Annuae meeting of Biophysical Society of DDR.- Berlin:- 1968.- PP.141-144.
73. Sevilla, M.D. Radicals formed by electron attachment to peptides / M.D. Sevilla // J.Phys. Chem.- 1970.-Vol.74.- №18.- PP.3363-3371.
74. Бабаджанов, П.Х. Исследование молекулярной динамики микрокристаллической целлюлозы методом ЭПР / П.Х. Бабаджанов, И.Х. Юсупов Р. Марупов // ЖПС.- 1992.- Т.56.- №3.- С.424-428.
75. Богушевич, С.Е. Исследование растительных экстрактов методом ЭПР / С.Е. Богушевич, С.В. Матвейчук // Институт физико-органической химии НАН Белоруссия, г. Минск.- 2000.-e-mail: bse@ifoch.bas-net.by; msv@ifoch.bas-net.by .Электронная версия
76. Юсупов, И.Х. Влияние УФ-облучения на структуру кератина шерсти больных и здоровых животных / И.Х. Юсупов, П.Х. Бободжанов, Р. Марупов // ДАН РТ.- 2003.- Т.46.- №10.- С.5-12.
77. Изучение ЭПР-спектроскопических свойств дикорастущей радиолы холодной (*Rhodiola gelida* Schrenk) в зависимости от место произрастания / И.Х. Юсупов, Т. Шукуров, С.Ш. Давлатмамадова, Р. Марупов // ДАН РТ.- 2011.- Т.54.- №5.- С.371-375.
78. Изучение ЭПР-спекроскопических свойств составных частей одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) в зависимости от место его произрастания / Р. Марупов, И.Х. Юсупов, Т. Шукуров, А.Д. Бахдавлатов // ДАН РТ.- 2012.- Т.55.- №1.- С.30-34.
79. Изучение методом ЭПР-спектроскопии свойств составных частей дикорастущего лекарственного растения цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) / И.Х. Юсупов, Р. Марупов, Т. Шукуров и др. // ДАН РТ.- 2012.- Т.55.- №4.- С.300-304.
80. Тихонов, А.Н. Электронный парамагнитный резонанс в биологии / А.Н. Тихонов // Соросовский образовательный журнал.- 1997.- №11.- С.8-15.

81. Блюменфельд, Л.А. Электронный парамагнитный резонанс / Л.А. Блюменфельд, А.Н. Тихонов // Соросовский образовательный журнал.- 1997.- №9.- С.91–99.
82. Тихонов, А.Н. Трансформация энергии в хлоропластах энерго преобразующих органеллах растительной клетки / А.Н Тихонов // Соросовский образовательный журнал.- 1996.- №4.- С.24-32.
83. Ванин, А.Ф. Свободные радикалы нового типа в дрожжевых клетках / А.Ф. Ванин, Р. М. Налбандян // Биофизика.- 1966.- Т.10.- С.167-173.
84. Рот, Г.К. Радиоспектроскопия / Г.К. Рот, Ф.Келлер, Х. Шнайдер // М.: Мир.- 1987.- 380с.
85. Feldman, V.I. EPR and IR spectroscopy of free radicals and radical ions produced by radiation in solid systems / V.I. Feldman // Applications of EPR in radiation research. Springer International Publishing.- 2014.- PP.151-187.
86. EPR and infrared spectra of the $\text{HFC}=\text{N}^{\cdot}$ free radical stabilised in solid argon / I.U. Goldschleger, A.V. Akimov, E.Ya. Misochko, C.A. Wight // Mendeleev Communications.- Elsevier Science Publishing Company, Inc.- 2001.- Vol.11.- №2.- PP.64-66.
87. Leveque, P.P. EPR spectroscopy and imaging of free radicals in food / P.P. Leveque, Q. Godechal, B. Gallez // Israel Journal of Chemistry, Laser Pages Publishing Ltd.- 2008.- Vol.48.- №1.- PP.19-26.
88. ГОСТ 31672-2012 Продукты пищевые. Метод электронного парамагнитного резонанса для выявления радиационно-обработанных продуктов, содержащих целлюлозу. М.: Стандарт информ- 2014.
89. Каргин, В.А. Структура целлюлозы и её место среди других полимеров / В.А. Каргин // Высокомолекулярные соединения.- 1960.- Сер.А.- Т.2.- №2.- С.466-468.
90. Manley, R.St.g. Fine structure of Native cellulose micro-fibrils / R.St.g. Manley // Nature.- 1964.- Vol.204.- P.1155-1157.
91. Gindenmeyer, P.H. Molecular Theory of Polymer Chain Folding / P.H. Gindenmeyer // J. Polym.Sci.- 1967.- CN 20.- P. 145-158.

92. Mc Connel, H.M. Spin-labeled Hemoglobin Derivatives in Solution, polycrystalline Suspensions, and single Crystals / H.M. Mc Connel, W. Deal., R.T. Ogata // *Biochemistry*.- 1969.- Vol.8.- №6.- P.2580-2585.
93. Freed, J.H. Theory of the ESR spectra of nitroxids in Spin Labeling. Theory and Applications/ J.H. Freed// Berliner, L(ed.).- 1976.- Vol.1.- Academic Press, New York.
94. Бучаченко, А.Л. Стабильные радикалы / А.Л. Бучаченко, А.М. Вассерман // М.:Химия.- 1973.- 408с.
95. Кузнецов, П.Н. Метод спинового зонда / П.Н. Кузнецов // М.:Наука.- 1976.- 212с.
96. Вассерман, А.М. Спиновые метки и зонды в физикохимии полимеров / А.М. Вассерман, А.Л. Коварский // М.: Наука.- 1986.- 246с.
97. Лихтенштейн, Г.И. Метод спиновых меток в молекулярной биологии / Г.И. Лихтенштейн // М.: Наука.- 1974.- 256 с.
98. Байклиз, Н. Целлюлоза и её производные. Т.1 и Т.2 / Н. Байклиз, Л. Сегала // М.: Мир.- 1974.- Т.1.- 500с.- Т.2.- 510с.
99. Исследование молекулярной динамики хлопкового волокна методом спиновой метки / Р.Марупов, И.Х. Юсупов, П.Х. Бободжанов, Г.И. Лихтенштейн // Доклад. АН СССР.- 1981.- Т. 256.- №2.- С.414-417.
100. Исследование молекулярной динамики хлопкового волокна методом спиновой метки / И.Х. Юсупов, П.Х. Бободжанов, Р.Марупов и др. // Высокомолекулярные соединения.- 1984.- Т.26.- № 2.- С.369-373.
101. Исследование надмолекулярной структуры хлопковой целлюлозы методом спиновых меток / А.В. Куликов, И.Х. Юсупов, П.Х. Бабаджанов др // ЖПС.- 1991.- Т.55.- №6.- С.961-965.
102. Бабаджанов, П.Х. Исследование молекулярной динамики микрокристаллической целлюлозы методом ЭПР / П.Х. Бободжанов, И.Х. Юсупов, Р. Марупов // ЖПС.- 1992.- Т.56.- №3.- С.424-428.
103. Likhtenshtein, G.I. Biophysical Labeling Methods in Molecular Biology/ G.I. Likhtenshtein // Cambridge, New York.- 1993. Cambridge University Press. P. 12-19.

104. Ysupov, I.Kh. Molecular -dynamic structure of γ -irradiated cotton cellulose in EPR data / I.Kh. Ysupov, P.Kh. Bobodjanov, R.Marupov, Makhkamov. // Modern problems of polimer science: International research conference: Abstracts of short communications – Tashkent.- 1995.- P.159-160.
105. Bobodjanov, P.Kh., Research on Conformationou Movement in Cotton Cellulose By Method of Nitroxies Spine Labels (Исследование конформационного движения в хлопковой целлюлозе методом нитроксильных спин-меток) / P.Kh. Bobodjanov, R. Marupov, I.Kh.Ysupov // Proceedings of International Seminar of Polymer Sci and Technicou.- Tehran.- 1997.- P.202-207.
106. Likhtenshtein, G.I. Labeling, Biophysical, Encyclopedia of Molecular Biology and Molecular Medecine / G.I. Likhtenshtein // Meyers, R. (ed.), VCH, New-York.- 2000.- Vol.7.- P.138-157.
107. Исследование кинетики фотоокислительной деструкции натурального шелка и его модификаций методом ЭПР/ Н.В. Костина, И.Я. Калонтаров, П.М. Аширов, З.П. Бойчук // Шелк.-Ташкент. ФАН.- 1973.- №3.- С.22-24.
108. Likhtenshtein, G. I. Cotton Fibers Resistance to Stress and its Molecular Dynamics Studied by Methods of Physical Labels / G.I. Likhtenshtein I.Kh., Ysupov // ISPMA 13 13th International symposium on physics of materials. Prague 31.08 – 4.09.- 2014. P.23-29.
109. Ysupov, I.Kh. Study of microstructure and molecular dynamics of cotton and cellulose fibers by methods of physical labels / I.Kh. Ysupov, G.I. Likhtenshtein // International Research Journal of Pure & Applied Chemistry 5(1): XX-XX.- 2015.- P.1-15.
110. Юсупов, И.Х. Исследование молекулярной структуры лекарственных растений одуванчика (*Taraxacum officiale* Wigg) и цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L) методом спиновой метки / И.Х. Юсупов, А.Д. Бахдавлатов, Р. Марупов // ДАН РТ.- 2012.- Т.55.- №11.- С.880-886.
111. Исследование молекулярной структуры холестерина методом спиновых меток при погружении в жизненно важные органические кислоты /

- И.Х. Юсупов, Ш.А. Холова, Х.Ш. Джураев, Д.А. Азонов // *Здравоохранение Таджикистана*.- 2012.- №1.- С.57- 62.
112. Юсупов, И.Х. Изучение вращательной подвижности спиновых меток в дикорастущей родиолы холодной (*Rhodiola gelida Schrenk*) в зависимости от места произрастания / И.Х. Юсупов, А.Д. Бахдавлатов, Р. Марупов // *Вестник ТГУ*.- 2012.- №3(19).- С.13-16.
113. Исследование молекулярной динамики лекарственного растения радиолы холодной (*Rhodiola gelida schrenk*) методом спиновой метки / И.Х. Юсупов, А.Д. Бахдавлатов, Р. Марупов, Т. Шукуров // *Известия АН РТ*.- 2013.- №2 (151).- С.70-78.
114. Юсупов, И.Х. Влияние экологических условий на молекулярную структуру лекарственных растений одуванчика (*Taraxacum officinale Wigg.*) и цикория обыкновенного (*Cichorium intybus L.*) / И.Х. Юсупов, А.Д. Бахдавлатов, Р. Марупов // *Журнал. Теоретическая и прикладная экология*.- 2014.- №2.- С. 41-45.
115. Исследование молекулярной динамики дикорастущих лекарственных растений произрастающих в различных регионах Таджикистана методом спиновых меток / И.Х. Юсупов, А.Д. Бахдавлатов, Т.М. Алидодов, Р. Марупов // *Научно-теоретический и практический журнал.-Современный Научный Вестник*.- 2014.- №46(242).- С. 65-72.
116. Абдувалиев, А. Радиационное излучение и жизнь /А. Абдувалиев, А. Абдуманнонов, Х. Муртазоев// *Худжанд: Нури маърифат*.- 2006.- 48с.
117. Радиационный мониторинг хвостохранилища «Дигмай» / Х.М. Назаров, Дж.А. Саломов, Н. Хакимов и др. // *Изв. АН РТ*.- 2015.- №2(159).- С.78-82.
118. Исследование молекулярных свойств листьев донника лекарственного (*Melilotus officinalis (L.) pall.*) методом ИК-спектроскопии / Н. Умаров, С.Ш. Давлатмамадова, Т. Шукуров и др. // *ДАН РТ*.- 2014.- Т.57.- №1.- С.32-36.

119. Влияние экологических факторов на молекулярное структурообразование корней донника лекарственного (*Melilotus officinalis* (L.)pall.) / Н. Умаров, С.Ш. Давлатмамадова, Т. Шукуров и др. // ДАН РТ.- 2014.- Т.57.- №3.- С.215-219.
120. Умаров, Н. Исследование природы водородных связей «ланцетевого подорожника» (*Plantago lanceolata*.L) в зависимости от экологии и уровня радиоактивности место произрастания методом. ИК-спектроскопии / Н. Умаров, А. Усмонов, Т. Шукуров // Вестник ТНУ.-2014.- 1/4(153).- С.208-213.
121. Исследование молекулярной структуры растения донник лекарственный (*Melilotus officinalis* L.) методом спиновых меток / И.Х. Юсупов, А.Д. Бахдавлатов, Т. Алидодов, Н. Умаров и др. // ДАН РТ.- 2015.- Т.58.- №4.- С.309-315.
122. Юсупов, И.Х. ЭПР-спектроскопических свойств листьев репейника (*Arctium tomentosum* Mill.) в зависимости от радиационного фона местности / И.Х. Юсупов, Н.Н. Умаров, Р. Марупов // ДАН РТ.- 2015.- Т.58.- № 9.- С.813-818.
123. Умаров, Н.Н. Изучение свойств составных частей дикорастущего лекарственного растения подорожника ланцетевого (*Plantago lanceolata* L.) методом ЭПР спектроскопии / Н.Н. Умаров, И.Х. Юсупов, Р. Марупов // ДАН РТ.- 2016.- Т.59.- №7-8.- С.329-333.
124. Исследование влияния различных дозы радиационного фона на спектральные характеристики лекарственного донника (*Melilotus officinoalis* L.) методом ИК и ЭПР спектроскопии / Н.Н. Умаров, Т.Шукуров, И.Х. Юсупов, Р. Марупов // Учёные записки ХГУ, 2016. -№4 (39).- С.52-60.
125. Юсупов, И.Х. Исследование конформационной подвижности в структуре лекарственного растения репейника (*Arctium tomentosum* Mill.) методом спиновых меток / И.Х. Юсупов, Н.Н. Умаров, Р. Марупов // ДАН РТ.- 2016.- Т.59.- № 9-10.- С.392-398.

126. Юсупов И.Х. Исследование влияния радиационного фона на спектральные характеристики лекарственного донника (*Melilotus officinalis* (L.) методом ЭПР-спектроскопии / И.Х. Юсупов, Н.Н. Умаров, Р. Марупов // Международной научно-практической конференции. «Новейшие достижения и успехи развития естественных и математических наук».- Краснодар.- 2016.- С.23-26.
127. Мальцев, А.А. Молекулярная спектроскопия / А.А Мальцев // М:Изд-во Моск. ун-та.- 1980.- 272 с.
128. Инфракрасные спектры органических и природных соединений / А.В. Васильев, Е.В. Гриненко, А.О. Щукин, Т.Г. Федудина // Санкт-Петербург.- 2007.- 30 с.
129. Бёккер, Ю. Спектроскопия / Ю. Бёккер // Москва: Техносфера.- 2009.- 528с.-ISBN 978-5-94836-220-5
130. Методы ЭПР и ЯМР в органической элементоорганической химии / В.К. Черкасов, Ю.А. Курский, К.А. Кожанов и др.// Ниж. Новгород.- 2010.- 54с.
131. Драго, Р. Физические методы в химии / Р. Драго // Москва: Мир.- 1981.- Т.2.- 456 с.
132. Описание прибора Радиоспектрометр РЭ-1306 .- 1978.- 123с
133. Атлас спектров. Электронного парамагнитного резонанса спиновых меток и зондов /Л.И. Анциферова, А.М. Вассерман, А.Н. Иванова и др. // М: Наука.-1977.- 160с.
134. Описание спектрофотометр Specord 75 IR, ГДР. Карл Цейс ЙЕНА.- 1987.- 90с.
135. Описание инфракрасный спектрофотометр с преобразованием Фурье IRAffinity-1, Shimadzu. Япония.- 2013.- 35с.
136. Штиллер, В. Уравнение Аррениуса и неравновесная кинетика / В. Штиллер // М: Мир.- 2000.- 176с.
137. Об энергетических факторах стабилизации свободных иминоксильных радикалов / Ю.А. Лебедев, Э.Г. Розанцев, М.Б. Нейман, А.Я. Апин // ЖФХ.- 1966.- С.2340-2345.

138. Исследование молекулярных движений в полимерах методом парамагнитного зонда / А.М. Вассерман, А.Л. Бучаченко, А.Л. Коварский, М.Б. Нейман // ВМС.-1968.- Т.(А)X.- №8.- С.1930-1936.
139. Стрюков, В.Б. Исследование вращательных движений иминоксильных радикала в различных полимерах / В.Б.Стрюков, Г.В. Королев // ВМС.-1969.- Т.(А)XI.- №2.- С.419-425.
140. Шоригын, П.П. Характеристика механических свойств химических связей в многоатомных молекулах / П.П. Шоригын, Е.М. Попов // Журн. Физ. Химии.- 1964. - №38.- С.1429-1441.
141. Пресс, И.А. Строение веществ / И.А. Пресс // Санк-Петербург.:СЗТУ.- 2004.- 150с.
142. Нарзиев, Б.Н. Строение молекул и межмолекулярное взаимодействие / Б.Н. Нарзиев // Душанбе. Часть 2.- 1982.- 158с.
143. Маккамбаев, Д. Изучение межмолекулярного взаимодействия в растворах пиридина методом ИК–спектроскопии / Д. Маккамбаев // Автореф. канд.физ-мат. наук.- Душанбе.- 1975.- 22с.
144. Ташпулатов, Ю. Т. ИК-спектроскопическое, рентгенографическое исследование целлюлозы и некоторых ее производных / Ю.Т. Ташпулатов // Автореф. дисс. д-ра хим. наук.-Ташкент.- 1968.- 38с.
145. Егорочкин, А.Н. ИК-спектроскопия водородной связи как метод изучения внутримолекулярных взаимодействий / А.Н. Егорочкин, С. Е. Скоблева // Успехи химии.- 1979.- Т.18.- Вып.12.- С.2216-2239.
146. Булавин, Л.А. Определение энергии внутримолекулярных водородных связей $O-H \cdots O$ по распределению электронной плотности / Л.А. Булавин, Т.Ю. Николаенко, Д.Н. Говорун // Вісник Сев. НТУ: зб. наук. пр.-2011.- Вып. 113.- С.41-45.
147. Соколов, Н.Д. Водородная связь / Н.Д. Соколов // Успехи физических наук.-1955.- Т.7.- Вып.2.- С.205-278.
148. Соколов, Н.Д. в кн. Водородная связь / Н.Д. Соколов // М. Наука.-1981. С.63-116.

149. Коробков, В.С. К вопросу об эмпирических соотношениях между параметрами полос поглощения валентных колебаний ХН-групп и энергия водородных связей / В.С. Коробков // ЖПС.- 1973.- Вып.6.- №19.- С.1125-1127.
150. Иогансен, А.В. Инфракрасная спектроскопия и спектральное определение энергии водородной связи / А.В. Иогансен // Водородная связь.- М.: Наука.- 1981.- С.112-155.
151. Перельгин, И.С. Исследование ион-молекулярных взаимодействий в среде диметилформадида методом инфракрасной спектроскопии / И.С. Перельгин, В.С. Осипов // ЖПС.-1985.- Т.43.- №6.- С.933-938.
152. Осипов, В.С. Ион-ионные и ион-молекулярные взаимодействия в среде диметилформадида по данным инфракрасной спектроскопии / В.С. Осипов // Автореф. канд. физ-мат. наук.-Ташкент.-1985.-18с.
153. George, Socrates. Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and Charts / George Socrates // John Wiley & Sons, Ltd.-Chichester. New York. Weinheim .Toronto.- 2001.- 347 p.
154. Наканиси, К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. / К. Наканиси// М.: Мир.- 1965.- 220с.
155. Куликова, Н.А. Гербициды и экологические аспекты их применения / Н.А. Куликова, Г.Ф. Лебедева //М.: Книжный дом «Либроком», 2010. - 152 с.
156. Мельников, Н.Н. , Мельникова Г.М. Пестициды в современном мире / Н.Н. Мельников, Г.М. Мельникова //Соровский образов. журн. – 1997. – № 4. – С. 33-37.
157. Чиркова, Т.В. Физиологические основы устойчивости растений/ Т.В. Чиркова//СПб: Изд-во СПб ун-та.-2002. – 244 с.
158. Вронский, В.А. Прикладная экология/ В.А. Вронский // Ростов - на – Дону. -из-во Феникс.- 1996.-512с.
- 159.Регель, В.Р. Кинетическая природа прочности твердых тел / В.Р. Регель, А.И. Слуцкер, Э.Е. Томашевский // М:Наука.-1974.-560с.

160. Журков, С.Н. Кинетическая концепция твердых тел: (термофлуктуационный механизм разрушения) / С.Н. Журков // Изд. АН СССР.-1967.-Т.3.-№10.-С.1767-1776.
161. Ратнер, С.Б. Об энергии активации процесса механического разрушения полимеров / С.Б. Ратнер // ДАН СССР.-1968.-Т.183.-№6.-С.1297-1300.
162. Томашевский, Э.Е. Устройство для поддержания постоянного напряжения в одноосного растягивающемся образце / Э.Е. Томашевский, А.И. Слуцкер // Заводская лаборатория.-1963.-№8.-С. 994-996
163. Бобоев, Т.Б. Фотомеханическое разрушение полимеров / Т.Б. Бобоев // Душанбе: Матбуот, - 2000.-241с.
164. Каримов, С.Н. Прочность и разрушение полимеров, подвергнутых радиационному воздействию / С.Н. Каримов // Душанбе. Амри илм.-1998.-290с.