

11,13

Спектры комбинационного рассеяния в диапазоне 75–1200 см⁻¹ аминокислот L-триптофана, дифенил-L-аланина и глицина в водном растворе и в дегидратированных пленках

© М.Е. Компан¹, М.А. Баранов², В.Г. Малышкин¹, О.Ю. Цыбин²

¹ Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: kompan@mail.ioffe.ru

Поступила в Редакцию 26 апреля 2024 г.

В окончательной редакции 26 апреля 2024 г.

Принята к публикации 17 июня 2024 г.

Рамановская спектроскопия использована для сопоставительного исследования характеристик колебаний биомолекул в растворах и в микрокристаллических пленках. В диапазоне 75–1200 см⁻¹ получены спектры комбинационного (рамановского) рассеяния света микрокристаллами указанных аминокислот и их молекулами в водном растворе. Внимание уделено точной регистрации сдвигов частоты колебаний молекул в растворах и в формируемых из растворов микрокристаллических пленках. В известных публикациях подобные сопоставления не представлены. Обсуждаются механизмы, которые могут привести к выявленным сдвигам.

Ключевые слова: Рамановская спектроскопия, кристаллы аминокислот, дегидратация.

DOI: 10.61011/FTT.2024.08.58614.110

1. Введение

Аминокислоты (АК) — строительные элементы живой материи. Из аминокислот формируются более сложные молекулы и структуры — например, белки, ДНК. В отличие от более сложных биомолекул, аминокислоты — относительно простые соединения, которые не испытывают значительных конформационных изменений в растворах, что делает достаточно надежным соотношение их спектров в жидкости и в кристаллическом состоянии.

АК глицин, дифенил-L-аланин и L-триптофан (далее — глицин, аланин, триптофан) выбраны для исследований благодаря определенным особенностям структуры (рис. 1) и функциональных свойств — они являются представителями разных групп АК (неполярные, полярные, ароматические) [1], а также из-за возможности сопоставления получаемых результатов с известными результатами исследований.

Исследование динамики биомолекул несет важную информацию о силовых константах взаимодействия их отдельных фрагментов, что существенно в плане понимания механизмов образования более сложных молекулярных структур [2,3] и обеспечивает информацию для компьютерного моделирования и для направленного синтеза новых соединений.

К настоящему времени аминокислоты и другие биомолекулы рассматриваются как возможные компоненты гибридных микроэлектронных приборов, управляемые электрическими и оптическими сигналами [4,5]. Использо-

вание биомолекул и их комплексов в качестве функциональных узлов аппаратуры принципиально и существенно повышает функциональные возможности полупроводниковых микроэлектронных устройств, например, в направлениях нанопластики и наноплазмоники.

Настоящая работа посвящена исследованию рамановского рассеяния аминокислотами трех групп: аланина, глицина, триптофана. Основное внимание было уделено сдвигам линий в спектрах кристаллов относительно их положения в водных растворах.

2. Техника эксперимента и исследованные образцы

Исследование комбинационного (рамановского) рассеяния света проводилось с использованием модульного микрораммановского спектрометра HORIBA-JOBIN-IVON 320, сопряженного с оптическим микроскопом OLIMPUS BX41. Возбуждение рассеяния осуществлялось гелий-неоновым лазером на длине волны 632.81 нм с мощностью 2–5 мВт.

Исследования проводились при комнатной температуре. Микрокристаллы располагались на стандартных покровных стеклах. Для примера микрофотография монокристаллов аланина показана на рис. 2.

Отсутствие интерференционных полос окраски на отдельных монокристаллах свидетельствует о том, что это преимущественно плоские чешуйки постоянной толщины. Также типичные присутствующие на фотографии

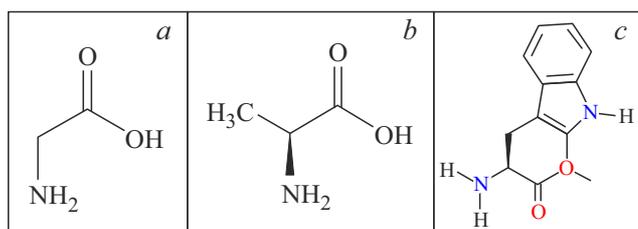


Рис. 1. Молекулярная структура *a*) глицина, *b*) аланина, *c*) триптофана.



Рис. 2. Дегидратированные микрокристаллы аланина на подложке. Масштаб фотографии указан в правом нижнем углу.

углы микрокристаллов ($\sim 53^\circ$; 105°) не соответствуют углам симметричных кристаллографических сингоний, из чего следует предположить, что кристаллы принадлежат к моноклинной сингонии.

Для приготовления микрокристаллических образцов использовали ранее разработанную технологию медленной изотермической дегидратации (лиофилизации при атмосферном давлении в термостате при 25°C) для получения биомолекулярных пленок с поликристаллической доменной структурой на стандартных покровных стеклах [6].

Растворы при исследовании находились в кварцевых кюветах. Толщина стенок кювет и толщина слоя раствора позволяли надежно фокусировать возбуждение внутри слоя раствора.

3. Результаты

В работе получены спектры неупругого (рамановского) рассеяния света микрокристаллами в пленках, а также молекулами АК в водном растворе в диапазоне $75\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$.

Сравнение полученных спектров рамановского рассеяния микрокристаллами глицина и его 5% раствором в воде представлены на рис. 3.

Хотя имеющиеся опубликованные исследования рамановского рассеяния в АК не перекрывают диапазон длин волн, исследовавшийся в данной работе, и тем

самым не дублируются нашими измерениями, можно сказать, что в целом общий вид спектров и положения максимумов в основном соответствует результатам других авторов, например, [7]. Спектр кристаллов содержит узкие и интенсивные линии, а также большое количество менее интенсивных линий, ненамного превышающих по интенсивности уровень шумов (не всегда заметные в масштабе иллюстраций в журнале). Спектр раствора менее интенсивный, содержит меньшее количество линий, при этом линии заметно уширены относительно линий в спектре микрокристаллов.

Относительно низкая интенсивность спектра рассеяния раствора легко объяснима низкой концентрацией глицина в растворе. Такая низкая концентрация была выбрана для снижения возможной агломерации молекул аминокислоты.

Наиболее интересный результат — заметная относительная разница в положениях соответствующих линий двух спектров. Видно, что, в отличие от утверждений работы [8], сдвиги полос не имеют общего характера, и для разных полос отличаются по величине и знаку. Например, линии микрокристаллов в области $1030\text{--}1045\text{ cm}^{-1}$ лежат выше по энергии, чем линии рассеяния в растворе. Однако линии 500 и 890 cm^{-1} микрокристаллов лежат ниже по энергии, чем соответствующие линии в спектре раствора. Отметим также, что часть линий, присутствующих в спектрах монокристаллов, отсутствуют в спектрах растворов. На рис. 3 такие ситуации отмечены двусторонними стрелками. В некоторых случаях достаточно сложно провести соответствие между линиями и их компонентами. Например, при детальном анализе выясняется, что узкой и интенсивной линии 144.5 cm^{-1} в спектре микрокристаллов глицина не может быть

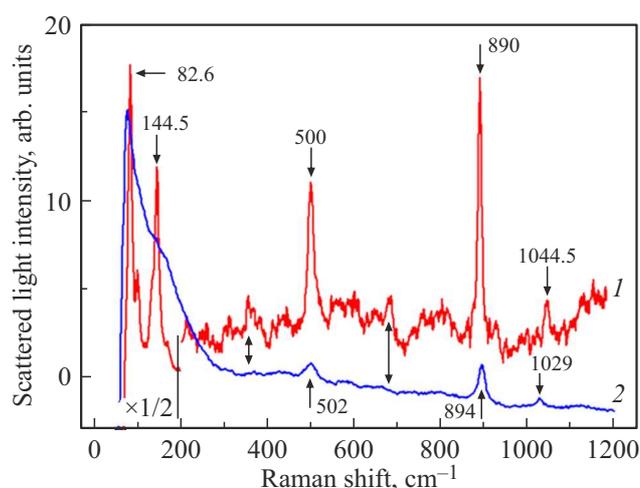


Рис. 3. Спектры рамановского рассеяния света микрокристаллами (кривая 1) и 5% раствором (2) аминокислоты глицина в воде. В области энергий менее 200 cm^{-1} интенсивность спектра рассеяния микрокристаллами уменьшена в 2 раза для сопоставимости масштабов. Показаны положения наиболее интенсивных линий. Подробные пояснения в тексте.

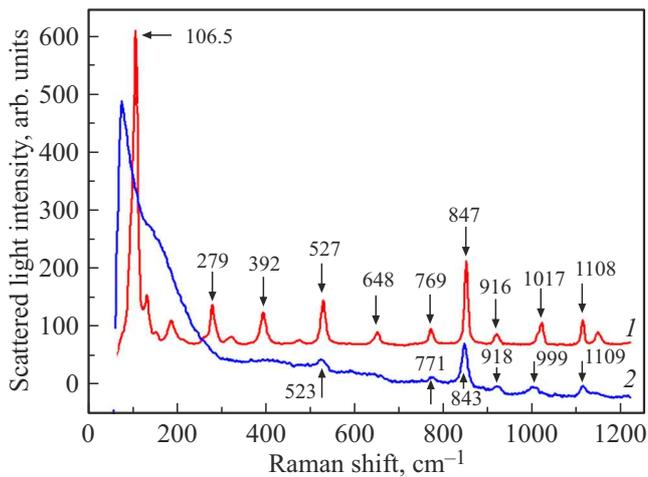


Рис. 4. Спектры рамановского рассеяния света микрокристаллами (кривая 1) и 5% раствором (2) аминокислоты аланина. Спектр раствора растянут по вертикали и сдвинут на графике для облегчения визуального сравнения. Подробности в тексте.

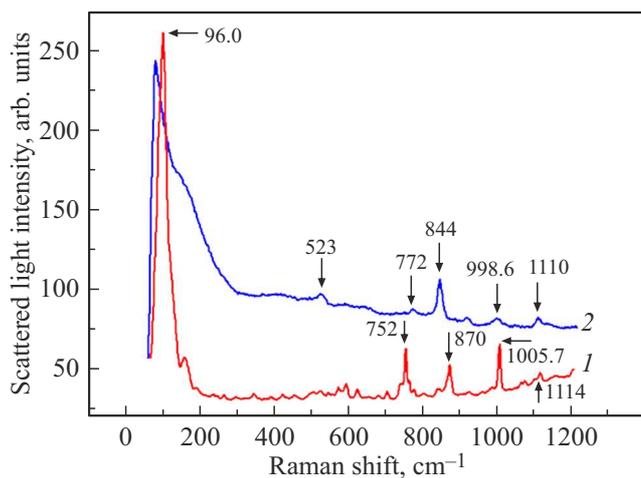


Рис. 5. Спектры рамановского рассеяния микрокристаллами (кривая 1) и 5% раствором (2) аминокислоты триптофана. Спектр раствора растянут по вертикали и сдвинут на графике для облегчения визуального сравнения.

найдено соответствие в спектре раствора, так как около 150 cm^{-1} проявляется широкий пик рассеяния, присутствующий в спектре растворителя — воды.

Спектры микрокристаллов и раствора аланина (рис. 4) проявляют ту же тенденцию. Спектры микрокристаллов содержат большее количество линий. Для большинства линий в спектрах сдвиг незначительный. Значительный сдвиг в сторону меньших энергий выявлен у коротковолновой линии диапазона, около $1000\text{--}1017 \text{ cm}^{-1}$.

Интересно, что, как и в случае глицина, ряд линий не имеет заметных аналогов в спектре растворов. Это линии $279, 392, 658 \text{ cm}^{-1}$. Исчезновение этих линий (или их аналогов) не может быть объяснено простым изменением масштабов или зашумлением, потому

что, например, существенно менее интенсивная линия 916 cm^{-1} имеет в спектре раствора очевидный заметный аналог 918 cm^{-1} .

Результаты, полученные для триптофана (рис. 5), подобны тому, что получено для двух других уже показанных аминокислот. Максимальный пик рассеяния монокристаллами, около 100 cm^{-1} , возможно, сдвигается в область малых энергий за границу рабочего диапазона спектрометра. Как и в предыдущих случаях, на низкочастотном краю проявляется слабая широкая полоса около 150 cm^{-1} , которая, по-видимому, обусловлена рассеянием в растворителе (воде). Из-за относительно большой разницы в положениях линий для данного материала (триптофана) соотнести пики рассеяния в микрокристаллах и растворе можно лишь с некоторой долей сомнения. Можно полагать, что линия 772 cm^{-1} в растворе соответствует линии 752 cm^{-1} для микрокристаллов, т. е. линия микрокристаллов смещена в меньшие энергии относительно линии в растворе. Линия 998.6 cm^{-1} (аналогично — предположительно), соответствует линии 1005.7 cm^{-1} , и в этом случае знак сдвига обратный.

Острый пик в самых низких частотах для всех растворов обусловлен спектральной характеристикой *stop*-фильтра спектрометра.

В таблице приведены данные по фрагментам спектров со стороны низших частот $75\text{--}1200 \text{ cm}^{-1}$, указаны (сдвиг, cm^{-1})/(ширина линии), разница частот $\Delta(K\text{--}Ж)$, а также соответствие линий в спектрах и колебательных мод выбранных молекул АК.

Как упоминалось, спектры микрокристаллов содержат большое количество малоинтенсивных линий, которые могут являться компонентами мультиплетов. Также не всегда очевидным является соотнесение линий в парах спектров. По этим соображениям авторы сочли целесообразным в большинстве случаев ограничиться при определении положения тремя значащими цифрами.

В целом, спектры молекул в растворе содержат существенно меньше линий и менее интенсивны, чем спектры того же вещества в кристаллическом состоянии. Линии молекул в спектрах растворов уширены по сравнению со спектрами молекул в микрокристаллах дегидратированных пленок. Наиболее значительным результатом представляется измерение сдвига между линиями в спектрах пленок и растворов в рассмотренной части спектра.

4. Обсуждение результатов

Полученные результаты в очередной раз подчеркивают сложность биомолекулярных объектов по сравнению с традиционными объектами физики твердого тела.

Наиболее заметным фактом является исчезновение некоторых линий при переходе от кристалла (в нашем случае, микрокристаллов) к раствору. Таковы, например, линии $279; 392; 648 \text{ cm}^{-1}$ в спектре аланина. Прежде всего заметим, что это линии на низкочастотном краю

Положения линий и разности положений в микрокристаллах и водных растворах аминокислот аланина, глицина, триптофана (FWHM — full width half-maximum, ширина на половине высоты)

Глицин: Max, cm ⁻¹ //FWHM, cm ⁻¹							
Тип колебания	„Решеточные“ моды		COO ⁻	Интерпретация не определена	CN		
Кристалл	82.6//11	144//12	500//12	890//5	1044.5//14		
Жидкость	—	168//68 (?)	502//20	894//15	1028//12		
Δ (К–Ж)	—	–24	–2	–4	16.5		
Аланин: Max, cm ⁻¹ //FWHM, cm ⁻¹							
Тип колебания	„Решеточные“ моды		COO ⁻	CC	CH ₃ CH ₂ CN		
Кристалл	106.5//6		527//13	847//10	916	1017//12	1109//6
Жидкость	—		523//20	843//13	918	999//22	1108//14
Δ (К–Ж)	—		4	4	–2	18	1
Триптофан: Max, cm ⁻¹ //FWHM, cm ⁻¹							
Тип колебания	„Решеточные“ моды		C–C, ring breath CH ₂ ⁺	Интерпретация не определена	C–C бокового кольца, ring breath		
Кристалл	96//24	154//20 {C}	752//7 {T}	844//10 {M}	1006//8	1115//7{c}	
Жидкость	—	171//45	772//10	870//10	998//6.5	110//13	
Δ (К–Ж)	—	–18	–20	–26	8	5	

спектра, и, следовательно, это колебания с меньшими энергиями фононов. Можно предположить, что такие типы колебаний более подвержены демпфированию за счет столкновений с неупорядоченно двигающимися молекулами растворителя, что является одной из причин отсутствия этих линий в спектрах растворов. Другой возможной причиной может являться поперечный характер этих колебаний, что невозможно в жидкости и должно сильнее демпфироваться.

Подобным же образом в растворах всех трех аминокислот не проявляются узкие и сильные линии, наблюдающиеся в спектрах кристаллов, расположенные около 100 cm⁻¹. По положению можно отнести их к акустическим модам. Несколько бóльшая их энергия по сравнению с акустическими модами в большинстве неорганических кристаллов может быть обусловлена тем, что локальные осцилляторы в молекулах АК составлены преимущественно из легких элементов. Если это предположение верно, то отсутствие таких линий в растворе объясняется кардинальным изменением межмолекулярных взаимодействий при переходе от кристаллов к раствору.

Ряд линий имеет однозначное соответствие между спектрами микрокристаллов и жидкостей. Очевидно, что в этом случае основной колебательной

системой является собственное колебание отдельных молекул. В кристаллах, скорее всего, такое колебание делокализовано благодаря взаимодействию между близкорасположенными идентичными молекулами, и должно было превратиться в одно из колебаний кристаллической решетки.

Из результатов экспериментов следует, что линии, проявляющиеся в спектрах растворов, существенно уширены. По имеющимся представлениям, ширина увеличивается, а резонансная частота колебательной системы при увеличении демпфирования должна уменьшаться, это универсальная закономерность [9]. Заметим, что в сторону уменьшения частоты колебаний должны действовать и ослабление кулоновских взаимодействий вследствие экранирования полярными молекулами среды, и увеличение колеблющейся массы. Разделение этих вкладов требует суперкомпьютерных расчетов динамических свойств подобных систем.

Менее очевиден механизм повышения частоты при переходе от спектров микрокристаллов к спектрам растворов. Формально это должно быть следствием увеличения силы связи соответствующего осциллятора. Возможно, но маловероятно, случайная компенсация взаимодействий в кристалле, которая исчезает при переходе к раствору. Более вероятным представляется первое из

предположений. При растворении вещества, содержащего водород, могут образовываться новые водородные связи молекулы с окружающей средой [10]. В этом случае упругая константа колебательной системы может возрасти.

Выяснение вкладов отдельных предложенных механизмов потребует дальнейших исследований, в том числе методами суперкомпьютерного моделирования.

Результаты, относящиеся к высокочастотной части спектра, предполагается представить в отдельной публикации, поскольку они имеют значение для иных физико-химических свойств биомолекул.

5. Заключение

Получены спектры комбинационного рассеяния ряда аминокислот в форме микрокристаллов и в растворе. Прослежены сдвиги спектральных линий при переходе от спектров микрокристаллов к спектрам растворов аминокислот. Подобные данные в этом диапазоне в публикациях отсутствуют. Оказалось, что указанный сдвиг не универсален, как предполагалось ранее, а различен для разных молекул и разных линий, вплоть до смены знака сдвига. Предложены механизмы, ответственные за наблюдавшиеся сдвиги линий.

Проведенные исследования позволяют уточнить динамические свойства аминокислот глицина, аланина и триптофана в растворах и дегидратированных пленках микрокристаллов, что, в свою очередь, предоставит экспериментальные данные для уточнения их физических и математических моделей.

Благодарности

Авторы благодарны А.А. Алексееву за приготовление экспериментальных образцов.

Финансирование работы

Исследование поддержано Российским научным фондом, грант № 21-72-20029, <https://rscf.ru/project/21-72-20029>.

Конфликт интересов

Авторы работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- [1] M. Fleck, A.M. Petrosyan. Salts of amino acids. Crystallization, Structure and Properties. Springer Cham (2014). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06299-0>
- [2] H. Ren, L. Wu, L. Tan, Y. Bao, Y. Ma, Y. Jin, Q. Zou. Beilstein J. Nanotechnol. **12**, 1, 1140 (2021). <https://doi.org/10.3762/bjnano.12.85>
- [3] М.А. Баранов, О.Ю. Цыбин, Е.Н. Величко. Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физ.-мат. науки **14**, 4, 135 (2021). [M.A. Baranov, O.Yu. Tsybin, E.N. Velichko. St. Petersburg Polytechnic University J.: Phys. Math. **14**, 4, 135 (2021)]. <https://doi.org/10.18721/JPM.14410>
- [4] C.D. Bostick, S. Mukhopadhyay, I. Pecht, M. Sheves, D. Cahen, D. Lederman. Rep. Prog. Phys. **81**, 2, 026601 (2018). <https://doi.org/10.1088/1361-6633/aa85f2>
- [5] P.C. Portela, C.S. Shippis, C. Shen, V. Srikanth, C.A. Salgueiro, N.S. Malvankar. Nature Commun. **51**, 1, 2434 (2024).
- [6] М.А. Баранов, Е.Н. Величко. Науч.-тех. ведомости СПбГПУ. Физ.-мат. науки **14**, 1, 85 (2021). [M.A. Baranov, E.N. Velichko. St. Petersburg Polytechnic University J.: Phys. Math. **14**, 1, 81 (2021)]. <https://doi.org/10.18721/JPM.14106>
- [7] G. Zhu, X. Zhu, Q. Fan, X. Wan. Spectrochim. Acta A **78**, 3, 1187 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2010.12.079>
- [8] P.T.C. Freire, F.M. Barboza, J.A. Lima, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho. In: Raman spectroscopy and applications / Ed. Maaz Khan. IntechOpen (2017). Ch. 10, P. 201–223. <http://dx.doi.org/10.5772/65480>
- [9] A.B. Pippard. The physics of vibration. Cambridge University Press (1989).
- [10] S.M. Bachrach. J. Phys. Chem. A **112**, 16, 3722 (2008). <https://doi.org/10.1021/jp711048c>

Редактор Е.В. Толстякова