

08,13,16

## Особенности спектров комбинационного рассеяния света молекулами глицина, адсорбированными на поверхности металлического серебра

© М.Е. Компан<sup>1</sup>, В.Г. Малышкин<sup>1</sup>, О.Ю. Цыбин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе  
Российской академии наук,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский Политехнический университет Петра Великого,  
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: kompan@mail.ioffe.ru

Поступила в Редакцию 7 марта 2025 г.

В окончательной редакции 18 марта 2025 г.

Принята к публикации 19 марта 2025 г.

Проведено сравнительное исследование спектров комбинационного рассеяния света молекулами глицина в водном растворе (0.8%) и на поверхности металлического серебра, также в растворе. Выявлено отличие положений и относительной интенсивности линий в этих двух случаях. Результаты экспериментов позволили сформулировать качественные модельные представления взаимодействия молекул с подложкой.

**Ключевые слова:** аминокислоты, глицин, комбинационное рассеяние света, демпфирование осцилляторов.

DOI: 10.61011/FTT.2025.03.60269.47-25

### 1. Введение

Аминокислоты — класс относительно небольших молекул, являющиеся структурными элементами более крупных и сложных биомолекул, таких как ДНК, обеспечивающих протекание многих процессов в живых организмах. Интерес к исследованию даже таких относительно простых структур обусловлен возможностью наблюдения разнообразных эффектов, использованием различных методов исследований и широким спектром возможных применений.

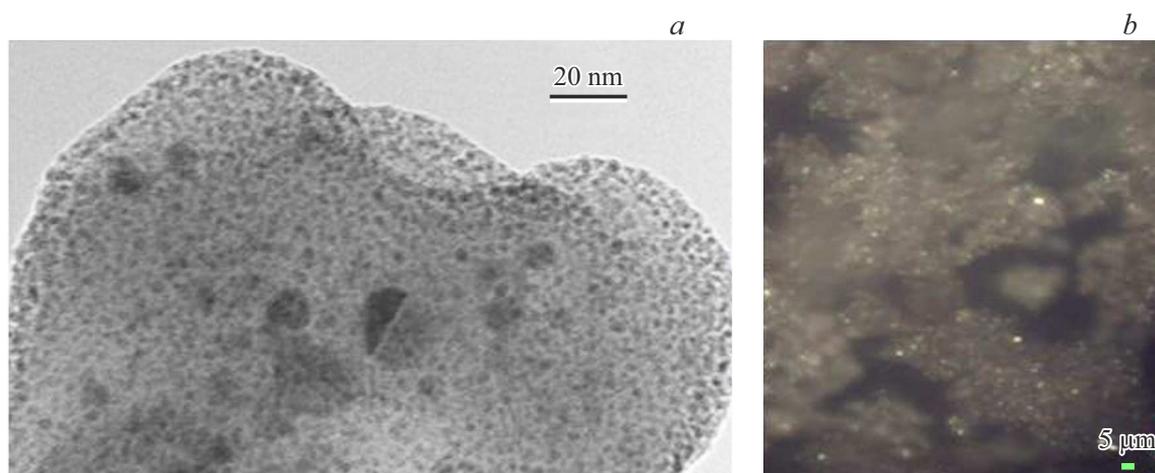
Одно из многообещающих направлений применений это создание селективных сенсоров, чувствительных только к определенному виду биомолекулам. Наиболее ярким примером такого подхода является создание твердотельных сенсоров, позволяющих определять наличие определенных генов (DNA chip) [1], используя гибридизацию с подложкой, которая пространственно подготовлена под соответствующие ДНК последовательности. Подобные системы позволяют определять наличие сложных структур уровня генов. Сенсоры могут использовать флуоресценцию биомолекул [2], усиление спектров комбинационного рассеяния света (КРС) на структурированных поверхностях (эффект SERS [3,4]), и другие методики.

Указанный выше эффект (SERS) обусловлен возбуждением поверхностных плазмонов в подсистеме проводящих электронов в материале подложки, преимущественно предварительно наноструктурированной. В настоящее время эффект широко используется в методиках по обнаружению биоматериалов при их предельно малой концентрации.

Кроме того, появившаяся в последнее время тенденция реализации элементов коммуникационных устройств с использованием органических молекул [5] требует изучения свойств этих молекул, которые ранее не представляли интереса — таких, как взаимодействие этих молекул с поверхностью твердого тела (с возможной подложкой).

Биомолекулярные структуры обладают иерархией степеней сложности своей организации (от аминокислот до генов и протеинов). На каждом уровне сложности биомолекулярные структуры проявляют уникальные свойства, а многие аспекты механизмов взаимодействия биомолекул и неорганических поверхностей до сих пор остаются неясными [6–8]. В данной работе исследуются биомолекулы самого „нижнего“ уровня — аминокислоты, и влияние неорганической поверхности на их колебательные свойства.

Глицин — наименьшая по размеру аминокислота, которая выступает в роли предшественника белков и выполняет ряд биологических функций. В работе [9] спектроскопия КРС позволила выявить особенности колебательной динамики мономеров и димеров глицина на коллоидных частицах в водном растворе. В нашей работе [10] были получены спектры глицина на различных подложках, в том числе дегидратированных кристаллических пленок на стеклянной подложке. Ранее нами было высказано предположение [11,12], что близость подложки вводит некоторое депфирование колебаний молекулярных диполей, вызывая снижение частоты собственных колебаний. Однако, имеющихся данных было недостаточно для систематического сравнения и



**Рис. 1.** Справа — оптическое изображение зерен серебряного порошка (в растворе). Масштабная метка внизу справа — 5 мкм. Слева структура отдельного зерна в наномасштабе.

выявления механизмов действия подложек на динамику биомолекулярных пленочных структур.

Исходно постановка данной работы предполагала существование некоторых трудностей. Влияние подложки, на которой адсорбировались молекулы, выявлялось по сравнению спектров, зарегистрированных с поверхности подложки, со спектрами молекул в водном растворе. В то же время было очевидно, что адсорбируемый слой не может иметь большую толщину. Количество адсорбируемых молекул должно было быть существенно меньше их количества, попадающих в область фокуса объектива микроскопа. С учетом этого, в качестве материала-адсорбера было выбрано серебро. Известно, что именно серебро является наиболее эффективным материалом, на котором реализуется эффект поверхностного усиления рассеяния. Использование серебра имело целью выделить сигнал от локализованных молекул на фоне сигнала от свободных молекул в растворе за счет усиления рассеяния молекулами, непосредственно прилегающими к поверхности.

Кроме того, в спектрах разбавленных растворов, в отличие от спектров кристаллических образцов, регистрируется относительно малое количество интенсивных линий [13,14]. Спектры кристаллических пленок аминокислот, полученные нами ранее [10], не могли быть использованы в качестве референтных, так как в кристалле (молекулярном) молекулы находятся в ином окружении. Это ограничивало набор объектов (полос в спектрах), относительно которых возможно проводить сравнительный анализ. Данные работы [10] и различные опубликованные данные других авторов (см., например [13,14]) использовались нами для соотнесения линий с модами колебаний молекул глицина.

## 2. Экспериментальная техника и объекты исследования

Неполяризованные спектры КРС (рамановские спектры) были зарегистрированы с помощью модульного микрорамановского спектрометра HORIBA-Jobin-Yvon MRS320 с возбуждением светом He-Ne-лазера ( $\lambda_{\text{ex}} = 632.81 \text{ nm}$ ) с мощностью 1–2 мВт. Регистрация осуществлялась в режиме обратного рассеяния (back scattering) через объектив микроскопа OLIMPUS BX41. Коррекция длины волны монохроматора осуществлялась по табличным линиям газового разряда в изотопно-чистом неоне. Опыты проводились при комнатной температуре.

Глицин содержался в водном растворе с весовой концентрацией 0.8%. Малая концентрация была выбрана для минимизации возможной агрегации молекул исследуемого материала.

Как указывалось ранее, в качестве адсорбера для выделения сигнала адсорбированных молекул использовалось металлическое серебро. Серебро в опытах было как в виде металлической пластины с шероховатостью порядка 1 мкм, так и в виде наноструктурированного порошка, с размером видимого зерна порядка нескольких микрон, и с наноструктурой зерен менее 10 нм (рис. 1). В последнем случае (при регистрации спектров с поверхности порошка) спектры содержали большое количество линий. Для контроля, в аналогичных условиях, были получены также спектры от Ag-порошка, без добавления глицина. Это позволило исключить из рассмотрения линии, не относящиеся к глицину.

Авторы не могут на основании результатов данной работы оценить величину реализованного коэффициента усиления. Однако наблюдение в зарегистрированных спектрах линий с измененными положениями, позволяет предполагать, что в какой-то мере эффект SERS дает вклад в полученные результаты.

Также, ожидаемо, линии в спектрах КРС глицина на поверхности, как правило, были не элементарны, а проявляли структурность. Разделение линий глицина по составляющим не проводилось. По этой же причине авторы сочли правильным фиксировать положение линий интегрально, с точностью не лучше обратного сантиметра.

Далее в тексте данной работы везде, где упоминаются молекулы на поверхности металлического серебра, подразумевается, что металл погружен в 0.8% раствор глицина в воде.

### 3. Результаты исследования

Спектры КРС молекул в объеме раствора и молекул, адсорбированных на поверхности металлического серебра, регистрировались в области частот 80–1800  $\text{cm}^{-1}$ .

В области 80–700  $\text{cm}^{-1}$  не наблюдалось интенсивных линий, которые можно с уверенностью отнести к рассеянию молекулами глицина; возможно, они наложались на интерференционные максимумы рассеянного света возбуждения, также регистрируемые установкой.

В области 700–1100  $\text{cm}^{-1}$  преобладала линия 893  $\text{cm}^{-1}$ . Положение этой линии не отличалось между спектрами молекул, находящихся в растворе и спектрами молекул на поверхности металлического серебра (рис. 2). Следует отметить, что в кристаллических пленках эта линия имела другое положение 889  $\text{cm}^{-1}$ . Такое же положение было у этой линии в том случае, когда Ag-порошок, смоченный раствором, несколько часов находился на воздухе. Мы предполагаем, что в этом случае растворитель (вода) успевал испариться, и глицин мог кристаллизоваться между гранулами. Отличие положения линии в растворе и в кристаллической пленке не вызывает удивления, так как в кристалле (в данном случае молекулярном) молекула находится в плотном окружении, отличающемся от того, что имеется в растворе.

В спектре молекул в растворе в этой спектральной области также отчетливо различается линия  $\sim 864 \text{ cm}^{-1}$ . В спектре, зарегистрированном с поверхности серебра, такой линии нет.

Спектры раствора глицина на поверхности наноструктурированного серебряного порошка анализировать существенно сложнее по ряду обстоятельств. Во-первых, спектры содержат большее количество линий, в том числе линии, наблюдающиеся в спектре Ag-порошка без глицина. Поэтому рассмотрение результатов возможно лишь для части линий, генезис которых можно предположить со значительной долей уверенности, опуская часть из наблюдавшихся линий. Линия, которая, как мы считаем, соответствует линии глицина в растворе, при регистрации с поверхности порошка (рис. 2) представляет собой дублет из узкой интенсивной линии ( $\omega = 889 \text{ cm}^{-1}$ , ее ширина на половине высоты линии  $FWHM = 6 \text{ cm}^{-1}$ ) и неоднородного спутника заметно

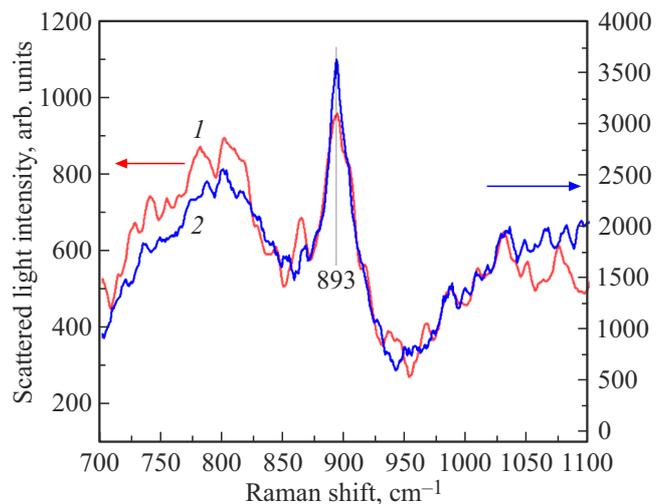


Рис. 2. Спектры КРС молекул глицина в 0.8% водном растворе (1) и на поверхности металлического серебра (2) в области 700–1100  $\text{cm}^{-1}$ .

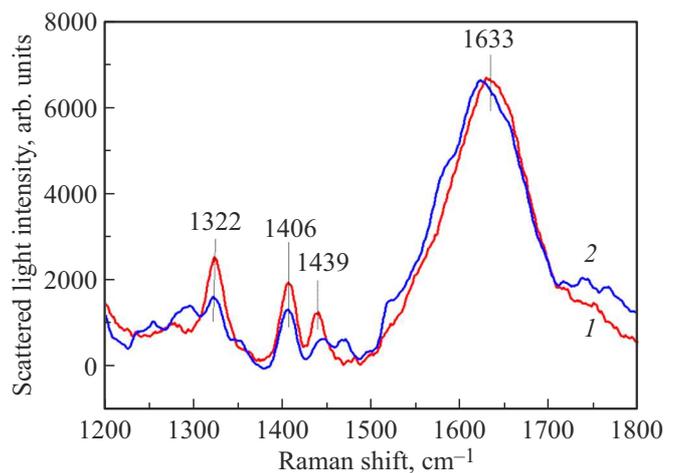


Рис. 3. Спектры КРС молекул глицина в 0.8% водном растворе (1) и на поверхности металлического серебра (2) в области 1200–1800  $\text{cm}^{-1}$ . Положения линий в спектрах указаны для случая глицина в объеме раствора. Спектры нормированы по интенсивности на пик 1633  $\text{cm}^{-1}$ .

меньшей интенсивности (в 3–4 раза) с максимумом около 915  $\text{cm}^{-1}$  и с значительной  $FWHM = 20\text{--}30 \text{ cm}^{-1}$ . В области 1200–1800  $\text{cm}^{-1}$  (рис. 3) надежно идентифицируются несколько линий глицина и широкая полоса колебаний молекул воды  $\sim 1630 \text{ cm}^{-1}$ . Отметим дополнительно асимметричный сдвиг полосы, принадлежащей колебанию молекул воды 1630  $\text{cm}^{-1}$  (OH-bending). Высокоэнергетический край полосы практически совпадает для спектров, зарегистрированных из объема раствора и с поверхности серебряной пластины. Край со стороны меньших энергий, наоборот, заметно отличается в этих двух случаях: при регистрации с поверхности серебряной пластины он сдвинут в меньшие энергии.

Похожий эффект наблюдался нами ранее для полосы колебаний молекул воды  $3300\text{ cm}^{-1}$  (OH-stretch) [11,12]. Возможное сходство механизмов сдвига линий будет обсуждено далее.

Линии, принадлежащие глицину, по-разному изменяются при регистрации с поверхности металлического серебра. Так, линия  $1406\text{ cm}^{-1}$  не изменяет положения и только незначительно уменьшается по интенсивности. В то же время форма линии  $1322\text{ cm}^{-1}$  изменяется заметно. Ее интенсивность в спектре, снятом с поверхности металла, уменьшается примерно в 2.5 раза, а со стоковой стороны в области  $1283\text{--}1293\text{ cm}^{-1}$  появляется заметная трапецевидная полоса. Естественно предположить, что оставшаяся без изменения положения линия  $1322\text{ cm}^{-1}$  принадлежит молекулам в объеме, а составляющие трапецевидной полосы обусловлены колебаниями молекул, испытывающими влияние поверхности серебряной подложки.

Линия  $1439\text{ cm}^{-1}$  исходного спектра испытывает еще более существенное воздействие. На месте этой линии в случае спектра, зарегистрированного с поверхности металлического серебра, регистрируется дублет  $1444, 1468\text{ cm}^{-1}$ .

В области  $1250\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$  в спектрах на поверхности Ag-порошка наблюдается широкая полоса. Такая же широкая колоколообразная полоса имела и у порошка без глицина. На данной полосе в различных точках образца наблюдались различные дополнительные максимумы. Можно предположить, что это связано с размерно-зависимыми плазменными резонансами в зернах порошка серебра. Полоса колебаний воды  $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$  также может давать вклад в указанную широкую полосу.

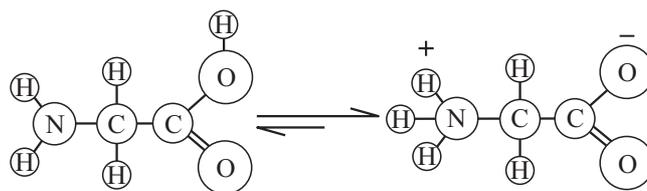
В спектрах в области  $1200\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$  линии  $1314, 1390, 1456\text{ cm}^{-1}$  могут принадлежать глицину. С уверенностью можно считать такой линией  $1314\text{ cm}^{-1}$ . В спектре кристаллических пленок глицина этой линии соответствует линия  $1318\text{ cm}^{-1}$ . В некоторых точках образца (Ag-порошок под раствором глицина) линия  $1314\text{ cm}^{-1}$  преобладает.

На вершине колоколообразной полосы наблюдается выраженный относительно широкий максимум  $1390\text{ cm}^{-1}$  (в 3–4 раза шире линии  $1314\text{ cm}^{-1}$ ). Возможно, он соответствует линиям  $1406/1404\text{ cm}^{-1}$  в спектрах для молекул глицина в воде и в его кристаллической пленке, соответственно.

Наблюдающийся в этих спектрах максимум  $1456\text{ cm}^{-1}$  имеет ширину, близкую к ширине линии  $1390\text{ cm}^{-1}$ . Этот максимум трудно отнести к какой-либо конкретной линии в других спектрах, так как в кристаллической пленке вблизи  $1456\text{ cm}^{-1}$  находится несколько узких близко расположенных слабых линий.

Вблизи полосы колебаний воды  $3300\text{ cm}^{-1}$  (OH-stretch) (спектры не показаны) глицин в объеме раствора демонстрирует полосу  $2965\text{ cm}^{-1}$ . На порошке серебра линия имеет максимум на  $2957\text{ cm}^{-1}$ .

Повторим еще раз, что описание результатов экспериментов с глицином на поверхности Ag-порошка по



**Рис. 4.** Слева схематическое изображение молекулы глицина, соответствующее брутто-формуле; справа — молекула в форме цвиттериона. Естественное равновесие смещено в сторону цвиттериона.

указанным выше причинам не слишком надежно, но в целом эти эксперименты подтверждают тенденции, характерные для спектров глицина на поверхности серебряной пластины — изменению положений линий или расщеплению, и смещению их в сторону меньших энергий.

#### 4. Обсуждение результатов

Результаты проведенных экспериментов демонстрируют заметное влияние использовавшейся подложки на спектры КРС молекулами аминокислоты глицина.

Между тем, само существование эффекта усиления рассеяния поверхностью предполагает взаимодействие колебательных степеней свободы любых объектов с элементами поверхности, что так или иначе должно отразиться на свойствах колебательных систем — сдвиге собственных частот колебаний. В данном случае такими колебательными системами являются собственные колебания молекул.

Одна из причин такого сдвига имеет универсальный характер для всех колебательных систем. Можно предполагать, что близкое присутствие подложки должно демпфировать осцилляторы, а это в свою очередь автоматически приводит к уменьшению их частоты. Как указывалось, ранее подобный эффект был обнаружен нами для колебания группы OH в молекуле воды на полосе  $3300\text{ cm}^{-1}$  [11,12]. По результатам данной работы можно сказать, что подобное влияние проводящей подложки (сдвиг линий в сторону меньших энергий) в среднем выполняется и для молекулы глицина.

Особенно интересно, что влияние металлической подложки по-разному проявляется на различных линиях спектра. Мы относим это к тому, что молекулы не являются изотропными объектами и могут локализоваться вблизи поверхности в отличающихся ориентациях. Конкретная позиция при локализации должна зависеть от геометрии поверхности в точке локализации и от электронной конфигурации молекулы, в основном от того, как распределена плотность заряда.

Некоторые осторожные предположения могут быть сделаны для случая молекул глицина. Будучи самой простой из молекул известных аминокислот, глицин,

тем не менее, является достаточно сложным объектом. Прежде всего, глицин в естественных условиях преимущественно находится в форме цвиттериона [15]. В случае глицина это означает, что один их протонов карбоксильной группы передается аминогруппе, так что молекула, оставаясь в целом электронейтральной, приобретает значительный дипольный момент (рис. 4). Величина дипольного момента глицина в форме цвиттериона оценивается от 11.9 до 15.7 D [16] (здесь D — Дебай — единица дипольного момента).

Естественно предположить, что в процессе адсорбции заряженные концы молекулы должны индуцировать появление зарядов „отражения“ в проводящем металле, и вследствие этого молекула будет испытывать притяжение со стороны „отраженного“ диполя. В свою очередь, это понижает энергию молекул в состоянии с большим дипольным моментом и дополнительно смещает равновесие в сторону цвиттериона. Это позволяет считать, что адсорбированные молекулы расположены преимущественно с ориентацией электрического диполя вдоль плоскости, с фиксированными заряженными концами.

Будем учитывать это при рассмотрении природы линий в спектрах. Линии, обсуждавшиеся выше, опубликованы и интерпретированы ранее. Ориентируясь на работу [17] можно считать, что линия  $893\text{ см}^{-1}$  отвечает согласованным крутильным колебаниям двух групп:  $\text{NH}_2$  и  $\text{CH}_2$ . Отсутствие смещения этой линии можно приписать тому, что группа  $\text{CH}_2$  (средний атом углерода) не фиксирована, и остается возможность скручивания молекулы. К тому же, так как линия узкая, указанное колебание относительно добротное и слабо подвержено влияниям окружения.

В работе [17] линия  $1334\text{ см}^{-1}$  также приписана этому типу колебаний. Однако в нашем случае, как было указано ранее, часть линии преобразовалась в широкий максимум с меньшими энергиями.

Линия  $1406\text{ см}^{-1}$  не отличается в спектрах раствора и полученных от поверхности Ag-порошка. В статье [17] эта линия приписана (не полное совпадение, там  $1410\text{ см}^{-1}$ ) „ножничному“ колебанию группы  $\text{CH}_2$ . Согласно нашему предположению при адсорбции кулоновскими силами фиксируются концевые группы, в то время как группа  $\text{CH}_2$  (с центральным углеродным атомом молекулы) остается относительно свободной. Как видим, в наших спектрах эта линия не изменяется при переходе от спектра раствора к спектрам молекул на поверхности. Это подтверждает правильность подхода. Более детальный анализ результатов требует дополнительных исследований.

## 5. Заключение

Исследованы спектры КРС молекул глицина в водном растворе и на поверхности металлического серебра (также в растворе) в спектральной области  $80\text{--}1800\text{ см}^{-1}$ . Проведен сравнительный анализ положения наиболее

интенсивных линий в спектрах. Выдвинуто предположение, что основным взаимодействием, определяющим положение этих молекул при адсорбции, является кулоновское притяжение между заряженными концевыми группами и индуцированным диполем „отражения“ в проводящем металле.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] R. Bumgarner. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* **22**, 221 (2013). DOI: 10.1002/0471142727.mb2201s101. PMID: 23288464; PMCID: PMC4011503.
- [2] S. Chatterjee, X.-Y. Lou, F. Liang, Y.-W. Yang. *Coord. Chem. Rev.* **459**, 214461 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2022.214461>.
- [3] E.J. Blackie, E.C. LeRu, M. Meyer, P.G. Etchegoin. *J. Phys. Chem. C* **111**, 37 13794 (2007). DOI: 10.1021/jp0687908
- [4] D.L. Jeamaire, R.P. van Duyne. *J. Electroanal. Chem.* **84**, 1–20 (1977). DOI: 10.1016/s0022-0728(77)80224-6
- [5] D.P. Karothu, G. Dushaq, E. Ahmed, L. Catalano, S. Polavaram, R. Ferreira, L. Li, Sh. Mohamed, M. Rasras, P. Naumov. *Nat. Commun.* **12**, 1326 (2021). DOI: 10.1038/s41467-021-21342-y
- [6] S. Morsbach, G. Gonella, V. Mailnder, S. Wegner, S. Wu, T. Weidner, R. Berger, K. Koynov, D. Vollmer, N. Encinas, S.L. Kuan, T. Bereau, K. Kremer, T. Weil, M. Bonn, H.-J. Butt, K. Landfester. *Angew. Chem. Int. Ed.* **57**, 12626–12648 (2018).
- [7] M. Ozboyaci, D.B. Kokh, S. Corni, R.C. Wade. *Q. Rev. Biophys.* **49**, e4 (2016). DOI: 10.1017/S0033583515000256
- [8] L. Filali, Ya. Brahmi, J.D. Sib, Ya. Bouizem, D. Benlakehal, K. Zellama, N. Lemée, A. Bouhekkka, F. Kail, A. Kebab, L. Chahed. *Surfaces* **2**, 2, 415–431 (2019). <https://doi.org/10.3390/surfaces2020030>
- [9] Y. XiaoJuan, G. Huaimi, W. Jiwei. *J. Mol. Struct.* **977**, 56–61 (2010). DOI: 10.1016/j.molstruc.2010.05.009
- [10] М.Е. Компан, М.А. Баранов, В.Г. Малышкин, О.Ю. Цыбин. *ФТТ* **66**, 6, 1445 (2024). DOI: 10.61011/FTT.2024.08.58614.110
- [11] М.Е. Компан. *arXiv* 1608.05579 (2016).
- [12] М.Е. Компан, В.Г. Малышкин. *Письма в ЖТФ* **44**, 2, 88 (2018). DOI: 10.1134/S1063785018010145
- [13] G. Zhu, X. Zhu, Q. Fan, X. Wan. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **78**, 1187 (2011). DOI: 10.1016/j.saa.2010.12.079
- [14] P.T.C. Freire, F.M. Barboza, J.A. Lima Jr., F.E. Melo, J.M. Filho. *Ch. 10 in Raman spectroscopy and Applications. InTech* (2017). P. 210. DOI: 10.5772/65480
- [15] <https://www.ebi.ac.uk/chebi/chebiOntology.do?chebiId=CHEBI:57305&treeView=true>
- [16] <https://www.ch.ic.ac.uk/rzepa/blog/?p=17279>
- [17] S. Kumar, A.K. Rai, V.B. Singh, S.B. Rai. *Spectrochim. Acta A* **61**, 2741 (2005). DOI: 10.106/j.saa.2004.09.029

Редактор А.Н. Смирнов