

Аліна ГАЛАНЗОВСЬКА¹, студент,
Наталя ПІТОВА¹, д-р техн. наук, проф.
Наталя МАНЧЕВА¹, канд. техн. наук, доц.,
Інна ЯРОВА¹, канд. техн. наук, доц.,
Леонід КОВАЛЬ², канд. техн. наук, доц.

¹ Національний університет «Одеська Політехніка», м. Одеса, Україна, vmanichev@ukr.net

² Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця, Україна

СПЕКТРИ ПОГЛИНАННЯ ДЕЯКИХ БІОЛОГІЧНО ВАЖЛИВИХ РЕЧОВИН: МОЛЕКУЛЯРНІ СПЕКТРИ

Анотація. В ході дослідження було виявлено, що спектри поглинання та молекулярні спектри є важливими складовими в хімії, фізиці та загалом у науці. Було досліджено, що абсорбційна спектроскопія діє за принципом взаємодії світла з речовиною та вимірювання поглинутого світла від зразка. Визначення позицій та інтенсивностей піків у спектрі дозволяє отримати інформацію про характерні енергетичні переходи у молекулах речовини та їхні концентрації у зразку. Було виявлено три види спектрів поглинання, такі як видимі, ультрафіолетові (УФ) та інфрачервоні (ІЧ) спектри. Ці спектри зустрічаються найчастіше в молекулярно-абсорбційному аналізі. При дослідженні молекулярних спектрів було виявлено прямий взаємозв'язок між молекулярною та абсорбційною спектроскопією, так як молекулярний аналіз вміщує в собі оптичні методи. Далі були досліджені інфрачервоні спектри поглинання нуклеїнових кислот, а також методи визначення концентрації протеїнів та нуклеїнових кислот за допомогою УФ-видимої спектрометрії.

Ключові слова. Спектр, спектрографія, спектри поглинання, абсорбційна спектроскопія, молекулярна спектроскопія, інфрачервона (ІЧ) спектроскопія, ультрафіолетова (УФ) спектроскопія.

Актуальність дослідження

Дослідження спектроскопії молекулярного поглинання, зокрема властивостей поглинання нуклеїнових кислот і білків УФ-видимого та інфрачервоного діапазонів, має велике значення в багатьох наукових областях і практичних застосуваннях. Ці дослідження допомагають пояснити склад і функції біологічних молекул, що має вирішальне значення для розуміння впливу цих молекул на клітинні процеси та захворювання. Ця інформація може бути використана для виявлення захворювань, розробки нових методів лікування та вдосконалення фармацевтичних препаратів [1]. Інші інструменти, такі як ультрафіолетові видимі та інфрачервоні фотодіоди, також використовуються в екології для спостереження за забрудненням навколишнього середовища та водних ресурсів. Вони полегшують виявлення та визначення складу різних речовин у навколишньому середовищі, а також оцінку впливу цих речовин на екосистему та здоров'я людини [2]. Внаслідок цього дослідження молекулярної абсорбційної спектроскопії є значущим і популярним напрямом наукових досліджень. Ця сфера має значний вплив на розвиток наукових знань і технологій у багатьох дисциплінах.

Мета дослідження

Метою цього дослідження є систематизація та структурування знань про поглинання та молекулярні спектри для кращого розуміння процесів, що відбуваються на молекулярному рівні в біологічних системах. У цьому дослідженні розглянуто зв'язок між молекулярною спектроскопією та оптичними методами аналізу зразків, щоб визначити, які особливості молекулярної структури впливають на спектральні властивості.

Дослідження також має на меті надати детальний вступ до найпоширеніших методів молекулярного поглинання, особливо УФ-та ІЧ-спектроскопії, в аналізі біологічно важливих речовин, таких як білки та нуклеїнові кислоти, з метою з'ясування їхніх принципів роботи та можливостей [3, 4]. Дослідити спектри поглинання цих біологічних сполук, отримані за допомогою цих методів, щоб забезпечити нове розуміння їхньої структури та функціональних властивостей.

На меті дослідження приділити особливу увагу аналізу спектрів поглинання біологічних сполук, що дозволить ідентифікувати їх властивості та характеристики з точністю, необхідною для подальших досліджень у цій галузі.

Основні матеріали досліджень

В роботі [5] для визначення загальних понять про спектри, спектрометрію та методи дослідження спектроскопічних характеристик були використані загальні концепції із цієї області. Друга частина цієї роботи допомогла зрозуміти область застосування спектроскопічних методів

дослідження. У роботах [2, 5] та [2] для визначення ІЧ спектрів поглинання нуклеїнових кислот були використані графіки та детальні пояснення щодо принципу застосування методу ІЧ-спектроскопії для аналізу зразків. Робота [4] була використана для збору інформації про УФ-спектри поглинання білків та нуклеїнових кислот. Також використовувалися графіки коефіцієнта поглинання білків, які допомогли у розумінні їхньої спектроскопічної поведінки.

Результати

Спектроскопія – це аналітичний метод, який використовується для дослідження речовин шляхом вивчення спектрів поглинання або випромінювання електромагнітних хвиль [6]. Цей метод є одним з найбільш всеосяжних і корисних методів у науці, техніці та медицині [1]. Молекулярна спектроскопія – це розділ спектроскопії, що спеціалізується на вивченні молекулярних властивостей речовини. Вона вивчає спектри поглинання та випромінювання електромагнітних хвиль, які залежать від хімічного складу, структури та внутрішніх взаємодій молекул.

Інфрачервона (ІЧ) спектроскопія – це вид молекулярної спектроскопії, що використовується для аналізу біологічних сполук. Він базується на дослідженні спектрів поглинання або відбиття в інфрачервоній області (10-6 мкм) [1]. Метод ідентифікує молекули відповідно до коливального рівня їхнього основного електронного стану, а спектральні властивості залежать від атомної маси, геометрії структури, міжатомних сил та інших параметрів. При дослідженні біологічних сполук методом ІЧ-спектроскопії використовують інтерферуюче повне відбиття [1]. Це означає, що енергія електромагнітного випромінювання поглинається поверхневим шаром речовини, який знаходиться в оптичному контакті з призмою повного відбиття. Спектр поглинання дозволяє аналізувати структурні властивості органічних і неорганічних сполук, ідентифікувати чисті речовини та вивчати їх властивості.

Принцип дослідження нуклеїнових кислот інфрачервоною спектроскопією порушеного повного внутрішнього відбиття (ППВВ) світла полягає у використанні методики, що дозволяє отримувати спектри поглинання цих біологічних сполук з використанням принципу повного внутрішнього відбиття світла [2, 4, 5]. Дослідження проводиться шляхом формування плівок ДНК та нуклеїнових кислот на робочій поверхні призми кристалічного германію. Потім зареєстровані інтенсивні спектри поглинання у видимій та інфрачервоній областях спектру, які характеризують абсорбційні властивості ДНК та нуклеїнових кислот. Ці спектри дозволяють отримати інформацію про структурні особливості та хімічний склад досліджуваних біологічних сполук. Нижче наведені інфрачервоні спектри поглинання ДНК та сумарної РНК, виділеної з листя *Kalanchoe daigremontiana* (рис.1) [2, 5]. Ці спектри виявили досить інтенсивні поглинання у видимій та інфрачервоній областях спектру, що свідчить про їхню відповідність структурним та хімічним властивостям ДНК та нуклеїнових кислот.

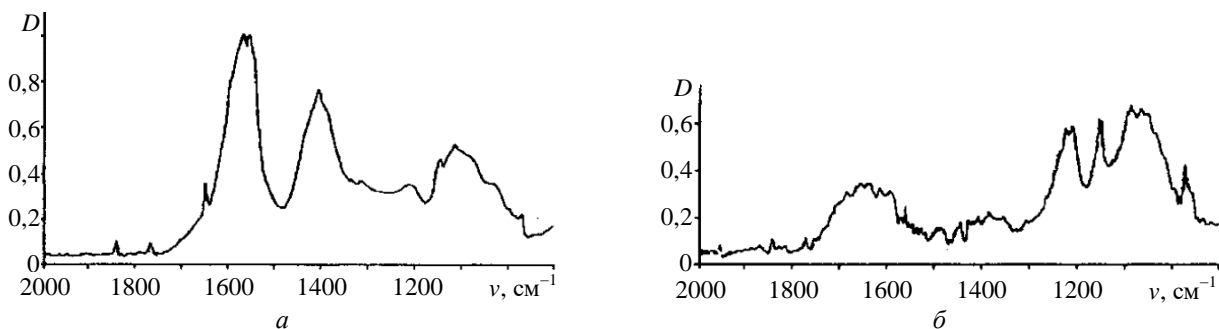


Рис. 1. Інфрачервоні спектри багаторазово порушеного повного внутрішнього відбиття нуклеїнових кислот: а – сумарний препарат РНК з листя *Kalanchoe daigremontiana*; б – ДНК

Закон Ламберта-Бера – це фундаментальний закон спектроскопії, який встановлює лінійну залежність між поглинанням світла розчином і концентрацією речовини в цьому розчині. Цей закон формулюється наступним чином:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l,$$

де A – абсорбція (поглинання) світла;
 ε – молярний коефіцієнт поглинання (або молярна поглинаюча здатність);
 c – концентрація речовини в розчині;
 l – довжина пройденого світла шляху у розчині [4].

Цей закон важливий в УФ-спектроскопії, оскільки білки і нуклеїнові кислоти мають характерні піки поглинання в УФ-області спектра (іноді її називають УФ-областю видимості). Використовуючи закон Ламберта-Бера, концентрацію цих біомолекул у розчині можна визначити, вимірявши поглинання і знаючи молярний коефіцієнт поглинання такої речовини.

Коефіцієнт поглинання (або молярна абсорбція) білка визначається експериментально і залежить від типу, структури та оточення білка. Зазвичай білки мають піки поглинання в області 275-280 нм (рис.2), зумовлені ароматичними амінокислотами триптофаном і тирозином. Ці піки дозволяють ідентифікувати наявність білків у зразку і визначити їх концентрацію [4, 5].

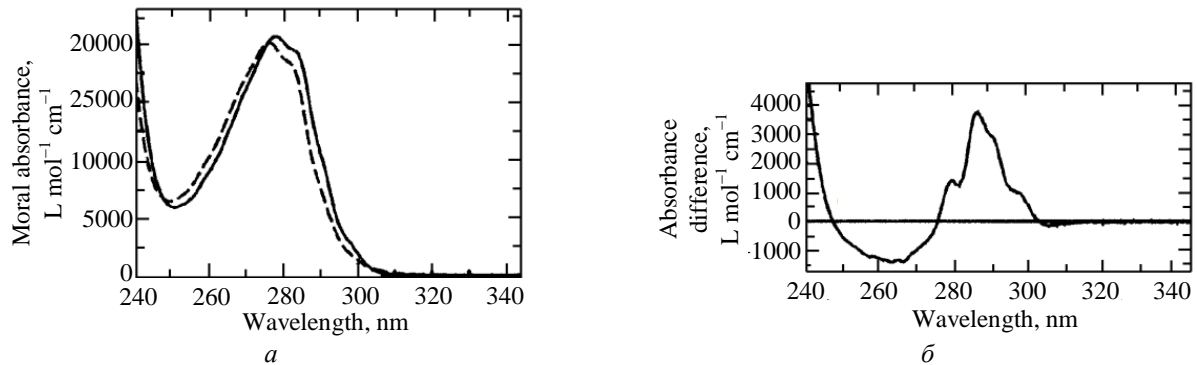


Рис.2. Ультрафіолетові спектри поглинання протеїну рибонуклеази Т1 (а); Спектри різниці між нативним і розгорнутим білком (б)

Спектр поглинання нуклеїнових кислот визначається їхньою структурою та хімічним складом. Основними молекулярними джерелами поглинання нуклеїнових кислот є пуринові та піримідинові кільцеві підсистеми, що утворюють основні структурні одиниці нуклеотидів. Пуринові (аденін і гуанін) і піримідинові (цитозин і тимін/урацил в РНК) основи при поглинанні світла електронно збуджуються, викликаючи π -перенос (перенесення електронів з підсистеми π на підсистему π^*). Це призводить до сильного поглинання в УФ-області 240-275 нм. У спектрі поглинання нуклеїнових кислот спостерігається широкий і сильний максимум поглинання близько 260 нм [4, 5]. Це пояснюється тим, що пуринові та піримідинові основи найефективніше поглинають світло в цій області, що призводить до характерного спектрального профілю нуклеїнових кислот.

Важливо зазначити, що спектр поглинання нуклеїнових кислот змінюється залежно від середовища та рН. Наприклад, у нейтральних середовищах максимумами поглинання зазвичай знаходяться в області від 253 нм (гуанозин) до 271 нм (цитидин) [4, 6].

Висновки

Абсорбційна та молекулярна спектроскопія є важливими методами, які використовуються в різних галузях, таких як хімія, біологія та екологія. Ці методи використовуються для вивчення взаємодії світла з речовиною, надаючи інформацію про молекулярну структуру та склад різних речовин. У цьому есе ми дослідимо зв'язок між абсорбційною та молекулярною спектроскопією, їхні переваги та недоліки, а також перспективи їх розвитку та використання в майбутньому.

Вивчення молекулярного поглинання нуклеїнових кислот і білків в УФ- та ІЧ-областях є важливим напрямком сучасних наукових досліджень. Ці дослідження сприяють кращому розумінню структурних і функціональних властивостей біомолекул і відіграють ключову роль у розробці нових методів діагностики захворювань, з'ясуванні механізмів дії ліків та вдосконаленні медичних і фармацевтичних технологій. Крім того, методи УФ-, видимої та ІЧ-спектроскопії також корисні в екологічних дослідженнях, що сприяють вивченню забруднення навколишнього середовища та охорони здоров'я людини. Тому вивчення молекулярного поглинання є важливим і перспективним напрямком наукових досліджень, що має широке застосування в багатьох галузях науки і техніки.

Література

1. Присяжнюк В. Інфрачервона спектроскопія: Курсова робота. Львів, 2017. 29 с. URL: https://www.academia.edu/34622944/Інфрачервона_спектроскопія.
2. Аналітичні методи досліджень. спектроскопічні методи аналізу: теоретичні основи і методики: посібник / Д. Мельничук та ін. Київ: ЦП «Компринт», 2016. 289 с. URL: <https://dglib.nubip.edu.ua/server/api/core/bitstreams/f8b42a24-ffcc-4b37-9367-8c592cadb7fa/content>.

3. Степанюгін А.В., Мартиненко О.І., Самійленко С.П., Говорун Д.М. Інфрачервоні спектри поглинання нуклеїнових кислот: техніка багаторазово порушеного повного внутрішнього відбиття світла / А.В. Степанюгін, О.І. Мартиненко, С.П. Самійленко, Д.М. Говорун. Біополімери і клітина. 2002. Т. 18, № 4. С. 356–358. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/156013/17-Stepanyugin.pdf?sequence=1>.
4. Schmid F.-X. Biological macromolecules: UV-Visible spectrophotometry. Encyclopedia of life sciences. 2001. P. 1–4.
5. Manicheva N., Dudzinskii Yr., Titova N., Zakharova A. Determination of the nonlinear parameter and internal pressure in a liquid by the acoustic method. / N. Manicheva, Jr. Dudzinskii, N. Titova, A. Zakharova. // Proceedings of Odessa Polytechnic University. – Odessa, Ukraine, 2021. Issue 1(63). P. 88-94. DOI: 10.15276/opu.1.63.2021.09.
6. Манічева Н.В., Захарова А.О. Акустичний метод оцінки молекулярних властивостей рідини. / Н.В. Манічева, А.О. Захарова // Матеріали VII Всеукраїнської науково-технічної конференції «Фізика та медицина у сучасному житті». 19-21 травня 2021 р., м. Одеса, Україна. С. 16-22. URI: https://op.edu.ua/sites/default/files/publicFiles/studolympconf/materialy_konferenciyi_2021.pdf.