

И.Е.Миронюк, О.С.Кругляк, Г.С.Шаповал

ЛАТЕРАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ АДСОРБЦИИ НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ НА МЕДНОМ И ПЛАТИНОВОМ КАТОДАХ

Исследована адсорбция α -аланина, β -аланина, цистеина, ацетилцистеина на медном и платиновом катодах методом спектроскопии электрохимического импеданса. Рассчитаны энергии адсорбции и латеральных взаимодействий, изучена их зависимость от строения аминокислот, материала электрода, концентрации и степени заполнения поверхности, а также наличия кислорода в системе. Установлены особенности образования супрамолекулярных связей при адсорбции изученных аминокислот, предложены возможные ориентации аминокислот, адсорбированных в виде анионов или цвиттер-ионов. Показано, что адсорбированный кислород способствует установлению дополнительных латеральных связей при адсорбции α -аланина и ацетилцистеина на меди.

ВВЕДЕНИЕ. При адсорбции некоторых аминокислот на заряженных металлических поверхностях возможно формирование самоорганизующихся слоев [1–3]. Поведение последних в водных растворах вызывает значительный интерес исследователей, как с точки зрения расширения представлений о процессах, протекающих в биосистемах на отрицательно заряженной поверхности клеточных мембран, так и возможности применения для распознавания биомолекул и мониторинга окружающей среды [1–9].

Так, тиолсодержащие аминокислоты, в частности цистеин, способны к самоорганизации при адсорбции на различных поверхностях с формированием стабильного упорядоченного монослоя [1–3]. В ряде работ исследована адсорбция цистеина на таких металлах как золото, медь, серебро [2–9]. Показано, что на золотом и серебряном электродах происходит специфическая адсорбция с образованием самоорганизованного упорядоченного монослоя [4, 7–9]. На меди также наблюдается самоорганизация адсорбированных молекул цистеина в области невысоких анодных потенциалов [6, 7, 10].

Кроме того, показано образование упорядоченных монослоев на поверхности металлов для некоторых, не содержащих серу, аминокислот [2, 6].

В процессе самоорганизации при построении монослоя важную, если не основную, роль играют латеральные взаимодействия адсорбированных молекул, в частности водородные связи, диполь-дипольные, ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Часто они проявляются одновременно,

но, что приводит к сложной зависимости энергии таких взаимодействий от строения адсорбированных молекул, материала подложки, а также от условий адсорбции [11].

Если механизм и особенности формирования самоорганизованных слоев достаточно подробно рассмотрены в некоторых публикациях, то латеральным взаимодействиям молекул, образующих такие слои, посвящено значительно меньше работ [5, 6, 12], базирующихся, главным образом, на спектроскопических методах или математическом моделировании [1, 12].

В то же время величину энергии межмолекулярных взаимодействий аминокислот, самоорганизующихся на границе металл–раствор можно рассчитать по уравнению Фрумкина из экспериментальных изотерм адсорбции, полученных электрохимическими методами. При этом, анализируя изменение энергии латеральных взаимодействий при замене одной из функциональных групп адсорбированных молекул, можно судить об их роли в образовании упорядоченных слоев.

Исходя из этого, цель настоящей работы — определение энергии латеральных взаимодействий и свободной энергии адсорбции на медном и платиновом катодах четырех аминокислот (АК): α -аланина, β -аланина, цистеина, ацетилцистеина, отличающихся наличием способной к специфической адсорбции –SH-группы, и ацетильным заместителем в аминогруппе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. В качестве метода исследования применяли спектроско-

пию электрохимического импеданса с помощью универсальной системы ACM Instruments Auto по трехэлектродной схеме [14] с последующей обработкой встроенной программой ACM EIS Analysis для определения значений емкости ДЭС. Рабочим был медный или платиновый торцевой электрод ($d=3.0$ мм), вспомогательным — платиновая пластина (25.0×15.0 мм), потенциал задавали относительно насыщенного хлорсеребряного электрода сравнения. Измерения проводили в присутствии и в отсутствие кислорода, для удаления которого раствор продували аргоном в течение 60 мин.

Объекты исследования — L-цистеин, N-ацетилцистеин, α - и β -аланин производства Fluka использовали без дополнительной очистки. Фоновый электролит 0.1 М NaCl готовили из дважды перекристаллизованного хлорида натрия (х.ч.) в бидистиллированной воде. Растворы исследуемых веществ в 0.1 М водном NaCl готовили перед измерениями.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ. Адсорбция АК на платиновом катоде. Об адсорбции исследуемых АК свидетельствуют изменения в их присутствии емкости ДЭС медного катода в растворе 0.1 М NaCl. Добавка α -аланина снижает ем-

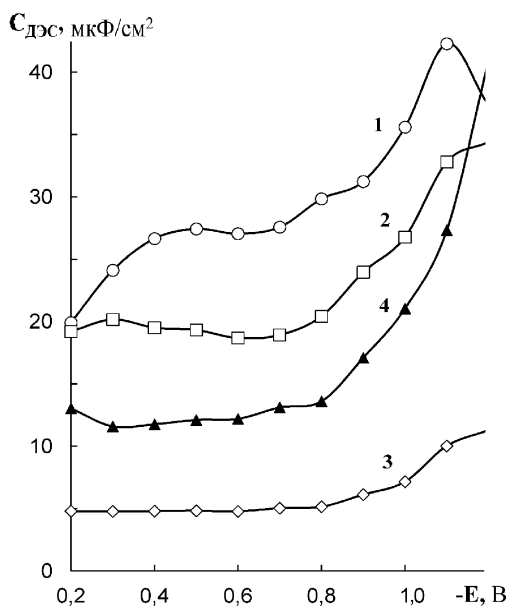


Рис. 1. Дифференциальная емкость двойного электрического слоя медного электрода в присутствии $0.57 \cdot 10^{-3}$ моль/л цистеина (1), ацетилцистеина (2), α -аланина (3) и в фоновом растворе 0.1 М NaCl (4) без доступа кислорода.

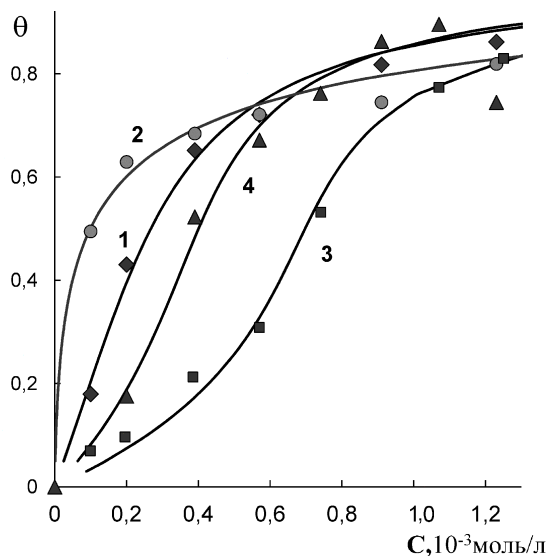


Рис. 2. Изотермы адсорбции цистеина (1), ацетилцистеина (2), α -аланина (3), β -аланина (4) на медном электроде при потенциале -0.2 В без доступа кислорода. Точки — экспериментальные значения, линии — аппроксимация по уравнению Фрумкина.

кость ДЭС (рис. 1), что характерно для адсорбции нейтральных органических молекул. Аналогично, снижение $C_{дэс}$ наблюдается для β -аланина. Однако цистеин и ацетилцистеин при добавлении в фоновый раствор повышают емкость ДЭС симбатно концентрации каждой АК. Такое повышение емкости в случае цистеина и ацетилцистеина можно объяснить, исходя из предположения, что способная к специфической адсорбции на меди сульфгидрильная группа является якорной и в процессе адсорбции претерпевает депротонирование: $R-SH \rightarrow R-S^- + H^+$ [7]. В результате цистеин и ацетилцистеин адсорбируются в виде анионов, что приводит к увеличению плотности отрицательного заряда электрода [13]. Аналогичное повышение емкости ДЭС от 15 до 30 мкФ/см² наблюдали Хагер и Броло [8] при депротонировании сульфгидрильной группы в процессе адсорбции цистеина на отрицательно заряженной поверхности золотого электрода.

На основании полученных данных для исследуемых АК в приближении модели параллельных конденсаторов рассчитаны изотермы адсорбции (рис 2).

Изотермы адсорбции исследованных АК линейны в координатах θ — $\ln c$, что позволяет ап-

проксимировать их уравнением Фрумкина:

$$B_c = \frac{\theta}{1 - \theta} \exp(-2a\theta),$$

где B — константа адсорбционного равновесия, связанная со свободной энергией адсорбции в водных растворах соотношением $B = \exp(-\Delta G_a/RT)/55.55$; a — аттракционная постоянная, характеризующая энергию латеральных взаимодействий адсорбированных молекул $\Delta G_L = -2RTa$.

При использовании уравнения Фрумкина удается получить удовлетворительную аппроксимацию со среднеквадратичным отклонением не менее 0.99 для каждой АК при всех исследованных потенциалах (рис. 2).

Аттракционные постоянные и энергии адсорбции аминокислот на медном катоде без доступа и при свободном доступе кислорода

Аминокислота	a	ΔG_L	ΔG_a
		кДж/моль	
Цистеин	1.48	-7.3	-27.6
Ацетилцистеин	-1.45	7.1	-35.8
α -Аланин	1.62	-7.9	-23.1
β -Аланин	1.23	-6.0	-24.4
Свободный доступ кислорода			
Цистеин	1.30	-6.3	-27.1
Ацетилцистеин	0.95	-4.6	-29.8
α -Аланин	2.20	-10.7	-20.6
β -Аланин	1.45	-7.1	-26.6

Рассчитанные энергии адсорбции ΔG_a для цистеина и ацетилцистеина (таблица) близки к энергиям адсорбции этих АК на золотом электроде, установленным в работе [8], а также к расчетам по методу молекулярной динамики для цистеина [4].

Более высокие по сравнению с аланином значения ΔG_a для цистеина и ацетилцистеина, очевидно, связаны с наличием одновременно с физической специфической адсорбции тиолсодержащих АК, что подтверждает роль $-SH$ как якорной группы (таблица). Более высокая энергия адсорбции ацетилцистеина по сравнению с цистеином, скорее всего, обусловлена участием во взаимодействии с подложкой, помимо тиольной, ацетильной и/или карбоксильной группы.

Рассчитанные аттракционные постоянные для цистеина, α - и β -аланина положительны, что свидетельствует о преобладании сил притяжения, характерных для водородных связей или ван-дер-ваальсовых взаимодействий между адсорбированными на поверхности молекулами (таблица). В наших условиях это супрамолекулярные взаимодействия карбоксильных и аминогрупп, которые участвуют в самоорганизации АК на поверхности. Аналогичное образование водородных связей $NH \cdots O$ при адсорбции аланина на поверхности меди было показано в работах [5, 12].

Для ацетилцистеина аттракционная постоянная имеет отрицательный знак, что говорит о преобладании в латеральных взаимодействиях сил электростатического отталкивания, препятствующих сближению молекул, достаточному для образования водородных связей.

Использование уравнения Фрумкина в приведенных координатах $c/c_{\theta=0.5} - \ln\theta$ позволяет оценить зависимость аттракционной постоянной a от степени заполнения электрода (рис. 3). Для α - и β -аланина аттракционная постоянная a возрастает с увеличением степени заполнения при малых θ и остается практически постоян-

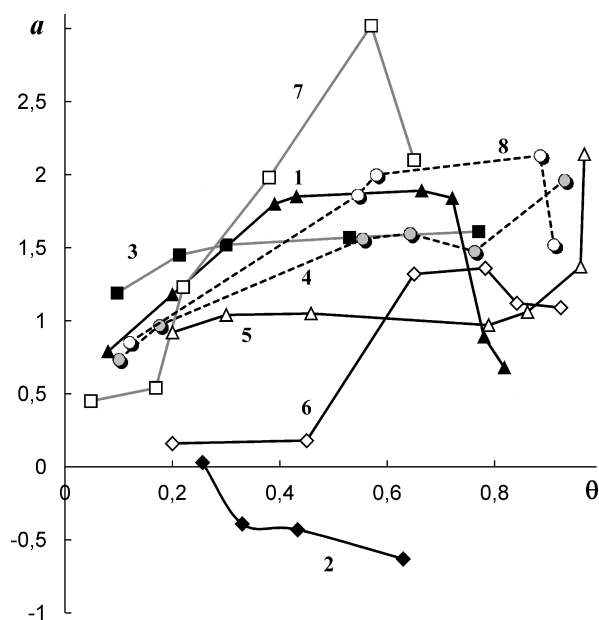


Рис. 3. Зависимость аттракционной постоянной a от степени заполнения медного электрода для цистеина (1, 5), ацетилцистеина (2, 6), α -аланина (3, 7) и β -аланина (4, 8) при удалении (1–4) и в присутствии кислорода (5–8).

ной в области средних и высоких θ (рис. 3). При этом рН соответствует изоэлектрической точке, следовательно, молекулы аланина в цвиттер-ионной форме способны образовывать водородные связи между амино- и карбоксильными группами достаточно близко расположенных адсорбированных молекул аланина [5].

Аналогичная зависимость константы a латеральных взаимодействий наблюдается и для цистеина при $\theta < 0.7$. Поскольку якорной является тиольная группа, участвующие в латеральных взаимодействиях группы цистеина и аланинов идентичны. Резкое снижение энергии латеральных взаимодействий при $\theta > 0.7$, по-видимому, связано с переориентацией молекул.

Для ацетилцистеина (рис. 3) нарастание отталкивательных взаимодействий с увеличением степени заполнения электрода подтверждает предположение об ориентации на поверхности в виде анионов. Отсутствие в молекуле ацетилцистеина способной к протонированию аминогруппы приводит к тому, что определяющим становится влияние электростатического отталкивания. Кроме того, наличие ацетильной группы создает стерические затруднения для возможного образования водородных связей $N-H \cdots O=C-$ между молекулами ацетилцистеина.

Адсорбция АК на платиновом катоде. Поскольку особенности адсорбции объясняются наличием сульфгидрильной группы, влияние материала электрода исследовали на примере содержащего эту группу цистеина и не содержащего ее β -аланина. Добавки цистеина увеличивают емкость ДЭС платинового катода, тогда как β -аланина — снижают. Это подтверждает, что цистеин адсорбируется на платине, как и на меди, в виде анионов. В то же время изотермы адсорбции цистеина и β -аланина на платиновом катоде (рис. 4) существенно отличаются от их изотерм на меди (рис. 2). Заполнение поверхности платинового электрода адсорбированными молекулами цистеина происходит при более высоких концентрациях, чем медного (рис. 2, 4). Величина свободной энергии адсорбции ΔG_a для цистеина на платине -23.7 кДж/моль, что ниже, чем на меди (таблица) в связи с отсутствием в этом случае, по всей видимости, специфического взаимодействия тиольной группы с поверхно-

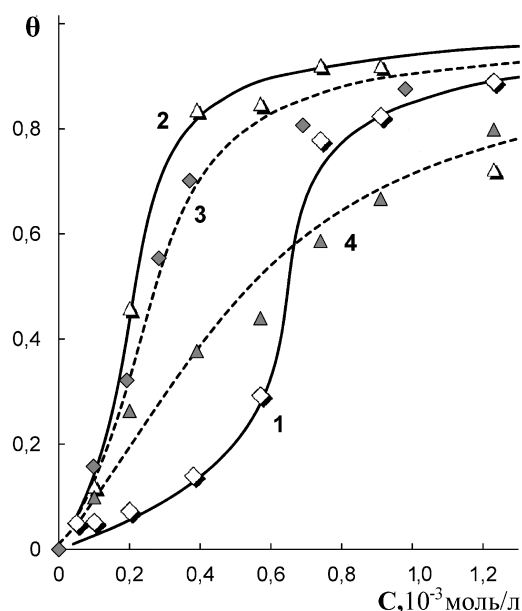


Рис. 4. Изотермы адсорбции цистеина (1, 3) и β -аланина (2, 4) на платиновом электроде при потенциале -0.3 В без доступа (1, 2) и в присутствии кислорода (3, 4). Здесь и на рис. 6 точки — экспериментальные значения, линии — аппроксимация по уравнению Фрумкина.

стью электрода. В то же время для аланина, не содержащего $-SH$ -группу, энергия адсорбции возрастает до -26.7 кДж/моль.

Величина энергии латеральных взаимодействий мало изменяется для аланина (-6.4 кДж/моль), однако возрастает на 2 кДж/моль для цистеина, что подтверждает отличие взаимной ориентации адсорбированных молекул цистеина на поверхности платинового и медного электродов (различную упаковку). Характер зависимости аттракционной постоянной от степени заполнения электрода для платинового (рис. 5) и медного (рис. 3) катодов практически идентичен как для аланина, так и для цистеина. Цистеин проявляет более сильные латеральные взаимодействия, чем аланин, причем максимальные значения a в широкой области значений и наблюдаются на платине.

Влияние кислорода. Необходимо подчеркнуть, что в реальных условиях, особенно в биосистемах, процессы адсорбции протекают в присутствии кислорода, который может оказать существенное влияние как на энергию адсорбции, так и на латеральные взаимодействия адсорбированных

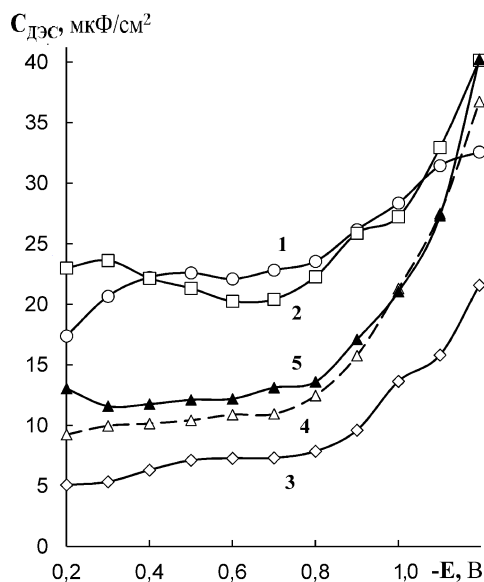


Рис. 5. Дифференциальная емкость двойного электрического слоя медного электрода в присутствии $0.57 \cdot 10^{-3}$ моль/л цистеина (1), ацетилцистеина (2) и α -аланина (3) и в фоновом растворе 0.1 М NaCl (4) в присутствии кислорода и фон без доступа кислорода (5).

молекул АК и аминокислотных фрагментов белковых макромолекул. Судя по емкостным зависимостям (рис. 5, кривые 4, 5), сам кислород активно адсорбируется на поверхности медного катода в исследуемой области потенциалов. Характер изменения емкости ДЭС с концентрацией АК в присутствии и в отсутствие кислорода аналогичен (рис. 1, 5).

В то же время в присутствии кислорода изменяются параметры адсорбции исследованных АК, в частности, возрастают степени заполнения поверхности электрода для ацетилцистеина, цистеина, β -аланина на меди (рис. 6) и для цистеина на платине (рис. 4), изменяется свободная энергия адсорбции (таблица). На медном катоде наблюдается возрастание энергии латеральных взаимодействий аланина и цистеина, а также изменение знака аттракционной постоянной ацетилцистеина. Если в отсутствие кислорода для ацетилцистеина наблюдается преобладание сил отталкивания, то при совместной адсорбции с кислородом — силы притяжения (таблица).

В присутствии кислорода зависимость аттракционной постоянной от степени заполнения электрода также претерпевает существенные изменения. Для α -аланина на медном катоде при

$\theta < 0.3$ происходит уменьшение a , а следовательно, и энергии латеральных взаимодействий по сравнению с адсорбцией в отсутствие кислорода (рис. 3, кривые 3, 7). По всей видимости, присутствующий на поверхности кислород препятствует сближению адсорбированных молекул аланина. С возрастанием концентрации АК в растворе и степени заполнения поверхности электрода значения ΔG_L увеличиваются, что свидетельствует о вытеснении кислорода с поверхности и о возможном участии O_2 в образовании дополнительных латеральных связей.

Для цистеина на медном катоде также в этом случае наблюдаются приблизительно вдвое более низкие значения a вплоть до высоких степеней заполнения (рис. 3, кривые 1, 5). Однако достигаются эти высокие θ , как видно из изотерм (рис. 6), при более низких концентрациях цистеина в растворе. При дальнейшем увеличении концентрации цистеина в присутствии O_2 вместо ожидаемого уменьшения a , как это происходит в отсутствие кислорода в системе на меди и независимо от наличия кислорода на платине (рис. 7), обнаружено увеличение a с ростом концентрации при постоянном θ (рис. 3), при этом соответствующие энергии латеральных взаимодействий достигают значения -10.4 кДж/моль. Это позволяет предположить, что адсорбированный

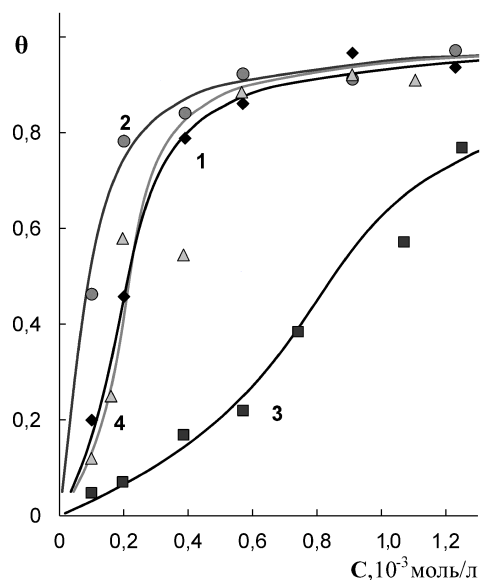


Рис. 6. Изотермы адсорбции цистеина (1), ацетилцистеина (2), α -аланина (3) и β -аланина (4) на медном электроде при потенциале -0.2 В в присутствии кислорода.

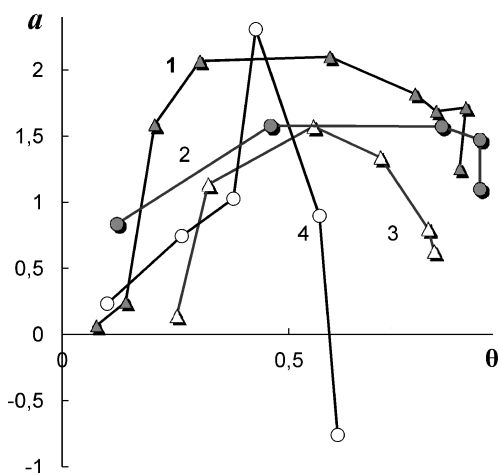
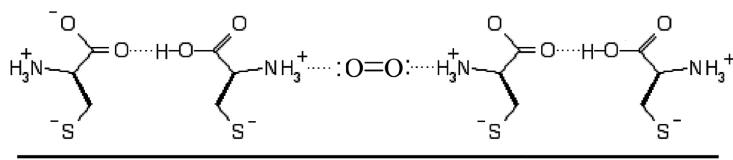


Рис. 7. Зависимость аттракционной постоянной a от степени заполнения платинового электрода для цистеина (1, 3) и β-аланина (2, 4) без доступа кислорода (1, 2) и в присутствии кислорода (3, 4).

кислород встраивается в систему латеральных водородных связей адсорбированных АК. Возможно, неподеленные электронные пары адсорбированного кислорода акцептируют “лишний” водород аминогруппы и протонированной карбоксильной группы:



Таким образом, при малых концентрациях аланина и цистеина адсорбированный кислород препятствует латеральным взаимодействиям боковых групп АК. При высоких степенях заполнения АК поверхности медного электрода кислород способствует установлению дополнительных латеральных связей.

Для ацетилцистеина наличие адсорбированного кислорода приводит к смене знака аттракционной постоянной, то есть к образованию положительных латеральных связей между функциональными группами АК, превалирующими над электростатическим отталкиванием (рис. 3). Вероятно, адсорбированный на поверхности электрода кислород принимает участие в образовании супрамолекулярной связи между аминогруппами молекулы ацетилцистеина, подобно представленному на приведенной выше схеме для ци-

стеина: $R-N-H \cdots :O-O: \cdots H-N-R$.

На платиновом катоде в присутствии кислорода в системе значения энергии адсорбции цистеина и аланина сближаются и составляют -26.3 и -26.4 кДж/моль, аналогичное сближение наблюдается и для медного электрода (таблица). Это хорошо видно и по сближению в присутствии кислорода изотерм адсорбции АК как на медном, так и на платиновых катодах (рис. 4, б). Таким образом, одновременная адсорбция кислорода нивелирует различия в энергии адсорбции для всех исследованных АК как на медном, так и на платиновом электроде.

Энергии латеральных взаимодействий при адсорбции АК при свободном доступе кислорода имеют близкие значения для медного и платинового электродов, причем существенно более низкие, чем в бескислородной среде. Так, для цистеина на платине $\Delta G_L = -6.3$ кДж/моль, что практически идентично ее значению на меди (таблица).

Таким образом, благодаря существенно влиянию на формирование латеральных связей, кислород может способствовать предорганизации адсорбционного слоя при образовании аминокислотами самоорганизованных структур на меди.

ВЫВОДЫ. В результате электрохимического исследования адсорбции аланина, цистеина и ацетилцистеина показано, что величина свободной энергии адсорбции исследованных АК на медном катоде зависит от наличия в молекуле АК сульфгидрильной группы. Энергия латеральных взаимодействий изменяет знак при наличии ацетильного заместителя в молекуле АК. Отмечены особенности ориентации тиолсодержащих молекул АК, адсорбированных на отрицательно заряженной поверхности меди и платины в виде анионов. Установлена зависимость ориентации тиолсодержащих молекул от концентрации АК.

Определено, что материал электрода оказывает существенное влияние на процесс образования адсорбированного слоя АК, особенно для тиолсодержащих АК, однако наличие в системе кислорода сближает адсорбционные характеристики АК. При малых степенях заполнения поверхности медного электрода аланином и цистеином адсорбированный кислород несколько затруд-

няет адсорбцию и препятствует латеральным взаимодействиям, а при высоких степенях заполнения АК кислород способствует установлению дополнительных латеральных связей. На платиновом катоде кислород препятствует латеральным взаимодействиям как при малых, так и при высоких степенях заполнения.

Установленные особенности образования супрамолекулярных связей при адсорбции АК на медном и платиновом катоде позволяют в определенной степени расширить представления о поведении АК на отрицательно заряженных поверхностях биомембран.

РЕЗЮМЕ. Досліджено адсорбцію α - і β -аланіну, цистеїну, ацетилцистеїну на мідному та платиновому катодах методом спектроскопії електрохімічного імпедансу. Розраховано енергії адсорбції і латеральних взаємодій, вивчено їх залежність від будови амінокислот, матеріалу електрода, концентрації і ступеня заповнення поверхні, а також наявності кисню в системі. Встановлено особливості утворення супрамолекулярних зв'язків при адсорбції досліджених амінокислот, запропоновано можливі орієнтації амінокислот, адсорбованих у формі аніонів або цвітер-йонів. Показано, що адсорбований кисень сприяє встановленню додаткових латеральних зв'язків при адсорбції α -аланіну і ацетилцистеїну на міді.

SUMMARY. Adsorption of α -alanine, β -alanine, cysteine and acetylcysteine on the copper and platinum cathodes is investigated by electrochemical impedance spectroscopy. Both adsorption energies and lateral interaction energies are calculated. The dependence of these energies on the structure of the amino acids, on the electrode material, on the concentration of the amino

acid, and on the degree of surface coverage, as well as on the presence of oxygen in the system is studied. The specific features of supramolecular bonds formation at the adsorption of amino acids are studied, offering possible arrangement of amino acids adsorbed in the form of anions or zwitterions. It is shown that adsorbed oxygen promotes formation of additional lateral bonds of α -alanine and acetylcysteine at their adsorption on copper.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arnold S., Feng Z.Q., Kakiuchi T. et al. // J. Electroanal. Chem. -1997. -**438**, № 1–2. -P. 91–97.
2. Chen Q., Richardson N.V. // Nature Mater. -2003. -№ 2. -P. 324–328.
3. Ulman A. // Chem.Rev. -1996. -**96**. -P. 1533–1554.
4. Feng J., Pandey R.B., Berry R.J. et al. // Soft Matter. -2011. -№ 7. -P. 2113–2120.
5. Iwai H., Egawa C. // Langmuir. -2010. -**26**, № 4. -P. 2294–2300.
6. Petrovic M., Radovanovic M., Simonovic A., Milic S. // Int. J. Electrochem. Sci. -2012. -**7**. -P. 9043–9057.
7. Brolo A.G., Germain P., Hager G. // J. Phys. Chem. B. -2002. -**106**, № 23. -P. 5982–5987.
8. Hager G., Brolo A.G. // J. Electroanal. Chem. -2009. -**625**, № 2. -P. 109–116.
9. Bieri M.M., Burgi T. // J. Phys. Chem. B. -2005. -**109**, № 47. -P.22476–22485.
10. Волков В.А. Коллоидная химия. Поверхностные явления и дисперсные системы. -М.: МГТУ, 2001. -С. 241–260.
11. Matos J.B., Pereira L.P., Agostinho S.M.L. et al. // J. Electroanal. Chem. -2004. -**570**, № 1. -P. 91–94.
12. Santos E., Avalle L., Potting K. et al. // Electrochim. Acta. -2008. -**53**, № 23. -P. 6807–6817.
13. Шаповал Г.С., Кружляк О.С. // Полимер. журн. -2013. -**35**, № 1. -С. 69.
14. Миронюк И.Е., Шаповал Г.С., Громова В.Ф., Кухарь В.П. // Теорет. и эксперимент. химия. -2001.-**37**, № 2. -С. 105–108.

Институт биоорганической химии и нефтехимии
НАН Украины, Киев

Поступила 20.06.2014