

Vibracijska analiza aminokiselina

Pecik, Veronika

Master's thesis / Diplomski rad

2025

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:291214>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Veronika Pecik

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, ožujak 2025.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA DIPLOMSKE ISPITE

Kandidatkinja **Veronika Pecik**

Predala je izrađen diplomski rad dana: 24. ožujka 2025.

Povjerenstvo u sastavu:

Izv. prof. dr. sc. Vladimir Dananić, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Doc. dr. sc. Iva Movre Šapić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

Izv. prof. dr. sc. Vesna Očelić Bulatović, Sveučilište u
Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Dr. sc. Josipa Papac Zjačić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

povoljno je ocijenilo diplomski rad i odobrilo obranu diplomskog
rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Diplomski ispit održat će se dana: 27. ožujka 2025.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Veronika Pecik

Vibracijska analiza aminokiselina

DIPLOMSKI RAD

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Vladimir Dananić

Članovi ispitnog povjerenstva: izv. prof. dr. sc. Vladimir Dananić

doc. dr. sc. Iva Movre Šapić

izv. prof. dr. sc. Vesna Ocelić Bulatović

Zagreb, ožujak 2025.

Zahvaljujem svom mentoru izv. prof. dr. sc. Vladimir Dananiću na stručnom vodstvu, podršci i korisnim savjetima tijekom izrade ovog rada.

Posebnu zahvalnost dugujem svojim roditeljima i obitelji na nesebičnoj podršci, strpljenju i ohrabrenju kroz cijelo moje školovanje.

Hvala mojim prijateljima na neizmjernej podršci, razumijevanju i motivaciji tijekom cijelog ovog procesa

SAŽETAK:

Ovaj rad bavi se vibracijskom analizom aminokiselina pomoću infracrvene (IR) spektroskopije i teorijskih proračuna u programu Gaussian 09. Cilj istraživanja bio je usporediti teorijske IR spektre s eksperimentalnim podacima iz literature kako bi se identificirali ključni vibracijski modovi i utvrdio utjecaj okoline na vibracijska svojstva molekula.

Analizirane su tri aminokiseline – glicin, histidin i asparaginska kiselina. Uočene su značajne razlike između spektara snimljenih u različitim uvjetima, posebno između teorijskih spektara izračunatih u vakuumu i eksperimentalnih spektara dobivenih u vodenoj otopini ili čvrstom stanju. Rezultati su pokazali da interakcije s molekulama vode putem vodikovih veza značajno utječu na pomake i intenzitet vibracijskih vrpca, posebno u području stretching vibracija O-H, N-H i C=O veza.

Usporedba eksperimentalnih i teorijskih spektara pokazala je da Gaussian 09 precizno modelira vibracijske modove, iako teorijske frekvencije često odstupaju od eksperimentalnih zbog idealiziranih uvjeta modeliranja. Unatoč tome, skaliranjem frekvencija moguće je postići bolje slaganje s eksperimentalnim podacima.

Zaključno, ovaj rad potvrđuje važnost kombinacije teorijskih i eksperimentalnih metoda u karakterizaciji aminokiselina te naglašava značaj okoline u određivanju njihovih spektroskopskih svojstava.

Ključne riječi: vibracijska analiza, IR spektroskopija, Gaussian 09, aminokiseline, glicin, histidin, asparaginska kiselina.

SUMMARY:

This paper focuses on the vibrational analysis of amino acids using infrared (IR) spectroscopy and theoretical calculations performed with the Gaussian 09 program. The aim of the study was to compare theoretical IR spectra with experimental data from the literature to identify key vibrational modes and determine the influence of the environment on the vibrational properties of molecules.

Three amino acids—glycine, histidine, and aspartic acid—were analyzed. Significant differences were observed between spectra recorded under different conditions, particularly between theoretical spectra calculated in a vacuum and experimental spectra obtained in aqueous solution or solid-state form. The results showed that interactions with water molecules through hydrogen bonding significantly affect shifts and intensities of vibrational bands, especially in the region of stretching vibrations of O-H, N-H, and C=O bonds.

The comparison of experimental and theoretical spectra demonstrated that Gaussian 09 accurately models vibrational modes, although theoretical frequencies often deviate from experimental ones due to the idealized modeling conditions. Nevertheless, frequency scaling can improve agreement with experimental data.

In conclusion, this study confirms the importance of combining theoretical and experimental methods in the characterization of amino acids and highlights the significance of the environment in determining their spectroscopic properties.

Keywords: vibrational analysis, IR spectroscopy, Gaussian 09, amino acids, glycine, histidine, aspartic acid.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1. Osnove vibracijske analize.....	2
2.2. Povijesni razvoj infracrvene i Ramanove spektroskopije	3
2.3 Osnovni principi vibracijske analize	3
2.3.1 Molekulske vibracije.....	3
2.3.2 Infracrvena spektroskopija	4
2.3.3. FT-IR spektroskopija (infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom).....	5
2.3.4. Ramanova spektroskopija	6
2.3.5. Osnovni principi osciliranja molekula.....	6
2.3.6. Klasični harmonijski oscilator.....	7
2.3.7. Kvantnomehanički harmonijski oscilator.....	9
2.3.8. Proces adsorpcije infracrvenog zračenja	11
2.4. Aminokiseline	13
2.4.1 Klasifikacija aminokiselina	15
2.5. Glicin	17
2.5.1. Svojstva, karakteristike i primjena glicina	17
2.6 Histidin	20
2.6.1. Svojstva, dobivanje i funkcije histidina.....	21
2.7. Asparaginska kiselina	22
2.7.1 Struktura i svojstva asparaginske kiseline	22
2.8. Gaussian 09	24
2.8.1. DTF	24
2.8.2. Osnovne aproksimacije	25
2.8.3. Osnovni principi DFT-a	26
2.8.4. Kohn-Shamova formulacija DFT-a.....	27
2.8.5. Aproksimacija lokalne gustoće (LDA – “local density approximation”)	28
3. EKSPERIMENTALNI I RAČUNALNI DIO.....	29
4. REZULTSTI I RASPRAVA	30
4.1 Glicin	30
4.2 Glicin u vodi	34
4.3. Histidin	35

4.4. Asparaginska kiselina	38
5. ZAKLJUČAK	42
6. LITERATURA.....	43

1. UVOD

Aminokiseline su osnovne jedinice proteina, koji su ključni za gotovo sve biokemijske procese u organizmu. Svaka aminokiselina sastoji se od centralnog ugljikova atoma vezanog za amino ($-\text{NH}_2$) i karboksilnu ($-\text{COOH}$) grupu, te varijabilnog bočnog lanca, koji se razlikuje među različitim aminokiselinama i određuje njihove specifične kemijske i biološke osobitosti. Aminokiseline igraju ključnu ulogu u biokemijskim procesima jer, osim što čine proteine, sudjeluju i u mnogim drugim funkcijama unutar organizma. Proteini, koji se sastoje od dugačkih lanaca aminokiselina, obavljaju širok spektar zadataka, uključujući katalizu enzimatskih reakcija, prijenos signala, transport tvari unutar stanica, strukturalnu potporu stanicama i tkivima, te imunološku zaštitu. Osim toga, aminokiseline sudjeluju u sintezi neurotransmitera, hormona i drugih bioaktivnih molekula, čime imaju važnu ulogu u održavanju homeostaze i pravilnog funkcioniranja organizma. Neke aminokiseline, poznate kao esencijalne, organizam ne može sintetizirati i stoga moraju biti unutar hrane, dok ostale, tzv. neesencijalne, tijelo može proizvoditi iz drugih spojeva. Balans između sintetiziranih i unesenih aminokiselina ključan je za održavanje optimalnih biokemijskih funkcija i zdravlja organizma [1].

Jedan od ključnih pristupa za proučavanje aminokiselina je vibracijska analiza, koja omogućuje ispitivanje njihovih strukturnih svojstava pomoću spektroskopskih metoda poput infracrvene (IR) i Ramanove spektroskopije. Vibracijska analiza temelji se na oscilacijama atoma unutar molekule, pri čemu svaka funkcionalna skupina ima karakteristične vibracijske frekvencije. Ove frekvencije omogućuju identifikaciju kemijskih veza, ispitivanje intermolekulskih interakcija i proučavanje konformacijskih promjena aminokiselina.[2]

2. OPĆI DIO

2.1. Osnove vibracijske analize

Vibracijska analiza je grana molekularne spektroskopije koja proučava oscilacije (vibracije) atoma unutar molekula. Tri su glavne metode koje omogućuju proučavanje molekularnih vibracija: infracrvena spektroskopija (IR), Ramanova spektroskopija i spektroskopija neelastičnog raspršenja neutrona. Prve dvije metode su široko dostupne u laboratorijima, dok raspršenje neutrona zahtijeva specifičan izvor neutrona, obično u nuklearnim reaktorima. Istraživanja u vibracijskoj spektroskopiji donijela su obimne podatke o vibracijama poliatomskih molekula. Infracrvena spektroskopija imala je značajan utjecaj na ovo područje, zahvaljujući brzom razvoju infracrvenih instrumenata, dok je Ramanova spektroskopija postala značajnija nakon uvođenja lasera kao izvora svjetlosti. Uvođenjem Fourierove transformacijske infracrvene spektroskopije (FTIR) i potpuno podesivih lasera, infracrvena spektroskopija je dodatno napredovala. Razvoj novih računarskih alata i brzi napredak instrumentalnih tehnika vode nas u novo doba vibracijske spektroskopije. Vibracijska spektroskopija pruža dinamičan prikaz molekule, dok metoda rendgenske difrakcije daje statičku sliku. Iako je vibracijska spektroskopija slabija za strukturne studije u usporedbi s rendgenskom difrakcijom, njena je prednost u brzini analize. Ova metoda široko se primjenjuje jer omogućuje ispitivanje tvari u različitim agregatnim stanjima: kristalima, prahovima, tekućinama, otopinama, plinovima, tankim filmovima i adsorbiranim vrstama. Podaci u vibracijskom spektru su vrlo bogati, ali pravi izazov predstavlja njihova interpretacija. Broj, položaj i intenzitet apsorpcijskih vrpca mogu se povezati s elektronskom strukturom sustava. Vibracijska spektroskopija pomaže u razumijevanju molekularne strukture, ali također pruža važne informacije o intramolekularnim silama među atomima, intermolekularnim interakcijama u kondenziranoj fazi i prirodi kemijskih veza.

Glavni cilj visokorezolucijske molekularne spektroskopije je određivanje molekularne geometrije i potencijalne energetske funkcije. Vibracijski spektri mogu se jednostavno koristiti kao "molekularni otisci prstiju" za karakterizaciju i identifikaciju molekula.[3]

2.2. Povijesni razvoj infracrvene i Ramanove spektroskopije

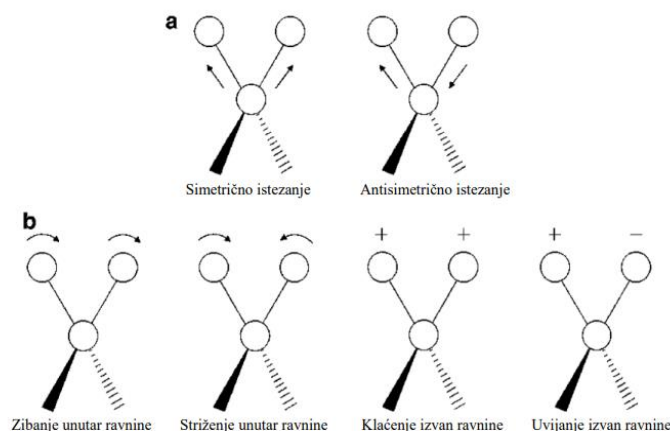
Infracrvena spektroskopija bila je prva široko korištena spektroskopska tehnika u organskoj kemiji. Tijekom 1930-ih i 1940-ih, i IR i Ramanova spektroskopija bile su eksperimentalno zahtjevne, no s vremenom su postale sve dostupnije. Rani razvoj IR spektroskopije odvijao se u industriji i akademskim krugovima, a u istraživanjima su korišteni mehanički modeli molekula. Ti modeli prikazivali su atomske jezgre kao čelične kuglice povezane oprugama, simulirajući vibracije kemijskih veza. Oscilacije su se proučavale pomoću ekscentričnog motora, omogućujući bolje razumijevanje vibracijskih modova molekula. Razvoj IR spektroskopije započeo je 1940-ih, kada su počeli koristiti NaCl prizme za proučavanje ugljikovodika. 1946. godine, s komercijalnom dostupnošću IR instrumenata, dizajniran je IR spektrometar s kratkom žarišnom duljinom, a uvođenjem korelacijskih dijagrama funkcionalnih skupina, IR spektroskopija je postala korisna za određivanje strukture molekula. Daljnji razvoj tehnologije, poput dvostrukih snopova i Fourierove transformacije IR-a (FT-IR), omogućio je brži napredak ove tehnike. Ramanova spektroskopija također je nedavno doživjela značajan napredak [4]

2.3 Osnovni principi vibracijske analize

2.3.1 Molekulske vibracije

Atomi u molekuli nisu statični već su u stalnom gibanju. Jednoatome molekule vibriraju samo na jedan način, a to je rastezanje veze. Kod poliatomnih molekula postoji nekoliko oblika vibracije jer kod njih može doći do mijenjanja kutova i duljina veze. Vibracijski modovi su specifični načini na koje se atomi unutar molekule mogu kolektivno gibati u odnosu jedni na druge. Ovisno o vrsti gibanja postoje različite vrste vibracijskih modova; rastezanje koje se odnosi na promjenu duljine kemijske veze te može biti simetrično; ako se atomi gibaju prema ili od središnjeg atoma istovremeno te asimetrično kada se jedan atom približava središnjem atomu dok se drugi istovremeno udaljava. Promjena kuta između veza opisuje se savijanjem. Postoji nekoliko vrsta savijanja ; njihanje (gibanje atoma izvan ravnine), ljuljanje (gibanje u ravnini molekule), škare (dva atoma se približavaju i udaljavaju unutar ravnine), uvijanje (rotacija jedne grupe atoma u odnosu na drugu). Broj vibracijskih modova ovisi o broju atoma u molekuli. Broj mogućih vibracijskih modova ovisi o broju atoma u molekuli i može se

izračunati formulom: $(3N - 6)$ za nelinearne molekule $(3N - 5)$ za linearne molekule, gdje je N broj atoma u molekuli. [5]



Slika 1. Vrste vibracija troatomnih sustava: (a) vibracije istežanja i (b) vibracije savijanja.

Simboli "+" i "-" označavaju kretanje prema papiru, odnosno od papira [6]

2.3.2 Infracrvena spektroskopija

Infracrvena spektroskopija se temelji na procesu apsorpcije elektromagnetskog zračenja, gdje molekula može apsorbirati IR zračenje samo ako tijekom svojih vibracija dolazi do promjene u dipolnom momentu. IR spektar prikazuje odnos između apsorpcije ili transmitancije i valne duljine ili valnog broja, a vibracije molekule pojavljuju se kao vrhovi ili trake u spektru. U području od 4000 do 1400 cm^{-1} mogu se uočiti vibracije specifičnih funkcionalnih skupina unutar molekule, a taj dio spektra naziva se područjem skupinskih vibracija. Na nižim valnim brojevima, od približno 1500 do 650 cm^{-1} , nalazi se otisak prsta karakterističan za svaku molekulu, što je korisno za identifikaciju tvari usporedbom spektra nepoznate i poznate tvari. IR spektroskopija omogućava analizu uzoraka u svim agregatnim stanjima, pri čemu se za čvrste uzorke često koristi KBr metoda ili uzorak suspendiran u mineralnom ulju, koji se stavlja između pločica od natrijevog klorida ili kalijevog bromida. Za tekuće uzorke koriste se kivete s prozorima od halogenida alkalijskih ili zemnoalkalijskih metala, dok za plinovite uzorke, zbog njihove niže koncentracije, koriste se kivete s duljim optičkim putem. [4]

2.3.3. FT-IR spektroskopija (infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom)

FT-IR spektroskopija jedna je od najčešće korištenih metoda za analizu materijala pomoću infracrvenog zračenja. Ova tehnika omogućuje precizno određivanje kemijskog sastava uzorka temeljem apsorpcije infracrvene svjetlosti, što uzrokuje specifične vibracije molekula. FT-IR spektroskopija zamijenila je klasičnu IR spektroskopiju zbog bržeg snimanja spektra, veće osjetljivosti i pouzdanosti.

FT-IR spektroskopija obuhvaća tri glavne tehnike mjerenja:

1. Transmisijska spektroskopija – IR svjetlost prolazi kroz uzorak, pri čemu određene frekvencije bivaju apsorbirane. Za analizu je često potrebno razrjeđivanje ili posebna priprema uzorka.
2. Prigušena totalna refleksija (ATR) – omogućuje analizu uzorka s minimalnom pripremom. IR svjetlost se reflektira unutar kristala (germanij, dijamant, cink selenid), dok se mali dio svjetlosti apsorbira, pružajući spektar uzorka.
3. Refleksijska spektroskopija – temelji se na analizi reflektirane IR svjetlosti, što omogućuje pregled čvrstih uzoraka poput premaza, polimera i umjetničkih djela.

Princip rada FT-IR spektroskopije temelji se na interakciji IR svjetlosti s uzorkom, gdje molekule apsorbiraju određene frekvencije, uzrokujući vibracijske promjene. Fourierova transformacija omogućuje pretvaranje dobivenih podataka u spektralni prikaz.

Ova tehnika nalazi široku primjenu u raznim industrijama, uključujući:

- Kozmetičku industriju – brza i precizna identifikacija sastava proizvoda.
- Biomedicinu – analiza tkiva i detekcija biomarkera bolesti poput Alzheimerove.
- Farmaceutsku industriju – kontrola kvalitete lijekova.
- Analizu polimera, boja, ljepila i premaza – identifikacija materijala i forenzičke analize.

Zbog brzine, osjetljivosti i jednostavnosti pripreme uzoraka, FT-IR spektroskopija ostaje ključna metoda u analitičkoj kemiji i industrijskim primjenama. [4]

2.3.4. Ramanova spektroskopija

Za razliku od IR spektroskopije, koja se bazira na apsorpciji zračenja, Ramanova spektroskopija analizira raspršeno monokromatsko elektromagnetsko zračenje. Ključni uvjet za vibraciju koja se pojavljuje u Ramanovom spektru je promjena polarizabilnosti molekule tijekom vibracije. Prilikom raspršenja zračenja, najviše energije dolazi od Rayleighovog elastičnog raspršenja, gdje su energije upadnog i raspršenog zračenja iste. Međutim, kada molekula prenese energiju na upadni foton ili upadni foton prenese energiju na molekulu, dolazi do razlike u energijama, što rezultira neelastičnim raspršenjem, poznatim kao Ramanovo raspršenje. Ako je energija raspršenog fotona manja od energije upadnog, dolazi do Stokesovog raspršenja, koje nastaje kada molekula prelazi iz osnovnog vibracijskog stanja u virtualno stanje i potom se vraća u pobuđeno stanje. S druge strane, ako je energija raspršenog fotona veća od energije upadnog fotona, dolazi do anti-Stokesovog raspršenja, pri čemu molekula prelazi iz pobuđenog stanja u virtualno stanje.[4]

2.3.5. Osnovni principi osciliranja molekula

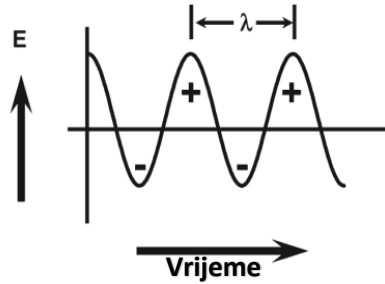
Infracrvena svjetlost, kao i sva ostala svjetlost smatra se elektromagnetskim zračenjem koje se sastoji se od oscilirajućih električnih i magnetskih polja koja se šire u obliku valova. U IR i Ramanovoj spektroskopiji obično se razmatra samo električno polje dok se magnetska komponenta zanemaruje. Ključni parametri elektromagnetskog zračenja su valna duljina (λ), frekvencija (ν) i valni broj ($\tilde{\nu}$), koji su međusobno povezani izrazima:

$$\tilde{\nu} = \frac{\nu}{c/n} = \frac{1}{\lambda} \quad (1)$$

gdje je c brzina svjetlosti, a n indeks loma medija kroz koji svjetlost prolazi. Prema kvantnoj teoriji, elektromagnetsko zračenje ne prenosi energiju kontinuirano, već u obliku diskretnih čestica nazvanih fotoni. Energija fotona (E_p) ovisi o njegovoj frekvenciji (ν) i određena je izrazom:

$$E_p = h\nu \quad (2)$$

gdje je h Plancova konstanta, koja iznosi $6,6256 \times 10^{-27}$ Js. Molekula može apsorbirati ili emitirati foton određene energije, čime dolazi do prijenosa energije.



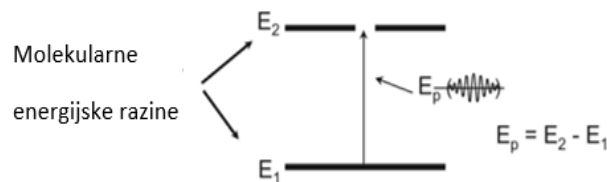
Slika 2. Amplituda električnog vektora elektromagnetskog zračenja u funkciji vremena. [4]

U apsorpcijskoj spektroskopiji taj proces uzrokuje prijelaz molekule iz osnovnog u pobuđeno stanje. Promjena energije molekule može se dogoditi kroz rotacijske (E_{rot}), vibracijske (E_{vib}) ili elektronske (E_{el}) prijelaze, pri čemu ukupna promjena energije slijedi jednadžbu:

$$\Delta E = E_p = h\nu = hc\tilde{\nu} \quad (3)$$

Kada molekula apsorbira foton, njezina energija raste, što znači da je ΔE pozitivno. U osnovnom pristupu, ukupna energija molekule sastoji se od zbroja elektronske, vibracijske i rotacijske komponente: [4]

$$E_T = E_{el} + E_{vib} + E_{rot} \quad (4)$$



Slika 3. Adsorpcija elektromagnetskog zračenja [4]

2.3.6. Klasični harmonijski oscilator

Razumijevanje molekularnih vibracija ključno je za analizu infracrvenih (IR) i Ramanovih spektra, a jedan od temeljnih modela koji opisuje ove pojave je klasični harmonijski oscilator. Ovaj model potječe iz klasične mehanike i pruža pojednostavljeni prikaz vibracija u dvoatomnim molekulama. Dvoatomna molekula može se zamisliti kao sustav dviju masa (m_1 i m_2) povezanih oprugom bez mase. Ova opruga omogućuje oscilacije atoma duž osi njihovog međusobnog povezivanja, pri čemu se pomaci pojedinih masa iz ravnotežnog položaja označavaju kao X_1 i X_2 . U idealnom slučaju, ovi pomaci mijenjaju se periodično u skladu sa

sinusnom ili kosinusnom funkcijom, što znači da se molekula ponaša kao harmonijski oscilator. Iako obje mase osciliraju s istom frekvencijom, njihove amplitude nisu jednake – veća masa oscilira manjom amplitudom, dok manja masa ima veći pomak. Ovaj omjer amplituda definiran je obrnuto proporcionalnim odnosom njihovih masa:

$$\frac{x_1}{x_2} = \frac{m_2}{m_1} \quad (4)$$

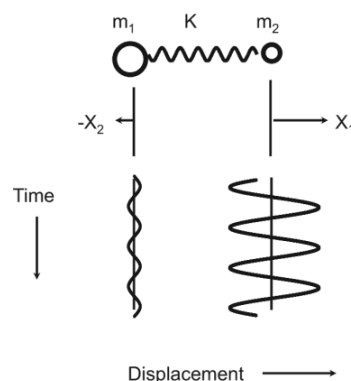
Jedan od ključnih parametara u opisu vibracija je vibracijska frekvencija, koja ovisi o masama atoma i sili koja ih drži povezanim. Za dvoatomnu molekulu, klasična frekvencija vibracija određena je izrazom:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{K \left(\frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2} \right)} \quad (5)$$

gdje je K konstanta sile (izražena u dyn/cm), dok su m_1 i m_2 mase atoma izražene u gramima. Uvođenjem pojma reducirane mase (μ), koja pojednostavljuje matematički opis vibracija, gornja se jednadžba može zapisati u alternativnom obliku:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2} \quad \text{ili} \quad \mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (6)$$

Ovaj model pruža temelj za razumijevanje kako se molekule ponašaju pod utjecajem elektromagnetskog zračenja. U stvarnim sustavima vibracije mogu biti složenije zbog dodatnih interakcija između atoma, ali klasični harmonijski oscilator ostaje ključan koncept u analizi vibracijskih spektara molekula.



Slika 4. Gibanje jednostavne dvoatomne molekule. Opruga ima konstantu K , mase su m_1 i m_2 , a x_1 i x_2 predstavljaju vektore pomaka svake mase iz ravnotežnog položaja pri pretpostavci harmonijskog osciliranja. [4]

U vibracijskoj spektroskopiji valni broj ($\bar{\nu}$), koji predstavlja broj valova po jedinici duljine, često se izražava pomoću konstante sile veze (K) i masa dvaju atoma (m_1 i m_2) uključenih u vibraciju. Matematički, valni broj se definira kao:

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{K \left(\frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2} \right)} \quad (7),$$

gdje je c brzina svjetlosti u cm/s. Ako se mase izraze u atomskim jedinicama mase (u), a konstanta sile u milidinima po angstromu, tada se koristi prilagođena formula:

$$\nu = 1303 \sqrt{K \left(\frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2} \right)} \quad (8),$$

gdje je 1303 faktor koji uključuje Avogadrovu konstantu ($N_a = 6.023 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$) i matematičke konstante. Ova jednadžba pokazuje da na frekvenciju dvoatomnog oscilatora utječu jačina kemijske veze i mase atoma. Jače kemijske veze i lakši atomi rezultiraju višim vibracijskim frekvencijama. Iako klasični harmonijski oscilator pruža osnovno razumijevanje molekularnih vibracija, za preciznije analize potrebno je primijeniti kvantnomehanički pristup koji uzima u obzir diskretne energetske razine molekularnih sustava. [4]

2.3.7. Kvantnomehanički harmonijski oscillator

Kvantnomehanička analiza vibracijskih sustava temelji se na činjenici da molekule mogu postojati samo u diskretnim energetske stanjima. Za opis vibracija u diatomskim molekulama često se koristi model harmonijskog oscilatora, pri čemu je potencijalna energija definirana kao:

$$PE = \frac{1}{2} KX^2 \quad (9)$$

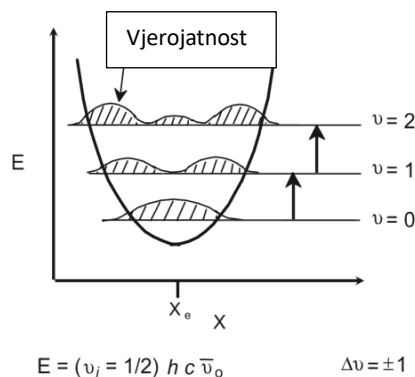
Ovdje konstanta sile K određuje zakrivljenost potencijalne jame, dok X predstavlja pomak od ravnotežne međunuklearne udaljenosti x_{eq} . Ovaj model pokazuje da molekule ne mogu imati proizvoljne vrijednosti vibracijske energije, već samo određene diskretne razine definirane izrazom:

$$E_i = \left(v_i + \frac{1}{2} \right) h\nu \quad (10)$$

gdje je v_i kvantni broj, a ν vibracijska frekvencija oscilatora. Prijelazi između ovih stanja mogući su samo u pravilnim energetske skokovima, što omogućava njihovo istraživanje spektroskopskim metodama. Zanimljivo je da čak i u najnižem mogućem stanju, poznatom kao

energija nulte točke, molekula posjeduje određenu vibracijsku energiju koja se ne može eliminirati, što je posljedica temeljnih načela kvantne mehanike: [4]

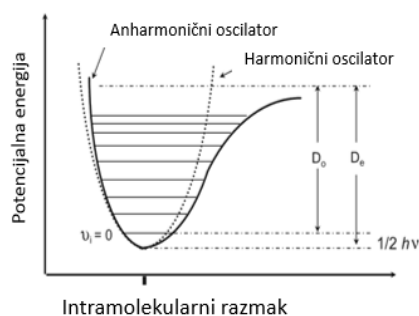
$$E_i = \frac{1}{2} h\nu. \quad (11)$$



Slika 4. Potencijalna energija, E , u odnosu na međunuklearnu udaljenosti, x za dvoatomni harmonijski oscilator [4]

Graf prikazuje zakrivljene potencijalne jame za harmonijski oscilator zajedno s funkcijama vjerojatnosti koje opisuju međunuklearnu udaljenost X unutar svake energetske razine. Budući da kvantna mehanika ne dopušta precizno određivanje položaja mase tijekom vibracije, ove funkcije predstavljaju vjerojatnost pronalaska čestice na određenom mjestu, što proizlazi iz Heisenbergovog načela neodređenosti.

Dosadašnja analiza bila je usmjerena na harmonički oscilator, no precizniji opis uključuje i anharmoničnost. Ona nastaje kada promjena dipolnog momenta ne slijedi linearnu proporcionalnost u odnosu na pomak jezgri.



Slika 6. Usporedba dijagrama potencijalne energije harmoničkog i anharmoničkog oscilatora. [4]

Neharmonički oscilator ima nekoliko karakterističnih svojstava, uključujući mehaničku neharmoničnost, koja uzrokuje neujednačen raspored energetske razine, te električnu neharmoničnost, koja rezultira pojavom viših harmonika i kombiniranih spektroskopskih prijelaza.

Neharmonični oscilator pruža precizniji prikaz stvarnog sustava, gdje se odstupanje od idealnog harmoničkog gibanja povećava s rastom vibracijskog kvantnog broja. Na višim vibracijskim razinama razmak između susjednih energetske stanja postaje sve manji, sve dok ne dođe do točke disocijacije. Za harmonični oscilator dopušteni su prijelazi samo između neposredno susjednih razina, poznati kao temeljni prijelazi ($\Delta v = \pm 1$). S druge strane, u slučaju anharmoničnog oscilatora mogu se pojaviti i prijelazi na više harmonike ($\Delta v = \pm 2, \pm 3$) te kombinirane vrpce. Prijelazi na više vibracijske razine javljaju se rjeđe u odnosu na temeljne i karakterizira ih značajno manji intenzitet. Energija koja uključuje korekciju za anharmoničnost izražava se formulom:

$$E_v = h\nu_e \left(v + \frac{1}{2}\right) - h\chi_e \nu_e \left(v + \frac{1}{2}\right)^2 \quad (12)$$

Gdje je $h\chi_e \nu_e$ amplituda neharmonije. U neharmoničnom modelu vibracije nisu potpuno odvojene jedna od druge, već mogu međusobno utjecati. Taj efekt posebno je izražen kod poliatomskih molekula, koje pokazuju veću sklonost neharmoničnosti. [4]

2.3.8. Proces adsorpcije infracrvenog zračenja

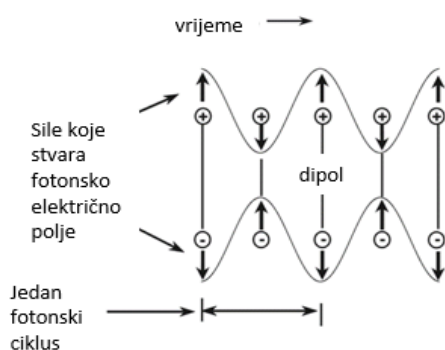
Infracrveni (IR) spektrometar sa širokopojasnim izvorom zračenja istovremeno emitira infracrvene frekvencije, pri čemu se razlikuju tri spektralna područja: blisko infracrveno ($14\,000\text{--}4\,000\text{ cm}^{-1}$), srednje infracrveno ($4\,000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) i daleko infracrveno ($400\text{--}10\text{ cm}^{-1}$). U apsorpcijskoj spektroskopiji, odnos između intenziteta upadne i prenesene IR radijacije te koncentracije ispitivane tvari opisuje se Lambert-Beerovim zakonom. Dobiveni IR spektar prikazuje se grafički, gdje se intenzitet apsorpcije ili transmitancije prikazuje u odnosu na valni broj, koji odgovara energetskej razlici između osnovnog i pobuđenog vibracijskog stanja. Dva ključna faktora koja utječu na apsorpciju IR zračenja su energija zračenja i dipolni moment molekule. Kada zračenje dolazi u interakciju s molekulom, apsorpcija nastaje ako frekvencija oscilirajućeg zračenja odgovara prirodnoj frekvenciji određenog vibracijskog moda. Da bi IR foton prenio energiju na molekulu, vibracije moraju dovesti do promjene njenog dipolnog

momenta. Ovo pravilo IR spektroskopije znači da su samo one vibracije koje uzrokuju promjenu dipolnog momenta infracrveno aktivne.

Dipolni moment molekule, označen kao μ , ovisi o veličini atomskih naboja (e_i) i njihovim prostornim položajima (r_i), što se matematički izražava kao:

$$\mu = \sum e_i r_i \quad (13)$$

Dipolni momenti neutralnih molekula proizlaze iz djelomične raspodjele naboja na atomima, a mogu se odrediti pomoću molekularno-orbitalnih izračuna. Kao jednostavna aproksimacija, djelomični naboji mogu se procijeniti na temelju razlika u elektronegativnosti atoma.



Slika 7. Oscilirajuće električno polje fotona stvara oscilirajuće, suprotno usmjerene sile na pozitivni i negativni naboj molekularnog dipola. Razmak dipola oscilira istom frekvencijom kao i upadni foton [4]

Dijatomske molekule poput H_2 , N_2 i O_2 nemaju dipolni moment, što ih čini neaktivnima u infracrvenom (IR) području, iako su aktivne u Ramanovoj spektroskopiji. Nasuprot tome, heteronuklearne diatomske molekule, poput HCl , NO i CO , posjeduju dipolni moment i sudjeluju u IR aktivnim vibracijama. Apsorpcija infracrvenog zračenja odvija se kada vibracija unutar molekule dovede do promjene njezinog dipolnog momenta, što rezultira prijelazom između različitih energetske stanja vibracije. Oscilirajuće električno polje IR zračenja djeluje na molekularni dipol, uzrokujući njegovu periodičnu promjenu, pri čemu se dipolni moment naizmjenično povećava i smanjuje. Budući da je valna duljina IR zračenja znatno veća od same molekule, električno polje može se smatrati homogeno raspoređenim. U kontekstu kvantne

mehanike, apsorpcija IR zračenja povezana je s električnim dipolnim prijelazom, pri čemu je ključni uvjet da se dipolni moment μ mijenja s vibracijskom amplitudom Q ,

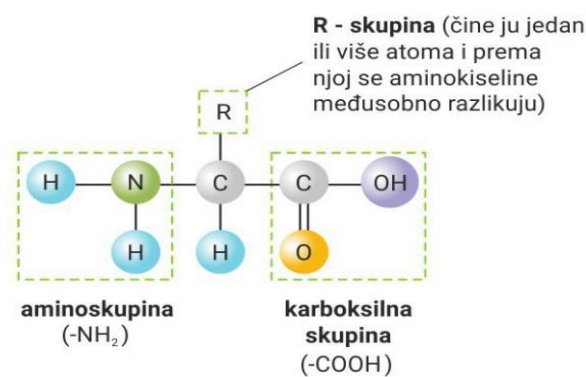
$$\left(\frac{\partial \mu}{\partial Q}\right)_0 \neq 0 \quad (14)$$

Intenzitet IR spektralnih vrpca proporcionalan je kvadratu promjene dipolnog momenta. [4]

2.4. Aminokiseline

Aminokiseline su osnovni gradivni blokovi proteina i ključne biomolekule u biokemijskim procesima te su otkrivene razgradnjom proteina. Razgradnja proteina na pojedinačne aminokiseline moguća je različitim metodama, a prva istraživanja na ovom području bila su usmjerena upravo na slobodne aminokiseline dobivene iz proteina. Uobičajeno je da se u proteinima nalazi dvadeset različitih aminokiselina. Asparagin je bio prvi otkriveni predstavnik ove skupine 1806. godine, dok je posljednja identificirana aminokiselina, treonin, otkrivena tek 1938. Svaka aminokiselina ima svoje specifično ime, često izvedeno iz izvora iz kojeg je prvi put izolirana. Na primjer, asparagin je dobio naziv prema šparogama, glutamat prema pšeničnom glutenu, dok je tirozin nazvan prema grčkoj riječi za sir (tyros), budući da je prvi put izoliran upravo iz njega. Glicin, čije ime dolazi od grčke riječi glykos ("slatko"), nazvan je tako zbog svog karakterističnog slatkastog okusa. Aminokiseline dijele zajedničke strukturne značajke. [7]

Dvadeset standardnih aminokiselina pripada skupini α -aminokiselina, što znači da im je karboksilna i aminoskupina vezana za isti atom ugljika, poznat kao α -ugljik. Ono što ih međusobno razlikuje su bočni lanci, odnosno R skupine, koje se razlikuju po kemijskoj strukturi, veličini i električnom naboju, a time i po topljivosti u vodi. Osim ovih uobičajenih aminokiselina, postoje i rjeđe varijante. Neke nastaju modifikacijom nakon što je protein već sintetiziran, dok su druge prisutne u organizmima, ali se ne nalaze kao sastavni dijelovi proteina. Postoje i dvije specifične aminokiseline koje su karakteristične samo za određene proteine. Kako bi se olakšalo njihovo označavanje, svaka od standardnih aminokiselina ima dodijeljenu troslovnju skraćenicu i jednoslovni simbol, koji služe za brzo bilježenje njihovog slijeda u proteinskim lancima. [7]



Slika 8. Osnovna struktura aminokiselina [8]

Sve standardne aminokiseline, osim glicina, imaju α -ugljikov atom povezan s četiri različite skupine: karboksilnom skupinom, aminoskupinom, R-skupinom i atomom vodika. Kod glicina, R-skupina je također vodikov atom. Zbog takvog vezanja, α -ugljik predstavlja kiralno središte. S obzirom na tetraedarski raspored kemijskih veza oko α -ugljika, ove skupine mogu zauzeti dva različita prostorna rasporeda, što dovodi do postojanja dvaju stereoizomera. Budući da se ovi oblici ne mogu preklopiti, već su zrcalne slike jedan drugoga, nazivaju se enantiomerima. Molekule koje sadrže kiralno središte pokazuju optičku aktivnost, što znači da mogu rotirati ravninski polariziranu svjetlost. . [7]

Za određivanje apsolutne konfiguracije četiri različita supstituenta vezana za asimetrične ugljikove atome razvijen je poseban sustav nomenklature. Konfiguracija aminokiselina i jednostavnih šećera definira se prema D, L sustavu, koji je utemeljen na strukturi trokarbonskog šećera gliceraldehida. Ovu metodu predložio je Emil Fischer 1891. godine, polazeći od poznate raspodjele kemijskih skupina oko kiralnog ugljika u gliceraldehidu. Iako nije mogao eksperimentalno potvrditi njihov točan raspored, kasnije je rendgenska difrakcija pokazala da je njegova pretpostavka bila točna. Kod svih kiralnih spojeva, stereoizomeri čija je konfiguracija slična L-gliceraldehidu označeni su slovom L, dok se oni povezani s D-gliceraldehidom označavaju kao D. Funkcionalne skupine u L-alaninu mogu se uskladiti s onima u L-gliceraldehidu tako da odgovarajuće skupine zauzimaju iste prostorne položaje. Primjerice, karboksilna skupina u L-alaninu smještena je na istom mjestu gdje se u L-gliceraldehidu nalazi aldehidna skupina, što proizlazi iz činjenice da se aldehid jednostavno može oksidirati u karboksilnu skupinu. [7]

Ranije su oznake L i D korištene kako bi označavale smjer rotacije ravninski polarizirane svjetlosti—prema lijevo (levorotatorno) ili prema desno (dekstrorotatorno). No, budući da se

ne može uvijek izravno povezati L-konfiguraciju s levorotacijom, uvedena je preciznija konvencija kako bi se izbjegle nejasnoće u određivanju apsolutne konfiguracije. Prema Fischerovoj konvenciji, oznake L i D odnose se isključivo na raspored supstituenata oko kiralnog ugljika, bez obzira na optička svojstva spoja. . [7]

Amino kiseline u proteinima uvijek su L stereoisomeri. Većina bioloških molekula koje sadrže kiralne centre prirodno se pojavljuje u samo jednom stereoisomernom obliku, bilo D ili L. U proteinima su prisutne samo L varijante amino kiselina. D-amino kiseline nalaze se samo u nekim manjim peptidima, kao što su oni u bakterijskim staničnim stijenkama ili u određenim antibioticima. . [7]

Zanimljivo je da su gotovo sve amino kiseline u proteinima L izomeri. Kada kiralni spojevi nastaju u standardnim kemijskim reakcijama, obično se stvara mješavina D i L izomera, koju je teško odvojiti. Međutim, za žive organizme, D i L izomeri su kao desna i lijeva ruka, potpuno različiti. Da bi se stvorile stabilne, ponavljajuće strukture u proteinima, potrebno je da njihove amino kiseline budu iz iste stereokemijske skupine. Stanice imaju sposobnost specifične sinteze L izomera, jer su aktivna mjesta enzima asimetrična, što omogućava da reakcije koje kataliziraju budu stereospecifične. . [7]

2.4.1 Klasifikacija aminokiselina

Aminokiseline se mogu klasificirati prema polarnosti, fizikalno-kemijskim svojstvima te prema tome jesu li esencijalne ili neesencijalne. Poznavanje kemijskih svojstava amino kiselina ključna je za razumijevanje biokemije, a to se može pojednostaviti grupiranjem amino kiselina u pet glavnih klasa prema svojstvima njihovih R grupa. Ove klase temelje se na polaritetu R grupa, odnosno njihovoj sklonosti interakciji s vodom pri biološkom pH-u (oko pH 7.0). R grupe mogu varirati od nepolarnih i hidrofobnih (koje su netopive u vodi) do vrlo polarnih i hidrofiličnih (topivih u vodi). Međutim, neke amino kiseline, poput glicina, histidina i cisteina, teško je jasno svrstati ili se ne uklapaju u bilo koju od tih skupina. Njihovo svrstavanje u određene grupe temelji se na promišljenim procjenama, a ne na apsolutnim pravilima. [7]

Aminokiseline s nepolarnim i hidrofobnim R grupama, poput alanina, valina, leucina i izoleucina, često se grupiraju unutar proteina, stabilizirajući njegovu strukturu putem hidrofobnog učinka. Glicin, iako se također smatra nepolarnom aminokiselinom, ima vrlo malu bočnu grupu koja ne doprinosi značajno interakcijama uzrokovanim hidrofobnim učinkom.

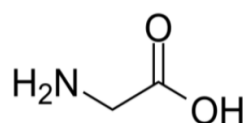
Metionin, koji sadrži sumpor, posjeduje blago nepolarnu tioeter grupu u svojoj bočnoj grani. Prolin se izdvaja zbog svoje alifatske bočne grane s karakterističnom cikličnom strukturom. Njegova sekundarna amino (imino) grupa održava krutu konformaciju koja smanjuje fleksibilnost polipeptidnih lanaca koji sadrže prolin. [7]

Aminokiseline fenilalanin, tirozin i triptofan, sa svojim aromatskim bočnim granama, također su relativno nepolarne i hidrofobne, ali mogu doprinosti hidrofobnom učinku. Tirozin se razlikuje od fenilalanina zbog hidroksilne grupe koja može formirati vodikove veze, čineći ga važnim u strukturi nekih enzima. Triptofan i tirozin su polarniji od fenilalanina zbog prisutnosti hidroksilne grupe u tiroksinu i dušika u indol prstenu triptofana. R grupe polarnih, nezasnovanih amino kiselina topljive su u vodi, odnosno hidrofilne, jer sadrže funkcionalne skupine koje formiraju vodikove veze s vodom. Ova skupina uključuje serin, treonin, cistein, asparagin i glutamin. Polariteta serina i treonina dolazi od njihovih hidroksilnih skupina, dok je polaritet asparagina i glutamina posljedica njihovih amidnih skupina. Cistein je iznimka jer njegov polaritet, koji proizlazi iz sulfhidrilne skupine, nije toliko izražen. Cistein je slaba kiselina i može formirati slabe vodikove veze s kisikom ili dušikom. [7]

Pozitivno naelektrizirane (bazične) R grupe spadaju među najhidrofilnije, budući da imaju pozitivan ili negativan naboj. Aminokiseline čije R grupe nose značajan pozitivan naboj pri pH 7,0 uključuju lizin, koji sadrži dodatnu primarnu amino grupu na ϵ poziciji u svojoj alifatskoj grani, arginin, koji posjeduje pozitivno naelektriziranu guanidinium grupu, te histidin, koji ima aromatsku imidazolnu grupu. Histidin je jedina uobičajena aminokiselina koja ima ionizabilnu bočnu grupu s pK vrijednošću blizu neutralnog, što joj omogućuje da bude pozitivno naelektrizirana (protonirana forma) ili neutralna pri pH 7,0. Zbog ove karakteristike, histidinovi ostaci imaju važnu ulogu u mnogim enzimski kataliziranim reakcijama, gdje sudjeluju kao donori i akceptori protona. [7] S druge strane, negativno naelektrizirane (kisele) R grupe također su hidrofilne, a među njima se ističu dvije aminokiseline – aspartat i glutamat. Obje sadrže dodatnu karboksilnu grupu, koja im daje neto negativan naboj pri pH 7,0. [7]

2.5. Glicin

Glicin je najjednostavnija neesencijalna aminokiselina koja se sastoji od atoma ugljika povezanog s dva vodikova atoma, kao i s amino i karboksilnom skupinom. Prema IUPAC nomenklaturi, kemijski naziv glicina je 2-aminooctena kiselina, a njegova troslovna skraćenica je Gly. Molekularna formula glicina je $C_2H_5NO_2$, a njegova molekularna masa iznosi 75,067 g/mol. Gustoća glicina je 1,1607 g/cm³. Zanimljivo je da glicin, za razliku od drugih aminokiselina, nije optički aktivan, jer ne zakreće ravninu polarizirane svjetlosti. Glicin se nalazi u vezivnom tkivu, tetivama, ligamentima, koži, hrskavici, kostima te u želati. [9]



Slika 9. Strukturna formula molekule glicina [9]

2.5.1. Svojstva, karakteristike i primjena glicina

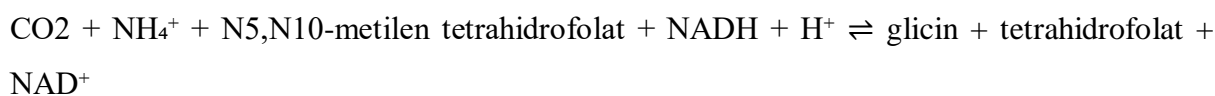
Glicin je otkrio francuski kemičar Henri Braconnot 1820. godine, kuhanjem želatine sa sumpornom kiselinom. Prvobitno ga je nazvao "šećer od želatine", ali je švedski kemičar Berzelius godinu dana kasnije predložio naziv glicin koji je danas u upotrebi.

Proizvodnja glicina; iako glicin može biti izoliran iz hidroliziranih proteina, ovaj postupak nije ekonomski isplativ za industrijsku proizvodnju, jer je lakše proizvesti ga kemijskom sintezom. Dva glavna metoda su aminacija kloroacetne kiseline s amonijakom, što rezultira glicinom i klorovodičnom kiselinom, te Streckerova sinteza aminokiselina, koja je najčešće korištena metoda u Sjedinjenim Državama i Japanu. Ovim procesima godišnje se proizvede oko 15 tisuća tona glicina. Također, glicin se može pojaviti kao nečistoća u procesu proizvodnje EDTA-e, zbog reakcija s nusproizvodima amonijaka. [10]

Glicin nije nužan u ljudskoj prehrani jer se u tijelu može sintetizirati iz serina, koji nastaje iz 3-fosfoglicerata. U većini organizama, ovu promjenu katalizira enzim serin-hidroksimetiltransferaza, koristeći kofaktor piridoksal fosfat:

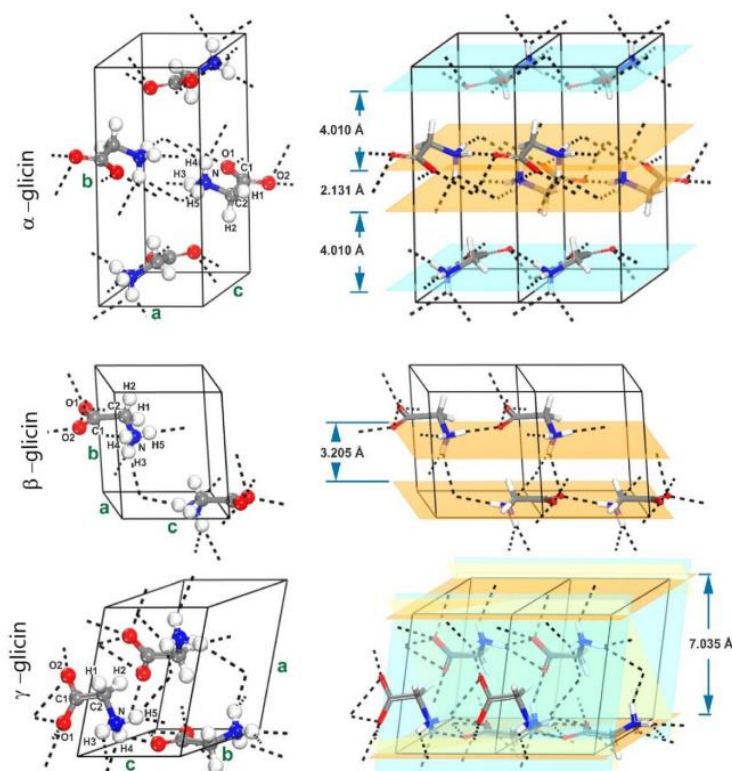
serin + tetrahidrofolat → glicin + N⁵,N¹⁰-metilen tetrahidrofolat + H₂O
U *E. coli*, antibiotici koji inhibiraju folat smanjuju razinu aktivnih tetrahidrofolata, što

zaustavlja biosintezu glicina. U jetri kralježnjaka, glicin se sintetizira pomoću enzima glicin-sintaze (poznate i kao enzim za cijepanje glicina). Ova reakcija je reverzibilna:



Osim toga, glicin se može dobiti i iz drugih izvora poput treonina, kolina ili hidroksiprolina putem metabolizma u jetri i bubrezima. [11]

U vodenoj otopini i u čvrstom stanju glicin se nalazi u zwitterionskom obliku. Iako zwitterionizacija povećava energiju, zwitterionski kristali se stabiliziraju zbog stvaranja većeg broja vodikovih veza u odnosu na osnovni oblik molekule. Glicin u kristalnom stanju može imati tri različita oblika: α -, β - i γ -glicin. Najstabilniji oblik pri sobnoj temperaturi i tlaku je γ -glicin, zatim slijedi α -glicin, dok je β -glicin najmanje stabilan. Ovi polimorfi se razlikuju po kutu između atoma ugljika i dušika te po okretanju C-C veze. [12]



Slika 10. Jedinične ćelije polimorfa glicina [12]

Kristal α -glicina ima monoklinsku jediničnu ćeliju s četiri zwitterionske jedinice, koje su povezane vodikovim vezama ($\text{N-H3}\cdots\text{O2}$, $\text{N-H4}\cdots\text{O2}$ i $\text{N-H5}\cdots\text{O1}$). Kristal β -glicina također

ima monoklinsku jediničnu ćeliju, ali s dvije zwitterionske jedinice, povezane vodikovim vezama $N-H5 \cdots O2$ i $N-H3 \cdots O1$. γ -glicin ima heksagonalne jedinične ćelije s tri zwitterionske jedinice, povezane spiralnim strukturama. Vrsta, oblik i veličina kristala mogu se prilagoditi promjenom uvjeta procesa, sastava otopine i dodavanjem aditiva. Hlađenjem vodene otopine glicina obično nastaju α -kristali, no mogu se formirati smjese različitih polimorfa. Transformacije između kristala mogu se postići različitim metodama, poput zagrijavanja α -kristala do 170 °C za stvaranje γ -glicina, dok se β -glicin u prisutnosti vlage transformira u α -ili γ -glicin. [13]

Glicin je mala i jednostavna molekula koja ima ključnu ulogu u organizmu. Prisutna je u namirnicama bogatim proteinima, poput mesa, ribe, sira, jaja, proizvoda s želatinom, orašastih plodova i žitarica. Normalna koncentracija glicina u ljudskoj krvi i plazmi iznosi oko 300 $\mu\text{mol/L}$, a povećana razina (do oko 900 $\mu\text{mol/L}$) dokazano ima korisne učinke bez negativnih nuspojava.

Glicin ima značajnu ulogu u metabolizmu serina, glutaminske kiseline, oksooctene kiseline, urinske kiseline, laktata, kreatina, glutaciona i porfirina. Također je važan za sintezu purinskih nukleotida i neurotransmitera. Sudjeluje u metabolizmu mnogih proteina, hormona, enzima i aminokiselina, što ga čini esencijalnim za zdravlje i normalno funkcioniranje organizma.

Glicin ima nekoliko blagotvornih učinaka, uključujući:

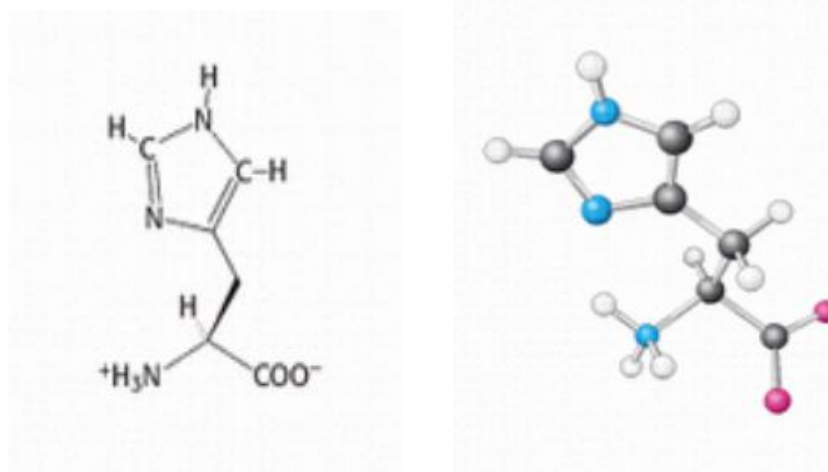
- protuupalno djelovanje
- antioksidativne učinke
- antacidne osobine
- potiče izgradnju DNA i RNA
- usporava atrofiju i potiče rast mišića
- pomaže očuvanju elastičnosti kože i tkiva (ligamenata, tetiva, zglobova, kostiju)
- podržava normalno funkcioniranje živčanog sustava

U prehrambenoj industriji glicin se koristi kao modifikator okusa i arome, u obliku aditiva E 640. [12]

2.6 Histidin

Histidin (simbol His ili H) je esencijalna aminokiselina koja se koristi u biosintezi proteina. Sadrži α -amino skupinu (koja je u protoniranom obliku $-NH_3^+$ pod biološkim uvjetima), karboksilnu skupinu (koja je u deprotoniranom obliku $-COO^-$ pod biološkim uvjetima) i imidazolnu bočnu lančanu skupinu (koja je djelomično protonirana), što ga svrstava u pozitivno nabijene aminokiseline pri fiziološkom pH. Isprva se smatralo da je esencijalan samo za dojenčad, no dulja istraživanja su pokazala da je također esencijalan i za odrasle. Kodira ga kodoni CAU i CAC. [15]

Histidin su prvi put izolirali Albrecht Kossel i Sven Gustaf Hedin 1896. godine. Ime potječe od njegovog otkrića u tkivima, od grčke riječi ιστος (histós), što znači "tkivo". Također je prekursor histamina, vitalne upalne tvari u imunološkim odgovorima. Akil radikal je histidil.



Slika 11. Strukturna formula molekule histidina [15]

Bočna skupina histidina je imidazolni prsten, koji je aromatski prsten sastavljen od pet članova, uključujući dva dušična atoma (N1 i N3). Ova struktura omogućava histidinu da obavlja specifične funkcije, kao što su: Protonacija: Imidazolni prsten može biti protoniran na oba dušična atoma, što omogućava histidinu da djeluje kao protonski donator ili akceptor. Ova svojstva ključna su za mnoge enzimске reakcije, posebno u reakcijama s promjenom pH. Veza s metalima: Imidazol može tvoriti koordinacijske veze s metalnim ionima, što je važno u mnogim enzimskim funkcijama. [15]

2.6.1. Svojstva, dobivanje i funkcije histidina

Histidin je jedinstvena aminokiselina koja ima sposobnost promjene protonacije imidazolnog prstena ovisno o pH, čime igra važnu ulogu u regulaciji pH vrijednosti u biološkim sustavima. Bočna skupina histidina ima pKa vrijednost oko 6,0, što znači da može djelovati kao kiselina ili baza u različitim uvjetima pH. Zbog toga je histidin često protoniran u fiziološkim uvjetima (pH ~7,4), čineći ga ključnim za mnoge enzimatske reakcije u tijelu. Histidin je važna komponenta mnogih enzima u kojima sudjeluje u katalitičkim procesima. Zbog svoje sposobnosti da donira ili prihvati proton, histidin ima značajnu ulogu u reakcijama koje zahtijevaju promjenu pH, kao i u katalizi metalima. Imidazolni prsten histidina može tvoriti koordinacijske veze s metalnim ionima, što je ključno za funkciju enzima poput metaloproteina, koji koriste metalne kofaktore za obavljanje svojih katalitičkih aktivnosti. Histidin je također prisutan u proteinima koji sadrže metalne kofaktore, a u enzimima koji imaju metalne centre histidin može biti odgovoran za vezivanje metala poput cinka (Zn^{2+}), bakra (Cu^{2+}), mangana (Mn^{2+}) ili željeza (Fe^{2+} i Fe^{3+}). Ove interakcije nužne su za funkciju mnogih enzima, poput karboksipeptidaza i alkalne fosfataze, koji koriste metalne ione u svojim katalitičkim mehanizmima. [16]

Histidin igra važnu ulogu u održavanju pH ravnoteže u organizmu, osobito zbog svoje sposobnosti protonacije. U hemoglobinu, histidin može prihvatiti ili donirati proton, čime utječe na afinitet hemoglobina za kisik, što je poznato kao Bohrov efekt. Ovaj mehanizam pomaže u optimalnom prijenosu kisika u tijelu, ovisno o uvjetima u tkivima. Zbog svoje kemijske strukture, imidazolni prsten histidina može neutralizirati slobodne radikale, čime pomaže u zaštiti stanica od oksidativnog stresa. Histidin je prisutan u mnogim enzimima, osobito u onima koji su odgovorni za katalizu. Zbog svoje sposobnosti da interagira s protonima i metalima, histidin se često nalazi u aktivnim mjestima enzima, gdje ima ključnu ulogu u procesu katalize. Osim toga, histidin je važan i u strukturnim proteinima, gdje pomaže stabilizirati terciarnu i kvaternarnu strukturu. [16]

Histidin je bitan za funkciju hemoglobina i mioglobina, proteina koji prenose kisik u organizmu. Histidin je uključen u promjene konformacije ovih proteina tijekom vezivanja i otpuštanja kisika. Također, histidin je prisutan u aktivnim mjestima enzima, kao što su hidrolaze, transferaze i oksidoreduktaze. Na primjer, u peptidazama, koje razgrađuju peptide, histidin može djelovati kao katalitička baza koja razbija peptidne veze. [17]

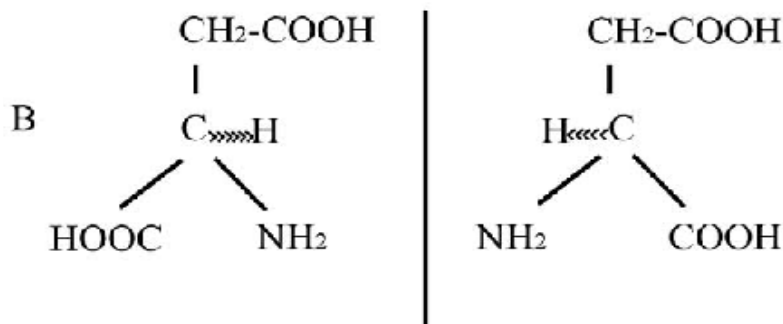
Histidin je esencijalna aminokiselina za ljudski organizam, što znači da je nužno unositi ga hranom jer tijelo nije u mogućnosti sintetizirati ga. Histidin je važan za rast i obnovu tkiva, proizvodnju histamina koji je ključan za imunološke odgovore i alergijske reakcije, neurotransmisiju jer histamin regulira funkciju živčanih stanica te za zdravlje kože i kose, budući da histidin pomaže u regeneraciji stanica. Histidin se nalazi u mnogim izvorima hrane, osobito životinjskog podrijetla. Najbogatiji izvori histidina su meso, posebno crveno meso, riba, jaja, mlijeko i mliječni proizvodi. Također, histidin je prisutan i u nekim biljnim izvorima, poput soje, prosa i kvinoje. [15]

Histidin se koristi u različitim industrijskim i medicinskim primjenama, uključujući dijagnostiku, gdje se koristi u testovima za detekciju određenih enzima ili proteina, te u farmaceutskoj industriji za proizvodnju lijekova koji utječu na pH ravnotežu ili posjeduju enzimsku aktivnost. Ove funkcije i primjene histidina čine ga ključnim za mnoge biološke procese i industrijske aplikacije. [18]

2.7. Asparaginska kiselina

Asparaginska kiselina (Asp) je jedna od 20 standardnih aminokiselina koje se koriste za izgradnju proteina. Ona je neesencijalna aminokiselina, što znači da je ljudski organizam može sintetizirati, pa nije nužno unositi je hranom. Aspartična kiselina, poznata i kao aspartat u svom ionskom obliku, je α -aminokiselina koja sudjeluje u biosintezi proteina. [19]

2.7.1 Struktura i svojstva asparaginske kiseline



Slika 12. Struktura D- asparaginske kiseline i L-asparaginske kiseline [19]

Asparaginska kiselina je aminokiselina s negativnim nabojem zbog prisutnosti karboksilne skupine (-COOH) u svojoj bočnoj skupini. Struktura asparaginske kiseline sadrži:

- Amino skupinu (-NH₂)
- Karboksilnu skupinu (-COOH)
- Bočnu karboksilnu skupinu (-COOH) koja je odgovorna za njezinu negativnu električnu nabojnost pri fiziološkim uvjetima (pH ~7).

Asparaginska kiselina je aminokiselina koja je prisutna u ljudskom organizmu, a poznata je po svojoj ulozi u brojnim biološkim procesima. Kao neesencijalna aminokiselina, ljudsko tijelo je sposobno sintetizirati asparaginsku kiselinu iz drugih molekula, što znači da nije nužno unositi je hranom. Ipak, ona je prisutna u mnogim izvorima hrane, osobito u mesu, ribi, mliječnim proizvodima, kao i u povrću poput šparoga, graška, graha i kukuruza. Asparaginska kiselina sadrži negativno nabijenu karboksilnu skupinu, što joj omogućava da se ponaša kao anionska molekula u fiziološkim uvjetima, a taj njen naboj igra ključnu ulogu u mnogim biološkim procesima. Osim što je važna za sintezu proteina, gdje se koristi za izgradnju raznih enzima i strukturnih proteina, asparaginska kiselina također ima važnu funkciju kao prekursor za druge biološki aktivne molekule poput asparagina, koji je također uključen u sintezu proteina. Osim toga, asparaginska kiselina je bitna za proizvodnju ATP-a, koji je osnovni izvor energije za stanice, a također igra ulogu u metabolizmu purina i pirimidina, koji su ključni za sintezu nukleinskih kiselina, poput DNA i RNA. [20]

Asparaginska kiselina ima dva enantiomera – zrcalne slike iste molekule koje nisu međusobno superpozabilne. Iako dijele istu kemijsku strukturu, ove dvije forme imaju različite biološke uloge i prisutne su u različitim organizmima i tkivima.

L-asparaginska kiselina (L-Asp) jedna je od proteinogenih aminokiselina, što znači da sudjeluje u biosintezi proteina. Osim toga, igra ključnu ulogu u metaboličkim procesima, posebice u Krebsovom ciklusu, gdje služi kao preteča oksaloacetata – spoja važnog za staničnu proizvodnju energije. U živčanom sustavu može djelovati kao ekscitatorni neurotransmiter, iako slabije od glutamata. Nalazi se u raznim prehrambenim izvorima, uključujući meso, jaja, mliječne proizvode, orašaste plodove i mahunarke. S druge strane, D-asparaginska kiselina (D-Asp) nije uključena u sintezu proteina, ali ima značajnu regulatornu funkciju. Posebno je važna za sintezu i regulaciju hormona poput testosterona i luteinizirajućeg hormona (LH), zbog čega

igra ulogu u reproduktivnoj funkciji. Osim toga, prisutna je u mozgu, gdje sudjeluje u sinaptičkoj plastičnosti i neurogenezi, što ukazuje na njezinu važnost u živčanom sustavu. D-Asp se može pronaći u određenim tkivima sisavaca, poput mozga i endokrinih žlijezda, ali i u nekim morskim organizmima i bakterijama.

U konačnici, dok je L-asparaginska kiselina esencijalna za metabolizam i biosintezu proteina, D-asparaginska kiselina ima ključnu regulatornu ulogu u endokrinom sustavu i živčanom tkivu, pokazujući kako enantiomeri iste molekule mogu imati potpuno različite funkcije u biološkim sustavima.

2.8. Gaussian 09

Gaussian je računalni program koji primjenjuje osnovne zakone kvantne mehanike kako bi predvidio energije veza i reakcija, energiju prijelaznih stanja, molekularne strukture, spektroskopske podatke, reakcijske puteve, termokemijska svojstva i mnoge druge vrste proračuna. Temelji se na rješavanju Schrödingerove jednadžbe pomoću različitih metoda, uključujući Hartree-Fock (HF) i metode teorije funkcionala gustoće (DFT). Ovaj program omogućuje proračun molekularnih struktura, energija, spektroskopskih svojstava, prijelaznih stanja i reakcijskih puteva, što ga čini iznimno korisnim za teorijska istraživanja u kemiji i bioznanostima. Jedna od najčešće korištenih metoda u programu Gaussian je Teorija funkcionala gustoće (DFT eng. Density Functional Theory). DFT je kvantno-mehanička metoda koja se temelji na opisivanju elektronske gustoće umjesto valne funkcije, čime omogućuje učinkovitije proračune za složenije molekularne sustave. Za razliku od tradicionalnih metoda, poput Hartree-Focka, DFT uzima u obzir i elektronsku korelaciju, što dovodi do točnijih rezultata uz manju računalnu zahtjevnost.[21]

2.8.1. DTF

Teorija funkcionala gustoće (DFT) je kvantnomehanička metoda koja omogućuje simulaciju atomskih sustava i određivanje njihovih svojstava, uključujući molekule, kristale, površine te čak i elektroničke uređaje kada se koristi u kombinaciji s ne-ravnotežnim Greenovim funkcijama (NEGF). DFT spada u skupinu ab initio metoda, koje omogućuju predviđanje

karakteristika materijala bez potrebe za eksperimentalnim podacima. Zbog svoje relativne računalne učinkovitosti, ova metoda je postala iznimno popularna. [21]

Primjena DFT-a obuhvaća različita područja, uključujući organsku i anorgansku kemiju, istraživanje materijala poput keramike i metalnih legura, kao i analizu elektroničkih materijala. Teoriju funkcionala gustoće (DFT) razvili su 1960-ih Kohn, Hohenberg i Sham, koristeći gustoću elektrona umjesto pojedinačnih elektrona za pojednostavljenje proračuna. Zahvaljujući daljnjem razvoju i računalnim tehnologijama, DFT je postao ključan alat u kemiji i znanosti o materijalima, s primjenama i u istraživanju magnetskih sustava, relativističkih efekata i supravodljivosti. [21]

2.8.2. Osnovne aproksimacije

Molekulska energija može se podijeliti na kinetički i potencijalni dio. Ako se odluči da će se izračun temeljiti isključivo na gustoći elektrona, najjednostavniji način je promatrati sustav kroz klasičnu fiziku, gdje se potencijalna energija može lako definirati. Privlačna sila između gustoće elektrona i atomskih jezgri može se prikazati kao :

$$V_{ne} [\rho(\mathbf{r})] = \sum_k^{jezgre} \int \frac{Z_k}{|r-r_k|} \rho(r) d (15)$$

te klasična raspodjela naboja kao :

$$V_{ee} [\rho(\mathbf{r})] = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|r_1-r_2|} dr_1 dr_2 (16)$$

gdje r_1 i r_2 predstavljaju varijable za integraciju koje se protežu kroz cijeli prostor. Kinetička energija kontinuirane raspodjele naboja nije odmah očita. Kako bismo nastavili, prvo uvodimo fiktivnu tvar zvanu 'jellium'. Jellium je sustav koji se sastoji od beskonačnog broja elektrona koji se kreću u beskonačnom prostoru u kojem je pozitivan naboj ravnomjerno raspoređen (odnosno, pozitivan naboj nije u obliku čestica, kao što je to slučaj u jezgrama). Ova raspodjela elektrona, poznata i kao uniformni elektronski plin, ima konstantnu, nenultu gustoću. Thomas i Fermi su 1927. godine pomoću fermionske statističke mehanike izveli izraz za kinetičku energiju ovog sustava :

$$T[\rho(\mathbf{r})] = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{\frac{2}{3}} \int \rho^{\frac{5}{3}}(r) dr (17)$$

Važno je napomenuti da su T i V izrazi, koji su definirani u jednažbama (16)–(17), funkcije gustoće, dok je sama gustoća funkcija trodimenzionalnih prostornih koordinata. Funkcija koja ovisi o drugoj funkciji naziva se 'funkcional', pa su stoga T i V izrazi 'funkcionalni gustoće'. Thomas–Fermi jednažbe, zajedno s pretpostavljenim varijacijskim principom, predstavljaju prvi pokušaj formuliranja teorije funkcionala gustoće (DFT), gdje se energija izračunava bez potrebe za valnom funkcijom. Iako su ove jednažbe od povijesne važnosti, temeljne pretpostavke su dovoljno netočne da se ne koriste u modernoj kemiji (u Thomas–Fermi DFT-u, sve molekule su nestabilne u odnosu na disocijaciju u svoje sastavne atome...). [22]

Korisno je uvesti pojam 'funkcije rupe', koja je definirana kako bi ispravila energetske pogreške koje nastaju pretpostavkom klasičnog ponašanja.

2.8.3. Osnovni principi DFT-a

Teorija funkcionala gustoće (DFT) oslanja se na dva temeljna teorema koja su 1964. godine formulirali Hohenberg i Kohn: Teorem o egzistenciji i Varijacijski teorem .

Teorem o egzistenciji navodi da je energija osnovnog stanja kvantnog sustava jednoznačno određena elektronskom gustoćom $\rho(\mathbf{r})$, To znači da se kvantni sustav može opisati pomoću funkcionala gustoće, umjesto tradicionalne mnogoelektronske valne funkcije Ψ

$$E[\rho] = T[\rho] + V_{ne}[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (18)$$

gdje su $T[\rho]$ kinetička energija elektrona, V_{ne} potencijalna energija interakcije elektrona s jezgrama, a $V_{ee}[\rho]$ međuelektronska interakcija. Ovaj teorem pokazuje da je elektronska gustoća $\rho(\mathbf{r})$ dovoljna za potpuno opisivanje sustava, čime se izbjegava potreba za radom s mnogoelektronskom valnom funkcijom.

Varijacijski teorem tvrdi da prava elektronska gustoća osnovnog stanja minimizira ukupnu energiju sustava. To znači da je stvarna gustoća ona koja dovodi do najmanje moguće energije, osiguravajući jedinstveno rješenje.

Ova dva teorema omogućuju pojednostavljenje kvantno-mehaničkog opisa, ali ne daju eksplicitnu formu funkcionala energije $E[\rho]$ što predstavlja jedan od glavnih izazova DFT-a.

2.8.4. Kohn-Shamova formulacija DFT-a

Kako bi omogućili praktične proračune, Kohn i Sham (1965.) su razvili pristup u kojem se problem više tijela aproksimira sustavom jednoelektronskih jednadžbi. Ove jednadžbe uključuju Kohn-Shamove orbitale $\psi_i(r)$, a ključna ideja bila je reformulirati složeni problem međuelektronskih interakcija u sustav neovisnih elektrona koji se kreću unutar efektivnog potencijala $V_{\text{eff}}(r)$.

Kohn i Sham uveli su ideju razdvajanja funkcionala kinetičke energije, pri čemu njihova aproksimacija uključuje dva segmenta: precizno izračunati dio i korektivnu komponentu. Također definiraju hamiltonijan.

$$H_{\lambda} = T + V_{\text{ext}} + \lambda E_{ee} \quad (19)$$

gdje je V_{ext} je vanjski potencijal, a parametar λ je između 0 i 1. U slučaju da je $\lambda = 1$, on je $V_{\text{ext}} = V_{ne}$.

Ključna ideja Kohn-Shamove teorije temelji se na izračunu kinetičke energije uz pretpostavku neinteragirajućih elektrona, dok izmjensko-korelacijski član (xc – „exchange-correlation“) odražava razliku između točne kinetičke energije i one dobivene tom pretpostavkom. Na taj način, ukupna elektronska energija može se prikazati kao suma pojedinačnih doprinosa .

$$E_{DFT} = T_S[\rho] + E_{ne}[\rho] + J[\rho] + E_{XC}[\rho] \quad (20)$$

gdje $E_{XC}[\rho]$ izmjensko-korelacijski član te uključuje sve elemente koje preostala tri člana nemaju. Ako pretpostavimo da je $E = E_{DFT}$, dobivamo novi izraz za izmjensko-korelacijski član:

$$E_{XC} = (T[\rho] - T_S[\rho]) + (E_{ee}[\rho] - J[\rho]) \quad (21)$$

gdje $(T[\rho] - T_S[\rho])$ predstavlja kinetičku korelacijsku energiju, dok $(E_{ee}[\rho] - J[\rho])$ predstavlja izmjensku i potencijalnu korelacijsku energiju. E_{XC} se sastoji od dva dijela: energija korelacije E_C i energija izmjene E_X . To se može zapisati kao

$$E_{XC} = E_X[\rho] + E_C[\rho] = \int \rho(r) \epsilon_X[\rho(r)] dr + \int \rho(r) \epsilon_C[\rho(r)] dr \quad (22)$$

Veličina ϵ_X označava energiju izmjene po elektronu u homogenom elektronskom plinu stalne gustoće, dok ϵ_C predstavlja energiju korelacije. U izmjensko-korelacijskom članu, energija izmjene ima znatno

veći doprinos . Glavni nedostatak Kohn-Shamovog pristupa leži u tome što, unatoč konceptualnoj jednostavnosti i mogućnosti primjene na rješavanje Schrödingerove jednačbe, postoje određena ograničenja.

2.8.5. Aproksimacija lokalne gustoće (LDA – “local density approximation”)

U LDA pretpostavlja se da razmjena i korelacija energije elektrona na bilo kojoj točki u prostoru ovise samo o lokalnoj elektronskoj gustoći $\rho(\mathbf{r})$, kao što je slučaj u homogeno nabijenom elektronskom plinu. Energijski funkcional se tada zapisuje kao:

$$E_X^{LDA}[\rho] = \int \rho(\mathbf{r}) \mathcal{E}_{xc}(\rho(\mathbf{r})) d^3r \quad (23)$$

gdje je:

- $\mathcal{E}_{xc}(\rho)$ (razmjensko-korelacijska energija po elektronu,
- $\rho(\mathbf{r})$ lokalna elektronska gustoća.

Glavna prednost LDA pristupa je njegova jednostavnost i računaska učinkovitost, što ga čini posebno korisnim za sustave s relativno ravnomjernom raspodjelom elektronske gustoće, poput metala i nekih poluvodiča. Međutim, metoda ima određene nedostatke – ne uspijeva precizno opisati sustave s izrazito nehomogenom gustoćom elektrona, podcjenjuje energetske razmake u poluvodičima i izolatorima te ne obuhvaća van der Waalove sile. [22]

Zbog ovih ograničenja, LDA je s vremenom nadograđena naprednijim metodama, poput generalizirane aproksimacije gradijenta (GGA) i hibridnih funkcionala, koji poboljšavaju točnost računa u složenijim kvantnim sustavima. Ipak, unatoč svojim manama, LDA ostaje temeljni alat u DFT-u i često se koristi kao polazišna točka za preciznije metode. [22]

Hibridni funkcionali kombiniraju DFT s Hartree-Fock metodom kako bi poboljšali preciznost proračuna. Jedan od najpoznatijih je B3LYP, koji uključuje dio eksaktne razmjene iz Hartree-Fock proračuna te se široko primjenjuje u kvantnoj kemiji zbog svoje pouzdanosti. [22]

3. EKSPERIMENTALNI I RAČUNALNI DIO

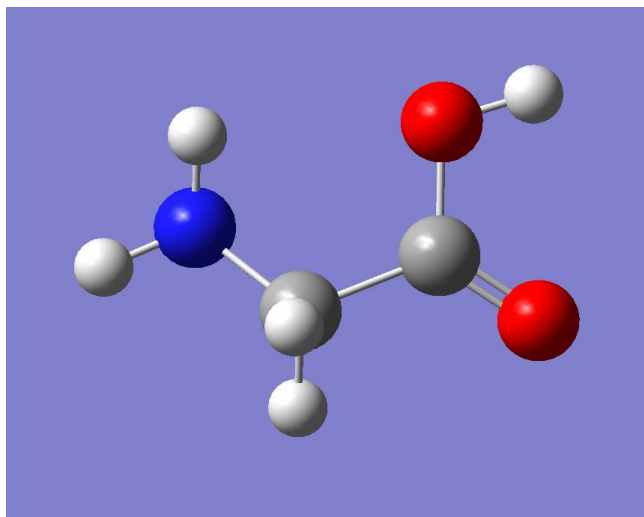
Primjena kvantno-mehaničkih metoda omogućuje predviđanje strukturnih i spektroskopskih svojstava molekula bez potrebe za eksperimentalnim mjerenjima. U ovom radu, umjesto klasičnih eksperimentalnih metoda, provedeni su računalni proračuni koristeći teoriju funkcionala gustoće (DFT) unutar programskog paketa Gaussian 09. Ova metoda omogućuje dobivanje optimizirane geometrije molekula, određivanje vibracijskih frekvencija te predviđanje infracrvenih (IR) i Ramanovih spektara. Analizirane su tri aminokiseline; glicin, histidin te asparaginska kiselina. Dobiveni rezultati uspoređeni su sa literaturnim podacima.

Kvantno-mehanički proračuni strukture i vibracija molekula provedeni su pomoću teorije funkcionala gustoće (DFT) uz B3LYP funkcional i bazni skup 6-311++G(d,p) u programskom paketu Gaussian 09. Najprije je izvršena optimizacija geometrije molekule, nakon čega su izračunate vibracijske frekvencije i infracrveni intenziteti. Za vizualizaciju rezultata korišten je GaussView 6.0.

Ovaj pristup omogućuje detaljan uvid u molekulske karakteristike aminokiselina i pruža informacije koje bi inače zahtijevale složene eksperimentalne tehnike poput infracrvene i Raman spektroskopije.

4. REZULTSTI I RASPRAVA

4.1 Glicin

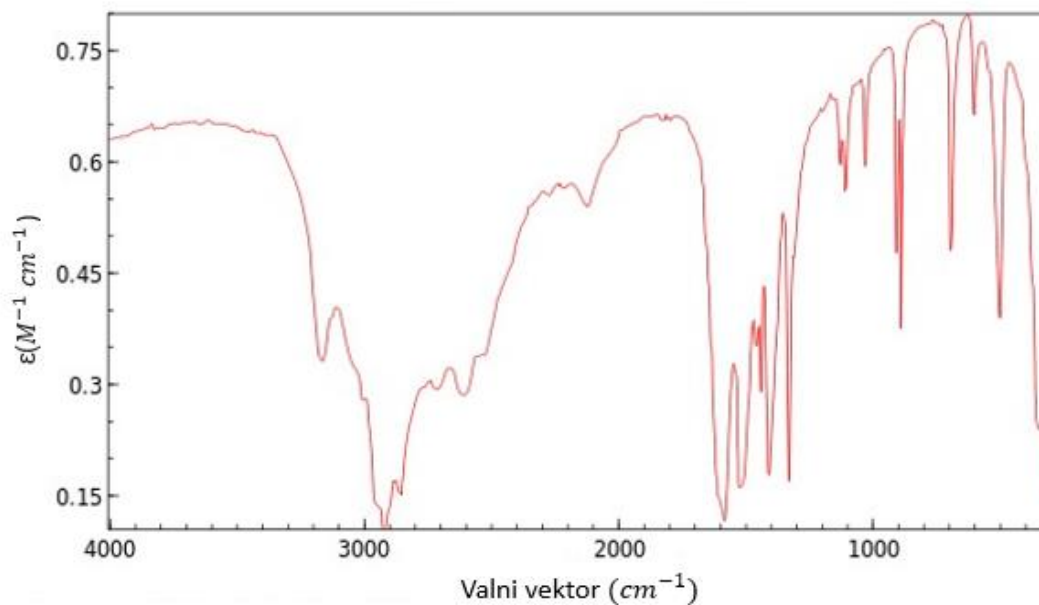


Slika 13. Model optimizirane molekule glicina

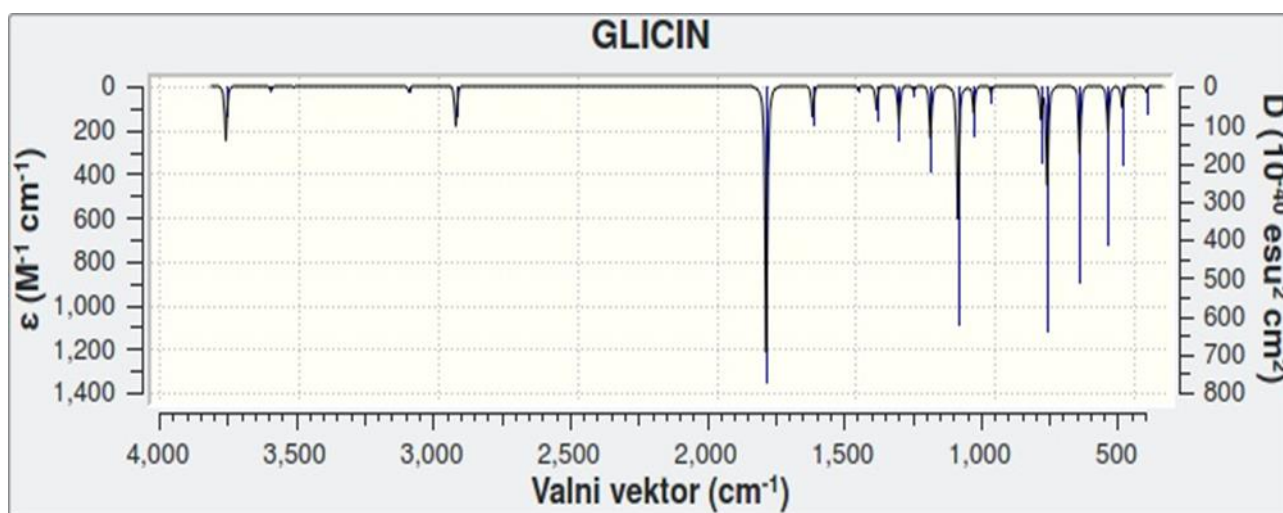
Nakon provedene optimizacije dobije se stabilnija molekula glicina. Tako dobivena molekula koristi se za računanje vibracijskih spektara (IR i Raman).

Infracrvena (IR) spektroskopija koristi se za analizu vibracijskih svojstava molekula na temelju apsorpcije elektromagnetskog zračenja u infracrvenom području. U ovom radu, IR spektri izračunati su pomoću teorije funkcionala gustoće (DFT) u programu Gaussian 09. Dobiveni spektri omogućuju identifikaciju karakterističnih vibracijskih modova aminokiselina.

IR SPEKTAR



Slika 14. IR spektar molekule glicina [23]



Slika 15. IR spektar molekule glicina dobiven programom Gaussian 09

Spektar infracrvene (IR) spektroskopije glicina dobiven računalnim proračunima u Gaussianu uspoređen je s eksperimentalnim spektrom iz literature. U visokom frekvencijskom području (3000–3600 cm^{-1}) prisutne su vrpce koje odgovaraju istezanju O-H i N-H veza. Eksperimentalni spektar pokazuje široku vrpcu oko 3424 cm^{-1} , dok Gaussian također predviđa slične vibracije u tom području. Također, u eksperimentalnom spektru uočene su slabije vrpce oko 3166 cm^{-1} , koje pripadaju C-H vibracijama, a slične vrpce se vide i u Gaussovom spektru.

Jedna od najistaknutijih značajki IR spektra glicina je vrpca pripisana istezanju karbonilne (C=O) veze, koja se u eksperimentalnom spektru pojavljuje oko 1623 cm^{-1} . Gaussian također predviđa jake vrpce u ovom području, što potvrđuje pouzdanost računalnog modeliranja vibracijskih svojstava molekule. Osim karbonilnog istezanja, prisutni su i karakteristični amidni modovi i deformacije u području od 1300 do 1600 cm^{-1} . Eksperimentalno su zabilježene vrpce na 1444 cm^{-1} i 1325 cm^{-1} , što se podudara s predviđenim frekvencijama u Gaussovom spektru. U nižem frekvencijskom području, ispod 1000 cm^{-1} , oba spektra prikazuju više vrpce koje odgovaraju torzijskim i savojnim modovima molekule glicina. Ove vibracije su specifične za fleksibilne funkcionalne skupine i njihovu međusobnu interakciju.

Ovaj IR spektar glicina prikazuje intenzitet apsorpcije u ovisnosti o frekvenciji (u cm^{-1}). Na temelju karakterističnih modova vibracija možemo interpretirati ključne vrpce:

- O-H i N-H istezanje ($\sim 3000\text{--}3600 \text{ cm}^{-1}$): Vrpce u ovom području odgovaraju hidroksilnim (-OH) i aminskim (-NH) skupinama, karakterističnim za aminokiseline.
- C-H istezanje ($\sim 2800\text{--}3100 \text{ cm}^{-1}$): Slabiji pikovi u ovom području mogu ukazivati na prisutnost C-H vibracija iz metilenskih ($-\text{CH}_2$) grupa.
- Karbonilno istezanje C=O ($\sim 1600\text{--}1800 \text{ cm}^{-1}$): Intenzivna vrpca u ovom području može biti povezana s karboksilnom (-COOH) skupinom glicina.
- Amidni modovi ($\sim 1500\text{--}1700 \text{ cm}^{-1}$): Prisutnost amidnih I i II vrpce povezanih s N-H savijanjem i C-N istezanjem može se primijetiti u ovom području.
- Savijanje C-H i N-H ($\sim 1300\text{--}1500 \text{ cm}^{-1}$): Ove vrpce su karakteristične za deformacijske vibracije C-H i N-H veza u aminokiselinama.
- Niske frekvencije ($<1000 \text{ cm}^{-1}$): Ovdje se nalaze vibracije vezane uz torzijske i deformacijske modove molekule.

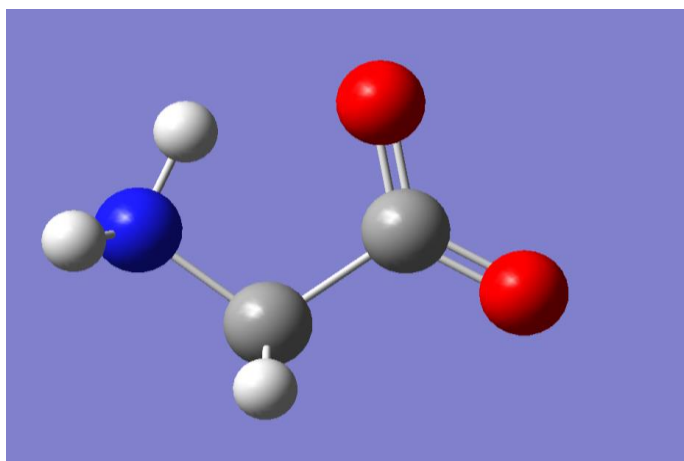
Spektar pokazuje sve ključne vibracije tipične za aminokiselinu glicin, uključujući istežanje O-H, N-H i C=O, što omogućuje identifikaciju funkcionalnih grupa i potvrdu strukture molekule.

Tablica 1. Prikaz frekvencija i odgovarajućih vrsta vibracije

Frekvencija (cm^{-1})	Vrsta vibracije
67.41	<i>NH₂ uvijanje CH₂ uvijanje</i>
228.33	<i>NH₂ zibanje,</i>
289.13	strižna deformacija CC=O i NCC
456.16	<i>CH₂, NH₂, OH zibanje,</i>
543.40	Zibanje CO, istežanje C-C
593.99	<i>NH₂ zibanje, COH zibanje</i>
695.78	<i>CH₂ zibanje, OH istežanje C=O zibanje</i>
811.44	<i>NH₂ klaćenje, CH₂ zibanje</i>
834.38	<i>CH₂ zibanje, NH₂ asimetrično istežanje, COH strižna deformacija</i>
1013.20	<i>CH₂ zibanje, NH₂ klaćenje</i>
1075.12	<i>NH₂ zibanje, CH₂ zibanje</i>
1133.22	CN istežanje, <i>CH₂ zibanje</i>
1231.61	COH strižna deformacija, <i>NH₂ zibanje</i>
1290.75	<i>NH₂ zibanje, CH₂ zibanje</i>
1344.42	COH strižna deformacija, C-C istežanje, CH zibanje
1425.02	<i>CH₂ klaćenje, NH₂ zibanje, C-H savijanje</i>
1490.37	<i>CH₂ strižna vibracija</i>
1654.74	<i>NH₂ strižna vibracija</i>
1820.23	C=O istežanje strižna deformacija COH
2934.47	<i>CH simetrično istežanje</i>
3104.28	<i>CH₂ asimetrično istežanje</i>
3515.83	<i>NH₂ simetrično istežanje</i>
3597.71	<i>NH₂ asimetrično istežanje</i>
3761.27	OH istežanje

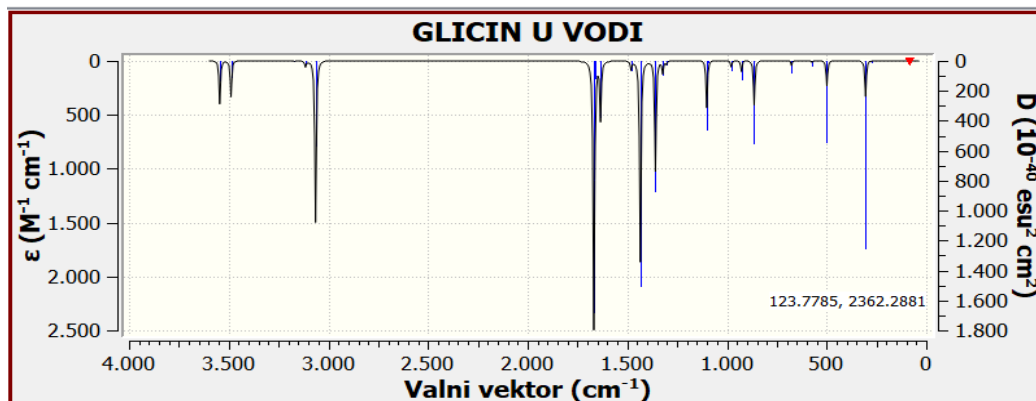
Tablica prikazuje vibracijske frekvencije glicina, uključujući deformacije i istezanja ključnih veza. Niske frekvencije ($<1000\text{ cm}^{-1}$) odgovaraju savojnim vibracijama, srednje ($1000\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$) uključuju CN i C=O istezanja te amidne modove, dok visoke ($>2900\text{ cm}^{-1}$) obuhvaćaju istezanja C-H, N-H i O-H veza. Ove vrijednosti potvrđuju strukturu glicina usporedbom s eksperimentalnim i teorijskim podacima

4.2 Glicin u vodi



Slika 16. Optimizirana molekula glicina u vodi

U vodenom mediju glicin se uglavnom nalazi u obliku stabilne strukture zwitteriona. Na slici je optimizirana struktura glicina u vodi te je dobiven spektar.



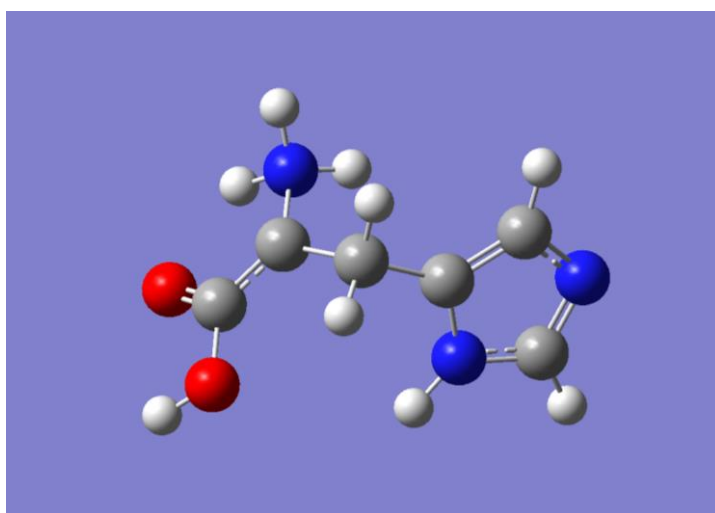
Slika 17. Spektar molekule glicina u vodi dobiven programom Gaussian 09

Uspoređujući infracrvene spektre glicina u vodi i u suhom stanju, mogu se uočiti značajne razlike u položaju i intenzitetu vrhova. U spektru glicina otopljenog u vodi vibracijski modovi pomaknuti su zbog interakcije molekula glicina s molekulama vode putem vodikovih veza, dok su u spektru suhog glicina vrhovi oštrij i izraženiji jer nema utjecaja otapala. Jedna od ključnih razlika vidljiva je u području između 3000 i 3500 cm^{-1} , gdje se nalaze stretching vibracije N-H i O-H veza. U suhom glicinu ovaj pojas je už i precizniji, dok je u otopini glicina znatno širi i difuzniji zbog hidratacije aminske i karboksilatne skupine. Također, vibracije karboksilne skupine, koje se javljaju oko 1600 cm^{-1} i 1400 cm^{-1} , pokazuju različito ponašanje ovisno o okruženju. U suhom stanju ove vibracije su jasno izražene, dok su u vodenoj otopini blago pomaknute i proširene zbog interakcija s molekulama vode.

Dodatne razlike uočljive su i u području ispod 1500 cm^{-1} , koje se naziva područjem otiska prsta. U ovom dijelu spektra prisutne su torzijske i deformacijske vibracije, koje su u otopini promijenjene zbog utjecaja hidracije.

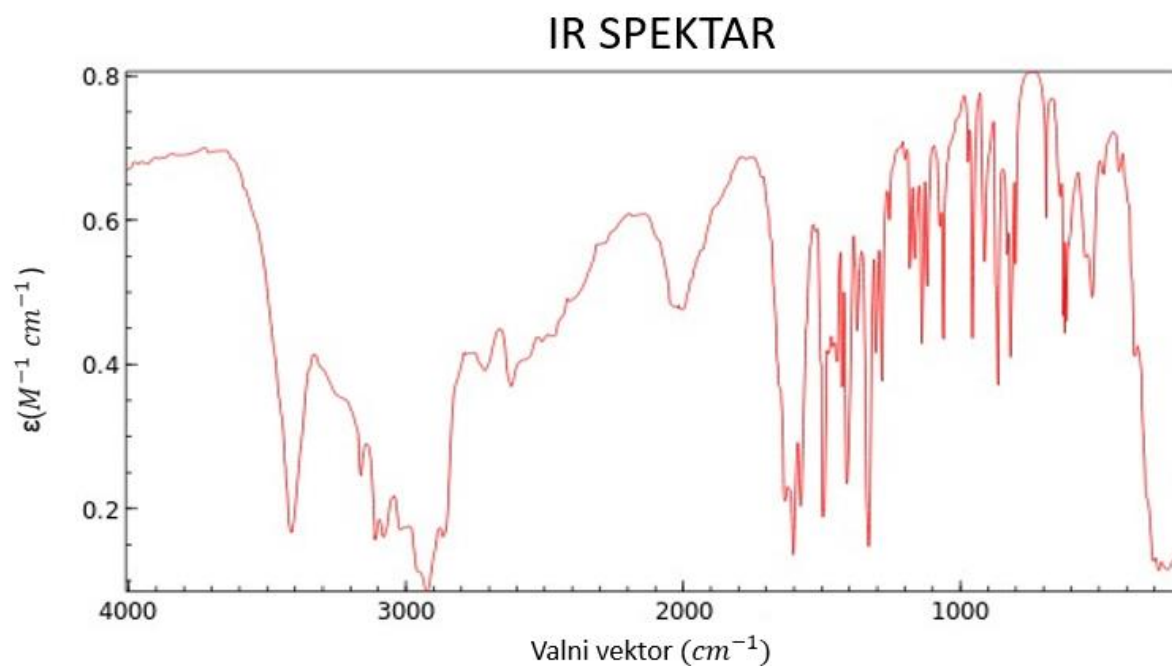
Zaključno, glavni čimbenik koji utječe na razlike između ova dva spektra jest prisutnost vode, koja uzrokuje pomake, proširenje i promjenu intenziteta vrhova zbog formiranja vodikovih veza s funkcionalnim skupinama glicina.

4.3. Histidin

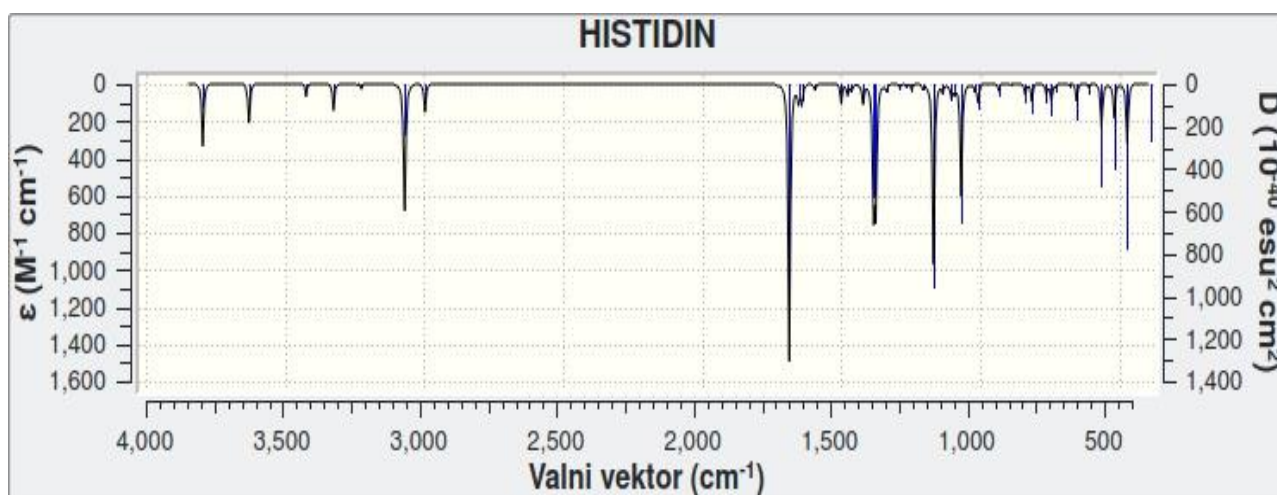


Slika 18. Optimizirana molekula histidina

Nakon optimizacije dobiveni rezultati upotrebljeni su za izradu spektra koji su uspoređeni s eksperimentalnim podacima.



Slika 20. Eksperimentalni IR spektar L-histidina [23]



Slika 19. IR spektar histidine dobiven programom Gaussian 09

Ovaj infracrveni (IR) spektar prikazuje vibracijske modove molekule, pri čemu su frekvencije izražene u cm^{-1} na x-osi, dok su intenziteti prikazani na lijevoj i desnoj y-osi. Analizom spektra moguće je identificirati glavne funkcionalne skupine prisutne u spoju.

U području između 3000 i 3500 cm^{-1} mogu se prepoznati stretching vibracije N-H i O-H veza, što upućuje na prisutnost aminske ili hidroksilne skupine. Jak vrh oko 1600 cm^{-1} obično odgovara stretching vibracijama karboksilne (C=O) skupine u karboksilatima ili amidima, dok se ovdje također mogu pojaviti deformacijske vibracije amino skupine (NH_2). U nižem energetsom području, ispod 1500 cm^{-1} , vidljivi su brojni vrhovi koji čine specifični „otisak prsta“ molekule i odgovaraju složenim savijajućim i torzijskim vibracijama. Dodatno, vrhovi u području između 1000 i 1500 cm^{-1} mogu upućivati na prisutnost C-N ili C-O veza, što je karakteristično za amide, estere ili etere. Također, vrhovi oko 3000 cm^{-1} mogu biti povezani s C-H stretching vibracijama ako molekula sadrži alifatske ili aromatske ugljikovodične skupine.

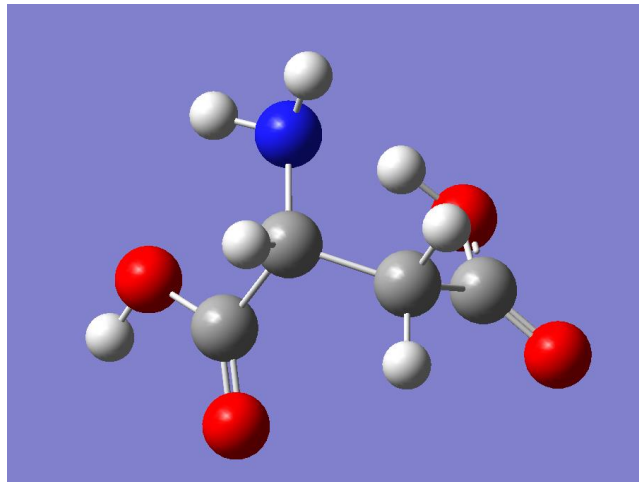
Ako je poznata kemijska struktura analizirane molekule, moguće je preciznije odrediti kojoj funkcionalnoj skupini pripadaju pojedini vrhovi. Ovaj spektar jasno prikazuje prisutnost različitih vibracijskih modova, što omogućuje identifikaciju spoja ili potvrdu njegove strukture.

Usporedbom spektra dobivenog programom Gaussian 09 i spektra preuzetog iz literature može se zaključiti da su oba spektra prisutni su karakteristični signali koji potvrđuju ključne funkcionalne skupine u molekuli histidina. Visokofrekventna regija između 3000 i 3500 cm^{-1} u eksperimentalnom spektru prikazuje široku apsorpciju koja se pripisuje rastezanju O-H iz karboksilne skupine i N-H iz aminske skupine. Gaussian spektar također pokazuje vrpce u tom području, iako su nešto više frekvencije, što je očekivano zbog teorijskog modeliranja u vakuumskim uvjetima i korištenja harmoničnog oscilatora. U području 1600 – 1700 cm^{-1} , oba spektra imaju izražene vrpce koje odgovaraju rastezanju C=O iz karboksilne skupine te C=N iz imidazolnog prstena. Ove vibracije ključne su za identifikaciju histidina jer potvrđuju prisutnost njegovih osnovnih strukturnih elemenata. Gaussianov spektar pokazuje nešto oštrije vrpce u usporedbi s eksperimentalnim, što je posljedica nedostatka međumolekulskih interakcija u teorijskom modeliranju.

Fingerprint regija, između 600 i 1500 cm^{-1} , u oba spektra sadrži kompleksne vibracije specifične za histidin, uključujući savijanja i torzijske modove C-H, N-H i C-N veza. Eksperimentalni spektar pokazuje blago proširene vrpce, dok Gaussian spektar prikazuje nešto

uže i izraženije vrpce, što je još jedan očekivan rezultat teorijske simulacije. Općenito, IR spektar histidina dobiven Gaussian 09 programom dobro se slaže s eksperimentalnim spektralnim podacima iz literature.

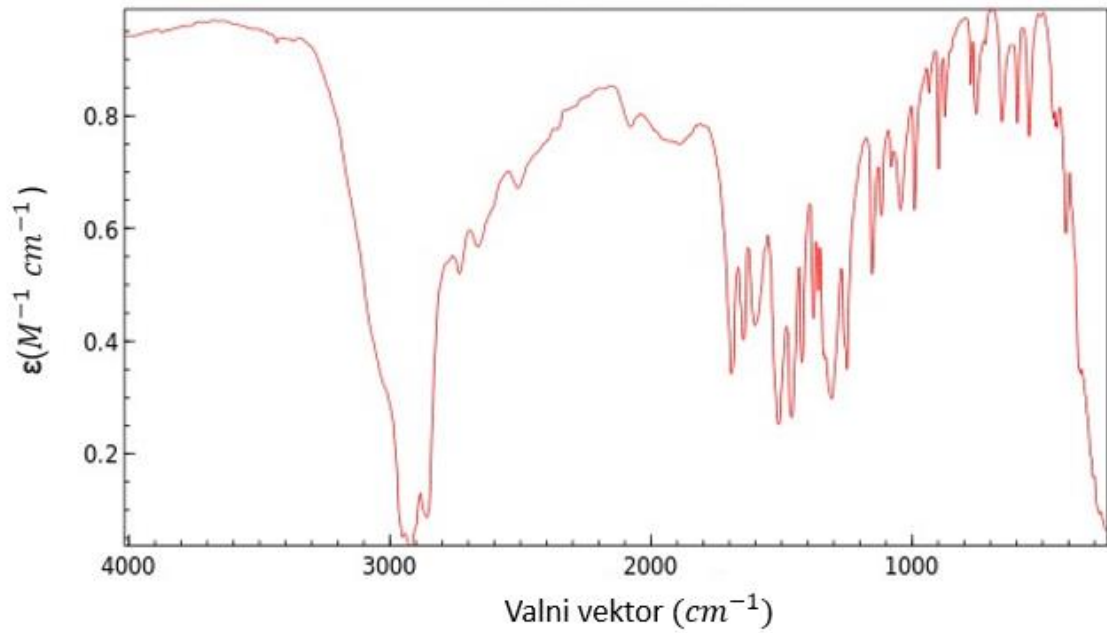
4.4. Asparaginska kiselina



Slika 21. Optimizirana molekula asparaginske kiseline

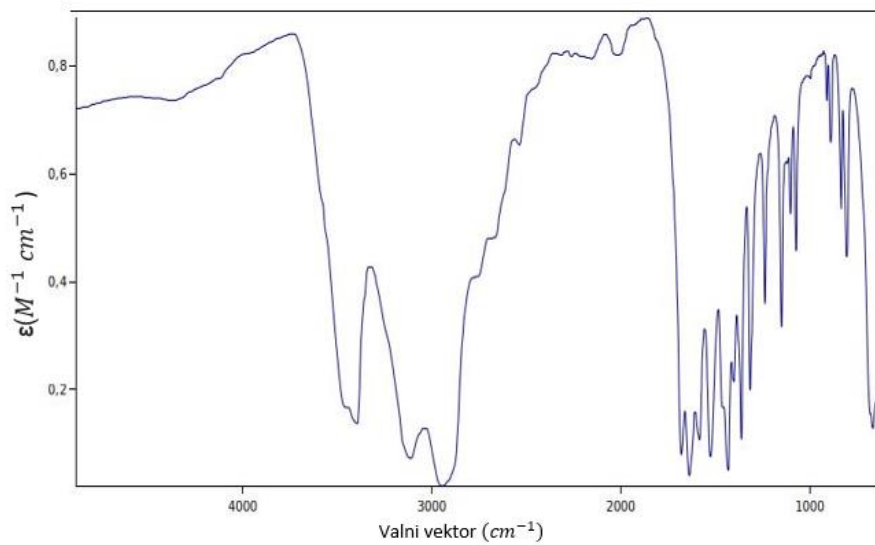
Također nakon provedene optimizacije dobiveni podaci uzeti su za izradu IR spektra

IR SPEKTAR



Slika 22. Eksperimentalni IR spektar D-asparaginske kiseline [23]

IR SPEKTAR



Slika 23. Eksperimentalni IR spektar L-asparaginske kiseline [23]



Slika 24. IR spektar asparaginske kiseline dobiven programom Gaussian 09

IR spektar asparaginske kiseline prikazuje karakteristične vibracije koje potvrđuju prisutnost njezinih funkcionalnih skupina, uključujući karboksilne (-COOH) i aminske (-NH₂) skupine, kao i dodatnu karboksilnu skupinu u bočnom lancu. Visokofrekventna regija između 3200 i 3500 cm⁻¹ sadrži široku apsorpciju koja se pripisuje rastezanju O-H iz karboksilnih skupina, pri čemu vodikove veze često uzrokuju širenje signala. U istom području prisutne su i vrpce povezane s N-H rastezanjem aminske skupine, koje se mogu preklapati s O-H vibracijama.

Jedan od najupečatljivijih signala u spektru nalazi se u području između 1650 i 1750 cm⁻¹, gdje se pojavljuje jaka apsorpcija koja odgovara rastezanju C=O iz karboksilnih skupina. Budući da asparaginska kiselina sadrži dvije karboksilne skupine, moguće je da se u tom rasponu pojavi više od jedne vrpce. Dodatno, u regiji između 1400 i 1600 cm⁻¹ vidljive su vrpce koje odgovaraju savijanju N-H i C-H veza. Fingerprint regija, između 600 i 1500 cm⁻¹, sadrži kompleksne vibracije specifične za asparaginsku kiselinu, uključujući savijanja i torzijske modove C-O, C-N i O-H veza. U spektru su jasno izražene vrpce ispod 1700 cm⁻¹, što dodatno potvrđuje prisutnost rastezanja C=O iz karboksilnih skupina. Vrhovi u području od 1000 do 1500 cm⁻¹ pripadaju deformacijama C-H, C-N i O-H, što upotpunjuje spektroskopsku sliku molekule.

Sveukupno, IR spektar asparaginske kiseline dobiven u programu Gaussian 09 pokazuje vrlo jasan prikaz vibracijskih modova očekivanih za ovu aminokiselinu. Ukoliko bi se uspoređivao s eksperimentalnim spektrima, moguće je uočiti određene razlike u frekvencijama zbog

teorijskog modeliranja, što se može korigirati primjenom skaler faktora kako bi se postiglo bolje podudaranje s eksperimentalnim podacima

Usporedba IR spektra asparaginske kiseline dobivenog iz programa Gaussian 09 s eksperimentalnim spektrom iz literature pokazuje jasne sličnosti, ali i određene razlike koje proizlaze iz teorijskih proračuna. Oba spektra potvrđuju prisutnost ključnih funkcionalnih skupina u molekuli, uključujući karboksilne (-COOH) i aminske (-NH₂) skupine. U visokoj frekvencijskoj regiji, spektri prikazuju široku apsorpciju u rasponu od približno 3200 do 3500 cm⁻¹, što se pripisuje rastezanju O-H veza iz karboksilnih skupina, uz moguće preklapanje s N-H vibracijama iz aminske skupine. Eksperimentalni spektar pokazuje nešto izraženiju širinu ovog signala, što može biti posljedica jačih vodikovih veza u stvarnom uzorku u usporedbi s teorijski izračunatim spektrom, u kojem su međumolekulske interakcije modelirane na idealiziran način. U srednjoj regiji spektra, oko 1650 – 1750 cm⁻¹, oba spektra sadrže intenzivne vrpce koje odgovaraju rastezanju C=O veza iz karboksilnih skupina. U eksperimentalnom spektru ove vrpce mogu biti blago pomaknute zbog interakcija s okolnim molekulama u čvrstom stanju, dok u teorijskom spektru mogu pokazivati neznatna odstupanja zbog korištenja aproksimativnih računalnih metoda.

Fingerprint regija, koja obuhvaća područje između 600 i 1500 cm⁻¹, u oba spektra prikazuje složene vibracije koje uključuju savijanja C-H, C-N i O-H veza. Iako se mogu uočiti manja pomicanja pojedinih vrpca, opći profil spektra ostaje vrlo sličan, što potvrđuje točnost teorijskih proračuna.

Glavna razlika između teorijskog i eksperimentalnog spektra odnosi se na precizne frekvencije vibracija, koje su u teorijskom spektru iz Gaussiana često malo više nego u eksperimentalnom, što je poznata posljedica korištenja DFT metoda bez primjene korekcijskih faktora. Uzimajući u obzir ove razlike, može se zaključiti da teorijski IR spektar pruža dobar uvid u vibracijska svojstva asparaginske kiseline, ali za kvantitativnu usporedbu s eksperimentalnim podacima bilo bi potrebno primijeniti skaler faktore kako bi se postiglo još bolje podudaranje.

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu provedena je vibracijska analiza aminokiselina glicina, histidina i asparaginske kiseline pomoću računalnih metoda temeljenih na teoriji funkcionala gustoće (DFT). Dobiveni infracrveni (IR) spektri uspoređeni su s eksperimentalnim podacima iz literature kako bi se evaluirala preciznost teorijskih proračuna.

Analiza spektra glicina pokazala je prisutnost ključnih funkcionalnih skupina, uključujući aminske i karboksilne skupine, čije vibracije odgovaraju karakterističnim frekvencijama. Usporedba teorijskog i eksperimentalnog spektra ukazala je na određena odstupanja, ponajprije u položaju vrpce u visokofrekventnom području, što je posljedica računalnog modeliranja u vakuumskim uvjetima. Posebno je uočeno proširenje i pomak vibracijskih modova u spektru glicina u vodenom mediju, što se pripisuje utjecaju vodikovih veza.

Kod histidina, analiza IR spektra potvrdila je prisutnost imidazolnog prstena, čije karakteristične vibracije dominiraju u srednjem frekvencijskom području. Uočen je dobar stupanj podudarnosti između teorijskih i eksperimentalnih rezultata, uz očekivane razlike u intenzitetu i položaju pojedinih vrpce.

Asparaginska kiselina pokazala je slične trendove, pri čemu su vibracije karboksilnih i aminskih skupina prepoznate u spektru. Glavne razlike između teorijskih i eksperimentalnih podataka odnose se na pomake frekvencija, koji su posljedica aproksimacija korištenih u DFT metodi, ali i na različite uvjete eksperimenta.

Usporedba spektra svih analiziranih aminokiselina otkrila je specifične razlike koje proizlaze iz njihovih strukturnih karakteristika. Dok glicin, kao najmanja aminokiselina, pokazuje jednostavan vibracijski spektar, histidin i asparaginska kiselina imaju složenije vibracijske modove zbog prisutnosti dodatnih funkcionalnih skupina. Unatoč razlikama u intenzitetima i preciznim položajima vrpce, svi spektri pokazuju prepoznatljive značajke tipične za aminokiseline, čime je potvrđena pouzdanost korištene metode proračuna.

Ovi rezultati doprinose razumijevanju vibracijskih svojstava aminokiselina te pokazuju važnost kombinacije računalnih i eksperimentalnih metoda u analizi molekularnih struktura. Buduće studije mogu dodatno istražiti utjecaj okoline, kao što su različita otapala ili interakcije s drugim biomolekulama, kako bi se još preciznije opisala njihova vibracijska svojstva.

6. LITERATURA

- [1] Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L., Biochemistry, SAD, 2002., str. 38-52.
- [2] Nakamoto, K. (2009). Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds (6th ed.). John Wiley & Sons.
- [3] D. N. Sathyanarayana, 1.3. Importance of vibrational Spectroscopy, Vibrational Spectroscopy: Theory and Applications
- [4] Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation Peter Larkin
- [5] https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_%28Physical_and_Theoretical_Chemistry%29/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Vibrational_Modes/Number_of_Vibrational_Modes_in_a_Molecule?utm_source=chatgpt.com (pristup 18.03.2025.)
- [6] https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-the-different-molecular-vibration-modes-showing-bending-and_fig9_275583514 (pristup 22.1.2025)
- [7] Lehninger Principles of Biochemistry – Nelson, Cox (77-91)
- [8] <https://edutorij-admin-api.carnet.hr/storage/extracted/074ffbb3-a1b7-4fe1-9f4a-1ea3539d642d/biologija-1/m02/j05/index.html> (pristup 14.1.2025)
- [9] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/750> (pristup 10.3.2025)
- [10] Nelson, D. L., Cox M. M., Lehninger Principles of Biochemistry, W. H. Freeman; 4th edition, 2004., str. 75-115
- [11] Wang, W., Wu, Z., Dai, Z., Yang, Y., Wang, J., Wu, G. (2013). "Glycine metabolism in animals and humans: implications for nutrition and health." *Amino Acids*, 45(3), 463–477
- [12] Boldyreva, E. V. (2007). "Polymorphism of Glycine." *ChemInform*, 38(25)
- [13] Marsh, R. E. (1958). "The Crystal Structure of Gamma Glycine." *Acta Crystallographica*, 11(8), 654–663.
- [14] Wu, G. (2009). "Amino Acids: Metabolism, Functions, and Nutrition." *Amino Acids*, 37(1), 1–17
- [15] Kossel, A., & Hedin, S. G. (1896). Über das Histidin, eine neue organische Base des Eiweißes. *Zeitschrift für Physiologische Chemie*, 22(1), 33-50.
- [16] Hardy, P. M. (1985). *The Protein Amino Acids*. U G. C. Barrett (Ur.), Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids (str. 9). Chapman and Hall
- [17] Matsumoto, T., & Inaoka, Y. (2020). Histidine as a crucial amino acid in enzymatic catalysis and protein stability. *Nutrients*, 12(3), 848

- [18] Chen, Y., Tao, K., Ji, W., Kumar, V. B., Rencus-Lazar, S., & Gazit, E. (2022). Histidine as a key modulator of molecular self-assembly: Peptide-based supramolecular materials inspired by biological systems. *Chemical Engineering Journal*
- [19] https://www.researchgate.net/figure/Linear-and-Stereochemical-formula-of-D-aspartic-and-L-aspartic-acid-Chemical-structure_fig1_276491066 (pristup 10.3.2025)
- [20] <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-7-120> (pristup 10.3.2025)
- [21] Harrison, N. M. (n.d.). *An Introduction to Density Functional Theory*. Department of Chemistry, Imperial College of Science, Technology and Medicine & CLRC, Daresbury Laboratory, Warrington
- [22] Engel, E., & Dreizler, R. M. (2011). *Density Functional Theory: An Advanced Course*. Springer
- [23] NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>) pristup (20.3.2025)