

CZU: 577.343:577.112.386:574.5

## INFLUENȚA ACIZILOR HUMICI ASUPRA TRANSFORMĂRILOR FOTOCHIMICE ALE CISTEINEI ÎN MEDIUL ACVATIC

Vladislav BLONSCHI, Viorica GLADCHI

Universitatea de Stat din Moldova

În articol sunt expuse rezultatele studiului cinetic al fotooxidării cisteinei în prezența acizilor humici, pe sisteme model, la iradierea cu diferite surse artificiale de radiație. Valorile vitezelor inițiale de oxidare, precum și ale constantelor efective de viteză determinate, sunt în bună concordanță cu datele din literatura de specialitate, fiind de  $10^{-8}$ - $10^{-9}$  M/s și, respectiv, de  $10^{-4}$ - $10^{-5}$ s<sup>-1</sup>.

**Cuvinte-cheie:** fotooxidare, cisteină, acizi humici, viteză inițială de oxidare, constantă efectivă de viteză.

### THE INFLUENCE OF HUMIC ACIDS ON CYSTEINE'S PHOTOCHEMICAL TRANSFORMATIONS IN AQUATIC ENVIRONMENT

The results of the kinetic study of photo-oxidation of cysteine in the presence of humic acids, on model systems, irradiation with different artificial sources of radiation are presented in this paper. The values of the initial oxidation velocities and the determined effective rate constants are in line with the literature data, being  $10^{-8}$ - $10^{-9}$  M/s and  $10^{-4}$ - $10^{-5}$ s<sup>-1</sup> respectively.

**Keywords:** photooxidation, cysteine, humic acids, initial oxidation rate, effective rate constant.

#### Introducere

Substanțele tiolice (R-SH) de natură peptidică reprezintă o clasă de compuși organici biogeni cu multiple funcții esențiale în sistemele biogeochimice [1]. Totodată, compușii tiolici sunt una dintre cele mai reactive clase de compuși din organismele vii, cu rol de protecție a celulelor contra stresului oxidativ, xenobioticelor, prin reacții de oxidoreducere, complexare, substituție, adiție [2].

Un reprezentant al tiolilor de natură biogenă este cisteina (Cys), care, împreună cu glutatiunea (GSH), se găsește în stare liberă, în cantitățile cele mai mari în organisme [1]. Fiind un aminoacid, Cys îndeplinește funcție structurală în compoziția proteinelor. Totuși, până în prezent structurile R-SH și rolurile acestora în apele naturale sunt puțin studiate.

Reactivitatea R-SH în sistemele acvatice depinde de mulți factori, dintre care pH-ul, mineralizarea apelor naturale, prezența diferitor forme ale ionilor metalelor de tranziție (Fe, Cu, Zn, Cd, Hg ș.a.), natura chimică a R-SH, precum și prezența substanțelor organice dizolvate (SOD), care predominant sunt constituite din acizi humici (AH) [1-3].

Este demonstrat că în straturile superioare ale obiectelor acvatice R-SH se transformă predominant pe cale fotochimică [4]. Factorii limitativi ai reacțiilor fotochimice: nebulozitatea, variațiile intensității luminii solare pe parcursul zilei, temperatura, viteza de omogenizare a straturilor de apă, refracția radiației solare incidente la trecerea dintr-o fază în alta (atmosfera-hidrosferă) sunt bine cunoscute, însă rămâne neclară influența AH în procesele fotochimice.

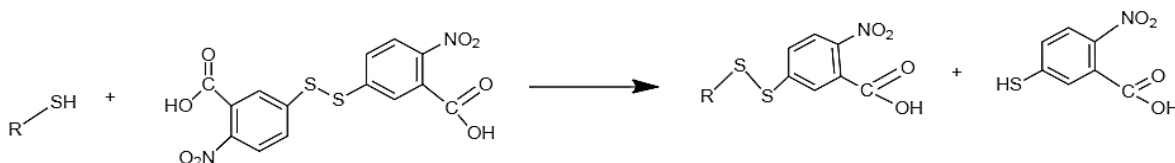
Conform unor cercetări [5], acizii humici nu sunt doar fotosensibilizatori în transformări fotochimice. A fost demonstrat că AH pot genera radicali liberi, în urma absorbției radiației solare de către grupele cromofore (-C=C-, -C=O, inele fenolice) din structura acestora, ceea ce le conferă proprietăți mixte – atât de fotosensibilizatori, cât și de fotoinițiatori. S-a observat o creștere a concentrației de radicali liberi (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, <sup>•</sup>OH) generată de AH la valori ridicate ale mineralizării apelor naturale și în prezența ionilor metalelor de tranziție [1,4,5]. Însă, în unele condiții, AH se pot comporta și ca antioxidanți, regenerând moleculele oxidate de aminoacid pe cale fotochimică, studiu efectuat pe exemplul triptofanului [5].

#### Material și metode

**Materiale.** Acizii humici, cisteina, reactivul Ellman, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> au fost procurați de la Aldrich Chemical Company, Inc. Toate soluțiile au fost preparate cu apă distilată, distilator model ДЭ-4.

**Acizi humici.** Concentrația acizilor humici a fost stabilită empiric, prin prepararea soluțiilor de diferite concentrații, până la înlăturarea turbidității provocate de aceștia, pentru a elimina interferența la determinarea optică a grupelor -SH cu reactivul Ellman.

**Determinarea optică a grupelor –SH libere cu reactivul Ellman.** Compușii tiolici se determină foto-colorimetric, la lungimea de undă 412 nm [3], aplicând legea Lambert-Beer ( $\epsilon=13600$  l/mol·cm). Principiul metodei constă în formarea unui cromofor galben dintre grupele –SH libere din compoziția tiolului cu acidul 5,5-ditiobis-(2-nitrobenzoic), la pH=8.



**Surse de radiație.** În calitate de surse de iradiere au fost utilizate 3 lămpi:

- 1) *lampa monocromatică cu lungimea de undă 365 nm* – pentru cercetarea inițială a legităților fotochimice ale Cys în condiții blânde;
- 2) *lampa monocromatică cu lungimea de undă 254 nm*, lungime de undă apropiată de maximul de absorbție al Cys (250 nm) [6];
- 3) *lampa policromatică DRT-400*, spectrul efectiv de emisie al căreia (240-440 nm) cuprinde toate maximurile de absorbție ale substraturilor din sistemele modelate.

În condiții de laborator au fost modelate 4 sisteme, în fiecare dintre ele variind consecutiv concentrația unuia dintre componente, pe când celelalte rămâneau cu concentrația constantă:

I. Cys-AH-hv;

II. Cys-AH-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-hv;

III-IV. Cys-AH-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Me<sup>n+</sup>-hv, unde Me<sup>n+</sup> sunt ionii de Cu(II) și de Fe(III).

Conform unor cercetări recente, concentrația tiolilor în apele naturale variază în intervale largi: 10<sup>-9</sup>-10<sup>-6</sup>M [1,2]. Astfel, pentru elucidarea legităților cinetice s-a ales concentrația Cys în sistemele modelate de ordinul 10<sup>-4</sup> M, astfel încât valorile empirice obținute să fie reprezentative și, totodată, valorile absorbantei determinate să corespundă domeniului de dependență liniară A=f([-SH]), conform legii Lambert-Beer.

### Rezultate și discuții

Utilizând aparatul cineticii chimice pentru toate sistemele, în toate cazurile de iradiere au fost calculate constantele efective de viteză, considerând că ordinul global al vitezelor este pseudo-unu. Din curbele cinetice s-a stabilit că la variația tuturor componentelor, cu excepția Cys, concentrația grupelor –SH (stabilite prin metoda Ellman) în sistem crește în timp, ceea ce induce la concluzia că AH se comportă fie ca antioxidant, regenerând grupele –SH din compoziția Cys, fie ca capcană de radicali, generați de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dar și de înșiși AH.

Interes pentru studiul dat a prezentat fotooxidarea Cys (scăderea concentrației –SH în timp). Din acest motiv au fost cuantificate doar valorile obținute în sistemele în care s-a variat concentrația Cys. La iradierea cu lampa monocromatică cu  $\lambda=365$  nm, doar în sistemele fără catalizatori a crescut viteza de distrucție a grupelor –SH libere, iar la adăugarea ionilor de Cu(II) și de Fe(III) s-a observat creșterea concentrației grupelor –SH în timp. Constanta de viteză pentru sistemul I ( $(1,37\pm 0,47)\cdot 10^{-5}\text{s}^{-1}$ ) este mai mică comparativ cu cea pentru sistemul II ( $(2,44\pm 0,56)\cdot 10^{-5}\text{s}^{-1}$ ) (Tab.1), datorită cantității suplimentare de radicali <sup>•</sup>OH generați la fotoliza H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Tabelul 1**

**Parametrii cinetici ai procesului de fotoliză a cisteinei, la iradierea cu lămpile monocromatice cu  $\lambda=254, 365$  nm**

Sistem model	Lampa monocromatică cu $\lambda=254$ nm		Lampa monocromatică cu $\lambda=365$ nm	
	Cys-AH-H <sub>2</sub> O-hv	Cys-AH-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O-hv	Cys-AH-H <sub>2</sub> O-hv	Cys-AH-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O-hv
$[-SH]\cdot 10^4, \text{M}$	$k\cdot 10^5, \text{s}^{-1}$	$k\cdot 10^5, \text{s}^{-1}$	$k\cdot 10^5, \text{s}^{-1}$	$k\cdot 10^5, \text{s}^{-1}$
0,33	4,67±0,61	8,78±1,12	1,37±0,47	2,44±0,56
0,83				
1,67				
2,50				
3,33				

Valorile constantelor pentru sistemele necatalitice (I, II), iradiate cu lampa monocromatică cu  $\lambda=254$  nm, sunt următoarele:  $(4,67\pm 0,61)\cdot 10^{-5}\text{s}^{-1}$  și, respectiv,  $(8,78\pm 1,12)\cdot 10^{-5}\text{s}^{-1}$ .

În sistemele catalitice concentrația grupelor –SH crește în timp, probabil din cauza că la lungimea de undă 254 nm AH se excită și trec în starea triplet [1], generând radicali; în același timp, macromoleculele excitate captează radicalii formați, astfel că aceștia nu reușesc să difuzeze în soluție.

La iradierea cu lampa DRT-400, valorile constantelor de viteză sunt cu un ordin mai mari, însă odată cu adăugarea în sistem a fotoinițiatorului ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), valorile constantelor scad. O scădere și mai pronunțată se atestă la adăugarea catalizatorilor (Tab.2).

Tabelul 2

Parametrii cinetici ai procesului de fotoliză a cisteinei, lampa DRT-400

Sistem model	Cys-AH-H <sub>2</sub> O-hv	Cys-AH-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O-hv	Cys-AH-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Cu (II)-H <sub>2</sub> O-hv	Cys-AH-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Fe (III)-H <sub>2</sub> O-hv
$[-\text{SH}]\cdot 10^4, \text{M}$	$k\cdot 10^4, \text{s}^{-1}$	$k\cdot 10^4, \text{s}^{-1}$	$k\cdot 10^4, \text{s}^{-1}$	$k\cdot 10^4, \text{s}^{-1}$
0,33	2,75±0,10	1,83±0,11	1,65±0,09	1,68±0,10
0,83				
1,67				
2,50				
3,33				

Această diminuare ar putea fi explicată prin comportamentul dual al AH, concomitent fiind fotosensibilizatori și fotoinițiatori, iar la adăugarea altor substraturi cu proprietăți mai accentuate de generare a radicalilor liberi AH se manifestă ca antioxidanți, captatori de radicali.

Așadar, a fost confirmat că cisteina se supune transformărilor fotochimice în prezența acizilor humici, ordinul constantelor de fotoliză calculat experimental ( $10^{-4}$ - $10^{-5}$ M/s) se află în concordanță cu datele din literatură [1]. La adăugarea în sistem a moleculelor de inițiator și/sau catalizator, concentrația grupelor –SH crește în timp, ceea ce confirmă ipotezele propuse în literatura de specialitate, conform cărora AH se pot comporta ca fotosensibilizatori, fotoinițiatori, capcane de radicali și antioxidanți [2]. Totuși, comportamentul chimic al AH rămâne și în continuare un subiect de cercetare în transformările fotochimice în apele naturale.

### Concluzii

1. Prin intermediul aparatului cineticii chimice a fost confirmat că Cys se supune fotolizei în prezența AH, constantele efective de viteză fiind de ordinul  $10^{-4}$ , în cazul iradierii cu lampa policromatică DRT-400 și de ordinul  $10^{-5}$ , la iradierea cu lămpile monocromatice cu  $\lambda=254$  nm și, respectiv, cu  $\lambda=365$  nm.
2. A fost demonstrat, indirect, prin depistarea creșterii concentrației grupelor –SH libere în sistem, comportamentul dual al AH: sensibilizator și inițiator în lipsa unor oxidanți și/sau ioni ai metalelor de tranziție și antioxidant, în prezența acestora.

### Referințe:

1. CHU, C., STAMATELATOS, D., McNEILL, K. Aquatic indirect photochemical transformations of natural peptidic thiols: impact of thiol properties, solution pH, solution salinity and metal ions. In: *Environmental Science: Processes & Impacts*, 2017, no19 (12), p.1518-1527.
2. JOE-WONG, C., SHOENFELT, E., HAUSER, E. J., CROMPTON, N., MYNENI, S. C.B. Estimation of reactive thiol concentrations in dissolved organic matter and bacterial cell membranes in aquatic systems. In: *Environmental Science & Technology*, 2012, no46, p.9854-986.
3. DUCA, Gh., GLADCHI, V., ROMANCIUC, L. *Procese de poluare și autoepurare a apelor naturale*. Chișinău: CE USM, 2002. 145 p.
4. CHU, C., ERICKSON, P.R., LUNDEEN, R.A., STAMATELATOS, D., ALAIMO, P.J., LATCH, D.E. In: *Environmental Science & Technology*, 2016, no50(12), p.6363-6373.
5. LUNDEEN, R.A., JANSSEN, E.L., CHU, C., McNEILL, K. Environmental photochemistry of amino acids, peptides and proteins. In: *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 2014, no.68 (11), p.812-817.
6. КАРНАУХОВА, Л.И., ТУПИЦЫН, Е.Н. *УФ-спектроскопия биологических макромолекул (учебно-методическое пособие)*. Саратов, 2002. 15 с.

7. FASUROVÁ, N., POSPÍŠILOVÁ, L. Characterization of soil humic substances by ultraviolet-visible and synchronous fluorescence spectroscopy. In: *Journal Central European Agriculture*, 2010, no11(3), p.351-358.

*Notă: Lucrarea a fost efectuată în cadrul Proiectului instituțional „Elaborarea procedeeleor de epurare a apelor reziduale de poluanți greu biodegradabili și compoziția, autopurificarea chimică, posibilități de valorificare a apelor din bazinul Nistrului de Jos”, din cadrul direcției strategice 50.07 „Materiale, tehnologii și produse inovative”, înscris în Registrul de stat al proiectelor din sfera științei și inovării cu cifra 15.817.02.35A.*

**Date despre autori:**

**Vladislav BLONCHI**, doctorand, Școala doctorală Științe Chimice; cercetător științific stagiar, Universitatea de Stat din Moldova.

**E-mail:** blonschivlad@mail.ru

**Viorica GLADCHI**, doctor, conferențiar universitar; decanul Facultății de Chimie și Tehnologie Chimică, Universitatea de Stat din Moldova.

**E-mail:** viorica.gladchi@gmail.com

**ORCID:** 000-0002-9960-312X

*Prezentat la 02.07.2019*