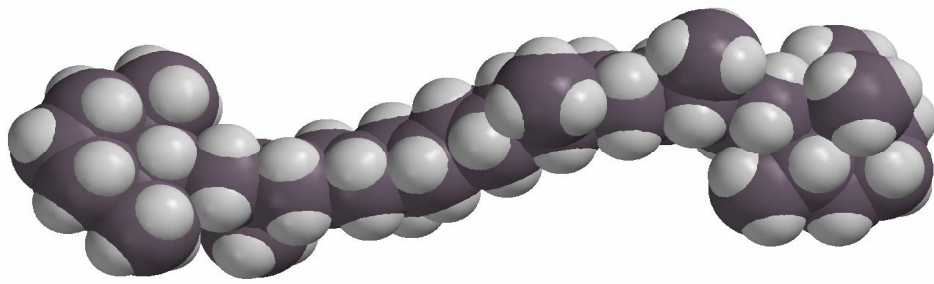


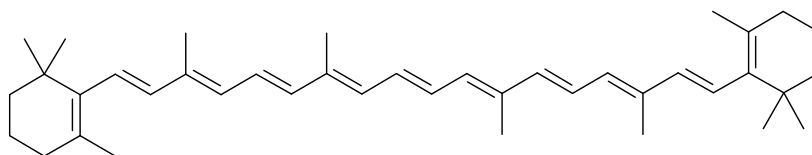
KAROTENOIDIEN MALLINTAMINEN



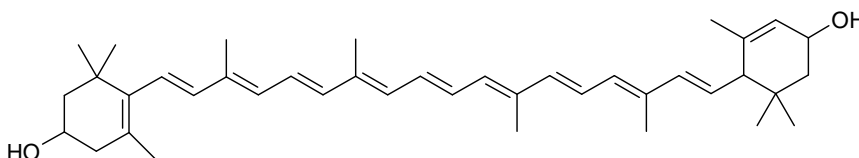
JOHDANTO

Hyönteismaailman värien monimuotoisuus on aina kiehtonut luonnontieteilijöitä, mutta vasta 1900-luvun alkupuolella alettiin ymmärtää pigmentteihin liittyvää kemiaa. Syynä tähän oli tarkoitukseen sopimattomat laboratoriovälineet ja menetelmät. Pigmentit esiintyvät luonnon materiaaleissa niin pieninä ainemäärinä, että niiden eristäminen oli vaikeaa ja vaikka eristäminen olisi onnistunut, puhtaita näytteitä ei kuitenkaan olisi pystytty analysoimaan käytössä olevilla menetelmillä riittävän tarkasti. Tarkkoihin määrittäisiin olisi tarvittu paljon hyönteisiä. Vasta kromatografian kehittyminen antoi työkalut pigmenttien käsittelyyn laboratoriossa.

Hyönteisissä on sekä rasva- että vesiliukoisia pigmenttejä. Hyönteisten elimistöön pigmentit tulevat ravinnon kautta. Hyönteisissä olevat rasvaliukoiset pigmentit ovat karotenoideja. Karotenoidit voidaan jakaa karoteeneihin ja ksantofylleihin. Karoteenit (kuva 1) ja ksantofyllit ovat molemmat rakenteeltaan samankaltaisia, isokokoisia isopreenihiilivetyjä, mutta ksantofyllien rakenteet sisältävät happea (kuva 2). Karoteenit ja ksantofyllit ovat pääosin keltaisia pigmenttejä, β -karoteeni on oranssinkeltainen ja ksantofylli luteiini on keltainen, mutta ne ilmenevät usein hyönteisissä vihreänä värinä. β -karoteeni- ja luteiinimolekyylit muodostavat hyönteisten elimistössä proteiinien kanssa vesiliukoisia komplekseja.



Kuva 1. β -karoteenin rakennekaava.



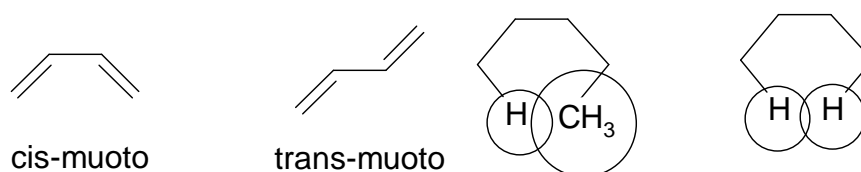
Kuva 2. Luteiinin rakennekaava.

Pigmenttien eristys ohutkerroskromatografialla perustuu molekyylien polaarisuus eroon, jolloin ne liikkuvat levyllä eri nopeudella. Ohutkerroskromatografialevyssä on polaarista piihappogeeliä, jolloin polaariset molekyylit liikkuvat levyä pitkin hitaammin kuin poolittomat. Sen vuoksi β -karoteenin nousee levyllä korkeammalle kuin luteiini, koska luteiinissa olevat hydroksyyliiryhmät tekevät siitä β -karoteenia polaarisemman.

MALLINNUS

Kaksoissidosten suuren lukumäärän myötä karotenoideille on ominaista monipuolinen isomerian esiintyminen, useimmiten cis-trans isomeriaa. Kuitenkin luonnossa esiintyvistä isomeereistä suurin osa on trans-muodossa ja vain pieni osa cis-muodossa, koska cis-isomeeri aiheuttaa suuremman steerisen esteen vetyatomien tai/ja metyyliryhmien välille (kuvat 3, 6 ja 7). Cis-muoto on yleensä termodynaamisesti epästabiilimpi ja energettisesti korkeampi, kuin trans-muoto mikä johtuu cis-muodon elektronien epäedullisemmasta sijoittumisesta molekyyliissä.

Tehtävän mallinnusosa koostuu kahdesta osiosta. Ensimmäisessä osassa tutkitaan valmista β -karoteeni molekyyliä. Toisessa osiossa tarkastellaan cis-trans isomeriaa pelkistetyin mallin avulla. Mallinnusosa on tehty Spartan 04 student versiolla.

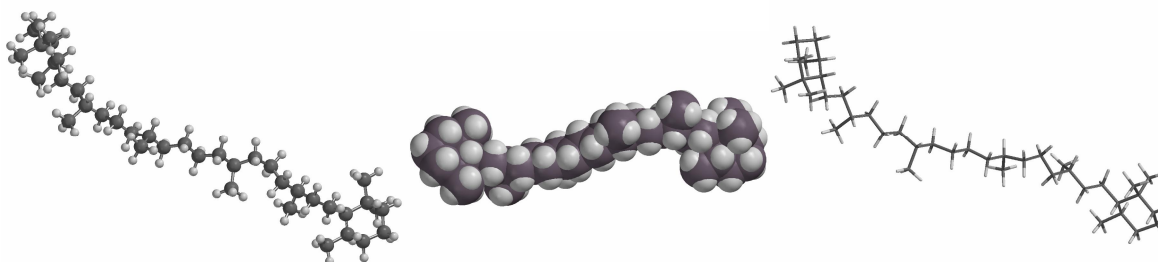


Kuva 3. Cis-trans isomeria

TYÖN SUORITUS

1. Tarkastellaan valmista beta-karoteeni molekyyliä

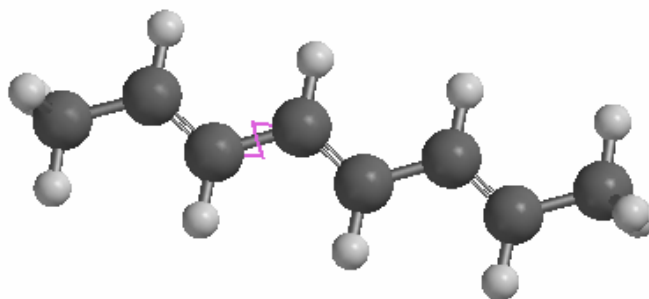
- Kerrataan molekyylin liikuttelu
 - o Käännä molekyyliä – hiiren vasen näppäin pohjassa
 - o Liikuta molekyyliä työtasolla – hiiren oikea näppäin pohjassa
 - o Suurena, pienennä molekyyliä – shift + hiiren oikea näppäin pohjassa
 - o Käännä molekyyliä työtasossa – shift + hiiren vasen näppäin pohjassa
- Visualisoidaan molekyyliä eri esitystavoilla (kuva 4), "Model"
- Tarkastellaan molekyylimekaniikkaa. "Display" à "Output"
- Tutkitaan molekyyli IR-spektriä ja värähtelyjä, "Display" à "Spectra" à "Draw IR spectrum"



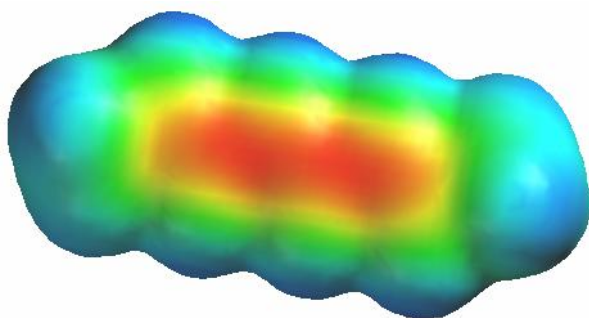
Kuva 4. Pallo-tikku, kalotti ja putkimalli

2. Cis-trans isomeria

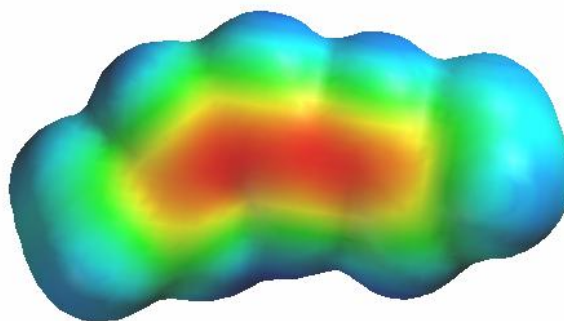
- Suljetaan "beta-karoteeni.spartan" ja avataan "beta-karoteeni_cis-trans _malli_Profile1.spartan"
- Näytölle avautuu pelkistetty malli beta-karoteenin hiiliketjusta (kuva 5).
- Molekyylistä on laskettu potentiaalienergiapinta kiertäen 360 astetta merkittyä sidosta à vasemmalta alhaalta voit klikata animaation käytiin.
- Potentiaalipinta-animaation voi tallentaa "Save as" komennolla .avi-tiedostoksi.
- Visualisoi myös elektronitiheydet à "Display" à "Surfaces"
- Klikkaa keltaista laatikkoa, jolloin pinta näkyy
- Klikkaa pintaa hiiren vasemmalla näppäimellä, jolloin oikealta alhaalta voit muuttaa pinnan esitystapaa



Kuva 5. Pelkistetty malli betakaroteenin hiiliketjusta.



Kuva 6. Trans-muodon malli



Kuva 7. Cis-muodon malli

OPETTAJALLE (näin rakennat valmiit molekyylit oppilaiden tarkasteltavaksi)

1. Rakennetaan β -karoteeni molekyyli

- Lisää sykloheksaani
- Lisää 18 sp^2 -hiiltä
- Lisää sykloheksaani
- Lisää molempiin renkaisiin kolme sp^3 -hiiltä ja ketjuun neljä 3 sp^3 -hiiltä
- Lisää kaksoissidokset molempiin renkaisiin
- Poista ylimääräiset valenssit
- Oikealla alhaalla lukee nyt beta-carotene
- Putsaa steeriset esteet
- Siirry mallinnuspuolelle visualisoimaan
- Tarkastellaan eri esitys tapoja (kuva 9)

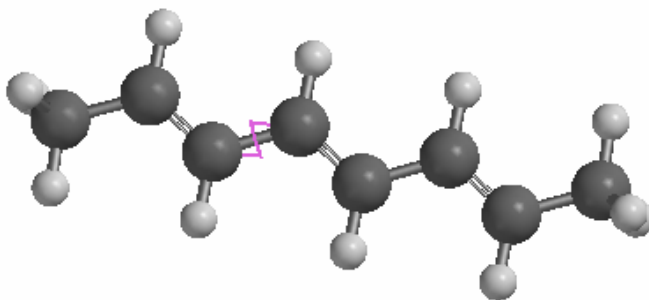
- Calculate: Equilibrium geometry
Molecular mechanics
- Laita ruksi IR-laatikkoon

- Spartanin eduversio pystyy laskemaan betakaroteenia pelkästään molekyylimekaniikka laskutasolla suuren kokonsa vuoksi.

- Tallenna tiedosto

2. Avaa uusi sivu

- Rakennetaan malli, jonka avulla visualisoidaan cis-trans-isomeria (kuva 8)
- Lisää kahdeksan sp^3 -hiiltä
- Lisää kolme kaksoissidosta
- Poista ylimääräiset valenssit
- Putsaa steeriset esteet
- Oikealla alhaalla lukee nyt (2E, 4E, 6E)-octatriene



Kuva 8. Malli

3. Mallinnetaan molekyylin potentiaalienergia

- Valitse Geometry → Constrain Dihedral

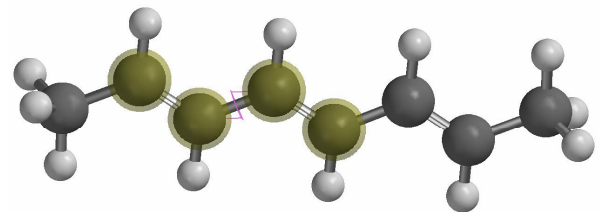
- Klikkaa hiiliatomeja, joiden suhteen tapahtuvaa torsioliikettä tarkastellaan (kuva 9)
valitut molekyylit muuttuvat keltaiseksi

- Seuraavaksi klikkaa ikkunan oikeassa alakulmassa aktivoitunutta vaaleanpunaista lukonkuvaa
→ lukko sulkeutuu ja ohjelma ilmoittaa sen hetkisen torsiokulman arvon. Tämä määrittelee
torsiokulman, jonka suhteen tapahtuvaa kiertoa tarkastellaan.

- Valitse Display → Properties, jonka jälkeen klikkaa molekyylissä esiintyvää vaaleanpunaista
torsiokulman merkkiä

- Rastita Dynamic laatikko

- Vaihda uudet arvot 180 – (-180) ja 40
(paina enteriä niin arvo muuttuu)



Kuva 9. Hiiliatomien valitseminen

4. Potentiaalienergian laskeminen

- Lasketaan molekyylin energiaprofiili

- Setup → Calculations, josta valitse → Calculate: Energy profile
Semi Empirical

- Tallenna alkutilanne → file → Save as → beta-karoteeni_cis-trans_malli "Save"

- Laskun loputtua sulje alkuperäinen tiedosto
ja avaa uusi tiedosto " beta-karoteeni_cis-trans_malli.Profile1.spartan ", joka sisältää
energiaprofiililaskun tulokset

- Laske molekyylille myös elektronitiheydet

- Tarkastellaan elektronien jakautumista molekyylissä
- Valitse "Setup" → "Surfaces"
Surface: Density
Property: Potential
Valitse lopuksi "OK"
- Valitse "Setup" → "Submit", jolla haluttu pinta lasketaan (Keltainen laatikko
"Surfaces"-ikkunassa kertoo lasketusta pinnasta)
- Klikkaa keltaista laatikkoa, jolloin pinta näkyy
- Klikkaa pintaa hiiren oikealla näppäimellä, jolloin oikealta alhaalta voit muuttaa
pinnan esitystapaa

5. Cis-trans muotojen visualisointi

- Visualisoidaan mallin energiaprofiili:

Display → Spreadsheet (Add / Rel. E / Apply)

Display → Plots

XY-plot: X-axis: molecule

Y-axis: Rel. E (kcal/mol) (suhteellinen energia)

- Molekyylimallin viereen avautuu kuvaaja, joka toimii siirrettävänä objektina, kuten molekyylimallikin

- Spartan-ohjelman ikkunan vasemmasta alakulmasta löytyy ”liukuri”, jonka avulla voit tutkia eri rakenteiden sijoittumista energiapinnalle

- Potentiaalipinta-animaation voi tallentaa ”Save as” komennolla .avi-tiedostoksi.

LÄHTEET

Britton, G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *Faseb Journal* 9,1551-1558.

Cromartie, R.I.T. 1959. Insect pigments^{1,2}. *Annual Review of Entomology* 4, 59-76.

Fagerstedt, K., Kärkönen, A., Niini, S., Ahlfors, R., Santanen, A. & Simola, L. 2007. *Kasvifysiologian harjoitustyöt - 52071*. Helsinki : yliopistopaino, 24-27.

Goodwin, T.W. ED. 1976. *Chemistry and Biochemistry of plant Pigments - second edition, volume 2*. London : Academic Press London New York San Francisco, 38-58.

Lundell, J. & Aksela, M. 2004. Molekyylimallinnus ja sen energia. *Dimensio* 1, 53-54.

Opetushallitus 2003. *Lukion opetussuunnitelman perusteet 2003*. Helsinki: Opetushallitus.

LISÄTIETOA

Mallinnustehtävästä on myös versio, jossa mallinnus yhdistetään kokeelliseen laboratorio-työhön. Työ löytyy pro graduuni liittyvästä verkko-opetuspaketista osoitteesta

<http://www.helsinki.fi/kemia/opettaja/aineistot/hyonteistenkemial/index.htm>