



Doctoral Thesis

Aquatic Photochemistry of Amino Acids and Oligopeptides

Author(s):

Chu, Chiheng

Publication Date:

2016

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010738848> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO.23705

Aquatic Photochemistry of Amino Acids and Oligopeptides

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

CHIHENG CHU

M.E., the University of Tokyo

born on 27.04.1987

citizen of China

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Kristopher McNeill, examiner
Dr. Michael Sander, co-examiner
Prof. Dr. Tamar Kohn, co-examiner

2016

Summary

Dissolved free and combined amino acids (AAs) are ubiquitous in surface waters in which they make up a substantial fraction of the dissolved organic nitrogen pool. AAs such as cysteine (Cys) and histidine (His) also play a number of important roles in biogeochemical processes because of the special properties of thiol and imidazole functionalities. Because of the important roles of AAs in the environment, their transformation processes need to be understood. Previous work has demonstrated that abiotic photochemical oxidation is a major transformation pathway of AAs in sunlit waters.

The overall objective of this thesis was to provide a systematic investigation on the photochemical transformation of Cys and His in solutions containing chromophoric dissolved organic matter (CDOM). Three specific objectives were defined to address the overall objective: (1) evaluate the photochemical and nonphotochemical (dark) transformations of Cys in solutions containing CDOM, (2) assess the indirect photochemical transformation of His and histamine in solutions containing CDOM, (3) investigate the effect of neighboring photostable AA residues on the indirect photochemical transformation of His in His-containing oligopeptides.

The first part of this thesis focuses on evaluation of the abiotic photochemical and non-photochemical transformations of free Cys in natural waters. We assessed the transformation rates of Cys under UVA irradiation and natural sunlight conditions, as well as dark conditions, in CDOM solutions at pH 5.7 - 9.9. In addition, the reaction rate constants of Cys with environmentally relevant reactive intermediates were established over a range of solution pH values. The results show that Cys underwent abiotic transformations under both dark and irradiated conditions. Under dark conditions, the transformation rates of Cys were moderate and

highly pH- and temperature-dependent. Under UVA or natural sunlight irradiations, Cys transformation rates were enhanced by up to two orders of magnitude compared to rates under dark conditions. Product analysis indicated cystine and cysteine sulfinic acid were the major photooxidation products. In addition, this study provides an assessment of the contributions of singlet oxygen, hydroxyl radical, hydrogen peroxide, and triplet dissolved organic matter in Cys photochemical oxidation reactions. The results suggest that another unknown pathway was dominant in the photochemical loss of Cys, which will require further study to identify.

The second part of this thesis provides a systematic assessment of the photochemical transformation of His and histamine in aqueous solutions containing CDOM. To determine the effects of probe compound speciation and association with CDOM on phototransformation, irradiation experiments were carried out over a wide pH range and with either CDOM or model, low molecular weight photosensitizers. Irradiation experiments were complemented by sorption experiments to determine the extent of His and histamine sorption to CDOM. Both His and histamine showed pH-dependent enhanced phototransformation in the CDOM systems as compared to systems in which model $^1\text{O}_2$ sensitizers were used. Enhanced reactivity in the CDOM solutions resulted from sorption of His and histamine to CDOM and thus exposure to elevated $^1\text{O}_2$ concentrations in the CDOM microenvironment. The extent of reactivity enhancement depended on solution pH via its effects on the protonation state of His, histamine, and CDOM. Sorption-enhanced reactivity was independently supported by reduced rate enhancements in the presence of a co-sorbate that competitively displaced His and histamine from CDOM.

The third part of this thesis assessed the indirect photochemical transformation of His residues in oligopeptides with $^1\text{O}_2$. We designed His-containing oligopeptides, including di-, hexa- and

heptapeptides, as representative dissolved combined AAs having only primary protein structures. We conducted $^1\text{O}_2$ -mediated photooxidation studies with the His-containing oligopeptides in order (i) to examine the effects of neighboring residues (i.e., steric or charge interactions) on the rates of His residue photochemical transformation and (ii) to determine how charged or hydrophobic residues influence sorption-enhanced phototransformation of His-containing oligopeptides in solutions containing CDOM. The phototransformation rate constants of the His-containing peptides were highly pH-dependent. The photostable AA residues significantly modulated the photoreactivity of oligopeptides either through altering the accessibility of His to photochemically produced oxidants or through shifting the $\text{p}K_a$ values of His residues. In addition, the constituent photostable AA residues promoted sorption of His-containing peptides to CDOM macromolecules, through electrostatic attraction, hydrophobic effect, and/or low-barrier hydrogen bonds, and subsequently increased the apparent phototransformation rate constants by up to two orders of magnitude.

Overall, this thesis provides a systematic investigation on the photochemical transformation of Cys and His in solutions containing CDOM. The results highlight the importance of microheterogeneous photochemical processes of AAs in CDOM solutions. We anticipate that the photochemical microheterogeneity in CDOM solutions has tremendous impact on numerous environmental processes.

Zusammenfassung

Frei gelöste und zusammengesetzte Aminosäuren sind allgegenwärtig in Oberflächengewässern, in welchen diese Aminosäuren einen essentiellen Teil des gelösten organischen Stickstoffpools bilden. Aufgrund der besonderen Eigenschaften ihrer funktionellen Thiol- und Imidazolgruppen erfüllen die Aminosäuren Cystein (Cys) und Histidin (His) eine Reihe wichtiger Funktionen in biogeochemischen Prozessen. Aufgrund ihrer Bedeutung ist es unabdingbar, die Transformationsprozesse von Cys und His in der Umwelt zu verstehen. In vorherigen Arbeiten wurde nachgewiesen, dass die abiotische photochemische Oxidation ein wichtiger Transformationsprozess von Aminosäuren in lichtdurchfluteten Gewässern ist.

Das übergeordnete Ziel dieser Arbeit ist es, einen systematischen Einblick in die photochemische Transformation von Cys und His in Lösung zu gewinnen, die gelöste chromophore organische Substanzen (CDOM) enthalten. Drei spezifische untergeordnete Ziele wurden definiert, um das übergeordnete Ziel zu erreichen: (1) Die Evaluierung der photochemischen und nicht photochemischen Transformation von Cys in Lösung mit CDOM, (2) die Beurteilung der indirekten photochemischen Transformation von His und Histamin in Lösung mit CDOM und (3) das Untersuchen der Effekte benachbarter photostabiler Aminosäureresten auf die indirekte photochemische Transformation von His in His-haltigen Oligopeptiden.

Der erste Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Beurteilung von abiotischen photochemischen und nicht photochemischen Transformationsreaktionen von frei gelöstem Cys in natürlichen Gewässern. Die Transformationsraten von Cys unter UVA-Einstrahlung und unter natürlichem Sonnenlicht, sowie unter nicht-photochemischen Bedingungen (Lichtausschluss)

wurden in Lösung mit CDOM über einen pH-Bereich von pH 5.7 - 9.9 abgeschätzt. Zudem wurden die Geschwindigkeitskonstanten der Reaktion von Cys mit umweltrelevanten reaktiven Zwischenprodukten im pH-Bereich von 5.7 - 9.9 ermittelt. Die Resultate zeigen, dass Cys sowohl unter UV-Strahlung als auch unter Lichtausschluss abiotisch transformiert wird. Die Transformationsraten von Cys unter Lichtausschluss sind hierbei moderat und zudem stark abhängig vom pH und der Temperatur. Die Transformationsraten von Cys unter UVA-Strahlung oder unter natürlichem Sonnenlicht sind um bis zu zwei Grössenordnungen höher, verglichen mit den Raten unter Lichtausschluss. Die Analyse der Transformationsprodukte deutet darauf hin, dass Cystin und die Sulfinsäure von Cys die wichtigsten Photooxidationsprodukte sind. Diese Arbeit liefert zusätzlich eine Einschätzung über die prozentualen Anteile, mit denen Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$), das Hydroxyl-Radikal, Wasserstoffperoxid und der Triplettzustand von CDOM zu den photochemischen Oxidationsreaktionen von Cys beitragen. Die Resultate zeigen auf, dass ein grosser Teil des Abbaus von Cys unter photochemischen Bedingungen auf einen noch unbekanntem Reaktionsweg zurückzuführen ist, für dessen Identifikation weitere Nachforschungen nötig sind.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde die photochemischen Transformationen von His und Histamin in wässrigen Lösungen mit CDOM systematisch untersucht. Es wurden Lichtbestrahlungsexperimente mit His und Histamin durchgeführt mit dem Ziel, die Effekte der Speziierung und der Sorption an CDOM auf die Phototransformation dieser Verbindung zu bestimmen. Diese Experimente wurden über einen weiten pH Bereich mit entweder CDOM oder einem Modell-Photosensitizer durchgeführt. Die Experimente wurden durch Sorptionsexperimente ergänzt, um zusätzlich das Ausmass der Sorption von His und Histamin an CDOM zu ermitteln. Sowohl His wie auch Histamin wiesen eine pH-abhängige und eine erhöhte

Phototransformation in CDOM-Systemen auf, verglichen mit Systemen in welchen niedermolekulare $^1\text{O}_2$ Modell-Sensitizer genutzt wurden. Die erhöhten $^1\text{O}_2$ -Konzentrationen in den CDOM-Mikroumgebungen in Kombination mit der Sorption von His und Histamin an CDOM resultierten in einer erhöhten Reaktivität. Das Ausmass der erhöhten Reaktivität war abhängig vom pH der Lösung und somit vom Protonierungszustand von His, Histamin und CDOM. Ein weiteres Indiz für eine sorptionsinduzierte Erhöhung der Reaktivität von His und Histamin wurde mit einem Co-Sorbat nachgewiesen. In Anwesenheit des Co-Sorbats, welches His und Histamin mehrheitlich von CDOM verdrängte, verringerten sich die Reaktionsraten von His und Histamin deutlich.

Im dritten Teil dieser Arbeit wurde die photochemische Transformation von His-Resten in Oligopeptiden mit $^1\text{O}_2$ untersucht. Zu diesem Zweck wurden Di-, Hexa- und Heptapeptide hergestellt, die His enthielten und als Stellvertreter für zusammengesetzte Aminosäuren mit unterschiedlichen Primärstrukturen dienten. Es wurden Photooxidationsexperimente durchgeführt, in welchen die His-enhaltenden Oligopeptide von $^1\text{O}_2$ oxidiert wurden, um i) die Effekte von His-umgebenden Aminosäuren auf die photochemischen Transformationsraten der Imidazolgruppe des His im Oligomer zu untersuchen (z.B. Wechselwirkungen von Ladungen oder sterische Hinderung) und um ii) den Einfluss von geladenen oder hydrophoben Aminosäuren in His-enhaltenden Oligopeptiden in Lösung mit CDOM zu untersuchen. Die Geschwindigkeitskonstanten der Phototransformation von Peptiden mit His waren stark pH abhängig. Die Photoreaktivität der Oligopeptide wurde durch die photostabilen Aminosäurereste signifikant verändert. Diese Veränderungen resultierten entweder aufgrund einer modifizierten Zugänglichkeit der His-Gruppen für photochemisch produzierte Oxidationsmittel oder durch die Veränderung der Säurekonstanten der Imidazolgruppe des His. Ausserdem begünstigten die

photostabilen Aminosäurereste die Sorption von Peptiden mit His an die CDOM-Makromoleküle, aufgrund von elektrostatischen Wechselwirkungen, dem hydrophoben Effekt und/oder der Bildung stabiler Low-Barrier Wasserstoffbrücken. Aufgrund dieser Effekte erhöht sich die Geschwindigkeitskonstante der Phototransformation von Peptiden mit His um bis zu zwei Größenordnungen.

Zusammenfassend wurden in dieser Arbeit die photochemischen Transformationen von Cys und His in Lösung mit CDOM systematisch untersucht. Hervorzuheben sind vor allem die Bedeutung der mikroheterogenen photochemischen Prozesse der Aminosäuren in Lösung, die CDOM enthalten. Es ist zu erwarten, dass die photochemische Mikroheterogenität in Lösungen mit CDOM einen umfangreichen und starken Einfluss auf eine Vielzahl von Umweltprozessen hat.