

УДК 543.424.2

## НОВЫЕ МАРКЕРЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО И ИЗОМЕРНОГО СОСТАВА КАРОТИНОИДОВ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

© 2023 г. Д. Д. Васимов<sup>1</sup>, А. А. Ашихмин<sup>2</sup>, М. А. Большаков<sup>2</sup>, М. Н. Московский<sup>3</sup>, С. В. Гудков<sup>1,3</sup>, Д. В. Яныкин<sup>1,2</sup>, В. С. Новиков<sup>1,\*</sup>

Представлено академиком РАН В.И. Коновым 31.08.2023 г.

Поступило 31.08.2023 г.

После доработки 31.08.2023 г.

Принято к публикации 07.09.2023 г.

Проанализированы экспериментальные и рассчитанные на основе теории функционала плотности спектры комбинационного рассеяния каротиноидов растительного и бактериального происхождения: нейроспорина, сфероидена, ликопина, спириллоксантина,  $\beta$ -каротина, лютеина,  $\zeta$ -каротина,  $\alpha$ -каротина и  $\gamma$ -каротина. Впервые описан ряд характерных особенностей в спектрах комбинационного рассеяния каротиноидов, позволяющих определять структуру концевых групп молекул и различать их изомеры.

**Ключевые слова:** спектроскопия комбинационного рассеяния света, теория функционала плотности, каротиноиды, пигменты, *цис-транс*-изомерия

**DOI:** 10.31857/S2686740023060147, **EDN:** HSYSNV

Каротиноиды выполняют большое количество важных функций в различных живых организмах: от бактериальных клеток до высших растений и млекопитающих [1]. В человеческом организме эти соединения выступают в качестве антиоксидантов, нейтрализуя свободные радикалы, обладают провитаминами, иммуностимулирующими и лечебно-профилактическими свойствами [2, 3]. В частности, лютеин используется для лечения заболеваний глаз, например возрастной атрофии сетчатки, катаракты; ликопин предотвращает вакуолизацию в эпителиальных клетках хрусталика глаза человека [4, 5].  $\alpha$ -каротин,  $\beta$ -каротин и ликопин обладают антиканцерогенными и антиоксидантными свойствами [6, 7]. Человеческий организм не синтезирует каротиноиды, а получает их из пищи и лекарственных средств для наружного применения.

Каротиноиды являются компонентами системы сбора света в хлоропластах и играют важную роль в защите растений от фотоокислительного повреждения [8].

Основным элементом структуры каротиноидов является полиеновая цепь. Молекулы каротиноидов различаются длиной полиеновой цепи (длиной сопряжения), структурой боковых и концевых групп.

Кроме того, для каротиноидов характерна геометрическая изомерия, однако в природе преобладают термодинамически наиболее стабильные *транс*-изомеры каротиноидов, в то время как их *цис*-изомеры встречаются реже [9, 10]. Количество двойных связей в “скелете” молекулы каротиноида определяет возможный набор *цис*-конфигураций [11]. Могут существовать *цис*-изомеры как с одной *цис*-связью (моно-*цис*-изомеры), так и с несколькими (поли-*цис*-изомеры). В гомогенных растворах каротиноиды имеют тенденцию к изомеризации с образованием смеси из моно-/поли-*цис*-изомеров и полностью *транс*-изомеров. В тканях человека присутствует определенное количество *цис*-изомеров каротиноидов [12]. Как структура молекул каротиноидов, так и наличие изомерии существенно влияют на их биодоступность, провитаминальную активность, антиоксидантные и прочие ключевые для живых организмов свойства [9, 13, 14]. Таким образом, определение химического и изомерного составов

<sup>1</sup>Институт общей физики им. А.М. Прохорова  
Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр  
“Пушкинский научный центр биологических исследований  
Российской академии наук”, Пушкино, Московская обл.,  
Россия

<sup>3</sup>Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ,  
Москва, Россия

\*E-mail: vs.novikov@kapella.gpi.ru

каротиноидов является чрезвычайно важным и востребованным при анализе пищевых продуктов и лекарственных средств, имеет большое диагностическое значение, например, при исследовании кожи человека [15]. Вследствие возможной изомеризации молекул каротиноидов под действием ультрафиолетового излучения, повышенной температуры, под влиянием растворителей и т.п. производить диагностику изомерного состава каротиноидов более достоверно и более удобно в составе продуктов и лекарств без их выделения.

Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) света является неразрушающим и высокоинформативным методом анализа молекулярных веществ [16, 17]. За счет возникновения эффекта резонансного усиления интенсивности линий в спектрах КР каротиноидов из-за наличия в их молекулах последовательности сопряженных двойных связей при возбуждении спектров КР излучением синего-зеленого диапазона можно детектировать даже малые концентрации этих пигментов в сложных системах, таких как биологические ткани [18, 19].

Как правило, практический интерес представляет исследование каротиноидов в малых концентрациях в составе образца, и в этом случае низкая фото-, термо- и окислительная стабильность этих соединений в чистом виде не являются препятствием для анализа методом спектроскопии КР. Однако, при разработке методов спектроскопии КР для анализа химического и изомерного состава каротиноидов, необходимо проанализировать спектры КР изомеров чистых каротиноидов. В этом случае в качестве дополнительного метода очень полезным является моделирование спектров КР каротиноидов, основанное на методах квантовой химии. Анализ экспериментальных спектров КР с привлечением результатов моделирования позволяет более достоверно определить и связать изменения в структуре молекул с изменениями в спектрах КР.

К настоящему моменту накоплен значительный объем знаний о спектрах КР  $\alpha$ -каротина,  $\beta$ -каротина и ликопина (см. ссылки из работы [20]), в то время как спектры других каротиноидов исследованы очень мало. Наиболее важным результатом в области спектроскопии КР каротиноидов на сегодняшний день является установление зависимости положения полосы валентных колебаний  $C=C$ -связей от длины сопряжения (см. ссылки из работы [20]). В работе [20] было показано, что положение этой полосы слабо зависит от структуры боковых и концевых групп и в основном определяется длиной сопряжения. Зависимость частоты этого колебания от длины сопряжения описывается обратной функцией при учете частичного сопряжения двойных связей в составе иононовых колец с полиеновой цепью

для каротиноидов, имеющих иононовые кольца в качестве концевых групп. В этой же работе было показано, что положение полосы валентных колебаний  $C-C$ -связей зависит сложным образом от длины сопряжения, структуры боковых и концевых групп.

На данный момент остаются нерешенными две важнейшие задачи спектроскопии КР каротиноидов: определение зависимости спектров КР от типа изомера и определение влияния окружающей молекулы каротиноида на ее спектр КР. Известно, что в растворах и в коже человека наблюдаются сдвиги полос валентных колебаний  $C-C$ - и  $C=C$ -связей [21], однако решение этой задачи остается за рамками данного исследования. Данная работа посвящена определению зависимости спектров КР от типа изомера.

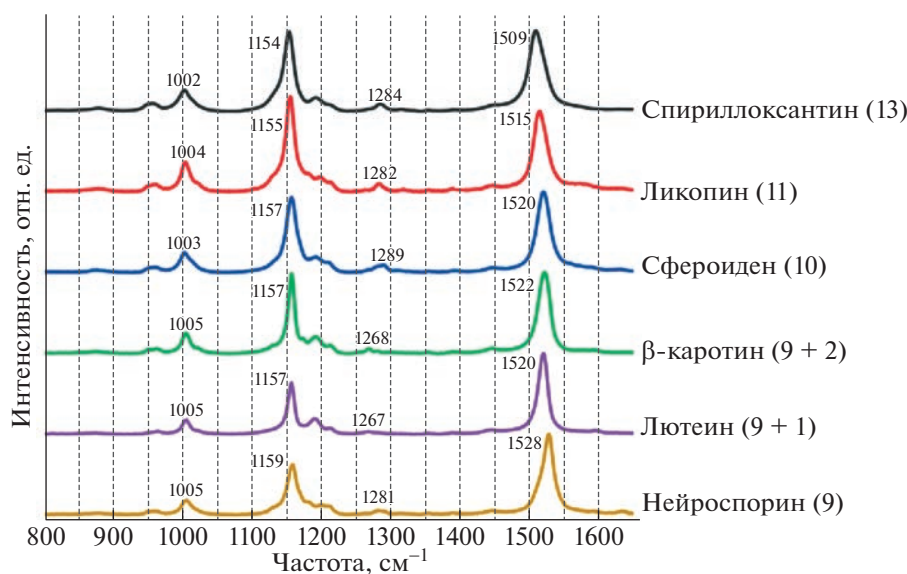
В работе [21] было показано, что в спектрах КР изомеров  $\beta$ -каротина наблюдаются сдвиг, перераспределение интенсивности и расщепление полос валентных колебаний  $C-C$ - и  $C=C$ -связей, а также изменение спектральных характеристик других полос. Таким образом, для анализа химического и изомерного состава каротиноидов необходимо найти дополнительные маркеры в спектрах КР.

Целью данной работы являлось обнаружение новых, связанных с интенсивностями и положениями линий характерных особенностей в спектрах КР каротиноидов для определения химического состава молекул, а также идентификации различных изомеров каротиноидов.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИЗМЕРЕНИЯ И МОДЕЛИРОВАНИЕ

В работе экспериментально были исследованы следующие каротиноиды: нейроспорин, сфероиден, ликопин, спириллоксантин,  $\beta$ -каротин и лютеин, а также изолированные Д1/Д2/цитохром *b559* комплексы фотосистемы 2 (реакционные центры фотосистемы 2 (РЦ ФС2)). Этот набор образцов позволяет исследовать зависимость положений и интенсивностей линий КР от длины сопряжения и структуры концевых групп.

Нейроспорин был выделен из *Rhodobacter sphaeroides* G1C. Сфероиден и спириллоксантин были очищены от *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1 и *Rhodospirillum rubrum* соответственно [22]. Также использовали три коммерческих препарата каротиноидов (лютеин (RealCaps, Россия), ликопин (Renessans, Россия),  $\beta$ -каротин (Merck, ЕС)). Экстракция и выделение каротиноидов были проведены методом, описанным в работе [23]. Реакционные центры ФС2 были выделены из листьев шпината согласно методу, описанному ранее [24].



**Рис. 1.** Экспериментальные спектры КР нейроспироксантина, сфероидена, ликопина, спириллоксантина,  $\beta$ -каротина и лютеина. На спектрах обозначены положения максимумов линий КР. В скобках указаны длины сопряжения с учетом частичного сопряжения двойных связей в иононовых кольцах с полиеновой цепью.

Экспериментальные спектры КР исследуемых веществ были зарегистрированы с помощью конфокального КР-микроскопа Senterra II (Bruker Optics, США) с длинами волн возбуждающего излучения 532 и 785 нм. Спектры записывали при  $180^\circ$ -рассеянии со спектральным разрешением  $1.5 \text{ см}^{-1}$ . Мощность лазера на поверхности образца составляла 6.25 мВт при длине волны возбуждения 532 нм и 25 мВт — при 785 нм.

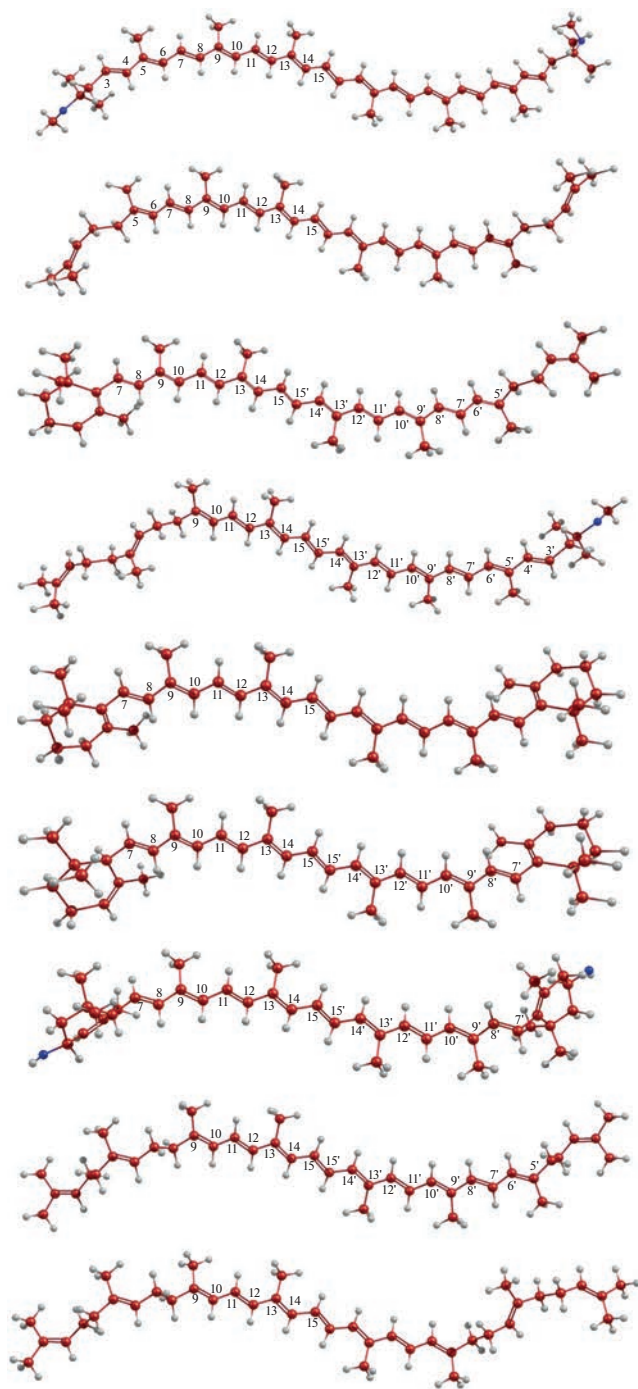
Помимо экспериментального исследования в работе производили расчет структур и спектров КР молекул каротиноидов. Были рассчитаны структуры и спектры КР всех каротиноидов, исследуемых экспериментально, а также  $\zeta$ -каротина,  $\alpha$ -каротина и  $\gamma$ -каротина. Для моделирования структур и спектров КР всех исследуемых молекул использовали теорию функционала плотности (ТФП). Расчеты проводили в некоммерческой программе “Природа” с использованием функционала OLYP и расширенного базиса гауссова типа (4z) [21, 25]. Для сравнения рассчитанных спектров с экспериментальными учитывалась конечная ширина линий в экспериментальных спектрах при помощи процедуры уширения, детально описанной в [21]. Для исключения из теоретического анализа зависимости интенсивностей линий КР от длины волны возбуждающего излучения рассчитывали значения Raman Scattering Activity (R.S.A., формула (4) из работы [21]).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены экспериментальные спектры КР нейроспироксантина, сфероидена, ликопи-

на, спириллоксантина,  $\beta$ -каротина и лютеина в области спектра от 800 до  $1600 \text{ см}^{-1}$ . В спектрах КР всех каротиноидов в этом диапазоне мы наблюдаем три основные линии: около  $1000 \text{ см}^{-1}$  (деформационные колебания боковых групп), около  $1150 \text{ см}^{-1}$  (валентные колебания С–С-связей) и около  $1520 \text{ см}^{-1}$  (валентные колебания С=C-связей) [21]. Максимумы линий, соответствующих валентным колебаниям С–С- и С=C-связей, в спектрах КР смещаются в сторону больших частот с уменьшением длины полиеновой цепи в молекулах каротиноидов. Этот результат находится в согласии с опубликованными данными других авторов ( см. ссылки в работе [20]).

Линии в спектрах КР каротиноидов в диапазоне  $1265\text{--}1290 \text{ см}^{-1}$  представляют особый интерес. Обнаружено, что положение наиболее интенсивных линий в этой области является маркером для определения строения концевых групп молекул (рис. 1). При использовании длины волны возбуждения 532 нм для регистрации спектров, в спектрах КР молекул  $\beta$ -каротина и лютеина, концевые группы которых содержат иононовое кольцо, положение наиболее интенсивной линии составляет  $1268$  и  $1267 \text{ см}^{-1}$  соответственно. Для других каротиноидов, не содержащих иононовых колец, оно смещено примерно на  $15\text{--}20 \text{ см}^{-1}$  в сторону больших частот и находится в области  $1282\text{--}1289 \text{ см}^{-1}$ . Кроме того, в спектрах каротиноидов, молекулы которых не содержат иононовых колец, интенсивность линий в этом диапазоне заметно выше. Несмотря на низкую интенсивность линий в диапазоне  $1265\text{--}1290 \text{ см}^{-1}$ , положение



**Рис. 2.** Рассчитанные структуры *транс*-изомеров спириллоксантина, ликопина,  $\gamma$ -каротина, сфероидена,  $\beta$ -каротина,  $\alpha$ -каротина, лютеина, нейроспорина,  $\zeta$ -каротина. Атомы углерода, кислорода и водорода обозначены красным, синим и серым цветами соответственно.

наиболее интенсивных линий можно определить с необходимой для анализа точностью из-за большого сдвига линий. Аналогичная зависимость наблюдается в случае длины волны возбуждения 785 нм, а именно положение наиболее интенсив-

ной линии в этом диапазоне составляет  $1267$  и  $1270\text{ см}^{-1}$  для  $\beta$ -каротина и лютеина и лежит в диапазоне  $1283\text{--}1287\text{ см}^{-1}$  для остальных каротиноидов.

Для более детального анализа различных изомеров молекул и отнесения линий в спектрах КР к определенным типам колебаний были рассчитаны оптимизированные структуры и спектры КР *транс*- и моно-*цис*-изомеров молекул нейроспорина, сфероидена, ликопина, спириллоксантина,  $\beta$ -каротина, лютеина,  $\zeta$ -каротина,  $\alpha$ -каротина и  $\gamma$ -каротина.

Оптимизированные геометрии *транс*-изомеров молекул каротиноидов представлены на рис. 2. Для обозначения *цис*-изомеров каротиноидов использовались общепринятые обозначения. Номер в обозначении указывает порядковый номер атома углерода в молекуле, около которого находится *цис*-связь. Отсчет атомов углерода ведется от концевой группы. Для обозначения номеров атомов углерода в молекулах каротиноидов с неэквивалентными концевыми группами использованы числа без штрихов при подсчете от одной концевой группы и со штрихами при подсчете от другой.

Рассчитанные спектры КР *транс*-изомеров молекул каротиноидов хорошо описывают основные особенности в экспериментальных спектрах КР (рис. 3а), что позволяет предположить, что в исследуемых экспериментально образцах молекулы находятся преимущественно в *транс*-конфигурации. Этот результат находится в согласии с ожидаемым конфигурационным составом выделенных каротиноидов. При этом мы наблюдаем смещение рассчитанных линий относительно экспериментально наблюдаемых для всех исследуемых каротиноидов. Линии, отвечающие валентным колебаниям С—С-связей, в рассчитанных спектрах смещены примерно на  $10\text{ см}^{-1}$  в сторону больших частот, а линии, отвечающие валентным колебаниям С=C-связей, на  $20\text{ см}^{-1}$  в сторону меньших частот. Однако все закономерности, в том числе зависимости положений и относительных интенсивностей линий от длины сопряжения, совпадают для рассчитанных и экспериментальных спектров. Далее будет показано, что в спектрах КР *цис*-изомеров каротиноидов присутствуют характерные линии, которые не наблюдаются в экспериментальных спектрах каротиноидов (рис. 3а), что также свидетельствует о том, что молекулы в исследуемых образцах находятся в *транс*-конфигурации.

В структурах 9-*цис*, 9'-*цис*, 13-*цис* и 13'-*цис* изомеров всех исследуемых каротиноидов, а также всех 5-*цис* и 5'-*цис* изомеров, возможных для ряда исследуемых в работе каротиноидов, около *цис*-связи находится атом углерода, у которого одним из заместителей является  $\text{CH}_3$ -группа (рис. 2). Та-



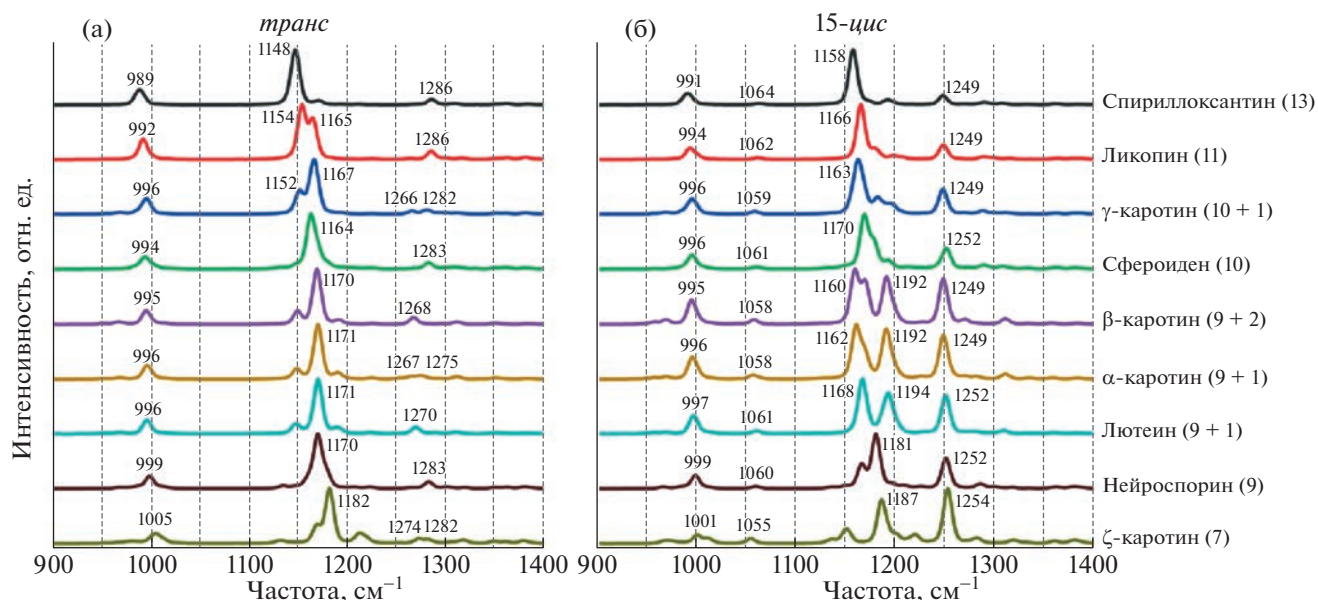


Рис. 3. Рассчитанные спектры КР *транс* (а) и 15-*цис*-изомеров (б) молекул спириллоксантина, ликопина,  $\gamma$ -каротина, сфероидена,  $\beta$ -каротина,  $\alpha$ -каротина, лютеина, нейроспорина,  $\zeta$ -каротина. В скобках указаны длины сопряжения с учетом частичного сопряжения двойных связей в иононовых кольцах с полиеновой цепью.

кие изомеры называются метилированными [26, 27]. Изомеры, у которых атомы углерода около *цис*-связи не имеют в качестве одного из заместителей  $\text{CH}_3$ -группу, называются неметилированными.

15-*цис* изомеры для всех исследуемых в работе каротиноидов являются эквивалентными по структуре 15'-*цис* изомерам и, следовательно, по спектрам КР. На рис. 3б представлены рассчитанные спектры КР 15-*цис*-изомеров молекул нейроспорина, сфероидена, ликопина, спириллоксантина,  $\beta$ -каротина, лютеина,  $\zeta$ -каротина,  $\alpha$ -каротина и  $\gamma$ -каротина. Для данного изомера у всех исследуемых каротиноидов в рассчитанных спектрах наблюдаются линии около 1060 и 1250  $\text{cm}^{-1}$ . Эти линии не наблюдаются в рассчитанных спектрах других изомеров этих каротиноидов. Присутствие и отсутствие этих линий хорошо согласуются с результатами работ [27, 28], где авторы наблюдали такие же полосы в экспериментальных спектрах КР 15-*цис*-изомера  $\beta$ -каротина в растворах. Аналогичные результаты были получены для кристаллических образцов 15-*цис*-изомера  $\beta$ -каротина, спектры которого были зарегистрированы при 77 К [29].

При анализе спектров КР, рассчитанных с применением метода ТФП, установлено, что линия вблизи 1060  $\text{cm}^{-1}$  соответствует валентным колебаниям С–С- и С=C-связей, расположенных вблизи *цис*-связи в молекуле, а линия вблизи 1250  $\text{cm}^{-1}$  соответствует валентным колебаниям С–С- и С=C-связей по всему скелету молекулы, с

наиболее интенсивными колебаниями вблизи *цис*-связи. Таким образом, было обнаружено, что наличие этих линий является маркером для детектирования 15-*цис* изомеров молекул каротиноидов.

Для дополнительного экспериментального подтверждения результатов наших расчетов нами были зарегистрированы спектры КР Д1/Д2/цитохром *b559* комплексов фотосистемы 2, содержащих две молекулы  $\beta$ -каротина в каждом РЦ ФС2. Мы обнаружили (рис. 4), что в спектрах наблюдается линия, указывающая на присутствие *транс* изомера каротиноида (полоса около 1157  $\text{cm}^{-1}$ ) и минорного количества 15-*цис* изомера (полоса около 1242  $\text{cm}^{-1}$ ). Это согласуется с результатами работ [28, 30, 31], согласно которым в РЦ ФС2 шпината, использованного в настоящей работе, в нативном состоянии содержатся *транс*-изомеры каротиноидов, а появление 15-*цис*-изомеров может быть обусловлено изомеризацией  $\beta$ -каротина при хранении образцов под действием освещения.

Анализ рассчитанных спектров позволил установить, что в спектрах КР метилированных изомеров, у которых *цис*-связь находится не рядом с сопряженными двойными связями на краю полиеновой цепочки в “скелете” молекул, наблюдается линия, отвечающая валентным колебаниям С–С-связей, находящихся в непосредственной близости от *цис*-связи. На рис. 5а и 5б представлены рассчитанные спектры КР 9-*цис*- и 13-*цис*-изомеров нейроспорина, сфероидена, ликопина, спириллоксантина,  $\beta$ -каротина, лютеина,  $\zeta$ -ка-

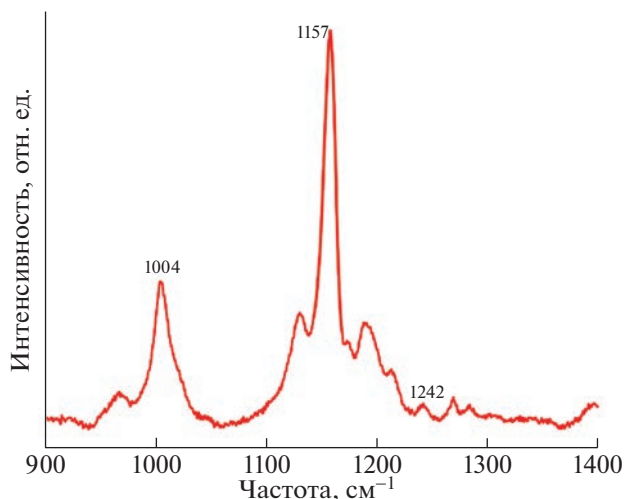


Рис. 4. Экспериментальный спектр КР D1/D2/цитохром *b559* комплексов фотосистемы 2.

ротина,  $\alpha$ -каротина и  $\gamma$ -каротина. В рассчитанных спектрах этих изомеров линия, отвечающая данным колебаниям, находится на частоте около  $1140\text{ см}^{-1}$ . Это позволяет отличать подобные изомеры от метилированных *цис*-изомеров. Наши результаты совпадают с экспериментальными данными, полученными для  $\beta$ -каротина в растворах [27, 28].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе впервые предложены новые маркеры определения структуры концевых групп каротиноидов и типа изомера по спектрам КР. Выводы работы подтверждены результатами эксперимен-

тальных исследований и квантово-химического моделирования.

Были получены экспериментальные спектры КР нейроспорина, сфероидена, ликопина, спириллоксантина,  $\beta$ -каротина и лютеина. Эти спектры были подробно описаны путем сравнения с теоретическими спектрами КР *транс*-изомеров этих соединений, полученных при помощи квантово-химических расчетов. Мы показали, что в экспериментальных образцах чистых каротиноидов преимущественно содержатся *транс*-изомеры молекул.

Был произведен подробный анализ и выявлена связь между рассчитанными структурами молекул и спектрами КР моно-*цис*-изомеров нейроспорина, сфероидена, ликопина, спириллоксантина,  $\beta$ -каротина, лютеина,  $\zeta$ -каротина,  $\alpha$ -каротина и  $\gamma$ -каротина.

Установлено, что анализ спектров КР позволяет различать моно-*цис*-изомеры между собой. Мы обнаружили, что в спектрах КР 15-*цис*-изомеров каротиноидов наблюдаются линии около  $1060$  и  $1250\text{ см}^{-1}$ , которые отсутствуют для других изомеров каротиноидов.

Также мы обнаружили, что наличие линии около  $1140\text{ см}^{-1}$  в спектрах КР исследуемых каротиноидов говорит о том, что молекулы являются метилированными *цис*-изомерами.

Обнаружено, что положение наиболее интенсивных линий в спектрах КР каротиноидов в диапазоне  $1265\text{--}1290\text{ см}^{-1}$  является маркером для определения строения концевых групп молекул. В спектрах КР  $\beta$ -каротина и лютеина, содержащих иононовое кольцо в качестве концевой группы, положение наиболее интенсивной линии составляет  $1268$  и  $1267\text{ см}^{-1}$ , соответственно. Для

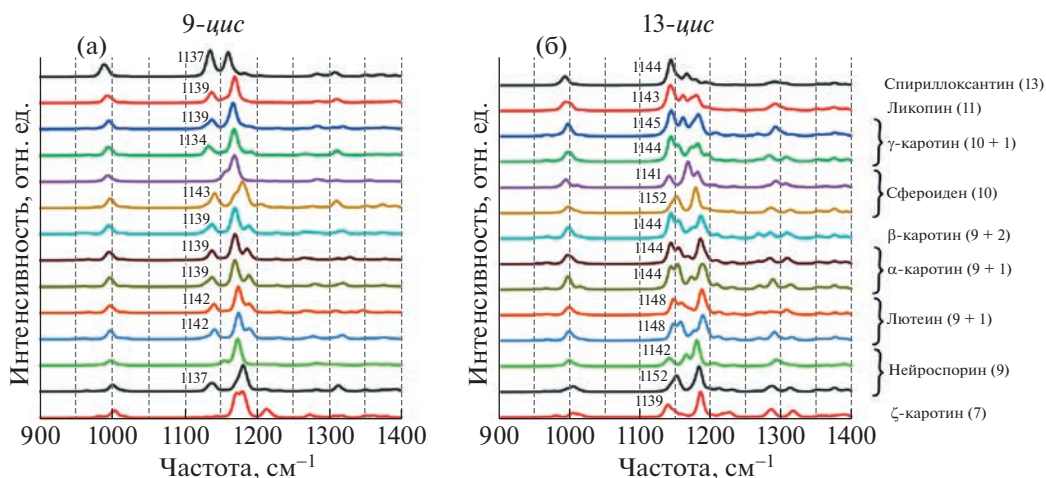


Рис. 5. Рассчитанные спектры КР 9-*цис*-изомеров (а) и 13-*цис*-изомеров (б) молекул спириллоксантина, ликопина,  $\gamma$ -каротина, сфероидена,  $\beta$ -каротина,  $\alpha$ -каротина, лютеина, нейроспорина,  $\zeta$ -каротина. В скобках указаны длины сопряжения с учетом частичного сопряжения двойных связей в иононовых кольцах с полиеновой цепью.

других каротиноидов, не содержащих иононовых колец, оно смещено примерно на 15–20 см<sup>-1</sup> в сторону больших частот и находится в области 1282–1289 см<sup>-1</sup>.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность МСЦ РАН за предоставление вычислительных ресурсов. Авторы благодарят профессора S. Takaichi из Nippon Medical School (Япония) за предоставленные образцы *Rhodobacter sphaeroides* G1C.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет средств гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технологического развития (идентификатор субсидии 075-15-2020-774).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Thomas D.B. et al.* Non-destructive descriptions of carotenoids in feathers using Raman spectroscopy // *Anal. Methods*. 2014. V. 6. № 5. P. 1301–1308. <https://doi.org/10.1039/C3AY41870G>
2. *Elvira-Torales L.I., García-Alonso J., Periago-Castón M.J.* Nutritional Importance of Carotenoids and Their Effect on Liver Health: A Review // *Antioxidants*. 2019. V. 8. № 7. P. 229. <https://doi.org/10.3390/antiox8070229>
3. *Meléndez-Martínez A.J., Stinco C.M., Mapelli-Brahm P.* Skin Carotenoids in Public Health and Nutricosmetics: The Emerging Roles and Applications of the UV Radiation-Absorbing Colourless Carotenoids Phytoene and Phytofluene // *Nutrients*. 2019. V. 11. № 5. P. 1093. <https://doi.org/10.3390/nu11051093>
4. *Mohanty I. et al.* Lycopene prevents sugar-induced morphological changes and modulates antioxidant status of human lens epithelial cells // *Br. J. Nutr.* 2002. V. 88. № 4. P. 347–354. <https://doi.org/10.1079/BJN2002659>
5. *Brown L. et al.* A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men // *Am. J. Clin. Nutr.* 1999. V. 70. № 4. P. 517–524. <https://doi.org/10.1093/ajcn/70.4.517>
6. *Johnson E.J.* The Role of Carotenoids in Human Health // *Nutr. Clin. Care*. 2002. V. 5. № 2. P. 56–65. <https://doi.org/10.1046/j.1523-5408.2002.00004.x>
7. *Böhm V. et al.* Trolox Equivalent Antioxidant Capacity of Different Geometrical Isomers of  $\alpha$ -Carotene,  $\beta$ -Carotene, Lycopene, and Zeaxanthin // *J. Agric. Food Chem.* 2002. V. 50. № 1. P. 221–226. <https://doi.org/10.1021/jf010888q>
8. *Demmig-Adams B., Gilmore A.M., Iii W.W.A.* In vivo functions of carotenoids in higher plants // *FASEB J.* 1996. V. 10. № 4. P. 403–412. <https://doi.org/10.1096/fasebj.10.4.8647339>
9. *Khoo H.-E. et al.* Carotenoids and Their Isomers: Color Pigments in Fruits and Vegetables // *Molecules*. 2011. V. 16. № 2. P. 1710–1738. <https://doi.org/10.3390/molecules16021710>
10. *Guo W.-H.H., Tu C.-Y.Y., Hu C.-H.H.* Cis–Trans Isomerizations of  $\beta$ -Carotene and Lycopene: A Theoretical Study // *J. Phys. Chem. B*. 2008. V. 112. № 38. P. 12158–12167. <https://doi.org/10.1021/jp8019705>
11. *Britton G.* Carotenoids // *Natural Food Colorants*. Boston, MA: Springer US, 1996. P. 197–243. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2155-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2155-6_7)
12. *Stahl W. et al.* Separation of beta-carotene and lycopene geometrical isomers in biological samples. // *Clin. Chem.* 1993. V. 39. № 5. P. 810–814.
13. *Boileau T.W.-M., Boileau A.C., Erdman J.W.* Bioavailability of all-trans and cis–Isomers of Lycopene // *Exp. Biol. Med.* 2002. V. 227. № 10. P. 914–919. <https://doi.org/10.1177/153537020222701012>
14. *Wang H. et al.* Antioxidant, anticancer activity and molecular docking study of lycopene with different ratios of Z-isomers // *Curr. Res. Food Sci.* 2023. V. 6. P. 100455. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100455>
15. *Lademann J. et al.* Carotenoids in human skin // *Exp. Dermatol.* 2011. V. 20. № 5. P. 377–382. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2010.01189.x>
16. *Smith G.D., Jaffe R.L.* Quantum chemistry study of conformational energies and rotational energy barriers in n-alkanes // *J. Phys. Chem.* 1996. V. 100. № 48. P. 18718–18724. <https://doi.org/10.1021/jp960413f>
17. *Новиков В.С., Кузнецов С.М., Кузьмин В.В., Прохоров К.А., Сагитова Е.А., Дарвин М.Е., Ладеманн Ю., Устынюк Л.Ю., Николаева Г.Ю.* Анализ природных и синтетических соединений, содержащих полиеновые цепи, методом спектроскопии комбинационного рассеяния // Доклады РАН. Физика, технические науки. 2021. Т. 500. С. 26–33. <https://doi.org/10.31857/S2686740021050060>
18. *Darvin M.E., Gersonde I., Ey S., Brandt N. N., Albrecht H., Gonchukov S.A., Sterry W. and J.L.* Noninvasive selective detection of lycopene and  $\beta$ -carotene in human skin using Raman spectroscopy // *Laser Phys.* 2004. V. 14. № 2. P. 231–233.
19. *Ishigaki M. et al.* Unveiling the Aggregation of Lycopene in Vitro and in Vivo: UV-Vis, Resonance Raman, and Raman Imaging Studies // *J. Phys. Chem. B*. 2017. V. 121. № 34. P. 8046–8057. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b04814>
20. *Novikov V.S. et al.* Relations between the Raman spectra and molecular structure of selected carotenoids: DFT study of  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene,  $\gamma$ -carotene and lycopene // *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* Elsevier, 2022. V. 270. P. 120755. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120755>
21. *Novikov V.S. et al.* DFT study of Raman spectra of polyenes and  $\beta$ -carotene: Dependence on length of polyene chain and isomer type // *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* Elsevier B.V. 2021. V. 255. P. 119668. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119668>

22. *Ashikhmin A., Makhneva Z., Moskalenko A.* The LH2 complexes are assembled in the cells of purple sulfur bacterium *Ectothiorhodospira haloalkaliphila* with inhibition of carotenoid biosynthesis // *Photosynth. Res.* 2014. V. 119. № 3. P. 291–303. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9947-6>
23. *Ashikhmin A. et al.* Incorporation of spheroidene and spheroidenone into light-harvesting complexes from purple sulfur bacteria // *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2017. V. 170. P. 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.03.020>
24. *Nanba O., Satoh K.* Isolation of a photosystem II reaction center consisting of D-1 and D-2 polypeptides and cytochrome b-559 // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1987. V. 84. № 1. P. 109–112. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.1.109>
25. *Laikov D.N., Ustynyuk Y.A.* PRIRODA-04: a quantum-chemical program suite. New possibilities in the study of molecular systems with the application of parallel computing // *Russ. Chem. Bull.* 2005. V. 54. № 3. P. 820–826. <https://doi.org/10.1007/s11172-005-0329-x>
26. *Lunde K., Zechmeister L.* Infrared Spectra and cis-trans Configurations of Some Carotenoid Pigments // *J. Am. Chem. Soc.* 1955. V. 77. № 6. P. 1647–1653. <https://doi.org/10.1021/ja01611a071>
27. *Koyama Y. et al.* Raman and infrared spectra of the all-trans, 7-cis, 9-cis, 13-cis and 15-cis isomers of  $\beta$ -carotene: Key bands distinguishing stretched or terminal-bent configurations form central-bent configurations // *J. Raman Spectrosc.* 1988. V. 19. № 1. P. 37–49. <https://doi.org/10.1002/jrs.1250190107>
28. *Koyama Y. et al.* Configuration of the carotenoid in the reaction centers of photosynthetic bacteria. Comparison of the resonance Raman spectrum of the reaction center of *Rhodospseudomonas sphaeroides* G1C with those of cis-trans isomers of  $\beta$ -carotene // *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.* 1982. V. 680. № 2. P. 109–118. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(82\)90001-9](https://doi.org/10.1016/0005-2728(82)90001-9)
29. *Saito S., Tasumi M., Eugster C.H.* Resonance Raman spectra ( $5800\text{--}40\text{ cm}^{-1}$ ) of All-trans and 15-cis isomers of  $\beta$ -carotene in the solid state and in solution. Measurements with various laser lines from ultraviolet to red // *J. Raman Spectrosc.* 1983. V. 14. № 5. P. 299–309. <https://doi.org/10.1002/jrs.1250140503>
30. *Telfer A.* What is  $\beta$ -carotene doing in the photosystem II reaction centre? // *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci.* / ed. Barber J., Anderson J.M. 2002. V. 357. № 1426. P. 1431–1440. <https://doi.org/10.1098/rstb.2002.1139>
31. *Bialek-Bylka G.E. et al.* 15-cis-carotenoids found in the reaction center of a green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum* and in the Photosystem I reaction center of a cyanobacterium *Synechococcus vulcanus* // *Photosynth. Res.* 1998. V. 58. № 2. P. 135–142. <https://doi.org/10.1023/A:1006112323144>

## NEW MARKERS FOR DETERMINATION OF CAROTENOID MOLECULES ISOMERISM USING RAMAN SPECTROSCOPY

D. D. Vasimov<sup>a</sup>, A. A. Ashikhmin<sup>b</sup>, M. A. Bolshakov<sup>b</sup>, M. N. Moskovskiy<sup>c</sup>, S. V. Gudkov<sup>a</sup>,  
D. V. Yanykin<sup>a,b</sup>, and V. S. Novikov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*FRC PSCBR, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russia*

<sup>c</sup>*Federal Scientific Agroengineering Center VIM, Moscow, Russia*

Presented by Academician of the RAS V.I. Konov

The paper presents an analysis of the experimental and calculated Raman spectra of plant and bacterial carotenoids: neurosporin, spheroiden, lycopene, spirilloxanthin,  $\beta$ -carotene, lutein,  $\zeta$ -carotene,  $\alpha$ -carotene and  $\gamma$ -carotene. A number of characteristic features in the Raman spectra of carotenoids are described for the first time, which make it possible to determine the structure of end groups of molecules and to distinguish their isomers.

**Keywords:** Raman spectroscopy, density functional theory, carotenoids, pigments, *cis-trans* isomerism