

BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM ALKALMAZOTT BIOTECHNOLÓGIA  
ÉS ÉLELMISZER-TUDOMÁNYI TANSZÉK



## 4. gyakorlat: Aminosavak, mint fehérjealkotók

---

### BIOKÉMIA LABOR

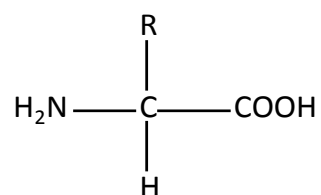
Vezeti: Scheer Ildikó, Benedek András  
2014.02.10.

# 1. ELMÉLETI RÉSZ

## 1.1. Az aminosavak és tulajdonságaik

### 1.1.1. Szerkezeti felépítés

Az élelmiszer-fehérjék 20-féle  $\alpha$ -L-aminosavból épülnek fel. Ezen aminosavak szerkezetét és sajátosságait három molekularész szabja meg (1. ábra):



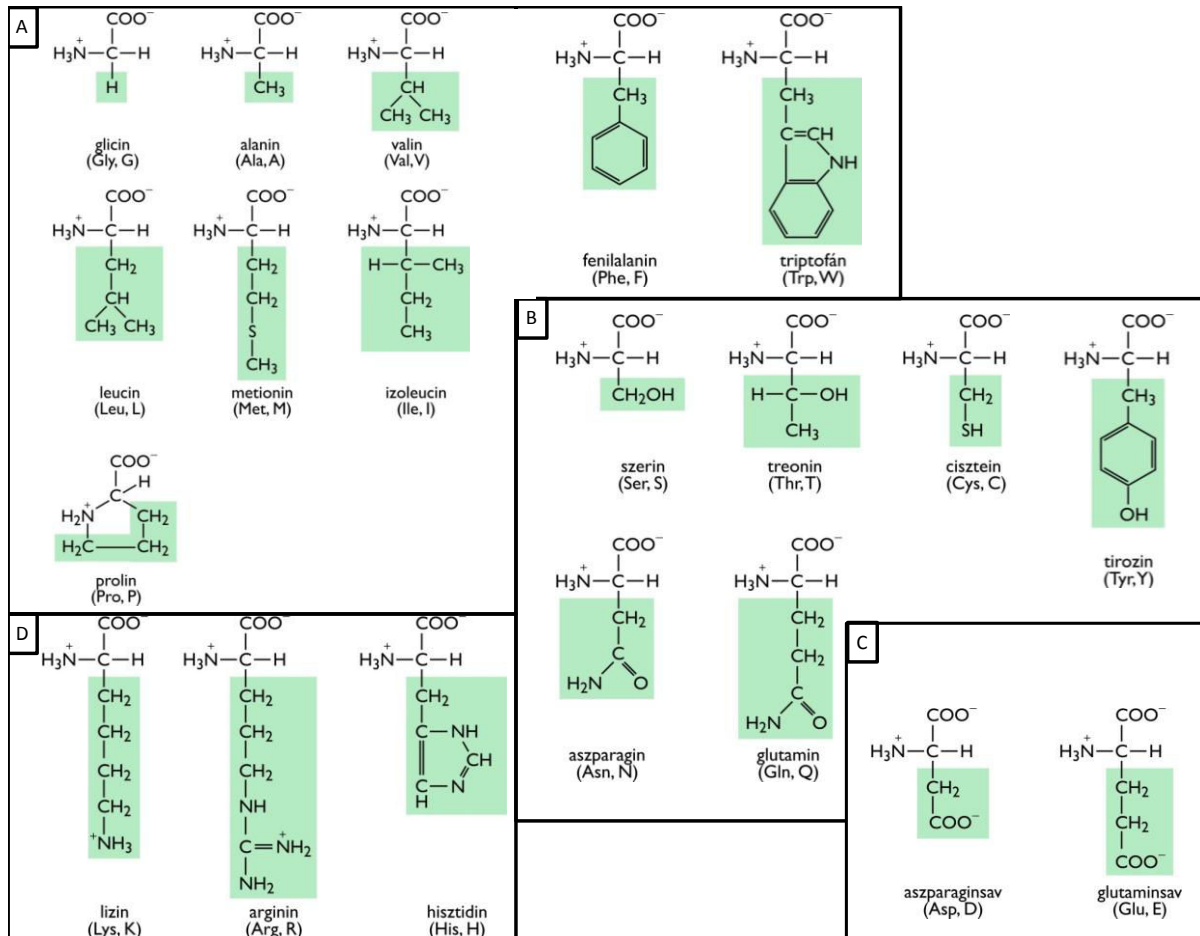
**1. ábra: Az aminosavak általános képlete**

1. az aminocsoport – minden aminosav legalább egy aminocsoportot tartalmaz,
2. a karboxilcsoport - minden aminosav legalább egy karboxilcsoportot tartalmaz,
3. az R oldallánc, ami felépítését tekintve aminosavanként változik, és az aminosavak egyedi jellegzetességeit megszabja.

Az aminosavak alapvető szerkezeti sajátossága, hogy az aminocsoport a karboxilcsoporthoz képest  $\alpha$ -helyzetben van, azaz ugyanahhoz a szénatomhoz kapcsolódnak.

Az *R oldallánc* szerint az aminosavakat négy csoportra oszthatjuk (3.ábra):

- töltés nélküli, nem poláris oldalláncú aminosavak (glicin, alanin, valin, leucin, izoleucin, prolin, fenilalanin, triptofán, metionin),
- töltéssel nem rendelkező, poláris oldalláncú aminosavak (szerin, treonin, cisztein, tirozin, aszparagin, glutamin),
- savas aminosavak negatív töltésű oldallánccal (aszparaginsav, glutaminsav),
- bázikus aminosavak pozitív töltésű oldallánccal (arginin, hisztidin, lizin).



**2. ábra: az  $\alpha$ -L-aminosavak szerkezete (A) töltés nélküli, nem poláris oldalláncú aminosavak, (B) töltéssel nem rendelkező, poláris oldalláncú aminosavak, (C) savas aminosavak negatív töltésű oldallánccal, (D) bázikus aminosavak pozitív töltésű oldallánccal**

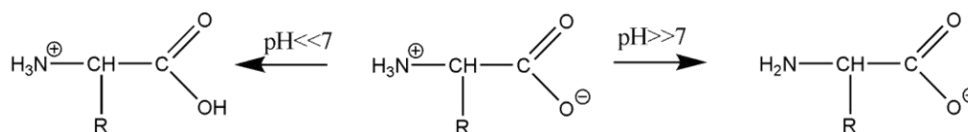
*Táplálkozás-biológiai szempontok alapján megkülönböztetünk:*

- esszenciális aminosavakat, melyeket az emberi szervezet nem tud szintetizálni, ezért a táplálékkal kell felvenni őket (valin, leucin, izoleucin, fenilalanin, triptofán, metionin, treonin, lizin, arginin, hisztidin) és
- nem esszenciális aminosavakat.

### 1.1.2. Fizikai tulajdonságok

Az aminosavak töltése az oldószer pH-jától függően pozitív, negatív ill. neutrális lehet. Erősen savas közegben a karboxilcsoportok disszociációja visszaszorul, az aminocsoport protont vesz fel. Ennek megfelelően alacsony pH-értéknél a molekula töltése pozitív lesz. Ha a pH magas, a karboxilcsoport disszociációja teljes, az aminocsoportnak ill. az oldallánc

protonálható csoportjainak nincs töltésük, így az aminosav össztöltése negatív lesz. Az a pH, amelyen az aminosavak kifelé semlegesek (ikerionos forma), az *izoelektromos pont* (3. ábra).



**3. ábra: A pH hatása az aminosavak töltésére**

Az aminosavak a glicin kivételével tartalmazznak legalább egy aszimmetriás szénatomot. Oldataik képesek elforgatni a poláros fény rezgési síkját, tehát optikailag aktívak. A természetben előforduló optikailag aktív aminosavak csaknem kivétel nélkül L-konfigurációjúak.

### 1.1.3. Kémiai tulajdonságok

Az egyes aminosavak az  $\alpha$ -helyzetű amino- és karboxilcsoportokon kívül több reakcióképes csoportot tartalmazhatnak (-NH<sub>2</sub>, -COOH, -SH, -OH).

A karboxilcsoport legjelentősebb reakciója a dekarboxileződés. Ekkor a karboxilcsoportról CO<sub>2</sub> hasad le, s a megfelelő biogén amin keletkezik.

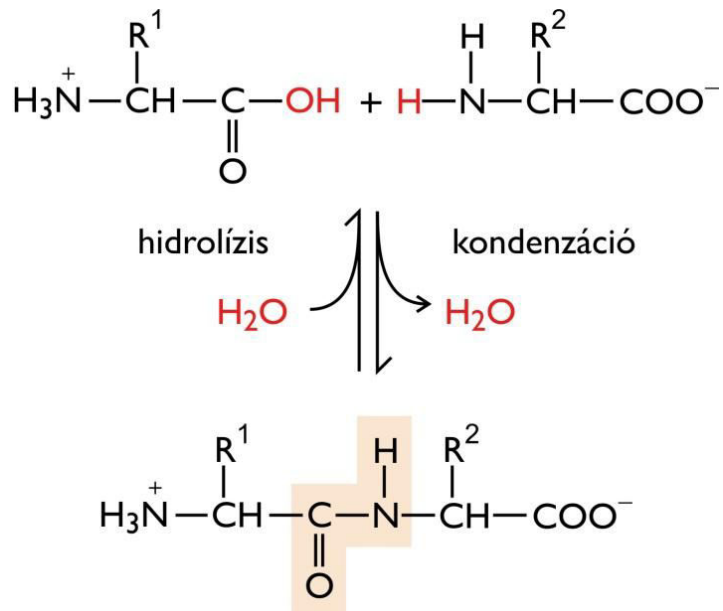
Az  $\alpha$ -aminocsoport legfontosabb reakciója a *ninhydrines reakció* (5. ábra). A keletkező molekula a konjugált kettőskötés-rendszer miatt intenzív kékes-ibolyás színű – kivéve a prolin reakcióját, ami sárgás színt ad. A kékes-ibolyás szín intenzitása 570 nm-nél, a prolin színe 440 nm-nél mérhető, és tekintettel a reakció kvantitatív jellegére az aminosavak mennyiségi meghatározására alkalmas.

A ninhydrines reakció mellett az aminosavaknak többféle színreakciójuk ismert. Naftokinon-szulfonsavval reagálva az aminosavak vörös színű vegyületet adnak, míg réz(II)-vegyületekkel az aminosavak vizes oldatai semleges pH-értéken mélykék színű komplexet hoznak létre.

## 1.2. Peptidek

A peptidek aminosavakból épülnek fel *peptidkötéssel* (-CO-NH-). Két aminosav úgy tud reagálni egymással, hogy az egyik aminosav  $\alpha$ -aminocsoportja a másik aminosav  $\alpha$ -karboxilcsoportjával vízkilépés közben kapcsolódik, s a kapcsolódás eredményeképpen alakul

ki a két aminosavból álló dipeptid (4.ábra). Mivel a dipeptidnek továbbra is van szabad  $\alpha$ -amino- és  $\alpha$ -karboxilcsoportja, a kapcsolódás mindkét végből továbbvihető: lehetőség van tri-, tetra- és szinte tetszőleges mennyiségű aminosavból álló polipeptidek kialakulására.



4. ábra: peptidkötés

A polipeptid láncon belül az első aminosav, melynek az  $\alpha$ -aminocsoportja nincs peptidkötésben, az N-terminális aminosav, míg az utolsó (szabad  $\alpha$ -karboxilcsoportú) aminosav a C-terminális aminosav.

### 1.3. Az aminosavak meghatározása

*Előkészítő műveletek:* a különböző meghatározási eljárásokhoz a fehérjékben kötött aminosavakat hidrolízissel fel kell szabadítani, ill. a szabad állapotban levő aminosavak mellől a zavaró komponenseket el kell távolítani.

*A fehérjék hidrolízise:* mivel az aminosav-összetétel meghatározásához az összes peptidkötést el kell bontani, a hidrolízishez leggyakrabban tömény savakat és lúgokat használnak. A hidrolizálószer hozzáadása után az  $\text{O}_2$  nyomokat  $\text{N}_2$  átbuborékolatásával eltávolítják.

1. savas hidrolízis – legáltalánosabban 6M HCl-t használnak 100- 120 °C hőmérsékleten 16-48 órás időtartammal. A módszer hátránya, hogy néhány aminosav bomlást szenved (a Trp teljesen elbomlik), ill. néhány peptidkötés csupán részlegesen bomlik az adott idő alatt.
2. lúgos hidrolízis – általában a Trp célmeghatározására használják. 4M NaOH-val (Ba(OH)<sub>2</sub>-val) végzik a hidrolízist 110 °C hőmérsékleten 5-20 órán át.
3. oxidációs savas hidrolízis – a kéntartalmú aminosavak célmeghatározására használják. Oxidálószerként perhangyasavat vagy dimetil-szulfoxidot alkalmaznak, majd ezt a lépést hagyományos savas hidrolízis követi. A ciszteint ciszteinsavként, a metionint pedig metionin-szulfonként határozzák meg.
4. hidrolízis p-toluol-szulfonsavval – a mintához 3M p-toluol-szulfonsavat + 0,2% triptamint adnak (a Trp megvédésére), s a hidrolízist 22 óráig végzik 110 °C hőmérsékleten.
5. enzimes hidrolízis – a mintához katalitikus mennyiségű fehérjebontó enzimet adnak, majd általában 37 °C-on rázatott inkubátorban 30-60 percig emésztik. Az emésztés végére szabad aminosavak keletkeznek. Az enzimek általában pepszin, tripszin illetve kimotripszin. A módszer nagy előnye a gyorsasága, illetve specifikussága, nagy hátrányt jelent azonban az alkalmazott enzimek piaci ára, illetve a mérések befejeztével az enzimek elvesztése (a tisztítási technológiák szintén jelentős költséggel bírnak).

*Meghatározási módszerek:* az aminosavak minőségi és mennyiségi meghatározására csaknem kizárólag a kromatográfias módszerek terjedtek el. A történeti fejlődés során először a papír- és vékonyréteg-kromatográfias, majd az ioncserélő oszlop-kromatográfias és HPLC módszerek alakultak ki, emellett kifejlesztették az elektroforézises eljárásokat is.

**Vékonyréteg-kromatográfia:** az aminosav-keverékek szétválasztására leggyakrabban szilikagél és cellulóz rétegeket használnak. A legáltalánosabb futtatószer az *n*-butanol-ecetsav-víz (4:1:1) elegy. A másik módszer az ioncserés vékonyréteg-kromatográfia. A gyárilag előállított rétegeknél szilikagél vagy finomszemcséjű ioncserélő gyanta van ragasztóval a hordozólapra erősítve. A felcseppentés, kifejlesztés és előhívás a vékonyréteg-kromatográfiánál szokásos módon történik. Futtatószerül az ioncserélő kromatográfiánál

bevált vizes citrátpufferek szolgálnak, míg az előhívószert ninhidrin.

$$R_f = \frac{A}{B}$$

$R_f$  – retenciós faktor

A – a komponens távolsága a startvonalától (mm),

B – az oldószerfront távolsága a startvonalától (mm).

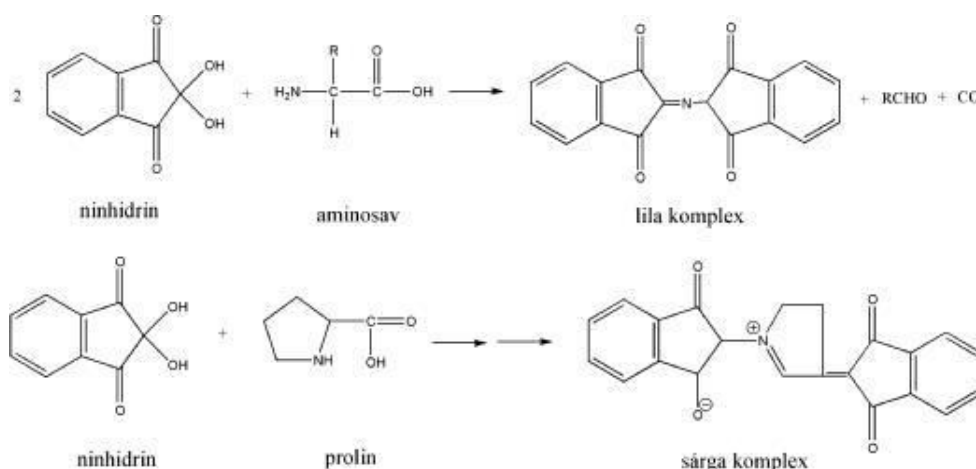
**Ioncserés oszlop-kromatográfia:** az automatikus aminosav analízátorban erősen savas kationcserélő gyantát használnak sztírol-divinil-benzol vagy más hordozóhoz kötve.

Az aminosavak kötődését nagyon sok tényező befolyásolja, alapvető szerepe a pH-nak és az ellenion koncentrációnak van. Alacsony pH-n az aminosavak kationként viselkednek. A pH növelésével egyre kevésbé, az izoelektromos pont elérésekor és magasabb pH-n nem kötődnek a gyantához.

Az aminosavakat erősen savas oldatban visszük fel az oszlopra, hogy a megkötődés azonnal bekövetkezzék. Az elúcióhoz pH 3-10 közötti pufferek széles skálája használatos. Az elúció leggyakrabban lépcsős gradiens elúció.

Az oszlopról távozó effluensben az aminosavak mennyiségét általában ninhidrines színreakcióval határozzák meg (5. ábra). Az effluens és a ninhidrin-reagens keverékét az átfolyási sebesség által meghatározott ideig magas hőmérsékletnek teszik ki (100-135 °C), így kialakul a szín, amelyet fotometrálunk. A fotometrálság átfolyó küvettás detektorban történik.

A rekorder által regisztrált kromatogramon minden komponensnek egy Gauss-típusú eloszlási görbe felel meg. A görbék alatti terület a komponensek mennyiségével arányos.



**5. ábra: A ninhidrin reakciója primer és szekunder aminosavakkal**

## 2. GYAKORLATI RÉSZ

**1. feladat:** Mintaelőkészítés az aminosavak elválasztásához.

**A,** hidrolizálendő minta

Peptidet tartalmazó mintából a gyakorlatvezető által megadott mennyiséget hidrolizáló csőbe mérjük. Hozzáadunk  $1 \text{ cm}^3$  1M-os HCl-t, majd 1 órán át hidrolizáljuk  $110^\circ\text{C}$ -on. A hidrolízis befejeztével hagyjuk az oldatot lehűlni, majd  $0,9 \text{ cm}^3$  1M-os NaOH-val semlegesítjük azt. Az oldatot  $10 \text{ cm}^3$ -es mérőlombikba töltjük, a lombikot desztillált vízzel jelig töltjük, majd az oldatot leszűrjük.

**B,** nem hidrolizálendő minta

A nem hidrolizálendő minták szabad aminosav tartalmát szeretnénk kimutatni, ezért nincs szükségünk a peptid kötések hidrolízisére.

Az aminosavakat tartalmazó mintából a gyakorlatvezető által megadott mennyiséget hidrolizáló csőbe mérjük. Ehhez hozzáadunk  $1 \text{ cm}^3$  1M-os HCl-t, majd  $0,9 \text{ cm}^3$  1M-os NaOH-t. Az oldatot  $10 \text{ cm}^3$ -es mérőlombikba töltjük, a lombikot desztillált vízzel jelig töltjük, majd az oldatot leszűrjük.

**2. feladat:** Aminosavak elválasztása vékonyréteg-kromatográfiával.

A Kieselgel 60 szilikagél réteglapra Hamilton-fecskendővel az oldatokból 2-2  $\mu\text{l}$ -t viszünk fel, az 5-féle aminosav-standardból ( $1 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ) pedig 1  $\mu\text{l}$ -t. A standardok segítségével tudjuk megmondani az "ismeretlen" aminosav tartalmú hidrolizált és nem hidrolizált mintákról, hogy milyen aminosav(ak)at tartalmaznak. A futtatáshoz *n*-butanol-ecetsav-víz 4:1:1 elegyét használjuk. A futtatás befejeztével a réteglapot megszáritjuk, majd bepermetezzük ninhidrinnel. A réteglapot a megszáradás után 5 percre  $100^\circ\text{C}$ -os szárítószekrénybe tesszük, majd a színreakció végbemenetele után kivesszük.

**3. feladat:** A peptidek azonosítása.

Meghatározzuk a mintákat alkotó aminosavak, ill. az aminosav-standardok  $R_f$  értékeit, majd ezek összehasonlításával azonosítjuk a mintákban lévő aminosavakat.



#### **4. feladat:** Aminosav koncentrációjának meghatározása NanoDrop spektrofotométerrel

A NanoDrop UV-Vis spektrofotométerrel nagyon kis térfogatú fehérje illetve nukleinsav minták koncentrációja is meghatározható. A „Protein A280” alkalmazása segítségével fehérjék, illetve jelen esetben bizonyos aminosavak koncentrációja meghatározható. A tirozin és a triptofán az a két aminosav, melyek 280 nm környékén erős elnyelési csúcsot mutatnak. A fehérjekoncentráció meghatározás alapja (is) ezen két aminosav, valamint a cisztein-cisztein diszulfid kötések elnyelése ezen a hullámhosszon. A „protein A280” alkalmazás megjeleníti az UV spektrumot, megméri a fehérjék abszorbanciáját 280 nm-en (A280). A méréshez vak oldat szükséges. A minta mérésekor a minta által transzmittált (az anyagon áteső fény hányada) fény intenzitását méri a műszer. A minta és a vak oldat intenzitásának leméréseivel a műszer az alábbi képletből számolja a minta abszorbanciáját (A).

$$A = - \log[\text{Intenzitás}_{\text{minta}}/\text{Intenzitás}_{\text{vak}}]$$

Az ismeretlen koncentrációjú minta koncentrációját (mg/ml) a Lambert-Beer törvény segítségével számolja a műszer:

#### **Lambert-Beer törvény: $A = \epsilon \cdot l \cdot c$**

ahol:

$\epsilon$  - hullámhossz-függő moláris extinkciós koefficiens [ $\text{dm}^3/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ ]

$l$  – optikai úthossz [cm]

$c$  – koncentráció [ $\text{mol}/\text{dm}^3$ ]

A gyakorlat során különböző koncentrációjú L-tirozin oldatok koncentrációját határozzuk meg NanoDrop spektrofotométerrel. Az L-tirozin moláris extinkciós koefficiens  $1490 \text{ dm}^3/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ , moláris atomtömege:  $181,19 \text{ g/mol}$ .

#### **Ellenőrző kérdések:**

1. Milyen fehérjehidrolízis-módszereket ismer (körülmények is)?
2. Milyen módszereket ismer az aminosavak elválasztására és meghatározására?
3. Mi az automatikus aminosav analízátor? Milyen elven működik?
4. Mit nevezünk esszenciális aminosavaknak? Mi a táplálkozástani jelentőségük?

5. Mi a ninhidrin reakció lényege? Miben különbözik a prolin a többi aminosavtól?
6. Az aminosavak szerkezeti képlete!
7. A Lambert-Beer törvény

**Az aminosavak szerkezeti képletének, valamint a peptidkötés ismeretének tudása elengedhetetlen a beugró teljesítéséhez!!!!**

**Ajánlott irodalom:**

Sarkadi Livia: Biokémia Mérnök Szemmel, Typotex Kiadó, Budapest, 2007

**Ábrák forrása:**

<http://elte.prompt.hu>

## Kiegészítés a Tyr oldatok koncentrációjának méréséhez

A spektrofotometria az egyik leggyakrabban használt analitikai eljárás a biokémiában. A módszer igen alkalmas kis mennyiségű anyag gyors, egyszerű, rutinszerű mérésére. A mérés célja alapvetően mennyiségi meghatározás, például a biokémiában aminosav, fehérje, nukleotid vagy DNS koncentráció meghatározása. Feltétele az, hogy a vizsgált anyagnak a színek valamelyik pontján abszorpciós maximuma legyen. Ha az abszorpciós maximum a spektrum látható tartományába (**1. ábra**) esik, az anyag színes. Ha a vizsgálandó anyagnak magának nincs színe, valamilyen kémiai reakciót lehet végezni a kérdéses anyaggal, ami színes vegyület képződéséhez vezet. Ezen kívül az ultraibolya (ultraviolet, UV) tartományú analízisek is széles körben elterjedtek, mivel sok színtelen anyagnak van ezen a területen (190-320 nm) intenzív elnyelési sávja. A laborgyakorlat során mi is az UV tartományt használtuk, mivel 280 nm-en a tirozin és a triptofán aminosavaknak elnyelési maximumuk van. A nukleotidok, illetve a belőlük felépülő DNS 260 nm-es elnyelési maximummal rendelkeznek.

A spektrofotometriás mennyiségi analízisek az oldatok fényelnyelésére vonatkozó Lambert-Beer-törvényen alapulnak. A fényelnyelés nagyságából az abszorbeáló komponens koncentrációjára lehet következtetni az alábbi összefüggések alapján. Ha a fény  $I_0$  intenzitása a közeg  $L$  vastagságú rétegén áthaladva  $I$ -re csökken, akkor a Lambert-Beer-törvény értelmében:

$A = \log I_0/I = \epsilon \cdot c \cdot L$ . A  $\log I_0/I$  kifejezést extinkciónak ( $E$ ) vagy abszorbanciának ( $A$ ), esetleg optikai sűrűségnek (optikai denzitás, OD) nevezzük. Az abszorbancia dimenziómentes szám.  $[A] = [\text{dm}^3/\text{mol} \cdot \text{cm}] \cdot [\text{mol}/\text{dm}^3] \cdot [\text{cm}]$ .

Olyan hullámhossznál, amelynél az oldószer nem abszorbeál, a Lambert-Beer-törvény szerint az  $A$  abszorbancia arányos az oldat  $c$  koncentrációjával, ha az oldott anyag a hígítás alkalmával nem megy át molekuláris változáson. A törvény csak adott hullámhosszú monokromatizált (közelítőleg egy adott hullámhosszú, pl. 280 nm-es) fény esetén érvényes. (Az abszorbancia és az  $\epsilon$  együttható tehát hullámhossztól függő mennyiségek.)

A fenti összefüggés alapján a fényelnyelés mértékéből a koncentráció kiszámítható:

$$c = A / L \cdot \epsilon$$

Fontos kiemelni, hogy a koncentráció és az abszorbancia között fennálló összefüggés a kísérleti tapasztalatok alapján 1,2-es abszorbancia érték felett már nem lineáris, így a Lambert-Beer törvény ilyen esetben nem használható (a méréshez az oldat hígítása szükséges).

Az  $\epsilon$  az oldott anyag koncentrációjától független állandó, melyet extinkciós (elnyelési) koefficiensnek hívunk. Ha a koncentrációt mol/l-ben kívánjuk megkapni, akkor a moláris extinkciós koefficiens, más néven a moláris abszorptivitást használjuk. **A moláris abszorptivitás megadja, hogy adott hullámhosszon 1 cm-es rétegvastagság esetén 1 mol/l (M) koncentrációjú oldatnak mekkora elnyelés felel meg, mértékegysége a  $[\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}] = [\text{dm}^3/\text{mol} \cdot \text{cm}]$ . Értéke az adott anyagra jellemző, de függ az oldószertől és a**

**hőmérséklettől.** Tehát ha  $\epsilon$  az anyagmennyiségre vonatkoztatott, vagyis a moláris extinkciós koefficiens, akkor a „c” moláris koncentrációnak adódik.

Fehérjék esetén az  $\epsilon$  értéke elsősorban a Tyr és Trp aminosavak számától, kisebb mértékben az esetlegesen fennálló diszulfid hidak számától függ. Kis mértékben a Phe aminosav oldalláncok is hozzájárulnak az elnyeléshez, de ezek elnyelési maximuma 250-260 nm között van és jelentősen kisebb, mint a Tyr és a Trp oldalláncoké. Tiszta fehérjékre az  $\epsilon$  érték a Tyr és Trp tartalom ismeretében számítással meghatározható.

Használatban van a **tömegben – pontosabban vegyes-százalékban – megadott koncentrációra vonatkoztatott abszorptivitás is** (jele  $\epsilon_{1\%}$  vagy  $E_{1\%}$  vagy  $Abs_{1\%}$ ). Dimenziója  $[(g/100ml)^{-1} \cdot cm^{-1}] = [0,1dm^3/g \cdot cm]$ . Ebben az esetben az  $\epsilon_{1\%}$  értéke azt adja meg, hogy **adott hullámhosszon 1 cm-es rétegvastagság esetén 1g/100 ml töménységű oldatnak mekkora elnyelés felel meg. Ilyenkor a koncentrációt sem mol/dm<sup>3</sup> értékben, hanem 1g/100ml = 10 mg/ml egységben kapjuk meg.** Például  $c_{1\%} = 0,56 \cdot 10$  mg/ml-nek adódik, amit a „tisztességes” mg/ml-es értékben való kifejezéshez még 10-zel kell szoroznunk. A 10-zel való szorzást a tömegre vonatkoztatott abszorptivitás ( $\epsilon_{1\%}$ ) 0,1-del való osztásaként is értelmezhetjük. A 0,1-del elosztott abszorptivitást az  $\epsilon_{0,1\%}$ , az  $E_{0,1\%}$  vagy az  $Abs_{0,1\%}$  jelöléssel használják.

$$c_{1\%} = A/(L \cdot \epsilon_{1\%}) [1 \text{ g}/100 \text{ ml}] = [10 \text{ mg}/\text{ml}]$$

$$c_{0,1\%} = 10 \cdot A/(L \cdot \epsilon_{1\%}) = A/(L \cdot \epsilon_{0,1\%}) [\text{mg}/\text{ml}]$$

A moláris és a tömegre vonatkoztatott abszorptivitás (extinkciós koefficiens) között az alábbi összefüggés áll fenn:  $\epsilon_{\text{moláris}} \cdot 10 = \epsilon_{1\%} \cdot MW$  (moláris tömeg).

**A leíratban szereplő, az L-tirozin oldat abszorbanciájára vonatkozó  $Abs_{0,1\%}$  érték tehát az  $\epsilon_{0,1\%}$  tömegre vonatkoztatott abszorptivitásnak (extinkciós koefficiensnek) felel meg. Ha ezt helyettesítitek be a Lambert-Beer törvénybe, a koncentrációkat mg/ml értékben kapjátok meg. Ezt a tirozin moláris tömegével ( $MW = 181,19 \text{ g}/\text{mol}$ ) kell elosztanotok, hogy a moláris koncentrációt megkapjátok, mivel  $[\text{mg}/\text{ml}] = [\text{g}/\text{l}]$ , és  $[\text{g}/\text{l}]/[\text{g}/\text{mol}] = [\text{mol}/\text{l}]$ .**

Utóirat:

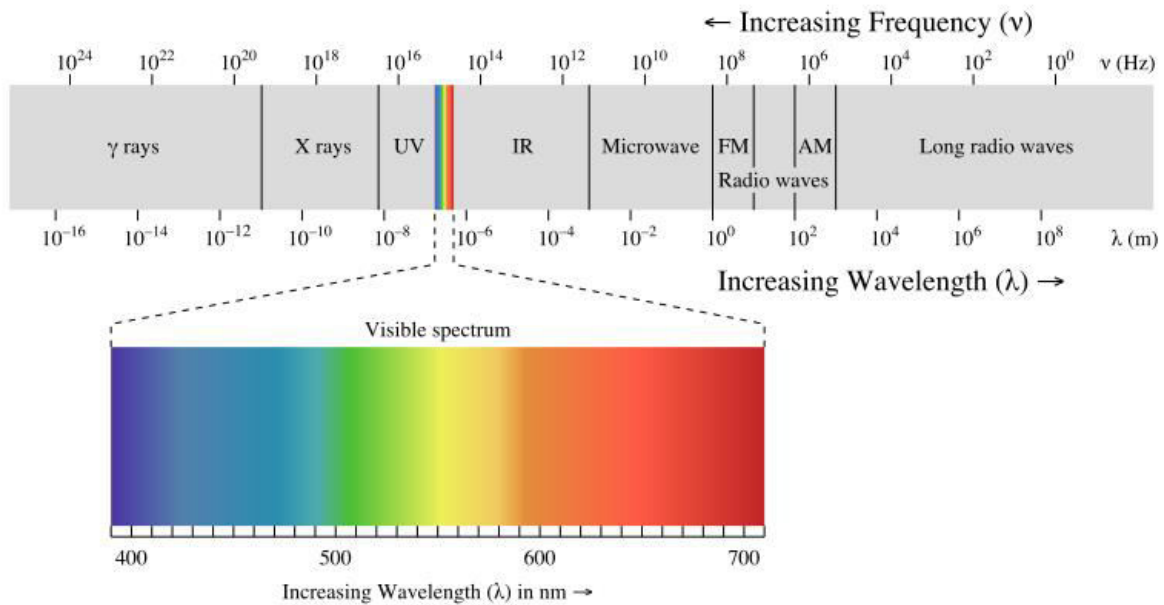
Régebbi fotométerek az abszorbancia helyett közvetlenül a transzmittancia (fényáteresztés) értékét számolták és írták ki:

$$T = I/I_0 \text{ vagy } T \% = I/I_0 \cdot 100$$

Összefüggése az abszorbanciával:

$$T = 10^{-A}$$

$$A = -\log T = \log (1/T)$$



- 1. ábra.** Az elektromágneses sugárzás hullámhossz-tartományai az ember számára látható hullámhossz-tartomány (380-760 nm) kiemelésével.
- Az ábrán jobbról balra haladva a hullámhossz csökken, ami ugyanakkor az elektromágneses sugárzás energiájának növekedését (a frekvencia növekedését) eredményezi. Legnagyobb energiával a gamma-fotonok (gamma-sugárzás), legkisebb energiával a hosszú rádióhullámok rendelkeznek.

Felhasznált irodalom:

1. Biokémia gyakorlati jegyzet. ELTE Biokémiai Tanszék, Tanszéki Munkaközösség. Többszörösen javított kiadás, 2010. <http://biokemia.elte.hu/oktatas/bsc/>
2. University of Santa Cruz UCSC BME 220L Home Page Protein Bioinformatics Lab, Spring 2011. <https://classes.soe.ucsc.edu/bme220l/Spring11/>
3. 1. ábra: © Philip Ronan, Electromagnetic spectrum with light highlighted, under the title Light on <http://en.wikipedia.org/wiki/Light>.