

Infracervená spektroskopie

– nástroj fyzikálně-chemického výzkumu

G. Lancz

Vedúci: doc. P. Kopčanský, CSc.

Konzultantka: Ing. M. Koneracká, CSc.

Využitie IČ

● Všeobecná časť

- Princíp vibračnej spektroskopie
- Metodiky
- Využitie

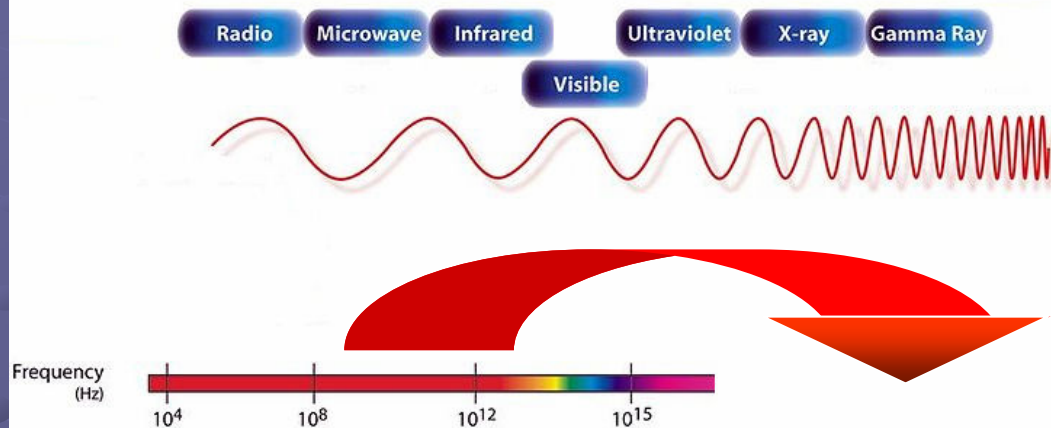
● Príklady využitia na ÚEF

- Analýza magnetických častíc
- Medzimolekulové interakcie v magnetických kvapalinách
- Rozbor protirakovinových magnetických nanosfér
- Konformačná analýza proteínu vo vode

● Plány do budúcnosti

Rozdelenie elektromagnetického spektra

THE ELECTROMAGNETIC SPECTRUM



Infračervená oblasť spektra sa rozdeľuje na

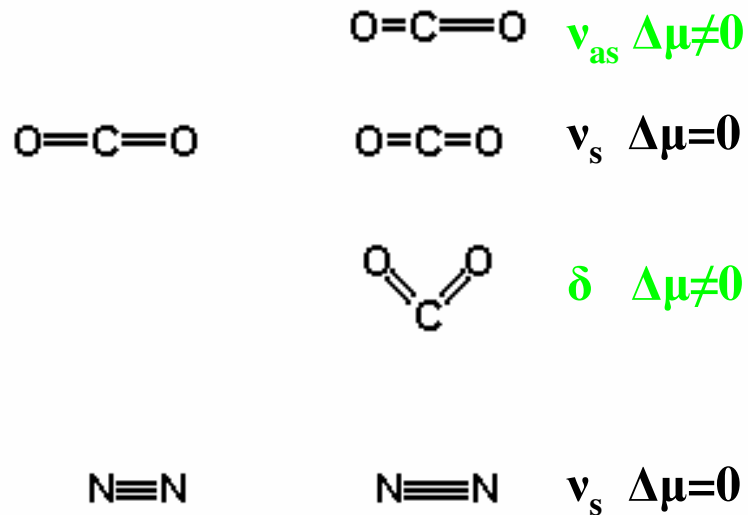
- ďalekú
- strednú
- blízku

Žiarenie	Frekvenčný rozsah	Vlnová dĺžka [m]	Vlnočet [cm^{-1}]
Mikrovlny	300 MHz - 300 GHz	$1 - 10^{-3}$	0,01 - 10
IČ	300 GHz - 375 THz	$10^{-3} - 8 \cdot 10^{-7}$	10 - 12500
VIS	375 THz - 750 THz	$8 \cdot 10^{-7} - 4 \cdot 10^{-7}$	12500 - 25000

Žiarenie	Vlnočet [cm^{-1}]
Ďaleké IČ	cca 10 - 200
Stredné IČ	200 - 4000
Blízke	4000 - 12500

Čo vidí IČ lúč?

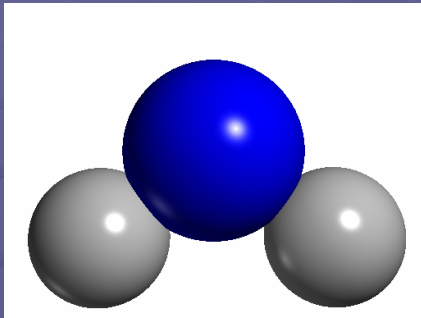
Vibračná (vibračno-rotačná) spektroskopia



1. výberové pravidlo: Zmena permanentného dipólu (V Ramanovej spektroskopii sa má meniť polarizovateľnosť)

V praxi môžu nastať komplikácie kvôli anharmonicite, Fermiho rezonancii ...

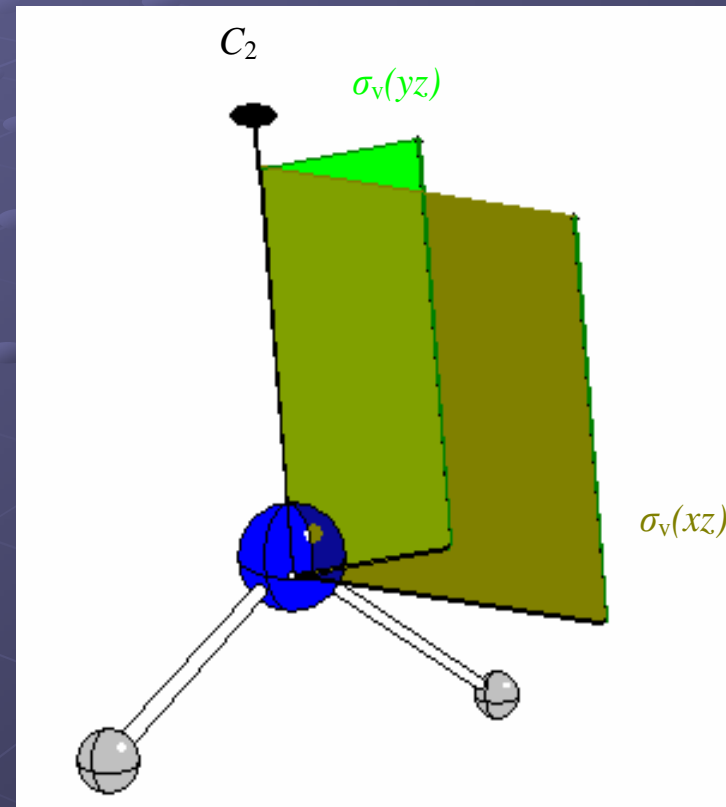
K opisu vibračných módov sa využíva aj teória grúp



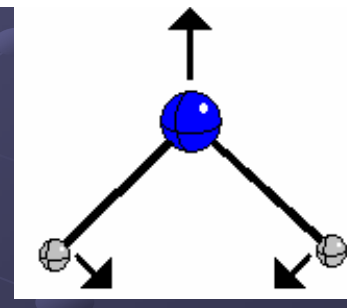
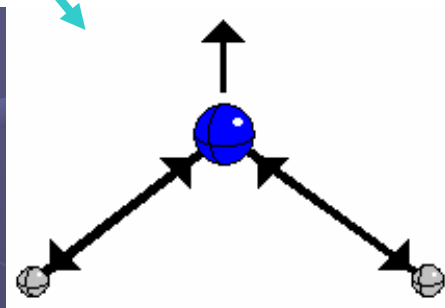
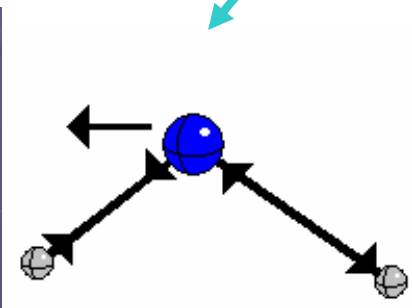
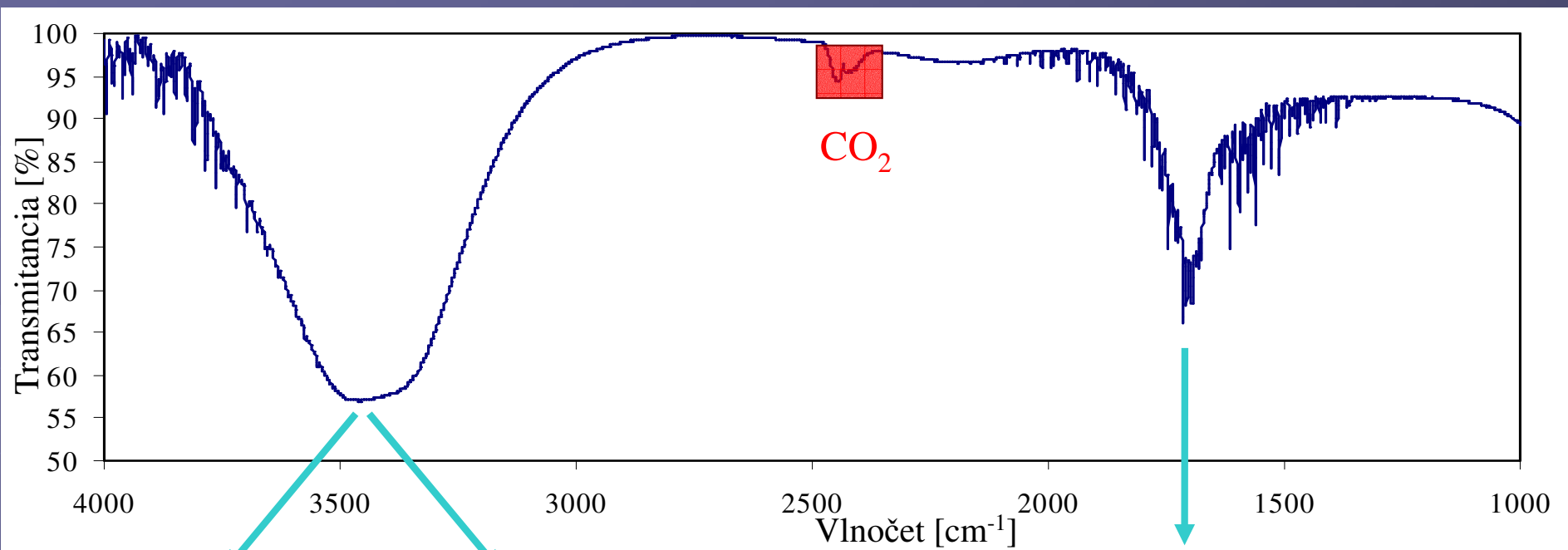
Príklad:

Molekula H_2O patrí do bodovej grupy C_{2v}

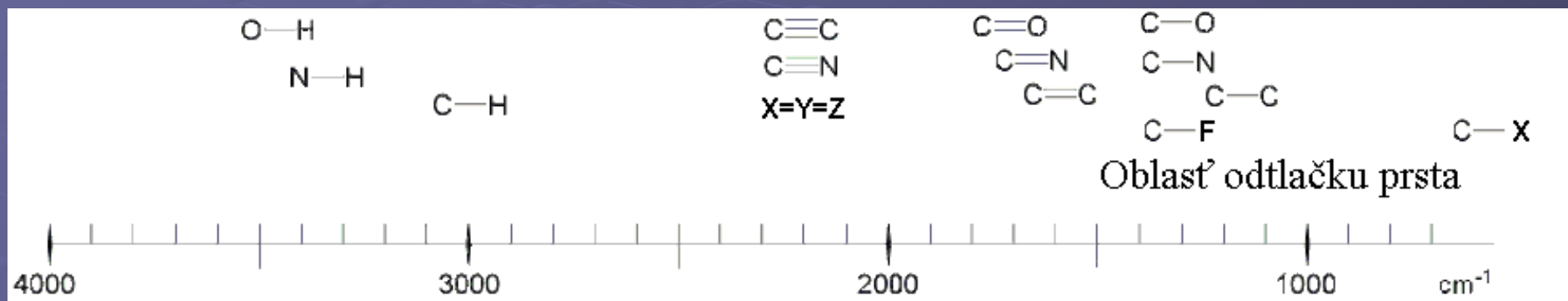
Jej vibrácie aktívne v IČ sú opísané reprezentáciami A_1 (symetrické) a B_2 (nesymetrická)



Spektrum vody

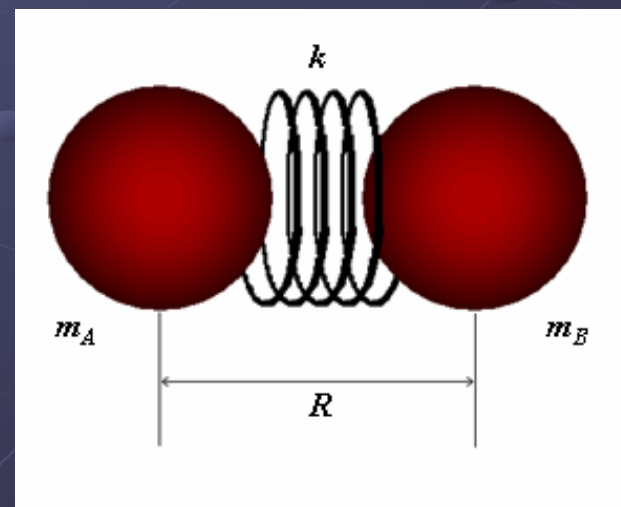


Organická analýza

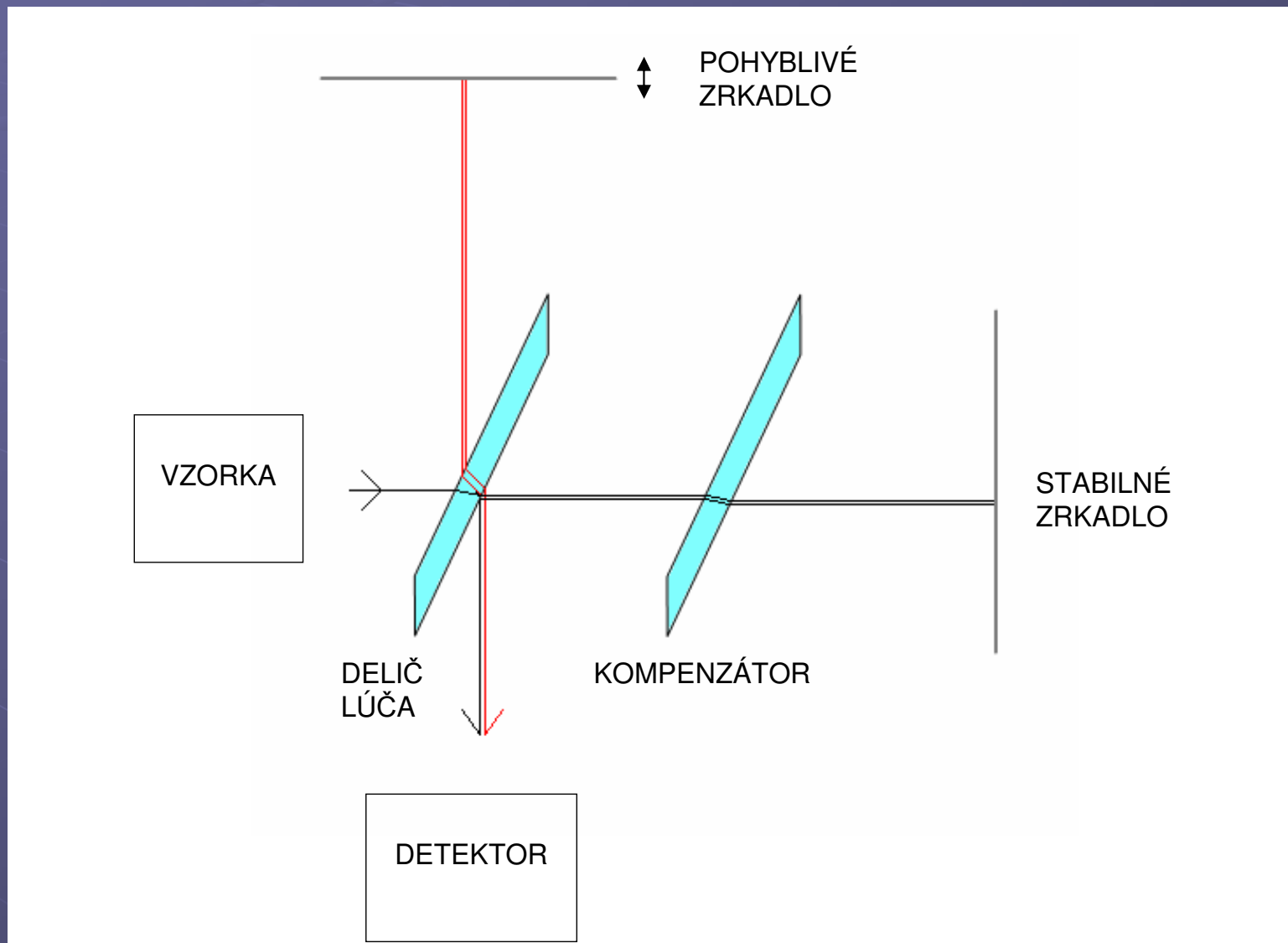


$$\Delta E = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

$$\mu_{AB} = \frac{m_A m_B}{m_A + m_B}$$

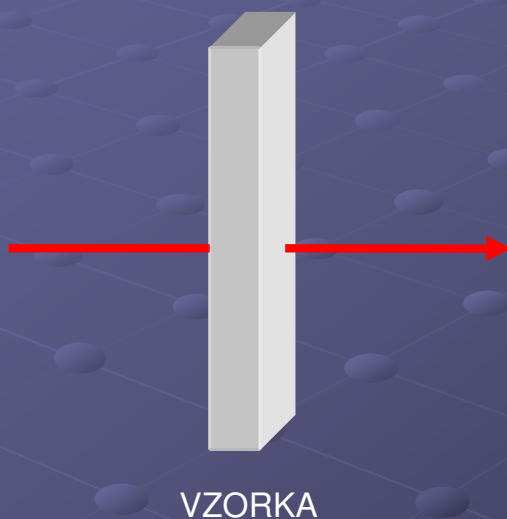


Michelsonov interferometer – Fourierova transformácia



Rôzne metodiky merania

TRANSMISNÝ MÓD



ODRAZ:
ZRKADLO alebo
ATR – využitie totálnej
reflexie



TRANSMISNE

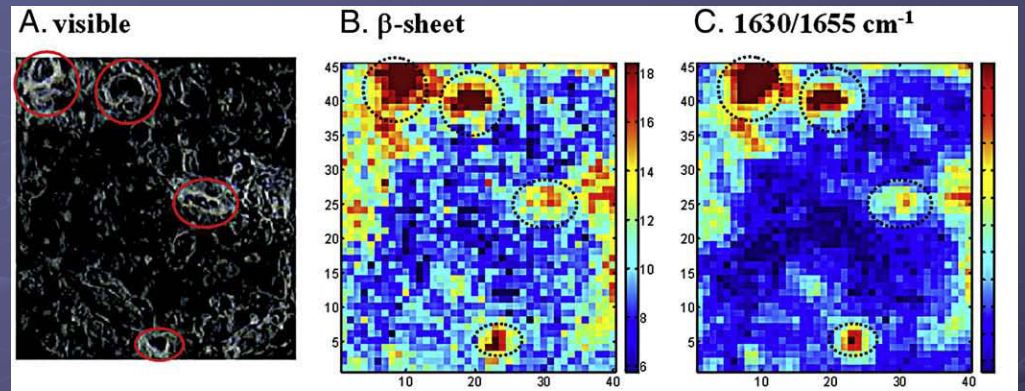
- Tableta (s) - KBr
- Kyveta (l) - CaF₂, ZnSe

VYUŽITÍM ODRAZU

ATR (s, l) - ZnSe, Ge, C

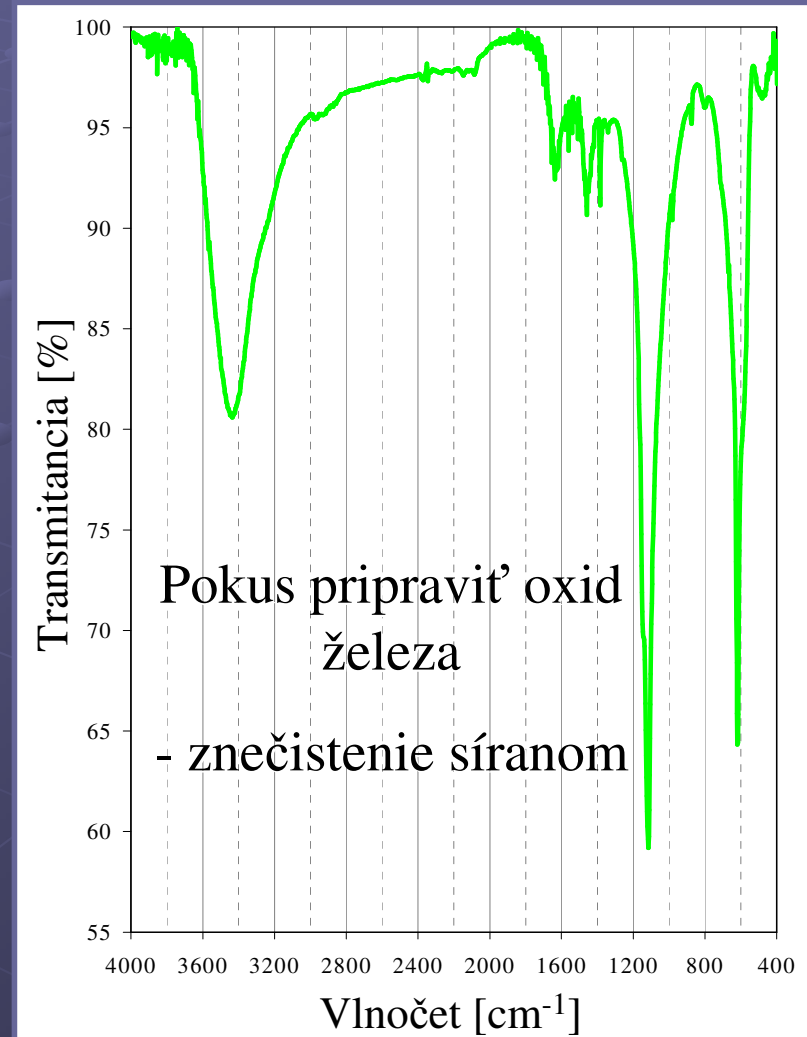
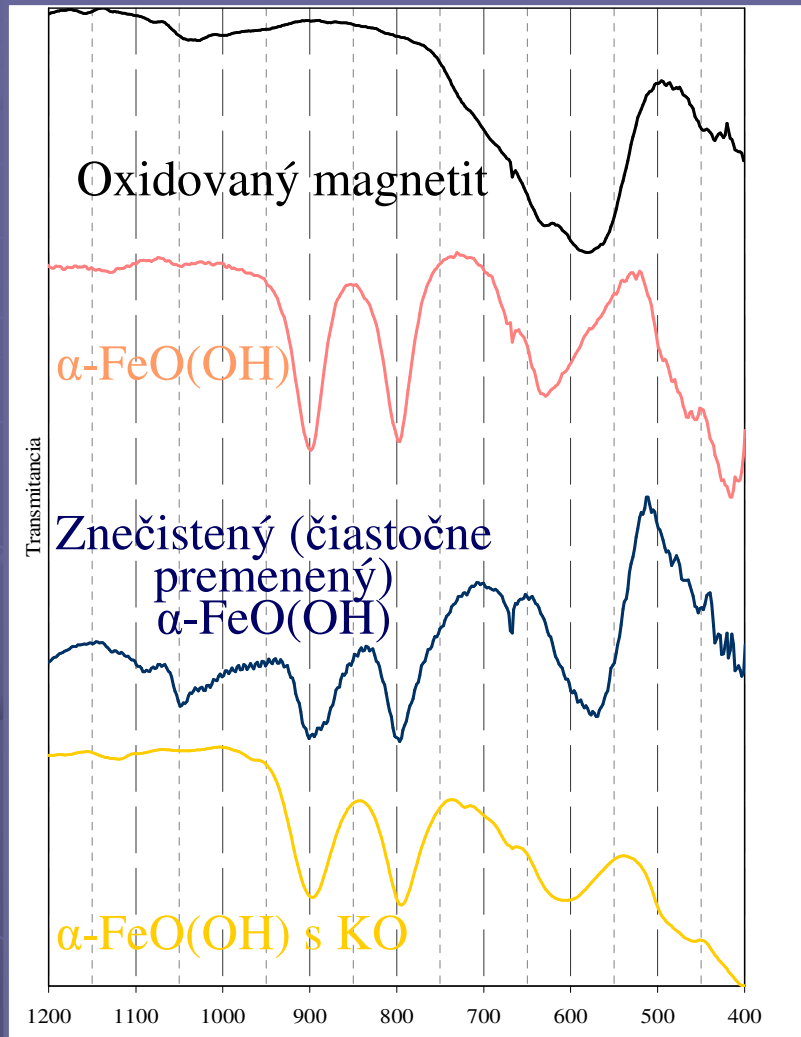
Niektoré možnosti využitia

- Kvalitatívna chemická analýza
- Kvantitatívna chemická analýza
- Konformačná analýza molekúl vo vodnom (biologicky významnom) prostredí
- Skúmanie medzimolekulových interakcií
- Dokumentovanie prítomnosti látok

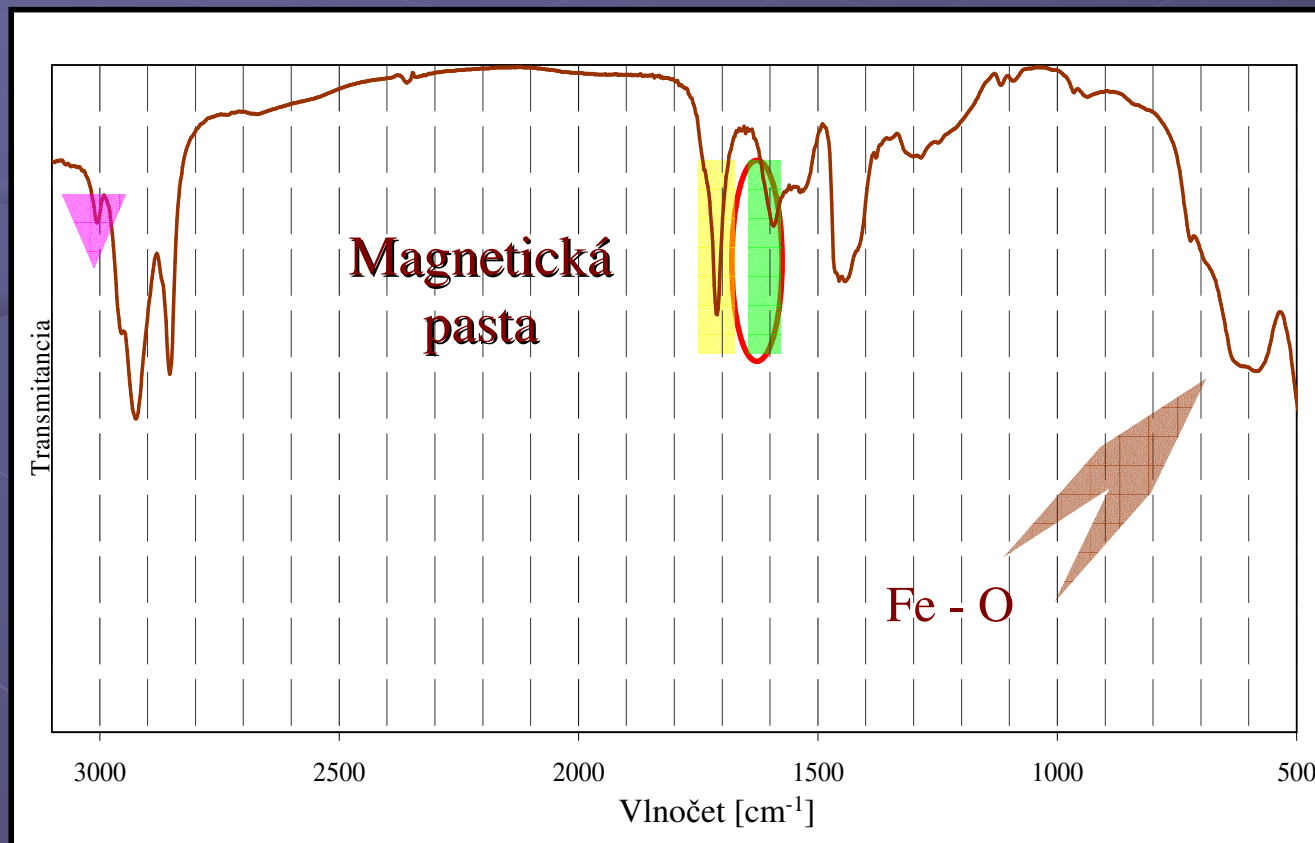


E. Goormaghtigh, et al., Protein secondary structure content in solution, films and tissues: Redundancy and complementarity of the information content in circular dichroism, transmission and ATR FTIR spectra, *Biochim. Biophys. Acta* (2009), doi:10.1016/j.bbapap.2009.06.007

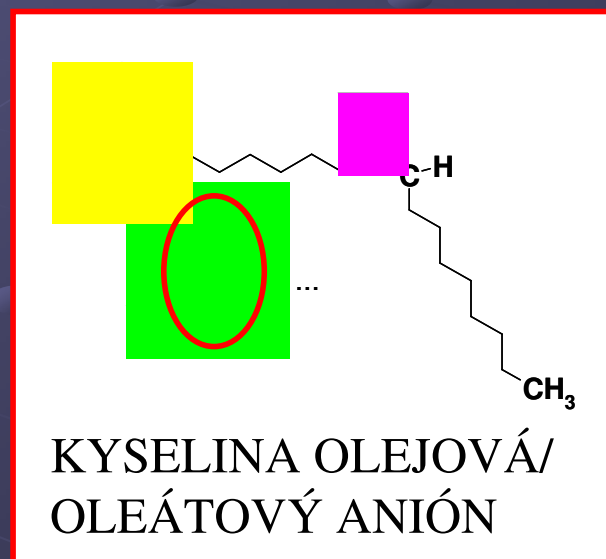
Identifikácia produktov syntéz



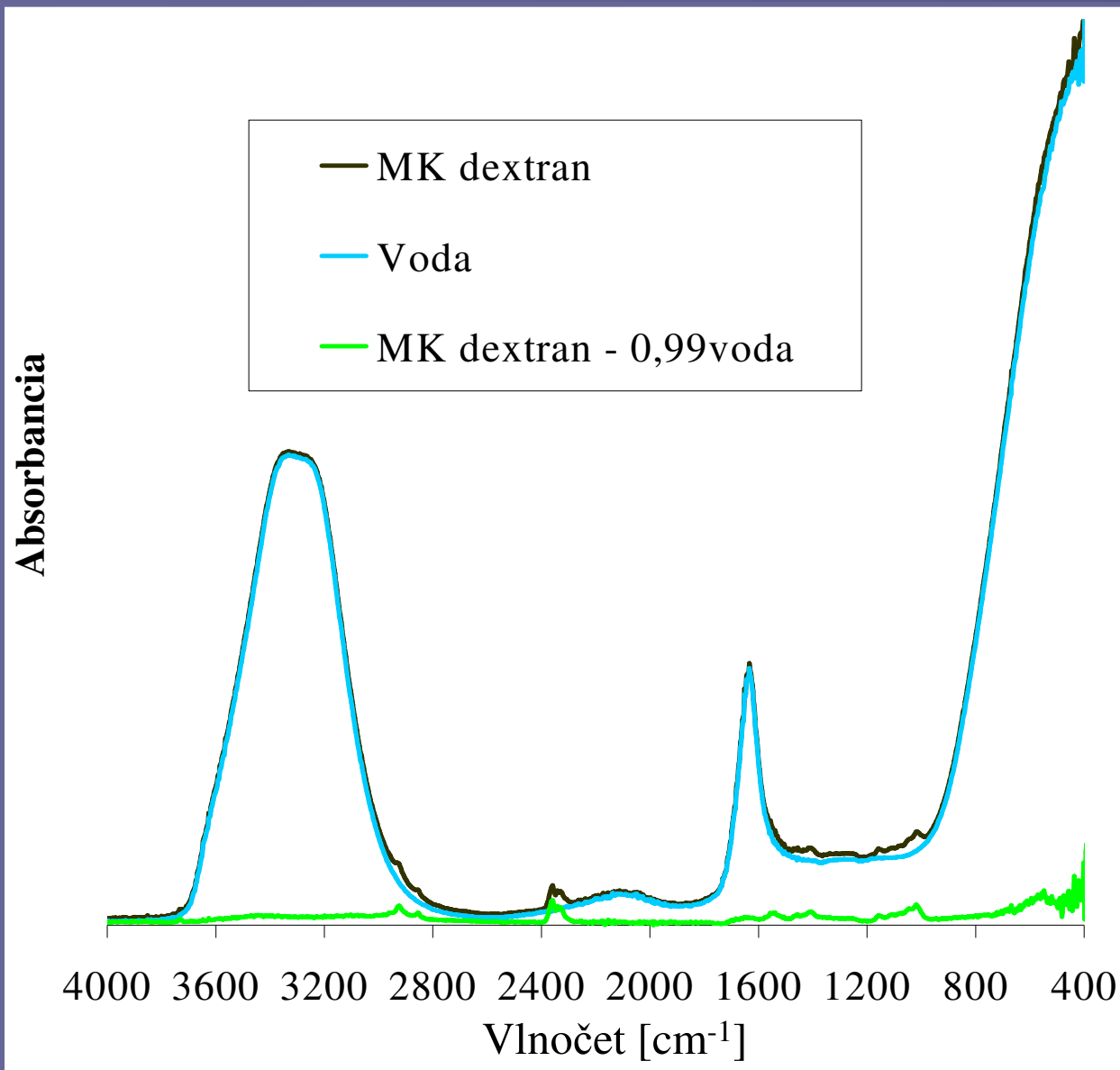
Medzimolekulové interakcie, dôkaz prítomnosti zložiek



CHEMISORPCIA OLEÁTU NA MAGNETITE



ATR – meranie vodných sústav



$A =$

$A(\text{vzorka}) - k \cdot A(\text{voda})$

$k \rightarrow 1$

Príspevok cieľovej zložky môže začínať až na treťom desatinnom mieste absorbancie:

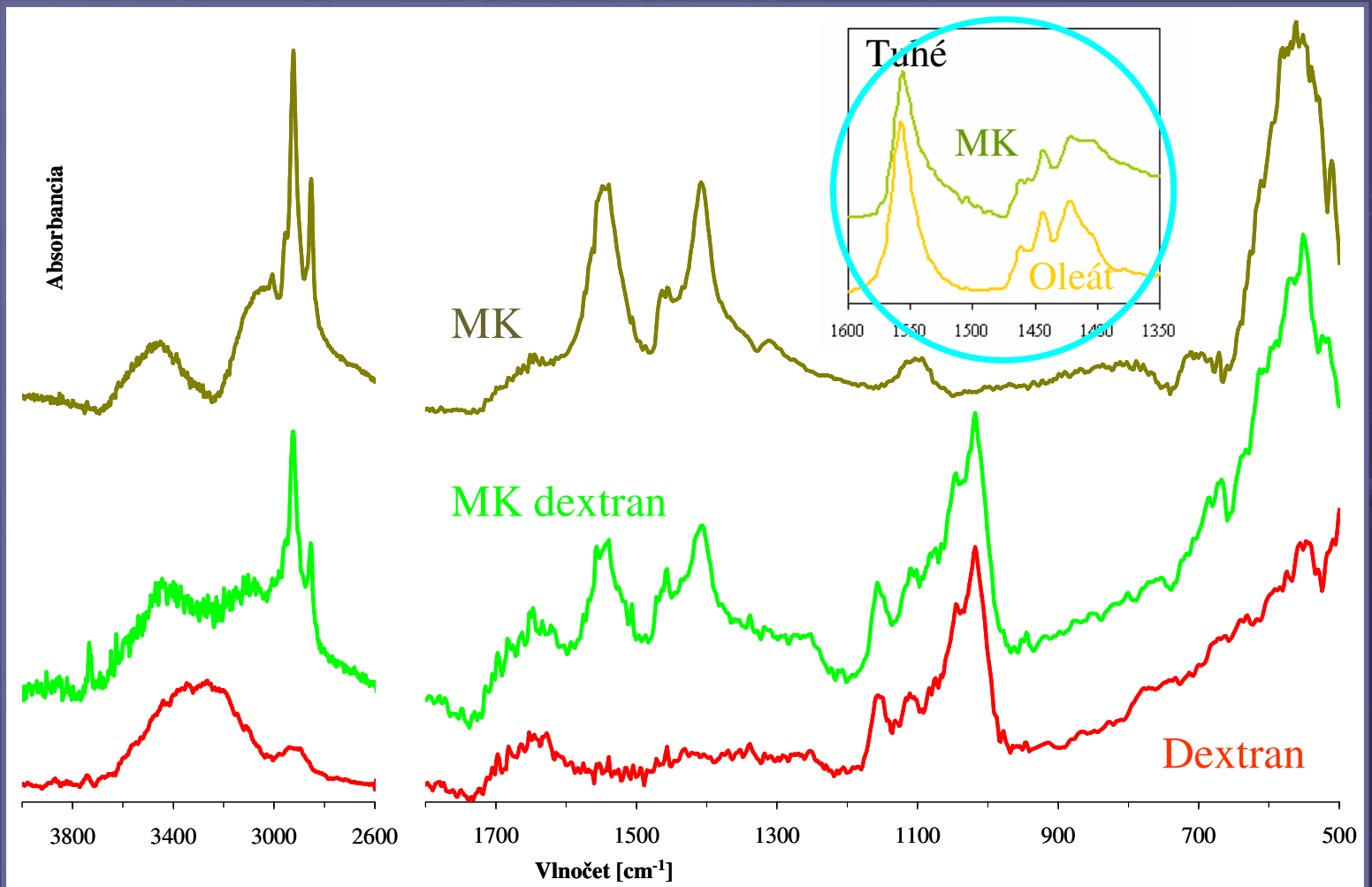
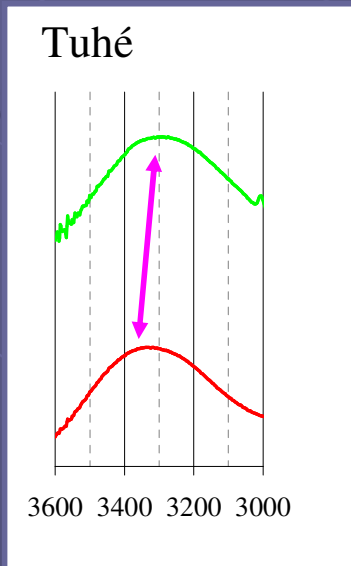
Nutná vysoká presnosť!

MK dextran

Potvrdenie prítomnosti zložiek v kvapalnej vzorke a skúmanie prejavov predpokladanej štruktúry:

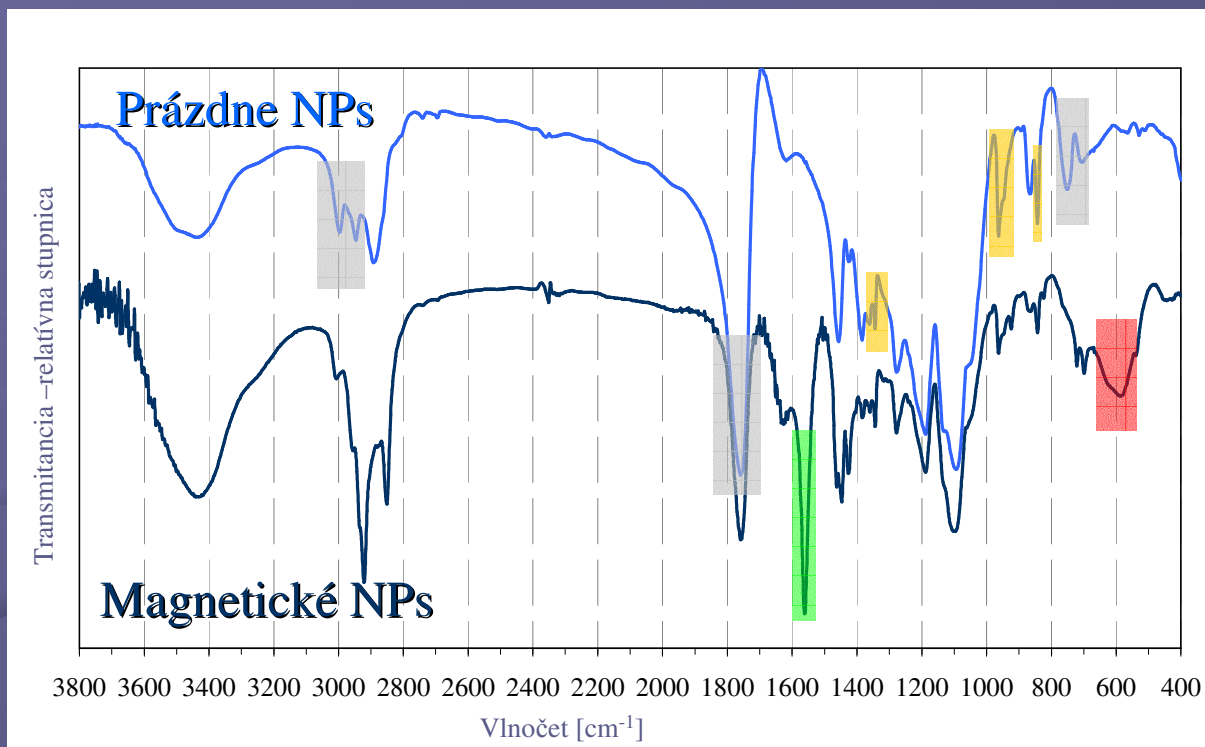
FeO – oleát – oleát – dextran

?
-COO- ... HO-



Nanosféry

Potvrdenie prítomnosti stavebných zložení NPs

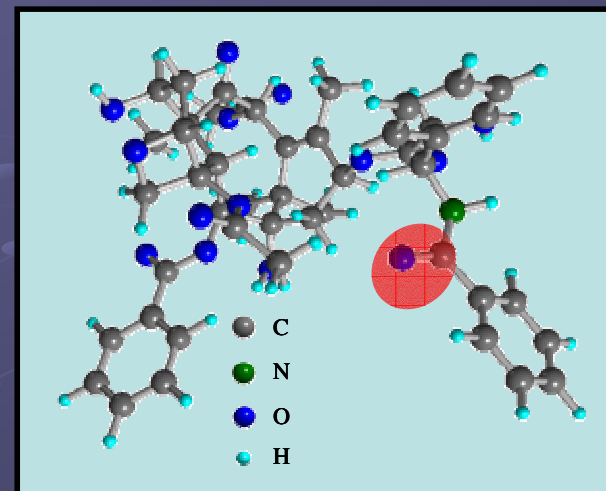
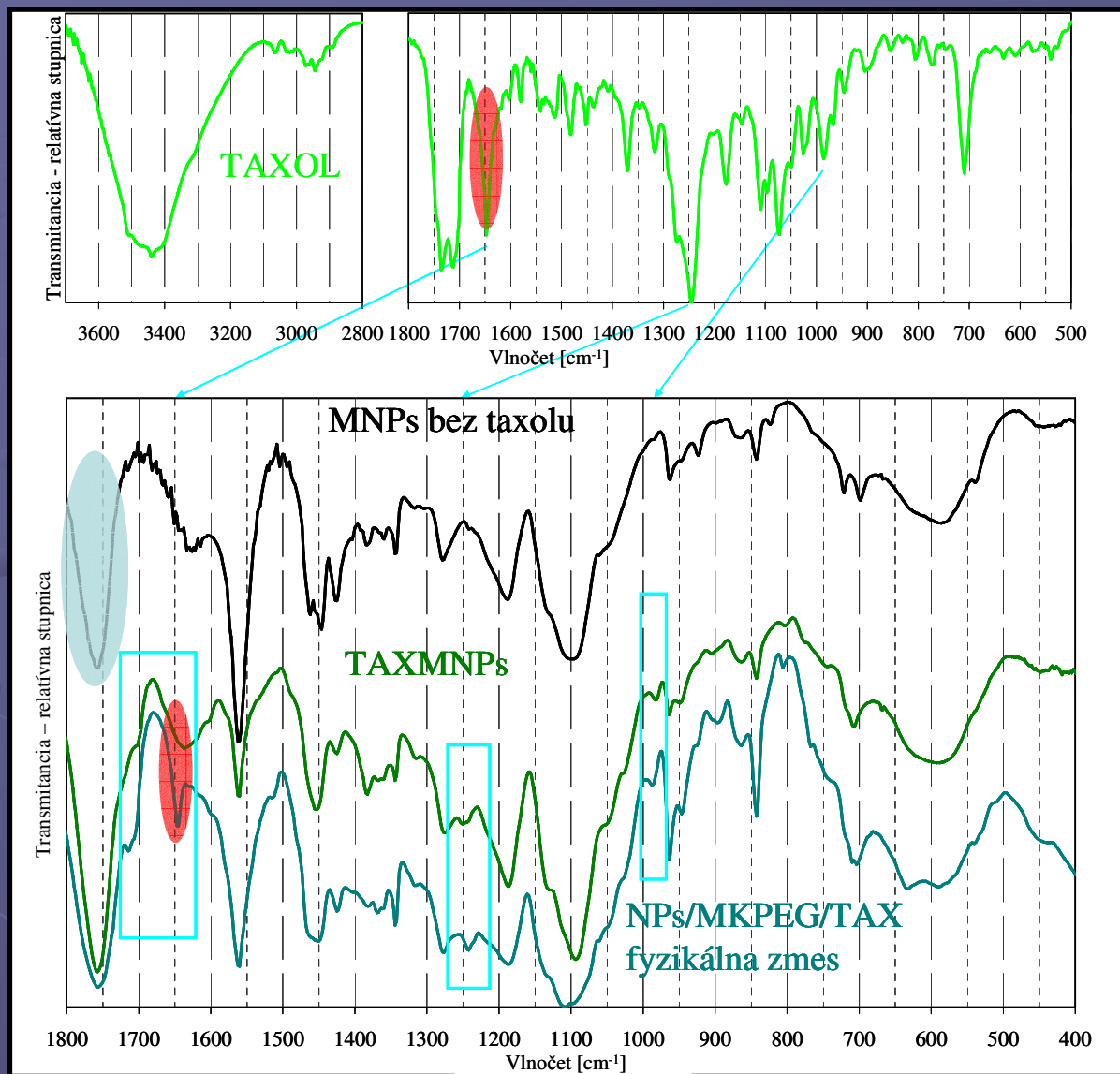


Vlnočet [cm^{-1}] Prázdné NPs	Priradenie vibrácie
2997, 2947	PLGA, $\nu(\text{C-H})$
2891	Pluronic, $\nu(\text{C-H})$
1759	PLGA, $\nu(\text{C=O})$ (ester)
1456	CH_2 deformačná vibrácia
1344, 962, 843	Pluronic
750, 706	PLGA

Vlnočet [cm^{-1}] MNPs	Vibrácia
1562	$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ oleátový anión
586	$\nu(\text{Fe-O})$ oxid železa (magnetit)

Nanosféry

Potvrdenie prítomnosti taxolu vo vzorkách NPs



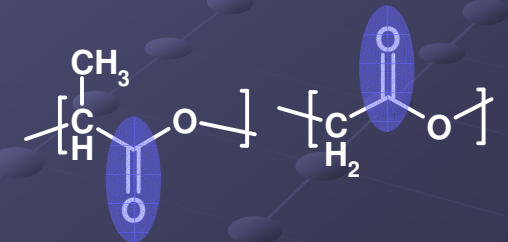
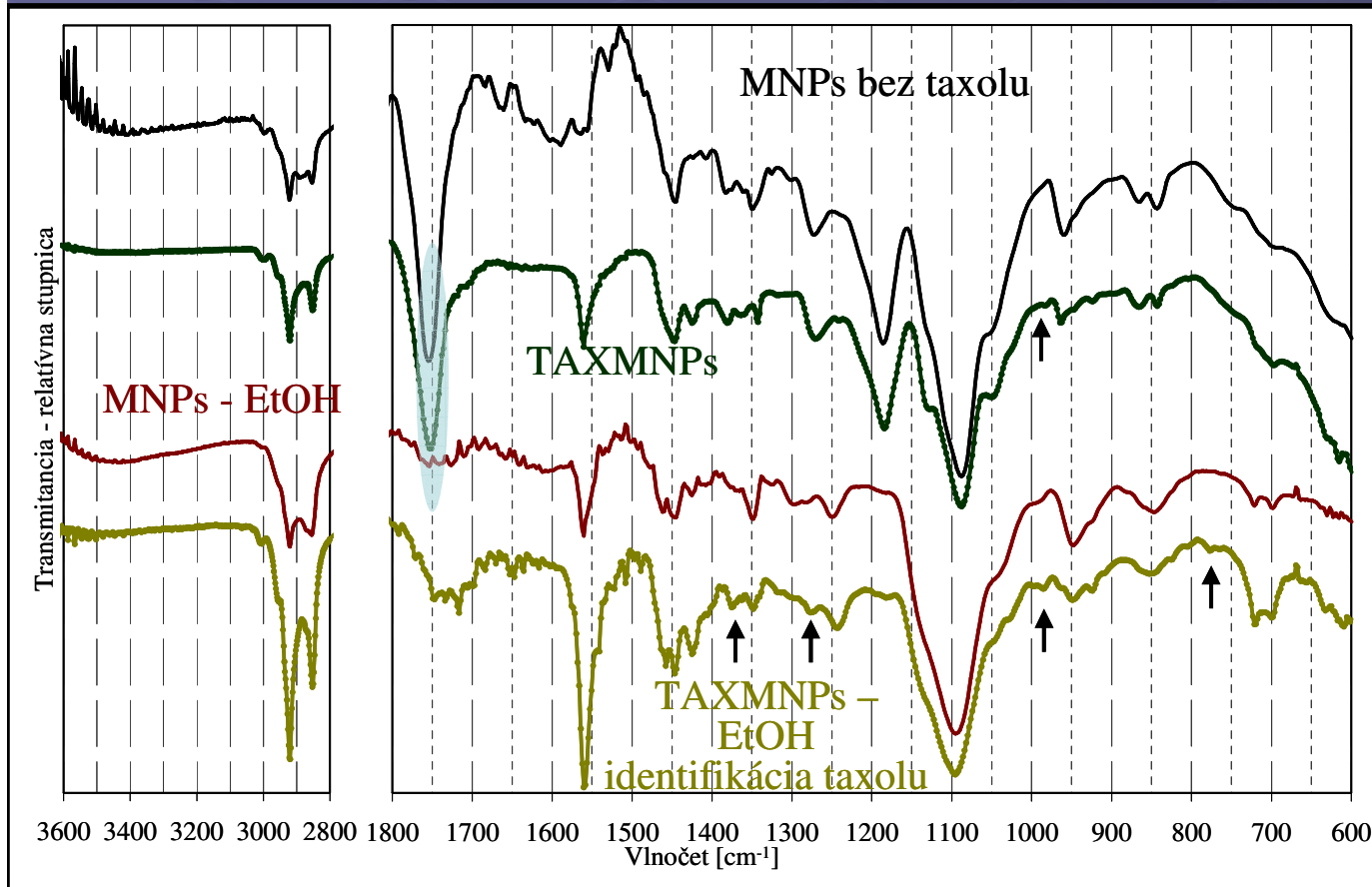
Dáta molekuly: G. J. Kleywegt et al.,
Acta Cryst. D54 (1998) 1119 (HIC-Up)

Vlnočť [cm ⁻¹] TAXMNPs	Pás taxolu
1637	$\nu(\text{C}=\text{O})$ amid (1647)
1250	(1244)
982	$\nu(\text{C}-\text{C})$ (985) [Zheng]

Nanosféry

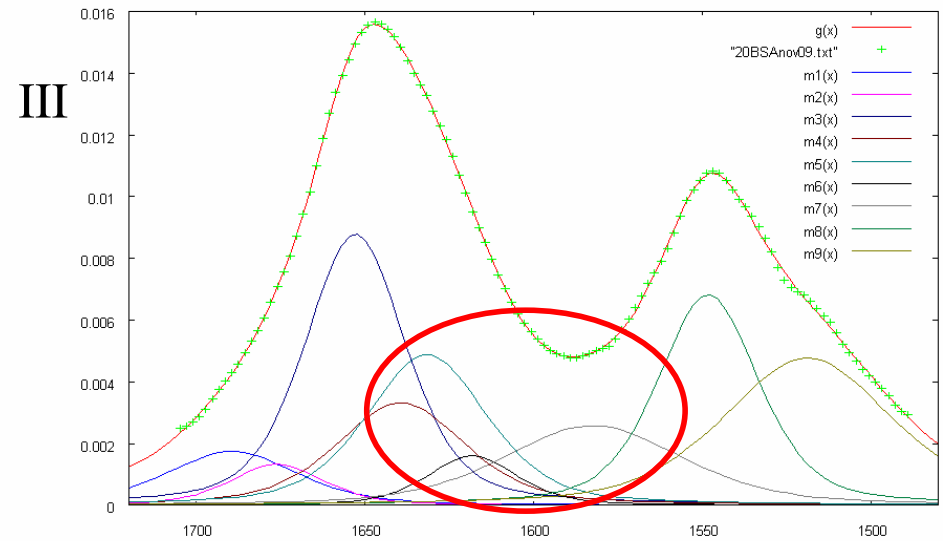
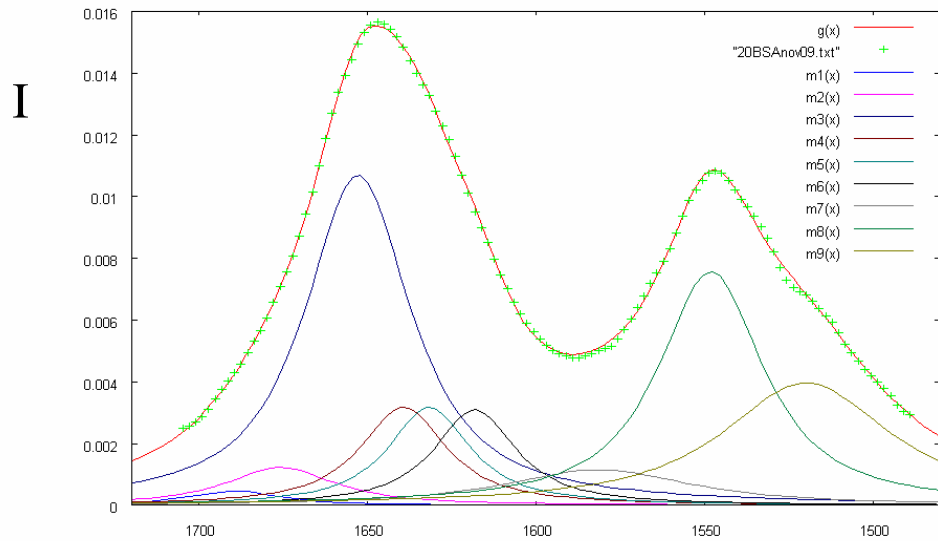
Metóda KBr tablety je neuspokojujúca pri nízkych nákladoch liečiva
(5 mg TAX / 100 mg PLGA).

Riešenie: ATR v kombinácii s etanolovou extrakciou



Laktidová & glykolidová
jednotka PLGA

Konformačná analýza albumínu



Výsledky pre 20 mg/ml BSA v Tris-HCl
- tri rôzne regresie tých istých experimentálnych bodov

Rozdelenie oblastí (Ferrer a kol.)	ref.	I	II	III
β -antiparal. (1675–1695)	4,45%	2,0%	2,3%	9,5%
otočky (1666–1673)*	10,12%	6,4%	6,6%	5,2%
α -helix (1650–1658)	59,76%	54,2%	53,7%	37,0%
štatistické kĺbko (1637–1645)	13,45%	13,0%	12,7%	17,8%
solvatovaný helix (1625–1637)	10,14%	12,4%	12,0%	24,5%
β -skladané listy (1613–1625)	2,08%	12,0%	12,7%	6,0%

*poloha zložkového pásu nie je v súlade s článkom: 1676 (mimo 1673-1666)

Problémy, predstavy, plány

● „Biofyzikálne úlohy“

- Dostatočná citlivosť v širšom rozmedzí pH
- Štandardizovanie metodiky rozboru

● Transmisný mód vodných sústav

● Kvantitatívna analýza

Ďakujem za pozornosť