

**Studium interakce kyseliny glutamové a glutaminu
s povrchem Ag nanočástic prostřednictvím metod
vibrační spektroskopie.**



Autorka	Bc. Hana Kubičková
Vedoucí práce	RNDr. Karolína Šišková Ph.D.
Studijní obor	Nanotechnologie
Forma studia	prezenční
Rok	2012

Jméno a příjmení autora	Bc. Hana Kubičková
Název práce	Studium interakce kyseliny glutamové a glutaminu s povrchem Ag nanočástic prostřednictvím metod vibrační spektroskopie
Typ práce	magisterská
Pracoviště	Katedra experimentální fyziky
Vedoucí práce	RNDr. Karolína Šišková Ph.D.
Rok obhajoby práce	2012
Počet stran	67
Počet příloh	1
Jazyk	český
Abstrakt	Práce se zabývá zkoumáním interakce rozdílně připravených nanočástic stříbra s kyselinou glutamovou nebo glutaminem při třech finálních koncentracích. Interakce mezi aminokyselinami a Ag nanočásticemi jsou zkoumány pomocí různých měřících metod a porovnány s výsledky pro samotné koloidní roztoky s nanočásticemi. Provedená měření jednoznačně ukazují způsoby navázání obou aminokyselin na povrchy odlišně připravených stříbrných nanočástic.
Klíčová slova	stříbrné nanočástice, příprava nanočástic, glutamin, kyselina glutamová, povrchový plasmon, vibrační spektroskopie, dynamický rozptyl světla, zeta potenciál, transmisní elektronová mikroskopie.

Author's first name and Suriname	Bc. Hana Kubičková
Title	Study of interaction of glutamic acid and glutamine with the surface of Ag nanoparticles by means of vibrational spectroscopy methods
Type of thesis	master
Department	Department of Experimental Physics
Supervisor	RNDr. Karolína Šišková Ph.D.
Year of presentation	2012
Number of pages	67
Number of appendices	1
Language	czech
Abstract	The work examines the interaction of different silver nanoparticles prepared with glutamic acid or glutamine at different final concentrations. The interactions between amino acids and Ag nanoparticles are investigated using different measuring methods and compared with actual results for colloidal solutions of nanoparticles. The measurements clearly show a way to both aminoacids bonding on the surfaces differently prepared silver nanoparticles.
Keywords	silver nanoparticles, the preparation of nanoparticles, glutamine, glutamic acid, surface plasmons, vibrational spectroscopy, dynamic light scattering, zeta potential, transmission electron microscopy,

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Karolíny Šiškové Ph.D., a že jsem použila zdroje, které cituji a uvádím v seznamu použitých zdrojů.

V Olomouci dne:.....

Podpis

Poděkování

*Srdečně děkuji své vedoucí diplomové práce **RNDr. Karolíně Šiškové Ph.D.** za její trpělivost a ochotu kdykoliv mi pomoci.*

*Děkuji srdečně **Mgr. Kláře Šafářové Ph.D.**, která pro mě udělala snímky na transmisním elektronovém mikroskopu a umožnila mi zároveň se měření zúčastnit alespoň jako pozorovatel.*

Na závěr bych ráda poděkovala svému manželovi a celé své rodině za podporu a trpělivost při vzniku této diplomové práce.

Obsah

Úvod	9
1 Teoretická část	10
1.1 Koloidní soustavy	10
1.1.1 Příprava solů	10
1.1.2 Vlastnosti solů	11
1.1.2.1 Optické vlastnosti	11
1.1.2.1.1 Absorpce světla	11
1.1.2.1.2 Rozptyl světla	12
1.1.2.2 Brownův pohyb a sedimentace v tíhovém poli	13
1.2 Stříbrné nanočástice	13
1.2.1 Syntéza stříbrných nanočástic	14
1.2.2 Měřicí metody charakterizující nanočástice stříbra	15
1.2.2.1 Ultrafialová a viditelná spektroskopie (UV-Vis. spektroskopie)	15
1.2.2.2 Měření zeta potenciálu	16
1.2.2.3 Dynamický rozptyl světla (DLS)	17
1.2.2.4 Transmisní elektronová mikroskopie (TEM)	18
1.2.2.4.1 Historie TEM	18
1.2.2.4.2 Fyzikální princip TEM	19
1.2.2.4.3 Základní konstrukce TEM	19
1.2.2.5 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS)	20
1.2.2.5.1 Historie SERS	20
1.2.2.5.2 Povrchový plasmon	20
1.2.2.5.3 Princip SERS	21
1.2.2.6 Infračervená spektrometrie (IČ spektrometrie)	21
1.3 Zkoumané aminokyseliny	22
1.3.1 Glutamin	22
1.3.2 Kyselina glutamová	23
2 Experimentální část	24
2.1 Příprava stříbrných koloidů	24
2.1.1 Stříbrný borohydridový koloid	24
2.1.2 Stříbrný maltózový koloid	25
2.1.3 Stříbrný glukózový koloid	26

2.2	Měření absorpčních spekter v ultrafialové a viditelné oblasti (UV-Vis. spektroskopie)	27
2.3	Měření dynamického rozptylu světla (DLS) a zeta potenciálu	27
2.4	Měření na transmisním elektronovém mikroskopu (TEM)	28
2.5	Měření SERS	29
2.6	Měření IČ	29
3	Výsledková část	30
3.1	Borohydridový koloid (AgBh)	30
3.1.1.	Charakterizace borohydridového koloidu	30
3.1.2	Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (U) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis. spekter	32
3.1.3	Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s glutaminem (N)	34
3.1.4	Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s aminokyselinami studovaná pomocí SERS	36
3.1.5	Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s kyselinou glutamovou studovaná pomocí IČ absorpce	38
3.1.6	Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s glutaminem studovaná pomocí IČ absorpce	39
3.1.7	Vazba kyseliny glutamové na povrch stříbrné nanočástice AgBh	40
3.1.8	Vazba glutaminu na povrch stříbrné nanočástice AgBh	41
3.2	Maltózový (M1) koloid	41
3.2.1	Charakterizace maltózového koloidu	41
3.2.2	Maltózový koloid (M1) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (U) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis. spekter	43
3.2.3	Maltózový koloid (M1) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (U) sledovaná prostřednictvím metod vibrační spektroskopie	45
3.2.4	Maltózový koloid (M1) a jeho interakce s glutaminem (N) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis spekter:	47
3.2.5	Maltózový koloid (M1) a jeho interakce s glutaminem (N) sledovaná prostřednictvím metod vibrační spektroskopie	49
3.2.6	Vazba kyseliny glutamové a glutaminu na Ag nanočásticích maltózového koloidu (M1)	50
3.3	Glukózový koloid (G1)	50
3.3.1	Charakterizace glukózového koloidu	50
3.3.2	Glukózový koloid (G1) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (U) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis spekter	52

3.3.3	Glukózový koloid (G1) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (U) sledovaná prostřednictvím metod vibrační spektroskopie	54
3.3.4	Glukózový koloid (G1) a jeho interakce s glutaminem (N) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis spekter	56
3.3.5	Glukózový koloid (G1) a jeho interakce s glutaminem (N) sledovaná prostřednictvím metod vibrační spektroskopie	58
3.3.6	Vazba kyseliny glutamové a glutaminu na Ag nanočásticích glukózového koloidu (G1)	59
Závěr		60
Seznam použitých zdrojů		62
Seznam obrázků		64
Seznam použitých symbolů a zkratk		65
Přílohy		66
Příloha č.1: Pouster z konference		66

Úvod

Široký aplikační potenciál stříbrných nanočástic je dnes dobře známý, proto nás toto téma zaujalo a zvolili jsme si jej pro diplomovou práci.

Cílem této diplomové práce je experimentálně provést přípravu **Ag** nanočástic třemi různými redukčními procesy.

Následně provést základní charakterizaci všech připravených **Ag** nanočástic pomocí dnes dostupných měřících metod. Po provedení základní charakterizace, provést měření znova s přidavkem různých koncentrací dvou vybraných aminokyselin: kyseliny glutamové a glutaminu.

Dále pak naměřit Ramanova spektra obou aminokyselin v roztocích bez nanočástic a s **Ag** nanočásticemi různých druhů, a pak proměřit infračervená spektra těchto vzorků.

Provést vyhodnocení všech naměřených spekter, aby spolu výsledky z různých metod měření korespondovaly. Z naměřených dat vyhodnotit způsob interakce mezi různě připravenými **Ag** nanočásticemi a oběma aminokyselinami. Následně diskutovat rozdíly v interakcích s ohledem na rozdílné chemické složení povrchů **Ag** nanočástic různých druhů. Zjistit, jestli se aminokyseliny vážou na povrch **Ag** nanočástic, a pokud ano, tak jakým způsobem.

1 Teoretická část

1.1 Koloidní soustavy ^[6]

Pokud je látka rozptýlena ve vhodném prostředí, lze ji převést do koloidního stavu, což je zvláštní agregátní stav hmoty. „Soustavy tohoto druhu se nazývají dispersní a rozlišuje se v nich fáze dispergovaná od fáze dispergující.“ ^[6] Brdička, s. 632) Koloidní stav lze obecně definovat na základě rozměrů dispergovaných částic v příslušném médiu. Jedná se o velikosti částic mezi **1 – 100 nm**, které nelze pozorovat optickým mikroskopem, natož pouhým okem. K pozorování těchto částic se většinou využívá jejich interakce se zářením nebo s elektrony. Všeobecně jsou tyto částice označovány právě díky svým rozměrům v nanometrech nanočásticemi. Nejběžnější koloidní soustavy jsou koloidní roztoky (obecně se nazývají soly), ty se vyznačují určitým disperzním stupněm. Jejich disperzní stupeň je větší než u jemných suspenzí a zároveň je menší než mají pravé roztoky. Hranice mezi koloidními soustavami a suspenzemi je určena hranicí mikroskopické viditelnosti. Koloidní vlastnosti soustav určuje hlavně povaha hraniční oblasti, pomocí níž se stýká okolní prostředí s dispergovanou fází. Čím větší je stupeň disperze, tím větší je mezifázová oblast (dosahuje obvykle velkých rozměrů). Při budování hraniční oblasti se významně prosazuje adsorpce, ta přivádí různé složky roztoku k povrchu dispergované fáze. V roce 1861 pan T. Graham zavedl označení koloid, vytvořil první klasifikaci koloidních roztoků a zavedl názvosloví těchto soustav.

1.1.1 Příprava solů ^[6,10]

Koloidní roztok organické sloučeniny s velkou molární hmotností lze získat pouhým rozpuštěním této sloučeniny ve vhodném dispergujícím prostředí. V takovém případě jsou dispergované částice totožné s molekulami, které jsou tak velké, že roztok získává koloidní vlastnosti.

K přípravě anorganických solů využíváme speciální metody. Ty se dělí na metody disperzní, metody kondenzační a metody elektrického rozprašování. Disperzní metoda vychází z použití tuhé fáze, hrubé suspenze nebo sraženiny, která se vhodně převede na koloidní roztok s odpovídajícím disperzním stupněm. Čerstvě promytý a sražený hydroxid železitý lze převést do koloidního roztoku například přidáním malého množství kyseliny chlorovodíkové. Běžně lze soly připravit také pomocí hydrolyzy, při které vzniká kyselina nebo málo rozpustný hydroxid. Takto získáme například koloidní roztoky hydroxidu železitého, hlinitého, chromitého atd.

Kondenzační metoda vychází z pravých roztoků, kdy změnou podmínek dojde k převodu dispergované fáze na nerozpustnou sloučeninu. V té dochází ke shlukování částic koloidní velikosti,

a tak se vytvoří sol. Příkladem kondenzační metody je převod látky rozpustné v jednom rozpouštědle do jiného rozpouštědla, pro které je tato látka nerozpustná. Tato nerozpustná látka se smíchává s původním rozpouštědlem. Požadovaného stupně disperze dosáhneme vhodnou volbou koncentrace nebo teploty. Například koloidní roztok síry vytvoříme, pokud smícháme alkoholický roztok síry s vodou.

Koloidní roztoky kovů lze připravit pomocí redukčních činidel působících na pravé roztoky kovových solí. Takto lze připravit třeba hydrosoly platiny například redukcí vodných roztoků platičitých solí pomocí formaldehydu.

G. Bredig zavedl metodu elektrického rozprašování skládající se jak z děje disperzačního, tak děje kondenzačního. Kovové hydrosoly se připravují ponořením dvou elektrod z příslušného kovu do čisté a chlazené vody. Přiváděním stejnosměrného napětí na elektrody, se pod vodou vytvoří elektrický oblouk. Při vysoké teplotě se kov začne odpařovat a následně kondenzovat ve vodě na koloidní částice. Takto připravíme soly zlata, stříbra a platiny.

1.1.2 Vlastnosti solů

1.1.2.1 Optické vlastnosti

1.1.2.1.1 Absorpce světla ^[8,9]

Při absorpci záření pohltí hmota energetické kvantum elektromagnetického záření. Zaměříme se nejprve na jednodušší případ, molekuly. U molekul dojde důsledkem absorpce záření ke změně energetických stavů valenčních a vazebných elektronů.

Dojde ke zvýšení vnitřní energie molekul vlivem absorpce záření. Tato vnitřní energie systému se může přeměnit na tepelnou energii. Absorpce světla látkou, označenou **A**, popisuje Lambertův-Beerův zákon:

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \epsilon c l$$

kde **I** je intenzita prošlého záření, **I₀** intenzita světla dopadajícího na květu, **ε** je absorpční koeficient látky, **c** je koncentrace látky a **l** je tloušťka vrstvy, kterou prochází světelný paprsek.

Oproti tomu absorpce koloidních soustav je komplikovaná závislostí absorpce záření na velikosti částic disperzní fáze. Navíc v koloidních soustavách dochází rovněž k rozptylu záření, jak bude ozřejmeno v následující kapitole. Souhrnně se jedná o tzv. extinkci, tedy absorpci a rozptyl ^[8]. V praxi je extinkce měřena na stejném přístroji jako absorpce, takže mnozí autoři v literatuře označují UV-Vis. spektrum koloidního roztoku jako absorpční spektrum, např. pro Ag nanočástice v referenci č. ^[9],

i když se v podstatě jedná o extinkční spektrum. U nanočástic vzácných kovů závisí poloha maxima v UV-Vis. spektra nejen na velikosti částic, ale také na jejich tvaru, agregačním stavu a na dielektrické konstantě rozpouštědla, v němž jsou dispergovány. ^[10]

1.1.2.1.2 Rozptyl světla [6]

Abbeova teorie mikroskopického zobrazování říká, že pod světelným mikroskopem nelze rozeznat objekty menší, než je vlnová délka světla použitého při pozorování. To je důsledkem ohybových jevů na malých objektech. Ve viditelném světle rozlišíme maximálně částice o velikosti asi **250 nm**.

Různorodost koloidních roztoků se nápadně projevuje v jejich optických vlastnostech. Pokud světlo prochází tlustší vrstvou koloidu, dochází k zákalu roztoku, což je důsledkem lomu a odrazu světla na jednotlivých částicích tohoto nehomogenního prostředí. Toto světlo se difusně rozptyluje a polarizuje. V koloidních roztocích jsou rozptýleny částice menší než je vlnová délka procházejícího světla. Při průchodu úzkého svazku koloidním roztokem, pozorujeme světelný kužel. Vrchol kužele je v místě vstupu paprsku do nehomogenního prostředí. Kužel se rozšiřuje ve směru průchodu paprsku prostředím. Rozptyl světla v mikroheterogenním prostředí, mající podobu kužele, se nazývá Tyndallův jev. Při postupu primárních paprsků o **intenzitě I_0** mikroheterogenním prostředím dochází k poklesu intenzity na hodnotu **I** vlivem rozptylu světla. K tomuto zeslabení dochází po průchodu vrstvou o tloušťce **L** . Pro pokles intenzity platí stejný vztah jako pro zeslabení způsobené absorpcí světla:

$$I = I_0 \exp(-L_\tau)$$

kde se **τ** nazývá koeficient turbidity (zákalu) a charakterizuje velikost rozptylu. Jeho velikost je závislá na vlnové délce paprsků, na koncentraci a vlastnostech částic, které způsobily rozptyl. Na rozdíl od světelné absorpce, kdy dochází k pohlcování zářivé energie, při elastickém rozptylu je energie záření zachována. Koeficient turbidity je dán vztahem:

$$\tau = {}^1N\alpha^2 \frac{8\pi}{3} \left(\frac{2\pi}{\lambda}\right)^4$$

kde **1N** udává počet částic v jednotkovém objemu a **α** je koeficient deformability přibližně úměrný objemu částic. Vztah v souladu s pozorováním ukazuje, že zeslabení paprsků způsobené rozptylem je tím větší, čím kratší je vlnová délka paprsků **λ** . U bílého světla se rozptylují nejvíce krátkovlnné paprsky (tj. modré a fialové). V důsledku toho, lze při průchodu prostupujícího světla koloidním roztokem pozorovat hlubší barvu, než vidíme při osvětlení bočním (tj. v temném zorném poli). V praxi se pomocí rozptylu na mikroheterogenních soustavách určuje koncentrace

suspendovaných částic. K určení hmoty, velikosti a tvaru částic, slouží metoda, která měří vzhledem ke směru primárních paprsků intenzitu světla pod různými úhly. K rozptylu světla dochází na koloidních částicích a makromolekulách, obsažených v koloidním roztoku.

1.1.2.2 Brownův pohyb a sedimentace v tíhovém poli [6]

Koloidní částice se vznášejí v disperzním prostředí a konají ustavičný, nepravidelný pohyb. Tento jev objevil a poprvé pozoroval R. Brown na suspenzi pylových částic. Podle něj jev nazýváme Brownův pohyb. Na vznášející se koloidní částice v disperzním mediu lze pohlížet jako na molekuly plynu nebo molekuly pravého roztoku. Dle ekvipartičního principu je střední hodnota kinetické energie koloidní částice stejně jako u molekul plynu nebo roztoku dána vztahem:

$$E_K = \frac{1}{2} m \overline{u^2} = \frac{3}{2} kT$$

kde m značí hmotnost jedné koloidní částice a $\overline{u^2}$ je střední čtverec rychlosti translačního pohybu. Z toho vyplývá vztah pro osmotický tlak π koloidního roztoku:

$$\pi = {}^1NkT = \frac{{}^1N}{N_A} RT$$

kde 1N je počet koloidních částic v jednotce objemu.

Koloidní roztok ve vertikálním sloupci je pod vlivem gravitačních sil. Ty způsobují přitahování koloidních částic ke dnu nádoby. Pokud by na koloidní roztok nepůsobily jiné síly, klesly by všechny částice na dno. Na roztok zároveň působí také osmotické síly, které chtějí rozptýlit částice rovnoměrně po celém roztoku. Pokud dojde k vyrovnání gravitačních a osmotických sil, dojde k výškovému rozdělení počtu částic. Nejvíce částic bude u dna a směrem vzhůru se jejich počet bude snižovat. V různých horizontálních řezech bude odlišný počet částic.

1.2 Stříbrné nanočástice [3,7]

Nanočástice stříbra jsou s ohledem na jejich optické, elektrické a antimikrobiální vlastnosti velice výjimečné, a proto nacházejí stále širší uplatnění nejen ve vědeckém výzkumu, ale i v každodenní praxi. [3]

Vzpomeňme například textilie, či náplasti s antibakteriálními vlastnostmi. Ohledně mimořádných optických vlastností se jedná především o využití **Ag** nanočástic coby zesilovačů záření dopadajícího

a Ramansky rozptýleného na molekulách nacházejících se v blízkém okolí těchto nanočástic. zesílení záření nastává prostřednictvím tzv. povrchového plasmonu, o kterém bude řeč dále. Vlastnosti nanočástic stříbra jsou obecně závislé na jejich velikosti, tvaru a prostředí ve kterém se nacházejí.^[10]

Velká část atomů v nanočásticích stříbra je na povrchu, a proto charakter povrchu nanočástic rovněž značně ovlivňuje jejich vlastnosti.^[3]

Například bylo prokázáno, že antibakteriální aktivita nanočástic stříbra úzce souvisí s přítomností Ag^+ iontů chemisorbovaných na povrchu nanočástice, vznikajících díky částečné oxidaci povrchu nanočástice. Hlavní výhodou nanočástic stříbra je, že se chovají jako „nanonosiče“ Ag^+ iontů a po dlouhou dobu stabilně a pomalu uvolňují ionty stříbra.^[3]

Chemická příprava nanočástic stříbra je dobře zavedenou oblastí výzkumu, i když nebyla po staletí uvažována její znalost. Prvním příkladem je bronzový pohár Lycurgus pocházející ze IV. století našeho letopočtu. Je vyroben z barevného skla, které rozptýlí zelenou barvu a vysílá červené světlo, což je způsobeno složením slitiny- stříbro (70%) a zlaté nanočástice (30%).^[7]

Dalším kuriózním příkladem je kovový lesk, zdobící keramické dekorace, který vzniká v důsledku použití stříbrných nanočástic.^[3]

Výše popsané historické příklady jsou výchozím bodem pro vývoj stříbrných nanomateriálů. V současné době je nejvíc aktivní oblastí výzkumu nanočástic stříbra, oblast studií a aplikací jejich optických a biomedicínských vlastností. Je zřejmé, že velké množství praktických aplikací je vyvíjeno současně se studiem vlastností nanočástic stříbra.^[3]

1.2.1 Syntéza stříbrných nanočástic [3,7]

Syntéza nanočástic v roztoku (tj. vznik stříbrného koloidního roztoku) vyžaduje použití metod umožňujících přesnou kontrolu nad velikostí, tvarem a charakterem povrchu nanočástice. Obecně platí, že syntéza nanočástic kovů v roztoku se provádí za pomoci následujících komponent: a) kovových prekurzorů, b) redukčních činidel a popřípadě c) stabilizátorů. Mechanismus vzniku koloidních roztoků redukcí stříbrných iontů (tedy stříbra v oxidačním stavu +1) se skládá ze dvou fází: nukleace a růstu. Nukleační fáze vyžaduje vysokou aktivační energii, zatímco růst nanočástic vyžaduje minimální aktivační energii. Velikost a tvar nanočástice pak bude záviset na relativní rychlosti těchto dvou procesů. Lze je kontrolovat pomocí přizpůsobení reakčních parametrů jako jsou koncentrace reaktantů, teplota reakční směsi, hodnota pH, apod.

Jednou z možností, jak připravit nanočástice stříbra, je přímá redukce dusičnanu stříbrného díky borohydridu sodnému majícímu redukční účinky za snížené teploty.

Další možností syntézy Ag nanočástic je Tollensova metoda používaná k důkazu přítomnosti redukujících cukrů. Tato jednoduchá metoda se používala po desetiletí pro elektrolytické nanášení tenkých vrstev stříbra (stříbrná zrcadla). Jedná se o proces redukce komplexu $[Ag(NH_3)_2]^+$ v roztoku s organickými látkami, které mají redukční účinky, jako jsou aldehydy nebo cukry. Modifikace této Tollensovy metody umožňuje řízenou syntézu monodisperzních nanočástic stříbra ve vodě. ^[17,18]

1.2.2 Měřící metody charakterizující nanočástice stříbra

1.2.2.1 Ultrafialová a viditelná spektroskopie (UV-Vis. spektroskopie) [8,10,13,31,32,33,34]

Jak už bylo řečeno výše, dispergované nanočástice vzácných kovů jsou barevné, tudíž absorbují ve viditelné části spektra. Proto lze pro jejich charakterizaci s výhodou využít UV-Vis. absorpční spektroskopii. Metoda se nejčastěji používá v analytické chemii. Je založená na interakci viditelného elektromagnetického záření se zkoumaným vzorkem. Umožňuje studovat vlastnosti hmoty, pomocí interakce s frekvencemi viditelného elektromagnetického spektra. Různé chemické látky mají vždy různá absorpční spektra.

Absorpční spektrofotometr je složen ze čtyř základních částí. První je zdroj záření – pro viditelnou oblast použijeme jako zdroj záření wolframovou nebo halogenovou žárovku. Další součástí je monochromátor, který tvoří vstupní a výstupní štěrbina, zrcadlová nebo čočková soustava a rozkladný prvek (hranol nebo reflexní mřížka).

Za monochromátorem je absorpční prostředí, do kterého umístíme květu s měřeným nebo srovnávacím prostředím. Poslední částí spektrometru je detekční systém, skládající se z fotoelektrického detektoru záření a elektronického zařízení používaného pro zpracování jeho odezvy.

Kvantitativní analýza vychází z Lambertova-Beerova zákona, kde je A hodnota absorbance při vlnové délce λ přímo úměrná látkové koncentraci c . Pro kvantitativní analýzu musíme vybrat vhodnou měřící vlnovou délku, při níž zkoumaná látka bude silně absorbovat (nejlépe dosáhne maxima absorpčního spektra).

Jak již bylo řečeno výše, Lambertův-Beerův zákon je dán vzorcem:

$$A_{(\lambda)} = \varepsilon_{(\lambda)} l c,$$

kde je l tloušťka měřené vrstvy a $\epsilon_{(\lambda)}$ je molární absorpční koeficient.

Tento zákon platí pro monochromatické záření a pro nízké koncentrace ve vzorku, menší než $1 \cdot 10^{-2} M$

Transmitanci T pak vypočteme dle vzorce:

$$T = \frac{\Phi}{\Phi_0},$$

kde Φ je tok prošlý vzorkem, a Φ_0 je tok prošlý srovnávacím vzorkem.

Z toho vyplývá, že absorbance A je dána vztahem:

$$A = -\log T$$

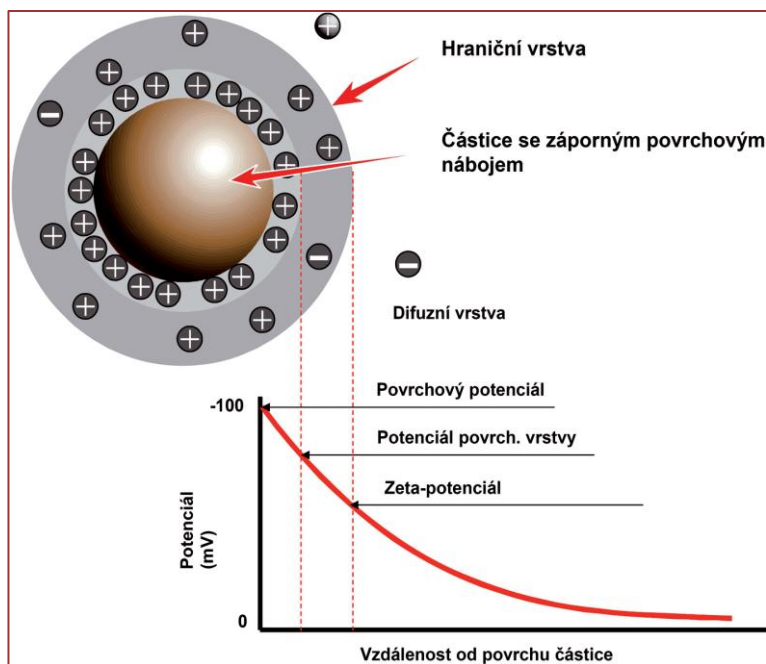
Pro nanočástice Ag se někdy, pro jednoduchost, tento Lambertův-Beerův vztah používá. Je ovšem nutno mít na paměti, že určení koncentrace roztoku nanočástic Ag touto metodou není v žádném případě přesné. Důležitější je tvar absorpční (extinkční) křivky příslušného roztoku. To nám totiž napoví, jak velké nanočástice mohou v roztoku být a také, zda jsou či nejsou agregované.

1.2.2.2 Měření zeta potenciálu [4, 17]

Okolo nabité koloidní částice dochází k seskupování malých iontů opačného znaménka.^[17] Pokud se částice s povrchovým nábojem nachází v kapalině, dojde ke vzniku elektrické dvojvrstvy, protože náboj na povrchu částice k sobě přitáhne z roztoku ionty s opačným nábojem.^[4] Elektrická dvojvrstva má dvě základní části. Bližší povrchu je část kompaktní, na kterou působí adsorpční síly, a vzdálenější část, kde adsorpční síly zanedbáváme, tu nazýváme difúzní. Koloidní částice mají povrchový náboj, a proto existuje potenciálový rozdíl mezi jejich povrchem a roztokem.

Rozlišujeme dva druhy potenciálových rozdílů. Elektrochemický potenciál, jehož hodnota je dána potenciálovým rozdílem mezi povrchem částice a objemem kapaliny.^[17] Druhou důležitou vlastností nanočástic rozptýlených v kapalinách je jejich elektrokinetický potenciál, nazývaný zeta-potenciál. Ten do značné míry ovlivňuje chování těchto nanosystémů. Většina nanočástic má povrchový náboj, protože atomům na jejich povrchu chybí část sousedů směrem do média (roztoku). Zeta potenciál je potenciál mezi nejvyšší nepohyblivou (hraniční) vrstvou kapaliny, která obklopuje částici, a vzdáleným objemem kapaliny. Je to veličina určující míru interakce částic a tudíž i jejich vlastnosti. Udává se, že pokud je hodnota zeta-potenciálu v absolutní hodnotě větší než $25 mV$, dochází k silnému odpuzování částic, netvoří se shluky, a proto je systém stabilní. Pro některé aplikace je toto velmi žádaný stav nanočástic.

Pro malé hodnoty zeta-potenciálu je systém nestabilní, nanočástice se shlukují do agregátů o různé velikosti, což se projeví širokou distribucí velikostí částic. Zeta-potenciál lze využít i ke studiu povrchových vlastností nanočástic a také pomocí něj analyzovat vlivy různých příměsí.



Obrázek 1: Princip zeta potenciálu

Při měření zeta-potenciálu je využíván dopplerovský posun frekvence laserového paprsku na nabitých částicích, pohybujících se v přiloženém elektrickém poli. Frekvenční posun vypočteme:

$$v_D = \frac{Un}{\lambda} \sin(\theta),$$

kde n je index lomu kapaliny, λ je vlnová délka, U je vložené napětí a θ je úhel rozptylu použitého světla. Zeta-potenciál ξ pak lze vypočítat ze Smoluchowského rovnice:

$$\xi = \frac{\eta}{\epsilon} U,$$

kde η je viskozita kapaliny, U vložené napětí a ϵ je permitivita. ^[4]

1.2.2.3 Dynamický rozptyl světla (DLS) [17, 23]

Metoda dynamického rozptylu světla je v dnešní době hojně využívána ke stanovení distribuce velikosti koloidních nanočástic. Nazýváme ji také fotonová korelační spektroskopie nebo kvazi-elastický rozptyl.

Obecně, světlo rozptýlené od různých částic, má náhodnou fázi, a proto nedochází k interferenci mezi jeho vlnami. Pokud je zdrojem záření koherentní laser, pak po interakci s částicemi

k interferenci dojde. Malé částice v kapalině se pohybují Brownovým pohybem. V důsledku tohoto pohybu se mění vzdálenost, kterou urazí rozptýlené světlo k detektoru. Dochází k interferenci rozptýleného vlnění v závislosti na vzdálenosti detektoru od částice. Vyhodnocením interferencí získáme fluktuace intenzity rozptýleného záření kolem průměrné hodnoty intenzity. Z těchto fluktuací intenzity lze získat korelační funkci, která popisuje vztah mezi průměrem intenzity v čase $(t + \tau)$ a v čase t . Pokud je zpoždění τ velké jsou na sobě intenzity $I(t)$, $I(t + \tau)$ nezávislé, při zpoždění krátkém jsou pak hodnoty závislé. Pokud máme částice kulové a stejných velikostí pak lze korelační funkci vyjádřit v exponenciálním tvaru:

$$g(\tau) = \exp\left(-\frac{\tau}{\tau_c}\right), \text{ kde } \tau_c \text{ je úměrný difuznímu koeficientu } D \text{ částic,}$$

$$\tau_c = \frac{1}{2} D Q^2, \text{ kde } Q \text{ je vlnový vektor.}$$

Vynesením $\ln g(\tau)$ proti τ získáme τ_c . Hydrodynamický poloměr částic R je, za použití rovnice pro difuzní koeficient ($D = \frac{kT}{6\pi\eta a}$), dán vztahem:

$$R = \left(\frac{kT}{6\pi\eta a}\right) Q^2 \tau_c,$$

V praxi měříme τ_c při různých úhlech rozptylu (různých hodnotách Q) a vynášíme $\frac{1}{\tau_c}$ proti Q^2 , čímž se získává D a odtud R .

1.2.2.4 Transmisní elektronová mikroskopie (TEM)

1.2.2.4.1 Historie TEM

Transmisní elektronový mikroskop vynalezli v roce 1930 Knoll a Ruska. Motivací k tomu byla omezená rozlišovací schopnost světelného mikroskopu. První komerční transmisní elektronový mikroskop byl postaven už v roce 1936. Jeho další vývoj bohužel zpomalila 2. světová válka. V roce 1949 významně přispěla ke studiu kovových mikrostruktur práce pana Heidenreicha. Ztenčil kovovou folii na tloušťku, kterou lze prosvětlit elektrony (přibližně **200 nm**).

„První zkušenosti při studiu tenkých fólií vedly k poznání, že TEM se od klasické světelné mikroskopie významně liší tím, že vyžaduje hlubokou znalost interakce dopadajících (elektronových) vln s preparátem.“ [22]

Roku 1956 byly Bollmannem zveřejněny první TEM snímky krystalových poruch (vrstvených chyb a dislokací). V Cambridge byla skupinou okolo profesora Hirsche v dalších letech vypracována teorie

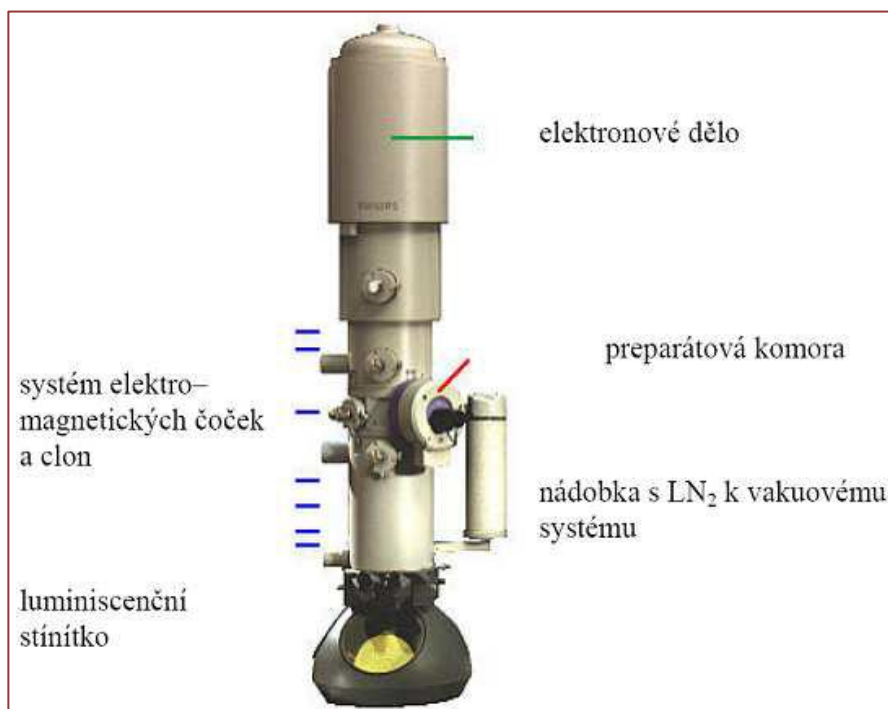
difrakčního kontrastu. V roce 1990 sepsali Williams a Carter učebnici, ve které shrnuli dostupné experimentální techniky TEM studia materiálů. [22]

1.2.2.4.2 Fyzikální princip TEM

Elektronový mikroskop ozařuje vzorek elektrony o hodnotě energie stovek **kV**.

Elektrony uvnitř vzorku interagují pružně (se zanedbatelnou výměnou kinetické energie) a nepružně (elektronové excitace). Při pružném rozptylu elektronů dochází k interakcím s elektrostatickým potenciálem jader atomů, a to způsobuje odklon od původní trajektorie. V důsledku toho dochází ke změně hybnosti, se kterou se pojí malá změna energie. Tuto změnu energie můžeme zanedbat v důsledku velkého rozdílu mezi hmotností atomu a hmotností pohybujícího se elektronu. Při nepružném rozptylu dochází k interakci elektronového obalu a primárních elektronů. Primární elektrony ztrácejí energii ΔE . Tu předávají vázaným elektronům, ty se díky ní dostanou přechodně do excitovaného stavu. Částice účastníci se této interakce mají stejnou hmotnost a proto je přenos energie v těchto případech přínosný. [24]

1.2.2.4.3 Základní konstrukce TEM [35]



Obrázek 2: Konstrukce transmisního elektronového mikroskopu

Čtyři základní části transmisního elektronového mikroskopu jsou:

- tubus s elektronovou optikou,
- vakuový systém,

- nezbytná elektronika (napájení čoček, vychylování elektronového paprsku, zdroj vysokého napětí apod.),
- software.

1.2.2.5 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS)

1.2.2.5.1 Historie SERS [5,8,11,16]

SERS byl objeven, ne však rozpoznán jako takový, již v roce 1974 Fleischmannem. Ten pozoroval intenzitu Ramanova rozptylu pyridinu adsorbovaného na zdrsňený stříbrný povrch elektrody ve vodném roztoku. Motivací pro jeho práci bylo vynalézt chemicky specifickou spektroskopickou metodu, která by mohla být využita ke studiu elektrochemických procesů v přirozeném prostředí. Fleischman vysvětloval zesílení signálu pyridinu na elektrodách se „zdrsňeným“ povrchem v nanorozměrech, tím, že došlo ke zvětšení jejího povrchu, a tudíž ke zvýšení počtu adsorbovaných molekul v experimentu. Jean Maire Van Duyne, Albrecht a Creighton nezávisle na sobě rozpoznali, že pozorované velké intenzity Ramanova signálu pyridinu na zdrsňených elektrodách nelze jednoduše vysvětlit, pomocí zvětšení počtu adsorbovaných molekul, na nichž dochází k Ramanovu rozptylu, ani nárůstem intenzity rozptylu vyplývajícího z adsorbovaného stavu. Tyto studie vyvolaly debaty o SERS mechanismu, které probíhaly více než dvě desetiletí a které jsou stále zdrojem nového výzkumu. Albrecht a Creighton osvětlili původ zesílení signálu vlivem zvětšování elektrického pole na „nano-zdrsňené“ elektrodě, zatímco Jean Maire a Van Duyne pozorovali, že rezonance Ramanova rozptylu z elektronických stavů molekul, rozšířených jejich interakcí s kovovým povrchem, může vysvětlit pozorované obrovské zesílení signálu. Jak můžeme vidět, obě dvě skupiny měly pravdu v konceptu, ale ne v detailech fungování SERS mechanismu.

Výzkum metody SERS dramaticky zrychlil na začátku 80. let 20 století, za přispění chemiků, fyziků a inženýrů z celého světa. V roce 1985 byly výsledky experimentů uznány, stejně tak jako oba základní mechanismy.

1.2.2.5.2 Povrchový plasmon [8]

Z důvodu existence jevu nazývaného povrchový plasmon, jsou soly nanočástic intenzivně zabarveny. Povrchový plasmon existuje na rozhraní dvou prostředí, jejichž dielektrické konstanty mají vzájemně opačné znaménko (např. kov a dielektrikum). Povrchový plasmon vystihuje změnu v hustotě nábojů v důsledku jejich kmitání způsobeném interakcí s dopadajícím zářením. Tento jev lze vysvětlit pomocí interakce valenčních elektronů kovu, které mají v malé částici pouze určité dovolené hladiny energie, srovnatelné s energiemi světelného fotonu dopadajícího elektromagnetického záření. Při dopadu světla na vzorek dochází k silné absorpci světelné energie ve chvíli, když je v rezonanci kmitočet záření s pohyby valenčních elektronů (ty produkují elektromagnetické pole

o stejné frekvenci). Ve výsledku dojde k intenzivnímu zabarvení koloidů (oranžovo-žluté zabarvení koloidů stříbra nebo rubínově červené zabarvení koloidů zlata).^[8]

1.2.2.5.3 Princip SERS [1,2,11,16]

Pro vysvětlení mechanismu SERSu je nejprve potřeba připomenout optické vlastnosti nanočástic kovů dispergovaných v roztoku.

Koloidní roztoky kovových nanočástic (soly) vykazují extinkční pásy v ultrafialové až viditelné části spektra, a proto mají atraktivní barvy. Tyto charakteristické pásy vznikají díky excitaci povrchových plasmonových rezonancí (tj. fyzické rezonance kolektivních kmitů elektronů z valenčního pásu) nebo excitací mezi-pásových přechodů, a jsou tudíž charakteristickou vlastností kovového původu částic.

Extinkční spektra přiměřeně zředěných, disperzích sférických nanočástic lze vypočítat z Mieho teorie, a to ze závislosti optických konstant částic na vlnové délce s ohledem na okolní médium .

Extinkční spektra Cu, Ag a Au hydrosolů byly intenzivně počítány a modelovány, včetně toho, jak velikost a tvar částic, ovlivňují tato spektra. Koloidní kovové částice vyprodukované chemickou cestou mají rozměry obvykle v rozmezí **3-100 nm**. Ačkoliv reálné tvary chemicky připravených nanočástic jsou většinou polyhedrony nebo icosahedrony, lze vidět, že i přesto se experimentálně získaná spektra velmi dobře shodují s extinkčními spektry vypočtenými pro kulovité částice.

Obecně se rozlišují dva základní mechanismy SERS: elektromagnetický a chemický. Pro využití elektromagnetického mechanismu SERS je potřeba, aby vlnová délka použitého laseru spadala do extinkčního pásu příslušného hydrosolu. Pro využití chemického mechanismu je potřeba být v rezonanci s absorpčním pásem zkoumané látky, anebo s absorpčním pásem nově vytvořeného povrchového komplexu (**Ag**-zkoumaná látka).

1.2.2.6 Infračervená spektrometrie (IČ spektrometrie) [15, 19, 36, 37]

IČ spektroskopie je nedestruktivní analytická metoda, při které nedochází k poškození vzorku, přesto získáme informaci o složení měřeného vzorku. Infračervená spektrometrie se využívá k identifikaci chemické struktury látek již od 30. let 20. století. Tato experimentální technika poskytuje vedle kvantitativní a kvalitativní analýzy důležité informace o výzkumu molekulové dynamiky, vlivu prostředí na zkoumané molekuly, chemických vlastnostech molekul atd. Při absorpci infračerveného záření procházejícího vzorkem, dojde ke změně rotačně vibračních energetických stavů molekuly a ta závisí na změně dipólového momentu molekuly.

Oblast infračerveného záření dělíme na tři části:

- blízká infračervená oblast (13000 – 4000 cm^{-1}) **NIR**,

- střední infračervená oblast ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) **MIR**- nejpoužívanější oblast,
- vzdálená infračervená oblast ($400 - 10 \text{ cm}^{-1}$) **FIR**.

Při interpretaci IČ spekter nejdřív přiřadíme jednotlivé absorpční pásy charakteristickým vibracím molekul. Pomocí absorpčních pásů s vrcholy v intervalu $4000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ identifikujeme funkční skupiny (např.: $C = O$, $N - H$, CH_3 atd.). Oblast pásů v intervalu $1500 - 400 \text{ cm}^{-1}$ nazýváme oblast „otisku prstu“ (fingerprint region). Podle charakteristické polohy pásů v této oblasti lze identifikovat jakoukoliv látku.

1.3 Zkoumané aminokyseliny

Jak je vidět na obrázku 3, fotografii roztoků glutamové kyseliny a glutaminu, jedná se o bezbarvé roztoky, které absorbují v UV oblasti, nikoliv však ve viditelné.

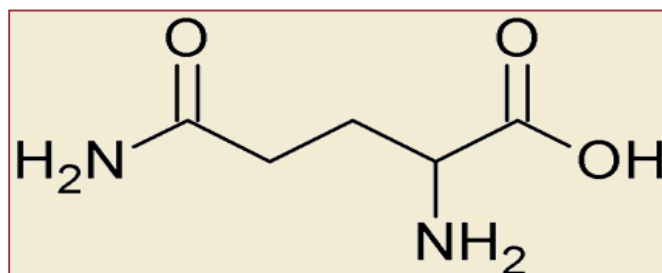
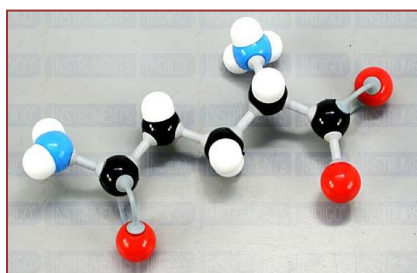


Obrázek 3: Bezbarvé roztoky aminokyselin-kyseliny glutamové a glutaminu

1.3.1 Glutamin

Glutamin je neesenciální biogenní aminokyselina neboli amid kyseliny glutamové, a proto patří do skupiny kyselých aminokyselin.

Patří mezi 22 nejznámějších aminokyselin, které se zabudovávají do bílkovin při jejich vzniku. Je to nejrozšířenější aminokyselina vyskytující se v lidské krvi. Je také běžnou částí proteinů. Můžeme jej najít v potravinách bohatých na bílkoviny jako například červené maso, mléčné výrobky a luštěniny. Je palivem pro imunitní buňky, pojivě tkáň a sliznice trávicího traktu. Normálně si jej lidské buňky dokáží samy zpracovat z přijaté potravy, ale pokud je lidské tělo ve stresu nebo má zvýšený energetický výdej, tak je potřeba příjem glutaminu zvýšit.

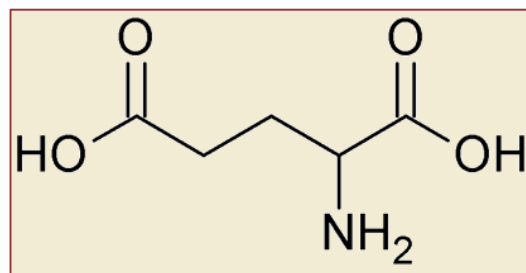


Obrázek 4: Model a schéma glutaminu

V lékařství se glutamin používá jako doplněk stravy při radiční léčbě, transplantaci kostní dřeně, chemoterapii a při nákaze HIV na některé přidružené komplikace. Kulturisti jej užívají v kombinaci s kreatinem pro nárůst svalové hmoty^[14,25,26,27,28].

1.3.2 Kyselina glutamová

Kyselina glutamová je glukogenní neesenciální kyselá aminokyselina, která obsahuje v postranním řetězci další kyselou skupinu snadno odštěpující proton.



Obrázek 5: Model a schéma kyseliny glutamové

Při odštěpení protonu vzniká další negativní náboj, který peptidickým řetězcům a bílkovinám uděluje důležité elektrochemické vlastnosti. Tato kyselina zajišťuje až 75% excitačních (budivých) vzruchů v centrální nervové soustavě a v sítnici, a proto je velmi důležitá pro učení a paměť. Také se výrazně podílí na mechanismu likvidace amonných iontů (např. čpavku) v lidském těle, protože jej na sebe naváže. V lidském těle je nejčastěji přítomna ve formě soli nazývané glutamát, jako kyselina se v něm téměř nevyskytuje. Dále se v lidském organismu podílí na metabolismu tuků a je důležitým prekurzorem biosyntézy neesenciálních aminokyselin glutaminu a prolinu.

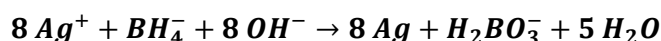
V potravinářství je pod označením E 620 využívána jako stabilizátor barviv a antioxidant. V budoucnosti se v lékařství počítá s jejím využitím při léčení neurologických poruch jako například epilepsie, Parkinsonova choroba, mentální retardace a další poruchy.^[14,29,30]

2 Experimentální část

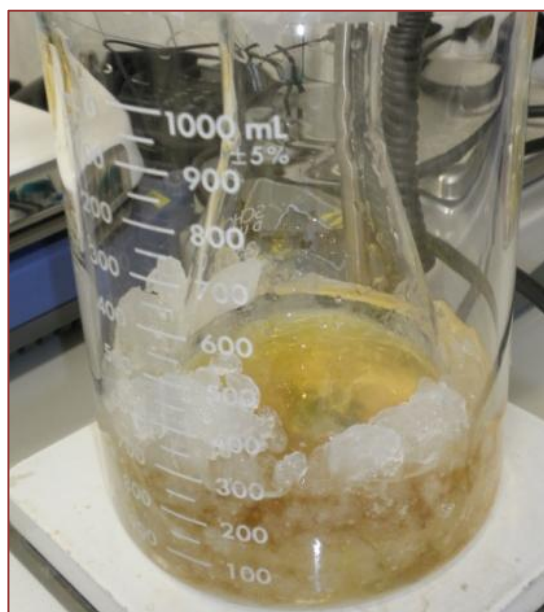
2.1 Příprava stříbrných koloidů

2.1.1 Stříbrný borohydridový koloid

Koloid byl připraven redukcí stříbrných iontů pomocí borohydridu sodného NaBH_4 . Děj lze popsat pomocí níže uvedené chemické rovnice:



Na začátku přípravy vychladíme **50 ml** destilované vody v ledové lázni. Potom odvážíme **9,5 mg** AgNO_3 . To nasypeme do odměrné baňky a zalijeme **25 ml** destilované vody. Roztok umístíme asi na 15 minut do lednice. Dále si navážíme **3,4 mg** NaBH_4 , látku nasypeme do **50 ml** destilované vody umístěných v ledové lázni. Roztok umístíme na magnetické míchadlo s ohříváčem. Z lednice vyndáme chladný roztok AgNO_3 a pomocí pipety odměříme 9 ml, které začneme za stálého míchání přikapávat do roztoku NaBH_4 . Během míchání začne roztok měnit barvu od světle žluté po tmavě žlutou. Po smíchání roztoků překryjeme Erlenmayerovu baňku parafinem a necháme deset minut míchat.



Obrázek 6: Příprava stříbrného borohydridového koloidu

Pak začneme baňku zahřívát na **90°C** po dobu deseti minut. Během tohoto procesu pozorujeme zesvětlení barvy koloidu. Koloid necháme za stálého míchání ochladit, dokud nedosáhne pokojové teploty. Po vymíchání koloidu vyndáme teflonové míchadlo lehce potažené stříbrným povlakem. Hotový borohydridový koloid uložíme do tmy. Vzorek koloidu jsme označily jako AgBH .

Relativní molekulová hmotnost látek použitých k přípravě koloidu:

$$Mr(\text{AgNO}_3) = 169,9$$

$$Mr(\text{NaBH}_4) = 37,8$$

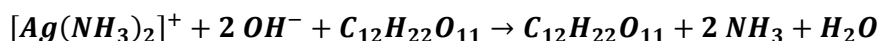
Finální koncentrace **AgBH** koloidu (v **84 ml**):

$$c(\text{Ag}^+) = (2,24 \cdot 10^{-3}) \cdot \frac{9}{84} M = 2,4 \cdot 10^{-4} M$$

$$c(\text{BH}_4^-) = (1,20 \cdot 10^{-3}) \cdot \frac{75}{84} M = 1,1 \cdot 10^{-3} M$$

2.1.2 Stříbrný maltózový koloid

Maltózový koloid připravíme redukcí diaminostříbrného komplexu pomocí maltózy v alkalickém prostředí. Reakce probíhá dle níže napsané chemické rovnice:



Pro přípravu maltozového koloidu je důležité znát přesné koncentrace látek. Ty určíme titrací roztoku **NaOH** a **NH₃** pomocí **0,1 M** kyseliny chlorovodíkové. Bod ekvivalence při titraci stanovíme pomocí barevného indikátoru fenolftaleinu, který je v alkalickém prostředí fialový a v kyselém bezbarvý. Podle koncentrace **NaOH** a **NH₃** odměříme správné objemy roztoků těchto sloučenin použitých při přípravě koloidu. Nejdříve navážíme **17 mg AgNO₃** a rozpustíme ve **25 ml** destilované vody. Potom v odměrné baňce odměříme **5,155 ml** roztoku **0,097 M NH₃** a doplníme **25 ml** destilované vody. V druhé odměrné baňce připravíme **25 ml** roztoku **0,192 M NaOH**. V třetí odměrné baňce rozmícháme **0,3769 g** maltózy ve **25 ml** destilované vody. Na magnetickou míchačku dáme do Erlenmayerovy baňky roztok **AgNO₃**. Za stálého míchání přidáme roztok **NH₃** a necháme přibližně další dvě minuty míchat, aby se v celém roztoku vytvořil komplex.

Potom přidáme roztok **NaOH** a v zápětí po něm roztok maltózy. Po přidání maltózy začne roztok žloutnout až do žluto-hnědé barvy. Vzniklý koloid necháme ještě 10 minut míchat. Hotový maltózový koloid uložíme do tmy. Vzorek koloidu jsme označily jako **M1**.

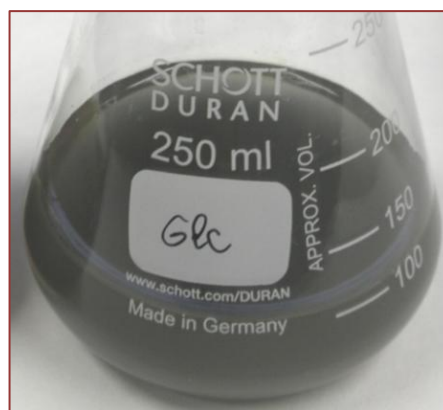
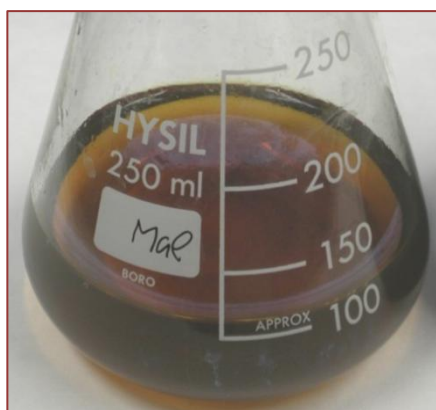
Finální koncentrace **M1** koloidu jsou (ve **100 ml**):

$$1 \cdot 10^{-3} M \text{ AgNO}_3$$

$$5 \cdot 10^{-3} M \text{ NH}_3$$

$$4,925 \cdot 10^{-2} M \text{ NaOH (pH 12,69)}$$

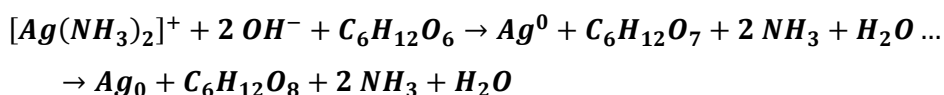
$$1,1 \cdot 10^{-2} M \text{ maltóza}$$



Obrázek 7: Připravený stříbrný maltózový koloid vlevo a stříbrný glukózový koloid vpravo

2. 1.3 Stříbrný glukózový koloid

Glukózový koloid připravíme opět redukcí diaminostříbrného komplexu, avšak využijeme redukčních účinků glukózy. Reakce probíhá dle níže uvedené chemické rovnice.



Postup přípravy glukózového koloidu je velmi podobný přípravě maltozového koloidu. Připravíme roztok **17 mg AgNO₃** ve **25 ml** destilované vody. Dále v odměrné baňce smícháme **5,155 ml 0,097 M** roztoku **NH₃** s destilovanou vodou, tak aby výsledně vzniklo **25 ml**. V další odměrné baňce připravíme **25 ml 0,192 M** roztoku **NaOH**.

Ve čtvrté odměrné baňce rozpustíme **0,1982 g** glukózy v **25 ml** destilované vody. Samotný postup přípravy glukózového koloidu je totožný s přípravou maltozového koloidu uvedenou v předchozí kapitole. Po přidání glukózy vznikne koloid „našedlé“ barvy. Ten necháme ještě 10 minut míchat. Hotový glukózový koloid uložíme do tmy. Vzorek koloidu jsme označily jako **G1**.

Finální koncentrace **G1** koloidu (ve **100 ml**):

$$1 \cdot 10^{-3} M AgNO_3$$

$$5 \cdot 10^{-3} M NH_3$$

$$4,925 \cdot 10^{-2} M NaOH (pH 12,69)$$

$$1,1 \cdot 10^{-2} M glukóza$$

2.2 Měření absorpčních spekter v ultrafialové a viditelné oblasti (UV-Vis. spektroskopie)

Měření proběhlo na Katedře fyzikální chemie na přístroji SPECORD firmy ANALYTIC JENA.

Nejdříve byla měřicí kyveta naplněna 1 ml měřeného koloidu. Bylo spuštěno měření. Po změření asi tří spekter byla do vzorku přidána určitá předem definovaná koncentrace aminokyseliny. Grafy byly snímány každou sekundu po dobu přibližně dvě stě sekund. Pomocí těchto grafů byla při měření zaznamenána kinetika celé probíhající reakce.

2.3 Měření dynamického rozptylu světla (DLS) a zeta potenciálu

Série měření proběhla na Katedře fyzikální chemie na přístroji ZETASIZER NANO, který vyrobila firma MALVERN.



Obrázek 8: ZETASIZER NANO od firmy Malvern

Pro měření dynamického rozptylu světla si připravíme do plastové cely asi 1 ml zkoumaného vzorku a vložíme ho do přístroje, ve kterém proběhne samotné měření. Přístroj změří **Brownův pohyb** a dá jej do vztahu s velikostí částic. Výsledkem měření jsou grafy distribuce velikosti částic v měřeném koloidu. Každý z grafů ukazuje distribuci velikosti částic, podle jednoho ze tří parametrů: intenzita, počet částic, objem částic. Výsledky získané podle každého ze tří parametrů se mohou vzájemně lišit. Je to dáno tím, že přístroj měří fluktuace intenzity, zatímco distribuce velikostí částic podle počtu a objemu částic dopočítává na základě zadaných vlastností o viskozitě rozpouštědla,

materiálu částic atd. Podle Rayleigho aproximace je intenzita rozptylu na větších částicích větší než na menších (platí závislost: $I \sim r^6$). Z tohoto důvodu je při uvažování intenzitního parametru přeceňován příspěvek větších částic. Obdobně, při posouzení distribuce velikostí částic podle jejich objemu bude výsledná distribuce silně ovlivněna aproximací, že se jedná o kulovité částice, a dále tím, že jistý počet větších částic má daleko větší objem než stejný počet malých částic. Distribuce velikostí částic podle jejich počtu bude přeceněna pro nejvíce početně zastoupené částice. Z výše uvedeného je zřejmé, že pro důslednou charakterizaci vzorku je správné znát všechny tři typy distribucí velikostí částic, z nichž je přístrojově spočítána průměrná velikost částic.

Na měření zeta potenciálu využíváme měřící celu s elektrodami, kterou zcela zaplníme měřeným vzorkem (stačí **700 μL**) a správným způsobem umístíme do měřícího prostoru přístroje, kde proběhne měření. Výsledkem měření je tabulka s hodnotami zeta potenciálu pro měřený vzorek.

2.4 Měření na transmisním elektronovém mikroskopu (TEM)

Měření na TEM proběhlo ve fakultní nemocnici Olomouc. Samotné měření provedla Mgr. Klára Šafářová Ph.D.



Parametry transmisního elektronového mikroskopu	
Bodové rozlišení:	0.194 nm
Urychlovací napětí:	80–200 kV
Zvětšení:	50–1,500,000 x
Zdroj elektronů:	LaB ₆
Rok výroby:	2005

Obrázek 9: Vzhled a parametry použitého transmisního elektronového mikroskopu

Vzorky byly dopředu připraveny na podložní **Cu** sítky a ponechány k vyschnutí (dehydrataci) při pokojové teplotě. Aby nedošlo k propadnutí vyschlého vzorku sítkou, musíme použít sítku potaženou folií. Pro naše vzorky koloidů byly použity podložní sítky s již napařenou uhlíkovou fólií. Výsledkem

měření na transmisním elektronovém mikroskopu jsou digitální snímky zobrazující mikrostrukturu v měřených vzorcích.

2.5 Měření SERS

Měření povrchově zesílených Ramanových spekter probíhalo v laboratoři na Katedře fyzikální chemie, na přístroji DXR Raman microscope firmy THERMO SCIENTIFIC využívajícím laser o vlnové délce **633 nm**. Do koloidních roztoků stříbra bylo přidáno definované množství glutaminu nebo kyseliny glutamové. Po přidání aminokyseliny do koloidu se vzorek nechal po dobu několika minut stabilizovat. Po stabilizaci vzorků začalo samotné měření. Do skleněné měřicí kyvety dáme asi 1 ml vzorku a kyvetu umístíme do měřicího prostoru. Před samotným měřením je nutné správně zaostřit, nejlépe do středu měřicí kyvety, aby měření neproběhlo pouze na stěně měřicí kyvety, ale opravdu z roztoku uvnitř. Ke správnému zaostření využijeme optického mikroskopu a objektivu se čtyřnásobným zvětšením, zabudovaného do přístroje. Po zaostření nastavíme parametry měření: maximální výkon laseru (8 mW), difrakční mřížka 1200 čar/mm, spektrální rozlišení 3 cm^{-1} , $50 \mu\text{m}$ štěrba, 1 s expoziční čas, 100 expozic, $39\text{-}1991 \text{ cm}^{-1}$ rozsah měření, využití „smart background“; a začneme měřit.

Výsledkem měření jsou získaná SERS spektra (tj. závislost intenzity na Ramanově posunu), která je nutné pečlivě zpracovat a vyhodnotit.

2.6 Měření IČ

Měření infračervených spekter probíhalo v laboratoři na Katedře fyzikální chemie, na přístroji od firmy THERMO SCIENTIFIC, za využití zeslabeného úplného odrazu (ATR, z anglického attenuated total reflection). Do koloidních roztoků stříbra bylo přidáno definované množství glutaminu nebo kyseliny glutamové. Po přidání aminokyseliny do koloidu se vzorek nechal po dobu několika minut stabilizovat. Po stabilizaci nakápneme pomocí pipety malou kapku vzorku na měřicí ZnSe krystal. Před samotným měřením je nutné nechat vzorek na měřicím krystalu dokonale vyschnout. Vzorek vysychá minimálně dvacet minut při pokojové teplotě, z toho důvodu je celé měření dosti časově náročné. Po dobrém odeschnutí vzorku můžeme začít měřit.

Výsledkem měření je pásové infračervené spektrum měřené látky, které je pro tuto látku charakteristické. Toto spektrum graficky zobrazuje závislost energie na vlnové délce dopadajícího záření. Vyjádřené je podle mezinárodní všeobecně uznávané dohody v propustnosti neboli transmitanci **T**.

3 Výsledková část

Pro zkoumání interakce kyseliny glutamové a glutaminu s připravenými koloidními roztoky, bylo nezbytné nejprve všechny připravené koloidní roztoky charakterizovat. Z toho důvodu ve výsledkové části bude první kapitola věnována charakterizaci příslušného koloidu, a pak bude následovat kapitola shrnující interakci příslušného koloidu s aminokyselinami.

3.1 Borohydridový koloid (AgBh)

3.1.1. Charakterizace borohydridového koloidu

Jak je dobře známo, velikost nanočástic v koloidním roztoku výrazně ovlivňuje jeho vlastnosti. K určení velikosti částic, námi připravených vzorků byla využita metoda dynamického rozptylu světla (DLS).

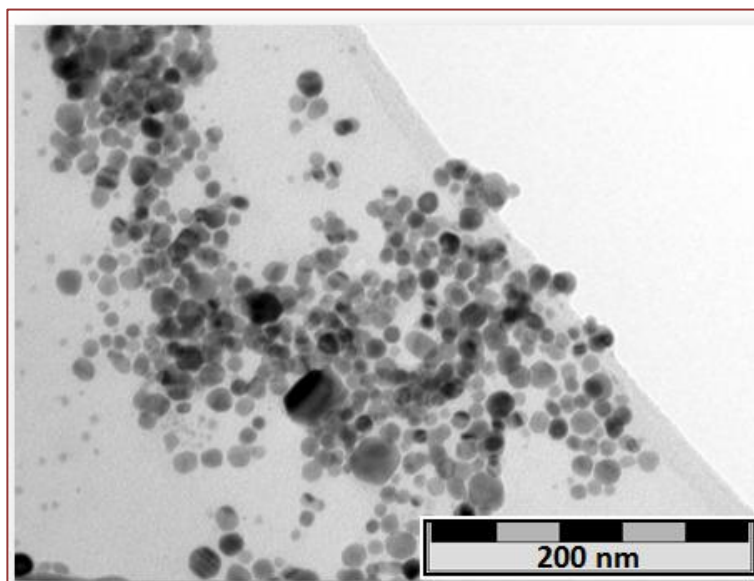
Koloid	Distribuce velikosti částic			Průměrná velikost /nm
	Intenzita /nm	Počet /nm	Objem /nm	
AgBh	64 (79%)	2 (100%)	10 (9%)	32,5
	10 (16%)		2 (91%)	

Tabulka 1: Distribuce velikosti částic borohydridového koloidu podle měření DLS

Výsledkem měření jsou grafy distribuce velikosti částic. Naměřené hodnoty jsou shrnuty v tabulce (č.:1). Z ní je patrné, že naměřené hodnoty se značně liší, protože při měření je vždy jeden z parametrů upřednostňován jako hlavní parametr (počet částic, intenzita nebo objem). Právě z důvodu nejednoznačnosti výsledků byla velikost **AgBh** nanočástic v koloidním roztoku vypočtena jako průměr těchto třech hodnot-přibližně **33 nm**. Výsledek byl ověřen pomocí snímků z transmisního elektronového mikroskopu.

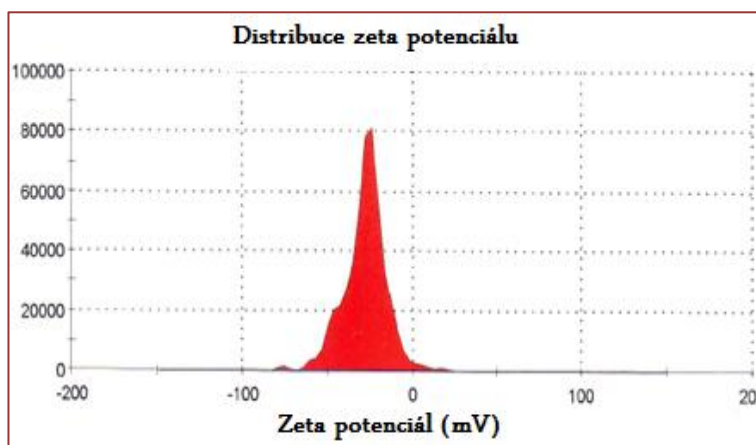
Na pořízeném TEM snímku (obrázek č.: 10) můžeme vidět, že vypočtená průměrná velikost **AgBh** nanočástic přibližně odpovídá jejich skutečné velikosti. Případný rozdíl mezi průměrnou velikostí částic měřenou metodou DLS a TEM je dán faktem, že v případě metody DLS měříme hydrodynamický poloměr, zatímco u TEM vidíme především stříbrnou část nanočástic. Protože oproti lehkým prvkům má stříbro větší kontrast. Větší objekty, které můžeme na snímku vidět jsou pravděpodobně shluky částic, které vznikly při přípravě vzorku k měření (vzorek byl nakápnut na uhlíkovou mřížku, a až po jeho uschnutí proběhlo samotné měření). Významným parametrem

ovlivňujícím stabilitu a též míru schopnosti interakce s jinými látkami je hodnota zeta potenciálu připraveného **AgBh** koloidu.



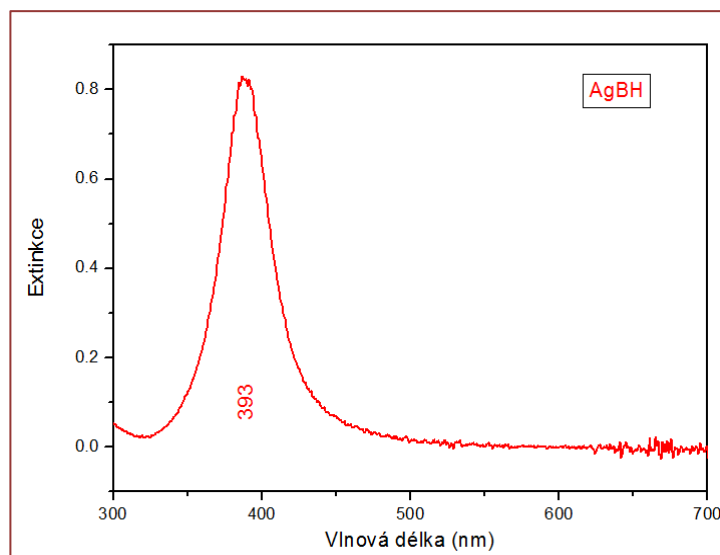
Obrázek 10: TEM snímek částic borohydridového koloidu

Z naměřeného grafu distribuce zeta potenciálu (obrázek č.: 11) je patrné, že jeho hodnota je záporná (přibližně $-27,4 \text{ mV} \pm 11 \text{ mV}$), což je důsledkem přípravy **AgBh** nanočástic a přítomností borátů na jejich povrchu.



Obrázek 11: Distribuce zeta potenciálu borohydridového koloidu

Dále bylo třeba změřit UV-Vis. spektrum **AgBh** koloidu, které můžeme vidět na obrázku č.: 12. Z literatury je dnes již dobře známo, že stříbrné koloidní nanočástice mají extinkční pásy ve viditelné oblasti v našem případě někde okolo **380 – 440 nm**, a proto jsou většinou zbarveny do odstínů žluté barvy. Po změření extinkčního spektra (obrázek č.: 12) připraveného **AgBh** koloidu se toto očekávání potvrdilo, tento koloid má maximum extinkce u **393 nm**.



Obrázek 12: UV-Vis. spektrum borohydridového koloidu

3.1.2 Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (U) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis. spekter

Po dokončení základní charakterizace AgBh koloidu, se začalo měřit, do jaké míry ovlivní přidání různých koncentrací kyseliny glutamové jeho původní vlastnosti.

Nejdříve jsme pomocí metody DLS ověřili, zda přidání aminokyseliny ovlivní velikost a agregační stav částic. Výsledky měření jsou shrnuty v tabulce č. 2. Můžeme z ní vypočítat, že k obrovskému nárůstu průměrné velikosti částic dochází překvapivě po přidání velmi malého množství kyseliny glutamové (původní velikost AgBh částic = **33 nm**) a naopak po přidání většího množství aminokyseliny (U) (tím je její finální koncentrace vyšší) dojde k mnohem menší změně velikosti částic.

Koloid + kyselina glutamová	Distribuce velikosti			Průměrná velikost /nm
	Intenzita /nm	Počet /nm	Objem /nm	
AgBh+2 μ l	1758 (100%)	624 (100%)	2552 (100%)	1070
AgBh+20 μ l	511 (100%)	154 (100%)	767 (100%)	305
AgBh+200 μ l	118 (100%)	14 (100%)	23 (100%)	64

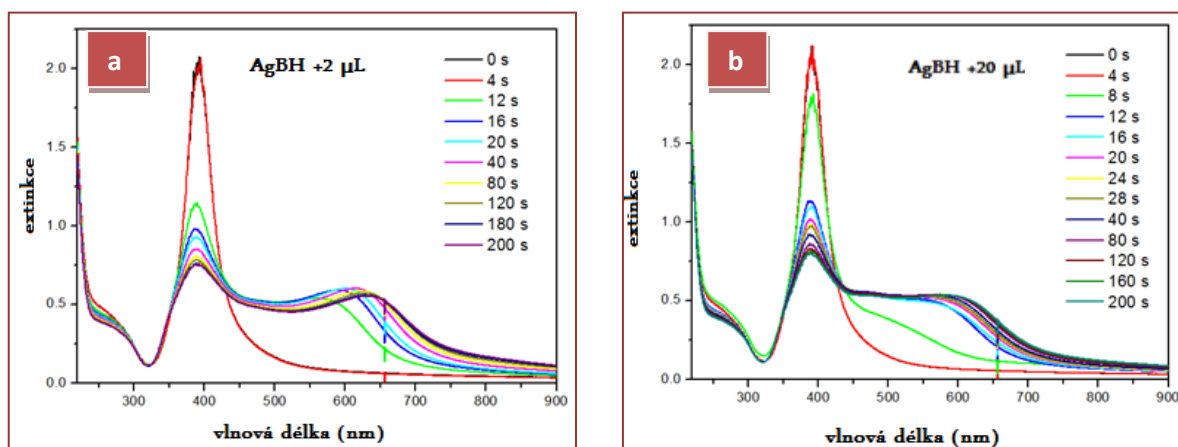
Tabulka 2: Distribuce velikosti částic AgBh koloidu s přídavkem U podle měření DLS

Vyhodnotili jsme jednotlivá měření zeta potenciálu a shrnuli je v tabulce (č.: 3). Z naměřených hodnot vidíme změnu zeta potenciálu způsobenou přidáním různých koncentrací kyseliny glutamové. Můžeme jednoznačně vidět, že přidání aminokyseliny (U) způsobí změnu zeta potenciálu ze záporného na kladný (tabulka č.: 3). Jak již bylo zmíněno, čím větší je absolutní hodnota zeta potenciálu, tím stabilnější je koloidní roztok nanočástic. Takže zatímco samotné **AgBh** částice jsou v roztoku stabilní, tak přidáním nejmenšího objemu kyseliny glutamové (**2 μ L**) vede k agregaci těchto částic, hodnota zeta potenciálu se pohybuje okolo nuly mV. Zvyšováním objemu přidávané kyseliny glutamové se hodnota zeta potenciálu zvyšuje, a proto je agregace částic potlačena vlivem elektrostatického odpuzování.

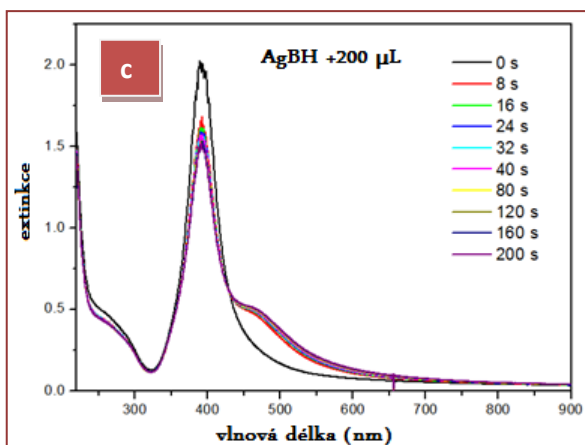
Koloid + kyselina glutamová	Zeta potenciál			
	0 μ L	2 μ L	20 μ L	200 μ L
AgBh	-27,4 (99%)	+0,2 (100%)	+16,3 (100%)	+16,4 (96%) +32 (3%)

Tabulka 3: Zeta potenciál částic AgBh koloidu s přidavkem U

Agregace **Ag** nanočástic se projeví i v extinkčním spektru. Výsledky měření můžeme vidět na obrázcích (č.: 12 a,b,c:) pro kyselinu glutamovou a její tři zvolené finální koncentrace. Na obrázcích můžeme sledovat kinetiku jednotlivých reakcí. Změna extinkce nastává po několika sekundách. Po uplynutí přibližně 200 s je již reakce ukončena a k dalším změnám v extinkci nedochází.



Obrázek 13 : Grafy UV-Vis. spekter AgBh koloidů v závislosti na přidávaném množství kyseliny glutamové (a 2 μ L, b 20 μ L, c 200 μ L)



Na obrázku č.: 13 a vidíme, že i malá koncentrace přidané aminokyseliny ovlivní extinkci vzorku. Vidíme vznik druhého výrazného pásu okolo hodnoty **600nm – 650nm**. Pokud se koncentrace přidané aminokyseliny (**U**) zvýší, není už druhý extinkční pás tak výrazný a pohybuje se kolem hodnoty **600nm – 630nm**, což lze vidět na obrázku č.: 13 b. Další zvýšení koncentrace kyseliny glutamové ukazuje, že opět vznikl druhý nevýrazný pás, tentokrát okolo hodnoty **450 nm – 500 nm**, což vidíme na obrázku č.: 13 c. Naměřená extinkční spektra korelují s výsledky z DLS a měření zeta potenciálu. Je z nich dobře patrná zvýšená agregace, a tudíž destabilizace **Ag** nanočástic již při přidání **2 µL** kyseliny glutamové k **1 ml AgBh** koloidu. Naopak při zvýšení přídavku kyseliny glutamové (**20 µL a 200 µL**) dochází k postupnému zastabilizování **Ag** nanočástic kyselinou glutamovou.

3.1.3 Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s glutaminem (N)

Při zkoumání interakce glutaminu (N) s AgBh koloidem jsme se nejdříve pozorovali, jak přidání této aminokyseliny ovlivní původní průměrnou velikost částic.

Koloid + glutamin	Distribuce velikosti			Průměrná velikost /nm
	Intenzita /nm	Počet /nm	Objem /nm	
AgBh +2 µl	67 (82%) 6 (16%)	3,5 (100%)	4,3 (99%) 32 (1%)	29,9
AgBh +20 µl	503 (98,5%)	382(100%)	610 (82%) 5448(18%)	392,4
AgBh +200 µl	455 (94%) 73 (4%) 5174 (2%)	54 (96%) 305 (4%)	359 (66%) 65 (6%) 5283(28%)	358,9

Tabulka 4: Zeta potenciál částic AgBh koloidů s přídavkem N

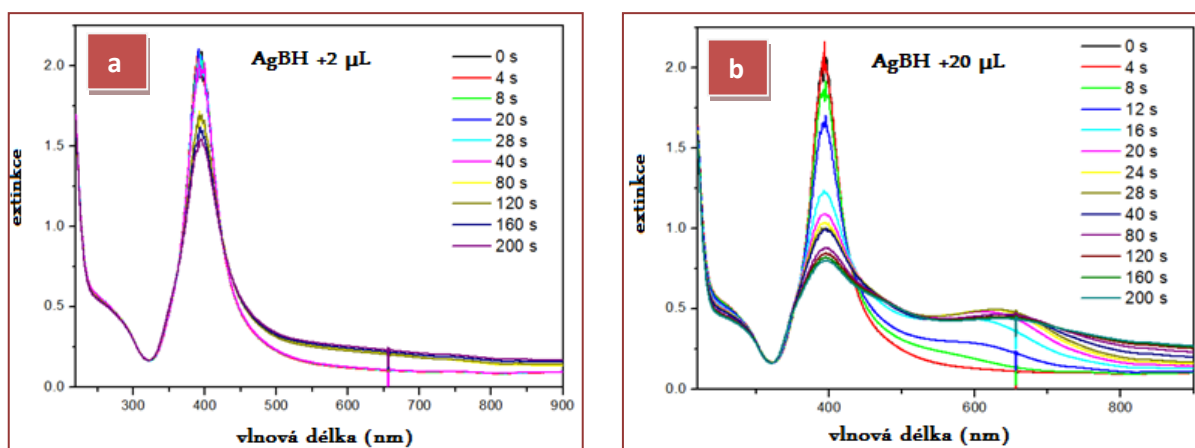
Výsledky měření jsou shrnuty v tabulce č.: 4. Hodnoty v ní uvedené ukazují, že přidání malého množství glutaminu v podstatě původní průměrnou velikost neovlivní (viz. tabulka č.: 4). Je patrné, že od určité hodnoty koncentrace glutaminu (**N**) to přestává platit a průměrná velikost se začíná výrazněji měnit. Pokud se koncentrace glutaminu (**N**) ještě zvýší, k další výrazné změně velikosti již nedochází.

Vyhodnotili jsme jednotlivá měření zeta potenciálu po přidání různých koncentrací glutaminu a výsledky shrnuli v tabulce č.: 5. Vidíme, že i po přidání aminokyseliny (**N**) zůstává hodnota zeta potenciálu záporná. Výsledky také ukazují, že při nejmenší koncentraci přidané aminokyseliny (**N**), zůstává hodnota zeta potenciálu blízká hodnotě naměřené u samotného koloidu.

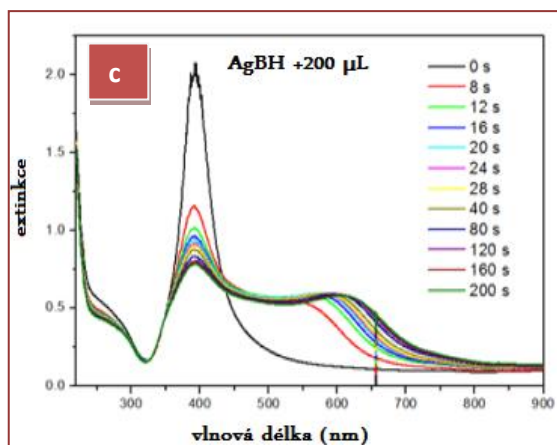
Koloid+ glutamin	Zeta potenciál			
	0 μL	2 μL	20 μL	200 μL
AgBh	-27,4 (99%)	-23,4 (100%)	-17,5 (100%)	-16,1 (100%)

Tabulka 5: Zeta potenciál částic AgBh koloidu s přidavkem N

Přidání glutaminu do koloidu AgBh okamžitě ovlivňuje extinkci výsledného roztoku, jak jsme ověřili měření na UV-Vis. Výsledky měření můžeme vidět na obrázcích č.: 14 a, b, c. Sledovali jsme jak se extinkce mění již po několika sekundách po přidání aminokyseliny **N**. Na obrázcích můžeme sledovat kinetiku jednotlivých reakcí. Po uplynutí přibližně 200 s je již reakce ukončena a k dalším změnám v extinkci nedochází.



Obrázek 14: Grafy UV-Vis. spekter AgBh koloidů v závislosti na přidaném množství glutaminu (a 2 μL , b 20 μL , c 200 μL)

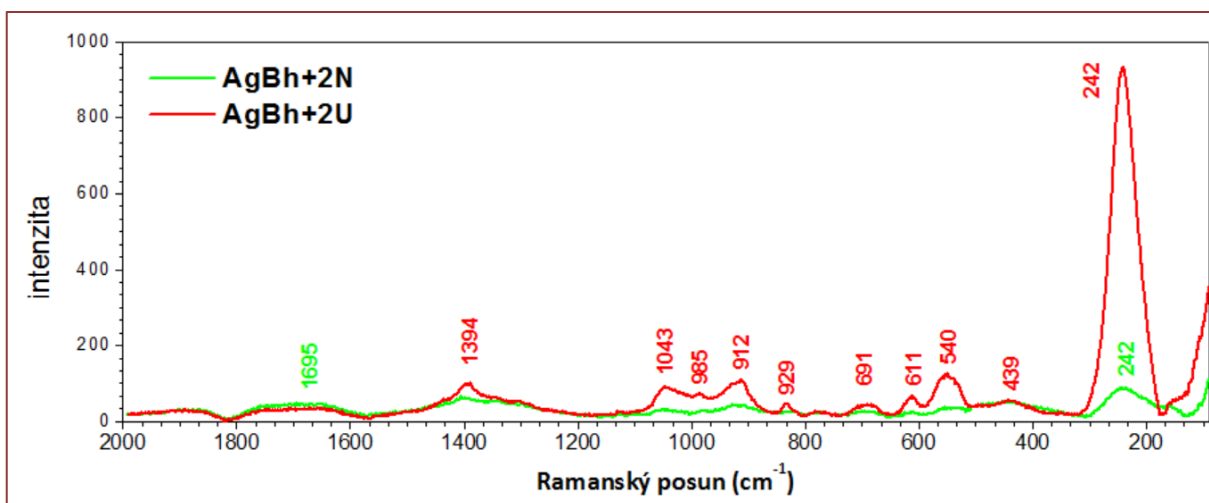


Na obrázku č.: 14 a vidíme, že malá koncentrace přidané aminokyseliny neovlivňuje extinkci vzorku. Vidíme pouze pás, který byl charakteristický i pro samotný borohydridový koloid. Pokud se koncentrace přidané aminokyseliny (**N**) zvýší, dojde ke vzniku vedlejšího extinkčního pásu okolo hodnoty **600 nm – 650 nm**, což lze vidět na obrázku č.: 14 b. Další zvýšení koncentrace glutaminu ukazuje obrázek č.: 14 c, kde opět vidíme vznik vedlejšího extinkčního pásu okolo hodnoty **600 nm – 640 nm**. Podobně jako u kyseliny glutamové, platí i pro glutamin, že naměřené výsledky DSL, měření zeta potenciálu i UV-Vis. spekter jsou ve vzájemné korelaci.

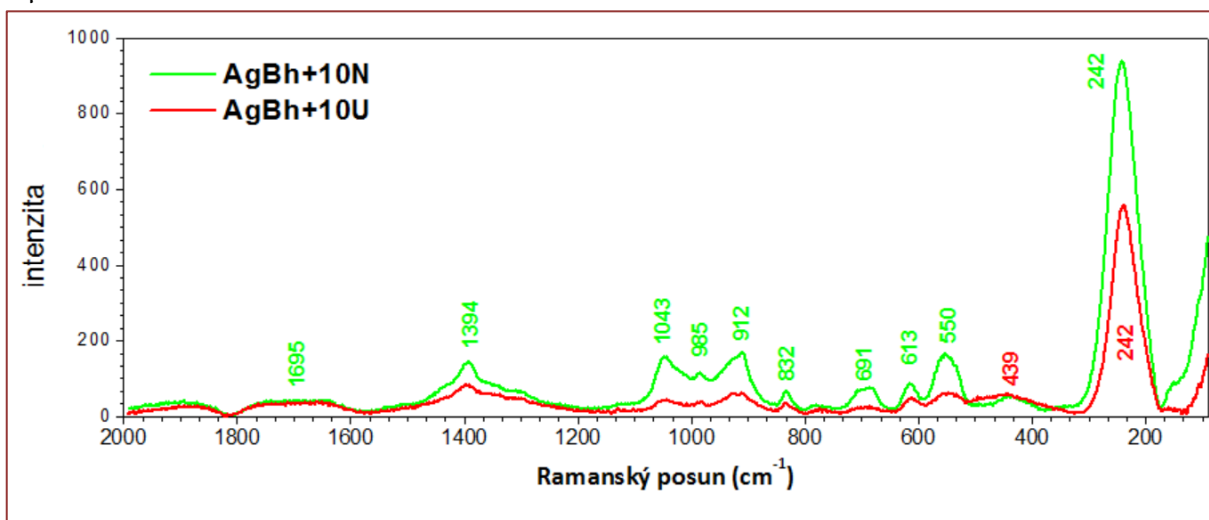
3.1.4 Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s aminokyselinami studovaná pomocí SERS

Naměřená SERS spektra byla zpracována do obrázků, tak aby na jednom obrázku byla spektra pro stejnou koncentraci od obou dvou zkoumaných aminokyselin (kyseliny glutamové i glutaminu). Záměrně zde uvádíme toto srovnání SERS spekter a diskutujeme intenzitu SERS signálu s ohledem na projevy jednotlivých vzorků při měření UV-Vis., jak je ukázáno v předchozích dvou kapitolách. Za předpokladu, že obě zkoumané látky mají zhruba stejný účinný průřez Ramanova rozptylu, což pro tyto dvě aminokyseliny lišící se pouze v jedné skupině platí, lze tak jednoznačně dokumentovat vliv elekeromagnetického zesílení SERS při zvolené extinkční vlnové délce laseru. V tomto případě **633 nm**.

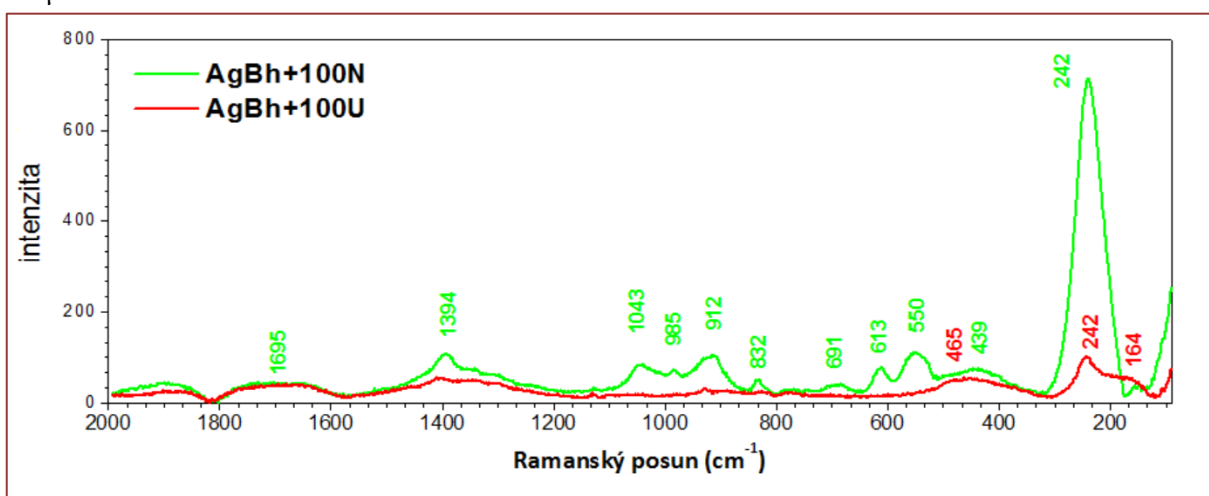
Nejnižší zkoumaná koncentrace byla **2 µl U nebo N**, (výsledek měření je na obrázku č.: 15). Lze vidět, že při této malé koncentraci je naměřené spektrum pro **U** velice kvalitní, což je způsobeno tím, že SERS měření proběhlo v rezonanci s agregovanou částí vzorku (což potvrzuje měření UV-Vis. spekter, (obrázek č.: 13 a)). Agregace **Ag** nanočástic nastala účinkem kyseliny glutamové, proto agregované nanočástice musí na svém povrchu nést kyselinu glutamovou. V případě glutaminu se nacházíme mimo rezonanci, k agregaci nedošlo (obrázek č. 16) a proto nepozorujeme tak výrazné SERS spektrum.



Obrázek 15: Srovnání grafů SERS spekter kyseliny glutamové a glutaminu při hodnotách 2 μl *U* nebo *N*



Obrázek 16: Srovnání grafů SERS spekter kyseliny glutamové a glutaminu při hodnotách 10 μl *U* nebo *N*



Obrázek 17: Srovnání grafů SERS spekter kyseliny glutamové a glutaminu při hodnotách 100 μl *U* nebo *N*

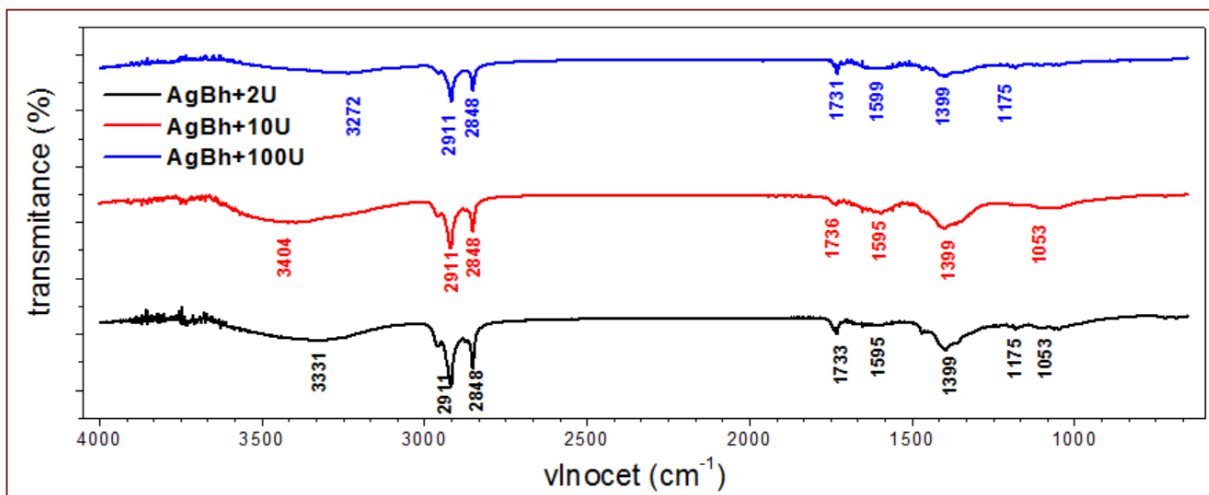
Na obrázku č.: 17 se SERS spektra lze vidět, že vzorek s kyselinou glutamovou je stále v rezonanci, nicméně do rezonance se dostává i vzorek s glutaminem a jeho SERS signál opět roste. Toto zjištění je opět v souladu s grafy měření UV-Vis. spekter (obrázek č.: 13 b pro kyselinu glutamovou a obrázek č.: 14 b pro glutamin). Na obrázku č.: 17 můžeme vidět SERS spektra pro vysokou koncentraci kyseliny glutamové a glutaminu. Z červeného spektra, patřícímu **AgBh** s kyselinou glutamovou (**U**), je patrné, že vzorek již není v rezonanci tak dobře, jako tomu bylo u předchozích dvou koncentrací (což nám potvrzuje i graf z UV-Vis. měření na obrázku č.:13 c). Naopak vzorek s glutaminem se dostává do rezonance, jak potvrzuje UV-Vis. spektrum (obrázek č.: 14 c). Jeho SERS signál je daleko intenzivnější než SERS signál vzorku s kyselinou glutamovou (**U**).

Nyní se zaměříme na význam jednotlivých pásů, které můžeme v naměřených SERS spektrech vidět. Spektru vždy dominuje pás u nízkých hodnot Ramanova posunu, tj. pás se středem mezi **238 – 245 cm^{-1}** . S největší pravděpodobností tento pás přísluší vazbě **Ag – N**, což usuzujeme z dostupné literatury k interpretaci SERS spekter na **Ag** nanočásticích.^[20] V některých případech (především u **AgBh 2N**, **AgBh 100U**) vidíme, že pás u nízkých hodnot Ramanova posunu je značně nesymetrický (směrem k nižším hodnotám Ramanova posunu), nejspíše obsahuje i pás se středem u **~230 cm^{-1}** , který odpovídá vazbě **Ag – OOC** ^[21, 38]. Méně výrazné pásy u hodnot **~1390, ~1045, ~984, ~833, ~686, ~610 a ~550 cm^{-1}** přisuzujeme jednak borátům a polyborátům přítomným na **Ag** nanočásticích **AgBh** koloidu, jednak dusičnanu anionu, dále pak valenčním a deformačním vibracím vazeb **CC, CCC, CCH, OCO, CNH, C – COO** v aminokyselinách ^[19, 21].

3.1.5 Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s kyselinou glutamovou studovaná pomocí IČ absorpce

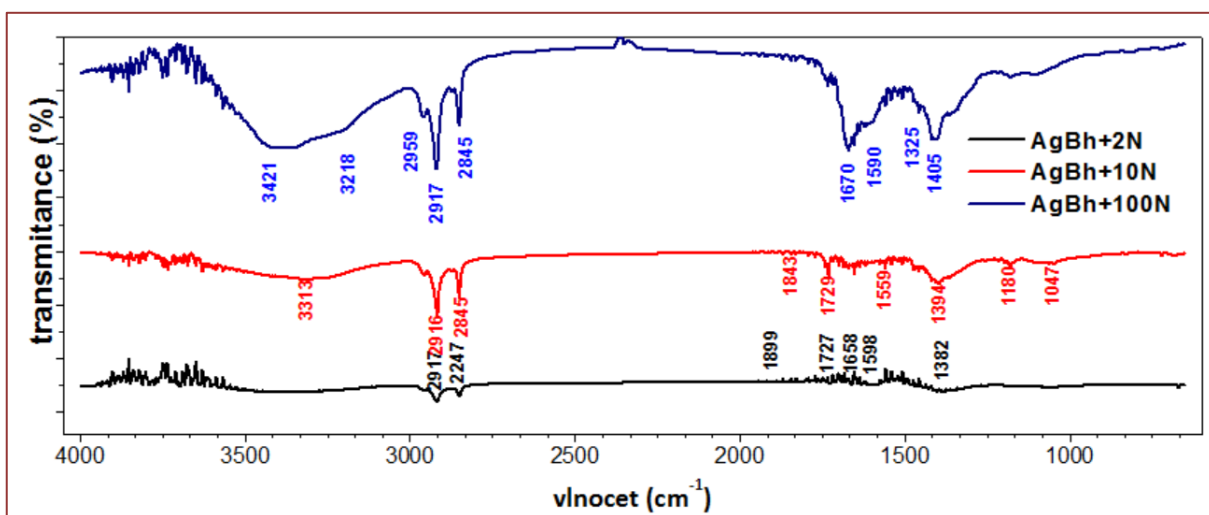
Posledním typem měření pomocí něhož byly zkoumány připravené vzorky je měření infračervených spekter. Na obrázku č.: 18 vidíme IČ absorpční spektra pro všechny koncentrace přidané kyseliny glutamové (**U**) v interakci s **AgBh** koloidem. Je patrné, že spektra obsahují jak charakteristické vibrace **CH, OH, NH** v oblasti nad **2800 cm^{-1}** , tak valenční a deformační vibrace příslušející vazbám v aminokyselině, borátům, polyborátům a dusičnanu anionu v oblasti "otisku prstu" ^[15, 20]. Především pás v okolí **1730 cm^{-1}** odpovídající charakteristické vibraci **R – (C = O) – OH [15]** je pro nás vodítkem, že pracujeme s částečně volnou, tj. nedisociovanou karboxylovou skupinou. Relativní intenzita tohoto pásu vůči intenzitám pásů u hodnot **~1600 a ~1400 cm^{-1}** , které odpovídají karboxylovému anionu **RCOO**, nám napovídá o míře disociace. Evidentně čím větší je koncentrace kyseliny glutamové ve výsledném vzorku, tím více je

v příslušném vzorku volných karboxylových skupin a méně aminokyseliny přítomné v disociovaném stavu. Je nutné připomenout, že IČ absorpční spektra byla měřena až po odeschnutí vzorku. Takže míra disociace karboxylové skupiny odpovídá přítomnosti aminokyseliny ve stavu soli, aneb ve vázaném stavu na kation, kterým může být i Ag^+ z povrchu stříbrné nanočástice.



Obrázek 18: IČ absorpce interakce AgBh s kyselinou glutamovou

3.1.6 Borohydridový koloid (AgBh) a jeho interakce s glutaminem studovaná pomocí IČ absorpce



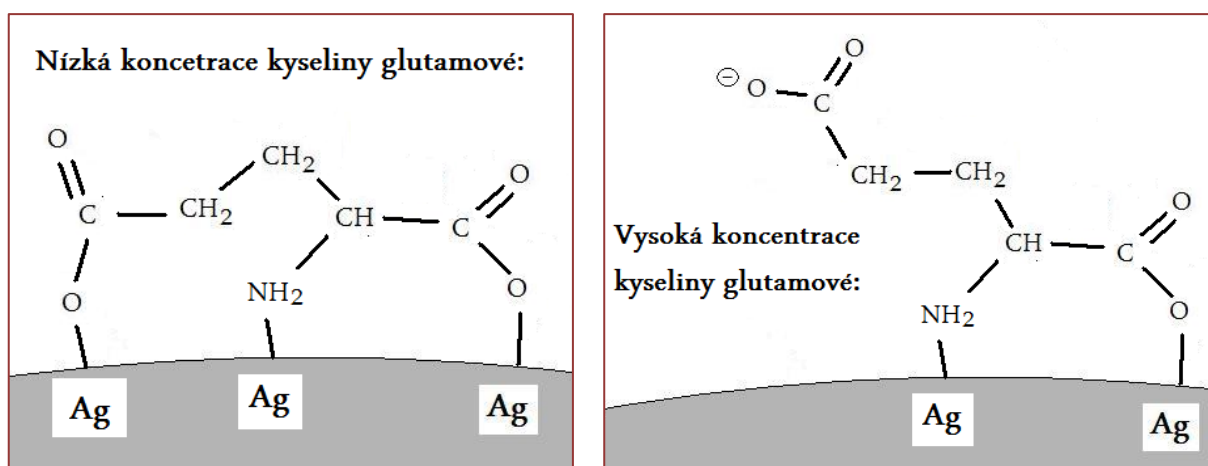
Obrázek 19: IČ absorpce interakce AgBh s glutaminem

Obdobně jako pro kyselinu glutamovou jsme změřili IČ absorpční spektra pro glutamin interagující s *AgBh* koloidem. Výsledná IČ spektra můžeme vidět na obrázku č.: 19. Přiřazení jednotlivých pásů je velice podobné jako u kyseliny glutamové s jediným rozdílem NH_2 –: skupina vázaná přímo na karbonylovou skupinu, tak se tedy $NH_2 - (C = O) - R$, se projevuje vibračními pásy v okolí hodnoty

$\sim 1670 \text{ cm}^{-1}$. Z obrázku č.: 19 je zřejmé, že s rostoucí koncentrací glutaminu (N) ve výsledném roztoku, roste relativní intenzita tohoto pásu.

3.1.7 Vazba kyseliny glutamové na povrch stříbrné nanočástice AgBh

Po vyhodnocení všech výsledků diskutovaných v předcházejících kapitolách (kapitola 3.1.2, 3.1.4 a 3.1.5) jsme dospěli k závěru, že při nízkých koncentracích kyseliny glutamové dochází k navázání aminokyseliny na povrch nanočástice, tak jak je uvedeno na obrázku č.: 20.



Obrázek 20: Schéma vazeb kyseliny glutamové na povrch stříbrné nanočástice AgBh při různých koncentracích

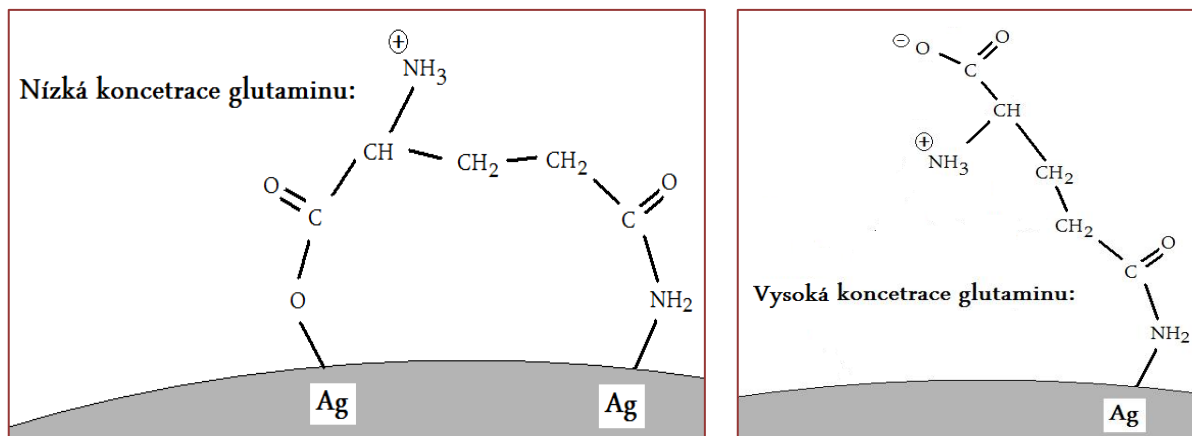
Zatímco při velké koncentraci kyseliny glutamové dochází k navázání aminokyseliny na povrch nanočástice, tak jak je uvedeno na obrázku č.: 20 vlevo. Při středních koncentracích přidávané kyseliny glutamové probíhá navázání na povrch stříbrné nanočástice nejspíše oběma způsoby současně v závislosti na sterických podmínkách na povrchu nanočástic. Uspořádání kyseliny glutamové na povrchu nanočástic AgBh koloidu odvozují z následujících indicií:

- a) se zvyšující se koncentrací kyseliny glutamové přestává docházet k agregaci vzorku (dle UV-Vis. spekter a zmenšujících se změn velikosti částic určených metodou DLS),
- b) stále markantněji se začíná projevovat kladný zeta potenciál vzorku,
- c) průkazně (dle SERS měření) existuje $\text{Ag} - \text{N}$ a $\text{Ag} - \text{OOC}$ vazba (druhá se projevuje hlavně u nejvyšší koncentrace kyseliny glutamové),
- d) narůstá poměr volné versus disociované formy karboxylové skupiny.

3.1.8 Vazba glutaminu na povrch stříbrné nanočástice

AgBh

S uvážením všech výsledků týkajících se glutaminu interagujícího s *AgBh* koloidem (kapitola 3.1.3, 3.1.4 a 3.1.6) a s ohledem na znalost uspořádání kyseliny glutamové jsme dospěli k závěru, že při nízkých koncentracích glutaminu dochází k navázání aminokyseliny na povrch nanočástice tak, jak je uvedeno na obrázku č.: 21 vlevo.



Obrázek 21: Schéma vazeb glutaminu na povrch stříbrné nanočástice AgBh při různých koncentracích

Oproti tomu, při vysoké koncentraci glutaminu dochází k navázání aminokyseliny na povrch nanočástice nejspíše tak, jak je uvedeno na obrázku č.:21 vpravo. Při středních koncentracích přidaného glutaminu může jít o způsob navázání aminokyseliny oběma způsoby současně, podle sterických možností na povrchu *Ag* nanočástic.

3.2 Maltózový (M1) koloid

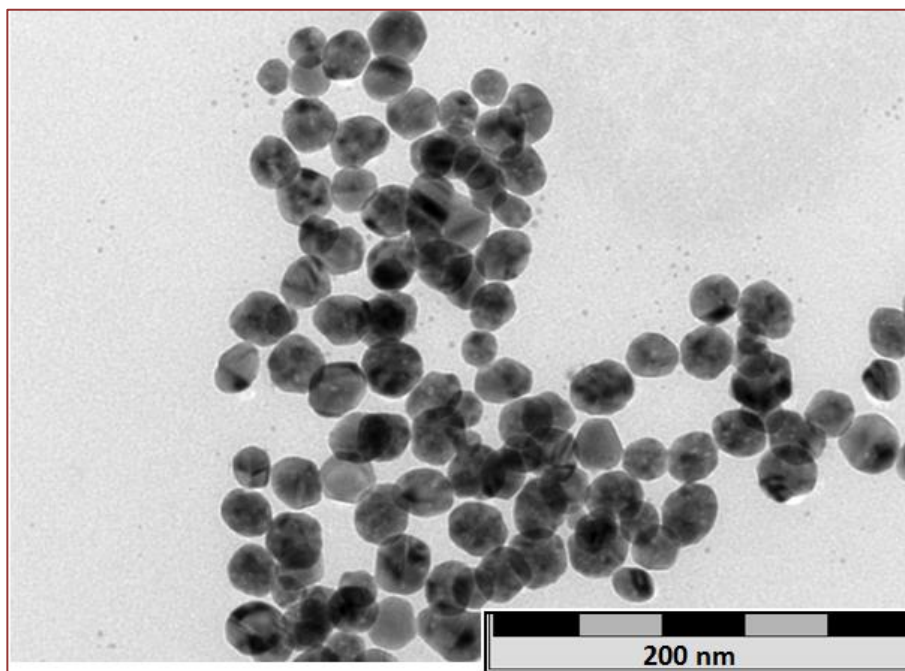
3.2.1 Charakterizace maltózového koloidu

Průměrná velikost připravených maltózových nanočástic, vyhodnocená z měření dynamického rozptylu světla, je přibližně 44 nm (tabulka.č.: 6).

Koloid	Distribuce velikosti			Průměrná velikost /nm
	Intenzita/nm	Počet/nm	Objem/nm	
M 1	56 (91%) 1690 (9%)	20 (100%)	28 (98%) 2568 (2%)	44, 2

Tabulka 6: Distribuce velikosti částic maltózového koloidu

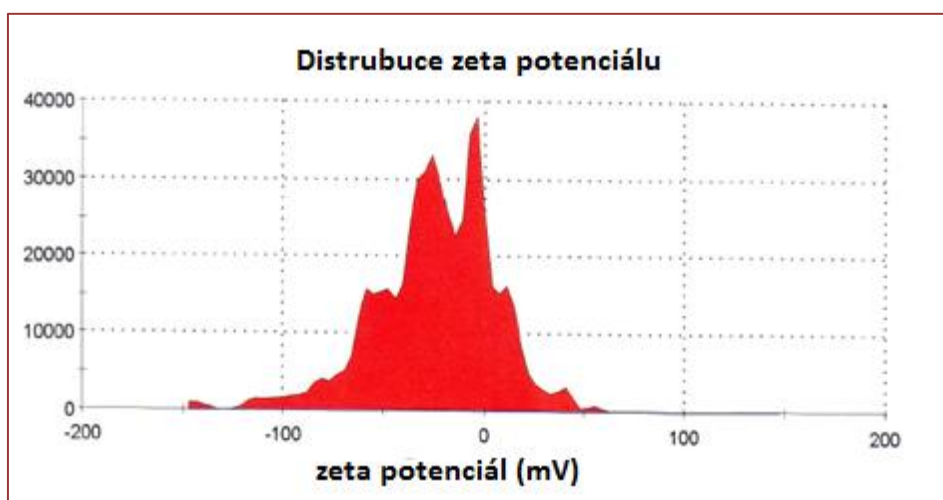
Hodnota byla ověřena pomocí snímků z transmisního elektronového mikroskopu, který můžeme vidět na obrázku č.: 22.



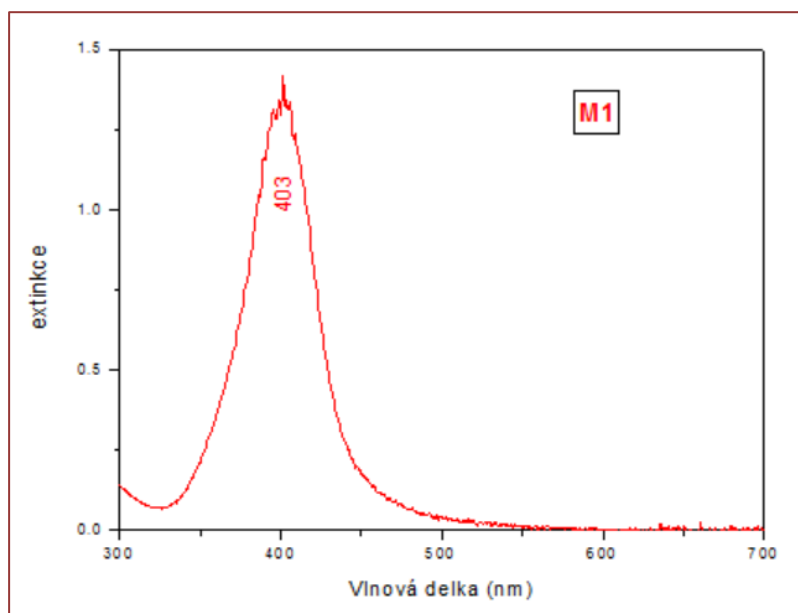
Obrázek 22: TEM snímek nanočástic maltózového koloidu

Významným parametrem ovlivňujícím míru schopnosti interakce s jinými látkami je hodnota zeta potenciálu připraveného maltózového koloidu (*M1*).

Z grafu distribuce zeta potenciálu (obrázek číslo 23) můžeme jasně vidět, že je zeta potenciál maltózového koloidu je z části záporný a z části kladný (přibližně $-28,1 \text{ mV}$ (35%), $-4,6$ (28%), $+15,1$ (10%)). Po přípravě koloidu zůstalo v roztoku mnoho reakčních zbytků a proto není tento koloid příliš vhodný ke zkoumání interakcí s další látkou.



Obrázek 23: Graf zeta potenciálu maltózového koloidu



Obrázek 24: Graf UV-Vis. spektra maltóзовého koloidu

Pomocí UV.-Vis. spektroskopie jsme ověřili optické vlastnosti maltóзовého koloidu. Naměřená hodnota extinkčního pásu *M1* koloidu je přibližně 403 nm (obrázek číslo 24), právě proto má námi připravený maltóзовý koloid lehce nažloutlou barvu.

3.2.2 Maltóзовý koloid (*M1*) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (*U*) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis. spekter

Přidáním různých objemů *U* o výchozí koncentraci $1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ do koloidu *M1* nedochází k žádným výrazným změnám průměrné velikosti nanočástic, jak jsme ověřili pomocí série měření shrnutých v tabulce č.: 7. Kromě *M1* koloidu, udáváme i hodnoty pro zředěný *M1* koloid, protože s ohledem na vysokou extinkci původního *M1* koloidu bylo nutné ho pro spektroskopická měření ředit.

Hodnoty zeta potenciálu se přidáním různých koncentrací *U* mění. Tyto změny jsou shrnuty v tabulce č.: 8. Vidíme, že u samotného zředěného koloidu je malá část (několik málo procent) zeta potenciálu kladná. Což se ani po přidání nejmenšího objemu ($2 \mu\text{L}$) aminokyseliny *U* nemění. Naopak po přidání dvou největších objemů kyseliny glutamové naměříme pouze záporné hodnoty zeta potenciálu.

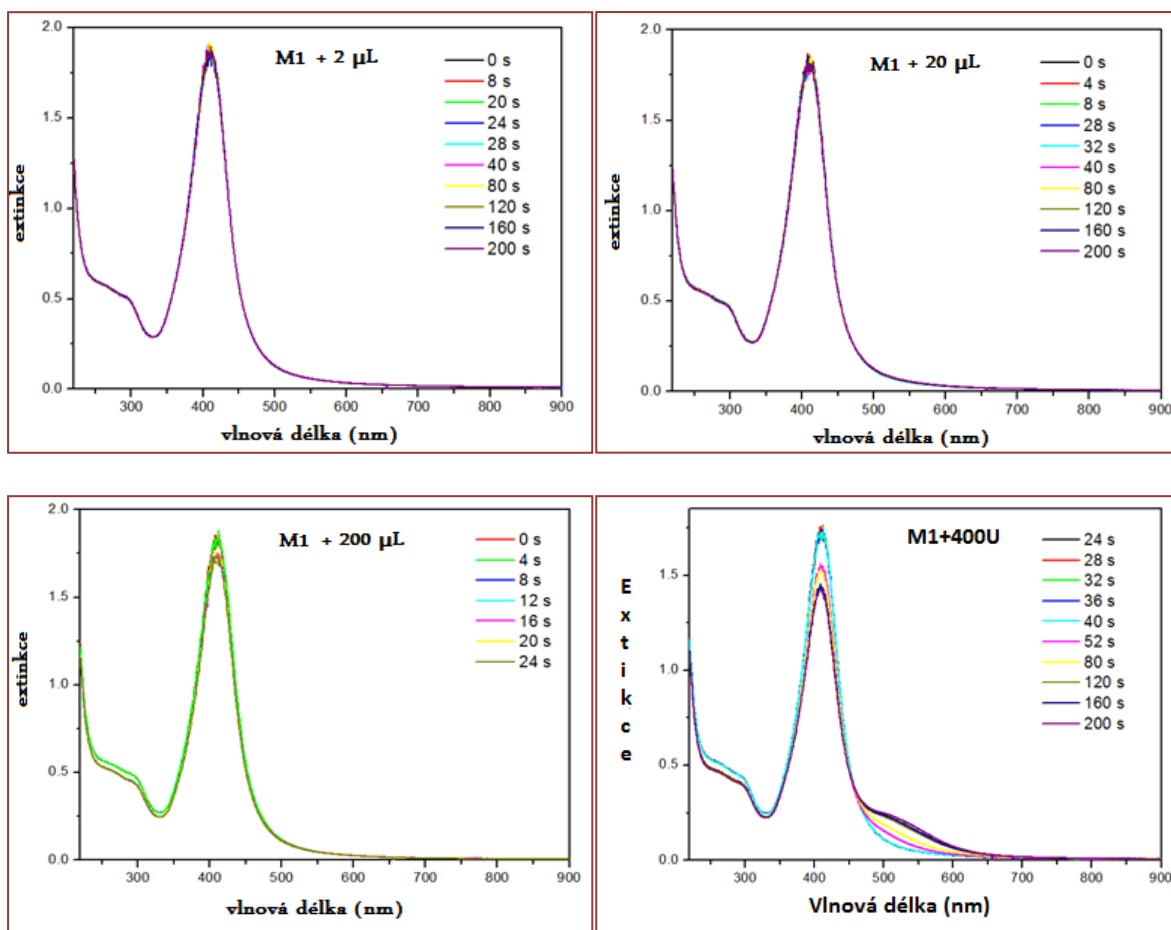
Koloid + kyselina glutamová	Distribuce velikosti			Průměrná velikost /nm
	Intenzita /nm	Počet /nm	Objem /nm	
M 1	56 (91%) 1690 (9%)	20 (100%)	28 (98%) 2568 (2%)	44,2
M1 diluted	36 (100%)	20 (100%)	26 (100%)	31,7
M 1 diluted +2 µl	35 (100%)	21 (100%)	26 (100%)	31,7
M 1 diluted +20 µl	34 (100%)	23 (100%)	27 (100%)	31,7
M 1 diluted +200 µl	43 (89%) 937 (11%)	20 (100%)	26 (99%) 1161 (1%)	37,5
M 1 diluted +400 µl	72 (98%) 4632 (2%)	15 (100%)	24 (98%) 4899 (2%)	48

Tabulka 7: Distribuce velikosti částic maltózového koloidu s přidavkem kyseliny glutamové

Koloid + kyselina glutamová	Zeta potenciál					
	0 µL	0 µL	2 µL	20 µL	200 µL	400 µL
M 1		diluted:	diluted:	diluted:	diluted:	diluted:
	-28,1 (35%)	-42,9 (58%)	-34,6 (77%)	-28,5 (26%)	-15,6(99%)	-11,8(94%)
	-4,6 (28%)	-13,3 (34%)	-8,8 (17%)	-9,5 (32%)	-86,6(1%)	-48,0(4%)
	15,1(10%)	13,4 (3%)	+7,4 (4%)	+8,3 13%)		

Tabulka 8: Zeta potenciál maltózového koloidu s přidavkem kyseliny glutamové

Změření UV-Vis spekter u maltózového koloidu ukázalo, že v případě nejmenší a střední koncentrace kyseliny glutamové nedojde ke změně extinkce měřených vzorků, což je patrné z grafů na obrázku č. 25. Na posledním grafu vidíme, že k náznaku druhého maxima extinkčního pásu dojde, až při dosažení vysoké koncentrace kyseliny glutamové (400 µL).

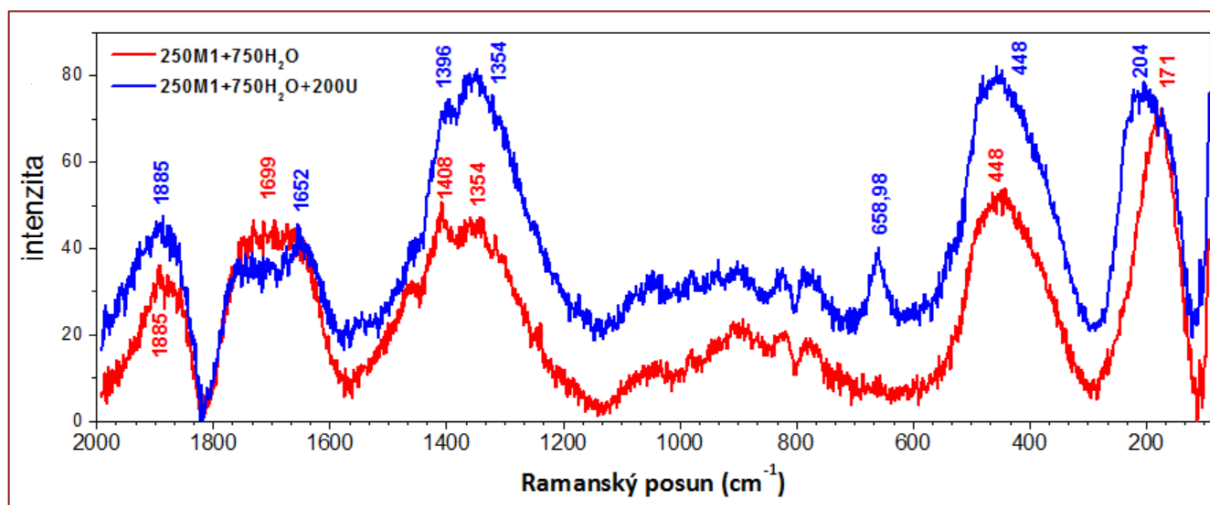


Obrázek 25: Grafy UV-Vis. spekter maltóзовého koloidu s různými koncentracemi kyseliny glutamové

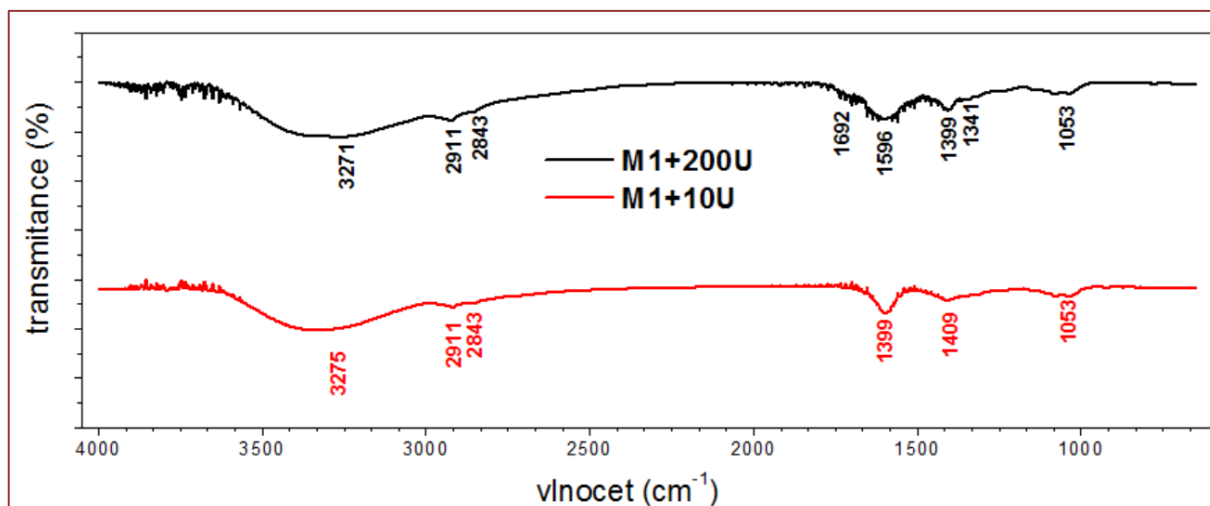
3.2.3 Maltózový koloid (M1) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (U) sledovaná prostřednictvím metod vibrační spektroskopie

Byla změřena SERS spektra jak od samotného **M1** koloidu, tak i od vzorku obsahujícího **M1** koloid a kyselinu glutamovou, jak je ukázáno na obr. č. 26. Uvádíme zde pouze jedno měření vzorku kyseliny glutamové s **M1** s využitím laseru o vlnové délce **633 nm**, protože pro ostatní koncentrace kyseliny glutamové byly výsledky obdobné, což se dalo čekat s ohledem na mimorezonanční podmínky. Spektra jsou na obrázku č.: 26, modré pro koncentraci (**200 μl U + 250 μl M1 + 750 μl H₂O**) a červené pro samotný maltózový koloid zředěný vodou (v poměru: **250 μl M1 + 750 μl H₂O**). Z jejich srovnání je na první pohled patrné, že obě naměřená spektra jsou téměř totožná. Na modrém spektru vidíme oproti červenému spektru navíc pouze jediný výraznější pik se středem na hodnotě **659,98 cm⁻¹**. Právě tento pik by mohl pocházet od přidané kyseliny glutamové, která interaguje

s povrchem *Ag* nanočástic *M1* koloidu. Už na povrchu *Ag* nanočástic samotného *M1* o koloidu jsou přítomné uhlíkaté látky, takže pozorované pásy budou příslušet především vibracím pocházejícím od uhlíkatých zbytků oxidovaných cukrů ze syntézy.



Obrázek 26: Grafy SERS spektra maltóзовého koloidu a maltóзовého koloidu s přidavkem kyseliny glutamové



Obrázek 27: IČ spektra maltóзовého koloidu a maltóзовého koloidu s přidavkem kyseliny glutamové

IČ absorpční spektra *M1* koloidu s kyselinou glutamovou jsou prezentována na obrázku č. 27. Záměrně je ukázán vliv koncentrace glutamové kyseliny. Zatímco spektrum s nejnižší koncentrací obsahuje především vibrační pásy od uhlíkatých zbytků oxidace cukru na *M1* koloidu; spektrum, kde bylo přidáno $200 \mu\text{L}$ glutamové kyseliny, vykazuje navíc jeden jediný pás, a to 1692 cm^{-1} . Tento pás nepochybně přísluší aminokyselině a odpovídá $\text{R} - (\text{C} = \text{O}) - \text{OH} -$ vazbě ^[15]. Domnívám se, že došlo k interakci glutamové kyseliny s povrchem *Ag* nanočástic *M1* koloidu, které jsou obalené uhlíkatými zbytky z oxidace cukru na výsledné karboxylové kyseliny. Charakteristické vibrační pásy v oblasti nad 2800 cm^{-1} poukazují na přítomnost *CH*, *NH* a *OH* skupin [15, 20].

3.2.4 Maltózový koloid (M1) a jeho interakce s glutaminem (N) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis spekter:

Přidáním různých objemů glutaminu a tím dosažení čtyř různých výsledných koncentrací glutaminu do koloidu **M1** nedochází k žádným výrazným změnám průměrné velikosti nanočástic, jak jsem ověřila v sérii DLS měření shrnutých v tabulce č.: 9.

Koloid + glutamin	Distribuce velikosti			Průměrná velikost /nm
	Intenzita /nm	Počet /nm	Objem /nm	
M 1 diluted +2 µl	49 (89%) 1406 (11%)	23 (100%)	31 (97%) 2326 (2%)	42,9
M 1 diluted +20 µl	37 (100%)	21 (100%)	27 (100%)	32,5
M 1 diluted +200 µl	38 (97%) 4652 (3%)	20 (100%)	26 (98%) 4914 (2%)	33,2
M 1 diluted +400 µl	38 (99%) 4689 (1%)	20 (100%)	26 (99%) 4937 (1%)	31,5

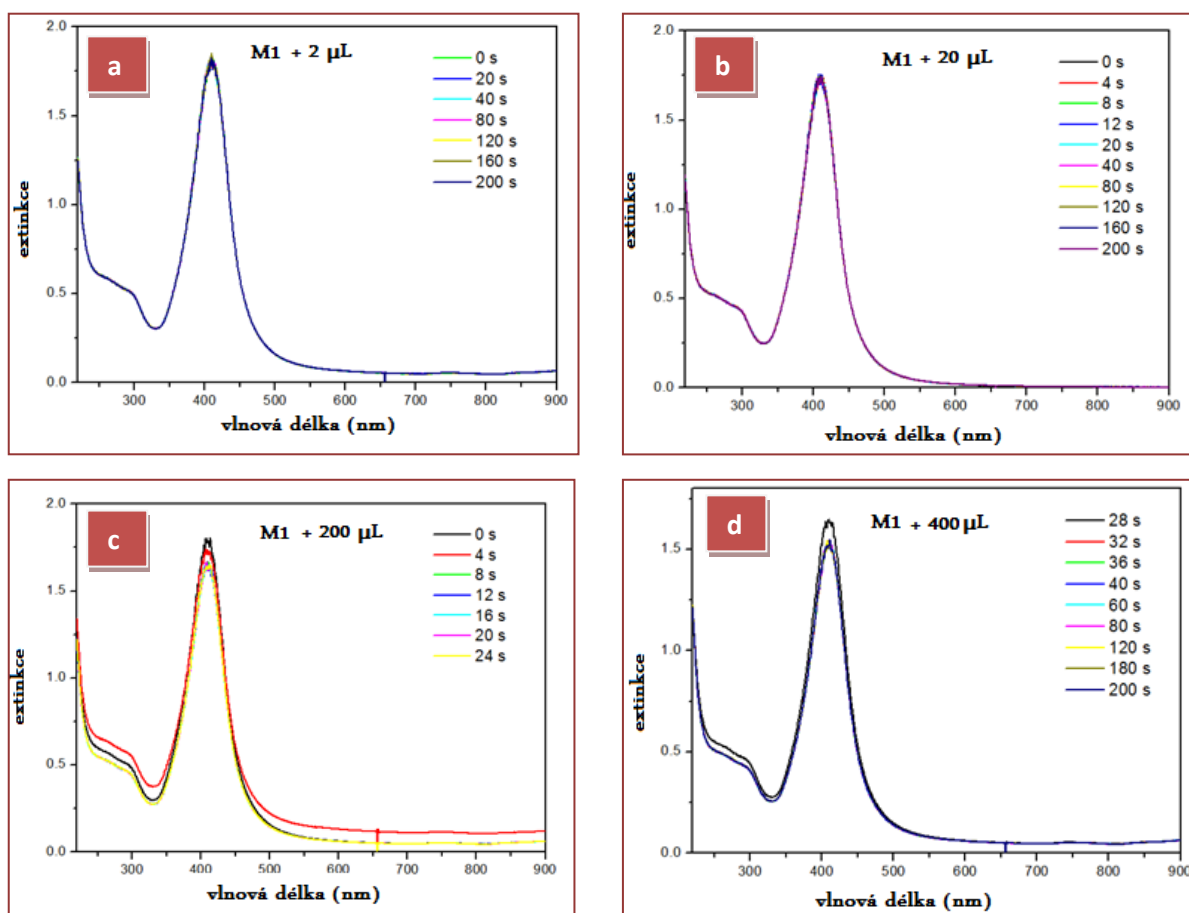
Tabulka 9: Distribuce velikosti částic maltózového koloidu s přidavkem glutaminu

Na rozdíl od měření velikostí nanočástic se hodnoty zeta potenciálu pro čtyři různé hodnoty koncentrací glutaminu v **M1** koloidu mění, což je shrnuto v tabulce č.: 10. U samotného zředěného koloidu **M1** ukazuje měření dvě hodnoty zeta potenciálu záporné a jednu kladnou. Přidáním aminokyseliny **N** se všechny hodnoty stávají zápornými. Při přidání největší zkoumané koncentrace je hodnota zeta potenciálu **−8,5 ze 100%**.

Koloid + glutamin	Zeta potenciál					
	0 μL	0 μL	2 μL	20 μL	200 μL	400 μL
M 1	-28,1 (35%)	diluted: -42,9 (58%)	diluted: -37,6 (24%)	diluted: -26,0 (61%)	diluted: -31,4 (56%)	diluted: -8,5(100%)
	-4,6 (28%)	-13,3 (34%)	-22,8 (15%)	-52,9 (19%)	-10,0 (42%)	
	15,1 (10%)	13,4 (3%)	-1,9 (39%)	-0,7 (10%)	-71,0 (2%)	

Tabulka 10: Zeta potenciál maltózových koloidů s přidavkem glutaminu

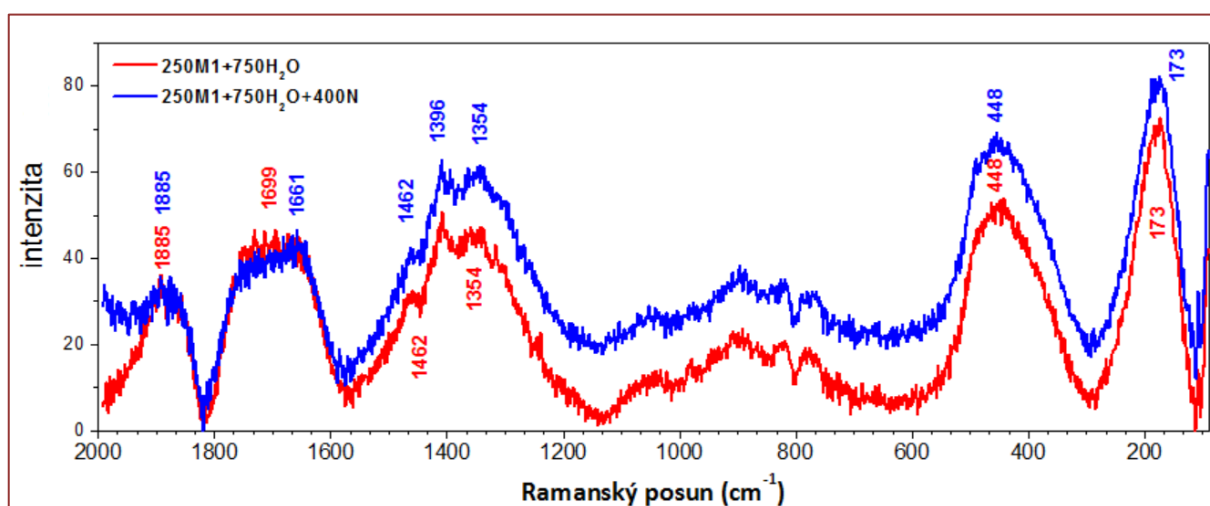
Kinetika reakcí po přidání různých koncentrací aminokyseliny **N** byla sledována UV-Vis spektroskopií. Z výsledných obrázků č.: 28a, b, c, d je patrné, že přidáním jakékoliv koncentrace glutaminu nedochází ke vzniku žádného jiného extinkčního pásu. Při vyšších koncentracích dojde pouze ke zředění vzorků (obrázky č.: 28 c, d).



Obrázek 28: Grafy UV-Vis. spekter maltózového koloidu s různými koncentracemi glutaminu

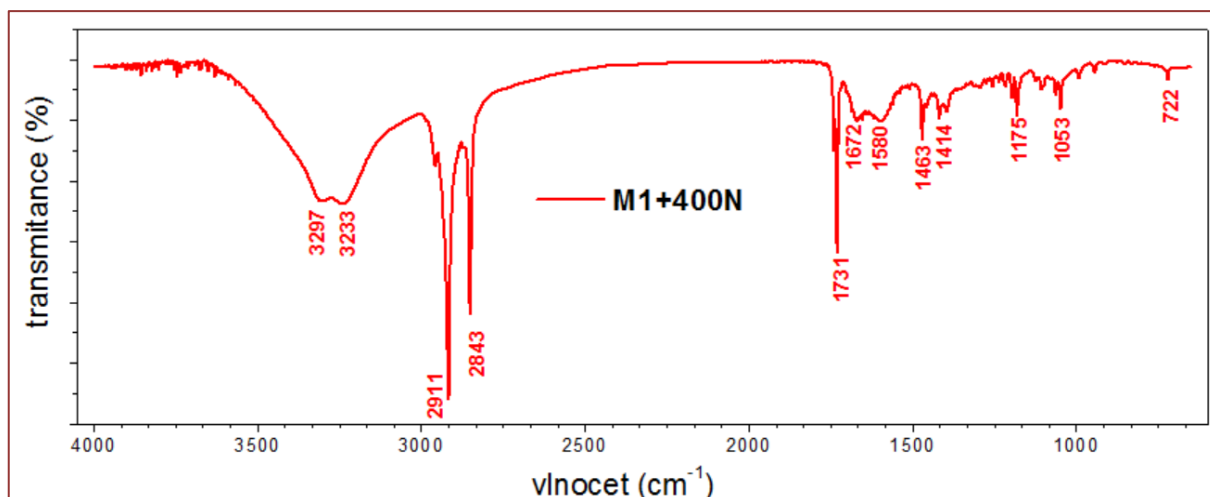
3.2.5 Maltózový koloid (M1) a jeho interakce s glutaminem (N) sledovaná prostřednictvím metod vibrační spektroskopie

Výsledky z UV-Vis měření ukazují, že maltózový koloid není vůbec vhodný k SERS měření při využití laseru o vlnové délce **633 nm**. Přesto jsme měření provedli, abychom porovnali charakter SERS signálu glutaminu na **M1** koloidu se signálem **M1** koloidu samotného. Jako příklad uvádíme pouze jedno SERS spektrum od samotného **M1** koloidu (zředěného vodou v poměru: (**250 μl M1 + 750 μl H₂O**) v porovnání se spektrem z vzorku obsahujícímu glutamin ve vysoké koncentraci a M1 koloid (**400 μl N + 250 μl M1 + 750 μl H₂O**) na obrázku č. 29 Červené je spektrum samotného maltózového koloidu a fialové spektrum vzorku. Můžeme vidět, že obě naměřená spektra jsou téměř totožná. Evidentně opět nejvíce vidíme pásy od uhlíkatých zbytků oxidovaného cukru, které obalují Ag nanočástice **M1** koloid a zabraňují tak přímé interakci glutaminu s **Ag** povrchem, neboť nepozorujeme **Ag – N** vazbu.



Obrázek 29: Grafy SERS spektra maltózového koloidu s přidavkem glutaminu

IČ absorpční spektrum **M1** koloidu s glutaminem, prezentované na obrázku č. 30 potvrzuje výskyt volné (nedisociované, pás **1739 cm⁻¹**) a disociované (pásky **1585 a 1463 cm⁻¹**) aminokyseliny ^[19], která nejspíše interaguje s uhlíkatými zbytky oxidace cukru obalujícími **Ag** nanočástice **M1** koloidu. Při této nejvyšší použité koncentraci glutaminu je evidentní vysoká intenzita charakteristických **CH** vibrací v oblasti mezi **2800 – 3000 cm⁻¹** ^[15, 19].



Obrázek 30: IČ spektrum maltóзовého koloidu s přidavkem glutaminu

3.2.6 Vazba kyseliny glutamové a glutaminu na *Ag* nanočásticích maltóзовého koloidu (*M1*)

Z výše diskutovaných výsledků usuzujeme, že na rozdíl od případu *Ag* nanočástic *Agbh* koloidu, kde byl typ interakce celkem zřejmý a závislý na koncentraci aminokyseliny, v případě maltóзовého koloidu nemáme dostatek informací k návržení jednoznačného schématu pro znázornění vazby sledovaných dvou aminokyselin na povrch *Ag* nanočástic *M1* koloidu. Jedno je však jisté, nanočástice *M1* koloidu jsou obalené uhlíkatými zbytky oxidace cukru (ze syntézy), které zabraňují přímé interakci glutaminu či kyseliny glutamové s povrchem *Ag* nanočástic. Je to potvrzeno nejen metodami vibrační spektroskopie, ale i měřením zeta potenciálu, extinkčními spektry a minimálními změnami ve velikostech částic změřenými prostřednictvím DLS metody. Dochází-li při vysokých koncentracích kyseliny glutamové k interakci s *Ag* nanočásticemi *M1* koloidu, o čemž svědčí pozorovatelné drobné změny v extinkčním spektru (kapitola 3.2.2 výsledkové části), děje se tak nejspíše prostřednictvím uhlíkatého obalu okolo *Ag* nanočástic.

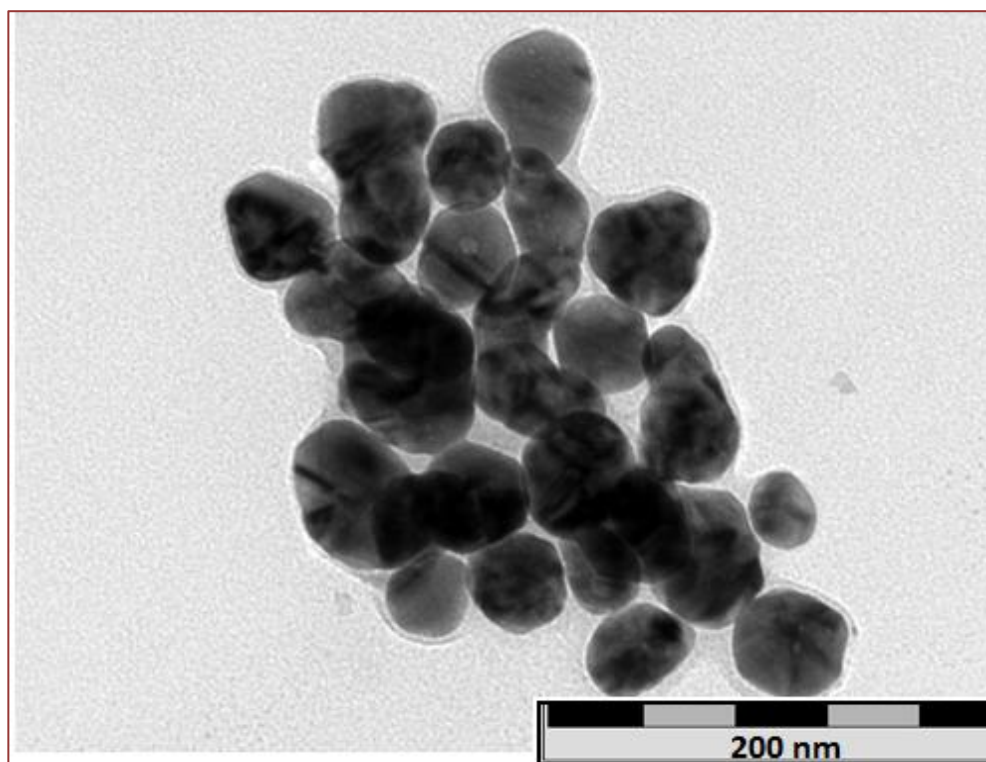
3.3 Glukóзовý koloid (*G1*)

3.3.1 Charakterizace glukóзовého koloidu

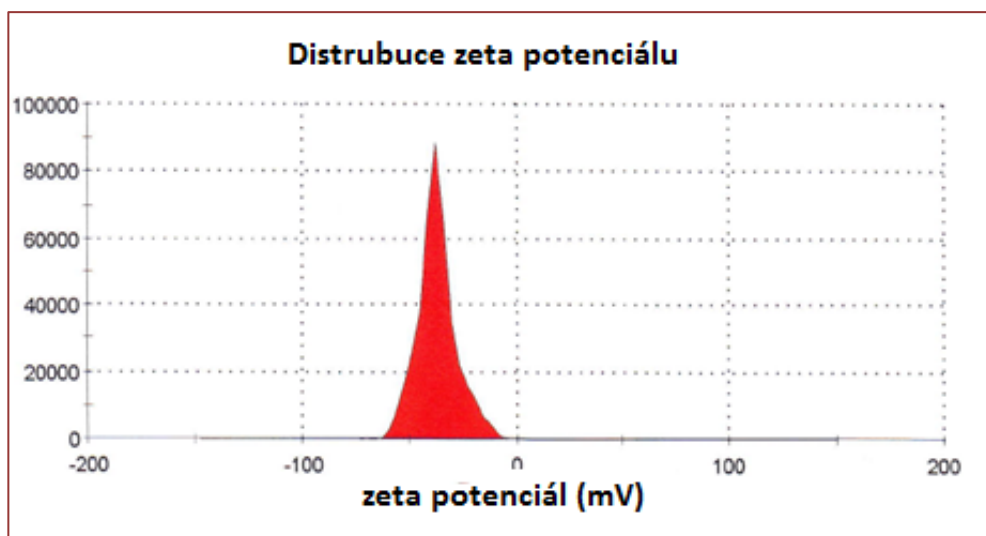
Průměrná velikost připravených glukóзовých nanočástic je přibližně asi 58 *nm*. Tato hodnota je vypočtena jako průměrná hodnota s výsledků DLS měření (viz.:tab. č.: 11). Průměrnou velikost nanočástic potvrzuje i snímek z transmisního elektronového mikroskopu na obrázku č.: 31.

Koloid	Distribuce velikosti			Průměrná velikost /nm
	Intenzita /nm	Počet /nm	Objem /nm	
G 1	61 (94%)	36 (1%)	46 (15%)	58,0
	11 (6%)	9 (99%)	10 (85%)	

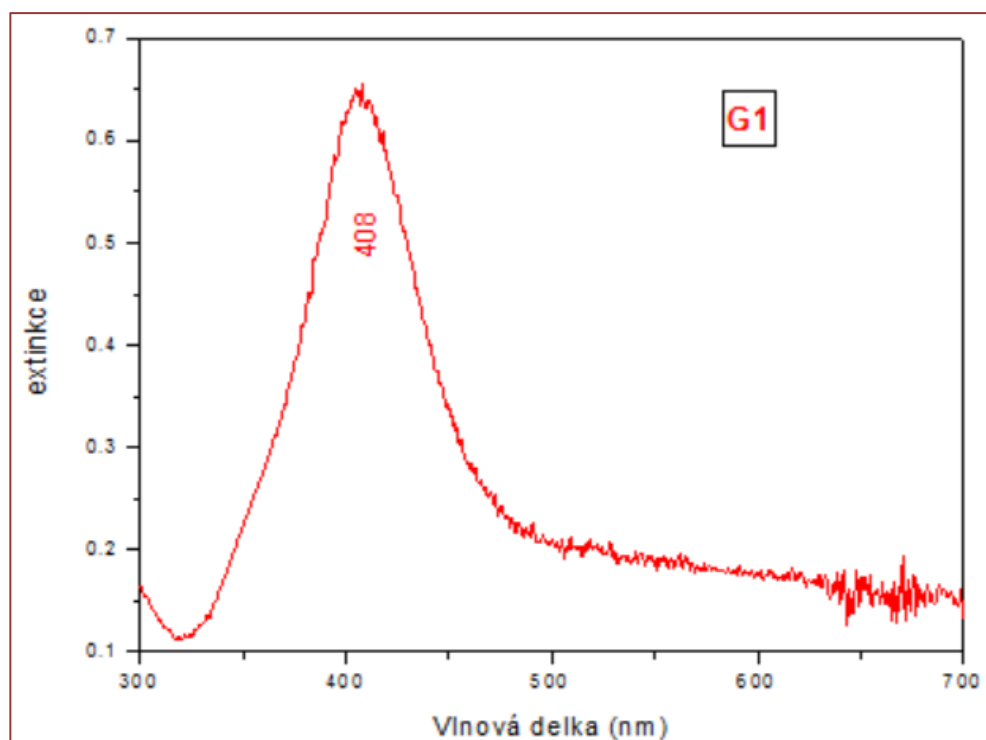
Tabulka 11: Distribuce velikosti částic glukózového koloidu



Obrázek 31: TEM snímek nanočástic glukózového koloidu



Obrázek 32: Graf distribuce zeta potenciálu glukózového koloidu



Obrázek 33: Graf UV-Vis. spektra glukózového koloidu

Významným parametrem ovlivňujícím míru schopnosti interakce s jinými látkami je hodnota zeta potenciálu připraveného glukózového koloidu (**G1**).

Na grafu distribuce zeta potenciálu (obrázek č.: 32) můžeme vidět, že je zeta potenciál glukózového koloidu z velké části záporný (přibližně $-33,9 \text{ mV}$ (95%), $+1,1$ (3%), $+17,5$ (1%)). Koloid má i z několika málo procent kladný zeta potenciál, což není z grafu na první pohled patrné.

Z grafu obrázku č.: 33 naměřeného pomocí UV.-Vis. spektroskopie můžeme ověřit některé optické vlastnosti glukózového koloidu. Námi připravený *G1* koloid má extinkční pás samozřejmě také ve viditelné oblasti okolo hodnoty **408 nm** a proto je zbarvený do odstínů žluté barvy.

3.3.2 Glukózový koloid (G1) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (U) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis spekter

Výsledky měření dynamického rozptylu světla na vzorcích koloidu *G1* s různou koncentrací aminokyseliny *U* jsou shrnuty v tabulce č.: 12. Z výsledků je patrné, že při menších koncentracích aminokyseliny *U* ve výsledném vzorku dochází k velmi malému nárůstu průměrné velikosti nanočástic. Naopak při největší zkoumané koncentraci vidíme výrazný nárůst průměrné velikosti částic z původních **58 nm až na 354 nm**.

Koloid + kyselina glutamová	Distribuce velikosti			Průměrná velikost /nm
	Intenzita /nm	Počet /nm	Objem /nm	
G 1	61 (94%) 11 (6%)	36 (1%) 9 (99%)	46 (15%) 10 (85%)	58,0
G 1 diluted	92 (97%)	11 (100%)	20 (98%)	66,9
G 1 diluted +2 µl	164 (90%) 20 (9%)	14 (100%)	28 (98%)	88,4
G 1 diluted +20 µl	94 (91%) 18 (9%)	14 (100%)	22 (100%)	61,8
G 1 diluted +200 µl	430 (90%) 5026 (6%) 57 (4%)	45 (99%)	559 (46%) 5175(46%) 50 (8%)	354

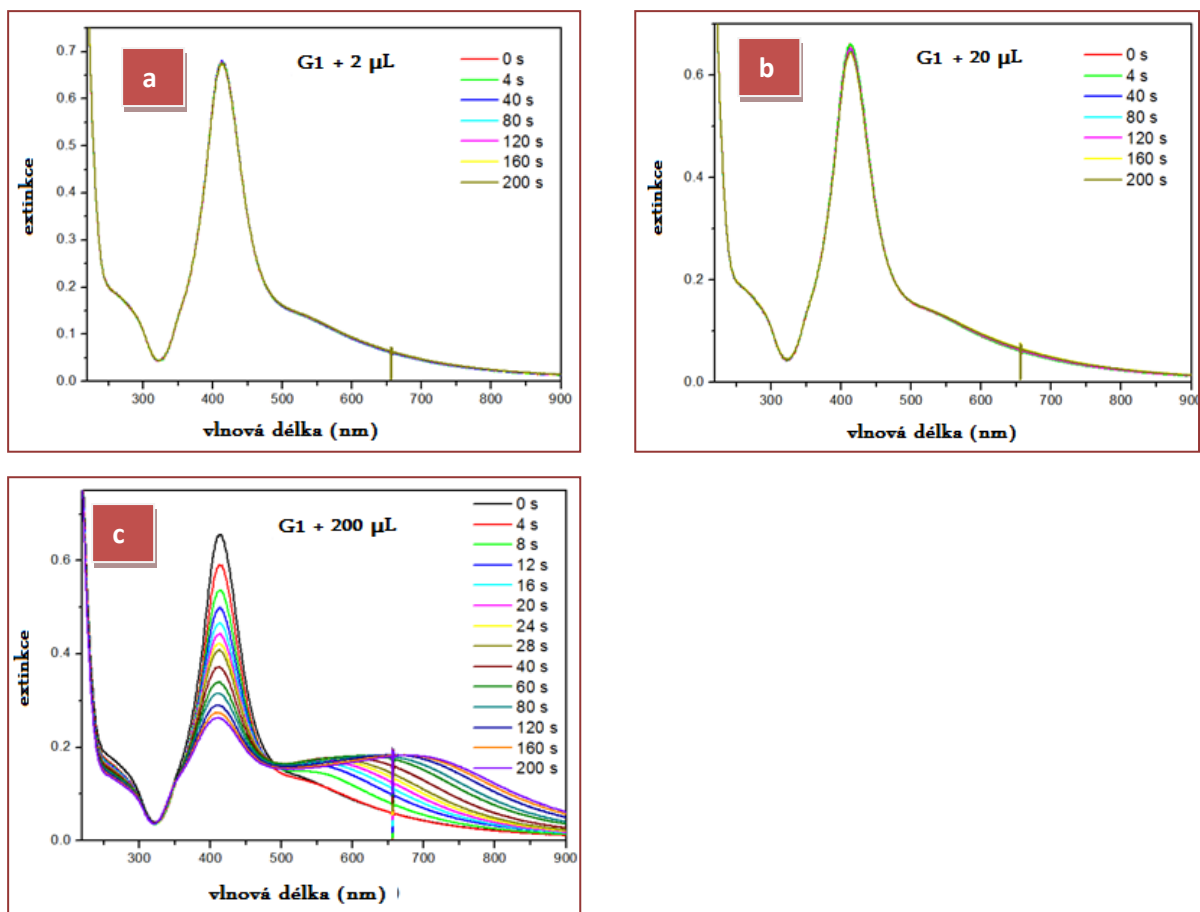
Tabulka 12: Distribuce velikosti částic glukózového koloidu s přidavkem kyseliny glutamové

Koloid + kyselina glutamová	Zeta potenciál				
	0 µL	0 µL	2 µL	20 µL	200 µL
G 1	-33,9 (95%)	diluted:	diluted:	diluted:	diluted:
	1,1(3%)	-36,9 (99%)	-9,9 (50%)	-12,9 (54%)	-13,1(100%)
	17,5 (1%)		-30,8 (49%)	-31,5 (46%)	

Tabulka 13: Zeta potenciál částic glukózového koloidu s přidavkem kyseliny glutamové

Výsledky měření změny zeta potenciálu koloidu G1 po přidání aminokyseliny U jsou shrnuty v tabulce č.: 13. Z výsledků je zřejmé, že po přidání různých koncentrací kyseliny glutamové zůstává zeta potenciál vzorků záporný.

Měření UV-Vis spekter pro glukózový koloid s různou přidanou koncentrací kyseliny glutamové je shrnuto v grafech na obrázku č.: 34. Z grafu a, b na obrázku č.: 33 je patrné, že přítomnost nejmenší a střední koncentrace kyseliny glutamové nemá na výslednou extinkci žádný vliv. Naopak větší koncentrace kyseliny glutamové (200µl) přítomná v glukózovém koloidu vede okamžitě po několika sekundách od přidání aminokyseliny U ke vzniku druhého extinkčního pásu s maximem okolo hodnot (630 – 680 nm), což můžeme vidět na grafu c obrázku č.: 34.

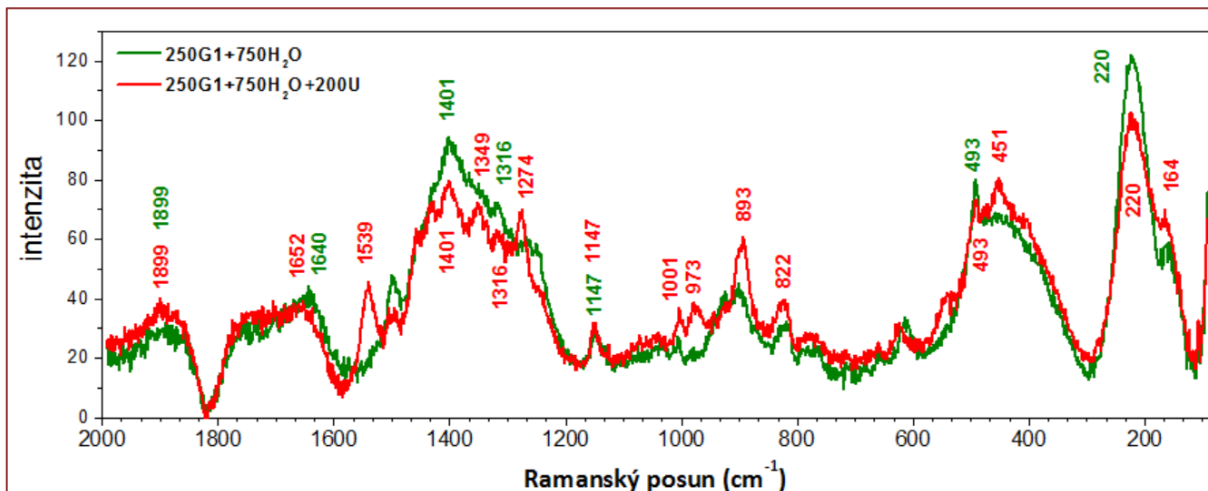


Obrázek 34: Grafy UV-Vis. spekter glukózového koloidu s různými koncentracemi kyseliny glutamové

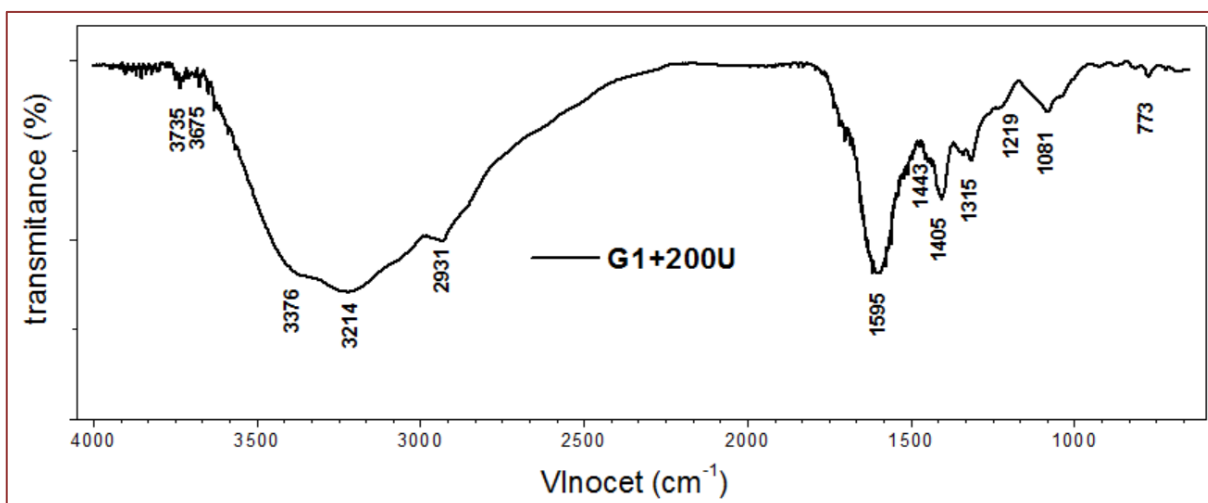
3.3.3 Glukózový koloid (G1) a jeho interakce s kyselinou glutamovou (U) sledovaná prostřednictvím metod vibrační spektroskopie

Měření SERS spekter proběhlo pro všechny koncentrace přidané kyseliny glutamové. Nicméně, jak už bylo patrné z grafů UV-Vis spektroskopie, nejvhodnějším vzorkem pro SERS měření je vzorek s přidaným objemem $200\mu\text{L}$ kyseliny glutamové (obrázek.: 34 graf c). Výsledné SERS spektrum (červeně) z tohoto vzorku je na obrázku č. 35 porovnáno se SERS spektrem samotného **G1** koloidu (zelené spektrum). Při porovnání obou naměřených spekter, vidíme že jsou obě téměř totožná (až na jeden pás 1538 cm^{-1}) a lze tedy říct, že přidáním kyseliny glutamové do glukózového koloidu se SERS spektra příliš nezmění. Je důležité poznamenat, že zřetelně vidíme pás 223 cm^{-1} už ve spektru **G1** koloidu. Tento pás svědčí o vazbě $\text{Ag} - \text{OOC} - \text{R}$ [38]. Výskyt této vazby je logický s ohledem na přítomnost glukonových a glukuronových kyselin vznikajících coby oxidační produkty redukce

stříbrných kationů ^[39]. Tyto glukonové a glukuronové kyseliny natolik „chrání“ povrch **Ag** nanočástic **G1** koloidu, že nedochází k jeho přímé interakci s kyselinou glutamovou.



Obrázek 35: Grafy SERS spektra glukóзовého koloidu a glukóзовého koloidu s přidavkem 200 μ L kyseliny glutamové



Obrázek 36: IČ spektrum glukóзовého koloidu s přidavkem kyseliny glutamové

Měřením IČ absorpčních spekter jsme pozorovali především charakteristické vibrace od **CH, OH, NH**, dále pak v oblasti „otisku prstu“ i valenční a deformační vibrace od disociované karboxylové kyseliny ^[15, 20]. Pro ukázkou je uvedeno spektrum s glutamovou kyselinou na **Ag** nanočásticích **G1** koloidu, kde je koncentrace glutamové kyseliny stejná jako v případě prezentovaného SERS spektra (přídavek 200 μ L) na obrázku č. 29. Ačkoliv ukazují pouze vyšší koncentraci glutamové kyseliny ve výsledném vzorku, tak je zřejmé, že disociovaná forma karboxylové kyseliny zde dominuje. To může být způsobeno tím, že na povrchu **Ag** nanočástic **G1** koloidu jsou již přítomné glukonové a glukuronové kyseliny, které svou interakcí s glutaminem přispívají k dominujícímu signálu od disociované karboxylové skupiny.

3.3.4 Glukózový koloid (G1) a jeho interakce s glutaminem (N) sledovaná prostřednictvím metod DLS, měření zeta potenciálu, UV-Vis spekter

Přidáním různých koncentrací aminokyseliny *N* ke koloidu **G1** dojde k malému nárůstu průměrné velikosti částic z původních asi **58 nm až k 86 nm**. Při nejvyšší zkoumané koncentraci už není nárůst průměrné velikosti tak velký jako u předchozích koncentrací. Výsledky celého měření velikosti částic metodou DLS pro koloid **G1** jsou shrnuty v tabulce č.: 14.

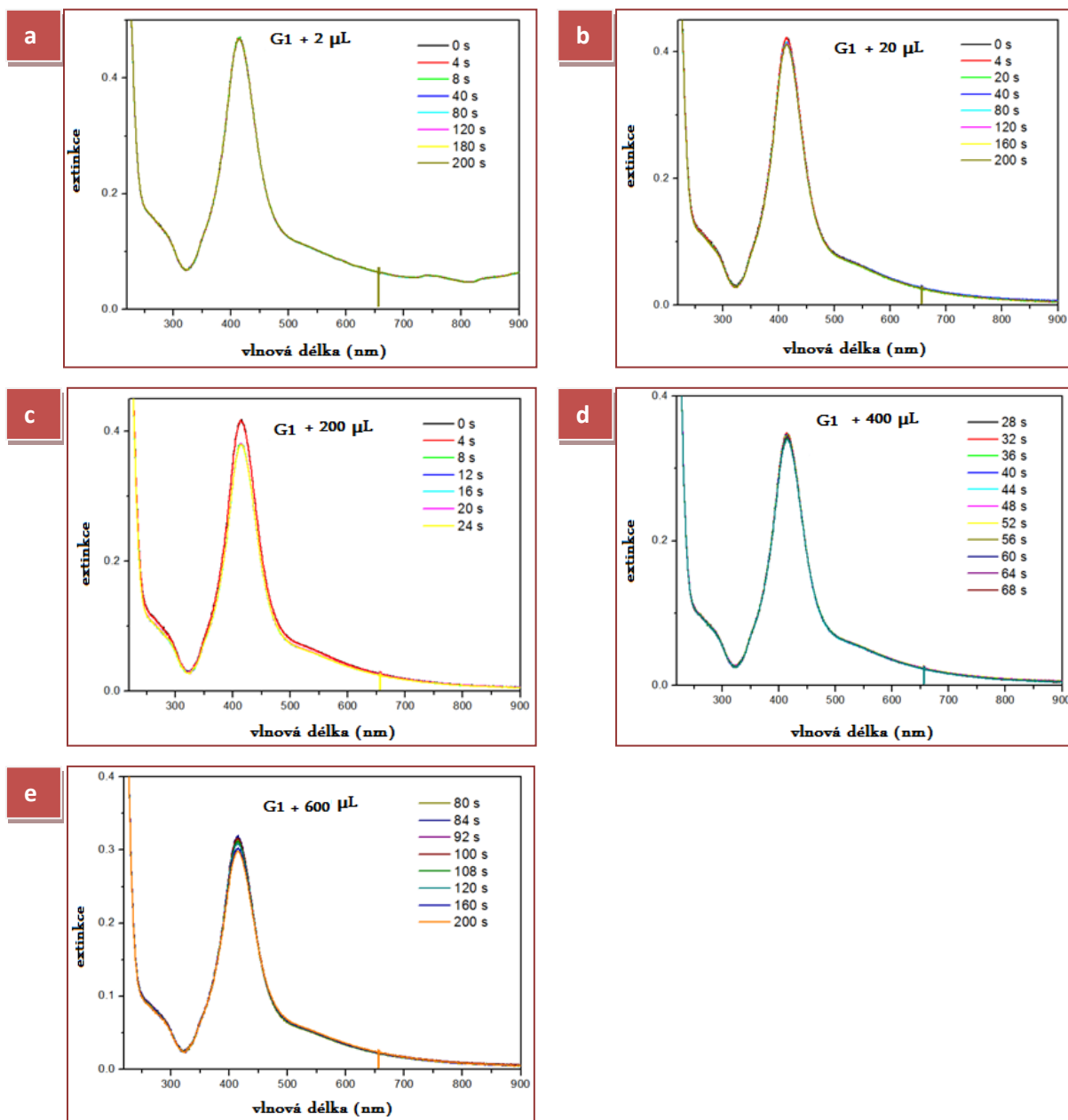
Koloid + glutamin	Distribuce velikosti			Průměrná velikost /nm
	Intenzita /nm	Počet /nm	Objem /nm	
G1	61 (94%)	36 (1%)	46 (15%)	58,0
	11 (6%)	9 (99%)	10 (85%)	
G 1 diluted	92 (97%)	11 (100%)	20 (98%)	66,9
G 1 diluted +2 µl	80 (100%)	12 (100%)	21 (100%)	57,3
	20 (9%)		23 (99%)	
G 1 diluted +20 µl	120 (99%)	13 (100%)	23 (99%)	69,3
	4311 (1%)		4691 (1%)	
G 1 diluted +200 µl	110 (89%)	6 (100%)	78 (4%)	82,7
	20 (9 %)		16 (30%)	
	5388 (1%)		5450 (1%)	
G 1 diluted +400 µl	127 (98%)	22 (100%)	41 (93%)	96,2
	5364 (2%)		5429 (7%)	
G 1 diluted +600 µl	113 (90%)	13 (100%)	82 (7%)	86
	16 (9%)		15 (91%)	
	5383 (1%)		5446 (2%)	

Tabulka 14: Distribuce velikosti částic glukózového koloidu s přidavkem glutaminu

Oproti předchozímu, se hodnoty zeta potenciálu přidáním různých koncentrací *N* ke koloidu **G1** mění, což je shrnuto v tabulce č.: 15. Přidáním aminokyseliny *N* se všechny hodnoty stávají zápornými. Při dosažení největší zkoumané koncentrace je hodnota zeta potenciálu $-10,2$ ze 100%.

Koloid + glutamin	Zeta potenciál						
	0 μL	0 μL	2 μL	20 μL	200 μL	400 μL	600 μL
G 1	-33,9 (95%) +1,1 (3%) +17,5 (1%)	diluted: -36,9 (99%)	diluted: +6,9 (8%) -32,2 (91%)	diluted: -7,8 (30%) -37,3 (70%)	diluted: -5,0 (75%) -30,0 (25%)	diluted: -7,9 (100%)	diluted: -10,2 (100%)

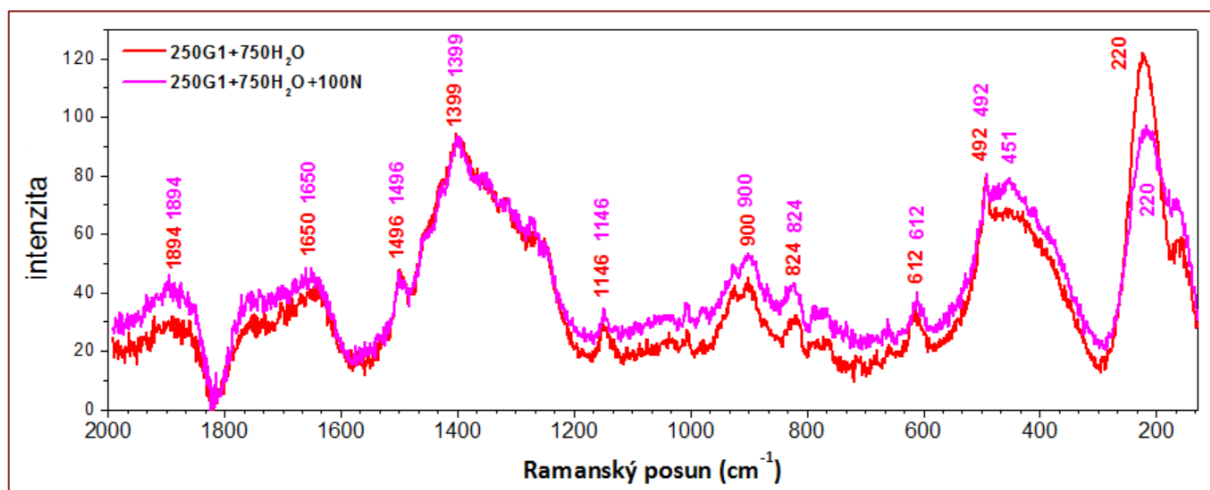
Tabulka 15: Zeta potenciál částic glukózového koloidu s přidavkem glutaminu



Obrázek 37: Grafy UV-Vis. spekter glukózového koloidu s různými koncentracemi glutaminu

Výsledky z měření UV-Vis. spekter můžeme vidět jako grafy na obrázku č.: 37. Je z nich patrné, že přidání jakékoliv koncentrace glutaminu do glukózového koloidu výslednou extinkci vzorku vůbec nezmění, maximálně trochu poklesne vlivem ředění koloidu.

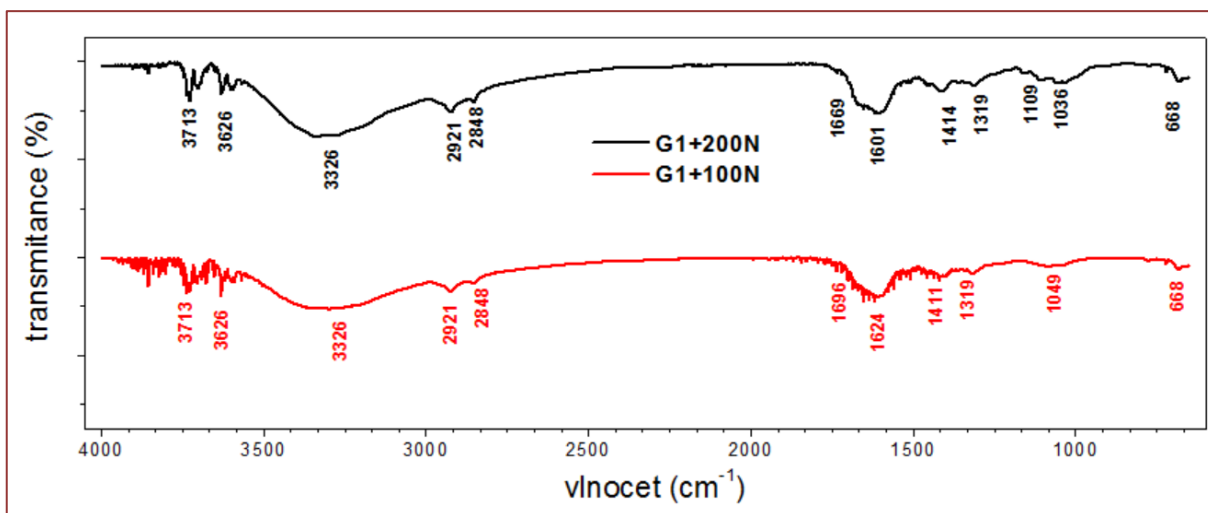
3.3.5 Glukózový koloid (G1) a jeho interakce s glutaminem (N) sledovaná prostřednictvím metod vibrační spektroskopie



Obrázek 38: Grafy SERS spektra glukózového koloidu a glukózového koloidu s přidavkem 100 μ L glutaminu

Grafy měření extinkčních spekter ukazují, že glukózový koloid není vhodný k SERS měření využitím laseru o vlnové délce 633 nm. I přesto bylo měření provedeno. Opět pro demonstraci výsledků uvádím pouze spektra pro vybranou koncentraci glutaminu v porovnání se SERS spektrem od samotného G1 koloidu. Spektra jsou ukázána na obrázku č. 38. Červené je opět spektrum samotného glukózového koloidu zředěného vodou (v poměru: 250 μ l G1 + 750 μ l H₂O) a fialové spektrum s koncentrací vzorku (100 μ l N + 250 μ l G1 + 750 μ l H₂O). Z obrázku je patrné, že obě naměřená spektra jsou téměř totožná. Lze tedy říct, že po přidání jakékoliv koncentrace glutaminu do glukózového koloidu se SERS spektra nezmění. Obdobně jako tomu bylo v případě kyseliny glutamové, tak i zde je evidentní pás u $\sim 220\text{ cm}^{-1}$, který přísluší Ag – OOC – R vazbě [38].

IČ absorpční spektra vzorku G1 koloidu s přidavkem glutaminu jsou prezentována na obrázku č. 39. Kromě charakteristických vibrací CH, NH a OH, si lze v oblasti „otisku prstu“ všimnout výhradně pásů disociované formy karboxylové kyseliny [15,19,20]. Platí zde prakticky totéž, co už bylo napsáno v případě kyseliny glutamové a její interakce s G1 koloidem.



Obrázek 39: IČ spektrum glukózového koloidu s přidavkem glutaminu

3.3.6 Vazba kyseliny glutamové a glutaminu na *Ag* nanočásticích glukózového koloidu (*G1*)

Obdobně jako tomu bylo v případě maltóзовého koloidu, tak ani v případě glukózového koloidu nelze jednoznačně graficky vyjádřit typ interakce dvou vybraných aminokyselin s povrchem *Ag* nanočástic *G1* koloidu. Na základě všech naměřených, výše prezentovaných a diskutovaných dat lze prohlásit, že *Ag* nanočástice *G1* koloidu jsou obalené glukonovými a glukuronovými kyselinami vznikajícími při syntéze nanočástic, jak již bylo nedávno publikováno [39]. Tyto karboxylové kyseliny pak nejspíše zabraňují přímé interakci glutaminu či glutamové kyselině s povrchem *Ag* nanočástic *G1* koloidu. Je to potvrzeno nejen metodami vibrační spektroskopie (kde se však mohou pásy od těchto karboxylových kyselin překrývat s pásy od aminokyselin), ale i měřením zeta potenciálu, extinkčními spektry a minimálními změnami ve velikostech částic změřených prostřednictvím DLS metody.

Závěr

V teoretické části práce jsme z dostupných zdrojů zpracovali teoretický náhled na stříbrné koloidní roztoky, přípravu solů a jejich významné optické vlastnosti. Shrnuli teoretické poznatky o stříbrných nanočásticích a jejich přípravě. Uvedli potřebnou teorii k měřícím metodám využitým k charakterizaci připravených koloidů a charakterizaci jejich interakcí s aminokyselinami (TEM, DLS, UV-Vis., zeta potenciál, SERS, IČ). V závěru této části jsou představeny obě aminokyseliny: kyselina glutamová i glutamin.

V experimentální části práce popisujeme přípravu třech koloidů připravených různými metodami: borohydridového, maltóзовého a glukóзовého. Následuje popis přípravy vzorků pro jednotlivá měření a popis průběhu samotných měření.

Výsledková část v první kapitole shrnuje základní charakterizaci samotného borohydridového koloidu. Následuje vyhodnocení měření TEM, zeta potenciálu, DLS a UV-Vis. pro vzorky s přidavkem kyseliny glutamové i glutaminu v různých finálních koncentracích. Dále vyhodnocujeme a porovnáváme naměřená Ramanova spektra pro obě aminokyseliny v různých finálních koncentracích. Vyhodnocujeme a porovnáváme naměřená IČ spektra. V závěru první kapitoly uvažujeme o možném způsobu navázání aminokyselin na **Ag** nanočástice s ohledem na výsledky všech předchozích měření. Každá aminokyselina se na povrch váže jiným způsobem. Způsob interakce se liší při nízké a vysoké finální koncentraci dané aminokyseliny, při středních koncentracích dochází k oběma způsobům interakce současně u obou aminokyselin.

Druhá kapitola výsledkové části shrnuje základní charakterizaci samotného maltóзовého koloidu, po ní následuje vyhodnocení měření, zeta potenciálu, DLS a UV-Vis. pro vzorky s přidavkem kyseliny glutamové i glutaminu v různých finálních koncentracích. Následuje vyhodnocení a porovnávání Ramanova spektra pro obě aminokyseliny v různých koncentracích. Vyhodnocení a porovnání naměřených IČ spekter. V závěru druhé kapitoly uvažujeme o tom, že nelze jednoznačně určit způsob interakce mezi aminokyselinami a maltóзовým koloidem. Výsledky ukazují, že nejspíše k přímé interakci nedochází, protože povrch Ag nanočástic je obalen uhlikatými zbytky oxidace cukru pocházejícími ze syntézy koloidu.

Třetí kapitola výsledkové části shrnuje základní charakterizaci samotného glukóзовého koloidu a po ní následuje vyhodnocení měření, zeta potenciálu, DLS a UV-Vis. pro vzorky s přidavkem kyseliny glutamové i glutaminu v různých finálních koncentracích. Následuje vyhodnocení a porovnávání Ramanova spektra pro obě aminokyseliny v různých koncentracích. Vyhodnocení a porovnání

naměřených IČ spekter. Závěrem třetí části je shrnutí interakce glukózového koloidu a obou aminokyselin. Výsledky ukazují, že k přímé interakci nedochází, protože povrch Ag nanočástic je obalen glukonovými a glukuronovými kyselinami vznikajícími při samotné syntéze nanočástic.

Seznam použitých zdrojů

Číslo odkazu	Abecední seznam literatury
1	Creighton, J. A.; Eadon, D. G. <i>J. Chem. Soc. Faraday Trans.</i> ; 1991 , 87, s. 3881–3891.
2	Hughes, A. E.; Jain, S. C. <i>Adv. Phys.</i> 1979 , 28, 717.
3	García-Barrasa J.; López-de-Luzuriaga J. M.; Monge M. <i>Silver nanoparticles: synthesis through chemical methods in solution and biomedical applications</i> . Central European Journal of Chemistry, 2011, 9, 7–19. Dostupné z www: http://www.springerlink.com/content/kl13k3115758431n/fulltext.pdf [online] [cit. 5. 4. 2012].
4	http://www.chemagazin.cz/userdata/chemagazin_2010/file/CHXX_4_cl9.pdf [online] [cit. 19. 1. 2012].
5	Campion, A.; Kambhampati, P. <i>Surface-enhanced Raman scattering</i> . P. <i>Chemical Society Reviews</i> 1998 , volume 27.
6	Brdička, R.; Dvořák, J. <i>Základy fyzikální chemie</i> . Praha : Academia, 1977.
7	Freestone, I.; Meeks, N.; Sax, M.; Higgitt, C.; <i>The Lycurgus Cup.- A Roman Nanotechnology</i> ; Gold Bulletin, 2007 , 40/4.
8	Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G.; <i>Principles of surface-enhanced Raman spectroscopy and relative plasmonic effects</i> ; Oxford, 2009, s. 21–148.
9	Dendisová-Vyškovská, M.; Prokopec, V.; Člupek, M.; Matějka, P. <i>Comparison of SERS effectiveness of copper substrates prepared by different methods: what are the values of enhancement factors?</i> <i>Journal Raman Spectroscopy</i> , 2012, 43, s. 181–186.
10	Link, S.; and El-Sayed, M. A. <i>Size and Temperature Dependence of the Plasmon Absorption of Colloidal Gold Nanoparticles</i> . <i>Journal Phys. Chem. B</i> , 1999, 103, s. 8410–8426.
11	Schlücker S. <i>Surface enhanced Raman spectroscopy analytical, biophysical and life science applications.</i> ; Weinheim, Germany: Wiley–VCH, 2011.
12	Sharma, V. K.; Yngard, R. A.; Lin, Y.; <i>Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities</i> . <i>Advances in Colloid and Interface science</i> ; 2009, 145, s. 83–96.
13	Donald, L.; Pavia D. L.; Lampaman, G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan J. A.; <i>Introduction to spectroscopy</i> . Washington, 2009, kap. 2, 7.
14	Lindon, J. C.; <i>Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry</i> ; San Diego : Academic press, 2000, díl č.1, s. 88–93.

15	Lindon, J.C.; <i>Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry</i> ; San Diego : Academic press, 2000, díl č.2, s. 1035–1057.
16	Lindon, J.C.; <i>Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry</i> ; San Diego : Academic press, 2000, díl č.3, s. 1986–2000.
17	Kvítek, L. <i>Metody studia koloidních soustav</i> . Olomouc, 2006. Prozatímní učební text. Katedra fyzikální chemie PŘF UP Olomouc. Dostupné z www: http://chemikalie.upol.cz/skripta/msk/msk.pdf [online] [cit. 5. 4. 2012].
18	Kvítek, L.; Panáček, A.: <i>Základy koloidní chemie</i> . Olomouc : Univerzita Palackého v Olomouci, 2007. 70 s. Dostupné z www: http://fch.upol.cz/skripta/kol/koch.pdf [online] [cit. 5. 4. 2012].
19	Nakamoto, K.; <i>Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compound</i> ;; Part A, John Wiley & Sons, Inc. : 2009, Hoboken, New Jersey, USA. s. 1–141, 384–391.
20	Nakamoto, K.; <i>Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination Compound</i> ;; Part B, John Wiley & Sons, Inc. : 2009, Hoboken, New Jersey, USA, str.26–84,388–392. Dostupné z www: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470405888.fmatter/pdf [online] [cit. 5. 4. 2012].
21	Moskovits, M.; Suh, J. S.; Confirmation of mono- and dicarboxylic acids adsorbed on silver surfaces“; <i>Journal Am.Chem.Soc.</i> 1985, Vol. 107, s. 6826–6829.
22	http://rumcajs.fjfi.cvut.cz/fyzport/FT/2004/Difrakce/05_Karlik_CsCAsFyz_manu.pdf [online] [cit. 10. 1. 2012].
23	http://www.malvern.com/common/downloads/campaign/MRK656-01.pdf [online] [cit. 19. 1. 2012].
24	http://rumcajs.fjfi.cvut.cz/fyzport/FT/2004/Difrakce/05_Karlik_CsCAsFyz_manu.pdf [online] [cit. 10. 1. 2012].
25	http://cs.wikipedia.org/wiki/Glutamin [online] [cit. 4. 4. 2012].
26	http://www.raysahelian.com/glutamine.html [online] [cit. 4. 4. 2012].
27	http://www.netwellness.org/healthtopics/cancer/glutamine.cfm [online] [cit. 4. 4. 2012].
28	http://galenus.cz/glutamin.php [online] [cit. 4. 4. 2012].
29	http://cs.wikipedia.org/wiki/Kyselina_glutamov%C3%A1 [online] [cit. 4. 4. 2012].
30	http://galenus.cz/glutamova-kyselina.php [online] [cit. 4. 4. 2012].
31	http://cs.wikipedia.org/wiki/Spektroskopie [online] [cit. 4. 4. 2012].
32	http://cs.wikipedia.org/wiki/UV/VIS_spektroskopie [online] [cit. 4. 4. 2012].

33	http://www.janslechte.net/odpadari/files/Stul%20c.%203_Spektrofotometrie-PO4.pdf [online] [cit. 10. 1. 2012].
34	http://www.vscht.cz/anl/lach1/5_Foto.pdf [online] [cit. 4. 4. 2012].
35	http://atmilab.upol.cz/texty/TEM-teorie.pdf [online] [cit. 5. 4. 2012].
36	http://www.vscht.cz/anl/lach1/7_IC.pdf [online] [cit. 5. 4. 2012].
37	http://lms.vscht.cz/Zverze/Infrared.htm [online] [cit. 5. 4. 2012].
38	Munro, C. H.; Smith, W. E.; Garner, M.; Clarkson, J.; White, P. C. <i>Langmuir</i> , 1995, Vol. 11, s. 3712–3720.
39	Šišková, K.; Bečička, O.; Mašek, V.; Šafářová, K.; Zbořil, R. <i>Spacer-free SERRS spectra of unperturbed porphyrin detected at 100 fM concentration in Ag hydrosols prepared by modified Tollens method (pages 689–691)</i> . <i>Journal Raman Spectrosc.</i> 2012, vol. 43, s. 689-816.

Seznam obrázků

Číslo	Autor (HK vlastní obrázek autorky diplomové práce)/Převzato z:	Číslo	Autor:
1.	http://bcf.assic.sinica.edu.tw/zeta.htm	21.	HK
2.	http://atmilab.upol.cz/texty/TEM-teorie.pdf	22.	HK
3.	HK	23.	HK
4.	http://www.indigo.com/models/gphmodel/molymod-glutamine-model.html a http://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Glutamine?uselang=cs	24.	HK
5.	http://www.indigo.com/models/gphmodel/molymod-glutamic-acid-model.html a http://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Glutamic_acid?uselang=cs	25.	HK
6.	HK	26.	HK
7.	HK	27.	HK
8.	HK	28.	HK
9.	obrázek mikroskopu a jeho parametry pro vlastní tabulku převzaty z: http://www.rcptm.com/cs/equipment/current-instrumental-equipment/microscopy-technics/transmisn%C3%AD-elektronov%C3%BD-mikroskop/	29.	HK
10.	HK	30.	HK
11.	HK	31.	HK
12.	HK	32.	HK
13.	HK	33.	HK
14.	HK	34.	HK
15.	HK	35.	HK
16.	HK	36.	HK
17.	HK	37.	HK
18.	HK	38.	HK
19.	HK	39.	HK
20.	HK		

Seznam použitých symbolů a zkratek

A	absorbce, absorbance
Ag	stříbro
AgBh	borohydridový koloid
C	koncentrace látky
D	difuzní koeficient
DLS	dynamický rozptyl světla
E_K	kinetická energie
G1	glukózový koloid
I	intenzita prošlého záření
I_0	intenzita dopadajícího světla
kV	kilovolty
M	hmotnost jedné koloidní částice
M1	maltózový koloid
Mr	molekulová hmotnost látek
mV	milivolty
1N	počet částic v jednotkovém objemu
N	index lomu
N	glutamin
nm	nanometr
Q	vlnový vektor
SERS	povrchově zesílená Ramanova spektroskopie
T	transmitance
T	čas
TEM	transmisní elektronový mikroskop
U	kyselina glutamová
Φ	tok záření
R	hydrodynamický poloměr částic
$\overline{u^2}$	střední čtverec rychlosti translačního pohybu
U	vložené napětí
l	tloušťka vrstvy
α	koeficient deformability
ε	absorpční koeficient, permitivita
η	viskozita kapaliny
θ	úhel rozptylu
λ	vlnová délka
ξ	zeta potenciál
π	osmotický tlak
τ	koeficient turbidity

Přílohy

Příloha č.1: Pouster z konference

10th International Summer School on Physics at Nanoscale

30. 5.–4. 6. 2011 Devět Skal, ČR



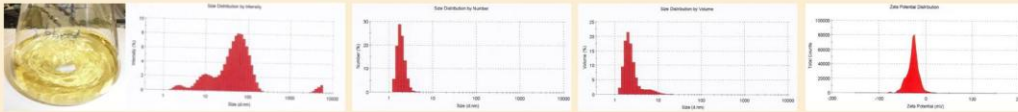
Interaction of Glutamic acid and/or Glutamine with three different types of Ag nanoparticles



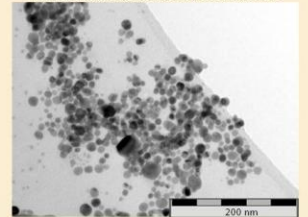
Hana Kubičková
Dept. of Experimental Physics
Palacký University Olomouc

Karolína Šišková
Regional Centre of Advanced Technologies and Materials
Dept. of Physical Chemistry
Palacký University Olomouc

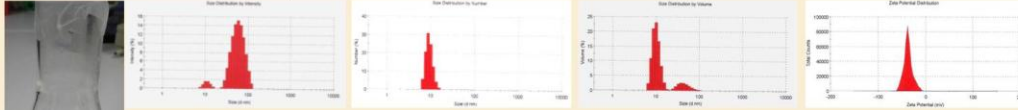
AgBh— Nanoparticles solution prepared by chemical reduction driven by borohydride



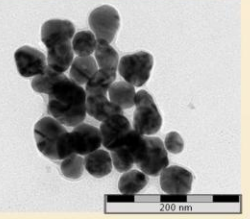
Nanoparticles prepared by borohydride



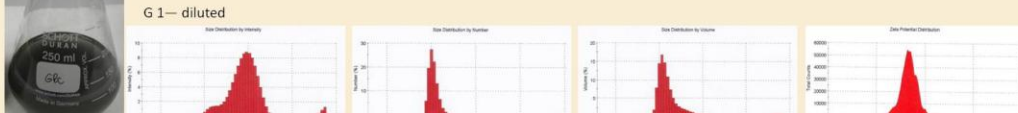
G1— Nanoparticles solution prepared by chemical reduction driven by glucose



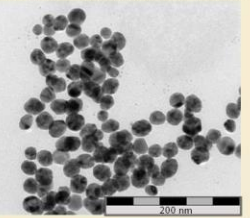
Nanoparticles prepared by reduction using glucose



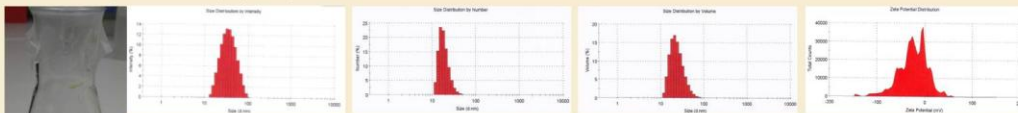
G1— diluted



Nanoparticles prepared by reduction using maltose



M1— Nanoparticles solution prepared by chemical reduction driven by maltose



M1— diluted



System + glutamic acid	Intensity	Volume	Average size
AgBh	84 (79%)	2 (100%)	10 (5%)
AgBh +400 µl	795	634	2052
AgBh +120 µl	100 (5%)	100 (5%)	1070
AgBh +80 µl	154	167	305
AgBh +200 µl	116 (100%)	14 (100%)	21 (100%)

System + glutamic acid	Intensity	Volume	Average size
G1	61 (94%)	50 (1%)	40 (15%)
G1 diluted	11 (0%)	9 (0%)	10 (0%)
G1 diluted +400 µl	52 (0%)	11 (0%)	20 (0%)
G1 diluted +120 µl	146 (100%)	14 (100%)	20 (100%)
G1 diluted +80 µl	84 (1%)	14 (100%)	22 (100%)
G1 diluted +200 µl	400 (100%)	40 (0%)	550 (0%)
G1 diluted +400 µl	50 (0%)	57 (4%)	50 (5%)

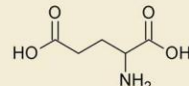
System + glutamic acid	Intensity	Volume	Average size
M1	50 (9%)	20 (100%)	20 (100%)
M1 diluted	26 (100%)	20 (100%)	26 (100%)
M1 diluted +400 µl	35 (100%)	21 (100%)	26 (100%)
M1 diluted +120 µl	54 (100%)	27 (100%)	27 (100%)
M1 diluted +80 µl	41 (0%)	20 (100%)	20 (0%)
M1 diluted +200 µl	627 (1%)	116 (1%)	116 (1%)
M1 diluted +400 µl	72 (0%)	15 (100%)	24 (0%)

System + glutamine	Intensity	Volume	Average size
AgBh	84 (79%)	2 (100%)	10 (5%)
AgBh +400 µl	67 (0%)	2 (100%)	4 (30%)
AgBh +120 µl	503 (99.5%)	382 (100%)	410 (63%)
AgBh +80 µl	107	107	648 (83%)
AgBh +200 µl	465 (94%)	54 (95%)	550 (95%)
AgBh +400 µl	73 (4%)	305 (4%)	305 (4%)

System + glutamine	Intensity	Volume	Average size
M1	20 (0%)	20 (100%)	20 (100%)
M1 diluted	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)
M1 diluted +400 µl	1400	22 (100%)	2320 (2%)
M1 diluted +120 µl	113	21 (100%)	27 (100%)
M1 diluted +80 µl	40	20 (100%)	20 (0%)
M1 diluted +200 µl	4852 (5%)	20 (100%)	4914 (2%)
M1 diluted +400 µl	37 (0%)	40 (100%)	40 (1%)

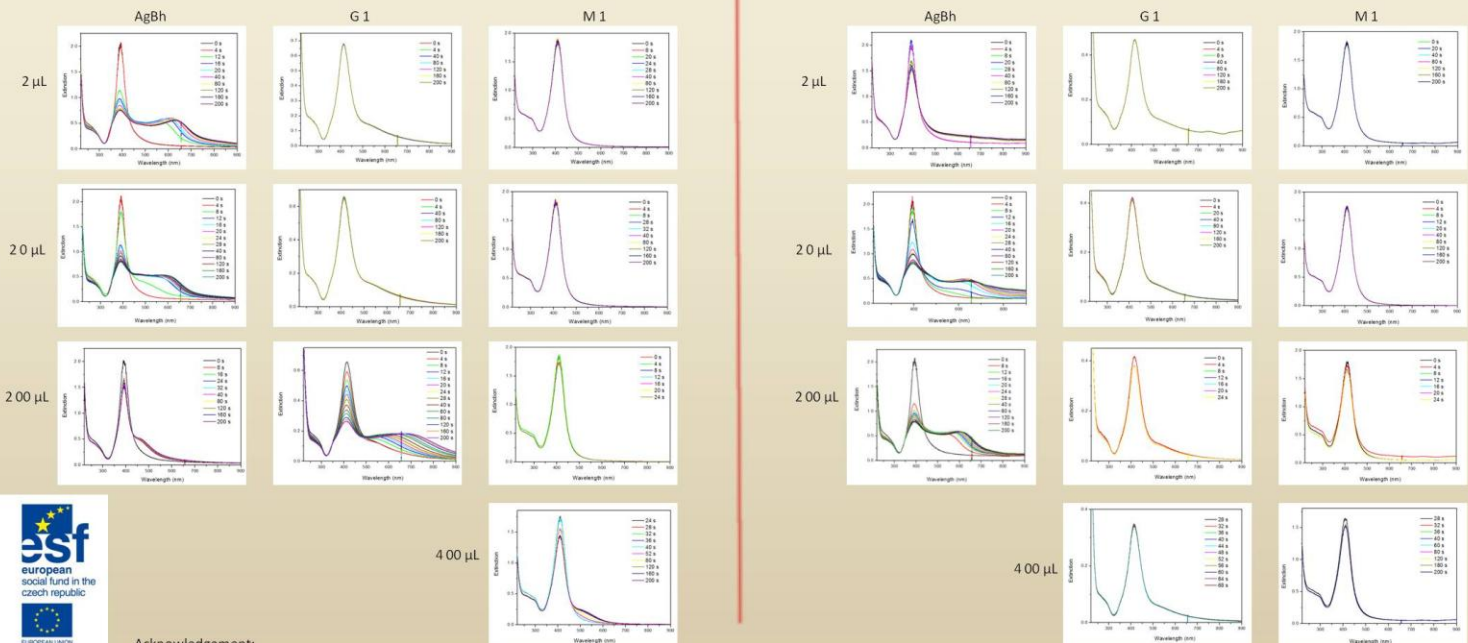
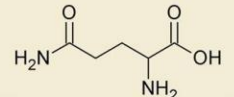
System + glutamine	Intensity	Volume	Average size
G1	81 (4%)	28 (1%)	40 (15%)
G1 diluted	11 (0%)	9 (0%)	10 (0%)
G1 diluted +400 µl	92 (0%)	11 (100%)	20 (0%)
G1 diluted +120 µl	80 (100%)	12	71
G1 diluted +80 µl	20 (0%)	100 (5%)	100 (5%)
G1 diluted +200 µl	120 (0%)	13 (100%)	23 (0%)
G1 diluted +400 µl	401 (1%)	401 (1%)	401 (1%)
G1 diluted +120 µl	130 (0%)	70 (4%)	70 (4%)
G1 diluted +80 µl	20 (0%)	16 (0%)	16 (0%)
G1 diluted +200 µl	200 (1%)	200 (1%)	200 (1%)
G1 diluted +400 µl	127 (0%)	22	41 (0%)
G1 diluted +120 µl	112 (0%)	12	12 (7%)
G1 diluted +80 µl	10 (0%)	10 (0%)	10 (0%)
G1 diluted +200 µl	520 (1%)	540	540 (1%)
G1 diluted +400 µl	15 (0%)	15 (0%)	15 (0%)

System + glutamic acid	Zeta potential
AgBh	-27.4 (99%)
G1	-33.9 (99%)
M1	-28.1 (99%)



Glutamic acid + Ag nanoparticles

Glutamine + Ag nanoparticles



Acknowledgement:
Dr. Klára Šafářová is thanked for TEM imaging.
Financial support by P108/11/P657 Grant awarded by GACR, by the project entitled "Education of Scientists in the Regional Centre of Advanced technologies and Materials" (CZ.1.07/2.3.00/09.0042), and by the project entitled "New technologies in applied physics" (CZ.1.07/2.2.00/07.0018) is gratefully acknowledged.

Outlook:
Surface enhanced Raman scattering and FT-IR absorption measurements of Ag nanoparticles + glutamic acid and/or glutamine in order to determine the type of interaction (ionic, covalent...)

Instrumentation:
TEM = transmission electron microscopy
DLS = dynamic light scattering
UV-vis absorption spectroscopy
ζ-potential measurements

