

Infracrvena spektroskopija asparaginske kiseline

Švigir Stevanović, Stjepko

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:715073>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-09**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



Stjepko Švigir Stevanović

**INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA ASPARAGINSKE
KISELINE**

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Mentor : prof. dr. sc. Vladimir Dananić
Broj indeksa autora: 6196

Zagreb, 20.rujan, 2018.

SAŽETAK RADA

Infracrvena spektroskopija asparaginske kiseline

Snimljen je infracrveni spektar asparaginske kiseline. Dobivene vrpce su identificirane usporedbom s prije objavljenim radovima iz infracrvene spektroskopije aminokiselina i izračunatim frekvencijama vibracija unutar programa Gaussian i GaussView. Potvrđene su zwitterionska struktura i unutarmolekulske vodikove veze.

Svrha zadatka: Analizirati spektar asparaginske kiseline na osnovi njene molekulske strukture te asociirati vibracije sa vrpčama u dobivenom spektru.

Ključne riječi: spektroskopija, infracrvena spektroskopija, asparaginska kiselina, zwitterion, molekulska struktura, vodikove veze, vibracije, vrpce

ABSTRACT

Infrared spectroscopy of aspartic acid

The infrared spectrum of aspartic acid was recorded and measured. The obtained ribbons were identified by comparison with previously published papers from the infrared spectroscopy of amino acids and calculated vibration frequencies within the Gaussian and GaussView programs. The zwitterionic structure and the intramolecular hydrogen bonds were confirmed.

Goal: The analysis of the asparagine acid spectrum on the basis of its molecular structure and associate the vibration with the bands in the obtained spectrum.

Keywords: spectroscopy, infrared spectroscopy, aspartic acid, zwitterion, molecular structure, hydrogen bonds, vibrations, ribbons

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1 Infracrvena spektroskopija	2
2.2 Infracrveni spektar.....	4
2.3. Asparaginska kiselina.....	5
2.3.1 Molekulska struktura.....	5
2.3.2 Vrpce Aspariginske kiseline u infracrvenom spektru	6
2.4. Zwitterionska struktura	8
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	10
3.1 Infracrveni spektar.....	10
3.2 Računalno sučelje za analizu vibracija.....	10
4. REZULTATI.....	11
5. RASPRAVA.....	12
5.1 Općenito o spektru	12
5.2 Zwitterion struktura i vodikove veze u spektru.....	12
5.3. Asocijacija frekvencija i vibracija.....	14
5.3.1 Područje visoke frekvencije($3500-1800\text{ cm}^{-1}$)	14
5.3.2 Područje srednje frekvencije ($1800-1000\text{cm}^{-1}$)	16
5.3.3 Područje niske frekvencije ($<1000\text{ cm}^{-1}$)	18
6. ZAKLJUČAK	19
LITERATURA.....	20
POPIS TABLICA.....	21
POPIS ILUSTRACIJA.....	22

1. UVOD

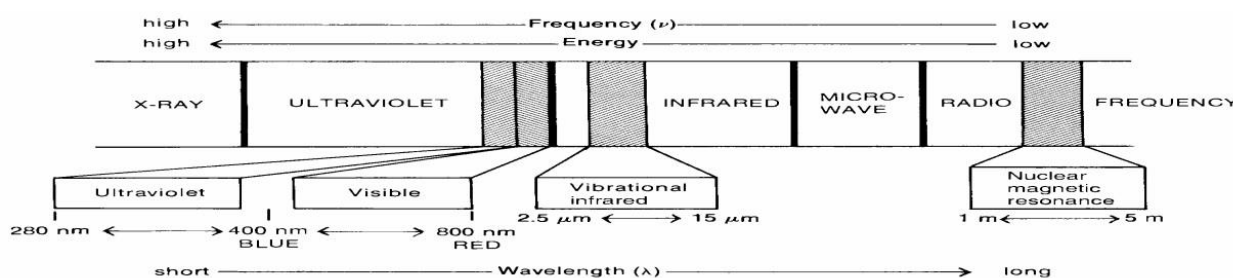
Infracrvena spektroskopija je osnovni alat svakog kemičara, te je kroz godine korištena za definiciju apsolutne molekulske strukture kompleksnih organskih spojeva. Od kompleksnih organskih spojeva za život, točnije biokemijski ciklus živih organizama, najbitnija je skupina aminokiselina. Aminokiseline su gradivne jedinice proteina pa su samim time mnoge spektroskopske analize usmjerene u svrhu proučavanja njihove molekularne strukture. Proteini su glavni akteri u većini biokemijskih procesa. Oni kataliziraju sve promjene u staničnom metabolizmu pa je temeljno poznavanje njihove strukture, odnosno strukture aminokiselina, presudno u razvitku biokemije. Asparaginska kiselina, kojom se bavi ovaj rad, je polarna aminokiselina, jedna od dvije aminokiseline koje imaju kiseli ogranak. U svojoj strukturi osim karboksilne skupine aminokiselina sadrži COOH skupinu u svom R ogranku. U organizmu, asparaginska kiselina donira amino skupinu u ciklusu uree, biosintezi purina, te sudjeluje i u biosintezi pirimidina.^[1] Asparaginska se, uz drugu kiselu aminokiselinu, glutaminsku kiselinu, nalazi u velikim količinama u centralnom živčanom sustavu sisavaca.^[2] U forenzici i arheologiji, asparaginska kiselina primjenjuje se u određivanju životnog vijeka organizama analizom njihovih kostiju ili fosiliziranih ostataka.^[3-4] U posljednje vrijeme, asparaginska kiselina koristi se i kao polimer, poli(asparaginska kiselina) (PAA), kao zamjena za druge polimere koji nisu biorazgradivi.^[5]

U ovom radu, analizirat ćemo infracrveni spektar L-Asparaginske kiseline, ali i utjecaj zwitterionske strukture i unutarmolekulskih vodikovih veza u apsorpciji infracrvene svjetlosti.

2. OPĆI DIO

2.1 Infracrvena spektroskopija

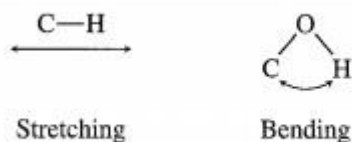
Infracrvena (IR) spektroskopija instrumentalna je metoda za detekciju, odnosno identifikaciju funkcionalnih skupina prisutnih u molekuli. Kada govorimo o IR spektroskopiji, podrazumijevamo područje spektra elektromagnetskog zračenja u rasponu od 2,5-15,0 mm (Slika 1).



Slika 1. Spektar elektromagnetskog zračenja^[6]

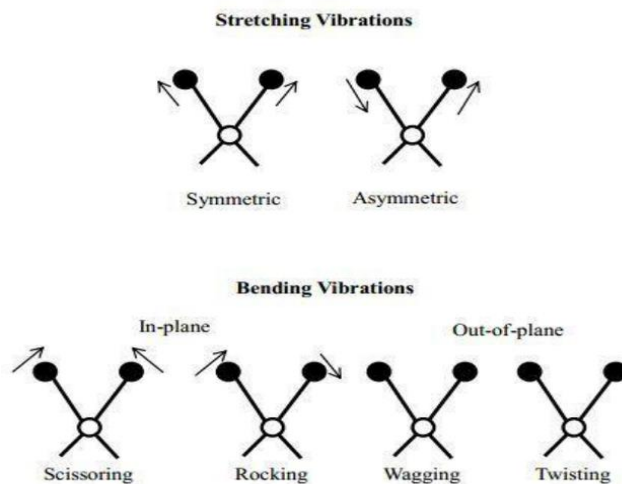
IR spektar je snimka apsorbiranog svjetla kao funkcija valne duljine. Apsorbira se samo svjetlo čija se frekvencija podudara s frekvencijom vibracija veze u molekuli, odnosno frekvencije radijacije i vibracije moraju biti iste da bi došlo do apsorpcije. Faktori koji određuju apsorpcijski položaj su jačina veze, masa atoma u vezi (uz istu jakost veze) i vrsta vibracije, a jačinu veze određujemo iz energija disocijacije molekule promatrane molekule.

Najjednostavnija podjela vibracija je: - RASTEZANJE (STRETCHING), kojima odgovaraju veće vrijednosti valnog broja i - SVIJANJE (BENDING ili deformacijske vibracije), kojima odgovaraju niži valni brojevi, a koje mogu biti simetrične i asimetrične. (Slika 2.)



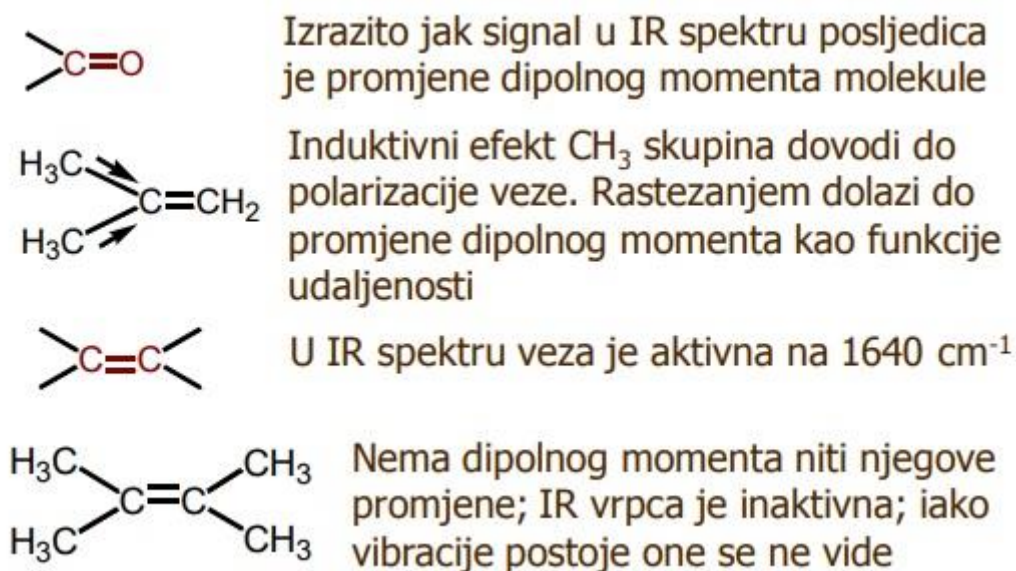
Slika 2. Jednostavne vrste vibracija.

Nadalje vibracije svijanja se mogu podijeliti i na kompleksnije vrste:- STRIŽNA VIBRACIJA(SCISSORING), LJULJANJE(ROCKING), NJIHANJE (WAGGING) i UVIJANJE (TWISTING)



Slika 3. Sve vrste vibracija

Na slici 4. opisane su karakteristike nekih specifičnih vrpci koje se pojavljuju pri snimanju IR spektara, te su dati njihovi karakteristični odzivi:



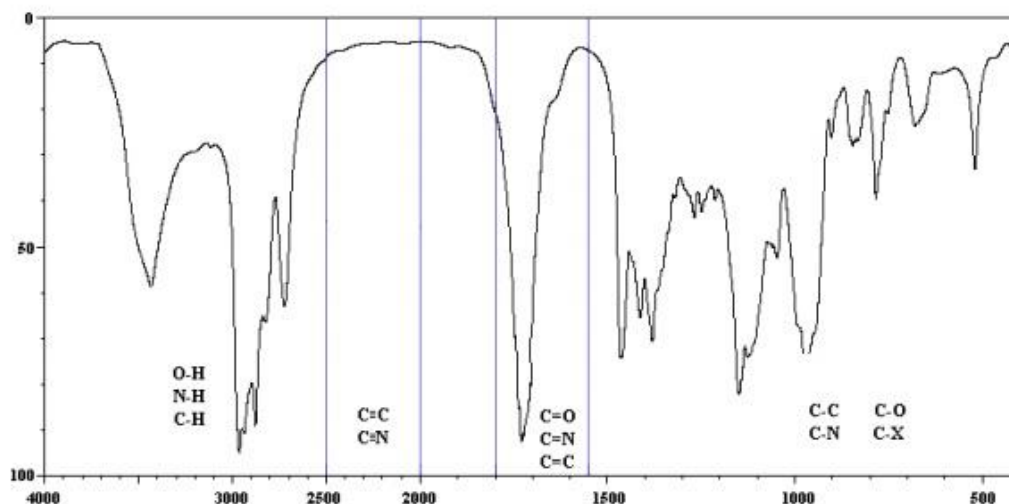
Slika 4. Prikaz karakterističnih vrpci u IR spektrima^[7]

Kako smo vidjeli, postoje različite vrste vibracija rastezanja i svijanja uzrokovanih apsorpcijom energije infracrvenog spektra. Stvarne relativne frekvencije vibracija mogu se predvidjeti. Veze s “lakšim” atomima vibriraju uvijek brže od onih s “težim” atomima.

Trostruke veze (koje su jače) vibriraju pri višim frekvencijama od dvostrukih veza, dok dvostruke veze vibriraju pri višim frekvencijama od jednostrukih veza.

2.2 Infracrveni spektar

Infracrveni spektar (Slika 5.) prikazuje karakteristične vrpce funkcionalnih skupina u točno unaprijed definiranim područjima valnih brojeva, prilikom čega je na apscisi uvijek valni broj (cm^{-1}), a na ordinati apsorbancija (%).



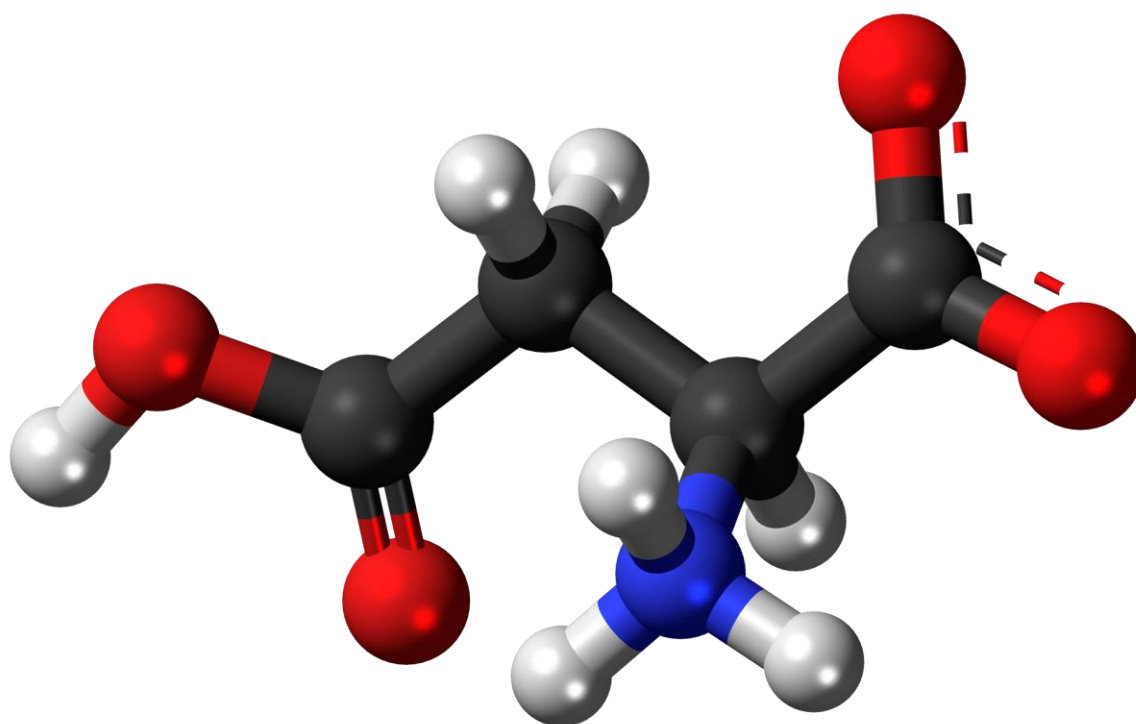
Slika 5. Infracrveni (IR) spektar.

Područje od $500\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ naziva se područje “otiska prsta” (fingerprint region) i prema njemu se sa potpunom sigurnošću može tvrditi radi li se o identičnoj molekuli ili ne, uspoređujući dva infracrvena spektra. IR spektar molekule obično sadrži veliki broj pikova. Dodatni pikovi rezultat su preklopljenih (overtone, harmonic) pikova koji su slabiji i niže frekvencije, a kaže se da je jedan infracrveni spektar zapravo otisak prsta cijele molekule jer je jedinstven za pojedinu molekulu. Kada govorimo o interpretaciji IR spektara, treba naglasiti da se općenito samo određeni signali interpretiraju u IR spektrima, te se nikada ne pripisuju sve vrpce nekoj funkcionalnoj skupini. Zapravo se iz podataka o valnom broju na kojima se pojavljuju određene vrpce pri definiranim područjima IR spektra, definira tip molekule, vrsta veze koja u promatranoj molekuli postoji. Na taj način, nepoznata molekula, može se svrstati u određenu skupinu molekula prema posjedovanju karakterističnih veza/skupina, ali se nikako ne može donijeti interpretacijom IR spektra zaključak o kompletnoj strukturi ispitivane molekule. Za tako nešto, potrebno je kombinirati informacije prikupljene analizom rezultata drugih spektroskopskih/spektrometrijskih tehnika.

2.3. Asparaginska kiselina

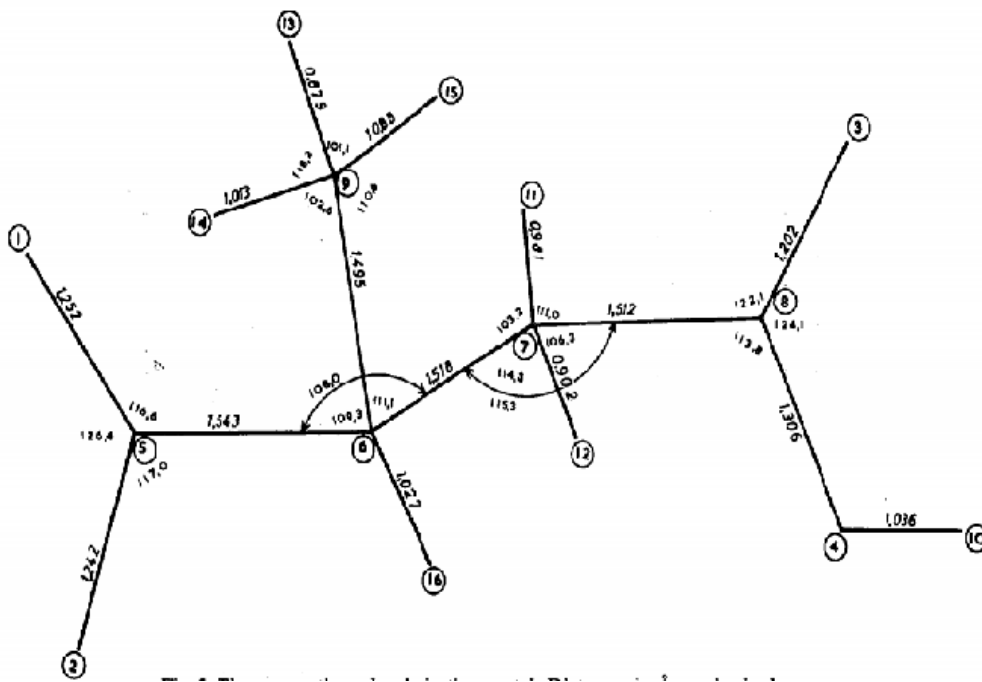
Asparaginska kiselina je kisela aminokiselina, jedna od dvije aminokiseline koje u svojim R ograncima sadrže karboksilnu skupinu, druga je glutaminska kiselina. Karboksilna skupina u pomoćnim lancima su slabijih kiselih svojstva od α -COOH skupine, ali dovoljno su kisele da egzistiraju kao COO^- u pH neutralnom području. Taj oblik asparaginske kiseline naziva se Asparat. Negativno nabijene aminokiseline (asparaginska i glutaminska kiselina) imaju važnu ulogu u proteinima. Proteini koji iz funkcionalnih ili strukturalnih razloga vežu metalne ione, imaju jedan ili više pomoćnih lanaca koji sadrže glutamate ili asparatate.^[1]

2.3.1 Molekulska struktura



Slika 6. Molekulska struktura asparaginske kiseline

U molekularnoj strukturi, ionizirana i neionizirana karboksilna skupina se lako mogu razlikovati. U ioniziranoj karboksilnoj skupini C-O udaljenosti izmjerene su duljine 1.242 i 1.252 Å, a u neioniziranoj 1202 i 1306 Å. Slične udaljenosti mogu se vidjeti i u aminomalonskim kiselinama. Kutovi između COO^- i COOH ravnina su 34.8° . Udaljenost N(9)-O(1) je 2,737 Å unutar molekule, što je kraće čak i od duljine vodikovih veza unutar molekula od N do O. C-N veza je pod kutom od 33.9° u odnosu na ravninu C(6)-C(5)-O(1)-O(2). Ugljikov lanac je približno planaran. C-C veze su sve iste duljine, osim veze koja uključuje C atom neionizirane karboksilne skupine, koja je bitno kraća od ostalih.^[8]

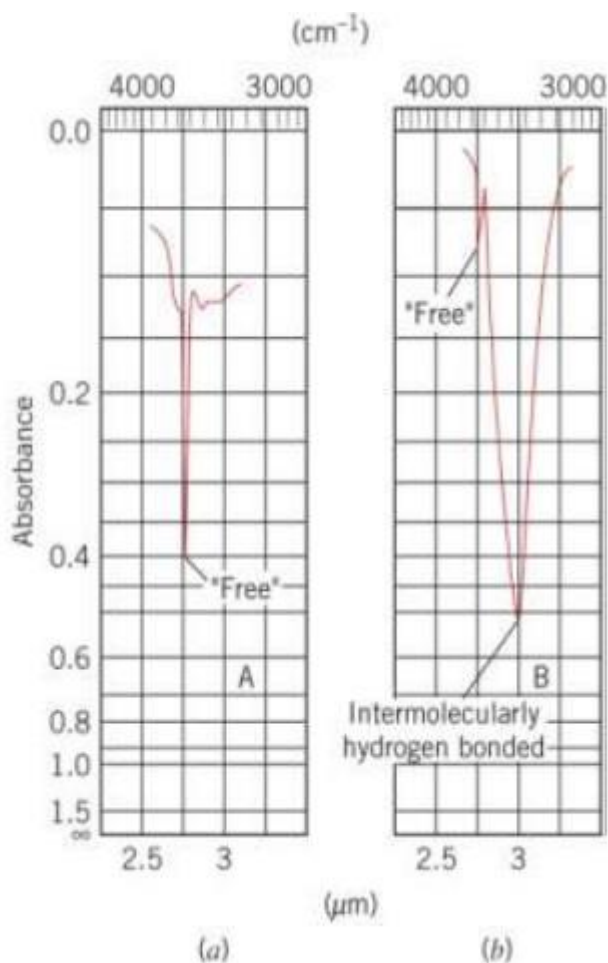


Slika 7. Molekulska struktura asparaginske kiseline s odgovarajućim kutovima i duljinama veza^[8]

2.3.2 Vrpce Asparaginske kiseline u infracrvenom spektru

Od vibracijskih deformacija u asparaginskoj kiseline, najlakše će se moći očitati specifične vrpce rastezanja O-H, N-H i C=O veza.

Apsorpcija vibracija O-H rastezanja veoma je karakteristična. U vrlo razrijeđenim otopinama, vodikove veze su odsutne, te se javlja jako oštar signal kod 3590-3650 cm^{-1} (Slika 8, (a)). U koncentriranijim otopinama, hidroksilne skupine su vodikovim vezama povezane jedna s drugom, te se javlja veoma širok i velik signal kod 3200-3550 cm^{-1} (Slika 8, (b)).

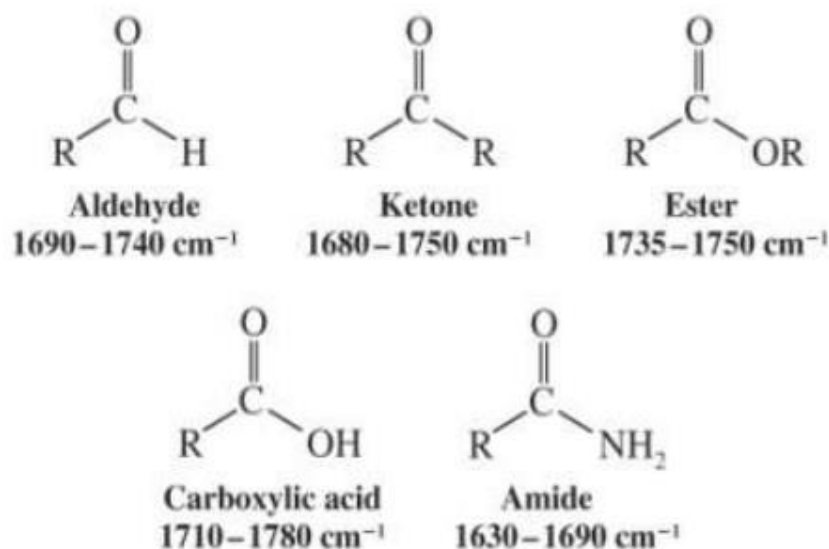


Slika 8. Vibracija OH rastezanja u infracrvenom spektru^[6]

Kada se promatraju amini i amidi, najveća pozornost u interpretaciji IR spektra posvećuje se vrpci vibracije N-H veza. Veoma razrijeđena otopina 1° i 2° amina pokazuje oštre signale kod 3300-3500 cm⁻¹ za vibracije istežanja N-H veza. Dok 1° amini daju dva signala (simetričnu i asimetričnu vibraciju), 2° amini pokazuju samo jedan pik zbog postojanja samo jedne N-H veze. Jako je važno voditi računa o činjenici da 3° amini nemaju N-H veze te ne apsorbiraju u ovom području i ne pokazuju nikakvu vrpcu u karakterističnom području. Pri tome, koncentriranije otopine amina pokazuju šire signale zbog postojanja intermolekulskih vodikovih veza. Što se amida tiče, oni imaju signale za vibracije istežanja N-H skupine i uz to i signal za karbonilni pik, I samo potvrda oba ova signala je jednoznačan dokaz postojanja amida u ispitivanom uzorku.

Općenito, karbonilna skupina daje jaki signal rastezanja koji se pojavljuje na 1630-1780 cm⁻¹. Potpuno precizno mjesto signala ovisi o stvarnoj prisutnoj funkcionalnoj skupini, te o tome o kojem tipu karbonilnog spoja je riječ (Slika 9), o aldehidu, ketonu, esteru, karboksilnoj kiselini ili amidu. Sve ove skupine organskih spojeva posjeduju karbonilnu skupinu, no ne

daju u potpuno istom području signal za vibraciju rastezanja dvostruke C-O veze, zbog ostatka molekule koji se razlikuje. Bitno je napomenuti da je kod karboksilnih kiselina, uz karbonilnu skupinu, bitno identificirati i vrpce za hidroksilnu skupinu, a kod amida i vrpce/vrpce za N-H vibracije.^[7]

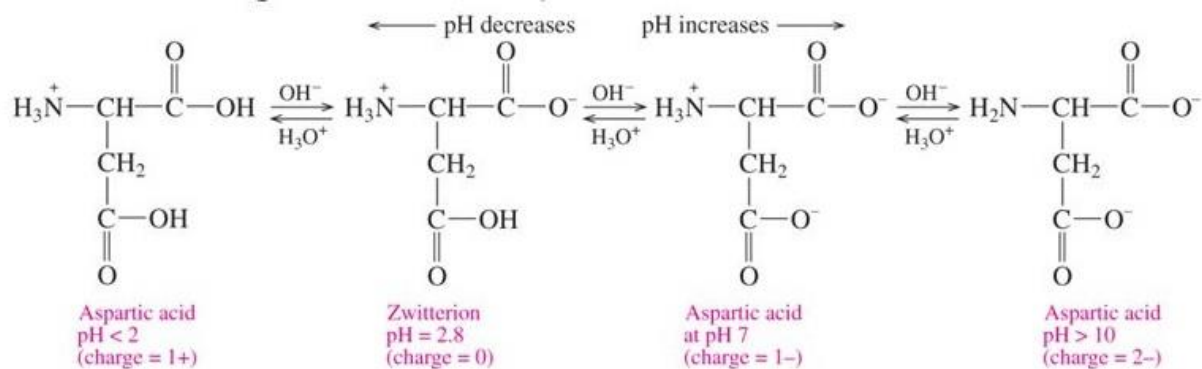


Slika 9. Područja vrpce karbonilne skupine ovisno o skupini karbonilnog spoja^[6]

Naravno, pri promatranju spektra moramo uzeti u obzir da je naša molekula kompleksna te da će se sukladno tome vrpce pomicati u lijevo ili desno ovisno o unutarmolekulskim interakcijama između atoma. U molekuli asparaginske kiseline nalazimo zwitterionsku struktura koja bitno utječe na oblik spektra.

2.4. Zwitterionska struktura

Amino i karboksilne skupine aminokiselina se lako ioniziraju. Karboksilne skupine imaju jako niski pK oko 2-3 a α -amino skupine (pK₂) oko 9-10. Zato pri neutralnom pH amino skupine su protonirane, a karboksilne su u obliku svoje konjugirane baze (karboksilati). Aminokiseline zbog toga imaju amfoterna svojstva (mogu biti i kiseline i baze). Molekule kao što su aminokiseline koje imaju dve nabijene skupine različitih polova, nazivaju se dipolarnim ionima ili **zwitterionima**. Amino kiseline, kao i druge ionske tvari, topljivije su u polarnim, nego nepolarnim otapalima.^[9]



Slika 10. Ionska struktura asparaginske kiseline u ovisnosti o pH

Ovakva struktura omogućava unutarmolekulske vodikove veze N-H···O i O-H···O zbog kojih će cijeli spektar biti pomaknut prema nižim frekvencijama. Također, u spektru će se moći jasno razlikovati C-O rastezanja ionizirane i neionizirane karboksilne skupine.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

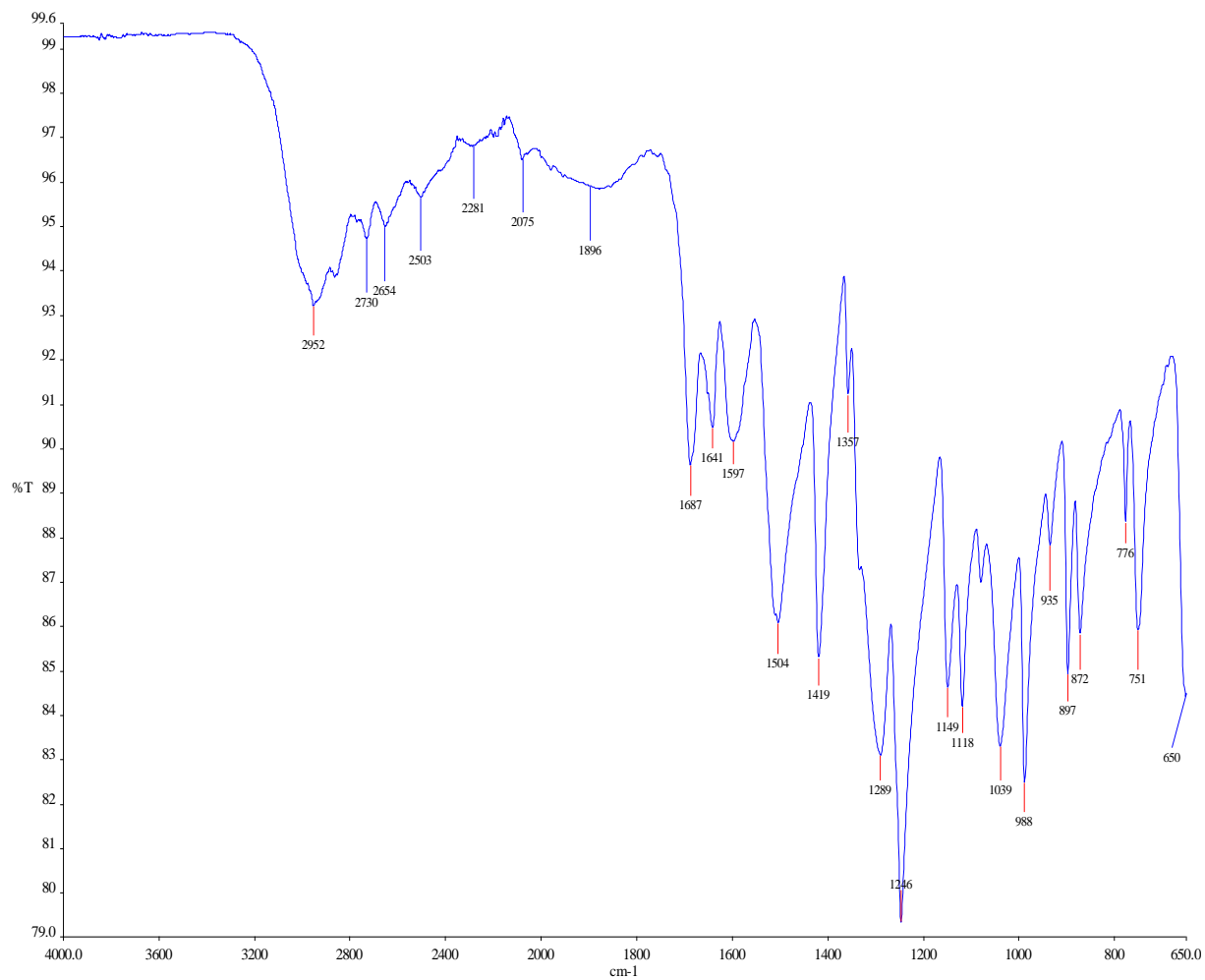
3.1 Infracrveni spektar

Infracrveni spektar aspariginske kiseline snimljen je na FTIR spektrofotometru Spectrum One, Perkin Elmer. Pripravljena asparaginska kiselina smještena je u KBr pločicu i snimljen je spektar od 4000 cm^{-3} do 650 cm^{-3} .

3.2 Računalno sučelje za analizu vibracija

Vibracije su izračunate u programima Gaussian(0.9.0) i GaussView (5.0.8.), koji simuliraju vibracije veza unutar molekule prilikom infracrvene pobude, te ih prikazuju vizualno. Za usporedbu koriste se molekule asparaginske kiseline u sredstvu dielektrične konstante 3 (Asp ($\epsilon=3$)) kako bi se molekula nalazila u zwitterionskom obliku i dimer asparaginske kiseline.

4. REZULTATI



Slika 11. Snimljeni infracrveni spektar asparaginske kiseline

5. RASPRAVA

5.1 Općenito o spektru

Molekula asparaginske kiseline sastoji se od 16 atoma s 42 vrste vibracija veza. S obzirom da ne postoji nijedan simetričan element u molekuli, odnosno ona pripada C_1 skupini, sve vibracije su aktivne i u infracrvenom i u Raman spektru. Neke od tih vibracija uobičajeno se grupiraju s obzirom da dolaze od iste vrste veza.^[10] U završnom radu, u tablici 1. nalazimo sve vrste vibracija unutar molekule asparaginske kiseline nakon infracrvene pobude, s pripadajućim simbolima. U rubrici **broj** nalazi se broj načina vibracija. Frekvencije i intenziteti vrpca dobivenog spektra prikazani su u tablicama 2-4.

5.2 Zwitterion struktura i vodikove veze u spektru

Kao što priliči amino kiselinama, molekulu asparaginske kiseline moramo promatrati uzimajući u obzir zwitterionsku strukturu ($\text{HOOC-CH}_2\text{-CH(NH}_3^+)\text{-COO}^-$). Zbog toga treba očekivati vrpce koje koreliraju sa ioniziranim i neioniziranim karboksilnim skupinama, te da usprkos tome što su veze između ugljika koplanarne, postoji bitna razlika u duljini C-C veza: neionizirana karboksilna skupina (COOH) sa susjednim C atomom kraća je od drugih. Iz NH_3^+ , COO^- i COOH unutar molekule formiraju se vodikove veze što će također utjecati na spektar.

Tablica 1. Opis osnovnih vibracija aspariginske kiseline nastalih infracrvenom pobudom^[10]

Opis	Broj	Simbol
CH₂ rastezanje	2	$\nu(\text{CH}_2)$
CH₂ svijanje	1	$\delta(\text{CH}_2)$
CH₂ njihanje	1	$\omega(\text{CH}_2)$
CH₂ uvijanje	1	$t(\text{CH}_2)$
CH₂ ljuljanje	1	$r(\text{CH}_2)$
CH rastezanje	1	$\nu(\text{CH})$
CH svijanje	2	$\delta(\text{CH})$
NH₃⁺ rastezanje	3	$\nu(\text{NH}_3^+)$
NH₃⁺ svijanje	3	$\delta(\text{NH}_3^+)$
NH₃⁺ ljuljanje	2	$r(\text{NH}_3^+)$
NH₃⁺ torzija	1	$\tau(\text{NH}_3^+)$
OH rastezanje	1	$\nu(\text{OH})$
OH svijanje u ravnini	1	$\delta(\text{OH})$
OH svijanje van ravnine	1	$\gamma(\text{OH})$
CO₂⁻ rastezanje	2	$\nu(\text{CO}_2^-)$
CO₂⁻ svijanje u ravnini	2	$\delta(\text{CO}_2^-)$
CO₂⁻ svijanje van ravnine	1	$\gamma(\text{OCO}^-)$
CO₂⁻ torzija	1	$\tau(\text{CO}_2^-)$
C=O rastezanje	1	$\nu(\text{C=O})$
C-O rastezanje	1	$\nu(\text{C-O})$
COOH svijanje u ravnini	2	$\delta(\text{COOH})$
COOH svijanje van ravnine	1	$\gamma(\text{HOCC})$
CN rastezanje	1	$\nu(\text{skel})$
CCN rastezanje	2	$\nu(\text{skel})$
CC rastezanje	3	$\nu(\text{skel})$
CCC svijanje	2	$\delta(\text{skel})$
CC torzija	2	$\tau(\text{skel})$

* ν : rastezanje; δ : svijanje u ravnini; γ : svijanje van ravnine; τ : torzija; ω : njihanje; r : ljuljanje; t : uvijanje; skel: dio kostura.

5.3. Asocijacija frekvencija i vibracija

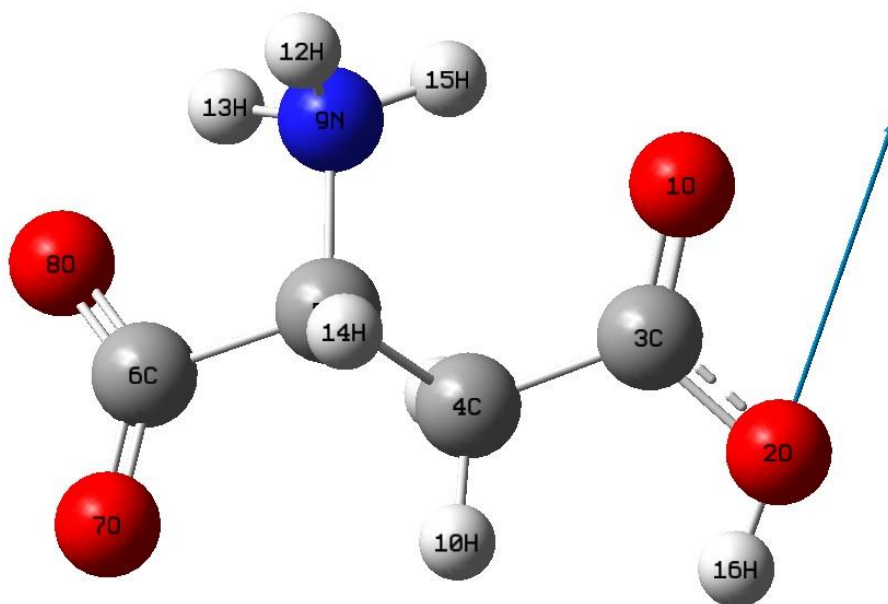
Rasprava o spektru odvijat će se u tri skupine podijeljene na osnovi raspona frekvencija u spektru. Spektar je podijeljen na tri područja: područje visoke frekvencije (3500-1800 cm^{-1}), područje srednje frekvencije (1800-1000 cm^{-1}), te područje niske frekvencije (ispod 1000 cm^{-1}).

5.3.1 Područje visoke frekvencije(3500-1800 cm^{-1})

Tablica 2. Vrpce iz područja visoke frekvencije

Frekvencija(cm^{-1})	Asocirana vibracija
2952	$\nu(\text{OH})$
2730	$\nu_a(\text{NH}_3^+)$
2654	$\nu_s(\text{NH}_3^+)$
2503	$\nu(\text{CH})$
2281	$\nu_a(\text{CH}_2)$
2075	$\nu_s(\text{CH}_2)$
1896	$\nu_3(\text{NH}_3^+)$

Ovo područje frekvencija povezuje se s vibracijama rastezanja jer ovdje još nije dovoljno velika energija za druge vibracije. Prvo što primjećujemo je široka vrpca na 2952 cm^{-1} , koji sigurno odgovara vibraciji rastezanja OH veze ($\nu(\text{OH})$) zbog svoje širine. Široka vrpca OH stvara probleme u identificiranju drugih vibracija u ovome području.



Slika 12. Rastezanje OH skupine(2952 cm^{-1})

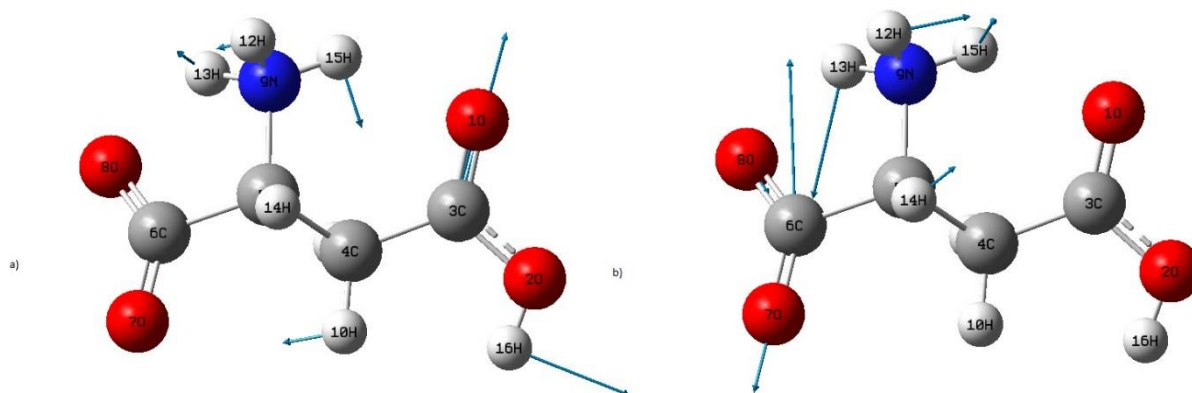
U programu Gaussian izračunate su frekvencije za vibracije bitno veće nego one u realnom uzorku, što je normalno s obzirom da program ne uzima da u realnoj analizi ima više molekula, pa je utjecaj vodikovih veza bitno jači. Za usporedbu u ovom području koristit će se molekula asparaginske kiseline u sredstvu dielektrične konstante 3 i dimer asparaginske kiseline. Vrpce za dimer su u duplikatu jer su dvije molekule, pa tako u ovom području nalazimo $\nu(\text{OH})$ na 3794 za Asp ($\epsilon=3$) i 3755 i 3745 cm^{-1} za dimer. Vrpca asimetričnog rastezanja NH_3^+ ($\nu_a(\text{NH}_3^+)$) nalaze se na 3521; 3411 i 3458 cm^{-1} , a simetričnog ($\nu_s(\text{NH}_3^+)$) na 3368;3336 i 3275 cm^{-1} . Vrpce rastezanja CH skupine ($\nu(\text{CH})$) nalaze se na 3127; 3118 i 3112 cm^{-1} . Vrpce asimetričnog rastezanja CH_2 skupine ($\nu_a(\text{CH}_2)$) nalaze se na 3109; 3076 i 3069 cm^{-1} , a simetričnog ($\nu_s(\text{CH}_2)$) 3031; 3042 i 2999; . S tim rezultatima možemo utvrditi da su vrpce na "ramenu" široke $\nu(\text{OH})$ vrpce redom asimetrično rastezanje NH_3^+ skupine (2730 cm^{-1}), simetrično rastezanje NH_3^+ (2645 cm^{-1}), rastezanja CH skupine (2503 cm^{-1}), asimetrično rastezanje CH_2 (2281 cm^{-1}) i simetrično rastezanje CH_2 skupine (2075 cm^{-1}). Također, obje molekule pokazuju jednu slabu vrpcu (2983; 2968 i 2672 cm^{-1}), koji odgovara trećem načinu rastezanja NH_3^+ skupine koji ćemo označiti sa $\nu_3(\text{NH}_3^+)$, koji se na dobivenom spektru može isčitati na 1896 cm^{-1} .

5.3.2 Područje srednje frekvencije (1800-1000cm⁻¹)

Tablica 3. Vrpce iz područja srednje frekvencije

Frekvencija(cm ⁻¹)	Asocirana vibracija
1687	$\nu(\text{C}=\text{O})$
1641	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$
1597	$\nu_a(\text{CO}_2^-)$
1504	$\delta_s(\text{NH}_3^+)$
1419	$\nu_s(\text{CO}_2^-)$
1357	$\omega(\text{CH}_2)$
1289	$\delta(\text{CH}_2)$
1246	$\delta(\text{CH}_2)$
1149	$r(\text{NH}_3^+)$
1118	$r(\text{NH}_3^+)$
1039	$\nu(\text{skel})$

U spektroskopiji se ovo područje, zajedno sa područjem niske frekvencije, naziva "otiskom prsta", pa je logično da ćemo ovdje pronaći i puno vrpca koje nam pomažu u identificiranju strukture molekule. Vrpca koja odgovara frekvenciji 1687 cm⁻¹ definitivno pripada rastezanju C=O veze jer je takva snažna vrpca blizu 1700 cm⁻¹ primijećena kod svih karboksilnih kiselina^[6], a vrpca na 1597cm⁻¹ pripada asimetričnom rastezanju karboksilatne skupine kojeg uočavamo kod svih amino kiselina u zwitter ion obliku.^[11]



Slika 13. Različite vrste rastezanja C=O skupine u zwitterionskom obliku: a) C=O rastezanje neionizirane karboksilne skupine(1687 cm^{-1}) b) C=O rastezanje ionizirane karboksilatne skupine (1597 cm^{-1})

Na osnovi podataka za glutaminsku kiselinu (1663 cm^{-1})^[12] i alanin (1645 i 1625 cm^{-1})^[13] kao i kod ostalih amino kiselina, vrpca u tom području može se pripisati antisimetričnoj vibraciji svijanja NH_3^+ . Uz to, možemo zaključiti da vrpca pri frekvenciji 1504 cm^{-1} pripada svijanju NH_3^+ , ovoga puta simetričnom. Za sve aminokiseline imamo podatak o vrpici na oko 1420 cm^{-1} koji pripada simetričnom rastezanju COO^- skupine^[11], a on se u našem spektru nalazi na 1419 cm^{-1} . CH_2 vibracija njihanja čita se na spektru na oko 1350 cm^{-1} , kod nas je ta vrpca na 1357 cm^{-1} .^[11] Iz podataka za glutaminsku kiselinu (1154 i 1127 cm^{-1}), vrpce na 1149 i 1118 cm^{-1} zbog njihove blizine i mjesta na kojem se nalaze u spektru pripisujemo vibraciji njihanja NH_3^+ veze. Svijanja CH_2 skupine u pravilu trebala bi se očitavati na oko 1450 cm^{-1} , 1300 cm^{-1} i 1250 cm^{-1} ^[14]. Generalno, vrpca na 1450 cm^{-1} često je preslaba u aminokiselinama zbog prisutnosti vrpce na 1420 cm^{-1} koja se pripisuje vibraciji rastezanja COO^- skupine. Takve vrpce kod nas vidimo na 1289 i 1247 cm^{-1} , a vrpca na oko 1450 cm^{-1} je zasjenjena. Vrpce između 950 i 1100 asociraju se s istežanjima kostura molekule, no ne možemo točno odrediti radi li se o CC, CN ili CCC za pojedinu vrpca bez daljnje analize^[10].

5.3.3 Područje niske frekvencije (<1000 cm⁻¹)

Tablica 4. Vrpce iz područja niske frekvencije

Frekvencija (cm ⁻¹)	Asocirana vibracija
988	ν(skel)
935	γ(OH)
897	ν(skel)
872	r(CH ₂)
776	γ(OCO ⁻)
751	δ(CO ₂ ⁻)
650	δ(COOH)

Kao što smo već spomenuli, vrpce između 950 i 1100 asociraju se s rastezanjima kostura(ν(skel)) molekule pa zato vrpca na 988 cm⁻¹ također možemo asocirati s tom vibracijom. Sukladno spektru za glutaminsku kiselinu ^[12], vrpca na 935 cm⁻¹ može se asocirati sa svijanjem van ravnine hidroksilne skupine, dok se u glutaminskoj kiselini ta vrpca nalazi na 942 cm⁻¹. Za daljnje promatranje vrpce koristi se program Gaussian. U Gaussianu, nakon vrpce svijanja van ravnine OH skupine (Asp (ε=3) 923cm⁻¹; dimer 924,920 cm⁻¹), izračun govori da se javlja skeletalno rastezanje (ν(skel)) na 861 cm⁻¹; 875 i 873 cm⁻¹, zatim CH₂ ljuljanje (r(CH₂)) na 845; 847 i 844 cm⁻¹. U našem spektru u području između 900 i 800 cm⁻¹, pojavljuju se također dvije vrpce, pa zato možemo asocirati vrpca na 897 cm⁻¹ sa skeletalnim rastezanjem, a vrpca na 872 cm⁻¹ sa CH₂ ljuljanjem. U Asp(ε=3) izračunate su zatim vrpce na 767 i 734 cm⁻¹ koje odgovaraju svijanju izvan i unutar ravnine CO₂⁻ skupine (γ(OCO⁻) i δ(CO₂⁻)). Kod dimera se ta svijanja nalaze na 770 i 768 cm⁻¹((γ(OCO⁻)) i 700 i 676 cm⁻¹ (δ(CO₂⁻)). Pomak od 34 odnosno 68 cm⁻¹ može se pripisati međumolekulskim vodikovim vezama na atomima kisika u dimeru. U našem spektru to ponašanje odgovara vrpca na 776 i 751 cm⁻¹. Vrpca na 650 cm⁻¹ odgovara svijanju COOH (δ(COOH)) koje se u Asp(ε=3) nalazi na 660 cm⁻¹, a u dimeru na 658 i 656 cm⁻¹.

6. ZAKLJUČAK

Snimljen je IR spektar asparaginske kiseline u KBr pločici. Na osnovi računalnih simulacija i drugih radova iz infracrvene spektroskopije, identificirane su osnovne frekvencije pri kojima vibriraju veze unutar molekule. Rezultati se poklapaju sa pretpostavkama o zwitterionskoj strukturi i vodikovim vezama unutar molekule asparaginske kiseline. Postojanje vodikovih veza se, u spektru, može vidjeti u području visoke frekvencije, gdje njihova prisutnost pomiče vibracijska rastezanja u smjeru nižih frekvencija od izračunatih u računalnom sučelju. U području srednje frekvencije, vibracijske vrpce su u skladu sa drugim radovima na temu infracrvene spektroskopije aminokiselina. Zwitterionska struktura potvrđena je postojanjem 2 različita vrha za karboksilnu skupinu. Na 1687cm^{-1} nalazimo vrpcu za rastezanje neionizirane, a na 1597cm^{-1} ionizirane karboksilne skupine. U području niske frekvencije, vrpce pokazuju mješoviti karakter, pa su analizirane u usporedbi sa kompjuterskom simulacijom vibracija unutar molekule asparaginske kiseline.

LITERATURA

- [1] Garrett, R. H., & Grisham, C. M. (2010). *Biochemistry*.
- [2] Johnson, J.L.(1978). *Progress in Neurobiology, Volume 10, Issue 3, 1978* 155-202
- [3] Bada, J.L. & Reiner P. (1973) *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70 (5), 1331-1334
- [4] Ogino, T., Ogino, H. & Nagy, B. (1985). *Forensic Science International, Volume 29, Issues 3–4*, p. 259-267
- [5] Thombre, S.M. & Sarwade, B. D. (2005). *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 42:9, 1299-1315
- [6] Pavia, D. L., Lampman, G. M., & Kriz, G. S. (1979). *Introduction to spectroscopy: A guide for students of organic chemistry*.
- [7] Škorić I., *Nastavni tekst Molekulska spektroskopija*.
https://www.fkit.unizg.hr/download/repository/Nastavni_tekst_Molekulska_spektroskopija.pdf
- [8] Derissen, J.L., Endeman, H.J. & Peerdeman, A.F. (1968). *Acta Cryst* 1324, 1349-1354
- [9] Voet, D., Voet, J. G., & Pratt, C. W. (2008). *Fundamentals of biochemistry: Life at the molecular level*.
- [10] Navarrete, J. T., Hernández, V. and Ramírez, F. J. (1994), *Biopolymers*, 34: 1065-1077
- [11] Pearson, J.F., Slifkin M.A. (1972) *Spectrochim. Acta* 28A
- [12] Dhamelincourt, P. and Ramírez, F. J. (1991), *J. Raman Spectrosc.*, 22: 577-582.
- [13] Diem, M., Polavarapu, P.L, Obodi, M. and Nafie, L.A. (1982), *Journal of the American Chemical Society* **1982** 104, 3329-3336
- [14] Bellamy, L.J.(1975) *The infrared spectra of complex molecules*. Vol. 1., p. 8.

POPIS TABLICA

<i>Tablica 1. Opis osnovnih vibracija aspariginske kiseline nastalih infracrvenom pobudom^[10]</i>	13
<i>Tablica 2. Vrpce iz područja visoke frekvencije</i>	14
<i>Tablica 3. Vrpce iz područja srednje frekvencije</i>	16
<i>Tablica 4. Vrpce iz područja niske frekvencije</i>	18

POPIS ILUSTRACIJA

Slika 1. Spektar elektromagnetskog zračenja ^[6]	2
Slika 2. Jednostavne vrste vibracija.	2
Slika 3. Sve vrste vibracija.....	3
Slika 4. Prikaz karakterističnih vrpci u IR spektrima ^[7]	3
Slika 5. Infracrveni (IR) spektar.....	4
Slika 6. Molekulska struktura asparaginske kiseline	5
Slika 7. Molekulska struktura asparaginske kiseline s odgovarajućim kutovima i duljinama veza ^[8]	6
Slika 8. Vibracija OH rastezanja u infracrvenom spektru ^[6]	7
Slika 9. Područja vrpci karbonilne skupine ovisno o skupini karbonilnog spoja ^[6]	8
Slika 10. Ionska struktura asparaginske kiseline u ovisnosti o pH	9
Slika 11. Snimljeni infracrveni spektar asparaginske kiseline	11
Slika 12. Rastezanje OH skupine(2952 cm^{-1})	15
Slika 13. Različite vrste rastezanja C=O skupine u zwitterionskom obliku: a) C=O rastezanje neionizirane karboksilne skupine(1687 cm^{-1}) b) C=O rastezanje ionizirane karboksilatne skupine (1597 cm^{-1}).....	17

ŽIVOTOPIS

Stjepko Švigir Stevanović [REDACTED] Završio je Osnovnu školu Tituša Brezovačkog i Gornjogradsku gimnaziju s odličnim uspjehom, nakon čega upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, studij Primijenjene kemije. Stručnu praksu je odradio na Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo, na odjelima kontrole vode i kontrole predmeta iz opće uporabe. Učio je engleski izvannastavno od svoje 6. godine te ima položenu B2 razinu. Volontirao je na raznim glazbenim i filmskim festivalima, gdje je najčešće radio na prijemu internacionalnih gostiju.