

Povrchová plasmonová rezonance ultratenkých filmů v blízké infračervené oblasti

Úkoly

1. Instalujte měřící celou s vrstvou zlata modifikovanou 11-merkaptoundekanovou kyselinou.
2. Sledujte kinetiku sorpce poly(lysinu) na modifikovanou zlatou vrstvu
3. Monitorujte změnu vlnočtu minima rezonanční křivky po postupné modifikaci povrchu střídavě poly(glutamovou kyselinou) a poly(lysinem).

Úvod

Povrchová plasmonová rezonance (SPR) je děj, při kterém dochází ke změně rezonančního úhlu odrazu monochromatického záření od povrchu zlata, stříbra a dalších prvků, resp. ke změně rezonanční frekvence (vlnočtu) při fixním úhlu odrazu. Tento jev je důsledkem vzniku rezonance mezi zářením a povrchovými elektrony kovu (vznik tzv. povrchových plasmonů na rozhraní kov/dielektrikum). Měření se nejčastěji provádí sledováním intenzity odraženého monochromatického záření na úhlu odrazu nebo sledováním intenzity odraženého polychromatického záření v konstantním úhlu v závislosti na vlnové délce (resp. vlnočtu). V této laboratorní práci použijeme druhý způsob měření.

K měření použijeme FT-IR spektrometr Nicolet 640 vybavený nástavcem pro povrchovou plasmonovou rezonanci SPR-100. Přístroj umožní rychlé měření křivek SPR při sérii experimentů střídavé adsorpce poly(glutamové kyseliny) a poly(lysinu).

Zlatá vrstva chemicky reaguje s thiolovými deriváty. Reakcí s 11-merkaptoundekanovou kyselinou vznikne na povrchu zlata chemicky vázaná monovrstva undekanové kyseliny. V závislosti na pH je povrch vrstvy neutrální (při nízkém pH jsou v kontaktu s roztokem skupiny COOH) nebo záporně nabitý (při vysokém pH jsou v kontaktu s roztokem skupiny COO⁻). Na záporně nabitý povrch lze adsorbovat poly(lysin) v kationické formě. Vznikne tak kladně nabitá vrstva, na kterou lze v dalším kroku adsorbovat poly(glutamovou kyselinu) v anionické formě (poly(glutamát)).

Návod

1. Připravte 100 ml roztoku poly(glutamové kyseliny) o koncentraci 0,2 mg/ml ve fosfátovém pufru o koncentraci 0,1 mol/l a pH = 8.
2. Instalujte do měřicí cely zlatou vrstvu modifikovanou 11-merkpto-undekanovou kyselinou (MUA). Měřicí celu propláchněte destilovanou vodou a zaznamenejte spektrum pozadí.
3. Sledujte závislost intenzity signálu na přitlaku hranolu (předvede asistent).
4. Pro nastavený přitlak, který nebudete dále měnit, zaznamenejte spektrum pozadí.
5. Promyjte měřicí celu roztokem poly(lysinu) - Lys, zastavte průtok a měřte čas. Ve třiminutových intervalech zaznamenejte spektrum a nalezené minimum na SPR křivce vynášejte do grafu.
6. Po dosažení maximální změny (max. po 15 minutách) propláchněte celu destilovanou vodou (5 ml), abyste odstranili neadsorbované molekuly a změřte spektrum.
7. Promyjte měřicí celu roztokem poly(glutámové kyseliny) - Glu, zastavte průtok a měřte čas. Ve třiminutových intervalech zaznamenejte spektrum a nalezené minimum na SPR křivce vynášejte do grafu.
8. Po dosažení maximální změny (max. po 15 minutách) propláchněte celu destilovanou vodou (5 ml), abyste odstranili neadsorbované molekuly a změřte spektrum.
9. Postup podle pokynů v bodech 5,6,7 a 8 ještě jednou zopakujte.
10. K jednotlivým spektrům (MUA, MUA/Lys, MUA/Lys/Glu, MUA/Lys/Glu/Lys, MUA/Lys/Glu/Lys/Glu) vyhledejte vlnočety minima na křivce SPR a vypočítejte změnu vlnočtu oproti předchozímu kroku.
11. Měřicí celu začněte promývat roztokem HCl o konc. 0,1 mol/l a ve třiminutových intervalech zaznamenávejte spektra. Došlo k odstranění sorbovaných vrstev?
12. Svá pozorování zpracujte do protokolu.