

ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Σκοπός δεν είναι να καλύψουμε με λεπτομέρειες
όλες τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται
αλλά

πως οι τεχνικές αυτές επηρέασαν την
ανάπτυξη των γνώσεων για τις ιδιότητες των
βιομορίων και ίσως το πιο σημαντικό
“πως οι τεχνικές αυτές βελτιώθηκαν για την
ανάγκη μελέτης των βιομορίων”

ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Υπάρχουν τόσο πλεονεκτήματα όσο και μειονεκτήματα όσον αφορά τις συγκεκριμένες εφαρμογές τόσο για το προσδιορισμό της δομής όσο και για τον χαρακτηρισμό των ηλεκτρονικών δομών.

ένα σχόλιο για το χρονικό διάστημα (time scale)

για να “καταλάβουμε” την φύση ενός
μεταβατικού-στοιχείου (κέντρου) στην βιολογία
θα πρέπει να γνωρίζουμε

- * τις ηλεκτρονικές του καταστάσεις και
- * τις μαγνητικές του ιδιότητες

που συνδέονται σχεδόν πάντα με την μοριακή
γεωμετρία του μεταλλικού κέντρου.

ένα σχόλιο για το χρονικό διάστημα (time scale)

Οι διαφόρου τύπου φασματοσκοπίες έχουν ένα κοινό, την ακτινοβολία του δείγματος με φως μιας δεδομένης συχνότητας ή εύρους.

Το φως μπορεί να διαχέεται ή να απορροφάται με αποτέλεσμα την αλλαγή της έντασης που αποτελεί και την βάση κάθε φυσικής μεθόδου.

Η συχνότητα της ακτινοβολίας σε συνδυασμό με το μήκος κύματος χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση του χρονικού διαστήματος στο οποίο το χημικό φαινόμενο μπορεί να “παρακολουθείται” από μια δεδομένη φασματοσκοπία.

Time scales for commonly used spectroscopic analysis techniques

Technique	Time
Electron diffraction	$\sim 10^{-20}$ sec
Neutron diffraction	$\sim 10^{-18}$ sec
X-ray diffraction	$\sim 10^{-18}$ sec
UV spectroscopy	$\sim 10^{-15}$ sec
Visible spectroscopy	$\sim 10^{-14}$ sec
Infrared spectroscopy	$\sim 10^{-13}$ sec
EPR spectroscopy	$\sim 10^{-4} - 10^{-8}$ sec
NMR spectroscopy	$\sim 10^{-1} - 10^{-9}$ sec
NQR spectroscopy	$\sim 10^{-1} - 10^{-8}$ sec
Mössbauer spectroscopy	$\sim 10^{-7}$ sec
Molecular-beam spectroscopy	$\sim 10^{-6}$ sec
Experimental separation of isomers	$> 10^2$ sec

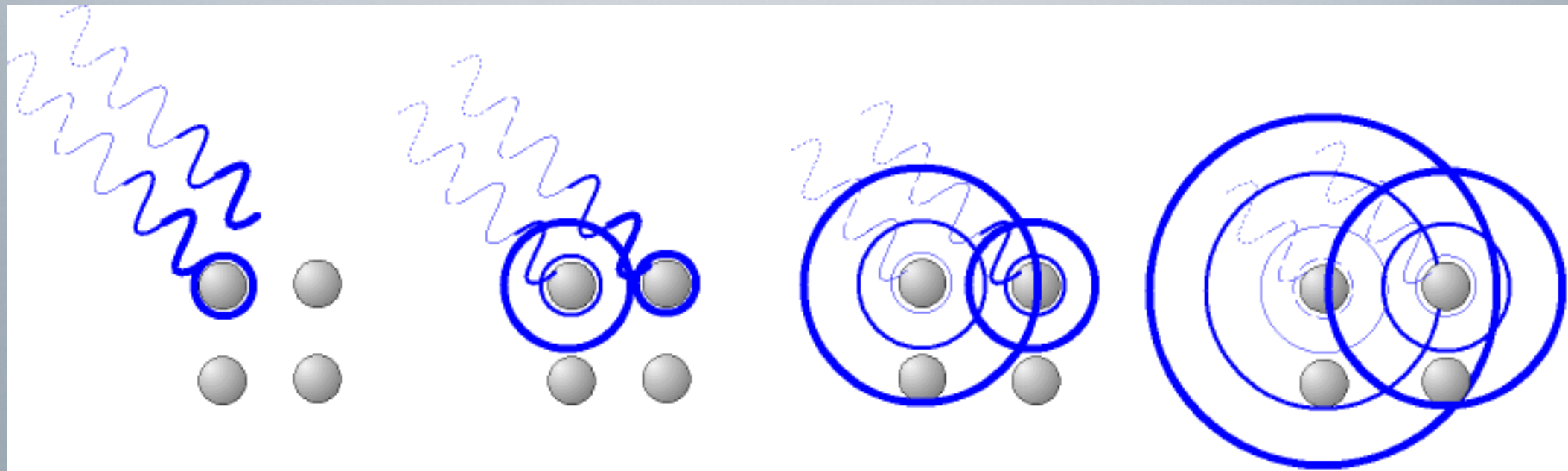
ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΚΤΙΝΩΝ-X

Περίθλαση ακτίνων-X

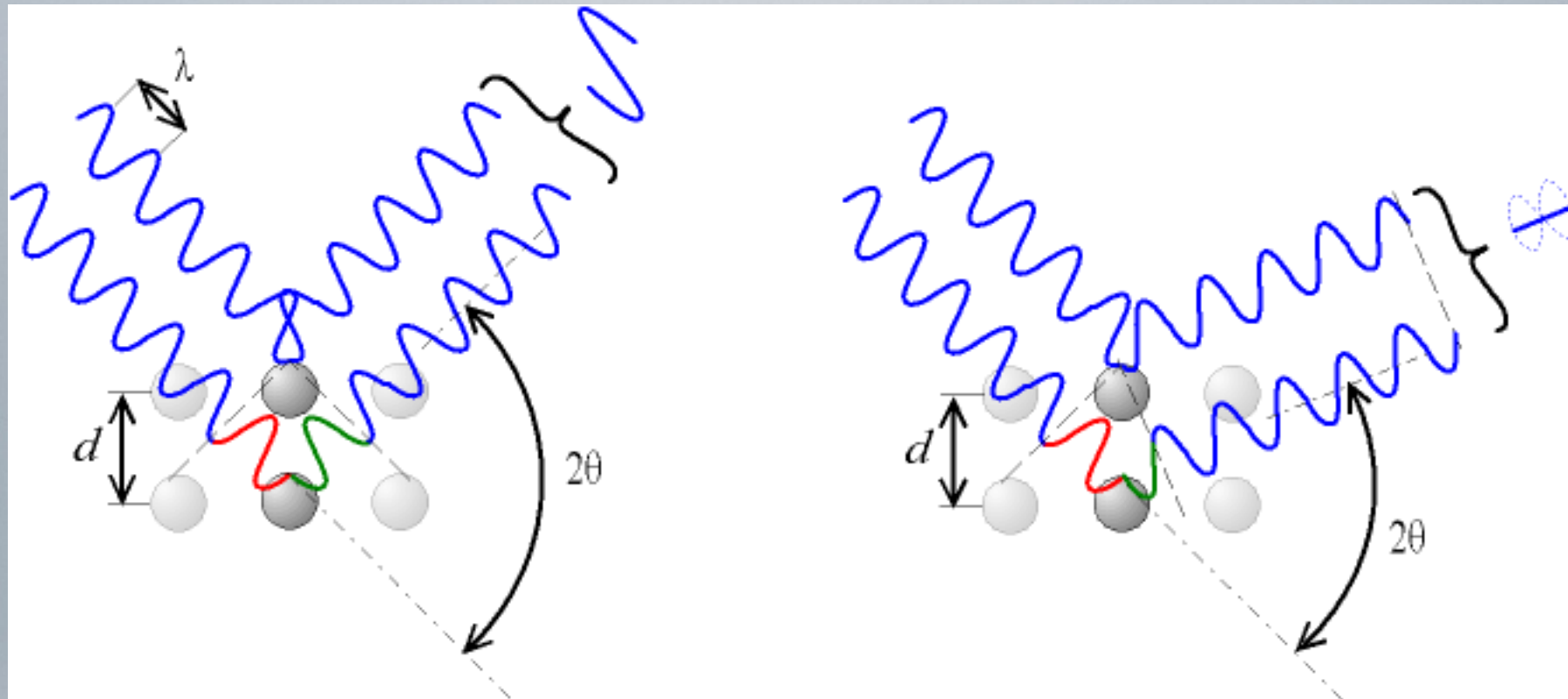
www.chemistry.uoc.gr/xray

Όταν έχουμε στην διάθεσή μας ένα
μονοκρυστάλλο
η περίθλαση ακτίνων-Χ είναι η πιο κατάλληλη
για τον προσδιορισμό μιας μακρομοριακής
δομής συμπεριλαμβανομένων και των
γεωμετρικών συναρμογών.

- για μικρού μοριακού βάρους ενώσεις 0.01-0.001 Å
- για πρωτεΐνες, λόγω του ότι περιέχουν νερό (50%) δεν κάνουν καλή περίθλαση των ακτίνων και η ακρίβεια είναι μια τάξη μεγέθους μικρότερη



Η αλληλεπίδραση των ακτίνων-Χ με τα άτομα
ενός κρυστάλλου



ανάλογα με την γωνία 2θ , η μετατόπιση της φάσης προκαλεί προσθετικές (αριστερά) ή αφαιρετικές παρεμβάσεις (δεξιά)

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Bragg's Law}$$

resolution:

$$d = \lambda / (2 \sin \theta) = 1.5418 \text{ \AA} / (2 \sin \theta) \text{ (for Cu radiation)}$$

http://www.youtube.com/watch?v=hQUsnMzTdpU&feature=player_embedded

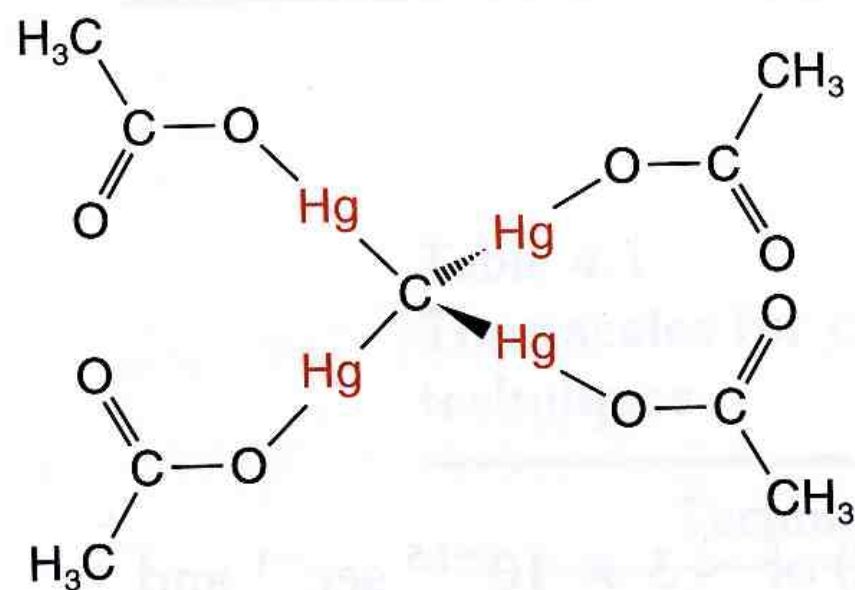
<https://www.youtube.com/watch?v=PWQ89UoxOK8>

<https://www.youtube.com/watch?v=UfDW0-kghml>

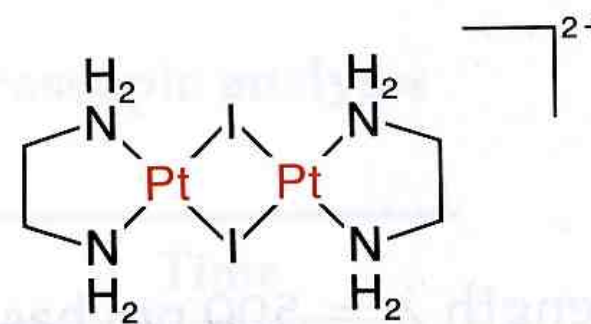
... γίνεται αντιληπτό ότι είναι

α) απαραίτητο να γνωρίζουμε την αλληλουχία των αμινοξέων (πρωτοταγής δομή) ώστε να μπορέσουμε να αποδώσουμε σωστά την ηλεκτρονική πυκνότητα που παρατηρούμε και

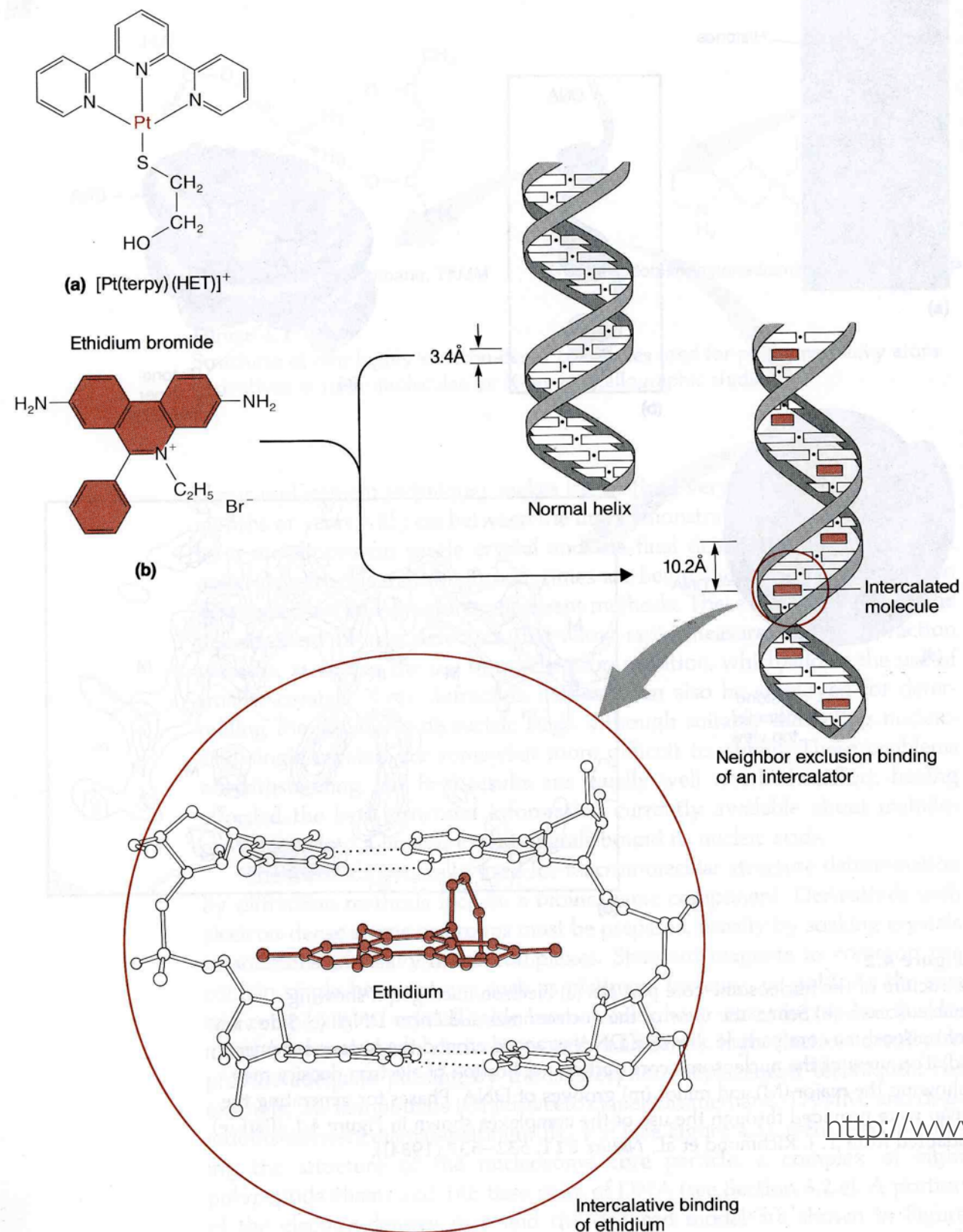
β) χρειαζόμαστε ανάλογα παράγωγα με βαρέα μέταλλα για τον υπολογισμό των γωνιών φάσεων για εκατοντάδες μετρούμενες ανακλάσεις



(a) Tetrakis(acetoxymercuri)methane, TAMM



(b) Di- μ -iodobis(ethylenediamineplatinum(II)), PIP



<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

Figure 4.3

Binding to DNA by intercalation. (a) Structure of the metallointercalator, $[\text{Pt}(\text{terpy})(\text{HET})]^+$. (b) Structure of the organic intercalator, ethidium. The binding of intercalators to DNA is shown, illustrating the neighbor exclusion principle. At saturation, only every other potential site is occupied, the resulting intercalators being spaced at 10.2 Å intervals. Also depicted is a close-up view of the ethidium molecule intercalated into DNA.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΚΤΙΝΩΝ-Χ

Φασματοσκοπία απορρόφησης ακτίνων-Χ
(XAS)

Η απορρόφηση των ακτίνων-Χ μπορεί να διεγείρει το **1s** (**K** στοιβάδα) ή **2s, 2p** (**L** στοιβάδα) ηλεκτρόνια σε ένα υψηλότερης ενέργειας κενό τροχιακό ή πολύ υψηλής ενέργειας φωτόνια ακτίνων-Χ σε συνεχή ροή.

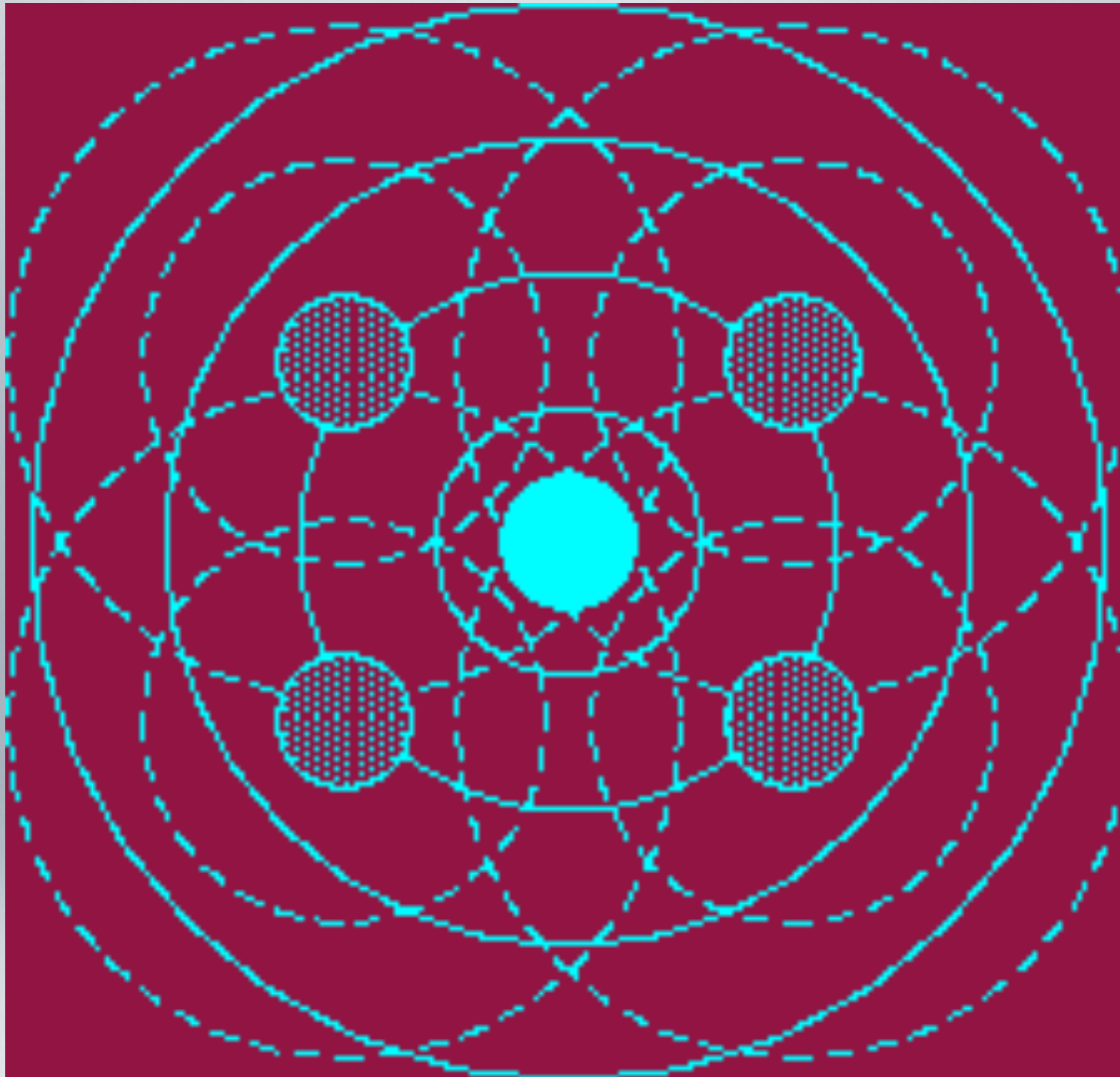
Το φαινόμενο αυτό γνωστό από χρόνια βρίσκει σήμερα μεγάλη εφαρμογή με την διαθεσιμότητα υψηλής-πυκνότητας, κατευθυνόμενη δέσμη ακτίνων-Χ από πηγές ακτινοβολία συνχροτρονίου (**synchrotron**).

Με μελέτη της ενέργειας από την απορρόφηση ακτίνων-Χ της στοιβάδας μπορεί κάποιος να προσδιορίσει την **οξειδωτική κατάσταση** του μεταλλικού ιόντος που τον ενδιαφέρει.

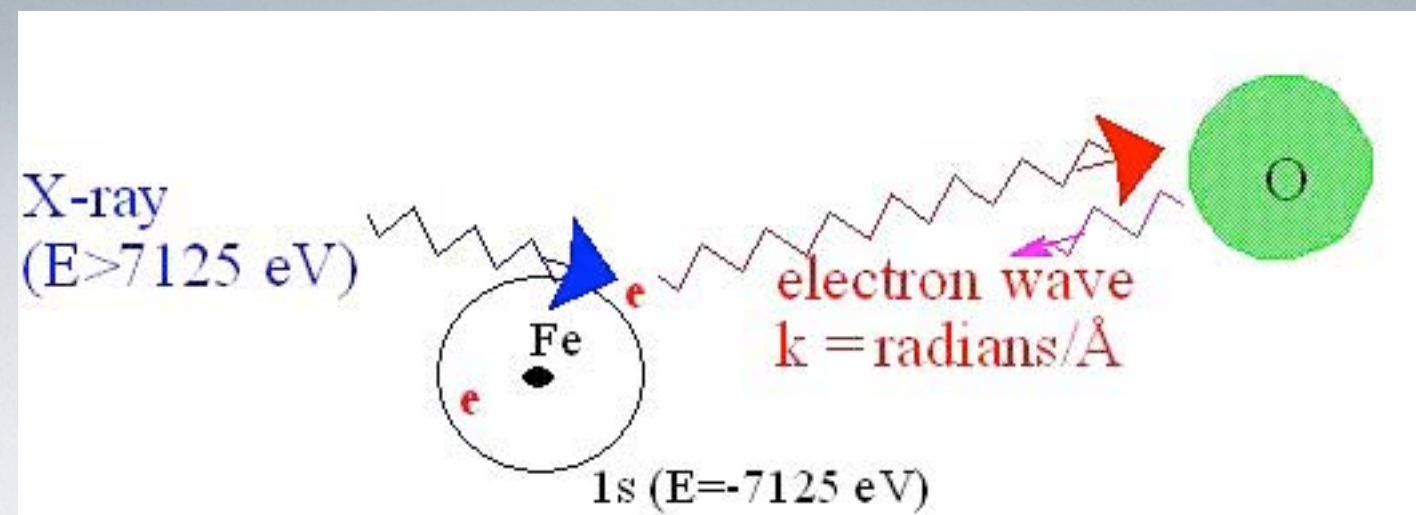
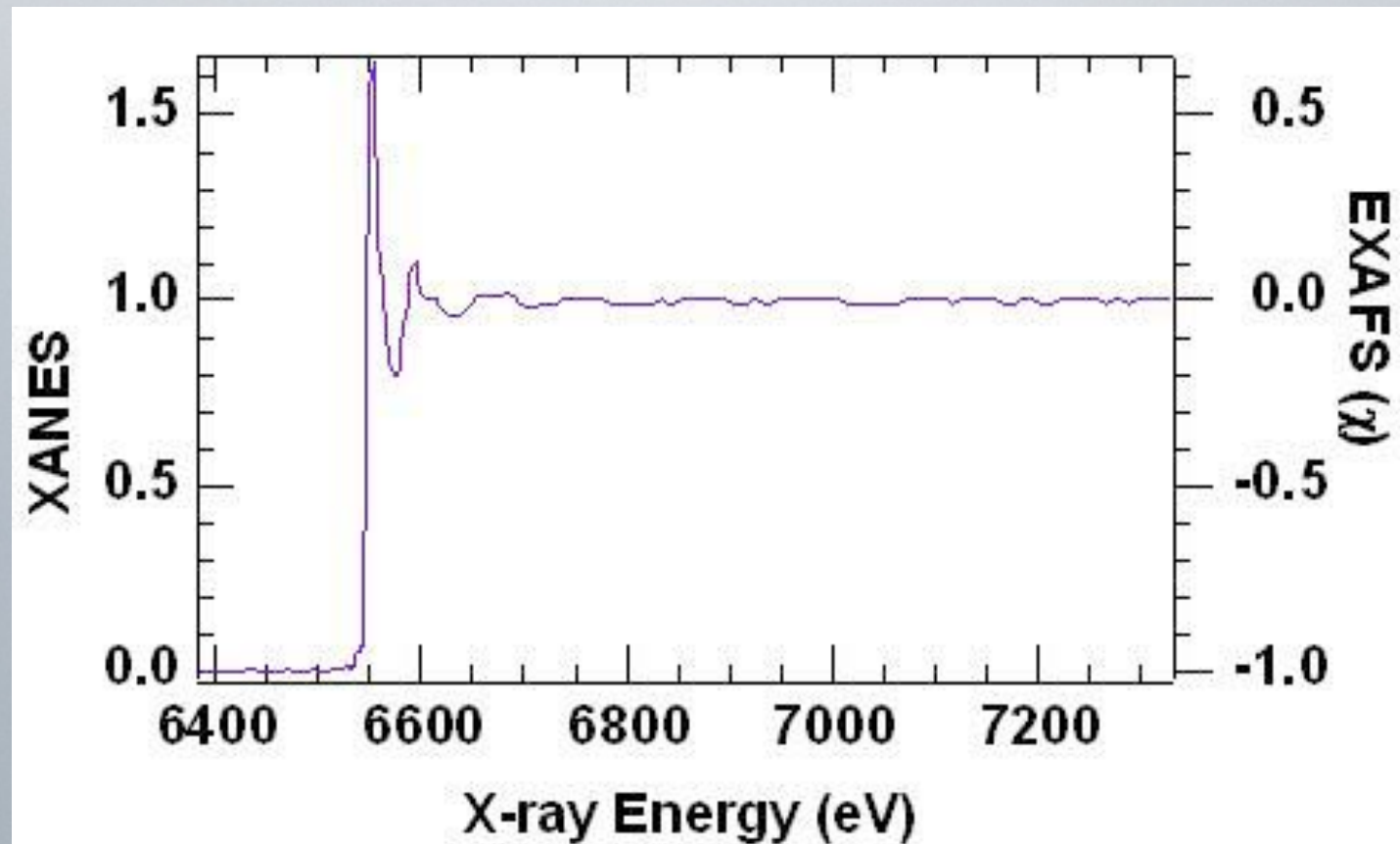
από την διαμόρφωση του φάσματος της απορρόφησης ακτίνων-Χ λόγω ανάδρομης διάχυσης που προκαλείται από τα γειτονικά άτομα παράγεται μια εκτεταμένη απορρόφηση ακτίνων-Χ υπέρλεπτης δομής

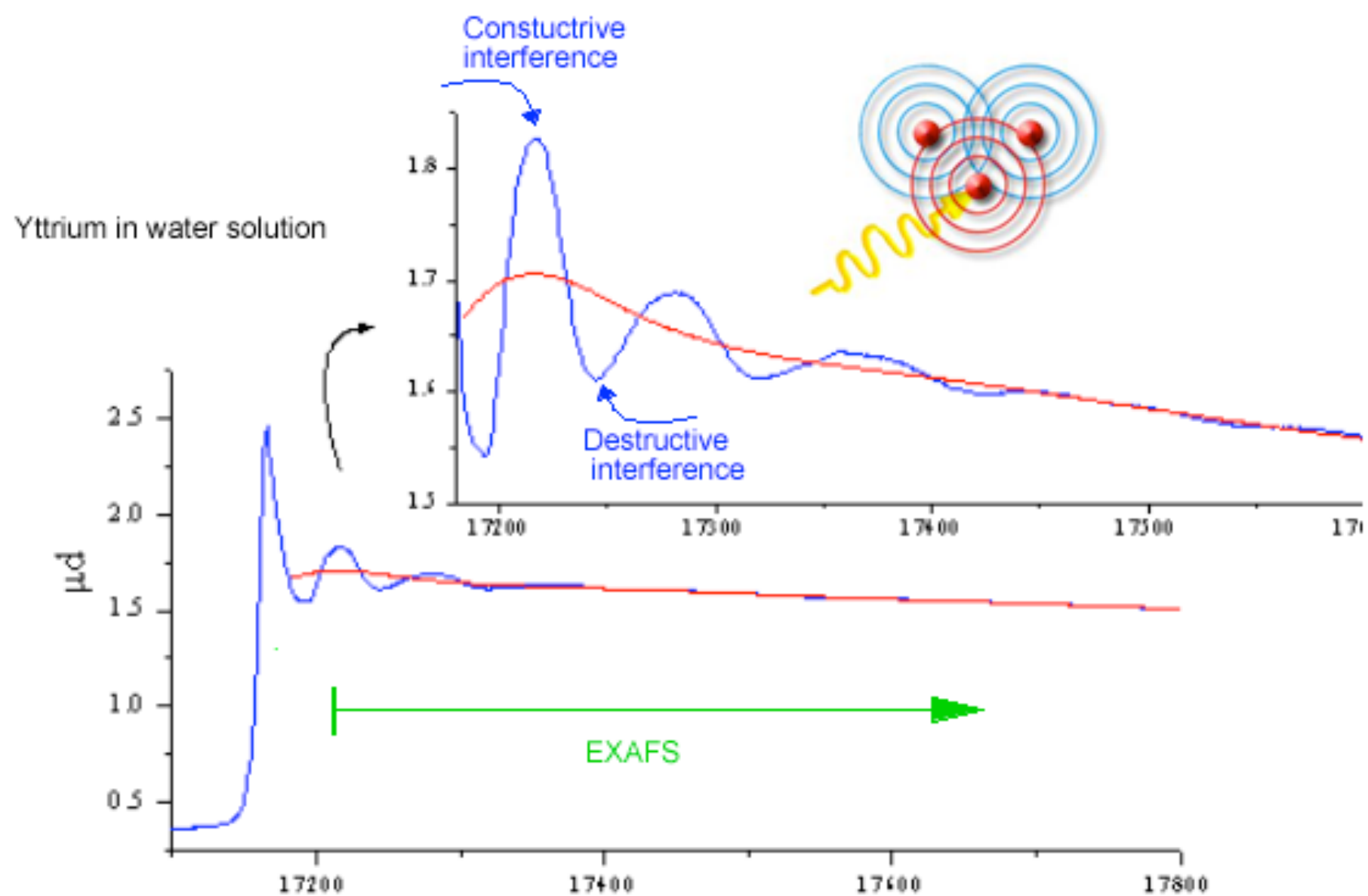
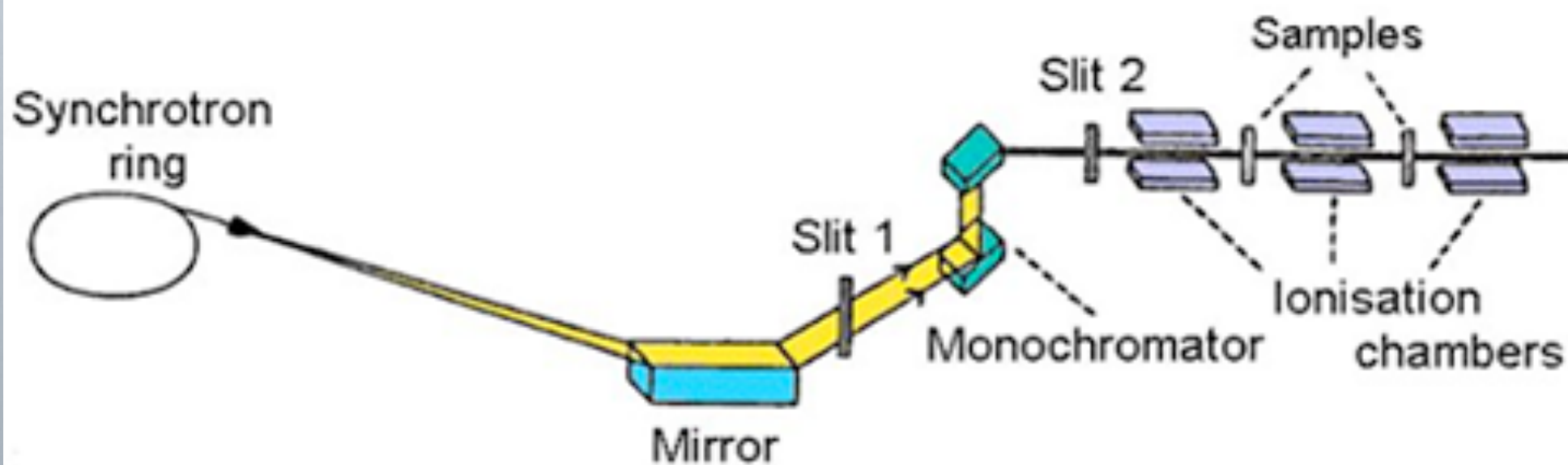
Extended **X**-ray **A**bsorption **F**ine **S**tructure (**EXAFS**)

απ' όπου μπορούμε να πάρουμε πληροφορίες για την γεωμετρία συναρμογής ενός μεταλλικού κέντρου



**A schematic diagram of the radial portion of the photoelectron wave (solid lines)
being backscattered by the neighbouring atoms (dotted lines)**





[http://www.p-ng.si/~arcon/xas/exafs/animation/
photoeffect.htm](http://www.p-ng.si/~arcon/xas/exafs/animation/photoeffect.htm)

<http://www.p-ng.si/~arcon/xas/exafs/exafs.htm>

<http://public.web.cern.ch/public/>

η σημασία του **EXAFS**

- * αποστάσεις μεταξύ του κεντρικού ατόμου με τα γειτονικά του
- * ο αριθμός των γειτονικών ατόμων
- * η φύση των γειτονικών ατόμων
- * αλλαγές στη συναρμογή του κεντρικού ατόμου με αλλαγές στις πειραματικές συνθήκες

η εξίσωση του EXAFS

Debye-Waller term

$$\chi = \sum_{shells} \frac{n_X \cdot S_0^2 \cdot \underbrace{f_X(k)}_{\text{amplitude function}} \cdot \underbrace{e^{-2k^2\sigma^2}}_{\substack{\sigma^2 = \sigma_{stat}^2 + \sigma_{vib}^2 \\ \sigma < 0.10 \text{ \AA}}} \cdot \sin(2kr + \underbrace{\alpha_{MX}(k)}_{\text{phase function}})}{k \cdot r^2}$$

$n_X = \# \text{ of X atoms in shell}$
 S_0^2 = amplitude reduction factor
 $f_X(k)$ = amplitude function
 $\sigma^2 = \sigma_{stat}^2 + \sigma_{vib}^2$
 $\sigma < 0.10 \text{ \AA}$
 $\alpha_{MX}(k)$ = phase function
 $r = (\text{average}) \text{ MX distance}$