CHƯƠNG 3
PHƯƠNG PHÁP PHỔ HỒNG NGOẠI

1. Cơ sở lý thuyết
2. Máy quang phổ hồng ngoại
3. Phương pháp phổ hồng ngoại Fourier (FTIR)
4. Một số ứng dụng trong y sinh học

cuu duong than cong . com

CuuDuongThanCong.com https://fb.com/tailieudientucntt

1. CƠ SỞ LÝ THUYẾT

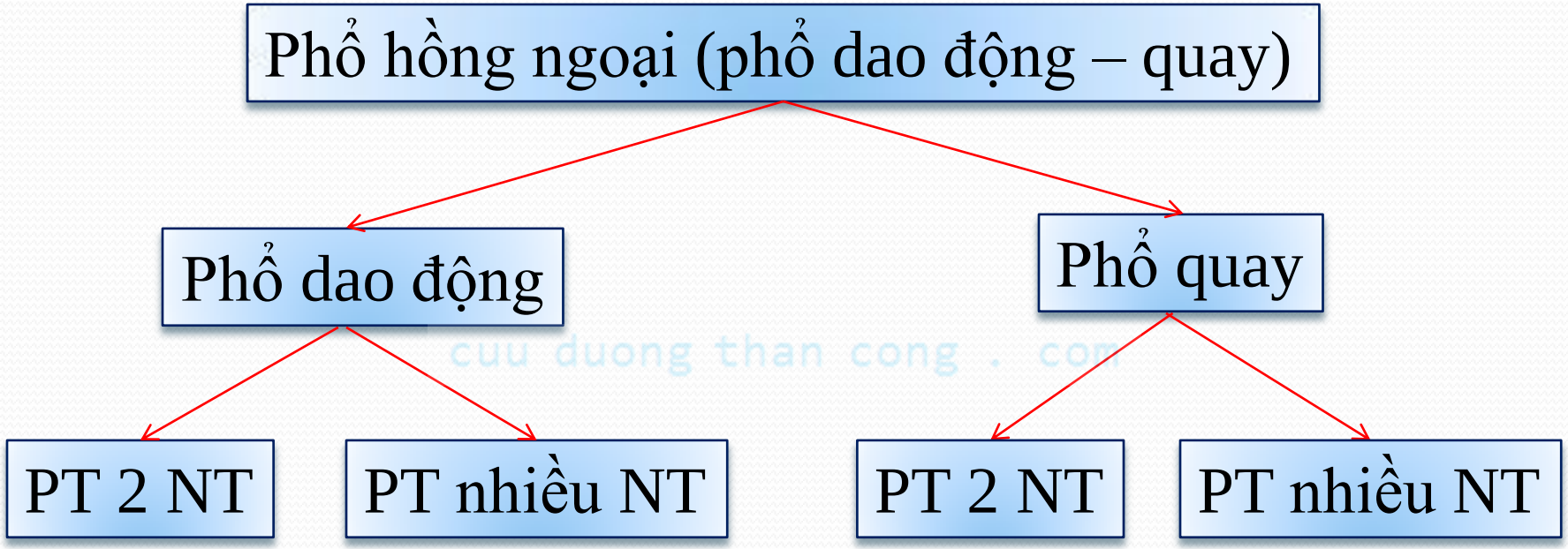
cuu duong than cong . com

cuu duong than cong . com

Phổ hấp thu hồng ngoại là phổ dao động - quay vì khi hấp thu bức xạ hồng ngoại thì cả chuyển động dao động và chuyển động quay đều bị kích thích. Bức xạ hồng ngoại có độ dài sóng từ 0,8 đến 1000μm và chia thành ba vùng:

1. Cận hồng ngoại (near infrared): $\lambda = 0,8 – 2,5$ μm (12500 - 4000 cm^{-1})
2. Trung hồng ngoại (medium infrared): $\lambda = 2,5 – 25$ μm (4000 - 400 cm^{-1})
3. Viễn hồng ngoại (far infrared): $\lambda = 25 – 1000$ μm (400 - 10 cm^{-1})

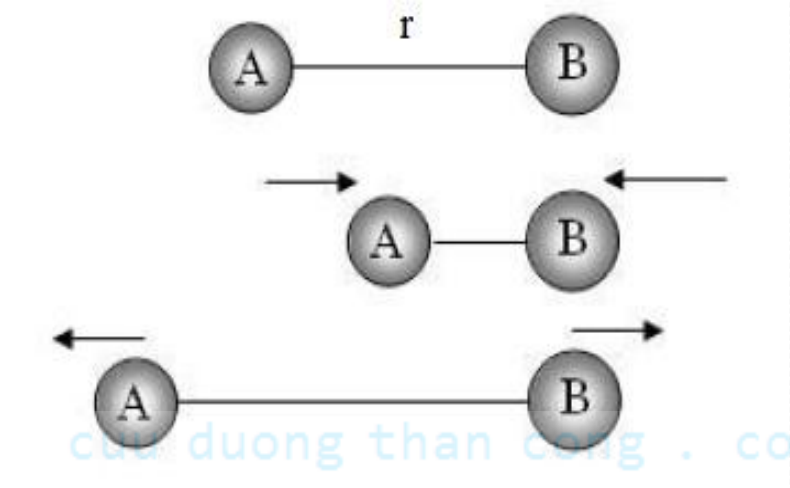
cuu duong than cong . com



cuu duong than cong . com

cuu duong than cong . com

Dao động của phân tử 2 nguyên tử



Khi kéo dãn AB sẽ xuất hiện 1 lực F kéo AB về vị trí cân bằng:

$$\boxed{F = -k\Delta r}$$

Tần số dao động riêng: $\boxed{\nu = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{k}{m}}}$

Trong đó: k - hằng số lực ; $m = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$

cuu duong than cong . com

Mức năng lượng dao động của phân tử 2 nguyên tử

Khi các dao động tử thực hiện dao động, dưới tác dụng của lực hồi phục F thì nó sẽ có thế năng E_r:

$$F = -\frac{dE_r}{dr} = -k\Delta r = -k(r - r_0)$$

Suy ra: $$\boxed{E_r = \frac{1}{2}k\left(r - r_0\right)^2 + E_0}$$ ← Cơ học cổ điển

cuu duong than cong . com

❖ Theo cơ học lượng tử, năng lượng toàn phần E chỉ có thể nhận một dãy các giá trị gián đoạn:

$$\boxed{E = h\nu\left(n + \frac{1}{2}\right)}$$ ← Cơ học lượng tử

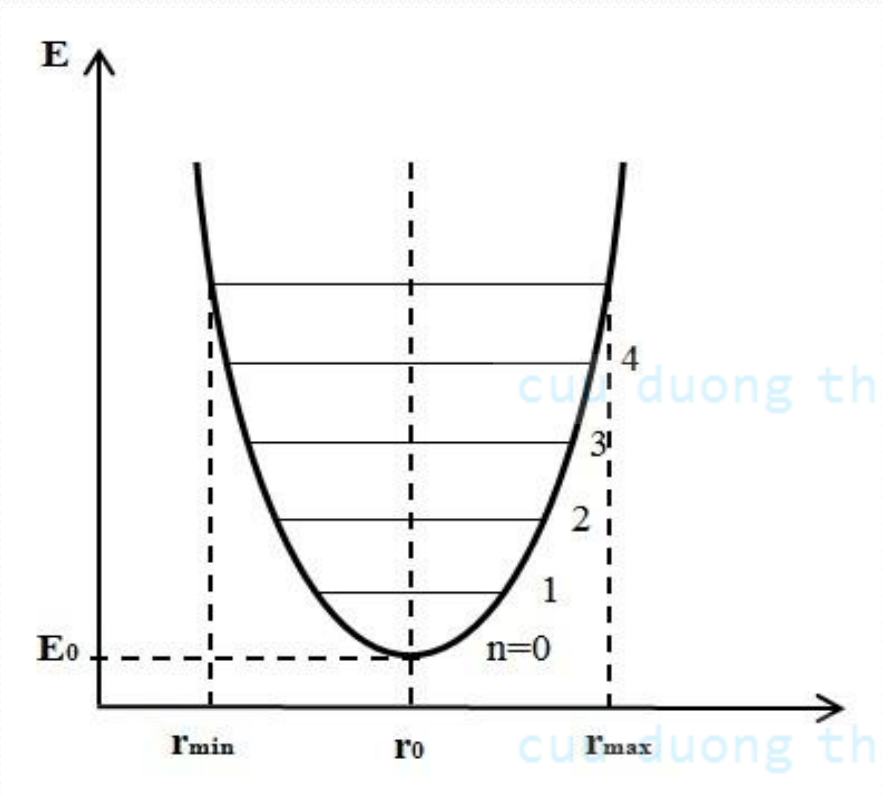
cuu duong than cong . com

Trong đó: E_r - thế năng của hệ ứng với một sự chuyển dịch Δr

E_0 - thế năng của hệ ứng với vị trí cân bằng ($r = r_0$)

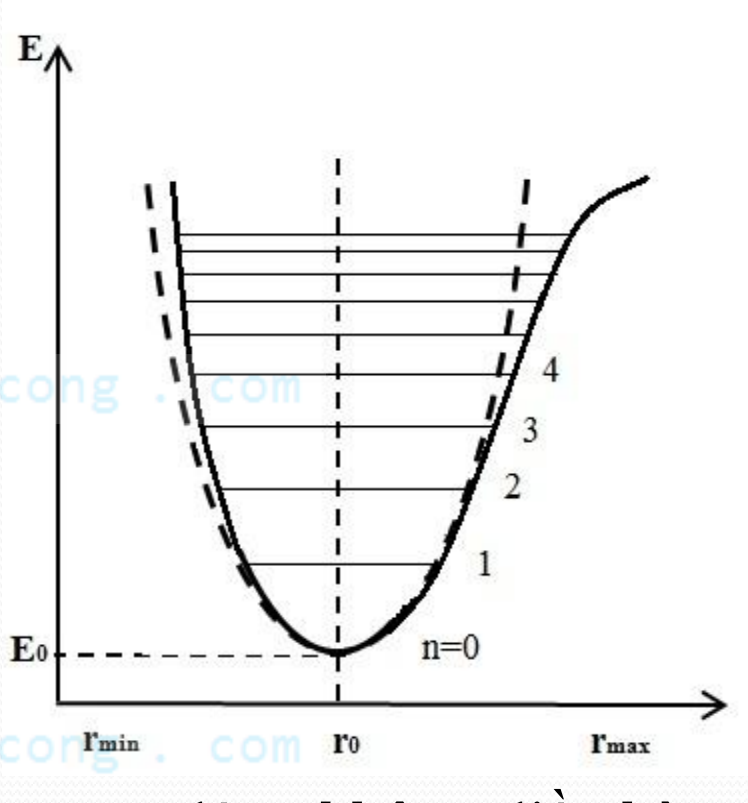
n - số lượng tử dao động (n = 0,1,2,3…).

Đường cong thế năng và các mức năng lượng dao động của phân tử 2 nguyên tử



Dao động điều hòa

$$E = h\nu\left(n + \frac{1}{2}\right)$$



Dao động không điều hòa

$$E = h\nu(n + \frac{1}{2}) - Ah\nu(n + \frac{1}{2})^2$$

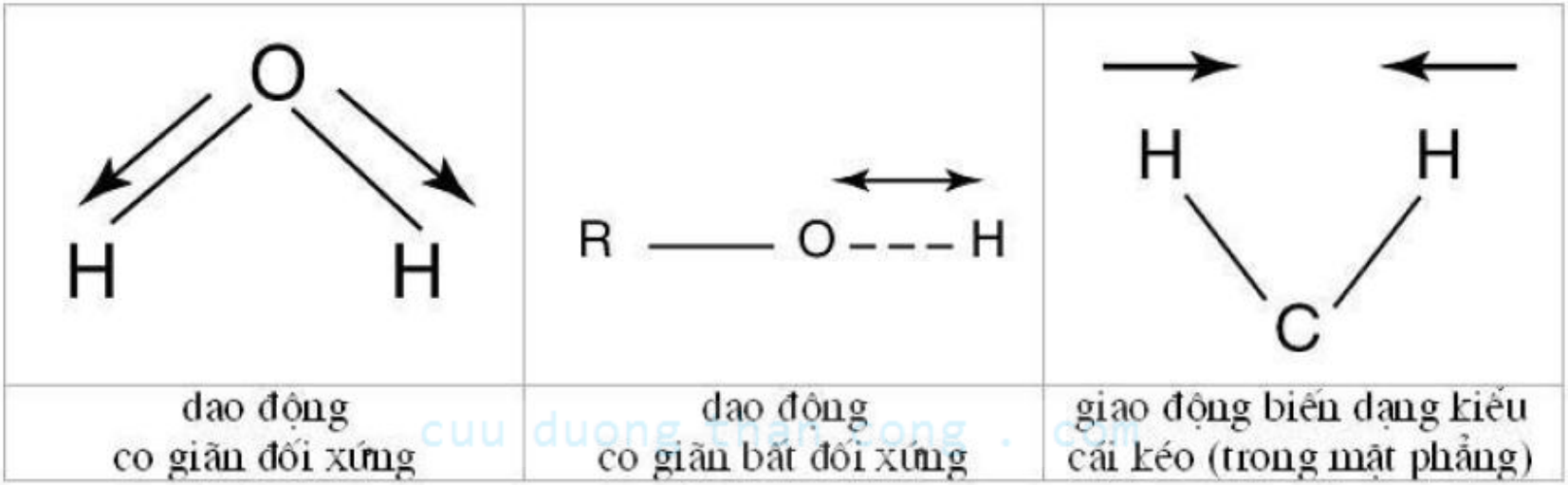
cuu duong than cong . com

Điều kiện hấp thụ bức xạ hồng ngoại:

1. Phân tử có sự thay đổi momen lưỡng cực điện khi dao động.
   → Theo qui tắc này, các phân tử có 2 nguyên tử giống nhau ko cho hiệu ứng phổ dao động.
2. $\Delta n = \pm 1$ (chỉ đúng với dao động điều hoà, với dao động phi điều hoà Δn có thể là 2, 3).
3. Một phân tử hấp thụ bức xạ hồng ngoại chỉ khi nào tần số dao động tự nhiên của một phần phân tử (tức là các nguyên tử hay các nhóm nguyên tử tạo thành phân tử đó) dao động cùng tần số của bức xạ tới.

cuu duong than cong . com

Dao động của phân tử nhiều nguyên tử

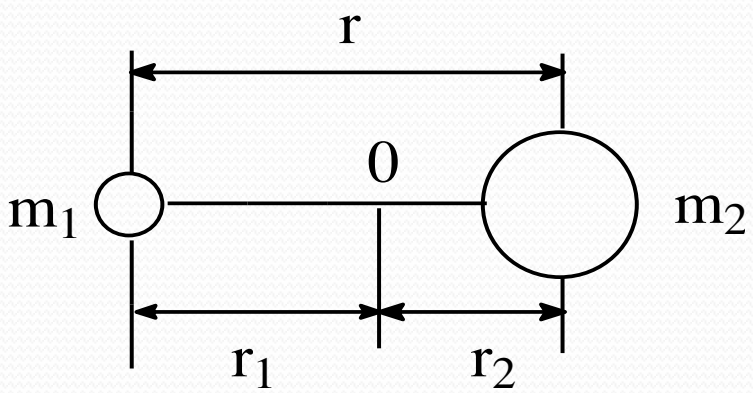


- Dao động co giãn: có sự thay đổi độ dài liên kết giữa các nguyên tử.
- Dao động biến dạng: có sự thay đổi góc giữa các liên kết. Dao động biến dạng cũng gọi là dao động uốn.

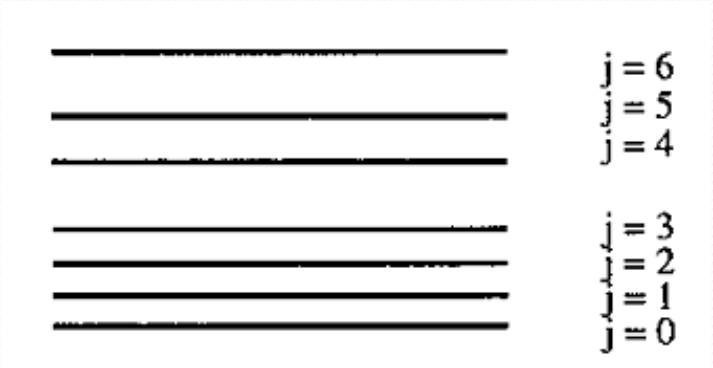
Phân tử có N nguyên tử không thẳng hàng có (3N-6) dao động chuẩn và phổ dao động của phân tử đó có (3N-6) đám phổ cơ bản.

cuu duong than cong . com

Phổ quay phân tử 2 nguyên tử



Quay tử cứng



Các mức năng lượng quay

Năng lượng chuyển động quay: $$E_j = \frac{h^2}{8\pi^2 I} j(j+1)$$

Trong đó : I – momen quán tính

j – số lượng tử quay, j=0,1,2,…

$$\nu_j = \frac{E_j}{h} = \frac{h}{8\pi^2 I} j(j+1)$$

CuuDuongThanCong.com https://fb.com/tailieudientucntt

2. MÁY QUANG PHỔ HỒNG NGOẠI

cuu duong than cong . com

cuu duong than cong . com

1. Nguồn sáng:

Nguồn phát xạ	Đèn sợi đốt vonfram	Thanh nén ZrO_2, ThO_2,…	Thanh cacbon-silic
Miền phổ (cm^{-1})	Hồng ngoại gần, miền nhìn thấy (2500-5000)	Hồng ngoại gần và trung bình (400-5000)	Hồng ngoại gần và trung bình (300-5000)

2. Bộ đơn sắc:

cuu duong than cong . com

- Vùng hồng ngoại gần: dùng lăng kính, cách tử thạch anh.
- Vùng hồng ngoại trung bình và xa: dùng tinh thể NaCl (muối mỏ) cho vùng 4000 - 650cm^{-1} lăng kính KBr dùng ở vùng 400 cm^{-1} và lăng kính CsI thích hợp cho vùng 270cm^{-1}.
- Các máy phổ hồng ngoại thế hệ mới được chế tạo theo kiểu biến đổi Fourier (Fourier Transformation Infrared Spectrometer-FTIR Spectrometer). Trong các máy này, người ta dùng bộ giao thoa (giao thoa kế) Michelson thay cho bộ tạo đơn sắc.

cuu duong than cong . com

3. Cuvet đựng mẫu:

	λ, µm	$\bar{\nu}$, cm^{-1}
NaCl	0,25 – 17	40000 – 590
KBr	0,25 – 25	40000 – 400
KCl	0,30 – 20	33000 – 500
Polyetylen	16 – 300	625 – 33

4. Detector:

cuu duong than cong . com

a. Detector nhiệt: dựa trên hiệu ứng nhiệt do bức xạ hồng ngoại gây ra, có thể phản hồi đối với mọi tần số;

- Ưu điểm: có thể dùng được trong một vùng phổ rộng, bao gồm cả vùng trông thấy lẫn vùng hồng ngoại và vận hành ở nhiệt độ phòng.
- Nhược điểm: thời gian phản hồi chậm và độ nhạy thấp .

b. Detector photon: dựa trên sự tương tác giữa photon tới và một loại bán dẫn. --

- Ưu điểm: độ nhạy cao và thời gian phản hồi nhanh .
- Nhược điểm: ở nhiệt độ phòng, các detectơ này chỉ làm việc được trong một vùng phổ hẹp, thường giới hạn trong vùng hồng ngoại gần. Muốn mở rộng vùng làm việc phải làm lạnh sâu (ví dụ giữ trong nitơ lỏng).

CuuDuongThanCong.com https://fb.com/tailieudientucntt

Phân tích định lượng theo phương pháp phổ hồng ngoại dựa vào định luật cơ bản của Lambert – Beer:

$$A = \lg(\frac{I_0}{I})_\lambda = \varepsilon_\lambda Cl$$

Xác định độ hấp thụ A: phương pháp đường chuẩn; phương pháp đường nền.

Hạn chế của phương pháp phổ hồng ngoại:

- Cuvet đựng mẫu thường làm bằng NaCl, KBr rất mềm, dễ bị biến dạng. Cuvet cũng có thể bị tác động hoá học của dung môi.
- Do hiệu ứng liên hợp của các phân tử chất hòa tan có thể dẫn đến sự thay đổi tần số hấp thụ, hình dáng, cường độ hấp thụ.
- Máy quang phổ hồng ngoại không đủ độ phân giải cần thiết nên không đủ khả năng đo được những đám phổ có tần số rất hẹp.
- Chỉ riêng phổ hồng ngoại thì đôi khi chưa thể biết đó là chất nguyên chất hay chất hỗn hợp vì có trường hợp 2 chất có phổ hồng ngoại giống nhau.

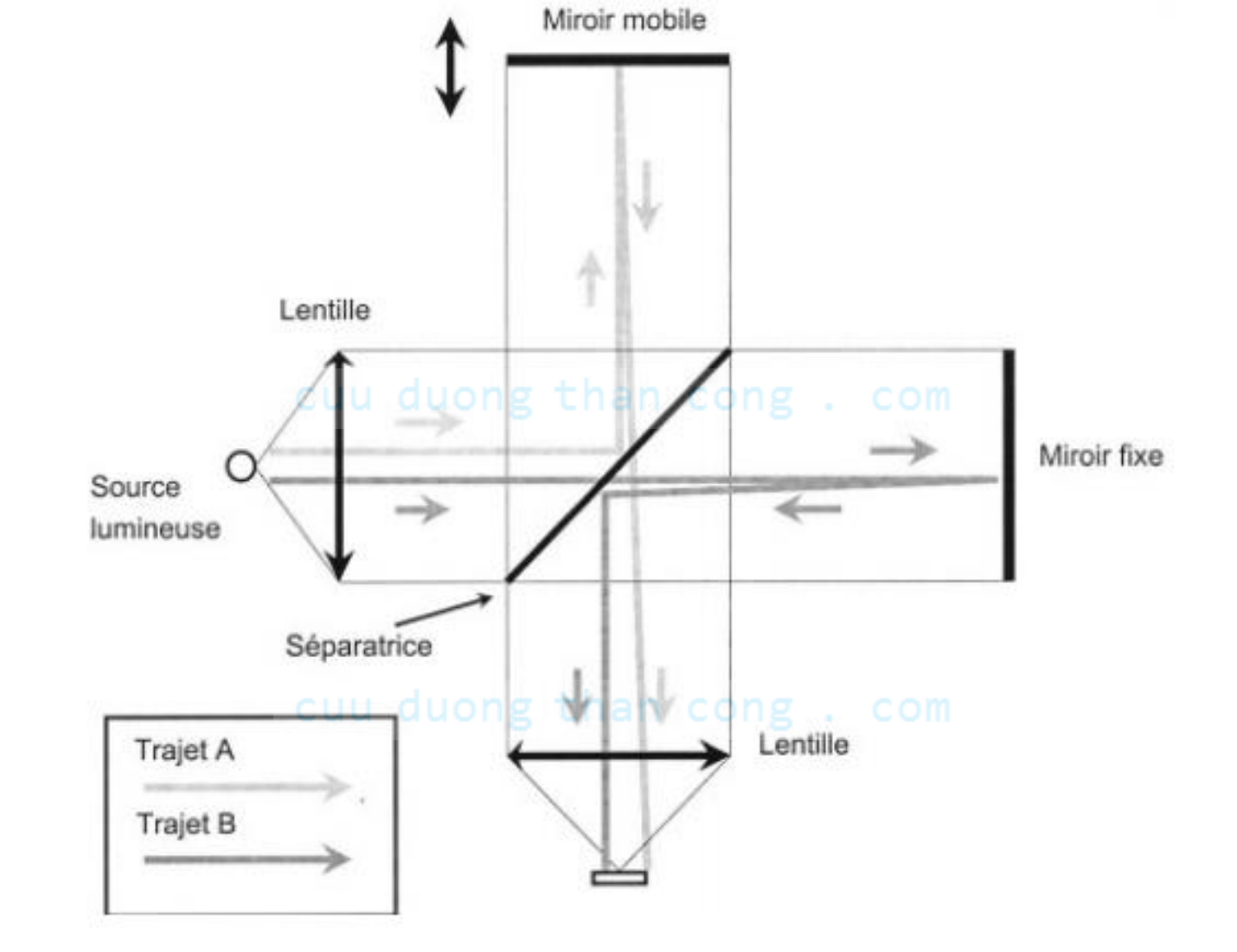
cuu duong than cong . com
cuu duong than cong . com

3. PHƯƠNG PHÁP PHỔ HỒNG NGOẠI FOURIER (FTIR)

cuu duong than cong . com

cuu duong than cong . com

Giao thoa kế Michelson



cuu duong than cong . com

Ưu điểm của máy hồng ngoại biến đổi Fourier:

- Việc sử dụng giao thoa kế cho phép khe sáng rộng hơn nên cường độ bức xạ vào detector sẽ lớn hơn.
- Các bước sóng được xác định chính xác (độ phân giải cao).

cuu duong than cong . com

cuu duong than cong . com

4. MỘT SỐ ỨNG DỤNG TRONG Y SINH HỌC

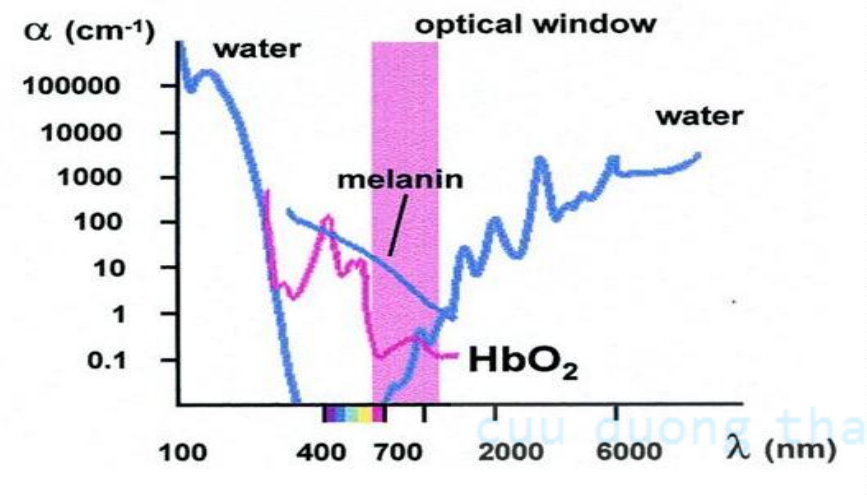
- Ánh sáng cận hồng ngoại chỉ có thể truyền sâu 1-2 cm vào cơ thể → chụp ảnh cận hồng ngọai trong quá trình phẫu thuật, chụp ảnh các khối u.
- Máy "infrascanner" (máy chụp ảnh não) ứng dụng công nghệ tia hồng ngoại ngắn vô hại, có thể nhìn xuyên qua hộp sọ để phát hiện huyết khối bên trong não; xây dựng các ảnh về chức năng của não.
- Hemoglobin hấp thụ hồng ngoại rất mạnh cũng như phụ thuộc rất nhiều vào mức ôxy hoá, máy quang phổ cận hồng ngoại rất nhạy với nồng độ và sự ôxy hoá của hemoglobin. Hai tham số này liên quan trực tiếp đến lưu lượng máu, dung tích máu, và tốc độ ôxy hoá …→chẩn đoán sự lão hoá của tế bào các cơ quan trong cơ thể (não, động tĩnh mạch…); đo sự khác biệt trong nồng độ oxygen của máu để đánh giá hoạt động não.
- Đo lường nồng độ glucose trong máu.
- Máy chụp quang học tuyến vú (để phát hiện ung thư vú)
- Tìm ven máu.
- Chẩn đoán bệnh giãn tĩnh mạch chân.

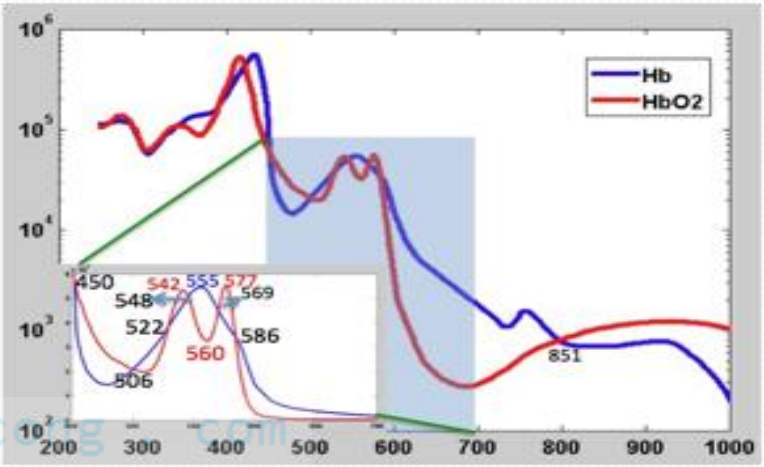
cuu duong than cong . com

THIẾT BỊ XÁC ĐỊNH TĨNH MẠCH BẰNG KỸ THUẬT QUANG HỌC

cuu duong than cong . com

Phổ hấp thụ của của một số chất có trong da và mạch máu

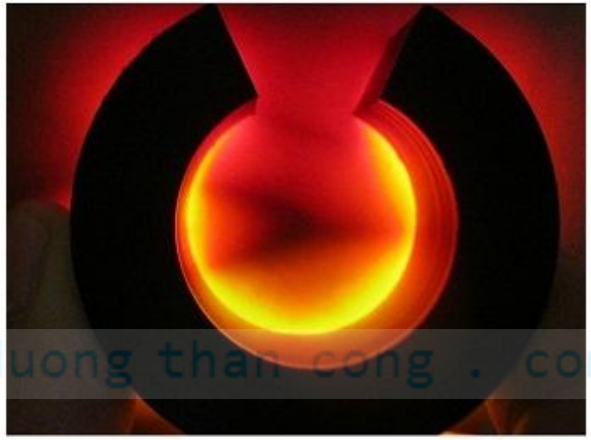




- ✓ Sự hấp thụ ánh sáng của tĩnh mạch được quyết định bởi hemoglobin, melanin và nước. Hemoglobin có hai loại là oxyhemoglobin và deoxyhemoglobin.
- ✓ Trong vùng khả kiến: hemoglobin và melanin là các chất hấp thụ chính. Dựa vào tính chất hấp thụ này của tĩnh mạch có thể xác định được vị trí của tĩnh mạch khi chiếu ánh sáng khả kiến.
- ✓ Trong vùng cận hồng ngoại, hemoglobin và nước là những chất hấp thụ chính. Ánh sáng hồng ngoại gần 700 – 1000 nm ít bị hấp thụ bởi các mô dưới da và có thể xuyên sâu tới mạch máu trong lớp mô dưới da

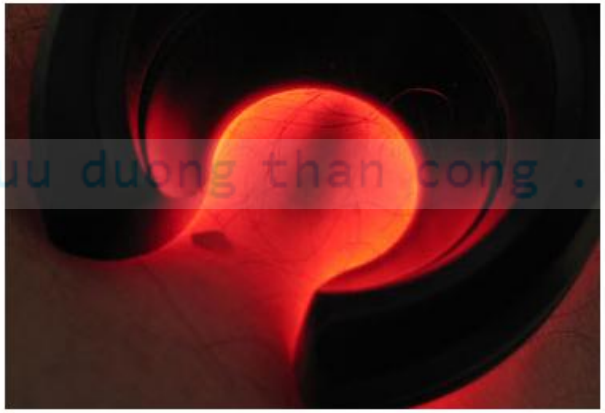
cuu duong than cong . com

THIẾT BỊ XÁC ĐỊNH TĨNH MẠCH BẰNG ÁNH SÁNG KHẢ KiẾN



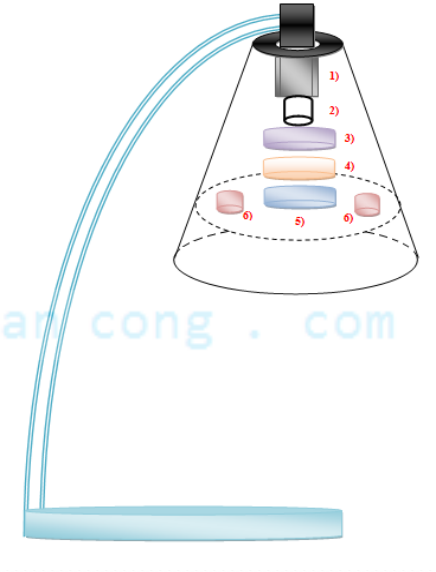
Kết quả thử nghiệm trên tay trước và sau khi chiếu sáng

Kết quả so sánh với thiết bị của nước ngoài (Veinlite)



cuu duong than cong . com

THIẾT BỊ XÁC ĐỊNH TĨNH MẠCH BẰNG KỸ THUẬT HỒNG NGOẠI GẦN



1. CCD camera
2. LENs
3. IR Filter
4. POL
5. ND
6. LEDs + POL

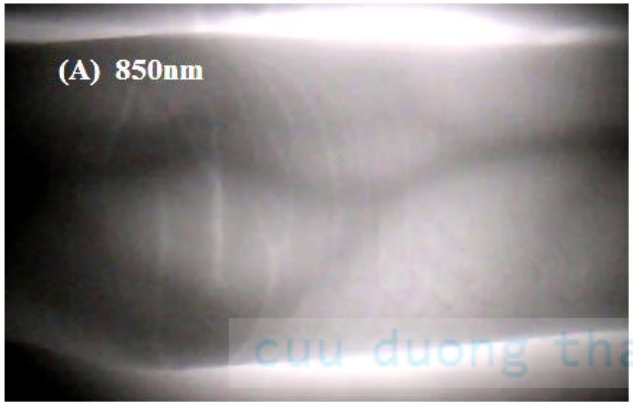
cuu duong than cong . com

1. CCD camera: camera có độ nhạy cao với ánh sáng cận hồng ngoại.
2. Kính lọc hồng ngoại (Infrared filter - F. IR): chặn ánh sáng khả kiến, nó chỉ cho phép tia hồng ngoại đi qua của hệ thống quang học đến CCD camera.
3. Kính lọc cường độ (Neutral density filter – ND): giảm cường độ ánh sáng đến CCD camera, đặc biệt hữu dụng khi chụp lại hình ảnh có thời gian phơi sáng dài dưới nguồn sáng mạnh.
4. Kính phân cực (POL): tăng cường và thêm vào độ tương phản và còn dùng để giảm bớt sự phản chiếu của môi trường xung quanh.
5. Thấu kính hội tụ: phóng to hình ảnh của những mạch máu nhỏ như mạch máu ở vị trí ngón tay.
6. Nguồn sáng hồng ngoại gần: LED công suất cao 850 nm, công suất 3W.

cuu duong than cong . com

cuu duong than cong . com

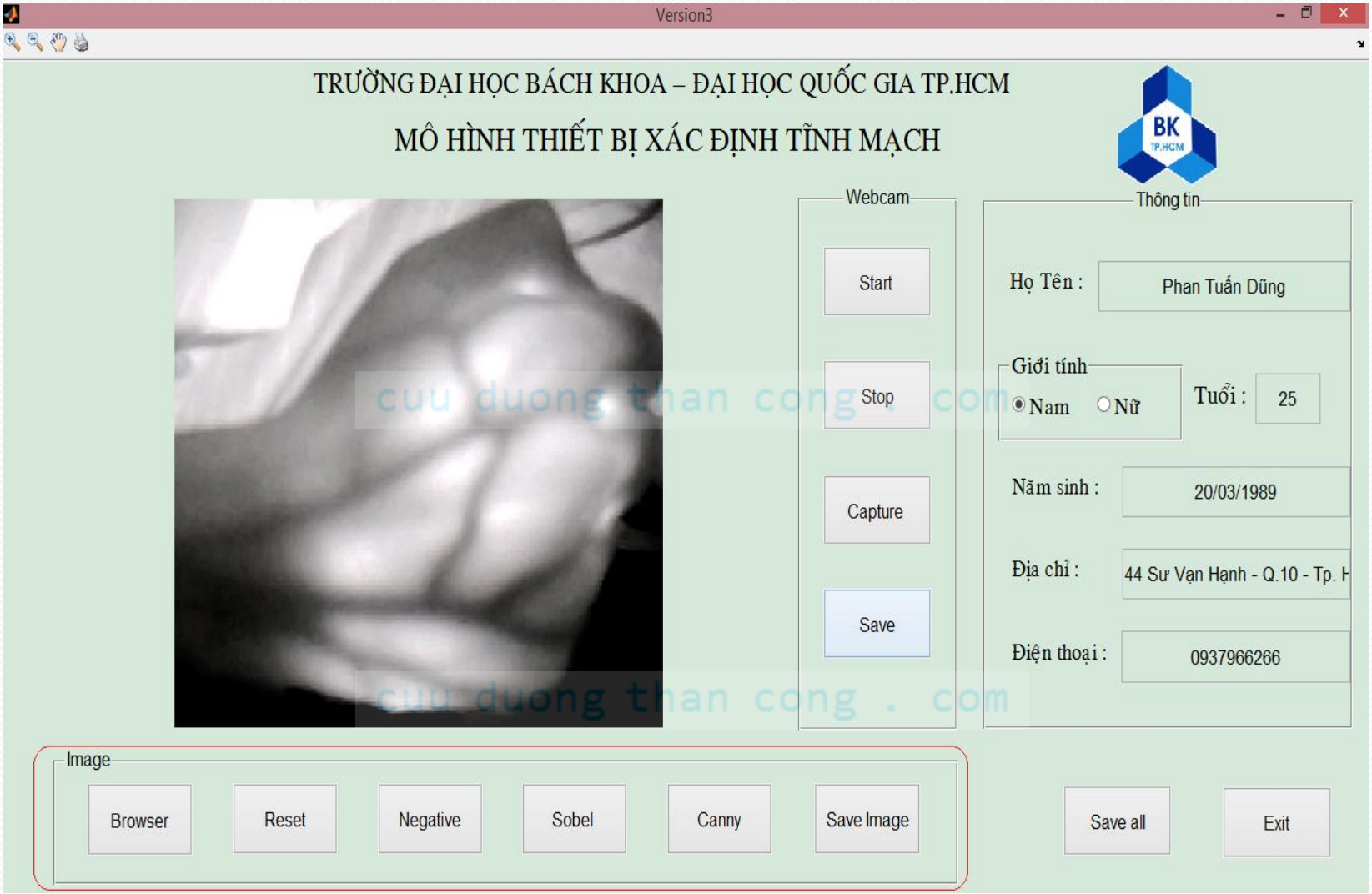
HÌNH ẢNHTĨNH MẠCH
QUA ÁNH SÁNG CẬN HỒNG NGOẠI



Tm ở ngón tay sử dụng LED 850nm và 940nm

Tm ở bàn tay và cổ tay sử dụng LED 850nm

cuu duong than cong . com



cuu duong than cong . com