



Application Note AN-RS-055

Spettroscopia Raman a bassa frequenza

La spettroscopia Raman è uno strumento analitico che consente la misurazione della struttura molecolare e l'identificazione dei materiali sulla base dei modi rotazionali e vibrazionali di una molecola. La maggior parte dei sistemi Raman da laboratorio copre la regione spettrale caratteristica che va da 200 a 3400 cm^{-1} . Tuttavia, l'accesso alle aree a bassa frequenza fornisce informazioni aggiuntive per applicazioni nella caratterizzazione delle proteine [1], nel rilevamento e nell'identificazione dei polimorfi [2], nonché nella determinazione della fase e della

struttura dei materiali.

La sonda di campionamento a fibra ottica di livello da laboratorio per spettrometri da laboratorio di Metrohm può accedere a modi a bassa frequenza fino a 65 cm^{-1} , offrendo una soluzione economicamente vantaggiosa per misurazioni a gamma più ampia. Questa Application Note descrive l'uso della spettroscopia Raman a bassa frequenza per lo studio degli amminoacidi, il rilevamento dei polimorfi e il monitoraggio dei cambiamenti di fase.

INTRODUZIONE

La regione a bassa frequenza aumenta il contenuto informativo della regione delle impronte digitali dello spettro Raman e amplia le possibili applicazioni. Il rilevamento di legami a idrogeno e altre

caratteristiche strutturali, come il polimorfismo, può essere differenziato utilizzando questa regione dello spettro. Il risultato è una maggiore specificità per materiali molto simili.

ANALISI

Lo spettrometro Raman da laboratorio i-Raman Plus 785S di Metrohm è dotato di un laser a 785 nm da 300 mW (potenza massima in uscita) e di un CCD (rivelatore a carica accoppiata) sensibile, raffreddato termoelettricamente e con superficie posteriore sottile.

L'i-Raman Plus è dotato di una sonda a fibra ottica

unica che consente la raccolta dati su un intervallo spettrale completo da 65 a 3500 cm^{-1} con una risoluzione spettrale di 4.5 cm^{-1} .

Gli spettri Raman vengono acquisiti a temperatura ambiente utilizzando il software SpecSuite con tempi di integrazione che vanno da 100 ms a 10 s.

AMINOACIDI

La spettroscopia Raman viene utilizzata per studiare la struttura e la conformazione degli aminoacidi, i mattoni costitutivi delle proteine. La porzione a bassa frequenza dello spettro Raman è una fonte di informazioni essenziale per uno studio completo degli aminoacidi. Ciò è evidente nella regione 65–3200 cm^{-1} dello spettro Raman della L-asparagine in **Figura 1**. In particolare, le informazioni vibrazionali contenute in uno spettro Raman possono aiutare a interpretare le interazioni molecolari e i processi biologici.

La **Figura 1** mostra sia la regione delle impronte digitali (blu) che la regione Raman a bassa frequenza (rosso) per L-asparagine; si notino le tre bande dominanti al di sotto di 200 cm^{-1} .

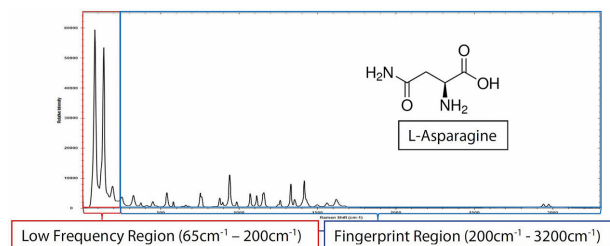


Figure 1. Lo spettrometro i-Raman Plus di Metrohm, dotato di sonda standard da laboratorio, viene utilizzato per acquisire gli spettri a bassa frequenza della L-asparagine con un tempo di integrazione totale di 1,2 s.

RILEVAZIONE DI POLIMORFI

Determinare la forma strutturale dei principi attivi farmaceutici (API) è di fondamentale importanza per l'industria farmaceutica. Ciò è particolarmente vero durante lo sviluppo dei farmaci, la produzione e il controllo di qualità del prodotto finale.

I principi attivi farmaceutici (API) presentano polimorfismo: composizione chimica identica ma strutture allo stato solido diverse. I polimorfi possono influenzare la biodisponibilità e l'indice terapeutico, quindi l'efficacia di un farmaco può essere compromessa se viene utilizzata la forma sbagliata [2]. Gli pseudo-polimorfi includono solventi sospesi in una struttura reticolare.

La **Figura 2** fornisce un esempio del pseudopolimorfo D-glucose, dimostrando la capacità della sonda i-Raman Plus di rilevare le differenze tra le forme monoidrata e anidra a frequenze inferiori a 200 cm^{-1} .

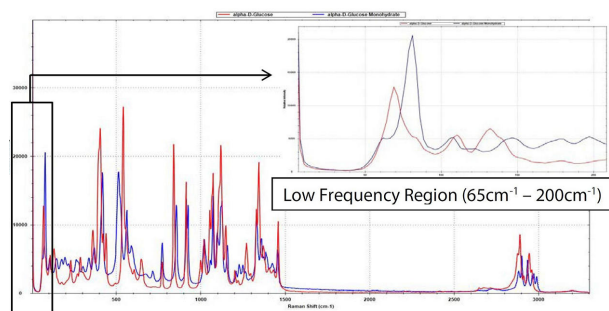


Figure 2. Spettri Raman dell' α -D-glucosio (rosso) e dell' α -D-glucosio monoidrato (blu), acquisiti con un tempo di integrazione di 10 s. Nota la differenza significativa tra i due pseudo-polimorfi nella gamma di bassa frequenza (vedi riquadro).

MONITORAGGIO DEL CAMBIAMENTO DI FASE

Nella regione a bassa frequenza è possibile osservare una transizione da un polimorfo all'altro a seguito di fusione seguita da ricristallizzazione. Per monitorare tali cambiamenti di fase è necessaria una specificità eccezionale, e la sonda dell'i-Raman Plus è particolarmente adatta, come dimostrato per lo zolfo (**Figura 3**).

Lo zolfo α solido viene depositato su un vassoio di alluminio e riscaldato con una piastra riscaldante mentre gli spettri Raman vengono raccolti con un i-Raman Plus e una sonda a fibra, utilizzando una potenza laser di 300 mW e un tempo di integrazione di 0,1 s per misurare sia la fase solida che quella liquida.

Dopo che il campione è stato riscaldato al di sopra del suo punto di fusione a 115.2 °C , il picco a bassa frequenza a 83.6 cm^{-1} si è allargato e spostato, indicando il passaggio dalla forma α alla forma λ . Nota che non sono osservabili cambiamenti all'interno della regione delle impronte digitali (**Figura 3**).

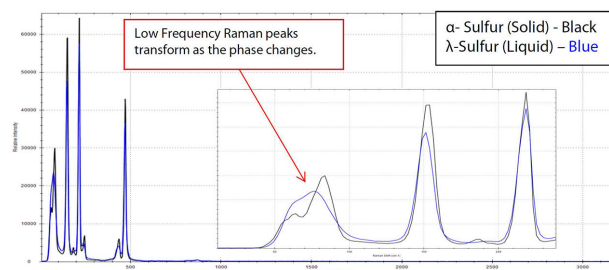


Figure 3. Spettri Raman dello zolfo in transizione dalla forma cristallina α alla forma liquida λ , acquisiti con un tempo di integrazione di 0,1 s. Nota il significativo allargamento dei picchi situati nella regione a bassa frequenza (vedi l'inserto).

CONCLUSION

Lo spettrometro Raman i-Raman Plus 785S è uno strumento prezioso per applicazioni che richiedono la rilevazione Raman a bassa frequenza fino a 65 cm^{-1} . La capacità di caratterizzare polimorfi e forme solvate supporta i processi di produzione e formulazione nelle industrie farmaceutiche e biologiche.

Oltre alla caratterizzazione di proteine, polimorfi e fasi, la spettroscopia Raman a bassa frequenza può essere utilizzata anche per studiare i reticoli dei semiconduttori [4], i nanotubi di carbonio [5], le celle solari e un assortimento di minerali, pigmenti e pietre preziose.

RIFERIMENTI

1. Teixeira, A. M. R.; Freire, P. T. C.; Moreno, A. J. D.; et al. High-Pressure Raman Study of L-Alanine Crystal. *Solid State Communications* **2000**, *116* (7), 405–409.
[https://doi.org/10.1016/S0038-1098\(00\)00342-2](https://doi.org/10.1016/S0038-1098(00)00342-2).
2. Larkin, P. J.; Dabros, M.; Sarsfield, B.; et al. Polymorph Characterization of Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) Using Low-Frequency Raman Spectroscopy. *Appl Spectrosc* **2014**, *68* (7), 758–776.
<https://doi.org/10.1366/13-07329>.
3. Golichenko, B. O.; Naseka, V. M.; Strelchuk, V. V.; et al. Raman Study of L-Asparagine and L-Glutamine Molecules Adsorbed on Aluminum Films in a Wide Frequency Range. *Semicond. Phys. Quantum Electron. Optoelectron.* **2017**, *20* (3), 297–304.
<https://doi.org/10.15407/spqeo20.03.297>.
4. Smith, E.; Dent, G. *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*, 2nd ed.; John Wiley & Sons, 2019.
5. Pelletier, M. J. *Analytical Applications of Raman Spectroscopy*, 1st ed.; Blackwell Science: Oxford, 1999.

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



i-Raman Plus 785S

L'i-Raman Plus 785S è uno spettrometro Raman di grado adeguato alla ricerca, a elevata risoluzione, progettato per precisione e versatilità in una forma compatta e portatile. Dotato di un laser a 785 nm e di un ampio intervallo spettrale compreso tra 65 e 3350 cm^{-1} , fornisce prestazioni eccellenti sia per analisi qualitative che quantitative. Il suo rivelatore CCD raffreddato TE assicura misure a basso livello di rumore – anche durante tempi di integrazione estesi – rendendolo ideale per la rilevazione di segnali Raman deboli in applicazioni come la conservazione dell'arte, la mineralogia e SERS.

Il sistema supporta la campionatura flessibile grazie a una sonda con conduttore ottico e accessori come un supporto per cuvette, un videomicroscopio e un piano XYZ. Basato sul software SpecSuite, il 785S offre sofisticate funzioni di analisi dei dati e identificazione spettrale.

L'i-Raman Plus 785S è la scelta ideale per team che richiedono un'analisi Raman affidabile su un ampio intervallo spettrale in ambienti operativi difficili, dalla ricerca di laboratorio alla ricerca sul campo.

Scoprite come l'i-Raman Plus offra una tecnologia Raman di grado adeguato alla ricerca, in un pacchetto accessibile:

- Ampia copertura spettrale e configurazioni con spettrometro ad alta risoluzione.
- Le dimensioni ridotte del sistema, il design leggero e il consumo ridotto di alimentazione permettono di eseguire analisi Raman, a livello di ricerca, in qualsiasi luogo.
- L'i-Raman Plus è dotato di una sonda in fibra ottica per una facile campionatura, e può essere usato con un supporto per cuvette, un videomicroscopio, un piano di posizionamento XYZ con porta sonda.
- L'i-Raman Plus è supportato dal software SpecSuite per una facile raccolta dei dati Raman oltre a una costruzione di modelli quantitativi, l'identificazione con librerie spettrali e analisi di routine.



Sonda Raman da laboratorio (785 nm)

Gruppo sonda Raman con conduttore ottico da laboratorio con pulsante di innesco. Lunghezza della fibra 1,5 metri. Compatibile con i modelli i-Raman Plus 785S e 785HR.