

# Primjena infracrvene spektroskopije u biotehnologiji i biomedicini

---

Ivić, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:067105>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-22**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Biotehnologija**

**Petra Ivić**

7532/BT

**Primjena infracrvene spektroskopije u biotehnologiji i biomedicini**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Instrumentalna analiza

**Mentor:** Doc. dr. sc. Monika Kovačević

**Zagreb, 2021.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija**  
**Zavod za kemiju i biokemiju**  
**Laboratorij za organsku kemiju**

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Biotehnologija

## **PRIMJENA INFRACRVENE SPEKTROSKOPIJE U BIOTEHNOLOGIJI I BIOMEDICINI**

***Petra Ivić, 0058212556***

### **Sažetak:**

Potreba za brzo dostupnim i isplativim metodama detekcije određenih skupina i spojeva od iznimne je važnosti u znanosti i industriji. Jedna od najčešće korištenih spektroskopskih tehnika je infracrvena spektroskopija tj. IR-spektroskopija (engl. *Infra Red*). Prednost IR spektroskopije je što IR spektar daje informacije o strukturi i koncentraciji molekula, te je njegovo određivanje relativno brzo, jednostavno i jeftino, a važna je i visoka osjetljivost same metode. Bitno je napomenuti da je metoda nedestruktivna, minimalno invazivna te nije skupa, čime nudi alternativu drugim spektroskopskim metodama.

U ovom Završnom radu opisan je teorijski princip infracrvene spektroskopije, načina rada i vrste spektrofotometara te je dan pregled recentnih istraživanja uporabe infracrvene spektroskopije iz područja biotehnologije i biomedicine.

**Ključne riječi:** infracrvena spektroskopija, biotehnologija, biomedicina, spektroskopske metode

**Rad sadrži:** 27 stranica, 12 slika, 1 tablicu, 35 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** Doc. dr. sc. Monika Kovačević

**Datum obrane:** 9. rujna 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Food technology**  
**Department of Chemistry and Biochemistry**  
**Laboratory of Organic Chemistry**

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Biotechnology

### ***APPLICATION OF INFRARED SPECTROSCOPY IN BIOTECHNOLOGY AND BIOMEDICINE***

***Petra Ivić, 0058212556***

#### **Abstract:**

The need for rapid and cost-effective methods of detecting certain groups and compounds is extremely important, both, in science and industry. One of the most used spectroscopic methods is infrared spectroscopy, *i.e.*, IR-spectroscopy. The advantages of IR spectroscopy are that IR spectra give information of the molecule structure and concentration. Spectra measuring is relatively fast, easy and cheap and the high sensitivity of the method itself is important as well. It is important to note that the method is non-destructive, minimally invasive and inexpensive, which offers an alternative for other spectroscopic methods.

This Bachelor thesis describes the theoretical principle of infrared spectroscopy, methods of operation and types of spectrophotometers, along with an overview of recent research on the use of infrared spectroscopy in the field of biotechnology and biomedicine.

**Keywords:** infrared spectroscopy, biotechnology, biomedicine, spectroscopic methods

**Thesis contains:** 27 pages, 12 figures, 1 table, 35 references

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** Ph. D. Monika Kovačević, Assistant Professor

**Defence date:** September 9<sup>th</sup> 2021

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
<b>2.1. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA</b> .....	2
2.1.1. PRINCIP RADA.....	3
2.1.1.1. Vibracije veza.....	3
2.1.1.2. IR spektar.....	4
2.1.1.3. IR spektrometar .....	5
2.1.2. OTKRÍĆE IR-a .....	6
2.1.3. VRSTE IR-SPEKTROSKOPIJE.....	6
2.1.3.1. FT-IR spektroskopija .....	6
2.1.3.2. NIR spektroskopija.....	7
2.1.4. PREDNOSTI I NEDOSTATCI IR SPEKTROSKOPIJE U ODNOSU NA DRUGE SPEKTROSKOPSKE METODE .....	8
2.1.4.1. Ostale spektroskopske metode .....	8
2.1.4.2. Prednosti i nedostaci IR spektroskopije.....	9
<b>2.1. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA U BIOTEHNOLOGIJI</b> .....	9
2.2.1. PROIZVODNJA VINA.....	10
2.2.2. PROIZVODNJA PIVA .....	12
2.2.3. PROIZVODNJA BIOETANOLA .....	13
<b>2.3. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA U BIOMEDICINI</b> .....	16
2.3.1. MIŠÍĆNI METABOLIZAM .....	17
2.3.2. KRVOŽILNA FUNKCIJA .....	18
2.3.3. FUNKCIJA MOZGA.....	19
<b>2.4. PRIMJENA IR SPEKTROSKOPIJE U DETEKCIJI RAKA</b> .....	19
2.4.1. RAK DOJKE.....	20
2.4.2. RAK PLUĆA.....	21
2.4.3. RAK JAJNIKA I ENDOMETRIJA.....	21
2.4.4. RAK KOŽE.....	22
<b>3. ZAKLJUČAK</b> .....	23
<b>4. POPIS LITERATURE</b> .....	24

## 1. UVOD

Jedna od najčešće korištenih spektroskopskih tehnika je infracrvena spektroskopija tj. IR-spektroskopija. Riječ je o metodi koja koristi infracrveno područje elektromagnetskog spektra za određivanje funkcijskih skupina u organskom spoju.

Infracrvena spektroskopija predstavlja jednostavnu, lako dostupnu tehniku koja može dati uvid u molekularni sastav sirovina i kompleksnih industrijskih smjesa, kao i uvid u biokemijske promjene pojedinih tkiva i uzoraka ljudskog organizma.

Zbog navedenih značajki, našla je široku primjenu biotehnologiji (industrija vina, piva, proizvodnji biogoriva) i medicini (određivanje oksigenacije tkiva, rane faze ili uznapredovalost nekih bolesti kao što su cistična fibroza, ateroskleroza, tihi moždani udar i vaskularna demencija te za detekciju raka određivanjem biokemijskih promjena na molekularnoj razini, uzrokovanih metaboličkim procesima tijekom razvoja bolesti).

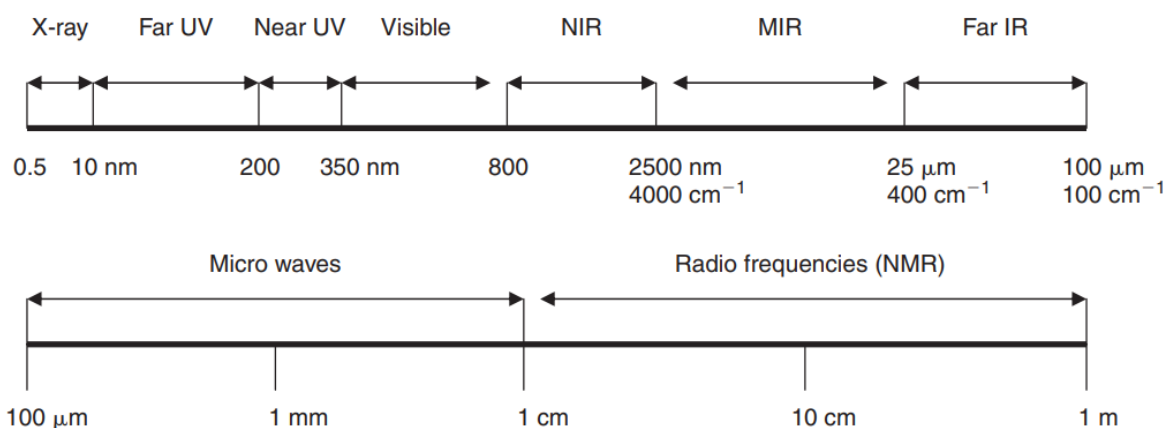
Cilj ovog Završnog rada bio je pregledom znanstvene literature ukazati na važnost IR-spektroskopije u biotehnologiji i medicini, pri čemu je poseban naglasak stavljen na pregled prednosti i nedostatke same tehnike.

Budući da je IR-spektroskopija nedestruktivna, minimalno invazivna te nije skupa, u budućnosti će naći i dodatnu primjenu u industriji i znanosti, čime će osigurati brze rezultate i ponuditi alternativu velikom broju drugih spektroskopskih metoda.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. INFRACRVENA SPEKTROKOPIJA

Spektroskopija je znanstvena djelatnost, koja za određivanje kemijskog sastava i strukture ispitivanog uzorka koristi elektromagnetska zračenja valnih duljina infracrvenih i ultraljubičastih valova, mikrovalova i x-zraka (slika 1). Elektromagnetsko zračenje stupa u interakciju s jezgrama, tj. elektronskim omotačima atoma i molekula te uzrokuje energetske ili strukturnu promjenu. [1] Svaka spektroskopska metoda koristi različiti dio elektromagnetskog spektra, što dovodi do drugačije vrste pobude.



**Slika 1.** Regije elektromagnetnog spektra značajne za analitičku uporabu [2]

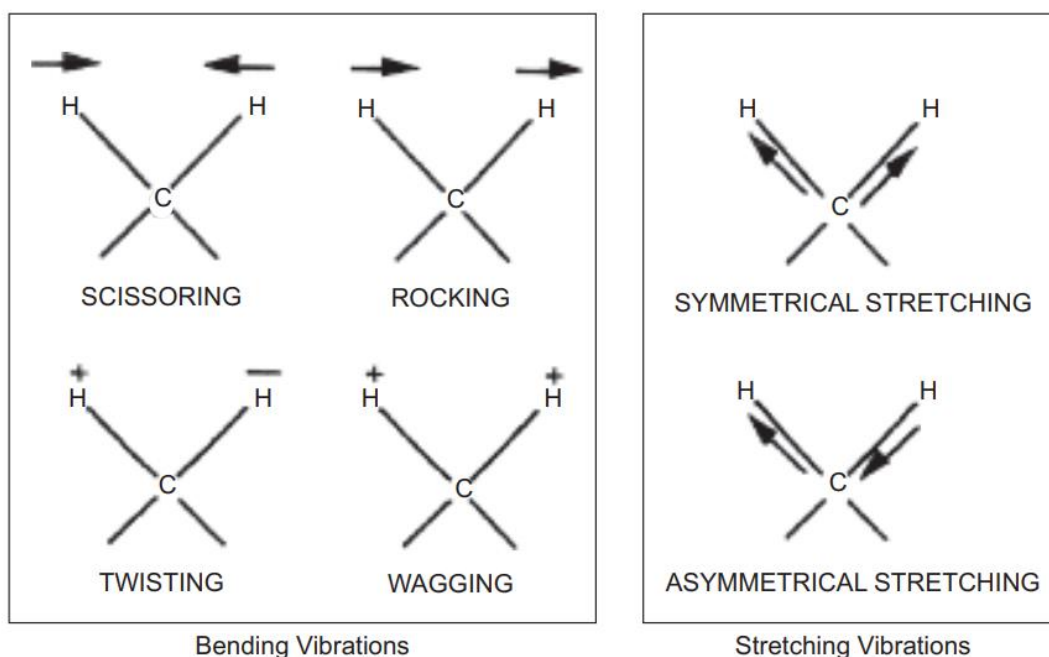
Jedna od najčešće korištenih spektroskopskih tehnika je infracrvena spektroskopija tj. IR-spektroskopija. Riječ je o metodi koja koristi infracrveno područje (800-10<sup>6</sup> nm) elektromagnetskog spektra za određivanje funkcijskih skupina u organskom spoju.

Najčešće se koristi područje bliskog (NIR: 13 333–4000 cm<sup>-1</sup>), te srednjeg (MIR: 4000 – 400 cm<sup>-1</sup>) IR zračenja. Umjesto valne duljine, u IR- spektroskopiji se koristi valni broj koji se izražava u cm<sup>-1</sup>, a proporcionalan je frekvenciji. [2]

## 2.1.1. PRINCIP RADA

### 2.1.1.1. Vibracije veza

Kemijske veze nisu krute, već mogu vibrirati na različite načine. Osnovne vibracije veza dijelimo na rastezne (koje mogu biti simetrične i nesimetrične) te na deformacijske (koje mogu biti ravninske i neravninske). Simetrične se vibracije pojavljuju u vezama koje su spojene na zajednički atom, pri čemu se usklađeno udaljuju i približavaju zajedničkom atomu. Nesimetrične vibracije se od simetričnih razlikuju samo po tome što se veze naizmjenično rastežu te stežu u odnosu na zajednički atom. Deformacije vibriranjem u ravnini su „striženje“ i njihanje u ravnini, a neravninske deformacijske vibracije uvijanje i njihanje (slika 2). [3]



**Slika 2.** Ilustracija osnovnih modela vibracije veza [3]

Svaka kemijska veza ima svoju karakterističnu vibracijsku frekvenciju, pa će apsorpcija zračenja dovesti do pojačavanja amplitude one vrste vibracije koja odgovara valnoj duljini infracrvenog svjetla kojom je uzorak izložen, [3] uz ograničenje da veza mora biti polarna kako bi imala dipolni moment, čija pak promjena dovodi do apsorpcije IR zračenja.

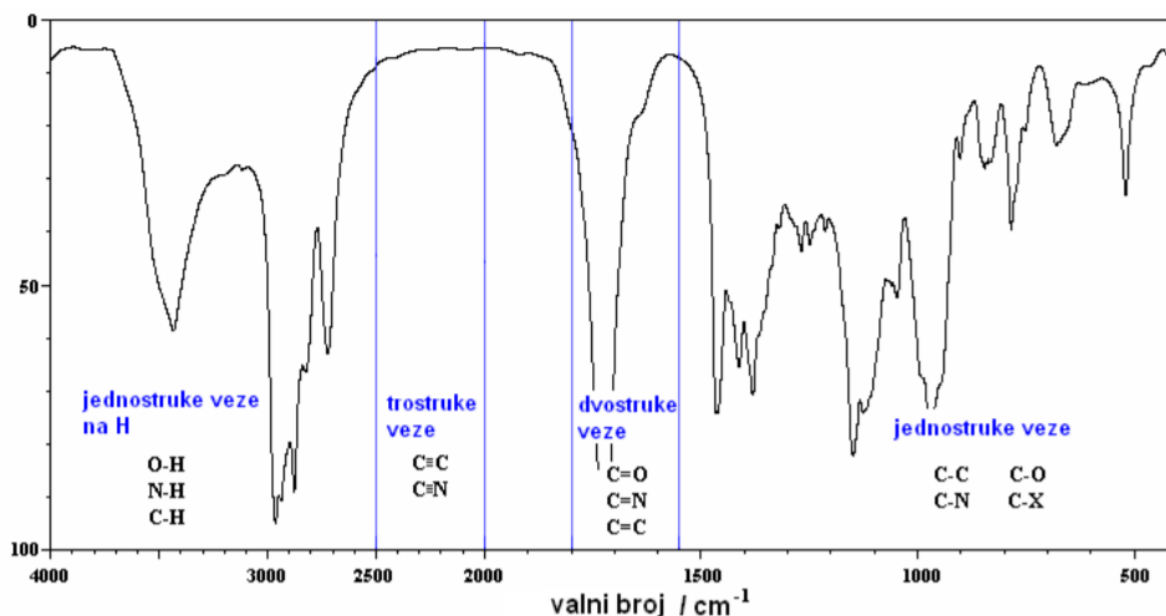


Rezultat mjerenja apsorpcije infracrvenog zračenja je IR spektar koji je karakterističan za svaku molekulu. Stoga molekule možemo identificirati na temelju njihovih specifičnih vibracija. [4] Upravo u tome leži osnova određivanja strukture organskih spojeva infracrvenom spektrometrijom.

### 2.1.1.2. IR spektar

IR spektar je prikaz svih apsorpcijskih vrpce koje su nastale snimanjem uzorka, a prikazuje ovisnost apsorpcije ili transmitancije o valnom broju. Najčešće se promatra srednje infracrveno područje, koje odgovara energiji rasteznih i deformacijskih vibracija veza u organskim molekulama. Spektar se dijeli na područje funkcionalnih skupina ( $4000\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ ) i područje otiska prsta ( $1400\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ ). [5]

Položaj, intenzitet i oblik pojedine vrpce u području funkcionalnih skupina karakterističan je za svaku vrstu funkcionalne skupine spoja, dok je područje otiska prsta karakteristično za svaki pojedini spoj (slika 3).

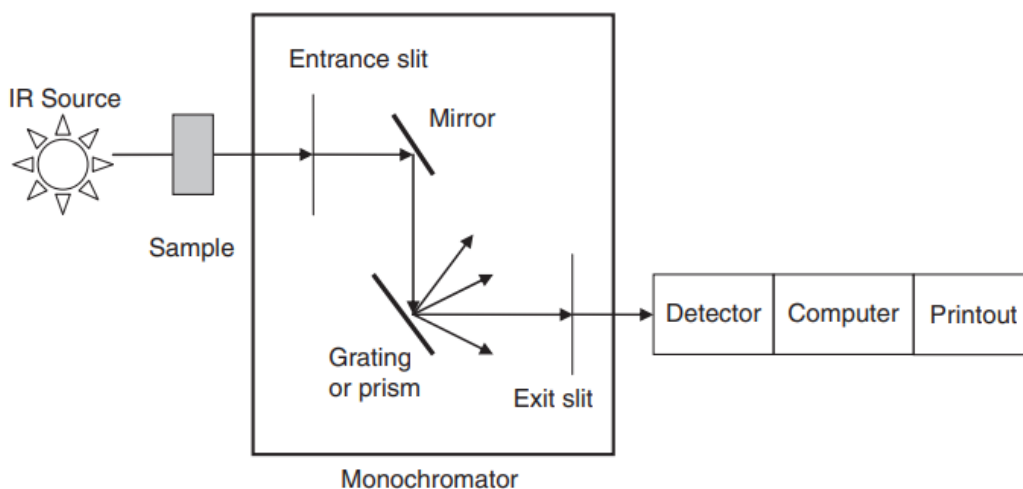


**Slika 3.** IR spektar karakterističnih funkcionalnih skupina [4]

### 2.1.1.3. IR spektrometar

Instrument koji nam omogućuje da detektiramo pojačavanje vibracije veza, tj. mjerenje apsorpcije IR zračenja naziva se IR spektrometar. Sastoji se od izvora zračenja, držača uzorka, odabirača valne duljine (npr. monokromator), detektora (koji mjeri intenzitet svjetlosti te ju prevodi u električni signal) i računala s potrebnim softverom (koji obrađuje podatke te ih prikazuje u obliku IR spektra).

Emitirana IR svjetlost prolazi kroz uzorak, potom kroz monokromator koji sadrži optički uređaj kao što su prizma ili rešetka, na kojima se svjetlost rasipa u spektar različitih valnih duljina. Izlazni prorez je napravljen tako da samo svjetlost specifične valne duljine može proći do detektora. Rotiranjem prizme ili rešetke, omogućuje se odabir valne duljine koja će se propustiti kroz izlazni otvor (slika 4). [6]



**Slika 4.** Shema principa rada disperzivnog MIR spektrometra [7]

Osim tradicionalnog, prethodno opisanog disperzivnog MIR spektrometra, postoje još druge vrste IR spektrometara, koji će biti opisani u idućim poglavljima.

## **2.1.2. OTKRIĆE IR-a**

Otkriće infracrvene svjetlosti omogućio je astronom Herschel 1800. godine, u okviru istraživanja raspodjele energije u Sunčevu spektru. Eksperiment je proveo tako što je sunčevu svjetlost usmjerio kroz prizmu kako bi dobio spektar boja na površini stola. Na stol je postavio niz živinih termometara, koji su značajno povišenje temperature zabilježili uz crveno područje spektra, koje je bilo veće valne duljine od vidljive svjetlosti. Nazvao ga je infracrvenim područjem spektra, a kasnije se dokazalo da se ono podvrgava jednakim zakonima optike kao i vidljiva svjetlost. Daljnja istraživanja bila su dosta ograničena zbog nedostatka odgovarajućih uređaja za preciznije mjerenje valne duljine. [8]

Temelj infracrvene spektroskopije postavili su W. Abney i E.R. Festing 1881. godine. Fotografirali su prvi spektar molekularnih vibracija, čime su pokazali vezu apsorpcijskih vrpca sa prisutnošću nekih kemijskih veza u 53 analizirana spoja. [9] Potom su i drugi znanstvenici počeli istraživati razne organske molekule, čime se pokazalo da svaki spoj ima jedinstven spektar i da ista kemijska skupina prisutna u različitim molekulama pokazuje apsorpcijsku vrpcu iste valne duljine.

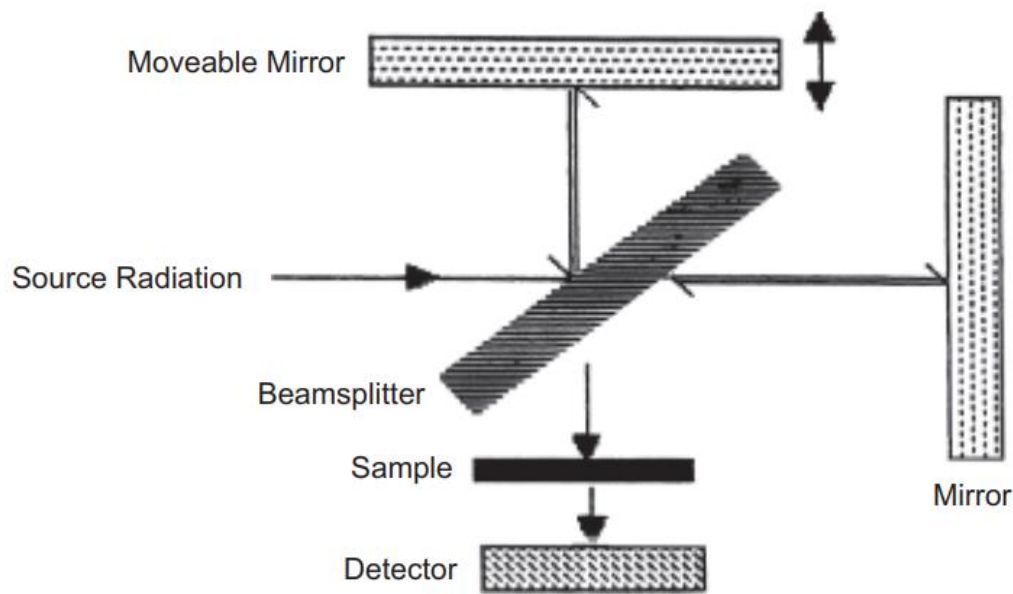
## **2.1.3. VRSTE IR-SPEKTROSKOPIJE**

Postoje dva tipa spektrometara koji rade u srednjem IR području, a to su disperzivni i Fourier transform (FT-IR) instrumenti. Disperzivni IR spektrometri su opisani u prethodnim poglavljima.

### **2.1.3.1. FT-IR spektroskopija**

U FT-IR instrumentima radijacija nije dispergirana, već sve valne duljine u isto vrijeme stižu do detektora, a potom računalo matematičkom operacijom Fourierove transformacije prevodi rezultat u IR spektar. Također za razliku od disperzivnog spektrometra, umjesto monokromatora, koristi se interferometar. Najčešće se upotrebljava Michelsonov interferometar, koji funkcionira tako što najprije podijeli IR zraku, na način da jedan dio prođe kroz razdjelnik, a drugi se dio reflektira. Zrake se potom kombiniraju reflektirajući se nazad do razdjelnika. Duljina puta jedne zrake varira zahvaljujući pomičnom zrcalu. Na taj način zrake

mogu interferirati konstruktivno ili destruktivno, ovisno o razlici duljine prijeđenog puta, čime nastaje interferogram koji potom prolazi kroz uzorak (slika 5). S obzirom da interferogram sadrži sve frekvencije IR-zračenja, sve se valne duljine, za razliku od disperzivnog IR spektrometra mjere odjednom, zbog čega je ova metoda jako brza. [10]



**Slika 5.** Shematski dijagram Michelsonovog interferometra [11]

### 2.1.3.2. NIR spektroskopija

Kako je prethodno spomenuto, za proučavanje bliskog IR područja koristi se NIR spektroskopija, u kojoj se vrpce tvore na temelju složenih tj. kombiniranih vibracija molekula kao i na temelju prijelaza elektrona, što ju istovremeno čini vibracijskom i elektronskom spektroskopijom. [12] Uglavnom se upotrebljava za tekuće i krute uzorke, na način da se za tekuće uzorke mjeri transmitancija svjetlosti, dok se krutim uzorcima mjeri difuzna refleksija svjetlosti. Potom se svjetlost transmitirana kroz uzorak, odnosno difuzno reflektirana od uzorka, skuplja u optičku sondu ili integrirajuću sferu, a zatim se detektira optičko-električnim sensorima. [13] Zbog slabih apsorpcijskih vrpca (od kojih većina potječe od funkcionalnih grupa koje sadrže vodikov atom), potrebna je velika preciznost i stabilnost instrumenata da bi se postigao što veći omjer signala i šumova. [12]

Spektroskopije srednjeg i bliskog infracrvenog područja su nedestruktivne metode, no NIR metoda omogućuje *in-situ* i beskontaktnu analizu uzoraka u različitim oblicima te

različite debljine. NIR spektroskopija se za razliku od MIR spektroskopije može koristiti kao „prozor živih organizama“, jer omogućuje duboko prodiranje u njih. [12]

## **2.1.4. PREDNOSTI I NEDOSTATCI IR SPEKTROSKOPIJE U ODNOSU NA DRUGE SPEKTROSKOPSKE METODE**

### **2.1.4.1. Ostale spektroskopske metode**

Osim IR spektroskopije, postoje i druge spektroskopske metode, a to su: UV/Vis spektroskopija (*engl.* Ultraviolet/Visible), masena spektroskopija, nuklearna magnetska rezonancija, te kirooptičke metode.

UV/Vis spektroskopija se temelji na zračenju ultraljubičastog odnosno vidljivog svjetla, koje uzrokuje prijelaz valentnih elektrona u više nepopunjene orbitale, čime se dobiva informacija o prisutnom  $n$ -konjugiranom elektronskom sustavu molekule. Različite će molekule apsorbirati zračenje različitih valnih duljina, pri čemu će broj dobivenih apsorpcijskih vrpca odgovarati strukturnim skupinama u molekuli. [4]

Masena spektroskopija (MS) se temelji na kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi molekula pomoću omjera mase i naboja, pri čemu se promatranjem fragmentacije molekula određuje struktura istih. Uz strukturu, ovom metodom dobivamo informaciju i o molarnoj masi molekule te o fizikalnim i kemijskim svojstvima promatranog uzorka. [4]

NMR, odnosno nuklearna magnetska rezonancija, temelji se na energetske promjenama atomskih jezgara, čime se u konačnici može odrediti specifično uređenje vodikovih i ugljikovih atoma u molekuli. To ju čini najuspješnijom metodom za određivanje kemijske strukture i anorganskih spojeva. [4]

Kirooptičke metode služe za identifikaciju i određivanje konfiguracije kiralnih spojeva, tj. spojeva koji zakreću ravninu polariziranog svjetla. Navedeno omogućuje i praćenje strukturnih promjena proteina kao i određivanje njihove sekundarne strukture. Najčešće se koristi CD spektroskopska metoda, tj. cirkularni dikroizam. [4]

#### **2.1.4.2. Prednosti i nedostaci IR spektroskopije**

Prednost IR spektroskopije je što nam IR spektar daje informacije o strukturi i koncentraciji molekula, te je njegovo određivanje relativno brzo, jednostavno, te jeftino. Naime, NMR i MS spektrometri su skuplji nekoliko puta od većine FT-IR spektrometara. Još jedna prednost je visoka osjetljivost metode. Na primjer, FT-IR spektrometrom se mogu mjeriti mikrogramski uzorci, ali i pikogramski i to pomoću zamrzavanja eluata dobivenog plinskom kromatografijom. Takvu osjetljivost ima još samo masena spektrometrija. Velika prednost je i neinvazivnost metode. [6]

Nedostatak IR spektroskopije je što se spektar ne može odrediti svim molekulama. Razlog tomu je što molekule koje nemaju dipolni moment ne vibriraju, kao na primjer homonuklearne dvoatomne molekule, pa neće biti vidljive detektorima. Nedostatak je i nemogućnost snimanja vode. S obzirom da voda jako apsorbira IR zračenje, dobije se spektar sa širokim vrpčama i vrpčama velikog intenziteta što može maskirati prisutne otopljene tvari. Problem nastaje i pri analiziranju smjesa tvari, budući da spektar postaje kompleksniji što je kompleksnija smjesa. Navedeni problemi se mogu riješiti prethodnim pročišćavanjem ili softverskim oduzimanjem spektra čiste otopine tj. pojednostavljenjem spektra. Naposljetku, u odnosu na MS i NMR, IR spektroskopijom ne možemo dobiti podatke o masi molekule i položaju pojedinih funkcionalnih skupina. [6]

U sljedećim poglavljima obraditi će se prethodno opisane metode IR spektroskopije kroz mogućnosti njihove primjene u biotehnologiji i biomedicini.

### **2.1. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA U BIOTEHNOLOGIJI**

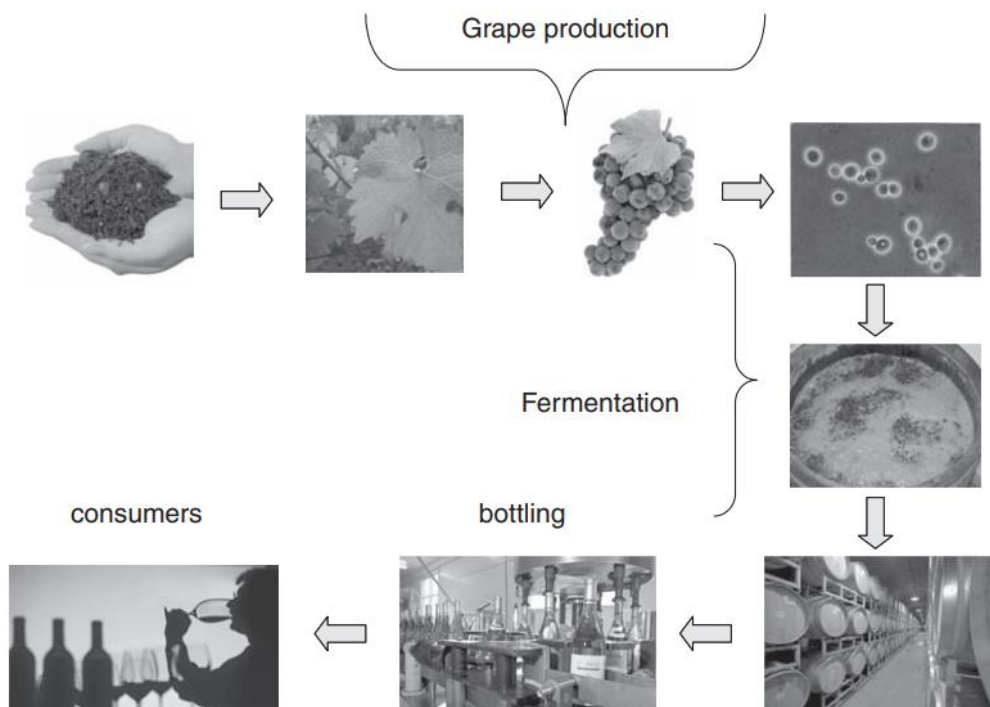
Sami začetci biotehnologije koji datiraju od prije nekoliko tisuća godina, obuhvaćaju proizvodnju vina i piva koji su dobiveni fermentacijom pomoću kvasaca. Od tada pa do danas, tzv. žuta biotehnologija bavi se optimiranjem proizvodnje kao i unapređenjem kvalitete vina i piva. [14] S obzirom da se tijekom same proizvodnje praćeni parametri mijenjaju, očita je potreba za jednostavnim, brzim i ekonomski isplativim tehnikama procjene parametara i određivanja sastava sirovine, međuprodukata te krajnjeg proizvoda.

U današnje vrijeme, zbog povećanja ljudske populacije, raste potražnja za energijom, a potreba za obnovljivim izvorima energije povećava se u skladu sa trošenjem zaliha neobnovljivih izvora energije. Bioetanol je najčešće obnovljivo gorivo današnjice, a proizvodi se iz šećernih, polisaharidnih i lignoceluloznih sirovina. Zbog kompleksnosti obrade sirovina i otežanog nadzora procesa fermentacije, nužna je potreba za razvojem novih metoda koje će omogućiti veći prinos etanola. [15]

IR spektroskopija pruža odgovor na tražene zahtjeve žute i zelene biotehnologije. U nastavku će se navesti i objasniti primjena NIR spektroskopije u proizvodnji vina i piva, te primjena FT-IR spektroskopije u proizvodnji biogoriva.

### 2.2.1. PROIZVODNJA VINA

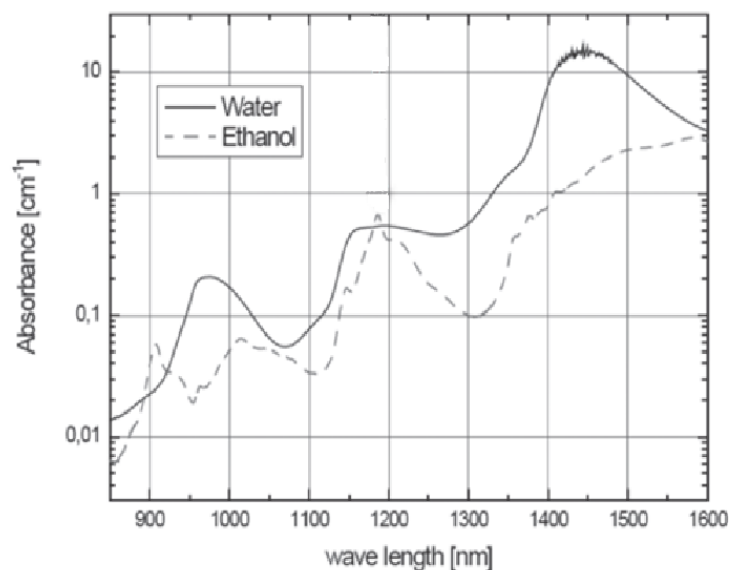
Infracrvenom spektroskopijom mogu se nadzirati sve faze proizvodnje vina kao što su: uzgoj grožđa, identifikacija kvasaca, fermentacija te određivanje sastava i kvalitete vina (slika 6). [16]



**Slika 6.** Faze proizvodnje vina [16]

Jedan od najvažnijih faktora koji će odrediti kvalitetu vina je sastav grožđa tijekom berbe. Mjerenje parametara kvalitete može se postići NIR spektroskopskom analizom homogeniziranog uzorka grožđa. Gishen i sur. proučavali su potencijal IR spektroskopskih metoda za brzu analizu te kontrolu kvalitete grožđa i vina. Zaključili su da je koncentracija pigmenta antocijana u grožđu dobar pokazatelj sastava i kvalitete budućeg crnog vina. Apsorpcijske vrpce koje pripadaju antocijanima moguće je detektirati u području valnih duljina 400-2500 nm. U istom istraživanju otkriveno je da se NIR spektroskopija može koristiti i za detekciju fungalnih infekcija grožđa, kao što je infekcija *Erysiphe necator* koja uzrokuje pepelnicu vinove loze što olakšava detekciju u vinogradima gdje se berba odvija mehanički, odnosno gdje je uobičajena vizualna detekcija otežana. [17]

Međutim, najveću primjenu NIR spektroskopija u industriji vina pronašla je ne samo u detekciji, nego i u mjerenju koncentracije etanola u vinu. Riječ je o rutinskoj analitičkoj metodi, s obzirom da etanol u alkoholnim pićima pokazuje jaku apsorpcijsku vrpcu u NIR spektru (slika 7). [16]



**Slika 7.** Spektar etanola i vode u NIR regiji [18]

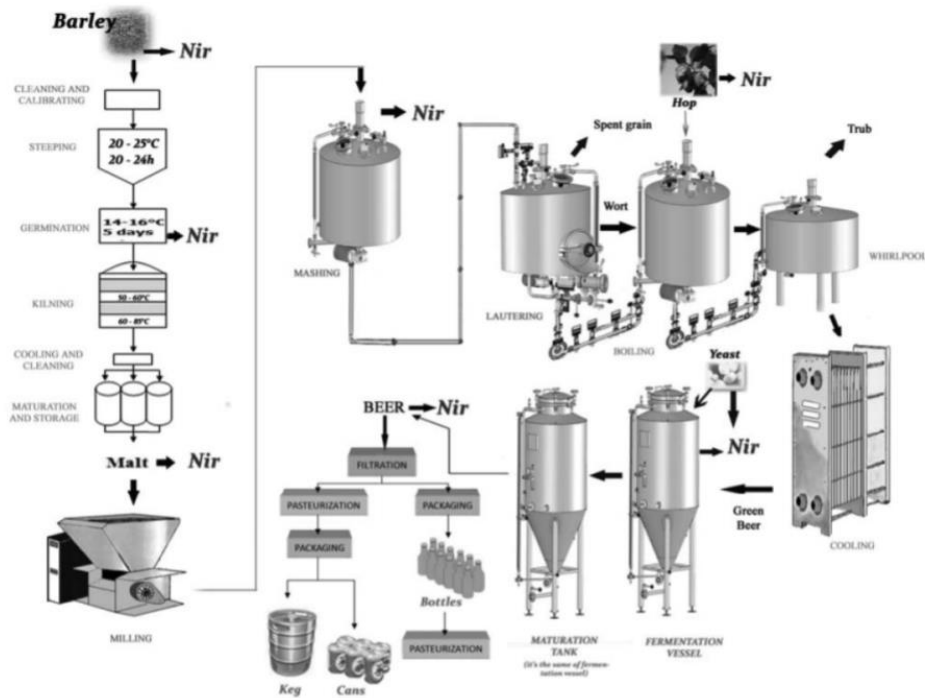
U posljednje vrijeme napretkom NIR tehnologije, omogućeno je mjerenje i nekih drugih kemijskih parametara u vinu kao što su hlapljive kiseline, organske kiseline, jabučna, vinska te mliječna kiselina, reducirajući šećeri te sumporov dioksid. [19] Indirektno se mogu određivati



i metalni ioni prisutni u vinu kao što su Na, Mg, Ca, Fe te Cu. S obzirom da metalni ioni ne apsorbiraju svjetlo u regiji bliskog infracrvenog zračenja, određuju se posredno pomoću interakcija koje postižu s vodom ili drugim organskim spojevima. [20]

## 2.2.2. PROIZVODNJA PIVA

Bitni faktori pri proizvodnji piva su upotreba kvalitetnih sirovina te kontrola i nadziranje procesa proizvodnje. Infracrvena spektroskopija primjenjuje se u mnogim fazama proizvodnje piva kao što je analiza ječma, slada, hmelja, kvasca, gotovog piva te nadzor procesa klijanja ječma i fermentacije (slika 8). [21]



**Slika 8.** Faze proizvodnje piva u kojima se primjenjuje NIR spektroskopija [21]

Glavna primjena IR spektroskopije u ovom području je razvoj metoda selekcije najboljih sorti ječma kako bi se proizveo visokokvalitetni slad. [22] Istraživanja uključuju razvoj metoda za klasifikaciju genotipa, detekciju mikotoksina te kvantitativnu analizu vlage, te proteina u ječmu. Henry i sur. ispitivali su sposobnost NIR spektrometra za određivanje  $\beta$ -glukana ječma,

koristeći se enzimskom reakcijom kao usporednom metodom. Promatrali su spektralne razlike standarda glukana, škroba, inulina, i raznih monosaharida u regiji od 1600 do 1800 nm. Kalibriranjem i korištenjem enzimske reakcije kao referentne metode, uspjeli su odrediti količinu  $\beta$ -glukana u ječmu. Istažuje se i primjena NIR spektroskopije za mjerenje  $\alpha$ -kiselina u hmelju i to u rasponu valnih duljina 1445-2348 nm. Axcell i sur. otkrili su da je bolja reproducibilnost rezultata u fino samljevenim, prosijanim uzorcima hmelja. Istraživanjem su pokazali da se NIR spektroskopija može koristiti i za određivanje zaostale vlažnosti u sušenom hmelju. [16]

Potencijalna primjena NIR tehnike leži i u nadzoru fermentacije tijekom proizvodnje piva, pri čemu se određuje koncentracija etanola. Razvijeni su kalibracijski modeli otporni na boju piva, zamućenost i koncentraciju šećera, te se postigla linearnost iznad kritičnog područja od 0-8% koncentracije etanola. [16] U pivarstvu je bitna i analiza te identifikacija kvasaca. Stoga je razvijen NIR spektrometar koji ima komercijalnu upotrebu za određivanje koncentracije kvasca tijekom fermentacije piva, zahvaljujući otpornosti na zamućenost sladovine, prisutnost mjehurića ugljikovog dioksida, te visoku koncentraciju inokuluma kvasca. [22]

Nedostatci instrumentacije za NIR spektroskopiju u vinarstvu i pivarstvu su veliki kapitalni izdatci, te kompleksna kalibracija i održavanje. Kalibracija spektrofotometra se može poboljšati sušenjem uzoraka, no time se komplicira priprema istih, te se ograničava mogućnost simultane analize komponenti. Ipak daljnjim istraživanjima moguće je razviti ekonomski isplative i jednostavne instrumente za komercijalnu upotrebu. [23]

### **2.2.3. PROIZVODNJA BIOETANOLA**

Kao što je već spomenuto, bioetanol se proizvodi iz šećernih, polisaharidnih i lignoceluloznih sirovina. Konverzija lignoceluloze u bioetanol odvija se u više faza, a to su: delignifikacija, enzimska hidroliza celuloze i hemiceluloze u monomere te fermentacija šećera u etanol. Najkritičnija faza konverzije je delignifikacija odnosno predtretman lignocelulozne biomase. Provodi se radi izmjene lignocelulozne strukture, kako bi se celulozi i hemicelulozi (vezanima u kompleks s ligninom) omogućio pristup enzima koji vrše konverziju polisaharidnih polimera u fermentabilne šećere. Da bi se procijenio efekt postignut predtretiranjem i u

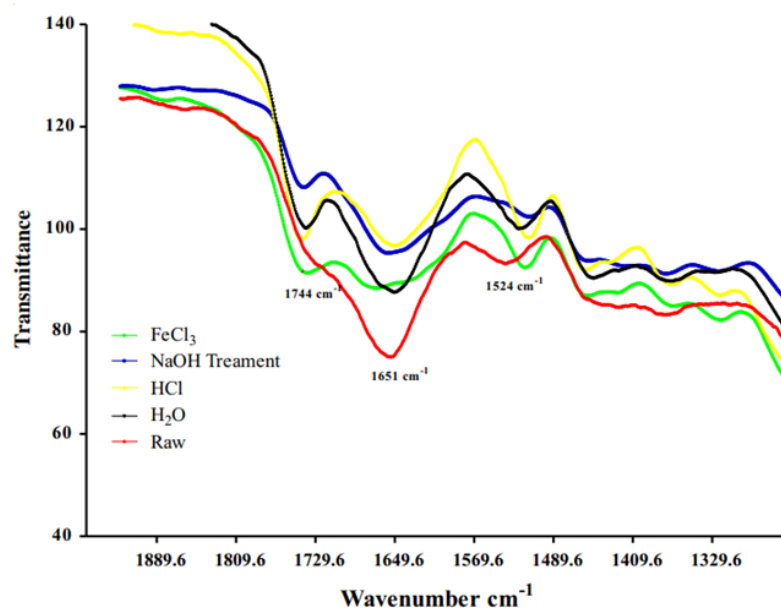
konačnici povećao prinos etanola, nužno je analizirati strukturalna svojstva tretiranog materijala. FT-IR spektroskopija pruža brzu, jednostavnu i isplativu analizu strukturalnih karakteristika koje utječu na enzimsku hidrolizu. [15]

Znanstvenici Placido i Capareda istraživali su najbolju kombinaciju predtretmana otpada obrade pamuka, tzv. smeća pamučnog gina CGT (engl. *cotton gin trash*), za bolji prinos etanola. CTG, kao agro-industrijski otpad, jedan je od najbitnijih izvora lignoceluloze. U ovom istraživanju ispitivale su se razne koncentracije NaOH u kombinaciji s ultrasonifikacijom, tekućom vrućom vodom i lignolitičkim enzimima. Efekte navedenih predtretmana ispitivali su FT-IR spektrofotometrom, kojim su odredili kvalitativne modifikacije u strukturi biomase CTG-a. Proučavali su regiju od 700 do 4000  $\text{cm}^{-1}$ , prikladnu za analizu celuloze, lignina i hemiceluloze (tablica 1). Ustanovljeno je da je kombinacija koja daje najveći prinos etanola ona s 15% NaOH i da je FT-IR spektroskopija uspješna metoda za identifikaciju varijacija u signalima celuloze, hemiceluloze i lignina iz CTG-a nakon različitih predtretmana. [24]

**Tablica 1.** Valni brojevi IR vibracijskih frekvencija korišteni za karakterizaciju CTG-a [24]

Spoj	Funkcijska grupa	Valni broj ( $\text{cm}^{-1}$ )
celuloza	$\beta$ -D-celuloza	898
celuloza	Intenzivna vrpca polisaharida	1030; 1050
celuloza	C-O-C nesimetrično rastezanje ( $\beta$ -1,4-glikozil)	1170 - 1150
celuloza	Jaka široka vrpca celuloze II i amorfne celuloze	1090
lignin	Fenolna OH regija i alifatsko CH rastezanje	1370
lignin	Vibracija aromatskog prstena i CH deformacije	1514; 1595
hemiceluloza	ester karbonili, C=O	1240; 1732

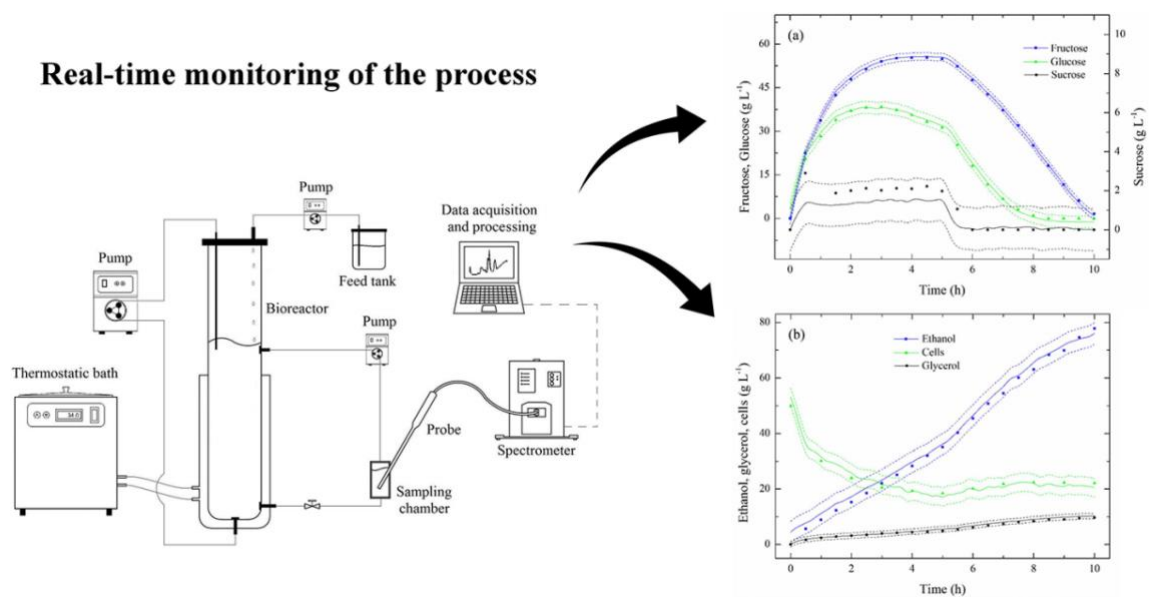
Nadalje, znanstvenici Madu i Agboola istraživali su proizvodnju bioetanola iz rižinih ljuski. Ispitali su razne predtretmane te sirovine kako bi procijenili njihov potencijal za povećanje prinosa etanola. Istraživanje uključuje 4 termokemijska predtretmana rižinih ljuski, a to su obrada vodom te obrada otopinama HCl, NaOH i FeCl<sub>3</sub>. Kvalitativna procjena kemijsko-strukturnih promjena nastalih različitim predobradama obavljena je FT-IR spektroskopom. Najveća razlika među uzorcima vidljiva je na frekvencijama 1744, 1651, 1524 cm<sup>-1</sup> (slika 9). Također najveće količine etanola proizvedene su koristeći se ljuskama obrađenim otopinama FeCl<sub>3</sub> i NaOH. [25] FT-IR spektroskopija pokazala se kao koristan alat u distinkciji raznih mogućnosti predtretiranja lignoceluloznih sirovina, no zbog kompleksnosti obrade potrebna su daljnja istraživanja kako bi se postiglo stupanj biokonverzije.



**Slika 9.** Dio FT-IR spektra sirovih i tretiranih rižinih ljuski [25]

U industriji biogoriva potreban je i razvoj brze, točne i isplative tehnologije za nadzor procesa fermentacije. Poteškoća koja se još treba prevladati je nedostatak informacija o statusu procesa u stvarnom vremenu, tj. online. Konvencionalnim offline, odnosno izvanmrežnim analizama, teško je efektivno kontrolirati proces. FT-IR spektroskopija omogućuje brzu i točnu analizu višestrukih komponenti kompleksnog medija u stvarnom vremenu. Uz to je nedestruktivna, minimalno invazivna te nije skupa, čime nudi alternativu nadzoru kompleksnih bioprocasa. [26]

Rodrigues i sur. proveli su istraživanje kojim su htjeli razviti FT-IR metodu za online nadzor šaržne fermentacije s pritokom supstrata u proizvodnji bioetanola iz šećerne trske pomoću kvasca *Saccharomyces cerevisiae*. Glavne komponente koje su analizirali bile su saharoza, glukoza, fruktoza, etanol, glicerol i stanice kvasca. Kalibrirali su rezultate apsorbancije dobivene u spektru kako bi se dobile koncentracije navedenih spojeva, koristeći se referentnim uzorcima (slika 10). S obzirom na uspješnost rezultata FT-IR spektroskopija bi se mogla koristiti za nadzor procesa fermentacije etanola, omogućujući pravovremene intervencije i efikasniju kontrolu procesa. [26]

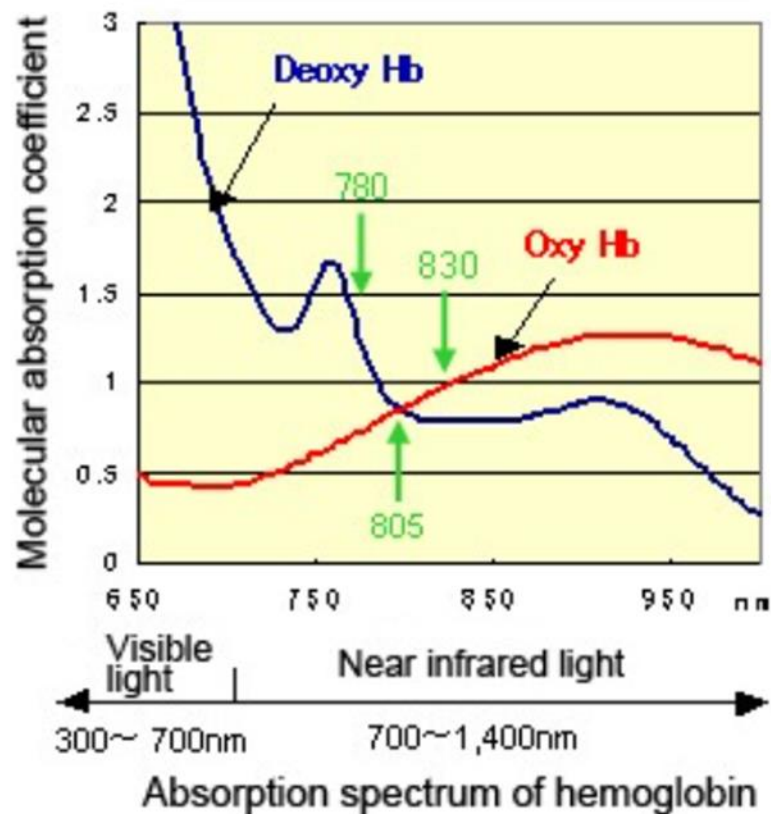


**Slika 10.** Shema nadzora procesa fermentacije etanola u stvarnom vremenu [26]

### 2.3. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA U BIOMEDICINI

IR spektroskopija koristi se i kao analitička te dijagnostička metoda u biomedicini. Primjena se temelji na određivanju oksigenacije tkiva kao bitnog faktora funkcionalnosti i zdravlja pojedinih tkiva kao naprimjer mišića, krvnih žila, mozga itd., što će biti opisano u nastavku poglavlja.

Oksigenacija tkiva se NIR spektroskopijom određuje indirektno i to mjerenjem promjene optičke apsorpcije oksigeniranog i deoksigeniranog hemoglobina (slika 11). Drugim riječima, na neinvazivan način, mjeri se ravnoteža između potrošnje i dobave kisika, s obzirom da je uloga hemoglobina vezanje te prijenos kisika krvotokom od pluća do tkiva. [27]



**Slika 11.** NIR spektrar oksigeniranog (Oxy Hb) i deoksigeniranog (Deoxy Hb) hemoglobina [28]

### 2.3.1. MIŠIĆNI METABOLIZAM

Mnoga istraživanja bave se mjerenjem oksigenacije mišića za vrijeme rada, s ciljem poboljšanja fizičkih performansi sportaša. Intenzitet rada sportaša prilikom određene aktivnosti inače se određuje mjerenjem otkucaja srca, primitka kisika i koncentracije laktata u krvi. Ovi indikatori pokazuju utjecaj intenziteta fizičke aktivnosti na organizam kao cjelinu. [29] NIR

spektrometrijom može se dobiti informacija o aktivnosti pojedinog mišića i to mjerenjem razine oksigeniranog hemoglobina. [27]

Na početku aktivnosti zbog povećane potrebe mišića za kisikom, povećava se minutni volumen srca, a zbog povećanog pritoka kisika povećava se i razina oksigeniranog Hb. Povećanjem intenziteta vježbanja, mišići troše više kisika čime razina opada. Nakon prestanka aktivnosti razina zasićenog Hb naglo naraste jer su mišići dovoljno opskrbljeni kisikom. [29] Ovisno o razini oksigeniranog hemoglobina tijekom pojedine faze vježbanja, može se odrediti efekt treninga te program vježbanja za zdrave sportaše, ali i za proces rehabilitacije. [27]

Smanjena oksigenacija mišića može biti i koristan alat u određivanju uznapredovalosti neke bolesti. Primjer toga je cistična fibroza, rijetka genetička bolest za koju trenutno nema lijeka, pa je bitan klinički cilj produljenje životnog vijeka i poboljšanje kvalitete života oboljelih. Iako se navedeno može pospješiti vježbanjem, poznato je da cistična fibroza utječe na sve organske sustave, posebice na pluća te skeletne mišiće. Erickson i suradnici su istraživali primjenu NIR spektroskopije za evaluaciju oksidativnog kapaciteta skeletnih mišića pacijenata sa cističnom fibrozom. Utvrdili su da je smanjen oksidativni kapacitet moguć razlog intolerancije na vježbanje unatoč normalnoj funkciji pluća kod nekih pacijenata. [30]

### **2.3.2. KRVOŽILNA FUNKCIJA**

NIR spektroskopija se može primjenjivati i za detekciju rizika nastanka nekih bolesti. Jedan od primjera je detekcija rizika od ateroskleroze. Riječ je o čestoj kardiovaskularnoj bolesti uzrokovanoj zadebljanjem u unutarnjim slojevima arterijske stijenke, čime ona postaje stanjena i manje elastična što može smanjiti ili onemogućiti protok krvi. Bolest se obično ne dijagnosticira dok ne nastane kritično suženje, tromboza, aneurizma ili embolija. [31]

Neka istraživanja bave se proučavanjem povezanosti arterijske strukturne funkcije sa predviđanjem nastanka kardiovaskularnih bolesti, što bi omogućilo pravovremenu detekciju. Miura i suradnici su dokazali da razina oksigenacije u arterijama, određena NIR spektroskopijom, ima utjecaj na njihovu strukturu. Time bi se u konačnici mogao odrediti rizik obolijevanja od ateroskleroze za pojedinu osobu. [32]

### **2.3.3. FUNKCIJA MOZGA**

NIR spektroskopija se koristi i za određivanje oksigenacije mozga i to mjerenjem promjena moždanog protoka krvi i zasićenosti hemoglobina. [27] Detektiranje smanjene razine oksigenacije mozga bitno je jer može ukazati na neke bolesti i oštećenja, kao što su moždani udar i vaskularna demencija.

Moždani udar je neurološki poremećaj koji nastaje naglo zbog otežane cirkulacije u mozgu, što pak rezultira nedostatkom kisika u zahvaćenim dijelovima mozga. [33] Za neke skupine pacijenata kao što su srčani bolesnici ili osobe sa traumatskim ozljedama mozga, tijekom određenih medicinskih postupaka postoji rizik od uzrokovanja klinički tihog moždanog udara samim postupkom. Tihi se moždani udar karakterizira nedostatkom jasne kliničke slike, zbog čega se teško dijagnosticira. [34] S obzirom da NIR spektroskopija omogućuje kontinuirano praćenje opskrbljenosti mozga kisikom, ova metoda može detektirati moždani udar u trenutku u kojem se dogodi. To bi omogućilo pravovremeni tretman oštećenog područja, čime bi se povećale šanse za pozitivnim ishodom. [27]

Vaskularna demencija je najčešće uzrokovana moždanim infarktom ili krvarenjem dovoljno velikim da se ošteti moždana funkcija. Simptomi ove bolesti su usporenost motoričkih radnji i kognitivnih procesa. [35] NIR spektroskopijom se ustanovilo da oboljeli imaju smanjenu razinu oksigeniranog te ukupnog hemoglobina i da im se metabolička razina kisika smanjuje tijekom jednostavnih motoričkih zadataka. Određivanjem smanjenja razine oksigeniranog hemoglobina kao i ukupnog hemoglobina u mozgu, NIR spektroskopija bi pomogla u ranom dijagnosticiranju kao i nadzoru vaskularne demencije. [36]

## **2.4. PRIMJENA IR SPEKTROSKOPIJE U DETEKCIJI RAKA**

Rak je uobičajeni naziv za sve zloćudne tumore. Riječ je o skupu velikog broja različitih bolesti kod kojih se abnormalne stanice dijele bez kontrole i mogu napasti zdravo tkivo. [37] Globalno se procjenjuje da će svakoj trećoj osobi biti dijagnosticirana neka vrsta raka tijekom života, i da je svaka šesta smrt uzrokovana ovom bolešću. Rano otkrivanje raka kao i identifikacija rizičnih pojedinaca, ključno je u liječenju, jer jednom kada se pojave klinički simptomi može biti prekasno. [38]



Trenutne dijagnostičke metode i metode za pretraživanje tj. skrining, uobičajeno detektiraju tumor u kasnoj fazi kada je tumorska masa već vidljiva. Zlatni standard postavljanja većine dijagnoza raka je još uvijek mikroskopska analiza tkiva, no za ovu je metodu potrebno puno vremena, ima ograničenu osjetljivost i jako ovisi o subjektivnoj procjeni patologa. Navedeno često dovodi do lažnih pozitivnih ili lažnih negativnih rezultata. [38]

Nedostatak visoko osjetljivih i specifičnih metoda za ranu detekciju raka, opravdava potragu za novim pristupima. Jedan od novih pristupa koji se istražuje je Fourier transform infracrvena spektroskopija. FT-IR spektroskopija je brza, jednostavna, neinvazivna, ekonomski isplativa metoda koja bi mogla poboljšati dijagnosticiranje i ishod same bolesti, detektiranjem biokemijskih promjena na molekularnoj razini uzrokovanih metaboličkim procesima tijekom razvoja raka. Osim analize tkiva, primjena FT-IR spektroskopije omogućila bi analizu raznih uzoraka kao što su krv, urin, serum, plazma, ispljuvak itd., i to prije razvoja ikakvih morfoloških promjena. U nastavku ću navesti neke primjere moguće primjene FT-IR spektroskopije u detekciji raznih vrsta raka. [38]

#### **2.4.1. RAK DOJKE**

Rak dojke je najčešća vrsta raka kod žena, od kojeg u Hrvatskoj oboli svaka deseta žena. Mogućnost izlječenja je velika ako se karcinom otkrije u ranom stadiju, pa se primjerice tumor veličine do 1 cm može se izliječiti u 98% slučajeva. [39] Metode za detekciju raka dojke koje se najčešće koriste su mamografija, ultrazvuk te biopsija. Problem s navedenim metodama je taj što dijagnoza ovisi o subjektivnom mišljenju liječnika odnosno patologa. FT-IR spektroskopija otvara mogućnost objektivnog i neinvazivnog dijagnosticiranja, a kao uzorak se mogu koristiti serum, plazma ili urin. Backhaus i suradnici su razvili jednostavnu i brzu metodu detekcije raka dojke koristeći se FT-IR spektroskopom. Glavna razlika u FT-IR spektru između oboljelih i zdravih sudionika uzrokovana je fosforilacijom lipoproteina i glikolizacijom proteina karakterističnima za zloćudne tumore. Za detekciju raka promjera 2 mm bilo je potrebno 1  $\mu$ L uzorka seruma oboljelih. Bitno je napomenuti da bi tumore te veličine mogao prepoznati samo vrlo iskusan doktor pomoću mamografije. [40]

## **2.4.2. RAK PLUĆA**

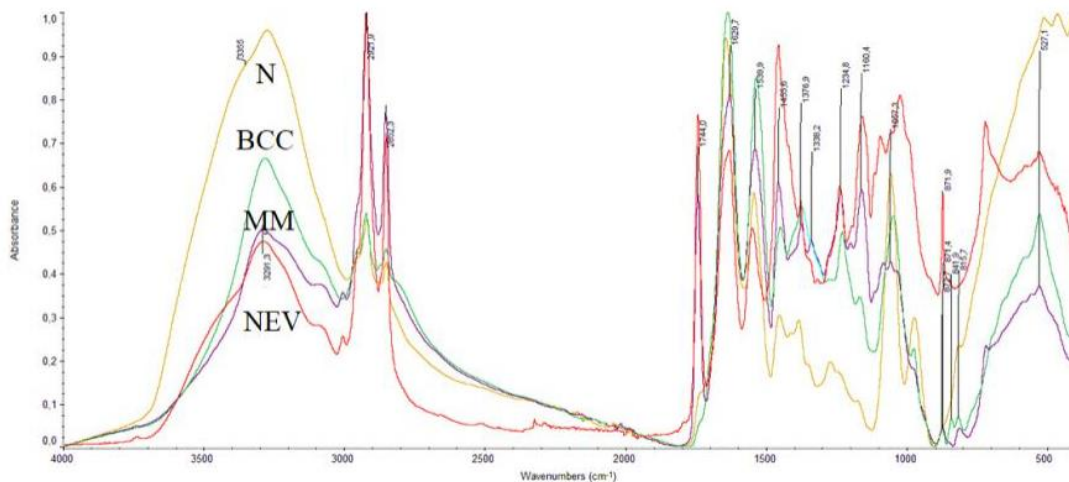
Rak pluća je najčešća vrsta karcinoma na svijetu od koje godišnje umire 1,3 miliona ljudi. Razlog velike smrtnosti leži u prekasnom dijagnosticiranju bolesti, pa preko 90% oboljelih umire unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze. Metode koje se trenutno koriste su rendgensko zračenje, CT i bronhoskopija, no one ne mogu prepoznati tumor u ranoj fazi razvoja. Paul D. Lewis i suradnici su istraživali korištenje FTIR spektroskopije za dijagnosticiranje raka pluća koristeći se uzorcima ispljuvka pacijenata i zdravih sudionika istraživanja. Znatna razlika u apsorbanciji srednjeg infracrvenog zračenja vidljiva je na čak 92 valne duljine, i to zbog promjena na proteinima, nukleinskim kiselinama te većoj razini glikogena u tumorima u odnosu na kontrolne uzorke. Zahvaljujući velikoj osjetljivosti i specifičnosti, FT-IR spektroskopijom se uspio detektirati rak pluća u 48% slučajeva u kojima tumor nije bio vidljiv tijekom bronhoskopije. [41]

## **2.4.3. RAK JAJNIKA I ENDOMETRIJA**

Rak jajnika te rak endometrija su najčešće vrste raka kod žena u postmenopauzi. Oboljeli od raka endometrija simptome bolesti obično pokazuju već u ranoj fazi, kada još uvijek ima vremena za liječenje. Međutim, u slučaju oboljenja od raka jajnika, simptomi se pojavljuju tek u kasnoj fazi, kada je karcinom već metastazirao unutar abdomena, što značajno smanjuje vjerojatnost izlječenja. Ženama se za postavljanje dijagnoze obično određuje tumorski marker iz seruma zvan CA-125, međutim pomoću tog markera se može odrediti samo 50% dijagnoza u ranoj fazi, te su trenutne metode identifikacije biomarkera kompleksne te skupe. Zbog očite potrebe za alternativnim metodama, znanstvenica Maria Paraskevaidi i suradnici su istraživali potencijal FT-IR spektroskopije za dijagnosticiranje raka endometrija ili jajnika iz uzorka urina pacijentica. Kod obe vrste raka uočene su povišene apsorbancije u dijelu spektra koji označuje proteine i nukleinske kiseline. Zahvaljujući velikoj specifičnosti i osjetljivosti za ove dvije vrste raka, FT-IR spektroskopija bi se potencijalno mogla početi koristiti u kliničkoj praksi kao skenirajući ili dijagnostički test za rak jajnika i rak endometrija. [42]

## 2.4.4. RAK KOŽE

Globalna se stopa rasta oboljelih od raka kože povećava iz godine u godinu. Rizik obolijevanja može se smanjiti manjim izlaganjem UV zračenjem ili korištenjem adekvatne zaštite od sunca. Uzrok smrtnosti je najčešće neprepoznavanje neuobičajenih promjena kože u ranim stadijima. Postoje tri glavne vrste raka kože, a to su karcinom pločastih stanica (SCC, engl. *squamous cell carcinoma*), karcinom bazalnih stanica (BCC, engl. *basal cell carcinoma*) te najagresivniji melanom (MM, engl. *melanoma*). [43] Znanstvenica Maria Kyriakidou i suradnice istraživale su korištenje FT-IR spektroskopije za rano dijagnosticiranje raka kože. Analizirale su različitosti u karakterističnim apsorpcijskim vrpčama komponenti kože, a koristile su uzorke karcinoma bazalnih stanica, melanoma te nevusa tj. madeža, kao i normalnog kožnog tkiva za kontrolu (slika 12). Predložile su da bi se apsorpcijske vrpce, u kojima je uočena značajna razlika, mogle koristiti kao dijagnostički markeri za rak kože. [44]



**Slika 12.** FT-IR spektar kože: normalnog zdravog tkiva (N), karcinoma bazalnih stanica (BCC), melanoma (MM), i nevusa (NEV) [44]

### 3. ZAKLJUČAK

U ovom Završnom radu opisana je upotreba infracrvene spektroskopije u biotehnologiji i biomedicini. Može se zaključiti da:

- ✓ Infracrvena spektroskopija predstavlja jednostavnu, lako dostupnu tehniku koja može dati uvid u molekularni sastav sirovina i kompleksnih industrijskih smjesa, kao i uvid u biokemijske promjene pojedinih tkiva i uzoraka ljudskog organizma.
- ✓ U industriji vina najčešće se primjenjuje za određivanje koncentracije etanola u vinu. No napretkom IR tehnologije omogućeno je određivanje i drugih kemijskih parametara u vinu, određivanje sastava grožđa tijekom berbe te detekcija fungalnih infekcija grožđa.
- ✓ U industriji piva primjenjuje se za selekciju najboljih sorti ječma, analizu slada i hmelja, nadzor fermentacije te identifikaciju kvasaca. Navedeno je omogućeno otpornošću IR spektrometra na zamućenost, prisutnost mjehurića plinova, te visoku koncentraciju sadržaja bioreaktora.
- ✓ U industriji biogoriva omogućuje brzu i jednostavnu analizu obrađenih kompleksnih sirovina te nadzor procesa fermentacije u stvarnom vremenu tijekom proizvodnje bioetanola, što olakšava postizanje većeg prinosa najčešćeg obnovljivog goriva današnjice.
- ✓ U biomedicini se primjenjuje za određivanje oksigenacije tkiva, što omogućuje određivanje funkcionalnosti pojedinih tkiva npr. mišića, a može nam ukazati i na ranu fazu ili uznapređovalost nekih bolesti kao što su: cistična fibroza, ateroskleroza, tihi moždani udar i vaskularna demencija. Primjenjuje se i za detekciju raka određivanjem biokemijskih promjena na molekularnoj razini, uzrokovanih metaboličkim procesima tijekom razvoja bolesti. Navedeno omogućuje postavljanje specifične i rane dijagnoze neinvazivnom analizom potencijalno zahvaćenog tkiva ili analizom uzoraka krvi, urina, seruma, plazme, ispljuvka itd.

Iz svega navedenog vidljivo je da IR spektroskopija omogućuje brzu i točnu analizu višestrukih komponenti kompleksnog medija u stvarnom vremenu. Uz to je nedestruktivna, minimalno invazivna te nije skupa, čime nudi alternativu velikom broju drugih spektroskopskih metoda.

## 4. POPIS LITERATURE

- [1] A. J. M. Horvat, (2015) O nazivima spektrometrija i spektroskopija, Imenje i nazivlje u kemiji i kemijskom inženjerstvu. *Kemija u industriji* **64** (9-10): 530 – 531.
- [2] Da-Wen Sun (2009) Infrared spectroscopy for food quality analysis and control, 1.izd., Elsevier. str 3.
- [3] James M. Thompson (2018) Infrared Spectroscopy, 1.izd., Pan Stanford publishing. str. 7 - 16.
- [4] Kraljević G. T., Određivanje struktura organskih spojeva, nastavni materijali, Sveučilište u Zagrebu
- [5] Kovač V. (2019) Uvod u spektroskopske i kromatografske metode analize, Predavanja iz kolegija Instrumentalna analiza, Sveučilište u Zagrebu
- [6] Smith B. C. (2011) Fundamental of Fourier Transform Infrared Spectroscopy, 2.izd., Boca Raton, FL : CRC Press, Inc., str. 8 - 19.
- [7] White R. (1990) Chromatography/Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Its Applications . New York : Marcel Dekker, Inc .
- [8] Helmut Giinzler, Hans-Ulrich Gremlich (2006.) Uvod u infracrvenu spektroskopiju, Školska knjiga, str. 1.
- [9] Matthias Hepting (2017) Experimental Techniques, Max Planck Institute for Solid State Research
- [10] Wehling R. L. (2010) Infrared Spectroscopy. Food Analysis, Springer. str. 410 - 411.
- [11] James M. Thompson (2018) Infrared Spectroscopy, 1. izd., Pan Stanford publishing, str. 91.
- [12] Yukihiro Ozaki, Christian Huck, Satoru Tsuchikawa, Soren Balling Engelsen (2020) Near-Infrared Spectroscopy, 1.izd., Springer. str. 4 - 14.
- [13] Wenbo Wang, Jitendra Paliwal (2007) Near-infrared spectroscopy and imaging in food quality and safety. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety* **1**: 193 – 207.
- [14] P. Kafarski (2012) Rainbow code of biotechnology, *Chemik* **66** (8): 811 – 816.
- [15] Monrroy M., Garcia J. R., Troncoso E., Freer J. (2014) Fourier transformed near infrared (FT-NIR) spectroscopy for the estimation of parameters in pretreated lignocellulosic materials for bioethanol production. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **90** (7): 1281-1289

- [16] Da-Wen Sun (2009) Infrared spectroscopy for food quality analysis and control, 1.izd., Elsevier. str. 376 -390.
- [17] Gishen M. , Damberg R. G. , Cozzolino D. (2005) Grape and wine analysis—enhancing the power of spectroscopy with chemometrics. A review of some applications in the Australian wine industry. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **11**: 296 – 305.
- [18] Anton Paar (2021) Near Infrared Spectroscopy (NIR),  
<<https://wiki.anton-paar.com/hr-hr/bliska-infracrvena-spektroskopija-nir/>>  
Pristupljeno 30. kolovoza 2021.
- [19] Urbano-Cuadrado M., Luque de Castro M. D., Pérez-Juan P. M., Garcia-Olmo J., Gómez Nieto M. A. (2004) Near infrared reflectance, spectroscopy and multivariate analysis in enology—Determination or screening of fifteen parameters in different types of wines . *Analytica Chimica Acta* **527**: 81 – 88.
- [20] Sauvage L., Frank D., Stearne J., Milikan M. B. (2002) Trace metal studies of selected white wines and alternative approach. *Analytica Chimica Acta* **458**: 223 – 230.
- [21] V. Sileoni, O. Marconi, G. Perretti (2015) Near-infrared spectroscopy in the brewing industry. *Critical reviews in food science and nutrition* **55** (12): 1771 – 1791.
- [22] Damberg R. G., Esler M. B., Gishen M. (2004) Application in analysis of beverages and brewing products. U: Near Infrared Spectroscopy in Agriculture, 44. izd., Roberts C. A., Workman J., Reeves J. B., ur., Agronomy Monograph, Madison WI: ASA, CSSA, and SSSA, str. 465 – 486.
- [23] Llarío R , Inon FA , Garrigues S , de la Guardia M. (2006) Determination of quality parameters of beers by the use of attenuated total reflectance - Fourier transform infrared spectroscopy. *Talanta* **69**: 469 – 480.
- [24] Plácido J., Capareda S. (2014) Analysis of alkali ultrasonication pretreatment in bioethanol production from cotton gin trash using FT-IR spectroscopy and principal component analysis. *Bioresources and Bioprocessing* **1**: 23.
- [25] Madu J. O., Agboola B. O. (2018) Bioethanol production from rice husk using different pretreatments and fermentation conditions. *3 Biotech* **8** (1): 15.
- [26] Kaio C. S. Rodrigues, Jorge L. S. Sonego, André Bernardo, Marcelo P. A. Ribeiro, Antonio J. G. Cruz, Alberto C. Badino (2018) Real-Time Monitoring of Bioethanol Fermentation with Industrial Musts Using Mid-Infrared Spectroscopy. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **57** (32): 10823 - 10831.

- [27] Thomas Jue, Kazumi Masuda (2013) Application of Near Infrared Spectroscopy in Biomedicine, 4.izd., Springer. str. 59-78.
- [28] Shimadzu Europa GmbH (2021) O NIRS-u (princip rada i kako funkcionira), <<https://www.shimadzu.hr/about-nirs-principle-operation-and-how-it-works>> Pristupljeno 10. kolovoza 2021.
- [29] Miura H., Araki H., Matoba H., Kitagawa K. (2000) Relationship among oxygenation, myoelectric activity, and lactic acid accumulation in vastus lateralis muscle during exercise with constant work rate. *International journal of sports medicine* **21** (3): 180 – 184.
- [30] Erickson M. L., Seigler N., McKie K. T., McCully K. K., Harris R. A. (2015) Skeletal muscle oxidative capacity in patients with cystic fibrosis. *Experimental Physiology* **100** (5): 545 – 552.
- [31] Pliva zdravlje, Ateroskleroza, <<https://www.plivazdravlje.hr/bolest-clanak/bolest/2572/Ateroskleroza.html>> Pristupljeno 10. kolovoza 2021.
- [32] Miura H., McCully K., Chance B. (2003) Application of multiple NIRS imaging device to the exercising muscle metabolism. *Spectroscopy* **17**: 549 – 558.
- [33] Pliva zdravlje, Moždani udar, <<https://www.plivazdravlje.hr/bolest-clanak/bolest/125/Mozdani-udar.html>> Pristupljeno 11. kolovoza 2021.
- [34] Murkin J.M., Arango M. (2009) Near-infrared spectroscopy as an index of brain and tissue oxygenation. *British Journal of Anaesthesia* **103** (1): 3 – 13.
- [35] MSD priručnik dijagnostike i terapije (2014), Vaskularna demencija, <<http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/neurologija/delirij-i-demencija/vaskularna-demencija>> Pristupljeno 12. kolovoza 2021.
- [36] Tak S., Yoon S. J., Jang J., Yoo K., Jeong Y., Ye J. C. (2011) Quantitative analysis of hemodynamic and metabolic changes in subcortical vascular dementia using simultaneous near-infrared spectroscopy and fMRI measurements. *Neuroimage* **55** (1): 176 – 184.
- [37] Onkologija.hr (2020) Što je rak, <<https://www.onkologija.hr/sto-je-rak/>> Pristupljeno 17. kolovoza 2021.
- [38] Kar-Yan Su, Wai-Leng Lee (2020) Fourier Transform Infrared Spectroscopy as a Cancer Screening and Diagnostic Tool: A Review and Prospects. *Cancers (Basel)* **12** (1): 115.

- [39] Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije, Rak dojke <<https://www.zzjzdnz.hr/hr/zdravlje/prevencija-raka/1321>> Pristupljeno 17.kolovoza 2021.
- [40] Backhaus, J., Mueller R., Formanski N., Szlama N., Meerpohl H.-G., Eidt M., Bugert P. (2010) Diagnosis of breast cancer with infrared spectroscopy from serum samples. *Vibrational Spectroscopy* **52** (2): 173 – 177.
- [41] Lewis P. D., Lewis K. E., Ghosal R., Bayliss S., Lloyd A. J., Wills J., Godfrey R., Kloer P., Mur L. A. (2010) Evaluation of FTIR spectroscopy as a diagnostic tool for lung cancer using sputum. *BMC Cancer* **1**: 640.
- [42] Paraskevaidi M., Morais C. L. M., Lima K. M. G., Ashton K. M., Stringfellow H. F., Martin-Hirsch P. L., Martin F. L. (2018) Potential of mid-infrared spectroscopy as a non-invasive diagnostic test in urine for endometrial or ovarian cancer. *Analyst* **143**: 3156 – 3163.
- [43] Kreni zdravo (2018), Rak kože - uzroci, simptomi i liječenje, <<https://www.krenizdravo.hr/zdravlje/bolesti-zdravlje/rak-koze-uzroci-simptomi-i-lijecenje>> Pristupljeno 17.kolovoza 2021.
- [44] Kyriakidou M., Anastassopoulou J., Tsakiris A., Kouli M., Theophanides T. (2017) FT-IR spectroscopy study in early diagnosis of skin cancer. *In Vivo* **31** (6): 1131 – 1137.



Zadnja stranica završnog rada

(uključiti u konačnu verziju završnog rada u pdf formatu, kao skeniranu potpisanu stranicu)

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Petra Ivić

ime i prezime studenta