

INFRAČERVENÁ A RAMANOVA SPEKTROSKOPIE

- Teorie
- Instrumentace
- Pracovní techniky IR spektroskopie
- MIR – identifikace látek
- MIR – rozbor spekter
- MIR – kvantitativní analýza
- Ramanova spektroskopie: teorie, odlišnosti od IR
- Raman – instrumentace
- Aplikační možnosti IR a Ramanovy spektroskopie

Infračervená spektroskopie

(Infrared spectroscopy)

- měření infračerveného záření absorbovaného nebo odraženého vzorkem
- absorpce IR záření souvisí se změnou vibračního nebo rotačního stavu molekul
- aplikační možnosti:
 - analýza plynů, kapalin, tuhých vzorků
 - identifikace látek
 - kvantitativní analýza
- informace ze spektra:
 - funkční skupiny molekul, konstituce molekul
 - interakce molekul

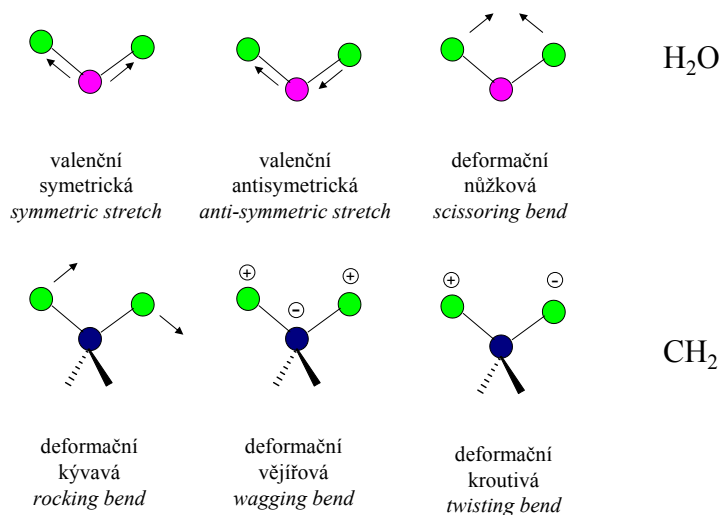
Vibrační přechody

- **normální (fundamentální):**
změna vibračního kvantového čísla $\Delta v = 1$
vysoká pravděpodobnost \rightarrow vysoké hodnoty ε
- **vyšší harmonické:** změna $\Delta v = 2; 3 \dots$
menší pravděpodobnost \rightarrow menší hodnoty ε
- **kombinační:** současná změna dvou vibračních čísel
u polyatomové molekuly

Typy vibrací

- **valenční (*stretching*):** mění se délka vazby
 - symetrické
 - antisymetrické
- **deformační (*bending*):** mění se valenční úhel
 - rovinné (*in-plane*)
 - mimorovinné (*out-of-plane*)

**Příklad: vibrace tříatomové lomené molekuly
nebo seskupení tří atomů**



Které látky poskytují signál v IR spektru?

ANO

- látky, jejichž molekuly obsahují (alespoň slabě) polární vazby
- = molekuly složené z různých atomů
- = organické sloučeniny a anorganické sloučeniny (H₂O, CO₂, NO₂, HCl, soli...)

NE

- prvky v molekulovém nebo krystalickém stavu
- = např. Ar, O₂, O₃, N₂, Cl₂, S₈, křemík, grafit, diamant...

Signál molekuly v IR spektrometrii je úměrný druhé mocnině změny dipólového momentu molekuly během vibračního pohybu molekuly.

Spektrální oblasti a rozdělení metod

	λ (μm)	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1})
Blízká infračervená oblast (<i>near infrared</i> , NIR)	0,8 – 2,5	12 500 – 4 000
Střední infračervená oblast (<i>mid infrared</i> , MIR)	2,5 – 25	4 000 – 400
Vzdálená infračervená oblast (<i>far infrared</i> , FIR)	25 – 1 000	400 – 10

MIR – normální vibrační přechody

NIR – vyšší harmonické vibrační přechody (*overtones*)

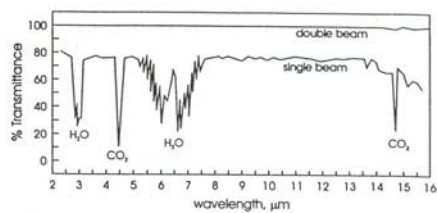
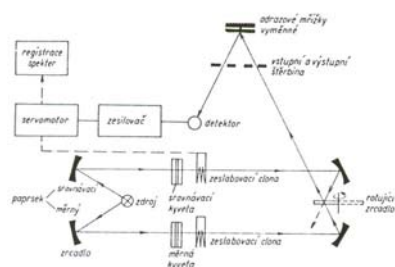
FIR – mřížové frekvence a normální vibrace slabých vazeb
a vazeb těžkých atomů

Instrumentace v IR spektroskopii

Základní součásti přístrojů Konstrukce

- zdroj
- měrná (a srovnávací) cela (kyveta)
- zařízení pro selekci vlnové délky
- detektor záření
- jednoduché přístroje s filtrem
- klasické přístroje s disperzním systémem (monochromátorem)
- přístroje na principu interferometru (FTIR)

Dvoupaprskové vs. jednopaprskové přístroje



Zdroj IR záření

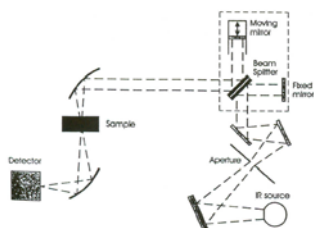
- pro NIR: **wolframová lampa**
- pro MIR:
 - **elektricky ohřivaná** (1100 °C) **tyč z SiC** – poskytuje maximální intenzitu při $\lambda = 2 \mu\text{m}$; při nižší teplotě posun maxima k delším λ (600 °C $\rightarrow \lambda_{\text{max}} = 3,5 \mu\text{m}$)
 - **lasery CO₂, PbS** – $\lambda_{\text{max}} = 9\text{-}11 \mu\text{m}$
- pro FIR: **vysokotlaká rtuťová výbojka**
(emituje také UV-VIS záření, odděluje se filtrem)

Detektory IR záření

- pyroelektrické TGS (triglycine sulphate) detektory
– pracují při normální teplotě
- fotokonduktivní detektory MCT (HgTe/CdTe)
– pracují při teplotě kapalného dusíku (-196 °C),
mají vysokou citlivost a rychlou odezvu, použití v MIR, FIR
- Ge bolometry (pro FIR) – pracují při teplotě kapalného helia (-271,7 °C)

Spektrometry s Fourierovou transformací

– založeny na principu Michelsonova interferometru.



Paprsek vycházející ze zdroje se rozdělí v děliči na dvě poloviny; první se odráží k fixnímu zrcadlu, druhý paprsek jde na pohyblivé zrcadlo; odražené paprsky se setkávají v místě děliče a dochází k interferenci.

Pro monochromatické záření nastává úplné vyrušení paprsků (destruktivní interference), platí-li pro optickou retardaci δ (= dvojnásobek rozdílu vzdáleností zrcadel od děliče) vztah $\delta = (n+0,5) \lambda$.

Konstruktivní interference nastává, je-li $\delta = \lambda; 2 \lambda; 3 \lambda; \dots n \lambda$

Záznam získaný při průchodu polychromatického záření zdroje interferometrem a vzorkem (interferogram) se převádí na IR spektrum Fourierovou transformací.

Výhody FTIR

- není nutná disperzní optika
→ do vzorku vstupuje více energie
- rychlý záznam spektra (< 1 s)
- vysoké rozlišení (až $0,01 \text{ cm}^{-1}$)

Pracovní technika IR spektroskopie

Typy vzorků a jejich příprava k analýze

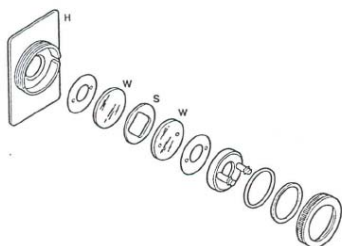
Kyvety pro měření vzorků mají okénka vyrobená z:

- NaCl, KBr, CaF_2 , ZnSe, AgCl, TlBr/TlI pro MIR
- CsBr, polyethylenu pro FIR
- skla, křemenného skla pro NIR

Plynné vzorky

kyvety se plní podtlakově, délka optické dráhy kyvety je 10 cm-80 m (vnější rozměr max. 1 m)

Kapalné vzorky



Rozebíratelná kyveta
pro kapalné vzorky

Vodné roztoky – nutno použít okénka z CaF_2 nebo ZnSe ,
měření je možné jen v intervalu $1400\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$
(např. cukry v ovocných šťávách – měření ve filmu $10\text{-}50\text{ }\mu\text{m}$)

Kapalné vzorky

Rozpouštědla vzorků pro MIR

Rozpouštědlo	Možnost měření v intervalu $\tilde{\nu}$ (cm^{-1})
CCl_4	4000-1600, 1500-850
CHCl_3	4000-1250 ^a , 1150-850
CS_2	4000-1650 ^b , 1400-500

a – kromě intenzivních pásů 3050 a 940 cm^{-1}

b – kromě intenzivních pásů 2350 a 2200 cm^{-1}

Čisté kapalné vzorky (např. oleje) a gely lze měřit v tenkém filmu ($1\text{ }\mu\text{m}$) transmisí technikou nebo technikou ATR.

Tuhé vzorky

- **příprava KBr tablet:**
1-15 mg vzorku + 200 mg KBr – lisování za vakua
- **příprava disperzí v Nujolu:**
práškový vzorek se rozptýlí v parafinovém oleji
(nevýhoda: nelze analyticky využít absorpční pásy odpovídající vibračním C-H a C-C vazeb)

Způsoby měření v IR spektroskopii

Transmisní metody

měření transmittance, absorbance

$$T = I / I_0 = 10^{-\epsilon bc}$$

$$I_0 / I = 10^{\epsilon bc}$$

$$A_\lambda = \log_{10} (1/T) = -\log_{10} T = \log_{10} (I_0/I) = \epsilon_\lambda \cdot b \cdot c$$

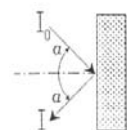
Reflexní metody

měření záření odraženého vzorkem

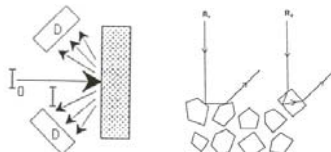
reflektance $R = I / I_0$

optická hustota $OD = \log_{10} (1/R) = -\log_{10} R$

Spekulární
reflexe:

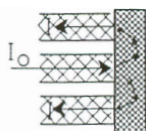


Difuzní
reflexe



běžná metoda
v NIR pro tuhé
práškové vzorky

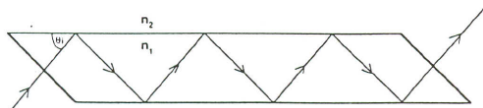
Zvláštní uspořádání:



měření tzv. interaktance – použití vláknové optiky

Technika ATR

attenuated total reflectance (= zeslabený úplný odraz)



- používá se k analýze materiálů, z nichž se obtížně připravují transparentní tenké vrstvy (pastovité vzorky, čokoláda...); vzorek se nanáší v kompaktní vrstvě na povrch měrného hranolu
- materiál hranolu musí mít vysoký index lomu n_2 (vyšší než index lomu vzorku n_1)
- paprsek vstupuje do hranolu a odráží se od fázového rozhraní; přitom dochází k průniku do malé vrstvy vzorku ($0,25-4 \mu\text{m}$); jestliže paprsek dopadá na rozhraní pod úhlem $\theta >$ kritický úhel $\theta_c = \arcsin (n_1/n_2)$, paprsek je hranolem zcela zachycen (tj. šíří se hranolem); po jednom nebo vícenásobném odrazu vystupuje z hranolu a dopadá na detektor
- penetrační hloubka je závislá na vlnové délce:

$$d_p = \lambda / 2\pi [\sin^2\theta - (n_1/n_2)^2]^{0,5} \quad [\mu\text{m}]$$

Výhody ATR

- snadná příprava vzorku k analýze (vhodné pro tekuté a polohuhé vzorky)
- vzorek nemusí být transparentní

Požadavky na vzorek a hranol

- dobrá přilnavost vzorku k materiálu hranolu
- mechanická pevnost materiálu hranolu (při nalisování vzorku), inertnost vůči vzorku
- možnost odstranění zbytků vzorku z hranolu rozpouštědlem

Materiál hranolu	Vlnočet propouštěného záření	n při 1000 cm^{-1}
safír	50 000 – 1 780 cm^{-1}	1,74
NaCl	40 000 – 590	1,49
ZnSe	20 000 – 454	2,4
Ge	5 500 – 600	4,0
Si	8 300 – 6 600	3,4
TlBr/TlI	20 000 – 250	2,37

Spektroskopie ve střední infračervené oblasti (MIR)

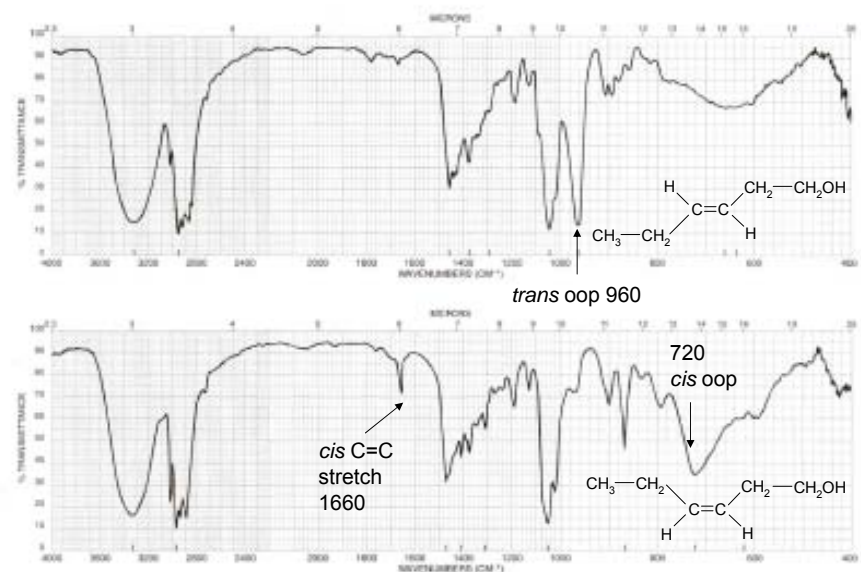
- spektra obsahují převážně signály odpovídající normálním (fundamentálním) vibracím
- počet vibrací molekuly složené z N atomů
 - $3N-6$ (nelineární molekuly)
 - $3N-5$ (lineární molekuly)
- absorpční pásy mohou být zesíleny u degenerovaných vibrací (vícenásobné varianty vibrace)

Identifikace organických látek MIR spektroskopií

MIR oblast se dělí na

- **oblast charakteristických vibrací funkčních skupin**
2,5-8 μm ($4000\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$)
obsahuje charakteristické pásy jednotlivých vazeb, které odpovídají převážně valenčním vibracím
- **oblast otisku prstu (*fingerprint region*)**
8-25 μm ($1250\text{-}400\text{ cm}^{-1}$)
obsahuje pásy odpovídající převážně deformačním vibracím
charakterizuje každou molekulu jako celek

Příklad spekter isomerních sloučenin (*trans*- a *cis*-3-hexen-1-ol)



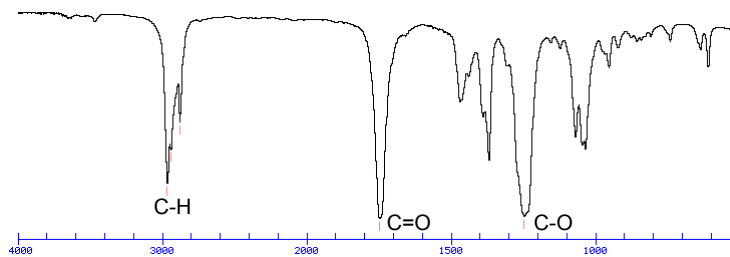
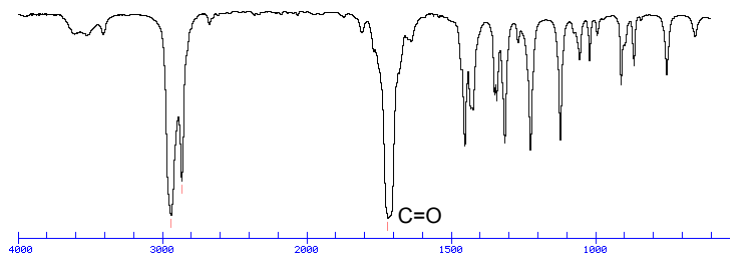
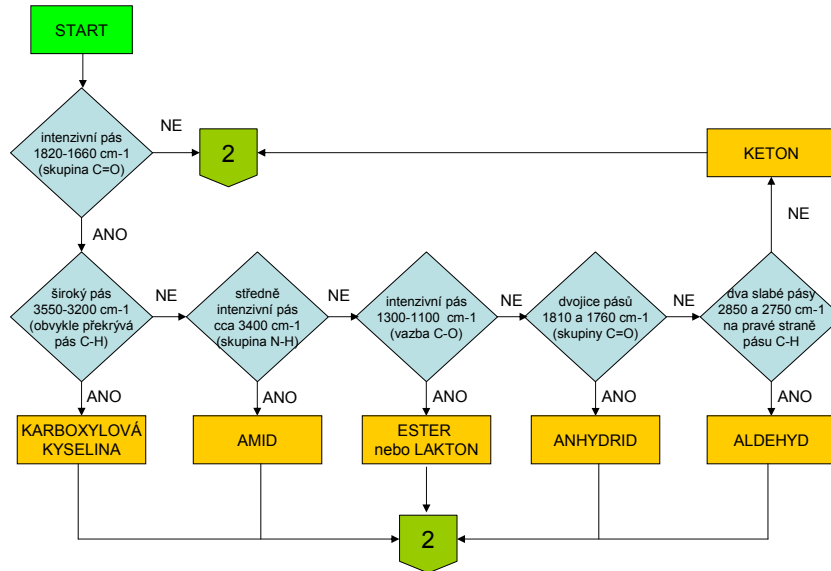
Postup při identifikaci

- určení funkčních skupin na základě charakteristických vibrací
- konfrontace s výsledky dalších zkoušek (stanovení empirického vzorce sloučeniny elementární analýzou, stanovení molekulové hmotnosti) a odhad skeletu molekuly
- výpočet indexu nenasycenosti
- navržení možných struktur
- identifikace struktury porovnáním změřeného spektra s atlasem nebo databází spekter, případně identifikace dalšími metodami (NMR, MS)

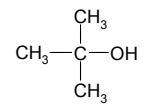
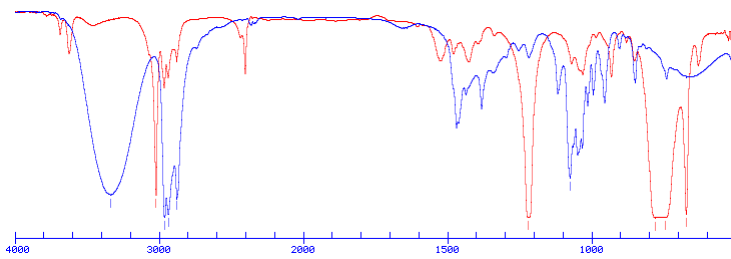
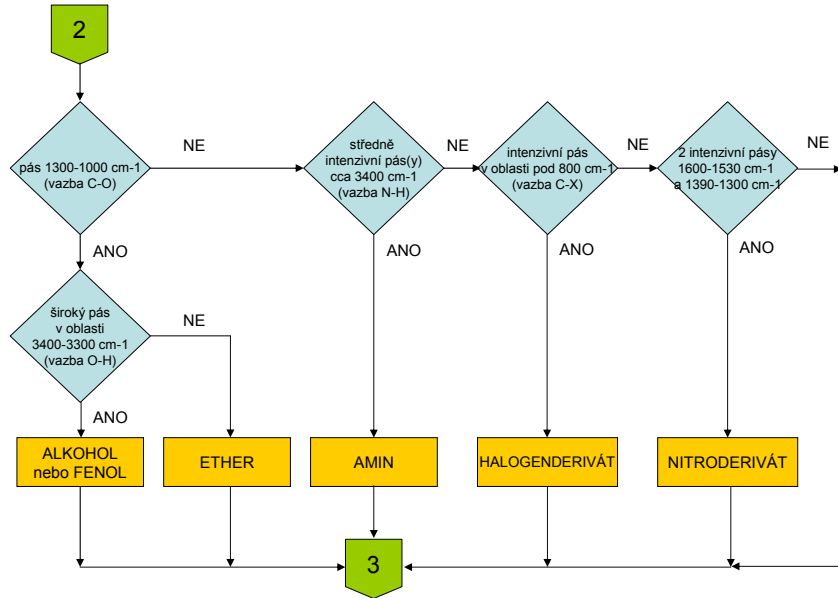
Charakteristické vlnočty vazeb – trendy

hybridizace uhlíku: vazba mezi uhlíky		vazba uhlík-vodík		hmotnost atomu X ve vazbě C–X:	
C–C	1200 cm ⁻¹	sp ³ C–H	2900 cm ⁻¹	C–H	2900 cm ⁻¹
C=C	1650	sp ² C–H	3100	C–C	1200
C≡C	2150	sp C–H	3300	C–O	1100
				C–Cl	750
				C–Br	600
				C–I	500

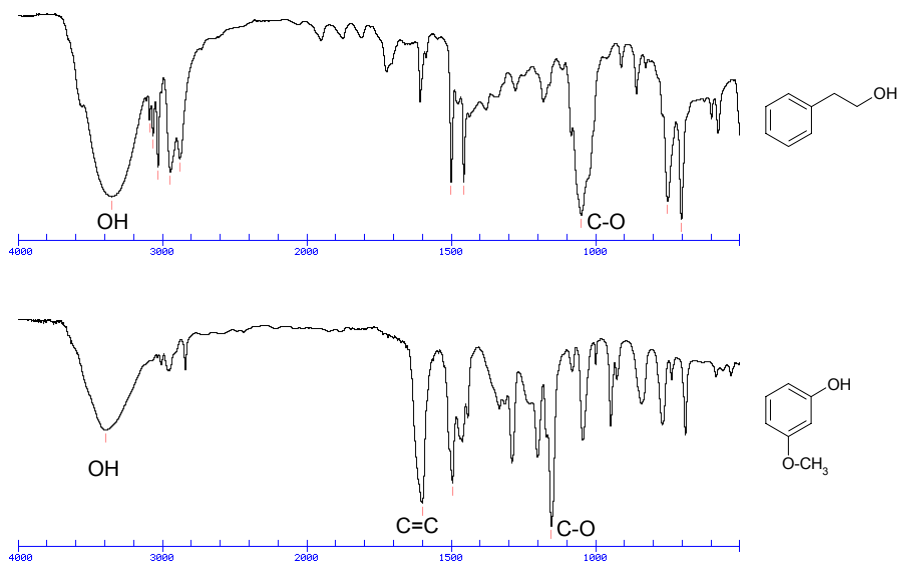
Základní orientace ve spektru: určení funkčních skupin
1. karbonylová skupina



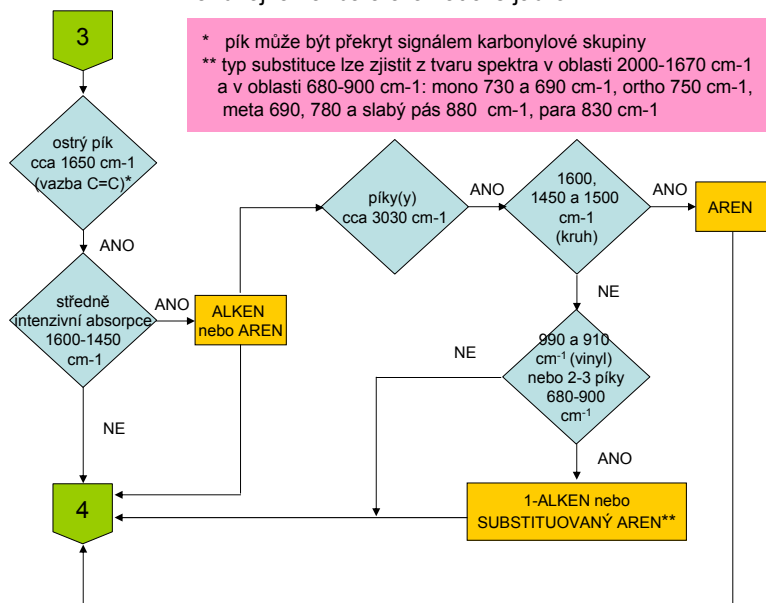
Základní orientace ve spektru: určení funkčních skupin
2. další funkční skupiny

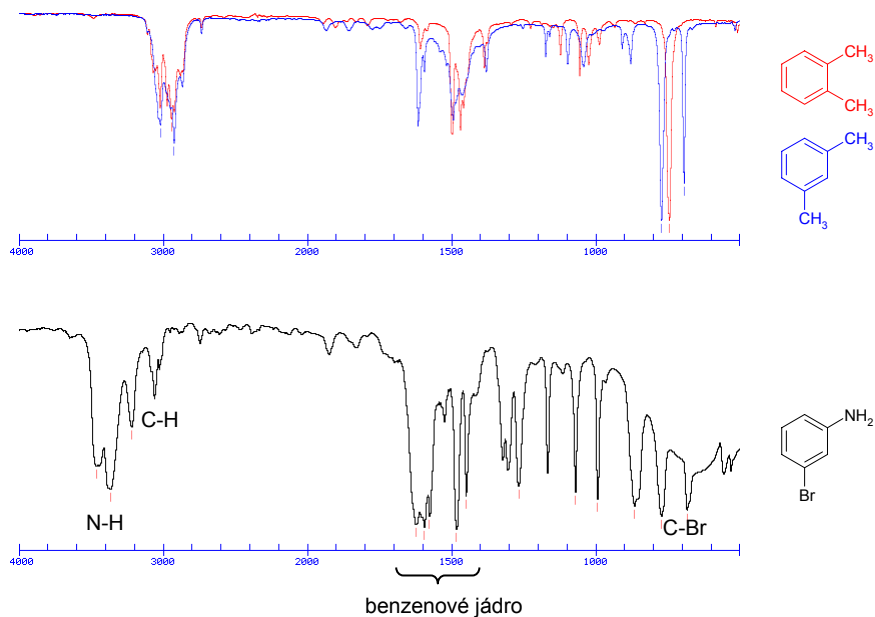


čistý terc-butanol
zředěný roztok terc-butanolu v CHCl_3

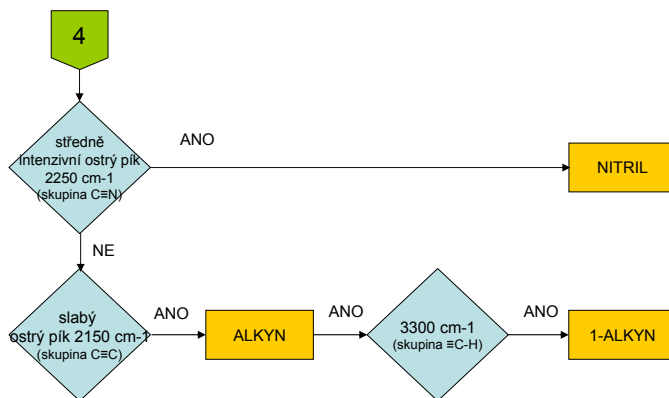


Základní orientace ve spektru: určení funkčních skupin
3. dvojná vazba a aromatické jádro





Základní orientace ve spektru: určení funkčních skupin 4. trojná vazba



Pokud ve spektru nejsou žádné výše uvedené signály, jde pravděpodobně o nasycený uhlovdík. Spektra jsou poměrně jednoduchá a obsahují :

- silný pás cca 2900 cm^{-1} (C-H valenční),
- středně silný ostrý pík 1470 cm^{-1} (CH_2 deformační),
- slabší ostrý pík cca 1400±50 cm^{-1} (CH_3 deformační),
- případně pík 720 cm^{-1} (signál delších řetězců alkanů)

Kvantitativní analýza metodou IR spektroskopii

Měřené veličiny:

- absorbance nebo optická hustota
- integrální intenzita (plocha vymezená absorpční křivkou v určitém intervalu vlnočtu)
odečítání signálu metodou základní linie nebo diferenční metodou
- pro mnohasložkové vzorky se používají multivariační regresní metody kalibrace

Spektrometrie v blízké infračervené oblasti (NIR)

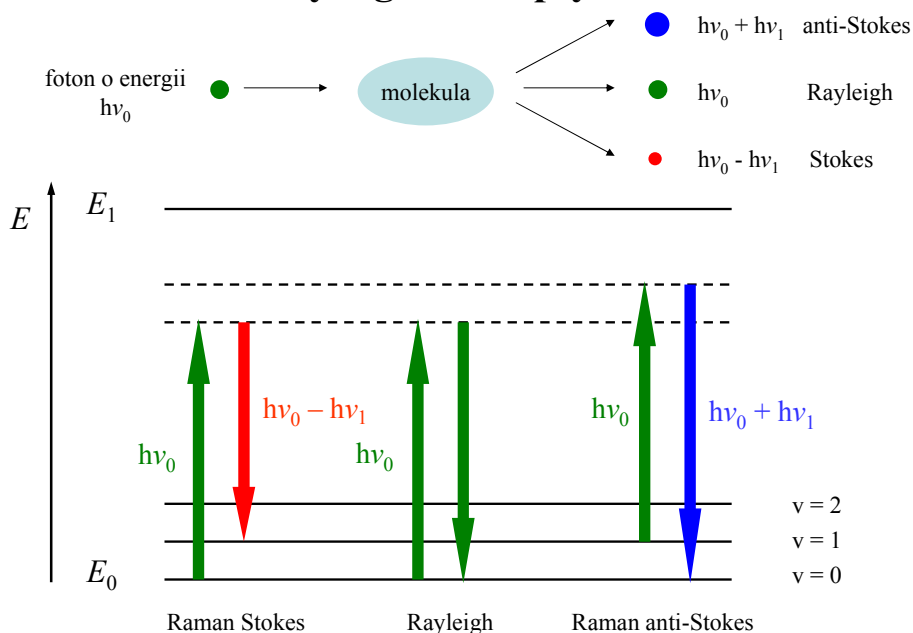
- spektra obsahují málo intenzivní signály
 - kombinační přechody
 - vyšší harmonické přechody (*overtones*):
změna vibračního kvantového čísla Δv je 2; 3; 4...
jestliže fundamentální přechod nastává při vlnové délce λ_0 ,
první harmonická nastane při $\lambda_1 \approx \lambda_0/2$, druhá při $\lambda_2 \approx \lambda_0/3$,
třetí při $\lambda_3 \approx \lambda_0/4$..., absorptivita se postupně snižuje
- NIR spektra se měří
 - transmisní technikou
 - difuzně reflexní technikou
 - technikou ATR
- významné využití analýze zemědělských plodin a potravin

RAMANOVA spektroskopie

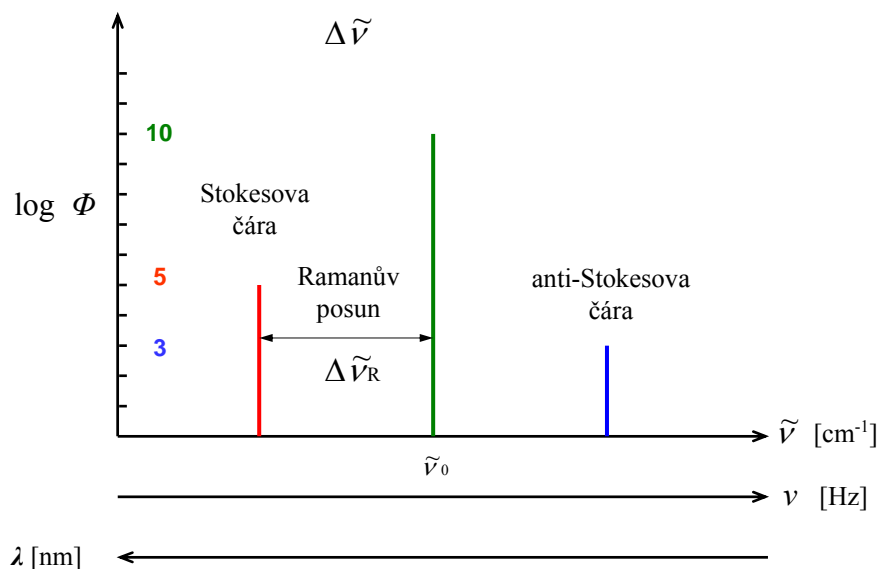
Podstata

- ozáření vzorku monochromatickým zářením (VIS nebo NIR) z laserového zdroje
- měření odezvy molekul vzorku – záření rozptýlené vzorkem a změny jeho vlnové délky (kmitočtu, vlnočtu)
 - RAYLEIGŮV rozptyl: rozptýlené záření má nezměněný vlnčet $\tilde{\nu}_0$
 - RAMANŮV rozptyl: rozptýlené záření má buď nižší vlnčet než $\tilde{\nu}_0$, tj. delší vlnovou délku (čáry ve STOKESOVĚ oblasti) nebo vyšší vlnčet, tj. kratší vlnovou délku (čáry v anti-STOKESOVĚ oblasti)
- čárám RAMANOVA spektra lze přiřadit určité vibrace v molekulách vzorku

Ramanův a Rayleighův rozptyl

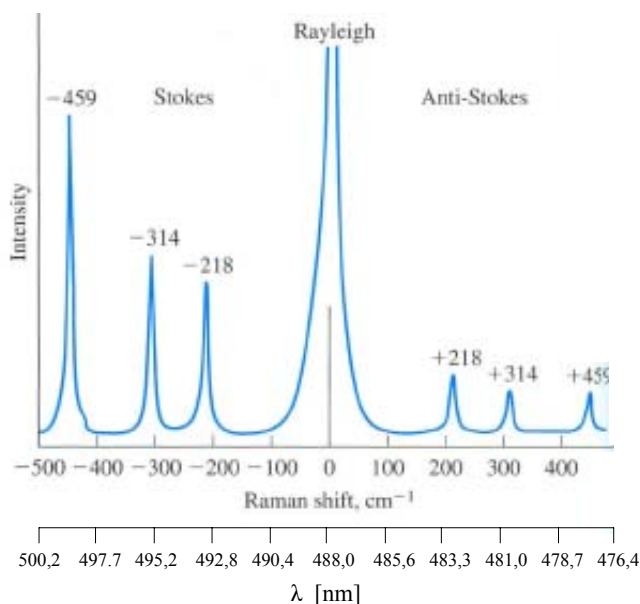


Spektrum rozptýleného záření



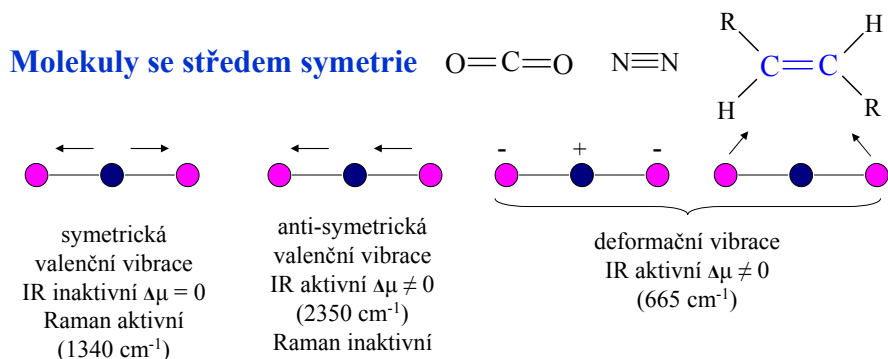
Ramanovo spektrum vzorku

- intenzita vs. Ramanův posun $\Delta \tilde{\nu}_R$ [cm^{-1}]
(= vlnčet signálu – vlnčet excitačního záření)
obvykle se měří ve Stokesově oblasti
- signály ve spektru odpovídají některým vibračním v molekulách vzorku
- intenzita signálu v Ramanově spektru je úměrná polarizovatelnosti molekuly při odpovídající vibraci vazby nebo seskupení vazeb
- poskytuje informace komplementární vzhledem k informacím z infračerveného spektra



Ramanovo spektrum
tetrachlormethanu
excitované laserovým
paprskem o vlnové délce
 $\lambda_{\text{ex}} = 488 \text{ nm}$
(vlnočet 20492 cm^{-1})

Které vibrace se projeví signálem v Ramanově spektru ?

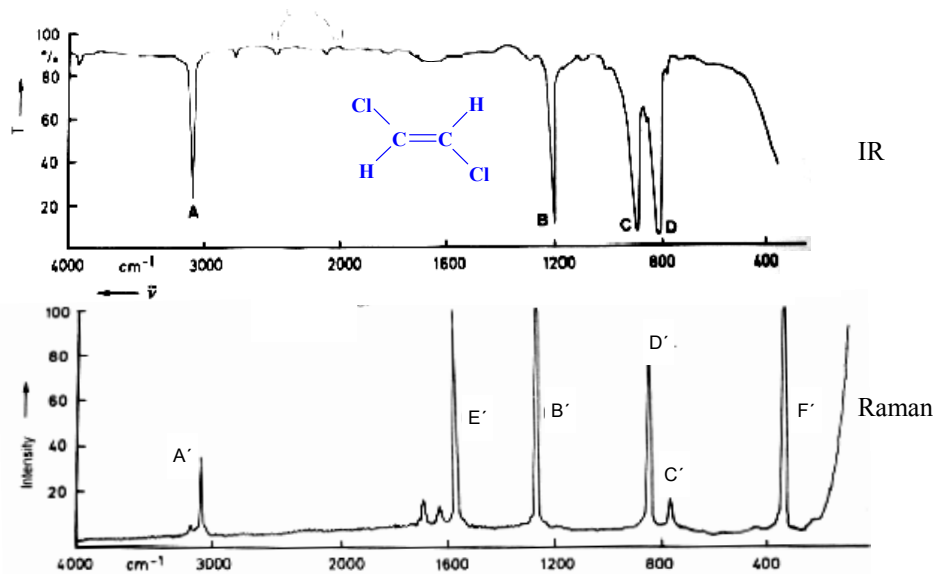


V Ramanově spektru se projeví vibrace, které jsou spojeny se změnou polarizovatelnosti molekuly.

V IR spektru se projeví vibrace, které jsou spojeny se změnou dipólového momentu molekuly.

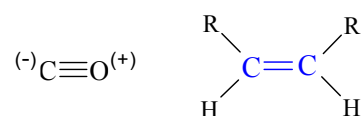
Pravidlo alternativního zákazu: vibrace aktivní v Ramanově spektru (tj. vibrace, při kterých si molekula zachovává střed symetrie) jsou inaktivní v IR spektru a naopak.

IR a Ramanovo spektrum *trans*-1,2-dichlorethenu



Vibrace	antisymetrická	IR pás (cm^{-1})	symetrická	Ramanův pás (cm^{-1})
valenční (C–H)		3090 (A)		3070 (A')
valenční (C–Cl)		817 (D)		844 (D')
deformační (C–H)		1200 (B)		1270 (B')
deformační mimo- rovinná (C–H)		895 (C)		760 (C')
valenční (C=C)	–	–		1576 (E')
deformační (C–Cl)		< 300		350 (F')

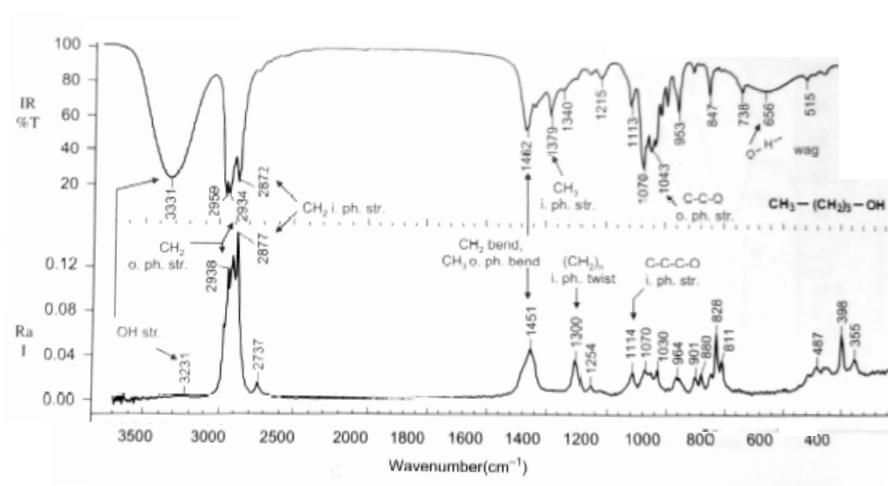
Molekuly, které nemají střed symetrie,

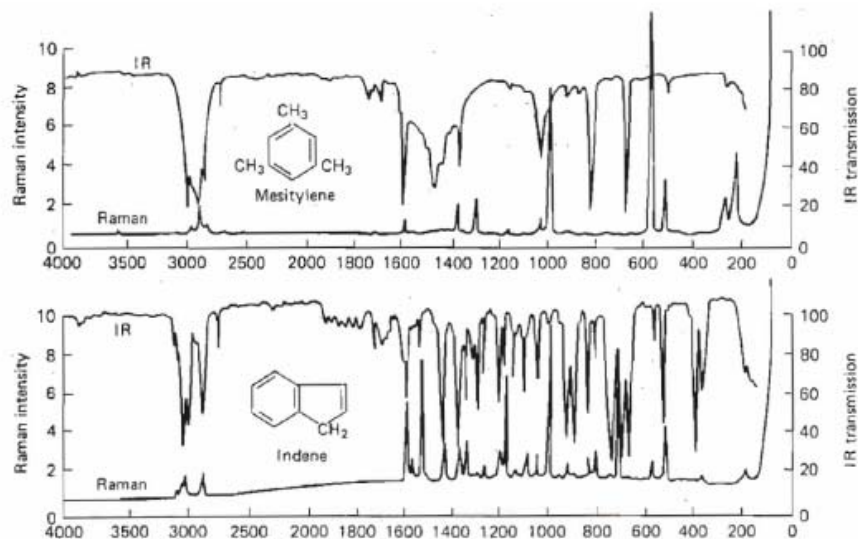


mají jiné prvky symetrie a projev vibrací v IR nebo Ramanově spektru je závislý na polaritě vazeb a zařazení molekuly do bodové grupy symetrie.

V Ramanově spektru se mohou objevit signály odpovídající symetrickým i antisymetrickým vibracím.

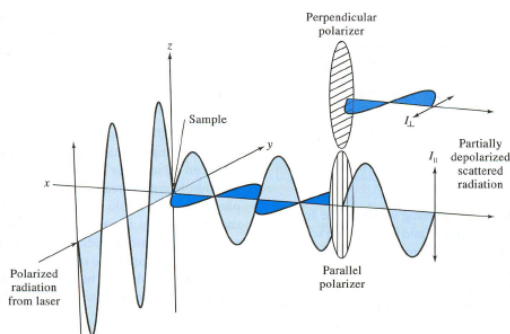
IR a Ramanovo spektrum 1-butanolu





Depolarizační poměr

$$p = I_{\perp} / I_{\parallel}$$



- poměr signálu polarizovaného kolmo vůči směru polarizace excitačního paprsku k signálu polarizovanému rovnoběžně
- hodnota p je závislá na Ramanově posunu – souvisí se symetrií vibrace, které odpovídá měřený pás
- symetrické vibrace: velmi malá depolarizace ($p \approx 0$)
- asymetrické vibrace $p \approx 0,75$
- max. hodnota p je $6/7 (=0,857)$

Odlišnosti IR a Ramanových spekter

IR	Raman
<ul style="list-style-type: none">▪ intenzita pásu je úměrná druhé mocnině změny dipolového momentu při vibraci $(\partial\mu/\partial q)^2$▪ intenzivní pásy vibrací polárních vazeb (C=O, C–O, C≡N, C–Cl...)▪ slabé pásy vibrací mírně polárních vazeb (C–H, C–C)▪ žádné pásy vibrací zcela nepolárních vazeb (symetrické C=C, C≡C)▪ obtížnější transmisní měření, obtížnější měření v roztocích	<ul style="list-style-type: none">▪ intenzita pásu je úměrná druhé mocnině změny polarizovatelnosti při vibraci $(\partial\alpha/\partial q)^2$▪ slabé pásy vibrací polárních vazeb (C=O, C–O, O–H, C≡N, C–Cl...)▪ intenzivní pásy vibrací nepolárních vazeb (C–C, N–N) a zvláště nepolárních násobných vazeb (C=C, C≡C, N=N)▪ snadná příprava vzorku a možnost měření vodných roztoků

Instrumentace v Ramanově spektroskopii

Součásti měřícího zařízení

- zdroj excitačního záření – laser
- osvětlovací systém a cela vzorku
- (mikroskop)
- zařízení pro selekci vlnové délky
 - dvojitý mřížkový monochromátor
 - interferometr (FT-Raman)
- detektor – fotonásobič, multikanálový fotodetektor (CCD)

LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*)

Vlastnosti laserového záření

- úzké spektrální čáry
- velmi intenzivní a koherentní paprsek
(průměr svazku cca 1 mm, divergence 0,6 mrad)
- používaný výkon nejčastěji 0,2-4 W, výjimečně i více než 10 W)

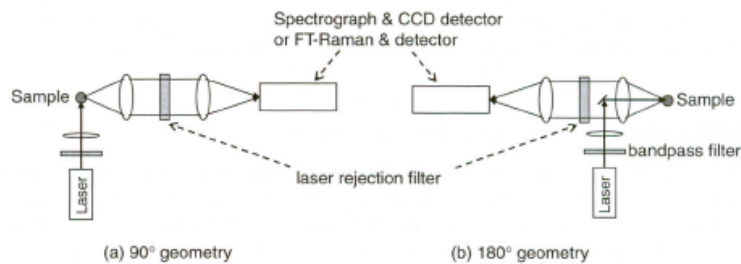
Druhy laserů

- pevnolátkové
 - rubínový
 - neodymový Nd-YAG $\lambda = 1064 \text{ nm}$
(YAG = yttrium-aluminium granát $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$)
- plynové
 - argonový iontový $\lambda = 488 \text{ nm}$ nebo $514,5 \text{ nm}$
 - kryptonový iontový $\lambda = 530,9 \text{ nm}$ nebo $647,1 \text{ nm}$
 - helium-neonový $\lambda = 632,8 \text{ nm}$
- barvivové

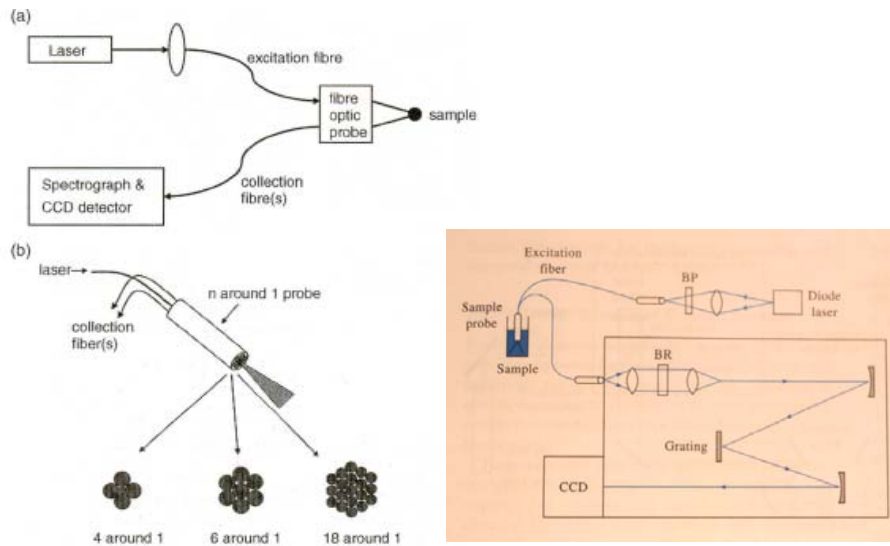
Cela vzorku

- kapilára, trubice
pro kapaliny, plyny i tuhé vzorky
- kádinka s kapalným vzorkem (optické vláknové sondy)

Uspořádání osvětlení vzorku



Sonda s optickým vláknom



Ramanův spektrometr s Fourierovou transformací (FT-Raman)

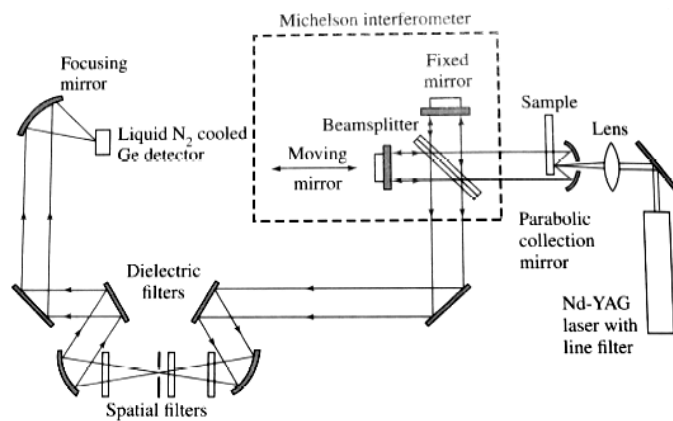
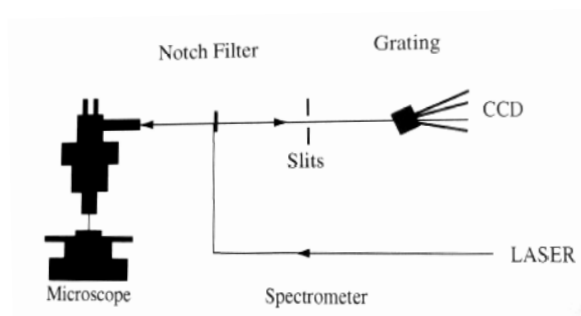
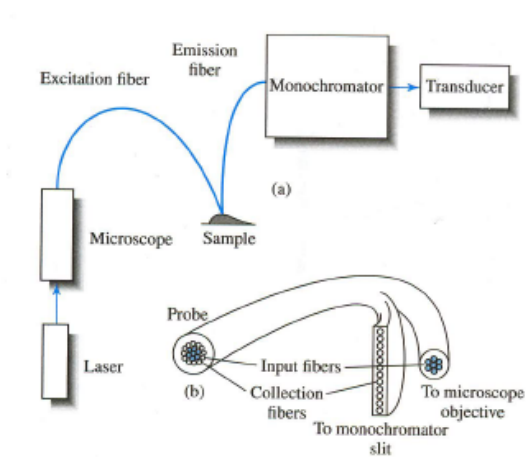


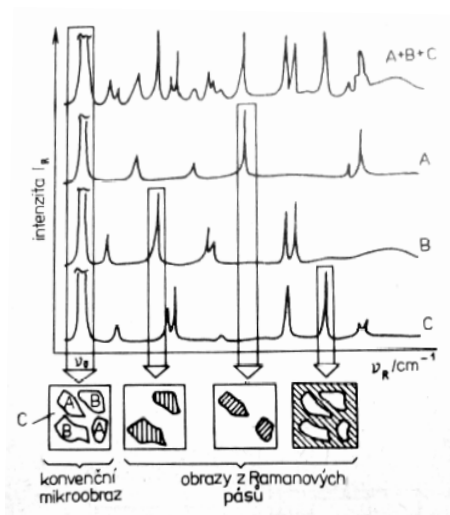
Schéma spojení mikroskopu a Ramanova spektrometru



Spojení mikroskopu a Ramanova spektrometru použitím optických vláken



Možnosti Ramanovy mikrosondy

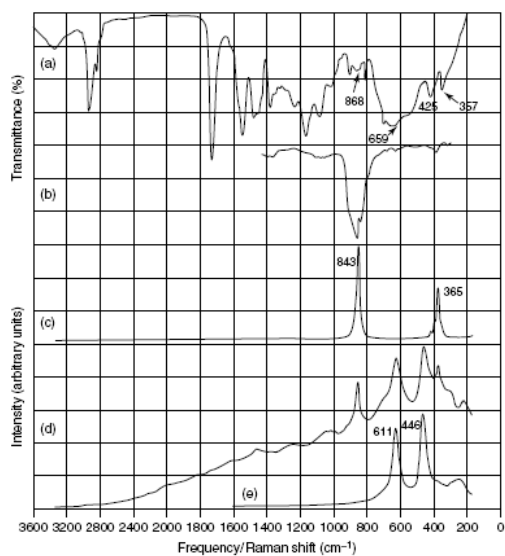


- kvalitativní a semi-kvantitativní analýza mikroobjektů a jejich prostorově vymezených částí
- mikroskopické zobrazení distribuce složek

Aplikace infračervené a Ramanovy spektroskopie ve forenzní analýze

- identifikace organických látek – drogy, léčiva, výbušniny (IR a Raman)
- identifikace anorganických látek (Raman)
- určování původu výrobků – kosmetika, průmyslové materiály (plasty, keramika...), barvy, laky...
- semikvantitativní analýza směsných vzorků v terénu (Raman)
- kvantitativní analýza (farmaceutické výrobky...)

Identifikace žlutého pigmentu z automobilového laku



(a) IR spektrum laku

(b) IR spektrum chromové žluti

(c) Ramanovo spektrum
chromové žluti

(d) Ramanovo spektrum laku

(e) Ramanovo spektrum rutilu