

Infračervená a Ramanova spektroskopie

Zdeněk Moravec

hugo@chemi.muni.cz

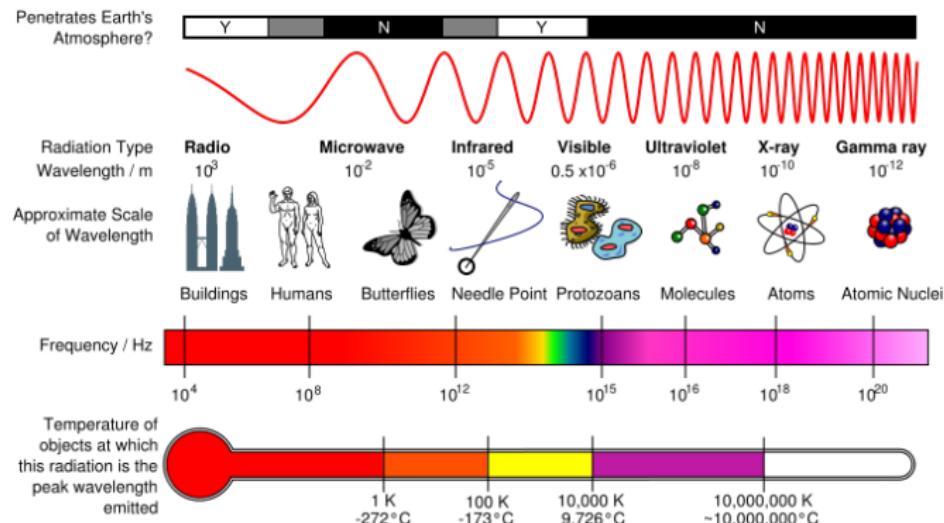
- ▶ Základní principy IR spektroskopie
- ▶ Měřící techniky
 - ▶ FT-IR transmisní měření
 - ▶ ATR, DRIFT, PAS
 - ▶ TG/IR, GC/IR
- ▶ Ramanova spektroskopie
- ▶ Zpracování spekter
 - ▶ Analýza spekter
 - ▶ Spektrální databáze
- ▶ Aplikace
 - ▶ Chemie
 - ▶ Restaurování uměleckých předmětů
 - ▶ Biologie
- ▶ Informace o přístrojovém vybavení UCH

Molekulová spektroskopie

	UV-VIS 50-800 nm	IR 1-100 μm	MW 1-10 mm
Elektronická spektroskopie	Absorpční UV-VIS Luminiscenční spektroskopie		
Vibrační spektroskopie	Ramanova spektroskopie	Infračervená spektroskopie	
Rotační spektroskopie	Ramanova spektroskopie		Mikrovlnná spektroskopie

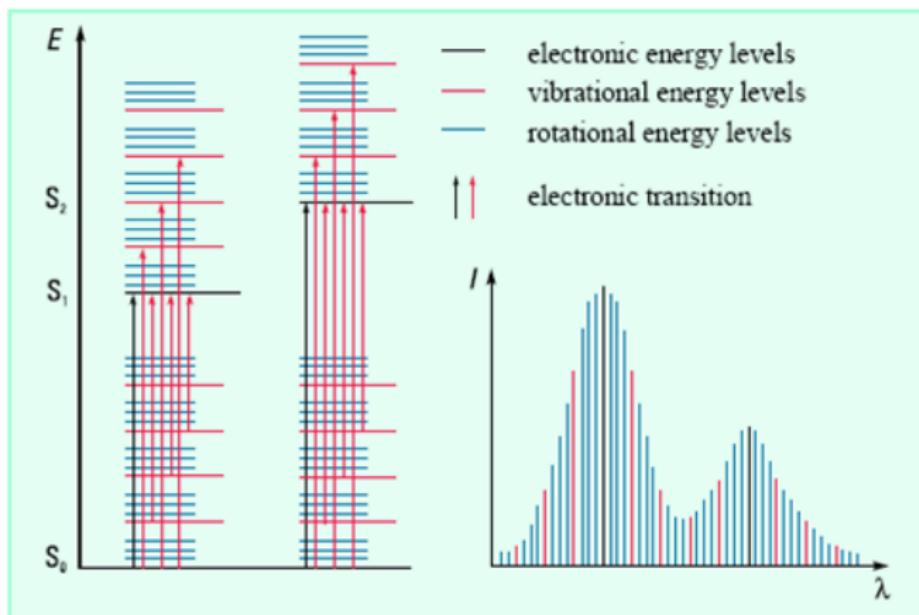
IR spektroskopie

Princip



IR spektroskopie

Princip



IR spektroskopie

Princip

- ▶ NIR ($0,7 - 2,5 \mu\text{m}$; $14\ 000 - 4\ 000 \text{ cm}^{-1}$) - infračervená spektroskopie v blízké oblasti
- ▶ MIR ($2,5 - 25 \mu\text{m}$; $4\ 000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) - infračervená spektroskopie ve střední oblasti
- ▶ FIR ($25 - 1000 \mu\text{m}$; $400 - 10 \text{ cm}^{-1}$) - infračervená spektroskopie ve vzdálené oblasti

IR spektroskopie

Vibrace chemických vazeb

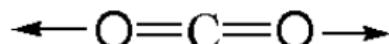
- ▶ Během vibrace vazby dochází k přechodu systému na jinou energetickou hladinu.
- ▶ Přechod mezi základní a 1. excitovanou hladinou se nazývá **základní (fundamentální) vibrace**.
- ▶ Pokud dochází k přechodům na vyšší hladinu, jedná se o tzv. **vyšší harmonické přechody (overtony)**. Jejich frekvence jsou **přibližně násobkem** fundamentální frekvence (energetické hladiny se postupně zhušťují).
- ▶ Pokud dojde k současné změně dvou vibračních stav molekuly jedná se o **kombinační přechody**.

IR spektroskopie

Vibrace chemických vazeb

► Valenční vibrace – dochází ke změně mezijaderné vzdálenosti.

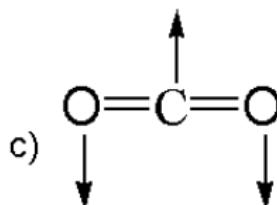
► Deformační vibrace – dochází ke změně vazebného úhlu.



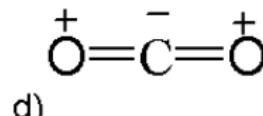
a)



b)



c)

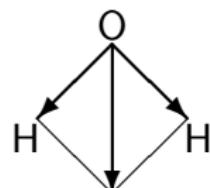
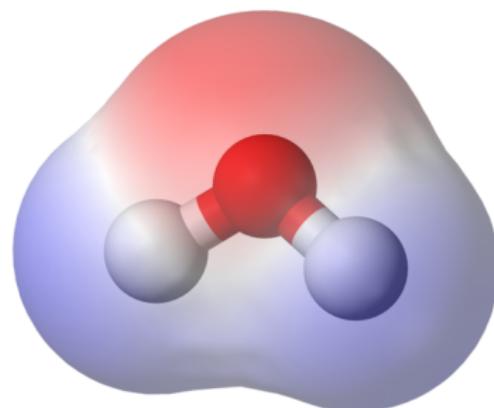


d)

IR spektroskopie

Dipólový moment

- ▶ Vektor popisující rozložení elektrického náboje v molekule.
- ▶ Výsledný dipólmoment získáme vektorovým součtem dipólmomentů jednotlivých vazeb.

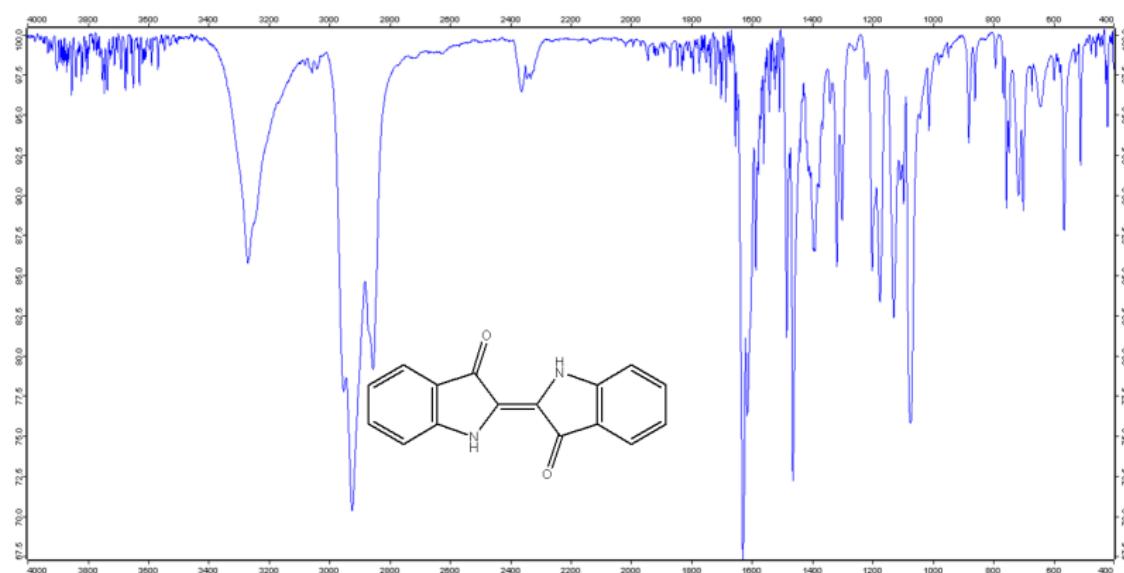


Absorpce infračerveného záření

- ▶ Aby mohla molekula absorbovat infračervené záření musí během vibrace docházet ke změně dipólového momentu.
- ▶ Při absorpci dochází ke změně amplitudy vibrace, frekvence zůstává nezměněna.
- ▶ Intenzita absorpčních pásu je úměrná druhé mocnině změny dipólového momentu.
- ▶ Absorpcí infračerveného záření molekulami vznikají pásová spektra.

Absorpce infračerveného záření

Absorpční spektrum



- Absorpční spektrum indiga

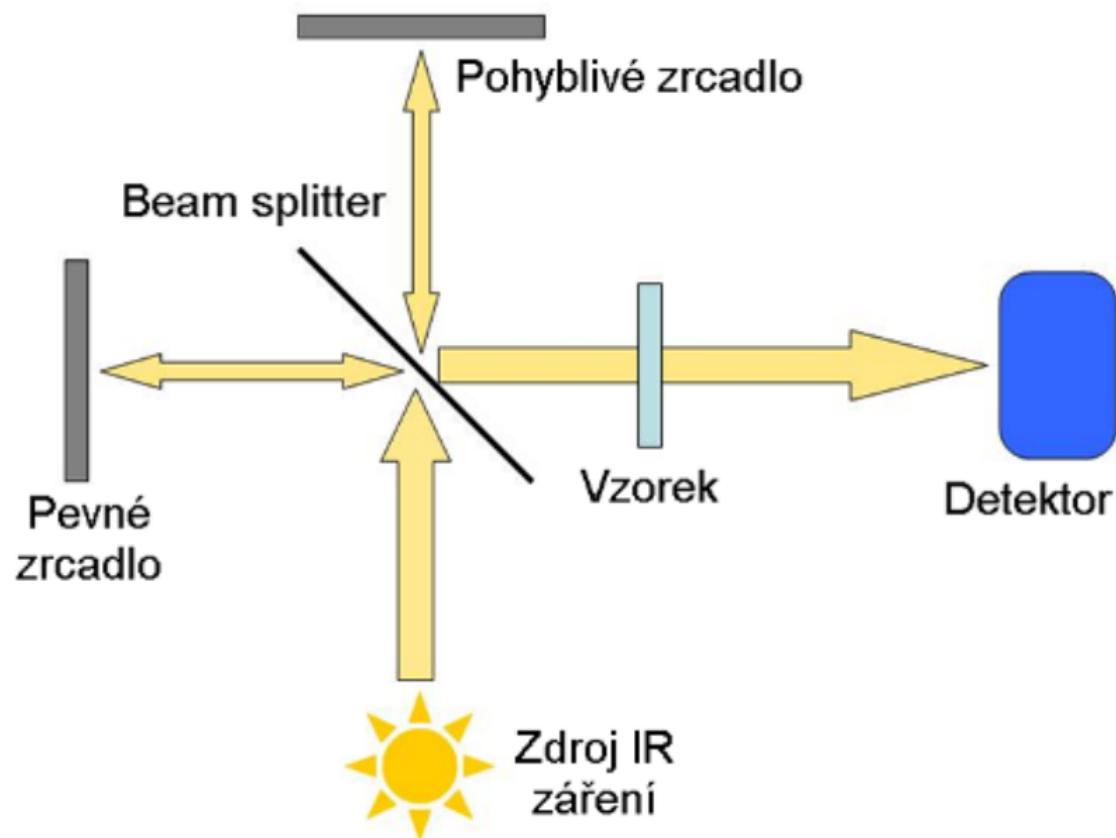
Měřící techniky

- ▶ FT-IR - transmise, ATR
- ▶ DRIFT, IRRAS
- ▶ TG-IR, GC-IR

- ▶ Nejběžnější měřící technika
- ▶ Podle úpravy vzorku rozlišujeme měření v transmisním módu a ATR
- ▶ Spektrometr neobsahuje monochromátor, ale interferometr
- ▶ Celé spektrum se snímá najednou, získáme interferogram, který je nutné zpracovat pomocí Fourierovy transformace

Měřící techniky

FT-IR



Měřící techniky

Transmisní měření

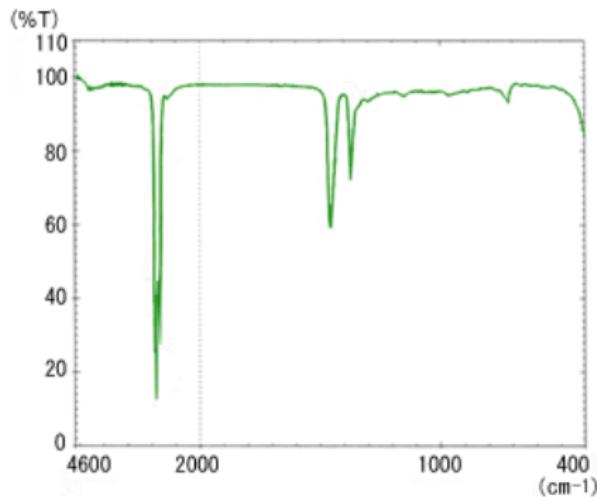
- ▶ Lze měřit pevné látky, kapaliny i plyny
- ▶ Pevné látky měříme ve formě KBr tablet (1-3 hm. % v KBr) nebo jako suspenze v Nujolu
- ▶ Kapaliny měříme jako tenký film mezi okny z vhodného materiálu (KBr, KRS, NaCl, ...)



Měřící techniky

Transmisní měření - Nujol

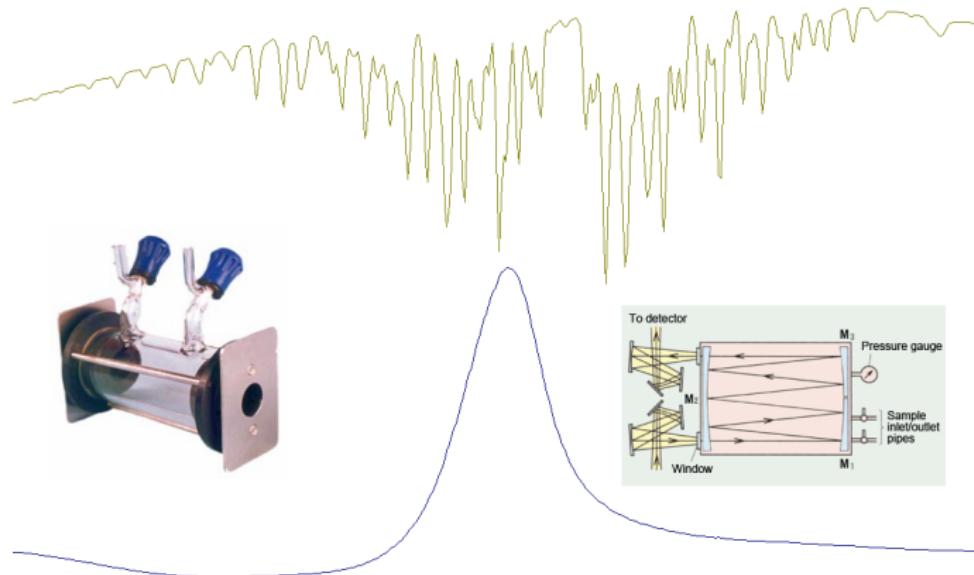
- Nujol - směs alkanů s dlouhý řetězcem.



Měřící techniky

Transmisní měření plynů

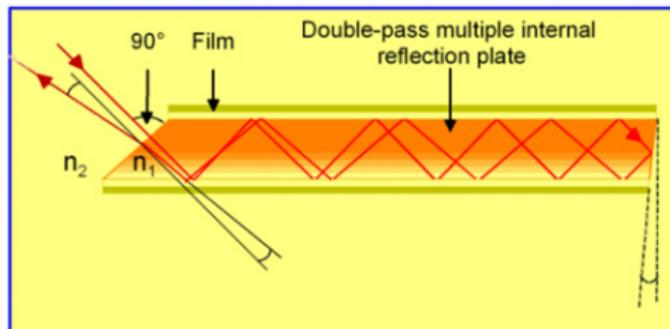
- ▶ Plyny se měří v plynových kyvetách, ty jsou konstruované tak, aby dráha paprsku byla co nejdelší
- ▶ Protože v plynném skupenství existují pouze slabé interakce mezi částicemi lze naměřit čistě rotační, rotačně-vibrační i elektronově-rotačně-vibrační spektra



Měřící techniky

ATR

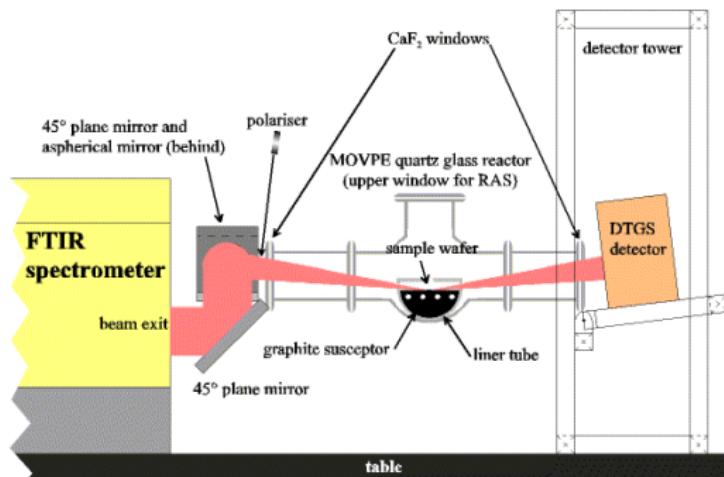
- ▶ ATR - Attenuated Total Reflection
- ▶ Krystaly jsou z diamantu, ZnSe, Ge, KRS-5 (směs TlBr a TlI) nebo křemíku
- ▶ Vzorek se přitlačí vysokým tlakem k měřícímu krystalu
- ▶ Paprsek se pohybuje po povrchu vzorku ($0,5 - 5 \mu\text{m}$)



Měřící techniky

IRRAS

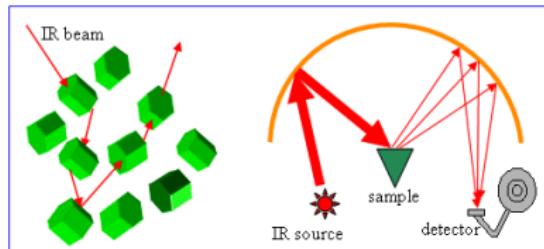
- ▶ IRRAS - IR Reflection Absorption Spectroscopy
- ▶ Metoda vhodná pro tenké vrstvy nanesené na kovových materiálech nebo nasorbované látky na materiálech
- ▶ Pro zvýšení citlivosti se využívá polarizovaného záření



Měřící techniky

DRIFTS

- ▶ DRIFTS - Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy
- ▶ Tato technika je vhodná pro měření malých částic nebo hrubých povrchů
- ▶ Využívá rozptylu IR záření
- ▶ Rozptýlené záření je pomocí kulového zrcadla odráženo na detektor
- ▶ Práškové vzorky se měří v kelímcích, pevné vzorky se obrouší abrasivem (SiC) a měří se částice zachycené na abrasivu

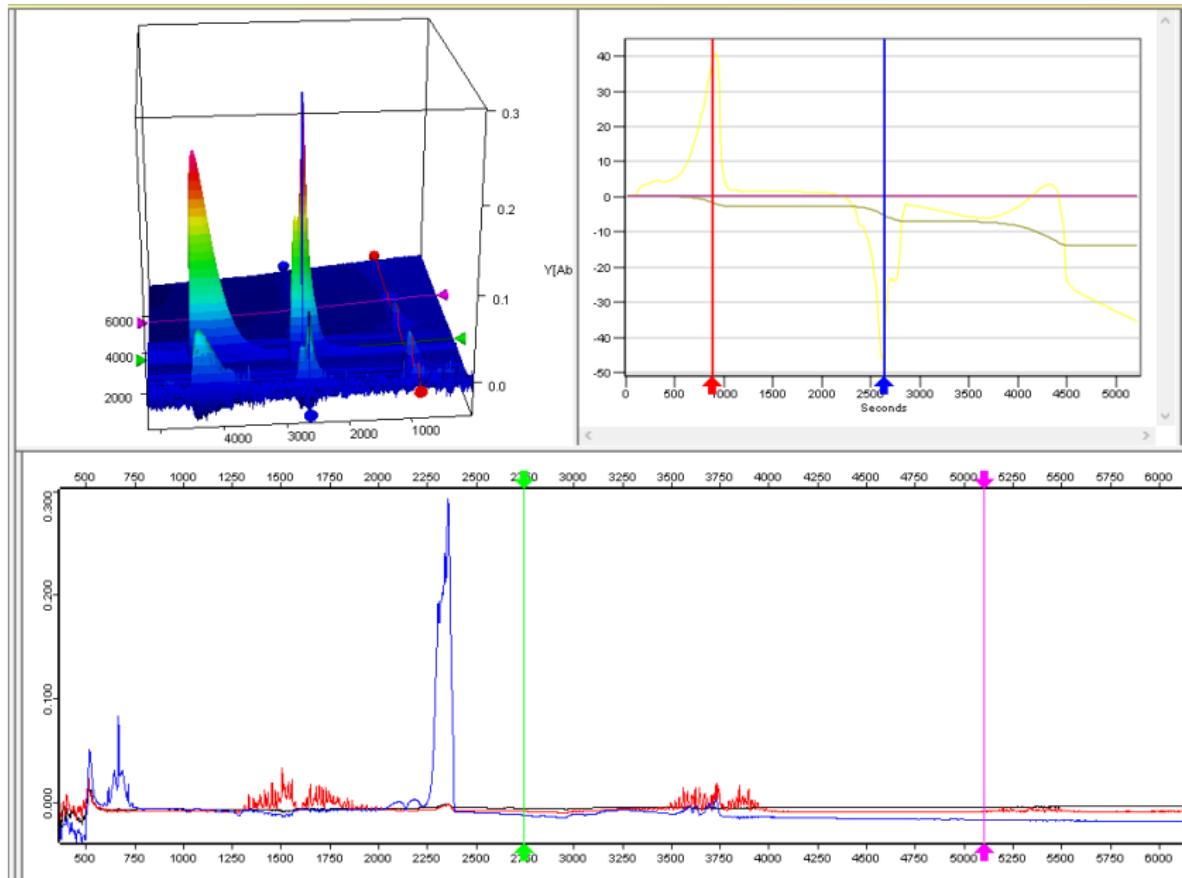


Coupling TGA/IR

- ▶ TGA - termogravimetrická analýza
- ▶ Plyny vznikající během degradace vzorku vedeme do měřící cely a pomocí IR spektroskopie stanovíme jejich složení
- ▶ Během transportu plynů z pece do měřící cely dochází k velkému zředění plynu, proto je nutné používat citlivější detektory (MCT)



Coupling TGA/IR



Coupling GC/IR

- ▶ GC - plynová chromatografie
- ▶ Méně citlivé než GC/MS, ale umožňuje analýzu stereoizomerů.
- ▶ Interferogramy je nutné snímat v krátkých časových intervalech



Ramanova spektroskopie

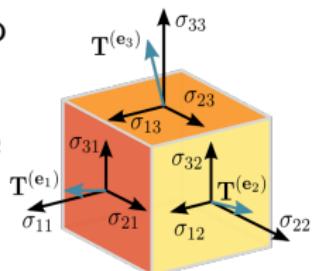
Princip

- ▶ Komplementární metoda k infračervené spektroskopii.
- ▶ 1928 – Sir Chandrasekhara Venkata Rāman objevil nepružný rozptyl záření (Ramanův rozptyl).
- ▶ Využívá silné zdroje monochromatického záření – lasery.
- ▶ Při interakci se vzorkem dochází z největší části k Rayleighovu rozptylu, energie rozptýleného záření je stejná jako energie excitujícího záření.
- ▶ S nižší pravděpodobností dochází k Ramanovu rozptylu, kdy záření část své energie předává vzorku (Stokesovy linie) nebo ji naopak vzorku odebírá (Anti-Stokesovy linie).
- ▶ Aby mohlo dojít k Ramanovu rozptylu, děj musí být spojen se změnou tenzoru polarizovatelnosti.

Ramanova spektroskopie

Princip

- ▶ Polarizovatelnost (α) popisuje deformovatelnost elektronové hustoty v okolí molekuly působením elektromagnetického záření, nebo přesněji elektrického pole generovaného fotonem.
- ▶ Polarizovatelnost je *tensor druhého řádu*, tzn. že ji lze popsat maticí 3×3 .
- ▶ Polarizace je ovlivněna několika faktory:
 - ▶ Čím více elektronů má atom, tím slaběji je k sobě váže a tím je polarizovatelnost větší.
 - ▶ Čím je elektron více vzdálen od kladného jádra, tím je pohyblivější a zvyšuje polarizovatelnost atomu.
 - ▶ Orientaci molekuly vůči vnějšímu elektrickému poli.



$$\alpha = \begin{bmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{bmatrix}$$

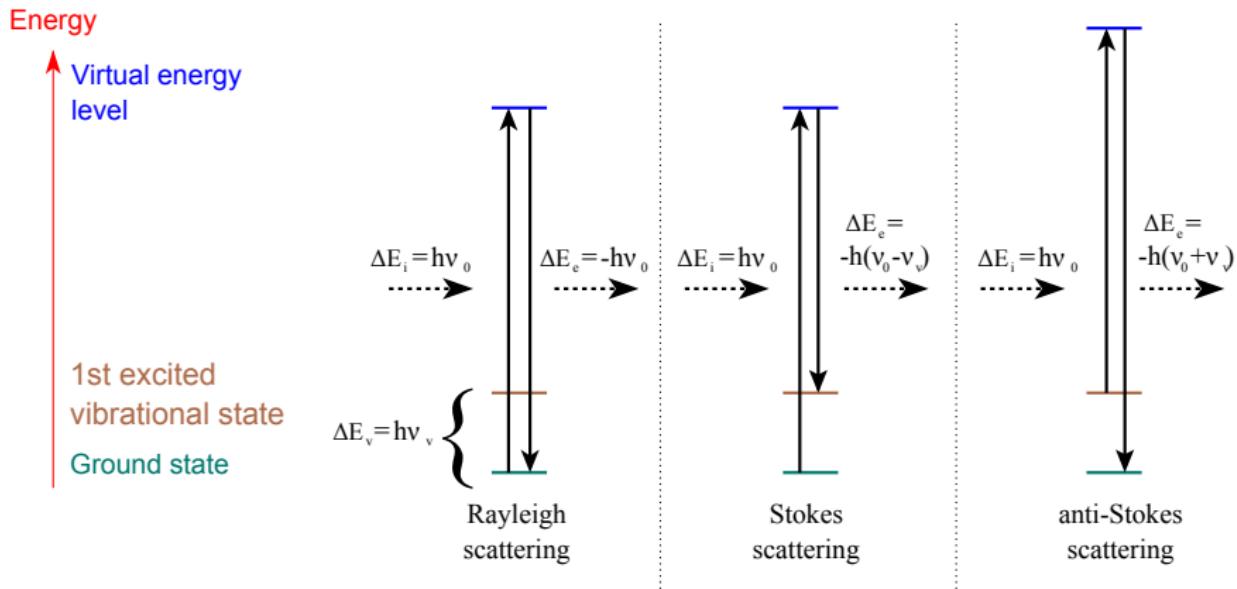
¹<https://en.wikipedia.org/wiki/Polarizability>

²http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Physical_Properties_of_Matter/Intermolecular_Forces/Polarizability

³Animace - polarizovatelnost

Ramanova spektroskopie

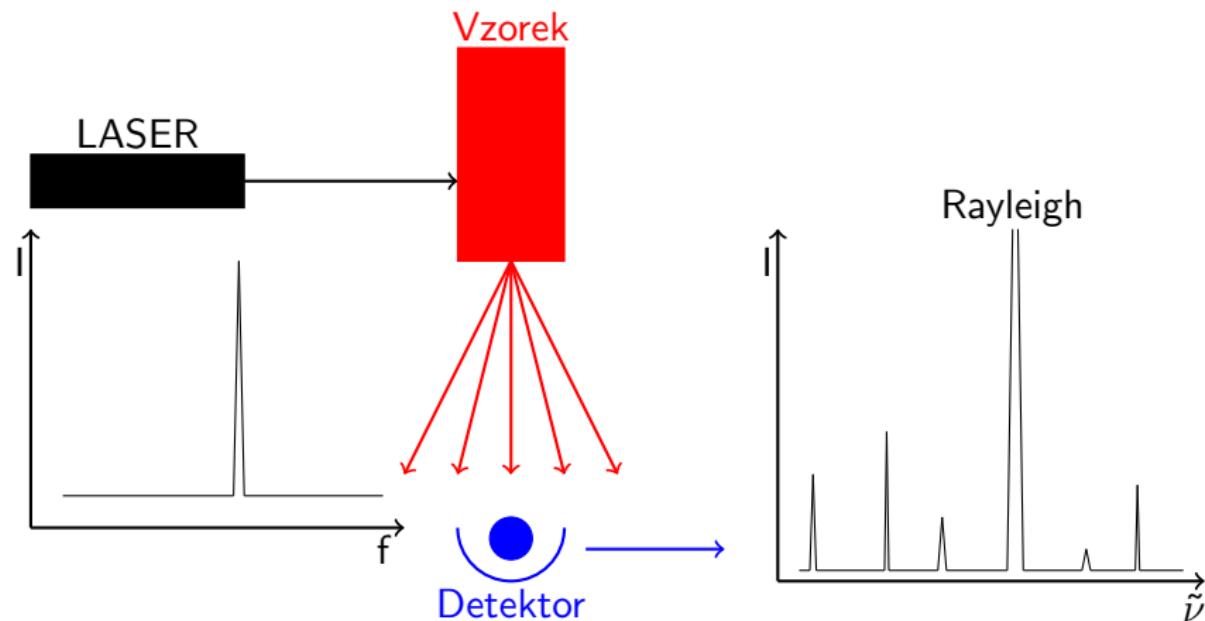
Princip



<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ramanscattering.svg>

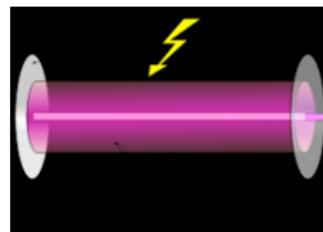
Ramanova spektroskopie

Princip



Ramanova spektroskopie

Lasery



- ▶ Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
- ▶ He-Ne laser – 632,8 nm
- ▶ Ar laser – 488 nm, 496,5 nm a 514,4 nm
- ▶ Kr laser – 530,9 nm a 674,1 nm
- ▶ Nd:YAG laser – 1064 nm
- ▶ laserové diody
- ▶ laditelné lasery

Ramanova spektroskopie

Instrumentace

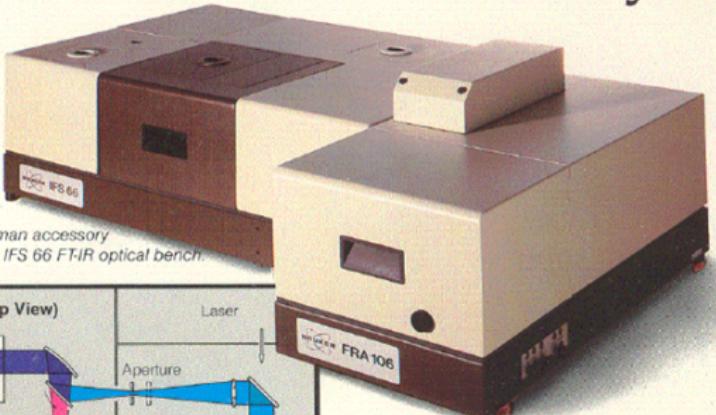


Ramanova spektroskopie

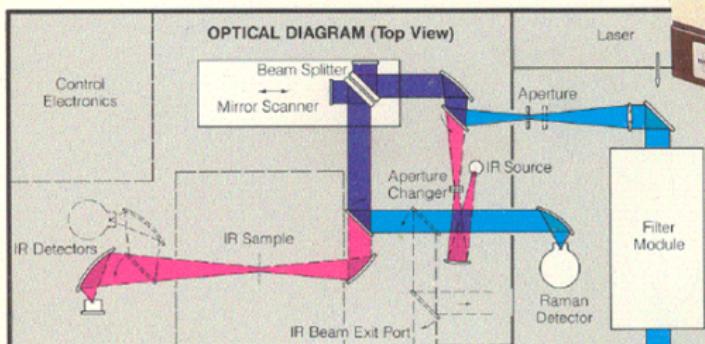
Instrumentace

The Bruker FRA 106 FT-Raman Accessory.

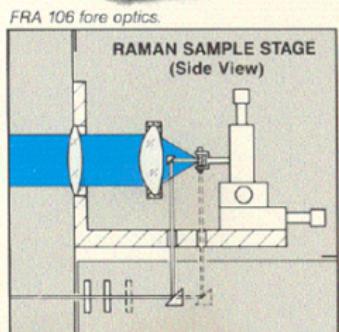
The FRA 106 enables the analyst to routinely collect essentially fluorescence-free Raman data without sample preparation.



FRA 106 FT-Raman accessory
mounted on an IFS 66 FT-IR optical bench.



Optical diagram of the FRA 106 FT-Raman accessory and IFS 66 bench.



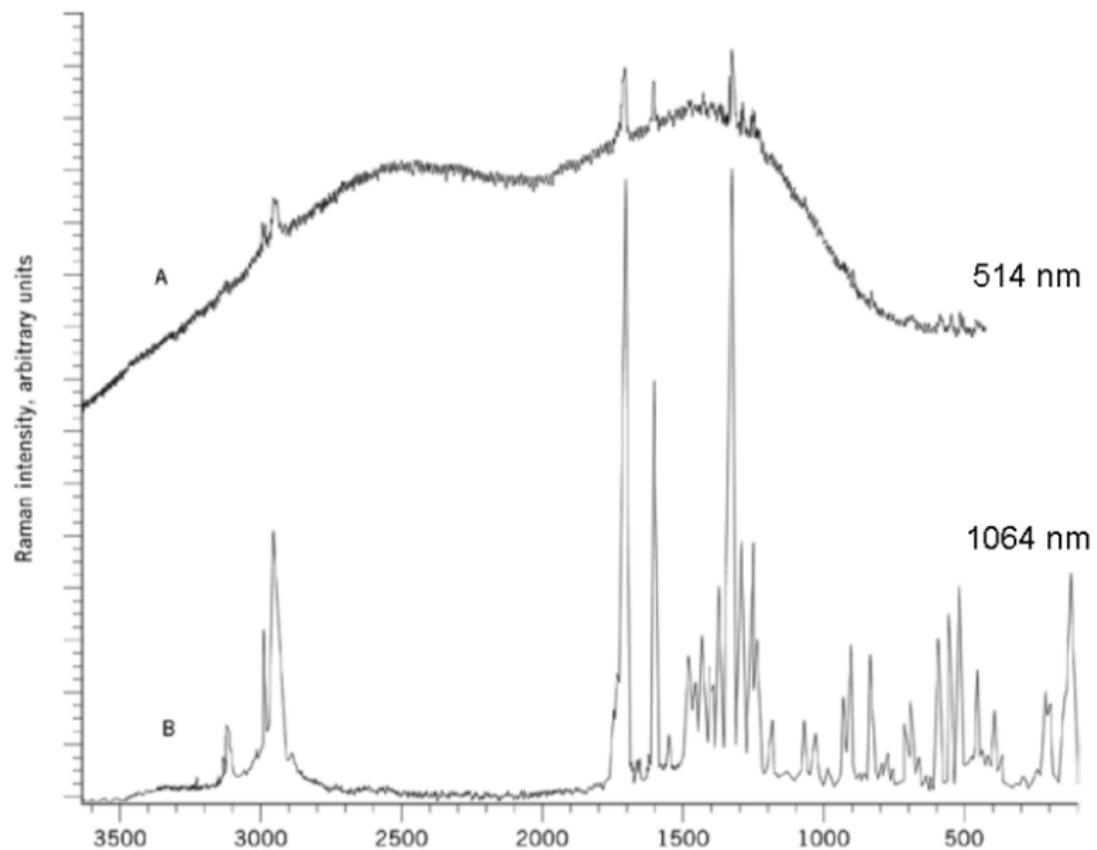
Ramanova spektroskopie

Příprava vzorku

- ▶ Jednodušší než u IR spektroskopie.
- ▶ Pevné vzorky se měří ve skleněných kapilárách nebo jako tenké vrstvy na vhodném substrátu. Větší vzorky lze uchytit do držáku vzorku bez úpravy.
- ▶ Kapalné vzorky se také plní do kapilár.
- ▶ Pro měření plynných vzorků se využívají kyvety s násobným odrazem.
- ▶ Komplikací při měření bývá luminiscence vzorku. Lze ji potlačit změnou vlnové délky laseru, pokud to spektrometr umožňuje.

Ramanova spektroskopie

Příprava vzorku



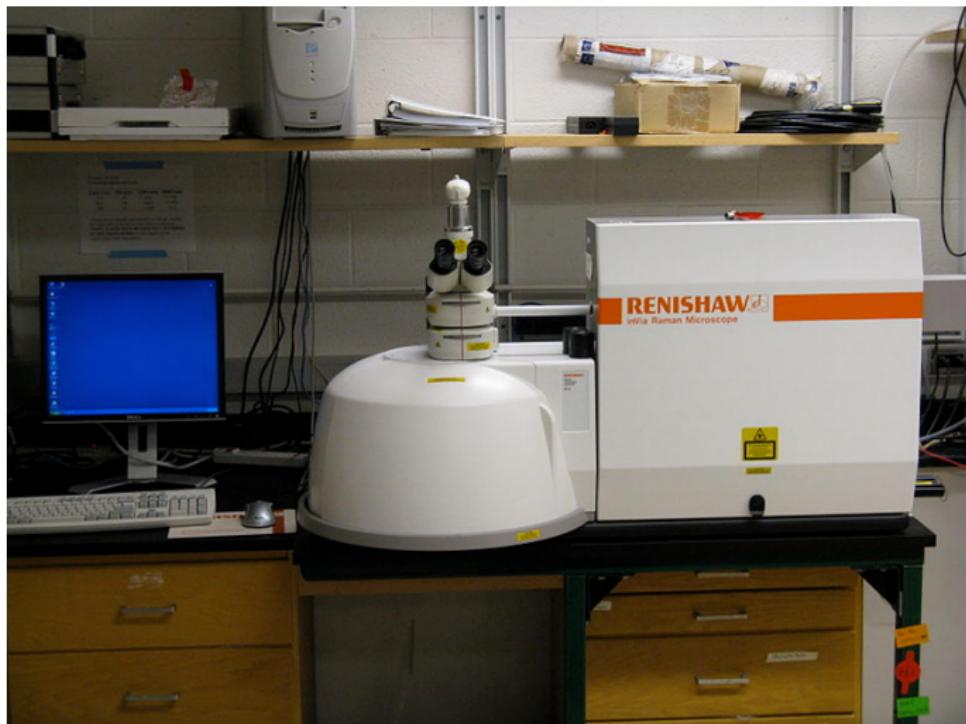
Ramanova spektroskopie

Příprava vzorku



Ramanova spektroskopie

Mikroskopy



Využití IR spektroskopie v chemii

- ▶ Identifikace sloučenin srovnáním spekter s databází
- ▶ Kontrola čistoty připravených produktů, výhodou metody je její vysoká citlivost
- ▶ Kvalitativní a kvantitativní analýza polymerů, analýza degradačních produktů
- ▶ Monitorování polymerizačních reakcí
- ▶ Analýza povrchových vrstev s využitím ATR
- ▶ Kvantitativní analýza - Lambert-Beerův zákon:
 - ▶ Plyny: $A = \frac{p\epsilon l}{RT}$
 - ▶ Kapaliny: $A = \epsilon cl$
 - ▶ Je nutné zvolit vhodný pás - vysoký absorpční koeficient, bez překryvu s okolními pásy, symetrický a vykazující lineární závislost intenzity na koncentraci

Využití IR spektroskopie v oblasti restaurování a konzervování uměleckých děl

- ▶ Výhodou IR spektroskopie je nízká spotřeba vzorku, příp. nedestruktivnost metody, při použití bezkontaktního spektrometru.



Využití IR spektroskopie v oblasti restaurování a konzervování uměleckých děl

- ▶ Rutinně lze provést analýzy pigmentů, pojiv, organických složek (dřevěné rámy, povrchové úpravy, apod.)
- ▶ Mezi speciální aplikace patří např. datování dřeva, které může být pro mladší dřevěné předměty podstatně přesnější než datování pomocí ^{14}C .
- ▶ FT-IR mikroskop se lze využít k analýze nábrusů a identifikaci složení a stratigrafie vrstev



- ▶ Spektroskopická analýza uměleckých předmětů je velice důležitá pro konzervátory, historiky umění i sběratele.
- ▶ Ramanova spektroskopie a mikroskopie se využívá pro:
 - ▶ Identifikaci anorganických pigmentů
 - ▶ Identifikaci organických pigmentů
 - ▶ Identifikaci pojiv a lakov
- ▶ Větší předměty, např. nástěnné malby lze analyzovat s využitím optických vláken, aniž by hrozilo jejich poškození.^[4]

¹<http://www.ndt.net/article/wcndt00/papers/idn163/idn163.htm>

²Raman spectroscopic database of azo pigments and application to modern art studies

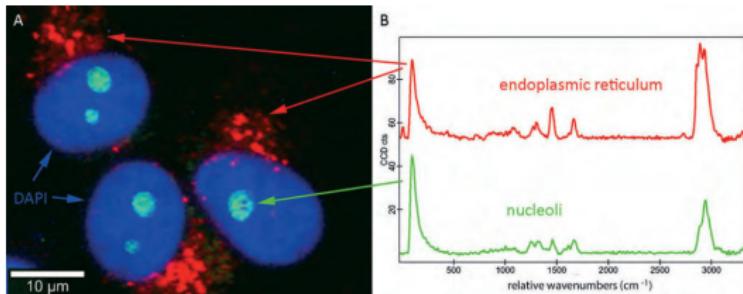
³Library of FT-Raman spectra of pigments, minerals, pigment media and varnishes, and supplement to existing library of Raman spectra of pigments with visible excitation

⁴Non-destructive analysis of museum objects by fibre-optic Raman spectroscopy

⁵The art of Raman

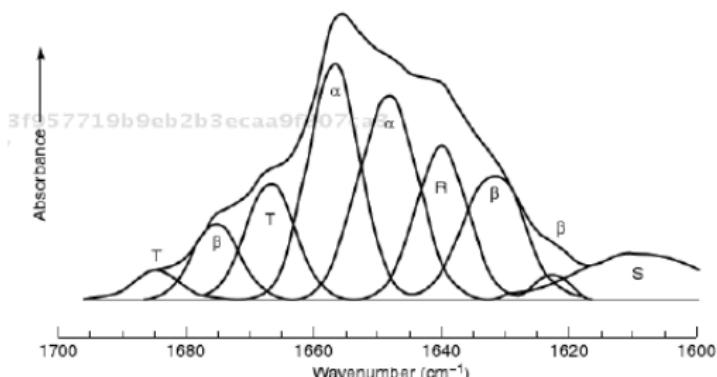
Analýza biologických vzorků

- ▶ S výhodou lze využít fluorescenční mikroskopu s Ramanovým spektrometrem.
- ▶ Na obrázku jsou buňky primátů obarvené fluorescenčním barvivem DAPI a příslušné Ramanovo spektrum.
- ▶ Pro excitaci byl využit laser o vlnové délce 532 nm. Byl získán obrázek plochy $50 \times 40 \mu\text{m}$.
- ▶ Jádra buněk jsou znázorněna modře, jadérka zeleně a endoplazmatická retikula červeně.



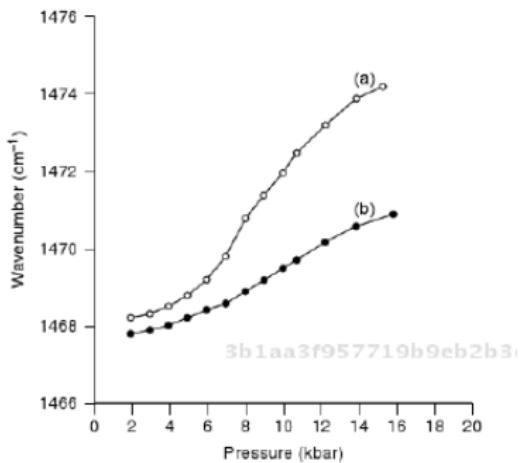
Analýza biologických vzorků

- ▶ IR spektroskopii lze využít ke studiu biologických systémů, tzn. lipidů, proteinů, peptidů, biomembrán, nukleových kyselin, tkání, buněk, atd.
- ▶ U fosfolipidů lze stanovit konformaci řetězce a tím získat informace o uspořádání v buňce
- ▶ IR spektra proteinů obsahují výrazné absorpční pásy amidové skupiny, podle jejich vlnočtu a intenzity lze určit konformaci a sekundární strukturu (dekonvoluci a fitováním pásů)



Analýza biologických vzorků

- ▶ Spektra nukleových kyselin poskytují informace o konformaci hlavního řetězce kyseliny a o párování bází
- ▶ IR spektra lze využít i pro diagnostiku nádorů, např. sledováním závislosti polohy pásu deformační vibrace methylenové skupiny na tlaku lze odlišit zdravou a rakovinovou tkáň



Spektrometry na ústavu chemie

- ▶ MIR spektrometr Bruker IFS 28
- ▶ FT-IR (NIR+MIR) spektrometr Bruker Equinox IFS 55/S s Ramanovým nástavcem FRA 106/S
- ▶ FT-IR (NIR+MIR) spektrometr Bruker Tensor 27 s možností měření TG/IR
- ▶ ATR Bruker Alpha Platinum

Spektrometry na ústavu chemie

MIR spektrometr Bruker IFS 28



Spektrometry na ústavu chemie

Bruker Equinox IFS 55/S s Ramanovým nástavcem FRA 106/S



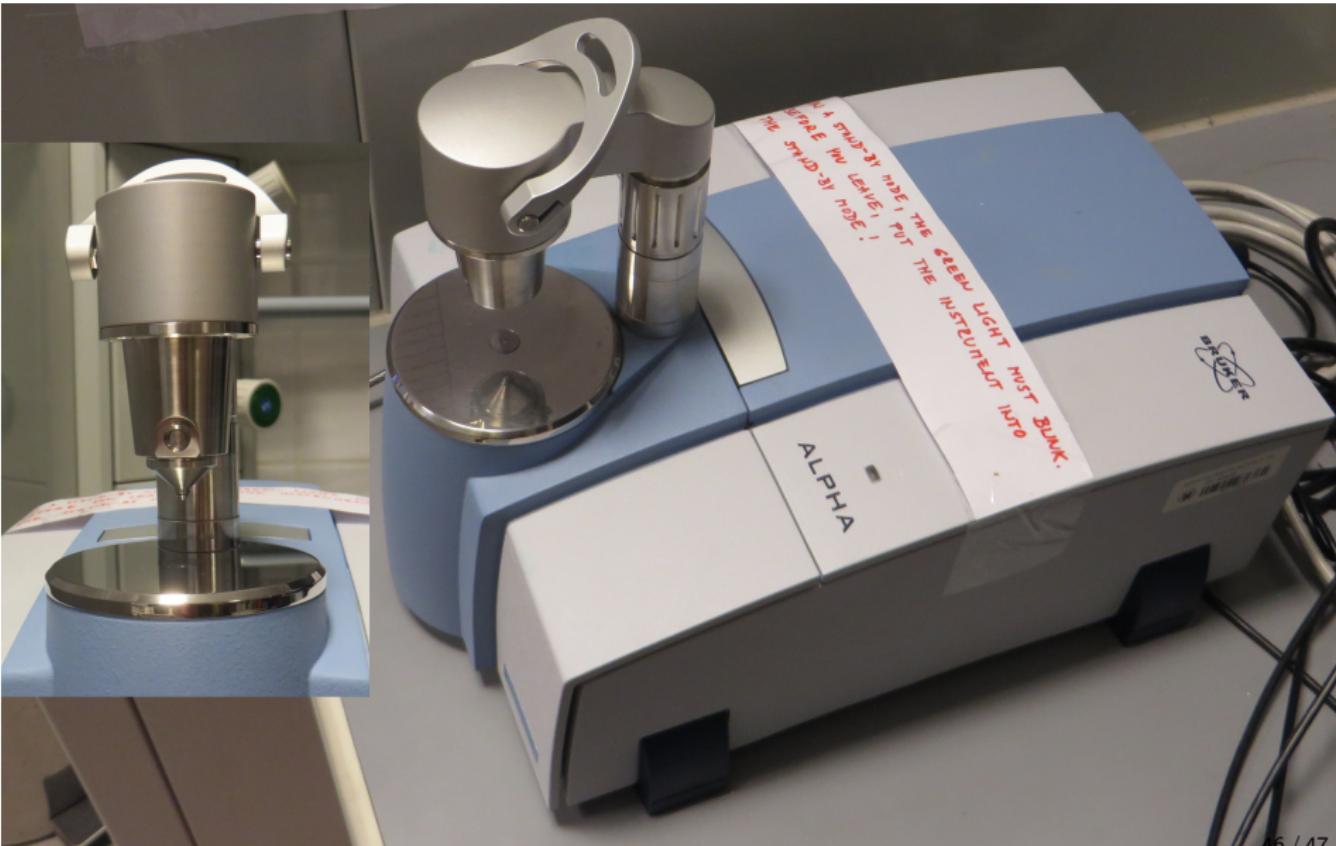
Spektrometry na ústavu chemie

Bruker Tensor 27



Spektrometry na ústavu chemie

Bruker Alpha Platinum



Spektrometry na ústavu chemie

Mikro-ramanovský spektrometr Horiba – Labram HR Evolution - UGV

► <http://ugv.cz/pracoviste-ramanovy-spektroskopie/>

