

Ramanova spektroskopie

C6250 Metody chemické výzkumu

Zdeněk Moravec, A12/316, hugo@chemi.muni.cz

- ▶ Základní principy Ramanovy spektroskopie
 - ▶ Ramanův rozptyl
 - ▶ Polarizovatelnost
- ▶ Ramanovy spektrometry a mikroskopy
- ▶ Využití Ramanovy spektroskopie v praxi
- ▶ Aplikace
 - ▶ Chemie
 - ▶ Restaurování uměleckých předmětů
 - ▶ Biologie
- ▶ Zpracování IR a RA spekter
 - ▶ Analýza spekter
 - ▶ Spektrální databáze

Ramanův rozptyl

- ▶ Při interakci elektromagnetického záření s hmotou může dojít k absorpci, přenosu a rozptylu.
- ▶ Rozptyl může být pružný a nepružný.
- ▶ Při pružném rozptylu nedochází k výměně energie mezi zářením a hmotou. Tento byl popsán britským fyzikem Lordem Rayleighem, po němž je pojmenován.¹
- ▶ Při nepružném rozptylu naopak k výměně energie mezi zářením a hmotou dochází. Tento jev byl popsán v roce 1928 Sirem Chandrasekhara Venkata Ramanem. Pojmenován byl po objeviteli *Ramanův efekt* nebo Smekalův-Ramanův efekt. Za tento objev obdržel sir Raman Nobelovu cenu za fyziku v roce 1930.²

¹<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/atmos/blusky.htm#c2>

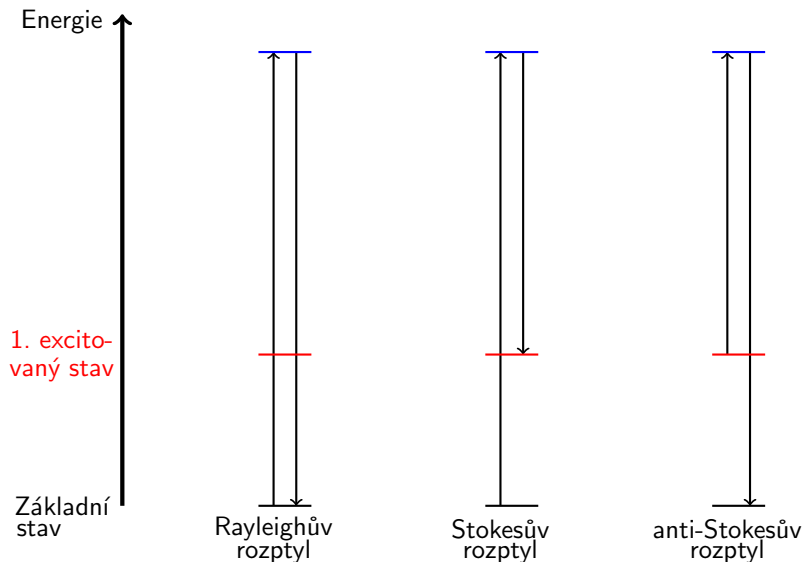
²http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1930/raman-lecture.pdf

Ramanův rozptyl

- ▶ Ramanův efekt může být popsán jako nepružná srážka fotonu s molekulou, jejímž výsledkem je změna vibračního nebo rotačního stavu molekuly.
- ▶ *Stokesův rozptyl*: vzorek přijme část energie od záření a emituje foton s nižší energií.
- ▶ *anti-Stokesův rozptyl*: vzorek ztratí část energie a emituje foton s vyšší energií.
- ▶ Stokesovy linie jsou intenzivnější než anti-Stokesovy. Poměr intenzit je teplotně závislý, čehož lze využít pro měření teploty.
 - ▶ $\frac{I_{as}}{I_s} = (1 - e^{-\frac{h\nu_j}{kT}})e^{-\frac{h\nu_j}{kT}} \left(\frac{\nu + \nu_j}{\nu - \nu_j}\right)^4$
- ▶ Hodnota Ramanova posunu je *nezávislá* na energii (vlnové délce) použitého laseru.

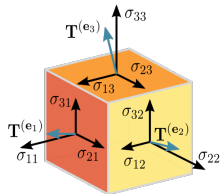
¹Malíšek V.: "Rozptyl světla - nejvšednější jev v přírodě, nebo div moderní optiky?", str. 62-64

Ramanův rozptyl



Polarizovatelnost

- ▶ 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.
 - ▶ Orientací 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

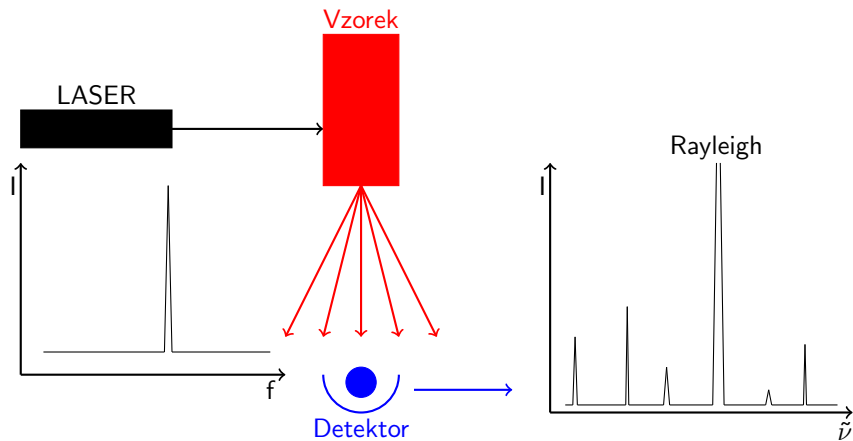
³Animace - polarizovatelnost

⁴<https://en.wikipedia.org/wiki/Tensor>

Ramanova spektroskopie

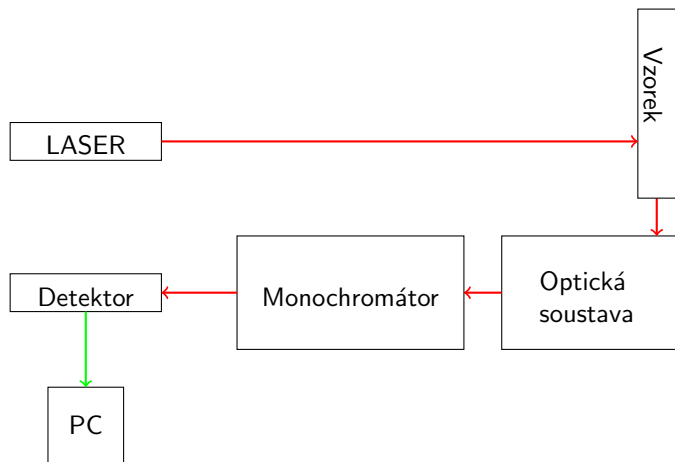
- ▶ Ramanova spektroskopie je komplementární metodou k infračervené spektroskopii.
- ▶ Citlivost je nižší než v případě IR spektroskopie.
- ▶ Je vhodnější pro nepolární vazby a umožňuje pozorovat vibrace i na nižších vlnočtech ($<400 \text{ cm}^{-1}$).
- ▶ Umožňuje snadné měření vodných roztoků (voda poskytuje slabý signál).
- ▶ Aby byla vibrace viditelná v IR spektroskopii, musí během ní docházet ke změně vektoru dipólmomentu molekuly.
- ▶ Aby byla vibrace viditelná v Ramanově spektroskopii, musí během ní docházet ke změně *tensoru polarizovatelnosti* molekuly.
- ▶ Pokud má molekula *střed symetrie*, mohou být vibrace aktivní buď v IR nebo v RA, ale ne v obou zároveň.

Ramanova spektroskopie

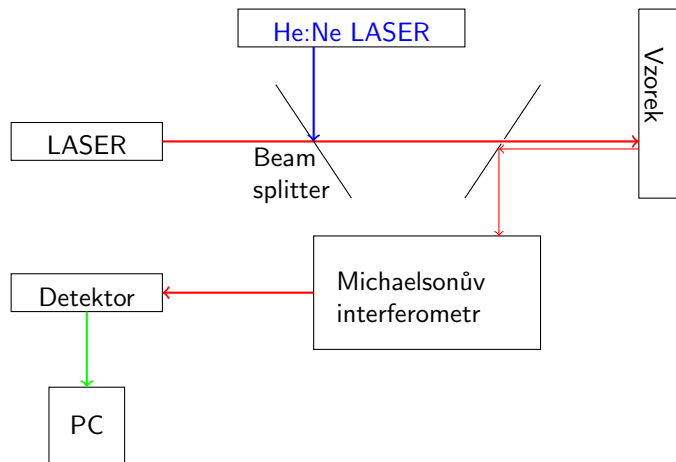


- ▶ Podle optické soustavy
 - ▶ Disperzní
 - ▶ FT-Raman
 - ▶ Mikroskopy
- ▶ Podle vlnové délky laseru
 - ▶ UV
 - ▶ VIS
 - ▶ NIR

Disperzní spektrometry

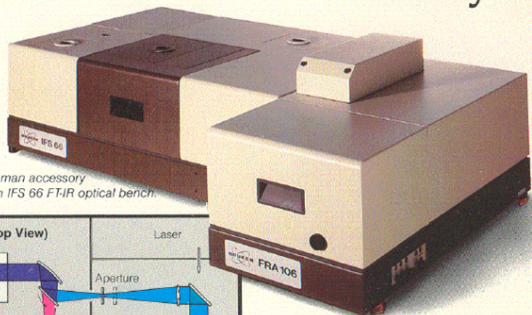


FT-RA spektrometry

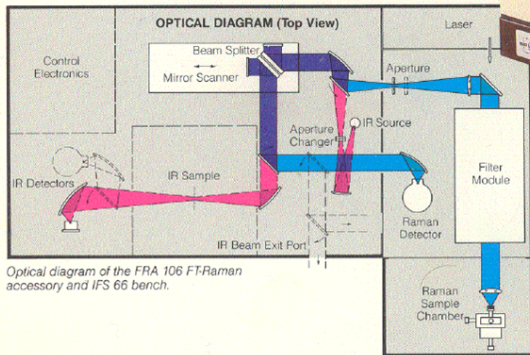


The Bruker FRA 106 FT-Raman Accessory.

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

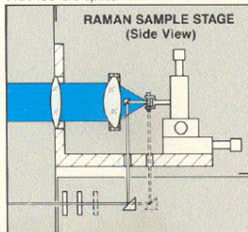


FRA 106 FT-Raman accessory mounted on an IFS 66 FT-IR optical bench.

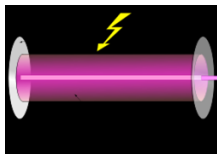


Optical diagram of the FRA 106 FT-Raman accessory and IFS 66 bench.

FRA 106 fore optics.



- ▶ **L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation.
- ▶ Zesilování světla stimulovanou emisí záření.¹
- ▶ První laser byl sestaven roku 1957, teoreticky byl předpovězen (resp. stimulovaná emise) již roku 1917 Albertem Einsteinem.²
- ▶ Jde o koherentní a monochromatický zdroj záření.
 - ▶ Koherentní - na dlouhém úseku mezi jednotlivými vlnami paprsku existuje pevná časová a prostorová vazba fáze.
 - ▶ Monochromatický - obsahuje pouze jednu vlnovou délku.
- ▶ Používají se lasery v oblasti UV, VIS a NIR.
- ▶ Často používané vlnové délky jsou 457, 532 a 1064 nm.



¹VRBOVÁ, Miroslava. *Lasery a moderní optika*. Praha : Prometheus, 1994. 474 s. ISBN 80-85849-56-9.

²Zur Quantentheorie der Strahlung

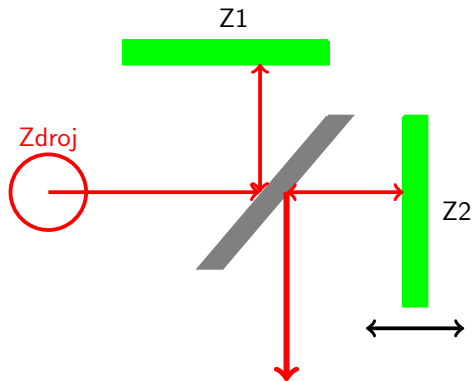
Michelsonův interferometr

- ▶ Autorem je americký fyzik Albert A. Michelson.
- ▶ Skládá se z beamsplitteru a dvou zrcadel.
- ▶ Jedno ze zrcadel se pohybuje, konstantní rychlostí, po dráze kolmé k jeho ploše.

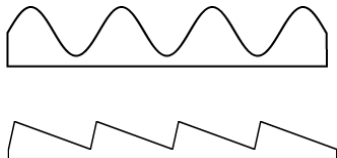
¹<http://blockeng.com/technology/ftirtechnology.html>

Michelsonův interferometr

Beamsplitter (BS) rozděluje paprsek ze zdroje na dva stejné paprsky. Jeden je odražen na nepohyblivé zrcadlo (Z1), od kterého se odrazí zpět. Druhý projde BS a dopadne na pohyblivé zrcadlo (Z2). Oba paprsky dopadnou zpět na BS, kde interferují a výsledný paprsek je znovu zčásti odražen k detektoru a z části projde BS směrem ke zdroji. Intenzita výsledného paprsku je závislá na rozdílu vzdáleností obou zrcadel od BS.



- ▶ Nejčastěji se využívá *difrakční mřížka*.
- ▶ Rozkládá dopadající světlo na vlnové délky.
- ▶ Skládá se z velkého počtu štěrbin nebo vrypů, na nichž dochází k difrakci.
- ▶ Hustota vrypů na mřížce je řádově stovky vrypů na centimetr.
- ▶ Hustota vrypů a kvalita mřížky ovlivňuje rozlišení naměřeného spektra.



- ▶ Jednokanálové detektory (Single-channel)
 - ▶ Fotonásobič^{1,2}
- ▶ CCD - **C**harged **C**oupled **D**evice³
 - ▶ Vícekanálový detektor (Multi-channel).
 - ▶ Disperzní spektrometry.
 - ▶ Pracuje za laboratorní teploty nebo pro zvýšení citlivosti (snížení šumu) za teploty kapalného dusíku.
 - ▶ Parametry CCD (velikost pixelu) určují rozlišení naměřeného spektra.

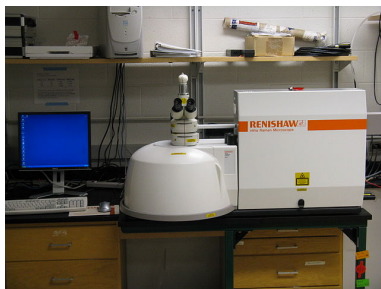
¹<https://en.wikipedia.org/wiki/Photomultiplier>

²Animace fotonásobiče

³https://en.wikipedia.org/wiki/Charge-coupled_device

Ramanova mikroskopie

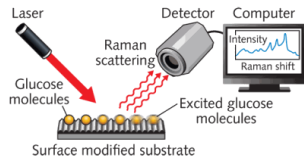
- ▶ První Ramanův mikroskop byl vyvinut v 70. letech 20. století.
- ▶ Umožňuje nedestruktivně měřit spektra i od větších vzorků.
- ▶ Umožňuje velmi přesně zaměření LASERu na požadované místo, příp. i mapování části povrchu vzorku.
- ▶ Velmi výhodný pro analýzu uměleckých předmětů, biologických vzorků, apod.



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:InVia_Raman_microscope_-_March_2008.jpg

SERS — Surface-Enhanced Raman Spectrometry

- ▶ Tento jev byl poprvé pozorován a interpretován roku 1977.
- ▶ Technika, umožňující zesílení Ramanova rozptylu na molekulách adsorbovaných na kovovém substrátu.
- ▶ Zesílení signálu může být řádově až 10^{11} , tzn. že teoreticky lze detekovat jedinou molekulu.
- ▶ Mechanismus není dosud detailně objasněn, pravděpodobně jde o zesílení vlivem elektrického pole substrátu.
- ▶ Využití SERS v praxi
 - ▶ Detekce extrémně malých množství chemikálií.
 - ▶ Analýza vzácných uměleckých děl - pro analýzu stačí méně než μg vzorku.



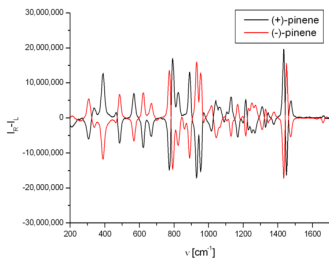
¹Raman Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode

²Surface-Enhanced Raman Spectra of Pyridine and Pyrazine Adsorbed on a Au(210) Single-Crystal Electrode

³Surface Enhanced Raman Scattering Enhancement Factors

Ramanova optická aktivita

- ▶ Měřicí technika, kdy zaznamenáváme rozdíl v intenzitách Ramanova rozptylu pravo- a levotočivě polarizovaného záření na chirálních molekulách.
- ▶ Metodu lze využít pro stanovení enantiomerické čistoty, a to i u směsí několika chirálních látek.
- ▶ V současnosti nachází velké využití při studiu struktury biomolekul a jejich chování ve vodných roztocích.



https://en.wikipedia.org/wiki/File:ROA_pinene.PNG

¹<http://www.chem.gla.ac.uk/staff/laurence/research/ROAHome.htm>

Využití Ramanovy spektroskopie v praxi

- ▶ *Farmacie, kosmetika*
 - ▶ Rozložení sloučenin v tabletě
 - ▶ Složení a čistota práškových produktů
 - ▶ Krystalinita
 - ▶ Koncentrace aktivních látek
- ▶ *Geologie*
 - ▶ Identifikace minerálů a drahokamů
 - ▶ Fázové přechody
 - ▶ Chování minerálů v extrémních podmínkách
- ▶ *Polovodičový průmysl*
 - ▶ Čistota
 - ▶ Analýza defektů
 - ▶ Fotoluminiscenční mikroanalýza
 - ▶ Složení slitin
- ▶ *Přírodní vědy*
 - ▶ Analýza DNA/RNA
 - ▶ Analýza jednotlivých buněk
 - ▶ Struktura kostí
 - ▶ Interakce léčiva s buňkami

Analýza uměleckých předmětů

- ▶ 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 laků
- ▶ 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

- ▶ IR spektrometry
 - ▶ 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
- ▶ RA spektrometry
 - ▶ FT-IR (NIR+MIR) spektrometr Bruker Equinox IFS 55/S s Ramanovým nástavcem FRA 106/S
 - ▶ Mikro-ramanovský spektrometr Horiba – Labram HR Evolution

MIR spektrometr Bruker IFS 28



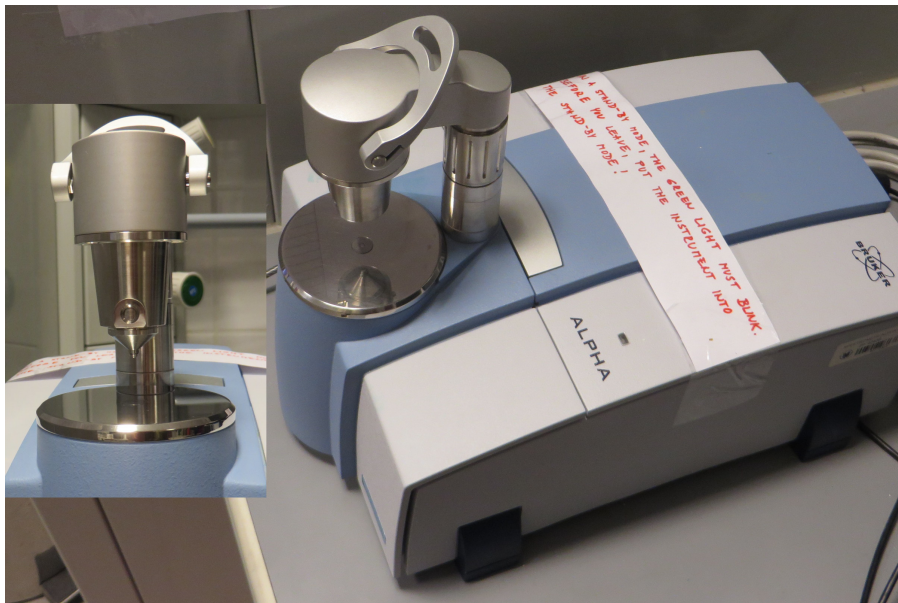
Bruker Equinox IFS 55/S s Ramanovým nástavcem FRA 106/S



Bruker Tensor 27



Bruker Alpha Platinum



Mikro-ramanovský spektrometr Horiba – Labram HR Evolution - UGV

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

