

# Infračervená a Ramanova spektroskopie

Zdeněk Moravec

[hugo@chemi.muni.cz](mailto:hugo@chemi.muni.cz)

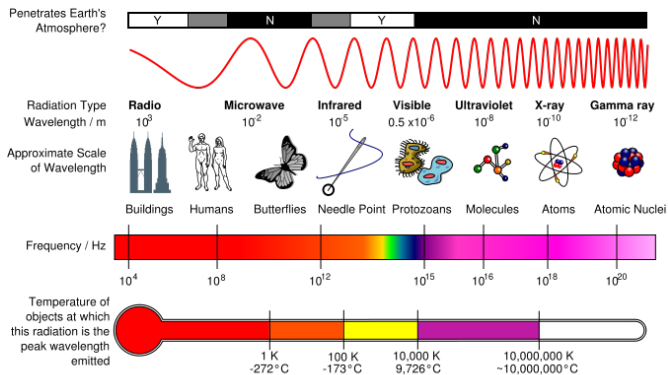
- ▶ Základní principy IR spektroskopie
- ▶ Měřící techniky
  - ▶ FT-IR transmisní měření
  - ▶ ATR, DRIFT, PAS
  - ▶ TG/IR, GC/IR
- ▶ Ramanova spektroskopie
- ▶ Zpracování spekter
  - ▶ Analýza spekter
  - ▶ Spektrální databáze
- ▶ Aplikace
  - ▶ Chemie
  - ▶ Restaurování uměleckých předmětů
  - ▶ Biologie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

# Molekulová spektroskopie

	UV-VIS 50-800 nm	IR 1-100 $\mu\text{m}$	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

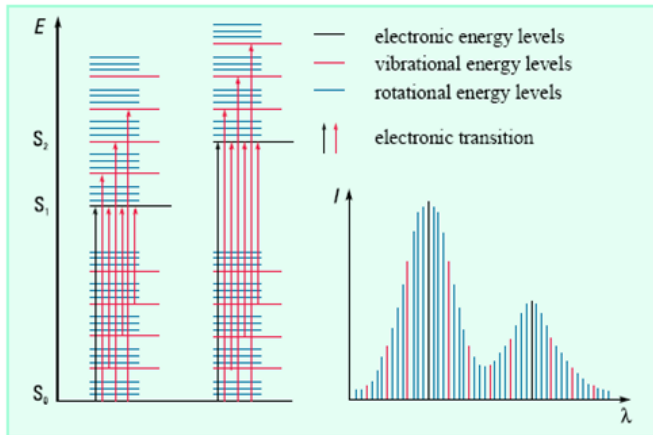
## Princip





# 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* .

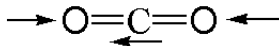
# IR spektroskopie

## Vibrace chemických vazeb

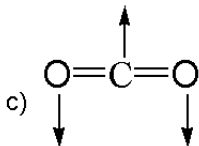
- ▶ Valenční vibrace – dochází ke změně mezijaderné vzdálenosti.
- ▶ Deformační vibrace – dochází ke změně vazebného úhlu.



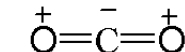
a)



b)



c)

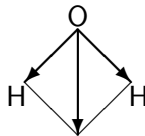
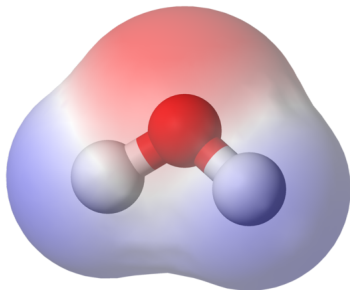


d)

# IR spektroskopie

## Dipólový moment

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

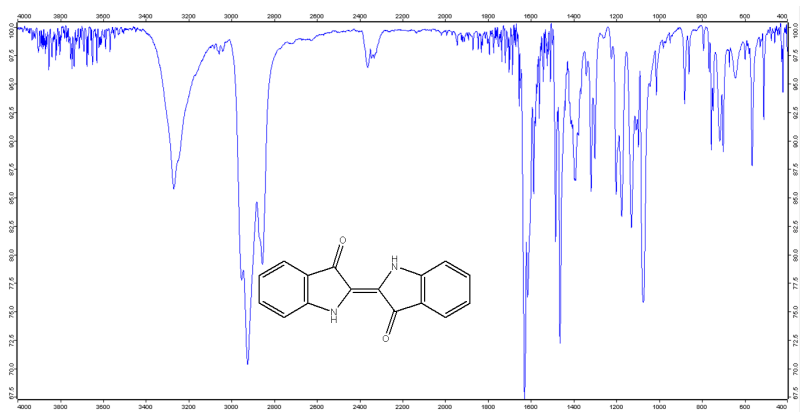


# Absorpce infračerveného záření

- ▶ 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 pásů je úměrná druhé mocnině změny dipólového momentu.
- ▶ Absorpcí infračerveného záření molekulami vznikají pásová spektra.

# Absorpce infračerveného záření

## Absorpční spektrum



- Absorpční spektrum indiga

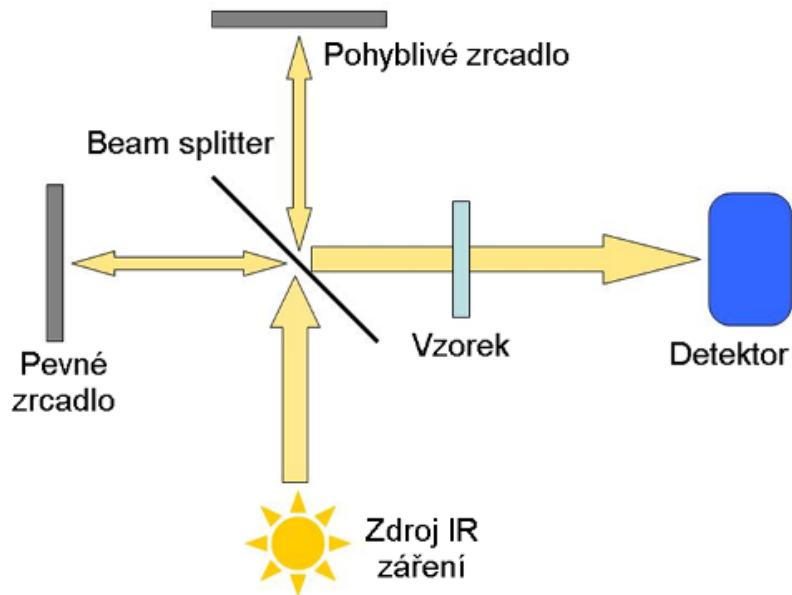
- ▶ FT-IR - transmise, ATR
- ▶ DRIFT, IRRAS
- ▶ TG-IR, GC-IR



- ▶ 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

# Měřicí techniky

FT-IR



# Měřící techniky

## Transmisní měření

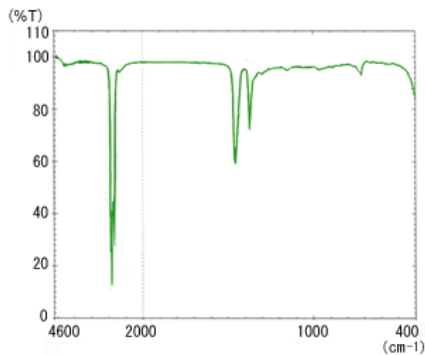
- ▶ Lze měřit pevné látky, kapaliny i plyny
- ▶ Pevné látky měříme ve formě KBr tablet (1-3 hm. % v KBr) nebo jako suspenze v Nujolu
- ▶ Kapaliny měříme jako tenký film mezi okny z vhodného materiálu (KBr, KRS, NaCl, ...)



# Měřící techniky

## Transmisní měření - Nujol

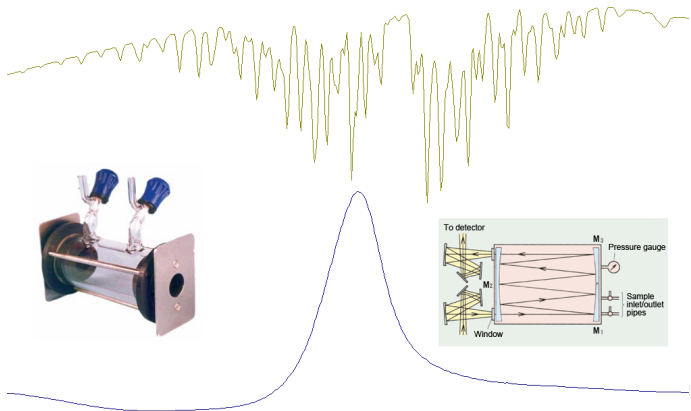
- Nujol - směs alkanů s dlouhým řetězcem.



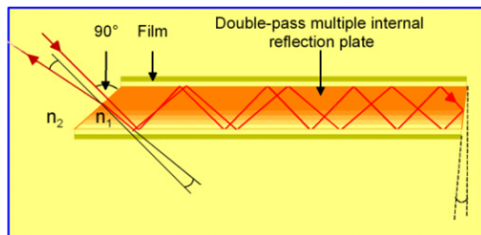
# Měřicí techniky

## Transmisní měření plynů

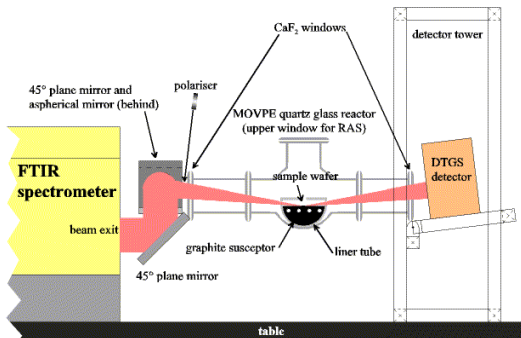
- ▶ Plyny se měří v plynových kyvetách, ty jsou konstruované tak, aby dráha paprsku byla co nejdější
- ▶ Protože v plynném skupenství existují pouze slabé interakce mezi částicemi lze naměřit čistě rotační, rotačně-vibrační i elektronově-rotačně-vibrační spektra



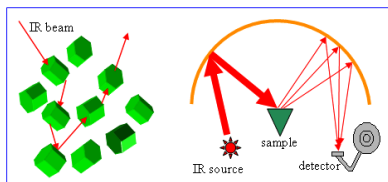
- ▶ ATR - Attenuated Total Reflection
- ▶ Krystaly jsou z diamantu, ZnSe, Ge, KRS-5 (směs TlBr a TlI) nebo křemíku
- ▶ Vzorek se přitlačí vysokým tlakem k měřicímu krystalu
- ▶ Paprsek se pohybuje po povrchu vzorku ( $0,5 - 5 \mu\text{m}$ )



- ▶ 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



- ▶ 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 obrousí abrasivem (SiC) a měří se částice zachycené na abrasivu



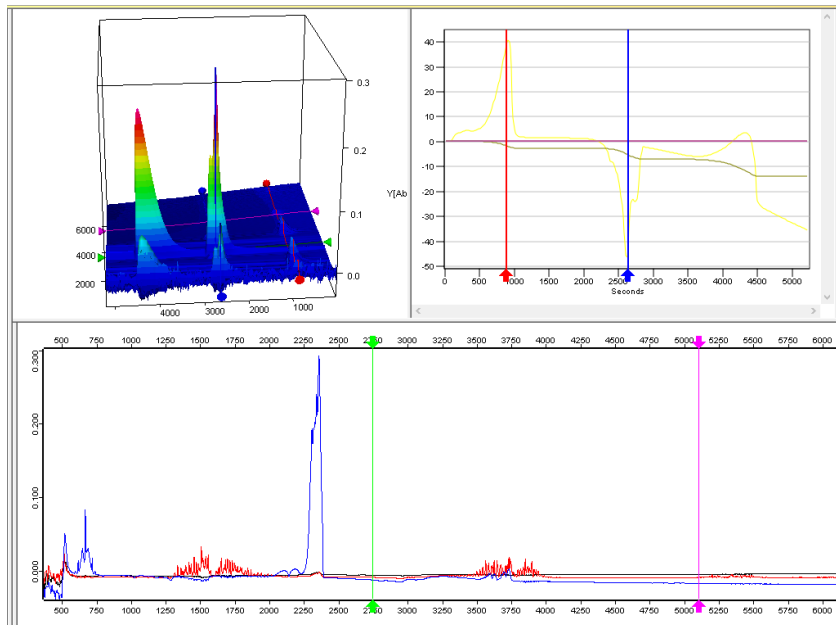


# Coupling TGA/IR

- ▶ 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



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



# Ramanova spektroskopie

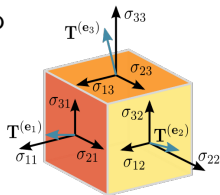
## Princip

- ▶ 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 ( $\alpha$ ) 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  $3 \times 3$ .
- ▶ 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.



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

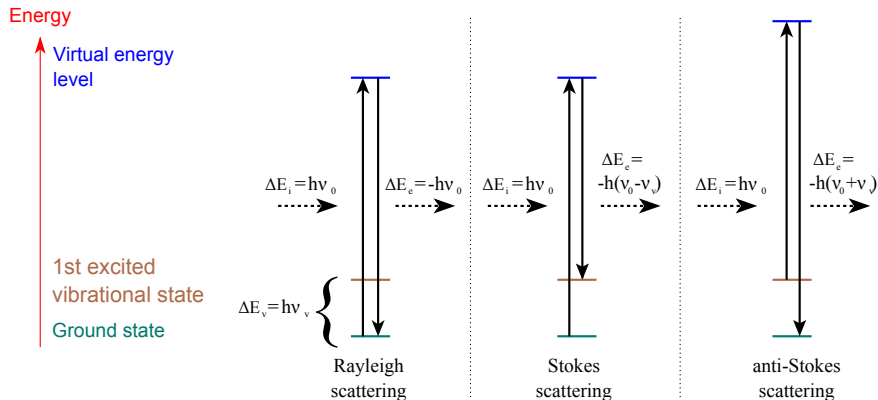
<sup>1</sup><https://en.wikipedia.org/wiki/Polarizability>

<sup>2</sup>[http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical\\_Chemistry/Physical\\_Properties\\_of\\_Matter/Intermolecular\\_Forces/Polarizability](http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Physical_Properties_of_Matter/Intermolecular_Forces/Polarizability)

<sup>3</sup>Animace - polarizovatelnost

# Ramanova spektroskopie

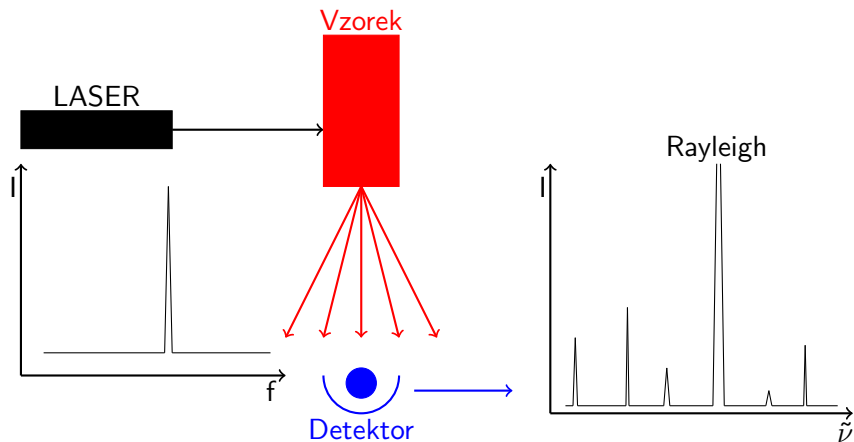
## Princip



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

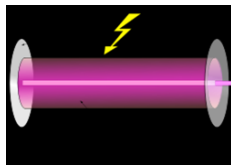
# Ramanova spektroskopie

## 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

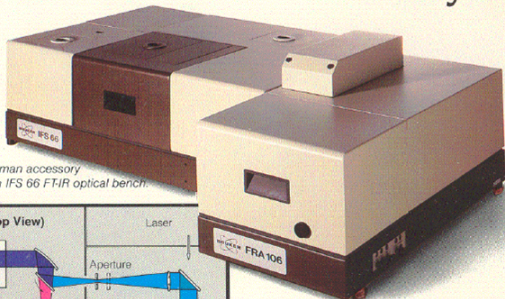


# Ramanova spektroskopie

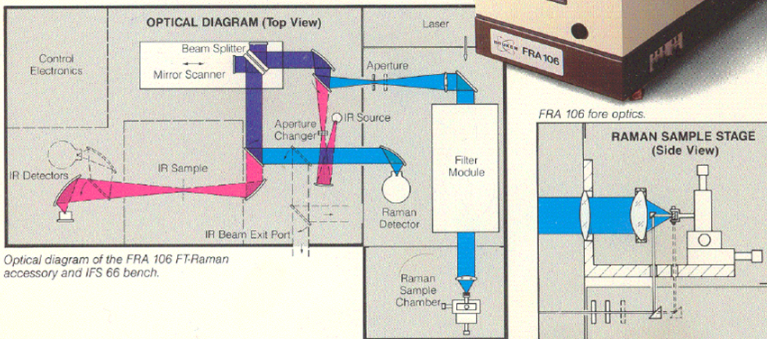
Instrumentace

## 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.

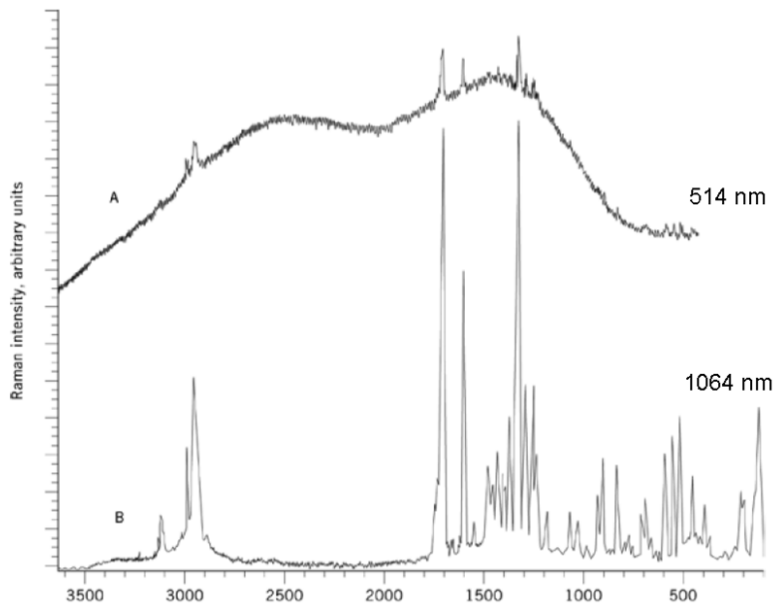


Optical diagram of the FRA 106 FT-Raman accessory and IFS 66 bench.

- ▶ 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.

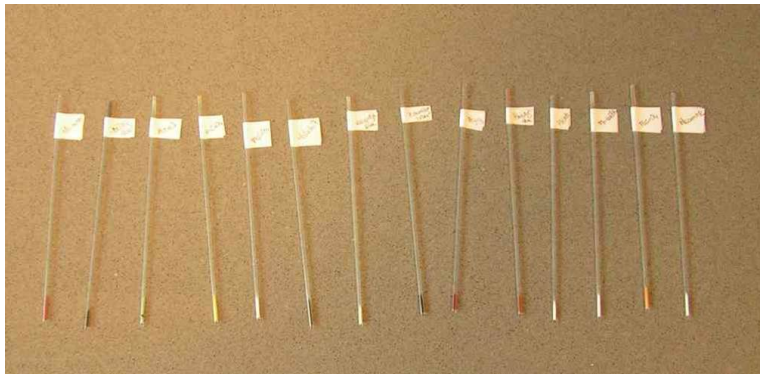
# Ramanova spektroskopie

Příprava vzorku



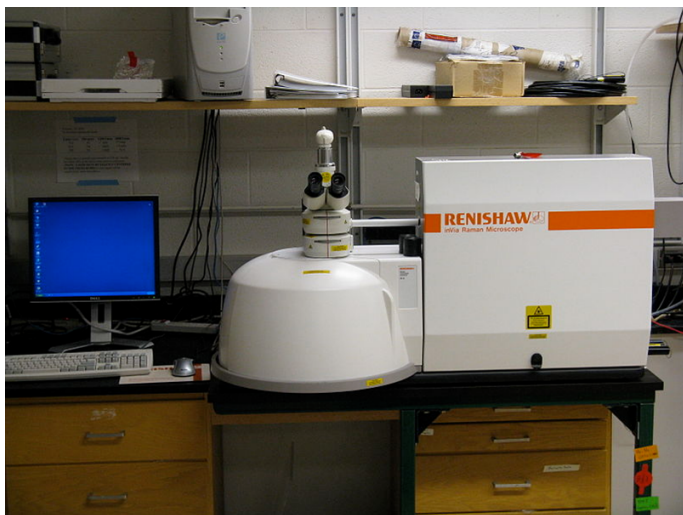
# Ramanova spektroskopie

## Příprava vzorku



# Ramanova spektroskopie

## Mikroskopy



- ▶ 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  $^{14}\text{C}$ .
- ▶ 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 laků
- ▶ Větší předměty, např. nástěnné malby lze analyzovat s využitím optických vláken, aniž by hrozilo jejich poškození.[4]

---

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

<sup>2</sup>Raman spectroscopic database of azo pigments and application to modern art studies

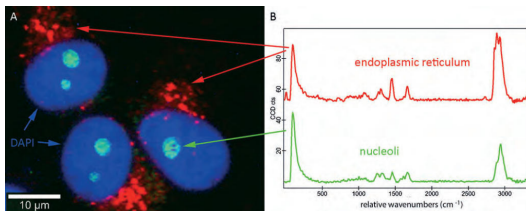
<sup>3</sup>Library of FT-Raman spectra of pigments, minerals, pigment media and varnishes, and supplement to existing library of Raman spectra of pigments with visible excitation

<sup>4</sup>Non-destructive analysis of museum objects by fibre-optic Raman spectroscopy

<sup>5</sup>The art of Raman

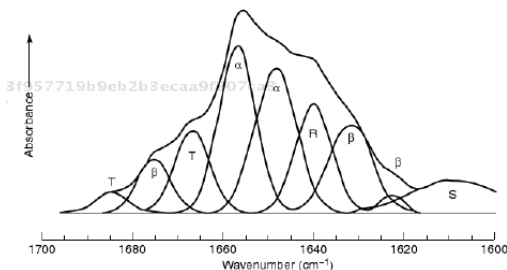
# Analýza biologických vzorků

- ▶ S výhodou lze využít fluorescenční mikroskopy 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  $50 \times 40 \mu m$ .
- ▶ Jádra buněk jsou znázorněna modře, jádérka zeleně a endoplazmatická retikula červeně.



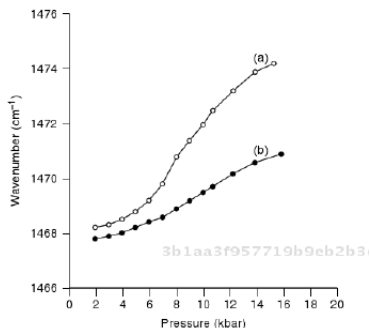
# Analýza biologických vzorků

- ▶ 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 (dekonvolucí 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



- ▶ 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





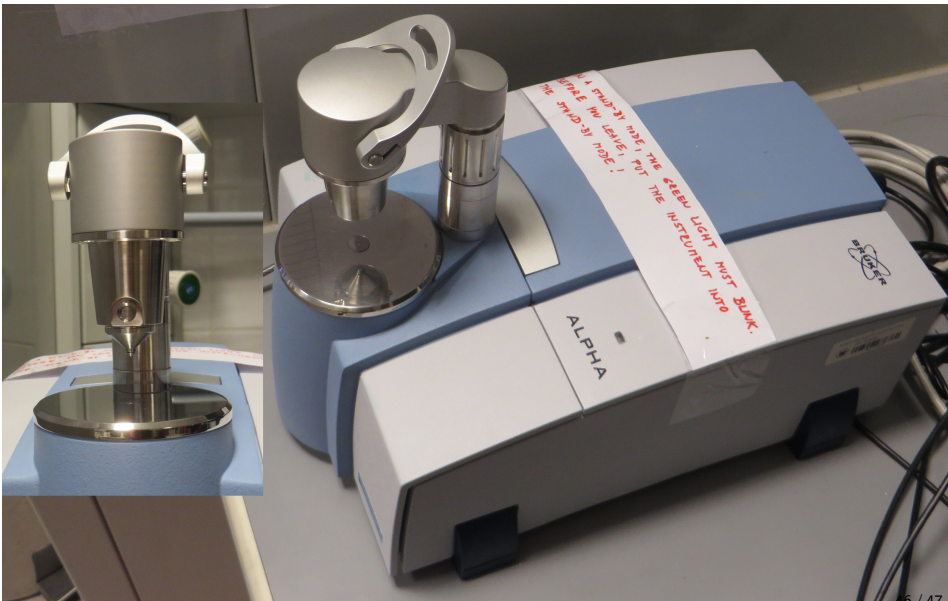
# Spektrometry na ústavu chemie

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/>

