

**Analýza geologického materiálu
pomocí Ramanovy spektrometrie**

Marie Švecová, Martin Člupek a Vadym Prokopec



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

2018

**Pracovní text pro Podzemní výukové středisko Josef
Meziuniverzitní laboratoř pro *in situ* výuku transportních procesů**

Slouží jako zdroj informací během laboratorní úlohy, která je součástí předmětu „Laboratoř molekulové spektroskopie“ navazujících magisterských programů Ústavu analytické chemie FCHI VŠCHT Praha.

Podpořeno v rámci projektu PIGA C1_VSCHT_2018_053

„Udržitelnost a inovace *in situ* výuky transportních procesů v reálném horninovém prostředí v rámci vybraných předmětů bakalářského a magisterského studia na Ústavu analytické chemie“

ÚVOD

Princip Ramanovy spektrometrie

Ramanova spektrometrie je jednou z metod vibrační molekulové spektroskopie, která byla pojmenována po indickém fyzikovi Čandrašékharu Venkatu Ramanovi (Nobelova cena 1930). Profesor Raman společně s K. S. Krišnanem popsali v roce 1928 jev neelastického optického rozptylu, který je základem metody. Jedná se o metodu vhodnou pro identifikaci látek, při určování jejich složení a struktury. Používá se při analýze pevných látek (krystalické i amorfni materiály, kovy, polovodiče, polymery atp.), kapalin (čisté látky, roztoky vodné i nevodné), dále též při analýze povrchů (např. sorbenty, elektrody, senzory) či při analýze biologických systémů (od biomolekul až po organismy) a v omezené míře i při analýze plynů. Svě uplatnění Ramanova spektroskopie nachází od mineralogie a geochemie, přes chemický a farmaceutický průmysl až po biologii a lékařství.

Podstatou Ramanova rozptylu je zářivý proces, který celkově probíhá mezi dvěma stacionárními vibračními stavy molekuly, jejichž energie jsou E_1 a E_2 , vyvolaný interakcí s fotonem dopadajícího záření o frekvenci $\nu_0 > |E_2 - E_1| / h$, kde h je Planckova konstanta, a provázený rozptýleným („vyzářeným“) fotonem záření o frekvenci ν_R (viz Obr. 1), při čemž směrová orientace rozptýleného záření je odlišná od záření dopadajícího. Tento rozptylový efekt si lze zjednodušeně představit jako současnou absorpci fotonu budícího záření molekulou, kdy molekula přechází na virtuální energetickou hladinu, a emisi sekundárního fotonu, za splnění podmínky zachování energie:

$$h\nu_R = h\nu_0 \pm (E_2 - E_1) \quad (1)$$

Ramanův jev je možno popsat korektně pomocí kvantové teorie, jeho základy je však možno vystihnout i v klasickém přiblížení. V klasickém přiblížení platí pro molekulu interagující se zářením, že v molekule je indukován dipólový moment \mathbf{p} :

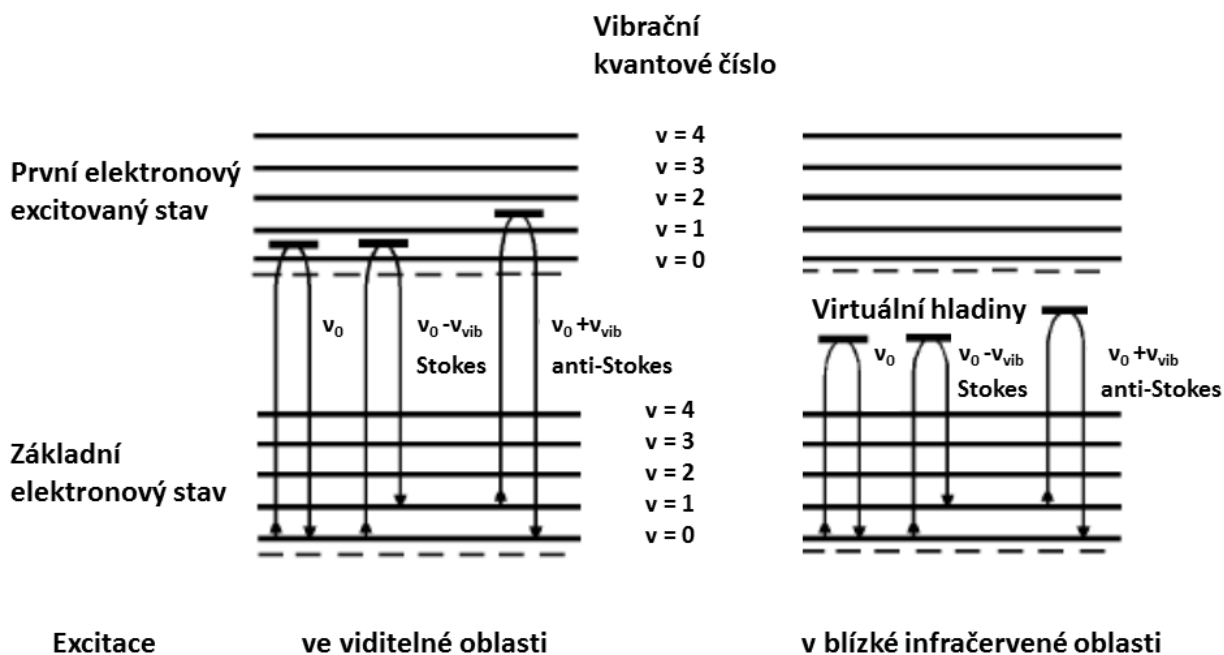
$$\mathbf{p} = \alpha \mathbf{E} \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \frac{\partial \alpha}{\partial q} q \mathbf{E} \{ \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_{vib})t] + \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_{vib})t] \} \quad (2)$$

kde ν_0 je frekvence budícího záření, ν_{vib} je vibrační frekvence, \mathbf{E} je vektor intenzity elektrického pole dopadajícího záření, q jsou vnitřní souřadnice molekuly a α je polarizovatelnost molekuly (polarizibilita, tj. míra „obtížnosti“, s níž se vychylují negativní náboje elektrickým polem). Z rovnice (2) vyplývá, že molekula emituje záření jednak s nezměněnou frekvencí (ν_0 - Rayleighův rozptyl) a dále pak záření s odlišnými frekvencemi ($\nu_0 + \nu_{vib}$) a ($\nu_0 - \nu_{vib}$), které se souhrnně nazývají Ramanův rozptyl, při čemž nižší frekvence ($\nu_0 - \nu_{vib}$) odpovídá Stokesovu rozptylu, zatímco vyšší frekvence ($\nu_0 + \nu_{vib}$) náleží anti-Stokesovu rozptylu. Z rovnice je též zřejmé, že pro vznik Ramanovy linie je nutné, aby při daném vibračním pohybu docházelo ke změně polarizovatelnosti, tedy aby

$$\frac{\partial \alpha}{\partial q} \neq 0 \quad (3)$$

Pokud by změna polarizovatelnosti během vibračního pohybu byla nulová, zůstal by v rovnici (2) nenulový pouze člen pro Rayleighův rozptyl. Rovnice (3) se označuje za základní výběrové pravidlo pro Ramanovu spektrometrii, které je principiálně odlišné od pozorování vibračního modu v infračervené spektrometrii, kde touto základní podmínkou je změna dipólového momentu během příslušného vibračního pohybu.

Pokud je daný vibrační mód aktivní v Ramanově spektru, bude pro něj obecně možné pozorovat dvě spektrální linie, a to symetricky rozložené kolem linie Rayleighova rozptylu – ve Stokesově oblasti ($\nu_R = \nu_0 - \nu_{\text{vib}}$) a v anti-Stokesově oblasti ($\nu_R = \nu_0 + \nu_{\text{vib}}$). V řadě praktických případů jsou však měřena spektra pouze v oblasti Stokesova rozptylu, a to s ohledem na nutnost odfiltrovat Rayleighův rozptyl, jehož intenzita je zhruba 10^5 - 10^{12} -krát vyšší než intenzita běžných Ramanových linií. Podle polohy virtuálních energetických hladin vůči vlastním stavům molekuly rozlišujeme také normální a rezonanční Ramanův jev, které jsou závislé na vlnové délce zdroje záření (viz Obr. 1).



Obr. 1 Schéma přechodů odpovídajících rozptylovému ději - Ramanův a Rayleighův rozptyl při excitaci ve viditelné a blízké infračervené oblasti; \uparrow - značí excitaci, \downarrow - značí emisi fotonu

Ramanův spektrometr

Pro Ramanovu spektrometrii se používají jak disperzní spektrometry, tak spektrometry s Fourierovou transformací (FT). Hlavními součástmi spektrometru jsou: zdroj excitujícího záření (laser), vzorkovací prostor (komora), sběrná optika, disperzní prvek (disperzní spektrometry) / interferometr (FT spektrometry), detektor.

Zdroj záření

Pro Ramanovu spektrometrii lze využít jako zdroje záření různé typy laserů, které pokrývají viditelnou (VIS) oblast, blízkou infračervenou (NIR) oblast, případně i ultrafialovou (UV) oblast. U jednoduchých spektrometrů je k dispozici jeden laser, obvykle pevnolátkový či diodový, pracující v kontinuálním nebo kvasikontinuálním režimu. U vědeckých systémů jsou připraveny optické cesty pro několik laserů, umožňujících přizpůsobit vlnovou délku excitace řešené problematice. Výhodou excitace v UV-VIS oblasti je vyšší intenzita rozptylu (intenzita rozptylu klesá se čtvrtou mocninou vlnové délky excitujícího záření), naopak zásadní nevýhodou jsou rizika velmi intenzivní fluorescence nebo nežádoucích fotochemických reakcí. Tato rizika jsou dána polohou virtuální hladiny v oblasti elektronově excitovaných hladin (Obr. 1). Právě potlačení rizika nežádoucích fotochemických a fotofyzikálních procesů je hlavní výhodou excitace Ramanova jevu v NIR oblasti, kdy virtuální hladina je pod úrovní elektronově excitovaných stavů (viz Obr. 1). NIR excitace však vzhledem k nižší intenzitě rozptylu vyžaduje systémy o vysoké světelnosti a vysoce citlivé (chlazené) detektory. Tok záření Ramanova rozptylu obecně též roste se zvyšujícím se tokem excitujícího laserového záření, to znamená se zvyšujícím se výkonem laseru („laser power“). Výkon laseru je však limitován riziky ohřevu vzorku, jeho rozkladu, příp. riziky dalších nežádoucích fotochemických a fotofyzikálních procesů. Výkon laseru lze obvykle softwarově nastavit a přizpůsobit jeho hodnotu vlastnostem vzorku, požadavkům na rychlost analýzy a na hodnotu poměru signál/šum.

Vzorková komora

Ramanova spektra se nejčastěji měří se vzorky umístěnými v uzavřené vzorkové komoře. Komoře je obvykle uzpůsobena pro měření vzorků v různých skleněných vzorkovnicích (ampulích, vialkách, kyvetách pro UV-VIS spektrometrii či kyvetách pro NMR spektrometrii). Takto lze snadno měřit kapaliny či práškové vzorky v celkovém objemu několika stovek mikrolitrů. Kromě toho existuje řada různých speciálních držáků, například pro makroskopické měření pevných (kusových) vzorků, pro proměrování tenkovrstvých chromatogramů, či pro proměrování vzorků na kapkovacích destičkách. Důležitým aspektem umístění vzorku v kyvetovém prostoru je též možnost jeho přesného polohování vůči excitujícímu paprsku a sběrné optice rozptýleného záření. Přístroje jsou často vybaveny x-y-z polohovacím zařízením, ať již s manuálním ovládáním či s krokovými motory s řízením pomocí joysticku, tlačítek či ovládacího softwaru. Zásadní je především vzdálenost vzorku od sběrné optiky, tak aby rozptýlené záření bylo optimálně soustředěno buď na vstupní štěrbinu dispersního Ramanova spektrometru, či na vstupní aperturu Ramanova spektrometru s Fourierovou transformací, případně do sběrného optického vlákna. Mikrospektrometrické měření, kdy je Ramanův spektrometr propojen s optickým mikroskopem, resp. vzorkovací prostor je nahrazen optickým mikroskopem, se využívá především v případě analýzy povrchů včetně jejich spektrálního mapování.

Vedle uvedených postupů, kdy je vzorek umístěn v držáku přístroje, se Ramanova spektra měří *in situ*, většinou s využitím vláknové optiky s různými typy sond, které mohou být umístěny například přímo v chemickém či biotechnologickém výrobním reaktoru. Pro terénní *in situ* měření se využívají kompaktní přenosné spektrometry napájené akumulátory. Přes malý rozměr spektrometrů (cca 20 x 10 x 4 cm) (Obr. 3) obsahují všechny klíčové části: diodový laser, kyvetový prostor, spektrograf s fixní disperzní

mřížkou, CCD detektor a výkonný počítač. Tyto spektrometry obvykle zahrnují interní databáze spekter řady anorganických i organických látek, které umožňují na místě (v terénu) identifikovat látky příp. i analyzovat složení jednoduchých směsí, složených z několika (cca pěti) složek, jejichž obsah je vyšší než asi 2 % celkové hmotnosti materiálu. Uvedené spektrometry jsou chráněny vnějším obalem před riziky nárazu, pádu, vlhkosti apod. Obsluha je zjednodušena natolik, aby přístroj mohl být využit při zásahu hasičů, policie či armádních jednotek. Naměřená data lze dodatečně exportovat do nezávislého počítače pomocí standardní miniSD paměťové karty a podrobně vyhodnocovat a interpretovat pomocí běžného spektroskopického softwaru.

Disperzní prvky, detektory

Z rozptýleného záření je třeba nejprve odfiltrovat Rayleighův rozptyl. Tím pro běžné přístroje dochází ke ztrátě informace v oblasti Ramanových posuvů $\pm 100 \text{ cm}^{-1}$ okolo polohy excitační linie (excitační linii odpovídá Ramanův posuv 0 cm^{-1}). Kvalitnější přístroje obvykle umožňují měřit spektra blíže k excitační linii a to až k hodnotě pouhých 10 cm^{-1} . Pro potlačení Rayleighova rozptylu se běžně používají holografické filtry nebo jednoduché premonochromátory. Pro zpracování a detekci rozptýleného záření se v současné době obvykle využívají dva výše uvedené typy konstrukce Ramanova spektrometru. Při excitaci Ramanova efektu ve VIS (příp. UV, NIR) oblasti je užíván dispersní přístroj s mřížkovým spektrografem a „plošným“ (víceprvkovým – mnohakanálovým) CCD detektorem. Při registraci Ramanova rozptylu v blízké infračervené oblasti (NIR) je často využíván interferometr a vysoce citlivý jednonálový detektor. Pro získání vlastního spektra se zaznamenaný interferogram převádí Fourierovou transformací (FT), takže se přístroj označuje jako FT Ramanův spektrometr.

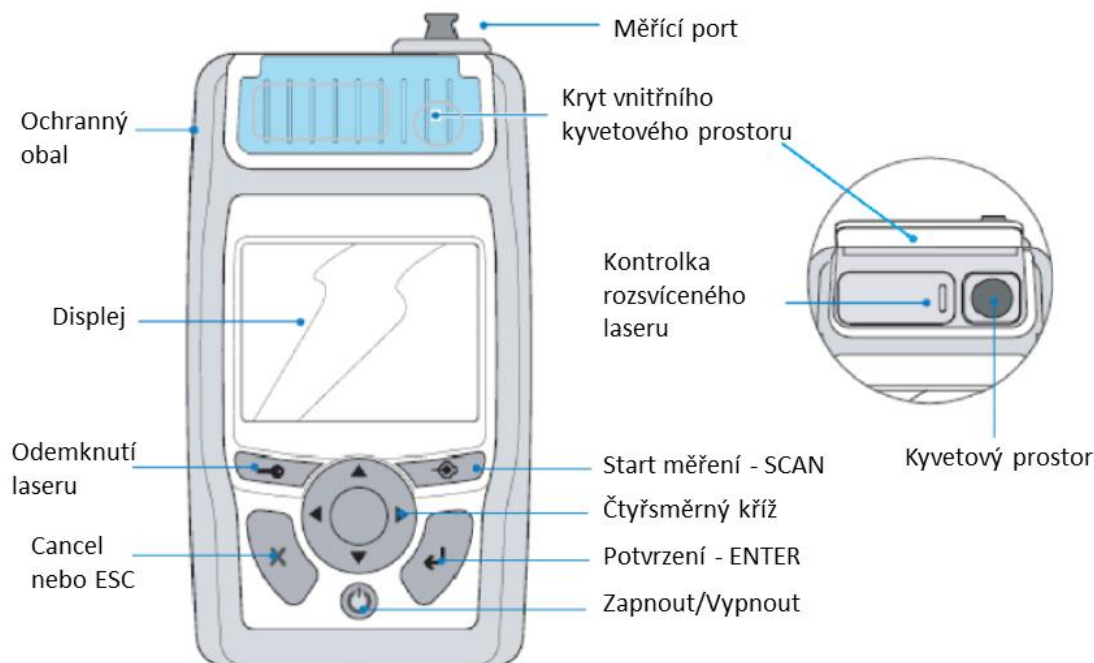
Jako optický materiál lze v uvedených oblastech (UV-VIS-NIR) využít kvalitní křemenné sklo, a proto se při konstrukci Ramanových spektrometrů často uplatňuje křemenná vláknová optika.

ANALÝZA GEOLOGICKÉHO MATERIÁLU VE ŠTOLE JOSEF

Úkoly

1. Seznámit se s obsluhou ručního Ramanova spektrometru
2. Naměřit Ramanova spektra geologických vzorků ve štole Josef
3. Interpretovat naměřená data s využitím spektrálních knihoven

Přenosný spektrometr First Defender RM, používaný v této laboratorní úloze, se ovládá pomocí tlačítek na čelním panelu spektrometru (viz Obr. 2), který dále zahrnuje displej a kyvetový prostor pod plastovým krytem.



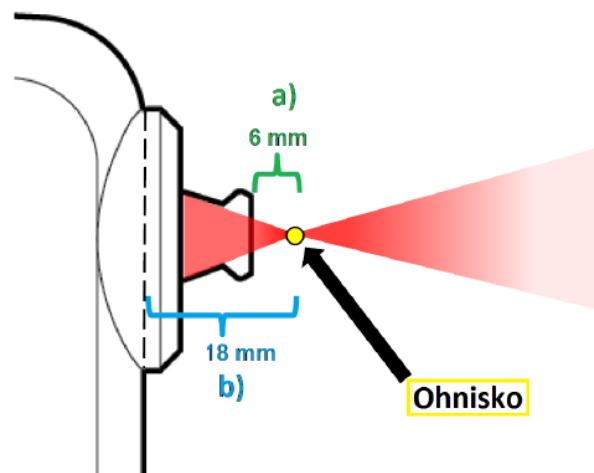
Obr. 2 Schéma čelního panelu spektrometru First Defender RM

Přístroj se zapíná standardně označeným tlačítkem pro zapnutí a vypnutí přístroje. Po inicializaci řídicího softwaru spektrometru je třeba před měřením odemknout laser stisknutím tlačítka se symbolem klíčku a zadáním bezpečnostního kódu, který vám sdělí vyučující. Před měřením si zkontrolujte stav nabití baterie v levém horním rohu displeje (Obr. 3). Pokud by byla baterie slabá, požádejte vyučujícího o její výměnu. Vybráním zvýrazněné položky „Scan“ přejdete do nabídky pro měření vzorků. Vzorky mohou být umístěny ve vialce ve vnitřním kyvetovém prostoru nebo se ke zkoumanému materiálu přiblíží externí měřicí port (Obr. 2).

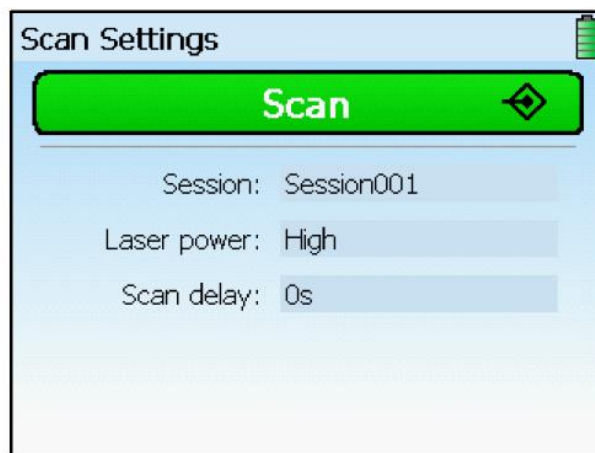


Obr. 3 Základní obrazovka („Home“) spektrometru First Defender RM

Spektrometr First Defender RM umožňuje měřit ve dvou pozicích vzorku. V případě měření vzorků ve skleněných vialkách vložíte víčkem uzavřenou vialku s připraveným vzorkem do otvoru o kruhovém průřezu umístěném v horní části čelního panelu (Obr. 2). V případě jiných typů vzorků a měření v terénu (v prostorách Podzemního výukového centra Josef) umístíte zkoumaný materiál do blízkosti externího měřicího portu (Obr. 2). Pokud se jedná o vzorky bez obalu či terénní měření, je vhodné použít fokusační nástavec, kdy ohnisko laserového paprsku je méně jak 6 mm od jeho vnější hrany (Obr. 4 a) a přístroj může pracovat v dotykovém režimu. V případě vzorků v průsvitných (skleněných) tlustostěnných nádobách je žádoucí sundat fokusační nástavec a fokusovat tak paprsek do vzdálenosti cca 18 mm od hrany přístroje (Obr. 4 b). Po naměření požadovaného spektra vzorku je nutné fokusační nástavec očistit navlhčeným ubrouskem, aby nedocházelo ke kontaminaci jednotlivých vzorků.



Obr. 4 Poloha ohniska pro externí měřicí port a) při použití fokusačního nástavce, b) bez nástavce



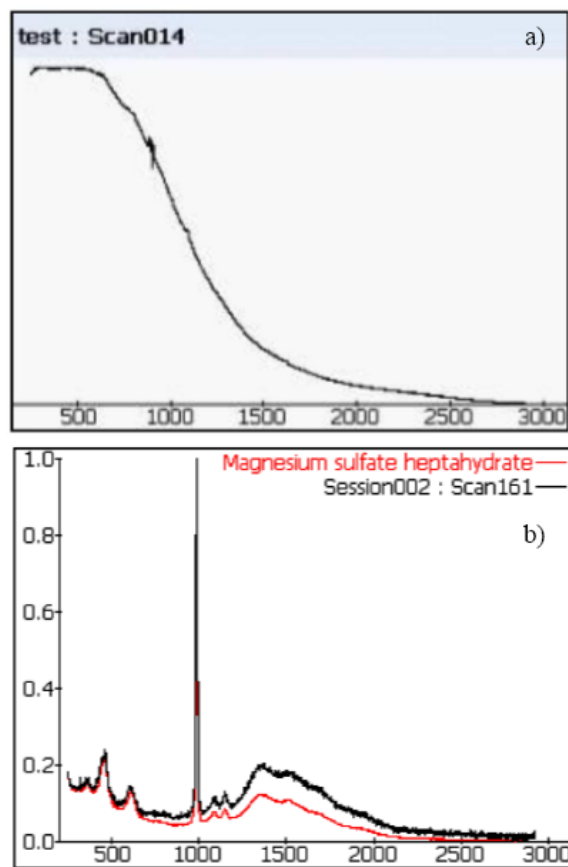
Obr. 5 Nabídka nastavení měření „Scan Settings“

Kromě optimalizace polohy vzorku vůči spektrometru je třeba v nabídce „Scan Settings“ (Obr. 5) zobrazené po stisknutí položky „Scan“ (viz Obr. 3) zvolit počáteční hodnotu výkonu laseru. Nastavení je možné ve třech stupních „low“, „medium“ a „high“. Z hlediska předběžné opatrnosti je vhodné začít s nízkým výkonem laseru a případně v rámci optimalizace podmínek měření zkusit výkon postupně zvyšovat. Po tomto nastavení lze spustit vlastní měření stisknutím tlačítka SCAN (Obr. 2). Zapnutí laseru je indikováno kontrolkou umístěnou v horní části spektrometru vedle vnitřního kyvetového prostoru. Po dobu svitu kontrolky je třeba dbát, aby laserový paprsek nemohl zasáhnout oko dalších osob ve vzdálenosti menší než cca 50 cm od hrany přístroje. Ve větší vzdálenosti je již riziko poškození minimální vzhledem k výrazné defokusaci laserového záření. Další nastavitelnou položkou je odložený začátek měření („Scan delay“). Tato funkce umožňuje spuštění snímání Ramanova spektra po několika sekundách (15 s), což poskytne dostatek času pro přiblížení a umístění spektrometru k měřenému vzorku.

Samotné měření spektra je bezprostředně provázáno jeho srovnáním s knihovnou spekter, což buď vede k identifikaci čisté (dominantně zastoupené) látky (zeleně zvýrazněný „Positive Match“) nebo k identifikaci několika hlavních složek směsi (modře zvýrazněné „Mixture“), v některých případech pak systém oznámí, že našel pouze podobnou látku (žlutě zvýrazněné „Similar item“), nebo nebylo možné spolehlivě analyzovat spektrum (červeně zvýrazněné „No Match“) a je nabídnuta možnost zobrazit spektrum. U následně zobrazeného spektra (např. Obr. 6) je třeba prohlédnout, jaká je celková úroveň signálu (např. zda nedošlo k saturaci detektoru), jaká je úroveň Ramanových pásů vůči fluorescenčnímu nebo tepelnému pozadí případně jaká je úroveň šumu vůči pozadí. Pokud změna výkonu laseru nevede ke zřetelnému zlepšení snímání spektrální informace je možné přístroj (po dohodě s vyučujícím) přepnout do manuálního režimu expozice.

Naměřená data jsou ukládána do paměti přístroje v rámci zvolené „Session“, která se zobrazovala v nabídce „Scan Settings“ (Obr. 5). Všechna spektra v dané „Session“ je možné exportovat na vloženou paměťovou miniSD kartu, což je operace, kterou přenechte vyučujícímu. Data lze exportovat jako obrázky (.jpg), jako SPC soubory (.spc) podporované běžným spektroskopickým softwarem a jako ASCII data – textové soubory (.txt) použitelné pro import do jiných softwarových nástrojů (např. Excel nebo

Origin). V exportovaných spektrech je žádoucí označit významné pásy vedoucí k určení složení vzorku (např. pomocí softwaru Omnic, Origin). Do protokolu je nutné vložit srovnání naměřeného Ramanova spektra se spektrem z knihovny. Interpretace geologických vzorků vychází z porovnání s knihovnou, která je nahraná v Ramanově spektrometru. Dalším zdrojem informací a spekter pro porovnání jsou online dostupné databáze (např. pro mineralogické vzorky ruff.info), ve kterých lze vyhledávat na základě jednotlivých prvků či názvů jednotlivých minerálů. Při interpretaci spekter je nutné vézt v patrnost, že štola Josef se nachází v geologické oblasti, která je tvořena různými vulkanity (bazalty, andezity, dacity a ryolity), subvulkanickými plagiogranity (albitickými žulami) a tufy; část Mokrsko-Západ pak zasahuje do granodioritu Středočeského plutonu.



Obr. 6 Příklad naměřených spekter a) spektrum překryté fluorescencí, b) přijatelné spektrum (patrný pouze mírně zvýšený šum)

Použitá literatura

- E. Smith, G. Dent, „Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach“, John Wiley & Sons, Chichester, 2005
- V. Prokopec, Techniky měření a interpretace IČ a Ramanových spekter, Ústav analytické chemie, VŠCHT Praha
- Webové stránky spektrometru Ahura First Defender RM (<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/FIRSTDEFENDERRM>)
- Webové stránky Centra experimentální geotechniky štoly Josef (<https://ceg.fsv.cvut.cz/o-nas/stola-josef>)