

RAMANOVA SPEKTROMETRIE

Lucia Becherová, Marcela Dendisová, M a r t i n , M u a p r e i k e Š v e c o v á

Úvod –princip Ramanovy spektrometrie

Ramanova spektrometrie je metodou vibrační molekulové spektroskopie, která byla pojmenována po indickém fyzikovi Čandrašékharu Venkatau 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 amorfní materiály, kovy, polovodiče, polymery atp.), kapalin (čisté látky, roztoky vodné i nevodné), plynů, dále též při analýze povrchů (např. sorbenty, elektrody, senzory) či při analýze biologických systémů (od biomolekul až po organismy). Své uplatnění Ramanova spektroskopie nachází od mineralogie a geochemie, přes chemický a farmaceutický průmysl až po biologii a lékařství.

Podstatou Ramanova rozptylu je zářivý dvoufotonový přechod mezi dvěma stacionárními vibračními stavy molekuly, jejichž energie jsou E_1 a E_2 , vyvolaný interakcí s fotonem dopadajícího záření o frekvenci $\omega_0 > |E_2 - E_1| / h$, kde h je Planckova konstanta, a provázený vyzářením fotonu rozptýleného záření o frekvenci ω_R (viz Obr. 1). 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:

$$h\omega_R + h\omega_0 = E_2 - E_1 \quad (1)$$

Existuje několik možností takto uskutečněného přechodu podle polohy virtuální energetické hladiny vůči vlastním stavům molekuly (např. normální a rezonanční Ramanův jev).

Ramanův jev je možno popsat 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} :

$$\mathbf{p} = U \mathbf{E} \cos \Omega \frac{1}{2} \frac{\partial \mathbf{U}}{\partial \mathbf{q}} \Big|_{\mathbf{q}_0} + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 \mathbf{U}}{\partial \mathbf{q}^2} \Big|_{\mathbf{q}_0} \mathbf{E} \cos \Omega \frac{1}{\omega_{vib}} \cos \Omega \frac{1}{\omega_{vib}} \cos \Omega \quad (2)$$

kde ω_0 je frekvence budícího záření, ω_{vib} je vibrační frekvence, \mathbf{E} je vektor intenzity elektrického pole dopadajícího záření, \mathbf{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 s nezměněnou frekvencí (ω_0 - Rayleighův rozptyl ————) a dále záření s frekvencemi ($\omega_0 + \omega_{vib}$ ————) a ($\omega_0 - \omega_{vib}$ ————), které se souhrnně nazývají Ramanův rozptyl, při čemž nižší frekvence ($\omega_0 -$

možnosti Ramanovy spektrometrie jsou srovnatelné s potenciálem infračervené spektrometrie.

Je třeba zdůraznit, že **v i b r a n í f r e k v e n c e m o l e k u l j s o u n e z i n f r a e r v e n o u s p e k t r o s k o p i e**, avšak intenzity spektrálních linií budou pro obě spektroskopické techniky zřetelně odlišné. **V R a m a n o v s p e k t r u j e i ú m r n á d r u h é m o c n i n z m n y p o l a r i z o v a n ě, t e l n o s z a t í m c o v i n f r a e r v e n ě m i s p ě k d r u h é m o c n i n m o m e n t u.** Přiřazení pásů jednotlivým vibračním modům se tak provádí podobně, jak je obvyklé při interpretaci absorpčních spekter ve střední infračervené oblasti. Kombinované tabulky charakteristických vibračních frekvencí funkčních skupin obsahují pro danou funkční skupinu společný údaj o poloze pásu (vlnočtu, cm^{-1}) a zvláště údaje o intenzitě pásu v infračerveném a v Ramanově spektru. Zatímco v infračervených spektrech jsou intenzivní pásy pro vibrace s výraznou změnou dipólového momentu (vibrace polárních skupin, např. –OH, –C=O, –NO₂), intenzity pásů v Ramanových spektrech souvisejí se změnou polarizovatelnosti (intenzivnější pásy jsou pro symetrické vibrace a vibrace ve fázi než pro vibrace antisymetrické a v protifázi, obzvláště intenzivní jsou pásy vícenásobných symetrických vazeb – např. –C≡C–, –C=C–, –N=N–). Vzhled infračervených a Ramanových spekter je tak silně ovlivněn symetrií molekul (buněk krystalu) a symetrií jednotlivých vibračních pohybů. Pro molekuly s nízkou symetrií (charakterizované pouze prvkem symetrie „identita“) jsou pásy všech vibrací pozorovatelné v obou typech spekter, ovšemže s odlišnou intenzitou. Pro molekuly s vysokou symetrií se stávají spektrum infračervené a Ramanovo navzájem doplňkovými (komplementárními). Např. pro molekuly se středem symetrie platí princip alternativního zákazu, tj. pásy vibrací patrné v Ramanově spektru jsou zakázány v infračerveném spektru a naopak; plně (totálně) symetrické vibrace jsou aktivní v Ramanově spektru a v infračerveném spektru jsou inaktivní.

Na rozdíl od infračervených spekter lze velmi snadno identifikovat i řadu symetricky substituovaných skupin resp. skeletů molekul. Například symetricky substituovaná trojná vazba se obvykle projevuje velmi silným pásem valenční C≡C vibrace v oblasti cca 2260 až 2160 cm^{-1} . Je tak možné ji jednoznačně odlišit od nesymetricky substituované C≡C vazby (cca 2180 až 2100 cm^{-1}), případně lze identifikovat více trojných vazeb v jedné molekule.

Dále se v Ramanových spektrech výrazně projevuje dvojná C=C vazba svojí valenční vibrací v oblasti cca 1690 – 1630 cm^{-1} pro nekonjugované alkeny, resp. v oblasti 1660 – 1580 cm^{-1} pro konjugované alkeny. Naopak pouze slabými pásy se projevují C=O vazby, ať již v ketonech, esterech, amidech atd. Kombinací Ramanovy a infračervené spektroskopie lze pak jednoznačně přiřadit konkrétní pásy v oblasti 1750 – 1580 cm^{-1} (ať již vibracím C=O nebo C=C) nebo identifikovat odlišný původ pásu. Na rozdíl od infračervené spektroskopie lze pomocí Ramanovy spektroskopie úspěšně charakterizovat technicky významné prvkové materiály, např. uhlíkové materiály (grafitické vrstvy, saze, přírodní i umělé diamanty atp.) a křemíkové materiály (elektronika). Dále pak lze studovat anorganické materiály obsahující těžké prvky, např. korozní oxidické, /di/sulfidické vrstvy pro slitiny těžkých kovů (koroze materiálů v přírodním nebo výrobním prostředí). Při studiu polypeptidů a proteinů je významná možnost sledovat symetrické valenční S-S vibrace disulfidických můstků (např.

rovnováha cystin – cystein, resp. vznik jiných lépe rozpustných disulfidů s cysteinem pro léčbu cystinurie).

Z hlediska kvalitativní informace je možné srovnávat měřená spektra čistých látek s knihovny spekter, a tak provádět identifikaci látek. Ramanovo spektrum je pro identifikaci výborným „otiskem palce“, zejména je-li při porovnávání změřených a databázových dat dodržena podmínka, že Ramanova spektra byla získána pro stejný fyzikální stav látky. Ve srovnání s infračerveným spektrem bývá Ramanovo spektrum jednodušší a přehlednější. V komerčně využívaných systémech jsou implementovány například knihovny spekter hořlavých látek, výbušnin, návykových látek či farmaceuticky důležitých chemikálií. V řadě případů je možné identifikovat více složek vedle sebe, aniž je nutné dělit složité směsi. Různě rozsáhlé databáze spekter (až desítky tisíc spekter) jsou dostupné komerčně, avšak často je vhodné vytvářet jednoúčelové knihovny spekter zpracováním vlastních naměřených dat.

Často se spektra třídí a klasifikují s využitím chemometrických metod. Ramanova spektra se dále využívají i pro kvantitativní analýzu. Ramanova spektrometrie se v poslední době uplatňuje i při analýzách životního prostředí či v medicíně. Samotné měření je poměrně rychlé¹, často nedestruktivní a nevyžaduje obvykle žádnou speciální úpravu vzorku. Minimalizuje se tak spotřeba chemikálií, jednorázově použitelných analytických setů, a tím i generování životního prostředí zatěžujících odpadů. Lze měřit vzorky ve skleněných i některých dalších transparentních obalech. Voda se projevuje jen slabými pásy, a proto lze snáze než v případě infračervené spektrometrie analyzovat i vodné roztoky. Navíc, optické materiály používané v Ramanově spektroskopii nejsou citlivé na vlhkost. Mnohem pracnější a časově výrazně náročnější než samotné měření spekter je mnohdy následné zpracování a vyhodnocování naměřených dat.

Kvantitativní analýza pomocí Ramanovy spektrometrie

Jak již bylo uvedeno, Ramanova spektrometrie se uplatňuje i v kvantitativní analýze, kdy je však třeba počítat s řadou specifických faktorů, které je třeba uvažovat (např. stabilní hodnota výkonu laseru, vlivy možné reabsorpce rozptýleného záření, hloubka průniku excitujícího záření do vzorku).

Vzhledem k tomu, že se nejedná o absorpční spektrometrii a že též nelze vyloučit překryvy pásů různých složek a vzájemné vlivy měnících se koncentrací jednotlivých složek na tvar příslušných Ramanových pásů, není v této metodě obvykle splněn jednoduchý princip lineární závislosti intenzity pásu na koncentraci analytu. Pro kalibraci je v Ramanově spektrometrii často třeba vyvíjet složitější kalibrační modely s využitím pokročilých chemometrických algoritmů, které však obvykle vyžadují rozsáhlou sadu standardů (mnohdy i více jak 30 kalibračních vzorků). Taková sada musí být dostatečně reprezentativní, musí pokrýt celou očekávanou či odhadnutelnou variabilitu charakteristik vzorků, které pak mají být kvantitativně analyzovány, a to nejen z pohledu obsahu sledovaných analytů, ale

¹ K záznamu jednoho spektra někdy stačí i méně než jedna minuta, většinou se však data akumulují několik minut pro zlepšení poměru signál/šum.

i z pohledu dalších proměnlivostí (ať již fyzikálních či chemických). Příprava takové sady kalibračních vzorků vyžaduje pečlivé plánování experimentu. Při použití pokročilých regresních metod se v rámci kalibračního modelu využívají nikoli hodnoty intenzity v maximech vybraných pásů, ale většinou se vyhodnocují širší spektrální úseky či dokonce celá Ramanova spektra (oblast Stokesova rozptylu). Cílem je tak nalézt vztah mezi vícedimenzionální spektrální informací (reprezentovanou maticí hodnot intenzity rozptylu ve vybraných spektrálních úsecích pro sadu kalibračních vzorků) a složením vzorků (reprezentovaným maticí hodnot koncentrací skupiny sledovaných analytů v sadě kalibračních vzorků). Podmínky měření všech spekter i způsoby jejich úprav a zpracování musí být zachovány od kalibračních, přes validační až po neznámé zkoumané vzorky.

Pouze v jednoduchých případech čirých roztoků měřených za stabilních experimentálních podmínek je možné provádět poměrně jednoduchou kalibraci na základě vyhodnocování hodnot korigovaných ploch (po odečtu spektrálního pozadí) vybraných pásů. Velmi často se plochy pásů analytu vztahují k hodnotě plochy píku vnitřního standardu, případně rozpouštědla.

R a m a n v s p e k t r u m k y R a m a n o v ý c h s p e k t r

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

Pro Ramanovu spektrometrii lze využít jako zdroje záření různé typy laserů, které pokrývají viditelnou (VIS), blízkou infračervenou (NIR), 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 (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.

Ramanova spektra se nejčastěji měří se vzorky umístěnými v uzavřené vzorkové komoře. Komora 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** mechanismem s manuálním ovládním 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. vzorkový 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 i *in situ*, většinou s využitím vláknové optiky s různými typy sond, které mohou být umístěny například přímo v chemickém či biotechnologickém výrobním reaktoru.

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 jednakanálový 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, takže se při konstrukci Ramanových spektrometrů často uplatňuje křemenná vláknová optika.

V analytické laboratoři jsou instalovány dva disperzní Ramanovy spektrometry iRaman Plus (B&W Tek, USA) s příslušenstvím pro měření kapalných a pevných vzorků. Měřicí sondu je možné rovněž připojit k optickému mikroskopu, který nahrazuje vzorkový prostor. K excitaci Ramanova rozptylu jsou využity termoelektricky chlazené diodové lasery, poskytující záření o vlnové délce 785 nm s maximálním výkonem 450 mW (ca 350 mW v prostoru vzorku, po průchodu vláknovou optikou). Držáky vzorku jsou umístěny mimo tělo

přístroje a excitující záření je na vzorek fokusováno pomocí měřicí hlavičky spojené s přístrojem optickými vlákny, kdy jedno vlákno vede excitující záření a druhé slouží k přenosu vzorkem rozptýleného záření. Rayleighův rozptyl je odfiltrován tak, že rozsah přístroje je již od cca 65 cm^{-1} do 3350 cm^{-1} ve Stokesově oblasti. Rozsah je pevně určen, protože přístroj neobsahuje žádné pohyblivé prvky, disperzní mřížka i mnohokanálový termoelektricky chlazený detektor jsou fixovány ve výrobcem nastavených polohách.

Laboratorní práce – Analýza kapalin a pevných spektrometrií

Úkoly

A) Kvantitativní analýza kapalného vzorku

- 1) Připravte roztoky pro proměření kalibrační závislosti obsahu ethanolu ve vodě v rozsahu od 0 do 40 % obj. (krok 5%)
- 2) Pomocí vhodně vybraného standardu optimalizujte výkon laseru (viz Tabulka I) a dobu akumulace (viz Tabulka II) signálu na poměr signál/šum.

Tabulka I: Výkon laseru

výkon laseru (%)	50	60	70	80	90	100
čas (s)	1	1	1	1	1	1

Tabulka II: Doba akumulace signálu

čas (s)	1	2	3	5	10
---------	---	---	---	---	----

- 3) S vhodným nastavením přístrojových parametrů změřte (i) spektra pro kalibrační závislost obsahu ethanolu ve vodě a za stejných podmínek změřte spektra neznámých vzorků, (ii) spektra reálného vzorku se čtyřmi standardními přídávky.
- 4) Zkonstruuje kalibrační závislost na základě plochy vybraného píku a vyhodnoťte obsah ethanolu ve vzorcích.
Graficky vyhodnoťte obsah ethanolu v reálném vzorku metodou standardního přídávku.

B) Analýza pevného vzorku ve formě tablety

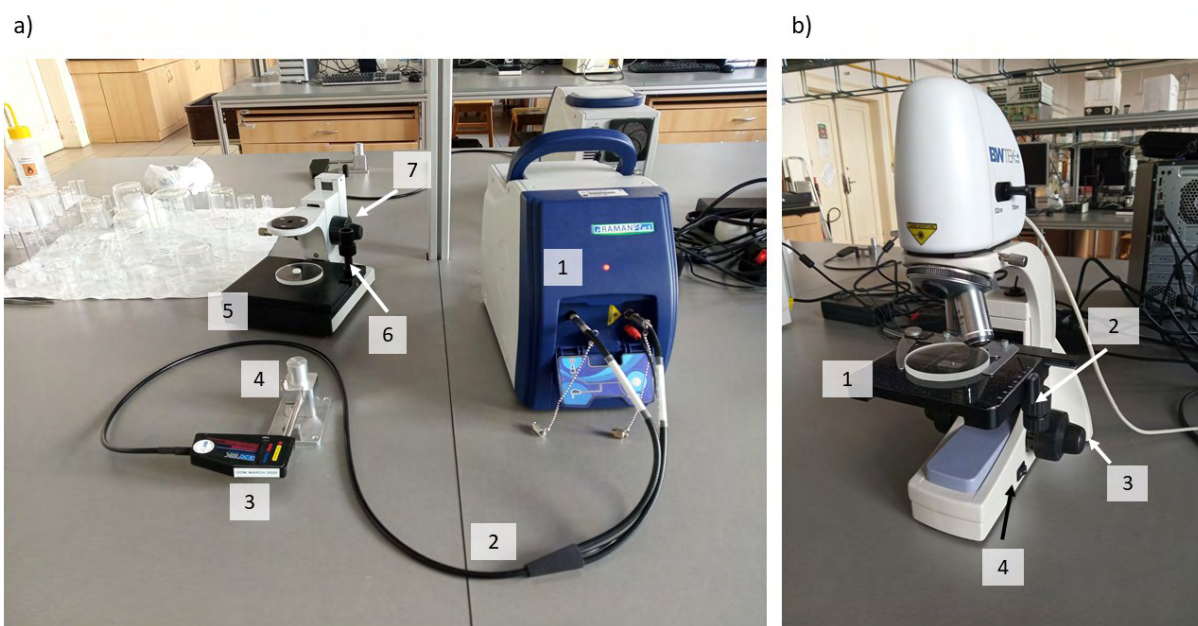
- 1) Optimalizujte podmínky pro měření pevného vzorku ve formě tablety. Nejprve zjistěte vhodnou výšku měřicí sondy nad povrchem tablety a pak pokračujte dle Tabulka I a Tabulka II.
- 2) S vhodným nastavením přístrojových parametrů proměřte pevný vzorek na x-y polohovacím stolku v alespoň 5 místech a vyhodnoťte homogenitu/heterogenitu neznámého vzorku.
- 3) Homogenizujte vzorek a vyhodnoťte úspěšnost homogenizace (změřte tabletu opět v 5 místech).

C) Strukturní analýza kapalného vzorku

- 1) Proměřte určený vzorek v kapalně formě ve skleněné vialce. Optimalizujte dobu akumulace a výkon laseru.
- 2) Popište polohy a intenzity významných pásů.
- 3) Přiřaďte významné píky charakteristickým vibračním skeletu molekuly a přítomným funkčním skupinám.

M ě n ě n ě R a m a n o v ý c h s p e k t r e r

Ramanova spektra budete měřit v prostředí softwaru BWSpec (B&W Tek, USA). Základní přípravu přístroje a počítače k měření a výběr vhodného výchozího nastavení parametrů přenecháte vyučujícímu, který Vás seznámí s obsluhou spektrometru a softwaru. Ramanův spektrometr iRaman Plus je disperzní spektrometr, který je kromě zapnutí a vypnutí kolébkovým vypínačem a spínání napájení laseru pomocí klíče řízen výhradně prostřednictvím softwaru BWSpec. K vlastnímu tělu spektrometru je pak vláknovou optikou připojena měřicí hlavice, která je buď fixována v držáku pro vialky, nebo k tělu x-y-z polohovacího zařízení (Obr. 2).

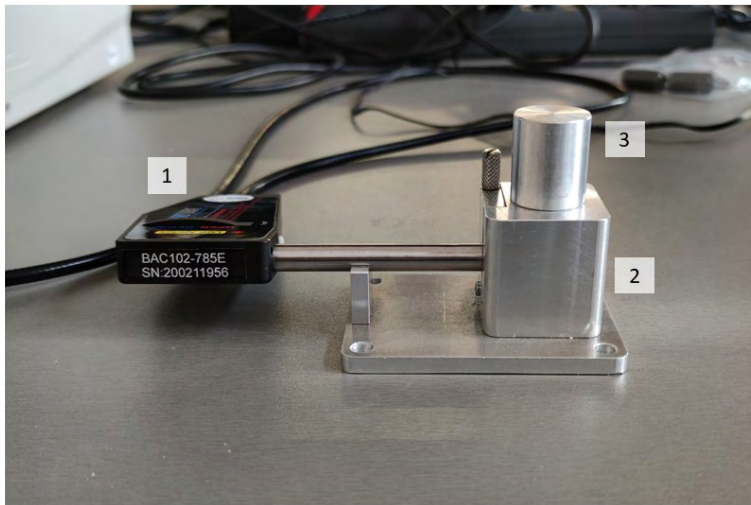


Obr. 2 Pohled na spektrometr iRaman Plus s p ě s l u š p r o a) m a k r o s k o p i c k ě a b) m i k r o s k o p i c k ě v z o r k o v ě n ě n ě ; o z n a e n ě n ě - t s o l u o á s s p t e í k - t a k o n ě o p t i k a , 3 - s o n d a , 4 - d r ť á k n a v i a l k 5 - x - y p o l o h o v a c í s t o l e k p r o p e v n ě v z o r k y , 6 - p o s u n s t o l k u v o s e x a y , 7 - f o k u s a c e ; b) 1 - x - y p o l o h o v a c í s t o l e k m i k r o s k o p u , 2 - p o s u n s t o l k u v o s e x a y , 3 - f o k u s a c e , 4 - o s v ě t l e n ě

Držák vialek je tvořen z nástavce pro uchycení samotné sondy a následně z uzavíratelné komory pro vialku o předem definovaném maximálním průměru (Obr. 3a). Laserový paprsek je fokusován do středu dané komory (tedy i do středu správně zvolené vialky), čímž je zajištěn sběr informací o materiálu uvnitř vialky. Paprsek prochází přibližně nad polovinou vialky, proto je nutné naplnit vialku dostatečným množstvím vzorku. Vialku se vzorkem stačí pouze umístit do komory a zakrýt víčkem před zahájením měření.

V případě proměřování pevných vzorků umístěných na stolku x-y-z polohovacího zařízení (Obr. 3b) pouze položíte zadaný vzorek do středové části stolku, tak aby se nacházel pod optickou hlavicí měřicí sondy. Optimalizaci polohy vzorku budete provádět v režimu kontinuálního zaznamenávání spekter po nastavení základních parametrů měření v programu BWSpec. Při manipulaci nesmí dojít k dotyku měřicí hlavičky se vzorkem. V případě využití mikroskopu lze pomocí softwaru Videology Viewer kontrolovat obraz z integrované kamery, díky níž je samotná fokusace na povrch vzorku mnohem jednodušší.

a)



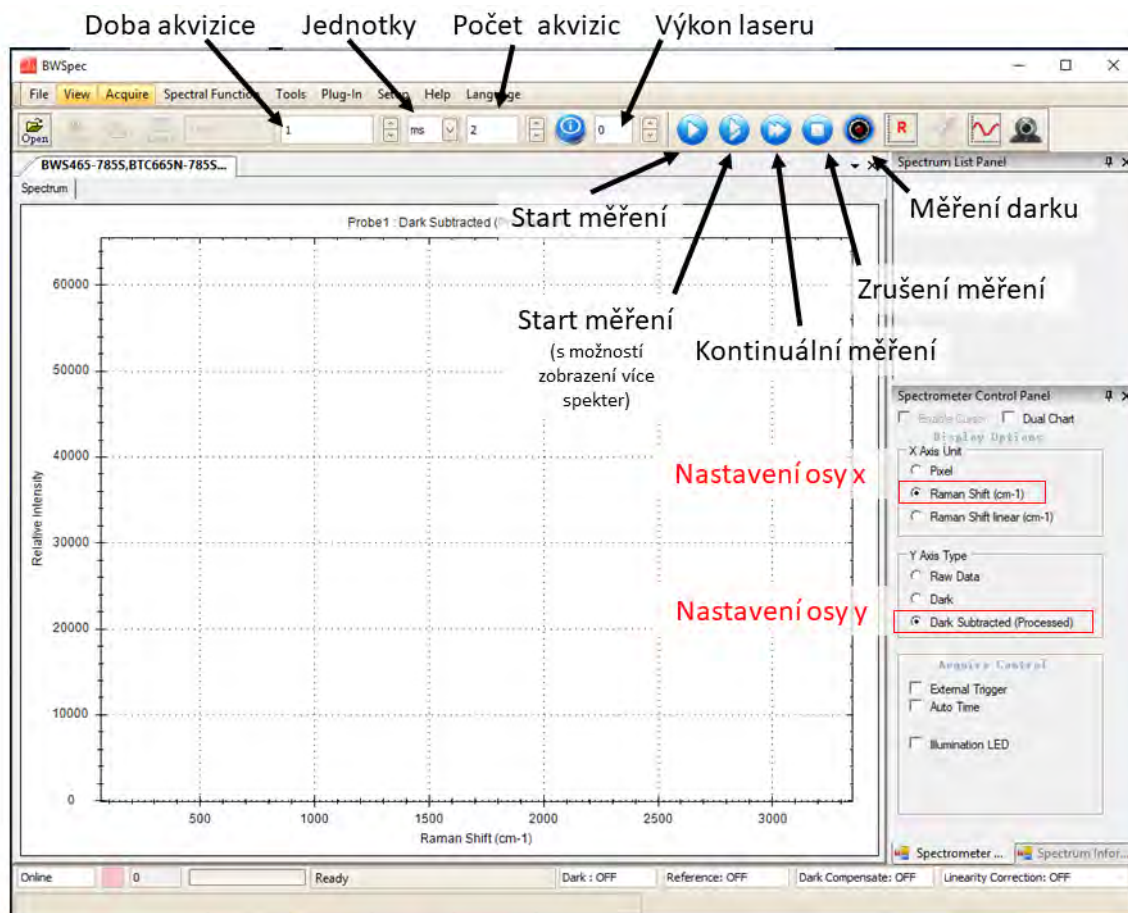
b)



Obr. 3 M i c í chycená a) a u l r ť a v í d k y, b) v n á s t a v c i p r o s t u d i u m p e v n ý z h a v e n í r k ; s o u á l s - t o n í d a, 1 - t l o n á s t a v e v í r h a b - s o n i d a, 2 - k - y p o l o h o v á c í s t o l e k m i k r o s k o p u, 3 - p o s u n s t o l k u v o s e x a y, 4 - f o k u s a c e

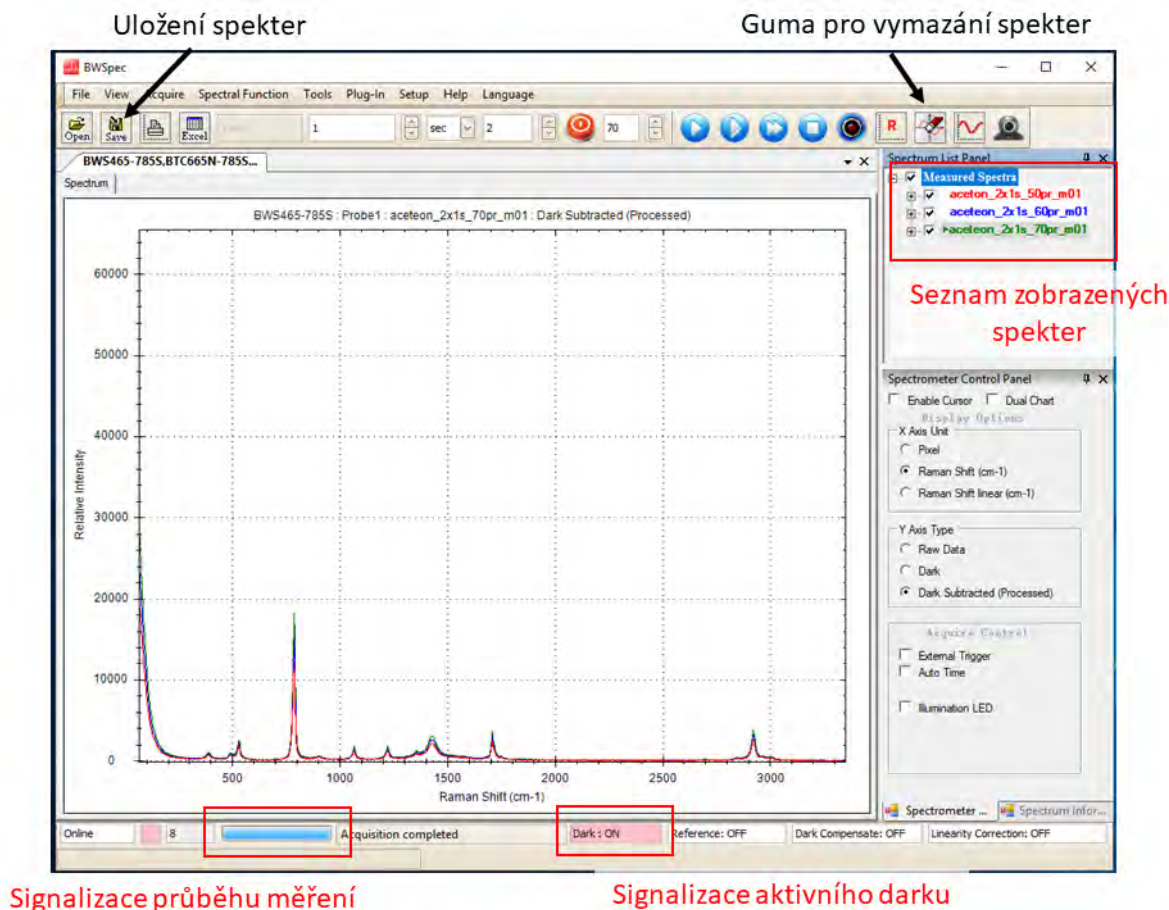
Po umístění vzorku do vzorkového prostoru (univerzální držák nebo x-y-z polohovací zařízení - podle povahy materiálu) nastavíte v softwaru BWSpec (Obr.) základní podmínky měření vzorku: výkon laseru, dobu akumulace (integrace), počet opakovaných akumulací.

Nastavení jednotlivých parametrů je poměrně intuitivní na horní liště základního okna (Obr. 4). První pole slouží k nastavení doby samotné akumulace (ve vedlejších okně je pak možnost volby jednotky v milisekundách, sekundách a minutách), druhé pak k počtu opakování jednotlivých akumulací. Poslední aktivní pole slouží k nastavení výkonu laseru v procentech z maximálního možného (ca 350 mW v závislosti na použitém příslušenství, nenastavuje se absolutní hodnota). Další tlačítka slouží ke spuštění jednotlivého měření (jednoduchá šipka), záznamu spektra a přidání do aktuálního pracovního okna s hromadným zobrazením získaných spekter (ikona s dvěma šipkami přes sebe), kontinuální měření (dvojitá šipka), dále tlačítko pro zastavení měření (čtvereček) a záznam korekce (dark) při vypnutém laseru (černočervené kolečko). V pravé části je nutné zkontrolovat správné volby, tedy že na ose x máme Ramanův posun („Raman shift“ v cm^{-1}), na ose y spektrum korigované na „dark“ (konkrétně „dark subtracted“) a v základním nastavení vypnuté externí spouštění zahájení měření (external trigger) či časovač (auto time).



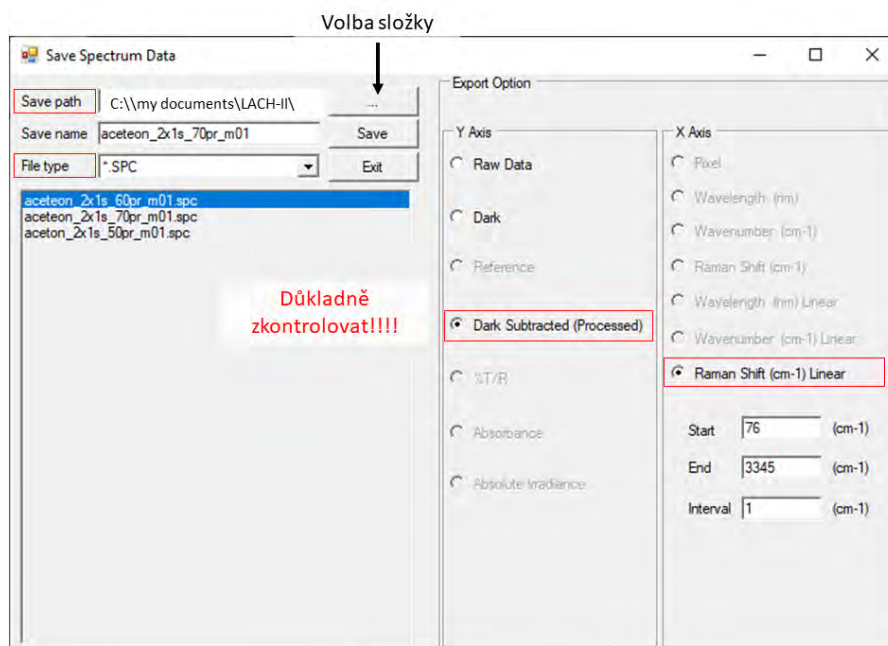
Obr. 4 Hlavní okno programu BWSpec a představení základních funkcí

Po vložení vialky se vzorkem (kapalným organickým vzorkem či připraveným standardem) do kyvetového prostoru a přikrytí víčkem či umístění pevného vzorku na x-y-z stolek a zakrytí celého prostoru je nutné změřit korekci pro vypnutý laser. Tato reference, označovaná jako dark, v sobě zahrnuje informace o dopadajícím záření na detektor z různých netěsností systému (např. nedoléhající víčko kyvetového prostoru), které mohou způsobovat různé interference a defekty ve finálním spektru. Hlavní vliv na intenzitu zaznamenaného záření má především doba a počet jednotlivých akumulací, proto je nutné při každé změně těchto parametrů dark aktualizovat, stejně tak jako při výměně vzorku. Informace o aktuálním a používaném darku je signalizována uprostřed dolní lišty (Obr. 5). Poslední důležitá ikona z daného pracovního okna je symbolizována gumou a slouží k vymazání všech spekter v pracovním okně (v některých případech nutné pro obnovení možnosti změření darku).



Obr. 5: Hlavní okno programu BWSpec a představa

Nevýhodou softwaru je, že automaticky neukládá naměřená data. Je velmi důrazně doporučováno okamžitě po doměření každého spektra ho ručně uložit s aktuálním (a správně zvoleným) darkem pro korekci. Spektrum vyberte z nabídky v pravé části okna, klikněte na něj pravým tlačítkem myši a přejmenujte ho. Název spektra volte jednoznačný (zkrácený název vzorku a experimentálních podmínek), abyste byli schopni z něho identifikovat konkrétní experiment. Jelikož je software vyvinut zahraniční firmou, vyvarujte se používání diakritiky a dalších speciálních znaků v názvu (především čárky a tečky). Místo mezer je vhodné používat pomlčky. Správně pojmenované spektrum následně uložte pomocí ikony v levém horním rohu (Obr. 5). Ve vyskakovacím okně (Obr. 6) zkontrolujte správnou cestu k vaší složce pro uložení spektra (případně změňte pomocí tlačítka se třemi tečkami), jeho název a volbu formátu *.spc (běžný formát pro ukládání spekter, kompatibilní s dalšími softwary). V pravé části rovněž zkontrolujte ukládaný rozsah spektra (pro celý experiment stejný). Po kontrole všech parametrů uložte spektrum tlačítkem „save“.

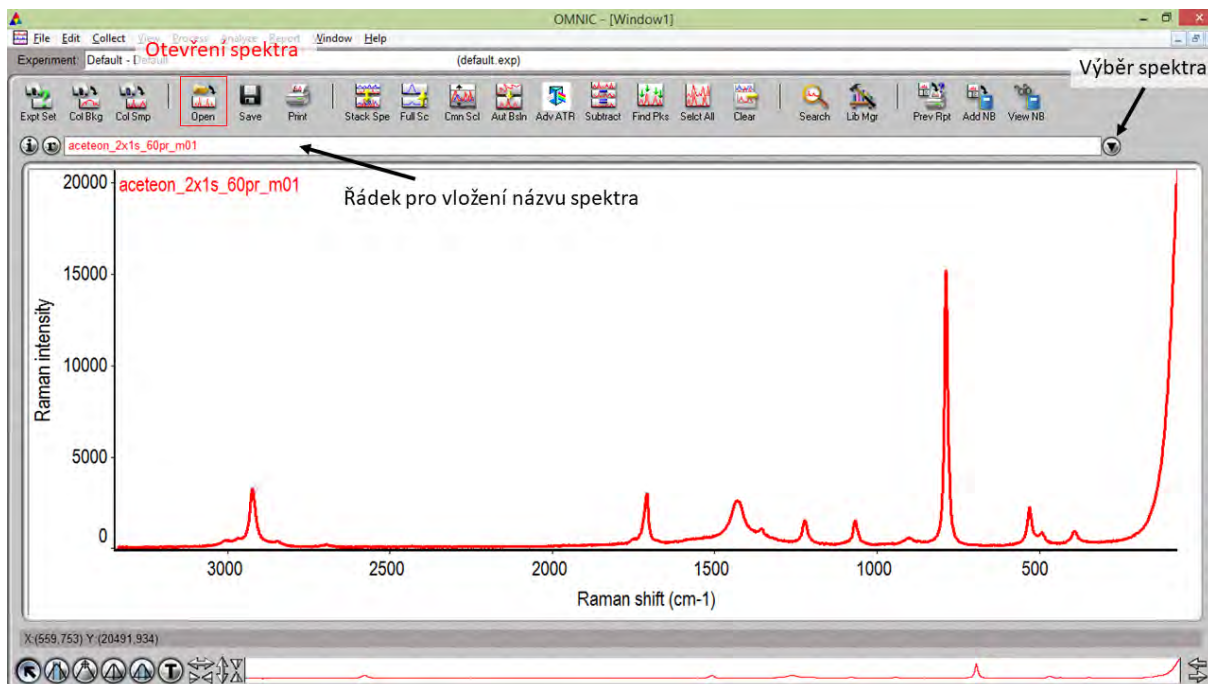


O b r . 6 : P í k l a d u l o ž e n í s p e k t r a

Možnosti operací se spektry jsou v rámci programu BWSpec poměrně omezené a další zpracování dat bude probíhat v programu Omnic.

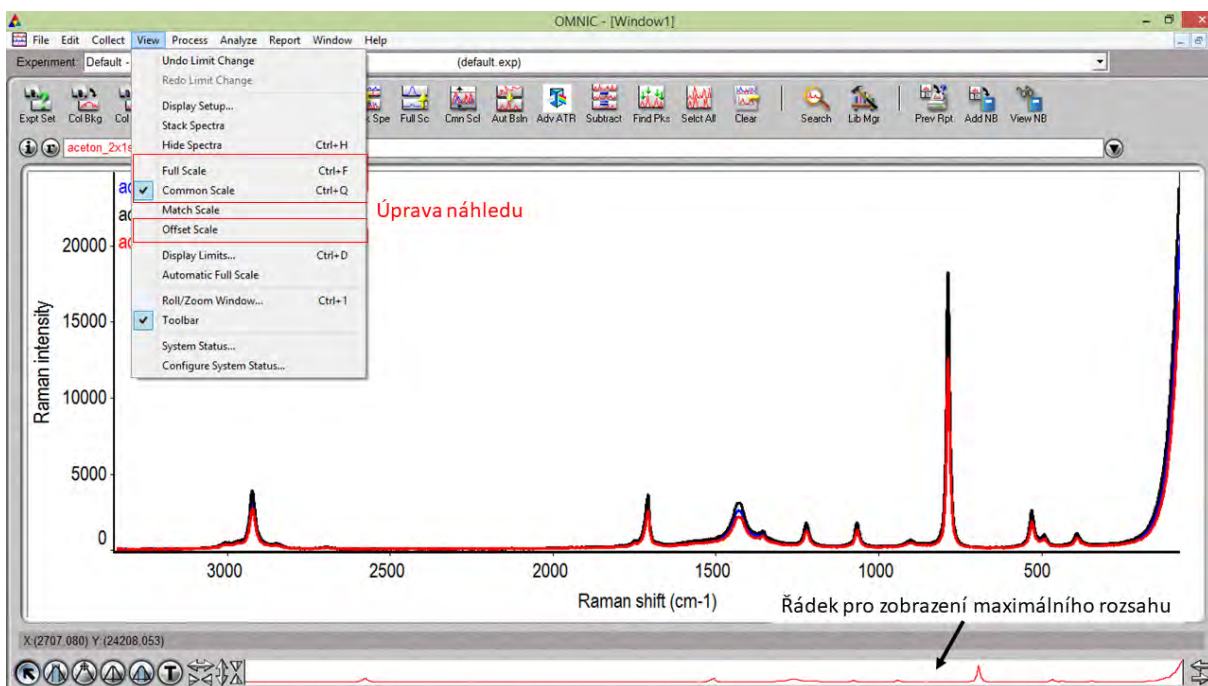
Vyhodnocování Ramanových spekter

Software Omnic nabízí řadu operací pro zpracování a vyhodnocení spektrálních dat a je známý svou jednoduchostí, intuitivním a pro uživatele přívětivým rozhraním. Spektra do tohoto programu se importují pomocí ikony „open file“ v levé části horní lišty (Obr. 7) nebo klasicky přes záložku „file“ -> „open“, či klávesovou zkratkou Ctrl + O. Budete-li otvírat do okna více spekter, je vhodné zkopírovat název daného souboru a vložit ho do řádku ukazujícího název aktuálně zvoleného spektra (položka názvu se nepřenáší mezi softwary) a potvrdit entrem.



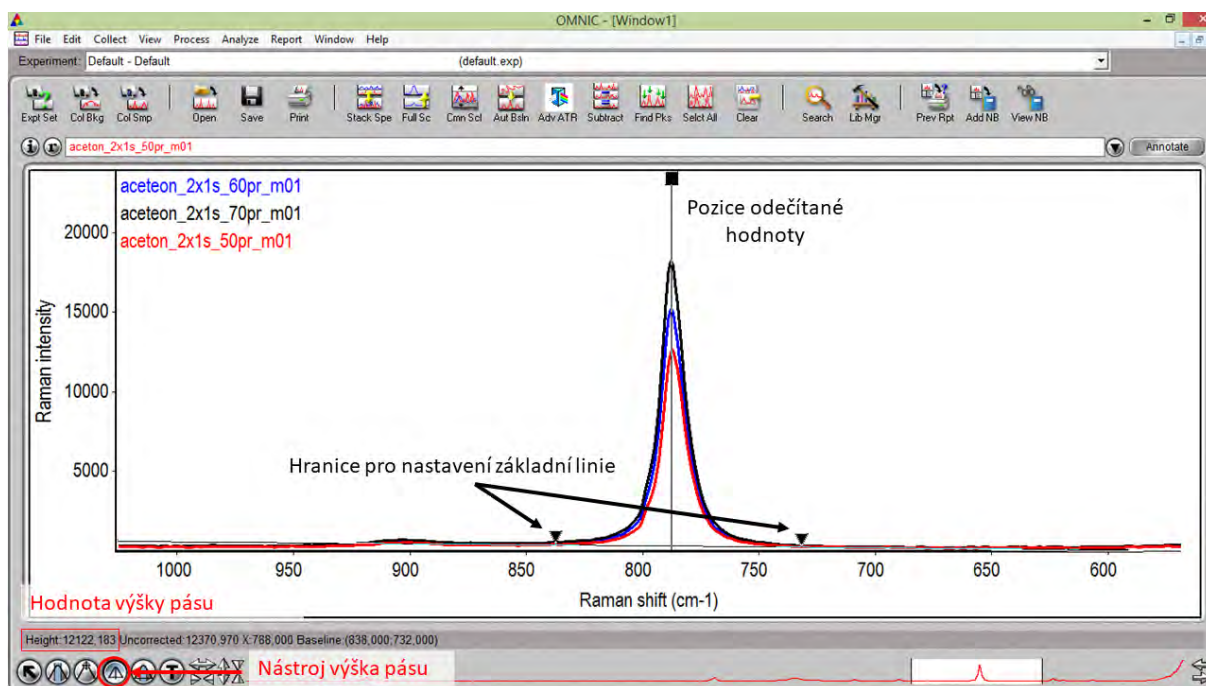
Obr. 7: Základní pracovní okno programu Omnic

Pod záložkou „view“ (Obr. 8) si můžete upravit náhled spekter do tzv. „full scale“ (každé spektrum je roztažené přes celé pracovní okno), „common scale“ (všechna spektra mají jednotnou osu y a lze porovnávat jejich intenzity) či „off set“ (vzájemně posunutá základní linie spekter). Pro každou operaci a každému z vás může vyhovovat jiný pohled a jiné zobrazení při dalším užívání softwaru.

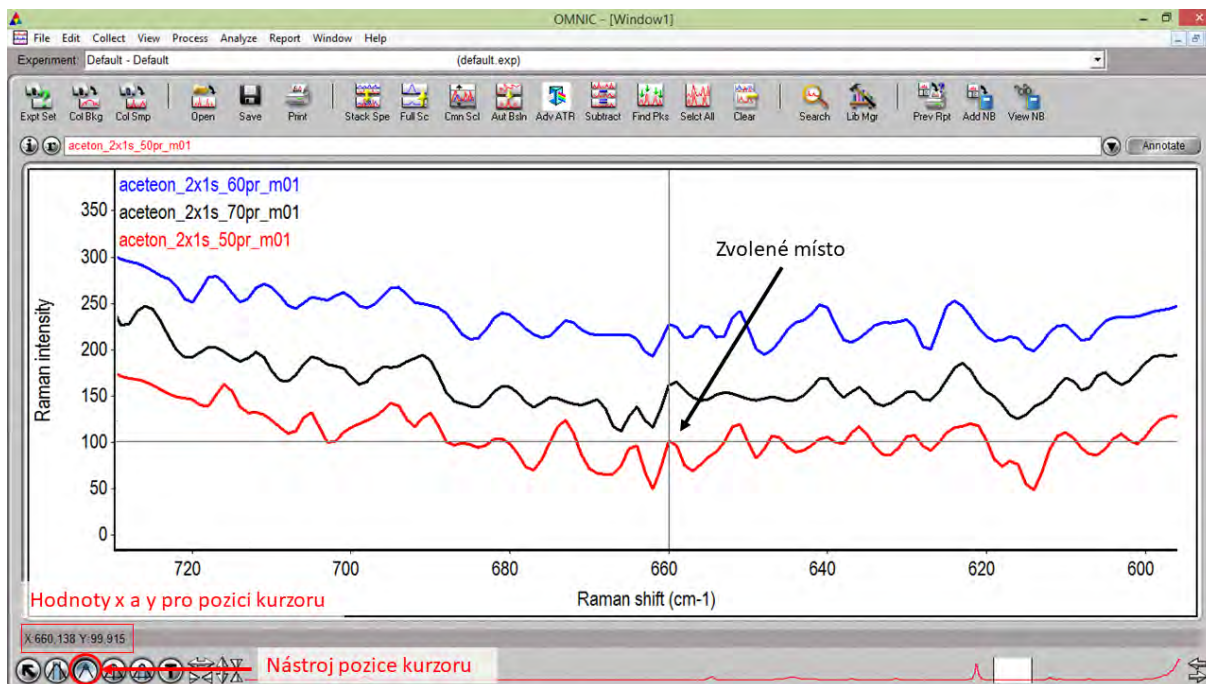


Obr. 8: Ukázka možných zobrazení spekter v programu Omnic

Pro volbu vhodného nastavení doby akumulace a výkonu laseru se počítá poměr signálu k šumu (z angl. S/N). Pro vypočítání S/N hodnot, které budou následně porovnávány, potřebujete odečíst výšku zvoleného symetrického a samostatného pásu. Pro přiblížení vybraného pásu stačí nakreslit kolem daného pásu levým tlačítkem myši obdélník a kliknout do jeho vnitřku. Pro oddálení a zobrazení celého spektra stačí dvojklik do bílého obdélníku ve spodní části obrazovky. Pro odečet výšky pásu slouží v softwaru Omnic funkce v levém dolním rohu „peak height tool“ (Obr. 9). Trojúhelníkovité značky slouží k nastavení hranic pro odečet základní linie spektra (korekce vlivu pozadí, které může být zdeformované např. vlivem fluorescence), čtvercovou značku pak posuňte do maxima pásu. V levém spodním rohu se vám následně objeví hodnota korigované výšky pásu pro červeně značené spektrum (červená linie je vždy pro aktivní spektrum). Při správném nastavení a otevření spekter z celé série vám dále stačí pouze klávesovou zkratkou Ctrl + H skrývat jednotlivá vyhodnocená spektra a zapisovat příslušné výšky pásů. Pomocí jiného nástroje „spectral cursor tool“ (Obr. 10) odečtete „výšku šumu“ na základní linii spektra. Na pěti místech ve zvolené oblasti odečtete „horní“ a „dolní“ hodnoty šumu, které od sebe odečtete. Ze získaných dat dopočítejte poměr S/N a vyberte nejvhodnější hodnotu pro vyhodnocený parametr (nejvyšší).

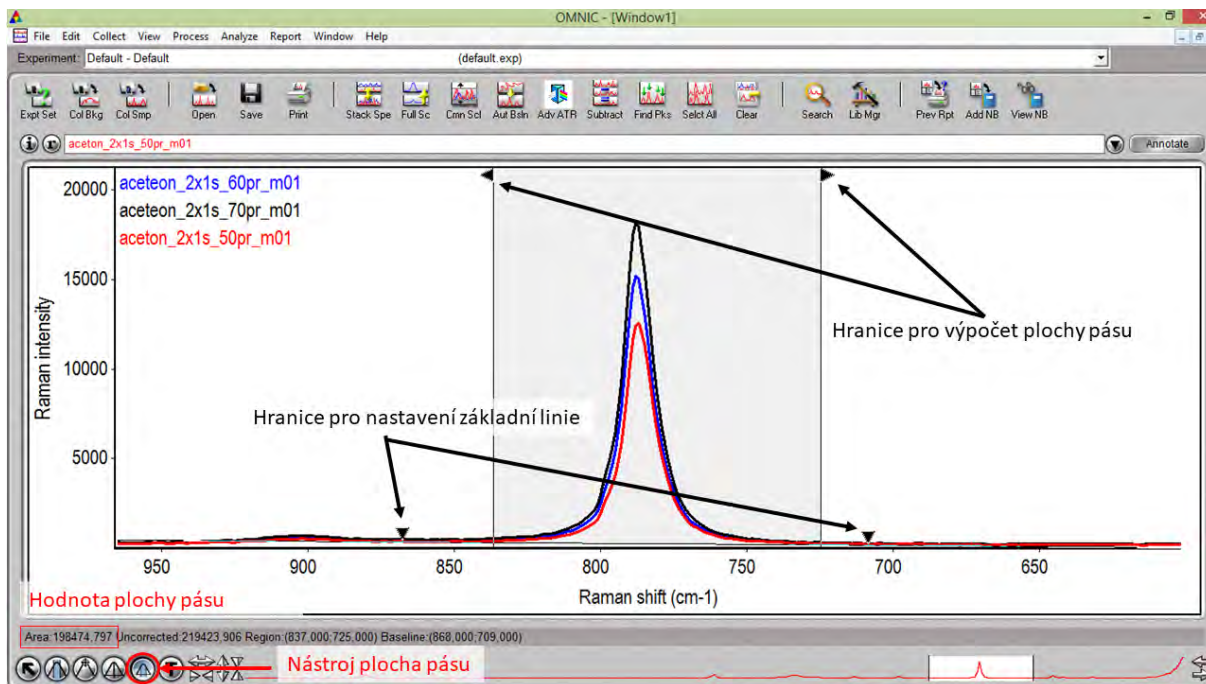


Obr. 9: Ukázka nastavení pro odečet výšky pásu



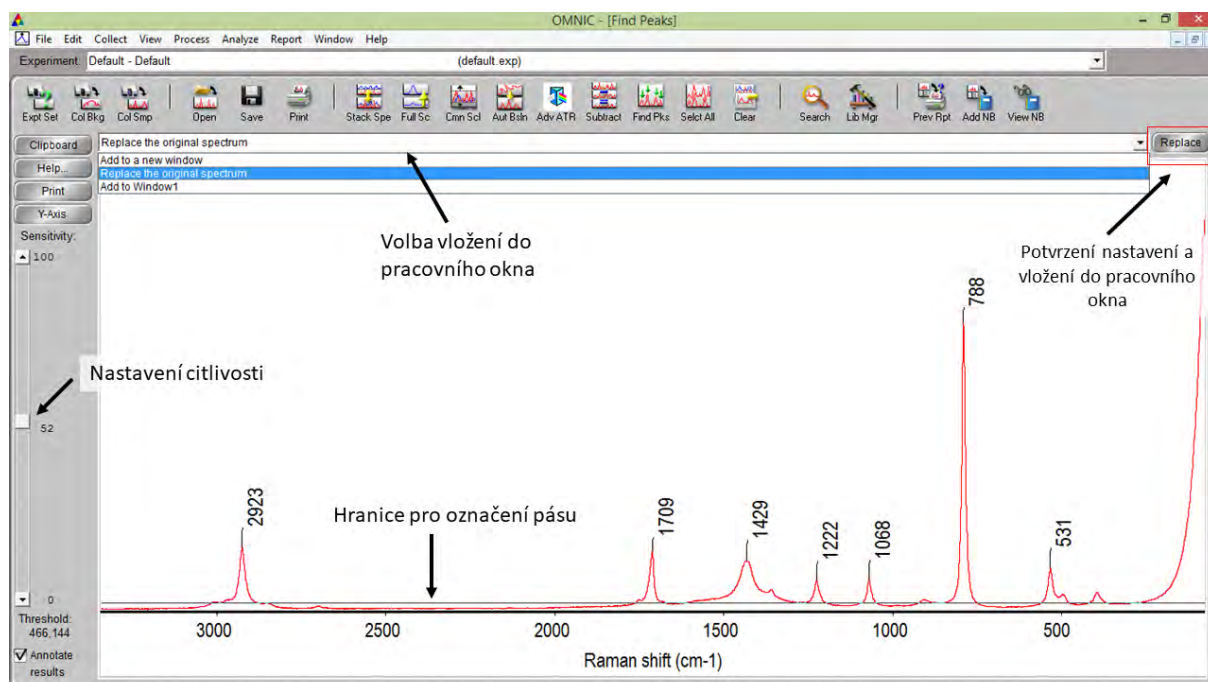
Obr. 10: Ukázka nástroje kurzor

Obdobným způsobem budou odečítány plochy pásů pro konstrukci kalibračních křivek a vyhodnocení metody standardního přídávku. Opět pro tuto operaci existuje v softwaru Omnic funkce v levém dolním rohu (Obr. 11). Tento nástroj má opět trojúhelníkovité značky pro nastavení základní linie pro odečet plochy pásu a zároveň další dvě značky pro nastavení hranic oblasti, ze které se bude plocha pásu počítat. V levém dolním rohu naleznete všechny informace o aktuálním nastavení jednotlivých parametrů a výslednou plochu pásu. Plochy pásů zanechte do Excelu a následně z nich sestrojte kalibrační křivku, do jejíž rovnice dosadíte hodnoty pro neznámý a modelový vzorek. Odečtené hodnoty ploch pásů také použijte pro grafické řešení stanovení koncentrace v neznámém vzorku metodou standardního přídávku.



Obr. 11: Ukázka nastavení pro odečet plochy pásu

Pro interpretaci Ramanových spekter a určení funkčních skupin neznámých vzorků je vhodné znát přesné pozice pásů. Pro jejich označení lze využít nástroj v záložce „analyse“ → „find peaks“ (či použít klávesovou zkratku Ctrl + K, Obr. 12). Černá linie vymezuje hranici ve spektru, nad kterou jsou označovány jednotlivé pásy (lze tímto způsobem minimalizovat počet pásů v zašuměné oblasti). V levé části obrazovky je dále nástroj pro úpravu citlivosti označování pásů (jsou-li označeny i pásy s příliš nízkou intenzitou, lze citlivost snížit; naopak nejsou-li označeny všechny významné pásy, je vhodné citlivost zvýšit – jednotlivé úpravy je doporučeno konzultovat s vyučujícím). Následně můžete spektrem s označenými pásy nahradit předchozí či ho přidat do stejného nebo jiného pracovního okna. Počet označených pásů je možné následně ještě upravovat (přidávat či mazat) pomocí nástroje „annotation tool“ v levém dolním rohu obrazovky.



Obr. 12: Ukázka nastavení pro označení pozice

Kontrolní otázky

1. Jaká je fyzikální podstata Ramanova rozptylu?
2. Jaké je základní výběrové pravidlo pro to, aby se vibrace projevila v Ramanově spektru?
3. Jak se liší Stokesův a anti-Stokesův rozptyl?
4. Jaké dva základní typy konstrukce Ramanova spektrometru rozlišujeme?
5. Jaké zdroje záření se používají pro buzení Ramanova rozptylu?
6. Popište hlavní části disperzního Ramanova spektrometru.
7. Uveďte společné charakteristiky infračervené a Ramanovy spektroskopie, dále v čem se metody liší a jak se doplňují.

P o u ž i t á a d o p o r u e n á l i t e r a t u r a

1. B. Strauch: *š O q fl p q u v k " n c u g t q x ² "* v *Nové směry v analytické g m v t q o g chemie* (J. Zýka, uspořadatel), kap. 8, (str. 171 – 203), svazek III, SNTL Praha 1988.
2. Raman Spectroscopy –
<http://ctr.umkc.edu/www/w3/dept/physics/ramaderivation.html>
3. The Photonics Dictionary
< *Raman effect* – <http://www.laurin.com/datacenter/dictionary/cd/dr/ramaeffe.htm>
< *Raman spectroscopy* – <http://www.laurin.com/datacenter/dictionary/cd/dr/ramaspec.htm>
4. P. Matějka: *š K p h t c g t x g p ¶* *Návody pro laboratorní cvičení z analytické chemie II* (J. Krofta a kol.), VŠCHT Praha 1997 (vydání páté), 2001 (vydání šesté).
5. P. Matějka: „*Ramanova spektroskopie*“ v *Návody pro laboratorní cvičení z analytické chemie III*, (Matějka P. a kol.), VŠCHT Praha 2002, vydání první.

P e h l e d s y m b o l a z k r a t e k

E energie

E vektor intenzity elektrického pole

I intenzita

k Boltzmannova konstanta

v vibrační kvantové číslo

h Planckova konstanta

p vektor indukovaného dipólového momentu

q vnitřní souřadnice molekuly

T teplota

polarizovatelnost

frekvence

CCD „Charge-Coupled-Device“ – plošný, obrazový detektor

FT Fourierova transformace

FTIR infračervená (spektrometrie) s Fourierovou transformací, (Fourier Transform InfraRed)

NIR blízká infračervená (oblast), (Near InfraRed)

UV ultrafialová (oblast), (UltraViolet)

VIS viditelná (oblast), („VISible“)

UPS záložní napájecí zdroj (Uninterrupted Power Supply)

P Í L A H-INTERPRETACE SPEKTER

Frekvence jednotlivých vibračních modů jsou nezávislé na tom, zda je sledujeme pomocí infračervené či Ramanovy spektrometrie. Odlišnosti v obou typech spekter jsou v intenzitách pásů, které souvisejí s odlišnými výběrovými pravidly pro tyto dva typy vibrační spektroskopie.

Níže uvedená Tabulka III udává přehled vybraných pásů významných typů látek s údaji o relativních intenzitách v Ramanových spektrech.

Při hledání v tabulce se předpokládá postup od vyšších vlnočtů k nižším. V rubrice "Další charakteristický pás" je uvedena oblast, ve které se musí vyskytovat spektrální pás (či více pásů) charakteristický pro danou funkční skupinu. V některých případech je odkaz na širší oblast, která je rozdělena na dílčí podoblasti například s ohledem na vliv okolních skupin, větvení skeletu apod. Pokud odkaz na další vlnočty (vlnočtový interval) uveden není, je tím seznam typických pásů významných pro charakterizaci dané funkční skupiny vyčerpán. V případech, kdy se v dané oblasti překrývají pásy více funkčních skupin, je samozřejmě nutné zkoumat všechny možnosti, které pro přiřazení přicházejí v úvahu. Je třeba zvažovat vzájemné překryvy pásů a brát v potaz zastoupení různých funkčních skupin v molekule. Jestliže je daná funkční skupina málo zastoupená v molekule, veškeré její pásy budou slabší vůči dominantnímu typu skeletu či převažujícímu typu funkční skupiny.

Tabulka III byla sestavena na základě údajů převzatých z níže uvedených publikací. Při sestavování byl brán zřetel na významné typy funkčních skupin resp. hlavní typy skeletu organických molekul a řada detailních informací byla vynechána. Tato tabulka není určena pro detailní interpretaci Ramanových spekter, jejím účelem je shrnutí pouze základních charakteristik důležitých pro výuku principů Ramanovy spektroskopie, a to však nejen v rámci uvedené laboratorní úlohy.

1/ G. Socrates: Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies, J.Wiley, Chichester Third Edition 2001.

2/ N. P. G. Roeges: A Guide to the Complete Interpretation of Infrared Spectra of Organic Structures, J.Wiley, Chichester 1993.

3/ Spectool for Windows 2.1, A Hypermedia Book for Structure Elucidation of Organic Compounds with Spectroscopic Methods, Chemical Concepts, Weinheim 1994.

Tabulka III: Vlnoty charakteristických vibrací v Ramanových spektrech

Vlnová délka	Intenzita	Polarizace	Průběh	Skupina	Další charakteristika páska
voda –v o r g a n i c k é m r o z p o u š t d l e					
3760-3580	vw-w	$v_{as}(H_2O)$	H_2O		3640-3500
3640-3500	w-m, br	$v_s(H_2O)$	H_2O		1640-1605
1640-1605	vw	$\delta(H_2O)$	H_2O		-
voda –k r y s t a l o v á , r o z p o u š t d l o					
3600-3100	m,br	$v(OH)$	H_2O		1645-1615
1645-1600	v	$\delta(H_2O)$	H_2O		-
alkoholy, fenoly					
3670-3580	vw-w,	$v(OH)$	-OH, izolované		1420-1260
			– bez vlivu vodíkových můstků, úzký		
3600-3400	vw	$v(OH)$	-OH, intramol. H-vazba		1440-1300
			– významný vliv intramolekulárních vodíkových můstků, vlnočet koncentračně nezávislý, širší než pro izolované –OH, užší než v případě intermolekulárních můstků		
3600-3150	vw-w,br	$v(OH)$	-OH, pevné či kapal. l.		1440-1290
			– významný vliv intermolekulárních vodíkových můstků, vlnočet s rostoucí koncentrací klesá		
3200-2500	w, br	$v(OH)$	-OH, pevné či kapal. l.		1440-1290
			- chelátovaná –OH skupina		
1440-1310	m-w	$\delta(COH)$	terc.-OH, Ar-OH		1260-1100
			(pozor na překryv pásů)		
1400-1260	m-w	$\delta(COH)$	ROH, R ₂ OH, (prim. a sek.)		1150-1000
1260-1170	m-w	$v(CO)$	Ar-OH		-
1215-1100	m-s	$v(CO)$	R ₃ C-OH, (terc.)		800-750
1150-1070	s-m	$v(CO)$	R ₂ CH-OH, (sekund.)		900-800
1090-1000	s-m	$v(CO)$	R-OH, (primar.)		900-800
900-800	s-m	$v(CCO)$	R-OH, (primar.)		-
900-800	s	$v(CCO)$	R-OH, (sekund.)		-
800-750	s	$\delta(CO)$	R ₃ C-OH, (terc.)		-
karboxylové kyseliny –nedisociovaná forma, izolované molekuly					
3580-3500	vw	$v(OH)$	-COOH, monomer		1800-1740
			neasociované molekuly		
1800-1740	w-m	$v(C=O)$	-COOH, monomerní		1380-1280
1380-1280	m-w	$\delta(OH)$	-COOH, monomerní		1190-1075
1190-1075	w	$v(CO)$	-COOH, monomerní forma		-
karboxylové kyseliny –nedisociovaná forma, asociované molekuly					
3200-2230	vw-w, br	$v(OH)$	-COOH, dimerní, asoc.		1725-1700
			vlnočet s rostoucí koncentrací klesá,		intermol. H-vazba
1725-1700	w-m	$v(C=O)$	-COOH, dimerní forma		1440-1395
			1725-1700 – nasycené kys.,		
			1710-1680 – nenasyčené a Ar kys.		
1440-1395	w-m	$\delta(OH)+v(CO)$	-COOH, dimerní forma		1320-1210
1320-1210	v (m-s)	$v(CO)$	-COOH, dimerní forma		970-875
			dimerní forma, někdy dublet		

970- 875	m,br	$\gamma(\text{OH})$	$-\text{COOH}$, dimerní forma	-
<u>karboxylové kyseliny –disociovaná forma (anion), asociované molekuly</u>				
1655-1540	w	$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$	$-\text{COO}^-$	1440-1335
1440-1335	m-s	$\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$	$-\text{COO}^-$	-
			širší pás s raménky (dva až tři píky)	
<u>aminy –primární</u>				
3550-3280	m-w	$\nu_{\text{as}}(\text{NH}_2)$	$-\text{NH}_2$	3450-3160
			vlnočť s rostoucí koncentrací klesá, intermol. H-vazba,	vliv menší než u $-\text{OH}$
			širší pás v případě chemicky čisté látky v kondenzované fázi	
3450-3160	vw-w	$\nu_{\text{s}}(\text{NH}_2)$	$-\text{NH}_2$	1650-1580
			vlnočť s rostoucí koncentrací klesá, intermol. H-vazba,	vliv menší než u $-\text{OH}$
			širší pás v případě chemicky čisté látky v kondenzované fázi	
1650-1580	w	$\delta(\text{NH}_2)$	$-\text{NH}_2$	Ar: 1360-1240 R : 1295-1145
1360-1240	m-w	$\nu(\text{CN})$	ArNH_2	1120-1020
1295-1145	m-w	$\rho(\text{NH}_2)$	RNH_2 , často překryv pásů	1240-1020
1240-1020	m-s	$\nu(\text{CN})$	RNH_2 , často překryv pásů	-
1120-1020	m-w	$\rho(\text{NH}_2)$	ArNH_2 , často překryv pásů	1120-1020
<u>aminy –sekundární</u>				
3500-3300	w	$\nu(\text{NH})$	$-\text{NH}-$	1580-1490
1580-1490	w	$\delta(\text{NH})$	$-\text{NH}-$	R: 1190-1170 Ar:1360-1250
			pro ArNH riziko překryvů	
1360-1250	m-w	$\nu(\text{CN})$	Ar_2NH , Ar-NH-R	1280-1180
1280-1180	m-w	$\nu(\text{C}_R\text{N})$	Ar-NH-R	-
1190-1170	m	$\nu_{\text{as}}(\text{CNC})$	R_2NH	1145-1130
1145-1130	m-w	$\nu_{\text{s}}(\text{CNC})$	R_2NH	1145-1130
750- 700	w,br	$\omega(\text{NH})$	$-\text{NH}-$	-
<u>amidy - primární</u>				
3540-3320	m-w	$\nu_{\text{as}}(\text{NH}_2)$	$-\text{CO-NH}_2$	3420-3180
			nížší vlnočť při vlivu H-vazby, širší pás v případě chemicky čisté látky v kondenzované fázi	
3420-3180	m-w	$\nu_{\text{s}}(\text{NH}_2)$	$-\text{CO-NH}_2$	1690-1640
			nížší vlnočť při vlivu H-vazby, širší pás v případě chemicky čisté látky v kondenzované fázi	
1690-1640	m-w	$\nu(\text{C=O})$	$-\text{CO-NH}_2$, amid I	1640-1590
1640-1590	w-m	$\delta(\text{NH}_2)$	$-\text{CO-NH}_2$, amid II	1420-1400
1420-1400	m	$\nu(\text{CN})$	$-\text{CO-NH}_2$, amid III	1170-1130
1170-1130	vw	$\rho(\text{NH}_2)$	$-\text{CO-NH}_2$, nezřetelný	600-550
600- 550	m	$\delta(\text{N-C=O})$	$-\text{CO-NH}_2$	-
<u>amidy - sekundární</u>				
3460-3270	m-w	$\nu(\text{NH})$	$-\text{CO-NH}-$, trans	1700-1665, 3100-3070
			širší pás v případě chemicky čisté látky v kondenzované fázi	
3180-3140	m-w	$\nu(\text{NH})$	$-\text{CO-NH}-$, cis	1700-1630
3100-3070	vw	svrchní tón	$-\text{CO-NH}-$, trans	1700-1665
			od amid.p.II, velmi slabý, často nezřetelný	
1700-1630	w-m	$\nu(\text{C=O})$	$-\text{CO-NH}-$, amid I	1570-1510
1570-1510	m-w	$\delta(\text{NH})$	$-\text{CO-NH}-$, amid II	1305-1200
1350-1310	s	$\nu(\text{CN})$	$-\text{CO-NH}-$, amid III, cis	820-780
1305-1200	s	$\nu(\text{CN})$	$-\text{CO-NH}-$, amid III, trans	770-620
			obvykle okolo 1260 cm^{-1}	
820-780	m-s,br	$\gamma(\text{NH})$	$-\text{NH-CO}-$, cis	-

770- 620	w,br	$\gamma(\text{NH})$	$-\text{NH}-\text{CO}-$, trans	-
----------	------	---------------------	--	---

amidy - terciární

1670-1630	w-m	$\nu(\text{C}=\text{O})$	$-\text{CO}-\text{N}<$	870-700
870-700	s	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{N}-\text{C})$	$-\text{CO}-\text{N}<\text{C}$	620-570
620-570	m	$\delta(\text{N}-\text{C}=\text{O})$	$-\text{CO}-\text{N}<\text{C}$	-

alkyny (alkiny) –alkylacetylény

3340-3280	w-m	$\nu(\text{CH})$	$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	2150-2100
2150-2100	s-m	$\nu(\text{C}\equiv\text{C})$	$-\text{C}\equiv\text{C}-$	1020-905
1020-905	w-m	$\nu(\text{C}-\text{C}\equiv\text{C})$	$\text{H}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}$	370-220
370-220	w-m	$\delta(-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H})$	$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	-

alkyny (alkiny) –dialkylacetylény

2260-2190	vs-s	$\nu(\text{C}\equiv\text{C})$	$-\text{C}\equiv\text{C}-$	
-----------	------	-------------------------------	----------------------------	--

u symetrické molekuly vs někdy doprovázen pásem okolo 2310 cm^{-1}

alkeny –vinyl a vinyliden deriváty (koncová dvojná vazba)

3120-3050	m	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$	$>\text{C}=\text{CH}_2$	3050-2960
3050-2960	m	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$	$>\text{C}=\text{CH}_2$	1685-1620
1685-1620	s	$\nu(\text{C}=\text{C})$	$>\text{C}=\text{CH}_2$	1440-1360
1440-1360	m-s	$\delta(\text{CH}_2)$	$>\text{C}=\text{CH}_2$	1320-1250

pozor na překryvy pásů

1320-1250	m-w	$\delta(\text{CH})$	$>\text{C}=\text{CH}_2$	1180-1010
1180-1010	m	$\delta(\text{CH})$	$>\text{CH}=\text{CH}_2$	980- 810
980- 810	w	$\gamma(\text{CH})$	$>\text{CH}=\text{CH}_2$	-

alkeny, cykloalkeny a jejich deriváty – (v n i t á v á z b a d d v o j n á v a z b y)

3060-2995	m	$\nu(\text{CH})$	$=\text{CH}-$	izolované: 1685-1620 konjugované: 1660-1580
1685-1620	s-vs	$\nu(\text{C}=\text{C})$	$>\text{C}=\text{C}<$, izolované	1440-1190
1660-1580	s-m	$\nu(\text{C}=\text{C})$	$-\text{C}=\text{C}$, konjugované	1440-1190

poloha pásů klesá se stupněm konjugace, konjugace s $\text{C}=\text{C}$, Ar, $\text{C}=\text{O}$

1440-1340	s-m	$\nu(\text{C}=\text{C})$	cyklické, více $\text{C}=\text{C}$ vazeb	-
-----------	-----	--------------------------	--	---

vibrace nenasycených kruhů

1350-1340	w	$\delta(\text{CH})$	$>\text{C}=\text{CH}-$, trisub.	850-790
1350-1260	w-vw	$\delta(\text{CH})$	$-\text{HC}=\text{CH}-$, trans	1000- 910
1295-1190	s-m	$\rho(\text{CH})$	$-\text{HC}=\text{CH}-$, cis	980- 880
1000- 910	m	$\gamma(\text{CH})$	$\text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}$, trans	630- 430
980- 880	m	$\gamma(\text{CH})$	$\text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}$, cis	730- 660
850- 790	w	$\gamma(\text{CH})$	$\text{RR}'>\text{C}=\text{CH}-\text{R}''$	-
730- 660	w	$\gamma(\text{CH})$	$\text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}$, cis	-
630- 430	w	$\gamma(\text{CH})$ $\delta(\text{CH})$	$\text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}$, trans	-

aromatické uhlovodíky

3105-3000	m-s	$\nu(\text{CH})$	Ar	1630-1590
-----------	-----	------------------	----	-----------

několik pásů, počet klesá s růstem substituce jádra
pro $\text{Ar}-\text{NO}_2$ deriváty 1. maximum i nad 3105

1630-1590	m-s	$\nu(\text{C}=\text{C})$	Ar, obvykle 1600	1590-1575
1590-1575	v	$\nu(\text{C}=\text{C})$	Ar,	1525-1470
1525-1470	w	$\nu(\text{C}=\text{C})$	Ar, obvykle okolo 1490	1470-1425
1470-1425	w	$\nu(\text{C}=\text{C})$	Ar	1290- 990

interval závisí na typu subst.,

pro Ar, 1,2,4,5-tetrasubstit., penta- a hexasub. přímý odkaz do oblastí v celkovém intervalu 575- 385

1290-1130	m	$\delta(\text{CH})$	Ar, 1,4-disubstit.	880- 790
1270-1220	m	$\delta(\text{CH})$	Ar, 1,2,4-trisubstit.	680- 610
1190-1070	w	$\delta(\text{CH})$	Ar, 1,2,3,4-tetrasubstit.	585- 565
1170-1120	m	$\delta(\text{CH})$	Ar, 1,2,3,5-tetrasubstit.	580- 505
1150-1030	m-s	$\delta(\text{CH})$	Ar, 1,2,3-trisubstit.	670- 500
1140-1020	m-s	$\delta(\text{CH})$	Ar, 1,2-disubstit.	790-650
1050-990	m-vs	$\delta(\text{CH})$	Ar, monosubstit.	710-605
1025-990	vs	$\delta(\text{CH})$	Ar, 1,3-disubstit., Ar, 1,3,5-trisubstit.	800-660 535-495
880- 790	s	$\gamma(\text{CH})$	Ar, 1,4-disubstit.	-
800- 660	m-s	$\gamma(\text{CH})\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,3-disubstit.	-
790- 650	s	$\gamma(\text{CH})\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,2-disubstit.	590- 510
710- 605	m-w	$\gamma(\text{CC}),\gamma(\text{CH})$	Ar, monosubstit.	-
680- 610	m-s	$\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,2,4-trisubstit.	-
670- 500	s	$\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,2,3-trisubstit.	-
590- 510	m-s	$\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,2-disubstit.	-
585- 565	s	$\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,2,3,4-tetrasubstit.	-
580- 505	v	$\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,2,3,5-tetrasubstit.	-
575- 545	s-vs	$\gamma(\text{CC})$	Ar, pentasubstit.	-
535- 495	m-s	$\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,3,5-trisubstit.	280- 250
470- 420	s-m	$\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,2,4,5-tetrasubstit.	-
415- 385	s-m	$\gamma(\text{CC})$	Ar, hexasubstit.	-
280- 250	m-s	$\gamma(\text{CC})$	Ar, 1,3,5-trisubstit.	-

alkany , a l k y l o v é e t z c e

2995-2940	m	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$	-CH₃	2895-2840
2955-2915	m	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$	-CH₂-	2880-2835
2895-2840	m-s	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	-CH₃	1470-1385
2880-2830	m-s	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$	-CH₂-	1480-1385
1480-1440	w-m	$\delta(\text{CH}_2)$	-(C)-CH₂, -(O)-CH₂- (může se překrývat s pásem Ar, -CH ₃)	1305-1295 (odkaz platí pouze pro -(CH₂)_n n>2)
1470-1440	m	$\delta_{\text{d}}(\text{CH}_3)$	-(C)-CH₃, -(O)-CH₃ (může se překrývat s pásem Ar, -CH ₂ -)	1395-1345
1450-1390	w	$\delta_{\text{d}}(\text{CH}_3)$	CH₃-(C=O)-O-, CH₃-N<, CH₃-(C=O)-C-, CH₃-(S=O)-C-	1385-1300
1445-1385	m	$\delta(\text{CH}_2)$	-CH₂-X, X:-(C=O)-, -COOR, -C=C-, -C≡C-, Ar, -CN, NO₂, Cl, Br	785-720
1395-1345	w-m	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	CH₃-(C)-, CH₃-(O)- dublet typický pro rozvětvení	1255-1130 (odkaz platí pouze pro dublet)
1385-1330	w-m	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	CH₃-(C=O)-, CH₃-(C=O)-O-	-
1370-1310	w-m	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	CH₃-(N<)	-
1360-1320	w	$\delta(\text{CH})$	-C-H, nasyc.	-
1340-1300	w	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	CH₃-(S=O)-C-	-
1305-1295	m	$\delta(\text{CH}_2)$	-(CH₂)_n- n>2, intenzita roste s n	1100-1040
1255-1245	m	$\nu(\text{CC})$	-C(CH₃)₃	1225-1165
1225-1165	m	$\nu(\text{CC})$	-C(CH₃)₃	1020- 980
1175-1165	w	$\nu(\text{CC})$	-CH(CH₃)₂	1150-1130
1150-1130	w	$\nu(\text{CC})$	-CH(CH₃)₂	955- 900
1100-1040	m-s	$\nu(\text{CCC})$	-(CH₂)_n-	900-800

1020- 980	m-s	v(CC)	-C(CH ₃) ₃	930- 925
930- 925	m		-C(CH ₃) ₃	360-270
955- 900	m	v(CC), δ(CCH)	-CH(CH ₃) ₂	840-790
900-800	m-s	skeletální	-(CH ₂) _n -	750-720
840- 790	m	skeletální	-CH(CH ₃) ₂	495-490
785- 750	vw	ρ(CH ₂)	-CH ₂ -CH _x , x≠2	-
750- 735	vw	ρ(CH ₂)	propyl, (CH ₂) _n -(O)-, n>4	-
735- 720	vw	ρ(CH ₂)	(CH ₂) _n -(C)-, n>3	-
495-490	m	skeletální	-CH(CH ₃) ₂	-
360- 270	m		-C(CH ₃) ₃	-

aldehydy

2850-2800	w	v(CH)	-CHO	2745-2650
			někdy raménko pásu pod 2745 cm ⁻¹	
2745-2650	s-m	v(CH)	-CHO	1745-1650
			efekt Fermiho resonance	
1745-1650	w-m	v(C=O)	-CHO	1440-1325
			vyšší hodnota vlnočtu pro nasycené alifatické aldehydy	
			hodnota vlnočtu se snižuje vlivem konjugace C=O vazby	
			s C=C, Ar apod. v okolí	
1440-1325	s-m	δ(CH)	-CHO	975-780
975- 780	m	γ(CH)	-CHO	-

thioly

2600-2520	s	v(SH)	-SH	750-570
750- 570	s	v(CS)	-C-SH	410-200
410-200	v	δ(CS)	-C-SH	-

fosfiny

2460-2100	m-w	v(PH)	-PH	1150-965
1150-965	m-w	δ(PH)	-PH	-

isokyanáty

2295-2250	w	v _{as} (N=C=O)	-N=C=O,	1460-1340
1460-1340	s	v _s (N=C=O)	-N=C=O	650-580
650-580	w	δ(N=C=O)	-N=C=O	-

nitrily

2270-2200	s	v(C≡N)	-C≡N	390-340
			velmi úzký pás	odkaz platí pouze pro alifatické nitrily
390-340	s	δ(C-C≡N)	-C-C≡N	200-160
200-160		skeletální	-C-C≡N	-

thiokyanáty

2185-2135	m-s	v(C≡N)	-S-C N	1090-925
			velmi úzký pás	
1090-925	m-s	v _s (S-C≡N)	-S-C N	700-670
700-670	s	v _{as} (-C-S-C)	-C-S-C≡N	660-610
660-610	s	v _s (-C-S-C)	-C-S-C≡N	-

isothiokyanáty

2150-1990	m,br	v _{as} (N=C≡S)	-N=C=S	1250-925
1250-925	s	v _s (N=C≡S)	-N=C=S	690-650
690-650	s	δ _s (N=C≡S)	-N=C=S	-

laktony

1840-1770	m-w	v(C=O)	β,γ -laktony	1370-1160
1370-1160	w	v(CO)	β,γ -laktony	-

estery

1800-1750	m-w	v(C=O)	vinyl a fenylestery	1310-1250
1750-1720	m-w	v(C=O)	nasyčené estery	1300-1150
1740-1705	m-w	v(C=O)	-CO-O-, α,β -nenas. estery	1335-1250
1730-1705	m-w	v(C=O)	Ar- CO-O-R , estery aromátů	1330-1250
1335-1250	m-s	$v_{as}(COC)$	-CO-O-, α,β -nenas. estery, pás širší než u ketonů	1200-1130
1330-1250	m-s	$v_{as}(COC)$	Ar- CO-O-R , širší než u ketonů	1150-1080
1300-1150	m-s	$v_{as}(COC)$	R- CO-O-R , nasyc. (obvykle širší než u ketonů)	1160-1050
1200-1130	w	$v_s(COC)$	R- CO-O-R' , α,β -nenasyc.	-
1200-1180	m-s	$v_{as}(COC)$	HCOOR	1165-1050
1165-1100	w	$v_s(COC)$	HCOOR	775-620
1160-1050	w	$v_s(COC)$	R- CO-O-R' , nasyc.	-
1150-1080	w	$v_s(COC)$	Ar- CO-O-R	-
775- 620	m	$\delta(OCO)$	HCOOR	-

ketony

1750-1690	m	v(C=O)	R- CO-R' , nasyčené ketony	1325-1175
1705-1650	m-w	v(C=O)	Ar CO- , α,β -nenas. ketony	1320-1280
1325-1175	m-w	v(CC)	R- CO-R' (často obtížně rozpoznatelný)	1170-1095
1320-1280	m	$\delta(C-CO-C)$	Ar- CO-Ar(-R) , obecně několik pásů	1225-1075
1225-1075	m	$v(C_{Ar}C)$	Ar- CO-	-
1170-1095	m-w	$v_{as}(CC(=O)C)R-$	CO-R' , několik pásů při delších řetězcích	800-700
800-700	m-s	$v_s(CC(=O)C)R-$	CO-R'	630-580
630-580	s-m	$\delta(CC(=O)C)R-$	CO-R'	-

n i t r o s l o u e n i n y

1570-1485	m-w	$v_{as}(NO_2)$	-NO ₂	1385-1315
1385-1315	s-vs	$v_s(NO_2)$	-NO ₂	1180-850
1180- 850	s-m	v(CN)	-C-NO ₂	-

Poznámka: ⁽¹⁾ Valenční vibrace $v_{as}(CH_3)$ by měla být správně označena $v_d(CH_3)$. Označení v_{as} se však běžně používá, a bylo proto zachováno i v této tabulce.

P o u ž i t é z k r a t k y :

Intenzita: vs - velmi silná, s - silná, m - střední, w - slabá, vw – velmi slabá, v - proměnná, br - široký pás, sh - raménko (anglicky shoulder).

Popis vibračních kmitů: v - valenční, δ - deformační, γ - mimorovinný, ω - kývavý (anglicky wagging), ρ - kolébavý (angl. rocking), as - antisymetrický, s - symetrický, d - degenerovaný,

amid I - III - označení amidických pásů I - III, vystihující silné sprážení vibrací v amidech, komb.p. - kombináční pásy. R - alkyl, Ar - aryl.