

# **Techniky měření a interpretace IČ a Ramanových spekter** *(základy vibrační spektroskopie trochu jinak)*

**Pavel Matějka**

[Pavel.Matejka@vscht.cz](mailto:Pavel.Matejka@vscht.cz)

**Ústav analytické chemie**



**VŠCHT PRAHA**

# Úvod

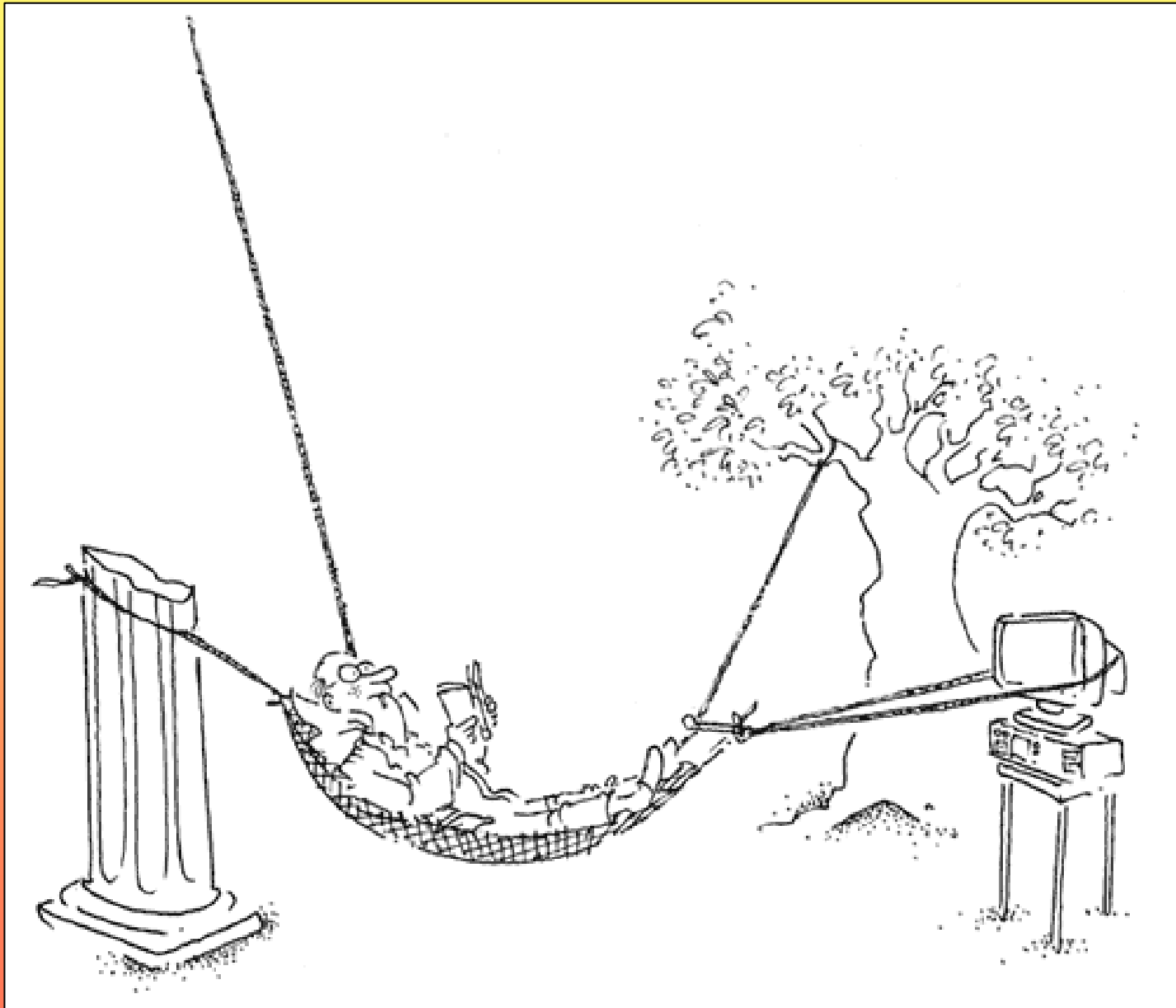
## - závislost spekter na periodickém pohybu

Každá čára vibračního (IČ, Ramanova) spektra  
je svými vlastnostmi závislá  
na počtu a hmotě společně kmitajících atomů  
molekuly,  
na jejich prostorovém uspořádání a  
na vnitřně molekulovém silovém poli.

***Prof. Dr. Arnošt Okáč***

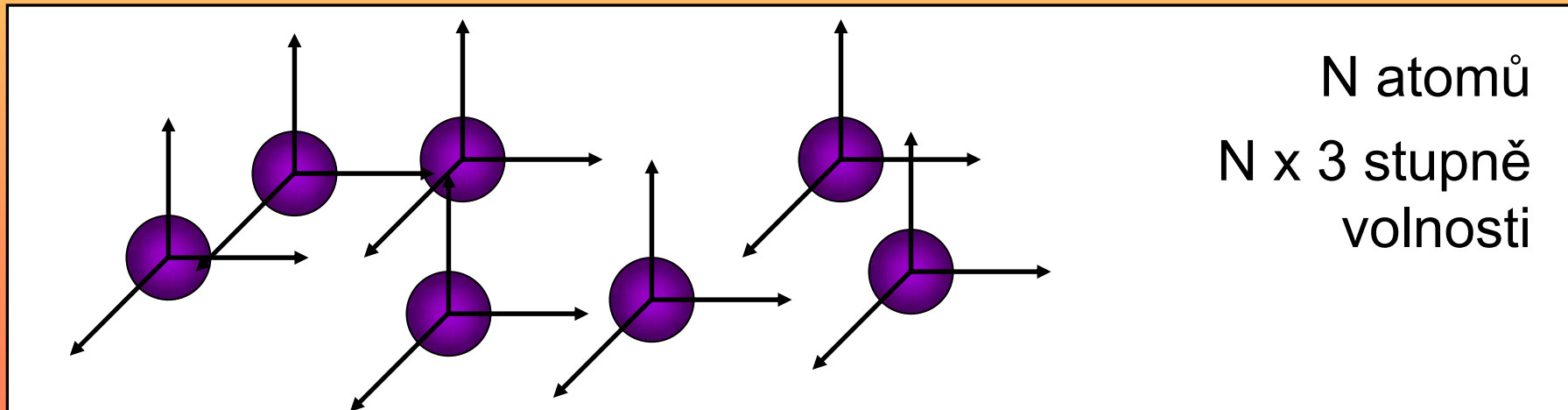
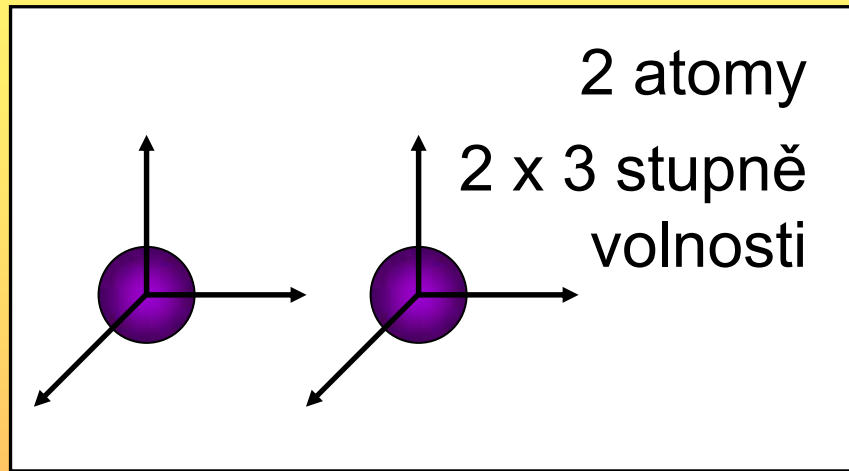
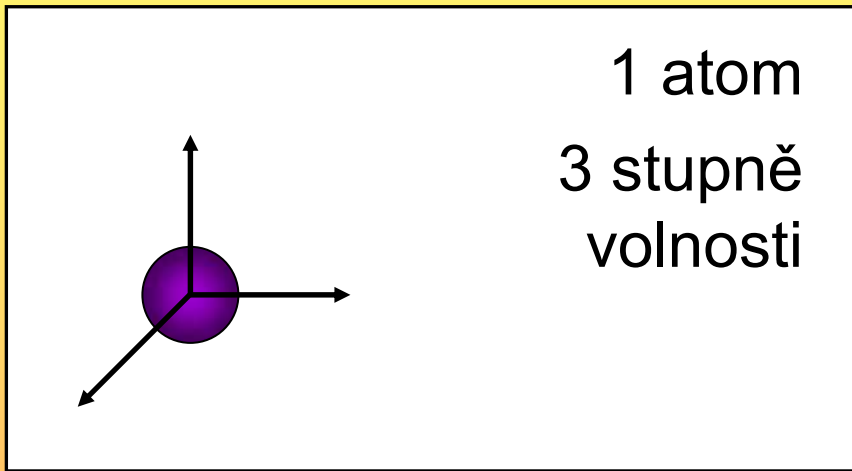
***Výklad k základním operacím v chemické analýze  
JČMF 1948***

# Pohyb v prostoru



# Pohyb v prostoru

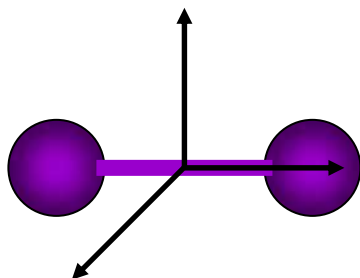
## volné částice – translační pohyb



# Pohyb v prostoru

## vzájemně vázané částice

2 atomy spojené vazbou - LINEÁRNÍ MOLEKULA



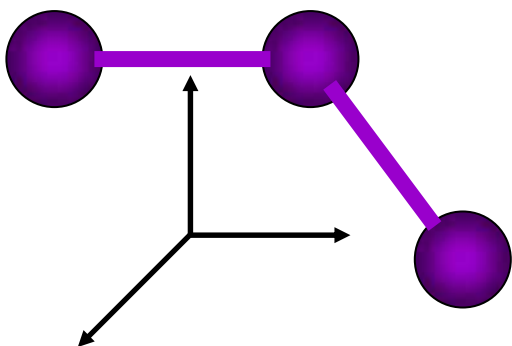
2 x 3 stupně volnosti ~ 6

JEN 3 translace těžiště

2 stupně volnosti - rotace molekuly

1 stupeň volnosti – vibrace – periodický pohyb

3 atomy spojené vazbami - LOMENÁ MOLEKULA



3 x 3 stupně volnosti ~ 9

JEN 3 translace těžiště

3 stupně volnosti - rotace molekuly

3 stupeň volnosti – vibrace

# Pohyb v prostoru vázané částice

N atomů spojených vazbou - LINEÁRNÍ MOLEKULA

$N \times 3$  stupně volnosti  $\sim 3N$

JEN 3 translace těžiště

2 stupně volnosti - rotace molekuly

$3N - 5$  stupňů volnosti - vibrace



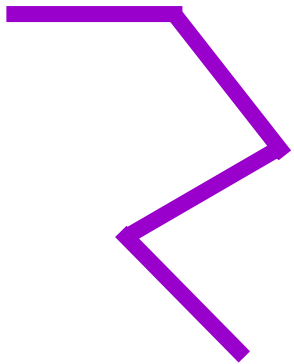
N atomů spojených vazbou - LOMENÁ MOLEKULA

$N \times 3$  stupně volnosti  $\sim 3N$

JEN 3 translace těžiště

3 stupně volnosti - rotace molekuly

$3N - 6$  stupňů volnosti - vibrace



# Pohyb atomů v molekule

## VIBRACE

### TYPY VIBRACÍ

- VALENČNÍ - změna délky vazby (vazeb)
- DEFORMAČNÍ - změna vazebných (příp. torsních) úhlů
  - nůžkové, deštníkové, kývavé, vějířové, kroutivé

» SYMETRICKÉ

» ANTISYMETRICKÉ

» ASYMETRICKÉ ?

\* ROVINNÉ

\* MIMOROVINNÉ

# Pohyb atomů v molekule

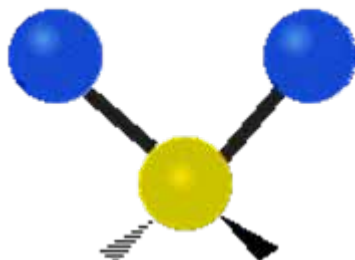
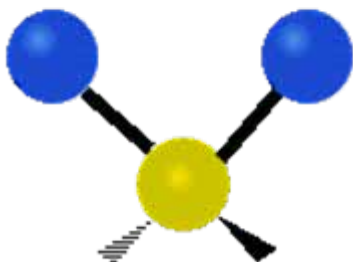
## VIBRACE

### TYPY VIBRACÍ

- VALENČNÍ – ZMĚNA délky vazby/vazeb

» SYMETRICKÁ

» ANTISYMETRICKÁ



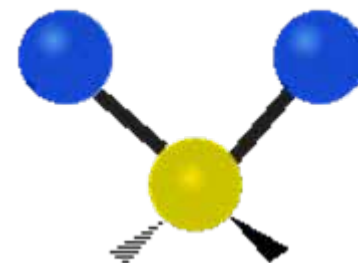
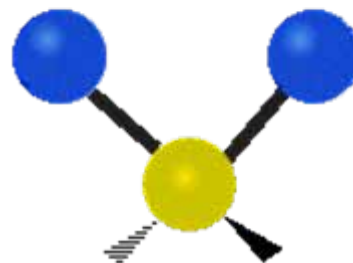
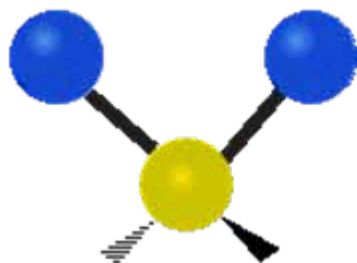
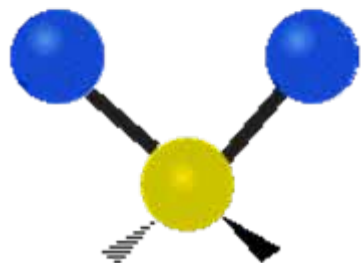


# Pohyb atomů v molekule

## VIBRACE

### TYPY VIBRACÍ

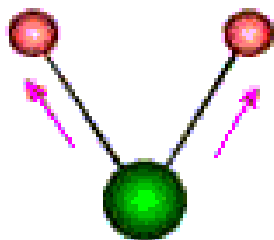
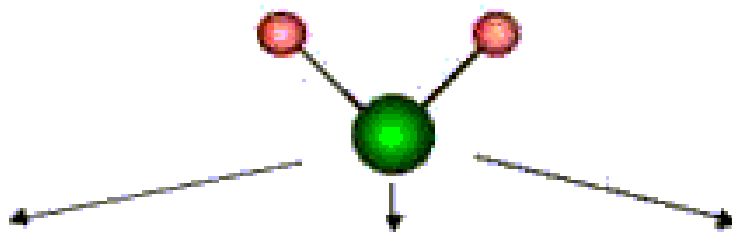
- DEFORMAČNÍ - změny úhlů (vazebné úhly, torsní úhly)
- nůžková, kolébavá, kývavá, kroutivá



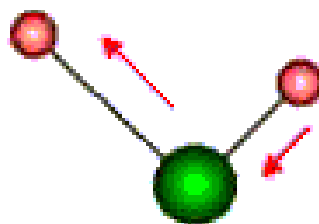
# Pohyb atomů v molekule

## VIBRACE

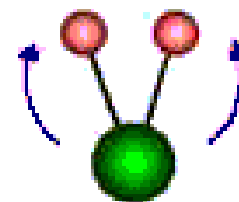
### TYPY VIBRAČNÍCH POHYBŮ



**symetrická  
valenční**



**antisymetrická  
valenční**



**deformační  
nůžková**

# Pohyb atomů v molekule

## VIBRACE

### POPIS VIBRACÍ

#### FREKVENCE

- klíčová informace pro **STRUKTURNÍ ANALÝZU**

\* HMOTNOST ATOMŮ, SÍLA VAZEB

- **ROZKMIT**

- **KŘIVKA POTENCIÁLOVÉ ENERGIE**

  - › **HARMONICKÝ OSCILÁTOR**

  - › **ANHARMONICKÝ OSCILÁTOR**

    - » **VALENČNÍ VIBRACE**

    - » **DEFORMAČNÍ VIBRACE**

- **SADA STAVŮ - ENERGETICKÝCH HLADIN**

# Pohyb atomů v molekule

## VIBRACE

### TEORETICKÉ VÝPOČTY VIBRAČNÍCH MODŮ

- **KVANTOVĚ CHEMICKÉ VÝPOČTY**

- *ab initio*

- *empirické*

- \* ROVNOVÁŽNÉ POLOHY ATOMŮ

- \* HMOTNOST ATOMŮ

- \* SILOVÉ POLE MOLEKULY (SÍLA VAZEB)

- **APROXIMACE PŘI VÝPOČTECH**

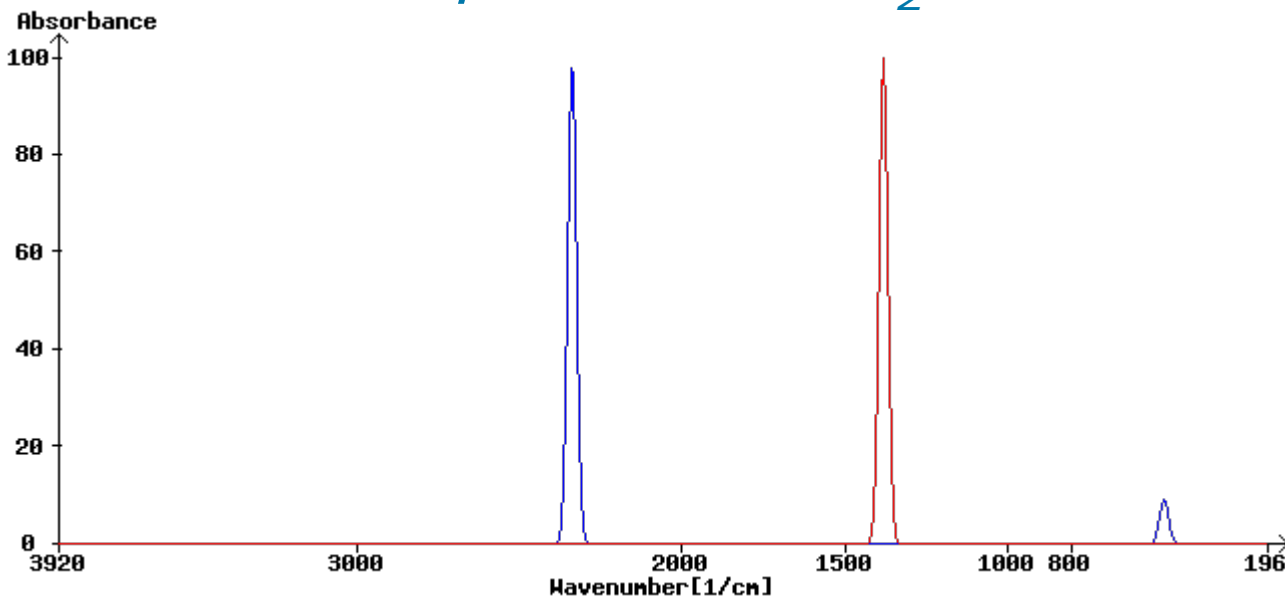
- VLIV RŮZNÝCH TYPŮ INTRA- A INTER-MOLEKULÁRNÍCH INTERAKCÍ

# Pohyb atomů v molekule

## VIBRACE

### TEORETICKÉ VÝPOČTY VIBRAČNÍCH MODŮ

*IR/Raman Spectra of CO<sub>2</sub>*



IR:	calculated (3557 data points)	Structure:	CO <sub>2</sub>	<chem>O=C=O</chem>
Origin:	Vamp7.0	Method:	PM3	
Author:	WWW daemon apache	Date:	2005-09-05 14:38:02	
From:	3920.0 [1/cm]	To:	196.0 [1/cm]	
Xunit:	[1/cm]	Yunit:	Absorbance	

# Pohyb atomů v molekule

## VIBRACE

### TEORETICKÉ VÝPOČTY VIBRAČNÍCH MODŮ

*IR/Raman Spectra of CO<sub>2</sub>*

Normal Vibrations:  
Click on the wave number to see corresponding 3D normal vibration

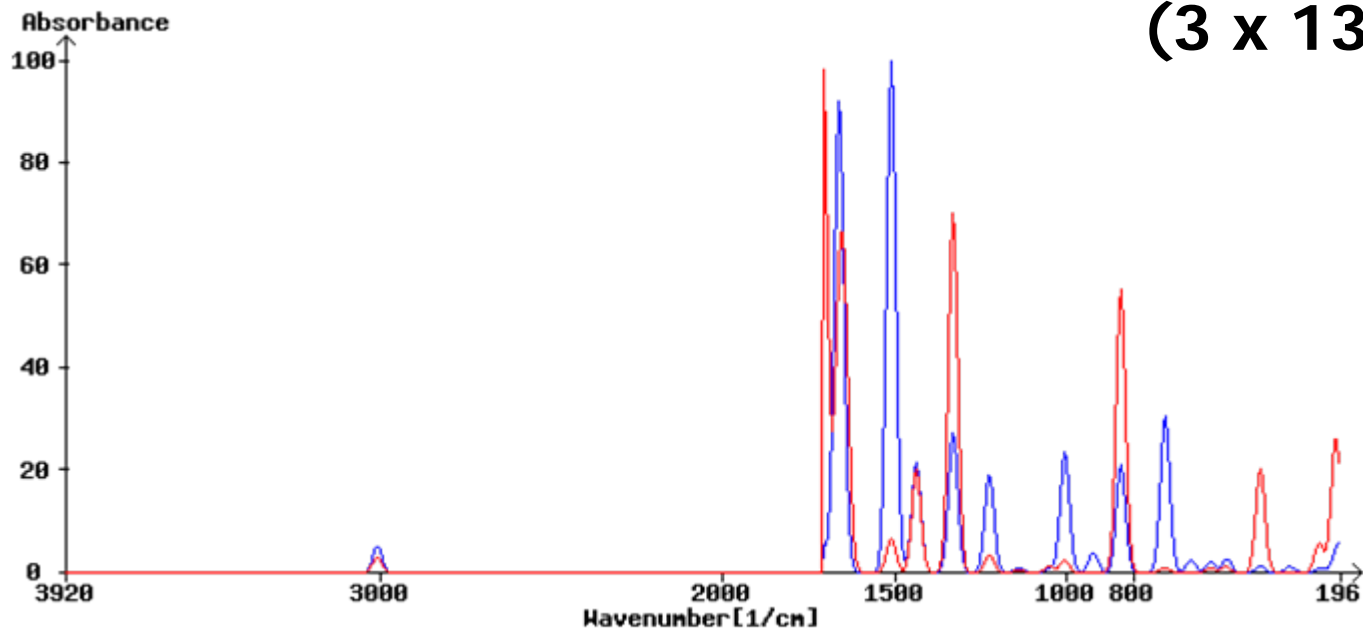
Peakname	[1/cm]	IR Intensity	Raman Intensity	Peakname	[1/cm]	IR Intensity	Raman Intensity
4 SIU	2339.06	100.000	0.000	3 PIU	516.85	4.693	0.000
1 SIG	1379.97	0.000	100.000	3 PIU	514.62	4.689	0.000

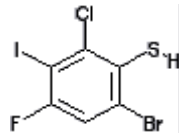
# Pohyb atomů v molekule

## TEORETICKÉ VÝPOČTY VIBRAČNÍCH MODŮ

### *IR/Raman Spectra of C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>BrClFIS*

$$(3 \times 13) - 6 = 33$$



IR:	calculated (3557 data points)	Structure:	C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> BrClFIS	
Origin:	Vamp7.0	Method:	PM3	
Author:	WWW daemon apache	Date:	2005-09-05 16:15:10	
From:	3920.0 [1/cm]	To:	196.0 [1/cm]	
Xunit:	[1/cm]	Yunit:	Absorbance	

# IR/Raman Spectra of C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>BrCIFIS

Peakname	[1/cm]	IR Intensity	Raman Intensity	Peakname	[1/cm]	IR Intensity	Raman Intensity
33 A	3010.89	5.214	2.861	16 A	576.98	2.183	0.938
32 A	1800.38	45.395	65.419	15 A	531.99	1.578	1.153
31 A	1709.01	5.227	100.000	14 A	524.55	1.039	0.000
30 A	1662.21	91.305	46.787	13 A	431.24	1.407	20.471
29 A	1643.51	4.218	39.684	12 A	346.34	1.080	0.001
28 A	1509.32	100.000	6.542	11 A	324.58	0.229	0.069
27 A	1436.06	21.370	20.223	10 A	259.80	0.699	5.791
26 A	1328.75	27.595	70.763	9 A	233.78	0.260	0.001
25 A	1222.94	19.341	3.487	8 A	211.48	1.546	26.381
24 A	1135.48	1.029	0.452	7 A	201.60	3.966	0.000
23 A	1046.47	0.864	1.370	6 A	188.00	1.191	2.001
22 A	1002.52	23.849	2.397	5 A	154.21	0.235	3.066
21 A	919.24	3.910	0.001	4 A	153.38	0.549	0.008
20 A	838.63	21.114	55.658	3 A	118.75	0.411	1.463
19 A	758.30	0.113	0.000	2 A	67.89	0.156	0.000
18 A	709.39	30.864	0.984	1 A	54.91	0.228	0.000
17 A	633.68	2.353	0.004				



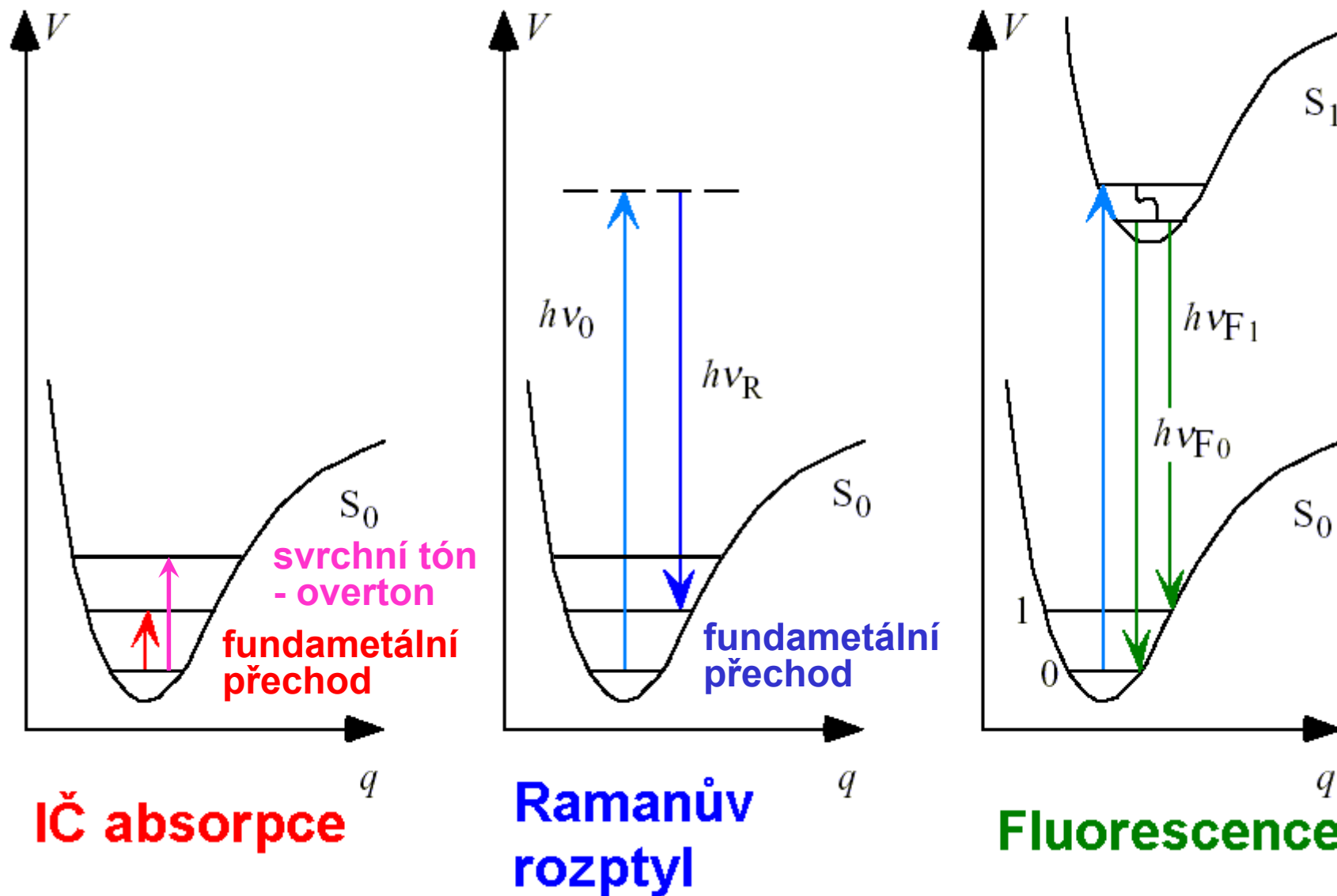
# Pohyb atomů v molekule

## VIBRACE

### EXPERIMENTÁLNÍ MĚŘENÍ VIBRAČNÍCH SPEKTER

- GENEROVÁNÍ VIBRAČNĚ EXCITOVANÝCH STAVŮ
- ENERGIE VIBRAČNÍHO PŘECHODU  
úměrná VIBRAČNÍ FREKVENCI
- **INFRAČERVENÁ SPEKTRA**
  - EXCITACE ABSORPCÍ INFRAČERVENÉHO ZÁŘENÍ
- **RAMANOVA SPEKTRA**
  - NEELASTICKÝ ROZPTYL SVĚTLA

# Schéma hladin



# Infračervená spektrometrie

## Podstata infračervené absorpce

jednofotonový přechod  
mezi dvěma  
**vibračními (vibračně-rotačními) stavy molekuly,**  
jejichž energie jsou  $E_1$  a  $E_2$ ,  
vyvolaný interakcí s fotonem dopadajícího  
záření

$$h\nu_{\text{abs}} = |E_2 - E_1|$$

$$h\nu_{\text{vib}} = |E_2 - E_1|$$

pro fundamentální přechody

# Infračervená spektrometrie

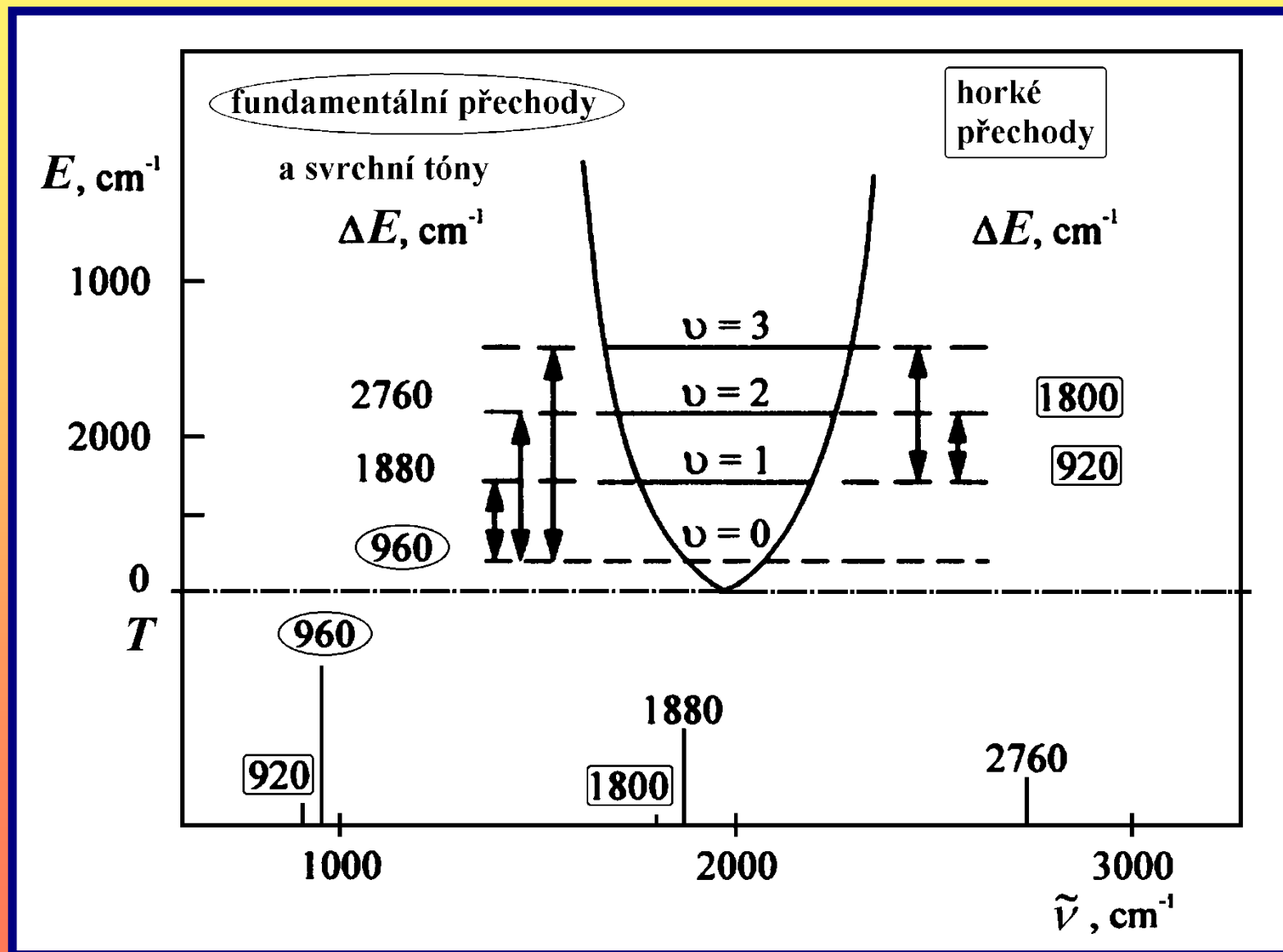
## Podstata infračervené absorpce

přechody mezi

## vibračními (vibračně-rotačními) stavy

- typy možných přechodů při absorpci IČ záření
  - v rámci jednoho vibračního modu
    - fundamentální (změna kvantového čísla o jednotku)
    - vyšší harmonické - svrchní tóny
  - zahrnuto více vibračních modů
    - kombinační

# Infračervená spektrometrie



# Infračervená spektrometrie

## Oscilující dipólový moment

pohyb molekuly spojený se změnou elektrického dipolového momentu vede k absorpci (nebo k emisi) záření

$$p = p_0 + \left( \frac{\partial p}{\partial q} \right)_0 q$$

$p$  - aktuální dipólový moment

$p_0$  - dipólový moment v rovnovážné poloze

$q$  - normální souřadnice vibračního módu

# Infračervená spektrometrie

**Základní výběrové pravidlo  
infračervené absorpce**

$$\frac{\partial p}{\partial q} \neq 0$$

***INTENZITA PÁSŮ ÚMĚRNÁ ZMĚNĚ  
DIPOLOVÉHO MOMENTU BĚHEM  
VIBRAČNÍHO POHYBU***

# Infračervená spektrometrie

$$\frac{\partial p}{\partial q} = 0$$

**NEABSORBUJÍ**

**IČ záření**

**O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>**

**prášková síra**

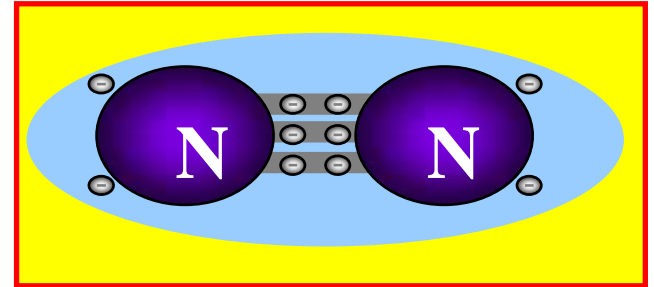
**křemík**

**uhlík - grafit, diamanty**

**látka, která neabsorbuje IČ záření,**

**ho může reflektovat,**

**může ho též rozptylovat**

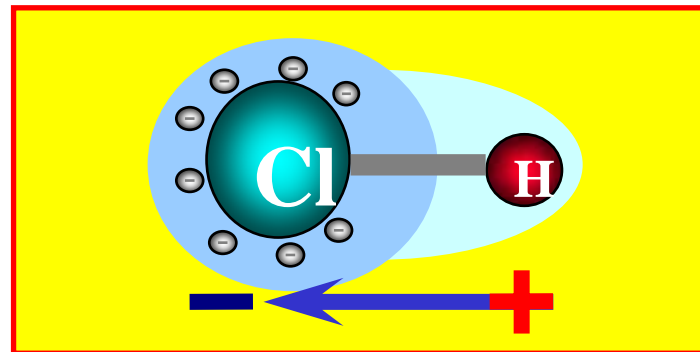




# Infračervená spektrometrie

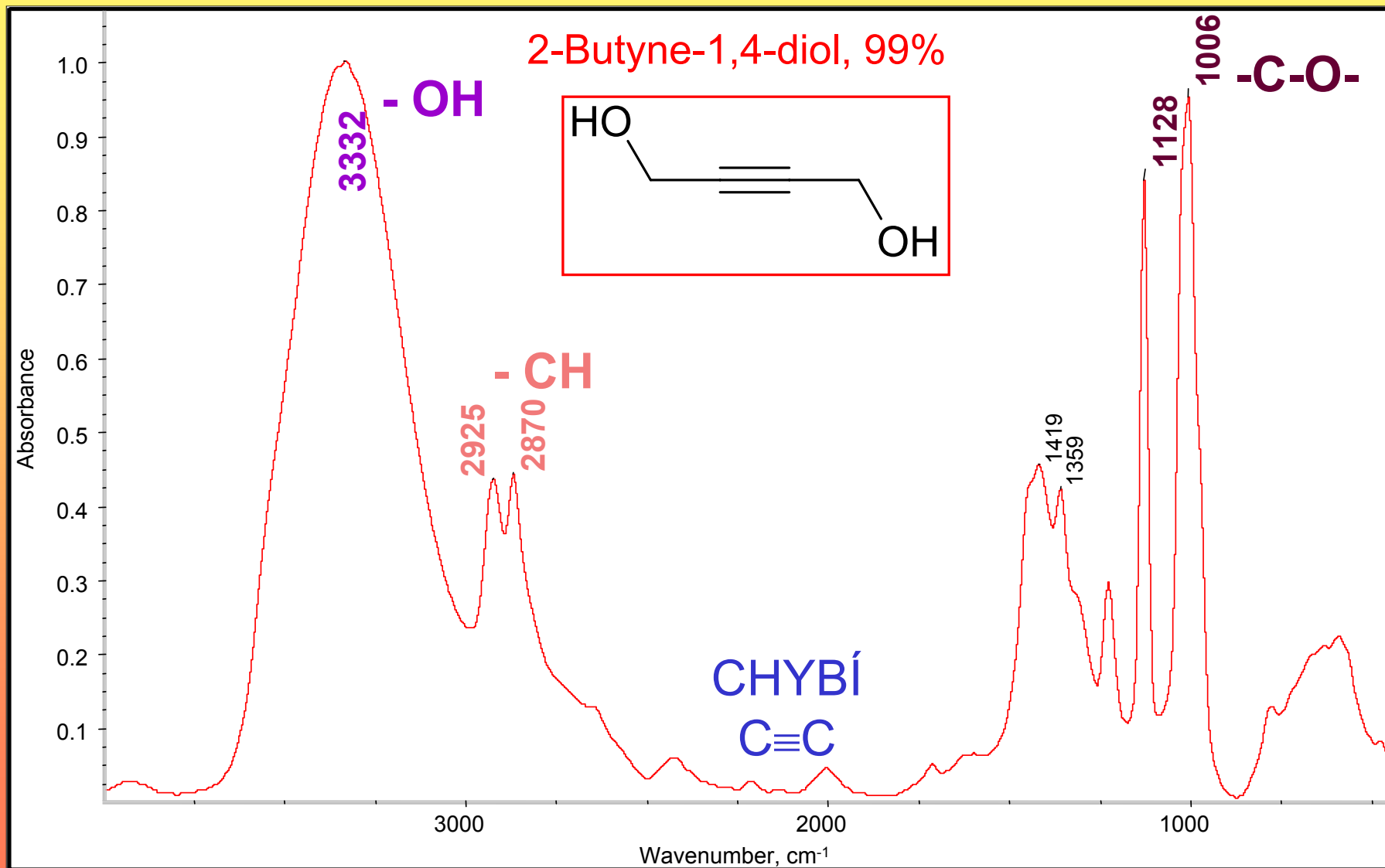
$$\frac{\partial p}{\partial q} \neq 0$$

**SILNĚ ABSORBUJÍ**  
**IČ záření**



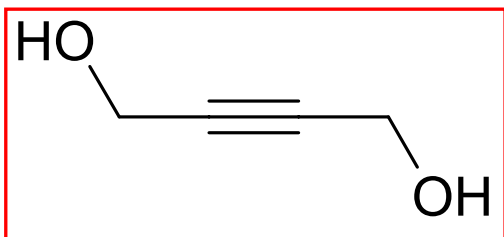
**HCl, H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, N<sub>x</sub>O<sub>y</sub> – skleníkové plyny**  
**alkoholy, karbonylové a karboxylové sloučeniny**  
**nitroderiváty, sulfo-deriváty**  
**halogenderiváty**  
**anorganické soli a komplexní sloučeniny**

# Infračervená spektrometrie

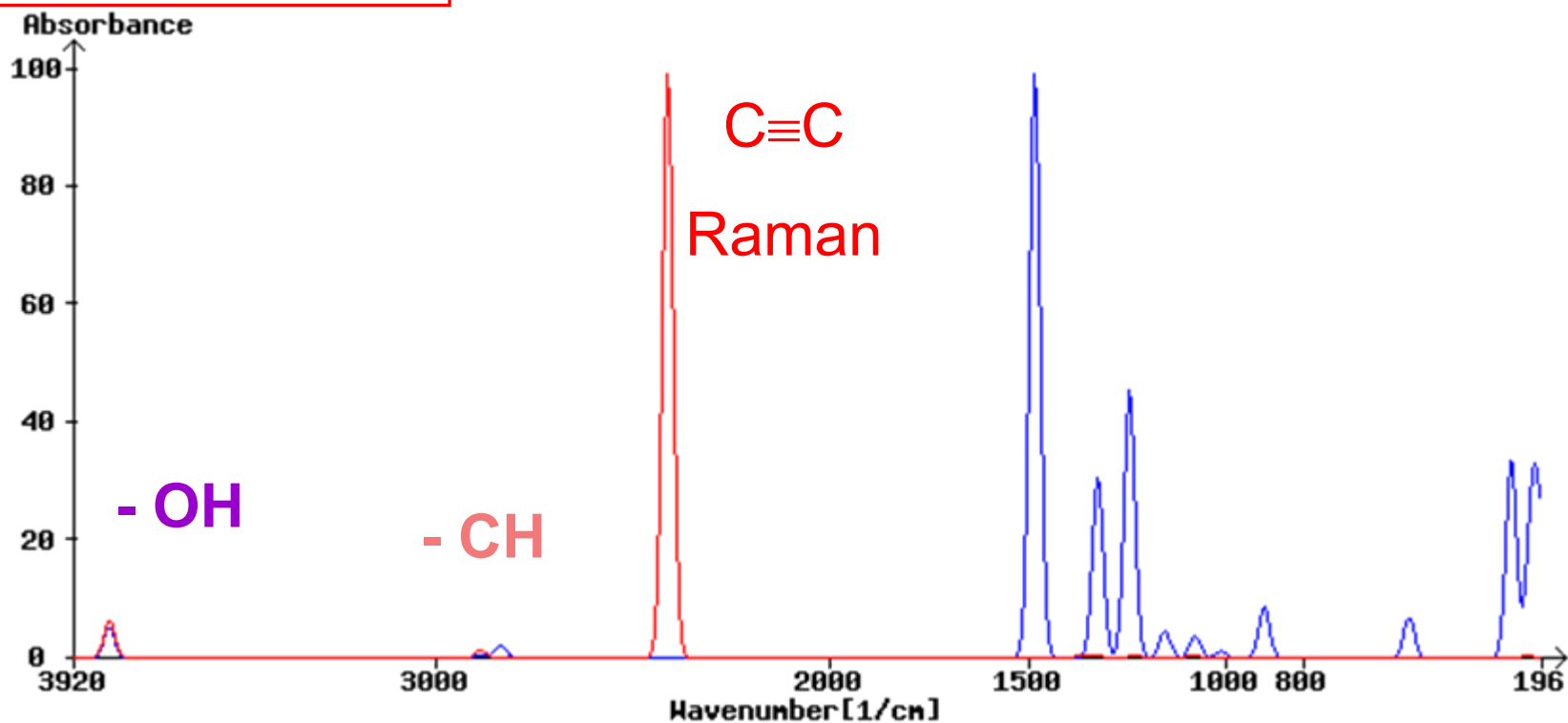
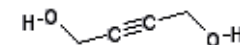


# Infračervená spektrometrie

2-Butyne-1,4-diol, 99%



IR:	calculated (3557 data points)	Structure:	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
Origin:	Vamp7.0	Method:	PM3
Author:	WWW daemon apache	Date:	2005-09-05 15:01:13
From:	3920.0 [1/cm]	To:	196.0 [1/cm]
Xunit:	[1/cm]	Yunit:	Absorbance



# Infračervená spektrometrie

2-Butyne-1,4-diol, 99% - 12 atomů

Normal Vibrations:

Click on the wave number to see corresponding 3D normal vibration

Peakname	[1/cm]	IR Intensity	Raman Intensity	Peakname	[1/cm]	IR Intensity	Raman Intensity
30 A	3830.30	3.452	2.118	16 A	1078.01	0.000	0.532
29 A	3830.27	1.641	4.440	15 A	1075.70	3.665	0.000
28 A	2887.79	0.507	0.040	13 A	1010.01	1.134	0.000
27 A	2887.47	0.015	1.279	11 A	901.26	8.723	0.000
26 A	2837.91	2.054	0.000	10 A	815.80	0.000	0.188
25 A	2837.68	0.114	0.000	9 A	622.15	0.000	0.160
24 A	2413.72	0.000	100.000	8 A	533.46	6.858	0.000
23 A	1482.66	100.000	0.000	7 A	471.99	0.000	0.000
22 A	1364.99	0.000	0.444	6 A	274.10	33.914	0.000
21 A	1323.06	30.805	0.000	5 A	235.36	0.159	0.419
20 A	1322.73	0.005	0.393	4 A	222.13	25.474	0.000
19 A	1242.50	45.661	0.000	3 A	200.94	19.550	0.000
18 A	1228.56	0.030	0.533	2 A	114.09	13.314	0.000
17 A	1152.97	4.665	0.000	1 A	-18.45	8.758	0.000

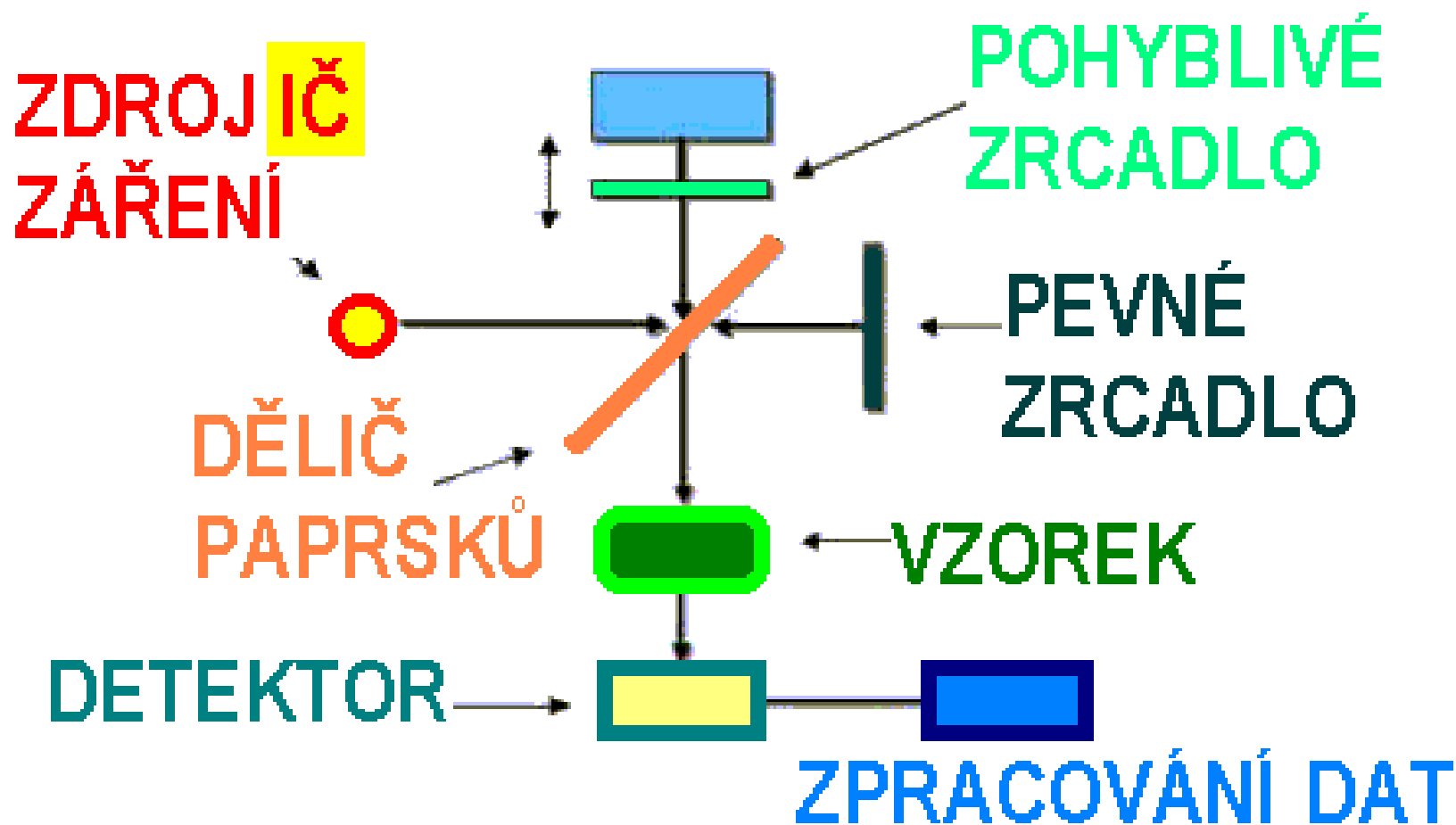
# **Infračervená spektrometrie**

## **ANALYZOVANÉ TYPY MATERIÁLŮ**

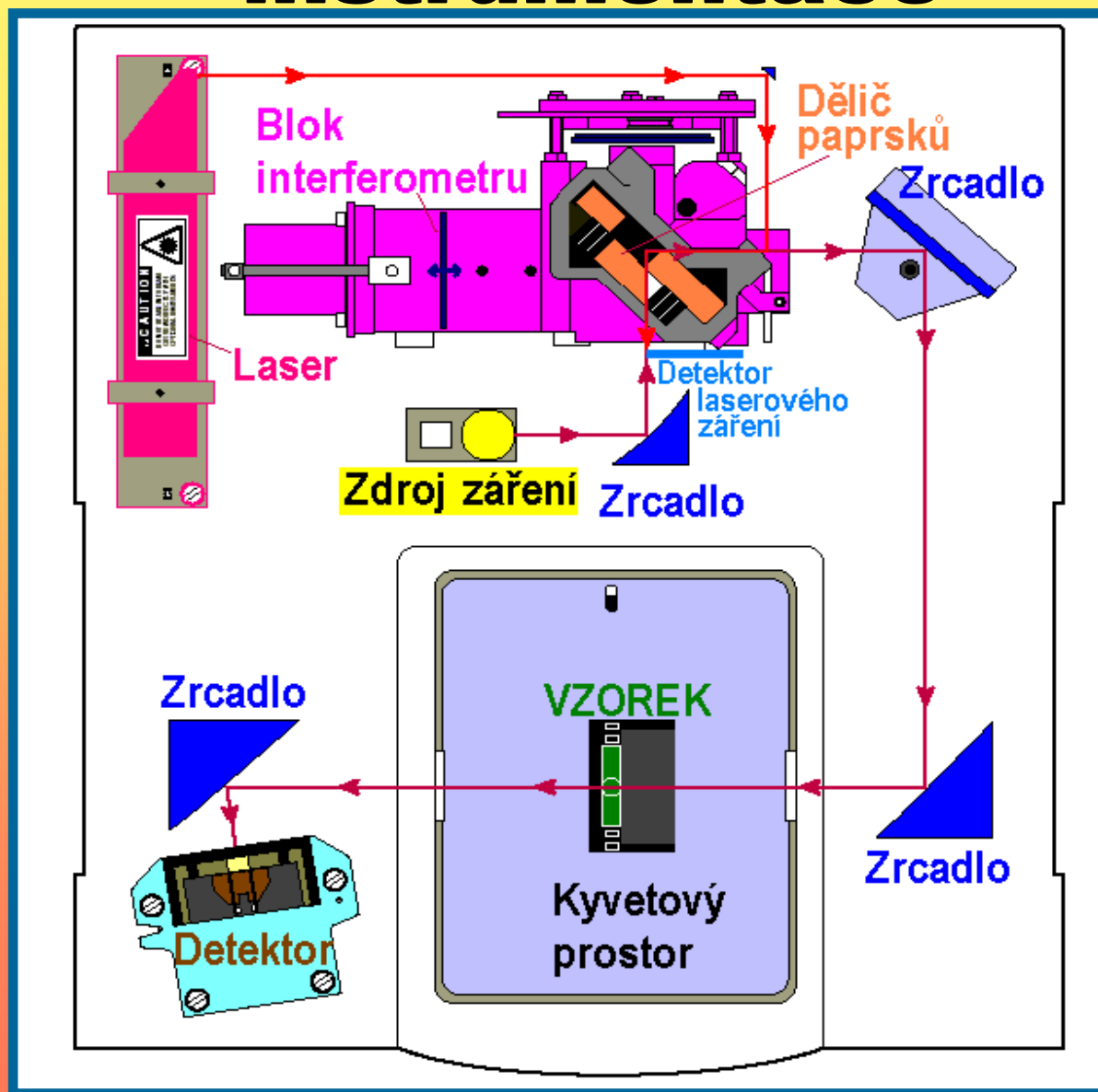
- plyny - analýza složení zemního plynu**
  - monitoring vzdušných polutantů**
- kapaliny, roztoky - analýza olejů**
  - analýza odpadních vod**
  - analýza mléka**
- práškové vzorky - analýza léčiv, drog, trhavin**
  - analýza rud, hnojiv**
- fázové rozhraní - povrchová analýza**

# Infračervená spektrometrie - instrumentace

## PRINCIP FTIR spektrometru



# Infračervená spektrometrie - instrumentace



# **Infračervená spektrometrie**

## **- instrumentace**

### **ČÁSTI FTIR SPEKTROMETRU**

- **ZDROJ ZÁŘENÍ**

MIR, FIR - keramická tyčinka žhavená na teplotu 1000 - 1200°C - SiC, Globar

FIR - rtuťová výbojka

NIR - žárovka - wolframová, wolfram-halogenová  
všechny rozsahy – **synchrotronové záření**

- **DĚLIČ PAPRSKŮ**

MIR - Ge povlak na KBr, ZnSe, CsI

NIR - Si povlak na CaF<sub>2</sub>, či křemeni

FIR - kovová síťka, PET-Mylar



# **Infračervená spektrometrie**

## **- instrumentace**

### **ČÁSTI FTIR SPEKTROMETRU**

- **DETEKTOR ZÁŘENÍ**

MIR - DTGS (deuteriumtriglycin sulfát)

- MCT (mercury-cadmium-telurid)

NIR - PbSe, PbS, InSb, Ge, MCT

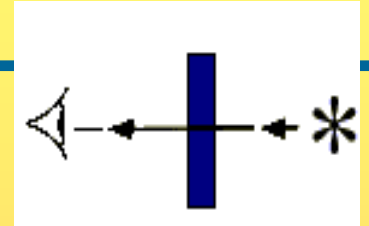
FIR - DTGS, GaAs-Zn

- **DALŠÍ PRVKY**

NaCl, KBr, ZnSe, CaF<sub>2</sub>, CsI, křemík, diamant

# Infračervená spektrometrie

## - TRANSMISNÍ MĚŘENÍ

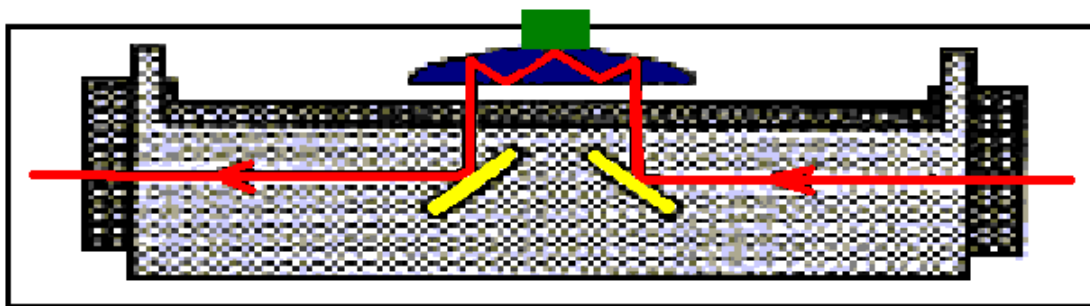
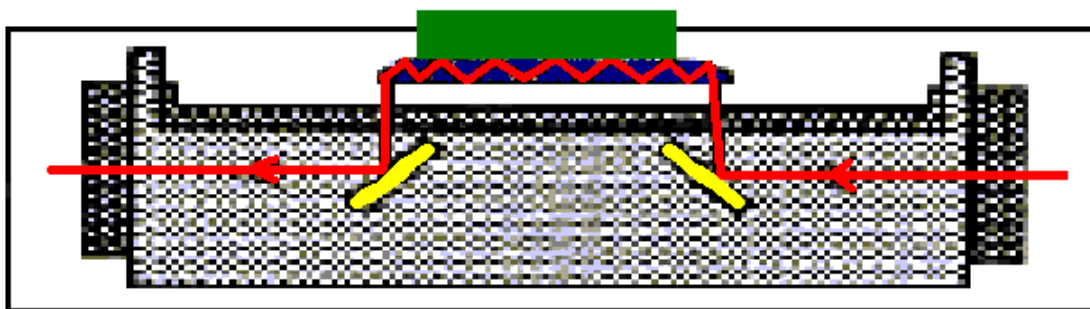


- plyny - plynové kyvety - optická délka 1 cm - 10 m
- roztoky - kapalinové kyvety - 0,01 mm - 10 mm
- kapaliny - kapalinové kyvety - 0,002 mm - 0,05 mm
- pevné látky - suspenze s Nujolem, Fluorolube - kapalinové kyvety
- tablety s KBr

# Infračervená spektrometrie

## - Reflexní techniky

ATR

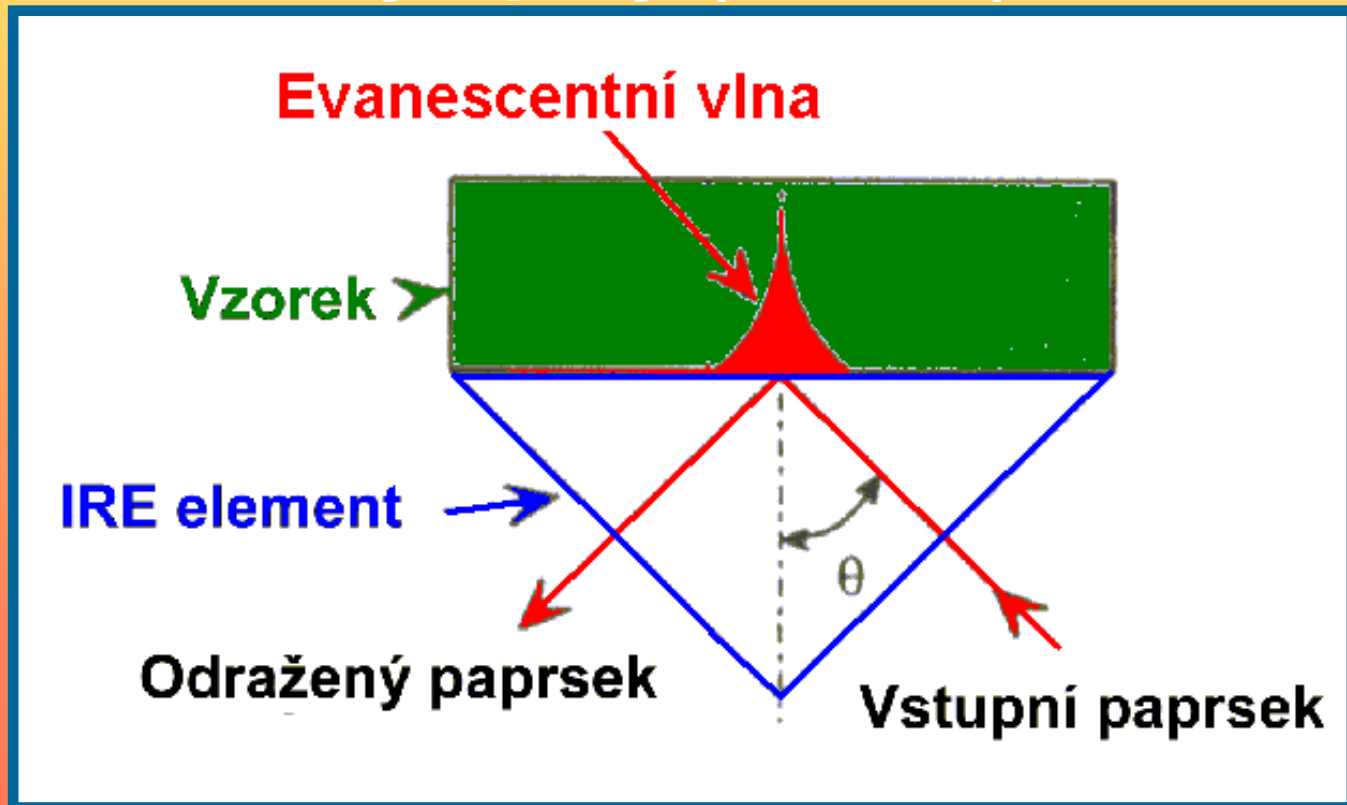


# Infračervená spektrometrie

## - Reflexní techniky

ATR - attenuated total reflection

- zeslabený úplný (vnitřní) odraz



# Infračervená spektrometrie

- Faktory, které ovlivňují ATR spektrální analýzu

**POUZE ODRAZ - NIKOLI LOM !**

- Vlnová délka infračerveného záření
- Index lomu IRE a vzorku
- Hloubka průniku
- Efektivní délka dráhy
- Úhel dopadu
- Účinnost kontaktu se vzorkem
- Materiál IRE (ATR krystalu)



# Infračervená spektrometrie

- **Vlnová délka infračerveného záření**
  - **Hloubka proniknutí infračerveného záření je závislá na vlnové délce tohoto záření.**
  - **S rostoucí vlnovou délkou infračerveného záření roste hloubka proniknutí,**  
tj. proniknutí klesá s rostoucím vlnočtem.
    - **Oproti transmisním spektrům jsou zvýrazněny intenzity pásů v oblasti nízkých vlnočtů vůči pásům při vyšších vlnočtech.**

# Infračervená spektrometrie

## - Index lomu IRE a vzorku

- KRITICKÝ ÚHEL - pouze odraz, nikoli lom

S růstem indexu lomu materiálu IRE klesá kritický úhel  $\theta_c$  .

Kritický úhel - funkcí indexů lomu vzorku a ATR krystalu :

$$\theta_c = \sin^{-1}\left(\frac{n_2}{n_1}\right) = \arcsin\left(\frac{n_2}{n_1}\right)$$

$n_1$  - index lomu ATR krystalu

$n_2$  - index lomu vzorku

**Vysoký index lomu ATR-krystalu  
je nutný**

**při analýze materiálů s vysokým indexem lomu.**

# Infračervená spektrometrie

## - Index lomu IRE a vzorku

- HLOUBKA PRŮNIKU

Hloubka proniknutí -  $dp$

vzdálenost od fázového rozhraní mezi krystalem a vzorkem k vrstvě ve vzorku,

kde je **intenzita evanescentní vlny zeslabena až na 1/e** (přibližně 37%) z její původní hodnoty.

$$dp = \frac{\lambda}{2 \pi n_1 \sqrt{\left(\sin^2 \theta - n_{21}^2\right)}}$$



# Infračervená spektrometrie

## - Index lomu IRE a vzorku

- HLOUBKA PRŮNIKU

S rostoucím indexem lomu IRE klesá hloubka proniknutí. Dále klesá efektivní dráha a tudíž klesá i “absorbance”.

Změn se dosahuje

- změnou úhlu odrazu *-realizováno změnou úhlu dopadu vstupujícího infračerveného záření na krystal pomocí otáčivého zrcadla*
- změnou indexu lomu krystalu

# Infračervená spektrometrie

Parametry různých materiálů  
používaných k výrobě ATR krystalu  
při vlnočtu  $1000 \text{ cm}^{-1}$

ATR kalkulace ( pro  $n_2 = 1,5$  při  $\tilde{\nu} = 1000 \text{ cm}^{-1}$ )

$\theta$	počet odrazů (HATR)	Materiál: ZnSe Index lomu: $n_1 = 2,4$ Spektrální rozsah: $20\ 000 - 650 \text{ cm}^{-1}$			Materiál: Ge Index lomu: $n_1 = 4$ Spektrální rozsah: $5\ 500 - 870 \text{ cm}^{-1}$			Materiál: AMTIR (As, Se, Ge sklo) Index lomu: $n_1 = 2,5$ Spektrální rozsah: $11\ 000 - 650 \text{ cm}^{-1}$		
		dp	EP	EPL( $\mu\text{m}$ )	dp	EP	EPL( $\mu\text{m}$ )	dp	EP	EPL( $\mu\text{m}$ )
30	21	-	-	-	1.2	0.84	17.68	-	-	-
40	14	<b>4.4</b>	3.26	45.64	<b>0.76</b>	0.30	4.24	<b>2.76</b>	1.84	38.75
45	12	<b>2.0</b>	1.01	12.12	<b>0.66</b>	0.22	2.59	<b>1.7</b>	0.81	9.68
50	10	<b>1.5</b>	0.58	5.82	<b>0.60</b>	0.16	1.62	<b>1.34</b>	0.49	4.93
55	8	<b>1.25</b>	0.39	3.11	<b>0.55</b>	0.12	0.992	<b>1.14</b>	0.34	2.71
60	7	<b>1.11</b>	0.28	1.94	<b>0.51</b>	0.10	0.672	<b>1.02</b>	0.24	1.72
$\theta_c$		38.6			22.0			36.9		

hloubka proniknutí (dp)  
průměrný efektivní průnik (EP)  
efektivní délka dráhy (EPL)

# Infračervená spektrometrie

## Účinnost kontaktu se vzorkem

evanescentní vlna

se zmenšuje (rozpadá) velmi rychle se vzdáleností od povrchu, tj. je důležité mít vzorek v dokonalém optickém kontaktu s krystalem

## Materiál krystalu

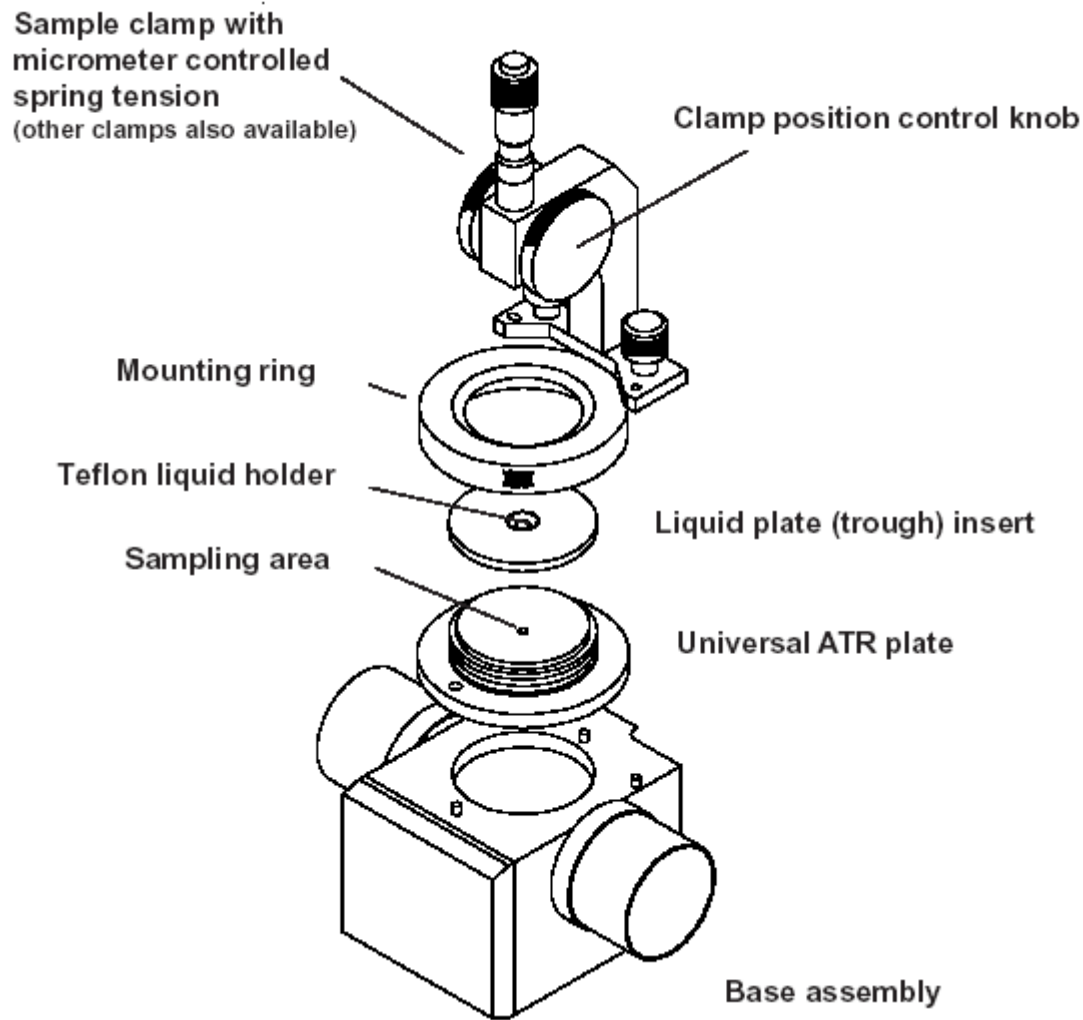
ZnSe, AMTIR (Se, Ge, As), Si, safír, diamant

## Vzorky

kapaliny, povrchové vrstvy na měkkém podkladu, měkké pevné vzorky, odparky

# Infračervená spektrometrie

## ATR - instrumentace



# ATR - instrumentace

MIRacle Pressure Clamps are Pinned-in-Place and Easily Upgraded



**MIRacle Digital Clamp**  
Ideal for Controlled Pressure



**MIRacle Rotating Clamp**  
Ideal for Cleaning Tip of Debris



**MIRacle Viewing Clamp**  
Ideal for Placing Fibers or Crystals



**MIRacle High-Pressure Clamp** – Ideal for Routine Sampling



**MIRacle Micrometer Clamp** – OK for Low Pressure Applications

## Slide 12

Sample should completely cover the ZnSe Crystal indicated with the arrow below.



## Slide 13

Be sure that the press is rotated completely to the lowest level.



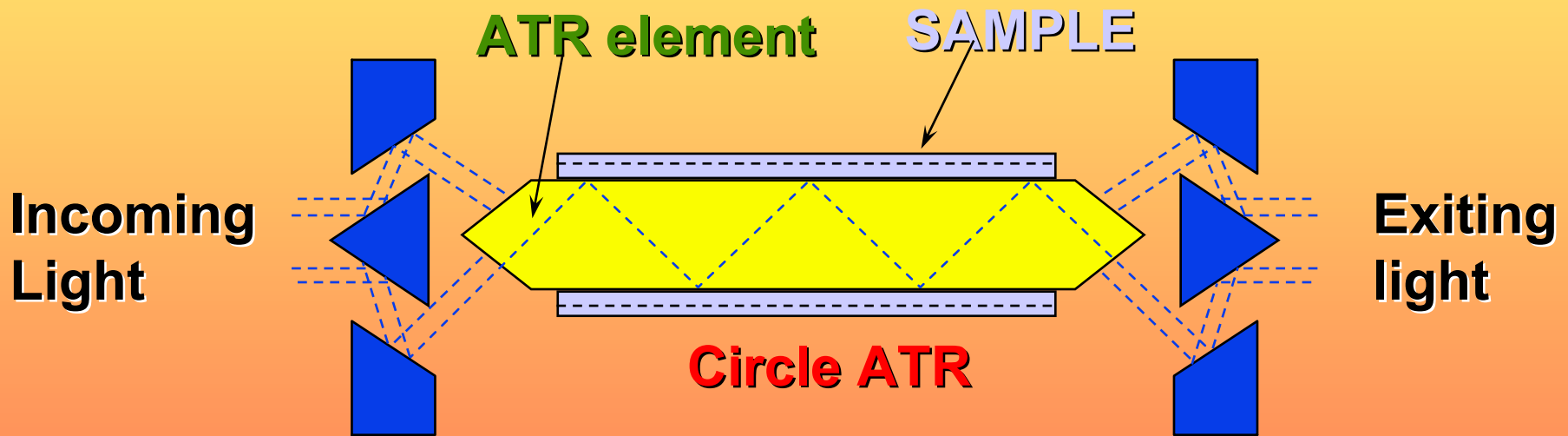
# ATR - instrumentace

HATR Accessory –  
in-compartment  
HATR for liquid  
and solid  
samples

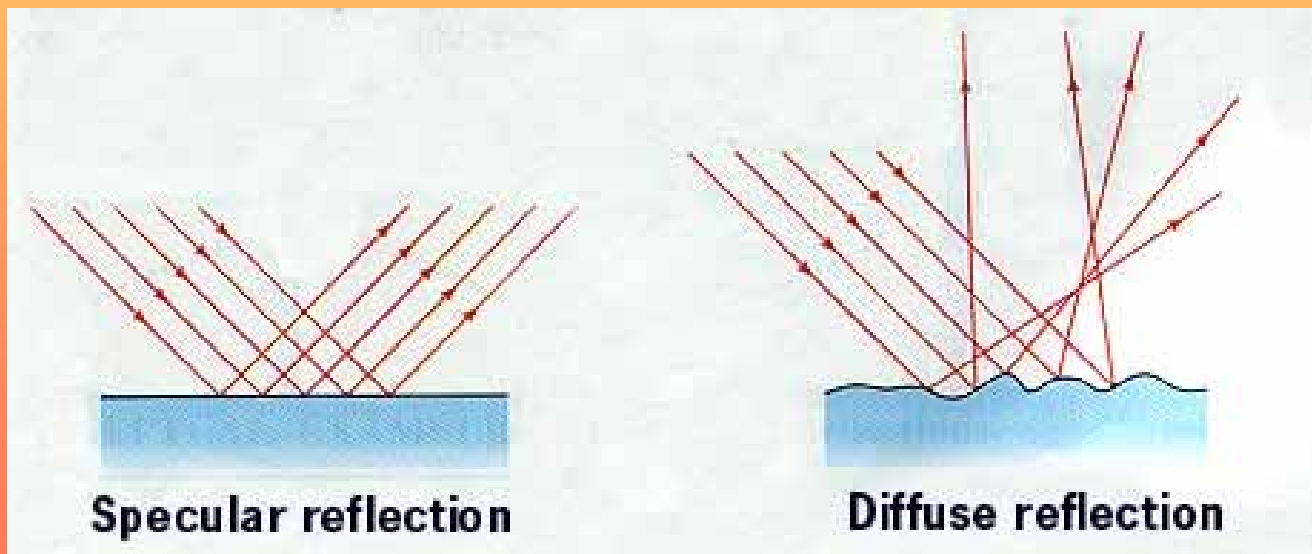
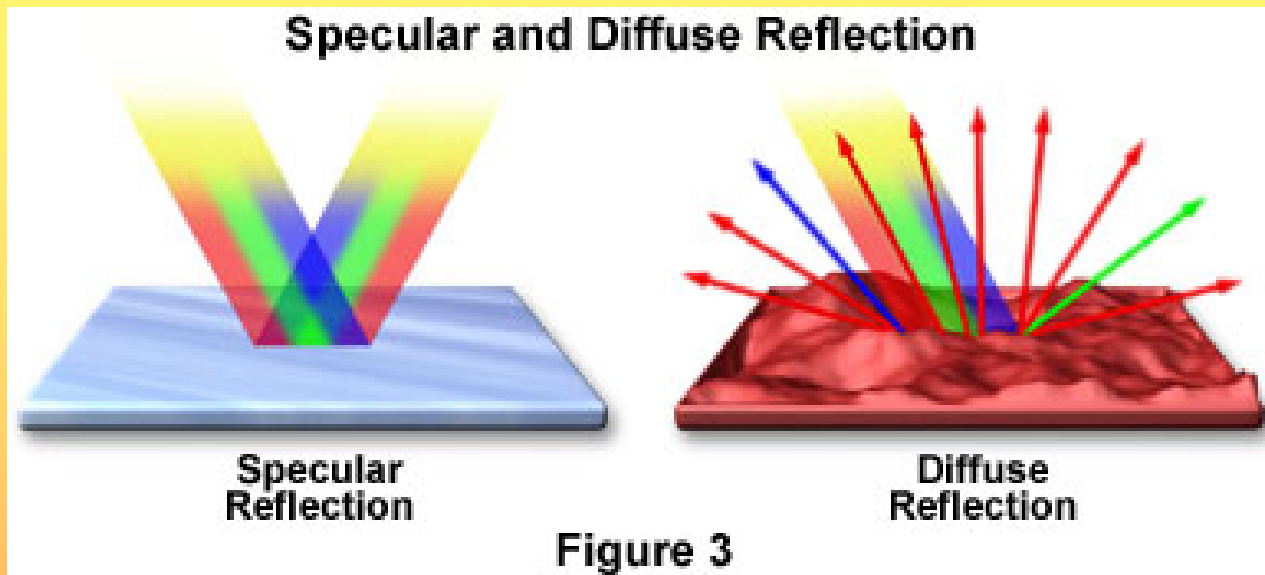


# Attenuated Total Reflection (ATR)

## Scheme of the Circle ATR Cell



# Spekulární vs. Difusní Reflexe

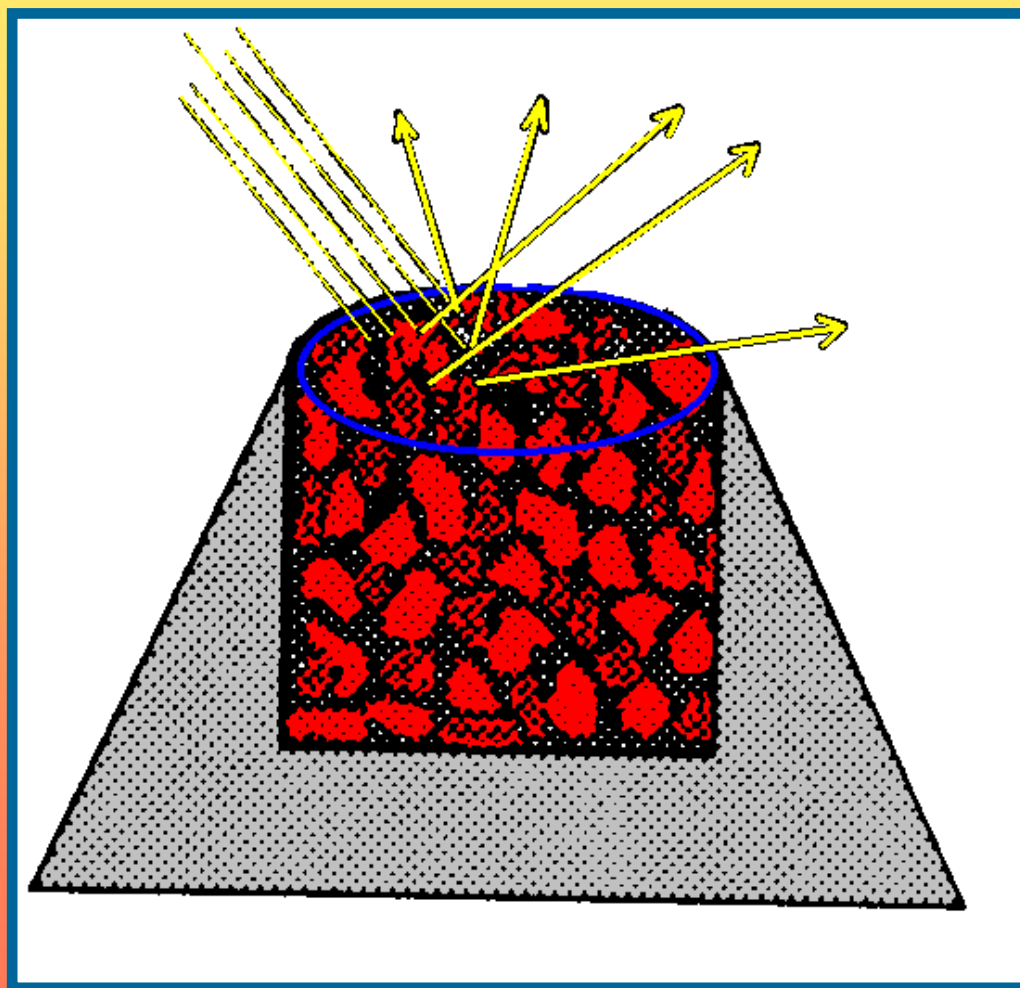




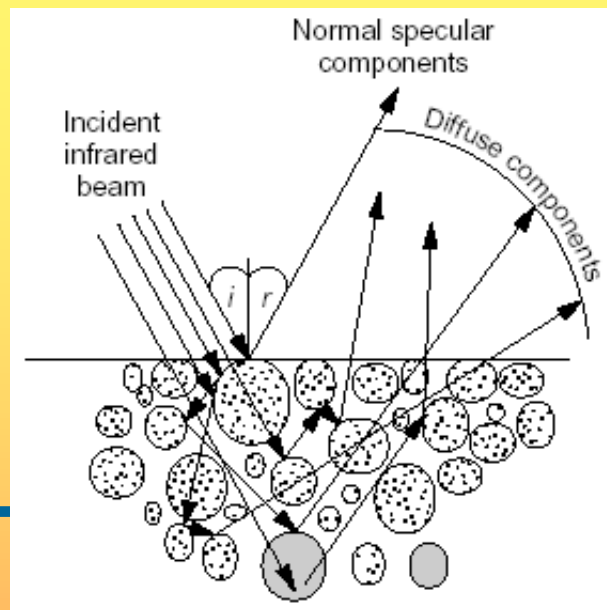
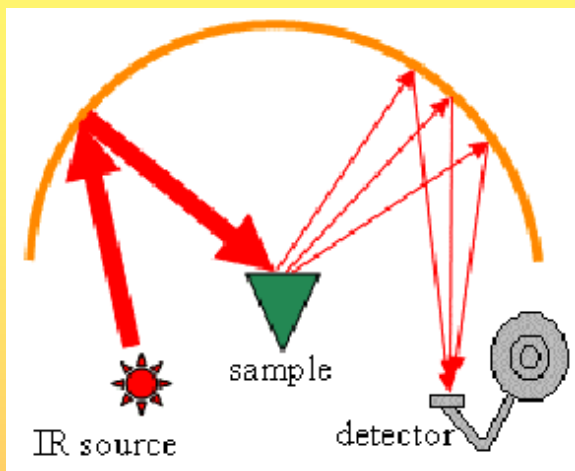
# Infračervená spektrometrie

## - Reflexní techniky

DRIFT – difusní reflexe



# Reflexní techniky



## **-DRIFT**

**-rychlé měření práškových vzorků**

**-- nízká opakovatelnost dat**

**- složitý fyzikální popis jevu**

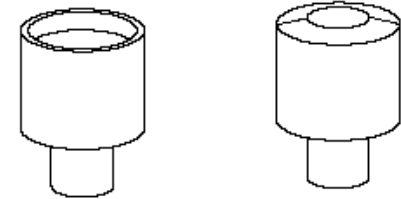
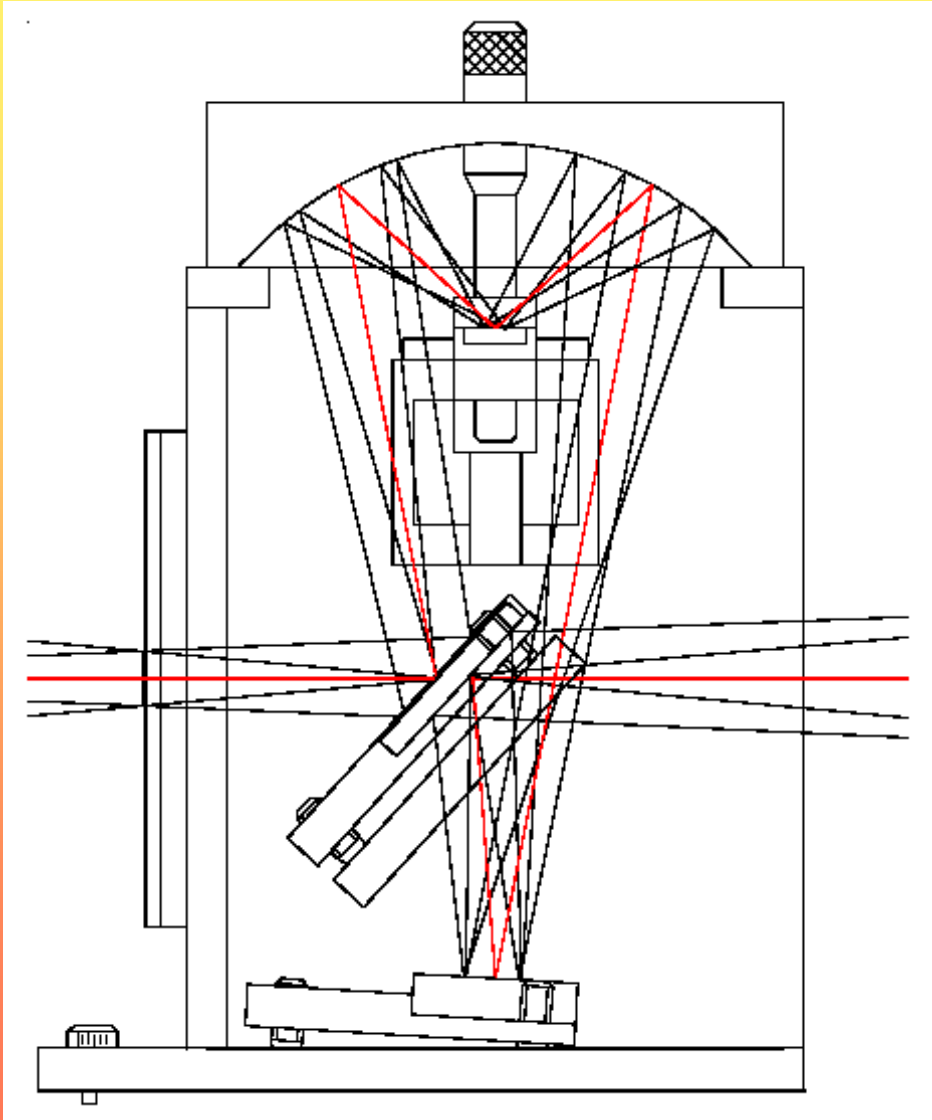
***tvar částic, „zhutnění“ vzorku***

***index lomu částic***

***reflektivita a absorpční vlastnosti částic***

# Diffuse Reflection

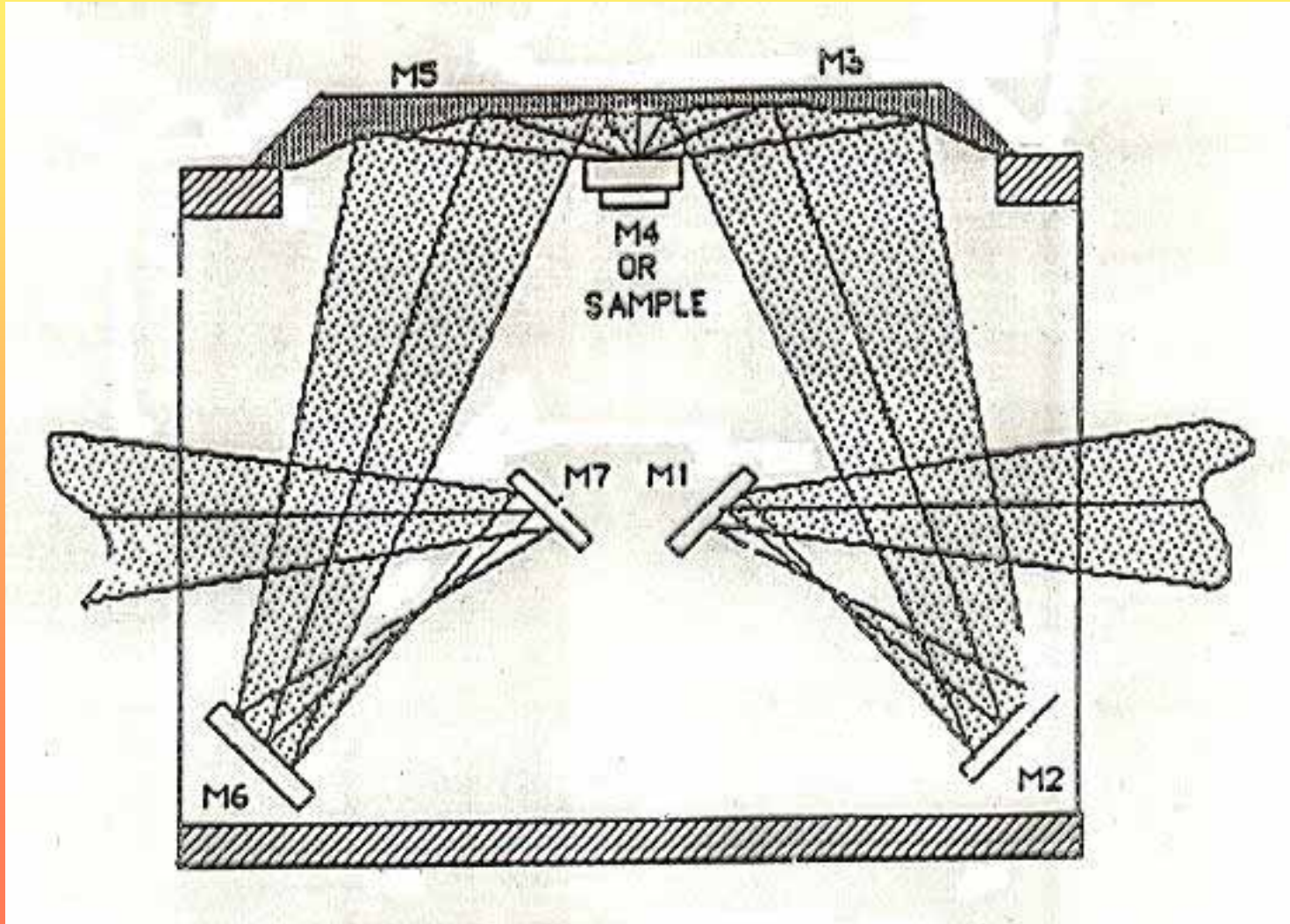
## Experimental Setup



Large and Small Sample Cups

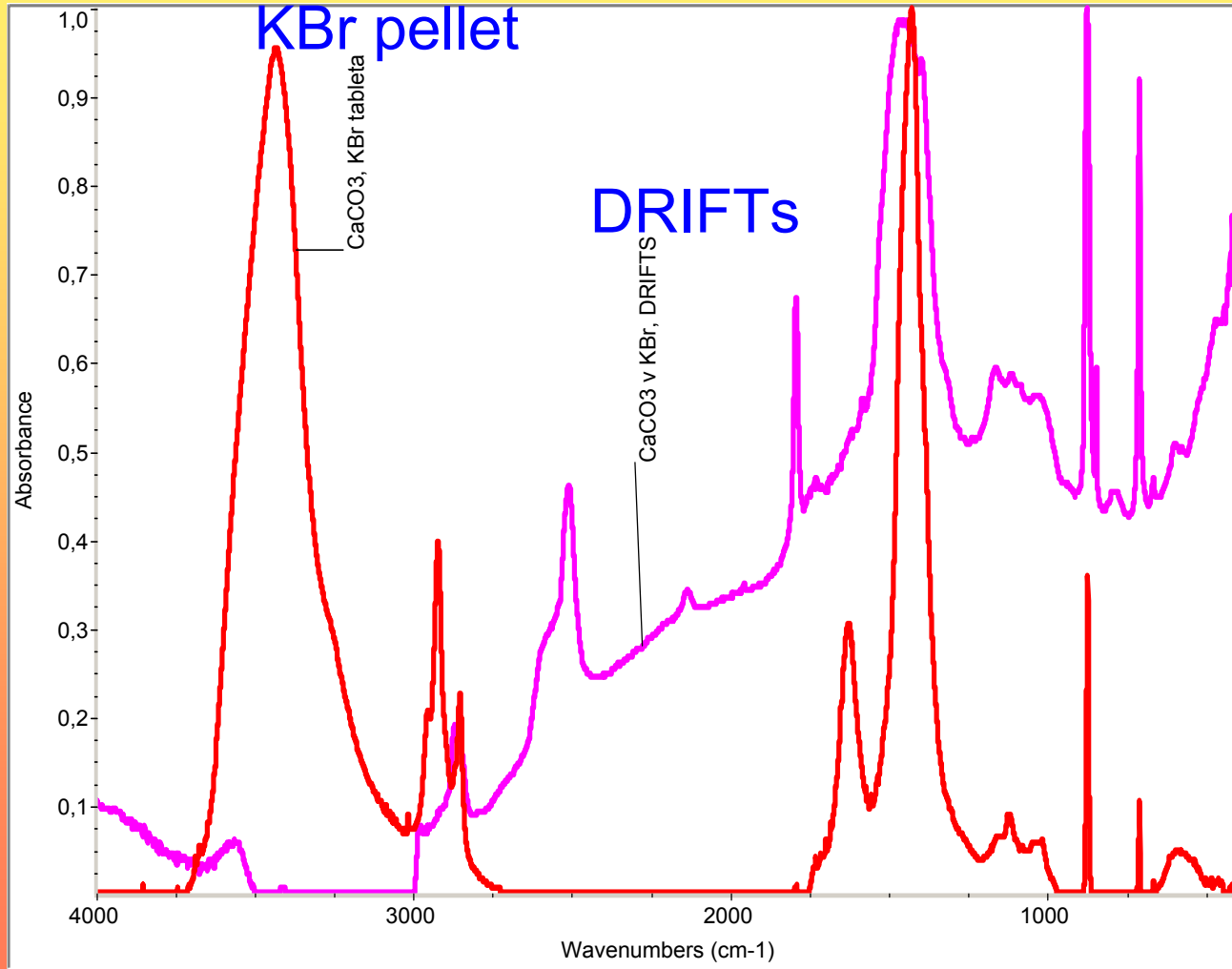
# Diffuse Reflection

## Experimental Setup – Different Geometry



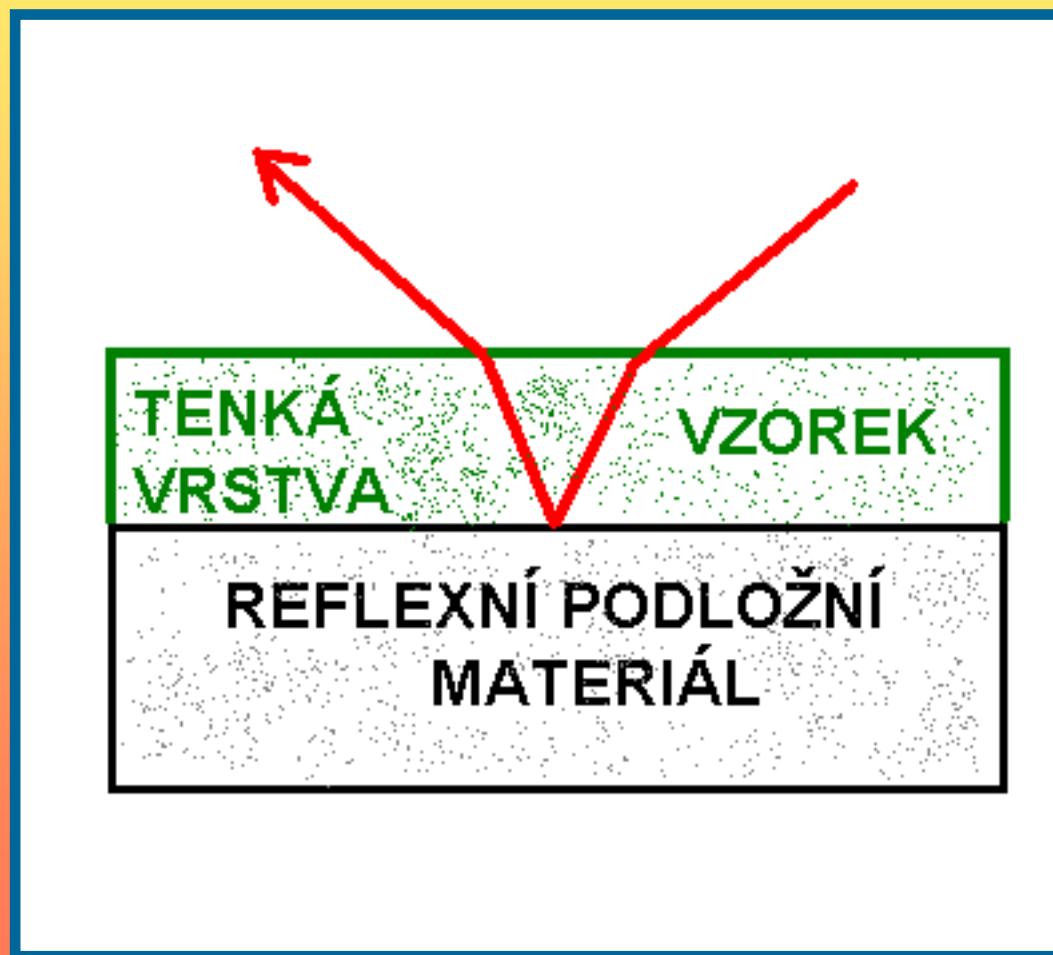
# Diffuse Reflection

## IR Spectra of $\text{CaCO}_3$



# Infračervená spektrometrie

## - Reflexní techniky SPEKULÁRNÍ REFLEXE



# Infračervená spektrometrie

## **- Reflexní techniky** **SPEKULÁRNÍ REFLEXE**

- měření tenkých vrstev až monomolekulárních
- pravý odraz na reflexním podkladu
  - *otázka úhlu dopadu*
  - *délka dráhy záření vrstvou*
  - *index lomu vrstvy*

# Specular Reflection

**If the surface is smooth like a mirror:**

- reflection and the incidence angles are equal
- reflected beam retains the polarization characteristics of the incidence beam

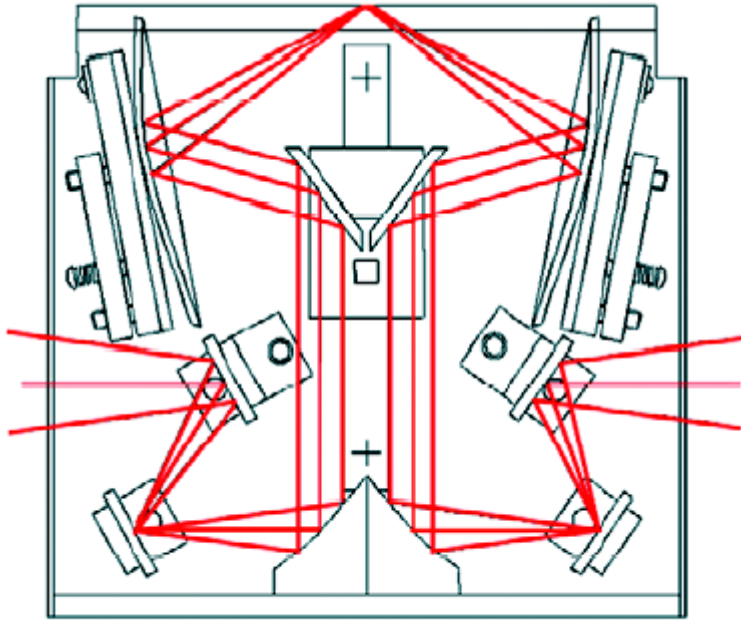
**Thin layers:** 0.5-20 mm  $\Rightarrow$  angle  $\sim 20-60^\circ \Rightarrow$  spectra similar to transmission ones

**Monomolecular layers:** angle  $\sim 60-85^\circ \Rightarrow$  spectra predominately a function of the **refractive index**  
 $\Rightarrow$  **derivative shape** of the bands arising from superposition of extinction coefficient and dispersion of refractive index



# Specular Reflection

## Experimental Setup



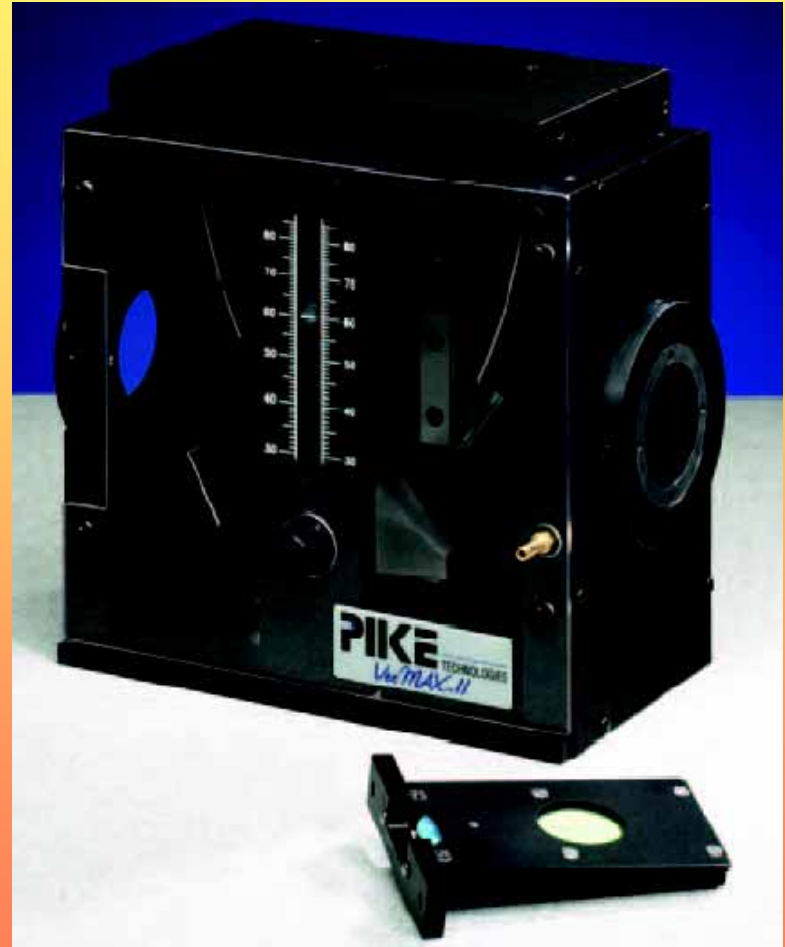
*Proprietary beam path within the VeeMax II Specular Reflectance accessory*

### - selection of incident angle

Incident angle influences

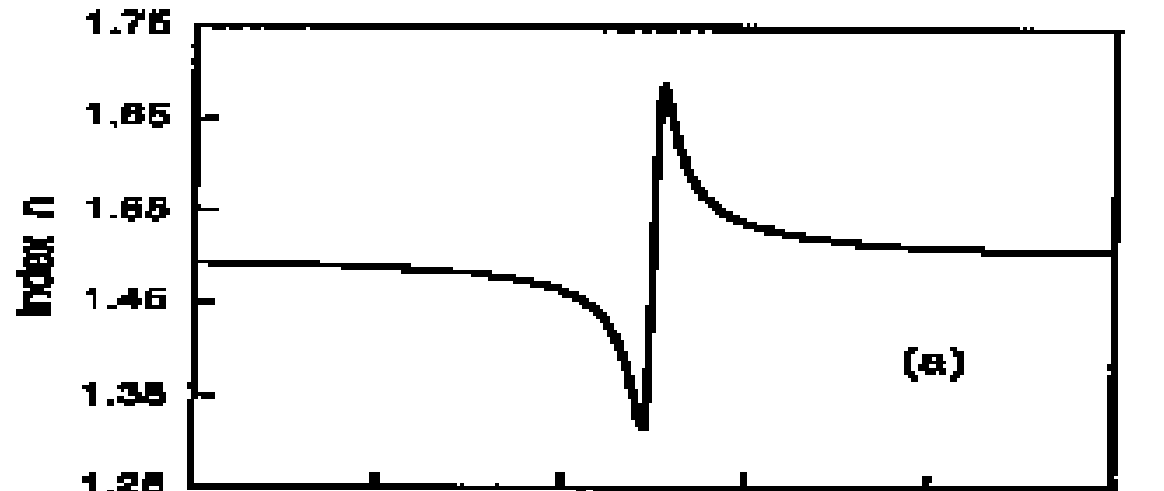
- effective pathlength

- polarized IR response

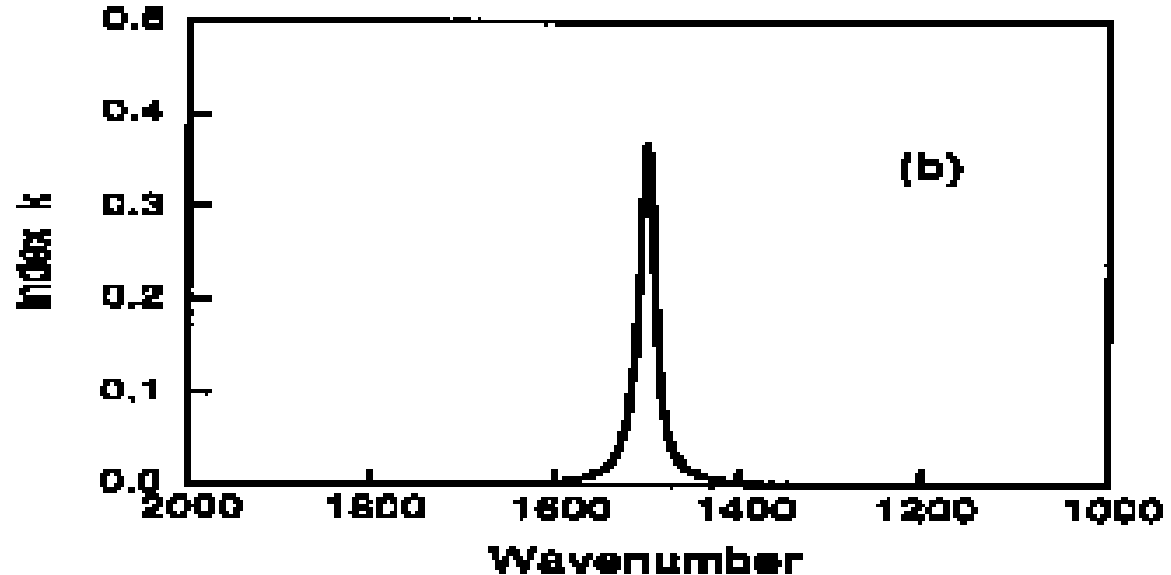


# Specular Reflection

Refractive  
index

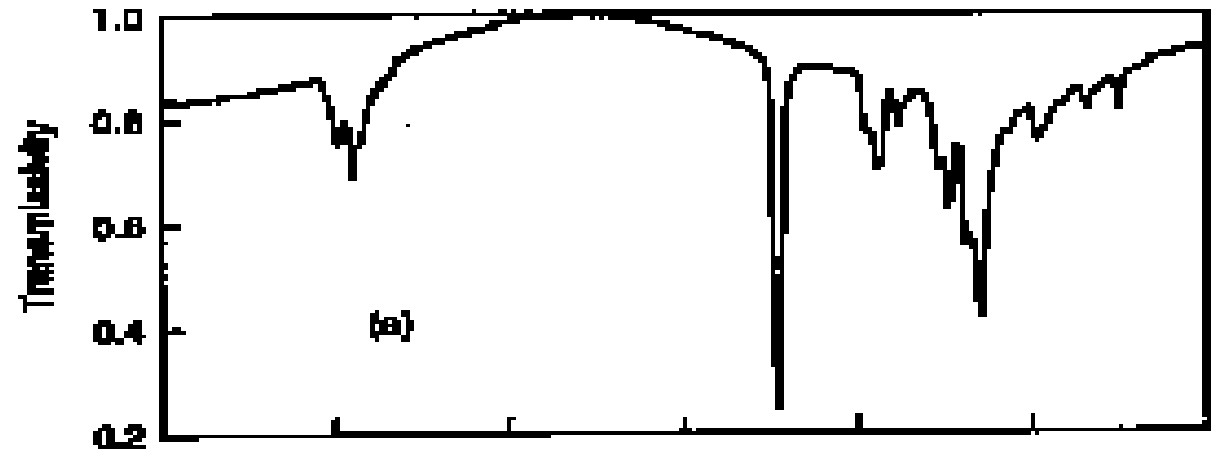


Absorbance  
index

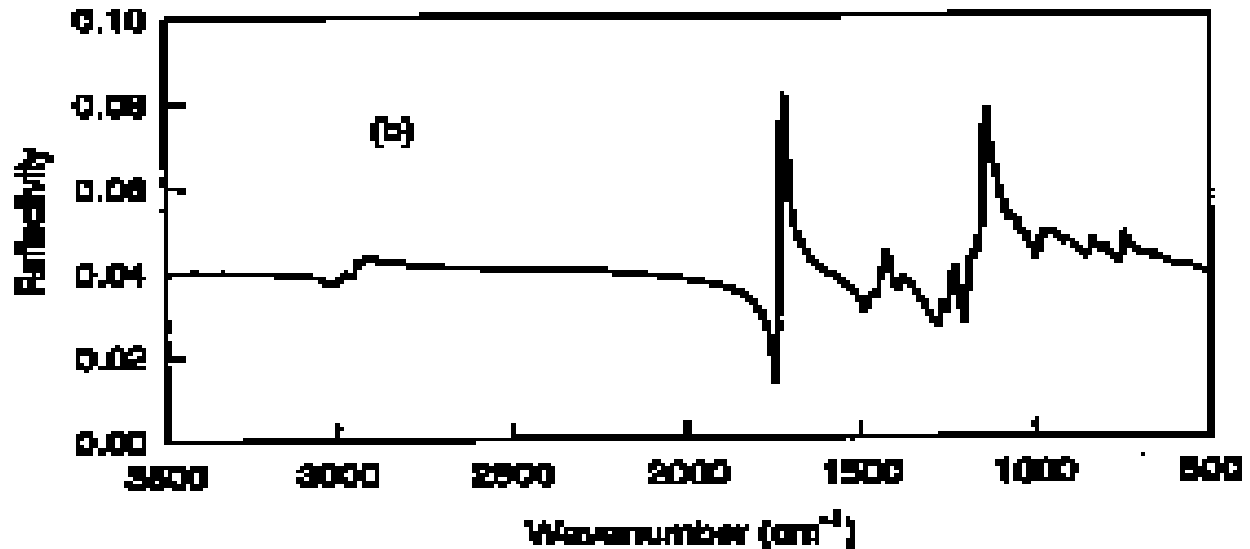


# Specular Reflection

Refractive  
index

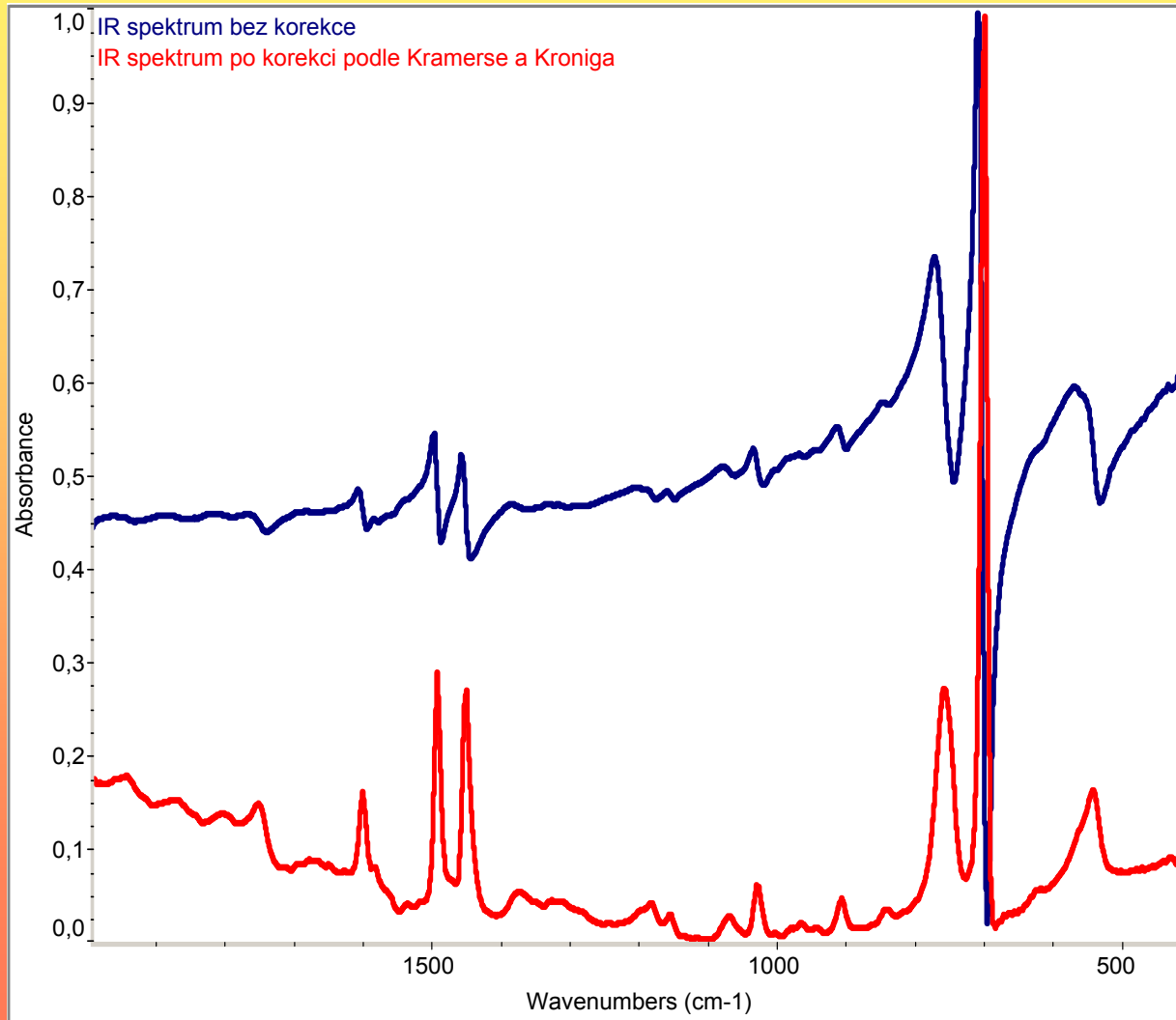


Absorbance  
index

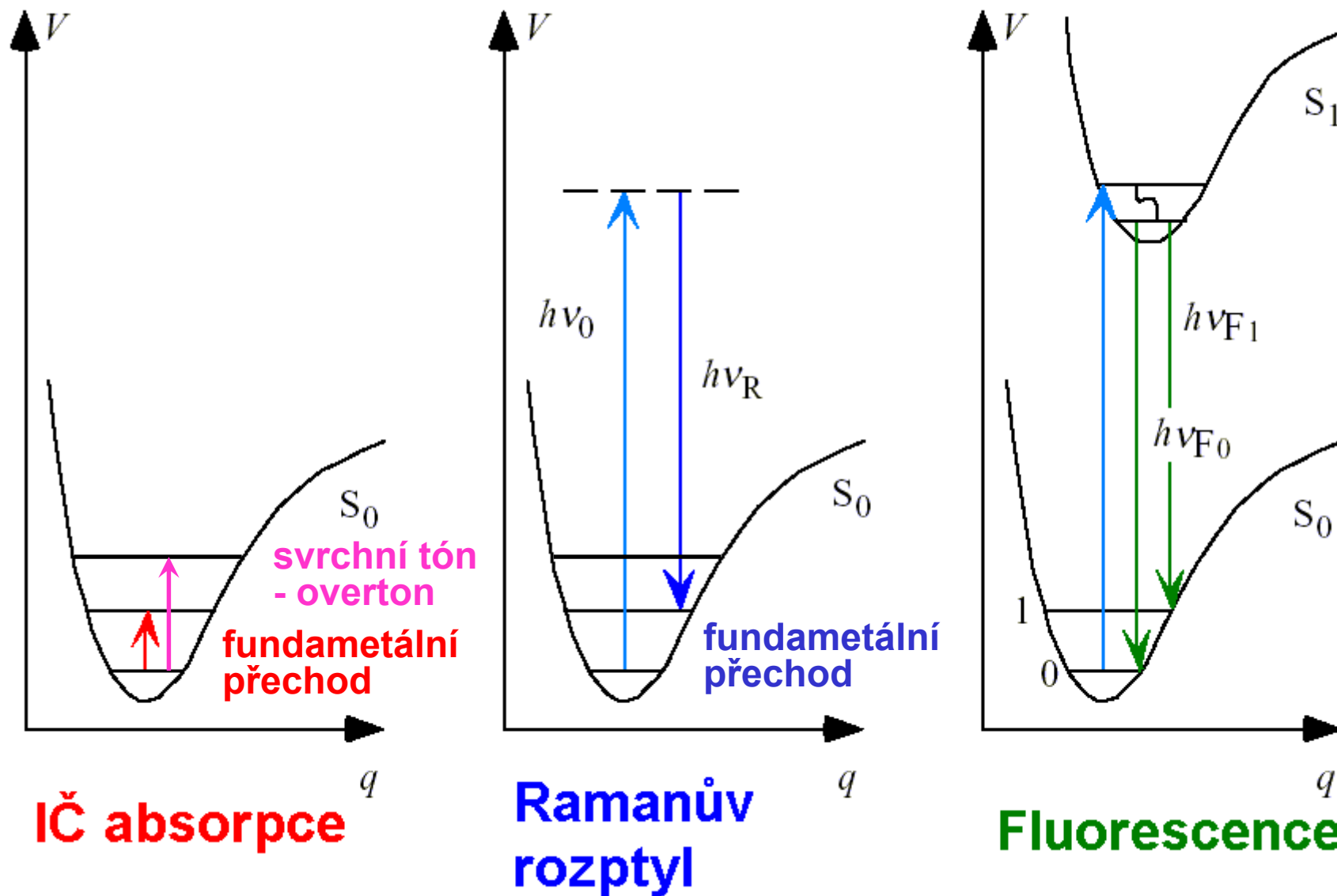


# Specular Reflection

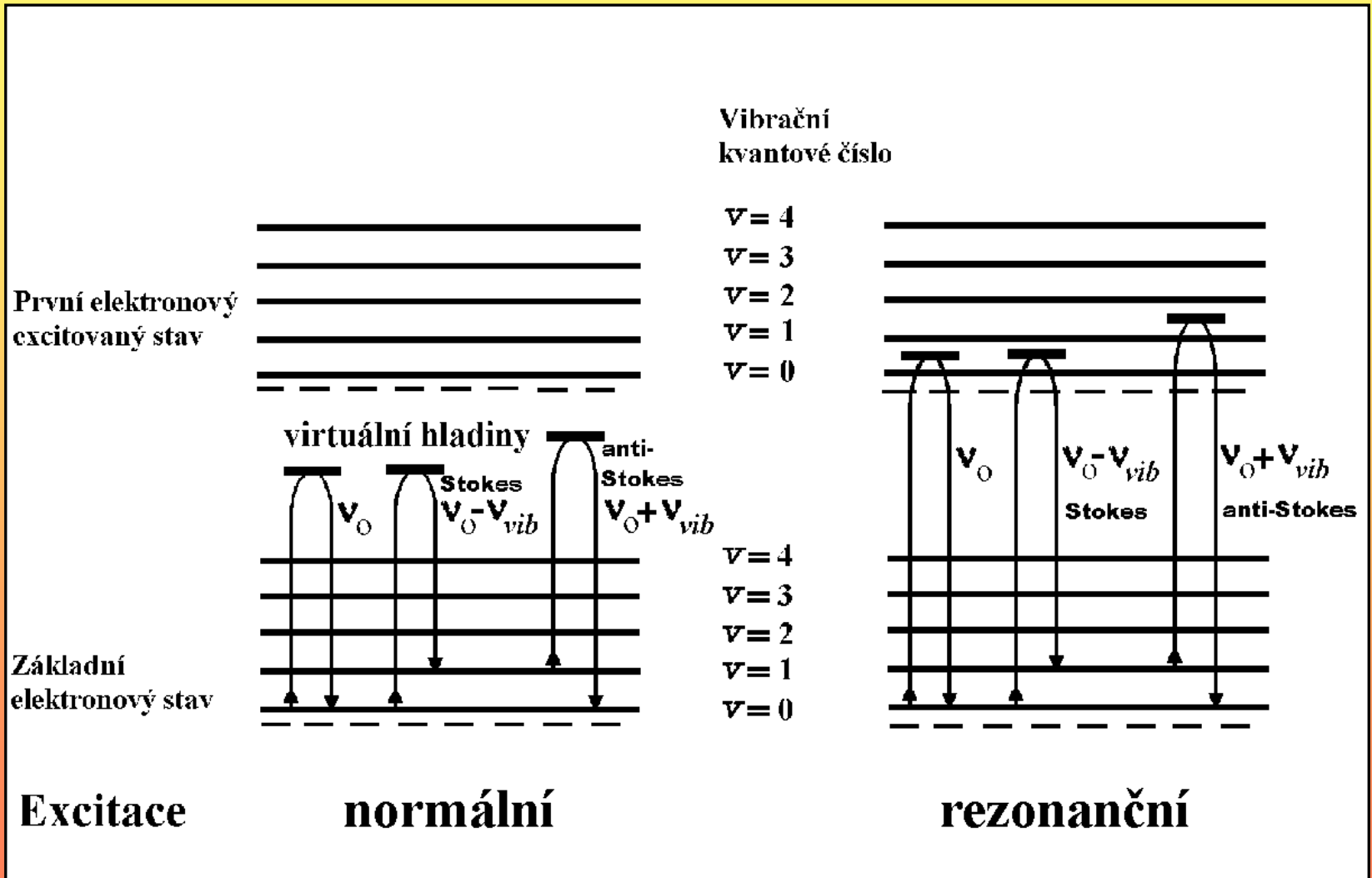
## Correction of „Reststrahlen „ bands



# Schéma hladin



# Ramanova spektrometrie



**Schéma dvoufotonových přechodů**

Ramanův a Rayleighův rozptyl při excitaci normální a rezonanční

# Ramanova spektrometrie



**Sir Chandrasekhara  
Venkata Raman  
1888 – 1970**

**Nobelova cena za fyziku 1930**

## **A New Type of Secondary Radiation**

C. V. Raman and K. S. Krishnan, *Nature*, 121(3048), 501, March 31, 1928

The experiments we have made have confirmed this anticipation, and shown that in every case in which light is scattered by the molecules in dust-free liquids or gases, the diffuse radiation of the ordinary kind, having the same wave-length as the incident beam, is accompanied by a modified scattered radiation of degraded frequency.

# Principy Ramanovy a FT Ramanovy spektroskopie

## Podstata Ramanova jevu

### ROZPTYL ZÁŘENÍ

- rozptýlený foton má odlišnou energii oproti dopadajícímu

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  $\nu_0 > |E_2 - E_1| / h$ ,

provázený vyzářením rozptýleného fotonu  
o energii  $h\nu_R = h\nu_0 \pm (E_2 - E_1)$ ,

kde  $h\nu_{\text{vib}} = E_2 - E_1$



# Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie

**Vibrační frekvence** jednotlivých módů molekul jsou **nezávislé** na tom, zda je studujeme infračervenou nebo Ramanovou spektroskopií, avšak **intenzity** spektrálních linií budou pro obě spektroskopické techniky **zřetelně odlišné**.

Ramanův rozptyl – navíc informace z **polarizace/depolarizace** rozptýleného záření, z **excitačních profilů** (rezonanční efekt).

# Ramanova spektrometrie

## Základní výběrové pravidlo

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

$$\frac{\partial \alpha}{\partial q} \neq 0$$

**INTENZITA PÁSŮ ÚMĚRNÁ  
ZMĚNĚ POLARIZOVATELNOSTI  
BĚHEM VIBRAČNÍHO POHYBU**

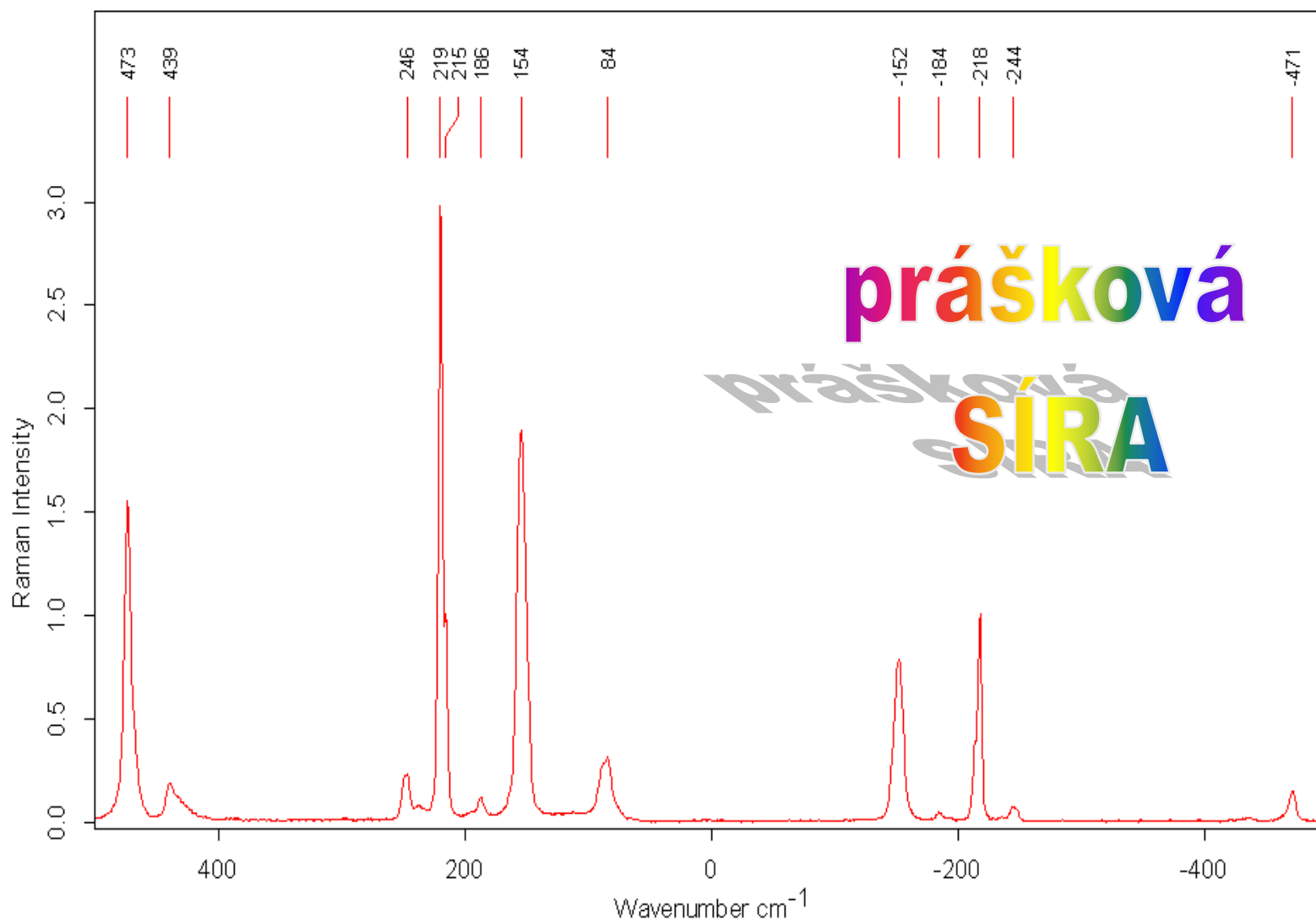
# Principy Ramanovy a FT Ramanovy spektroskopie

## Vztah intenzity pásů

- možnost měření teploty vzorku

$$\frac{I_{\text{anti-Stokes}}}{I_{\text{Stokes}}} = \left( \frac{\nu_0 + \nu_{\text{vib}}}{\nu_0 - \nu_{\text{vib}}} \right)^4 e^{-\frac{h \nu_{\text{vib}}}{k T}}$$

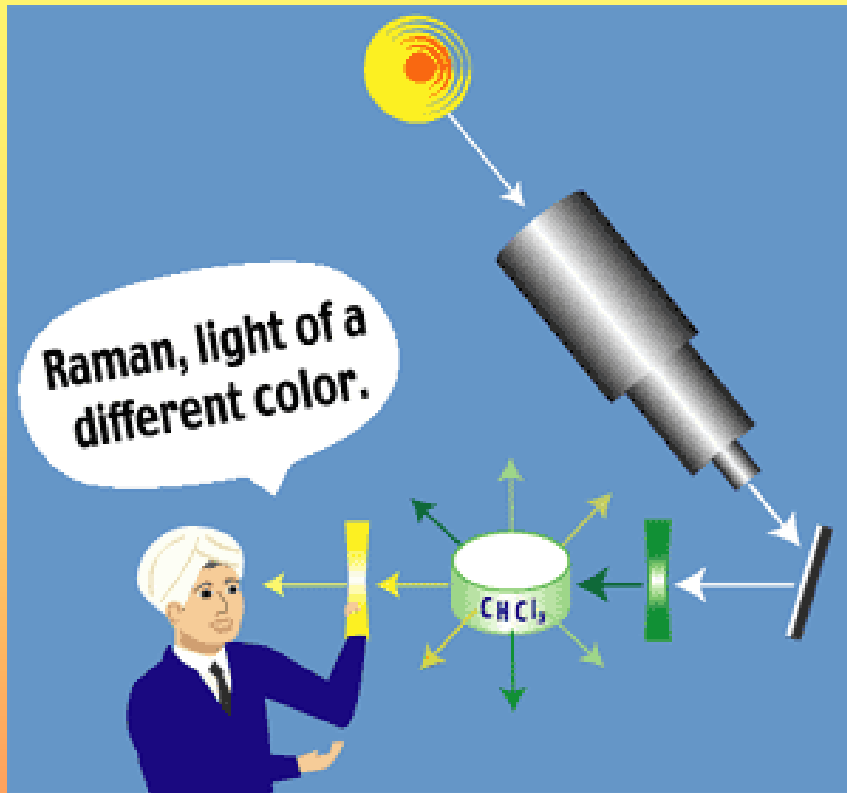
# Principy Ramanovy spektroskopie



# Ramanova spektrometrie

- **možnost měření ve vodném prostředí**
  - ↳ nízká intenzita Ramanova rozptylu pro vodu
  - ↳ používané optické materiály nejsou citlivé na vlhkost
- **možnost měření ve skleněných nádobách**
  - ↳ měření v uzavřených ampulích - např. pod vakuem
- **snadné využití skelné vláknové optiky**
- **minimální požadavky na úpravu pevných vzorků**
- **intenzivní pásy -C=C-, -N=N-, -S-S- a dalších symetrických vibrací**

# Ramanova spektrometrie



## Zdroj záření

- Slunce a filtry
- rtuťová výbojka
- **LASERY**
  - monochromatické
  - koherentní

## Detekce světla

- oči
- fotografické desky
- fotonásobiče
- **CCD čipy**

# Instrumentace

*The following experiment seems to us to be decisive: between the scattering quartz crystal and the spectrograph slit we placed a quartz vessel which was filled with mercury vapors and totally absorbed light with a wavelength of 2536 Å. We did not obtain this line in the spectrogram, but obtained only the satellites.*

G.S. Landsberg, L.I. Mandelstam, 1928

- zdroj excitujícího záření
- excitační optika
- vzorkový prostor
- sběrná optika
- „odlišení“ záření o různé energii
- detekce záření
- akviziční elektronika
- ukládání a zpracování dat

# Instrumentace

- přenosné přístroje – „ruční“, mobilní
- stolní kompaktní spektrometry
- stolní spektrometry s volbou excitační vlnové délky
- stolní mikrospektrometry
- vědecké systémy
  
- průmyslové univerzální systémy
- aplikačně přizpůsobené (jednouúčelové) systémy





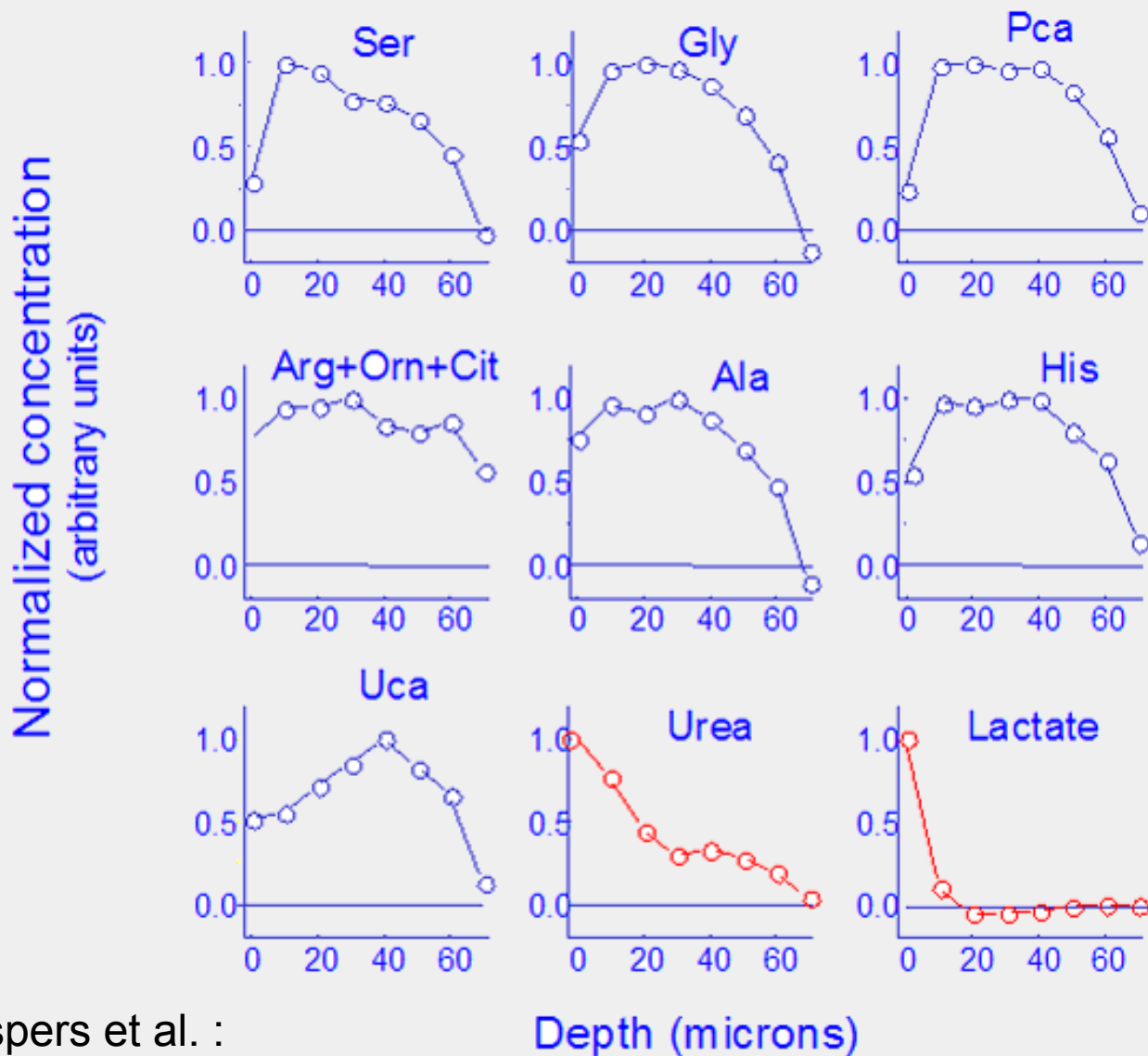
# **ANALÝZA kůže – jednoúčelové zařízení**



**River Diagnostics Model 3510 Skin Analyzer**

<http://www.riverd.com/instrumentation.htm>

# ANALÝZA kůže – jed noučelové zařízení



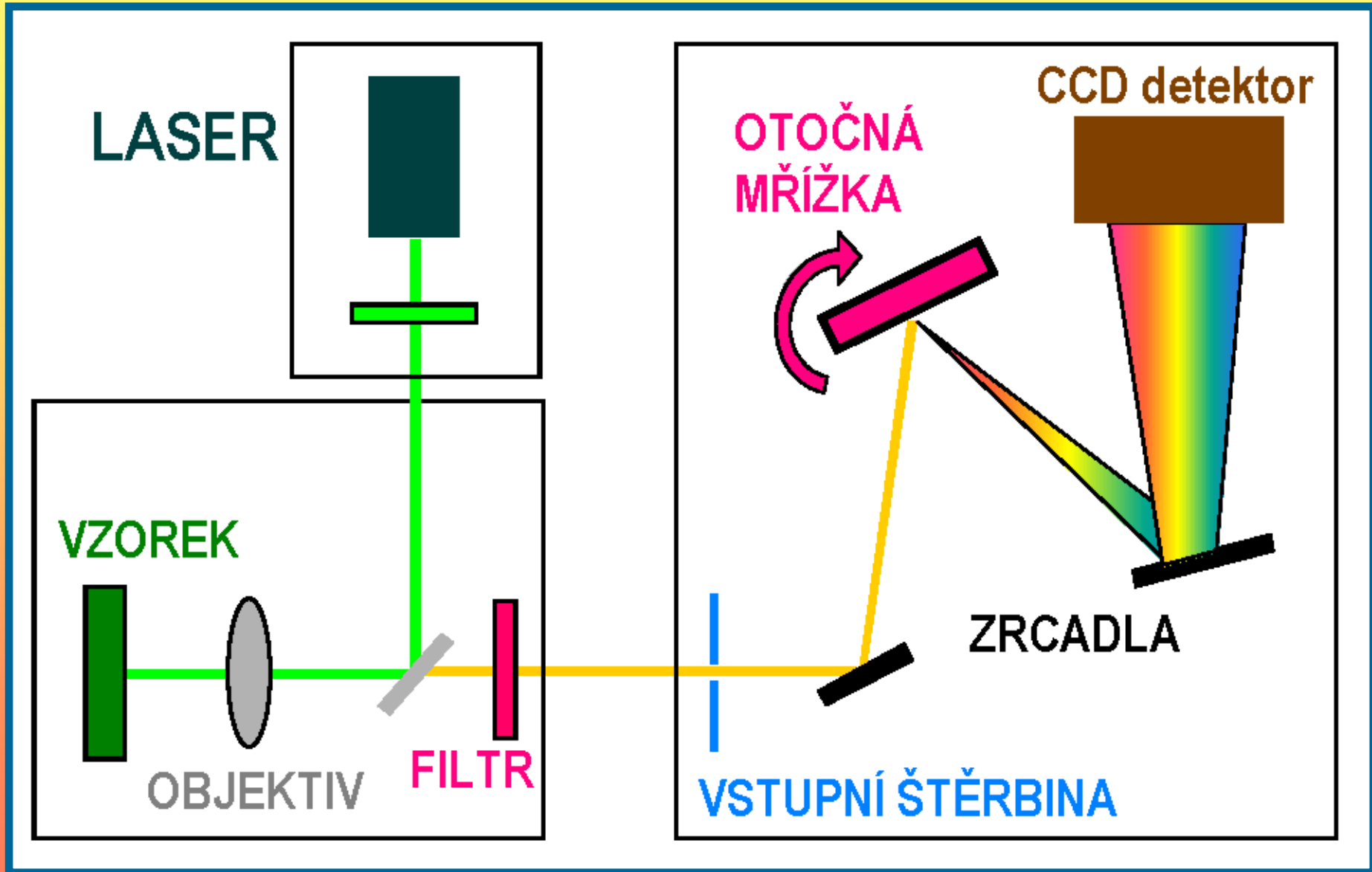
Caspers et al. :

Journal of Investigative Dermatology 116(3):434-442 (2001)

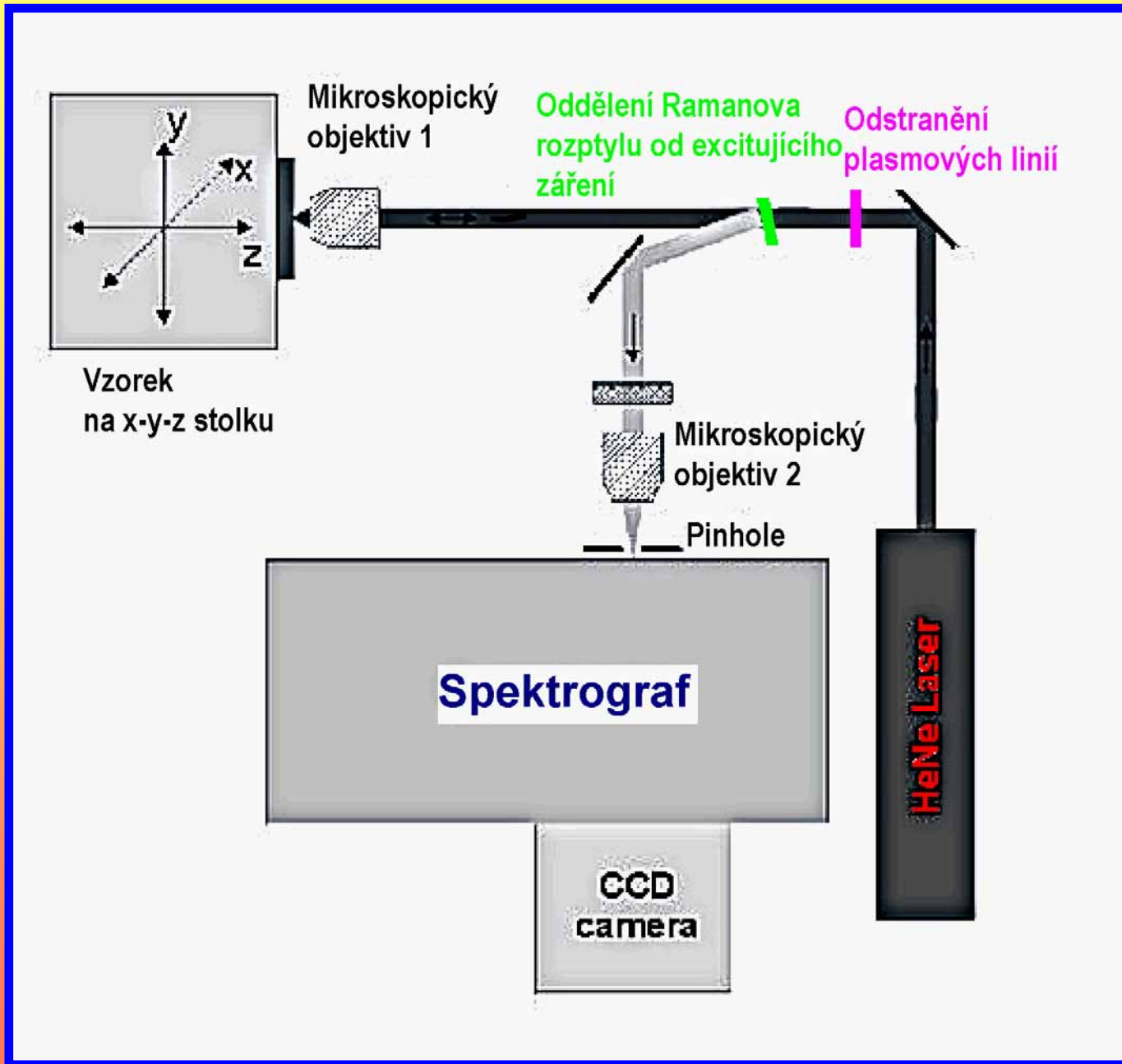
# Externí sondy – vláknová optika



# Schéma Ramanova disperzního přístroje



# Schéma Ramanova mikroskopu



# Principy FT Ramanovy spektroskopie

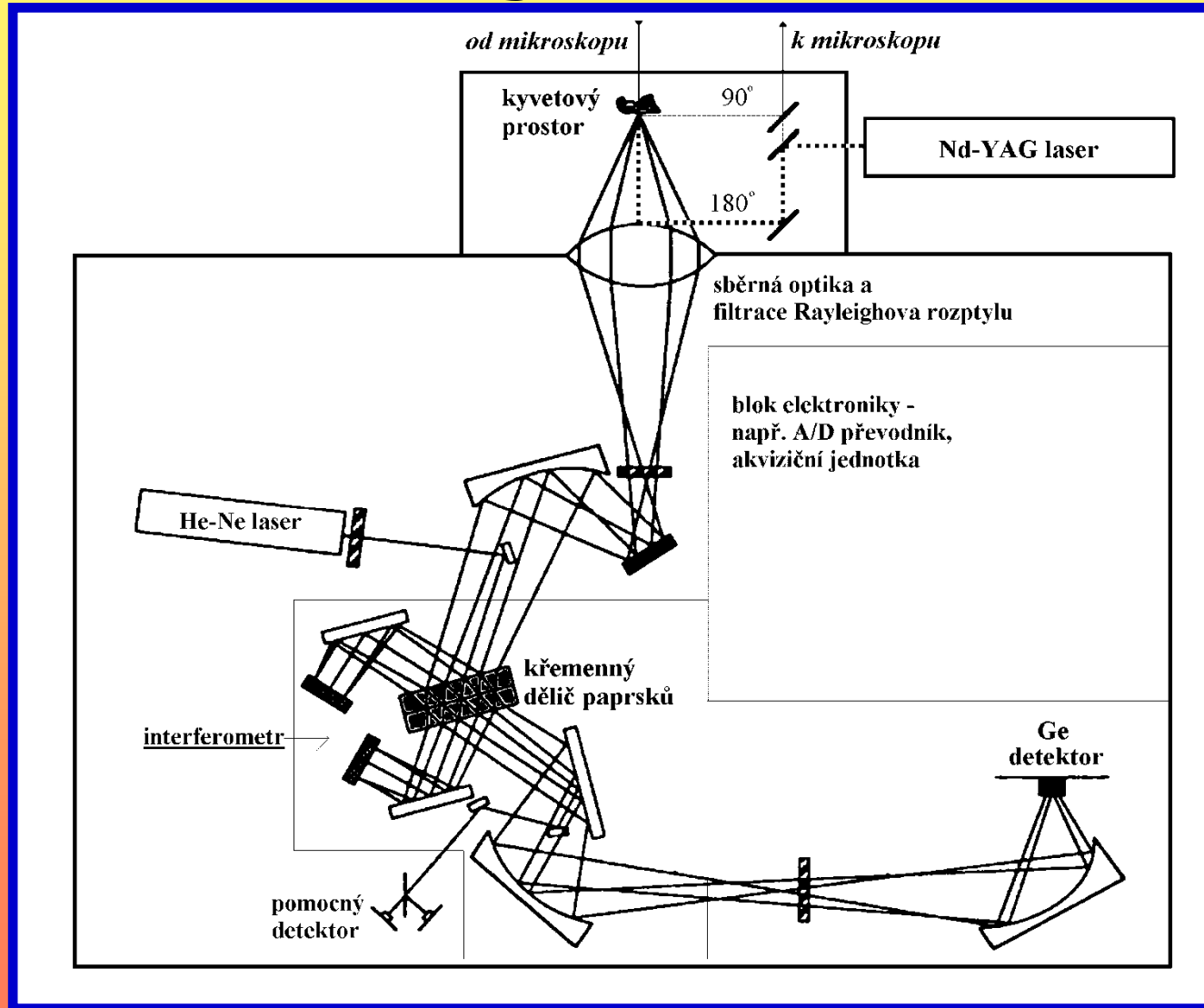


Schéma FT Ramanova spektrometru s NIR excitací

# Instrumentace

## Materiály pro dělič paprsků

<u>Propustný materiál</u>	<u>Polopropustný povlak</u>	<u>rozsah použití</u> [cm <sup>-1</sup> ]
křemen	Si (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	23 000 – 4 000
CaF <sub>2</sub>	Si (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	10 000 – 1 000
KBr	Ge	4 700 – 350
CsI	Ge	4 000 – 200

# Instrumentace

## Lasery pro excitaci Ramanova jevu

<u>TYP laseru</u>	<u>vlnová délka [nm]</u>
He-Ne	632,8
Ar <sup>+</sup>	514,5
Ar <sup>+</sup>	488,0
Ar <sup>+</sup>	457,9
Kr <sup>+</sup>	568,2
Kr <sup>+</sup>	647,1
Kr <sup>+</sup>	676,4
Kr <sup>+</sup>	752,6
Nd-YAG	1064
Nd-YAG - 2f	532
diodové	780, 785 - NIR
barvivové	360 - 750 - UV, vis



# Instrumentace

## Vzorkování

- makroskopické – vialky, skleněné kyvety (NMR, UV-vis ...), možnost měřit přes tenkou vrstvu polymeru

## Vzorkování

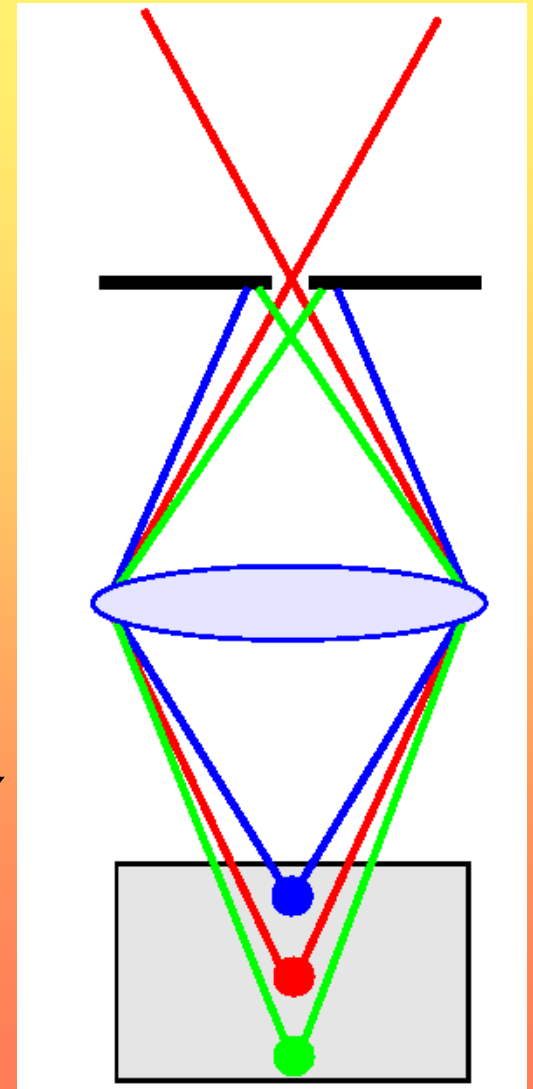
-příklady

-Nicolet



# Ramanova mikrospektroskopie

- **Dispersní**
  - viditelná excitace
  - možnost konfokálního režimu pro lepší prostorové rozlišení
- **FT Ramanova**
  - NIR excitace
  - horší prostorové rozlišení
  - menší riziko fotorozkladu a fluorescence



# Speciální techniky

- **rezonanční - RR**
- **povrchem zesílený - SERS**
- **rezonanční povrchem zesílený - SERRS**
- **fotoakustický - PARS**
- **hyperRaman**
- **koherentní anti-Stokes - CARS**
- **koherentní Stokes - CSRS**

# Studované materiály

**VZORKY** – pevné látky, kapaliny, fázové rozhraní

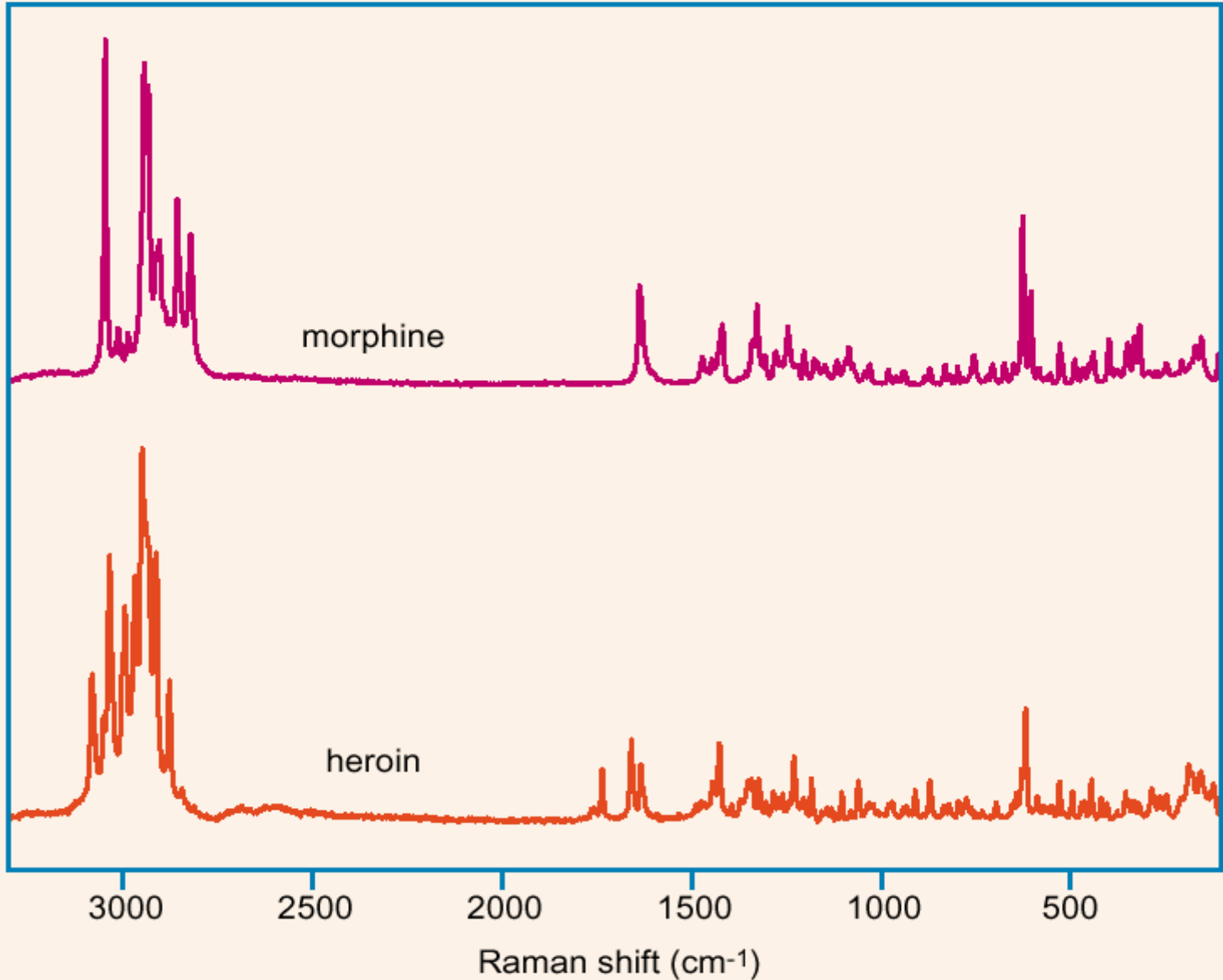
- příklady

- **anorganické** - *korozní vrstvy, povrchy pevných disků, křemík, amorfní uhlík, diamanty*
- **organické** - *supramolekulární systémy, kontaminanty v životním prostředí*
- **polymery** - *fotolabilní materiály*
- **biologické** - *in vitro, in vivo*
- **geologické** - *minerály, horniny*
- **archeologické** - *od paleolitu po novověk*

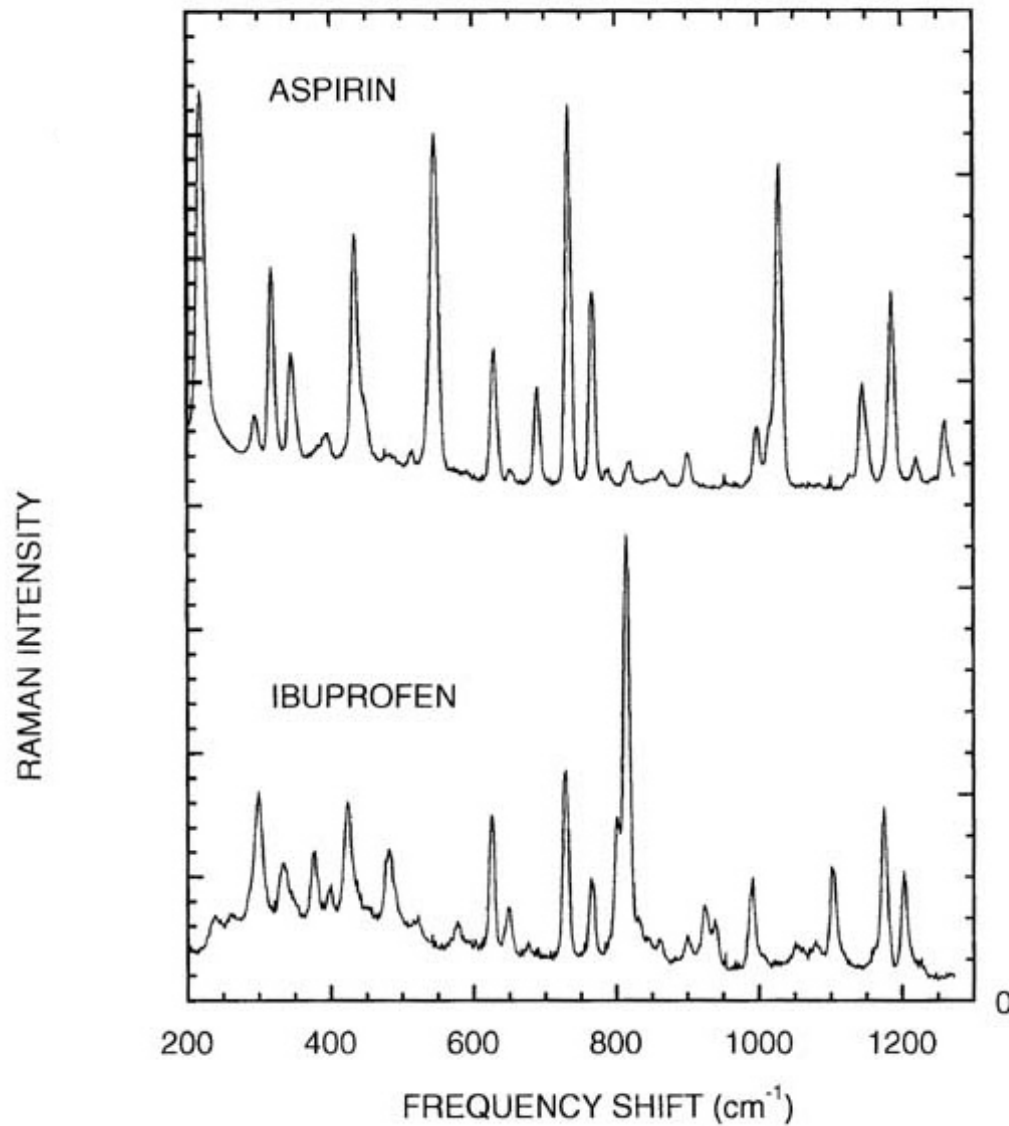
# **Použití spektrálních dat**

- **Interpretace spekter – strukturní analýza, identifikace látek – spektrální knihovny**
- **Intenzita pásů – kvantitativní analýza**
- **Časově rozlišená spektra – kinetické studie**
- **Teplotně závislá spektra**
- **Analýza směsí – identifikace subspekter – faktorová analýza**

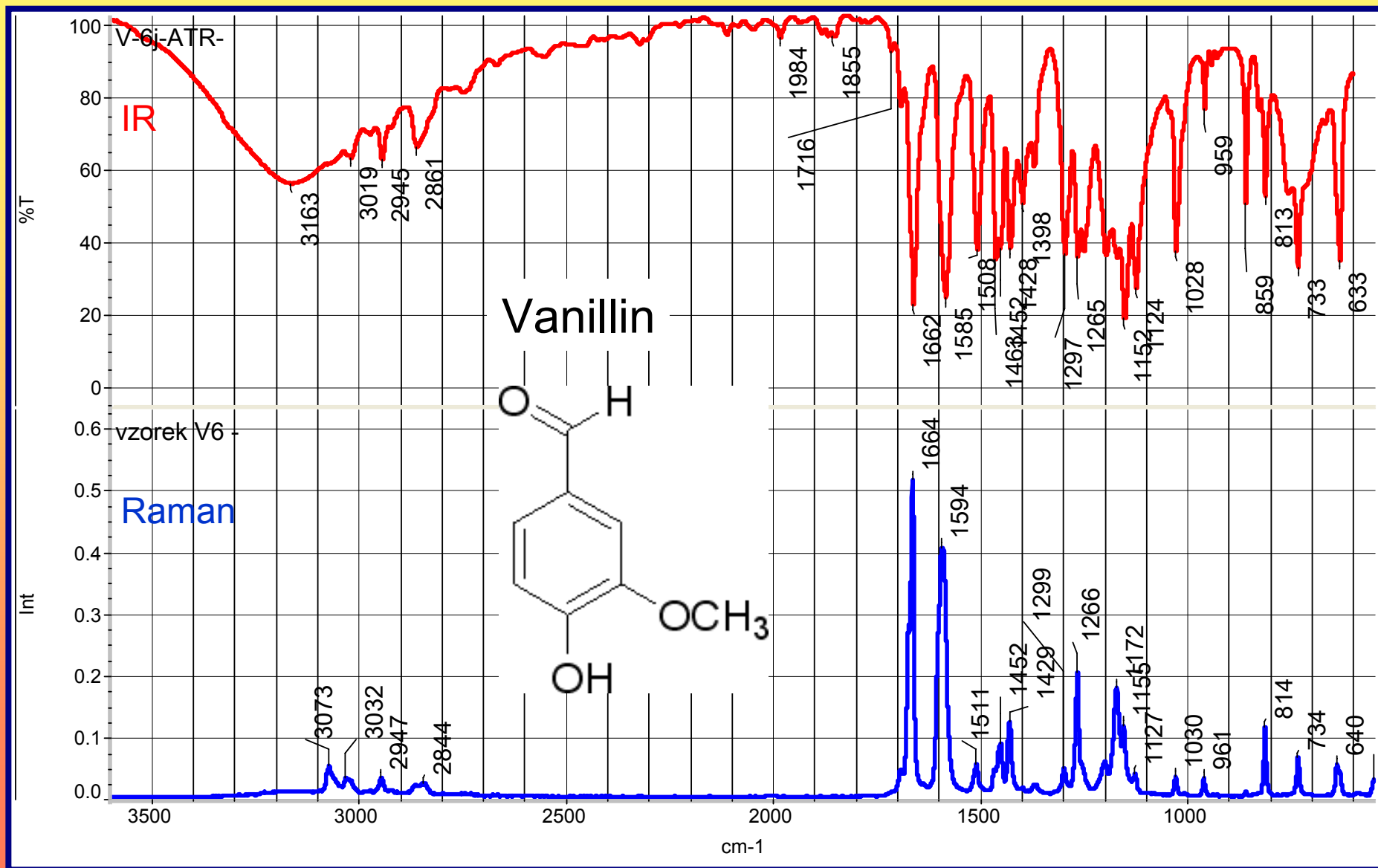
# Identifikace drog



# Identifikace léčiv

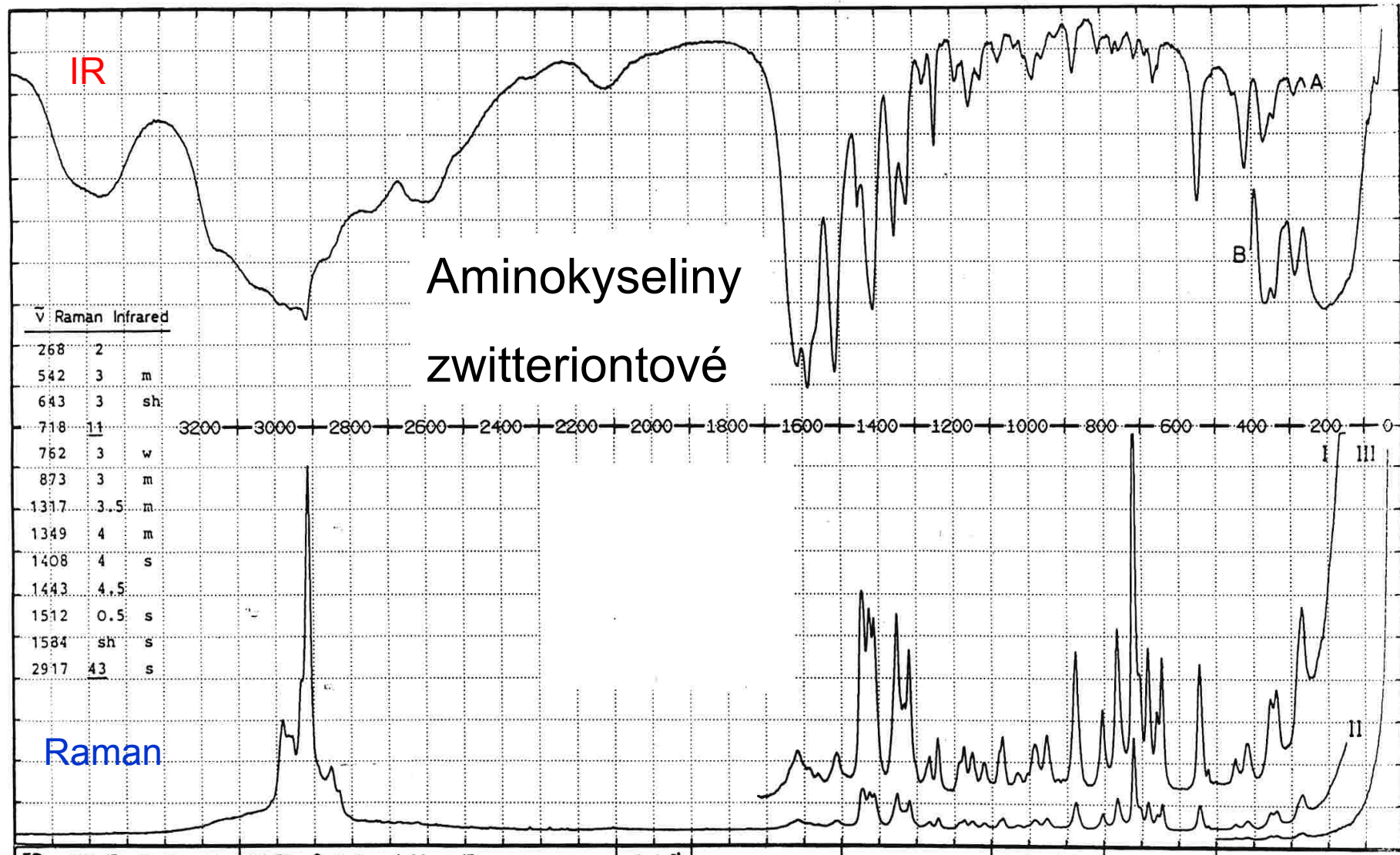


# Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie

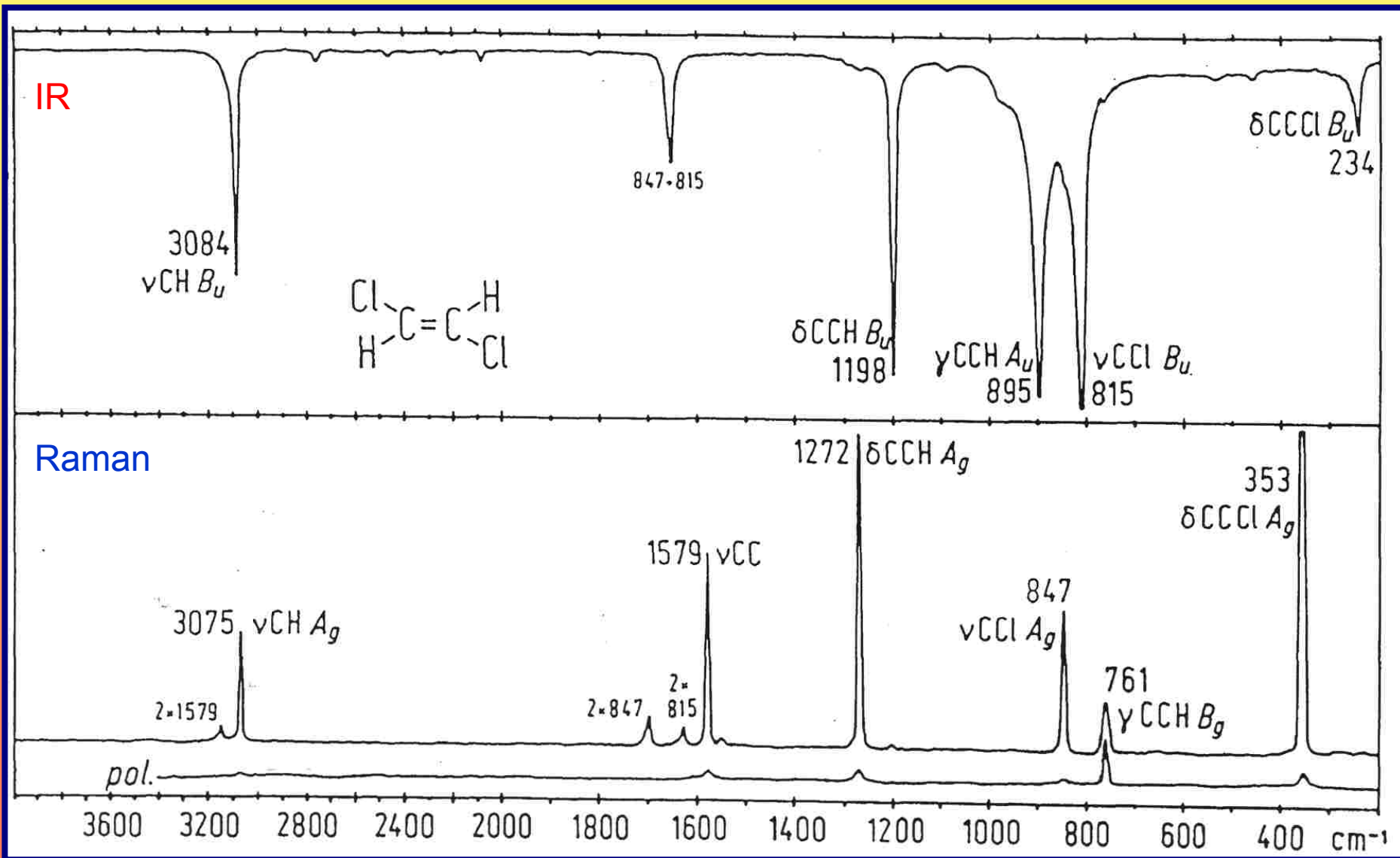




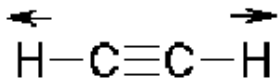
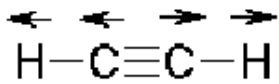

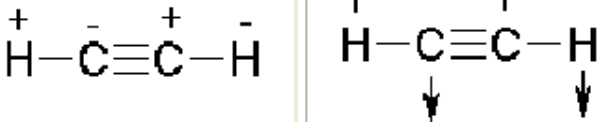
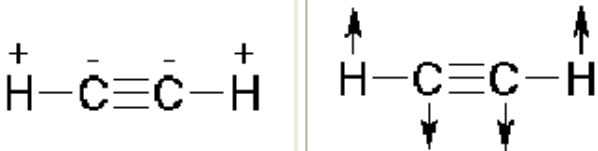
# Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie



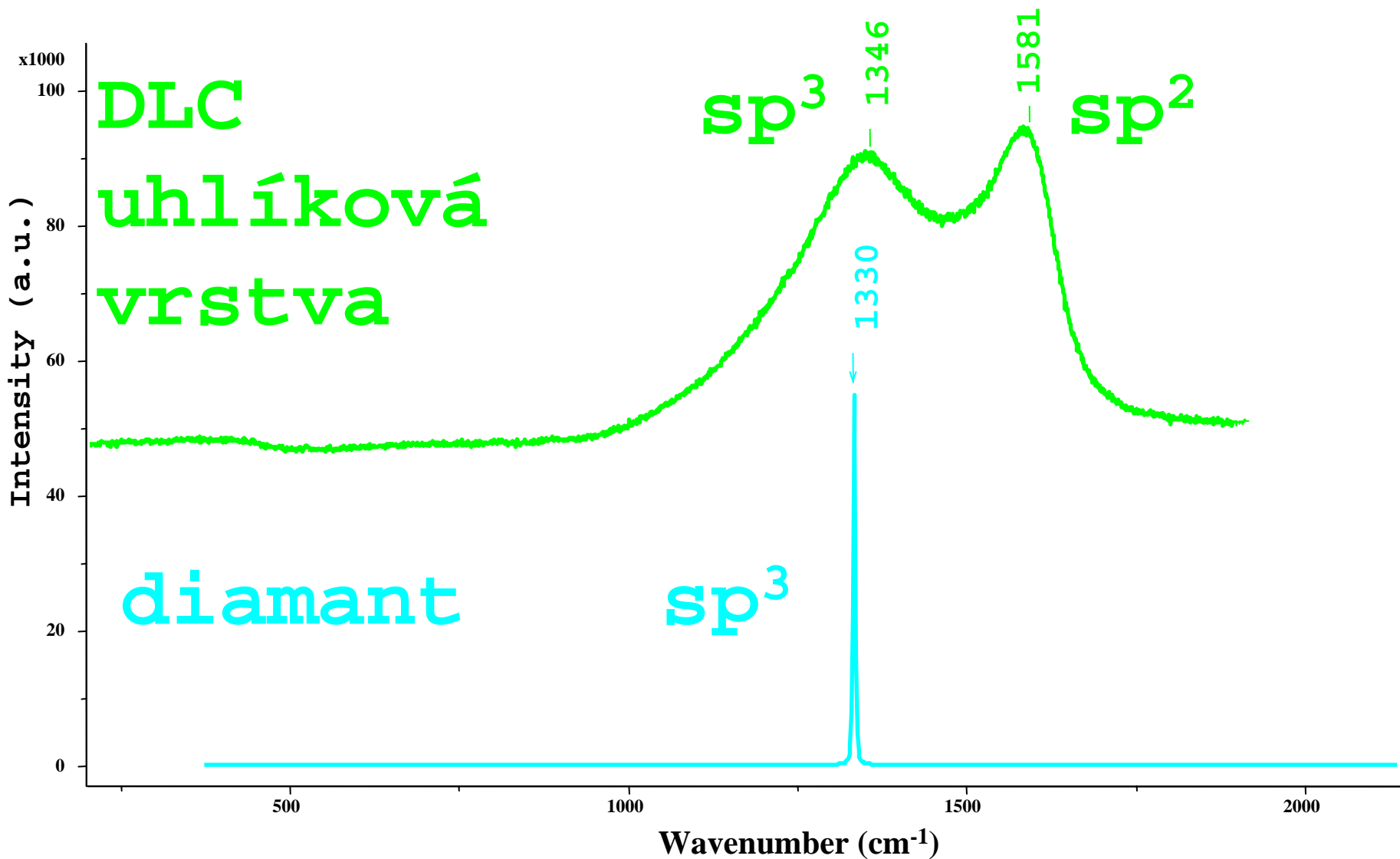
# Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie



# Rozdíly IČ a Ramanovy spektrometrie

Normal mode		Symmetry	Description	Activity	Wavenumber (cm <sup>-1</sup> )	
					C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>
	$\nu_1$	$\Sigma_g^+$	CH stretching symmetric	Rp	3373	2705
	$\nu_2$	$\Sigma_g^+$	CC stretching (sym)	Rp	1974	1765
	$\nu_3$	$\Sigma_u^+$	CH stretching antisymmetric	IR	3295	2439
	$\nu_4$	$\Pi_g$	Deformation symmetric	Rdp	613	512
	$\nu_5$	$\Pi_u$	Deformation antisymmetric	IR	730	539

# Ramanova spektrometrie



# Pohyb atomů v molekule

## VIBRACE

### INTERPRETACE

### VIBRAČNÍCH SPEKTER

- CHARAKTERISTICKÉ PÁSY FUNKČNÍCH SKUPIN

\* zjištění typu skeletu a identifikace substituentů

- SPEKTRUM JAKO „OTISK PALCE“

\* identifikace ČISTÉ LÁTKY

- KNIHOVNY SPEKTER

# Interpretace spekter

- srovnávání s databází
  - tištěné katalogy
  - elektronické knihovny
- tabulky charakteristických pásů
  - kombinované IR + Raman
- srovnání s vypočtenými spektry
  - kvantově chemické výpočty
    - ab initio, empirické

# Normální vibrační módy a charakteristické vibrace funkčních skupin

- některé vibrační módy jsou lokalizovány jen v určité části molekuly
  - vibrace skupin s vodíky (lehké atomy)
  - vibrace násobných vazeb (odlišná síla vazby)
  - vibrace substituentů:  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{SO}_2$ ,  $-\text{P}=\text{S}$ ,  $(-\text{S}-\text{S}-)$ ,  $-\text{C}=\text{S}$   
 $-\text{F}$ ,  $-\text{Cl}$ ,  $-\text{Br}$ ,  $-\text{I}$
- **problém spřažení vibrací** (při srovnatelné hmotnosti atomů a srovnatelné síle vazeb)
- **problém symetrie**
- **problém vlivu okolí na sílu vazby** (posuny pásů)
- **problém rigidity struktury, otázka konformerů**

# Normální vibrační módy a charakteristické vibrace funkčních skupin

- některé vibrační módy jsou lokalizovány jen v určité části molekuly

## •vibrace skupin s vodíky

- |                      |                               |  |
|----------------------|-------------------------------|--|
| • <u>H</u> -C-C      | pod $3000 \text{ cm}^{-1}$    | -CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> , -CH  |
| • <u>H</u> -C=C      | $3100 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ | -C=CH <sub>2</sub> , -C=CH-, Ar  |
| • <u>H</u> -C≡C      | $3340 - 3280 \text{ cm}^{-1}$ | ( $3333 \text{ cm}^{-1}$ C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ,<br>$3310 \text{ cm}^{-1}$ HC≡C-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> ) |
| • H-O, H-N, H-S, H-B |                               |  |

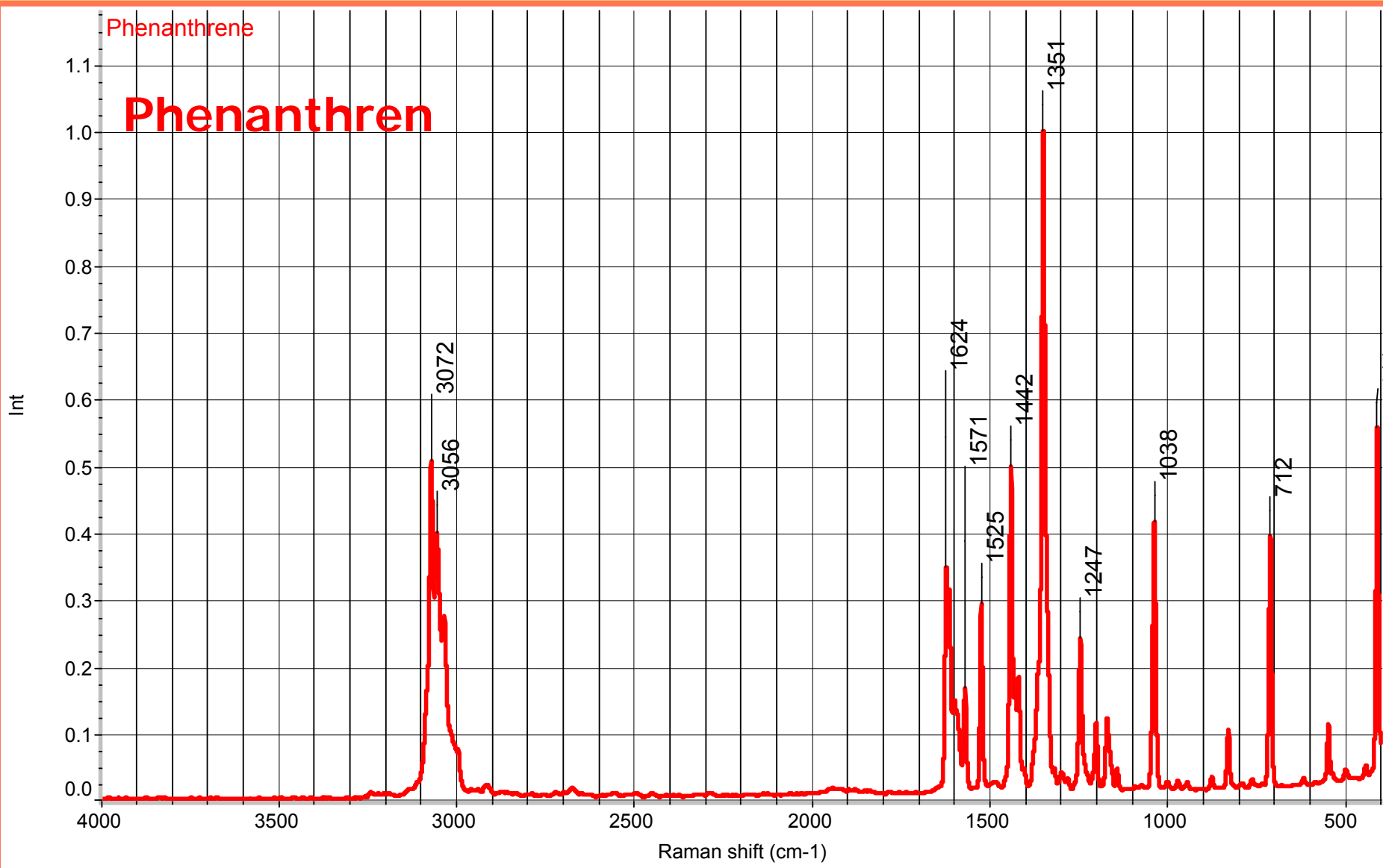


# Stručná tabulka pro biologicky významné molekuly

Frequency, $\text{cm}^{-1}$						Group Vibration	Intensity <sup>a</sup>		Description	Mainly observed in
4000	3000	2000	1500	1000	500		IR	Raman		
						O-H stretch	vs	vw	Hydroxyl	Liquid phase
						=C-H stretch	s-m	m	Unsaturated	Lipids
						-C-H stretch	s-m	m	Saturated	Lipids
						-C=N stretch	m	s	Nitrile	
						C=O stretch	s	m-w	Ester	Lipids, Amino Acid
						C=O stretch	s	w-m	Carboxylic acid	Lipids, Amino Acid
						C=O stretch	s	m-s	Amide I	Proteins
						C=C stretch	m-w	s	Not conjugated	Lipids
						C=C stretch	m	s	<i>Trans</i>	Lipids
						C=C stretch	m	s	<i>Cis</i>	Lipids
						N-H bending	s	w	Amide II	Proteins
						C-H scissoring	m	m-w	Aliphatic -CH <sub>2</sub>	Lipids
						C-O stretch	s		Carboxylates	Amino Acids, Lipids
						N-H bending	w-m	var	Amide III	Proteins
						P=O stretch	vs	m-w	Phosphate ester	Lipids, Nucleic Acids
						Fingerprint from skeleton				
						C-O stretch	s	m-w	Ether	Carbohydrates
						Skeletal mode		m	$\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) linkage	Starch
						C-O-C skeletal	m-w	m-w	$\beta$ -configuration	Glucose, galactose, mannose
						C-O-C skeletal	m-w	m	$\alpha$ -configuration	
						C-H rocking	w-m	vw	Aliphatic -CH <sub>2</sub>	Lipids
						Skeletal mode		vs		Starch

<sup>a</sup> s = strong, m = medium, vs = very strong, vw = very weak

# Pohyb atomů v molekule



# Pohyb atomů v molekule

