

Molekulová spektroskopie

Zdeněk Moravec, Veronika Košařová

Obsah

Molekulová spektroskopie.....	1
1.Úvod.....	3
2.Symetrie molekul.....	4
2.1. Prvky a operace symetrie.....	4
2.2. Bodové grupy symetrie.....	6
3.Molekulová spektroskopie.....	8
3.1. Rozdělení spekter.....	8
3.2. Molekulová absorpční spektroskopie.....	9
3.3. Rotační spektra.....	9
3.4. Rotačně vibrační spektra.....	9
3.5. Elektronová spektra.....	11
3.6. Vliv skupenství vzorku na charakter molekulového spektra.....	12
3.7. Kvalitativní analýza.....	13
3.8. Kvantitativní analýza.....	13
3.9. Infračervená spektroskopie.....	15
3.10. Ramanova spektroskopie.....	16
4.Příprava vzorků pro měření infračervených a Ramanových spekter.....	18
4.1. Příprava vzorku pro měření infračervených spekter pevných látek.....	18
4.2. Příprava vzorku pro měření Ramanových spekter.....	19
5.Postup měření spekter.....	21
5.1. Infračervený spektrometr Bruker Tensor 27.....	21
5.2. Infračervený spektrometr Bruker Equinox IFS 55/S s Ramanovým nástavcem FRA 106/S.....	22
6.OPUS – software pro zpracovávání získaných spekter.....	23
7.Vyhodnocení získaných spekter.....	26
Literatura.....	27

1. Úvod

Molekulová spektroskopie je důležitou skupinou spektroskopických metod, které lze výhodně použít k analýze anorganických i organických látek. Díky neustálému vývoji v oblasti instrumentace se zmenšuje množství vzorku potřebné pro vlastní analýzu a tím se tyto metody dostávají do oblasti zájmu restaurátorů.

V tomto textu se nejprve seznámíme se základními prvky a operacemi symetrie, které jsou důležité pro popis molekul a tím i pro interpretaci molekulových spekter. Další část je věnována popisu principů molekulové spektroskopie. Další části jsou věnovány přímo měření – přípravě vzorků, vlastnímu postupu měření a samozřejmě i interpretaci získaných spekter.

2. Symetrie molekul

Symetrie hraje důležitou roli při určování struktury molekul a tím i při interpretaci infračervených a Ramanových spekter. V této kapitole se podíváme na základní prvky, operace a grupy symetrie.

2.1. Prvky a operace symetrie

Operace symetrie je geometrická operace, jejíž aplikací se předmět dostane do polohy identické s původní.

Prvek symetrie je geometrické místo bodů pomocí nichž je operace symetrie prováděna.

U molekul (konečných útvarů) rozlišujeme pět základních prvků symetrie.

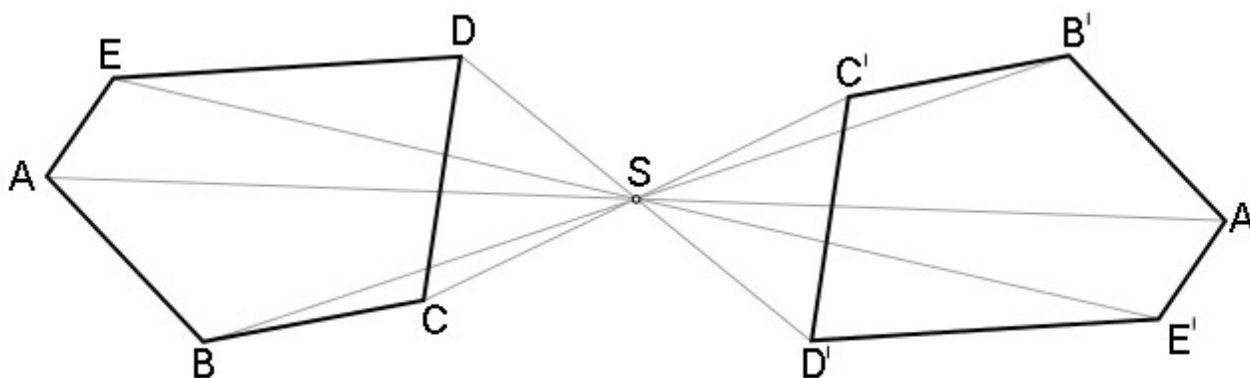
Symbol	Operace symetrie	Prvek symetrie
E	Identita	Celý objekt
σ	Zrcadlení	Zrcadlová rovina
C_n	Rotace o úhel $2\pi/n$	Rotační osa
I	Inverze	Střed symetrie
S_n	Nevlastní rotace (rotace o úhel $2\pi/n$ a zrcadlení v rovině osy kolmé na tuto osu)	Rotačně-reflexní osa

Identita – s objektem se neprovede nic. Je operací symetrie, kterou lze aplikovat na všechny objekty.

Zrcadlení – jak je zřejmé z názvu, jde o projekci předmětu pomocí zrcadlové plochy. Pokud tuto operaci aplikujeme na předmět dvakrát pomocí stejné zrcadlové roviny získáme stejný výsledek jako při aplikaci operace identita.

Rotace – objekt otočíme kolem přímky o úhel $2\pi/n$, kde n je četnost osy, tzn. počet otočení nutný pro dosažení identity. U molekul nacházíme rotační osy s četnostmi 1–8 a ∞ . Osu C_1 obsahuje každý objekt, je ekvivalentem identity.

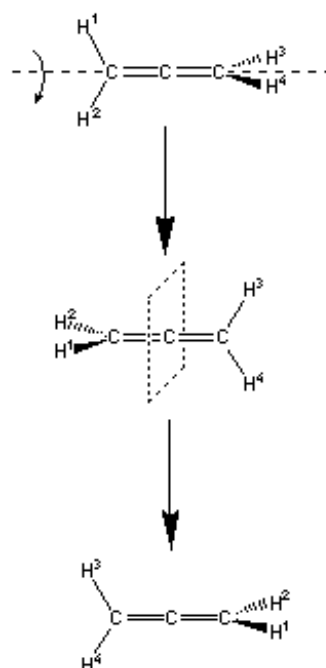
Inverze – odpovídajícím prvkem symetrie je střed symetrie. Operaci provedeme tak, že z každého bodu (A) vedeme přímku procházející bodem A a středem symetrie (S) a obraz bodu promítneme do stejné vzdálenosti od středu symetrie, jako je vzdálenost SA.



Má-li molekula střed symetrie, pak je tento bod společným bodem všech prvků symetrie.

Nevlastní rotace – složená operace symetrie, odpovídajícím prvkem je rotačně-reflexní osa. Objekt je podroben rotaci a zároveň zrcadlení podle roviny kolmé na osu rotace. U nevlastní rotace nezáleží na pořadí provádění jednotlivých operací.

U reálných molekul nacházíme rotačně-reflexní osy s četností 1–8 a ∞ . Osa S_1 představuje rovinu symetrie σ .



2.2. Bodové grupy symetrie

Grupa symetrie je množina operací symetrie, které lze aplikovat na molekulu. Operace symetrie nelze kombinovat libovolně, protože některé kombinace se vzájemně vylučují, např. není možné, aby molekula obsahovala osy C_3 a C_4 orientované ve stejném směru. Naproti tomu přítomnost některých prvků symetrie si vynucuje existenci dalších operací symetrie, např. dvě zrcadlové roviny protínající se v přímce generují rotační osu s četností nejméně dva.

Množina operací symetrie molekuly se nazývá *bodová grupa symetrie*, protože při aplikaci libovolné operace zůstává nejméně jeden bod na místě. Ke značení grup se nejčastěji využívá *Schönfliesova symbolika*.

Bodové grupy C_1 , C_i , C_s

Do bodové grupy C_1 patří nesymetrické molekuly, které mají jediný prvek symetrie – identitu, např. CHFCIBr .

Bodová grupa C_s obsahuje navíc ještě rovinu zrcadlení, příkladem může být molekula fenolu.

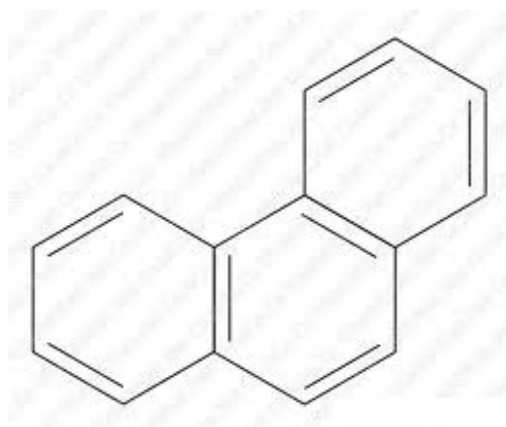
Bodová grupa C_i obsahuje kromě identity ještě střed symetrie, příkladem je např. molekula *trans*- $\text{C}_2\text{H}_2\text{Br}_2\text{Cl}_2$.

Bodové grupy C_n , C_{nv} , C_{nh}

Molekuly patřící do bodové grupy C_n mají pouze identitu a n -četnou rotační osu. Příkladem může být molekula peroxidu vodíku, která má symetrii bodové grupy C_2 .

Pokud má molekula ještě navíc n vertikálních rovin symetrie, získává symetrii bodové grupy C_{nv} , příkladem je molekula vody nebo fenanthrenu se symetrií C_{2v} .

Pokud mají molekuly n horizontálních rovin symetrie, mají symetrii bodové grupy C_{nh} . Pokud je n sudé, mají tyto molekuly také střed symetrie. Příkladem jsou molekula *trans*-1,2-dichlorethenu patřící do C_{2h} nebo kyselina orthoboritá patřící do C_{3h} .



Bodové grupy D_n , D_{nh} , D_{nd}

Grupy jejichž symbol začíná písmenem D náležejí do tzv. diedrické skupiny grup. Jejich hlavním znakem je přítomnost n -četné rotační osy a n dvoučetných os, které jsou na ni kolmé. Grupa D_1 je ekvivalentní bodové grupě C_2 .

Molekuly mající hlavní osu C_n ($n > 1$), n os C_2 kolmých na hlavní, n vertikálních rovin symetrie (v nichž leží osy C_2) a horizontální rovinu symetrie σ_h náleží do bodové grupy D_{nh} . Pro sudé hodnoty n mají tyto molekuly ještě střed symetrie. Příkladem je naftalen patřící do D_{3h} a planární molekula benzenu patřící do D_{6h} .

Molekuly mající hlavní osu C_n ($n > 1$), n os C_2 kolmých na hlavní, n dihedrálních rovin symetrie σ_d , které půlí úhly mezi dvoučetnými osami, náleží do bodové grupy D_{nd} . Pro sudé hodnoty n mají tyto molekuly ještě střed symetrie. Příkladem je molekula ethanu ve střídavé konformaci patřící do D_{3d} nebo ferocen ve střídavé konformaci patřící do D_{5d} .

Kubické grupy

Do této skupiny náleží bodové grupy mající více než jednu rotační osu s četností větší jak dva. Patří sem tetraedrické grupy T , T_d , T_h ; oktaedrické grupy O , O_h a ikosaedrické grupy I_h .

Příkladem je molekula CH_4 patřící do bodové grupy T_d , která obsahuje čtyři osy C_3 , tři osy C_2 a šest diagonálních rovin symetrie σ_d .

Příkladem ikosaedrické struktury je buckminsterfuleren C_{60} .

3. Molekulová spektroskopie

3.1. Rozdělení spekter

Podstatou spektroskopických metod je sledování interakcí záření s neznámou látkou s cílem využít pozorovaných jevů za účelem její identifikace, studia její struktury nebo stanovení její koncentrace.

Porovnáním všech metod zjistíme, že je lze rozdělit do dvou skupin procesů. První skupinu tvoří interakce, při kterých dochází k výměně energie mezi zkoumanou látkou a zářením. Při průchodu záření hmotným prostředím nastává jeho absorpce. Opačný proces k absorpci se nazývá emise, tedy vyzáření.

Proces, při kterém záření interaguje s látkami tak, že se rozptyluje nebo odráží a při-tom se mění jeho vlnová délka, označujeme jako nepružný rozptyl. Do této skupiny patří molekulová spektroskopie.

V druhém případě látka ovlivňuje vlastnosti procházejícího záření bez toho, aby docházelo k výměně energie (vlnová délka záření se nemění) jedná se o pružný rozptyl. Do této druhé skupiny patří metody jako měření indexu lomu (refraktometrie a interferometrie), otáčení roviny polarizovaného záření (polarimetrie) nebo difrakce záření.

Při širokém rozsahu energií, ve kterém lze měřit, lze pak postihnout nejrůznější přechody částic mezi odlišnými energetickými stavy z hlediska uspořádání elektronů, vibrace a rotace molekul, spinu jader a elektronů a získat tak podrobné informace o jejich chemickém složení a struktuře.

Udávané krajní hodnoty všech spektrálních oblastí jsou orientační a jsou definovány hlavně podle dnes známých a používaných měřících technik detekce a podle používaných zdrojů záření. Zásadní význam uvedeného rozdělení je hlavně v tom, že je v souladu s jednotlivými typy přechodů částic mezi dvěma stavy.

Spektrální metody mohou být klasifikovány i podle pokusné techniky. Z tohoto hlediska jsou

nejdůležitější metody, které jsou založené na měření emise a absorpce záření.

3.2. Molekulová absorpční spektroskopie

Při pohlcení fotonu molekulou se její celková energie zvyšuje a molekula přechází do excitovaného stavu. Rozdíl energie mezi stavem excitovaným, jemuž odpovídá vyšší energetická hladina E_1 , a stavem základním s energetickou hladinou E_0 musí být roven přijatému kvantu záření podle rovnice $E_1 - E_0 = h \cdot \nu$. Tato absorpce záření se projeví změnou v rozložení náboje molekuly v excitovaném stavu proti stavu základnímu (změna dipólového momentu molekuly).

Při absorpci elektromagnetického záření je změna elektromagnetického stavu molekul z nižší do vyšší elektronové hladiny doprovázena změnou vibračního i rotačního stavu. Počet energeticky blízkých možných elektronových přechodů je u molekul velký. To znamená, že ve výsledném spektru nerozlišujeme jednotlivé rotační a vibrační čáry, ale nahlížíme na ně jako na pásy. Tyto pásy jsou pro každou molekulu typické v určité oblasti vlnové délky.

Podle toho, které energetické změny se v daném spektru projeví, můžeme molekulovou spektroskopii rozdělit na: mikrovlnnou (rotační), infračervenou (rotačně vibrační) a viditelnou až ultrafialovou (elektronovou).

3.3. Rotační spektra

Jsou z molekulových spekter nejjednodušší, protože odpovídají pouze přechodům mezi sousedními rotačními stavy molekul. Rotační spektra poskytují pouze molekuly s permanentním dipólem (polární látky). Naměřená spektra jsou čárového charakteru, přičemž jsou od sebe jednotlivé čáry vzdáleny o konstantní rozdíl vlnočtu.

3.4. Rotačně vibrační spektra

Řadíme sem infračervenou spektroskopii. Naměřená spektra jsou pásová, protože změna vibračního stavu je doprovázena i změnou stavu rotačního.

Klíčovou roli pro aktivitu vibrací má symetrie molekuly. Symetrii molekuly popisuje

operace symetrie. Ty lze chápat jako vlastnosti, které molekulu převedou do nového prostorového uspořádání totožného s uspořádáním původním.

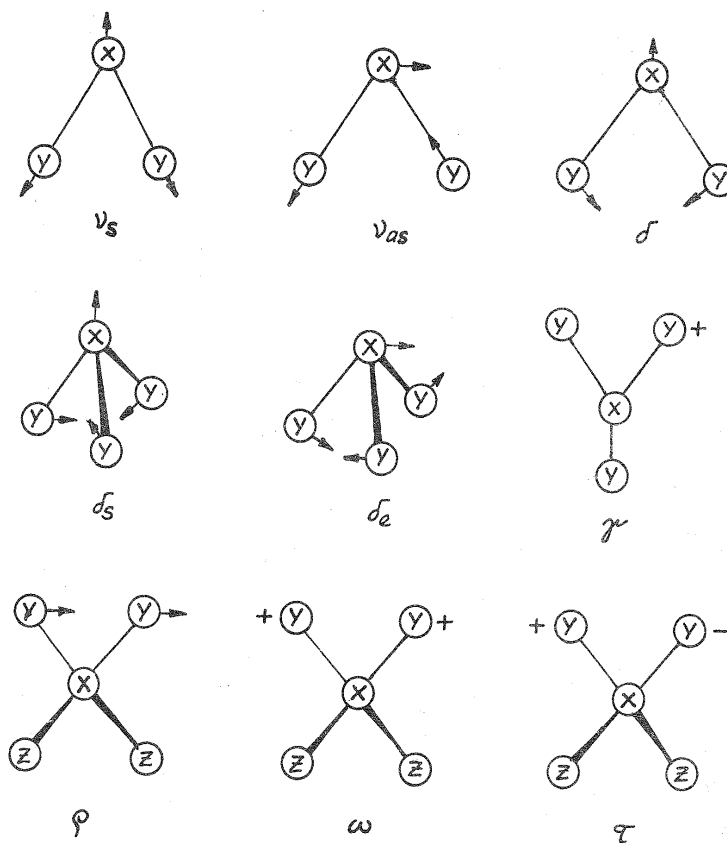
Energie vibrací závisí na hmotnosti vázaných atomů v molekule a na pevnosti vazby.

Rozlišujeme dva základní druhy vibrací:

- Valenční: (ν) při kterých se mění délka vazby (vzdálenost jader).
- Deformační: (δ) při kterých se mění vazebný úhel, zatímco vzdálenosti jader zůstávají konstantní.

Čistě vibrační přechody se získávají pouze v případě, kdy molekula nemůže rotovat. Tak je tomu v případě pevného skupenství, kde rotační stupně volnosti molekuly přecházejí na vibrační pohyby v mřížce.

Absorbovat se může jen záření, jehož energie odpovídá energii příslušných vibračních a rotačních přechodů. Tyto jsou u různých skupin atomů různé. Proto z vlnočtu absorbovaného záření získáváme informace vhodné pro kvalitativní analýzu.



Obr. 1: Valenční a deformační vibrace molekul necyklických molekul (ν_s – symetrická valenční vibrace, ν_{as} – antisymetrická valenční vibrace, δ – nůžková deformační vibrace, δ_s –

symetrická nůžková deformační vibrace, δ_e – degenerovaná nůžková deformační vibrace, γ – nerovinná deformační vibrace, rovinné kývání, ω – nerovinné kývání, τ - zkrut)

3.5. Elektronová spektra

Elektronová spektra molekul jsou charakteristická pro oblast UV a VIS, které absorbují elektromagnetické záření v rozsahu vlnových délek 20 až 750 nm. Jsou nejsložitější, protože se skládají ze širokých pásů odpovídajících přechodům elektronů z vazebných orbitalů σ a π do protivazebných σ^* a π^* . Existence širokých spektrálních pásů je dána tím, že přechod elektronu mezi vazebným a protivazebným orbitalem je doprovázen změnou rotačních a vibračních stavů molekuly. Proto tomuto jedinému přechodu elektronu odpovídá celá řada čar odpovídajících změnám rotace a vibrace.

Energeticky jsou přechody mezi elektronovými stavy v molekule mnohem náročnější než přechody mezi elektronovými stavy vibračními a rotačními. Výsledná absorpce záření a její následné elektronové spektrum je pásové, protože při jeho zaznamenávání jednotlivé přechody splývají.

UV a VIS spektroskopie se často používá ke studiu barevných látek. Skupiny, které zapříčiňují absorpci záření v UV a VIS oblasti nazýváme *chromofory*. Jejich účinek zvyšují *auxochromy*, což jsou organické složky obsahující volný elektronový pár a díky nim jsou látky barevné. Ve většině sloučenin se vyskytuje víc chromoforů současně. To způsobuje existenci mnoha elektronových přechodů a pozorované absorpční spektrum je tvořené větším počtem vzájemně se překrývajících pásů. Interpretace všech pásů u složitých molekul by byla obtížná, proto v naměřeném spektru nevyhodnocujeme všechny přechody. Reálnost přechodů vymezují výběrová pravidla.

Pro identifikaci vzorku v UV a VIS oblasti není podmínkou, že vzorek musí obsahovat i auxochromy.

Výběrová pravidla

- První výběrové pravidlo – při absorpci světelného kvanta se může excitovat pouze jeden elektron.
- Druhé výběrové pravidlo – je vztaženo na multiplicitu elektronového přechodu (štěpení

hladin).

Celkové spinové kvantové číslo $S = 0$ je u molekul, které mají jen párové elektrony (většinou jde o molekuly v základním energetickém stavu). Tento stav označujeme jako singletový S_0 , multiplicita $M = 2S + 1$ dosahuje hodnoty $M = 1$ a výsledný stav je singlet. Absorpcí energie může jeden párový elektron přejít do exci-tovaného stavu S_1 . Multiplicita se pak rovná $M = 2$ a výsledný stav je dublet. Tento přechod je spinově dovolený (oba elektrony mají k sobě opačný spin) a proto i intenzita pásu je vysoká.

Naopak, přechod spinově zakázaný poskytuje pásy s nejmenší intenzi-tou a odpovídá přechodu elektronu ze základní hladiny S_0 na triplexový excitovaný stav T_1 , kdy $M = 3$ a spiny obou elektronů jsou shodné.

Ostatní výběrová pravidla jsou definována na základě symetrie molekulových orbitalů mezi kterými dochází k přechodům elektronu.

3.6. Vliv skupenství vzorku na charakter molekulového spektra

K nejmenším mezimolekulárním interakcím dochází ve zředěných plynech tvořených nepolárními molekulami. Protože nejsou molekuly při měření vystaveny působení žádných vnějších sil (lze o nich uvažovat, jako o volných molekulách v plynném vzorku), jsou získaná spektra čistě rotačního, rotačně vibračního či elektronově rotačně vibračního charakteru.

V kapalně fázi je střední volná dráha molekul podstatně kratší než v plynech a mezi-molekulární interakce jsou proto výraznější. Kvantová rotace molekuly je potlačena, a to tím víc, čím nižší je teplota, při níž se spektrum kapaliny měří. Jinak jsou spektra kapalin takřka srovnatelná se spektry plynných vzorků.

U pevných (krystalických) vzorků je molekulová rotace zcela potlačena a proto spektra, které získáváme, jsou vibrační. V krystalech velmi často dochází ke změnám symetrie molekul.

V dnešní době, s kvalitou spektroskopických přístrojů, je prakticky jedno v jakém skupenství se vzorek nachází. Lze pracovat se vzorky všech skupenství, hlavním faktorem je úprava vzorku před měřením.

3.7. Kvalitativní analýza

Zabývá se zjišťováním přítomnosti látek ve vzorku (odpovídá na otázku „co?“).

Ke kvalitativní analýze se z metod molekulové spektroskopie nejvíce využívá vibračních spekter, které se uvádí v tzv. knihovně spekter. Při porovnávání experimentálních hodnot s tabelovanými je třeba neopomenout všechny okolnosti, které mohou mít vliv na výslednou hodnotu vlnočtu příslušné vibrace (druh přístroje, skupenství vzorku a jiné).

Vibrační spektroskopie se často využívá ke studiu čistoty sloučenin. IR spektra jsou velmi vhodná k identifikaci polárních příměsí v nepolárních látkách. K určování nepolárních příměsí je naopak vhodná Ramanova spektroskopie.

3.8. Kvantitativní analýza

Zabývá se zjišťováním množství látek (odpovídá na otázku „kolik?“)

Kvantitativní stanovení se provádějí téměř výhradně při hodnotách vlnových délek odpovídajících maximu absorpčního pásu, protože molární absorpční koeficient ϵ zde bývá značně vysoký. Kvantitativní hodnocení je založeno na Lambert–Beerově zákonu

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

kde A je absorbance, ϵ je molární absorpční koeficient ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$), charakterizující míru absorpce záření dané látky v roztoku jednotkové molární koncentrace o šířce absorbující vrstvy l cm.

Beerův zákon platí jen pro monochromatické záření a zředěné roztoky, ve kterých absorbující částice nepodléhají žádným interakcím. Jsou-li v roztoku přítomny další složky, které absorbují při stejné vlnové délce, pak zjištěná hodnota absorbance je součtem hodnot jednotlivých složek ve směsi.

Platí proto vztah:

$$A_\lambda = b \sum (\epsilon_\lambda)_i \cdot c_i$$

kde $i = 1, \dots, n$ jsou absorbující složky a b je tloušťka květy.

Pro jednoznačné závěry je však nejvýhodnější kombinovat výsledky měření s výsledky jiných spektroskopických metod. V případě infračervené spektroskopie, která *není ideální metodou pro kvantitativní analýzu*, je nejvhodnější porovnávání s výsledky Ramanovy spektroskopie. Z Ramanova spektra odečteme polohy Ramanových linií (v hodnotách frekvence nebo vlnočtu), charakterizující vibrace atomů (atomových skupin) v molekule. A i v tomto případě porovnáváme naměřené hodnoty s tabelovanými.

3.9. Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie je založena na absorpci infračerveného záření molekulami látek. Infračervené záření má větší vlnovou délku a nižší energii než záření UV a VIS.

V elektromagnetickém spektru se nachází v intervalu 0,78 až 1000 μm a tuto oblast ještě můžeme rozdělit na tři části:

- Blízká infračervená oblast (0,78 – 2,5 μm , tj. 12800 – 4000 cm^{-1})
- Střední infračervená oblast (2,5 – 50 μm , tj. 4000 – 200 cm^{-1})
- Vzdálená infračervená oblast (50 – 1000 μm , tj. 200 – 10 cm^{-1})

Energie IR záření nestačí na změny elektronových stavů, ale způsobuje změny vibračních a rotačních stavů molekul. IR spektrum je pásové, kde pásy ve spektru odpovídají různým typům vibračních přechodů. Porovnáme-li polohu pásů valenčních a deformačních vibrací pro tutéž skupinu atomů zjistíme, že vlnočty u valenčních vibrací jsou vyšší než u deformačních, což nám umožňuje rozdělit spektrum na dvě oblasti:

- **Oblast skupinových vibrací (charakteristických vibrací)** – Jde o oblast vyšších vlnočtů (4000 až 1200 cm^{-1}). Vyskytují se zde absorpční pásy funkčních skupin a přísluší především valenčním vibracím molekuly.
- **Oblast otisku prstů** – Jde o oblast nižších vlnočtů (1200 až 200 cm^{-1}). Leží zde absorpční pásy identifikující každou molekulu jako chemické individuum. To znamená, že díky tomu, že jsou tyto vibrace určeny chováním celého skeletu molekuly, nenajdeme dvě látky, které by měly svá spektra v oblasti otisku prstů shodná. Jde převážně o deformační vibrace molekul.

Toto rozdělení nelze považovat za striktní neboť se obě oblasti vzájemně překrývají.

Základní podmínkou interakce infračerveného záření s molekulou je změna dipólového momentu během vibrace, s čímž úzce souvisí mohutnost či intenzita absorpce záření.

S nejmohutnější absorpcí se setkáváme u vibrací silně polárních látek.

Při interakci infračerveného záření se vzorkem dochází k vibračním a tedy i rotačním přechodům. O rotačních pohybech molekuly, ale uvažujeme jen pokud je látka v plynném stavu.

3.10. Ramanova spektroskopie

Principem je měření rozptýleného záření, které vzniká interakcí monochromatického záření z oblasti viditelného světla (laser) s molekulami vzorku za současné změny jejich vibračních a rotačních stavů.

Vzhled spektra (závislost intenzity Ramanova rozptylu na vlnočtu) se prakticky neliší od infračerveného. Zásadní rozdíl je jen v tom, že v infračervené spektroskopii jsou aktivní vibrace, u kterých se mění dipólmoment, zatímco v Ramanově spektroskopii jsou aktivní ty vibrace, u kterých se mění polarizovatelnost.

Polarizovatelnost je schopnost posouvat v molekule náboje působením elektrického pole a vytvářet indukovaný dipól. Změna polarizovatelnosti je způsobena deformací molekulového orbitalu.

Rayleighův rozptyl záření

Jako zdroj záření se musí zvolit takové monochromatické záření, které není vzorkem absorbováno a po průchodu tohoto záření vzorkem, dojde k rozkmitání jeho molekul. Nepochopitelně molekula se díky tomu v elektrickém poli polarizuje a vytvoří indukovaný dipól. Molekula převezme od fotonu jeho energii a přebytečnou energii ihned ztrácí emisí záření a vrací se do původního energetického stavu.

Tento děj si můžeme jednoduše představit jako pružné srážky fotonů s molekulami (pružný rozptyl).

Ramanův rozptyl záření

Celý děj si můžeme představit jako nepružnou srážku fotonu s molekulou, při které foton část energie molekule ponechá (nepružný rozptyl).

Při měření takto rozptýleného záření, zjistíme, že jeho určitá část změnila vlnóčet. Molekula se nevrátila na původní hladinu, ale zaujala jiný vibrační a rotační stav.

Ramanův posun je založen na rozdílu frekvencí primárního záření a rozptýleného záření. Pásky s nižším vlnóčem než je vlnóčet dopadajícího záření (souvisejí s přechodem molekuly na vyšší vibrační hladinu než byla původní) se nazývají Stokesovy pásky. Pásky s vyšším vlnóčem rozptýleného záření (odpovídají přechodu molekuly na nižší vibrační hladinu než byla původní) se nazývají anti-Stokesovy. Ramanovy linie jsou obecně slabé. Linie vykazují velmi malou intenzitu, protože vznik anti-Stokesových linií je méně pravděpodobný. Proto se Ramanovo spektrum obvykle sleduje jen v oblasti Stokesových linií, které jsou podstatně intenzivnější.

4. Příprava vzorků pro měření infračervených a Ramanových spekter

4.1. Příprava vzorku pro měření infračervených spekter pevných látek

Vedle nujolové suspenze je vhodnou metodou pro přípravu vzorků pevných látek také lisování tablet z KBr. Výhodou tohoto postupu je, že KBr nemá žádnou absorpci v oblasti 4000-400 cm^{-1} .

Při přípravě můžeme využít ručního lisu, se kterým se dá pracovat i v suchém boxu a připravit tak vzorky látek citlivých na kyslík a vzdušnou vlhkost.

Postup

Do achátové třecí misky navážíme asi 100-150 mg KBr (pro infračervenou spektroskopii). Pečlivě rozetřeme achátovým tloučkem. Přidáme 1-2 mg měřené látky a znovu pečlivě rozetřeme a zhomogenizujeme.



Do těla ručního lisu zašroubujeme jeden šroub, nasypeme z třecí misky vzorek rozetřený s

KBr (100 mg KBr + 1-2 mg vzorku), poklepáním rozprostře do stejnoměrné vrstvy a uzavřeme druhým šroubem. Pomocí dvou univerzálních klíčů vylisujeme tabletu mezi dvěma šrouby. Z lisu opatrně vyšroubujeme oba šrouby tak, abychom nepoškodili tenkou průsvitnou tabletu uvnitř. Tělo lisu s tabletou vložíme do exikátoru nebo do uzavírací prachovnice a přeneseme ke spektrometru. Dbáme na to, abychom nepoškrábali leštěný povrch plochých konců šroubů. Mělo by to negativní vliv na kvalitu hladkého povrchu tablety.



Po skončení měření důkladně umyjeme lis horkou vodou a vysušíme v sušárně.

4.2. Příprava vzorku pro měření Ramanových spekter

Pro měření Ramanových spekter pevných a kapalných vzorků lze využít speciální kapiláry z kvalitního křemenného skla o průměru 1,5 mm. Vzorky citlivé na vzdušnou vlhkost nebo kyslík lze do kapiláry naplnit pod inertní atmosférou a poté kapiláru zatavit, čímž se zamezí rozkladu vzorku. Minimální výška sloupce pro měření je 0,5 cm (cca 2 mg vzorku), ale je vhodné naplnit kapiláru alespoň do 1 cm. Pokud máme málo vzorku, lze spodní část kapiláry vyplnit např. tenkou skleněnou trubičkou.

Pokud je zrnitost pevného vzorku příliš velká, musíme jej nejdříve rozetřít v čisté achátové misce. Poté nabere do otevřeného konce kapiláry trochu vzorku a opatrně ho sklepe na dno. Pokud vzorek nelze sklepat, můžeme použít tenkou dlouhou trubičku, do které kapiláru vhodíme a

necháme ji tam skákat, čímž se vzorek posune ke dnu kapiláry. Kapiláru můžeme také napěchovat pomocí tenkého kovového drátu, musíme ale dbát na čistotu a je nutné pracovat opatrně, aby nedošlo k poškození tenké stěny kapiláry.

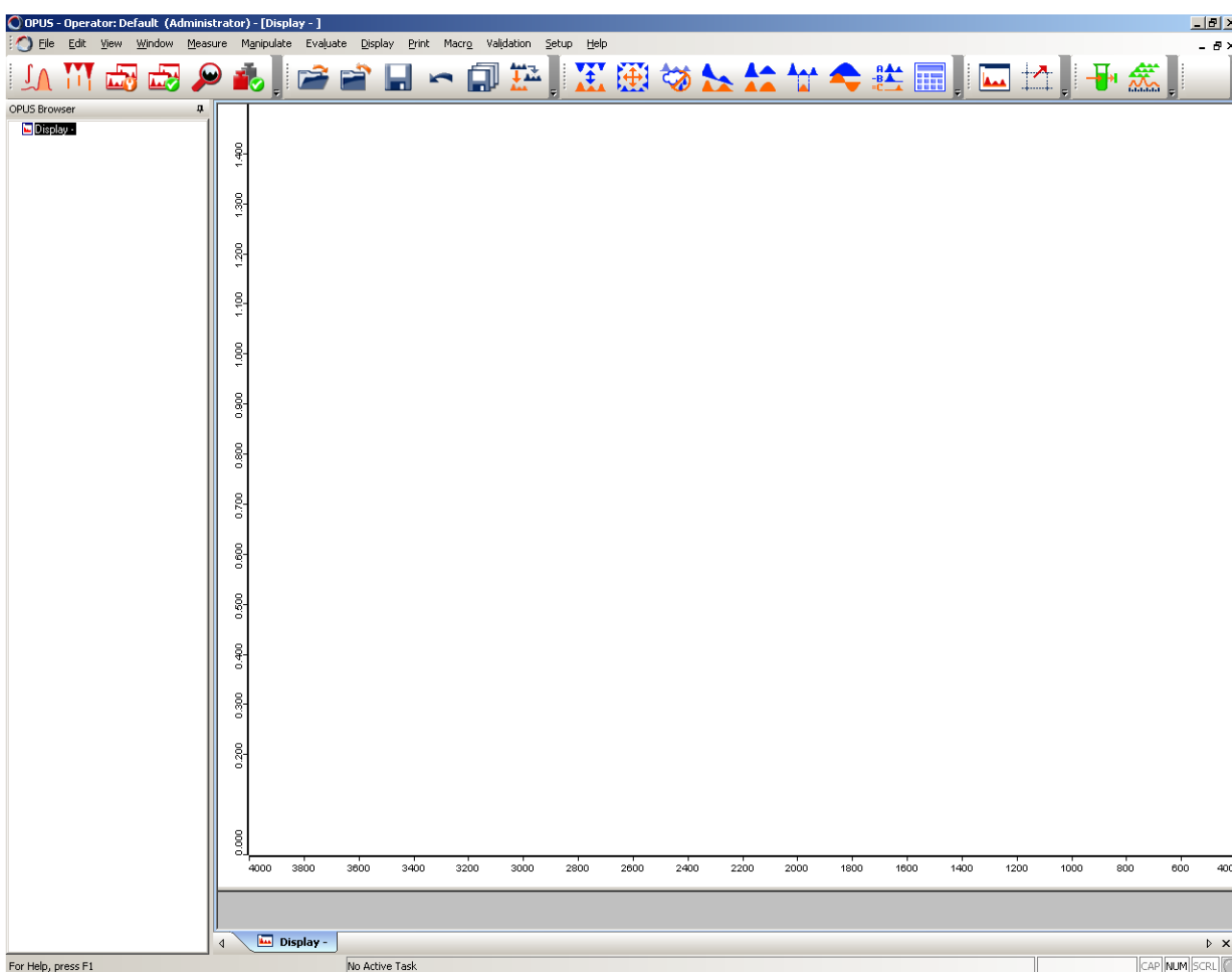
Plnění kapalných vzorků do kapilár je náročnější a vyžaduje praxi. Nejsnadnější cestou je opatrné nahřátí uzavřeného konce kapiláry nad plamenem a následné ponoření otevřeného konce kapiláry pod hladinu vzorku. Při chládnutí dojde k objemové kontrakci kapiláry a vzniklý podtlak nasaje kapalný vzorek dovnitř kapiláry. Toto samozřejmě nelze provádět s hořlavými vzorky!



5. Postup měření spekter

5.1. Infračervený spektrometr Bruker Tensor 27

Spektrometr je připojen k počítači s operačním systémem Windows XP, jako ovládací software se využívá program OPUS 6.5. Program spustíme dvojklikem na ikonu OPUS na pracovní ploše. Zalogujeme se jako uživatel Default (heslo: OPUS).



Nejprve otevřeme nabídku pro nastavení měření (Measure->Measurement). Na kartě Basic nastavíme pomocí tlačítka *Load* měřící metodu (MIR.xpm) a přepneme se do karty *Check Signal*, kde zkontrolujeme interferogram. Počkáme, až se hodnota signálu ustálí na hodnotě 20 – 21 000 Count a přepneme se zpět na kartu *Basic*, kde nastavíme jméno vzorku a formu vzorku (solid in KBr). V kartě *Advanced* nastavíme cestu ke složce, kam chceme uložit naměřená spektra.

Pro měření použijeme metodu MIR.xpm, která je nastavena na měření v oblasti 400-4000 cm^{-1} s rozlišením 4 cm^{-1} . Toto rozlišení je dostačující pro měření pevných a kapalných vzorků. Pro plynné vzorky je nutné použít vyšší rozlišení, čímž se prodlouží i doba měření.

Nejprve změříme pozadí, stiskneme tlačítko *Background Single Channel* na kartě Basic a počkáme na dokončení měření. Poté vložíme vzorek do spektrometru a chvíli počkáme, aby se mohlo složení atmosféry uvnitř spektrometru stabilizovat. Stiskem tlačítka *Sample Single Channel* změříme spektrum vzorku, které se nám po dokončení měření objeví na monitoru. Další vzorky už lze měřit přímo a použít první naměřené pozadí.

5.2. Infračervený spektrometr Bruker Equinox IFS 55/S s Ramanovým nástavcem FRA 106/S

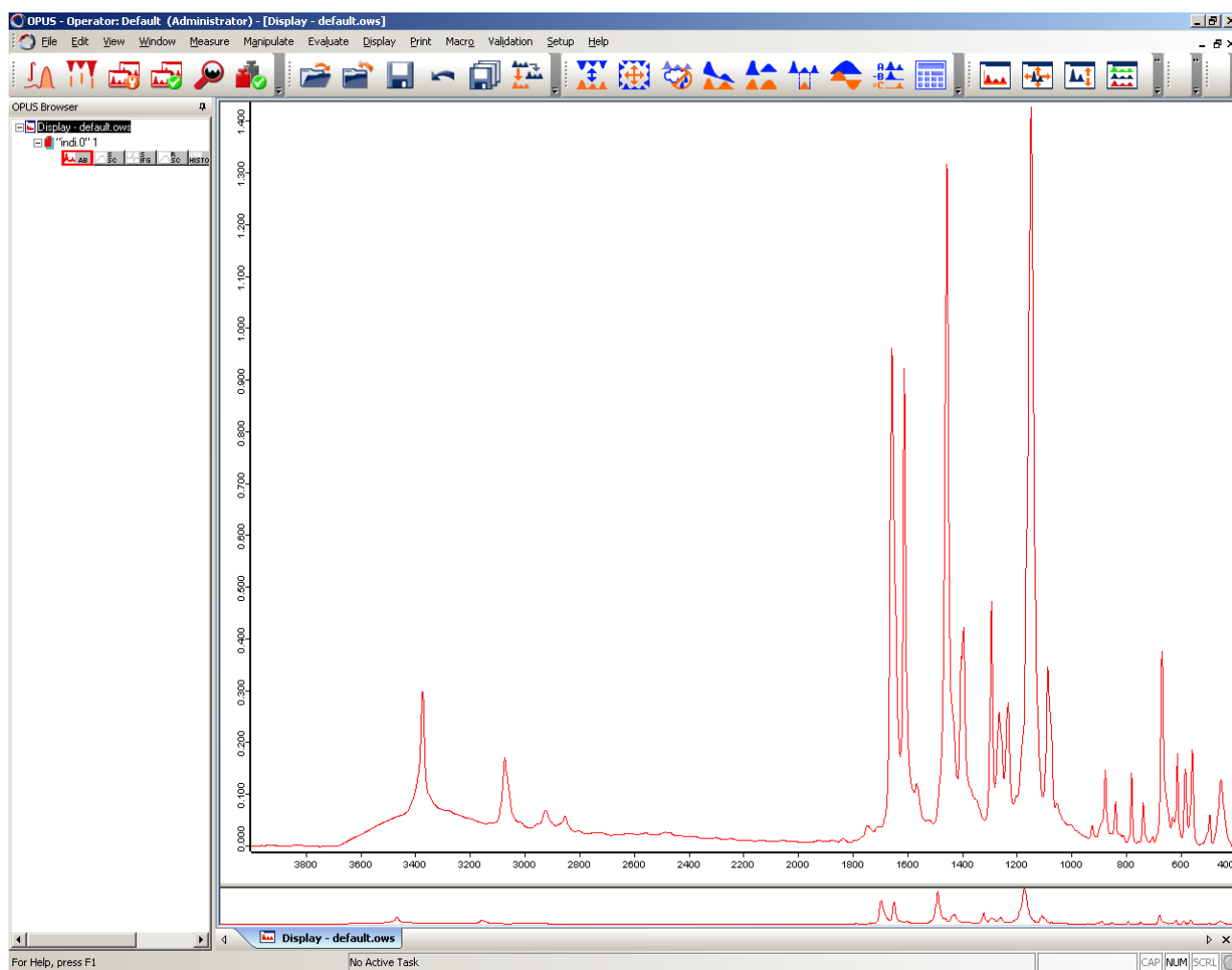
Spektrometr je připojen k počítači s operačním systémem OS/2 Warp a pro měření a zpracování spekter se využívá software OPUS 3.0. Jeho ovládání je velmi podobné novější verzi instalované u IR spektrometru. Pro měření použijeme metodu RA4.xpm, která umožňuje měření Ramanových spekter s rozlišením 4 cm^{-1} .

Kapiláru se vzorkem vložíme do měřicího prostoru spektrometru a stiskneme tlačítko *Align Mode* a nastavíme výkon laseru na 150 mW. Po chvíli se zobrazí náhled na měřené spektrum. Pomocí klávesnice xyz translátoru nastavíme ideální polohu vzorku vůči optické soustavě – hledáme polohu s maximální intenzitou spektra. Zvýšíme hodnotu výkonu laseru na 350 mW a stiskneme tlačítko *Sample Measurement*. Po dokončení měření (cca 15 minut) se zobrazí spektrum na monitoru.

6. OPUS – software pro zpracování získaných spekter

Pro zpracování naměřených spekter budeme používat program OPUS 6.5 pro Windows XP.

Základní obrazovka programu se skládá z několika částí.



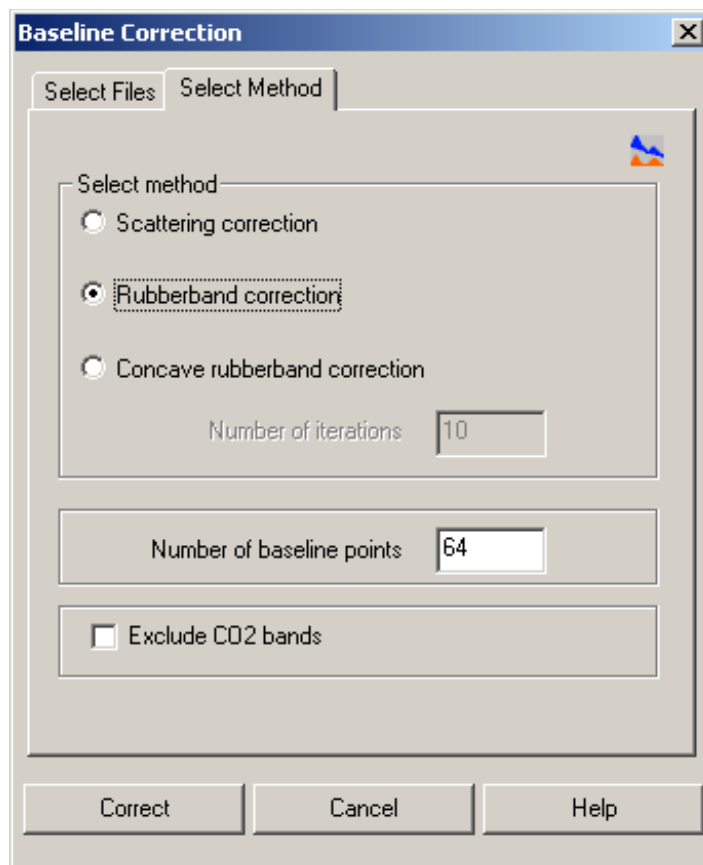
V horní části je klasická lišta s ovládacími prvky, kterou si lze podle potřeby upravit. Levá část obrazovky obsahuje prohlížeč souborů, který umožňuje snadné přepínání mezi otevřenými spektry. Každé spektrum je reprezentováno jednou položkou prohlížeče a kromě názvu obsahuje i jednotlivé části spektra, tzv. bloky (např. spektrum, interferogram a pozadí pro IR spektra).



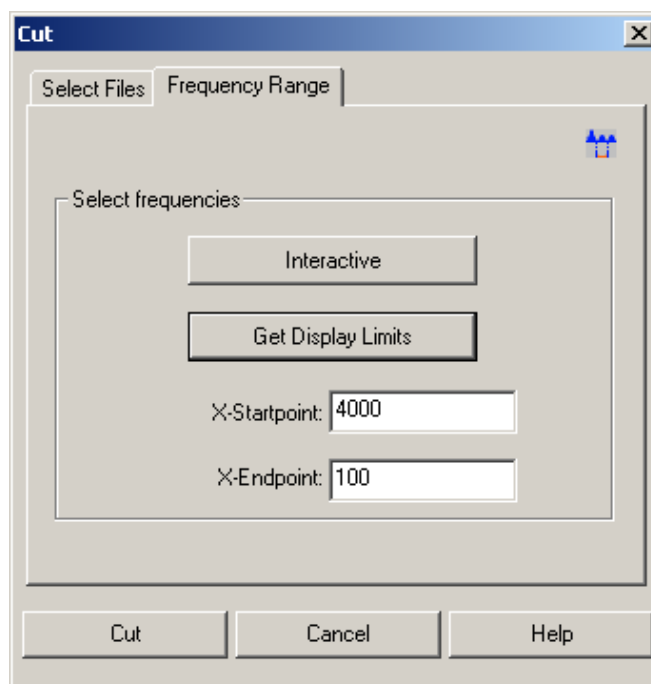
Kliknutím pravým tlačítkem myši na jednotlivé bloky je lze skrýt nebo zobrazit, příp. měnit barvu příslušných spekter.

Pro zpracování spekter budeme využívat převážně nástroje z nabídek *Manipulate* a *Evaluate*.

U IR spekter je vhodné nejprve provést úpravu baseliny pomocí nástroje *Baseline Correction*. V okně zkontrolujeme, že máme zvolený správný soubor a blok. Přepneme se do záložky *Select Method*, kde zvolíme korekční metodu *Rubberband Correction*.

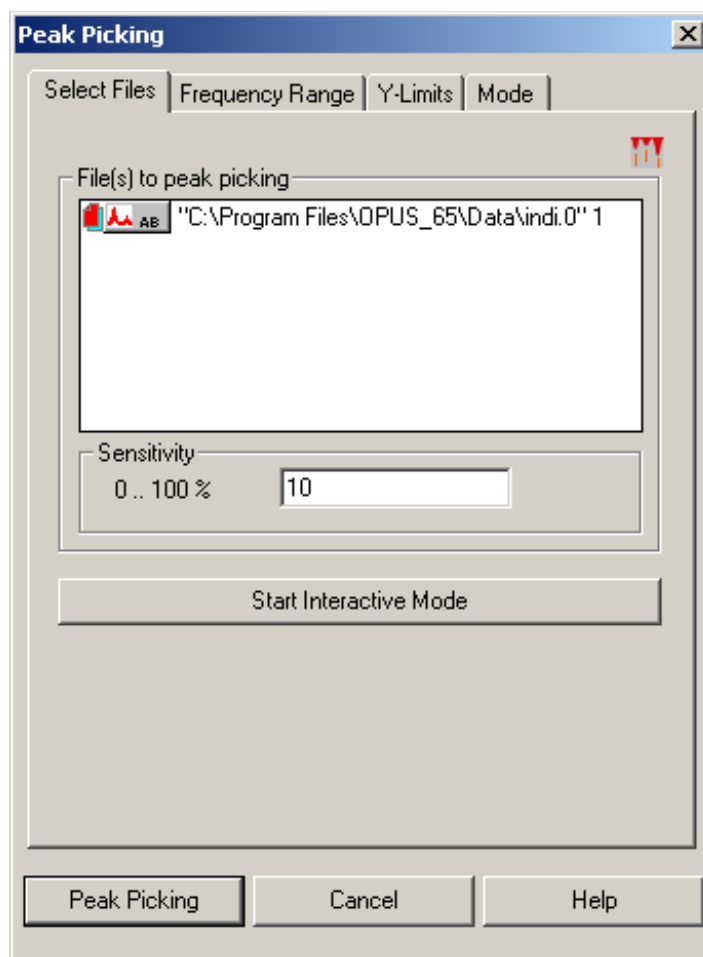


U Ramanových spekter je vhodné ořezat oblast antistokesových vibrací pomocí nástroje *Cut*, kterému je nutné zadat oblast pro ořezání (nečastěji $100 - 4000 \text{ cm}^{-1}$).



Píkování spekter se provádí pomocí nástroje *Peak Picking* v nabídce *Evaluate*.

Nejvýhodnější je využít interaktivní režim (*Start Interactive Mode*), který umožňuje přehledné nastavení citlivosti a prahu píkování. Pokud potřebujeme opíkovat pás, který interaktivnímu módu unikl použijeme nástroj *Single Peak Pick* z kontextového menu.




Upravené spektrum můžeme přímo vytisknout na tiskárně pomocí nabídky *Print->Quick Print* nebo využít pokročilejší možnosti nastavení tisku v *Print->Print Spectra*.

7. Vyhodnocení získaných spekter

Vyhodnocení infračervených a Ramanových spekter je možné dvojím způsobem. Pokud máme alespoň rámcovou představu o složení analyzovaného vzorku můžeme se pokusit přiřadit jednotlivé pásy známým vibracím. Tento postup je ale časově náročný a vyžaduje poměrně značné znalosti a velkou zkušenost.

Druhou možností je porovnání naměřeného spektra (spekter) s databází standardů. Zde se využívá hlavně oblast otisku prstu, která je pro každou látku charakteristická. Při porovnávání bereme nejprve v úvahu nejintenzivnější pásy.

Volně dostupnou databází spekter je např. SDBS, kterou můžeme najít na internetové adrese: <http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/>. Tato databáze obsahuje spektra (MS, ^{13}C a ^1H NMR, IR, Ramanova a EPR) převážně organických sloučenin. Pro vyhledávání IR spekter slouží box IR Peaks ve vyhledávacím formuláři (viz červeně orámovaná část obrázku). Do tohoto boxu můžeme vložit vlnočty pásů ze spektra. Je vhodné vložit více pásů, aby výsledek hledání neobsahoval moc velký počet sloučenin.

Spectral Database for Organic Compounds SDBS [Japanese](#) [Introduction](#) [Disclaimer](#) [HELP](#) [Contact](#) [What's New](#) [RIO-DB](#) [LINK](#) 

SDBS Compounds and Spectral Search

Compound Name: <input type="text"/> <input type="button" value="match partial"/>	Atoms: C(Carbon) <input type="text"/> to <input type="text"/> H(Hydrogen) <input type="text"/> to <input type="text"/> N(Nitrogen) <input type="text"/> to <input type="text"/> O(Oxygen) <input type="text"/> to <input type="text"/> F(Fluorine) <input type="text"/> to <input type="text"/> Cl(Chlorine) <input type="text"/> to <input type="text"/> Br(Bromine) <input type="text"/> to <input type="text"/> I(Iodine) <input type="text"/> to <input type="text"/> S(Sulfur) <input type="text"/> to <input type="text"/> P(Phosphorus) <input type="text"/> to <input type="text"/> Si(Silicon) <input type="text"/> to <input type="text"/> <small>Numbers between left and right columns.</small>	Spectrum: <small>Check the spectra of your interest.</small> <input type="checkbox"/> MS <input type="checkbox"/> IR <input type="checkbox"/> ^{13}C NMR <input type="checkbox"/> Raman <input type="checkbox"/> ^1H NMR <input type="checkbox"/> ESR IR Peaks(cm^{-1}): Allowance <input type="text"/> <input type="text"/> \pm <input type="text"/> <small>"," or space is the separator for multiple peaks. Use "-", to set a range: eg. 550-750,1650-3000. Transmittance < <input type="text"/> %</small> ^{13}C NMR Shift(ppm): Allowance <input type="text"/> <input type="text"/> \pm <input type="text"/> <small>"," is the separator for multiple shifts, eg. 129.3,18.4,...</small> No shift regions: <input type="text"/> <small>Range defined by two numbers separated by a space, eg. 110 78,...</small> ^1H NMR Shift(ppm): Allowance <input type="text"/> <input type="text"/> \pm <input type="text"/> No shift regions: <input type="text"/> MS Peaks and intensities: <input type="text"/> <small>Mass and its intensity are a set of data separated by a space, eg. 110 22,...</small>
--	--	---

Hit: Sort by:

(c) National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

8. Literatura

1. Colthup N.B., Daly L.H., Wiberley S.E.; Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy; Academic Press 1990
2. Workman J., Springsteen A.: Applied Spectroscopy; Academic Press 1998

Úloha 1. Měření FT-IR spekter pigmentů

Zadání:

- 1) Z připravených vzorků pigmentů vylisujte tabletu a změřte FT-IR spektra.
- 2) Naměřená spektra zpracujte a interpretujte pomocí programu OPUS.
- 3) Změřte FT-IR spektrum neznámého vzorku a proveďte identifikaci na základě dříve naměřených spekter.

Postup:

- 1) Na analytických vahách navažte do čisté achátové misky 2-3 mg vzorku.
- 2) K navážce přidejte cca 300 mg KBr.
- 3) Směs dobře zhomogenizujte a rozetřete.
- 4) Do sestavené lisovací matrice vsypte připravenou směs vzorku a KBr.
- 5) Pomocí hydraulického lisu vylisujte tabletu, lisování by mělo trvat cca 1 minutu. Tableta musí být pevná a čirá.
- 6) Spusťte IR spektrometr.
- 7) Po stabilizaci zdroje záření změřte spektrum pozadí (Background).
- 8) Změřte spektra připravených tablet.
- 9) Spektra zpracujte pomocí programu OPUS – proveďte korekci baseliny, normalizaci a spektrum opíkejte.
- 10) Srovnáním naměřených spekter standardů se spektrem neznámého vzorku proveďte identifikaci. Všimněte si rozdílů mezi spektry organických a anorganických pigmentů. Pokuste se přiřadit pásy vibračním důležitých funkčních skupin v molekule pigmentu.

Úloha 2. Měření Ramanových spekter pigmentů

Zadání:

- 1) Naměřte ramanova spektra pigmentů.
- 2) Naměřená spektra zpracujte a interpretujte pomocí programu OPUS.
- 3) Změřte ramanovo spektrum neznámého vzorku a proveďte identifikaci na základě dříve naměřených spekter.

Postup:

- 1) Rozetřete vzorek v achátové misce na jemný prášek.
- 2) Naplňte kyvety vzorkem, minimální výška sloupce pro měření je 1 cm.
- 3) Zkontrolujte celistvost a soudržnost sloupce vzorku v měřící kyvetě.
- 4) Vychlad'te detektor Ramanova spektrometru pomocí kapalného dusíku. Chlazení trvá cca 30 minut.
- 5) Spus'tte ramanův spektrometr, pro měření použijte metodu RA4, která umožňuje záznam spektra s rozlišením 4 cm^{-1} .
- 6) Změřte spektra připravených vzorků.
- 7) Spektra zpracujte pomocí programu OPUS – odstraňte antistoaksovu oblast spektra, proveďte korekci baseliny, normalizaci a spektrum opíkjte.
- 8) Srovnáním naměřených spekter standardů se spektrem neznámého vzorku proveďte identifikaci. Všimněte si rozdílů mezi spektry organických a anorganických pigmentů. Pokuste se přiřadit pásy vibračním důležitých funkčních skupin v molekule pigmentu.
- 9) Porovnejte IR (získané v předchozí úloze) a RA spektra stejných látek.