

Nicolet CZ s.r.o.

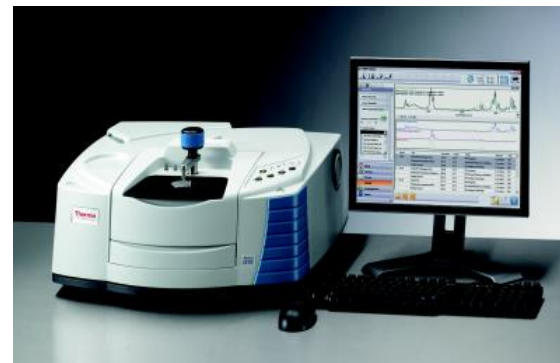


**Porovnání infračervené a
Ramanovy spektroskopie.**

**Typické aplikace těchto
technik.**

ThermoFisher
SCIENTIFIC

The world leader in serving science



Základní princip

Infračervená a Ramanova spektroskopie

- ✓ **nedestruktivní** experimentální **metody** poskytující komplementární kvalitativní a kvantitativní informaci o zkoumané matici
- ✓ **založeny na dvou fyzikálně rozdílných jevech** (absorpci a rozptylu záření) ve stejné oblasti elektromagnetického spektra
- ✓ **společným rysem** je získání **detailní strukturní informace** a nedestruktivnost stanovení
- ✓ lze je použít pro kvalitativní i kvantitativní **rozbory vzorků plyných, kapalných i pevných**
- ✓ **IČ spektra** – vibrace podmíněny **změnou dipólového momentu molekuly**
- ✓ **Ramanova spektra** – vibrace podmíněny **změnou polarizovatelnosti molekuly**
- ✓ IČ a Ramanova spektroskopie – **komplementární metody**
- ✓ některé vibrace aktivní v obou metodách, některé jen v jedné z nich
- ✓ **plná komplementarita u středově symetrických molekul**

Základní princip

✓ Porovnání metod vibrační spektrometrie

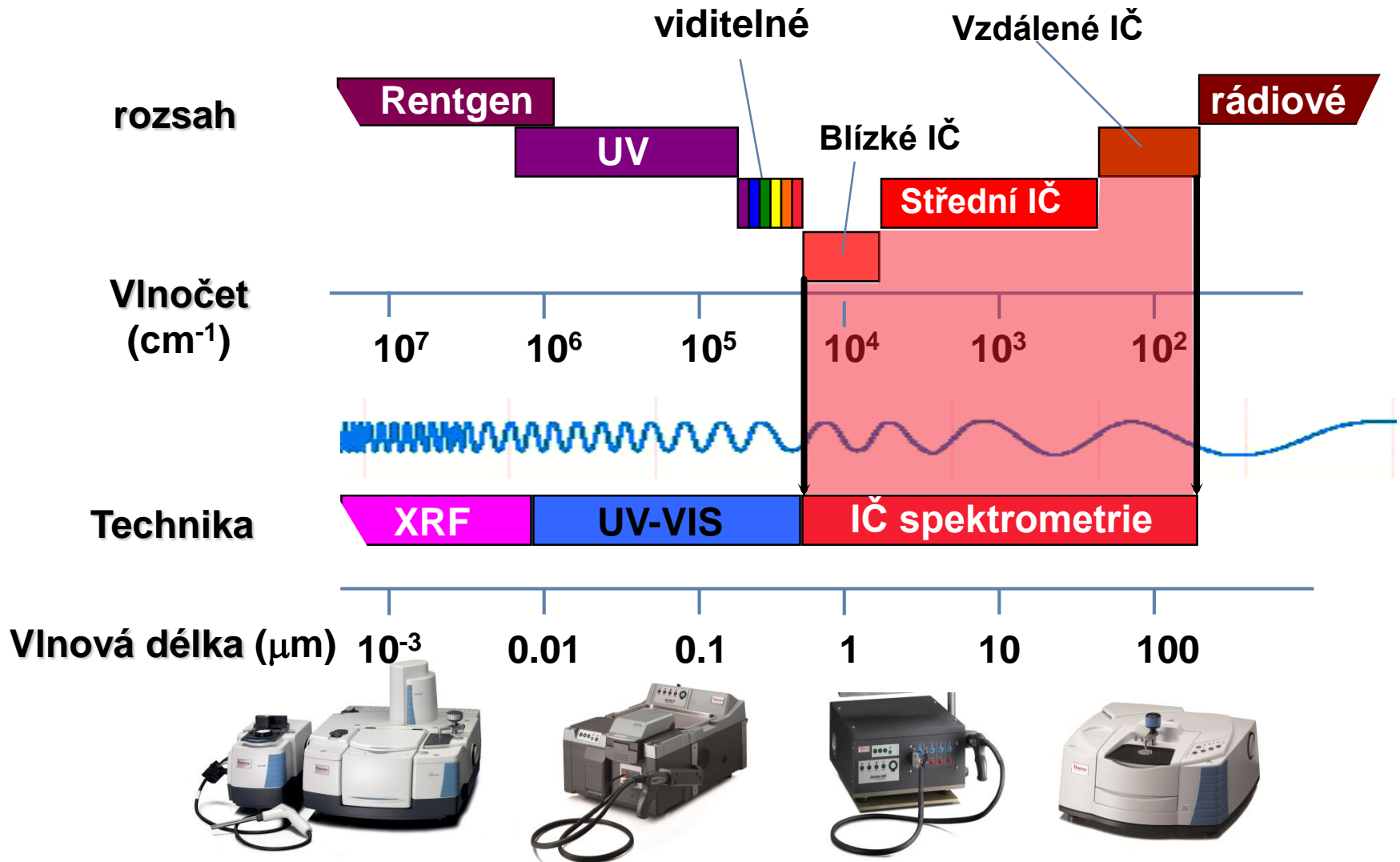
Infračervená spektrometrie

- ✓ absorpce infračerveného záření
- ✓ citlivá na vibrace dipólu O-H, N-H, C=O
- ✓ obvykle nutná příprava vzorku, požadována krátká optická dráha
- ✓ bezvodé roztoky

Ramanova spektrometrie

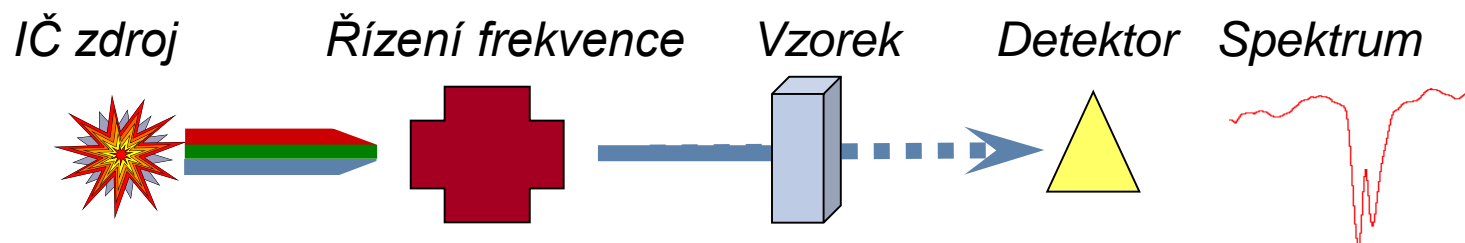
- ✓ emise rozptýleného laserového záření
- ✓ citlivá na polarizovatelné vibrace C=C, aromáty
- ✓ téměř žádná příprava vzorku, měření přes transparentní obaly a sklo
- ✓ vodné roztoky

Infračervená spektroskopie



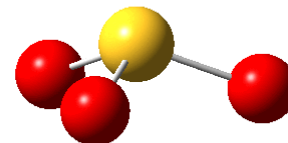
Fyzikální podstata infračervené spektrometrie

- ✓ Chemické vazby mohou být znázorněny jako kmitající pružiny spojující atomy
- ✓ Absorpce záření vede ke změně rychlosti kmitání
- ✓ K absorpci záření dojde jen tehdy, když vyvolá pro měřenou molekulu přípustnou změnu rychlosti vibrací
- ✓ Pozice absorpčních pásů ve spektru je pak daná:
 - hmotností atomů
 - pevností vazby - „pružiny“
 - okolními vazbami v materiálu

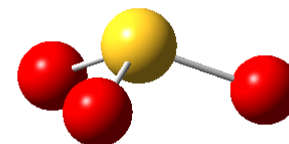


Jak molekuly vibrují

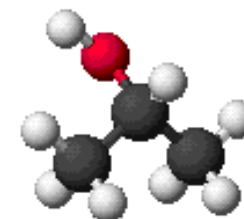
Anion typu XO_3^- – animace valenčních vibrací



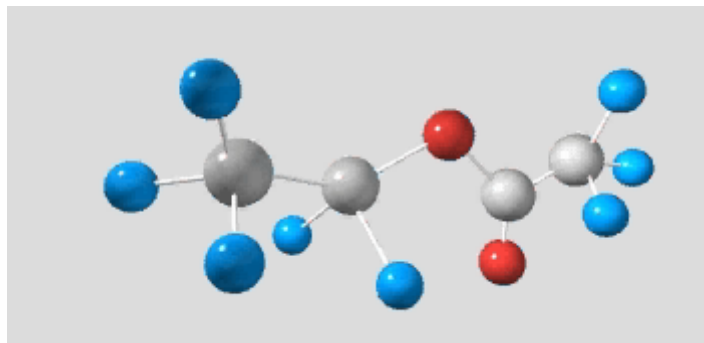
Anion typu XO_3^- – animace deformačních vibrací



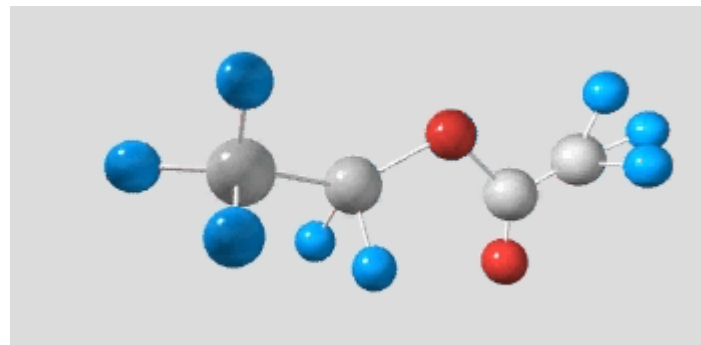
Isopropanol – animace všech vibrací najednou



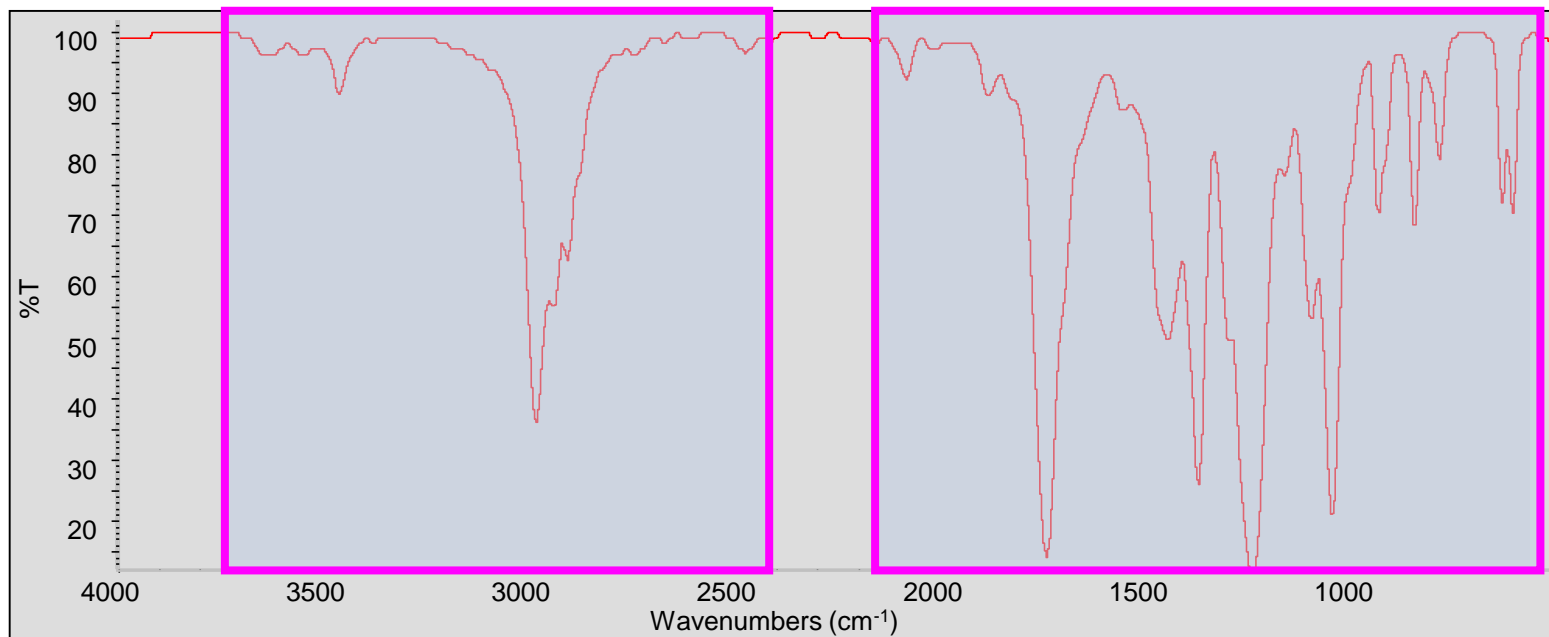
Polohy pásů poskytují informaci o struktuře



Valenční



Deformační



Omezení IČ spektrometrie

✓ Analýza kovů a slitin

- infračervené záření jen odrážejí, nemají spektrum

✓ Analýza stopových složek

- z jednoho materiálu získáváme jediné spektrum
- složky s obsahem pod 0,5% mají obvykle ve spektru už tak malou odezvu, že je nelze seriózně analyzovat

✓ Analýza jednoduchých solí a oxidů

- NaCl, KCl, KBr, TiO₂, ZnO mají jen málo pásů ve špatně měřitelné oblasti

Co IČ spektrometrie umí dobře

✓ kvantitativní analýza – obsah složky ve směsi

- vyžaduje vývoj kalibrace na základě spekter standardů o známé koncentraci složky
- perfektní pro plyny, kapaliny, gely – ATR



- pro tuhé vzorky komplikovanější měřící techniky, ale proveditelné
- zvláště pro nehomogenní vzorky je obvykle výhodnější měření v NIR oblasti

✓ kvalitativní analýza – identifikace a verifikace

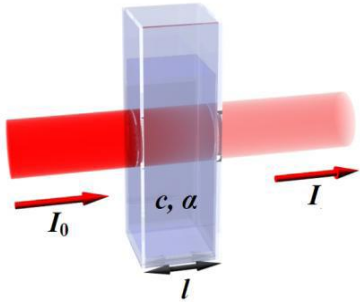
- pro chemická individua většinou snadné pro tuhé, kapalné i plynné vzorky
- komplikovanější u směsí – kumulativní charakter spekter



Základní měřicí techniky

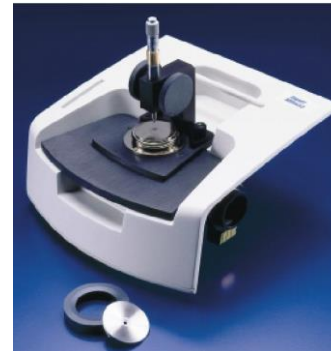
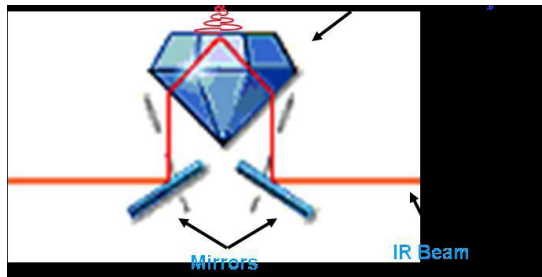
✓ Transmisní techniky

- tableta KBr, suspenze v nujolu, kyvety s KBr okénky, fólie, plynová kyveta



✓ ATR (Attenuated Total Reflectance).

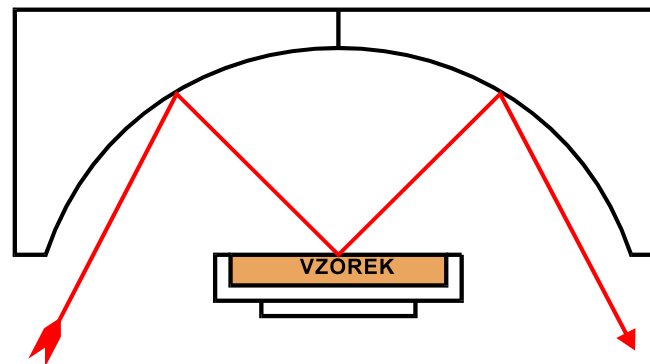
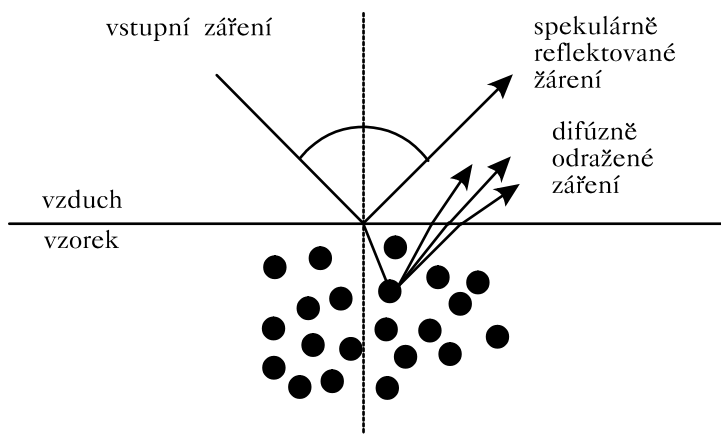
- pro tuhé látky vhodné k identifikaci, pro kapaliny i pro kvantitativní rozbor



Základní měřicí techniky

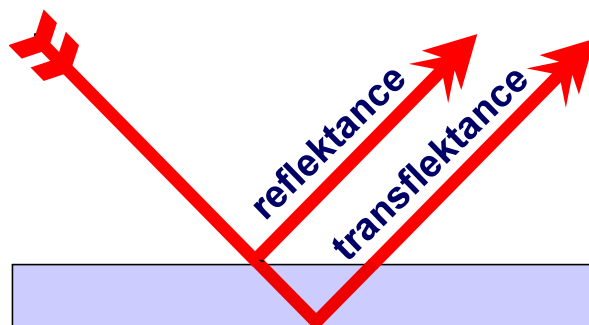
✓ **DRIFT** (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy).

- vhodná technika pro měření amorfních práškových vzorků



✓ **Spekulární (zrcadlová) reflektance.**

- vhodná technika pro měření tenkých vrstev na reflektujících površích



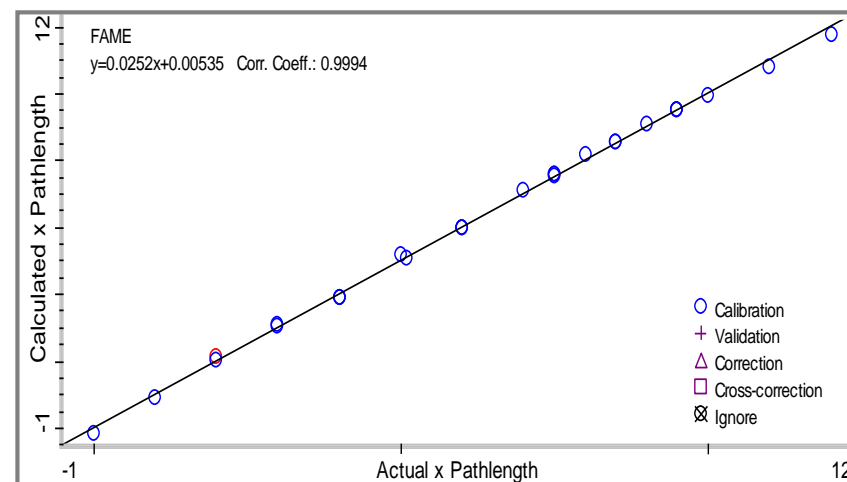
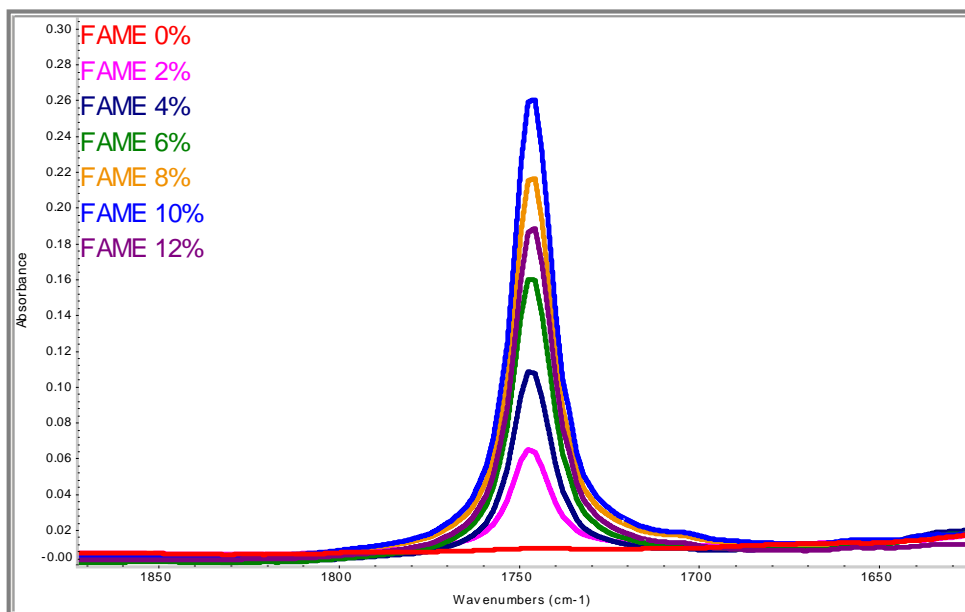
Další měřicí techniky

- ✓ **infračervená mikroskopie** (transmisní, reflexní a ATR měření, minimální měřená plocha cca $5 \times 5 \mu\text{m}$)
- ✓ **spojení FTIR-TGA** – měření plynů vznikajících při tepelném rozkladu
- ✓ **spojení FTIR-GC** – FTIR spektrometr je detektorem GC



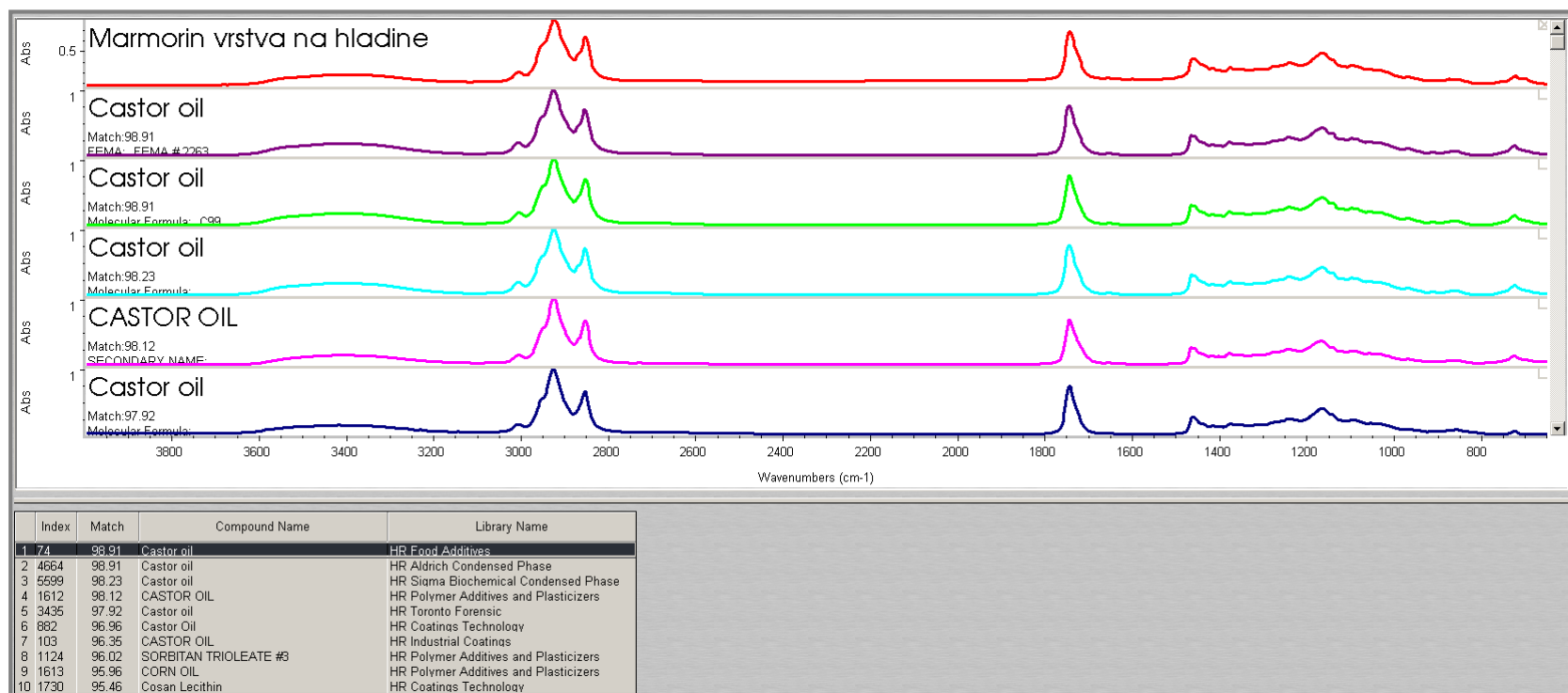
Transmise - příklad kvantitativní aplikace

- ✓ stanovení obsahu FAME v naftě
- ✓ transmisní měření kapalného vzorku v kyvetě
- ✓ kalibrace lineární regresí – pro spektra ve střední infračervené oblasti platí Lambertův – Beerův zákon



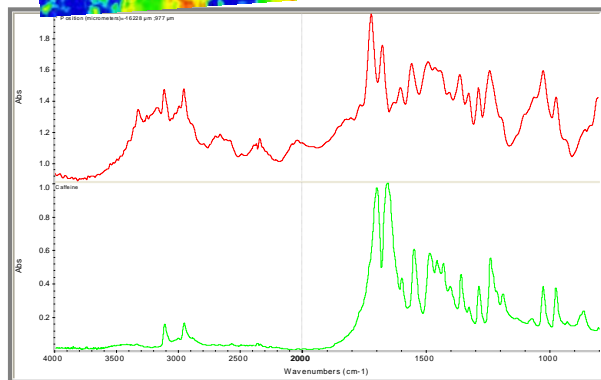
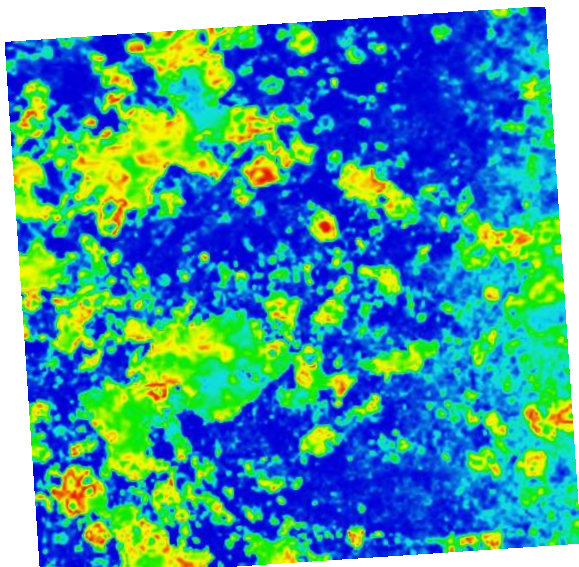
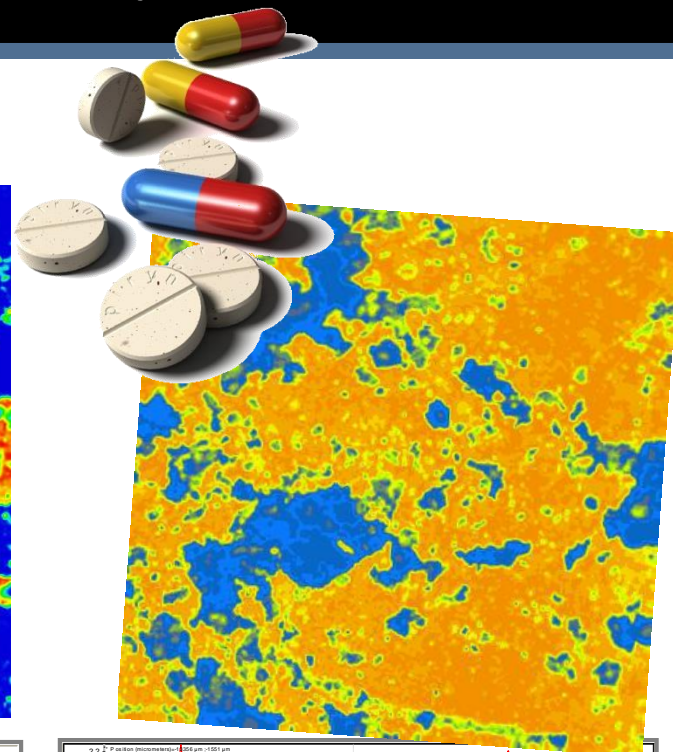
ATR - příklad identifikace neznámého vzorku

- ✓ Marmorin – dekorační akrylátový tmel
- ✓ identifikace kapalně vrstvy vydělené na jeho povrchu
- ✓ naměřené spektrum upraveno pomocí „Advanced ATR correction“

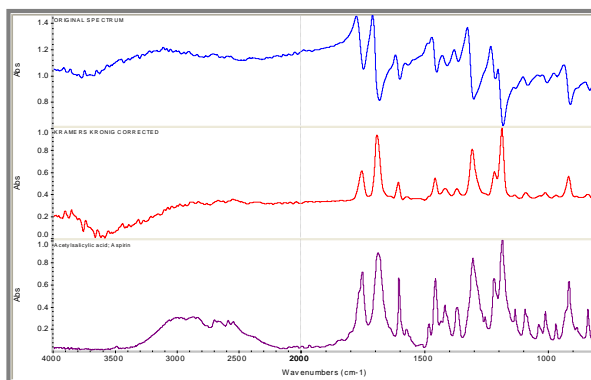
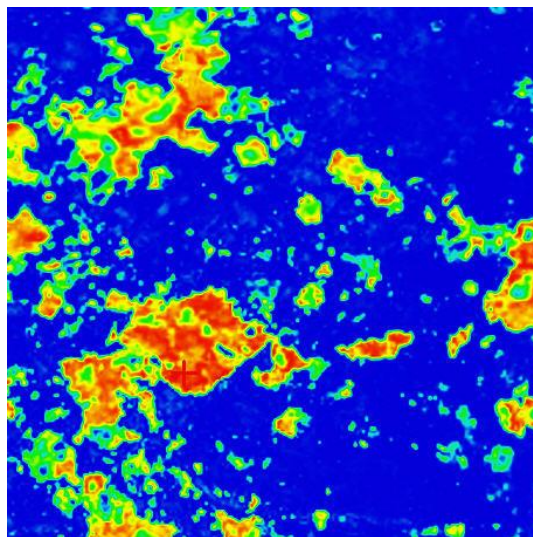


Difúzní reflexe – příklad mapování infračerveným mikroskopem

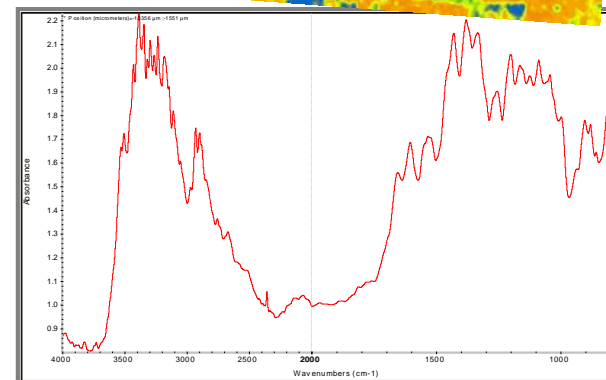
Farmaceutická tableta



Spektrum kofeinu a jeho mapa



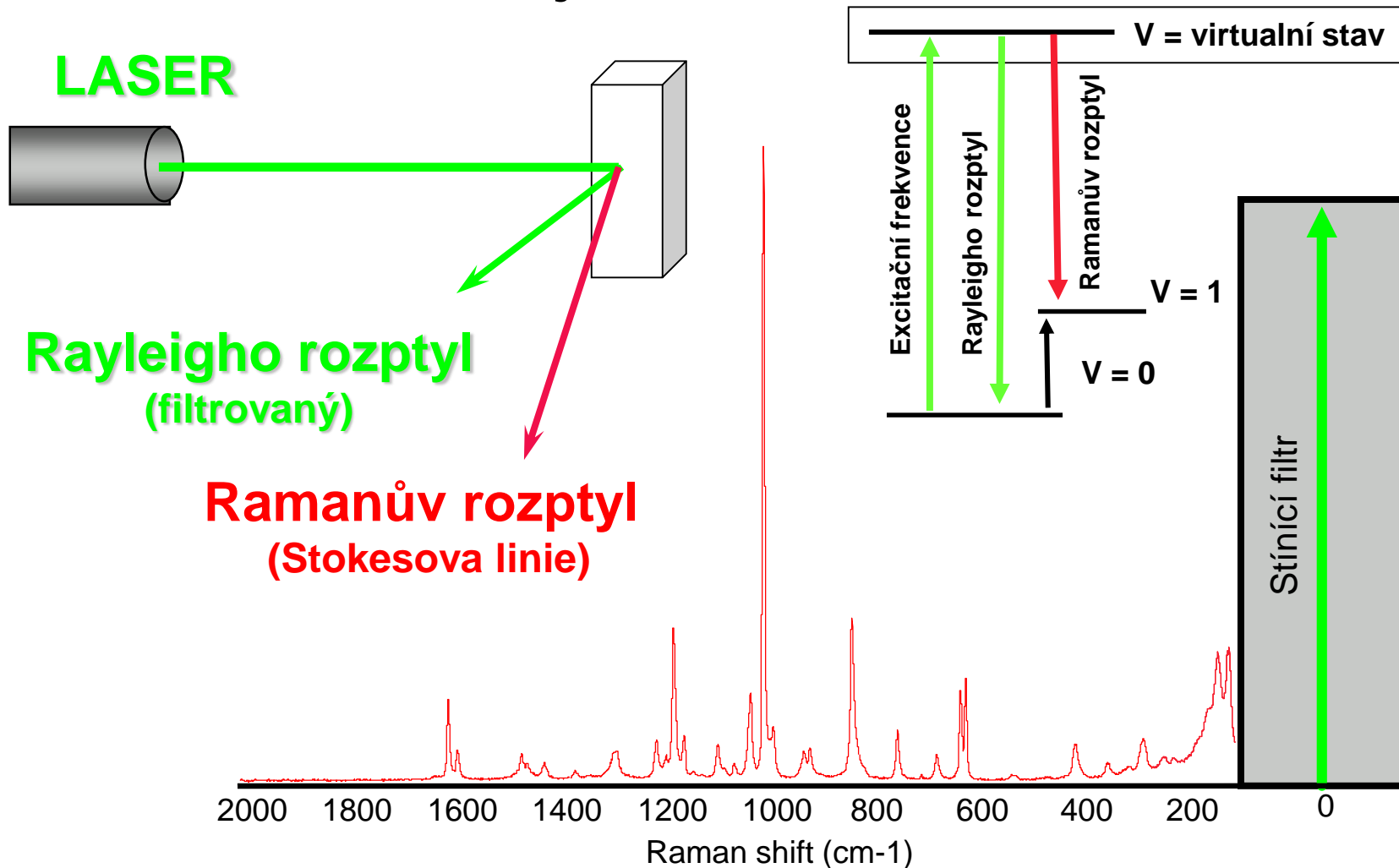
Spektrum kys. acetylsalicylové a její mapa



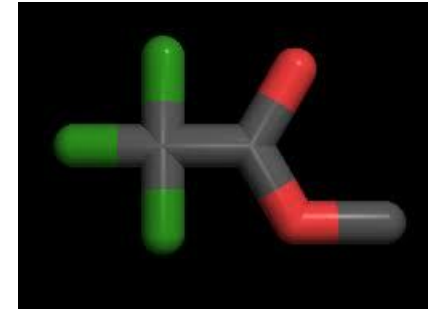
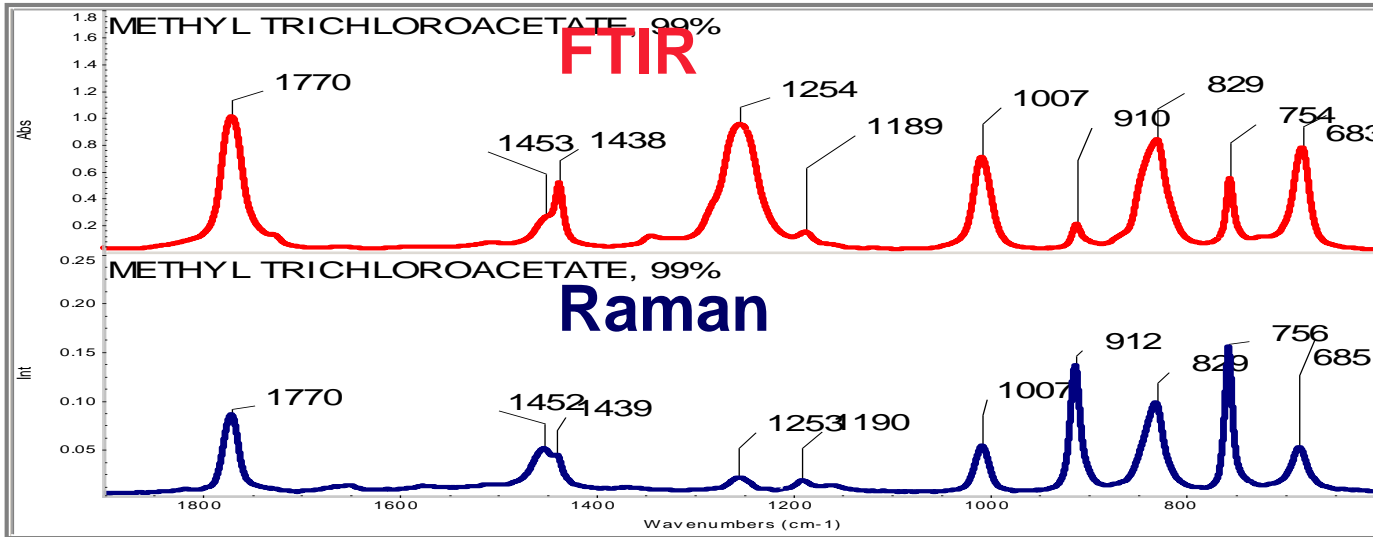
Spektrum kys. acetylsalicylové a její mapa

Ramanova spektroskopie

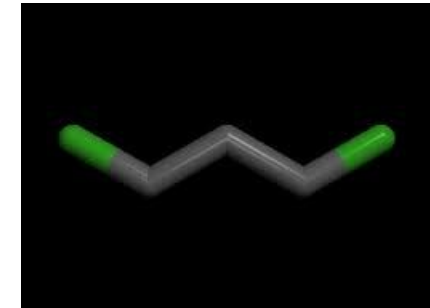
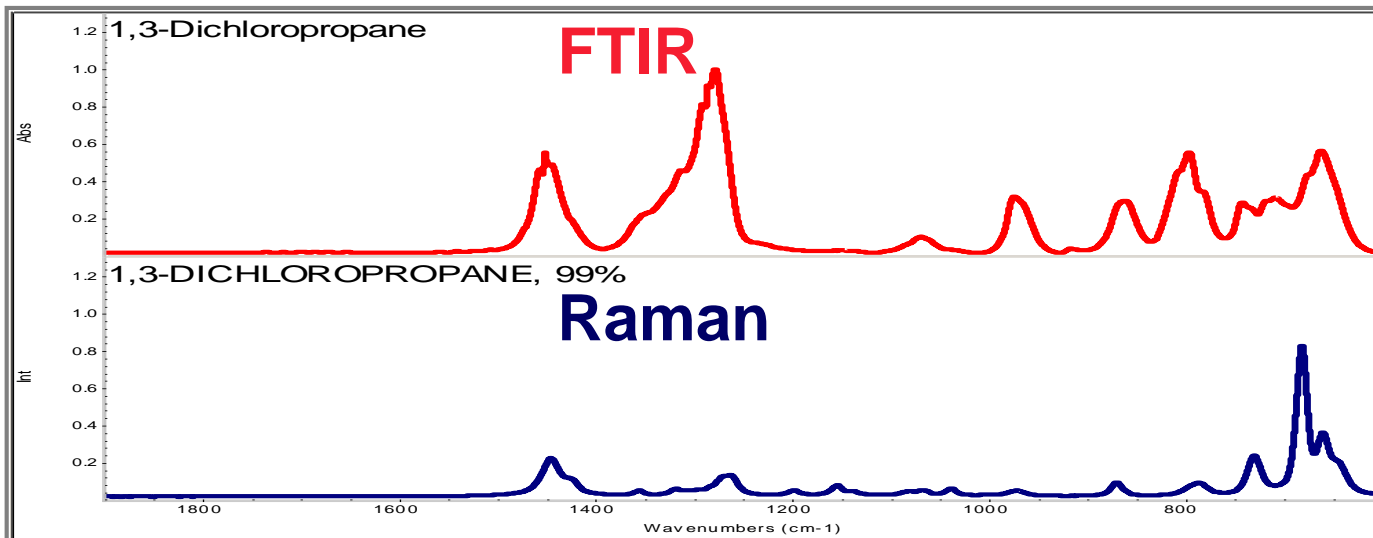
Podstata Ramanova jevu



Komplementarita a symetrie molekul



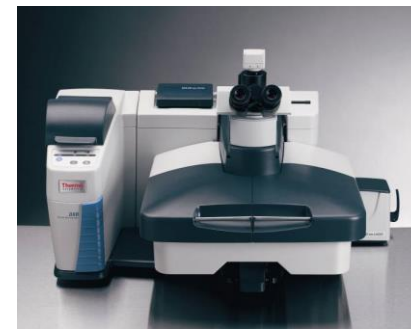
METHYL TRICHLOROACETATE



1,3-DICHLOROPROPANE

Obecné výhody Ramanovy spektroskopie

- ✓ rychlost analýzy
- ✓ není nutná úprava vzorku
- ✓ specifická identifikace podobně jako u FTIR
- ✓ možnost měření spektra přes sklo a plasty
- ✓ komplementární metodou k FTIR
- ✓ excelentní možnost měření mikrovzorků
- ✓ snadný přístup k oblasti $400 - 100 \text{ cm}^{-1}$
- ✓ pohodlné měření vodných roztoků
- ✓ **miniaturizace verifikačních „handheld“ spektrometrů**



FT- Raman versus disperzní Raman

✓ FT Raman

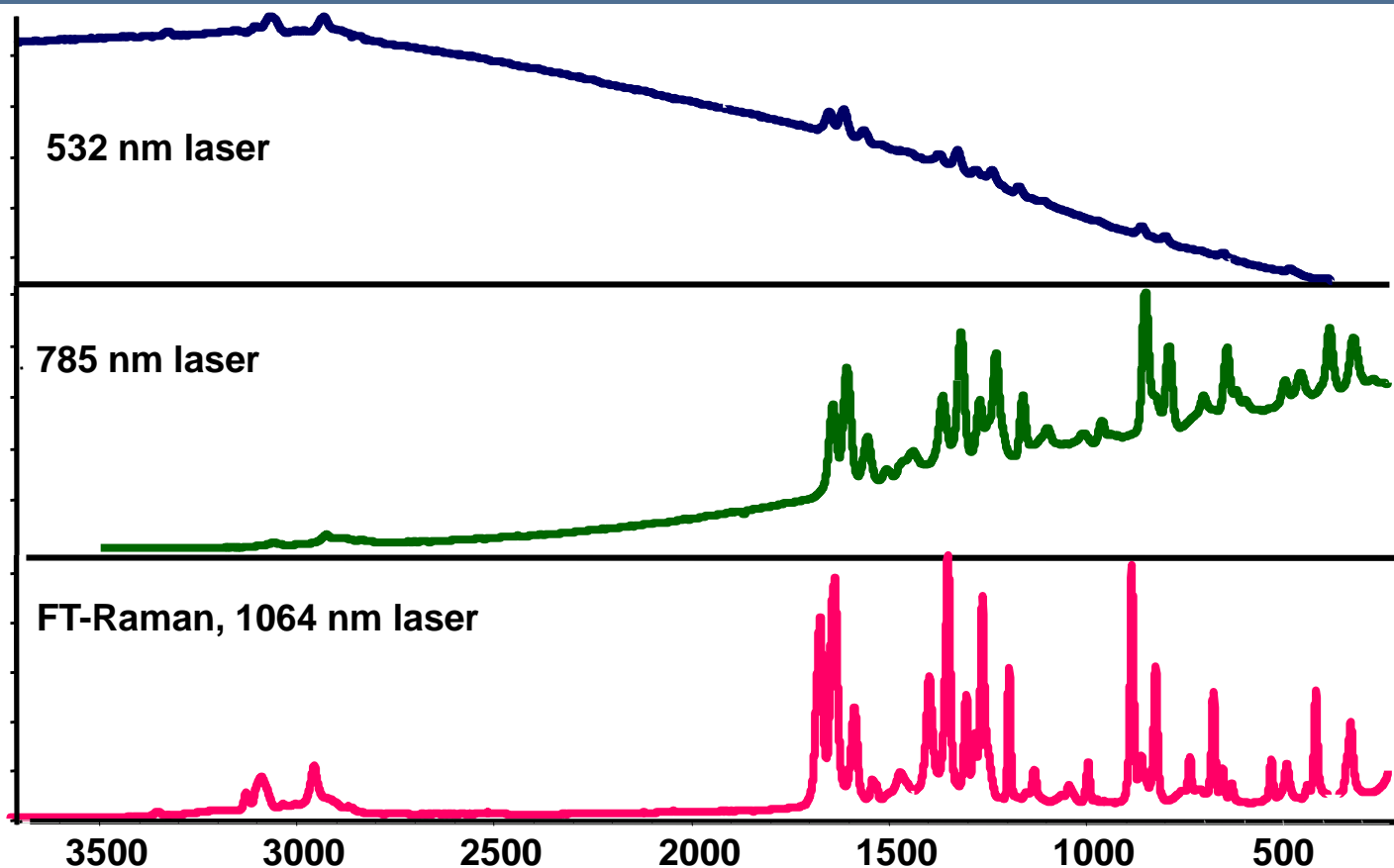
- používán excitační laser v NIR oblasti (1064 nm)
- InGaAs detektor, nebo Ge detektor chlazený kapalným dusíkem
- **laserová stopa menší než 60 μm**

✓ Disperzní Raman

- mřížkový spektrograf
- používány excitační lasery ve VIS a UV oblasti
- křemíkový termoelektricky chlazený CCD detektor (charge-coupled device)
- **EMCCD detektor** pro ultrarychlé imagingové skenování (cca 550 spekter za sekundu)
- **laserová stopa menší než 1 μm**



Porovnání excitačních laserů



- ✓ hlavní výhodou FT-Ramana je snížení výskytu fluorescence
- ✓ hlavní nevýhodou FT-Ramana je o několik řádů slabší intenzita Ramanova signálu a menší prostorová rozlišovací schopnost

Konfokální disperzní Ramanova mikroskopie

✓ Kvalitní optický mikroskop Olympus

- rozhodující pro vizualizaci a zaměření mikroskopických objektů
- široká možnost volby objektivů a osvitů
- kvalitní videokamera



✓ Možnost volby excitačního laseru

- Nejběžnější 455, 532, 633 a 780 nm
- pro každý laser možnost volby z velkého množství mřížek a filtrů



Konfokální disperzní Ramanova mikroskopie

✓ Kvalitní motorizovaný stolek mikroskopu

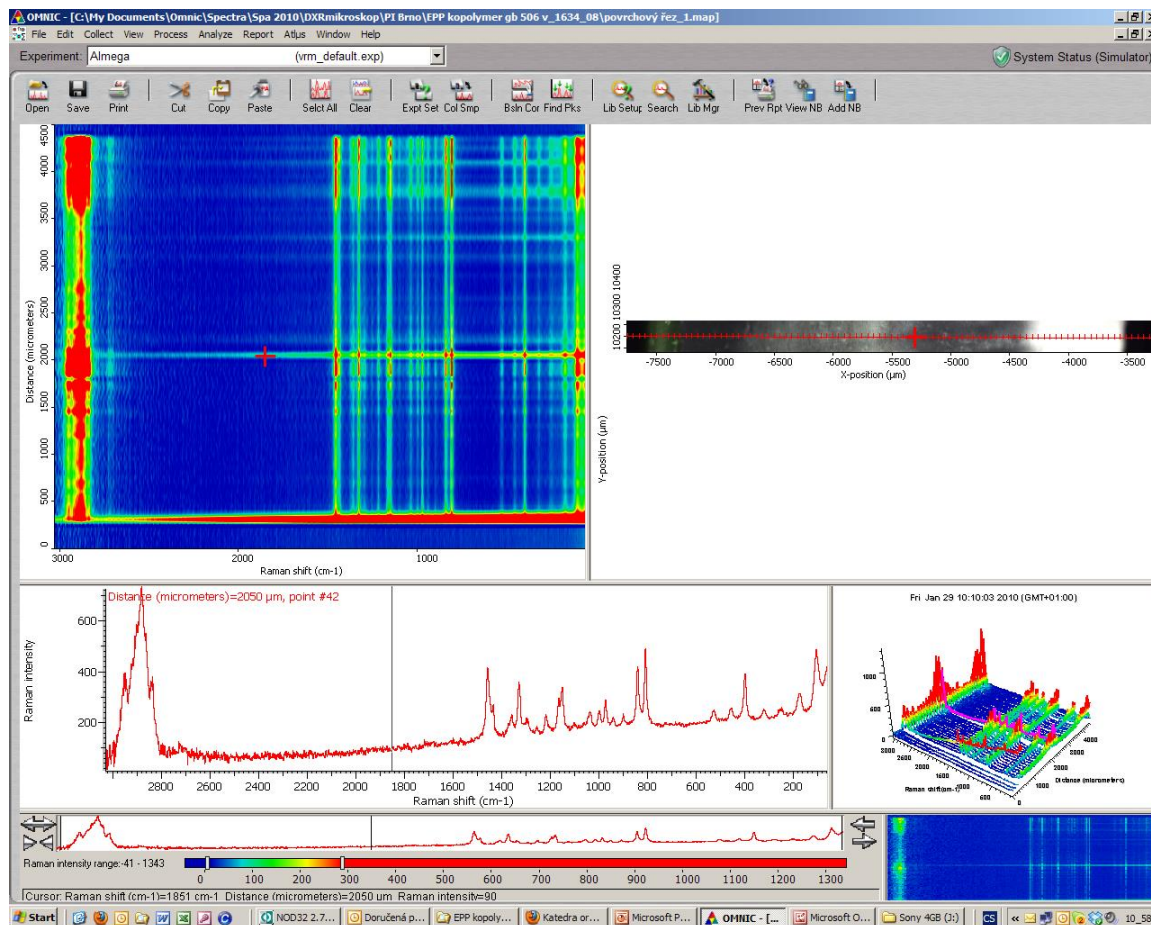
- nutný pro automatické mapování
- posun v mikronových krocích
- pro kinetické experimenty, krystalizační studie apod. možnost kontroly teploty
- pro ultrarychlé skenování speciální stolek synchronizovaný s citlivým EM CCD detektorem



Disperzní Ramanův mikroskop - mapování

✓ Liniová mapa

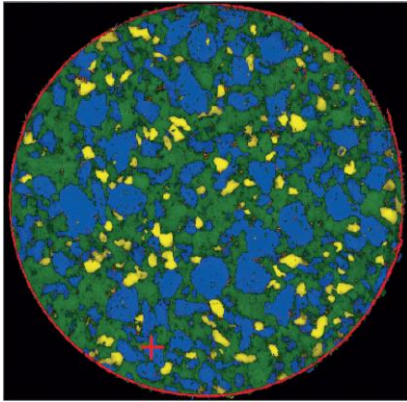
- Laser 780 nm liniová bodová mapa (91 bodů, krok 50 mikrometrů)



Disperzní Ramanův mikroskop - mapování

✓ Plošná mapa tablety

- API – 250 mg kys. acetylsalicylové, 250 mg paracetamolu a 65 mg kofeinu (zbytek, asi 16,5% pomocné látky)
- průměr tablety 11 mm



✓ Celá tableta

- čas měření 8 minut
- zvětšení 10x, krok mezi měřenými spektry 25 μm , laser 532 nm
- počet naměřených spekter 266 000
- modrá kys. acetylsalicylová, zelená paracetamol, žlutá kofein

✓ Tableta – výřez plochy 225 x 250 μm

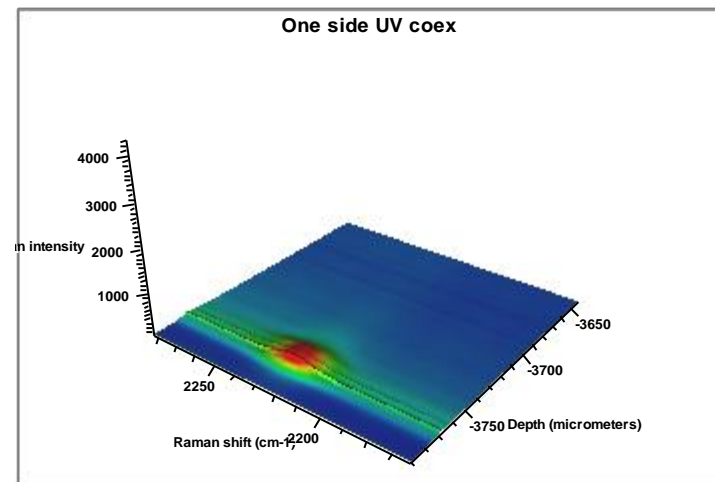
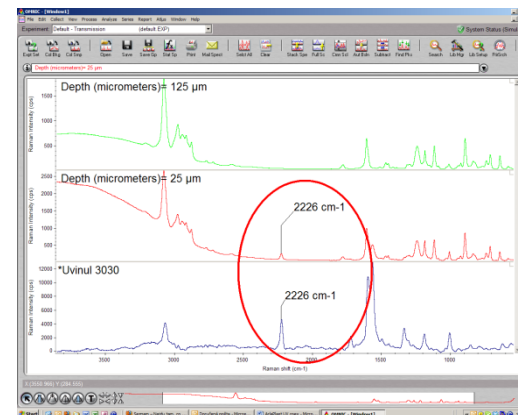
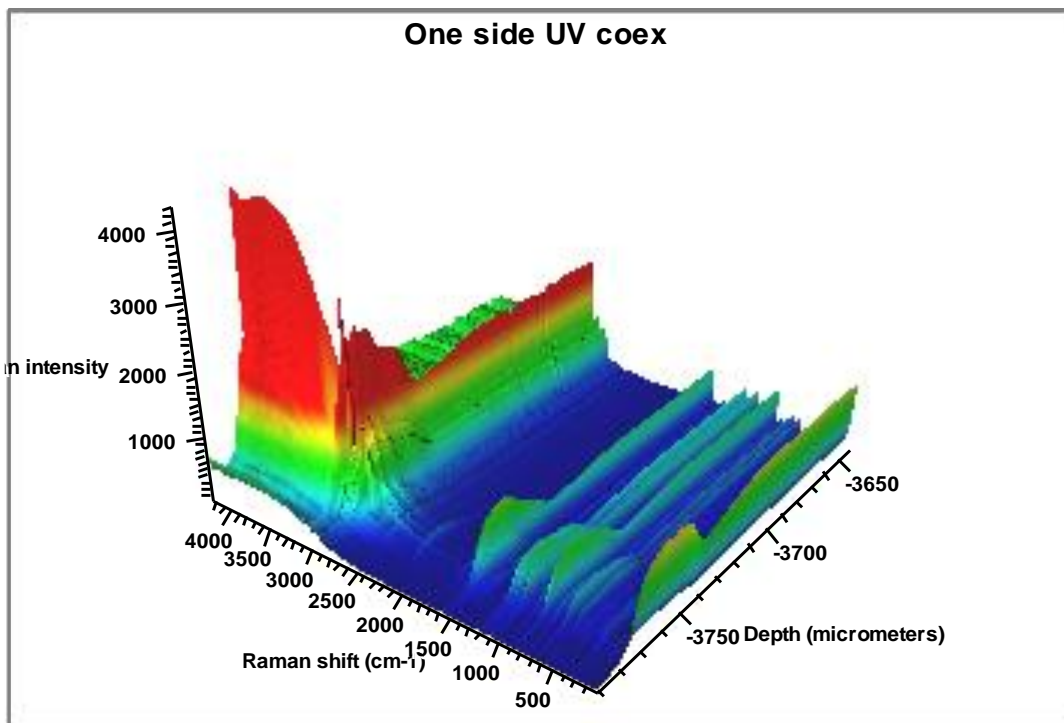
- čas měření 180 minut
- zvětšení 100x, krok mezi měřenými spektry 0,5 μm , laser 532 nm
- počet naměřených spekter 229 000
- modrá barva kys. acetylsalicylová, zelená barva paracetamol, žlutá barva kofein, červená škrob, fialová mikrokrytalická celulóza, oranžová laurylsulfát

✓ Je možno vyhodnotit plošné zastoupení jednotlivých složek

Disperzní Ramanův mikroskop - mapování

✓ Hlubkové profilování

- polykarbonátová deska s koextrudovaným nánosem UV-stabilizátoru
- zvětšení 100x, krok mezi měřenými spektry 1 μm , laser 532 nm
- hloubka pronikání laseru 150 μm
- vrstva s UV stabilizátorem cca 30 μm



Děkuji Vám za pozornost.

