

SPEKTROSKOPIA OSCYLACYJNA

OD TEORII
DO PRAKTYKI



praca zbiorowa
pod redakcją
Kamilli Małek



PWN

Spektroskopia oscylacyjna. Od teorii do praktyki (praca zbiorowa pod redakcją Kamilli Małek)

AUTORZY

Barańska Małgorzata, prof. dr hab.	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Bukowska Jolanta, prof. dr hab.	Wydział Chemii Uniwersytet Warszawski
Chmura-Skirlńska Antonina, dr	Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET) Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Chruszcz-Lipska Katarzyna, dr	AGH w Krakowie Wydział Wiertnictwa, Nafty i Gazu
Czamara Krzysztof, mgr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Dybaś Jakub, mgr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Gąsior-Głogowska Marlena, dr inż.	Wydział Podstawowych Problemów Techniki Politechnika Wrocławska
Jaworska Aleksandra, dr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Kaczor Agnieszka, dr hab.	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Kochan Kamila, mgr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Królikowska Agata, dr	Wydział Chemii Uniwersytet Warszawski
Lipiński Piotr, F.J., dr	Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego Polska Akademia Nauk
Majzner Katarzyna, dr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Małek Kamilla, dr hab.	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Marzec Katarzyna, M., dr	Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET) Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Miśkowiec Paweł, dr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Oleszko Adam, mgr inż.	Wydział Podstawowych Problemów Techniki Politechnika Wrocławska
Pacia Marta, Z., mgr inż.	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Rode Joanna, dr	1. Instytut Chemii i Techniki Jądrowej 2. Instytut Chemii Organicznej Polska Akademia Nauk
Ryguła Anna, dr	Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Staniszewska-Ślęzak Emilia, mgr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Wiercigroch Ewelina, mgr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Wróbel Tomasz, dr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Zając Grzegorz, mgr	Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Projekt okładki i stron tytułowych **Marek Goebel**
Wydawca **Katarzyna Włodarczyk-Gil**
Redaktor prowadzący **Iwona Lewandowska**
Redaktor **Ewa Charitonow**
Produkcja **Mariola Grzywacka**
Redaktor naukowy **Kamilla Małek**
Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Skład i łamanie **Dariusz Ziach**

Publikacja została dofinansowana ze środków Wydziału Chemii
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Książka, którą nabyłeś, jest dziełem twórcy i wydawcy. Prosimy, abyś przestrzegał praw, jakie im przysługują. Jej zawartość możesz udostępnić nieodpłatnie osobom bliskim lub osobiście znanym. Ale nie publikuj jej w internecie. Jeśli cytujesz jej fragmenty, nie zmieniaj ich treści i koniecznie zaznacz, czyje to dzieło. A kopiując jej część, rób to jedynie na użytek osobisty.

Szanujmy cudzą własność i prawo
Więcej na www.legalnakultura.pl

Polska Izba Książki

Copyright © by Wydawnictwo Naukowe PWN SA
Warszawa 2016

ISBN 978-83-01-18826-9

Wydanie I

Wydawnictwo Naukowe PWN SA
02-460 Warszawa, ul. Gottlieba Daimlera 2
tel. 22 69 54 321, faks 22 69 54 288
infolinia 801 33 33 88
e-mail: pwn@pwn.com.pl; reklama@pwn.pl
www.pwn.pl

Druk i oprawa

Spis treści

1. Podstawy spektroskopii absorpcyjnej w zakresie podczerwieni (FT-IR)	11
<i>(Kamilla Małek, Emilia Staniszevska-Ślęzak, Kamila Kochan, Katarzyna Majzner)</i>	
1.1. Kwantowy opis – model oscylatora harmonicznego i anharmonicznego	12
1.2. Drgania normalne	14
1.3. Budowa spektrometru FT-IR	15
1.3.1. Źródło światła	16
1.3.2. Interferometr	16
1.3.3. Komora pomiarowa	17
1.3.4. Detektor	18
Bibliografia	18
2. Podstawy spektroskopii rozpraszania ramanowskiego	19
<i>(Kamilla Małek, Małgorzata Barańska, Kamila Kochan)</i>	
2.1. Opis kwantowy zjawiska rozpraszania ramanowskiego	20
2.2. Budowa spektrometru ramanowskiego	22
2.2.1. Laser	23
2.2.2. Komora pomiarowa	24
2.2.3. Element rozdzielający wiązkę promieniowania elektromagnetycznego	24
2.2.4. Detektor	25
3. Techniki spektroskopii absorpcyjnej w zakresie podczerwieni	26
3.1. Metody pomiarowe w spektroskopii FT-IR <i>(Paweł Miśkowiec)</i>	26
3.1.1. Technika transmisyjna	26
3.1.2. Techniki refleksyjne	28
3.1.2.1. Technika całkowitego wewnętrznego odbicia (ATR)	28
3.1.2.2. Metoda odbicia rozproszonego w zakresie środkowej podczerwieni (DRIFT)	30
3.1.2.3. Refleksyjno-absorpcyjna spektroskopia w podczerwieni (IRRAS)	32
3.1.3. Metoda spektroskopii fotoakustycznej (PAS)	34
3.1.4. Spektroskopia emisyjna w podczerwieni (IRES)	35
3.2. Mikroskopia i obrazowanie FT-IR <i>(Ewelina Wiercigroch, Kamilla Małek)</i>	36

3.3.	Oscylacyjny dichroizm kołowy (<i>Piotr F.J. Lipiński</i>)	40
3.3.1.	Chiralność	40
3.3.2.	Co to jest oscylacyjny dichroizm kołowy?	41
3.3.3.	Jak mierzy się VCD?	41
3.3.4.	Zastosowania spektroskopii VCD	43
3.3.5.	Obliczenia widm VCD i związane z nimi problemy	44
3.3.6.	Bardzo krótkie podsumowanie najnowszych zagadnień	45
	Bibliografia	45
4.	Techniki spektroskopii ramanowskiej	47
4.1.	Spektroskopia rezonansowego rozpraszania ramanowskiego (<i>Katarzyna M. Marzec, Jakub Dybaś</i>)	47
4.1.1.	Rezonansowy a normalny efekt ramanowski oraz fluorescencja.	47
4.1.2.	Zjawisko rezonansowego efektu ramanowskiego	40
4.1.3.	Zastosowanie i możliwości RRS	50
4.1.4.	Aparatura	51
	Bibliografia	52
4.2.	Powierzchniowo wzmocnione rozpraszanie ramanowskie (SERS) (<i>Agata Królikowska, Jolanta Bukowska</i>)	53
4.2.1.	Mechanizm wzmocnienia powierzchniowego	54
4.2.2.	Rodzaje podłoży stosowanych w spektroskopii SERS	56
4.2.3.	Cechy widm SERS	58
4.2.4.	Zastosowania spektroskopii SERS	58
	Bibliografia	58
4.3.	Ramanowska aktywność optyczna (ROA) (<i>Joanna E. Rode</i>)	59
4.3.1.	Schemat ideowy zjawiska ROA	59
4.3.2.	Opis teoretyczny zjawiska ROA	61
4.3.3.	Opis aparatury do pomiarów ROA	63
4.3.4.	Zastosowania techniki ROA	65
4.3.5.	Podsumowanie	65
	Bibliografia	67
4.4.	Obrazowanie ramanowskie (<i>Agnieszka Kaczor</i>)	68
	Bibliografia	74
5.	Analiza chemometryczna widm FT-IR i ramanowskich	75
	(<i>Katarzyna Majzner, Kamila Kochan, Małgorzata Barańska</i>)	
5.1.	Analiza pasm charakterystycznych	75
5.2.	Analiza skupień	77
5.2.1.	Hierarchiczna analiza skupień	78
5.2.2.	Niehierarchiczna analiza skupień	82
5.2.3.	Porównanie metod HCA, KMCA oraz FCA	84
	Bibliografia	85

6. Wybrane zastosowania spektroskopii absorpcyjnej FT-IR.	86
6.1. Symetria molekuly i wpływ podstawienia izotopowego w widmach IR i ramanowskich chloropochodnych metanu (<i>Kamilla Małek, Katarzyna M. Marzec</i>)	86
Bibliografia.	90
6.2. Rozkład pasma na składowe, na przykładzie widm ATR FT-IR tkanek miękkich (<i>Marlena Gąsior-Głogowska, Adam Oleszko</i>)	90
6.2.1. Budowa skóry	90
6.2.2. Białka skóry	90
6.2.3. Spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni w badaniach tkanek	91
Bibliografia.	96
6.3. Synteza i charakterystyka spektralna hydroksyapatytów (<i>Marlena Gąsior-Głogowska, Adam Oleszko</i>)	97
6.3.1. Hydroksyapatyty	97
6.3.2. Badania struktury hydroksyapatytów przy użyciu spektroskopii w podczerwieni	98
Bibliografia.	101
6.4. Zastosowanie spektroskopii w podczerwieni w oznaczaniu węglowodorów ropopochodnych w wodach powierzchniowych i ściekach (<i>Paweł Miśkowiec</i>)	102
6.4.1. Skład ropy naftowej. Zanieczyszczenia środowiska produktami ropopochodnymi	102
6.4.2. Toksyczne właściwości składników ropy naftowej.	103
6.4.3. Regulacje prawne problemu skażenia środowiska produktami ropopochodnymi oraz metodyka pomiaru	104
6.4.4. Wykorzystanie spektroskopii IR w analityce chemicznej	106
6.4.5. Prawo podziału Nernsta.	106
Bibliografia.	110
6.5. Ustalanie konfiguracji absolutnej z wykorzystaniem oscylacyjnego dichroizmu kołowego (<i>Piotr F.J. Lipiński</i>)	110
6.5.1. Ustalanie konfiguracji absolutnej za pomocą oscylacyjnego dichroizmu kołowego	110
Bibliografia.	114
6.6. Identyfikacja materiałów malarskich i produktów ich degradacji. Obrazowanie ATR FT-IR przekrojów warstw malarskich (<i>Emilia Staniszewska-Ślęzak, Kamilla Małek</i>)	115
6.6.1. Charakterystyka chemiczna warstwy malarskiej i produktów jej degradacji	115
6.6.2. Spektroskopia FT-IR jako technika stosowana w identyfikacji składu chemicznego dzieł sztuki	118
Bibliografia.	121
6.7. Analiza strukturalna białek przy użyciu spektroskopii FT-IR (<i>Katarzyna Majzner</i>)	121
6.7.1. Anatomia białek.	121
6.7.2. Zastosowanie spektroskopii FT-IR do badania białek	124

Bibliografia	128
6.8. Analiza strukturalna lipidów z wykorzystaniem spektroskopii absorpcyjnej w podczerwieni (<i>Tomasz P. Wróbel</i>)	129
6.8.1. Charakterystyka i występowanie lipidów	129
6.8.2. Zastosowanie spektroskopii FT-IR do badania lipidów	130
Bibliografia	133
6.9. Analiza strukturalna cukrów przy użyciu spektroskopii FT-IR (<i>Kamilla Małek, Ewelina Wiercigroch</i>)	134
6.9.1. Budowa strukturalna cukrów	134
6.9.2. Charakterystyczne pasma IR cukrów	136
Bibliografia	138
6.10. Analiza widm ATR FT-IR tkanek zwierzęcych (<i>Emilia Staniszewska-Ślęzak, Kamilla Małek</i>)	138
6.10.1. Charakterystyka biochemiczna wybranych tkanek zwierzęcych	139
6.10.2. Widma FT-IR tkanek zwierzęcych	139
Bibliografia	144
6.11. Diagnostyka rozwoju choroby poprzez obrazowanie FT-IR tkanki (<i>Kamila Kochan, Małgorzata Barańska</i>)	145
7. Wybrane zastosowania spektroskopii ramanowskiej	149
7.1. Identyfikacja struktury drugorzędowej białek w widmach ramanowskich (<i>Anna Ryguła</i>)	149
7.1.1. Charakterystyka widm ramanowskich białek	149
7.1.2. Charakterystyczne pasma ramanowskie reszt aminokwasowych	151
7.1.3. Inne techniki spektroskopii ramanowskiej w analizie białek	152
Bibliografia	154
7.2. Analiza ramanowska kwasów tłuszczowych (<i>Aleksandra Jaworska, Małgorzata Barańska</i>)	154
7.2.1. Charakterystyka i występowanie kwasów tłuszczowych	154
7.2.2. Zastosowanie spektroskopii ramanowskiej do badania kwasów tłuszczowych	156
Bibliografia	159
7.3. Spektroskopia rozproszenia ramanowskiego jako metoda analizy lipidów w tkankach zwierzęcych/mieszaninach (<i>Krzysztof Czamara, Agnieszka Kaczor</i>)	159
7.3.1. Klasyfikacja lipidów	159
7.3.2. Charakterystyka spektralna lipidów	161
Bibliografia	165
7.4. Polimorfizm modelowych trójacylogliceroli (<i>Krzysztof Czamara, Marta Z. Pacia, Agnieszka Kaczor</i>)	165
7.4.1. Polimorfizm tłuszczów	165
7.4.2. Charakterystyka spektralna polimorfów trójacylogliceroli	167
Bibliografia	170
7.5. Identyfikacja karotenoidów w roślinach przy użyciu spektroskopii ramanowskiej (<i>Aleksandra Jaworska, Małgorzata Barańska</i>)	171
7.5.1. Budowa, funkcje i występowanie karotenoidów	171

7.5.2.	Pasma ramanowskie karotenoidów	172
	Bibliografia.	175
7.6.	Detekcja terpenów w olejkach cytrusowych oraz analiza chemotypów roślin zawierających olejki eteryczne (<i>Aleksandra Jaworska, Małgorzata Barańska, Kamilla Małek</i>)	175
7.6.1.	Olejki cytrusowe – charakterystyka	175
7.6.2.	Identyfikacja terpenów przy użyciu chromatografii gazowej i spektroskopii ramanowskiej	176
7.6.3.	Analiza chemometryczna widm ramanowskich cytrusowych olejków eterycznych.	177
	Bibliografia.	179
7.7.	Analiza pigmentów i materiałów malarskich w widmach ramanowskich (<i>Anna Ryguła, Kamilla Małek</i>).	179
7.7.1.	Spektroskopia ramanowska jako technika analityczna w konserwacji dzieł sztuki.	180
7.7.2.	Struktura warstw malarskich.	181
7.7.3.	Metodyka pracy przy ramanowskiej analizie dzieł sztuki	182
	Bibliografia.	185
7.8.	Oznaczanie glukozy w preparatach farmaceutycznych i płynach ustrojowych (<i>Agnieszka Kaczor</i>).	186
7.9.	Spektroskopia rezonansowego rozpraszania ramanowskiego w badaniu struktury hemoglobiny (<i>Jakub Dybaś, Antonina Chmura-Skirińska, Katarzyna M. Marzec</i>)	191
7.9.1.	Budowa i fizjologia hemoglobiny.	191
7.9.2.	Zastosowanie spektroskopii rezonansowego rozpraszania ramanowskiego w badaniach strukturalnych hemoglobiny.	194
7.9.3.	Zastosowanie spektrofotometrii UV-Vis w badaniach hemoglobiny	195
	Bibliografia.	198
7.10.	Identyfikacja enancjomerów octanu bornylu i α -pinenu w olejkach eterycznych z igieł jodły syberyjskiej (<i>Katarzyna Chruszcz-Lipska</i>)	198
7.10.1.	Terpeny	198
7.10.2.	Stereochemia terpenów	199
7.10.3.	Zawartość enancjomerów terpenów w olejkach eterycznych	200
7.10.4.	Widma ramanowskiej aktywności optycznej (ROA) terpenów.	201
	Bibliografia.	204
7.11.	Wyznaczanie konfiguracji absolutnej enancjomerów α -pinenu na podstawie pomiarów ramanowskiej aktywności optycznej i obliczeń kwantowo-chemicznych (<i>Grzegorz Zając, Małgorzata Barańska</i>)	204
7.11.1.	Obliczenia teoretyczne ROA	205
	Bibliografia.	210
7.12.	Szacowanie współczynnika wzmocnienia powierzchniowego oraz badanie adsorpcji 3-amino-5-merkpto-1,2,4-triazolu (AMT) na powierzchni srebra techniką powierzchniowo wzmocnionego rozpraszania ramanowskiego (SERS) (<i>Agata Królikowska, Jolanta Bukowska</i>)	211

7.12.1.	Współczynnik wzmocnienia powierzchniowego w SERS	211
7.12.1.1.	Sposoby definicji współczynnika wzmocnienia	212
7.12.1.2.	Współczynnik wzmocnienia dla danego podłoża (<i>EF</i>)	212
7.12.1.3.	Analityczny współczynnik wzmocnienia (<i>AEF</i>)	213
7.12.1.4.	Współczynnik wzmocnienia dla pojedynczych molekuł (<i>SMEF</i>)	214
7.12.2.	Najczęstsze źródła błędów w wyznaczaniu wartości współczynnika wzmocnienia SERS	214
7.12.3.	Struktura i właściwości 3-amino-5-merkaptto-1,2,4-triazolu (<i>AMT</i>)	215
7.12.4.	Widmo SERS monowarstwy 3-amino-5-merkaptto-1,2,4-triazolu (<i>AMT</i>) na podłożu srebrnym	215
	Bibliografia	219
7.13.	Identyfikacja i badanie dystrybucji kofeiny w lekach przeciwbólowych <i>in situ</i> (<i>Małgorzata Barańska, Agnieszka Kaczor, Kamilla Małek</i>)	219
7.14.	Charakterystyka organelli komórkowych na podstawie analizy pasm charakterystycznych oraz analizy skupień (<i>Katarzyna Majzner</i>)	223
7.14.1.	Przypisanie najważniejszych pasm ramanowskich w widmach komórek	224
7.14.2.	Analiza wyników obrazowania ramanowskiego komórek	226
	Bibliografia	228
7.15.	Obrazowanie ramanowskie <i>in vitro</i> i <i>in vivo</i> jednokomórkowych organizmów produkujących karotenoidy (<i>Marta Z. Pacia, Agnieszka Kaczor</i>)	229
7.15.1.	Charakterystyka spektralna składników organizmów jednokomórkowych	230
	Bibliografia	234
	Spis ilustracji	236
	Spis tabel	244

Podstawy spektroskopii absorpcyjnej w zakresie podczerwieni (FT-IR)

Kamilla Małek, Emilia Staniszewska-Ślęzak, Kamila Kochan, Katarzyna Majzner

Spektroskopia optyczna bazuje na zjawisku oddziaływania materii z promieniowaniem elektromagnetycznym, które zachodzi na skutek absorpcji kwantu światła, jego emisji lub rozpraszania. Skutkiem takiego oddziaływania jest rejestracja widma złożonego z pasm o określonej częstotliwości, kształcie i intensywności. Jak sama nazwa wskazuje, spektroskopia absorpcyjna światła w podczerwieni polega na absorpcji kwantu światła z zakresu IR dopasowanego do różnicy energii pomiędzy kwantowymi poziomami oscylacyjnymi. Widmo FT-IR jest wyrażone w liczbie falowej [cm^{-1}], jako skali energii, i może być zarejestrowane w trzech zakresach. Należy podkreślić, że techniki IR i ramanowska (opisana w rozdziale 2) są komplementarne. Najlepiej ilustruje to zasada wzajemnego wykluczania, która mówi, że cząsteczka mająca środek symetrii ma drgania aktywne w widmie podczerwonym, zaś nieaktywne w widmie ramanowskim, i vice versa. Najczęściej wykorzystywany jest zakres środkowej podczerwieni (MIR, ang. *Mid InfraRed*), który obejmuje przedział od 400 do 4000 cm^{-1} i zawiera tzw. zakres odcisku palca (albo daktyloskopowy, ang. *fingerprint*), specyficzny dla każdego indywiduum chemicznego. Ten fakt ściśle wynika z charakterystyki ruchu wewnętrznego cząsteczki, określonego jako „drgania normalne”. Mierzony jest również zakres dalekiej podczerwieni (FIR, ang. *Far InfraRed*, 50–400 cm^{-1}), również rejestrujący drgania normalne, oraz zakres powyżej 4000 cm^{-1} , dostarczający informacji o nadtonach i drganiach kombinacyjnych (NIR, ang. *Near InfraRed*). Skrót FT oznacza transformatę Fouriera, operację matematyczną przekształcającą domenę czasu (sygnał) w domenę częstotliwości (ang. *Fourier transform*). Spektroskopia FT-IR może być wykorzystana zarówno do identyfikacji i analizy ilościowej danego związku chemicznego lub jego mieszaniny, jak i do wyznaczania właściwości fizykochemicznych, jak na przykład struktura molekularna i jej przemiany na skutek stresu/reakcji, kinetyki reakcji czy też dynamiki wewnątrzcząsteczkowej. Próbkę może być badana w każdym stanie skupienia.

1.1. Kwantowy opis – model oscylatora harmonicznego i anharmonicznego

Zbudowane z jąder i elektronów cząsteczki dysponują pewnym zasobem energii wewnętrznej, w skład której wchodzi energia oscylacyjna. Cząsteczka zawierająca N atomów może wykonywać $3N - 6$ drgań oscylacyjnych lub $3N - 5$ (jeśli jest liniowa). Wyjątkową charakterystyką ruchu oscylacyjnego jest niezerowa wartość energii cząsteczki na podstawowym poziomie oscylacyjnym; stąd ruchy oscylacyjne nie zamierają nawet w temperaturze zera kelwinów. Jak każda energia w mikroświecie, energia oscylacyjna jest kwantowana. Oznacza to również, że każde indywiduum chemiczne może przyjmować lub oddawać energię tylko w charakterystycznych porcjach, zwanych „kwantami”. Opisu energii poziomów oscylacyjnych dostarcza rozwiązanie równania Schrödingera dla modelu oscylatora harmonicznego.

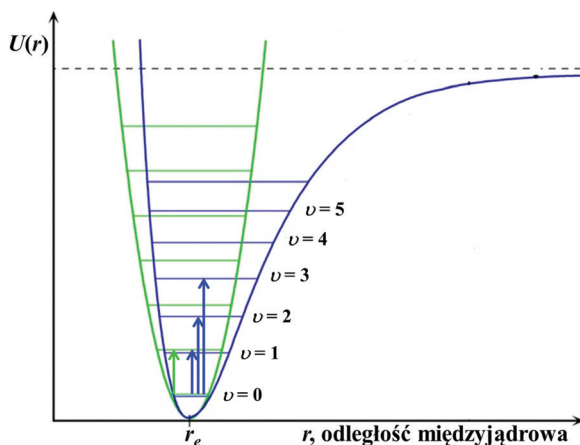
Rozwiązaniem takiego równania własnego jest wartość energii oscylacyjnej wyrażonej równaniem 1.1:

$$E_{\text{osc}} = h\nu \left(v + \frac{1}{2} \right), \quad (1.1)$$

gdzie ν to częstość oscylatora harmonicznego ($\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{f}{\mu_{\text{red}}}}$, gdzie: f – stała siłowa, μ_{red} – masa zredukowana ($\mu_{\text{red}} = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$), zaś v – kwantowa liczba oscylacji ($v = 0, 1, 2, 3, \dots$).

To właśnie kwantowa liczba oscylacji w równaniu 1.1 determinuje kwantowanie ruchu oscylacyjnego, a jego energia zależy również od rodzaju molekuly – ze względu na obecność we wzorze stałej siłowej i masy zredukowanej.

W trakcie oscylacji, w momencie największego wychylenia z poziomu równowagi, energia potencjalna przyjmuje maksymalną wartość, a krzywą energii potencjalnej ilustruje parabola (rys. 1.1).



Rys. 1.1. Krzywa energii potencjalnej U dla oscylatora harmonicznego (zielona linia) i oscylatora anharmonicznego (niebieska). Pionowe strzałki oznaczają dopuszczalne przejścia pomiędzy poziomami oscylacyjnymi v

Jak widać z diagramu na rysunku 1.1, energia oscylatora harmonicznego nigdy nie osiąga wartości zero, a dla najniższego dozwolonego poziomu energetycznego $v = 0$ wynosi $\frac{1}{2}h\nu$ (tzw. połówkowy kwant energii). Poziomy energii oscylatora harmonicznego są równo od siebie oddalone o stałą wielkość $h\nu$, skąd wynika, że różnica energii pomiędzy nimi nie zależy od liczby kwantowej v , a jedynie od postaci danego indywiduum chemicznego. W widmie oscylatora harmonicznego, który wyraża ruch oscylacyjny cząsteczki dwuatomowej, powinno się zatem zaobserwować tylko jedno pasmo. Warunkiem koniecznym, aby możliwe było zarejestrowanie widma absorpcyjnego w zakresie IR, jest zmiana momentu dipolowego cząsteczki w trakcie drgania, przy czym zmiana poziomu oscylacyjnego może nastąpić jedynie o $\Delta v = 1$ (zielona strzałka na rys. 1.1).

Moment przejścia absorpcyjnego musi przyjmować wartości różne od zera (równanie 1.2):

$$\mu_{nm} = \langle \Psi_n | \hat{\mu} | \Psi_m \rangle \neq 0, \quad (1.2)$$

a jego operatorem jest zmiana momentu dipolowego $\hat{\mu}$ w trakcie przejścia ze stanu oscylacyjnego n do stanu m . Przejście takie nazywamy tonem podstawowym. Ze względu na fakt, że w temperaturze pokojowej (wg rozkładu energii Boltzmann) najbardziej obsadzony jest poziom $v = 0$, pasma obserwowane w widmie IR pochodzą od przejść z $v = 0$ na $v = 1$ (zielona strzałka na rys. 1.1).

W rzeczywistości oscylacje mają charakter anharmoniczny, ponieważ nie jest spełnione prawo Hooke'a. W tym przypadku zmiana energii oscylacji opisywana jest krzywą Morse'a (rys. 1.1 (niebieska linia)). Jej wartość jest wyrażona równaniem 1.3:

$$E_{\text{osc}}^{\text{anh}} = h\nu \left(v + \frac{1}{2} \right) - h\nu x \left(v + \frac{1}{2} \right)^2, \quad (1.3)$$

natomiast odstęp pomiędzy sąsiednimi poziomami oscylacyjnymi wynosi:

$$\Delta E_{\text{osc}}^{\text{anh}} = E_{v+1} - E_v = h\nu[1 - 2x(v+1)], \quad (1.4)$$

gdzie parametr x jest współczynnikiem anharmoniczności. Opisuje on odstępstwo oscylatora anharmonicznego od harmonicznego i przybiera znaczne wartości dla wyższych liczb oscylacyjnych.

Z krzywej Morse'a na rysunku 1.1 i z równania 1.4 wynika, że odstępstwa pomiędzy kolejnymi poziomami nie są stałe, a ulegają zmniejszeniu wraz ze wzrostem kwantowej liczby oscylacji v , co implikuje rozerwanie wiązania międzyatomowego przy znacznych wartościach wychylenia z położenia równowagi. A zatem występuje dysocjacja cząsteczki, której energia odpowiada linii plateau krzywej Morse'a. W porównaniu z modelem oscylatora harmonicznego, zmianie ulega również reguła wyboru i dopuszczalne stają się nie tylko przejścia $\Delta v = 1$ (zwane tonami podstawowymi), ale także przejścia $\Delta v = 2, 3, \dots$, zwane kolejno „pierwszym”, „drugim” (i kolejnymi) nadtonem (niebieskie strzałki na rys 1.1). Intensywność nadtonów jest znacznie mniejsza od intensywności tonu podstawowego.

1.2. Drgania normalne

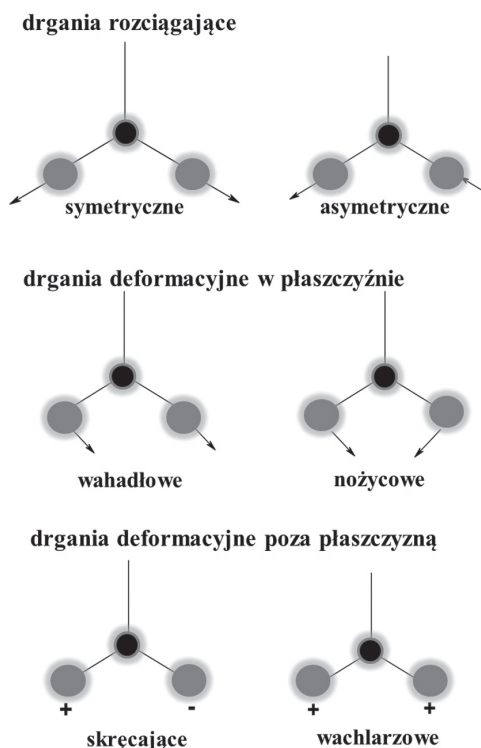
W trakcie oscylacji N -atomowa cząsteczka wykonuje $3N - 6(5)$ wewnętrznych stopni swobody, dla których wprowadzono pojęcie „drzania normalnego”. Drganie normalne jest to jednoczesny ruch wszystkich zrzębów atomowych, odbywający się z jednakową częstotnością i zgodny w fazie, aczkolwiek amplitudy drgań poszczególnych atomów mogą być, i na ogół są, różne. Drganie normalne nie powoduje translacji ani rotacji molekuly. Poszczególne drzania normalne są ortogonalne względem siebie, a więc niezależne.

Niezwykle pomocne w analizie widm IR i ramanowskich jest rozważenie symetrii molekuly (a zatem jej możliwej struktury molekularnej) i jej wpływu na postać widma. Liczba $3N - 6(5)$ drgań normalnych N -atomowej cząsteczki może być sklasyfikowana wg właściwości jej grupy punktowej. Na przykład cząsteczka H_2O o grupie punktowej C_{2v} posiada dwa drzania o symetrii A_1 i jedno o symetrii B_2 . Czytelnik może zapoznać się ze szczegółami dotyczącymi teorii grup w literaturze [1].

Należy również podkreślić, że liczba drgań aktywnych w widmach IR i ramanowskich, a wyznaczonych na podstawie teorii grup, może być inna niż liczba obserwowanych pasm w zarejestrowanym widmie. Rozbieżności te mogą wynikać m.in. z obecności w widmie nadtonów, pasm kombinacyjnych, rezonansu Fermiego, zniesienia degeneracji niektórych drgań ze względu na obniżenie symetrii molekuly czy też występowania danej cząsteczki w formie różnych izomerów lub form amorficznych.

Opisu widm oscylacyjnych dokonuje się poprzez analizę charakterystycznych drgań grup atomów, występujących w określonych zakresach widma, niezależnie od pozostałej części cząsteczki. Na przykład drzanie rozciągające C–H spodziewane jest w zakresie liczb falowych $2850\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$. Częstotści grupowe są nieodłącznie związane z różnymi kryteriami podziału drgań; zilustrowano je na rysunku 1.2, na przykładzie grupy XY_2 . Drgania związane ze zmianą długości wiązania nazywamy „drzaniem rozciągającymi”, zaś te zmieniające kąt pomiędzy atomami – „drzaniem deformacyjnymi” lub „zginającymi”. Inne kryterium podziału wynika z symetrii wychylenia (tj. drzanie symetryczne i asymetryczne). Rozróżnia się również drzania w płaszczyźnie i poza płaszczyzną (rys. 1.2). Przy wykorzystaniu tabeli częstotści grup funkcyjnych, widma IR i ramanowskie można opisywać jakościowo. Każde z tych drgań można również rozpatrywać ze względu na ww. zasady teorii grup. I tak: drzania typu A to drzania niezdegenerowane, symetryczne względem osi o najwyższej krotności, drzania typu B to także drzania niezdegenerowane, ale antysymetryczne względem osi o najwyższej krotności, zaś drzania typu E i T (F) to drzania odpowiednio dwu- i trzykrotnie zdegenerowane. Dodatkowe indeksy przy symbolu – np. 1, 2, ' , ”, g (*gerade*, niem. parzyste) oraz u (*ungerade*, niem. nieparzyste) – określają symetrię drzania względem kolejno: osi o innej krotności niż oś główna, płaszczyzny czy środka inwersji.

Eksperymentalnie przypisanie pasmom IR i ramanowskim drzania poszczególnych grup atomów polega również na obserwacji przesunięcia izotopowego (zmiany



Rys. 1.2. Rodzaje drgań molekuli XY_2

częstości określonego drgania na skutek wprowadzenia innego izotopu danego atomu). Przy tym zakłada się, że podczas zmiany izotopu nie zmienia się rozkład gęstości elektronowej, a więc nie zmienia się stała siłowa danego wiązania i struktura cząsteczki. Wielkość tego przesunięcia (w liczbach falowych [cm^{-1}]) określa się, korzystając z równania 1.5:

$$\frac{\bar{\nu}}{\bar{\nu}^*} = \sqrt{\frac{\mu_{\text{red}}^*}{\mu_{\text{red}}}}, \quad (1.5)$$

gdzie symbol * dotyczy cząsteczki ze zmienionym izotopem.

Przyjmuje się również, że znacznemu przesunięciu ulegają jedynie pasma, które reprezentują „izolowane” drgania grupy atomów ze zmienionym izotopem. Należy jednak pamiętać, że w prawie każdym drganiu normalnym może być nawet niewielki przyczynek od oscylacji tejże grupy, a więc jego częstość również może ulec nieznacznemu przesunięciu.

1.3. Budowa spektrometru FT-IR

Spektrometry FT-IR działają w oparciu o transformatę Fouriera. Typowy spektrometr składa się z następujących elementów: źródła światła, interferometru, komory pomiarowej i detektora.

1.3.1. Źródło światła

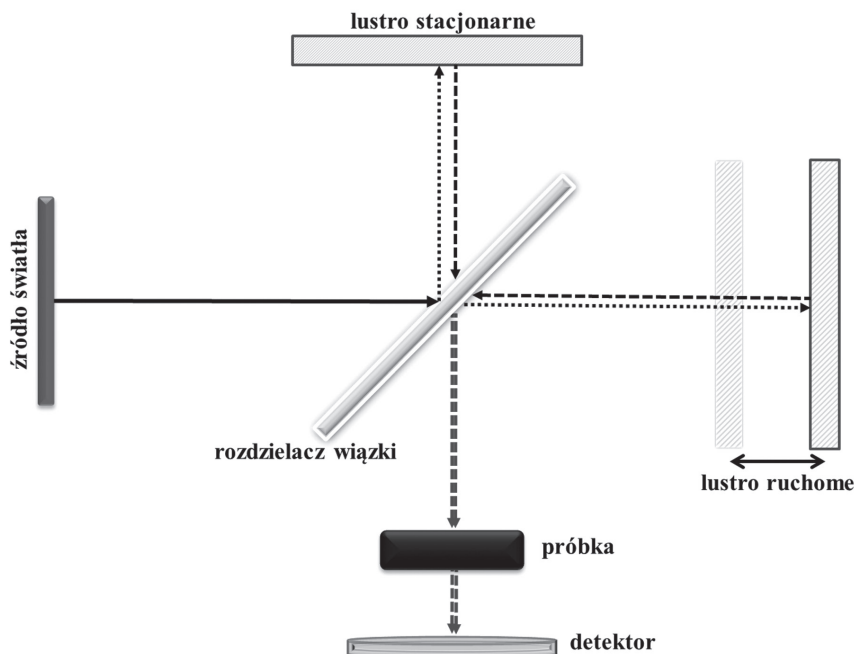
Źródło promieniowania podczerwonego jest polichromatyczne ze względu na konieczność dopasowania się jego energii do przejść oscylacyjnych. Zazwyczaj jest nim globar (SiC) lub pręt Nernsta ($ZrO_2 + Y_2O_3$), które po ogrzaniu do wysokiej temperatury emitują promieniowanie zbliżone do promieniowania ciała doskonale czarnego. Pręt Nernsta emituje promieniowanie w zakresie od 300 do 20 000 nm, a więc w zakresie światła od UV do NIR, zaś globar w zakresie 1100–40 000 nm, dostarczając światła w zakresie NIR, MIR i FIR. Wiązka światła wychodząca ze źródła trafia na interferometr, a następnie – poprzez szereg lusterek – jest kierowana na próbkę.

1.3.2. Interferometr

W spektrometrach fourierowskich nie rejestruje się bezpośrednio intensywności absorpcji w funkcji częstości, ale tzw. interferogram, czyli zależność sygnału w funkcji czasu (różnicy dróg optycznych). Aby otrzymać widmo w domenie częstości z domeny czasu interferogramu, należy zastosować operację matematyczną, zwaną transformatą Fouriera. Należy podkreślić, że rejestrowany jest jednocześnie cały zakres spektralny światła dochodzącego do interferometru. Szereg widm w domenie czasowej jest uśredniany, a następnie zostaje wykonana transformata Fouriera uśrednionego widma. Korzyści ze stosowania interferometru (w dowolnym spektrometrze), są następujące:

- 1) korzyść Fellgetta (zysk multipleksowy) – zbieranie wszystkich długości fal w tym samym czasie, skrócenie czasu pomiaru i poprawa stosunku sygnału (S) do szumu (N), gdyż $S/N \cong n^{1/2}$ (n – liczba pomiarów); ta zaleta ma szczególne znaczenie dla technik generujących słaby sygnał (np. spektrometr ramanowski ze wzbudzeniem w zakresie NIR),
- 2) korzyść Jacquinota – brak szczelin ograniczających wiązkę promieniowania, a więc możliwość rejestracji całego widma w tym samym czasie,
- 3) korzyść Connesa – przesuw zwierciadła ruchomego jest kontrolowany optycznie i umożliwia wysoką precyzję skali częstości widma (dzięki stosowaniu lasera He-Ne jako wzorca częstości),
- 4) możliwość zmiany rozdzielczości spektralnej widma.

Schemat typowego interferometru (interferometru Michelsona) stosowanego w spektroskopii optycznej przedstawiono na rysunku 1.3. Interferometr jest elementem rozdzielającym wiązkę promieniowania elektromagnetycznego i spełnia rolę podobną jak monochromator. Składa się on z dwóch lusterek ustawionych względem siebie pod kątem 90° . Jedno z tych lusterek jest nieruchome, natomiast drugie przesuwa się, a jego ruch jest precyzyjnie sterowany przez laser He-Ne. Pomiędzy lustrami wstawiona jest pod kątem 45° płytką światłodzieląca. Promieniowanie,



Rys. 1.3. Schemat budowy interferometru Michelsona, z zaznaczonym przebiegiem promieniowania elektromagnetycznego

padając na tę płytkę, jest dzielone na dwie wiązki. Rozdzielone wiązki światła padają osobno na lustra, odbijają się od nich i powracają na płytkę dzielącą, na której interferują. Rejestrowane przez detektor natężenie zależy od położenia ruchomego lustra, którego ruch ze stałą prędkością pozwala na rejestrację interferogramu. Jeżeli oba zwierciadła położone są w tej samej odległości od płytki dzielącej, a więc różnica dróg optycznych wynosi zero, to w wyniku interferencji polichromatycznej wiązki następuje największe wzmocnienie wszystkich długości fal. W przypadku innego położenia obie wiązki nie będą już zgodne w fazie i wzmocnieniu ulegną tylko te długości fal, dla których spełniony jest warunek interferencji.

1.3.3. Komora pomiarowa

Konstrukcja komory pomiarowej spektrometru FT-IR zależy od rodzaju techniki wykonania pomiaru, omówionej w rozdziale 3.1. Sama komora, podobnie jak cały spektrometr, jest przedmuchiwana suchym powietrzem lub suchym azotem w celu usunięcia z niej pary wodnej i CO_2 z powietrza, ze względu na dużą wartość momentu dipolowego wody i dwutlenku węgla i w konsekwencji powstawania w widmach ich silnych pasm. Pasma absorpcyjne pary wodnej występują poniżej 500 cm^{-1} i przy ok. 1630 i 3500 cm^{-1} , natomiast CO_2 absorbuje promieniowanie podczerwone przy liczbach falowych $2280\text{--}2390\text{ cm}^{-1}$ (dublet) oraz $665\text{--}672\text{ cm}^{-1}$. Zazwyczaj

spektrometry FT-IR są jednowiązkowe, zatem należy wykonać pomiar tła dla pustej komory pomiarowej lub kuwety z rozpuszczalnikiem, a następnie pomiar widma próbki.

1.3.4. Detektor

Po przejściu przez próbkę sygnał analizowany jest przez detektor, którego zadaniem jest zamiana intensywności promieniowania na sygnał elektryczny. Standardowo w spektrometrach FT-IR stosuje się DLATGS (deuterowany siarczan trójglicyny podstawiony alaniną), działający w zakresie $350\text{--}6000\text{ cm}^{-1}$. Detektor ten jest komorą piroelektryczną, czułą na zmiany temperatury wywołanej promieniowaniem IR. W mikroskopach FT-IR stosowane są również detektory zbudowane z materiałów półprzewodnikowych, np. MCT (ang. *Mercury Cadmium Telluride*) rejestrujących zakres $670\text{--}7000\text{ cm}^{-1}$ (patrz rozdział 3.2).

Bibliografia

1. Cotton F.A., *Chemical applications of group theory*, Wiley, 1990.