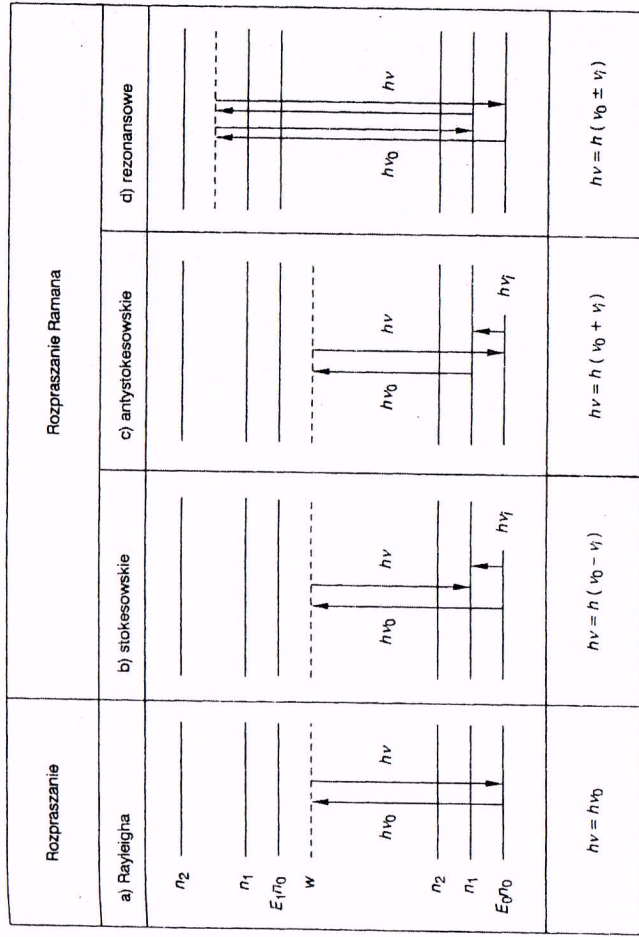


Spektroskopia optyczna w zakresie podczerwieni i spektroskopia Ramana

się od próbki, i odpowiednio porównuje tę porcję energii z porcją przechodzącą, emitowaną lub odbitą przez odpowiednie wzorce. Wykres ilości relatywnie przetransmitowanej energii jako funkcji tej energii jest widmem w podczerwieni. Aby drganie było aktywne w widmie Ramana, wymagana jest zmiana polaryzowalności cząsteczki (rys. 6.1). Aktywność drgań w widmie Ramana wynika z oddziaływania



Rys. 6.1. Schemat przejść ramanowskich, w — poziom wirtualny, E_0 i E_1 — poziomy elektronowe, n — poziomy oscylacyjny, h — stała Plancka, ν_0 — częstość promieniowania padającego

6.1. Wstęp

Spektroskopia w podczerwieni (IR — ang. *InfraRed*) i Ramana dostarcza informacji o strukturach molekularnych i odpowiada na pytanie, jak atomy tworzące cząsteczkę „trzymają się” razem. Ze względu na rodzaj układu materialnego oddziaływającego z promieniowaniem elektromagnetycznym spektroskopie w podczerwieni i Ramana należą do spektroskopii cząsteczkowej (molekularnej). Spektroskopie te zajmują się badaniem widm rotacyjnych i oscylacyjno-rotacyjnych. Widma rotacyjne odpowiadają przejściom między stanami rotacyjnymi tego samego układu elektronowo-oscylacyjnego cząsteczki, natomiast widma oscylacyjno-rotacyjne odpowiadają przejściom między poziomami oscylacyjnymi tego samego stanu elektronowego cząsteczki z jednoczesną zmianą energii rotacyjnej [1–4].

Ze względu na sposób otrzymania widma spektroskopia Ramana obejmuje badanie widm promieniowania elektromagnetycznego rozproszonego niesprężystości na cząsteczkach określonego układu. Natomiast spektroskopia w podczerwieni, ze względu na to, że cząsteczka może absorbować lub emitować promieniowanie podczerwone o częstości wzbudzającej ją z jednego oscylacyjnego lub rotacyjnego poziomu na drugi, obejmuje badanie widma promieniowania zaabsorbowanego lub emitowanego.

Normalne mody oscylacji (drgania normalne) wszystkich cząsteczek można podzielić na trzy klasy. Niektóre z nich można obserwować tylko w widmie Ramana inne tylko w podczerwieni, a jeszcze inne mogą być niewidoczne w żadnym z nich. Dla cząsteczek o wysokiej symetrii reguły wyboru zakładają, że żadnych drgań nie można równocześnie obserwować w widmie Ramana i podczerwieni (**zakaz alternatywny**). Ta wysoka symetria oznacza występowanie w cząsteczce środka symetrii (centrum inwersji) [5]. Jeżeli symetria jest niższa i cząsteczka nie zawiera środka symetrii, niektóre drgania mogą być widoczne zarówno w widmie Ramana, jak i w podczerwieni. Jednakże ich intensywności często różnią się w obu widmach. Obserwacja drgania w widmie w podczerwieni wymaga zmiany momentu dipolowego w czasie drgań [2–4]. W spektroskopii w podczerwieni mierzy się kwanty energii promieniowania przechodzącego, emitowanego lub odbijającego

poła elektrycznego promieniowania elektromagnetycznego z elektronami. Zmianę polaryzowalności spowodowaną przez promieniowanie wzbudzające można zliczować jako zmianę konturu chmury elektronowej wokół cząsteczki. Detekcja rozproszenia Ramana oparta jest na innych zasadach niż detekcja w podczerwieni. Monochromatyczne promieniowanie (które nie może być zaabsorbowane, gdyż jego energia nie pasuje do odległości poziomów elektronowych), padając na próbkę, ulega rozproszeniu we wszystkich kierunkach. Większość promieniowania rozproszonego ma częstość światła padającego i nazywana jest **rozproszeniem**

Rayleigha (rozproszenie sprężyste). Rozproszenie to zachodzi bez zmiany energii zarówno fotonu padającego, jak i cząsteczki. Jednakże w przybliżeniu 1 z 10⁶ fotonów może być rozproszony niesprężysto i ta porcja rozpraszanego światła nazywana jest **rozproszeniem Ramana** [3, 4, 6, 7]. Schemat przebieg ramanowskich ilustruje rysunek 6.1, na którym są przedstawione następujące przypadki:

1) Cząsteczka, przez oddziaływanie z fotonem, zostaje przeniesiona ze stanu podstawowego na znacznie wyższy, niestabilny stan (wirtualny w) i powraca do stanu podstawowego. W trakcie tego procesu energia się nie zmienia. Foton rozproszony zachowuje swoją początkową częstotliwość. To właśnie jest **rozproszenie Rayleigha**.

2) Wzbudzona cząsteczka nie powraca do stanu wyjściowego, lecz przechodzi na pierwszy poziom wzbudzenia oscylacyjnego. Energia fotonu rozproszonego jest zmniejszona o różnicę energii równą różnicy energii stanów oscylacyjnych. Zjawisko to nazywane jest **rozproszeniem Stokesowskim**. W widmie Ramana uwidoczni się pasmo przesunięte ku niższym częstotliwościom w stosunku do pasma Rayleigha o częstotliwość ν_s .

3) Oddziaływanie zachodzi pomiędzy fotonem i cząsteczką, już wzbudzoną oscylacyjnie, która ze stanu wzbudzonego, w wyniku oddziaływania, powraca na swój stan podstawowy, przekazując energię fotonowi. Tym razem foton rozproszony ma energię zwiększoną o różnicę energii stanów oscylacyjnych, co odpowiada **rozproszeniu antystokesowskiemu**. W widmie Ramana pojawi się pasmo przesunięte ku wyższym częstotliwościom w stosunku do pasma Rayleigha (w przeciwną stronę niż pasmo Stokesowskie) o częstotliwość ν_a (pasmo antystokesowskie). Linie antystokesowskie są słabsze od linii Stokesowskich. Różnica w intensywności wynika z rozkładu Boltzmanna. W temperaturze pokojowej cząsteczki mają energię odpowiadającą stanowi podstawowemu, a tylko mała ich liczba pozostaje w pierwszym wzbudzonym stanie oscylacyjnym.

4) Energia promieniowania wzbudzonego wchodzi w zakres elektronowej absorpcji cząsteczki. Taki proces nazywany jest **rezonansowym efektem Ramana** [3].

W pomiarach widm Ramana stosuje się do wzbudzenia światło widzialne, natomiast różnicę częstotliwości światła wzbudzonego i rozproszonego ma wartość częstotliwości z zakresu podczerwieni. Pozwała to na wykorzystanie naczyń szklanych w pomiarach ramanowskich w przeciwieństwie do spektroskopii IR. Pasma w widmach Ramana są często ostrzejsze, a tym samym lepiej rozdzielalne niż podobne pasma w widmach w podczerwieni, co ma znaczenie w ich zastosowaniach analitycznych. W przypadkach występowania zjawisk luminescencji towarzyszącej rozpraszaniu Ramana uzyskanie zaobalających widm jest często utrudnione. Porównanie spektroskopii w podczerwieni i Ramana przedstawiono w tabeli 6.1.

Tabela 6.1. Porównanie spektroskopii w podczerwieni i Ramana

Spektroskopia	Oddziaływanie	Wzbudzenie drgania przez	Mierzona częstotliwość	Warunki aktywności drgań	Intensywność pasm
W podczerwieni	absorpcja	polichromatyczne promieniowanie IR	bezwzględna	zmiana momentu dipolowego ($\delta\mu/\delta Q \neq 0$)	$I \propto (\delta\mu/\delta Q)^2$
IR					
Ramana	rozpraszanie	monochromatyczne promieniowanie zazwyczaj w zakresie widzialnym	względem	zmiana polaryzowalności ($\delta\alpha/\delta Q \neq 0$)	$I \propto (\delta\alpha/\delta Q)^2$

μ — moment dipolowy, Q — współrzędna normalna drgania, α — tensor polaryzowalności.

Utrzymanie informacji spektroskopowej na poziomie cząsteczkowym wymaga: źródła promieniowania elektromagnetycznego, próbki będącej przedmiotem badań oraz detektora. Energia promieniowania elektromagnetycznego jest proporcjonalna do jego częstotliwości i liczby faliowej, a odwrotnie proporcjonalna do długości fali. Zakres długości fali determinuje metodę spektroskopową, która może być zastosowana do badania cząsteczek. Promieniowanie podczerwone rozciąga się pomiędzy mikrofalanami a światłem widzialnym i często jest dodatkowo dzielone na bliską (0,75 μm –2,5 μm lub 13 335 cm^{-1} –5000 cm^{-1}), średnią (2,5 μm –50 μm lub 5000 cm^{-1} –400 cm^{-1}) i daleką podczerwień (50 μm –1000 μm lub 400 cm^{-1} –10 cm^{-1}). Podział ten jest różnie określany przez różnych autorów [2, 4, 6, 8, 9].

Drgania cząsteczek są najczęściej obserwowane w zakresie średniej podczerwieni. Zaabsorbowana część promieniowania padającego zostaje zamieniona w ruch drgający (oscylacyjny) atomów wewnątrz cząsteczki lub ruch obrotowy (rotacyjny) albo też przemieszczeniowy (translacyjny) ruch całych cząsteczek. Bazując na różnicach pomiędzy poszczególnymi zakresami promieniowania elektromagnetycznego, widma można zaliczyć do rotacyjnych, oscylacyjnych lub elektronowych. Energia kwantów promieniowania jest tego rzędu co energia wymienionych ruchów. Spektroskopia w podczerwieni ma zastosowanie zarówno w badaniu substancji amorficznych, jak i krystalicznych, co wynika z tego, że pozwala na określenie „uporządkowania bliskiego zasięgu”. Rozmieszczenie cząsteczek w przestrzeni, np. w strukturze kryształu, ma tylko pośredni wpływ na drganie.

6.2. Podstawy fizyczne spektroskopii w podczerwieni i spektroskopii Ramana

6.2.1. Teoria drgań

W uproszczonym modelu opartym na mechanice klasycznej cząsteczka jest przedstawiana jako układ kul o określonej masie reprezentujący atomy połączone elastycznymi sprężynami — wiązaniami chemicznymi. Częstota drgań modelowego układu jest tym większa, im mniejsza jest masa kul, a silniejsza sprężyna. W przypadku cząsteczki dwuatomowej traktowanej jako oscylator harmoniczny częstota drgań [2, 6]:

$$\nu_0 = \frac{1}{2\pi} (f/m_{\text{red}})^{1/2} \text{ [Hz]} \quad \text{lub} \quad \nu_0 = \frac{1}{2\pi c} (f/m_{\text{red}})^{1/2} \text{ [cm}^{-1}\text{]}, \quad (6.1)$$

gdzie: f to stała siłowa, c — prędkość światła, m_{red} — masa zredukowana, równa w przypadku cząsteczki dwuatomowej:

$$m_{\text{red}} = m_1 m_2 / (m_1 + m_2). \quad (6.2)$$

Stała siłowa wyraża stosunek siły (K), powodującej wychylenie atomu z położenia równowagi i skierowanej przeciwnie do niej, do wielkości tego wychylenia (Δr):

$$f = -K/\Delta r. \quad (6.3)$$

Obliczanie stałej siłowej, która jest miarą długości wiązań, jest jednym z bardzo ważnych zastosowań spektroskopii oscylacyjnej. W modelu opartym na mechanice kwantowej cząsteczka — oscylator harmoniczny — ma energię:

$$E_n = h\nu_{\text{osc}}(n + 1/2) \quad (\text{przypadek harmoniczny}), \quad (6.4)$$

gdzie $n = 0, 1, 2, \dots$ jest kwantową liczbą oscylacji, która różni poziom oscylacyjny; E_n to energia stanu; h — stała Plancka; ν_{osc} — częstota podstawowa, odpowiadająca przejściu ze stanu $n = 0$ do $n = 1$.

W przypadku oscylatora harmonicznego, w temperaturze pokojowej, większość cząsteczek występuje w podstawowym stanie oscylacyjnym, następuje więc przejście ze stanu $n = 0$ do $n = 1$, tzw. **drżanie podstawowe**. Ponieważ rzeczywiste cząsteczki nie są oscylatorami harmonicznymi, lecz anharmonicznymi, ich energia oscylacji wynosi:

$$E_n = h\nu_{\text{osc}}[(n + 1/2) - x(n + 1/2)^2] \quad (\text{przypadek anharmoniczny}), \quad (6.5)$$

gdzie współczynnik anharmoniczności x jest miarą odchylenia od przypadku harmonicznego. W przypadku oscylatora anharmonicznego promieniowanie o energii odpowiadającej przejściom ze stanu $n = 0$ do $n = 2$ lub 3 również może ulegać absorpcji.

W rzeczywistych układach $x > 0$ i różnica energii pomiędzy kolejnymi poziomami oscylacji zmniejsza się wraz ze wzrastającą liczbą poziomów. Częstota drgań odpowiadających przejściom ze stanu $n = 0$ do $n = 2$, nazywana **pierwszym nadtonem**, jest w przybliżeniu dwukrotnie większa od częstoty podstawowej, lecz intensywność nadtonów jest znacznie mniejsza od intensywności przejść podstawowych.

W przypadku gdy częstota jednego z drgań podstawowych w cząsteczce jest zbliżona do częstoty nadtonu innego drgania tej cząsteczki, a odpowiednio drżania są ze sobą sprzężone mechanicznie, wówczas może między nimi wystąpić rezonans. Można wtedy zaobserwować rozdzielenie pasma podstawowego. Zjawisko to nosi nazwę **rezonansu Fermiego**. Przykładowo podaje się, że dla cząsteczki dwutlenku węgla CO_2 zamiast drgania ν_1 o częstoty $= 1340 \text{ cm}^{-1}$, zbliżonej do częstoty nadtonu drgania $\nu_2 = 667 \text{ cm}^{-1}$ ($2 \cdot 667 = 1334$), pojawiają się pasma 1286 cm^{-1} i 1388 cm^{-1} [4, 6, 10].

6.2.2. Stopnie swobody i drżania normalne

Przerzonne uporządkowanie cząsteczek może zmieniać się w czasie:

- translacji, gdy cząsteczka przesuwa się jako całość,
- rotacji, gdy cząsteczka wykonuje ruch obrotowy wokół swoich osi,
- oscylacji, czyli drgań własnych cząsteczki, w czasie których zmieniają się okresowo długości wiązań lub/i kąty pomiędzy wiązaniami.

Każda cząsteczka o N atomach ma $3N$ stopni swobody ruchu. Ponieważ trzy stopnie swobody przypadają na translację i trzy na rotację, na oscylacje cząsteczki nieliniowej pozostaje $3N - 6$ stopni swobody. W przypadku cząsteczki liniowej liczba stopni swobody zmienia się i wynosi $3N - 5$, ponieważ na rotację cząsteczki jako całości przypadają tylko dwa stopnie swobody. Zmiana stopni swobody wynika z pokrywania się osi obrotu z linią, na której leżą wszystkie atomy cząsteczki liniowej. Liczba drgań własnych cząsteczki, nazywanych drżaniami normalnymi, jest taka sama jak liczba stopni swobody jej oscylacji.

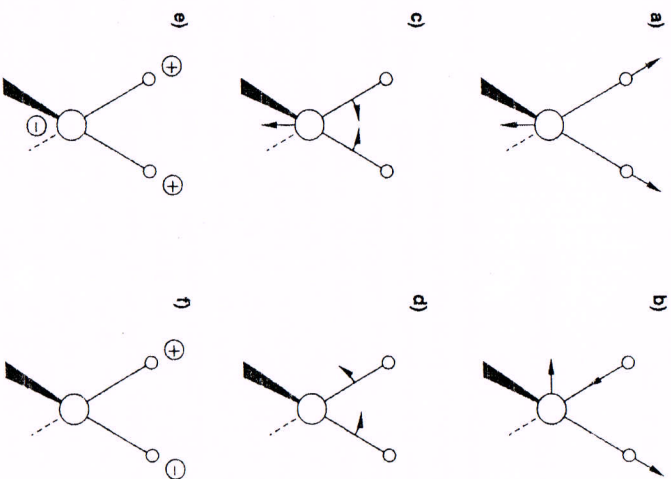
Drgania normalne określa się jako takie, w których wszystkie atomy cząsteczki drgają z jednakową częstotą i w jednakowej fazie przechodzą przez stan równowagi. Drgania te dzieli się na drżania **rozciągające** (ang. *stretching* — oznaczone symbolem ν) i **zginające** (ang. *bending* — oznaczone symbolami $\delta, \rho, \omega, \tau$) nazywane też odpowiednio **walencyjnymi** i **deformacyjnymi**. W czasie drgań rozciągających występuje zmiana długości wiązań, a w czasie drgań zginających zmiana kątów [2, 3, 9]. W zależności od symetrii wychylenia drżania dzieli się na **symetryczne** (indeks s) i **antysymetryczne** (indeks as). W przypadku cząsteczek płaskich rozróżnia się **drżania w płaszczyźnie** (ang. *in plane*) i **drżania poza płaszczyzną** (ang. *out of plane*). W cząsteczkach złożonych,

w zależności od typu ruchu atomów, wśród drgań zginających wyróżnia się ponadto:

— **drgania kołyszące** (ang. *rocking* ρ) i **drgania nożycowe** (ang. *scissorsing* δ), które polegają na drganiu sztywnej części cząsteczki w jednej z jej płaszczyzn symetrii,

— **drgania skręcające** (ang. *twisting* τ) i **drgania wachlarzowe** (ang. *wagging* ω), które polegają na drganiu sztywnej części cząsteczki poprzecznie do płaszczyzny symetrii. Przykładowe typy drgań dla grupy $-\text{CH}_2-$ przedstawia rys. 6.2. Obserwuje się, że:

- częstość drgań rozciągających jest większa niż drgań zginających;
- częstość drgań rozciągających wzrasta wraz z krotnością wiązania chemicznego, np.: $\nu(\text{C}\equiv\text{C}) > \nu(\text{C}=\text{C}) > \nu(\text{C}-\text{C})$;



Rys. 6.2. Typy drgań grupy $-\text{CH}_2-$: a) rozciągające symetryczne ν_s ok. 2920 cm^{-1} , b) rozciągające antysymetryczne ν_{as} ok. 2850 cm^{-1} , c) zginające w płaszczyźnie — nożycowe δ ok. 1470 cm^{-1} , d) zginające w płaszczyźnie — kołyszące ρ ok. 720 cm^{-1} , e) zginające poza płaszczyznę — wachlarzowe ω ok. 1350–1180 cm^{-1} , f) zginające poza płaszczyznę — skręcające τ ok. 1300 cm^{-1} . Znaki + i — oznaczają ruchy w kierunku prostopadłym do płaszczyzny rysunku

- częstość drgań obniża się ze wzrostem masy atomowej, np.:

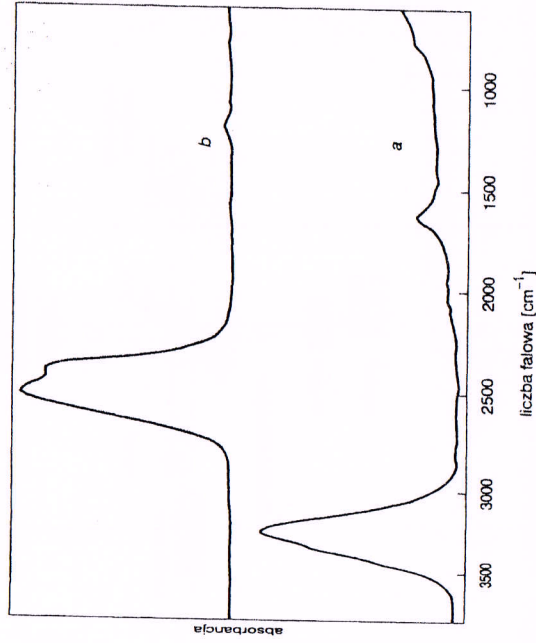
$$\nu(\text{C}-\text{H}) > \nu(\text{C}-\text{D}) > \nu(\text{C}-\text{O}) > \nu(\text{C}-\text{Br});$$

• ugrupowaniu atomów, których pasma absorpcyjne występują w tym samym przedziale częstości w przypadku różnych cząsteczek, przypisuje się tzw. **częstości grupowe**; np. drganiami rozciągające grupy karbonylowej $\text{C}=\text{O}$ obserwuje się w zakresie: 1740–1680 cm^{-1} w aldehydach, 1725–1540 cm^{-1} w ketonach, 1780–1717 cm^{-1} w estrach, 1720–1680 cm^{-1} w kwasach karboksylowych [6, 9].

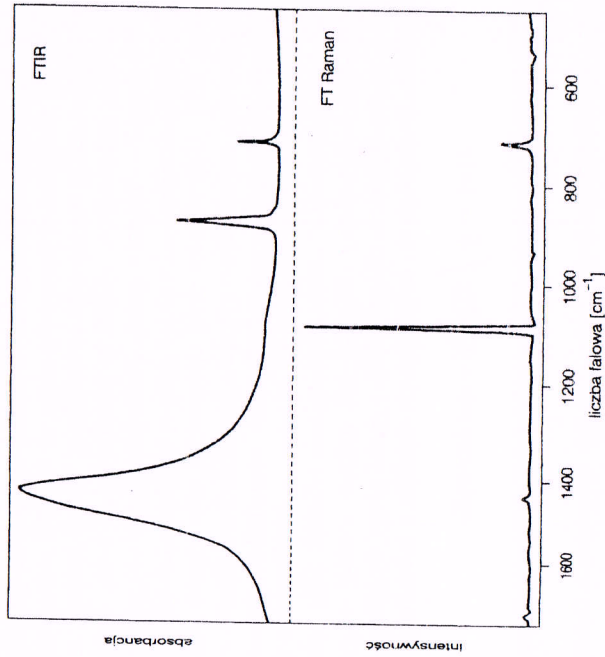
Drgania normalne opisuje się za pomocą **współrzednych normalnych** Q . Jednoznaczna klasyfikacja drgań w zależności od symetrii cząsteczek jest możliwa dzięki zastosowaniu matematycznego aparatu teorii grup. Pozwala on przewidywać liczbę i rodzaj drgań aktywnych w widmach w podczerwieni i Ramana. Każda cząsteczka ma różne elementy symetrii (tożsamościowy element symetrii — E , oś symetrii — C_n , płaszczyznę symetrii — σ , środek symetrii — i , oś obrotowo-inwersyjną — S_n), których konkretna kombinacja pozwala zaliczyć ją do określonej grupy punktowej [4, 5]. Poszczególным elementom symetrii odpowiadają operacje symetrii. **Klasą** lub **typem symetrii** drgań nazywa się taką kombinację elementów symetrii drgań, która zostaje zachowana w czasie drganiami. Stosuje się następujące typy symetrii: A — drganiami niezdegenerowane, symetryczne względem osi symetrii o największej krotności, B — drganiami niezdegenerowane, antysymetryczne względem osi symetrii o największej krotności, E — wszystkie drganiami dwukrotnie zdegenerowane, F (oznaczany też symbolem T) — wszystkie drganiami trzykrotnie zdegenerowane. Dodatkowe indeksy przy symbolu określającym typ podają symetrię drganiami względem innych elementów symetrii cząsteczki, np. indeks 1 oznacza symetryczność drganiami, natomiast indeks 2 — antysymetryczność drganiami względem osi symetrii innej niż oś o największej krotności.

Drganiami zdegenerowanymi nazywa się drganiami występujące w cząsteczkach, które mają co najmniej jedną oś symetrii o krotności wyższej niż dwa; są one prostopadłe do siebie, mają tę samą częstość i są przesunięte w fazie. Ze względu na możliwość występowania kilku drgań tej samej klasy symetrii wprowadzono numerację drgań. Przyjmuje się, że drganiami pełnosymetryczne o najwyższej dla danej klasy częstości oznacza się symbolem ν_1 , a drganiami tej samej klasy o niższej częstości oznacza się symbolami $\nu_2, \nu_3, \nu_4 \dots \nu_n$. Kolejno drganiami następnej klasy symetrii o najwyższej częstości oznacza się symbolem ν_{n+1} . Tablice opracowane na podstawie teorii grup, zawierające liczbę i rodzaj klas symetrii, charakter drganiami, zmianę momentu dipolowego i polaryzowalności, znajdują się w podręcznikach spektroskopii [1, 4, 6, 11].

Przykładowo cząsteczka wody H_2O ma dwa drganiami typu A_1 , w pełni symetryczne rozciągające (ν_1 ok. 3400 cm^{-1}) i zginające (ν_2 ok. 1600 cm^{-1}), które są aktywne w podczerwieni. Drganiami te są aktywne również w widmie Ramana. Trzecim drganiami aktywnym w widmach podczerwieni i Ramana jest drganiami typu B_1 antysymetryczne rozciągające (ν_3 ok. 3600 cm^{-1}). W przypadku pod-



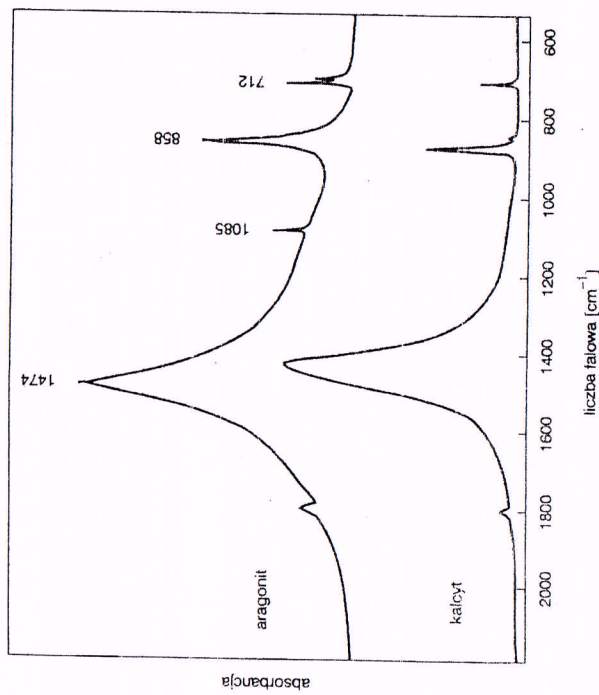
Rys. 6.3. Widma FTIR: a — H_2O , b — D_2O . (FT skrót od ang. *Fourier Transform* oznacza, że prezentowane w pracy widma zarejestrowano na spektrometrach fourierowskich)



Rys. 6.4. Widma FT Ramana i FTIR CaCO_3 kalcytu (opis pasm w tekście)

stawienia wodoru deuterem częstość poszczególnych drgań obniża się odpowiednio i wynosi dla drgania: ν_1 ok. 2500 cm^{-1} , ν_2 ok. 1210 cm^{-1} , ν_3 ok. 2650 cm^{-1} (rys. 6.3). Innym przykładem może być jon węglanowy w kalcycie (CaCO_3). Drganie A_1 — symetryczne rozciągające (ν_1 ok. 1085 cm^{-1}) jest aktywne tylko w widmie Ramana, A_2 — zginające (ν_2 ok. 875 cm^{-1}) jest aktywne tylko w widmie w podczerwieni, natomiast dwa drgania E — symetryczne rozciągające (ν_3 ok. 1430 cm^{-1}) i zginające (ν_4 ok. 712 cm^{-1}), są aktywne zarówno w widmie Ramana jak i w podczerwieni (rys. 6.4) [4, 6].

Liczba obserwowanych pasm w widmie może być inna niż przewidzianych teoretycznie. Wzrost liczby obserwowanych pasm może być spowodowany np.: rezonansem Fermiego, występowaniem tej samej cząsteczki w formie dwóch różnych izomerów (należących do różnych grup punktowych), zniesieniem degeneracji czy też obniżeniem symetrii dla danej grupy [2, 3, 4, 9]. Przykładowo w przypadku jonu węglanowego występującego w aragonicie (CaCO_3) następuje obniżenie symetrii lokalnej w stosunku do jonu węglanowego występującego w kalcycie, w konsekwencji czego następuje zniesienie podwójnej degeneracji drgań typu E (widoczne jest rozdzielenie pasm ν_4) oraz uaktywnienie w podczerwieni drgania ν_1 . Ilustruje to rys. 6.5 przedstawiający porównanie widm, zarejestrowanych



Rys. 6.5. Porównanie widm FTIR CaCO_3 kalcytu i aragonitu (opis pasm w tekście)

w podczerwieni, węglanu wapnia w formie kalcytu i aragonitu. Zmniejszenie liczby obserwowanych pasm może być związane z degeneracją, nieaktywnością lub koherencyą drgań kilku tych samych grup, np. CH_3 , w danej częstotliwości. Redukcja liczby obserwowanych pasm w widmie może być również spowodowana czynnikami aparaturowymi, np. słabą zdolnością rozdzielczą.

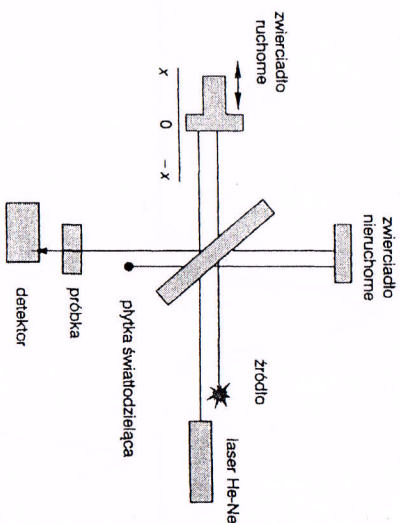
6.3. Aparatura

Aparaty rejestrujące widma w podczerwieni i Ramana dzieli się w zależności od sposobu pomiaru na dyspersyjne i interferometryczne (fourierowskie) [2, 4, 12, 13]. Spektrometry w podczerwieni rejestrują natężenie (I) promieniowania podczerwonego wychodzącego z osrodka absorbującego (próbki) i najczęściej porównują je z natężeniem promieniowania padającego na próbkę (I_0). Stosunek I/I_0 nazywany jest **transmitancją** T i wyrażany jest w procentach. Logarytm o podstawie dziesiętnej odwrotności transmitancji nazywany jest **absorbancją** A . Absorpcja promieniowania zgodnie z prawem Lamberta-Beera jest proporcjonalna do stężenia (c) badanej substancji w próbce, grubości warstwy absorbującej (d) i współczynnika absorpcji (ϵ):

$$I/I_0 = \exp[-\epsilon cd]. \quad (6.6)$$

Spektrometry ramanowskie rejestrują natężenie promieniowania rozproszonego, które w uproszczeniu zależy od stężenia i współczynnika charakterystycznego dla badanej cząsteczki w ustalonych warunkach pomiarowych. Porównywanie stosunków natężeń I/I_0 w spektrometrii Ramana byłoby obciążone zbyt dużym błędem, wynikającym z bardzo dużego natężenia promieniowania padającego w stosunku do promieniowania rozproszonego [3].

W klasycznym aparacie pomiarowym promieniowanie po przejściu przez badaną próbkę lub rozproszeniu przez nią kierowane jest na pryzmat lub siatkę dyfrakcyjną, gdzie zostaje rozszczepione, czyli uporządkowane według długości fali, a następnie jest analizowane przez detektor zamieniający sygnał optyczny na elektryczny i rejestrowane. Szczegółowe opisy działania klasycznych spektrometrów znajdują się w wielu podręcznikach [2, 3, 14, 15]. Aparaturowe ograniczenia czułości i detekcji w wielu podręcznikach [2, 3, 14, 15]. Aparaturowe ograniczenia czułości i detekcji w wielu podręcznikach [2, 3, 14, 15]. Aparaturowe ograniczenia czułości i detekcji w wielu podręcznikach [2, 3, 14, 15]. Aparaturowe ograniczenia czułości i detekcji w wielu podręcznikach [2, 3, 14, 15]. Aparaturowe ograniczenia czułości i detekcji w wielu podręcznikach [2, 3, 14, 15]. Aparaturowe ograniczenia czułości i detekcji w wielu podręcznikach [2, 3, 14, 15]. Aparaturowe ograniczenia czułości i detekcji w wielu podręcznikach [2, 3, 14, 15].



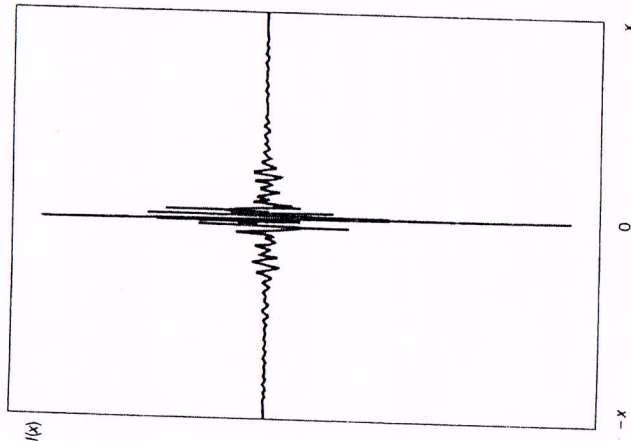
Rys. 6.6. Schemat działania spektrometru fourierowskiego

Detekcja interferometryczna opiera się na podzieleniu polichromatycznej wiązki promieniowania podczerwonego wychodzącej ze źródła na płycie światłodzielącej. W idealnym układzie 50% promieniowania odbija się od płytki, a pozostała część przechodzi przez nią. Następnie promieniowanie odbite od płytki odbija się od płaskiego nieruchomego zwierciadła, natomiast przechodzące przez płytkę odbija się od zwierciadła przesuwanego się ruchem jednostajnym. Odbite wiązki ponownie spotykają się na płycie działającej. Teraz jednak, w wyniku powstania różnicy dróg optycznych, wiązki te interferują ze sobą, dając po wyjściu z interferometru sygnał — interferogram. Interferogram ten przedstawia zależność natężenia promieniowania od różnicy dróg optycznych lub od czasu przesuwny zwierciadła (rys. 6.7). Gdy różnica dróg optycznych obu wiązek jest równa zeru, następuje maksymalne wzmocnienie sygnału niezależnie od długości fali. W przypadku przesunięcia zwierciadła ruchomego wiązki spotykające się na płycie światłodzielącej są względem siebie przesunięte w fazie, a interferencja fal o różnych częstościach jest różnicowana. Jeżeli wytworzona różnica dróg optycznych jest parzystą wielokrotnością połowy długości fali, sygnał zostaje wzmocniony, gdy jest nieparzystą wielokrotnością długości fali, sygnał ulega wygaszeniu. Natężenie promieniowania dochodzącego do detektora po wyjściu z interferometru wynosi:

$$I(x) = \frac{1}{2} \int I(\nu)(1 + \cos 2\pi\nu x)d\nu, \quad (6.7)$$

gdzie $I(\nu)$ to natężenie promieniowania o częstości ν padającego na płytkę światłodzielącą [9].

Otrzymany interferogram traktowany jest jak niegąsząca funkcja okresowa, którą rozkłada się na szereg prostych funkcji kosinusoidalnych, a tym samym roz-



Rys. 6.7. Przykład interferogramu otrzymanego w spektrometrze FTIR; x oznacza przesuw zwierciadła ruchomego, $I(x)$ — intensywność

klada się światło polichromatyczne na jego składowe monochromatyczne. Interferogram jest zależnością natężenia $I(x)$ od przesunięcia zwierciadła ruchomego. Aby otrzymać zależność natężenia od liczby falowej, zmierzony interferogram należy przekształcić przy użyciu transformacji Fouriera. Analiza fourierowska sygnału uwzględniająca digitalizację interferogramu dokonywana jest za pomocą komputera. Płynność przesuwu zwierciadła ruchomego zapewnia stosowanie układu kontrolującego, wyposażonego w źródło promieniowania monochromatycznego, jakim jest laser He-Ne, i detektor tego promieniowania. Rzeczywisty zapis widma zawarty jest w interferogramie o nieskończonej długości. W praktyce jest on ograniczony. W celu uniknięcia zniekształcenia związanego z ucięciem interferogramu przy określonej różnicy dróg optycznych dokonuje się korekcji numerycznej.

Współczesna technika komputerowa zdecydowanie wpłynęła na szybkość i rodzaj metod eksperymentalnych stosowanych w rozwiązywaniu wielu problemów naukowych. Praktycznie większość używanych obecnie aparatów pracuje pod kontrolą komputerów, co pozwala z dużą dokładnością i szybko zbierać, zapamiętywać oraz przetwarzać dane doświadczalne. Przykładem sprzężenia przyrządów pomiarowych i komputerów są stosowane obecnie spektrometry do podczerwieni i Ramana. Te interferometryczne spektrometry umożliwiające wykonanie szybkiej transformacji Fouriera mają następujące główne zalety:

- 1) zysk multipleksowy — możliwość pomiaru wszystkich długości w tym samym czasie, co pozwala na skrócenie czasu pomiaru, a tym samym na wielokrotne jego powtórzenie i uśrednienie;
- 2) zysk aperturowy — możliwość rejestracji widm o dużej rozdzielczości związanej z brakiem ograniczeń aparaturowych,
- 3) dużą precyzję określenia skali częstości poprzez optyczną kontrolę przesuwu zwierciadła ruchomego.

Wymienione dwie pierwsze zalety pozwalają na zwiększenie stosunku sygnału do szumu, co ma istotne znaczenie przy pomiarach wymagających stosowania specjalnych technik pomiarowych. W zależności od stosowanej metody i zakresu pomiarowego używane są różne elementy aparatury, takie jak źródła, detektory, układy monochromatyzujące w spektrometrach dyspersyjnych czy też płytki światłodzielnące w przyrządach interferometrycznych. Tabela 6.2 przedstawia stosowane elementy spektrometrów w podczerwieni i Ramana.

Tabela 6.2. Elementy spektrometrów IR i Ramana

Elementy	IR	Raman
Źródło:	globar (pręt z węgla krzemu); włókno Nernsta (pręt ceramiczny z tlenków ceru, cyrkonu, toru i itru); lampa halogenowa; lampa rtęciowa	lasery: Nd-YAG (granat itrowo-glinowy domieszkowany jonami Nd ³⁺ ($\lambda = 1064$ nm)); He-Ne ($\lambda = 632,8$ nm); kryptonowy o liniach: czerwonej $\lambda = 647,1$ nm, żółtej $\lambda = 568,2$ nm, zielonej $\lambda = 514,5$ nm, niebieskiej $\lambda = 488,0$ nm; argonowy o liniach: niebieskiej $\lambda = 488,0$ nm, zielonej $\lambda = 514,5$ nm;
Detektor:	DTGS (deuterowany siarczan triglicynny); PbSe (selenek ołowiu); MCT (tellurek kadmowo-rtęciowy)	Ge, Si, fotopowielacze
Układ monochromatyzujący w przyrządach dyspersyjnych:	pryzmaty NaCl, KBr, CsI; siatki dyfrakcyjne	
Płytki światłodzielnące w przyrządach interferometrycznych:	nylar (tereftalan etylenu) o różnych grubościach (w μ m): 100, 25, 12, 6; KBr, CsI, CaF ₂ pokrywane Ge/Sb ₂ S ₃ ; kwarc pokrywany Fe ₂ O ₃	

6.4. Techniki pomiarowe

Spektrometry do podczerwieni, zarówno dyspersyjne jak i interferometryczne, pozwalają na bezpośrednie pomiary w świetle przechodzącym. Stosowanie technik odbiciowych czy emisyjnych wymaga modyfikacji spektrometru lub użycia specjalnie skonstruowanych akcesoriów. Te ostatnie wstawiane są bądź do spektrometru w miejsce próbki, bądź umieszczane są na zewnątrz aparatów. Użycie dodatkowego wyposażenia często ogranicza sygnał docierający do detektora. Problem ten jest minimalizowany w spektrometrach fourierowskich. Pozwalają one na wykorzystanie w praktyce wielu przyrządów, co znacznie rozszerza możliwości eksperymentalne spektroskopii w podczerwieni i Ramana. Wśród technik pomiarowych w spektroskopii w podczerwieni najczęściej wyróżnienia się technikę transmisyjną, odbicia wewnętrznego, odbicia zwierciadlanego, odbicia rozproszonego, technikę fotoakustyczną oraz technikę emisyjną. Każdą z wymienionych technik cechują własne szczególne rozwiązania. Większość z nich umożliwia pracę w podwyższonej lub obniżonej temperaturze. Należy podkreślić, że w przypadku używania różnych technik pomiarowych mogą wystąpić efekty fizyczne powodujące zmiany charakteru otrzymanych widm, a tym samym utrudniające interpretacje wyników [12, 13, 17].

Technika transmisyjna pozwala na pomiary widm związków we wszystkich stanach skupienia [4, 9, 14, 17]. Najczęściej jednak badany materiał wymaga odpowiedniego przygotowania do pomiaru poprzez jego rozcieńczenie albo zagęszczenie. Probkę przygotowuje się w formie np. pastylki, zawiesziny lub roztworu. W celu uzyskania widma trudno rozpuszczalnych i trudno topliwych ciał stałych sporządza się zawieszinę badanego związku w oleju parafinowym lub heksachlorobutadienie. Przygotowaną zawieszinę umieszcza się pomiędzy okienkami wykonanymi z materiału przezroczystego dla badanego zakresu pomiarowego. Ważne jest uzyskanie drobnej zawiesziny (poniżej 2µm), tj. o wymiarach mniejszych od długości fali rejestrowanego promieniowania, aby uniknąć jego rozproszenia. Innym sposobem przygotowania próbki jest jej osadzenie na powierzchni okienka w formie cienkiej warstwy z zawiesziny sporządzonej z próbki i lotnej cieczy. Ciecz (aceton, alkohol izopropylowy) nie powinna powodować korozji okienek, jak też nie może reagować z badaną próbką. Zawieszinę rozprawada się na powierzchni okienka i pozostawia do odparowania cieczy. Często przygotowuje się materiał w formie pastylek. W tym celu badaną próbkę w ilości kilku miligramów proszkuje się w młynku wibracyjnym lub uciera w moździerzu, a następnie miesza się z kilkuset miligramami materiału przezroczystego dla promieniowania w zakresie pomiaru. Materiałem są halogenki (KBr, NaCl, CsI), gdy materiał analizowany jest w zakresie środkowej podczerwieni, lub polietylen, w przypadku badania w zakresie dalekiej podczerwieni (tab. 6.3). Tak przygotowaną mieszaninę prasuje się w matrycy o średnicy od 3 do 24 mm pod naciskiem od kilku lub kilkunastu ton. Tej metody przygotowania próbek nie poleca się w przypadku

badania związków, w których może wystąpić oddziaływanie chemiczne pomiędzy próbką a halogenkiem.

Cienkie folie polimerowe oraz cienkie błony bada się bezpośrednio bez wcześniejszego preparowania. Mikropróbki bada się techniką transmisyjną, stosując przystawkę dodatkowo skupiającą wiązkę promieniowania lub pod mikroskopem sprzężonym ze spektrometrem fourierowskim.

Tabela 6.3. Materiały stosowane w wyposażeniu spektrometrów do podczerwieni

Materiał	Współcz. załamania światła n	Zakres [cm ⁻¹]	Właściwości
Polietylen	1,55	10–625	nierozp. w większości rozpuszczalników
AgCl	2,00	360–23 000	nierozp. w wodzie, rozpuszczalny w NH ₄ OH
AgBr	2,20	300–20 000	nierozp. w wodzie i alkoholu
NaCl	1,50	625–40 000	higroskopijny, słabo rozp. w alkoholu i NH ₃
KCl	1,47	500–40 000	higroskopijny, rozp. w wodzie
KBr	1,52	400–33 000	higroskopijny, rozp. w wodzie i alkoholu
CsI	1,72	150–33 000	higroskopijny, rozp. w wodzie i alkoholu
CaF ₂	1,40	1100–50 000	nierozp. w wodzie, odporny na działanie kwasów
BaF ₂	1,45	770–50 000	słabo rozp. w wodzie
ZnS	2,22	750–22 000	nierozp. w wodzie, rozp. w kwasach
ZnSe	2,42	515–20 000	nierozp. w wodzie, rozp. w mocnych kwasach
KRS-5*	2,35	250–16 600	trudno rozpuszczalny w wodzie
SiO ₂	1,50	30–250	nierozp. w wodzie
Ge	4,00	600–5000	nierozp. w wodzie
Si	3,42	100–10 000	nierozp. w kwasach i zasadach

* Bromojodek talu.

Substancje ciekłe i stałe można rozpuścić w odpowiednio dobranym rozpuszczalniku i zarejestrować ich widma. Najczęściej stosowanymi rozpuszczalnikami są tetrachlorometan (CCl₄), trichlorometan (CHCl₃) i dwusiarceek węgla (CS₂). Należy pamiętać, że widma stosowanych rozpuszczalników mogą mieć swoje własne

pasma, które należy uwzględnić w interpretacji. Badane roztwory są umieszczane w kuwetach pomiarowych o różnej grubości, z materiałów przepuszczających promieniowanie podczerwone, a więc np. z halogenków lub polietylenu. Halogenki są higroskopijne i rozpuszczalne w wodzie, trzeba więc je chronić przed wilgocią i nie nadają się one do badania roztworów wodnych. Roztwory wodne bada się w kuwetach wykonanych z materiałów trudno rozpuszczalnych w wodzie, takich jak CaF_2 , AgCl , ZnS , ZnSe , KRS-5 . Ten ostatni materiał będący mieszaniną 44% bromku talu i 56% jodku talu, jest silnie trujący. Szkło, które nie przepuszcza promieniowania podczerwonego poniżej 4000 cm^{-1} , nie jest stosowane jako materiał na kuwety w spektroskopii w podczerwieni. Jest ono powszechnie stosowane w spektroskopii Ramana.

Widma substancji gazowych rejestruje się, używając kuwet o grubości warstwy absorbującej 10 cm lub też o przedłużonej drodze optycznej dochodzącej do kilkudziesięciu metrów. Kuwety o przedłużonej drodze optycznej (w których następuje wielokrotne odbicie wiązki promieniowania od precyzyjnie ustawionych zwierciadeł) pozwalają na detekcję wielu związków o stężeniu poniżej 10 ppb, co ma istotne znaczenie w monitorowaniu zanieczyszczeń powietrza.

Technika odbicia wewnętrzznego, nazywana też często techniką osłabionego całkowitego odbicia (ATR), lub wielokrotnego wewnętrznego odbicia, pozwala na badanie materiałów nieprzezroczystych dla promieniowania podczerwonego lub też silnie absorbujących promieniowanie (np. roztworów wodnych, materiałów biologicznych) [4, 7, 16, 17]. W przeciwieństwie do techniki transmisyjnej, próbki są w naturalnej postaci, nie wymagają specjalnego przygotowania ani też dużej ilości substancji. W technice tej próbka styka się z elementem optycznym (pryzmatem o współczynniku załamania n_1), w którym promieniowanie ulega całkowitemu odbiciu. Efekt całkowitego wewnętrznego odbicia występuje, kiedy promieniowanie pada od strony ośrodka o większej gęstości optycznej (n_1) na próbkę, która ma mniejszą gęstość optyczną (n_2), pod kątem θ większym od kąta granicznego θ_{gr} danego przez równanie:

$$\sin \theta_{gr} = n_2/n_1. \quad (6.8)$$

Próbka oddziałuje z zanikającą falą. Miarą stopnia oddziaływania jest efektywna długość drogi optycznej, określana jako grubość próbki. Technika tą można obserwować nawet pasma o bardzo małej intensywności. W ośrodku optycznie gęstszym (pryzmacie) tworzą się fale stojące (prostopadłe do powierzchni odbijającej), co wynika z nakładania się fal promieniowania padającego i odbitego), które są tłumione w ośrodku optycznie rzadszym (próbce). Promieniowanie przenika więc do ośrodka rzadszego (próbki) nawet przy całkowitym odbiciu. Głębokość penetracji promieniowania d_p , przy ustalonym kącie padania, rośnie wraz z malejącą różnicą współczynników załamania światła

$$d_p = \lambda/2\pi[\sin^2 \theta - (n_2/n_1)^2]^{1/2}, \quad (6.9)$$

gdzie λ to długość fali promieniowania, a θ — kąt padania [7]. Głębokość penetracji rośnie też w miarę zbliżania się kąta padania promieniowania do wartości kąta granicznego.

Technika odbicia zwierciadlanego, nazywana też techniką refleksyjno-absorpcyjną, stosowana jest do badania filmów lub powłok utworzonych na powierzchni metalu. Padające promieniowanie przechodzi przez warstwę powłoki, w której ulega częściowej absorpcji, odbija się od podłoża metalicznego i ponownie przechodzi przez badaną powłokę. Może również nastąpić odbicie od powierzchni powłoki. Ze względu na złożoność występujących zjawisk absorpcji i odbicia oraz na ich zależność od stałych optycznych ośrodków widma otrzymane tą techniką różnią się często od widm otrzymanych techniką transmisyjną. W przypadku całkowitej absorpcji przez badaną powłokę padającego promieniowania, co występuje wówczas, gdy jej grubość jest większa od długości fali padającego promieniowania, pasma ulegają odwróceniu. Natomiast gdy grubość powłoki jest mniejsza od długości fali padającego promieniowania, w widmie odbiciowym występuje tzw. efekt **Berremana**, który polega na rozszereżeniu częstości drgań optycznych podłużnych i poprzecznych. Odbicie zależy wtedy od kierunku polaryzacji światła oraz od kąta padania. Widma refleksyjne podobne są do widm transmisyjnych, gdy grubość badanej powłoki jest porównywalna z długością fali padającego promieniowania.

Technika odbicia rozproszonego stosowana jest najczęściej do badania ciał stałych. Podstawy teoretyczne tej metody zostały opracowane już w latach trzydziestych przez Kubelkę i Munka [12, 13]. Promieniowanie padające na powierzchnię ciała stałego może ulec odbiciu zwierciadlanemu (kąt padania jest równy kątowi odbicia) oraz odbiciu rozproszonemu. Promieniowanie, przechodząc w głąb analizowanego materiału, ulega załamaniu, absorpcji i odbiciu, nim ponownie osiągnie powierzchnię, zostaje więc wypromieniowane we wszystkich kierunkach. Wypromieniowane rozproszone światło jest zbierane przez półkolisty detektor i kierowane do detektora. Wielkość sygnału rejestrowanego przez detektor jest proporcjonalna do pierwiastka kwadratowego ze stężenia oznaczonej substancji. W warunkach gdy wartości składowych odbicia zwierciadlanego promieniowania są bardzo małe, widma otrzymane tą techniką są podobne do widm transmisyjnych. Próbką nie wymaga specjalnego przygotowania. Analizowany materiał wniesza się z nieabsorbującym materiałem (jakim jest np. wymieszany wcześniej halogenek lub sproszkowany krzem) i umieszcza w przystawce zamontowanej w komorze pomiarowej spektrometru.

Technika emisyjna używana jest do badania zarówno materiałów proszkowanych, jak i cienkich filmów. W tej technice źródło promieniowania podczerwonego zastępuje się badaną próbką, która podgrzewana emituje promieniowanie analizowane przez detektor promieniowania podczerwonego.

Technika fotoakustyczna umożliwia badanie specyficznych materiałów nieprzezroczystych lub rozpraszających promieniowanie podczerwone [7, 13]. Do ta-

kich materiałów należą żywice, węgle, polimery itp., które mają nieregularne kształty oraz są często trudne do sproszkowania. W technice tej próbkę umieszcza się w szczelnej komorze pomiarowej wypełnionej gazem (azot, hel). Zaabsorbowana energia promieniowania podczerwonego ulega we wnętrzu próbki przemianom w energię wewnętrzną. Wytworzona energia wewnętrzna powoduje zmiany ciśnienia otaczającego próbkę gazu, a tym samym powstawanie fali akustycznej, która jest rejestrowana przez odpowiedniej czułości mikrofon. Powstanie sygnału fotoakustycznego zależy od właściwości optycznych i termicznych badanej próbki. W spektroskopii w podczerwieni sygnał powstający od próbki po przetworzeniu elektronicznym odnosi się do sygnału wzorca, którym jest sadza.

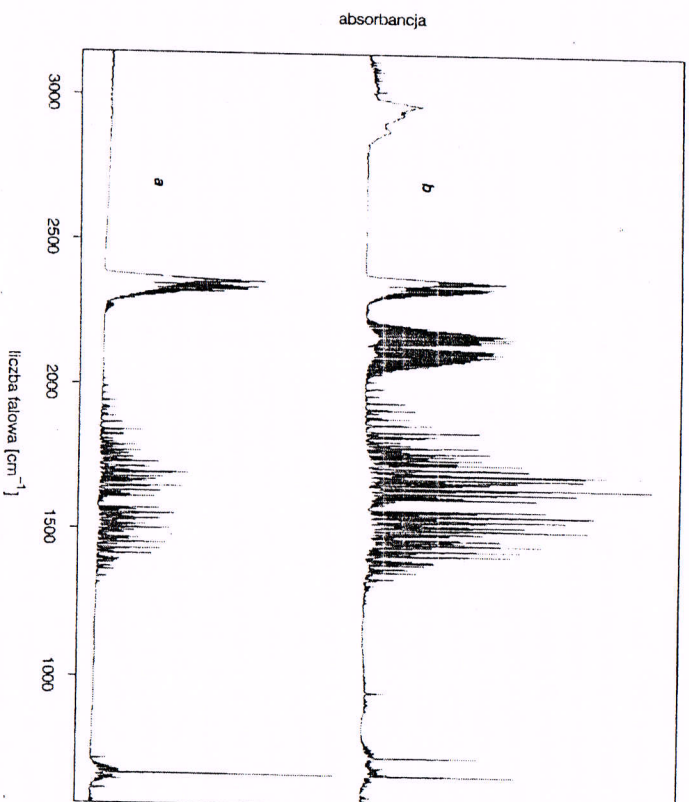
Wiele czynników determinuje możliwość zastosowania konkretnej techniki pomiarowej do analizy ilościowej lub jakościowej. Należą do nich: stan skupienia próbki, jednorodność próbki, właściwości jej powierzchni, destruktywna lub nie-destruktywna preparatyka próbki, jej właściwości chemiczne, łatwość preparatyki oraz możliwość kontrolowania temperatury i atmosfery.

Techniki pomiarowe stosowane w spektroskopii Ramana, w przeciwieństwie do spektroskopii w podczerwieni, są mniej skomplikowane [3, 4, 7, 12, 18]. Badane substancje w ilości kilku miligramów są umieszczane w kapilarach czy też naczyniach szklanych lub kwarcowych, przetrześciwionych dla promieniowania wzbudającego. Kształt naczyń zależy od stanu skupienia badanych materiałów. Monokryształy umieszcza się w uchwycie goniometru na drodze wiązki promieniowania wzbudającego. Proszki można badać też w formie pastylek z dodatkiem halogenu czy polietylen. W przypadku próbek barwnych pochłaniających dużo energii wiązki padającej, co może powodować ogrzewanie próbki, a nawet jej rozkład, analizowane materiały umieszcza się na tarczach lub w naczyniach obrotowych. W przypadku analizowania gazów stosuje się naczynia umożliwiające wielokrotne przechodzenie wiązki wzbudzącej.

6.5. Zastosowanie

Spektroskopia w podczerwieni i spektroskopia ramanowska mogą być użyteczne w rozwiązywaniu różnych zagadnień, w tym w analizie zanieczyszczeń środowiska. Z danych literaturowych wynika, że węglowodory będące składnikami zanieczyszczonego powietrza mogą być jednym z czynników ryzyka zachorowań na raka w aglomeracjach miejskich [19, 20]. Coraz częściej prowadzi się badania ich zawartości w powietrzu, między innymi metodą spektroskopii founterowskiej w podczerwieni (FTIR), która pozwala na ich detekcję nawet w ilości ppb (*parts per billion* — jednostka określająca zawartość oznaczonego składnika, stosowana w analizie śladowej, np. $\mu\text{g}/\text{kg}$) przy długości drogi optycznej 100 m. Stosując mniejszą długość drogi optycznej (kilka metrów), można z łatwością analizować tą me-

todą spaliny samochodowe czy samolotowe, powietrze z emiterów przemysłowych i obecność substancji toksycznych na stanowiskach pracy. Przykładowe widma FTIR powietrza niezanieczyszczonego oraz zanieczyszczonego spalinami samochodowymi są przedstawione na rys. 6.8. Częstości głównych pasm analitycznych



Rys. 6.8. Widma FTIR powietrza niezanieczyszczonego (a) i zanieczyszczonego (b) spalinami samochodowymi (opis pasm w tekście)

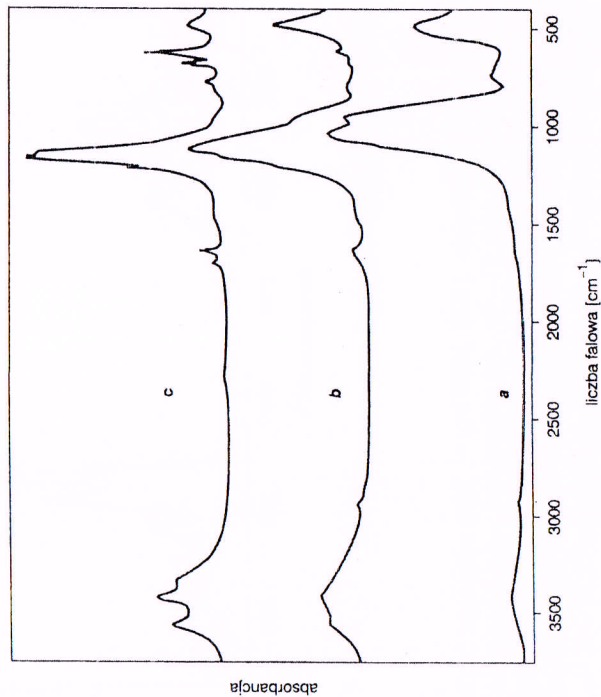
wybranych rozpuszczalników oraz typowych zanieczyszczeń powietrza są zebrane w tabeli 6.4 [21]. W widmie powietrza niezanieczyszczonego (rys. 6.8a) widoczne są pasma charakterystyczne dla pary wodnej w zakresie 1400–1700 cm^{-1} oraz dla dwutlenku węgla 2389 cm^{-1} i 670 cm^{-1} . W widmie powietrza zanieczyszczonego spalinami samochodowymi oprócz pasm pary wodnej i dwutlenku węgla można zauważyć pasma świadczące o obecności węglowodorów (w zakresie 2800–3000 cm^{-1}), acetyleni ($\text{CH}\equiv\text{CH}$ przy 730 cm^{-1}), etyleni ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$ przy 950 cm^{-1}) oraz tlenku węgla (przy 2146 cm^{-1}) [22].

Tabela 6.4. Częstości pasm absorpcyjnych wybranych rozpuszczalników oraz związków zanieczyszczających powietrze

Nazwa związku	Wzór	Położenie pasm [cm ⁻¹]
Aceton	CH ₃ COCH ₃	1218
Acetylen	C ₂ H ₂	730
Amoniak	NH ₃	932, 967
Benzen	C ₆ H ₆	674
Cyjanowodór	HCN	3290, 3270
Chlorowodór	HCl	2924, 2926
Dwutlenek azotu	NO ₂	2929, 1620
Dwutlenek węgla	CO ₂	2389, 670
Dwutlenek siarki	SO ₂	1361
Etan	CH ₃ CH ₃	3050–2880
Etylen	C ₂ H ₄	950
Etylobenzen	C ₆ H ₅ C ₂ H ₅	698
Metan	CH ₄	3020, 1305
Metanol	CH ₃ OH	1033
Octan etylu	CH ₃ COOC ₂ H ₅	1248, 1760
Ozon	O ₃	1054
Para wodna	H ₂ O	1400–1700, 3400–3800
Podtlenek azotu	N ₂ O	2200, 1280
Propan	CH ₃ CH ₂ CH ₃	2968
Propylen	CH ₃ CHCH ₂	913
Tlenek azotu	NO	1900
Tlenek węgla	CO	2146
Toluen	C ₆ H ₅ CH ₃	729, 694
<i>o</i> -Ksylen	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	741
<i>m</i> -Ksylen	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	768
<i>p</i> -Ksylen	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	795

Innym przykładem zastosowania podczerwieni do analizowania produktów powstałych w wyniku degradacji środowiska mogą być widma skorodowanych czternastowiecznych witraży jednego z kościołów w Krakowie (rys. 6.9). Technika transmisyjną badano poszczególne warstwy korozyjne powstałe na szkle, zarówno od strony ulicy, jak i wnętrza kościoła, oraz warstwę nieskorodowaną z wnętrza wi-

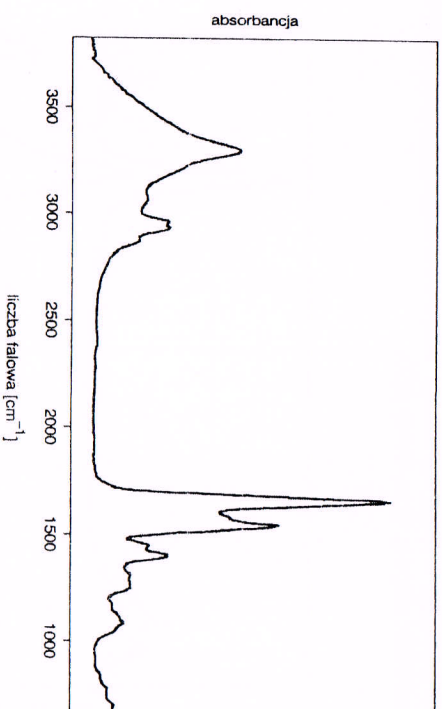
traża. Na widmie warstwy nieskorodowanej (rys. 6.9a) widoczne są tylko pasma charakterystyczne dla drgań grup Si—O—Si (ok. 900–1100 cm⁻¹ i 460 cm⁻¹) krzemianu wapniowo-potasowego zastosowanego do wyrobu szkła witrażowego. Widmo warstwy korozyjnej utworzonej od strony kościoła zawiera ponadto pasma świadczące o obecności dwuwodnego siarczanu wapnia, charakterystyczne dla drgań rozciągających ok. 1150 cm⁻¹ i zginających 560 cm⁻¹ jonu SO₄²⁻, oraz dla drgań OH w zakresie 3200–3600 cm⁻¹ i 1600 cm⁻¹ (rys. 6.9b). W widmie warstwy korozyjnej powstałej od strony ulicy widoczne są głównie pasma dwuwodnego siarczanu wapnia (rys. 6.9c) [23].



Rys. 6.9. Widma FTIR witraża z XIV w: a — warstwy nieskorodowanej, b — warstwy częściowo skorodowanej powstałej od strony wnętrza kościoła, c — warstwy skorodowanej powstałej od strony zewnętrznej kościoła (opis pasm w tekście)

Standardowo w laboratoriach oznacza się zanieczyszczenia zarówno wód, jak i gleb węglowodorami alifatycznymi i aromatycznymi [24, 25]. Ich zawartość w ppm oblicza się na podstawie intensywności pasm charakterystycznych dla drgań grup CH₂, CH₃ i CH w zakresie od 2800 cm⁻¹ do 3100 cm⁻¹.

Spektroskopia w podczerwieni i spektroskopia ramanowska są z powodzeniem stosowane do badania materiałów biologicznych. Bada się tkanki i komórki, które w swoim składzie zawierają białka, lipidy, kwasy nukleinowe czy cukry [12, 18]. Widma białek zawierają charakterystyczne pasma nazywane **pasмами amidowymi** związane z drganiami wiązania peptydowego —CONH— . Przykładowe widmo FTIR albuminy pokazano na rys. 6.10. Widoczne na tym ry-

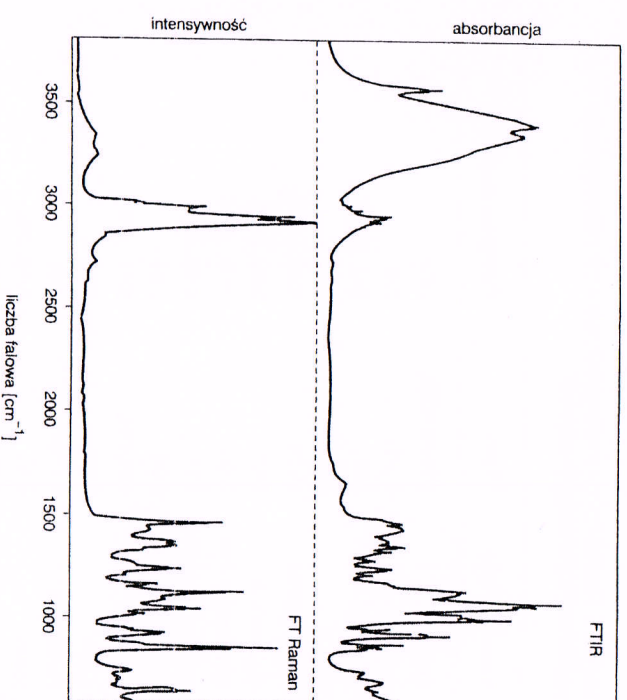


Rys. 6.10. Widmo FTIR albuminy (opis pasm w tekście)

sunku pasmo amidu I w zakresie $1600\text{--}1690\text{ cm}^{-1}$ jest związane z drganiami rozciągającymi grupy C=O oraz C—N oraz drganiami zginającymi N—H , natomiast pasmo amidu II ok. $1480\text{--}1580\text{ cm}^{-1}$ jest związane przede wszystkim z drganiami rozciągającymi C—N i zginającymi N—H [12, 18]. Można również zauważyć pasma charakterystyczne dla drgań rozciągających C—H w zakresie $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ oraz zginających $1300\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$, jak i dla O—H rozciągających ok. 3300 cm^{-1} .

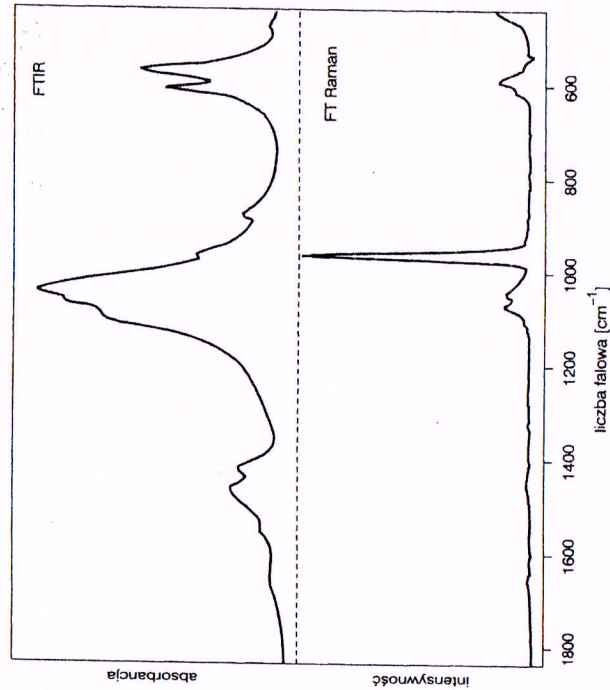
Przykładem badań widm cukrów może być fosfomannoza, która jest odpowiedzialna za oddziaływanie glikoprotein z receptorami podczas ich wewnątrzkomórkowego transportu [18]. Widma FTIR i FT Ramana sacharozy ilustruje rysunek 6.11. Widma są złożone, a przypisanie pasm poszczególnym drganiom skomplikowane. Szczegółowa interpretacja poszczególnych pasm widna dla cukrów została przedstawiona między innymi w pracach Twardowskiego [12, 18].

Spektroskopia Ramana i w podczerwieni stosuje się do analizy zmian miążdżycowych zachodzących w naczyniach krwionośnych. Obserwowane w widmach



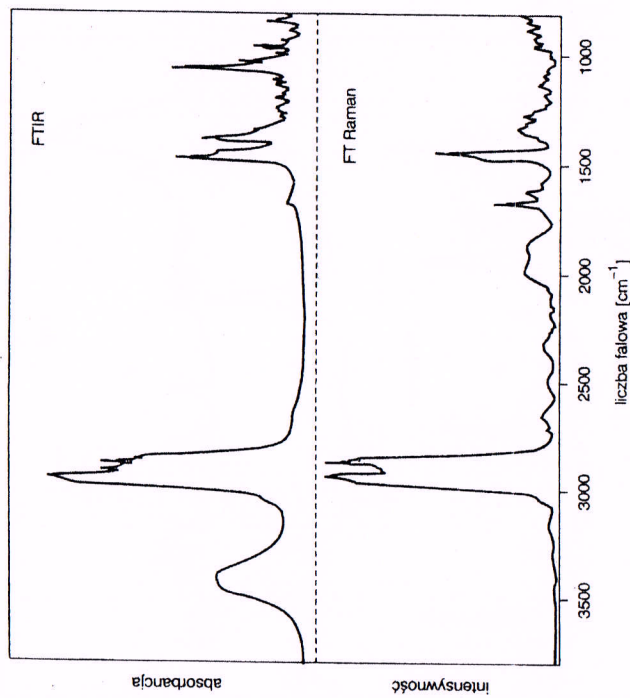
Rys. 6.11. Widma FT Ramana i FTIR sacharozy

zmiany mogą być wykorzystywane w celach diagnostycznych oraz profilaktycznych. Bada się soczewki ludzkie i zwierzęce, których widma są podobne do widm białek, pod kątem zmian chorobowych na skutek katarakty [3, 12, 18]. Badania zmian konformacji peptydów metodą FTIR mogą służyć w monitorowaniu choroby Alzheimera [26]. Sugeruje się, że na podstawie obecności pasm CO_2 w widmie płynów stawowych można diagnozować stan reumatoidalny [27]. Innym przykładem zastosowań mogą być widma biominerałów naturalnych, takich jak zęby lub kości. Można też analizować złoży mineralne powstałe w organizmie człowieka w wyniku zmian chorobowych, jak kamienie żółciowe oraz kamienie nerkowe [28, 29]. Rysunek 6.12 ilustruje widma zarówno FT Ramana, jak i FTIR zewnętrznej warstwy zęba — szkliwa. Głównym składnikiem zębów jest fosforan wapnia w formie apatytu. Pasma pochodzące od drgań rozciągających anionu fosforanowego ν_3 widoczne są przy ok. 1040 cm^{-1} , natomiast od drgań zginających ν_4 przy 560 i 600 cm^{-1} w widmach FTIR [30]. W przypadku widma FT Ramana dominuje pasmo ν_1 przy 960 cm^{-1} . Ponadto widoczne są także pasma w widmie IR ok. 1400 cm^{-1} i w widmie ramanowskim 1085 cm^{-1} pochodzące od drgań rozciągających anionu węglanowego CO_3^{2-} .



Rys. 6.12. Widma FT Ramana i FTIR szklivi zęba (opis pasm w tekście)

Widma w podczerwieni i Ramana pozwalają również na określenie składu mineralów powstałych w różnych częściach organizmu człowieka. Znajomość ta jest konieczna do prawidłowego zdiagnozowania przyczyn powodujących ich odkładanie, jak i do przeciwdziałania ich nawrotom. Kamienie powstałe w drogach żółciowych dzieli się na cholesterolowe i pigmentowe. Zawierają one cholesterol i sole bilirubiny wraz z domieszkami, np. palmitynianu wapnia, węglanu wapnia lub/i fosforanu wapnia. W zależności od dominującego składnika można podawać cholesteronu związki częściowo rozpuszczające powstałe złoże. Rysunek 6.13 przedstawia widma kamienia żółciowego składającego się głównie z cholesterolu ($C_{27}H_{45}OH$). Zarówno w widmie FTIR, jak i FT Ramana widoczne są intensywne pasma pochodzące od drgań rozciągających C—H w zakresie 2800–3000 cm^{-1} , i od drgań zginających C—H w zakresie 1430–1470 cm^{-1} . Tylko w widmie FT Ramana można wyróżnić pasmo 1670 cm^{-1} pochodzące od drgań rozciągających C=C, natomiast w widmie FTIR pasmo ok. 1080 cm^{-1} , które przypisuje się drganiom pierścienia występującego w cząsteczce cholesterolu, oraz pasmo ok. 3420 cm^{-1} związane z drganiami rozciągającymi O—H [29]. Podobnie analiza metodą spektroskopii kamieni powstałych w drogach moczowych pozwala na określenie etiologii powstawania złoży, a tym samym na podjęcie leczenia zapobiegającego powstawaniu

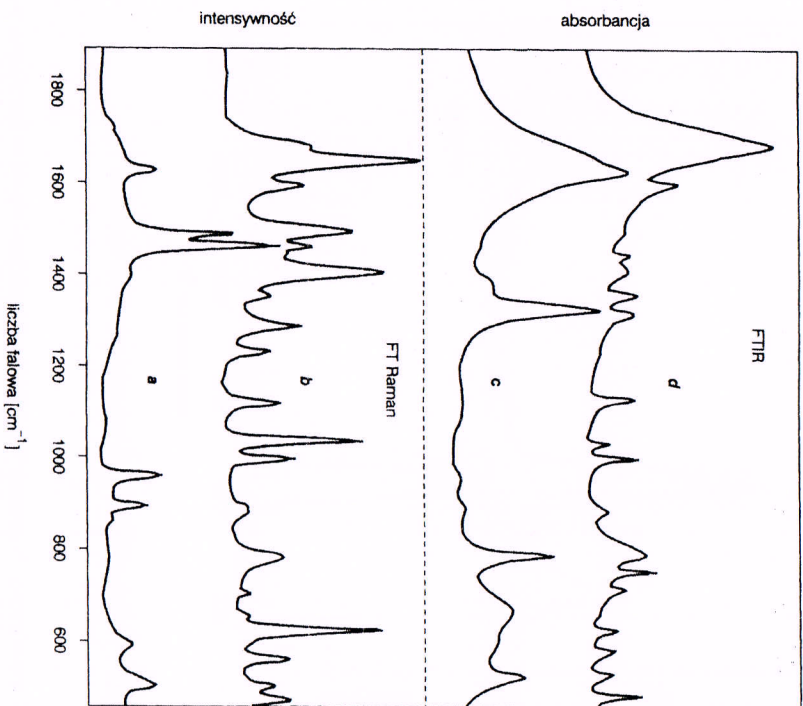


Rys. 6.13. Widma FT Ramana i FTIR kamienia żółciowego (opis pasm w tekście)

kamicy i jej nawrotom. Rysunek 6.14 ilustruje widma warstw kamienia nerkowego świadczących o różnym przebiegu choroby. Warstwa wewnętrzna kamienia była utworzona z jednowodnego szczawianu wapnia ($CaC_2O_4 \cdot H_2O$). Świadczą o tym pasma na widmie FTIR przy 1317 cm^{-1} i 1630 cm^{-1} oraz na widmie FT Ramana w zakresie 1400–1500 cm^{-1} , pochodzące od drgań rozciągających anionu szczawianowego (COO) $^{-}$ (rys. 6.14a, 6.14c). Warstwa zewnętrzna składała się tylko z kwasu moczowego ($C_5H_4N_4O_3$), co potwierdza obecność pasm charakterystycznych dla drgań C—O, C—N, N—H w zakresie od 800 do 1700 cm^{-1} (rys. 6.14b, 6.14d) [28].

Obie spektroskopie stosuje się także do oceny jakości implantów stomatologicznych, chirurgicznych, okulistycznych, zarówno ich struktury, jak i zachowania w środowisku biologicznym, między innymi oddziaływań powstałych pomiędzy badanym materiałem a zaadsorbowanymi na jego powierzchni białkami [30, 31].

Przytoczone powyżej przykłady są tylko niewielkim wycinkiem możliwości zastosowań spektroskopii Ramana i FTIR do badania składu i struktury związków w problemach biomedycznych i ochrony środowiska.



Rys. 6.14. Widma FT Ramana i FTIR kamienia nerkowego: warstwa wewnętrzna (a i c), warstwa zewnętrzna (b i d) (opis pasm w tekście)

Literatura

1. J. Konarski, *Teoretyczne podstawy spektroskopii molekularnej*, PWN, Warszawa 1991.
2. Z. Kecki, *Podstawy spektroskopii molekularnej*, PWN, III wyd., Warszawa 1992.
3. H. Barańska, A. Łabudzinska, J. Terpiński, *Laserowa spektroskopia ramanowska — zastosowania analityczne*, PWN, Warszawa 1981.
4. J. Kubisz, W. Żabiński w: *Metody badań minerałów i skał* (red. A. Bolewski, W. Żabiński), Wyd. Geologiczne, II wyd., Warszawa 1988, s. 489.
5. A. Muck, *Symetria kryształu a widma oscylacyjne*, WNT, Warszawa 1992.

6. A. Fadini, F.M. Schnepel, *Vibrational Spectroscopy, Methods and Applications*, J. Wiley, N. York 1989.
7. M.W. Urban, *Vibrational Spectroscopy of Molecules and Macromolecules on Surfaces*, J. Wiley, N. York, 1993.
8. A. Cygański, *Metody spektroskopowe w chemii analitycznej*, WNT, Warszawa 1993, s. 13.
9. R. Mazurkiewicz, E. Salwińska w: *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych* (red. W. Zieliński, A. Rajca), WNT, Warszawa 1995, s. 297.
10. I. Sobczyk, *Metody spektroskopii oscylacyjnej*, PWN, Warszawa 1979.
11. G.M. Barrow, *Introduction to Molecular Spectroscopy*, McGraw-Hill, N. York 1962.
12. L.M. Proniewicz w: *Biospektroskopia* (red. J. Twardowski), tom IV, PWN, Warszawa 1990, s. 237.
13. M.W. Urban, C.D. Graver, *Structure — Property Relations in Polymers*, Am. Chem. Soc., Washington, DC 1993.
14. G.L. Clark, *Encyclopedia of Spectroscopy*, Reinhold Publ. Corp., N. York 1960, s. 385.
15. N.L. Alpert, W.E. Keiser, H.A. Szymanski, *Spektroskopia w podczerwieni*, PWN, Warszawa 1974.
16. G.W. Ewing, *Instrumental Method of Chemical Analysis*, McGraw-Hill Inc., N. York 1985, s. 78.
17. J.A. Blackburn, *Spectral Analysis; Method and Techniques*, M. Dekker Inc., N. York 1970.
18. J. Twardowski, P. Anzenbacher, *Raman and IR Spectroscopy in Biology and Biochemistry*, PWN, Warszawa 1994.
19. P.L. Hanst, *Presenius A. Anal. Chem.*, **324** (1986) 576.
20. R.N. Reeve, *Environmental Analysis*, J. Wiley, N. York 1994.
21. C. Paluszkiwicz, E. Szczepaniec-Cięciak, w: *Ćwiczenia z chemii środowiska* (red. E. Szczepaniec-Cięciak, P. Kościelnik), Wyd. UJ, Kraków 1995, s. 103.
22. C. Paluszkiwicz, M. Handke, J. Mąka, *Mitrochimica Acta*, **14** (1997) 565.
23. E. Greiner-Wronowa, C. Paluszkiwicz, L. Stoch, *Annales du 13e Congress Association Internationale pour l'Histoire du Verre* (1996) 373.
24. J. Nawrocki, I. Obst, *Metody analizy zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego i organicznych zanieczyszczeń wody pitnej*, WN UAM, Poznań 1992.
25. Niemiecka Norma „Summarische Wirkungs und Stoffkenngrößen”, DIN 38409 Teil 18, 1981.
26. H. Fabian, L. Choo, G. I. Szebdei, M. Jackson, W. C. Halliday, L. Ötvös, Jr., H. H. Mantisch, *Applied Spectroscopy*, **47** (1993) 1513.
27. H.H. Eysel, M. Jackson, H.H. Mantisch, G.T.D. Thomson, *Applied Spectroscopy*, **47** (1993) 1519.
28. C. Paluszkiwicz, M. Galka, W. Kwiatek, A. Parczewski, S. Walsas, *Biospectroscopy*, **3** (1997) 403.
29. E. Wentrup-Byrne, L. Tintoul, J.L. Smith, P.M. Fredericks, *Applied Spectroscopy*, **49** (1995) 1028.
30. A. Ślósarczyk, C. Paluszkiwicz, M. Gawlicki, Z. Paszkiewicz, *Ceramic International*, **23** (1997) 297.
31. M. Błażewicz, E. Pannula, C. Paluszkiwicz, *SPIE*, 2089 (1993) 360.