

Infračervená a Ramanova spektrometrie

Infračervené záření

- Záření v oblasti vlnočtů $12500 - 10 \text{ cm}^{-1}$ které se dále dělí na 3 podskupiny:
 - **blízká IČ oblast:** $12500 - 5000 \text{ cm}^{-1}$ (Near Infrared, NIR)
 - **střední IČ oblast:** $5000 - 500 \text{ cm}^{-1}$ (Mid Infrared, MIR)
 - **vzdálená IČ oblast:** $500 - 10 \text{ cm}^{-1}$ (Far Infrared, FIR)
- Menší množství energie než UV-VIS záření, proto nestačí na vybuzení elektronů do vyšších energetických stavů
- Vyšší množství energie než mikrovlnné záření, které postačí pouze pro rotační přechody (oblast energií $1 - 10 \text{ mm}$)
- IČ spektrometrie měří **rotačně – vibrační přechody molekul**
- Podmínkou absorpce IČ záření je **nenulová změna dipól momentu při přechodu do vyššího vibračního stavu**
- (Porovnej: podmínka pro Ramanovu spektrometrii je nenulová změna polarizovatelnosti pro daný přechod)
- Pokud podmínka není splněna, pak daný přechod není v IČ aktivní
- Obecně k výskytu vibrace v IČ stačí, aby se **hmotnosti sousedních atomů lišily alespoň o 100% nebo silové konstanty vazby alespoň o 25%**
- Silové konstanty jednoduché, dvojně a trojně vazby jsou přibližně v poměru $1 : 2 : 3$, takže dvojná i trojná vazba se ve spektru projeví charakteristickou vibrací

Energetické oblasti v IČ oblasti

Oblast	Vlnová délka [μm]	Energie [meV]	Vlnočet [cm ⁻¹]	Typ excitace
Vzdálená IČ	1000 - 50	1.2 - 25	10 - 200	Vibrace mřížky
Střední IČ	50 - 2.5	25 - 496	200 - 4000	Molekulární vibrace
Blízká IČ	2.5 - 1	496 - 1240	4000 - 10000	Vyšší harmonické (overtony)

- Podle zdroje informací se definice jednotlivých oblastí mohou mírně lišit, viz porovnání této tabulky a definice na předchozí straně

Model lineárního oscilátoru pro popis vibrace

- Pro popis vibrace dvouatomové molekuly lze použít zjednodušený popis pomocí **modelu lineárního oscilátoru**, tedy dvou hmotných bodů spojených pružinou
- Čím větší silou na jeden bod budeme působit, tím větší síla bude působit b opačném směru, aby se kulička dostala zpět do rovnovážné polohy:

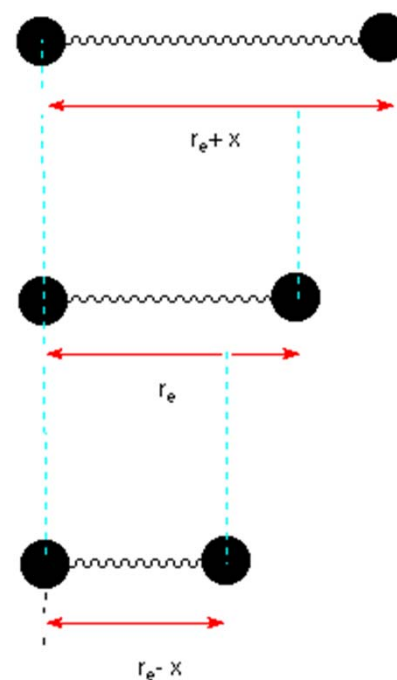
$$F = -k \cdot x,$$

kde k je silová konstanta a x vzdálenost oproti rovnovážné poloze

- Pro lineární harmonický oscilátor platí:

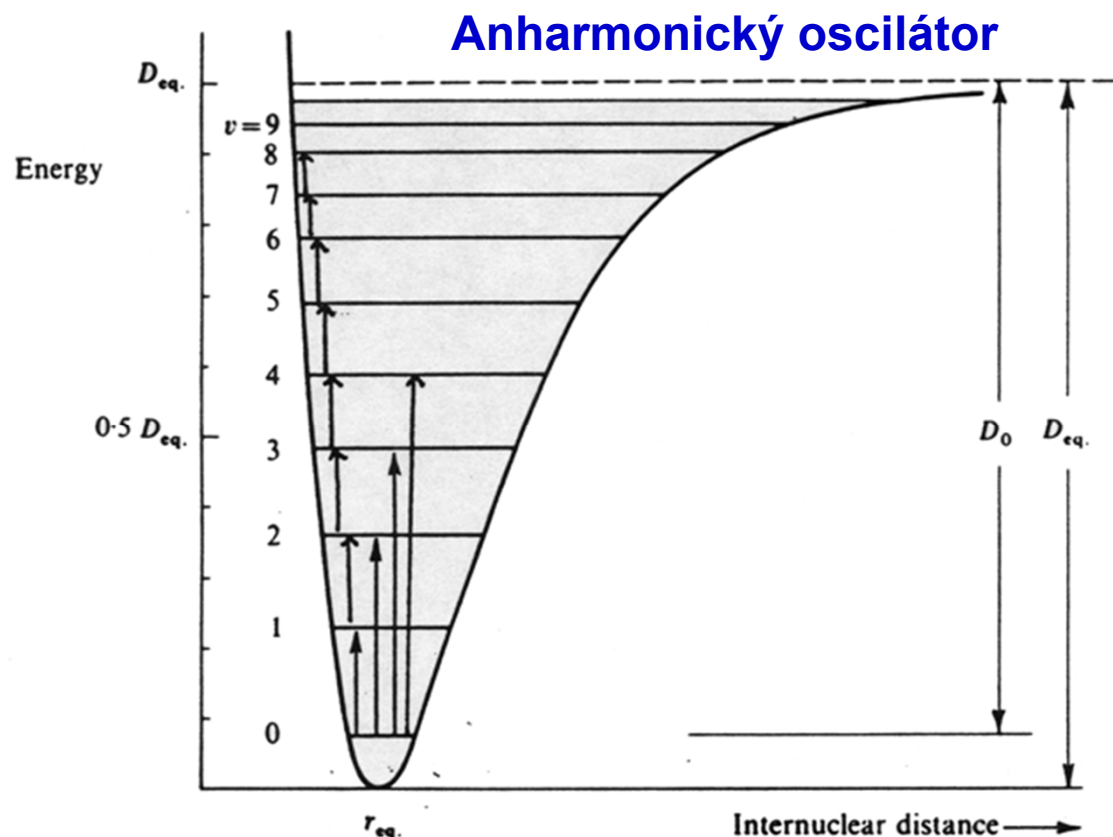
$$x = x_0 \cdot \cos(2\pi \cdot \nu \cdot t + \phi),$$

kde ν je frekvence pohybu, t je čas, ϕ je fázový posun určený výchylkou hmotného bodu v čase t_0

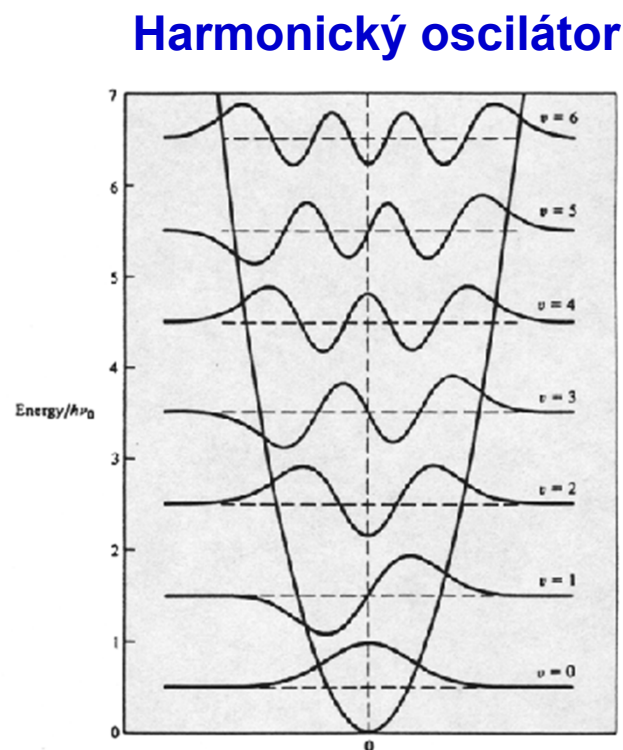


Energie anharmonického oscilátoru

- $E = h \cdot \nu \cdot (v + 1/2)$,
kde v ke vibrační číslo



- Za normálních podmínek je velká většina molekul ve vibračním stavu $v=0$, nejpravděpodobnějším přechodem je 0-1, vyšší harmonické vyžadují větší množství energie



- Hodnota vibračního čísla v odpovídá počtu, kolikrát vlnová funkce změní znaménko (protne osu x)

Popis rotace dvouatomové molekuly

- **Model tuhého rotoru**, kde hmotnosti atomů m_1 a m_2 jsou soustředěny ve dvou hmotných bodech, jejich vzdálenost o společného těžiště je r_1 a r_2 a vzdálenost r je konstantní; moment setrvačnosti vzhledem k ose y takové molekuly bude:

$$I = I_x = I_z = m_1 \cdot r_1^2 + m_2 \cdot r_2^2$$

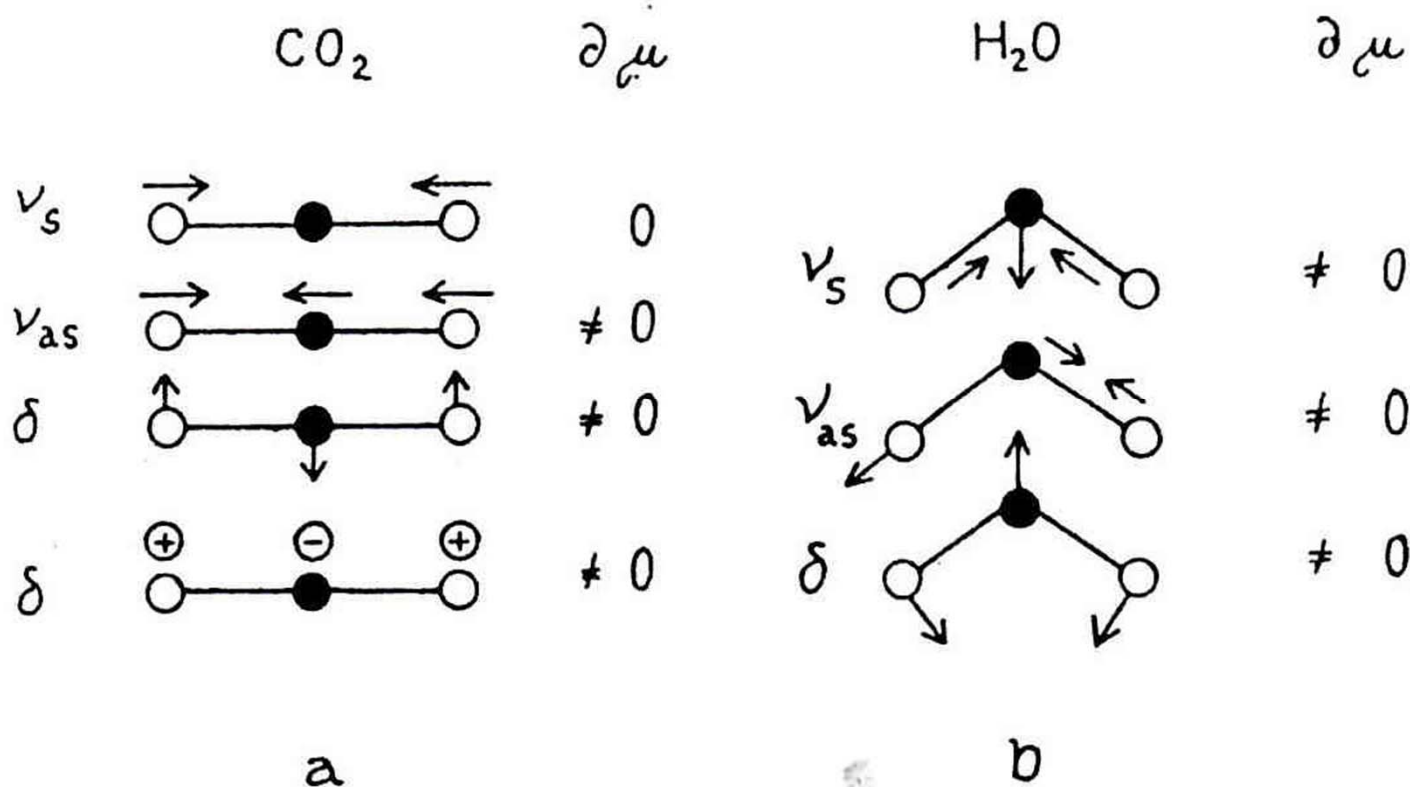
- Při normální teplotě se molekuly nachází v základní vibračním stavu $v = 0$, ale na celé řadě různých rotačních stavů s různými rotačními kvantovými čísly
- Počet možných kvantově povolených a ve spektru pozorovaných přechodů je podstatně vyšší pro rotační přechody než vibrační, kde silně převládá přechod z $v = 0$ na $v = 1$, ostatní výrazně méně pravděpodobně a málo intenzivní
- IČ spektrum ve střední oblasti je rotačně-vibrační (kombinace přechodů)

Vibrační přechody

- **Základní (fundamentální)** – změna vibračního čísla o jednotku ($\Delta v = 1$)
 - vysoká pravděpodobnost, vysoká intenzita
 - přechod vyžaduje nižší energii, a tedy nižší vlnočet
- **Vyšší harmonické (overtony)** – změna vibračního čísla o více než jednotku ($\Delta v > 1$)
 - menší pravděpodobnost, menší intenzita
 - přechod vyžaduje vyšší energii, a tedy vyšší vlnočet
- **Kombinační** – současná změna 2 vibračních čísel u polyatomové molekuly

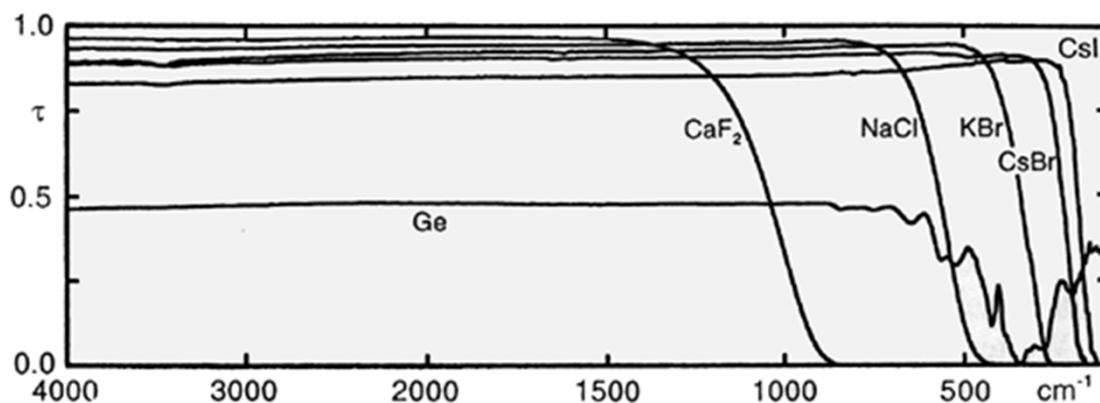
Základní typy vibrací

- Vysvětlení na příkladu jednoduchých tříatomových molekul CO_2 a H_2O
- **Valenční vibrace (stretching)** – mění se délka vazby, nemění se vazebný úhel
 - symetrické vs. asymetrické
- **Deformační vibrace (bending)** – mění se vazebný úhel, nemění se délka vazby
 - rovinné (in plane) vs. mimorovinné (out of plane)



Instrumentace v IČ spektrometrii

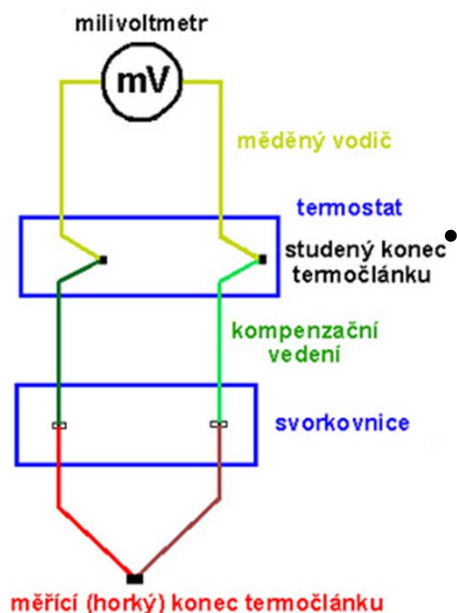
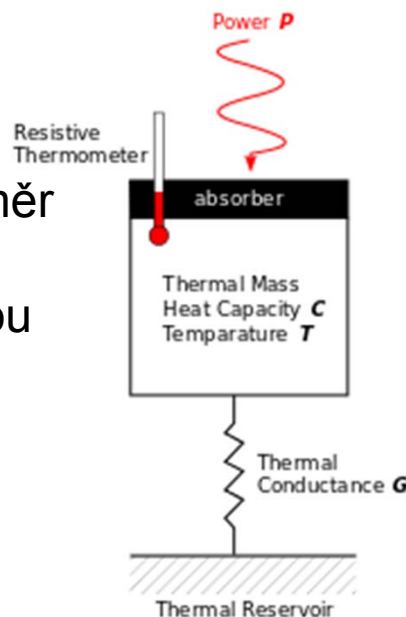
- **Zdroj záření** – keramické tyčinky vyhřívané na vysokou teplotu (ca. 1500°C), např. z karbidu křemíku (Globar) nebo směsi oxidů vzácných zemin – Nernstova tyčinka (zirkon, yttrium a erbium), lasery CO_2 nebo PbS
 - **pro oblast blízkou IČ** – W nebo W-halogenová žárovka
 - **pro oblast vzdálené IČ** – vysokotlaká Hg výbojka
- **Optický materiál** – musí být propustný pro IČ záření, např. halogenidy alkalických kovů jako NaCl, KBr, CsI



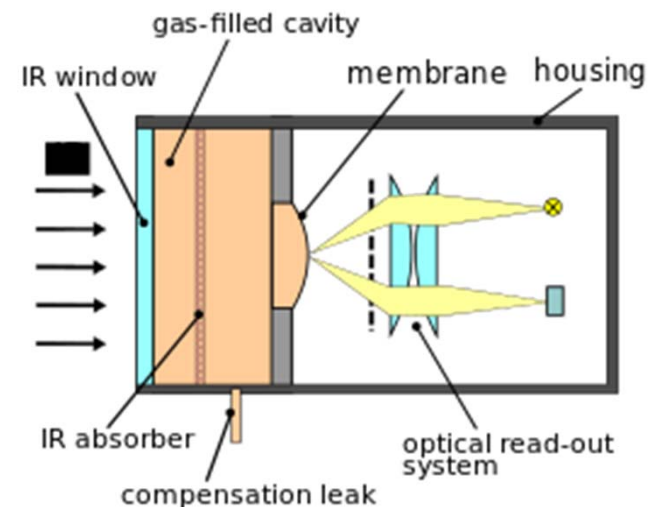
- **Použitelnost materiálů:** LiF do 1800 cm^{-1} , CaF_2 do 1100 cm^{-1} , NaCl do 650 cm^{-1} , KBr do 380 cm^{-1} , CsBr do 250 cm^{-1} , CsI do 200 cm^{-1}
- Čím větší propustnost má daný materiál (k nižším vlnočtům), tím horší rozlišovací schopnost má hranol z něj vyrobený
- Starší přístroje měly hranol z NaCl, pro vyšší rozlišení kombinace hranolů, např. KBr – NaCl – LiF

Instrumentace v IČ spektrometrii

- **Detektory IČ záření** – většinou na bázi využití tepelných účinků dopadajícího IČ záření
- **Bolometr** – odporový teploměr založený na měření změny elektrického odporu s teplotou



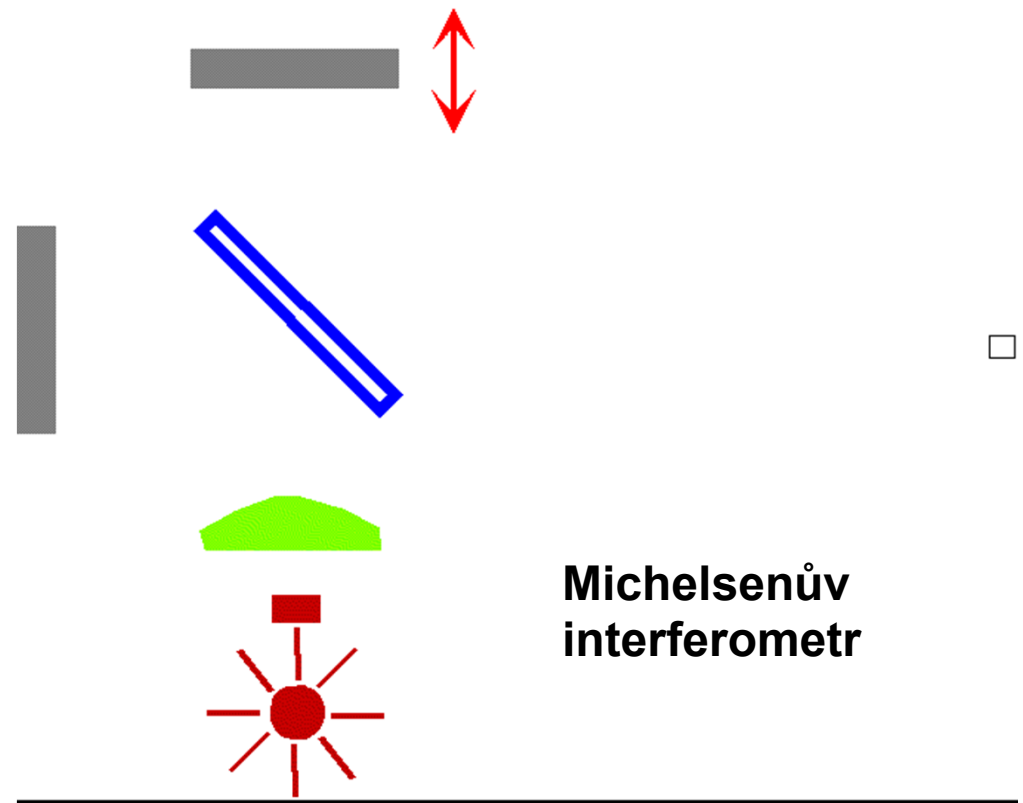
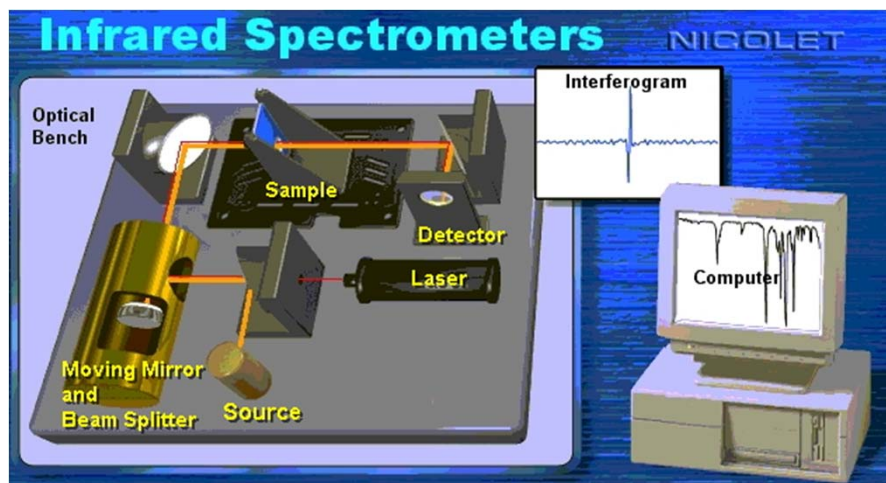
Termočlánek – v elektrickém obvodu vzniká napětí, jestliže 2 různé vodiče jsou spojeny na 2 místech o různé teplotě; 1 vodič bude udržován při konst. T , na druhý dopadá detegované IČ záření



- **Golayův detektor** – pneumatický zásobník plynu s membránou, která je vyrobená z materiálu absorbujícího IČ záření

IČ spektrometr s Fourierovou transformací (FTIR)

- Založen na použití **Michelsenova interferometru**
- Nemají monochromátor, většinou jednopaprskové uspořádání
- IČ paprsek se na polopropustném zrcadle rozdělí na 2 svazky
- Svazky paprsků buď mohou být **ve fázi** (výsledná vlna se zesílí) nebo **mimo fázi** (výsledná vlna se zeslabí nebo při stejné hodnotě se vyruší, např. pro monochromatické záření)
- Závislost signálu detektoru na čase se nazývá **interferogram**, jeho FT získáme IČ spektrum
- **Výhody FTIR:**
 - současný záznam celého spektra
 - vyšší citlivost a stabilita
 - vyšší rozlišovací schopnost
 - lze použít pro všechny oblasti IČ



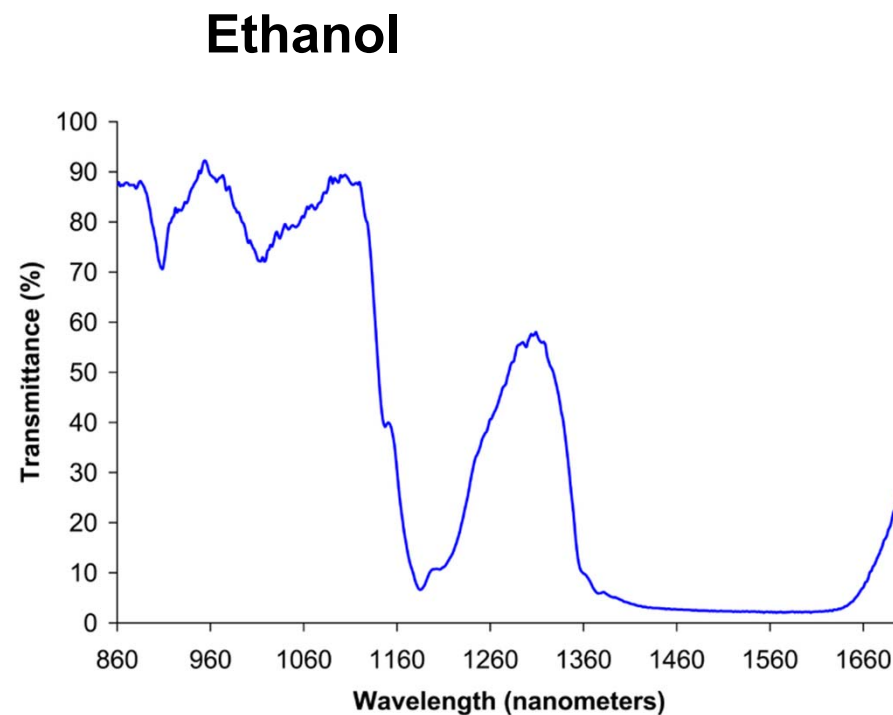
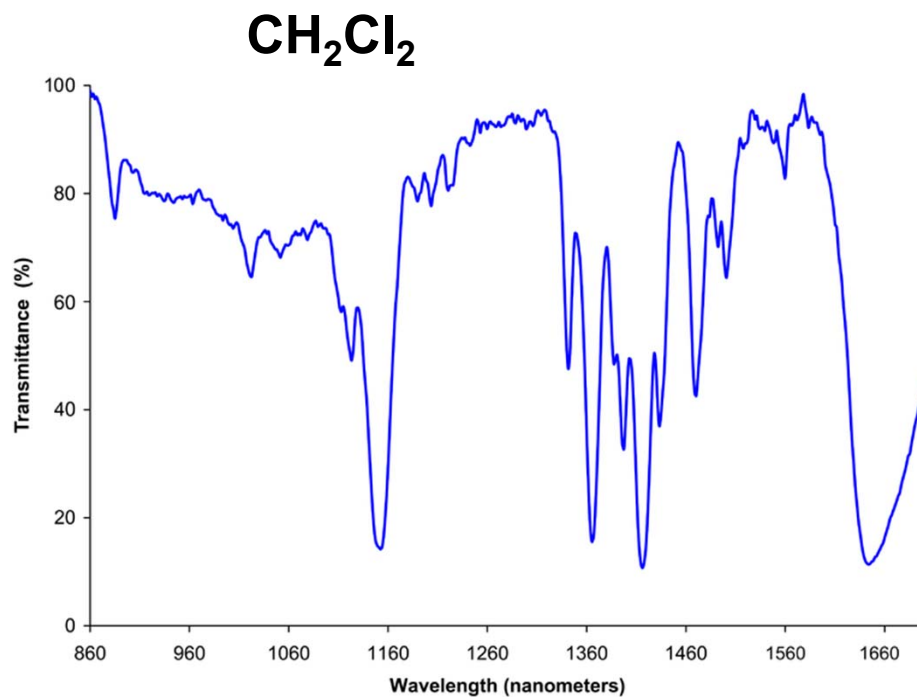
Techniky snímání IČ spekter

- **Měření v plynné fázi** – obvykle delší kyvety, 10 cm a více
- **Měření v kapalné fázi** – nejčastěji se měří vzorky kapalin či pevných látek rozpuštěné ve vhodném roztoku, který nenarušuje materiál kyvet vyrobených obvykle z NaCl či KBr
 - jako obvyklé rozpouštědla se používá CCl_4 , CHCl_3 , CS_2 či jiné rozpouštědlo, ve kterém je analyzovaná látka dobře rozpustná, nenarušuje materiál kyvet a také neposkytuje nežádoucí signál v měřené oblasti IČ spekter
 - v žádném případě nepoužívat vodu či vodné roztoky, došlo by ke zničení kyvety!
- **Měření v pevné fázi** – buď měření lisovaných tablet nebo suspenzí
 - **lisování tablet** - provádí se s jemným práškem velmi čistého a vysušeného KBr, který se v nadbytku smísí s pevným vzorkem a vylisují se tablety, které se následně měří s použitím speciálního držáku
 - **suspenzní technika** - vzorek se smísí s nujolem (tj. parafinový olej) a měří se vzniklá suspenze umístěná mezi 2 destičkami z NaCl; případné vibrace alifatické části molekuly nelze měřit, protože budou překryty signálem pro C-H vazby z parafinového oleje
 - techniky měření v pevné fázi nejsou kvantitativní
 - reflexní techniky – využití vícenásobného odrazu IČ záření od povrchu materiálu

IČ spektrometrie v blízké oblasti (NIR, Near Infrared)

- Oblasti vlnočtů asi $4000 - 12500 \text{ cm}^{-1}$, většinou pozorujeme **vyšší harmonické vibrace** pro vibrační přechody, jejichž základní vibrační frekvence byly v oblasti střední IČ
- Výrazně **nižší citlivost** oproti IČ ve střední oblasti, protože vibrační přechod o více než jednu energetickou hladinu je méně pravděpodobný a tudíž případný přechod bude mít výrazně nižší relativní intenzitu, proto se používají delší kyvety oproti klasické IČ (mm až cm)
- Nejvyšší intenzitu mají **valenční vibrace vazeb C-H, N-H, O-H**
- Převládající pásy pro jednotlivé oblasti: kombinační přechody (ca. $4000 - 5300 \text{ cm}^{-1}$), 1. overtóny ($4600 - 7300 \text{ cm}^{-1}$), 2. overtóny (ca. $6000 - 10000 \text{ cm}^{-1}$), 3. overtóny (ca. $8800 - 14500 \text{ cm}^{-1}$)
- Jako materiál pro kyvety a optické prvky lze použít **křemen**, protože je v NIR zcela propustný, a následně lze použít i **vodu** jako rozpouštědla
- Absorpční pásy v NIR jsou výrazně širší oproti střední IČ, jsou hůře spektrálně rozlišené, časté využití chemometrických metod

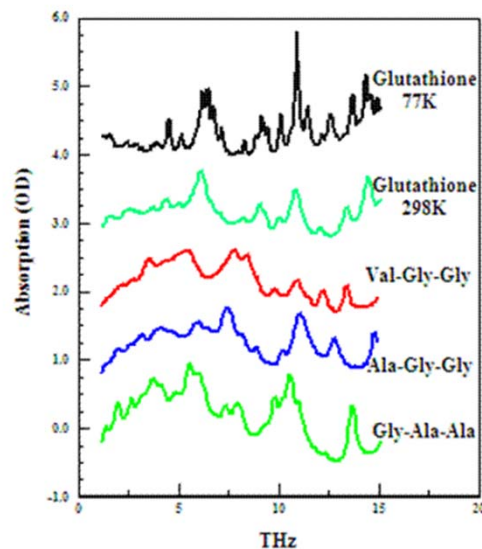
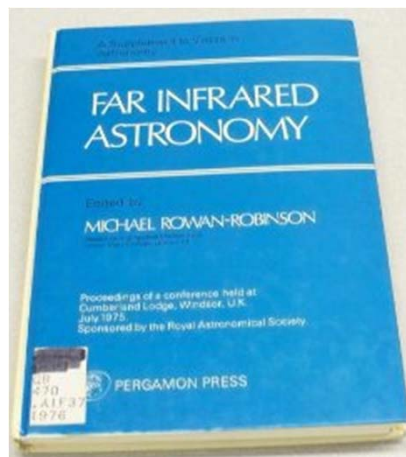
IČ spektrometrie v blízké oblasti – příklady spekter



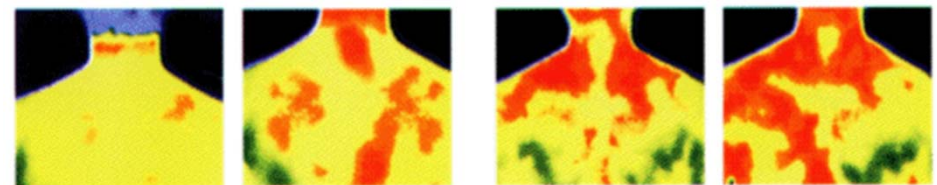
- **Aplikace** – kvantitativní analýza ve farmacii, potravinářském průmyslu, ropném průmyslu, životním prostředí (např. stanovení obsahu tuků, bílkovin, etanolu, sacharidů, apod.)
- **Techniky měření** - po průchodu záření vzorkem (transmisní měření) nebo po odrazu záření (reflexní techniky)

IČ spektrometrie ve vzálené oblasti (Far Infrared)

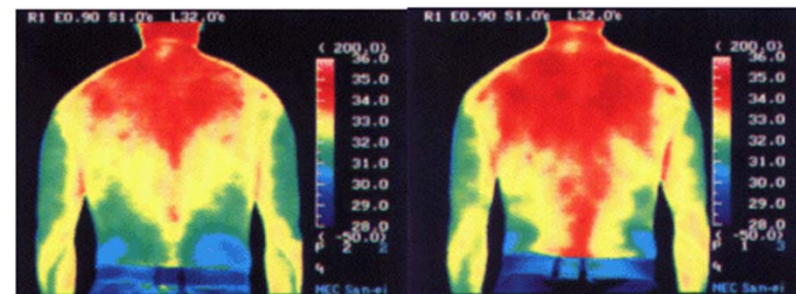
- **Oblasti vlnočtů asi $500 - 10 \text{ cm}^{-1}$** , absorpční pásy vibrací molekul s těžkými atomy nebo malou silovou konstantou
- **V oblasti $500 - 100 \text{ cm}^{-1}$** – valenční a deformační vibrace anorganických a organokovových sloučenin
- **V oblasti pod 40 cm^{-1}** – rotační spektra malých polárních molekul v plynné fázi
- **Technické problémy při měření** – malá zářivost zdroje, malá citlivost detektoru, malé absorpční koeficienty
- **Aplikace** – astronomie, medicína (pozitivní vliv FIR na revma či jiné nemoci)



Far-infrared spectra for selected tripeptides in the solid state showing unique spectral differences arising from molecular and crystalline structures.



Změna teploty cirkulující krve po masáži

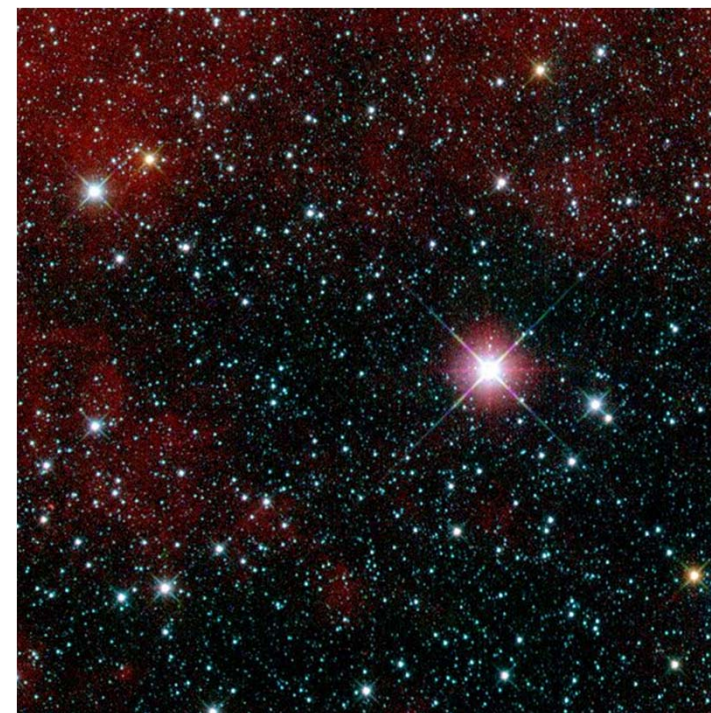
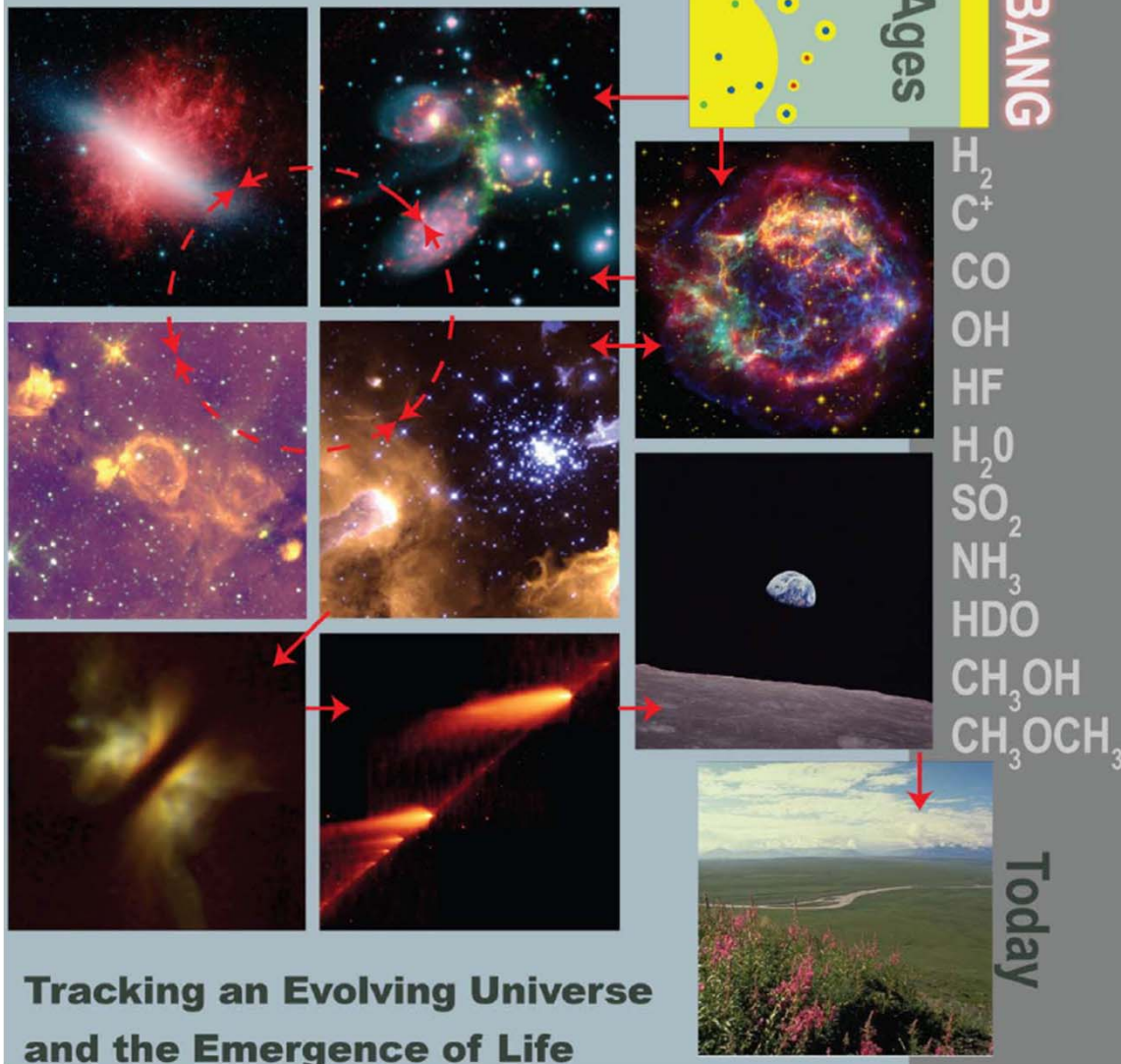


Before

After 35 minutes

Příklad aplikace FIR v astronomii

Far-Infrared /
Submillimeter
Astronomy from Space

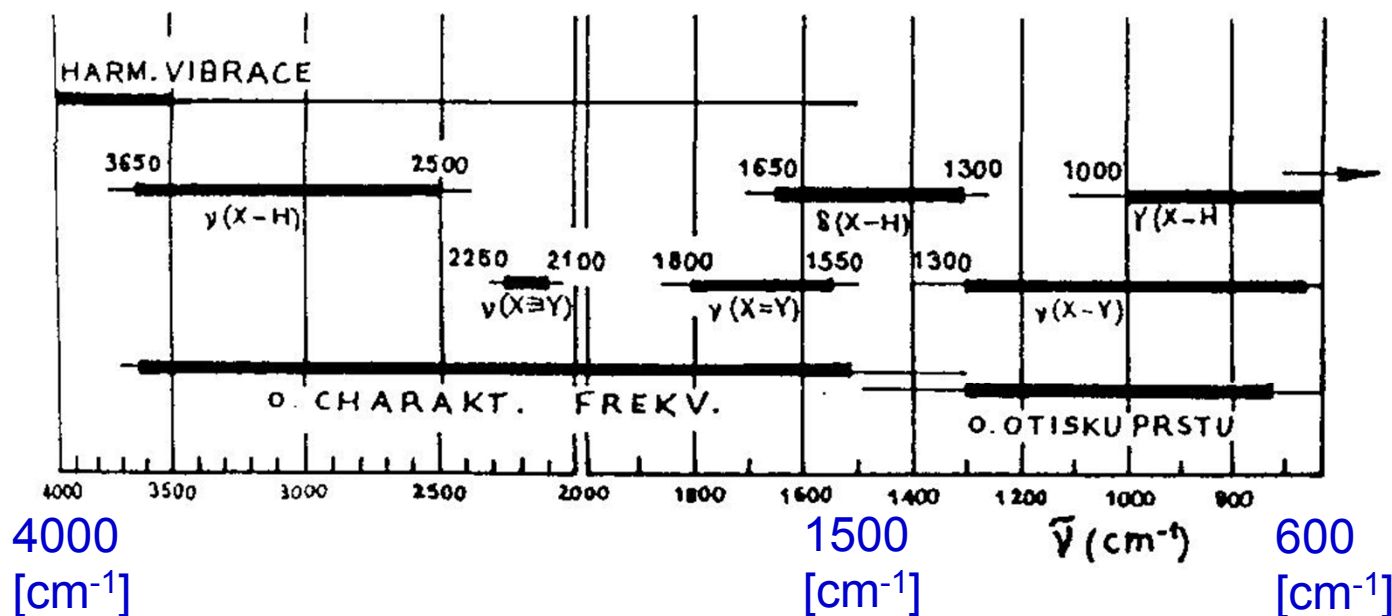


Zobrazení IR teleskopu
(modrá = 3.4 μm , zelená
4.6 μm , červená 12 μm)

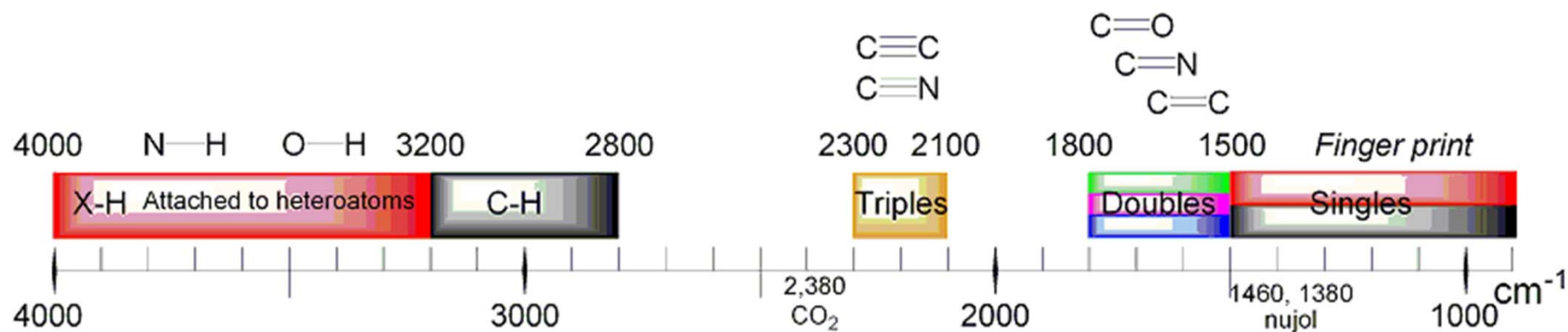
Základy interpretace IČ spekter

- Základní charakteristické vibrace lze použít pro rychlou identifikaci funkční skupiny (je vhodné je znát z paměti), dále je celá řada dalších vibrací umožňujících detailnější charakterizaci (ty lze najít v tabulkách, např. tabulka II.1, str. 257 – 263 ve skriptech vydaných 1999)
- Mezi charakteristické vibrace, které umožňují poměrně dobře přiřadit odpovídající funkční skupinu patří zejména následující:
 - alkoholy
 - karbonylové sloučeniny (všechny funkční skupiny obsahující karbonyl)
 - kyseliny,
 - aromatické sloučeniny,
 - primární a sekundární aminy,
 - nitrily

Rozdělení střední IČ oblasti podle typů vibrací

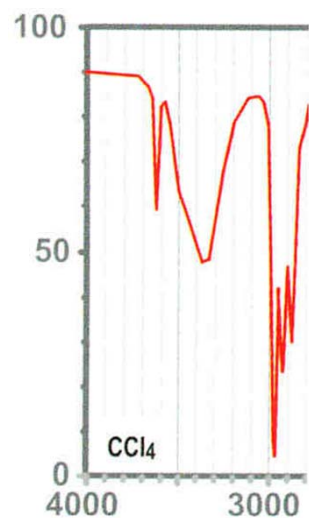


Obr 43: Rozdělení střední infračervené oblasti podle typů absorbujících vibrací

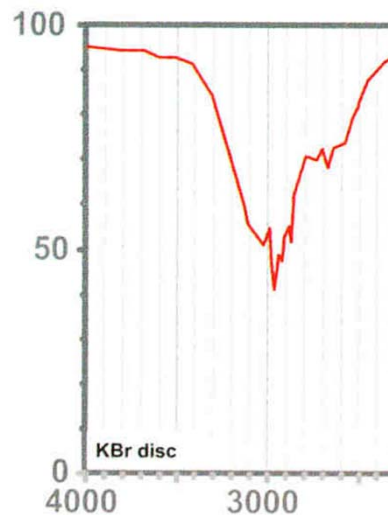


Základy interpretace IČ spekter

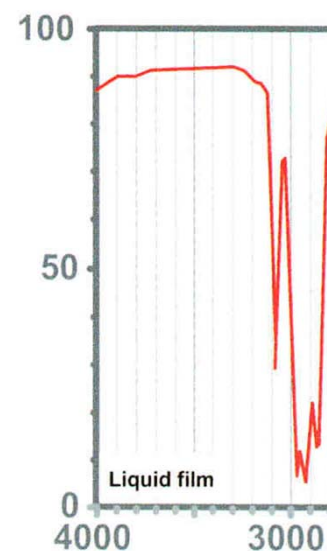
- Alkoholy ROH



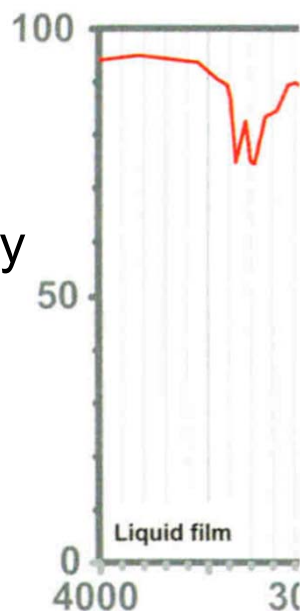
- Kyseliny RCOOH



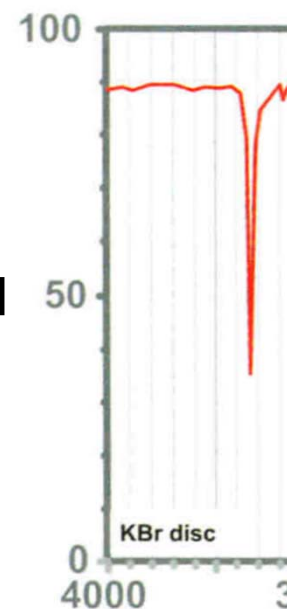
- Alkeny R-CH=CH-R'



- Primární aminy RNH_2

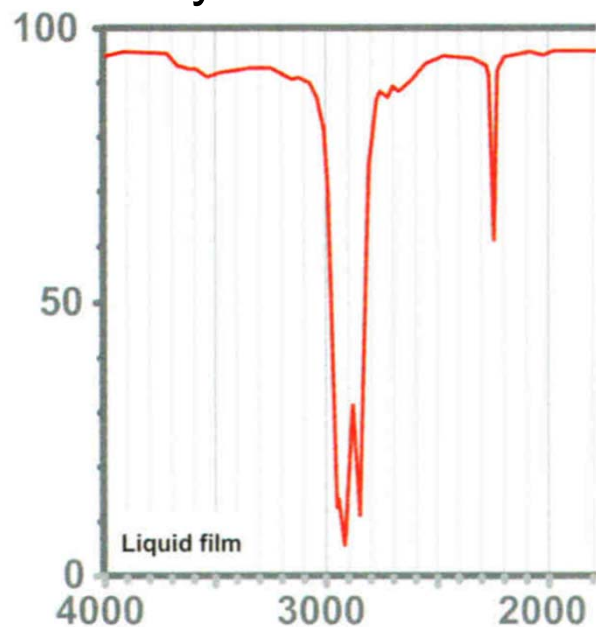


- Sekundární aminy $\text{R}_1\text{R}_2\text{NH}$



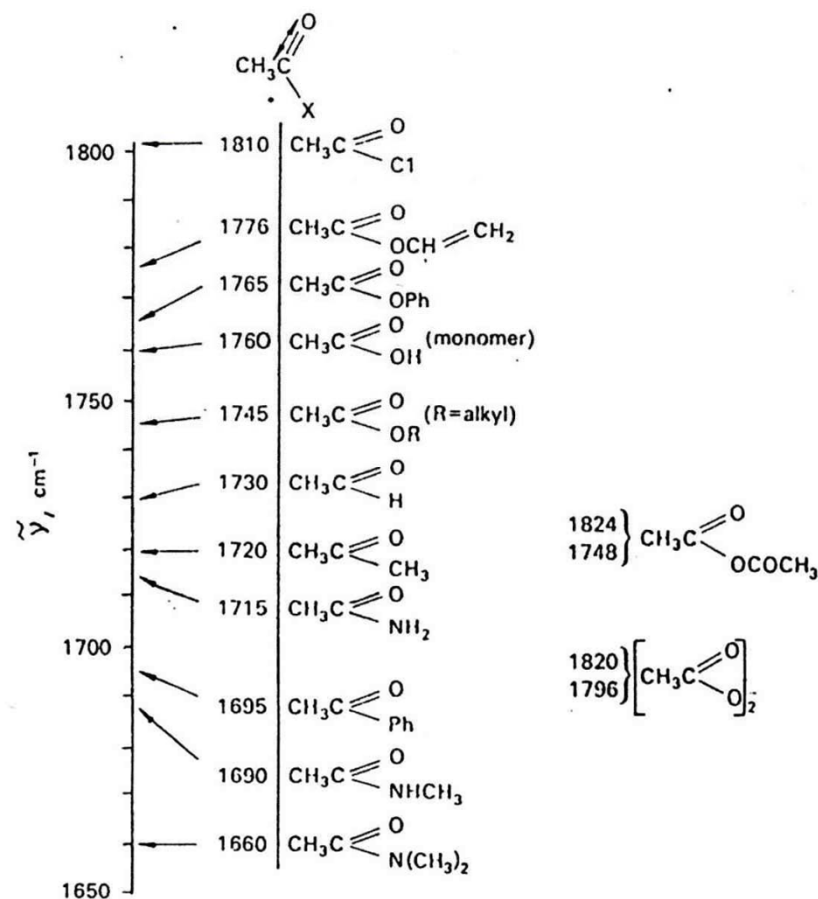
Základy interpretace IČ spekter

- Nitrily RCN

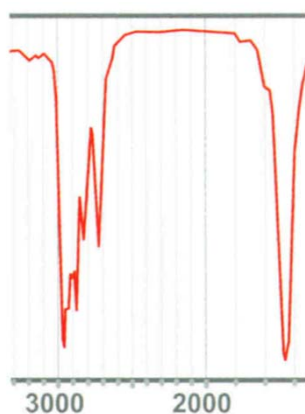


- Karbonyl RCOX

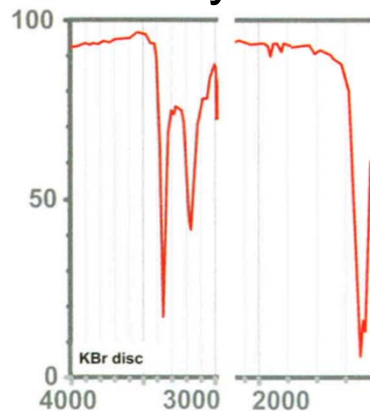
- obecně všechny sloučeniny obsahující CO, ale přesná poloha pásu závisí na funkční skupině



- Aldehydy RCHO



- Amidy RCONH₂



IČ – oblasti absorpce uhlovodíků

C,H										
cm ⁻¹										
	3500	3000	2500	2000	1800	1600	1400	1200	1000	800
A	ALKANY	2940 S 2860 M v(C-H): CH ₂ , CH ₃			ANTISYM.	1455 S 1380 M δ(CH ₂) δ(CH ₃)	1380 M δ(CH ₂) SYM. v(C-C)	VAR SKELETAL.	W	720 M P(CH ₂) ROCK. n > 4
B	ALKENY	3050 W-M v(C-H): C=CH		1850 VW 2γ(CH) =CH ₂	1650 W-M v(C=C)	1410 W δ(CH) =CH ₂	γC-H	990 M 970 S 890 MS 820 M 700 WM	910 S 830 M 780 M 750 M 700	
C	AROMÁTY	3050 W-M v(C-H): Ar-H	2γ(CH) ETC	2100 - 1700 VW-W v(C=C) SKELETAL.	1600 W-M	1580 W-M	1500 W-M	γ(C-H) S	1H 880 2H 830 3H 780 4H 750 5H 750	
D	ALKINY	3310 M v(C-H): C≡C-H	v(C≡C) 2225 R'C≡CR VW 2150 W-M v(C≡C) RC≡CH				1300 W 2γ(C-H)			~650 S γ(C-H)
E	ALLENY	3080 M v(C-H): C=C=CH		1980 M-S v(C=C=C) ANTISYM.					M S γ(C-H)	
	3500	3000	2500	2000	1800	1600	1400	1200	1000	800

Obr. 45: Oblasti absorpce uhlovodíků

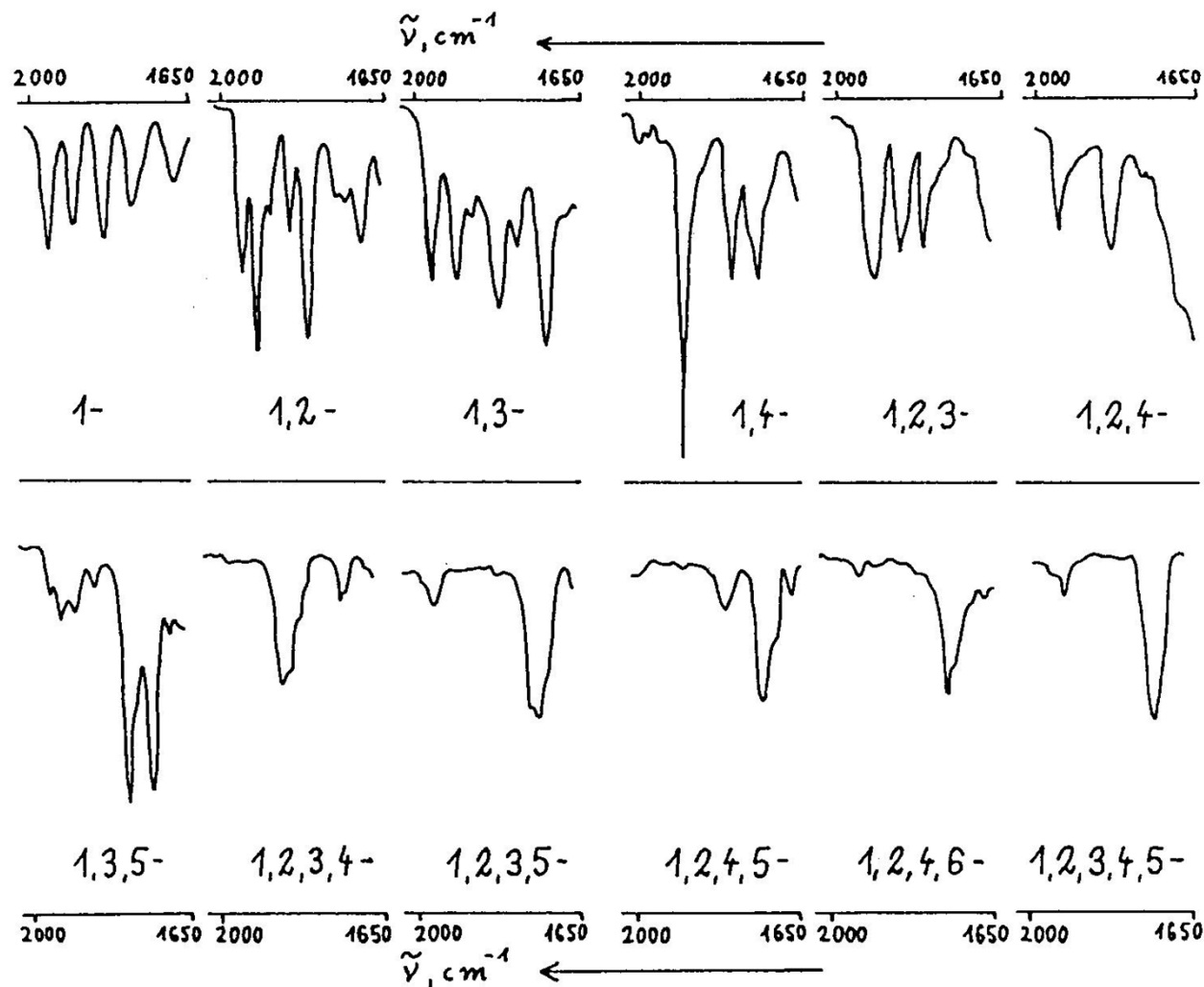
- Platí samozřejmě i pro alkyl/aryl substituce v molekule

IČ – oblasti absorpce kyslíkatých látek

C, H & O										
cm ⁻¹ 3500 3000 2500 2000 1800 1600 1400 2000 1000 800										
A	ALCOHOLY & PHENOLY						1410 M δ(OH)	1700 - 900 M-S ν(C-O)		
	3610 W-M ν(OH)	ν(OH)								
B	ETHERY	2800 W-M ν(C-H)-OCH ₃					1215 - 1050 M-S ν(C-O-C) ANTISYM.			
C	KETONY & ALDEHYDY	2750 2680 W W ν(CH): -C=O			1820 - 1650 S ν(C=O)	1420 W-M δ(CH ₂): -CH ₂ -CO				
D	ESTERY LAKTONY ANHYDRIDY			1820 - 1680 S ν(C=O)			1700 - 1300 M-S ν(C-O)			
E	KARBOXYL. KYS.	3400 - 2500 M ν(OH) DIMER	3520 W ν(OH) MONOMER	1760 1710 S S ν(C=O) ν(C=O) MONOMER DIMER	1400 - 1300 W-S ν(C-O) MONOMER δ(OH) DIMER		940 M ν(OH) DIMER			
F	KARBOXYL. ANION RCO ₂ ⁻			1580 1430 S M ν(CO ₂) ν(CO ₂) ANTISYM. SYM.						
3500 3000 2500 2000 1800 1600 1400 2000 1000 800										

Obr. 54: Oblasti absorpce kyslíkatých látek

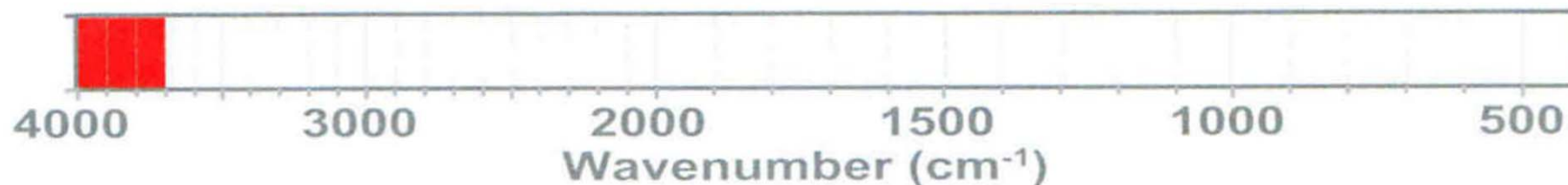
IČ – určení typu substituce derivátů benzenů



Obr. 53: Tvar pásů různě substituovaných derivátů benzenů v oblasti 1650 - 2000 cm⁻¹

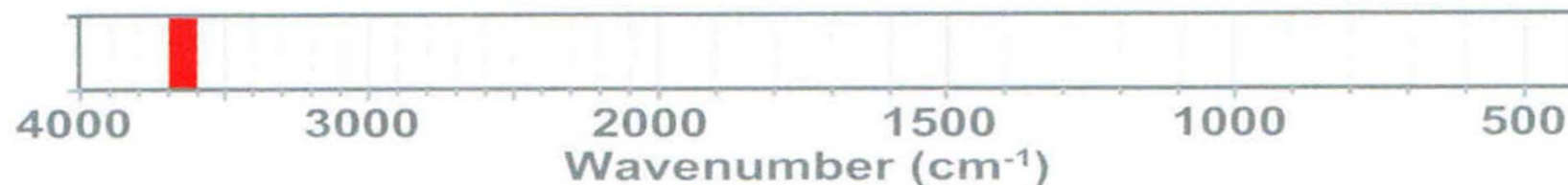
- Pro tento účel je výrazně lepší použití NMR, uvedený postup použijte pouze jako podpůrný či komplementární, nikoliv jako hlavní důkaz

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



4000 - 3700 cm^{-1}

No significant bands are observed in this region...



3700 - 3600 cm^{-1}

Stretching, O-H free (3600-3645 cm^{-1}).

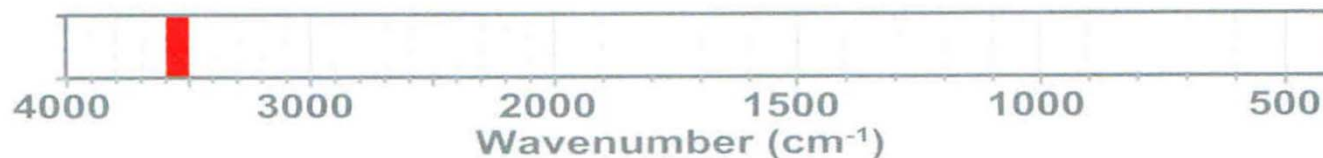
A sharp peak is observed in this region for very dilute alcohol samples.

Stretching, O-H intra-molecular (3600-3450 cm^{-1}),
characteristically symmetric (gaussian) shape.

Stretching, O-H phenols (3125-3700 cm^{-1}),
strong broad band due to hydrogen bonding,

Sharp band (3640-3650 cm^{-1}) for free OH in dilute solutions, or
where large substituents (ortho to the OH) inhibit hydrogen bonding.

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



3600 - 3500 cm^{-1}

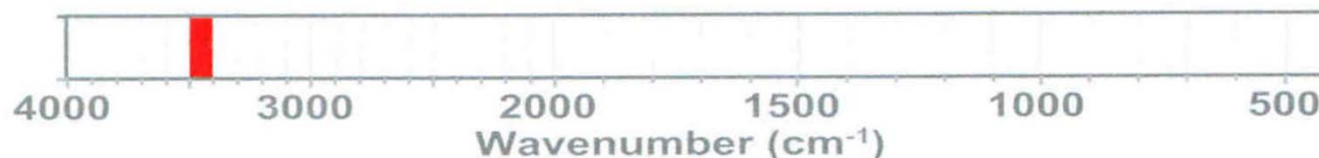
Stretching, O-H intra-molecular (3450-3600 cm^{-1}),
characteristic symmetric (gaussian) shape.

Stretching, O-H (3125-3700 cm^{-1}) observed for phenols.

Strong broad band due to hydrogen bonding, but a sharp peak (near 3645 cm^{-1})
if large substituents (ortho to the OH) inhibit hydrogen bonding.

Stretching, O-H free (3600-3645 cm^{-1}).

A sharp peak is observed in this region for very dilute alcohol samples.



3500 - 3400 cm^{-1}

Stretching O-H inter-molecular (3200-3400 cm^{-1}).

A band characterized by its symmetric (gaussian) shape, quite different from that of
the acid OH band, decreasing in relative intensity on dilution.

Stretching, O-H (3125-3700 cm^{-1}) observed for phenols.

Strong broad band due to hydrogen bonding, but a sharp peak (near 3645 cm^{-1})
if large substituents (ortho to the OH) inhibit hydrogen bonding.

Stretching, O-H intra-molecular (3450-3600 cm^{-1}), of symmetric (gaussian) shape.

Near 3250-3450 cm^{-1} , there are TWO N-H stretching bands for the -NH₂ of primary amines,
and ONE N-H stretching band for the >NH of secondary amines.

These bands are good indicators for the presence of N-H.

Similar bands are found for amides, but towards 3150-3450 cm^{-1} .

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



3400 - 3200 cm^{-1}

Stretching, $\equiv\text{C-H}$ ($3250\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$) characteristic of monosubstituted alkynes, of course, no $\equiv\text{C-H}$ band is seen for disubstituted alkynes.

This peak is very distinctive, and indicative of monosubstituted alkynes.

Stretching O-H inter-molecular ($3200\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$).

A band characterized by its symmetric (gaussian) shape, quite different from that of the acid OH band, decreasing in relative intensity on dilution.

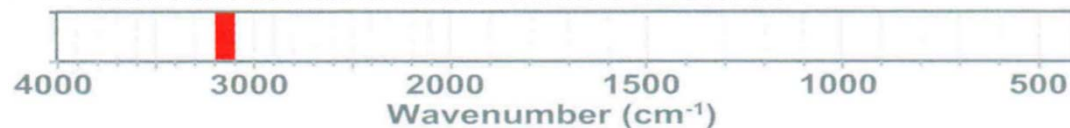
Stretching, O-H ($3125\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$) observed for phenols.

Strong broad band due to hydrogen bonding, but a sharp peak (near 3645 cm^{-1}) if large substituents (ortho to the OH) inhibit hydrogen bonding.

Near $3250\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$, there are TWO N-H stretching bands for the -NH_2 of primary amines, and ONE N-H stretching band for the >NH of secondary amines.

These bands are good indicators for the presence of N-H.

Similar bands are found for amides. but towards $3150\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$.



3200 - 3100 cm^{-1}

Stretching, $\equiv\text{C-H}$ ($3250\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$) characteristic of monosubstituted alkynes.

As expected, no $\equiv\text{C-H}$ band is seen for disubstituted alkynes.

This peak is very distinctive, and indicative of monosubstituted alkynes.

Stretching O-H inter-molecular ($3200\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$).

A band characterized by its symmetric (gaussian) shape, quite different from that of the acid OH band, decreasing in relative intensity on dilution.

Stretching, O-H ($3125\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$) observed for phenols.

Strong broad band due to hydrogen bonding, but a sharp peak (near 3645 cm^{-1}) if large substituents (ortho to the OH) inhibit hydrogen bonding.

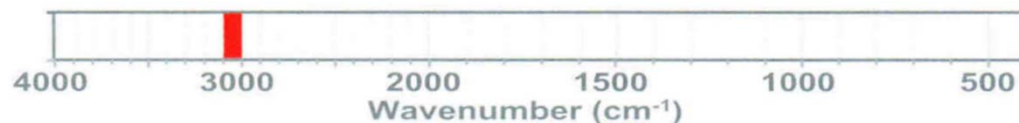
Stretching, alkene and aromatic C-H $3000\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$, sometimes submerged in aliphatic C-H stretching bands.

Stretching, O-H of carboxylic acids, extremely broad band due to extensive hydrogen bonding, between 2500 and 3340 cm^{-1} .

One could not confuse this with the OH stretch of an alcohol.

Near 3100 cm^{-1} , harmonic of the bending band of N-H ($1530\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$) characteristic of secondary amides of which the >C=O is in a trans position with respect to an N-H, peak not to be confused with >N-H stretching!

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



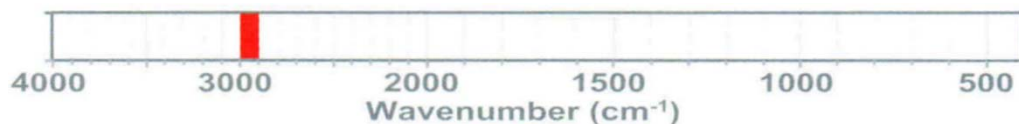
3100 - 3000 cm^{-1}

Stretching, alkene and aromatic C-H, 3000-3100 cm^{-1} , sometimes submerged in aliphatic C-H stretching bands.

Stretching, O-H of carboxylic acids, (2500 - 3340 cm^{-1}) extremely broad band due to extensive hydrogen bonding.

This could not be confused with the OH stretch of an alcohol.

Near 3100 cm^{-1} , harmonic of the bending band of N-H (1530-1550 cm^{-1}) characteristic of secondary amides in which the $>\text{C}=\text{O}$ is in a trans position with respect to an N-H, not to be confused with $>\text{N}-\text{H}$ stretching!



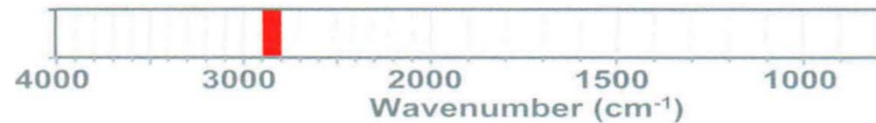
3000 - 2900 cm^{-1}

Stretching symmetric and asymmetric of aliphatic C-H 2850-2980 cm^{-1} most often indiscernible within the envelope of peaks.

Stretching, $=\text{C}-\text{H}$ (2800-2900 cm^{-1}) of aldehydes, frequently hidden in the C-H stretching band, but sometimes distinct, as in the case of aromatic aldehydes with little alkyl substitution.

Stretching, O-H of carboxylic acids, very broad band due to hydrogen bonding, between 2500 and 3340 cm^{-1} .

One could not confuse this with the OH stretch of an alcohol.



2900 - 2800 cm^{-1}

Stretching symmetric and asymmetric of aliphatic C-H 2850-2980 cm^{-1} most often indiscernible within a single envelope.

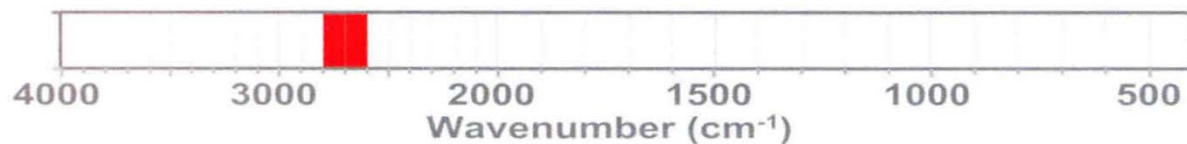
Stretching, $=\text{C}-\text{H}$ (2800-2900 cm^{-1}) of aldehydes, frequently hidden in the C-H stretching band, but sometimes distinct, as in the case of aromatic aldehydes with little alkyl substitution.

Stretching, $=\text{C}-\text{H}$ (2700-2800 cm^{-1}) of aldehydes, always visible. This peak constitutes a marker of the aldehyde functional group.

A peak due to the $\text{CH}_3-\text{O}-$ group (near 2820-2850 cm^{-1}), is characteristic of aromatic $\text{CH}_3-\text{O}-$ groups.

Stretching, O-H of carboxylic acids, extremely broad band due to extensive hydrogen bonding, between 2500 and 3340 cm^{-1} . One could not confuse this with the OH stretch of an alcohol.

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



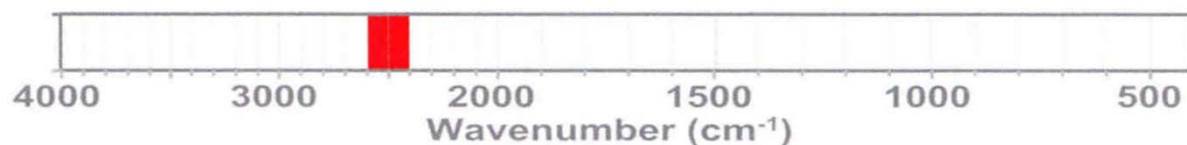
2800 - 2600 cm^{-1}

Stretching, =C-H (2700-2800 cm^{-1}) of aldehydes, always visible.

This peak constitutes a marker of the aldehyde function.

Stretching, O-H of carboxylic acids, extremely broad band due to extensive hydrogen bonding, between 2500 and 3340 cm^{-1} .

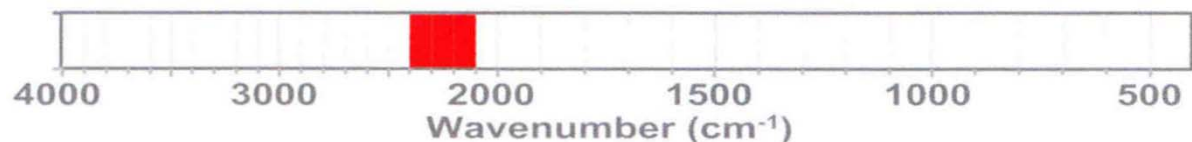
One could not confuse this with the OH stretch of an alcohol.



2600 - 2400 cm^{-1}

Stretching, O-H of carboxylic acids, extremely broad band due to extensive hydrogen bonding, between 2500 and 3340 cm^{-1} .

One could not confuse this with the OH stretch of an alcohol.



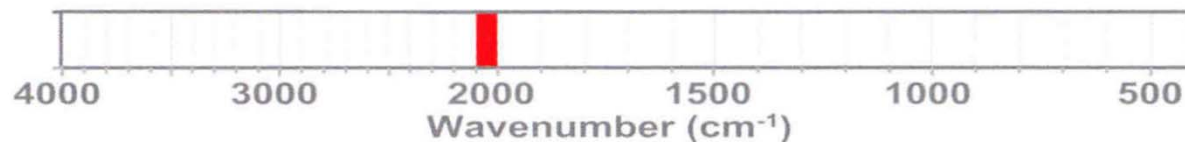
2400 - 2100 cm^{-1}

Stretching, $\text{-C}\equiv\text{C-}$ (2050-2250 cm^{-1}), absent in the case of symmetrically disubstituted alkynes.

The peak is very sensitive to the dipole moment, being very weak in disubstituted alkynes. Take care not to confuse it with $\text{-C}\equiv\text{N}$ stretching, which is more intense than a disubstituted alkyne, and does not have the $\text{\equiv C-H}$ band (3300 cm^{-1}) of the monosubstituted alkyne.

Stretching, $\text{-C}\equiv\text{N}$ of nitriles (2200-2300 cm^{-1}) with an intensity stronger than the $\text{-C}\equiv\text{C-}$ stretching, which appears in the same region.

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



2100 - 2000 cm^{-1}

Stretching, $\text{-C}\equiv\text{C-}$ (2050-2250 cm^{-1}), absent in the case of symmetrically disubstituted alkynes. The peak is very sensitive to the dipole moment, being very weak in disubstituted alkynes. Take care not to confuse it with $\text{-C}\equiv\text{N}$ stretching, which is more intense than a disubstituted alkyne, and does not have the $\equiv\text{C-H}$ band (3300 cm^{-1}) of the monosubstituted alkyne.



2000 - 1900 cm^{-1}

Possible presence of weak overtone combination bands, (fingerprints) for aromatic compounds



1900 - 1800 cm^{-1}

Stretching, >C=O between 1725 and 1850 cm^{-1} .

If there are TWO intense bands in this region, they may be due to an anhydride.

In cyclic anhydrides the higher frequency band is less intense than the other, whereas the opposite is true for non-cyclic anhydrides.

Stretching, >C=O (4-member ring lactones) near 1830 cm^{-1} .

Stretching, >C=O (acid halides) near 1760-1830 cm^{-1} .

Possible presence of weak overtone combination bands, (fingerprint) for aromatic compounds

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



1800 - 1700 cm^{-1}

Stretching, >C=O between 1725 and 1850 cm^{-1} .

If there are TWO intense bands in this region, they may be due to an anhydride. In cyclic anhydrides the higher frequency band is less intense than the other, whereas the opposite is true for non-cyclic anhydrides.

Stretching, >C=O of ketones (near 1710 cm^{-1}).

This frequency decreases on conjugation, however the frequency increases for cyclic ketones of a ring size less than six members.

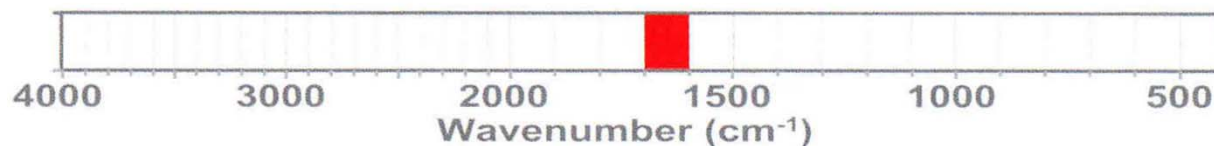
Stretching, >C=O (acid halides) near 1760-1830 cm^{-1} .

Stretching, >C=O (carboxylic acids) 1700-1760 cm^{-1} , very intense.

Stretching, >C=O (esters) near 1740 cm^{-1} , lower frequency if conjugation.

Stretching, >C=O (aldehydes) near 1725 cm^{-1} , lower if conjugated.

Possible presence of weak overtone combination bands, (fingerprint) for aromatic compounds



1700 - 1600 cm^{-1}

Stretching, >C=O (carboxylic acids) 1700-1760 cm^{-1} , very intense.

Stretching, >C=O (amides) near 1640-1690 cm^{-1} , intense band.

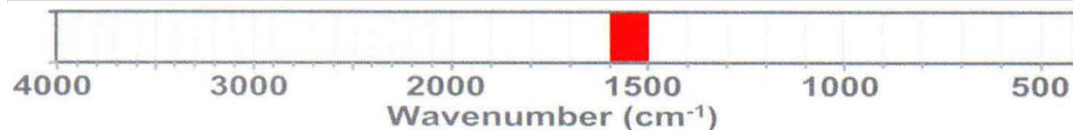
The carbonyl frequency is lowered by the resonance donor effect of nitrogen.

Stretching, >C=C< aromatic (1600-1640 cm^{-1}), frequency lowered by conjugation.

Stretching, >C=C< 1580-1660 cm^{-1} , sometimes absent or very weak if the alkene is symmetric or is a trans, (E) alkene.

Deformation in the -NH_2 group, "scissoring band," around 1580-1650 cm^{-1} .

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



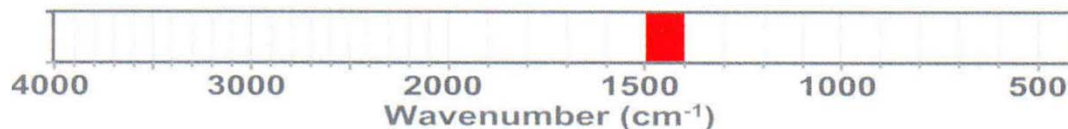
1600 - 1500 cm⁻¹

Stretching, $>C=C<$ 1580-1660 cm⁻¹, sometimes absent or very weak if the alkene is symmetric or is a trans, (E) alkene.

Stretching, $>C=C<$ aromatic (1600-1640 cm⁻¹), frequency lowered by conjugation.

Stretching, $>C=C<$ aromatic (1520-1480 cm⁻¹), of variable intensity.

Deformation in the -NH₂ group, "scissoring band", around 1580-1650 cm⁻¹.



1500 - 1400 cm⁻¹

Stretching, $>C=C<$ aromatic (1520-1480 cm⁻¹), of variable intensity.

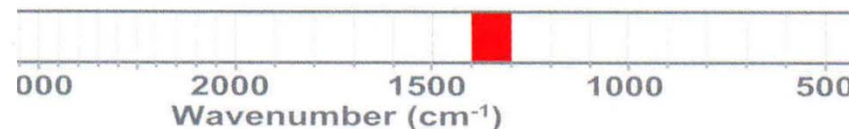
Deformation N-H (1530-1550 cm⁻¹) characteristic of secondary amides of which the $>C=O$ is in a trans position with respect to the N-H.

Its harmonic is observed around 3100 cm⁻¹.

Take care to not confuse this harmonic with $>N-H$ stretching!

Deformation (scissoring) around 1450 cm⁻¹ of -CH₂-, not a particularly useful band as the carbon skeleton bands are found in this region.

Stretching, C-N< (amines) 1000-1400 cm⁻¹, frequency dependant on the number of substituents on the alpha carbon; the more the carbon is substituted, the more the frequency is increased.



1400 - 1300 cm⁻¹

Stretching, C-N< (amines) 1000-1400 cm⁻¹, frequency dependant on the number of substituents on the alpha carbon; the more the carbon is substituted, the more the frequency is increased.

Deformation corresponding to -CH₃ group around 1380 cm⁻¹.

It is important to examine this region of the spectrum carefully :

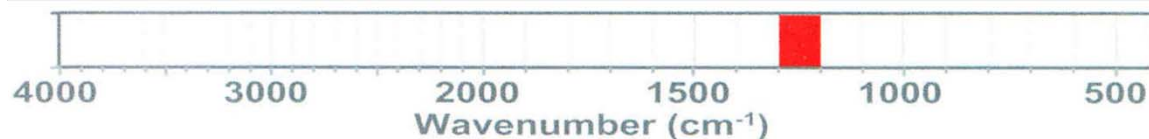
- a doublet of equal intensity indicates a gem-dimethyl, -CH(CH₃)₂ or $>C(CH_3)_2$

- a doublet of different intensities, indicates a tert-butyl -C(CH₃)₃.

Deformation O-H (phenols) 1315-1390 cm⁻¹, of little use for interpretation.

Stretching, =C-O- (phenols and ethers aromatics) 1000-1300 cm⁻¹.

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



1300 - 1200 cm^{-1}

Stretching, C-N< (amines) 1000-1400 cm^{-1} , frequency dependant on the number of substituents on the alpha carbon; the more the carbon is substituted, the more the frequency is increased.

Stretching, =C-O of carboxylic acids around 1250 cm^{-1} .

Stretching, =C-O characteristic of acetates around 1250 cm^{-1} .

Stretching, =C-O- (phenols and ethers aromatics) 1000-1300 cm^{-1} .

Stretching, C-O- intense (1000-1260 cm^{-1}) the position of which indicates the class of alcohol.

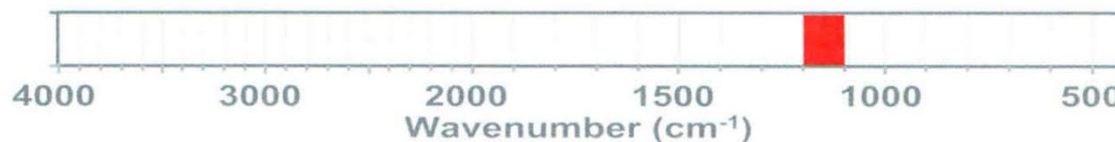
The more frequency is increased, the more the OH bearing carbon is substituted.

Stretching, C-O-C symmetric, from epoxide ring stretching, near 1250 cm^{-1} , "the 8 μm band".

Stretching, =C-O-C= and =C-O-C : intense band (1000-1250 cm^{-1}).

Stretching, C-F of alkyl fluorides (1100-1250 cm^{-1}).

C-O- (1100-1210 cm^{-1}) typical tertiary alcohols $\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3\text{COH}$.



1200 - 1100 cm^{-1}

Stretching, C-N< (amines) 1000-1400 cm^{-1} , frequency dependant on the number of substituents on the alpha carbon; the more the carbon is substituted, the more the frequency is increased.

Stretching, =C-O- (phenols and aromatic ethers) 1000-1300 cm^{-1} .

Stretching, C-O- intense (1000-1260 cm^{-1}) the position of which indicates the class of alcohol.

The more frequency is increased, the more the OH bearing carbon is substituted.

Stretching, =C-O-C= and =C-O-C : intense band (1000-1250 cm^{-1}).

Stretching, C-F of alkyl fluorides (1100-1250 cm^{-1}).

C-O- (1100-1210 cm^{-1}) typical of tertiary alcohols $\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3\text{COH}$.

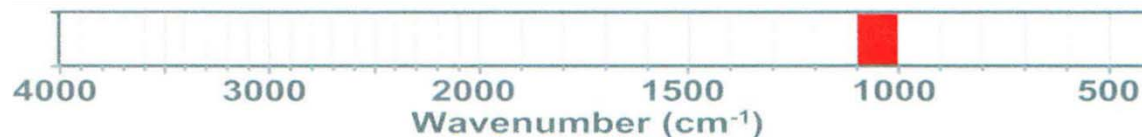
C-O- (1090-1130 cm^{-1}) typical of secondary alcohols $>\text{CH-OH}$.

Stretching, C-O of ethers C-O-C (1000-1150 cm^{-1}).

Stretching, =C-O characteristic of formates around 1180 cm^{-1} .

Stretching, C-N< (amides) between 1050-1175 cm^{-1} .

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



1100 - 1000 cm^{-1}

Stretching, C-N< (amines) 1000-1400 cm^{-1} , frequency dependant on the number of substituents on the alpha carbon; the more the carbon is substituted, the more the frequency is increased.

Stretching, =C-O- (phenols and aromatic ethers) 1000-1300 cm^{-1} .

Stretching, C-O- intense (1000-1260 cm^{-1}) the position of which indicates the class of alcohol. The more frequency is increased, the more the OH bearing carbon is substituted.

Stretching, =C-O-C= and =C-O-C : intense band (1000-1250 cm^{-1}).

Stretching, C-F of alkyl fluorides (1100-1250 cm^{-1}).

C-O- (1100-1210 cm^{-1}) typical of tertiary alcohols $\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3\text{COH}$.

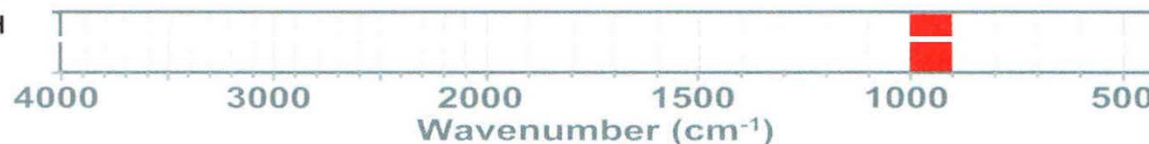
C-O- (1090-1130 cm^{-1}) typical of secondary alcohols $>\text{CH-OH}$

C-O- (1000-1075 cm^{-1}) typical of primary alcohols $-\text{CH}_2\text{OH}$.

Stretching, C-O of ethers, C-O-C (1000-1150 cm^{-1}).

Stretching, C-N< (amides) between 1050-1175 cm^{-1} .

Stretching, C-Cl of acid chlorides (860-1050 cm^{-1}).



1000 - 900 cm^{-1}

Stretching, C-N< (amines) 1000-1400 cm^{-1} , frequency dependant on the number of substituents on the alpha carbon; the more the carbon is substituted, the more the frequency is increased.

Stretching, =C-O- (phenols and ethers aromatics) 1000-1300 cm^{-1} .

Stretching, C-O- intense (1000-1260 cm^{-1}) the position of which indicates the class of alcohol. The more frequency is increased, the more the OH bearing carbon is substituted.

C-O- (1000-1075 cm^{-1}) typical of primary alcohols $-\text{CH}_2\text{OH}$.

Stretching, =C-O-C= and =C-O-C : intense band (1000-1250 cm^{-1}).

Stretching, C-O of ethers C-O-C (1000-1150 cm^{-1}).

Stretching, C-Cl of acid chlorides (860-1050 cm^{-1}).

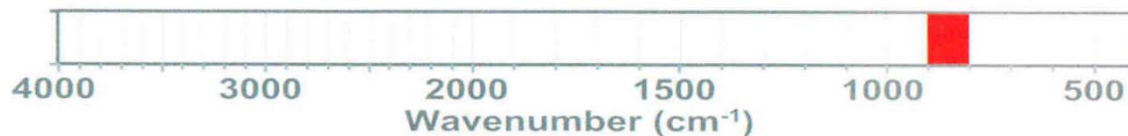
Deformation (2 bands) around 910 and 990 cm^{-1} for monosubstituted alkenes R-CH=CH_2 .

Deformation (1 band) around 970 cm^{-1} for trans disubstituted alkenes: R-CH=CH-R' (E).

Stretching, asymmetric C-O-C of epoxides near 810-950 cm^{-1} , "the 11 μm band".

Deformation $>\text{N-H}$, (760-920 cm^{-1}) very broad, characteristic of amines I and II.

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra



900 - 800 cm^{-1}

Stretching, C-Cl of acid chlorides ($860\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$).

Deformation OH (carboxylic acids) around $850\text{-}960\text{ cm}^{-1}$, not very useful for identification.

The very distinctive broad OH stretching band is more useful.

Stretching, asymmetric C-O-C of epoxides around $810\text{-}950\text{ cm}^{-1}$, "the $11\text{ }\mu\text{m}$ band".

Deformation $>\text{N-H}$, ($760\text{-}920\text{ cm}^{-1}$) very broad, characteristic of amines I and II, at a frequency distinctly lower frequency for amides (frequency below 700 cm^{-1}).

Deformation (1 band) about 890 cm^{-1} for alkenes $\text{RR}'\text{C}=\text{CH}_2$.

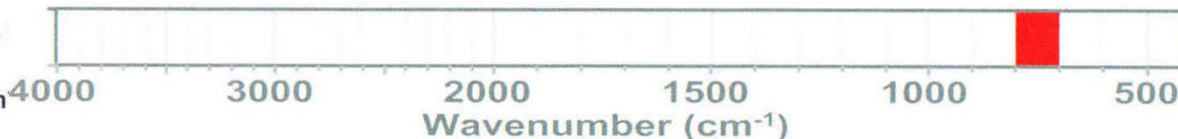
Deformation (1 band) about $790\text{-}840\text{ cm}^{-1}$ for alkenes $\text{RR}'\text{C}=\text{CH-R}''$.

Deformation ($800\text{-}855\text{ cm}^{-1}$ characteristic of aromatic rings having 2 adjacent hydrogens on the ring.

Deformation ($765\text{-}800\text{ cm}^{-1}$) characteristic of aromatic rings 3 adjacent hydrogens on the ring.

Stretching, asymmetric C-O-C of epoxides near $750\text{-}840\text{ cm}^{-1}$

Stretching, C-Cl of alkyl chlorides ($600\text{-}800\text{ cm}^{-1}$).



800 - 700 cm^{-1}

Deformation (1 band) around 730 cm^{-1} for cis disubstituted alkenes R-CH=CH-R' (Z).

Deformation (1 band) between $790\text{-}840\text{ cm}^{-1}$ for trisubstituted alkenes $\text{RR}'\text{C}=\text{CH-R}''$.

Deformation $>\text{N-H}$, ($760\text{-}920\text{ cm}^{-1}$) very broad, characteristic of amines I and II, at a frequency distinctly lower for amides (frequency below 700 cm^{-1}).

Deformation ($800\text{-}855\text{ cm}^{-1}$ characteristic of aromatic rings having 2 adjacent hydrogens on the ring.

Deformation ($765\text{-}800\text{ cm}^{-1}$) characteristic of aromatic rings having 3 adjacent hydrogens on the ring.

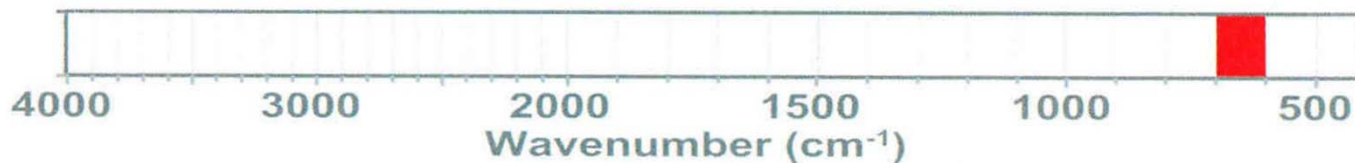
Deformation ($740\text{-}770$ for 4 H and $700\text{-}690\text{ cm}^{-1}$ for 5 H) characteristic of aromatic rings with 4 or 5 adjacent hydrogens (aromatics mono-substituted or ortho disubstituted).

Stretching, asymmetric C-O-C of epoxides near $750\text{-}840\text{ cm}^{-1}$, "the $12\text{ }\mu\text{m}$ band".

Stretching, C-Cl of alkyl chlorides ($600\text{-}800\text{ cm}^{-1}$).

Rocking, about 720 cm^{-1} for $-\text{CH}_2-$, a medium intensity band when there are more than 4 methylenes $-\text{CH}_2-$ together.

Vibrační pásy pro jednotlivé oblasti IČ spektra

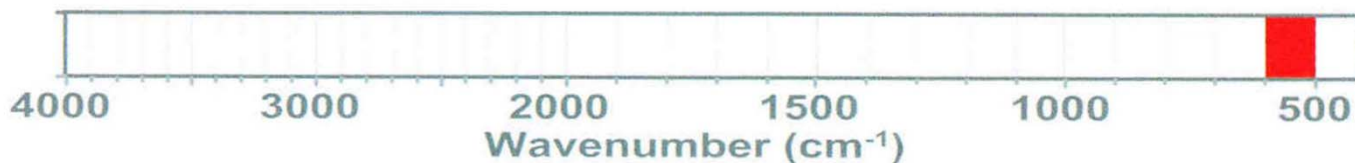


700 - 600 cm^{-1}

Stretching, C-Cl of alkyl chlorides (600-800 cm^{-1}).

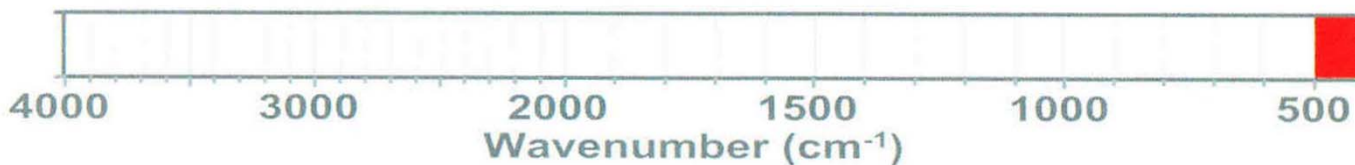
Deformation (700-690 cm^{-1} for 5 H) characteristic of aromatics rings with 5 hydrogens (monosubstituted aromatic rings).

Bending band of monosubstituted alkynes, $\equiv\text{C-H}$.



600 - 500 cm^{-1}

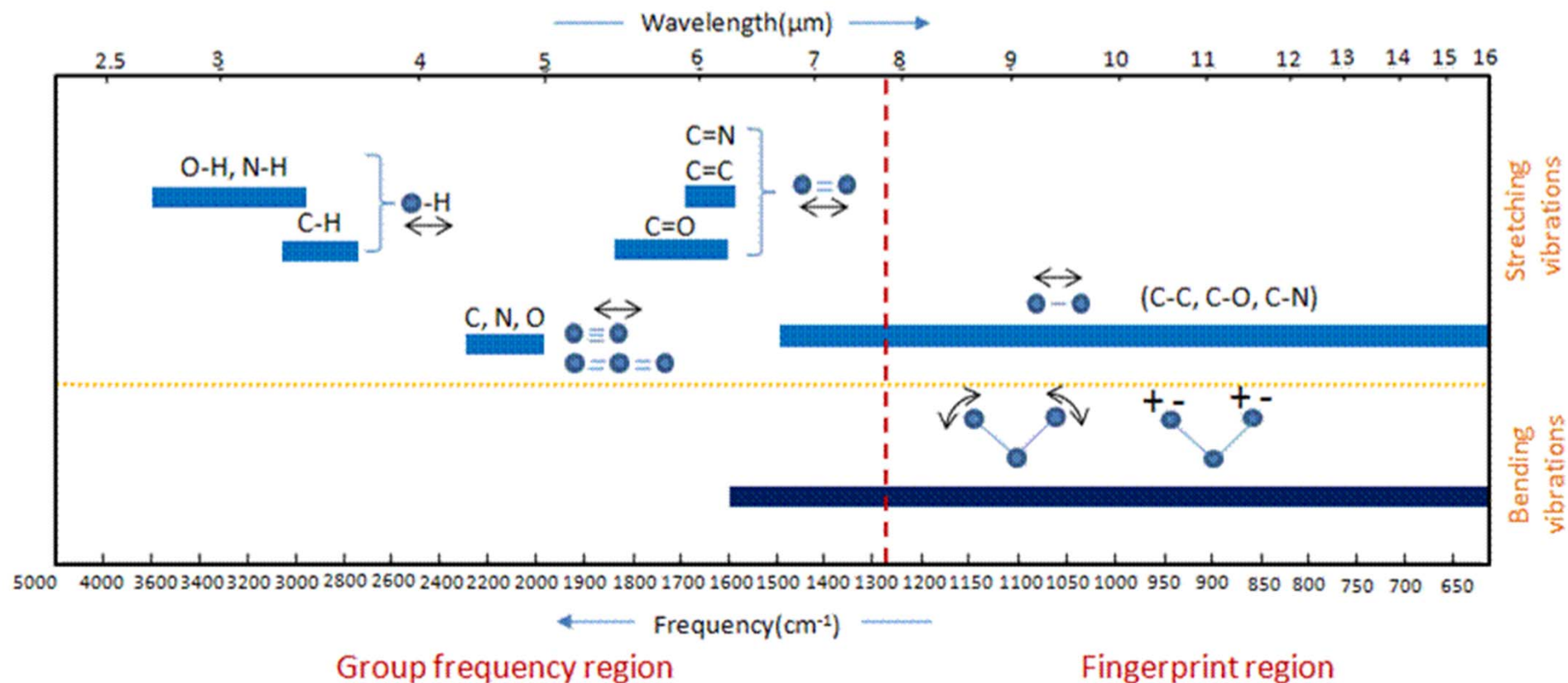
Stretching, C-Cl of alkyl chlorides (600-800 cm^{-1}).



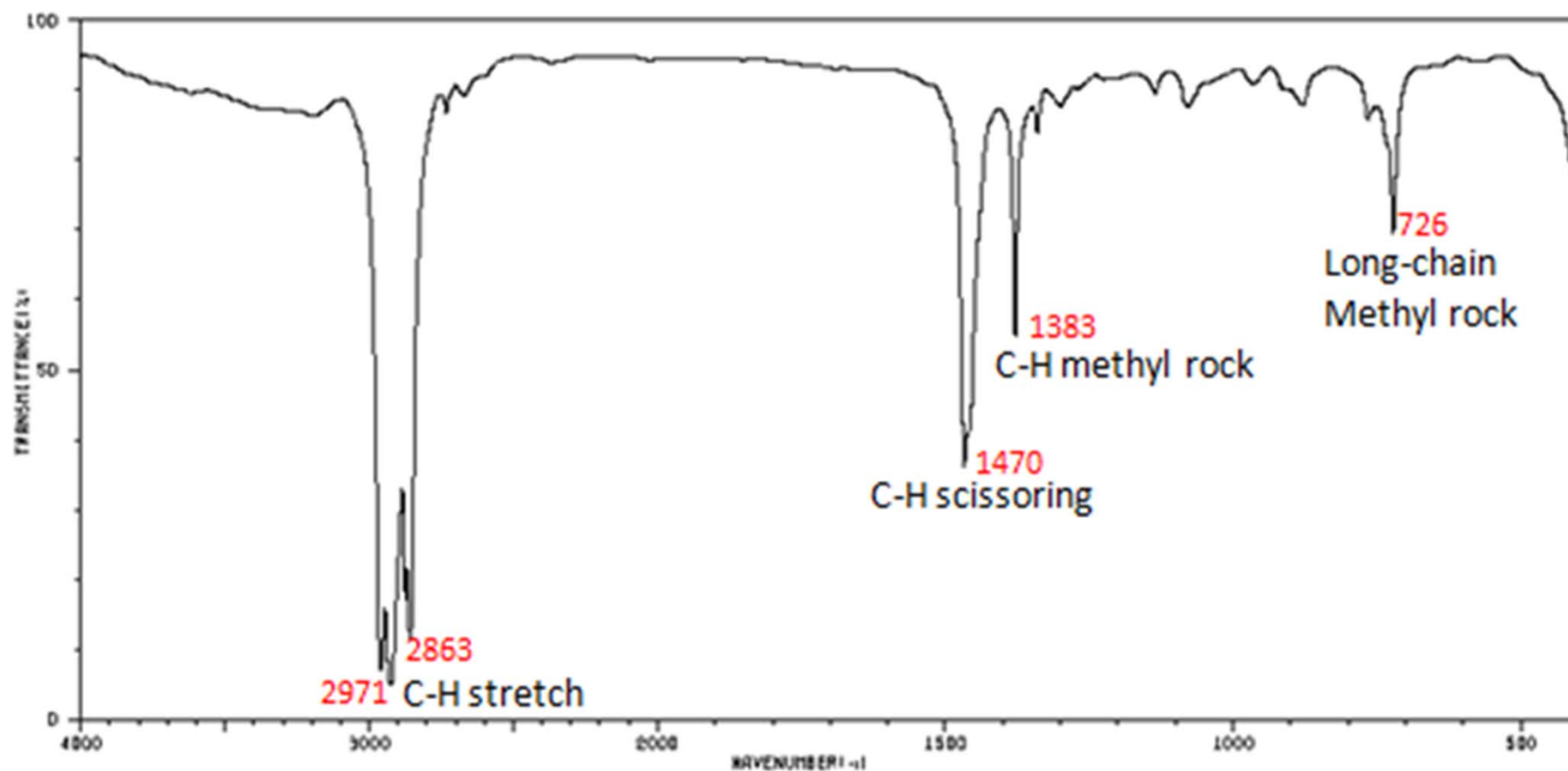
500 - 400 cm^{-1}

No significant bands are observed in this region...

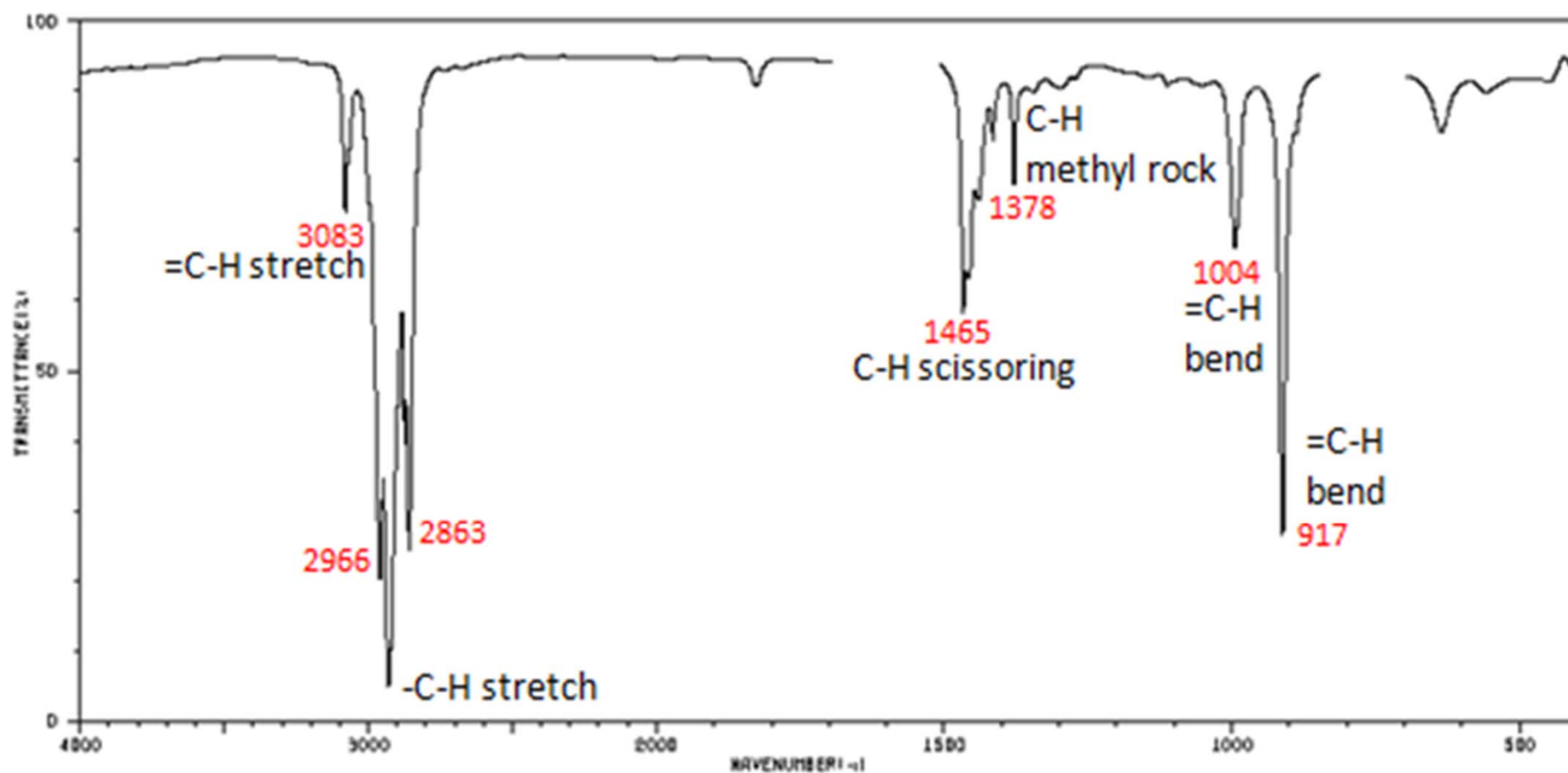
Typy vibrací pro jednotlivé oblasti IČ spektra



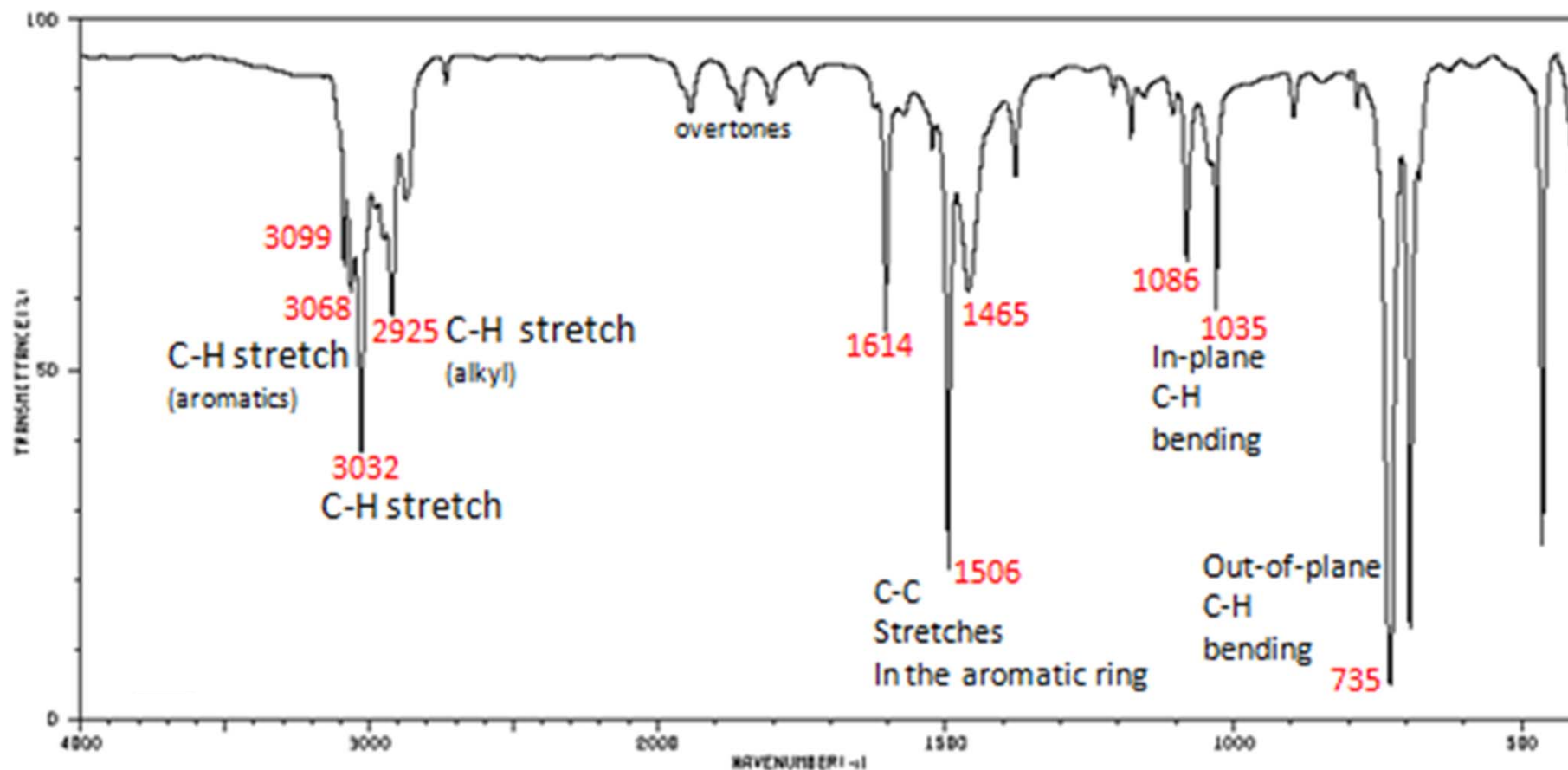
Příklady interpretace jednoduchých IČ spekter



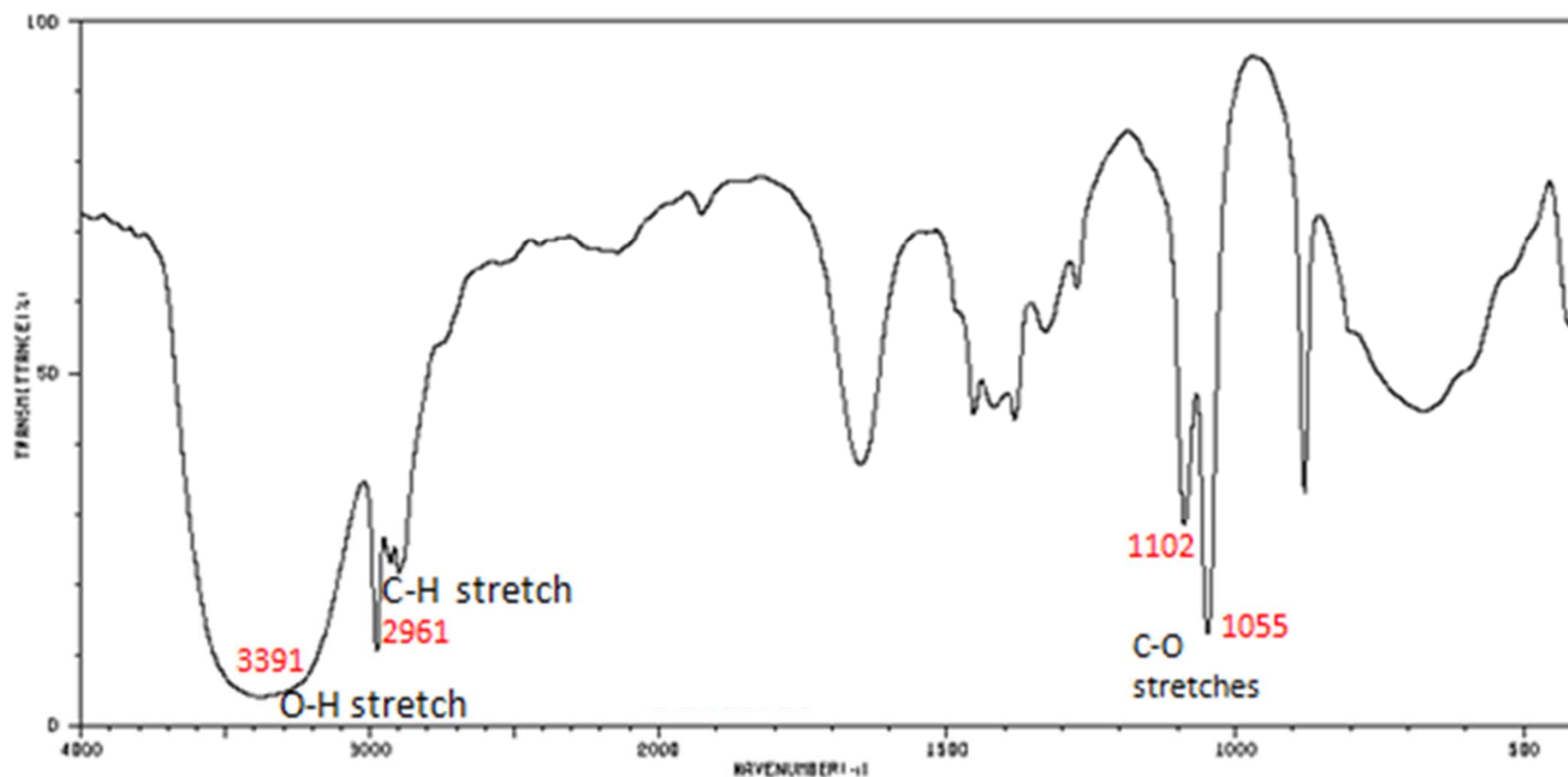
Příklady interpretace jednoduchých IČ spekter



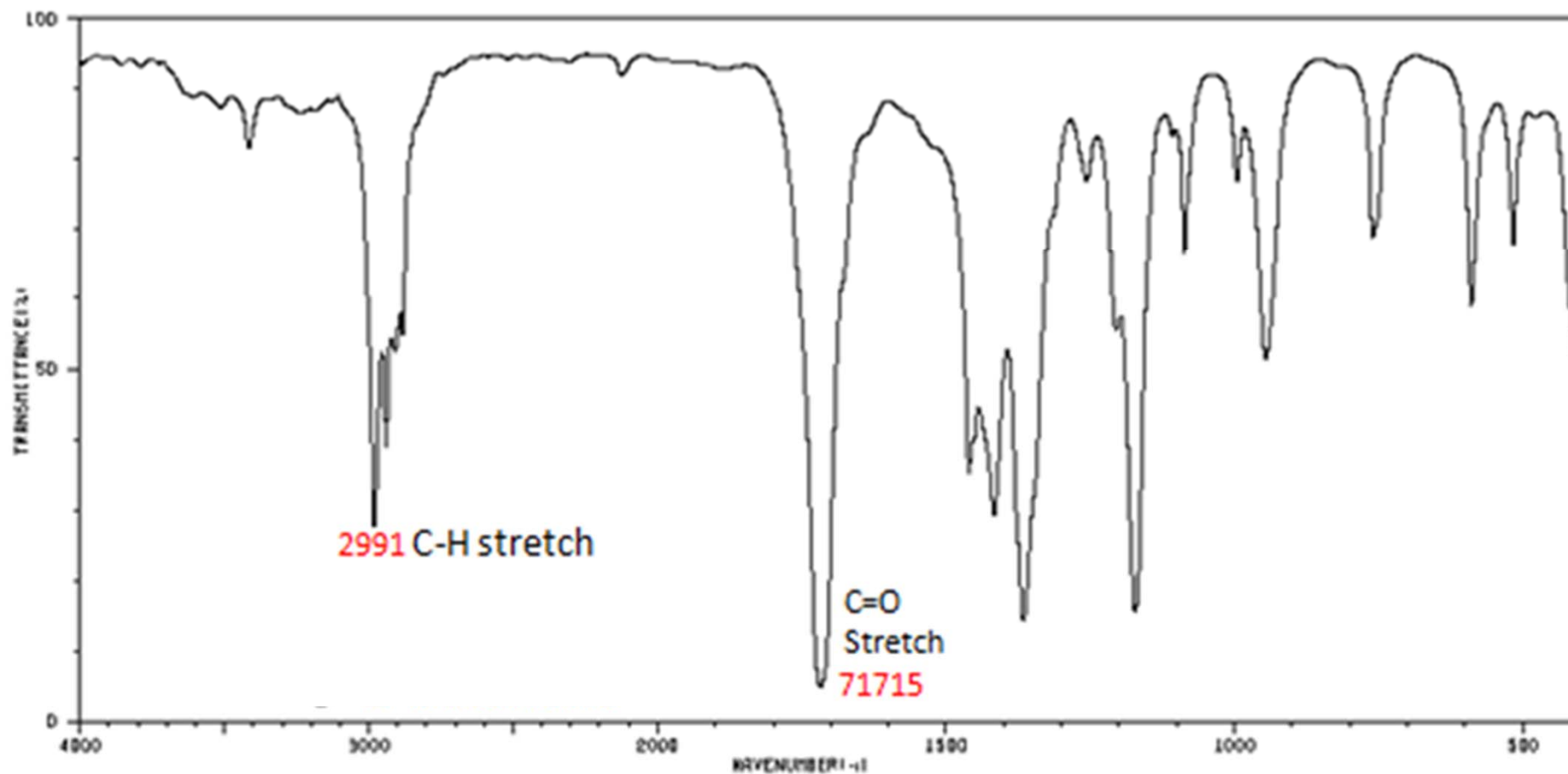
Příklady interpretace jednoduchých IČ spekter



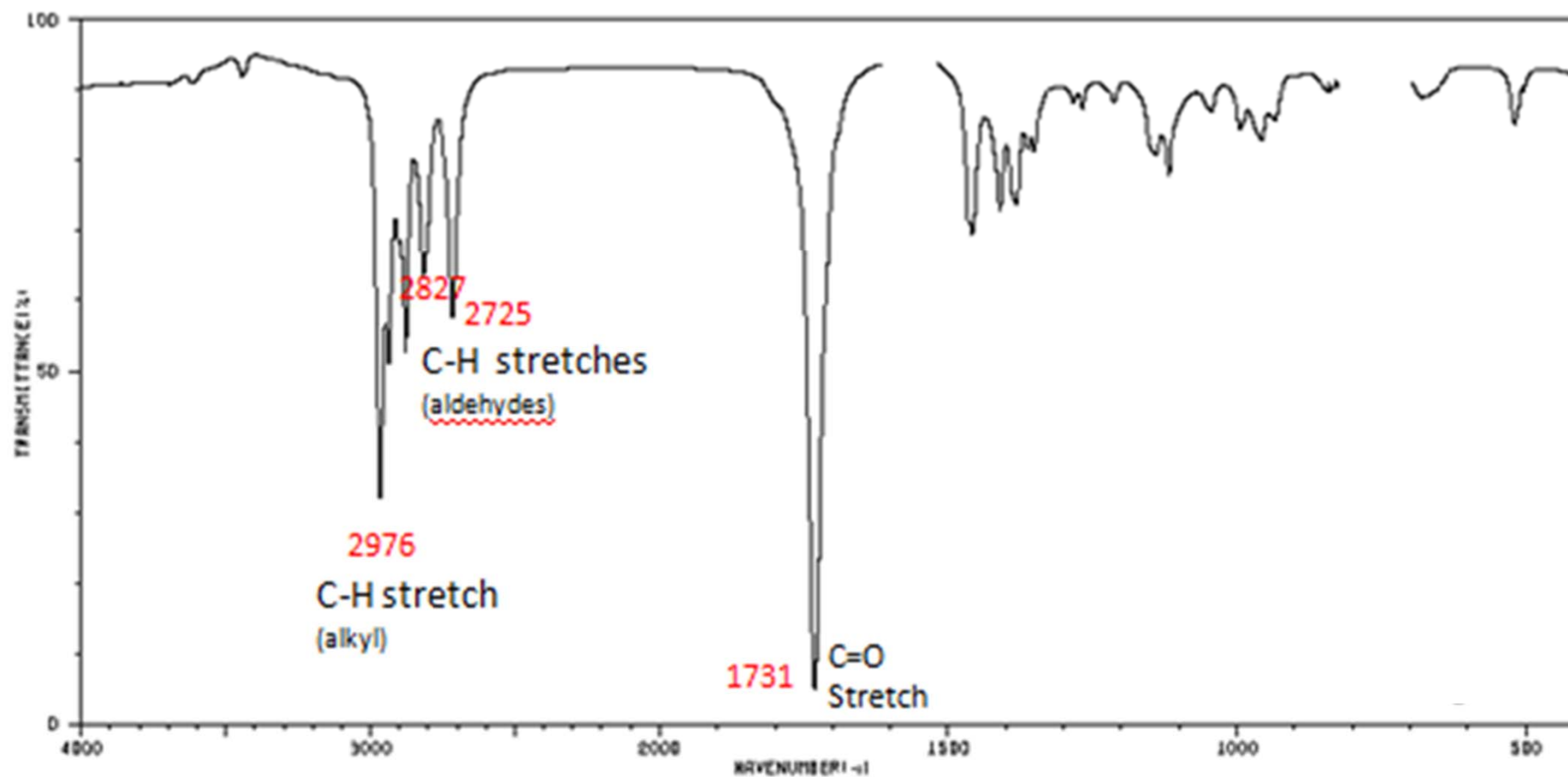
Příklady interpretace jednoduchých IČ spekter



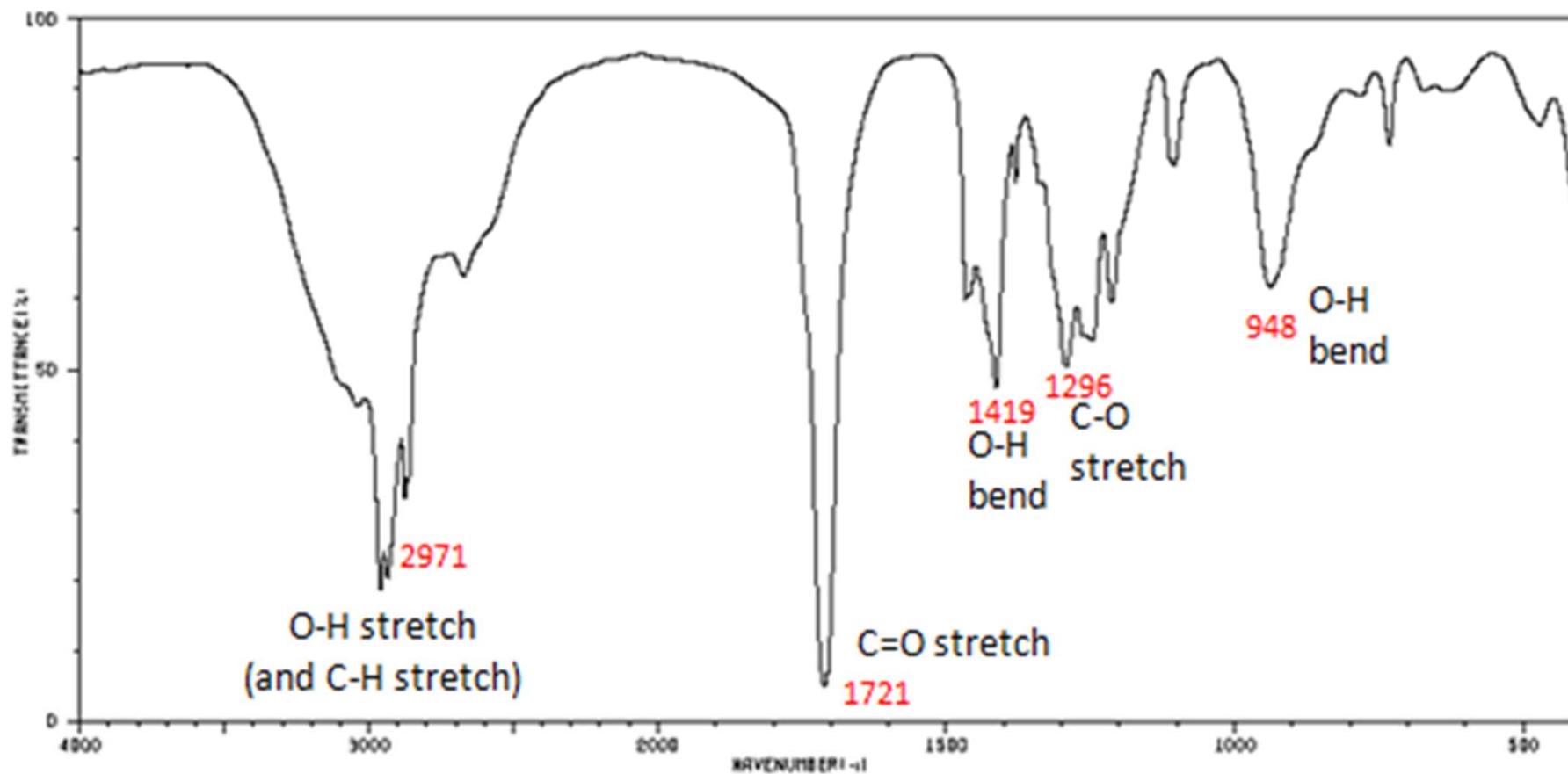
Příklady interpretace jednoduchých IČ spekter



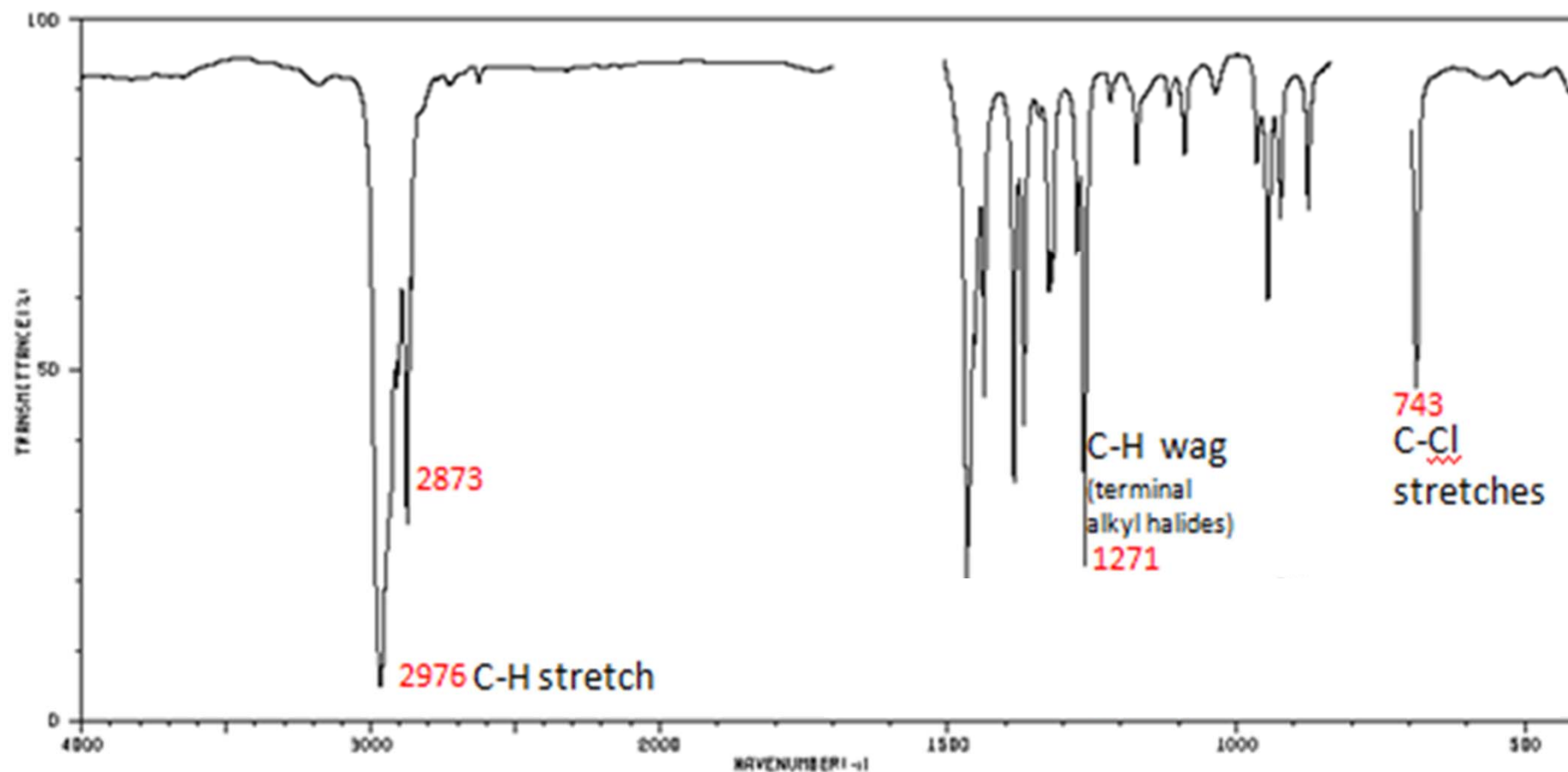
Příklady interpretace jednoduchých IČ spekter



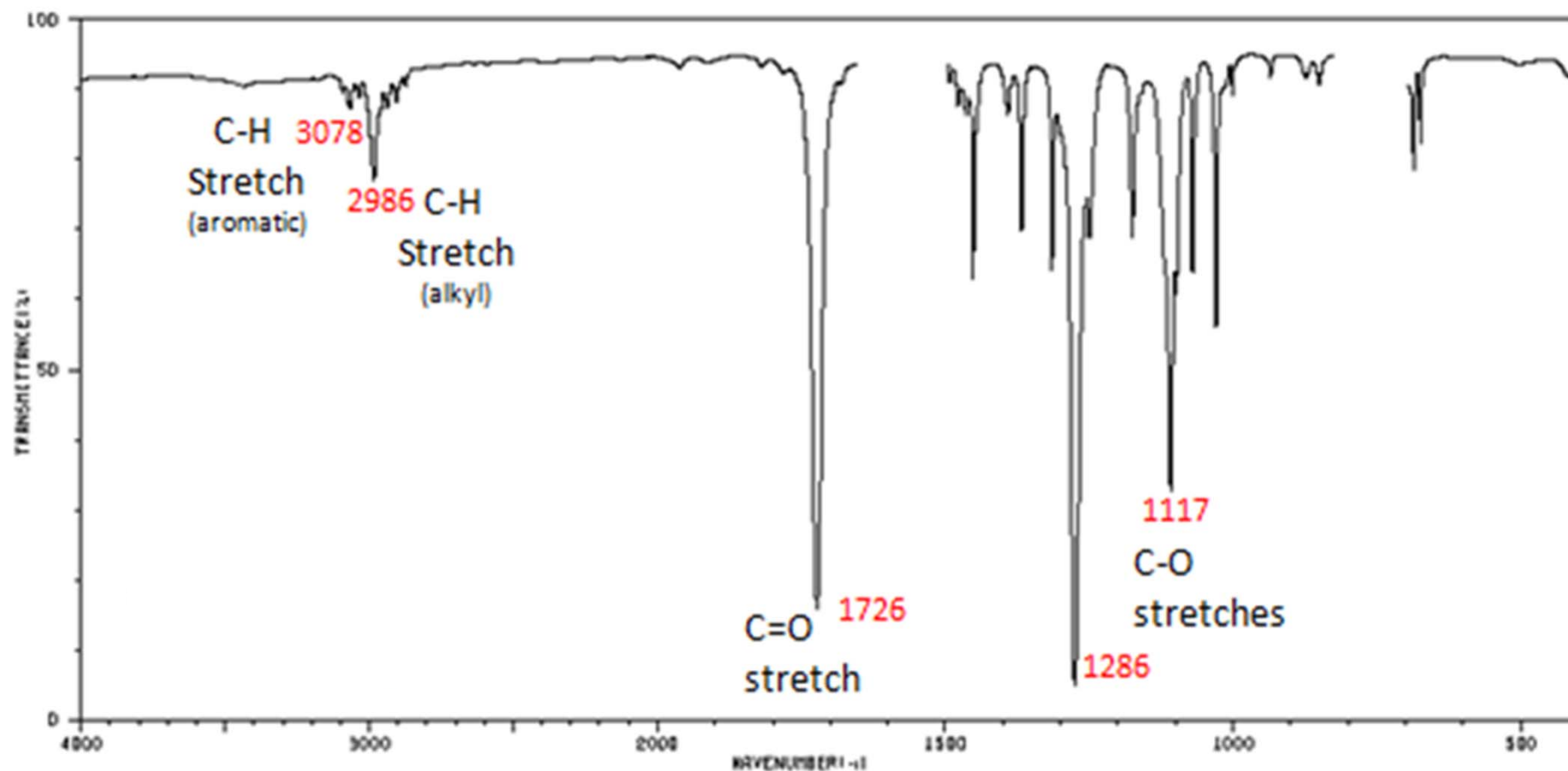
Příklady interpretace jednoduchých IČ spekter



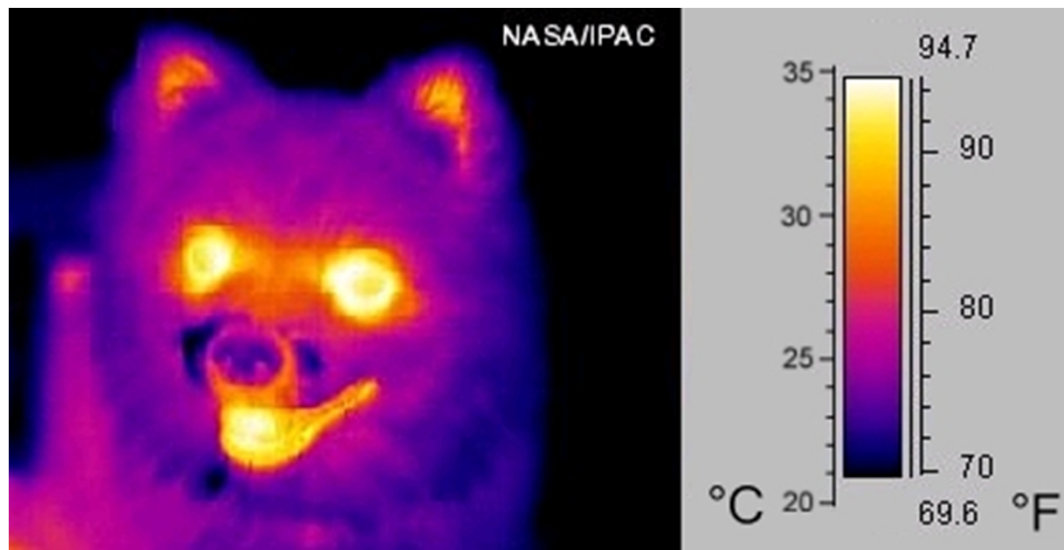
Příklady interpretace jednoduchých IČ spekter



Příklady interpretace jednoduchých IČ spekter

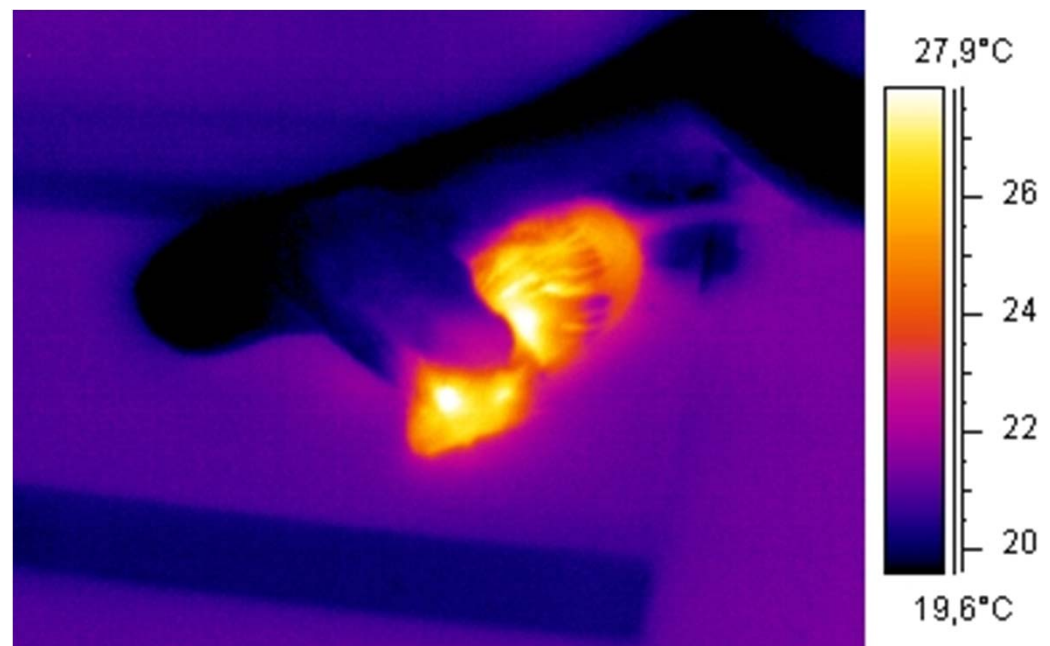


IČ zobrazení



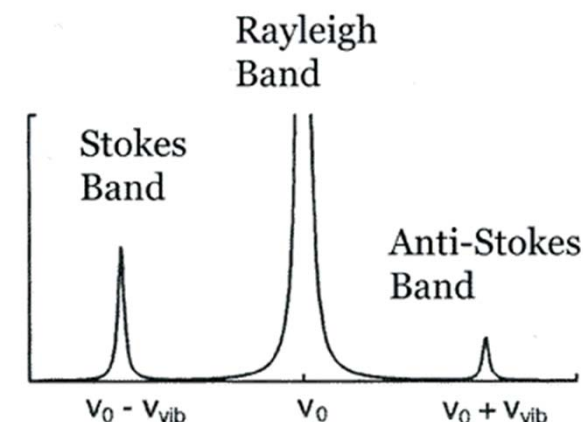
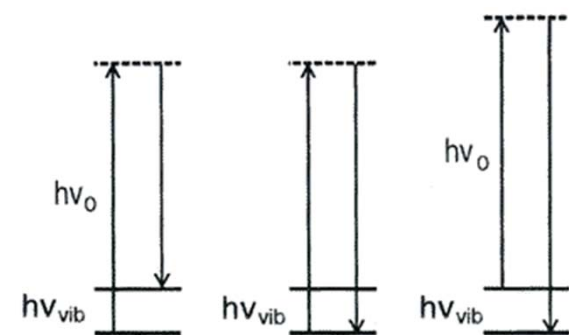
- Pes

- Had žere myš

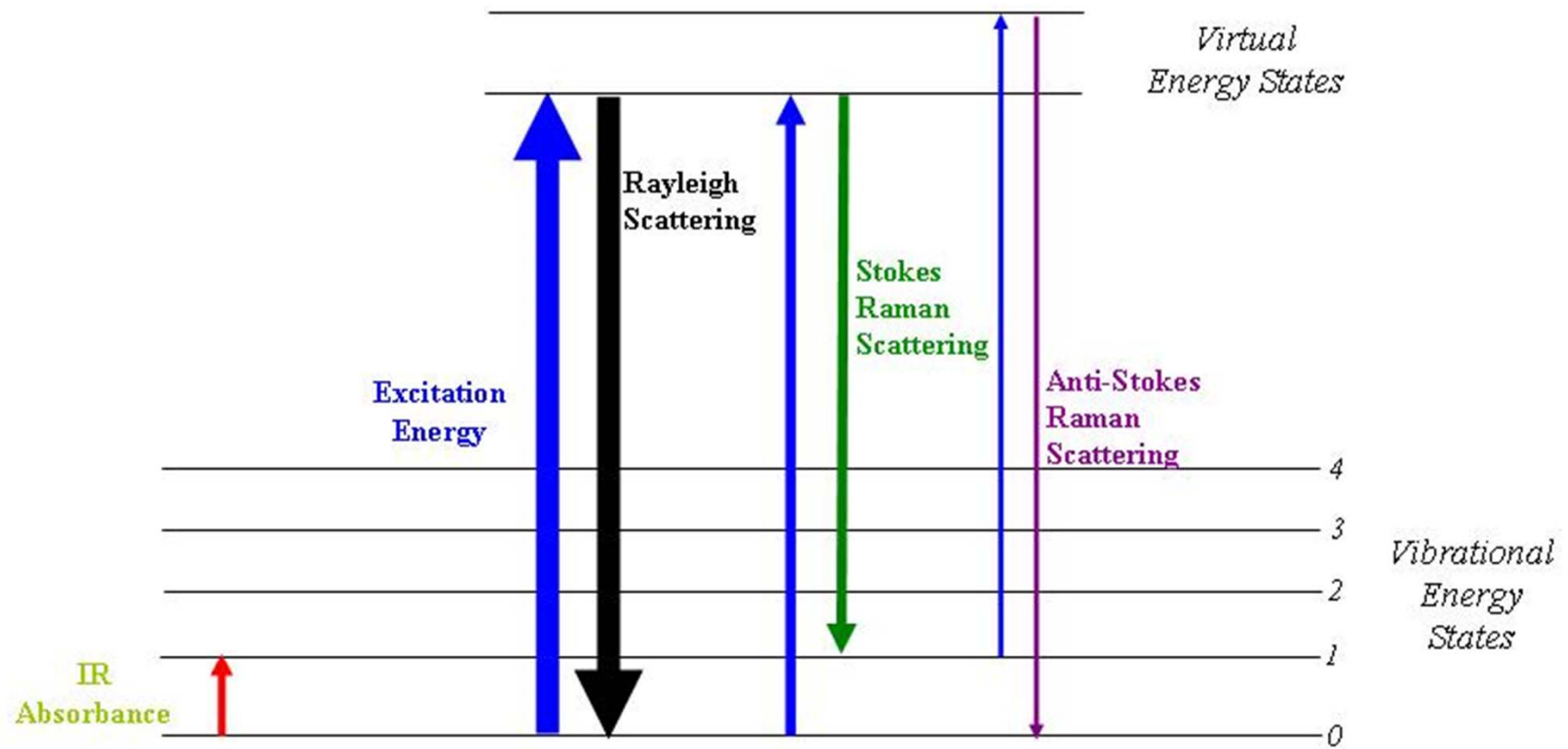


Ramanova spektrometrie

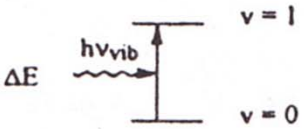
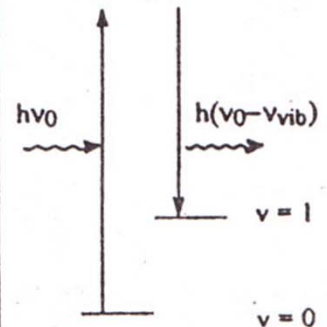
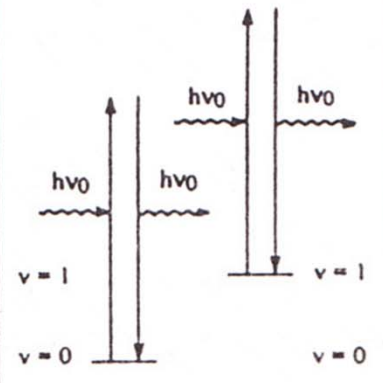
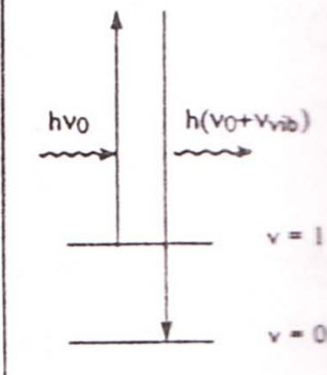
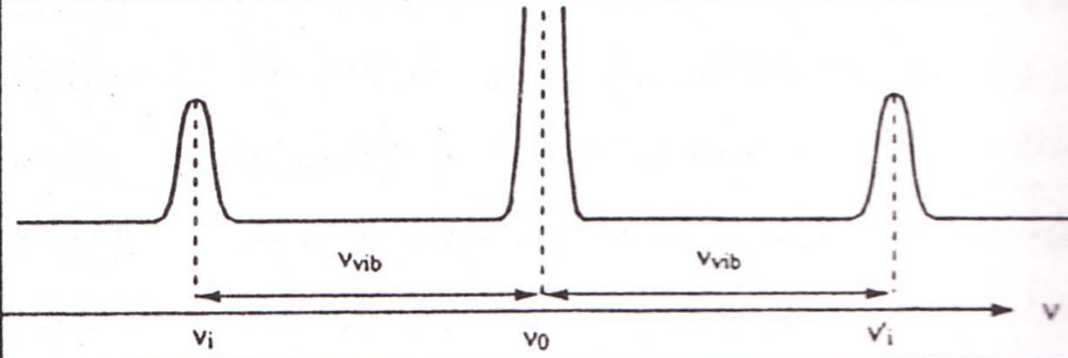
- Při průchodu záření roztokem může docházet kromě absorpce též k rozptylu
- K **rozptylu** může docházet buď na částech (Tyndalův efekt) nebo **na molekulách v roztoku**:
- **většina rozptýleného záření má stejnou energii a** tedy i vlnovou délku záření stejnou jako původní záření před rozptylem (dokonale pružné srážky)
- **malá část (ca. 1%) má λ posunutý oběma směry oproti původní λ** – tzn. Ramanův kombinační rozptyl poprvé popsán indickým fyzikem Ramanem (1930 Nobelova cena za fyziku)
- **Ramanův rozptyl** – neelastický rozptyl monochromatického záření vznikající při interakci mezi dopadajícím zářením a molekulami vzorku
- V molekule účastnící se interakce je **indukován dipólový moment**
- **Výhody Ramanovy spektrometrie** – není destruktivní, analýzy in-situ a in-vitro vhodné pro biologické aplikace



Ramanova spektrometrie

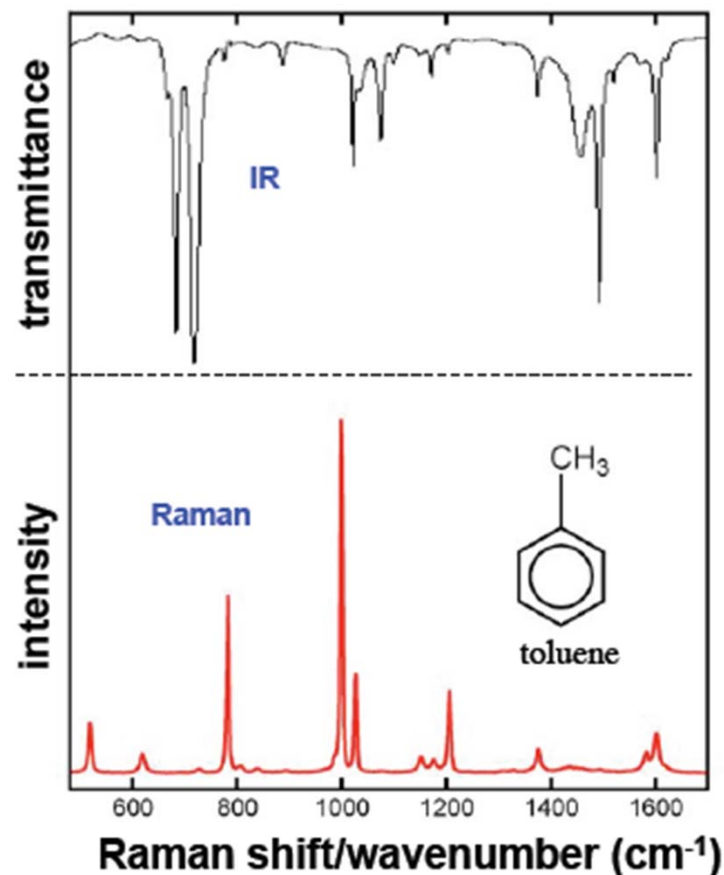


Aktivní přechody v IČ vs. Ramanova spektra

ABSORPCE (IČ SPEKTRUM)	ROZPTYL		
	RAMANŮV	RAYLEIGHŮV	RAMANŮV
	NEPRUŽNÁ SRÁŽKA $\Delta E > 0$ $\nu_i = \nu_0 - \nu_{vib} < \nu_0$	PRUŽNÁ SRÁŽKA $\Delta E = 0$ $\nu_i = \nu_0$	NEPRUŽNÁ SRÁŽKA $\Delta E < 0$ $\nu_i' = \nu_0 - \nu_{vib} < \nu_0$
 ABSORPČNÍ PÁS	 STOKESOVA LINIE	 RAYLEIGHOVA LINIE	 ANTI-STOKESOVA LINIE
 ν_{vib}	 ν_i ν_0 ν_i'		

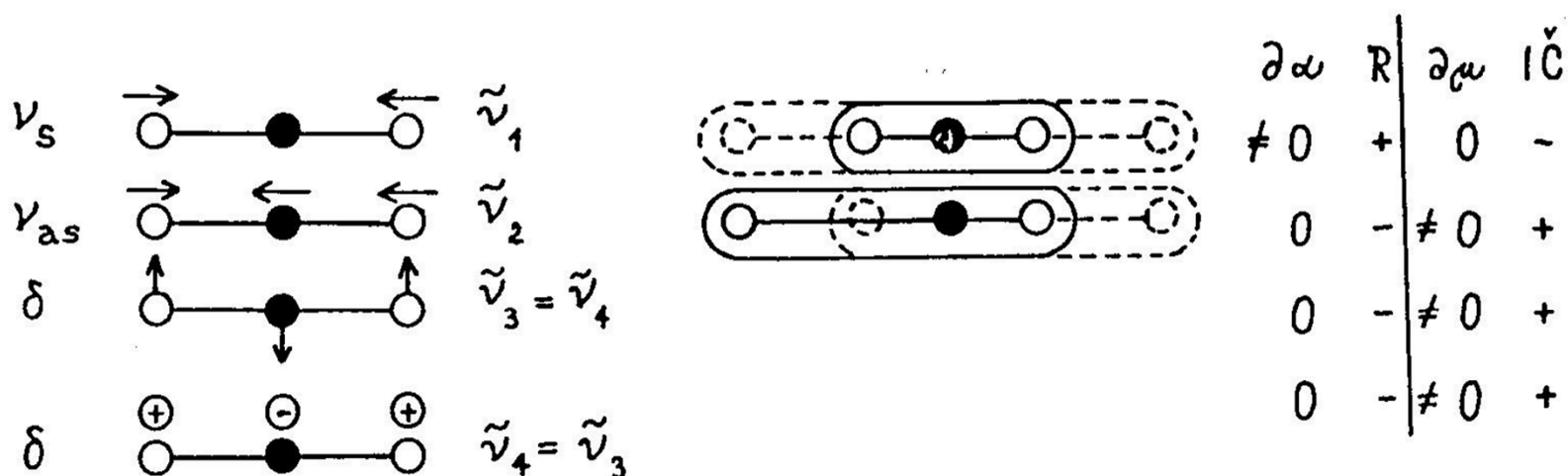
Porovnání aktivity v Ramanových vs. IČ spektrech

- **Podmínka aktivity v Ramanově spektru** – musí dojít ke změně polarizovatelnosti α neboli ke změně rozložení elektronové hustoty (intenzita pásu je úměrná druhé mocnině polarizovatelnosti)
- **Podmínka aktivity v IČ** – musí dojít ke změně dipólmomentu μ (intenzita pásu je úměrná druhé mocnině změny dipólového momentu)
- **Polární vazba** - obvykle aktivní v IČ
- **Nepolární vazba v symetrické molekule** - absorbuje málo v IČ, ale výrazně v Ramanově spektru
- **Molekuly s nízkou symetrií** – vibrační pásy pozorovatelné v obou typech spekter, ale s různou intenzitou
- **Molekuly s vysokou symetrií** – komplementární informace z obou typů spekter
- **Plně symetrické vibrace** – aktivní v Ramanově spektru, inaktivní v IČ



Porovnání aktivity v Ramanových vs. IČ spektrech

- **Podmínka aktivity v Ramanově spektru** – musí dojít ke změně polarizovatelnosti α neboli ke změně rozložení elektronové hustoty (intenzita pásu je úměrná druhé mocnině polarizovatelnosti)
- **Podmínka aktivity v IČ** – musí dojít ke změně dipólmomentu μ (intenzita pásu je úměrná druhé mocnině změny dipólového momentu)



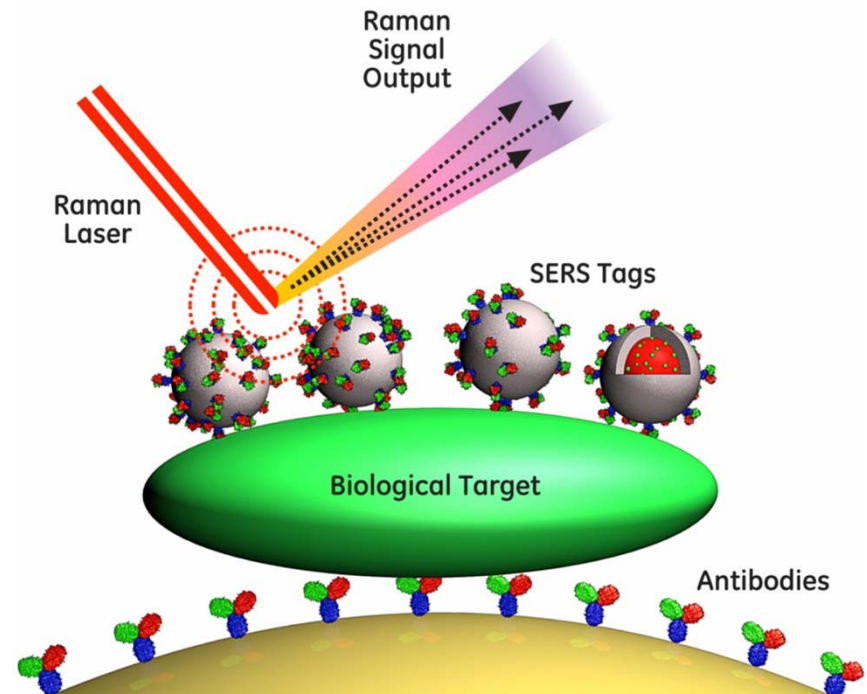
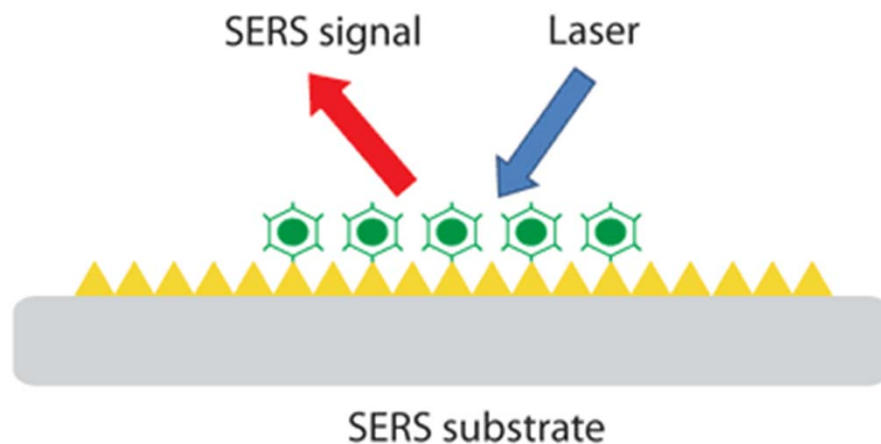
Obr. 86: Vibrace molekuly CO₂ a jejich aktivita v Ramanově a IČ spektru

Ramanova spektrometrie

- **Jakou informaci poskytují Ramanova spektra?**
 - identifikace na základě porovnání otisku prstu („fingerprint“) s knihovnou
 - trojrozměrná struktura, informace o mezimolekulárních interakcích, dynamika systému
 - Ramanovo spektrum je jednodušší než IČ, nemá vibrace vyššího řádu
 - na rozdíl od IČ může studovat některé anorganické materiály (uhlík, křemín, těžké kovy) a symetrické disulfidické vazby u proteinů
- **Co bránilo většímu rozšíření Ramanovy spektrometrie?**
 - pouze 1 z 10^8 fotonů je rozptýlen Ramanovým efektem (velmi neefektivní)
 - typické srážkové průměry jsou 10^{-30} cm², což je o 15 řádů méně oproti fluorescenční excitaci
 - složitější kvantitativní analýza – signál nemá lineární závislost na koncentraci, nutno použít složitější kalibrační modely a chemometrii
- povrchem dochází k zesílení Ramanova signálu 10^3 – 10^6 násobně – základní princip **povrchem zesílené Ramanovy spektrometrie (Surface Enhanced Raman Spectrometry, SERS)**

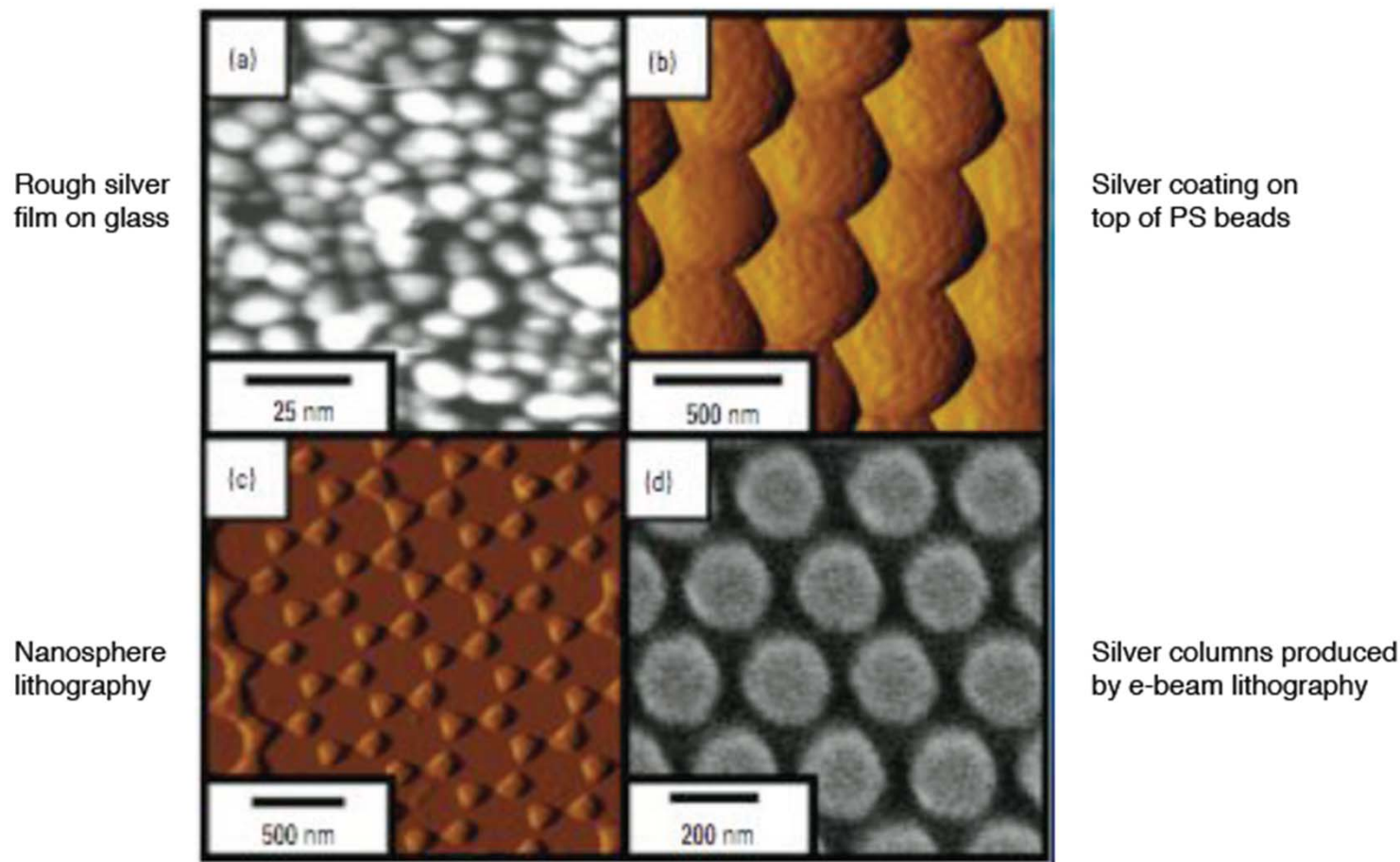
Povrchem zesílená Ramanova spektrometrie (SERS)

- Na zesílení se používají zlato, stříbro, měď nebo platina, obvykle ve formě nanočástic
- Vyžaduje **drsný povrch řádově v nanometrech**, záleží na λ
- Pro některé molekuly (většinou obsahující dvojně vazby s uhlíkem) obrovská citlivost, popsána až analýza jednotlivých molekul
- Pro analýzu povrchů, vhodná např. pro biomolekuly
- Prostorové rozlišení <500 nm laterálně, <1 μm vertikálně



Aktuální trendy v SERS

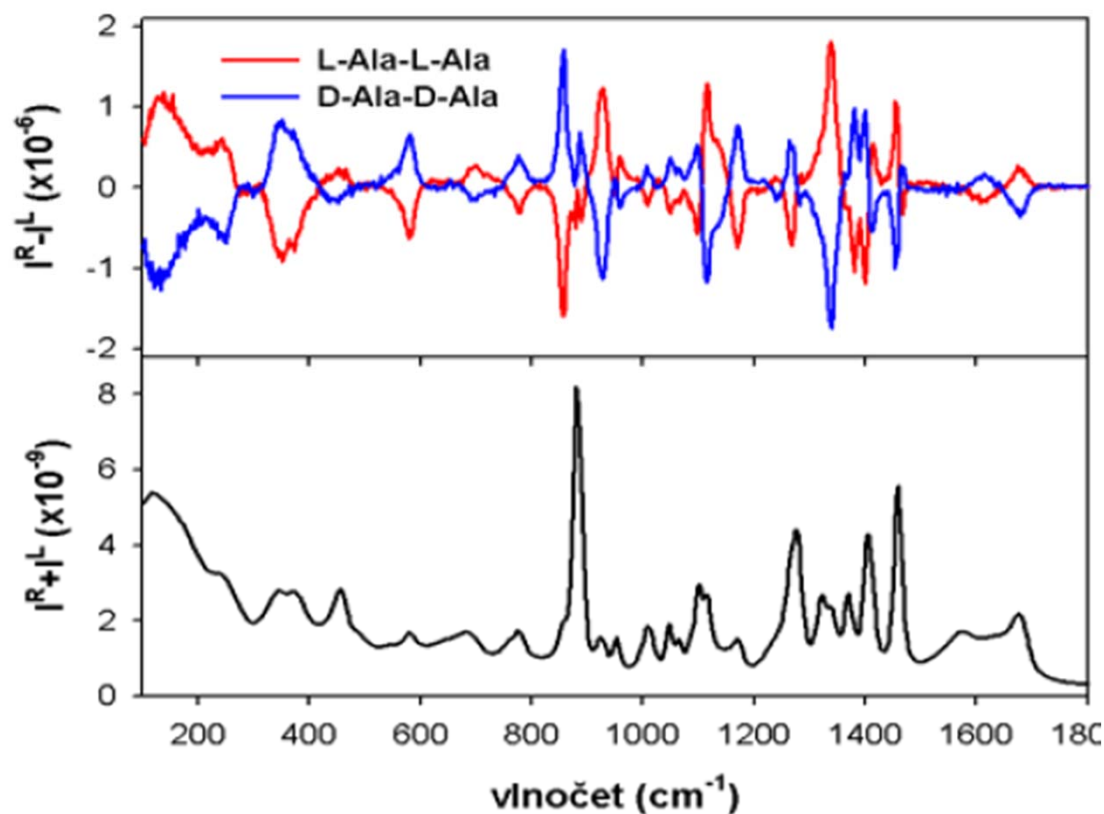
- V současné době se intenzivně zkoumají různé typy povrchů s nejlepšími vlastnostmi SERS, zejména různé typy nanočástic zlata



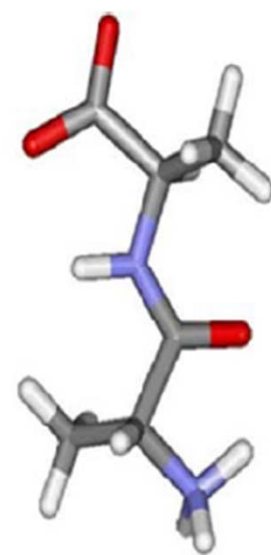
- Kombinace SERS a skenující mikroskopie – analýza in-situ

Ramanova optická aktivita (ROA)

- Technika vibrační diferenční spektrometrie, která pomocí Ramanova jevu měří rozdíl v **odezvě chirální molekuly vůči pravo- a levotočivě kruhově polarizovanému záření**
- Výsledkem měření 2 spektra - vlastní (diferenční) ROA spektrum a zdrojové (sumární) Ramanovo spektrum



L-alanyl-L-alanine



D-alanyl-D-alanine

- Určení chirality a směru stáčitosti pro tu část molekuly, která se dané vibrace účastní

Ramanova spektrometrie - instrumentace

- Instrumentace podobná IČ spektrometrii
- Zdroj monochromatického záření je obvykle laser (He-Ne, Ar, Kr, Nd:YAG, laditelné lasery)
- Výhodou excitace v UV-VIS oblasti je vyšší intenzita rozptylu, protože intenzita rozptylu klesá se čtvrtou mocninou vlnové délky excitujícího záření

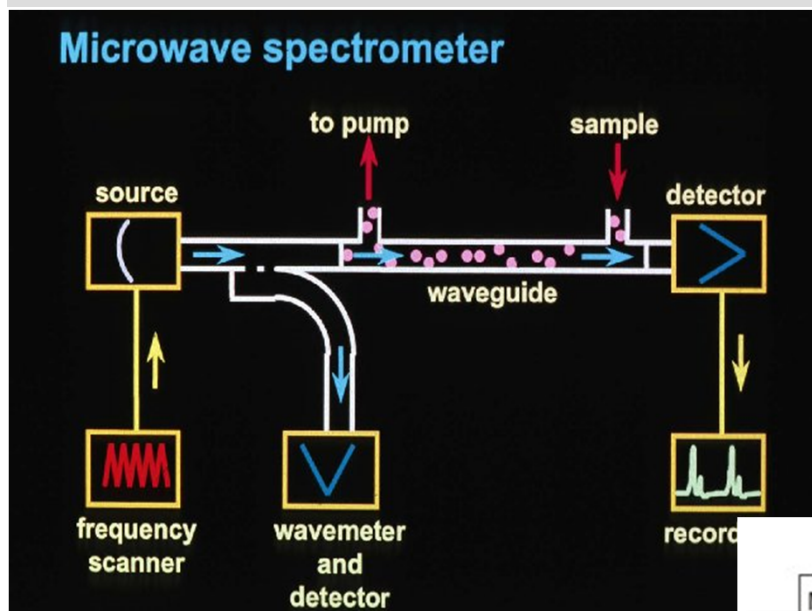


Ramanův spektrometr
FirstDefender



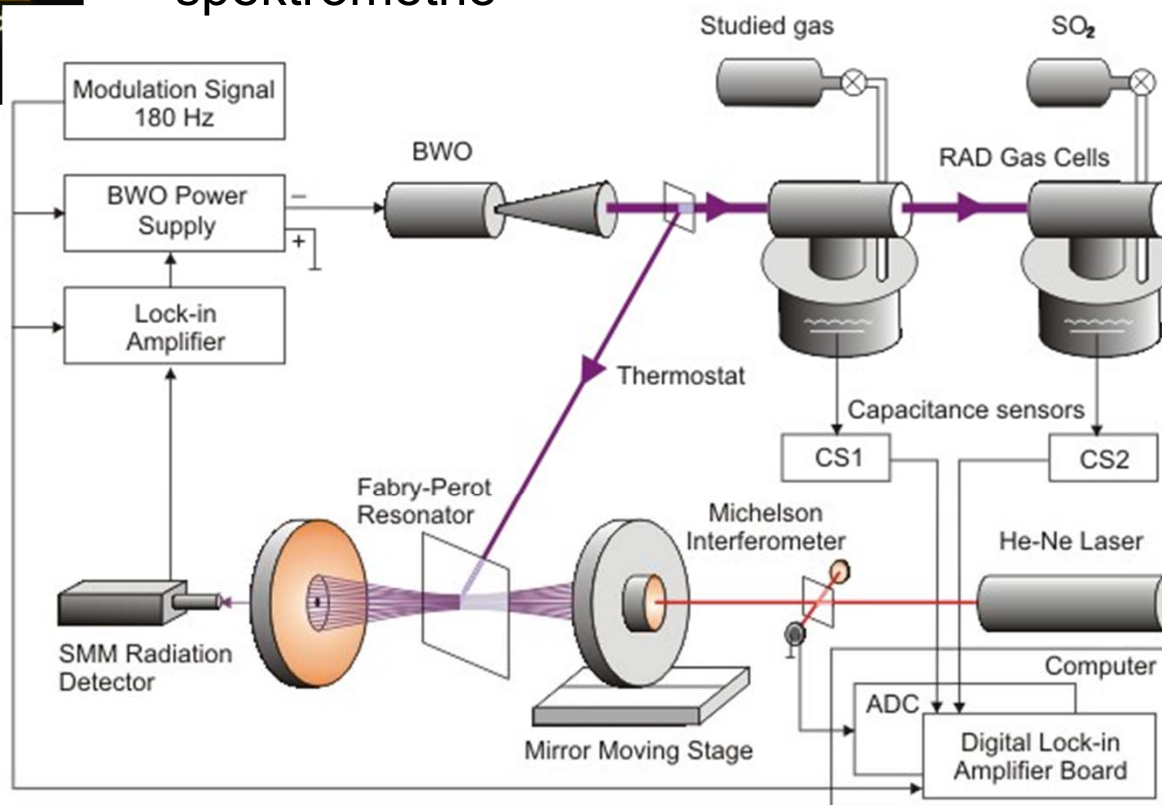
FT-IR spektrometr Nicolet 6700 v
kombinaci s Ramanovým FT modulem

Mikrovlnná spektrometrie

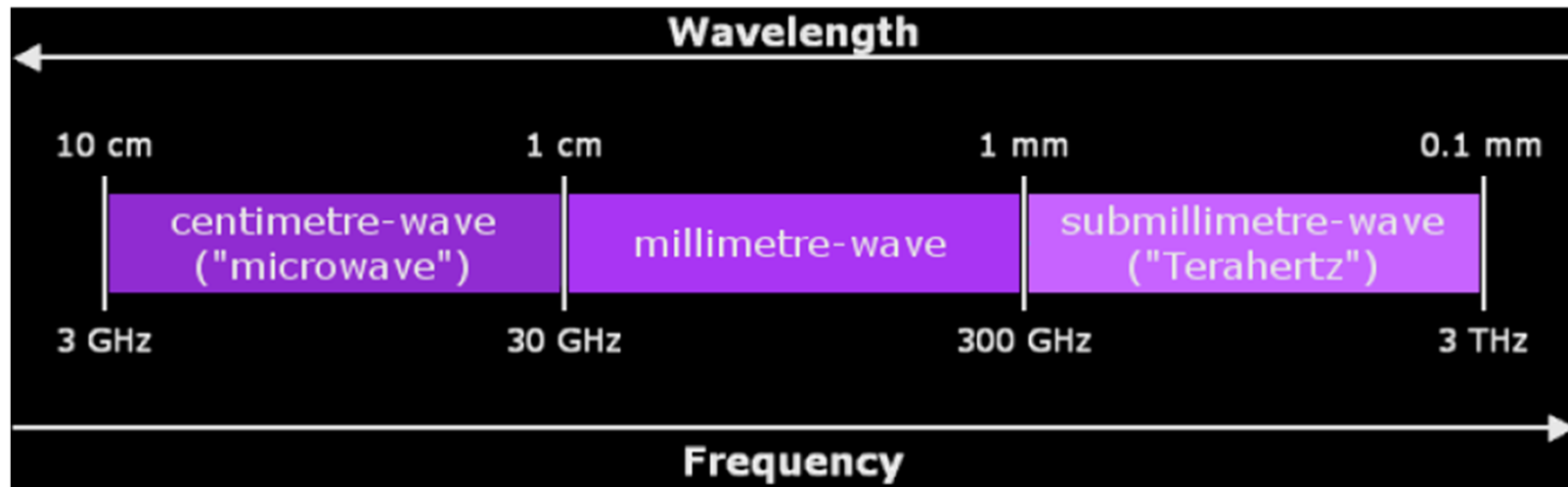


- Využití zejména ve fyzice a astrofyzice, v analytické chemii okrajová technika

- Rotační spektrometrie – **měření energií přechodů mezi 2 kvantovanými rotačními stavy molekuly v plynné fázi**
- Spektra polárních molekul lze měřit mikrovlnnou nebo vzdálenou IČ spektrometrií, rotační spektra nepolárních molekul lze také měřit pomocí Ramanovy spektrometrie

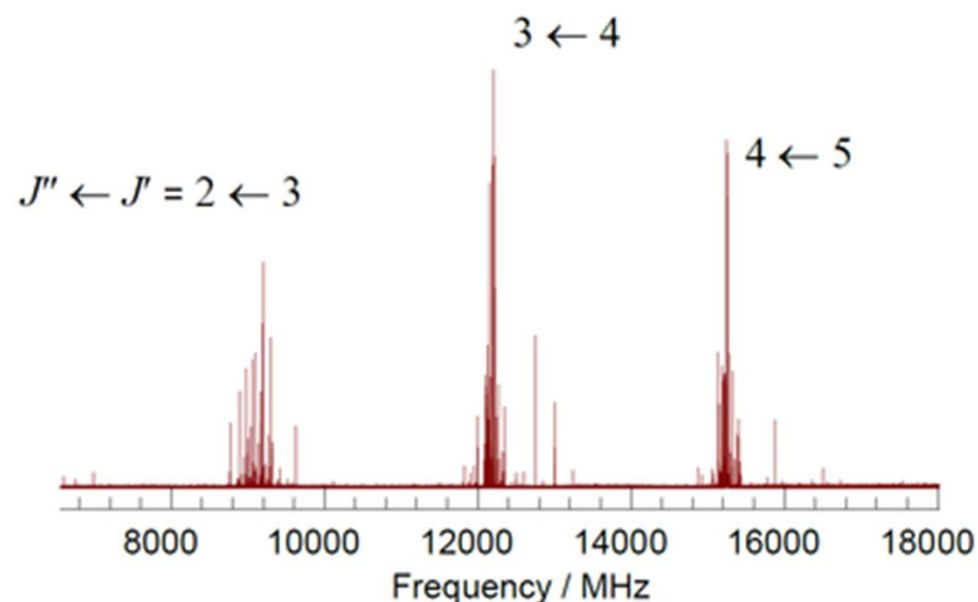
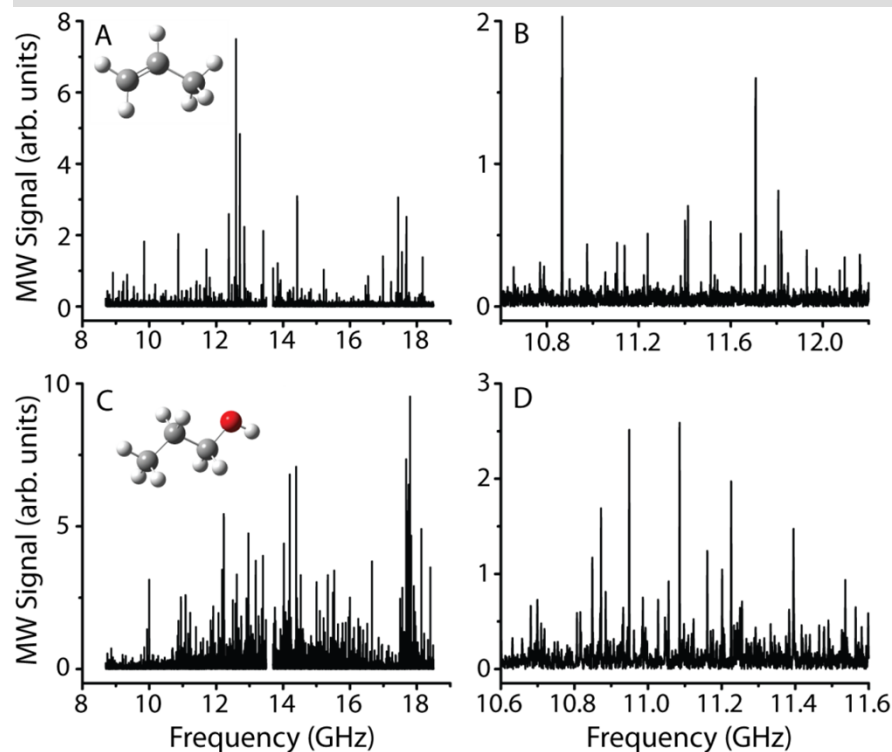


Mikrovlnná spektrometrie



- **Zdroj:** klystron s laditelnou frekvencí ca. 10 – 50 GHz
- **Kyveta:** podle rozsahu frekvencí, obvykle 3 metry
- **Detektor:** krystalové diody (mění mikrovlnné záření na stejnosměrný proud), bolometr
- Vysoká rozlišovací schopnost umožňuje ve spektru rozlišit až několik miliónu pásů

Mikrovlnná spektra - příklady



- Mikrovlnná spektra měřená za laboratorní teploty (16 hodin akumulace spekter): A, B – propen, C, D – propanol
- Část rotačního spektra CF_3I – kvantové číslo J označuje finální a původní stav (přechody jsou výrazně rozštěpeny kvůli jaderného kvadrupólovému štěpení ^{127}I)