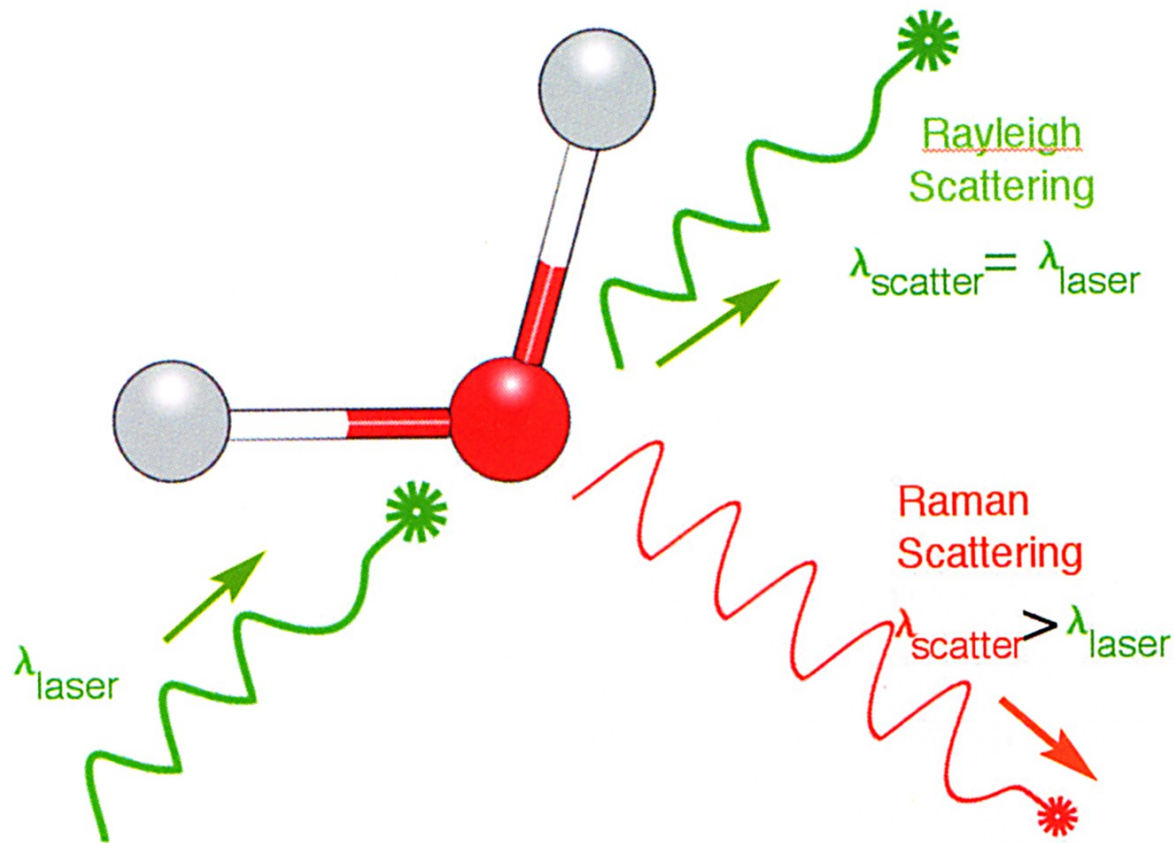
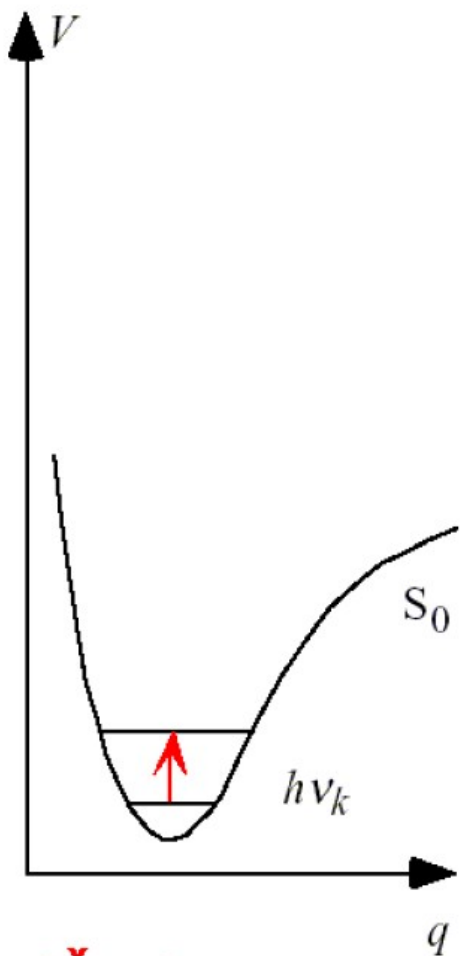


# Lasery – Ramanova spektrometrie

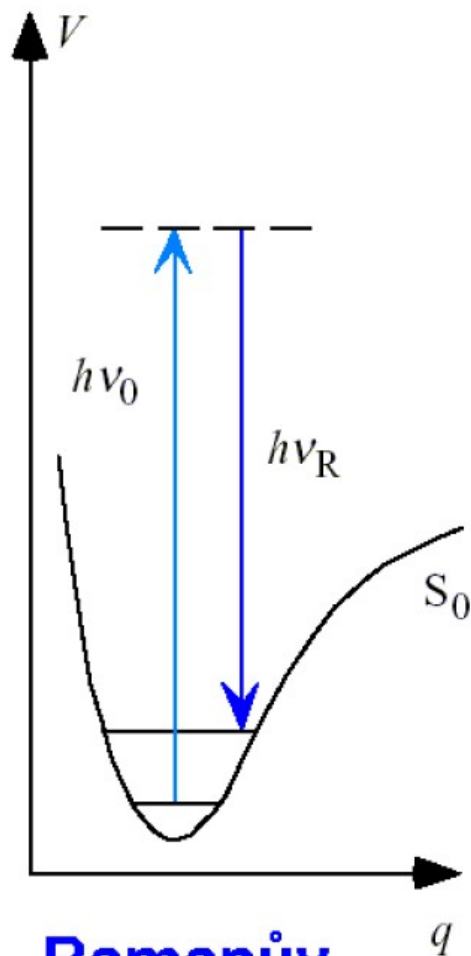
Vítězslav Otruba



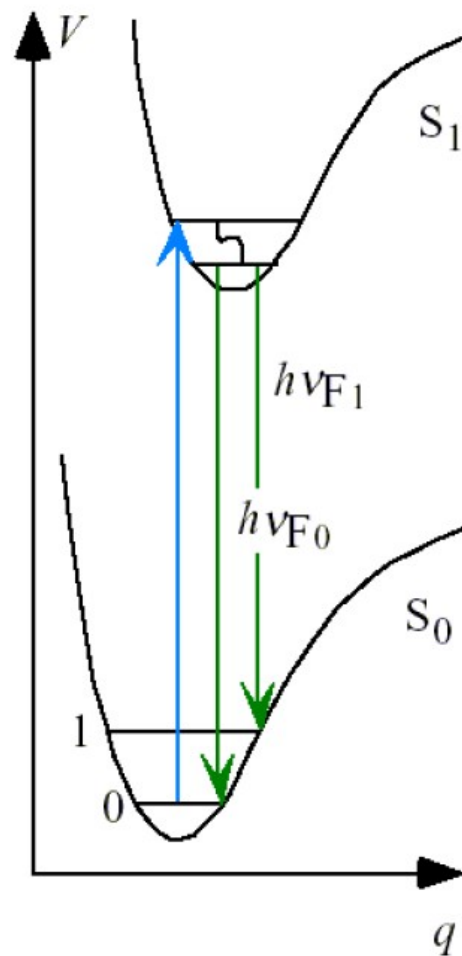
***Raman scattering provides highly specific and non-destructive information on molecular vibrations, enabling analysis often not obtainable from other techniques such as fluorescence, chromatography and optical microscopy.***



**IČ absorpce**



**Ramanův rozptyl**



**Fluorescence**



# Podstata Ramanova jevu

---

## ROZPTYL ZÁŘENÍ

rozptýlený foton má odlišnou energii oproti dopadajícímu

zářivý dvoufotonový přechod mezi dvěma stacionárními vibračními stavy molekuly jejichž energie jsou  $E_1$  a  $E_2$ ,

vyvolaný interakcí s fotonem dopadajícího záření

o frekvenci

$$\nu_0 > (E_2 - E_1) / h,$$

provázený vyzářením rozptýleného fotonu o energii

$$h\nu_R = h\nu_0 \pm (E_2 - E_1),$$

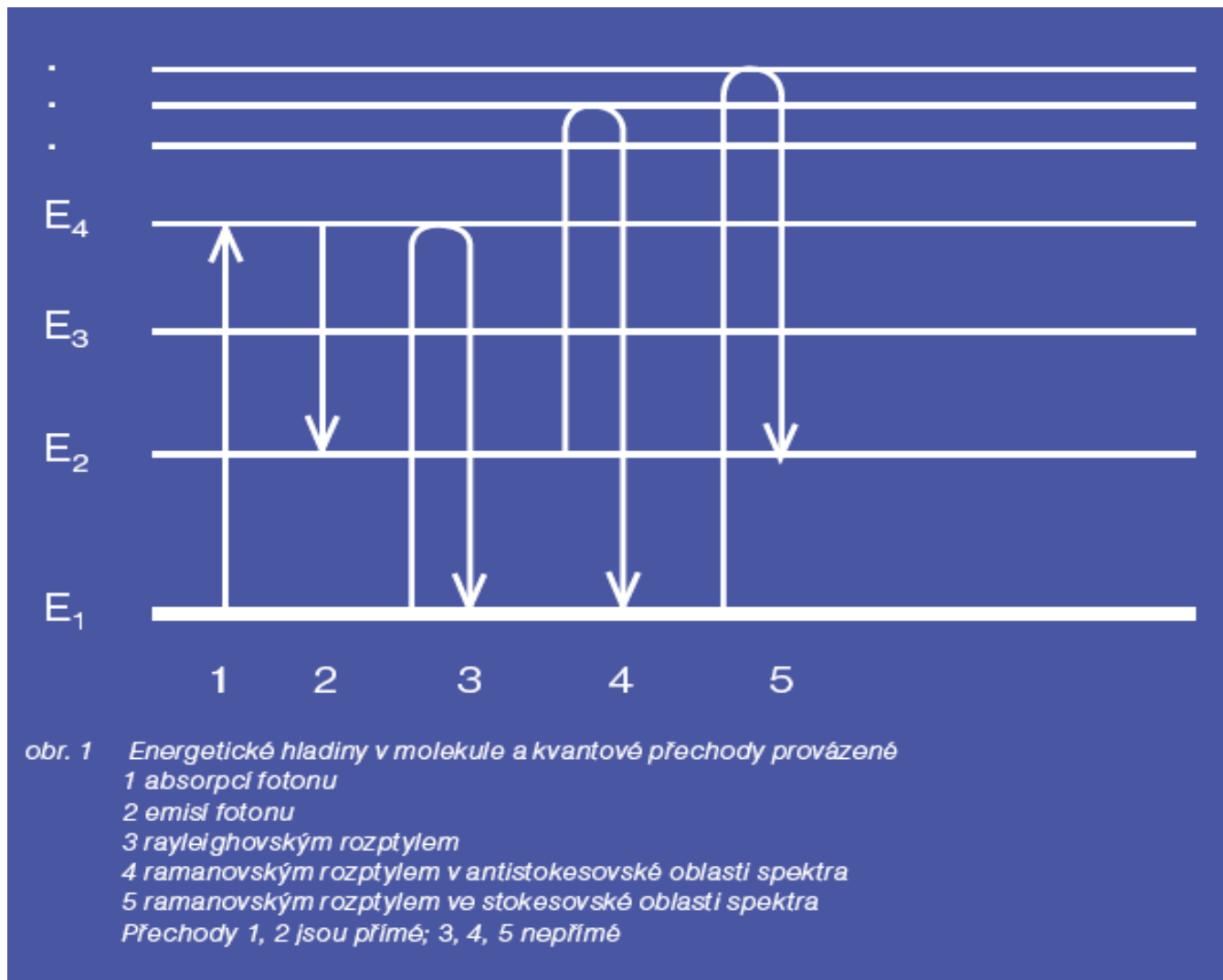
kde  $h\nu_{\text{vib}} = E_2 - E_1$

Rozptýlené fotony nesou informace o energetickém spektru rozptylového centra i prostorové orientaci konkrétní chemické vazby, tedy jakési molekulární „vizitky“. Bez speciálních opatření je však tímto způsobem rozptylován pouze jediný foton ze stovek miliónů až stovek miliard dopadajících fotonů. Účinný průřez Ramanova rozptylu je zhruba  $10\text{--}30 \text{ cm}^2$ .





Rozptyl světla se děje ve všech směrech kolem rozptylující částice.



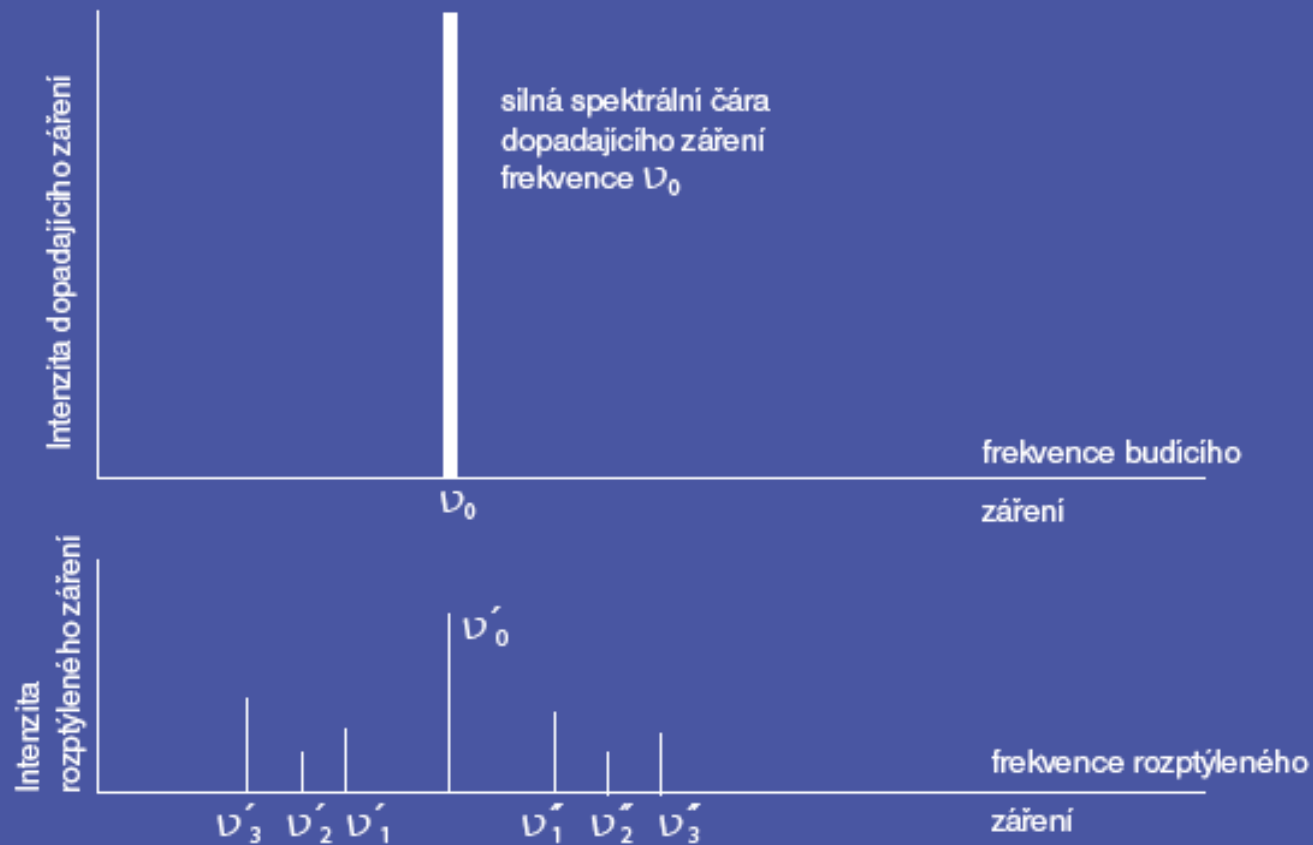
# Rayleighův (molekulární) rozptyl

---

Lord John Rayleigh správně shledal, že intenzita rozptýleného záření je přímo úměrná čtvrté mocnině frekvence záření, čili nepřímo úměrná téže mocnině jeho vlnové délky; rozptyl světla se děje ve všech směrech kolem rozptylující částice a že je dokonce trojího druhu: rozptyl skalární, u něhož je intenzita ve všech směrech stejná, rozptyl symetrický a antisymetrický, jejichž intenzita je různá v různých směrech, stejně jako polarizace rozptýleného záření. Přitom dopadá-li na částici jednobarevné světlo frekvence  $\nu_0$  pak také rozptýlené záření má tutéž frekvenci  $\nu_0'$ , jeho intenzita je však mnohem nižší než intenzita dopadajícího záření; v tom případě říkáme, že spektrum rozptýleného záření je tvořeno jedinou spektrální čarou. Při všech experimentech Rayleighových současníků se tato teorie potvrzovala. Ani on ani nikdo z jeho současníků ovšem nemohl tehdy tušit, že existuje nejméně deset typů rozptylu světla, ani to, že modř oblohy není způsobena rozptylem světla na jednotlivých molekulách, ale na tzv. fluktuacích hustoty atmosféry, tj. na nahodilých okamžitých shlucích molekul obsažených v atmosféře, které trvají nesmírně krátkou dobu, totiž jen po dobu srážky nejméně tří takových molekul.

---





obr. 2 Spektrální čáry dopadajícího a rozptýleného záření

$\nu'_0$  rayleighovská spektrální čára rozptýleného záření

$\nu'_1 = \nu_0 - f_1$ ,  $\nu'_2 = \nu_0 - f_2$ ,  $\nu'_3 = \nu_0 - f_3$  jsou frekvence ramanovských spektrálních čar v antistokesovské oblasti spektra (nalevo od  $\nu'_0$ )

$\nu''_1 = \nu_0 + f_1$ ,  $\nu''_2 = \nu_0 + f_2$ ,  $\nu''_3 = \nu_0 + f_3$  jsou frekvence v antistokesovské oblasti spektra, přičemž frekvence  $f_1, f_2, f_3$  jsou frekvence mechanických kmitů uvnitř molekuly

# Ramanův rozptyl

---

Indický fyzik Raman za svůj objev rozptylu světla na jednotlivých molekulách roku 1928 dostal hned po dvou letech Nobelovu cenu za fyziku, neboť tím dal nejen nástroj fyzikům i chemikům k identifikaci druhu molekul čistě optickou cestou, ale také možnost zjišťovat symetrii, geometrickou strukturu a dynamiku uvnitř molekul, a to čistě opticky, čili poměrně nenáročnou cestou metodicky i finančně. Raman však nebyl jediným objevitelem, i když byl jediným nobelovským premiantem; kolem tohoto jedinečného optického objevu se točí nejméně sedm jmen fyziků a optiků: Adolf Smekal, Ch. V. Raman, K. S. Krishnan, L. I. Mandelštam, G. S. Landsberg, G. Placzek a G. Herzberg.



# Adolf Gustav Stephan Smekal

---

- ▶ Adolf Gustav Stephan Smekal (12. 9. 1895 Vídeň – 7. 3. 1959 Štýrský Hradec) v září roku 1923 teoreticky předpověděl, že projde-li monofrekvenční světlo molekulou, musí být na vycházejícím paprsku namodulovány také frekvence mechanických kmitů této molekuly, čili vedle paprsku s frekvencí rovnou frekvenci dopadajícího záření  $\nu_0$  se musí objevit také frekvence  $\nu_0 \pm f$ , kde  $f$  je frekvence oněch vnitřních kmitů molekuly. Tohoto závažného, takřka prorockého výsledku si však prakticky nikdo ani nevšiml, pokus nikdo neudělal a nad čistou teorií asi všichni mávli rukou.
- 



# Experimentální ověření Ramanova rozptylu

---

Teprve v roce 1928 Rusové Leonid Isaakovič Mandelštam (5. 5. 1879 Mogilev – 27. 11. 1944 Moskva) a Grigorij Samuilovič Landsberg (22. 1. 1890 Vologda – 2. 2. 1957 Moskva) vypracovali podrobnější teorii oné modulace frekvence u průhledného krystalu na frekvenci dopadajícího paprsku. Pak začali shánět vhodný krystal, nejlépe velký čirý diamant, aby provedli příslušný pokus. Trvalo ovšem nějakou dobu, než na trhu koupili od vdovy po zavražděném carském generálovi potřebný prsten, provedli pokusy a do vědeckého německého časopisu poslali příslušný článek. Ten však prý jim byl vrácen pro stylistické či pravopisné chyby k přepracování. Redakci se asi také nelíbily prvky z jazyka jidiš, na který byli autoři zvyklí.



# Čandrasekhara Venkata Raman

---

Indický fyzik Raman (7. 11. 1888 Tiruchinapali – 21. 11. 1970 Bangalore), absolvent matematiky a fyziky na indických i anglických univerzitách, znal perfektně jak fyziku, tak angličtinu.

V Německu byl v té době nadbytek fyziků – nemuseli totiž nastoupit do armády za 1. světové války. Německých fyziků se ujal nakladatel Springer tím, že se rozhodl fyzikální vědění shrnout v *Handbuch der Physik*. Redakce zadala kapitolu o akustice indickému odborníkovi Ramanovi, který za honorář pobyl u Středozemního moře. Tam si všiml obzvláště sytě modré oblohy, jakou v Indii nemají. Po návratu domů uložil svým asistentům vyfotografovat rozptylová spektra benzenu, vody aj. při rozptylu buzeném čarami rtuti. Po až tří denních expozicích byly zjištěny kolem rayleighovské čáry ještě slabounké čáry na straně krátkovlnné i dlouhovlnné. Spolu s K. S. Krishnanem okamžitě poslal více než celostránkový telegram o svém objevu do *Nature* s poznámkou, že jde o obdobu Comptonova rozptylu fotonu na elektronu. Rusové sice poslali do Německa článek dříve, ale uveřejněn byl později. Od té doby se ve vědeckých časopisech musí uvádět datum přijetí první verze článků. Svoji nevoli nad uznáním Ramana nobelovským výborem vyjadřují Rusové tak, že Ramanův rozptyl nazývají jediné kombinační rozptyl a Němci mu zase říkají Smekalův-Ramanův rozptyl.

---



# Teorie Ramanova jevu

---

Důkladnou teorii tohoto jevu vypracoval až brněnský rodák, německy mluvící Georg Placzek, který proslul nejen jako významný teoretický fyzik, ale i jako jazykový fenomén, neboť mluvil plynule deseti jazyky - hebrejsky, arabsky a ovšem všemi světovými jazyky. Posledním rysem se lišil od svého přítele Einsteina, který uměl jen německy a ani anglicky se za léta dobře nenaučil. Placzek proto měl na všechny západní univerzity dveře otevřené a z Moravy odešel před nacisty do ciziny. Později pracoval na teorii atomového jádra v Los Alamos, takže po válce vyšel nejeden oslavný článek o tom, jak se slavný český fyzik z Brna zasloužil o vznik atomové pumpy. Ani Nobelovu cenu nezískal, neboť mj. participoval také na vojenských výzkumech.

Gerhard Herzberg vypracoval teorii spekter molekul a iontů na základě Ramanova rozptylu a infračervených spekter a dostal Nobelovu cenu za chemii.

Vedle vynálezu laseru a holografie jde u Ramanova rozptylu patrně o největší vědecký výkon v optice 20. století, obohacený o objevy dalších modifikací Ramanova rozptylu, jako jsou např. hyperramanovský rozptyl, CARS, SRS a další.

---





# Princip Ramanovy spektrometrie 1

---

- ▶ Podstatou Ramanova rozptylu je zářivý dvoufotonový přechod mezi dvěma stacionárními vibračními stavy molekuly, jejichž energie jsou  $E_1$  a  $E_2$ , vyvolaný interakcí s fotonem dopadajícího záření o frekvenci  $\nu_0 > |E_2 - E_1| / h$ , kde  $h$  je Planckova konstanta, a provázený vyzářením fotonu rozptýleného záření o frekvenci  $\nu_R$ . Tento rozptylový efekt si lze zjednodušeně představit jako současnou absorpci fotonu budícího záření molekulou, kdy molekula přechází na virtuální energetickou hladinu, a emisi sekundárního fotonu, za splnění podmínky zachování energie:

$$h\nu_R = h\nu_0 \pm (E_2 - E_1) \quad (1)$$

- ▶ Existuje několik možností takto uskutečněného přechodu podle polohy virtuální energetické hladiny vůči vlastním stavům molekuly (např. normální a rezonanční Ramanův jev).



# Princip Ramanovy spektrometrie 2

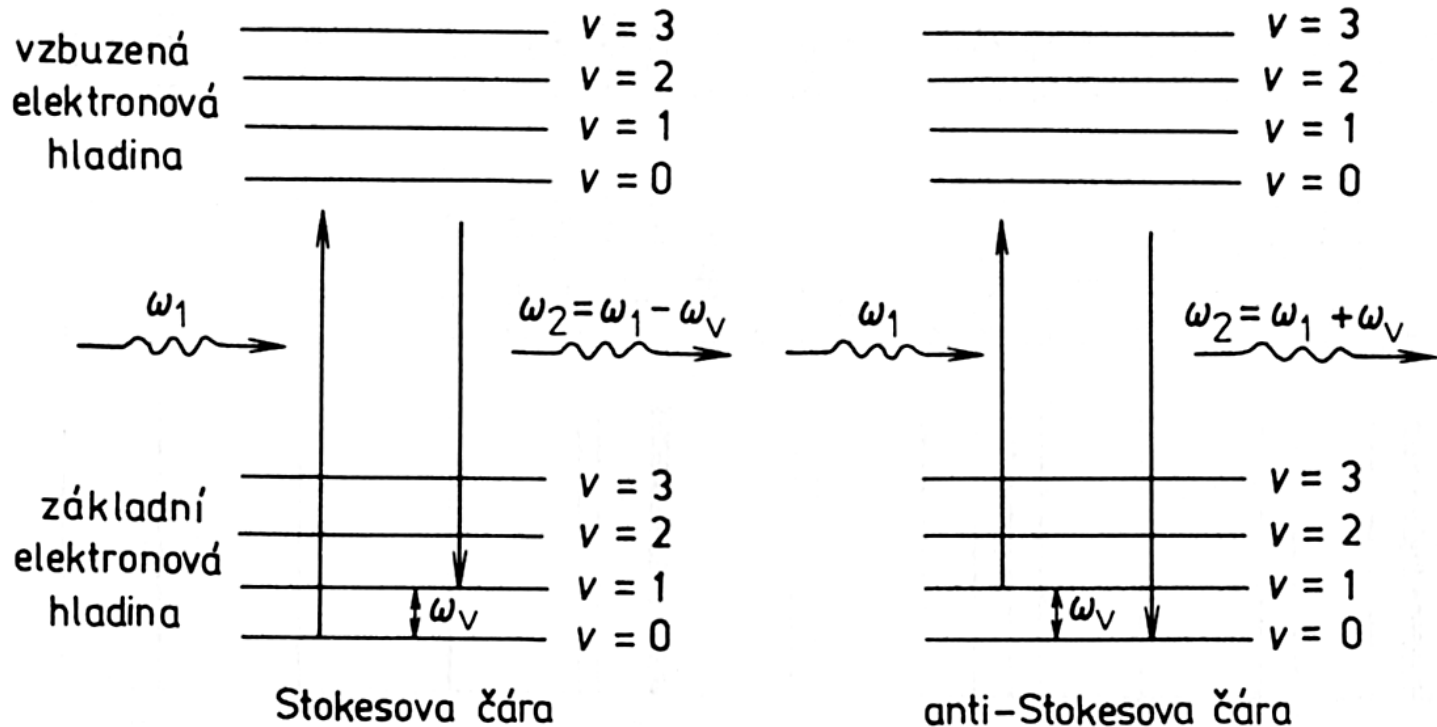
V klasickém přiblížení platí pro molekulu interagující se zářením, že v molekule je indukován dipólový moment  $\mathbf{p}$ :

$$\mathbf{p} = \alpha \mathbf{E} \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \frac{\partial \alpha}{\partial q} q \mathbf{E} \left\{ \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_{\text{vib}}) t] + \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_{\text{vib}}) t] \right\}$$

kde  $\nu_0$  je frekvence budícího záření,  $\nu_{\text{vib}}$  je vibrační frekvence,  $\mathbf{E}$  je vektor intenzity elektrického pole dopadajícího záření,  $q$  jsou vnitřní souřadnice molekuly a  $\alpha$  je polarizovatelnost molekuly (polarizibilita, tj. míra „obtížnosti“, s níž se vychylují negativní náboje elektrickým polem). Z rovnice vyplývá, že molekula emituje záření s nezměněnou frekvencí ( $\nu_0$  - Rayleighův rozptyl) a dále záření s frekvencemi  $(\nu_0 + \nu_{\text{vib}})$  a  $(\nu_0 - \nu_{\text{vib}})$ , které se souhrnně nazývají Ramanův rozptyl, při čemž nižší frekvence ( $\nu_0 - \nu_{\text{vib}}$ ) odpovídá Stokesovu rozptylu, zatímco vyšší frekvence ( $\nu_0 + \nu_{\text{vib}}$ ) náleží anti-Stokesovu rozptylu. Z rovnice je též zřejmé, že pro vznik Ramanovy linie je nutné, aby při daném vibračním pohybu docházelo ke změně polarizovatelnosti, tedy aby

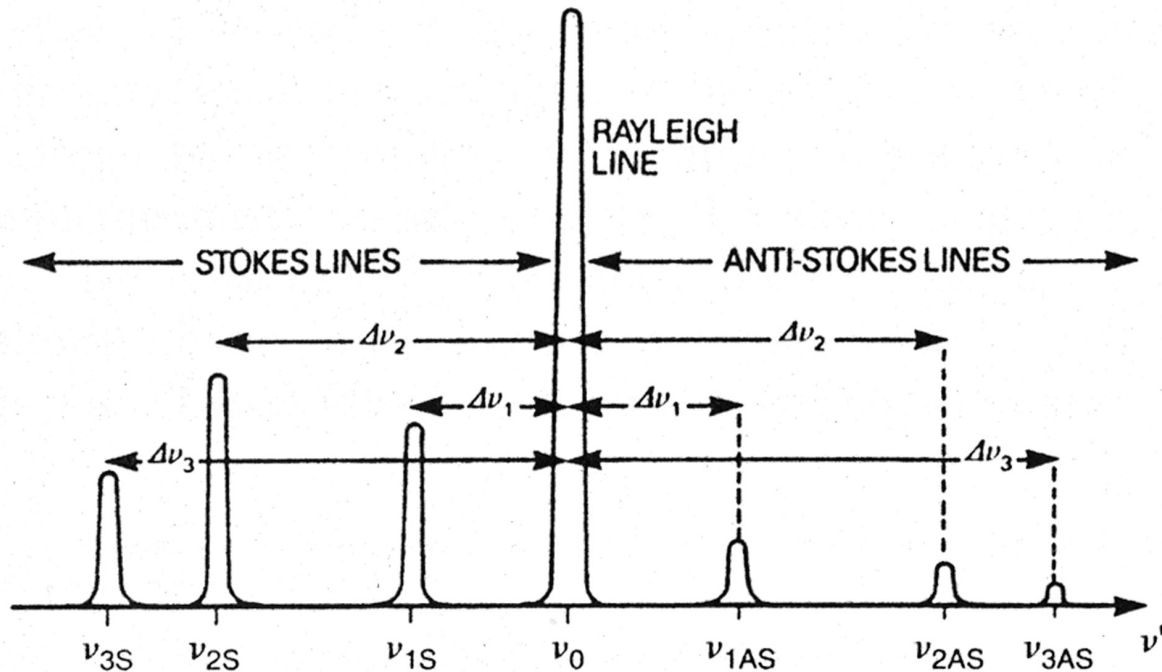
$$\frac{\partial \alpha}{\partial q} \neq 0$$

# Ramanova spektra nerezonanční



Velikost frekvenčního posuvu  $\omega_V$  nezávisí na frekvenci dopadajícího záření  
Pravděpodobnost Ramanova jevu roste se čtvrtou mocninou frekvence dopadajícího záření a má o tři řády menší pravděpodobnost než rozptyl Rayleighův

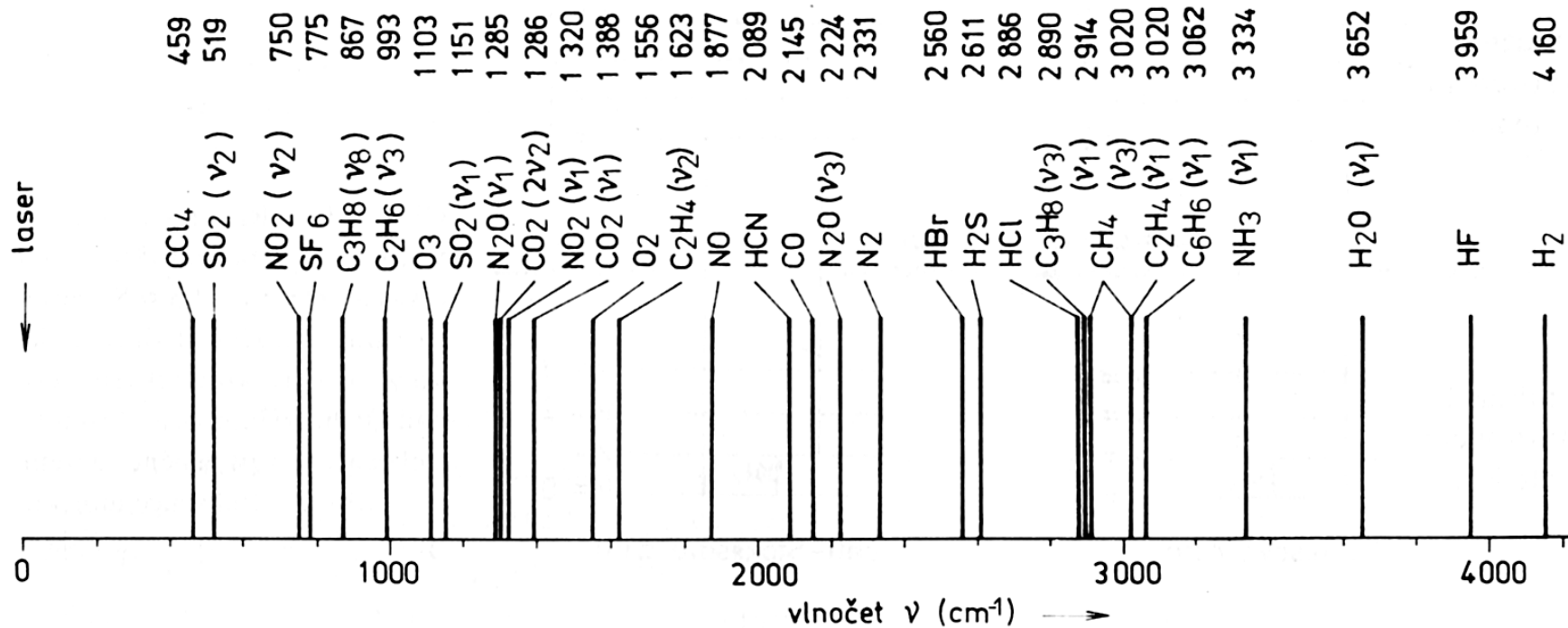
# Ramanovo spektrum



Model Raman spectrum showing the intensity of light scattered with frequency  $\nu'$

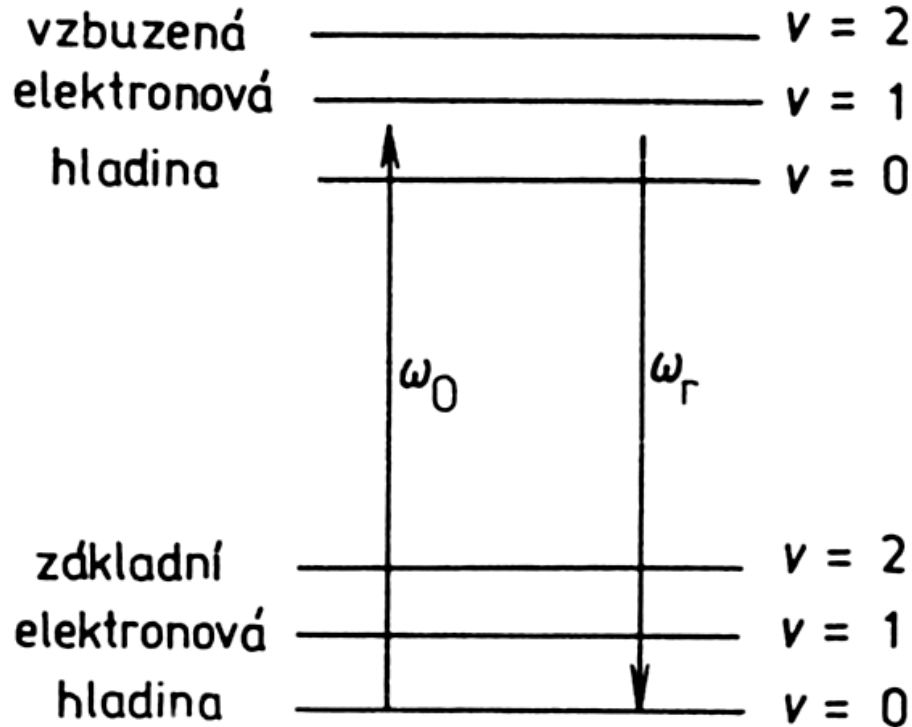
$$I_{AS}/I_S = \left\{ \frac{\nu_0 + \Delta\nu}{\nu_0 - \Delta\nu} \right\}^4 (g_2/g_1) \exp(-h\Delta\nu/kT)$$

# Ramanovo spektrum látek přítomných v atmosféře



Spektrum ramanovského lidaru

# Ramanova spektra rezonanční



K rezonančnímu Ramanovu rozptylu dochází v případě, kdy frekvence záření dopadajícího na rozptylující částici souhlasí nebo se blíží frekvenci kvantového přechodu částice. Proti intenzitě záření nerezonančního Ramanova rozptylu může být intenzita vyšší o 3 až 6 řádů.



# Rezonanční Ramanův rozptyl

---

- ▶ virtuální hladina v blízkosti elektronově excitovaného stavu
- ▶ UV rezonanční Ramanova spektroskopie – nukleové kyseliny, proteiny
- ▶ Viditelná oblast – koordinanční sloučeniny, organická barviva, hemoproteiny
- ▶ NIR – „prerezonance“ ? – nízkoenergetické elektronové přechody
- ▶ Excitační profily – závislost Ramanových spekter (vybraných pásů) na excitační vlnové délce



# Rezonanční Ramanova spektrometrie

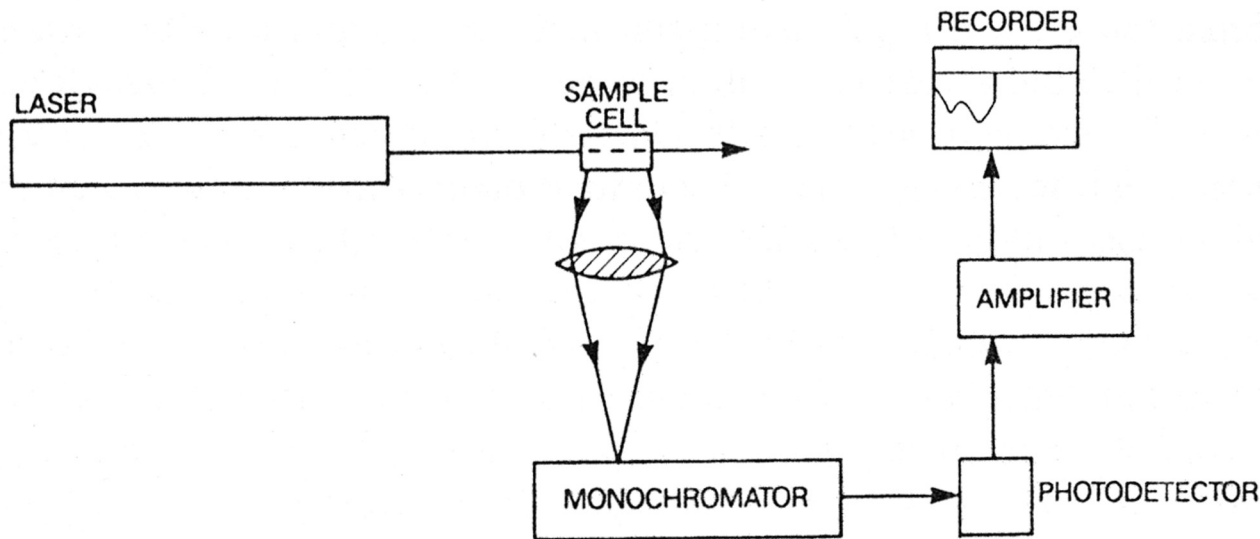
---

- ▶ Faktor zesílení 10<sup>2</sup>–10<sup>4</sup>
- ▶ Praktické aspekty
  - ▶ U roztoků – otázka volby koncentrace a pozice excitačního paprsku
  - ▶ Samoabsorpce
  - ▶ Fluorescence
  - ▶ Volba geometrie paprsku, fokusace
  - ▶ Koncentrační profil





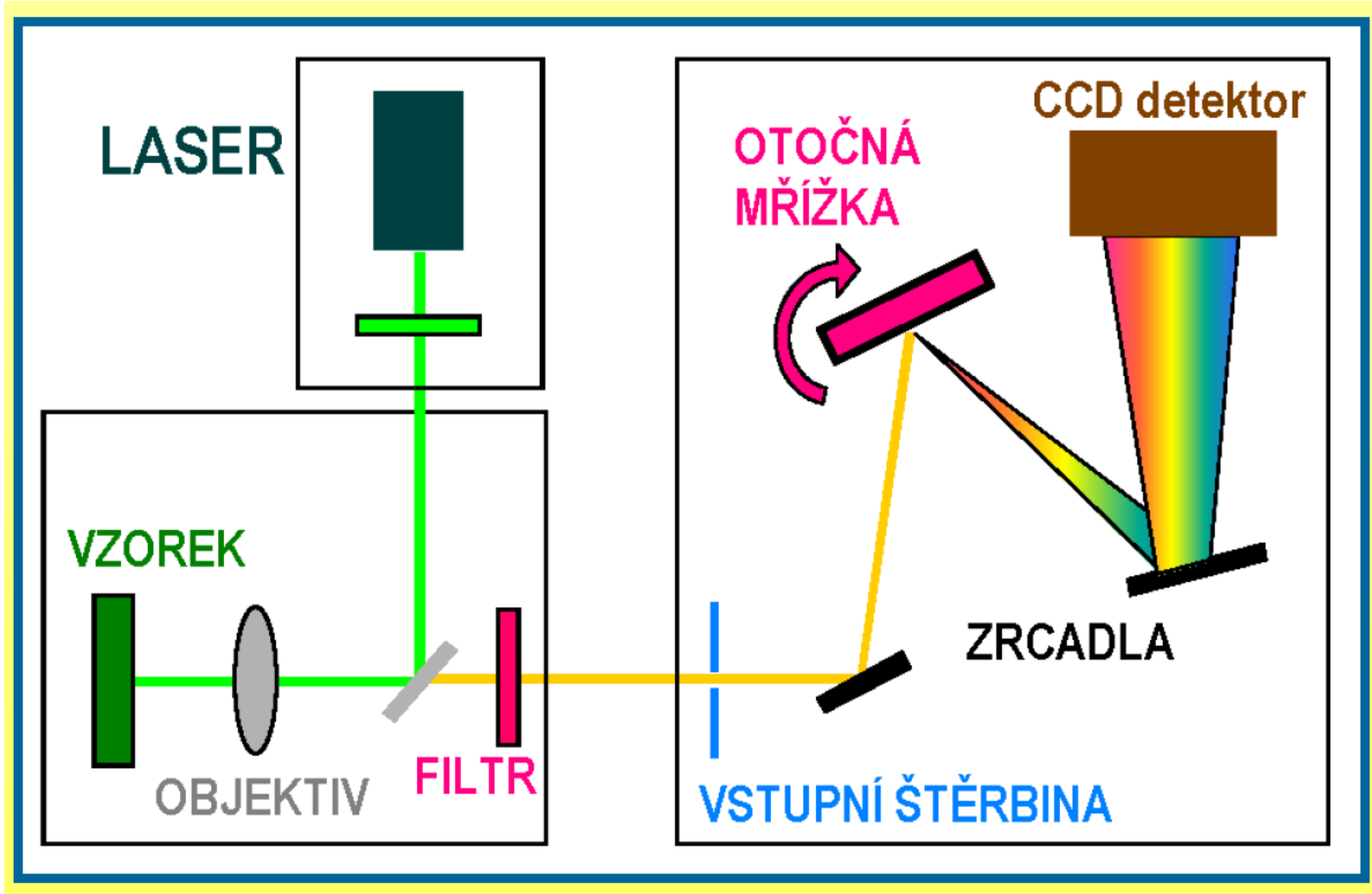
# Instrumentace pro Ramanovu spektrometrii



Instrumentation for laser Raman spectroscopy

Pevný, resp. kapalný vzorek se umístí před štěrbinu spektrometru. Vzorek se ozáří fokusovaným svazkem z laseru s výstupním výkonem větším než 100mW, obvykle iontového Ar ( $\lambda=514,5$  nm – zelená a 488 nm – modrá) nebo He-Ne laseru ( $\lambda=632,8$  nm). Často se v poslední době využívá Nd:YAG laser s násobičem frekvence a laserových diod. Monochromátor musí mít velmi nízké rozptýlené záření (obvykle dvojité). Detektorem je obvykle fotonásobič, příp. intenzifikovaný CCD detektor.

# Schéma Ramanova disperzního přístroje

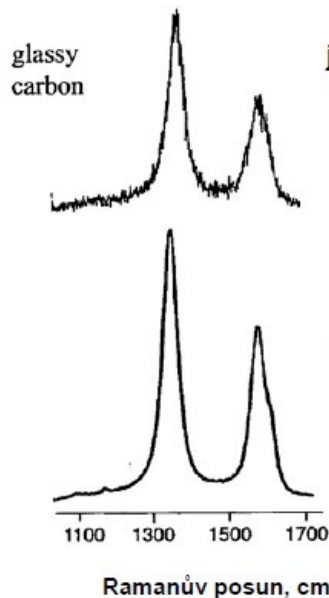
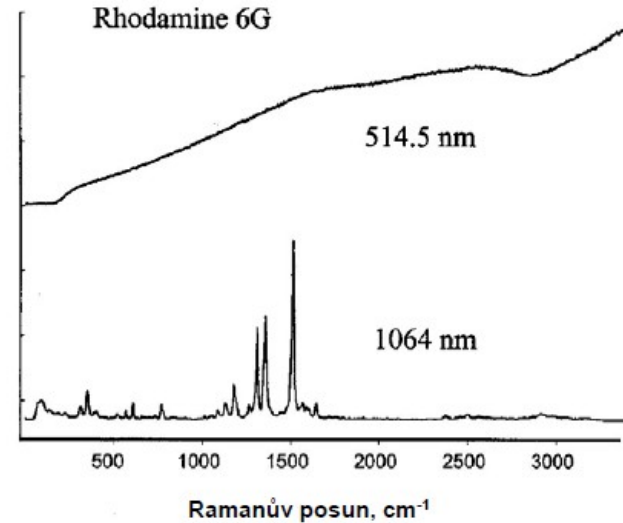


# Technologický pokrok v Ramanově spektroskopii v uplynulých 20 letech

## 1. FT Ramanova spektroskopie



- + excitace v NIR oblasti → řeší problém s fluorescencí
- + vysoká přesnost určení vlnočtu
- nižší intenzita rozptylu, obtížnější detekce



jednokanálový/PMT

Spex 1403  
20 minut  
SNR ~ 28



mnohokanálový/CCD

Chromex 250  
5 sekund  
SNR ~ 280

## 2. Mnohokanálové CCD detektory

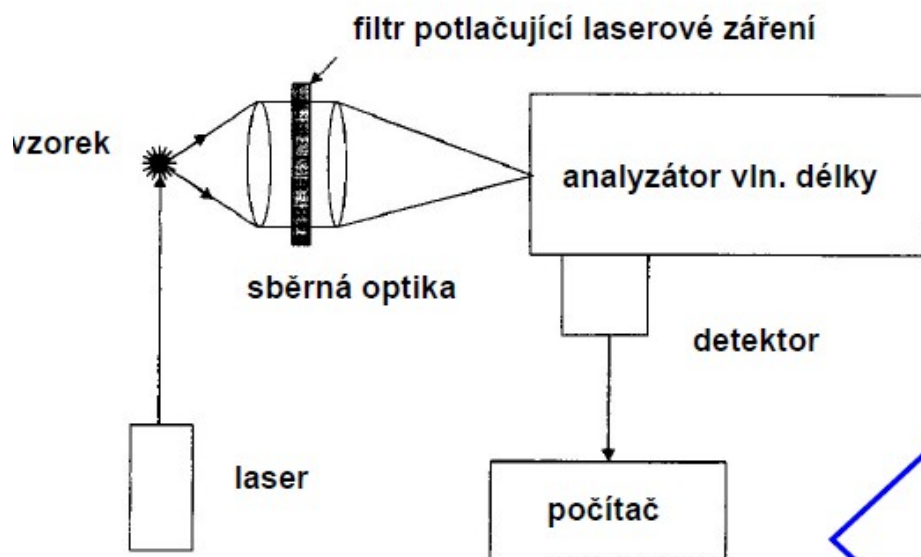
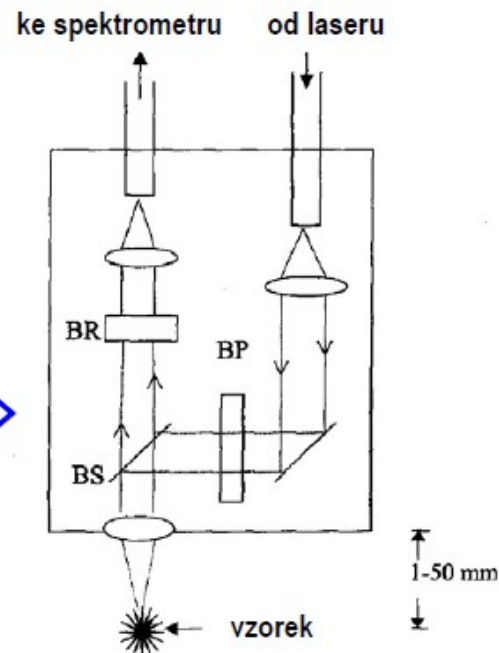
- + výrazné zlepšení poměru signál/šum (SNR)
- + zkrácení doby měření

(v obou případech excitace 514.5 nm / 50 mW)

### 3. Vlákňová optika (integrované sondy)

- + využití pro monitorování a kontrolu procesů
- + výrazné zvýšení aplikačního potenciálu RS
- + „vzdálený“ spektrometr

Integrovaná vlákňová sonda obsahující nezbytné filtry (BP, BR) i fokusační optiku



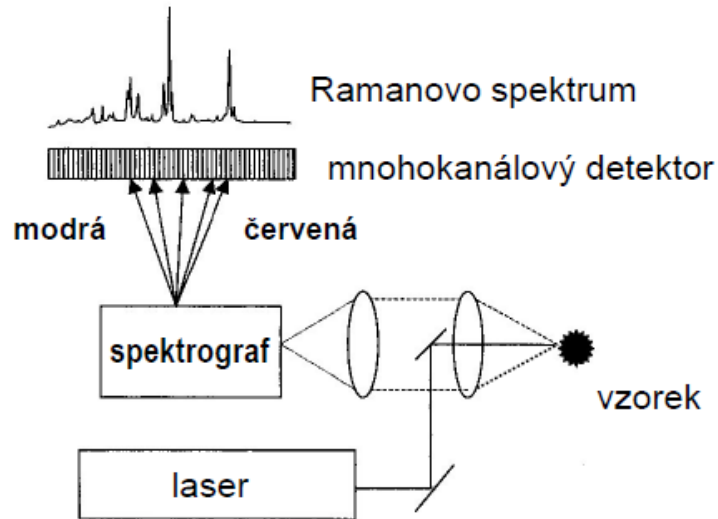
### 4. Holografické filtry

- + výrazné snížení rozměrů spektrometrů i jejich ceny
- + více záření na detektoru
- ke každé excitační vlnové délce je potřeba filtr

schéma kompaktního Ramanova spektrometru

# Disperzní a nedisperzní spektrometry

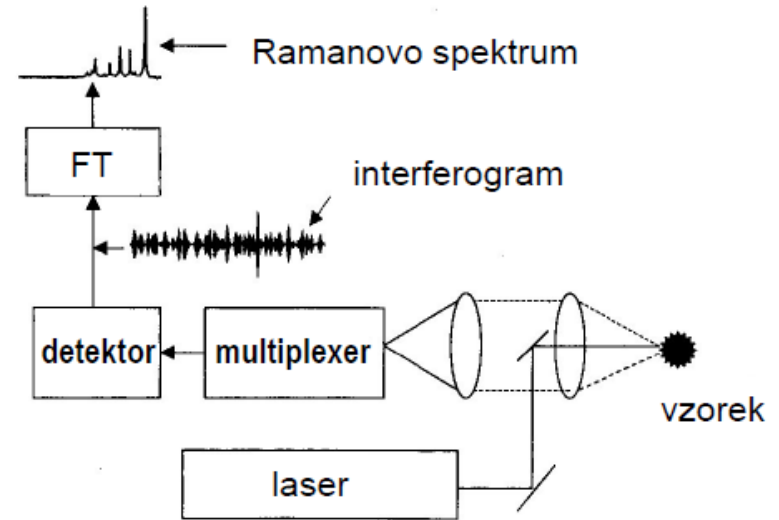
## Disperzní mnohokanálový Ramanův spektrometr



- citlivost
- vyšší poměr signál/šum
- $\lambda_{\text{exc}} = 200 - 800 \text{ nm}$   
(limitováno odezvou CCD)

- kompromis mezi rozlišením a pokrytím
- více fluorescence
- měnící se spektrální rozlišení

## Nedisperzní FT-Ramanův spektrometr



### Výhody

- vysoká přesnost určení frekvence
- vyšší světelnost
- vždy  $\lambda_{\text{exc}} \geq 1064 \text{ nm}$
- zpravidla bez fluorescence

### Nevýhody

- horší poměr signál/šum
- často vysoký výkon budícího laseru

$\lambda_{\text{exc}} < 900 \text{ nm} \Rightarrow$  disperzní Ramanovy spektrometry (omezení křemíkovými CCD detektory)

$\lambda_{\text{exc}} = 1064 \text{ nm} \Rightarrow$  nedisperzní FT Ramanovy spektrometry

## Kontinuální (cw) lasery pro Ramanovu spektroskopii

typ	$\lambda$ (nm)	typický výkon
druhá harmonická Ar <sup>+</sup>	224, 257, 229	15-200 mW
Ar <sup>+</sup> (vzduchem chlazený)	488, 514.5	5-50 mW
Ar <sup>+</sup> (vodou chlazený)	351.1, 454.5, 457.9, 465.8 476.5, 488, 496.5, 501.7, 514.5	0.1-10 W
He-Ne	632.8	5-100 mW
He-Cd	442 nm	5-50 mW
Kr <sup>+</sup>	406.7, 413.1, 647.1, 752.5	0.1-4 W
Nd:YAG	1064	0.1-10 W
druhá harmonická Nd:YAG	532	0.05-5 W
diodový (external cavity, fixed $\lambda$ )	785	300 mW
diodový (external cavity)	780-1060	500 mW
barvivové, Ti: safír	spojitě přeladitelné	

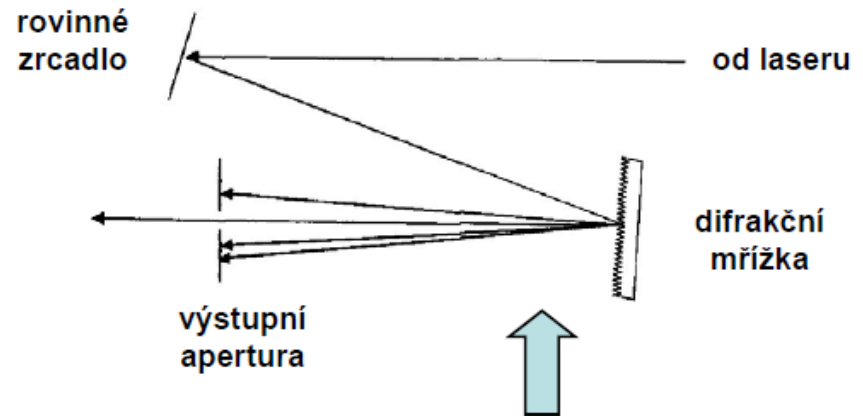
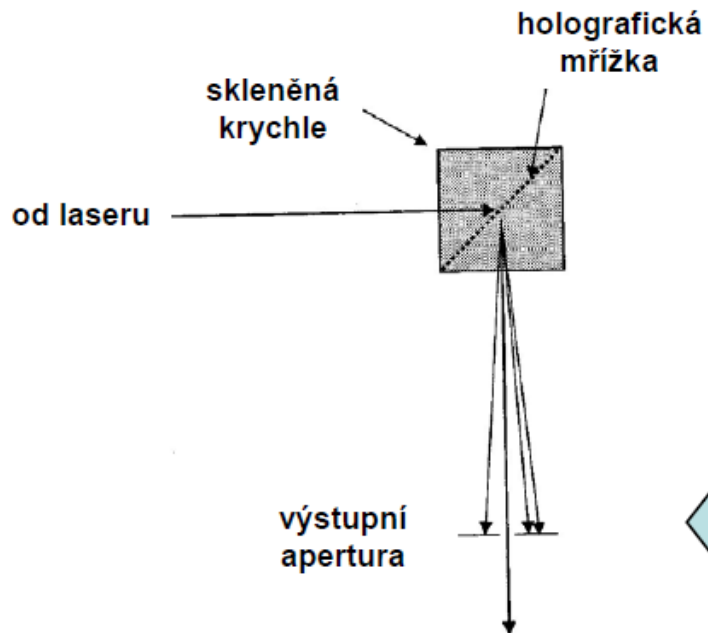


## PROČ ?

pro potlačení nežádoucí spontánní emise (např. plasmové linie v iontových laserech, široké pozadí z Nd:YAG a diodových laserů)

## JAK ?

- interferenční filtry
- předmonochromátor jako filtr

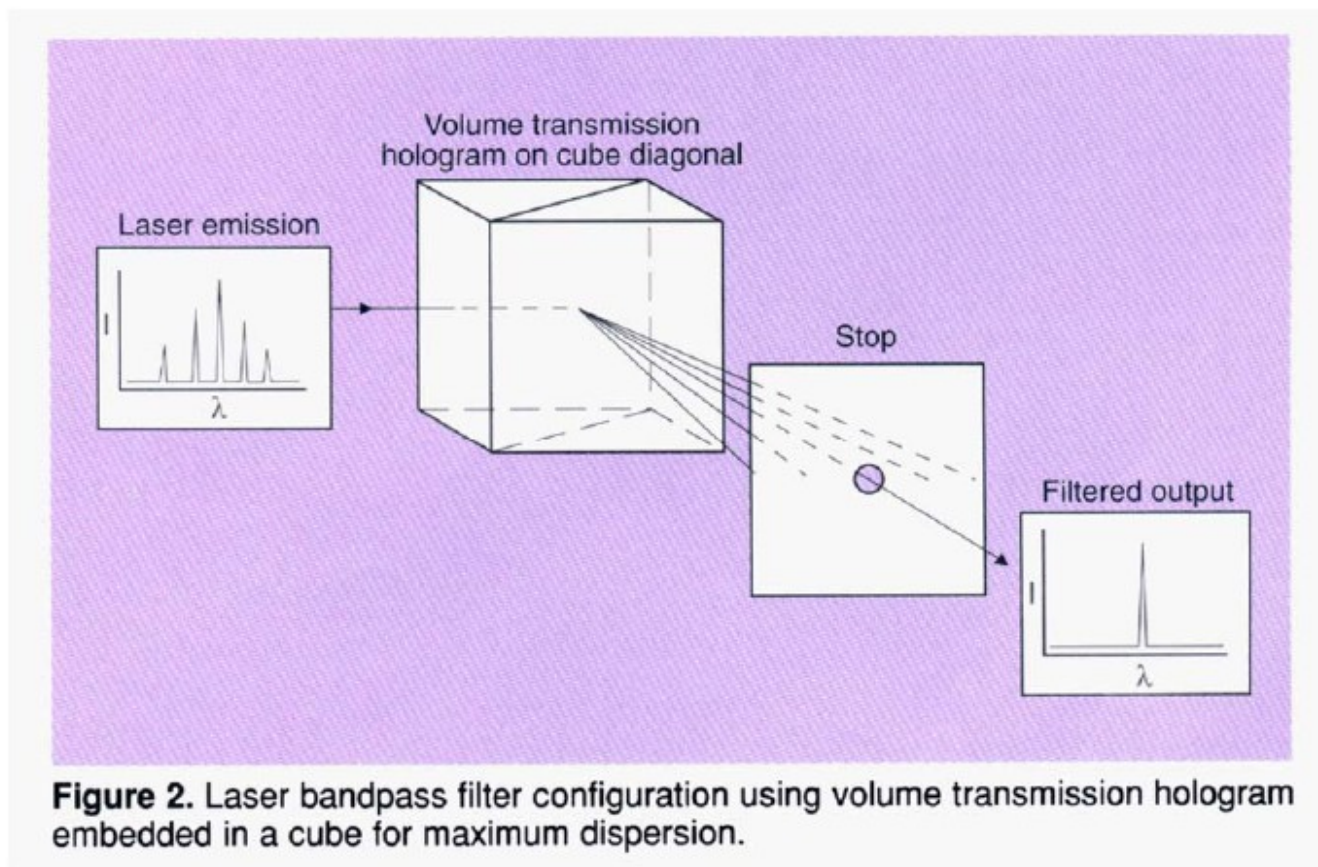


Mřížkový premonochromátor pro odfiltrování plasmových linií z kolimovaného svazku

Holografický pásmový filtr s vysokou propustností, až 80% (Kaiser Optical Systems)



# Laser band-pass filters



Velmi účinné potlačení plasmových čar iontových laserů



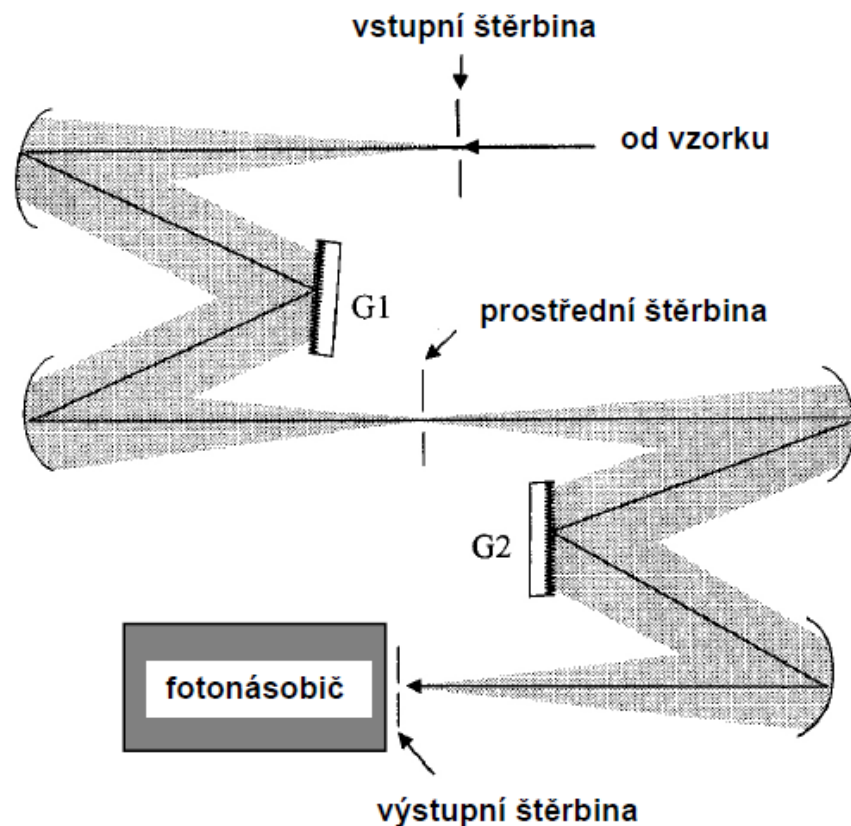


Schéma dvojitého monochromátoru  
(např. Spex 1403)  
70. až 80. léta

### Výhody:

- vysoké rozlišení
- výborný odstup od pozadí ( $10^{-12}$  –  $10^{-14}$ )
- měření v blízkosti excitační linie

### Nevýhody:

- pomalé měření (bod po bodu)
- příliš velká disperze pro mnohokanálovou detekci

filtrující dvojitý monochromátor  
v subtraktivním módu

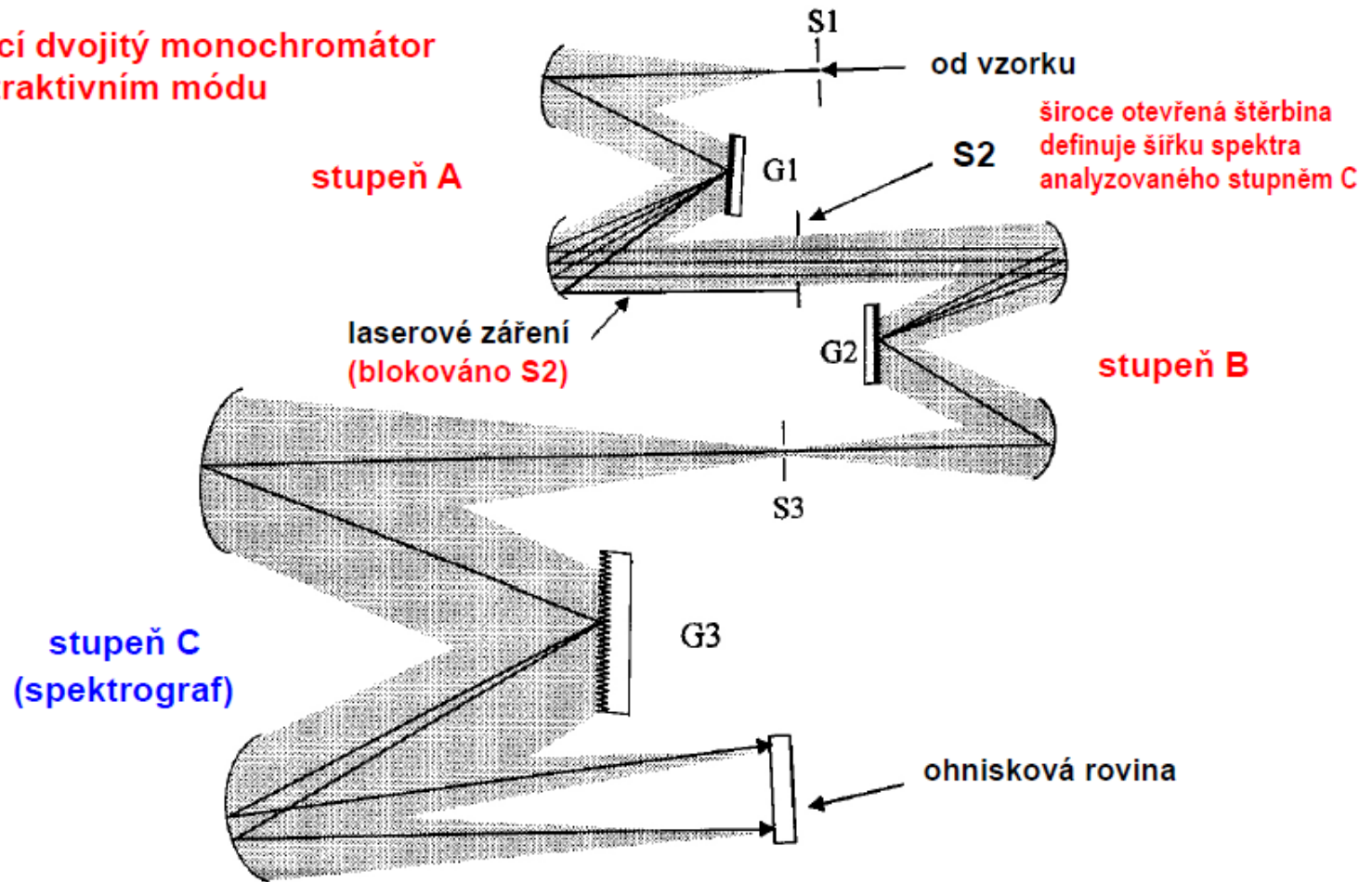


Schéma trojitého spektrografu (např. Jobin Yvon T64000)

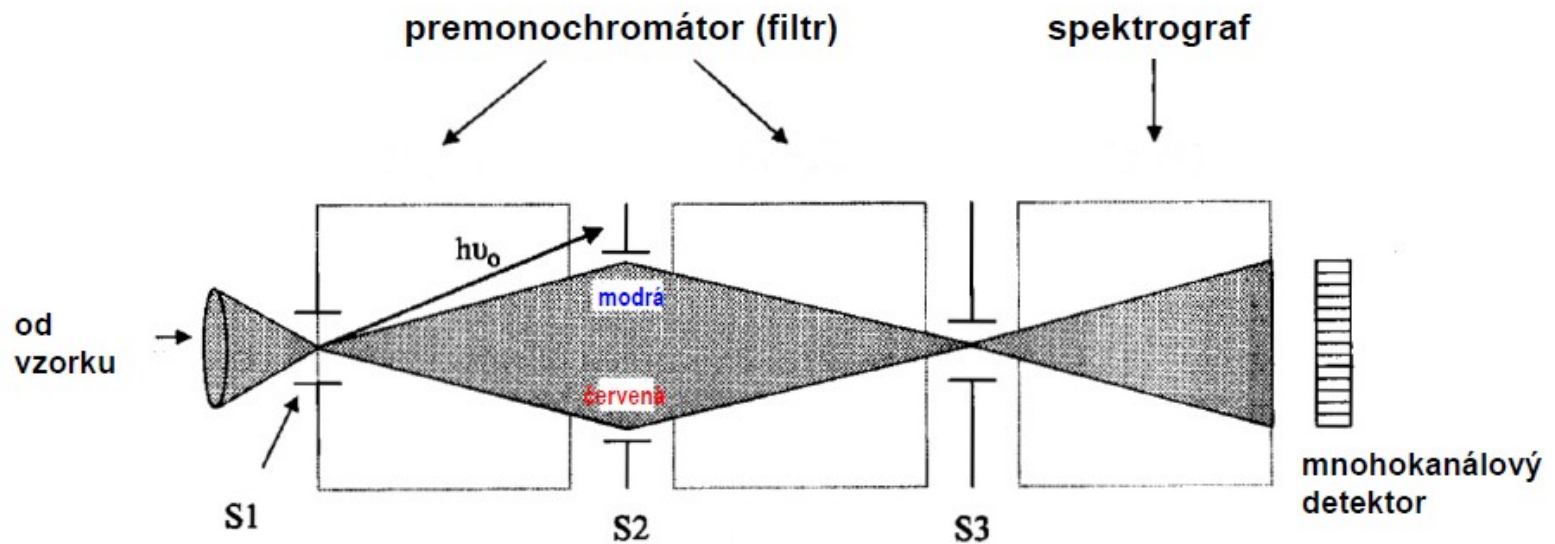


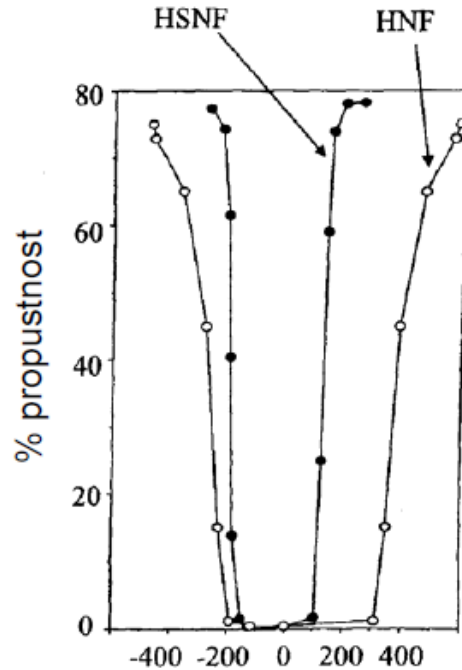
Diagram ilustrující fungování trojitého spektrografu

## Výhody:

- výborný odstup od pozadí ( $10^{-12}$  –  $10^{-14}$ )
- měření v blízkosti excitační linie
- univerzálnost

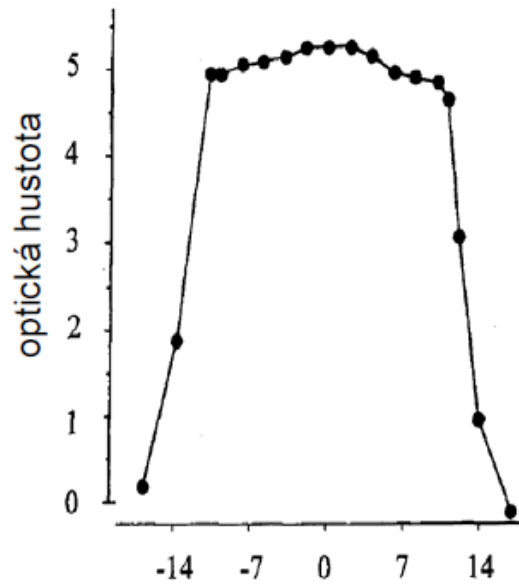
## Nevýhody:

- nízká světelnost ( $\Rightarrow$  málo světla na detektoru)
- vysoká cena



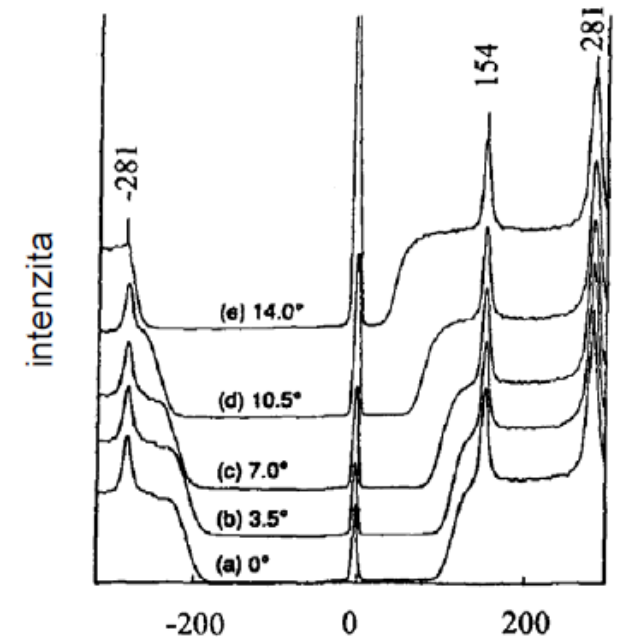
$\Delta \tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) relativně k 514,5 nm

Propustnost holografického notch filtru (HNF) a holografického super notch filtru (HSNF).



natočení filtru vůči normále

Závislost optické hustoty HNF na úhlu natočení filtru.



$\Delta \tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) relativně k 514,5 nm

Úhlové ladění HNF filtru (spektrum kalcitu).

<b>Notch</b>	OD > 4.0	šířka pásma 700 cm <sup>-1</sup>	šířka hrany 300 cm <sup>-1</sup>
<b>Notch Plus</b>	OD > 6.0	šířka pásma 700 cm <sup>-1</sup>	šířka hrany 300 cm <sup>-1</sup>
<b>Super Notch</b>	OD > 4.0	šířka pásma 350 cm <sup>-1</sup>	šířka hrany 150 cm <sup>-1</sup>
<b>Super Notch Plus</b>	OD > 6.0	šířka pásma 350 cm <sup>-1</sup>	šířka hrany 150 cm <sup>-1</sup>

**FT-Raman** – multiplexová technika, kdy je mnoho vlnových délek modulováno interferometrem, který generuje interferogram zaznamenávaný jediným detektorem

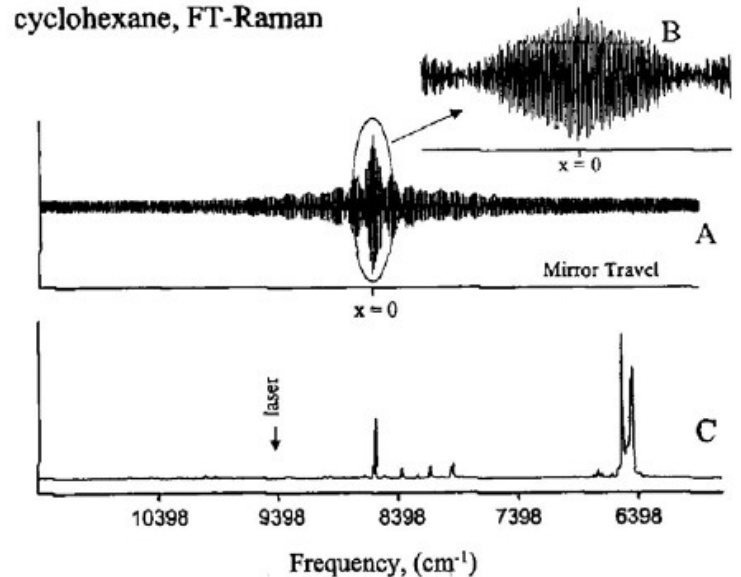
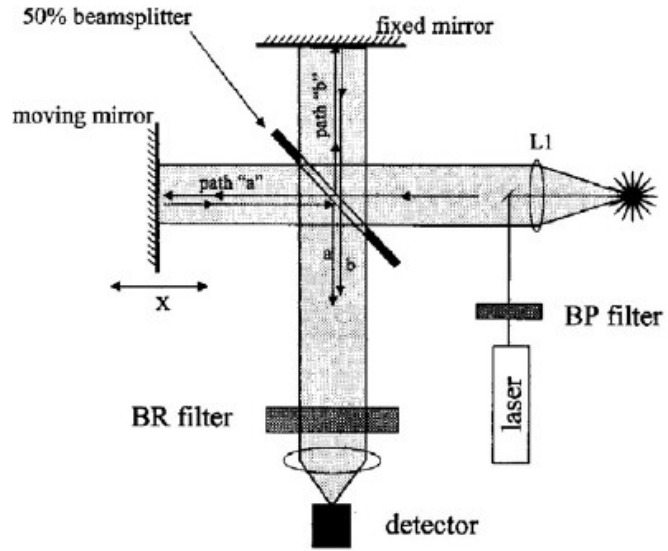


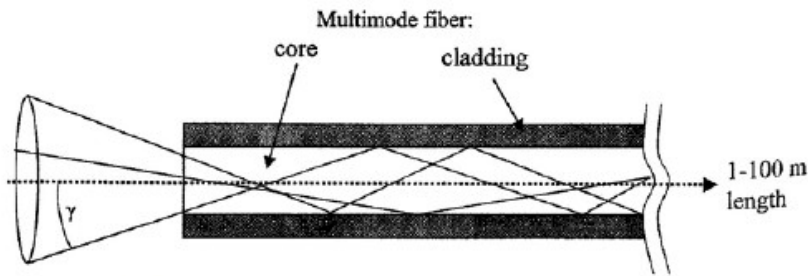
Schéma FT Ramanova spektrometru založeného na Michelsonově interferometru

modulace – lineárním pohybem zrcadla, který generuje dráhový rozdíl  $a - b = 2x$

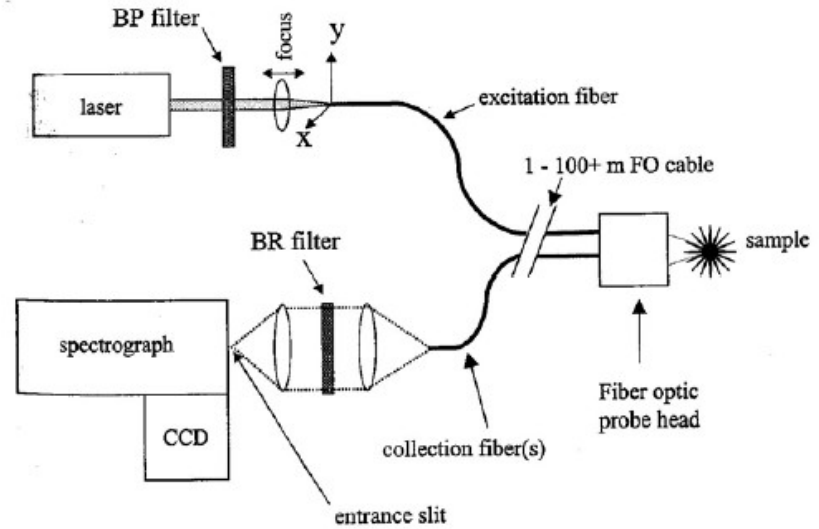
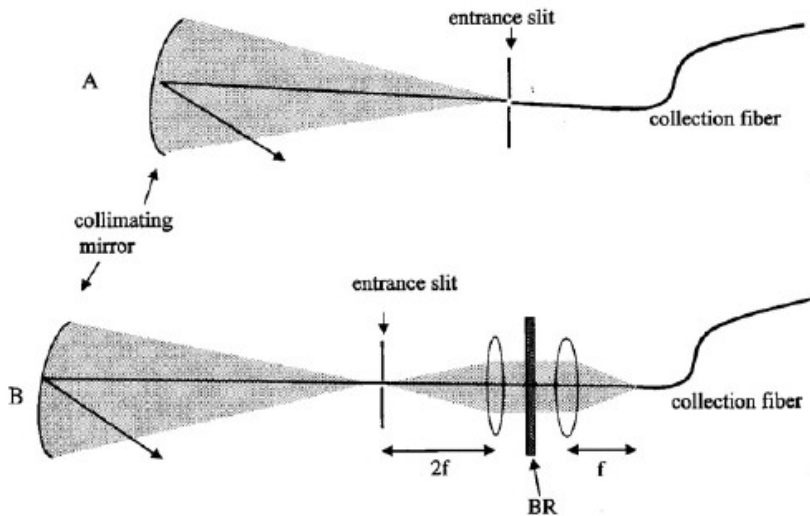
Interferogram (A) pro cyklohexan excitovaný 1064 nm a Ramanovo spektrum (C).

rozlišení  $\delta\tilde{\nu} = \frac{1}{\Delta x_{\max}}$  ← maximální dráha zrcadla

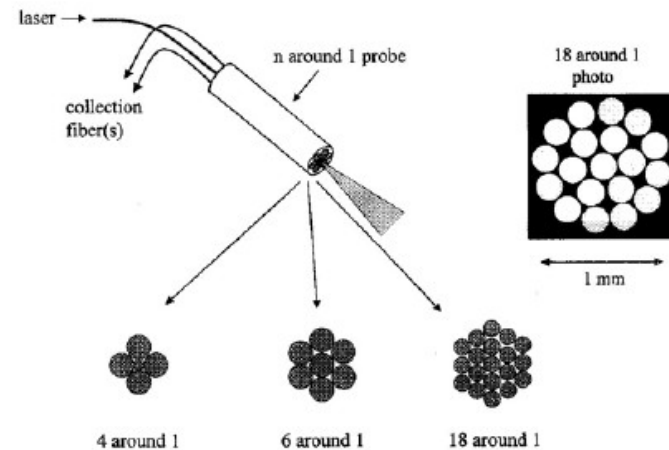




Šíření světla v optickém vlákně.



Obecné schéma použití optických vláken v RS.



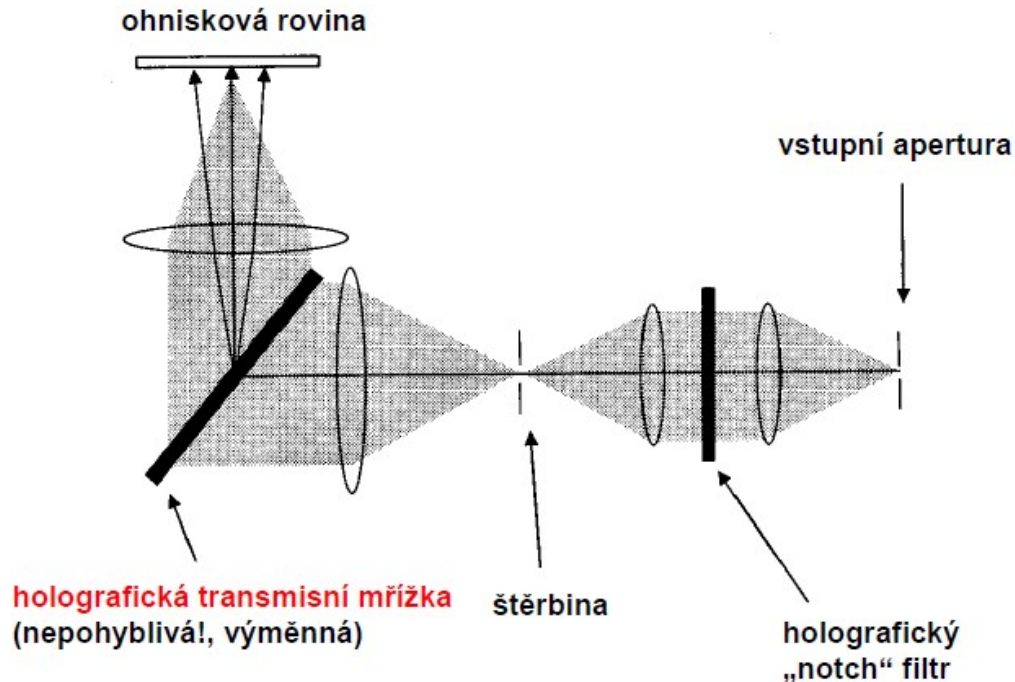
Uspořádání vláknových sond (n-around 1).

## Dvě metody připojení optických vláken ke spektrometru

- A. přímé připojení bez možnosti přizpůsobení  $f/\#$  spektrometru
- B. běžný způsob umožňující i umístění BR filtru do kolimovaného svazku



# Holografický zobrazovací spektrograf s vysokou světelností



**Schéma osového transmisního holografického spektrografu (např. Kaiser 1.8i)**

## **Výhody:**

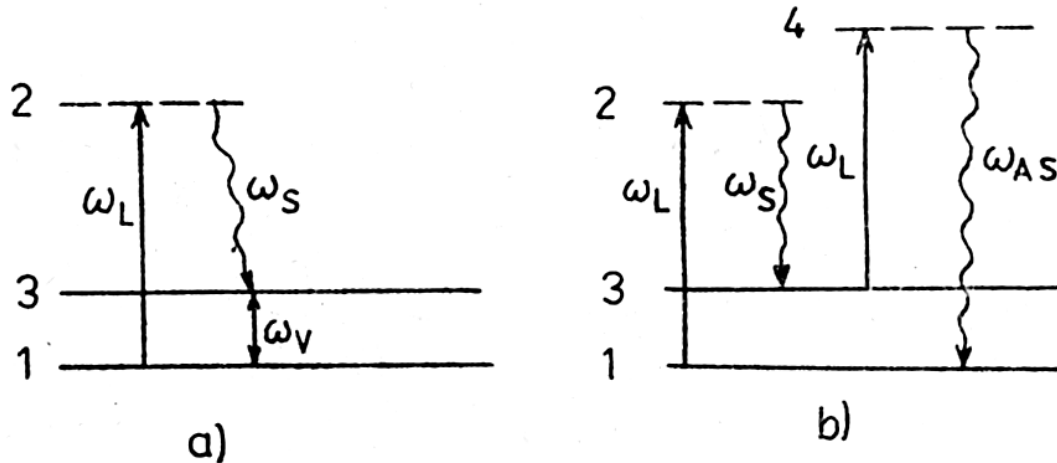
- světelnost (přechod od  $f/4$  k  $f/1.4$  představuje téměř **řádkové zvýšení signálu** na detektoru,  $4/1.4^2 = 8.2$ )
- kompaktnost (malé rozměry)
- velká disperze

## **Nevýhoda:**

- různé mřížky pro různé excitační vlnové délky



# Metody nelineární – SRS a ASRS



Obr. 94. Schéma energetických hladin a přechodů pro a) stimulovaný Ramanův rozptyl, b) anti-Stokesův stimulovaný Ramanův rozptyl

SRS (Stimulated Raman Scattering) je variantou metody dvojí rezonance (a), při níž laserem ( frekvence  $\omega_L$  ) buzená hladina 2 je virtuální. Je-li  $\omega_V$  frekvence vibračního přechodu, pak

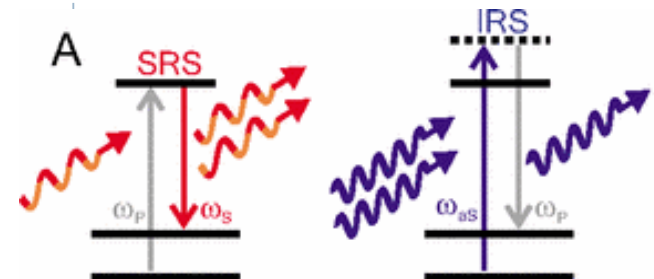
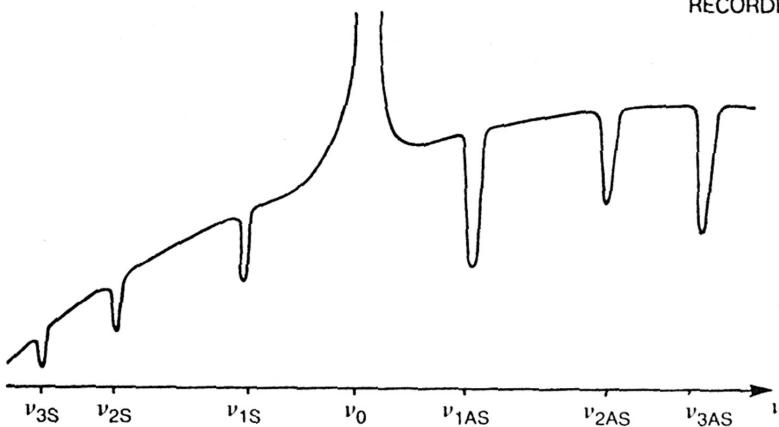
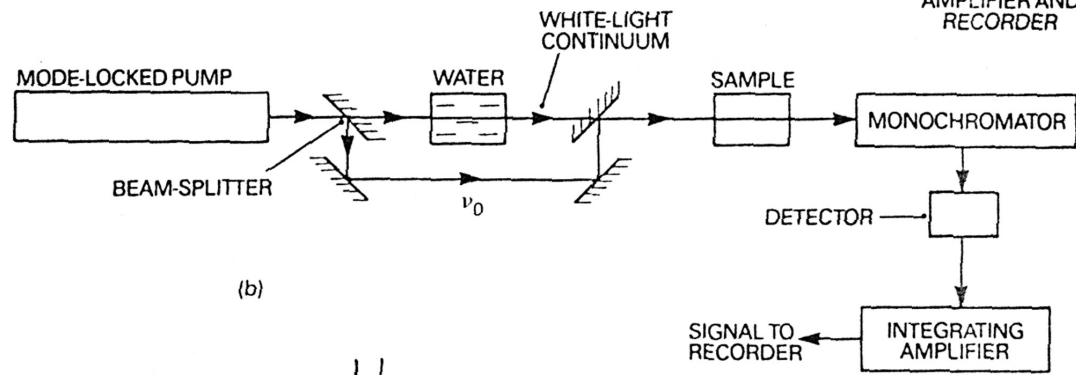
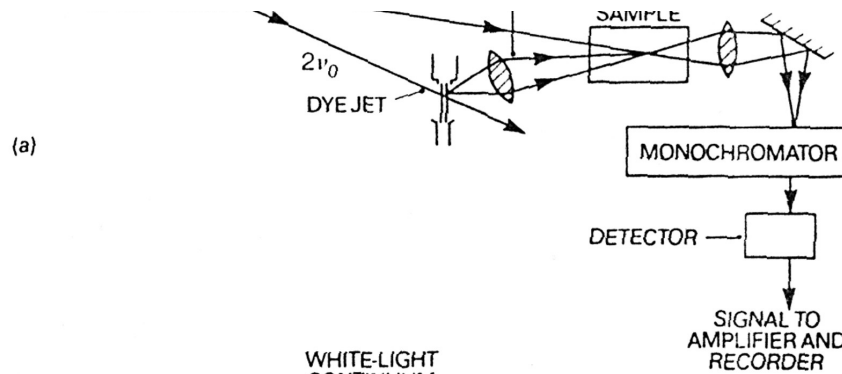
$\omega_L - \omega_V = \omega_S$  . Zavedeme-li do kvety pomocný paprsek s frekvencí  $\omega_S$  , tedy se Stokesovou frekvencí Ramanova spektra, dojde k zesílení na této frekvenci. V případě ASRS (Antistokes SRS) dochází k vybuzení dvou virtuálních hladin 2 a 4 a platí

$\omega_L + \omega_V = \omega_{AS}$  . Metody se používají k měření s vysokým rozlišením až  $0,01 \text{ cm}^{-1}$ . Na jejich principu jsou založeny i laditelné infračervené (ramanovské) lasery.



# Inverzní Ramanova spektrometrie

- (a) Using a laser dye to generate a continuum
- (b) Using a white light continuum produced by self-focusing of picosecond laser pulses in water
- (c) Illustration of the spectrum



# Ramanova spektroskopie

---

- ▶ ***Každá čára Ramanova spektra je svými vlastnostmi závislá:***
  - ▶ *na počtu a hmotě společně kmitajících atomů molekuly*
  - ▶ *na jejich prostorovém uspořádání*
  - ▶ *na vnitřně molekulovém silovém poli*
- ▶ ***Je zřejmé, že Ramanových spekter lze použít analyticky, zvláště při řešení některých, chemicky těžko dokazovatelných rozdílů konstitučních***

***Prof. Dr. Arnošt Okáč: Výklad k základním operacím v chemické analýze, JČMF 1948***

---



# Experimentální výhody

---

- ▶ možnost měření ve vodném prostředí
  - nízká intenzita Ramanova rozptylu pro vodu
  - používané optické materiály nejsou citlivé na vlhkost
- ▶ možnost měření ve skleněných nádobách
  - měření v uzavřených ampulích - např. pod vakuem
- ▶ snadné využití skelné vláknové optiky
- ▶ minimální požadavky na úpravu pevných vzorků
- ▶ intenzivní pásy -C=C-, -N=N-, -S-S a dalších symetrických vibrací



# Aplikace RS v geologii

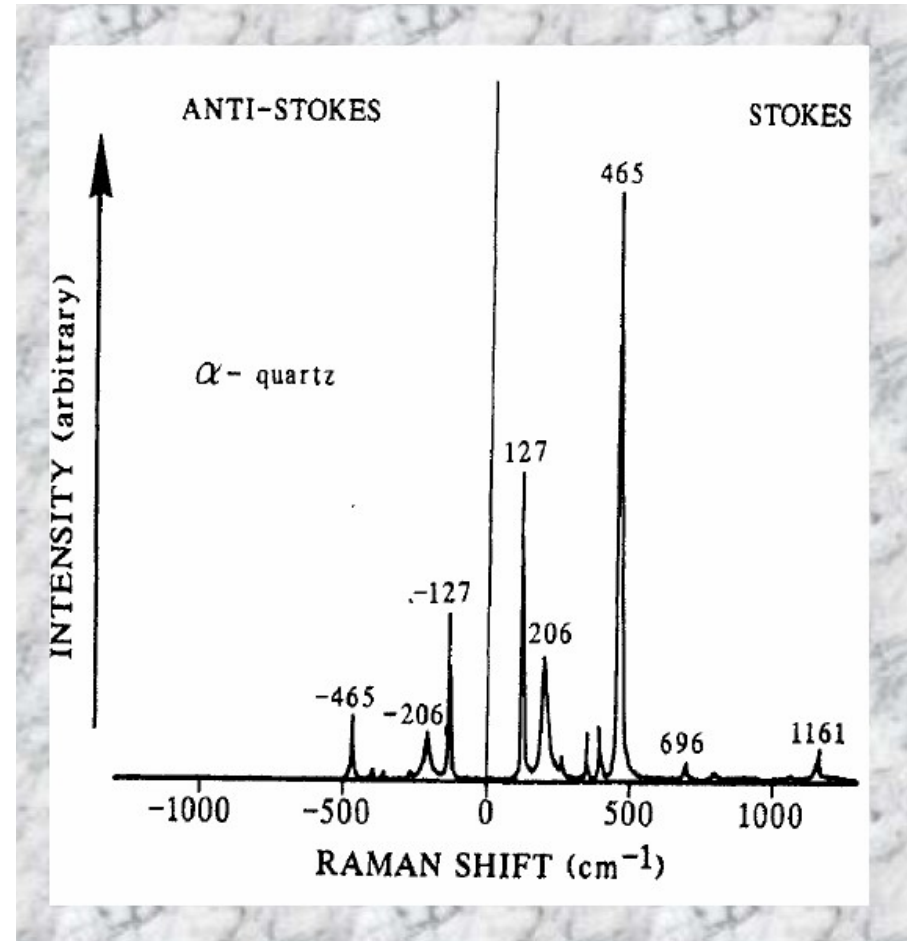
---

- ▶ identifikace a analýza fází: v některých případech je RS nejjednodušší či dokonce jedinou použitelnou metodou k identifikaci minerálu, zvláště tehdy, je-li uzavřen v jiném průhledném, nefluoreskujícím minerálu. Umožňuje rozlišovat členy izomorfních řad snáze, než rtg-difrakce.
- ▶ k identifikaci plynů v plyno - kapalných uzavřeninách
- ▶ studium struktury (zvláště vazba OH skupin), uspořádanosti struktury
- ▶ Fázové přechody (teplotní změna struktury perovskitu v podmínkách pláště)
- ▶ Určování termodynamických vlastností minerálů

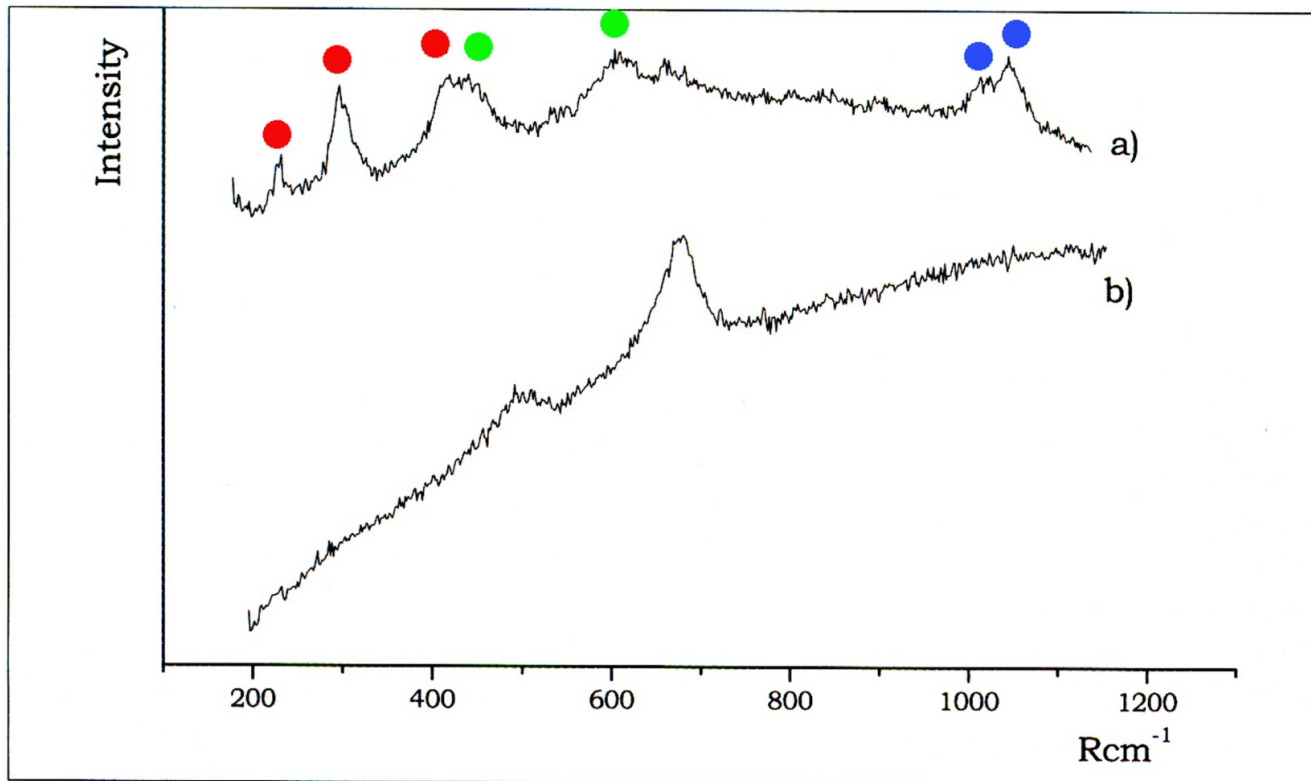


# Další aplikace RS v geologii

- ▶ rezonanční Ramanova spektroskopie
- ▶ Elektronická Ramanova spektroskopie
- ▶ hyper-Ramanova spektroskopie
- ▶ koherentní antistokesovský Ramanův rozptyl (CARS)

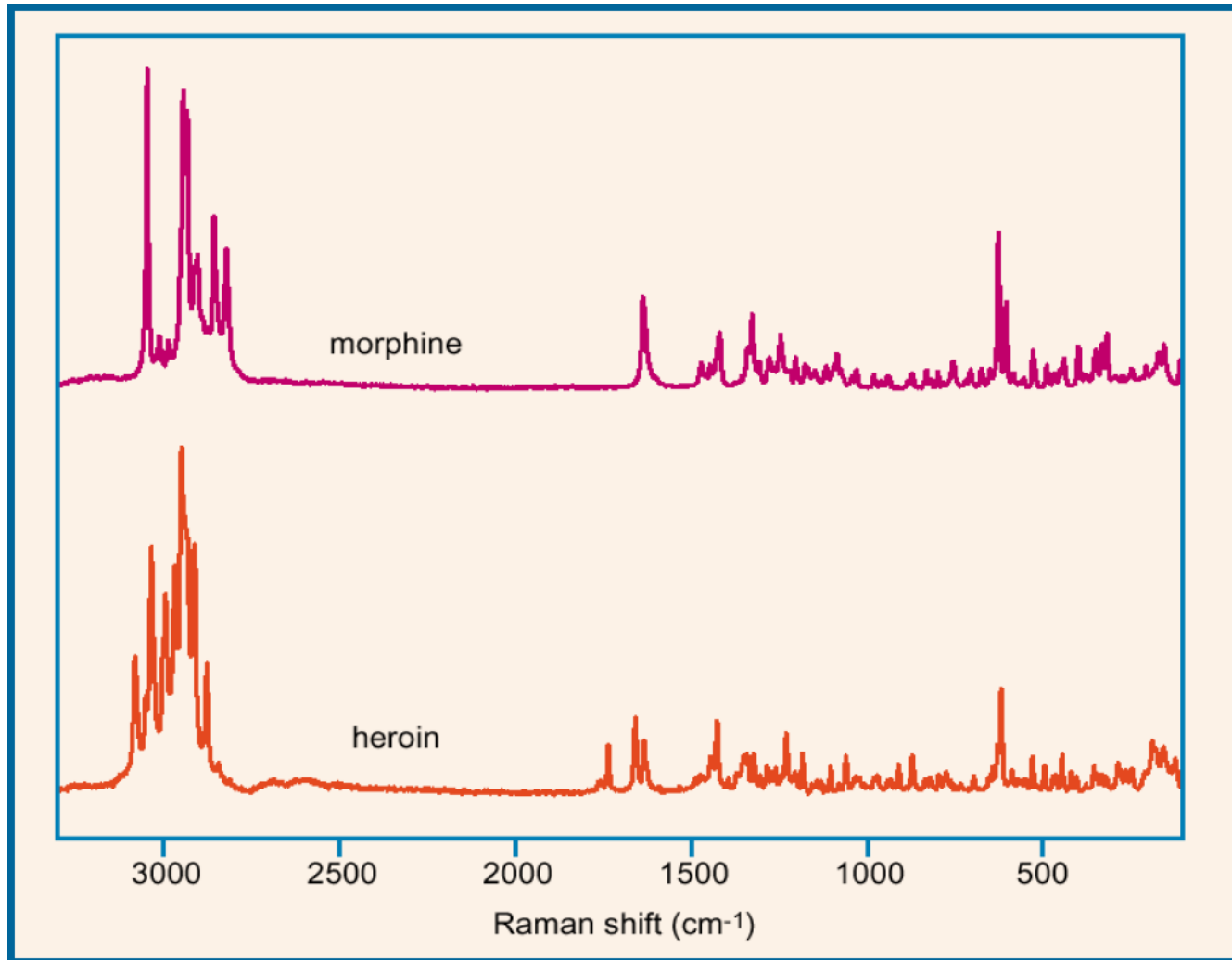


# Geologické materiály - hematit

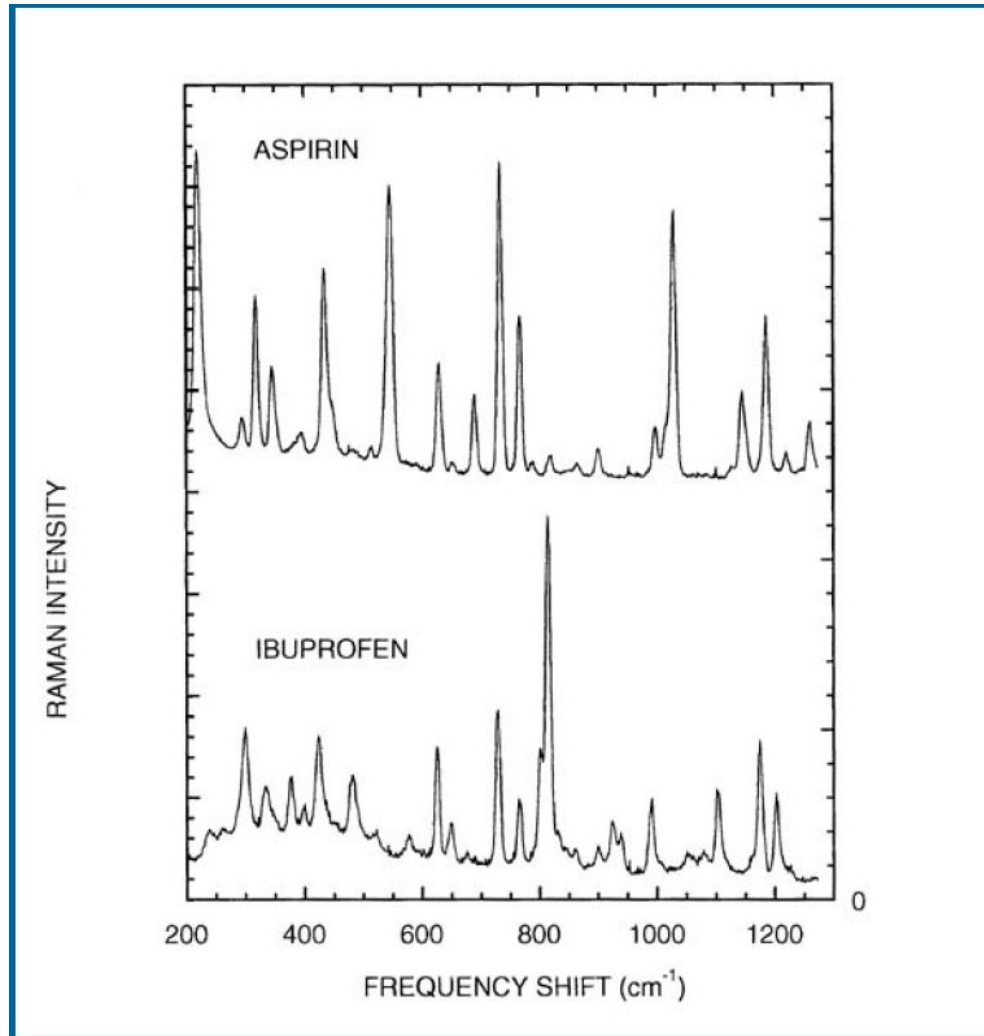


**Figure 4. Raman spectra of (a) hematite and (b) magnetite, acquired on B and A sherds, respectively. In the (a) spectrum the bands of hematite are indicated by a ●, while those of rutile are labelled with a ● symbol; the doublet marked with ● is due to Cr(III) luminescence.**

# Identifikace drog



# Identifikace léčiv





# Studium komplexů

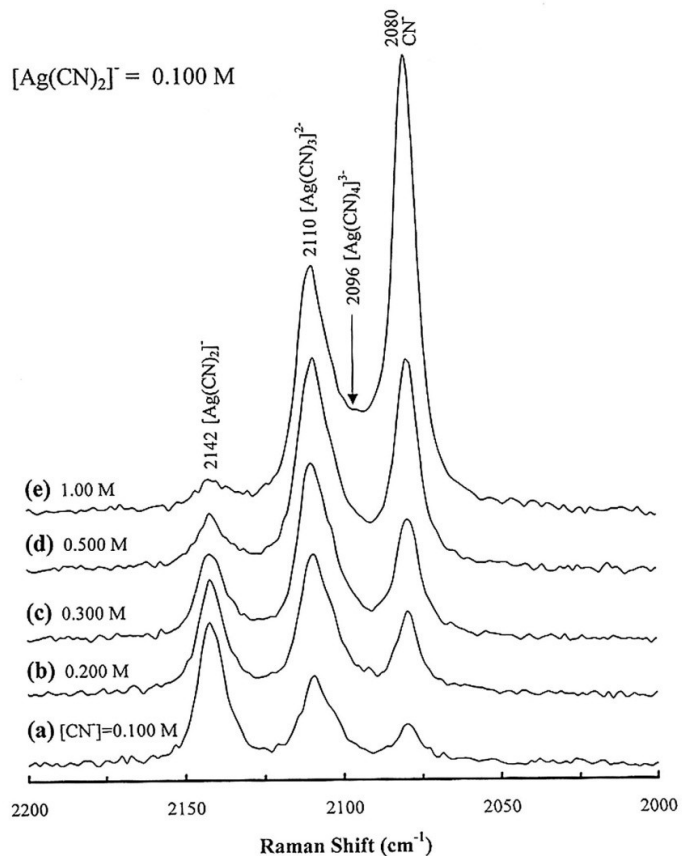


FIG. 3. Raman spectra at different ratios of  $\text{CN}^-$  with respect to  $[\text{Ag}(\text{CN})_2]^-$ . The concentrations of  $\text{CN}^-$  ranged from 0.00 to 1.00 M at the constant  $[\text{Ag}(\text{CN})_2]^-$  concentration of 0.100 M before mixing the two solutions. (a) 0.100 M, (b) 0.200 M, (c) 0.300 M, (d) 0.500 M, and (e) 1.00 M of the  $\text{CN}^-$  concentration.

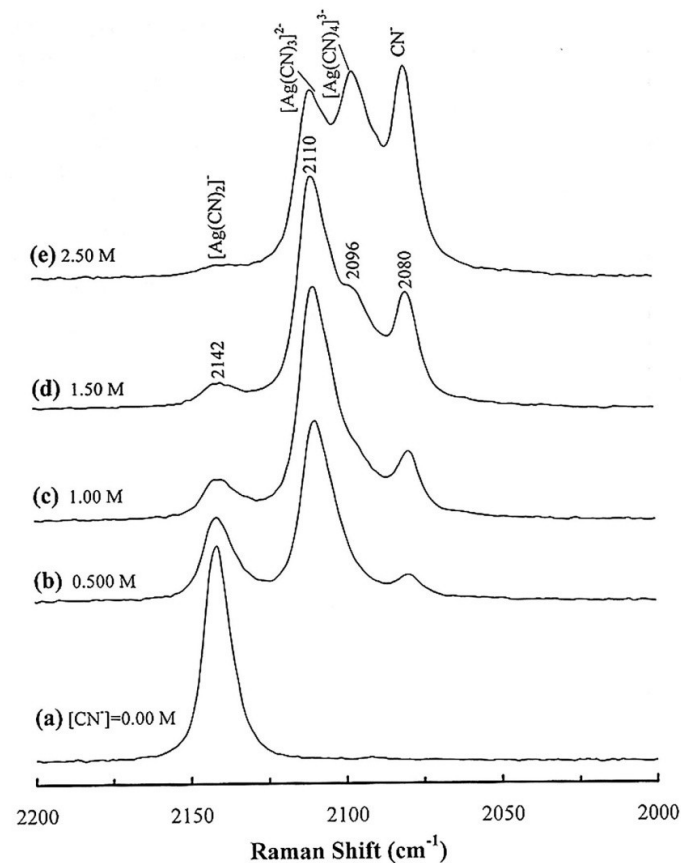
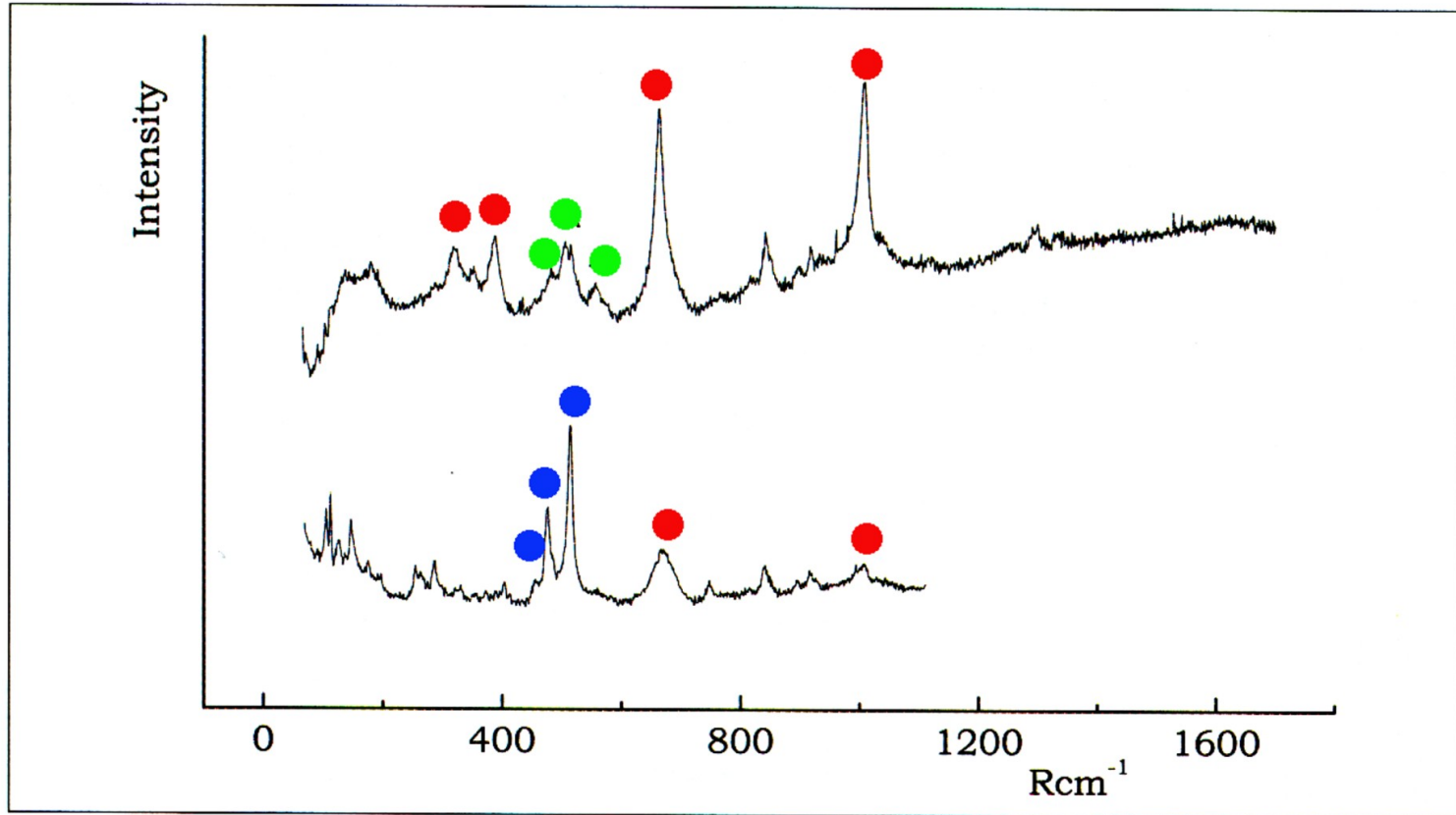


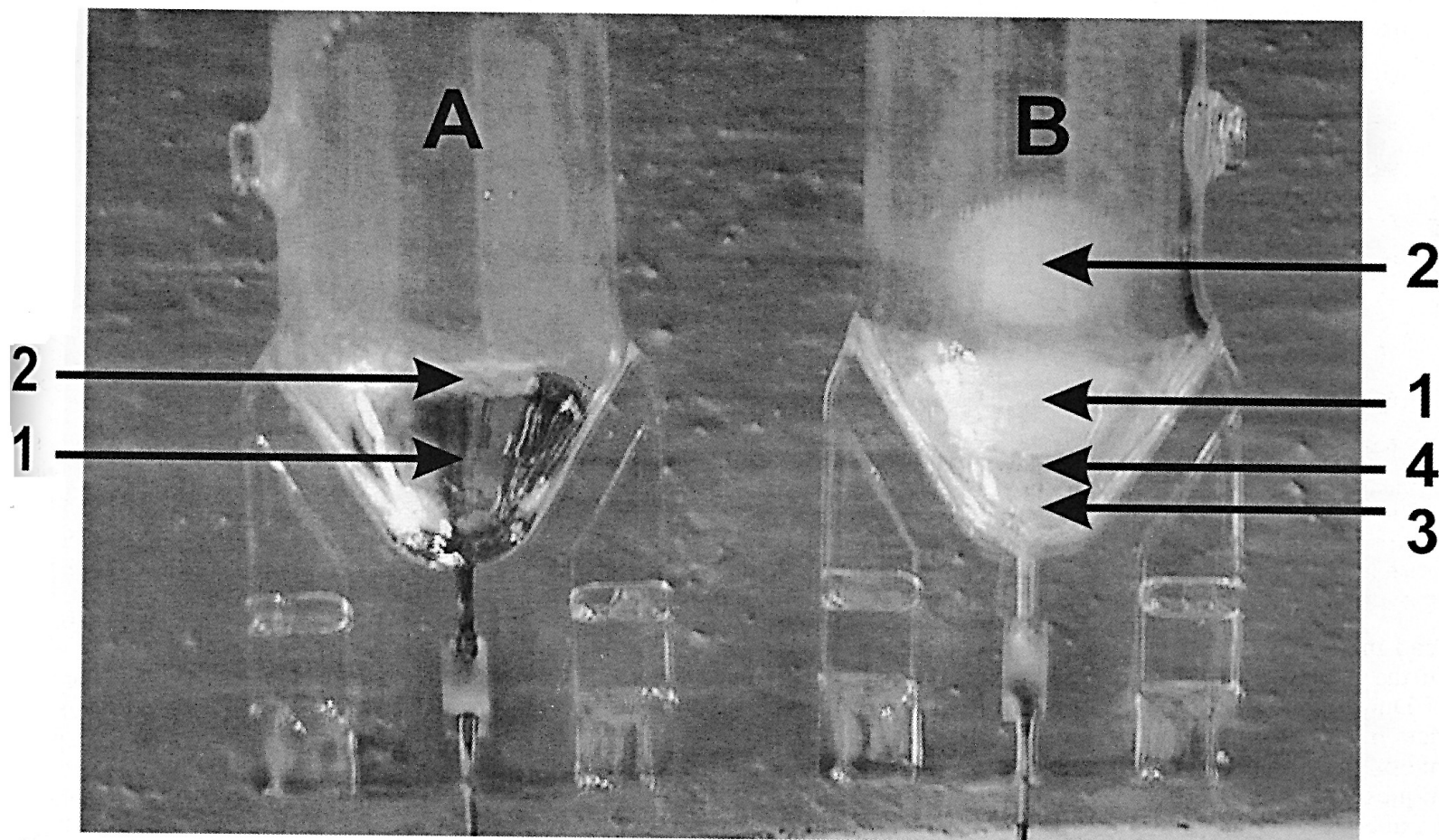
FIG. 4. Raman spectra at different ratios of  $\text{CN}^-$  with respect to  $[\text{Ag}(\text{CN})_2]^-$ . The concentrations of  $\text{CN}^-$  ranged from 0.00 to 2.50 M at the constant  $[\text{Ag}(\text{CN})_2]^-$  concentration of 0.500 M before mixing the two solutions. (a) 0.00 M, (b) 0.500 M, (c) 1.00 M, (d) 1.50 M, and (e) 2.50 M of the  $\text{CN}^-$  concentration.

# Archeologie - keramika



**Figure 3. Spectra recorded on A wares containing characteristic peaks of diopside (●), K-feldspars (●) and plagioclases (●).**

# Analýza sloučenin ve výbojce



Photographs of lower ends of arc tube A immediately after seasoning (i.e., 7 min vertical burning) and of arc tube B after burning vertically for 125 h.

# Analýza sloučenin ve výbojce

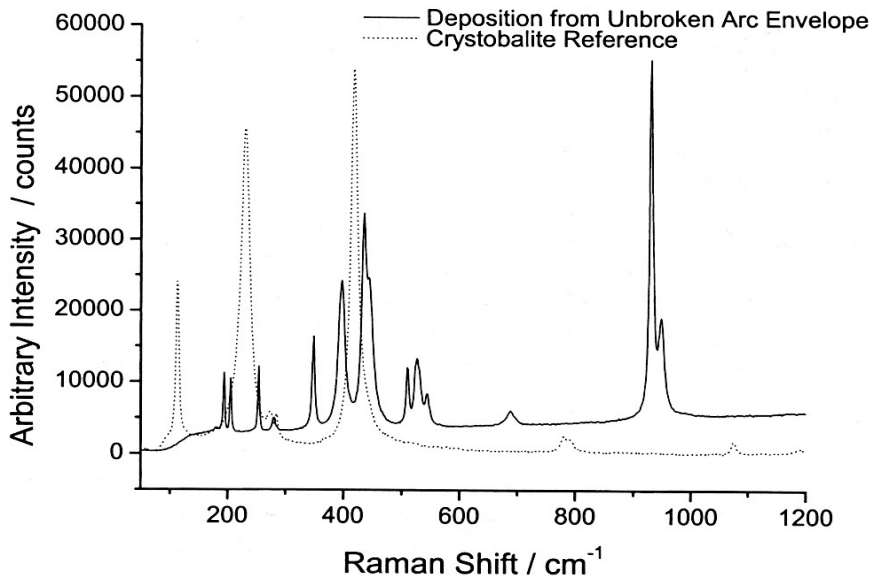


FIG. 9. Raman spectrum of white lamp envelope deposit (Positions 1 and 2 on arc tube B shown in Fig. 2) and an  $\alpha$ -cristobalite reference spectrum from the HTSL Raman Database.

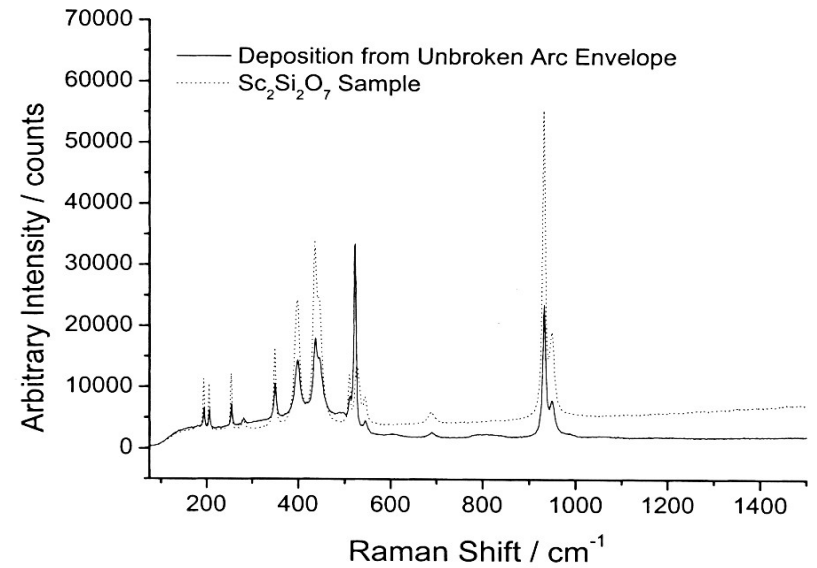
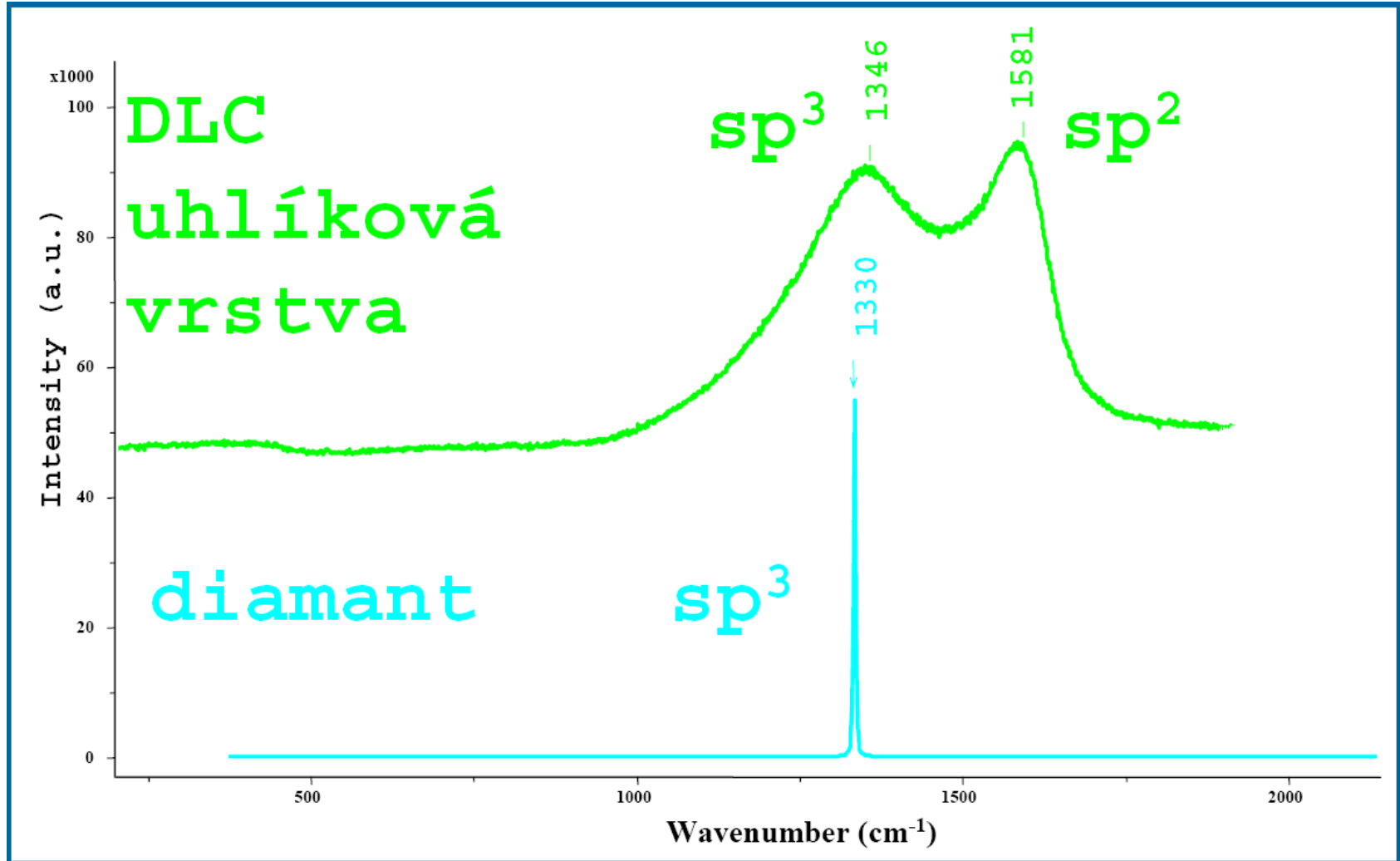


FIG. 11. Raman spectrum of white envelope deposit (Positions 1 and 2 on arc tube B shown in Fig. 2) and a  $\text{Sc}_2\text{Si}_2\text{O}_7$  reference spectrum from the HTSL Raman Database.

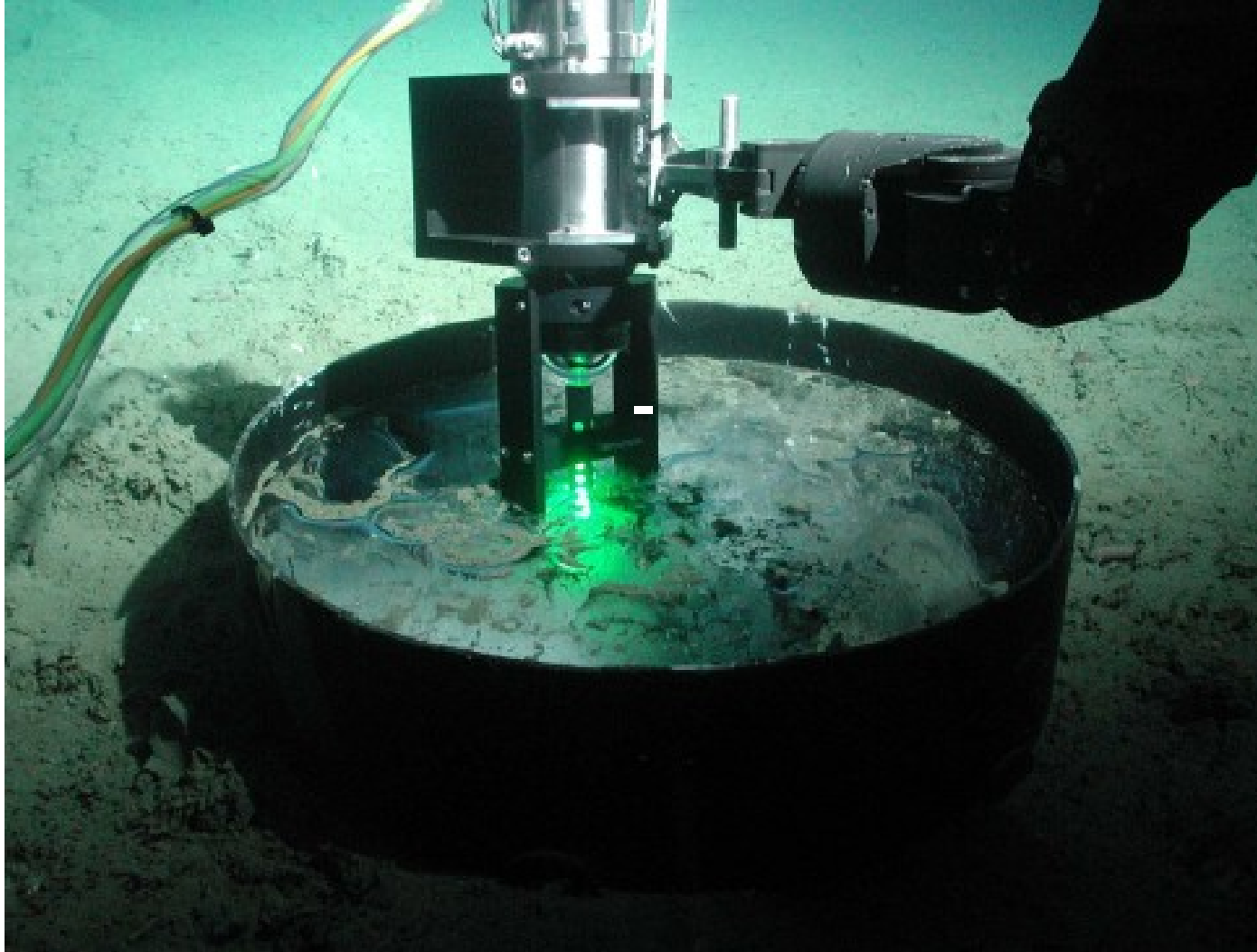
# Analýza uhlíkatých materiálů





# DORISS system (depth of 3607 meters in Monterey Bay)

---



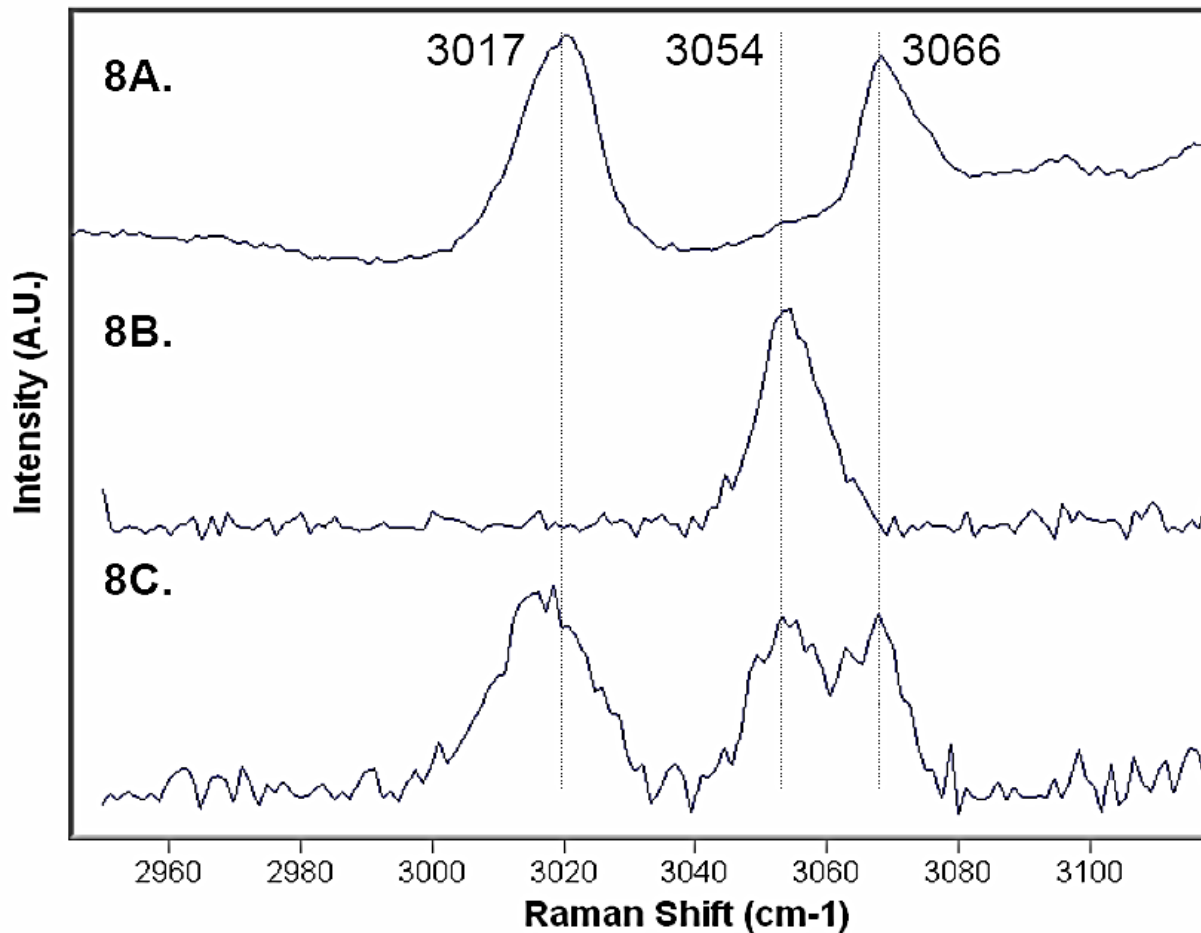


Figure 8. Methane Raman spectra. Spectrum 8A (5 MPa, 278 K, 150 sec (15 sec X 10)) shows two peaks (3017, 3066  $\text{cm}^{-1}$ ) assigned to methane gas. Spectrum 8B (7 MPa, 276 K, 200 sec (20 sec X 10)) shows one peak (3054  $\text{cm}^{-1}$ ) for pure synthetic methane hydrate. Spectra 8C (7.7 MPa, 275.4 K, 25 sec (5 sec X 5)) shows three peaks (3017, 3054, and 3066  $\text{cm}^{-1}$ ) for a natural hydrate sample measured *in situ*. Of the three peaks in 8C, two peaks (3017 and 3066  $\text{cm}^{-1}$ ) can be assigned to gas phase methane and 3054  $\text{cm}^{-1}$  can be assigned to methane in the hydrate phase.

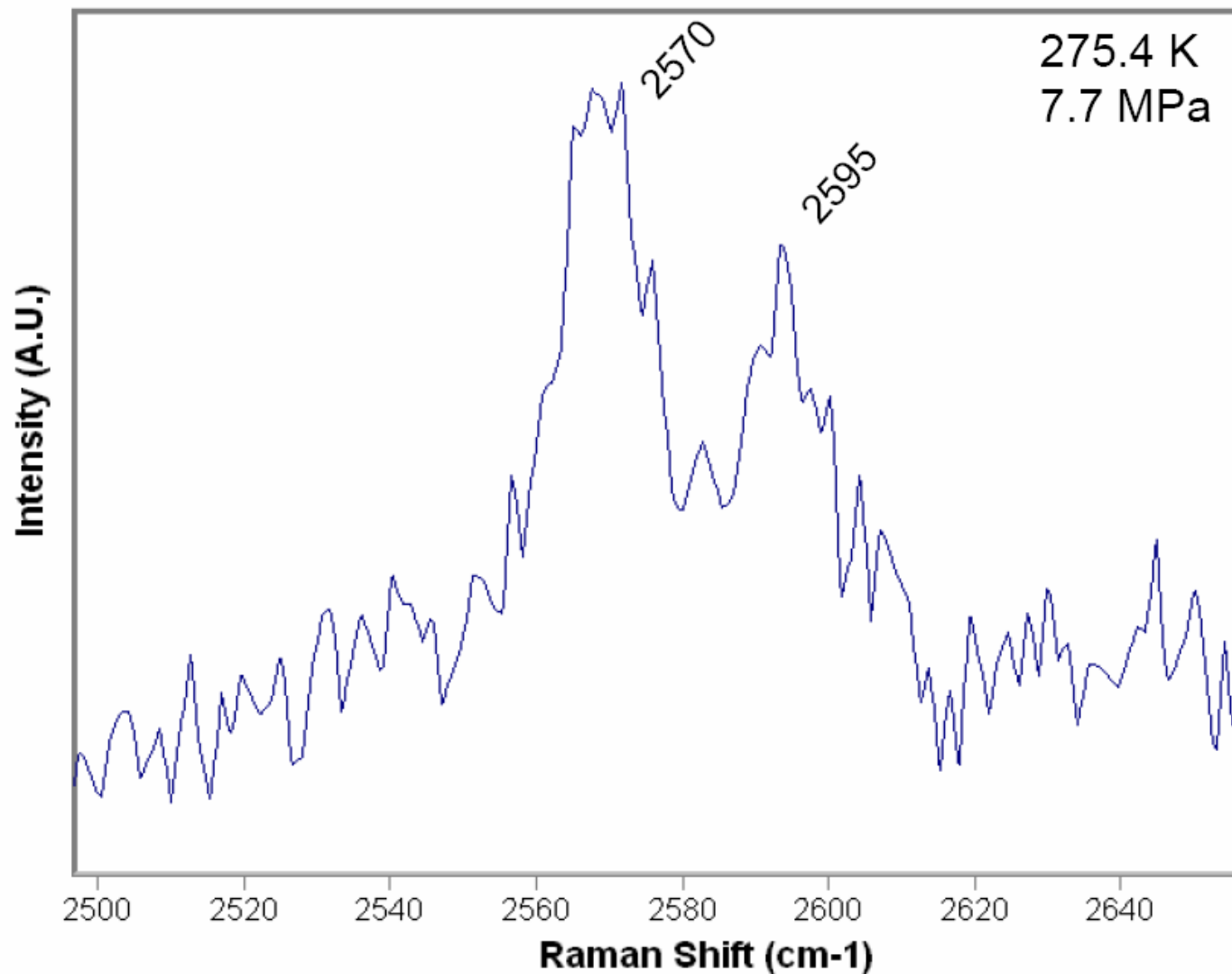


Fig. 9. Raman spectra showing H<sub>2</sub>S in the 5<sup>1262</sup> cage (The peak at 2570 cm<sup>-1</sup> is a vibrational mode from methane in the hydrate), (400 sec, 20 sec X 20)



# Ramanova mikrosonda

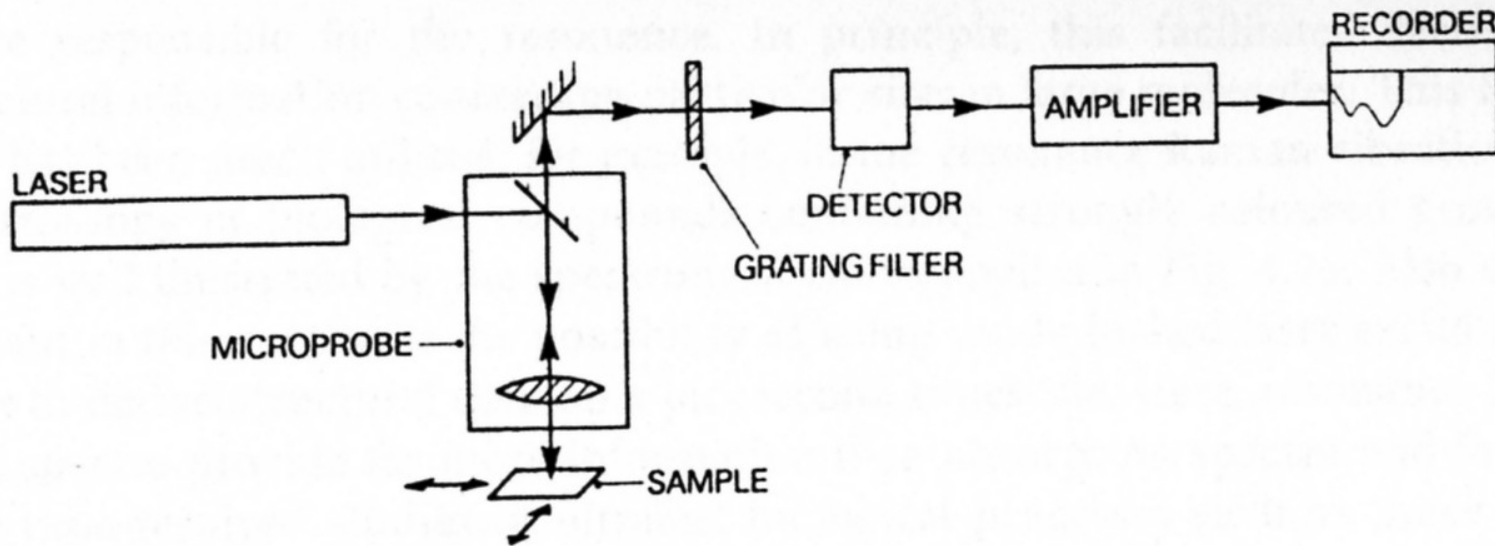
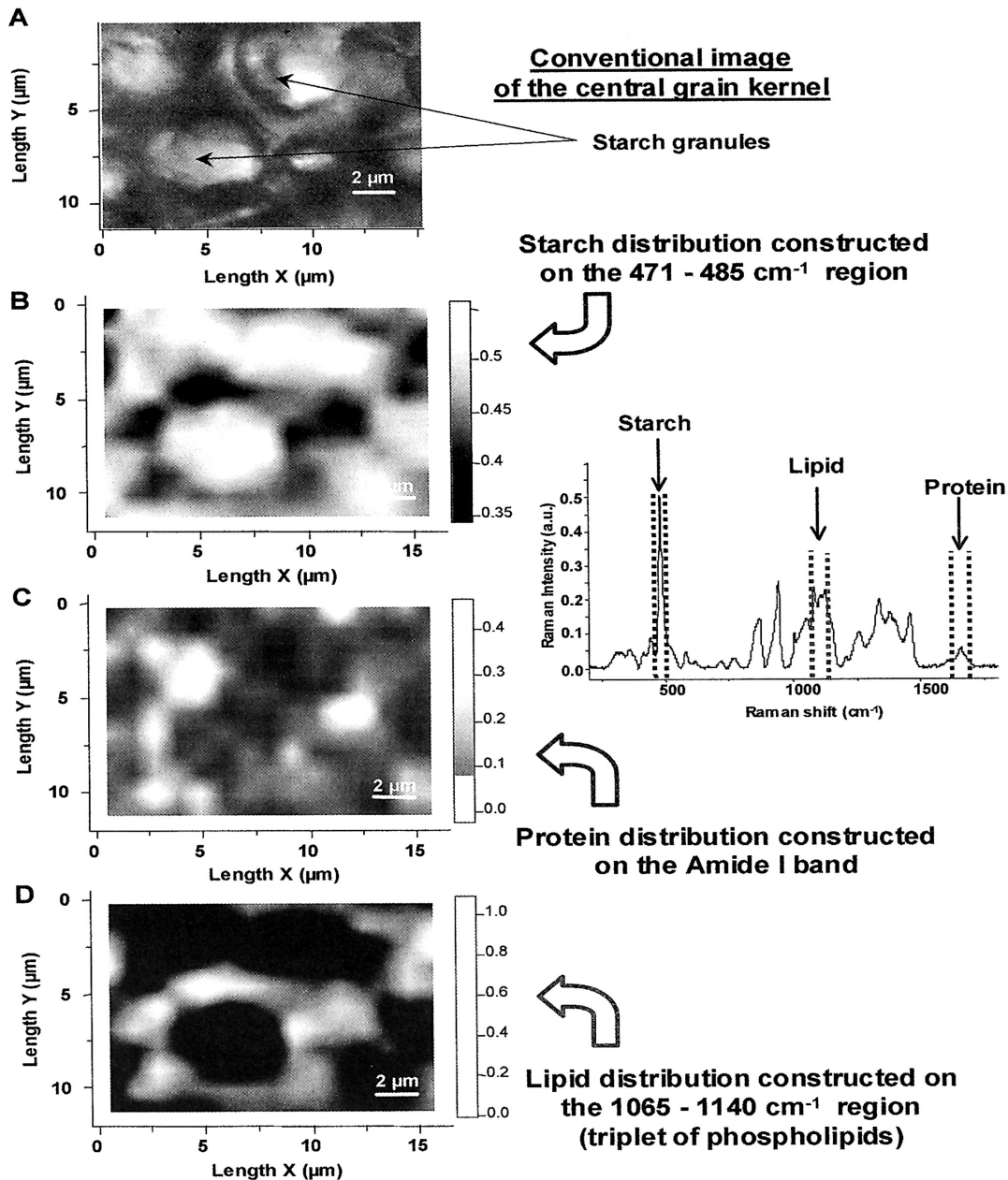


Fig. 4.25 Raman microprobe (point illumination) instrumentation. In the alternative global illumination configuration, a larger surface area is illuminated, and the detection equipment is replaced with an image intensifier phototube and camera

# Analýza obilných zrn



Spectral images were generated from a set of 15 x 11 spectra taken at 1  $\mu\text{m}$  interval

# Mapování povrchu papíru

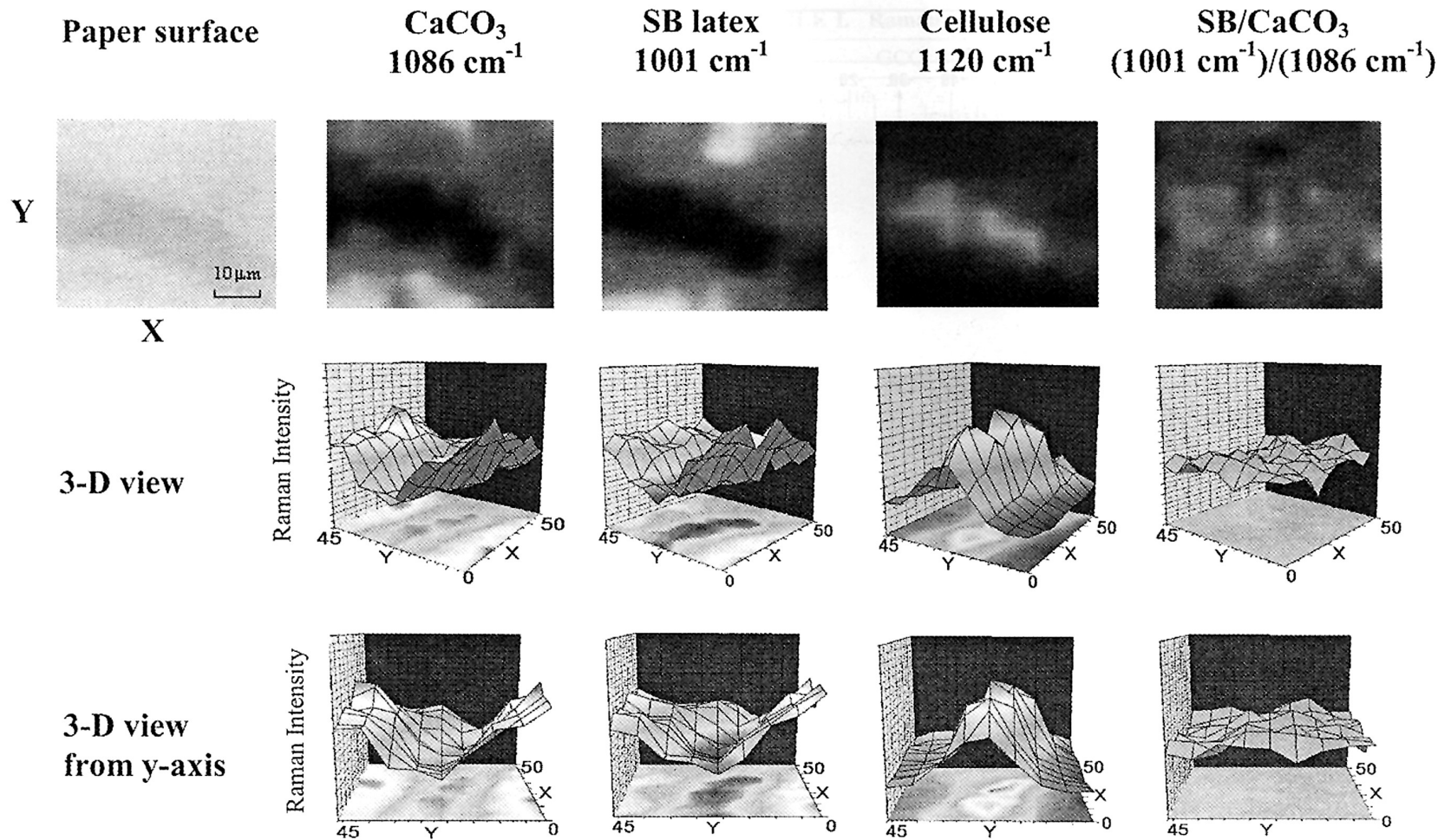
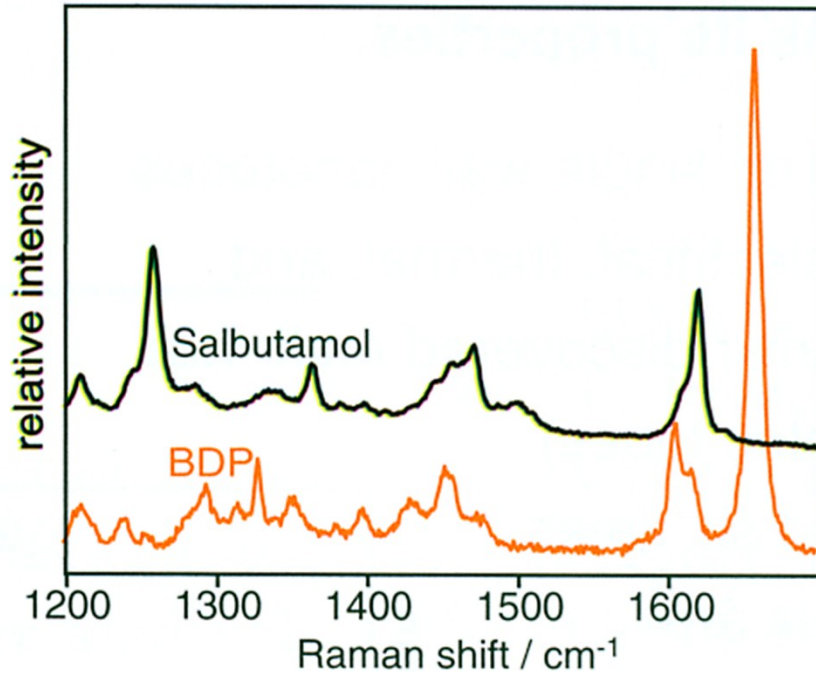


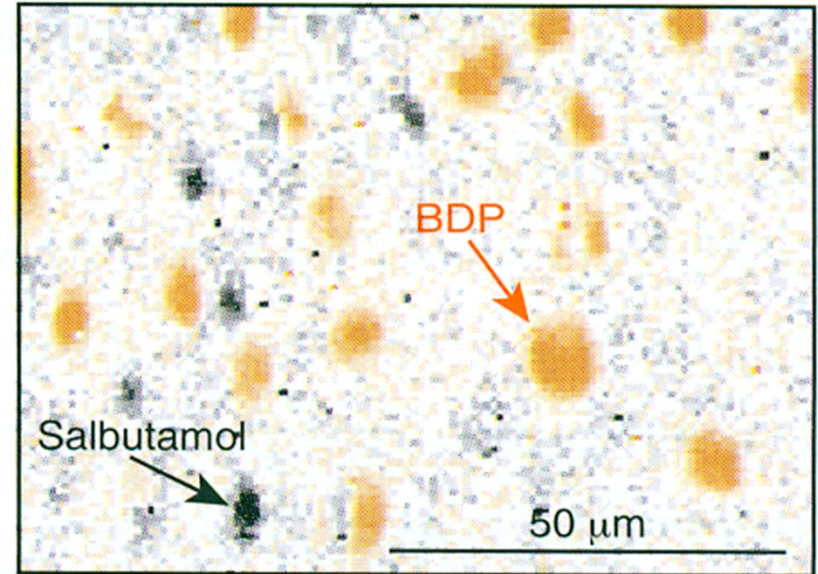
FIG. 6. Surface mapping of SB/ $\text{CaCO}_3$  coated paper.



# Prostorové rozložení aerosolu



**Raman spectra of pure samples of BDP and salbutamol**



**Raman map of BDP and salbutamol distribution**

# Detekce infikovaných erytrocytů

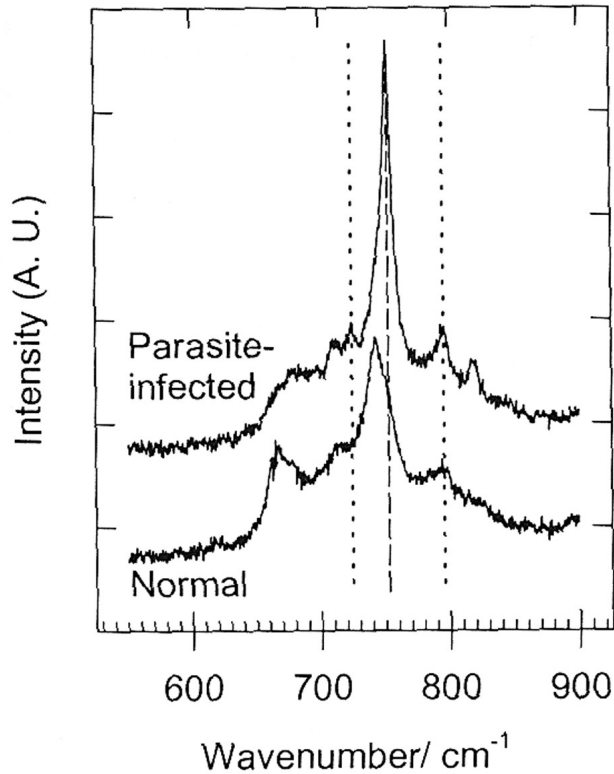


FIG. 4. the atom

FIG. 6. Raman spectra comparing the differences between the normal and parasite-infected erythrocytes in the 550–900  $\text{cm}^{-1}$  region with the 632.8-nm HeNe laser. The band due to the vibrational mode  $C_aNC_a$  occurs at 743  $\text{cm}^{-1}$  for normal erythrocytes and 754  $\text{cm}^{-1}$  for parasite-infected erythrocytes, as indicated by the dashed line. More differences can be identified by the weaker bands, at 724 and 795  $\text{cm}^{-1}$ , indicated by the dotted lines.

Kliknutím lze upravit styly předlohy textu.

Druhá úroveň  
Třetí úroveň  
Čtvrtá úroveň  
Pátá úroveň

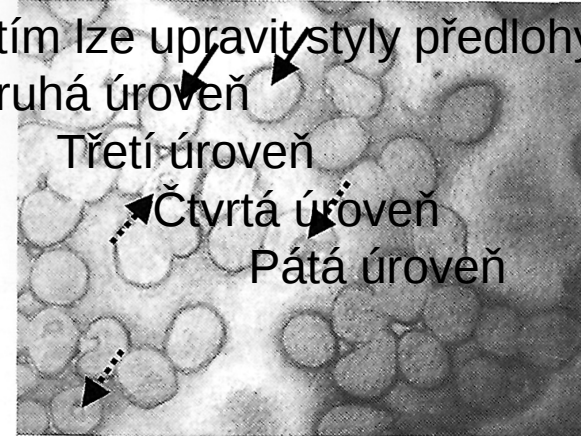


FIG. 2. Optical images of uninfected and *P. berghei*-infected erythrocytes. The uninfected mouse erythrocytes are indicated by solid arrows and the *P. berghei*-infected erythrocytes by dashed arrows. Mag: 1000 $\times$ .

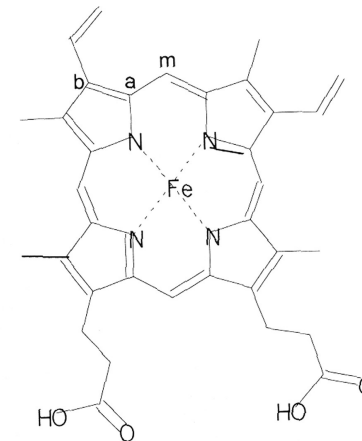
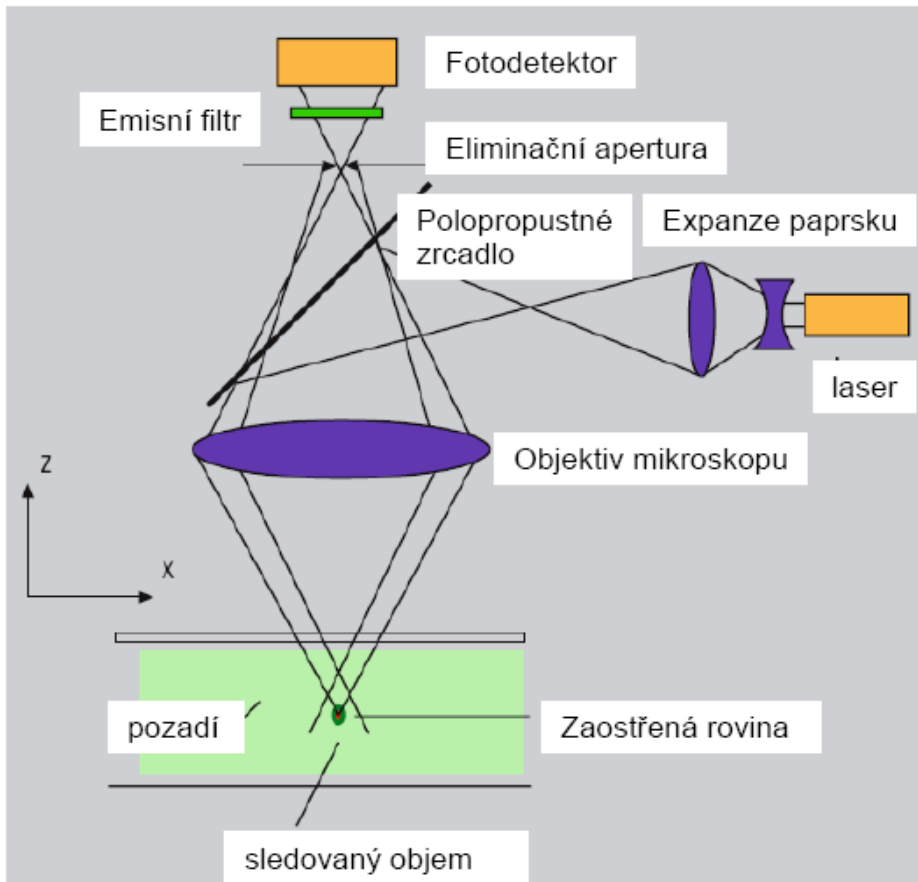


FIG. 4. Schematic representation of the iron protoporphyrin showing the atoms referred to in the band assignments.

# Konfokální mikroskop

Rozdělení:

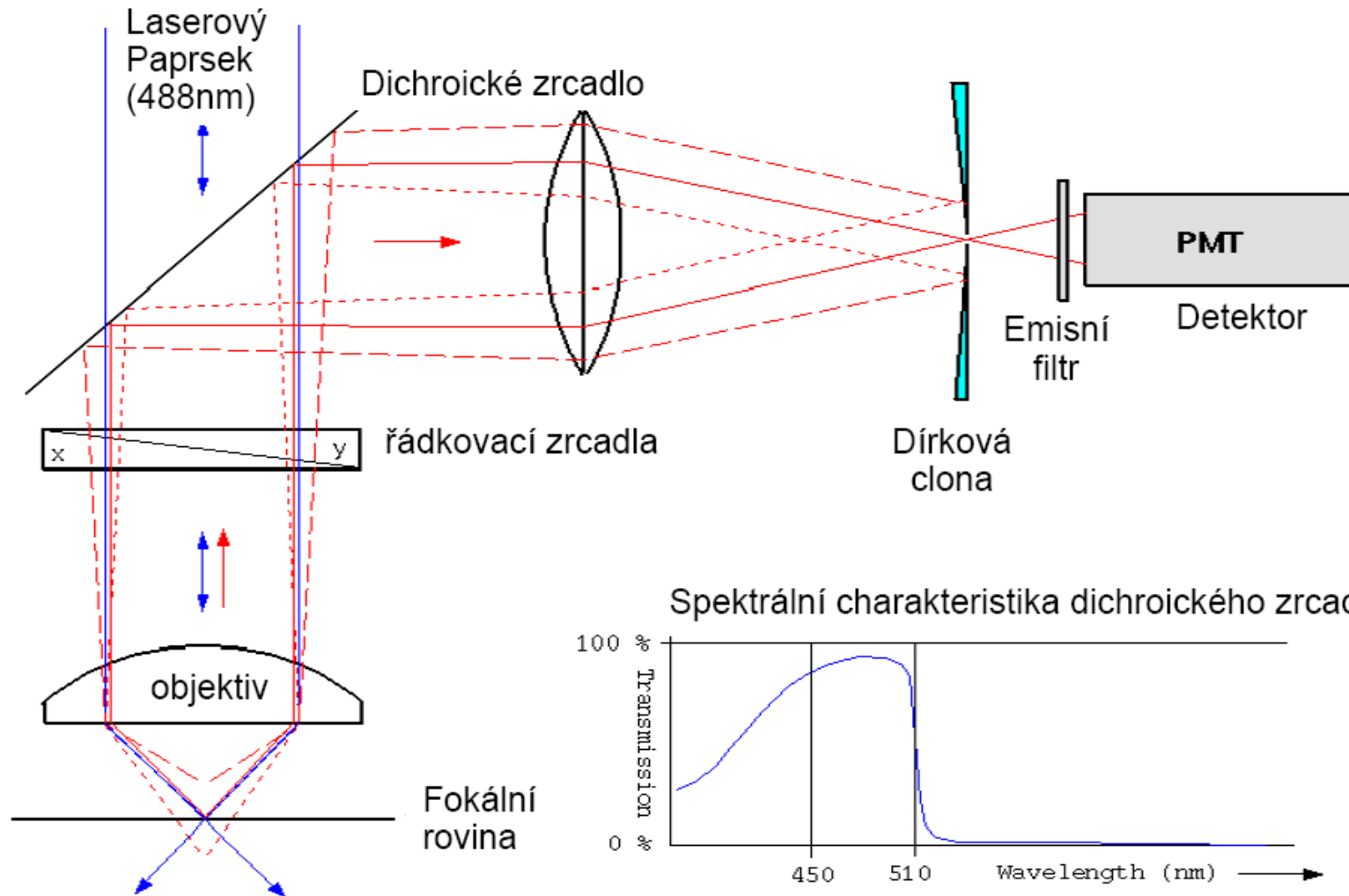
1. LSCM (Laserová skenovací konfokální mikroskopie)
2. TSM (Tandemová skenovací mikroskopie)



## Odlišnosti konfokálního způsobu od klasického SM

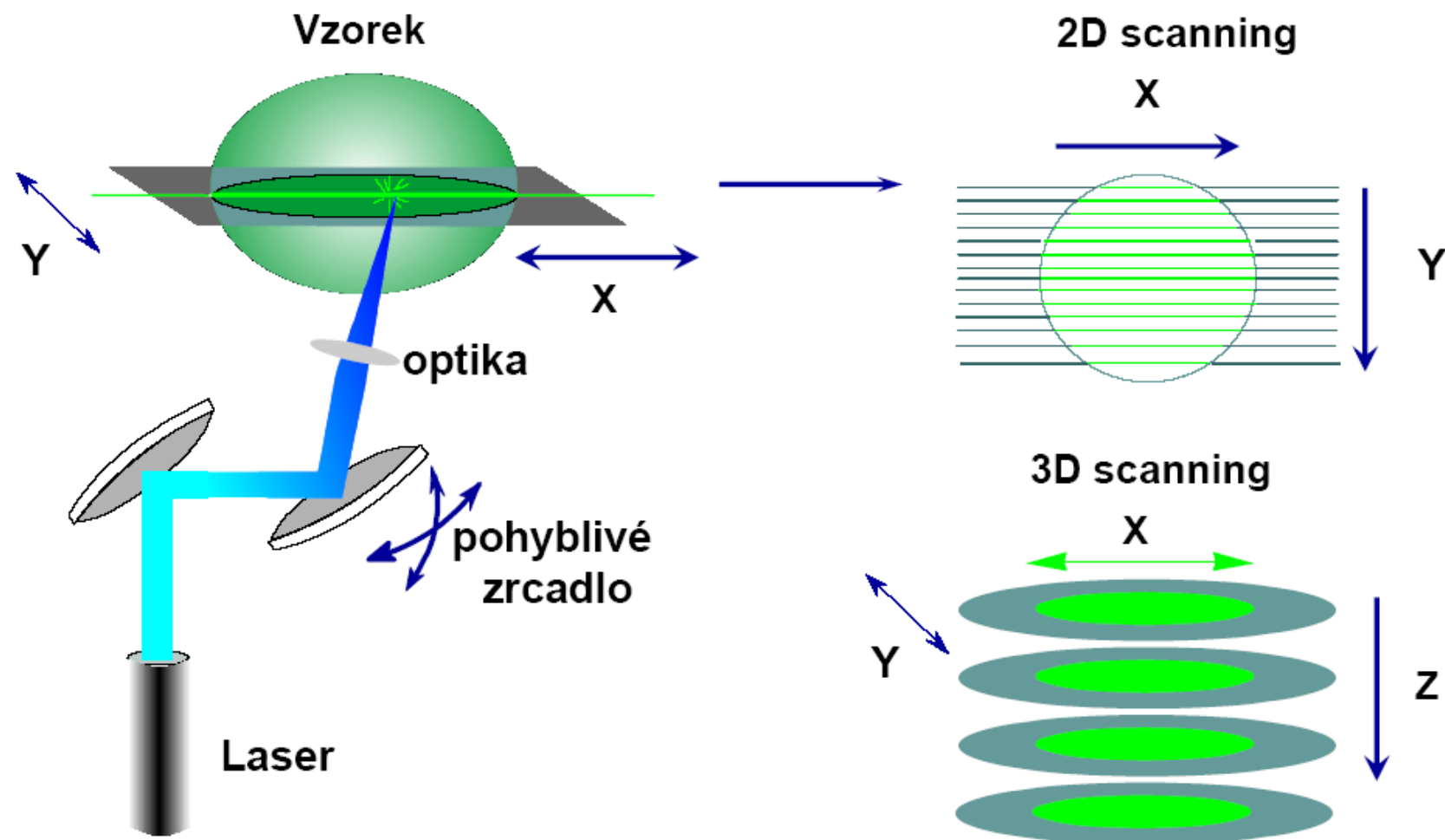
- osvětlen je jen jeden bod a signály od okolních bodů (vedle, pod a nad) jsou omezeny otvorem - eliminační aperturou
- režim osvětlení: epi (reflexní) nebo fluo – (fluorescenční)
- **konfokální kondenzor = objektiv** (méně odrazů)
- skenování: rozmítání laserového svazku, příčné posouvání vzorku před objektivem, případně posouvání objektivu nad vzorkem
- konfokální obrazy jsou vždy zaostřené a představují optické řezy vzorkem  
(pro  $\lambda = 488 \text{ nm}$  tloušťka =  $0,4 \mu\text{m}$ )

# Laserový skenovací konfokální mikroskop

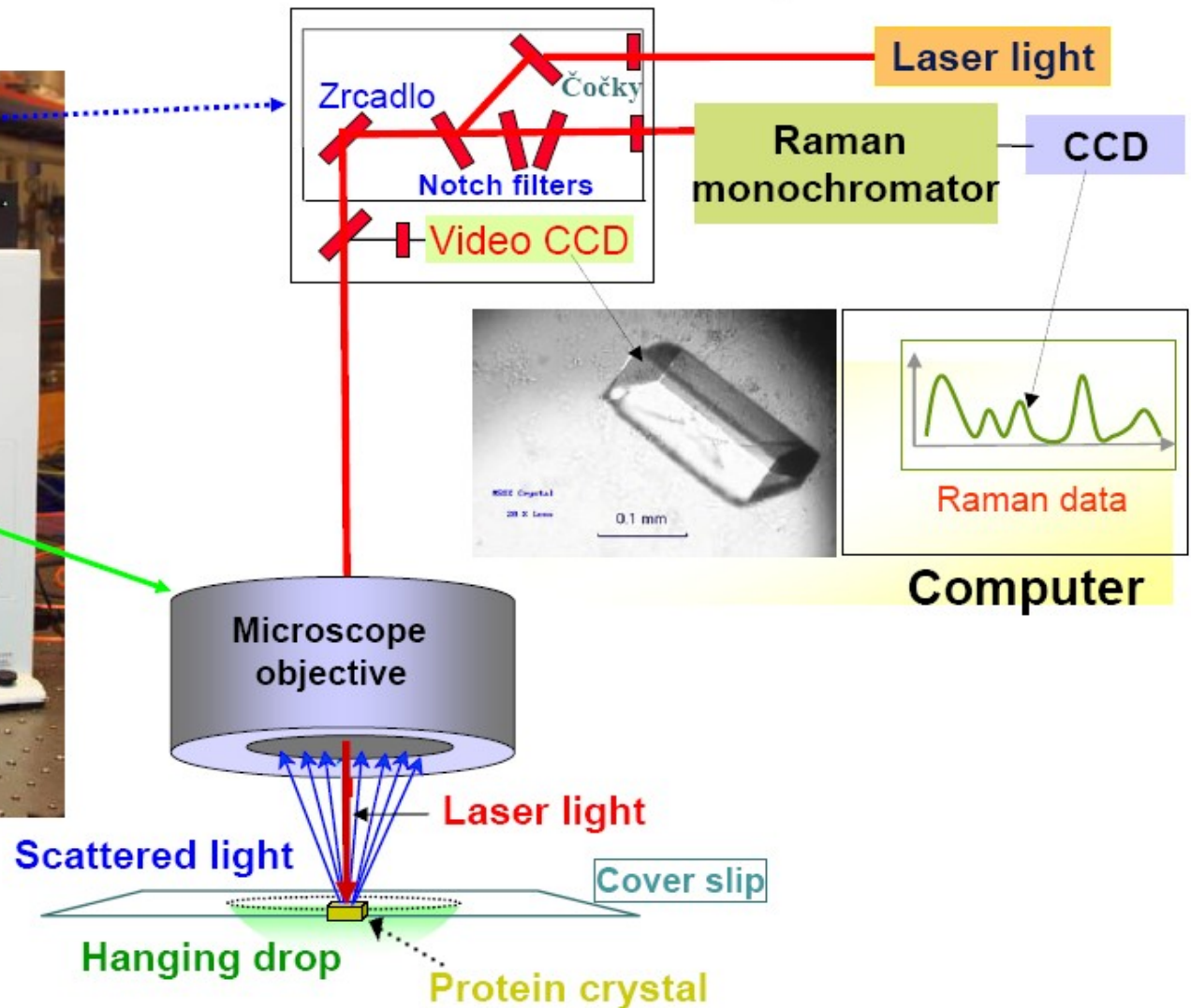




# Řádkovací zrcadla



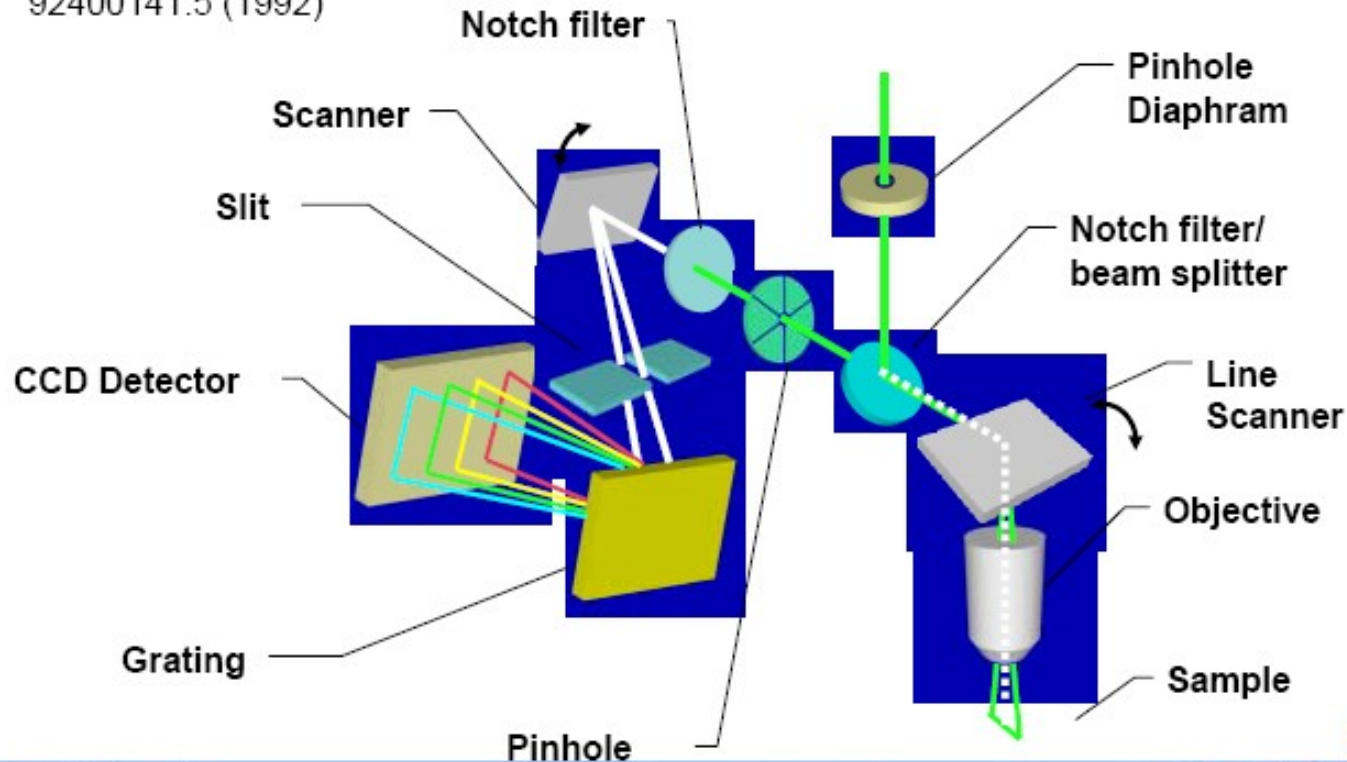
# Konfokální Ramanův mikroskop



# Ramanova mikrospektroskopie

## Confocal Line Scanning

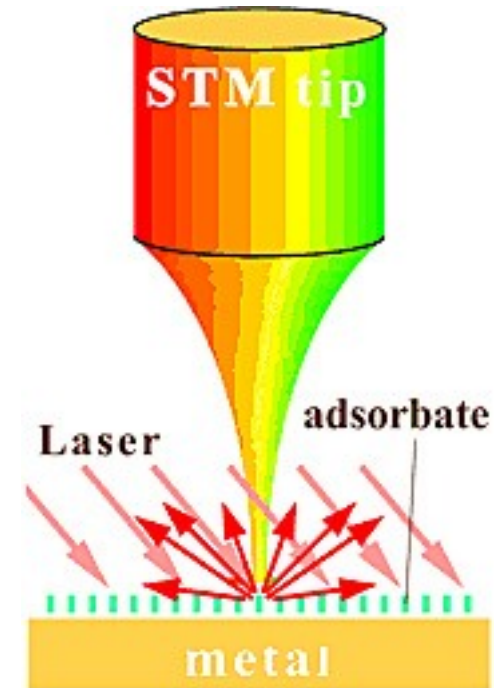
Patented unique method to scan laser through objective to avoid aberrations and maintain diffraction-limited spot. Then the spectrum of each spot on sample is displayed on a different row of the CCD, **assuming that the spectrograph is stigmatic.** European patent # 92400141.5 (1992)



# Ramanova nanospektroskopie

---

- ▶ **Techniky blízkého pole**
  - ▶ sonda v blízkosti povrchu („blízké pole“)
- ▶ **Spektroskopie blízkého pole**
  - ▶ (near-field spectroscopy)
- ▶ **Mikroskopie blízkého pole**
  - ▶ SNOM – scanning near-field optical microscopy
  - ▶ UV-vis, IR (IR-SNOM), Ramanova spektroskopie + TERS
  - ▶ fotoluminiscence, fluorescence
    - rozlišení lepší než 50 nm
    - spektroskopie jedné molekuly



# Aplikace SNOM

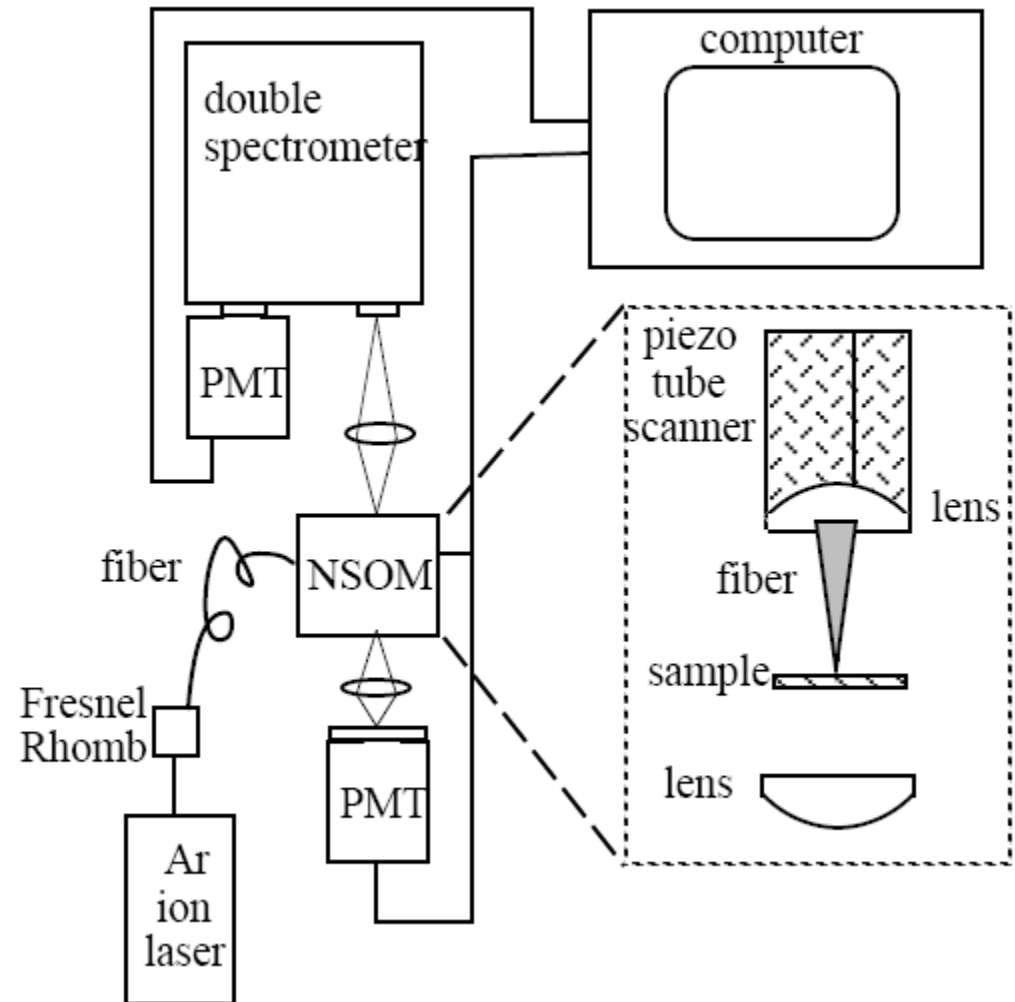
---

- ▶ **Single Molecule Detection** J.K. Trautman et al. Nature 369,40, (1994)
- ▶ **Raman Scattering** C.L. Jahncke et al. Appl. Phys. Lett. 67 (17), 2483 (1995)
- ▶ **Polarization and Orientation** B. McDaniel et al. , Appl. Opt. 37, 84 (1998)
- ▶ **Magnetic-Imaging** U. Hartman, J. Magn.& Magn. Mater. (1996)
- ▶ **Data Storage** H.J. Mamin, IBM J. Res. Develop. (1995)
- ▶ **Biological Imaging**. VanHulst et al. J. Struct. Bio., 119,222 (1997)
- ▶ **Quantum Dots, Quantum Wires** H.F. Hess et al. Science 264, 1740 (1994)
- ▶ **Lithography** S. Madsen et al. J. App. Phys.82 (1) 49(1997).
- ▶ **Photonic Device Characterization** S.K. Buratto et al. App. Phys. Lett.65, 2654 (1994)
- ▶ **Semiconductor/ Defect Characterization** LaRosa et al. Mater. Res. Soc. Symp. Proc. 406,189-194 (1996)



# Raman - NSOM

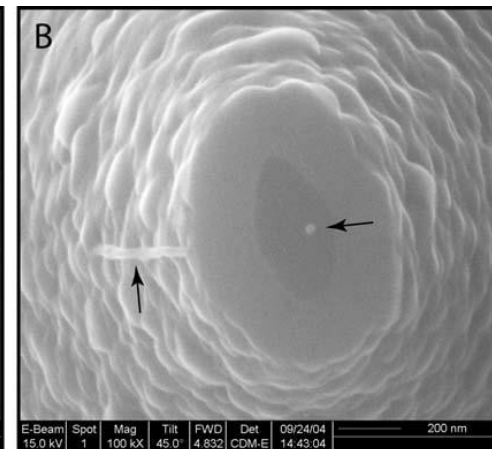
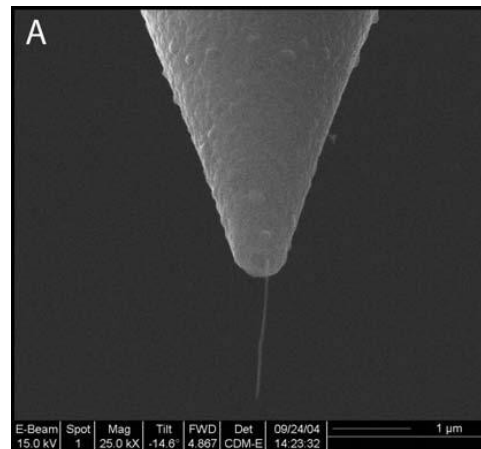
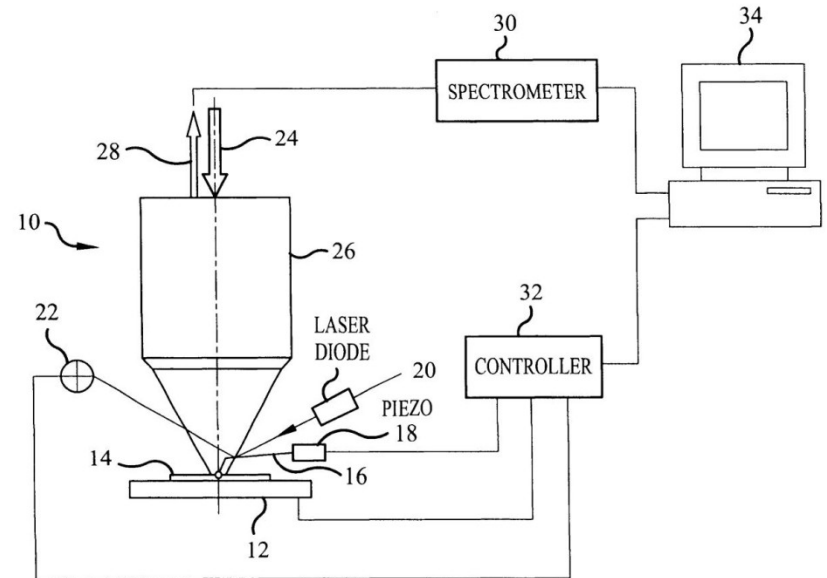
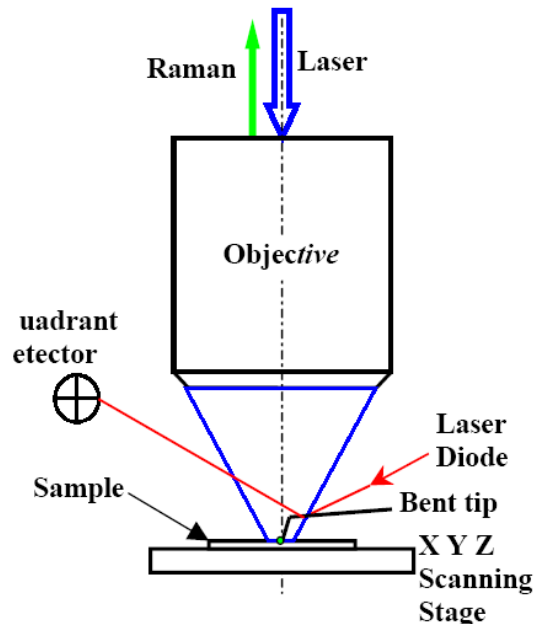
- ▶ vzdálenost sondy – do 10 nm
- ▶ • apertura sondy
- ▶ • režimy snímání
  - ▶ transmisní (jen transparentní vzorky)
  - ▶ reflexní – ostrá sonda – vysílač, přijímač, obojí
  - ▶ rozptyl – vysílač, přijímač, obojí



# Raman-NSOM

vzdálenost sondy –do 10 nm

- apertura sondy
- režimy snímání  
kolmá či šikmá laserová excitace





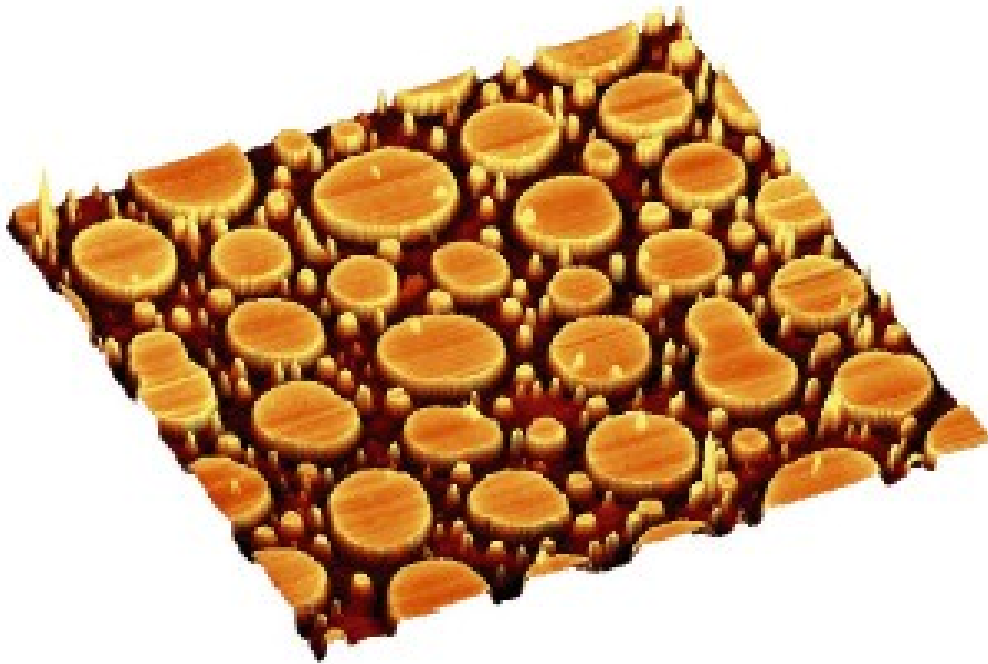
# Separace fází

---

**AFM zobrazení směsi polymerů PMMA-SBR,  
odstředivě**

**nanesené na skleněnou podložku. Sken  
20x20  $\mu\text{m}$ , topografické**

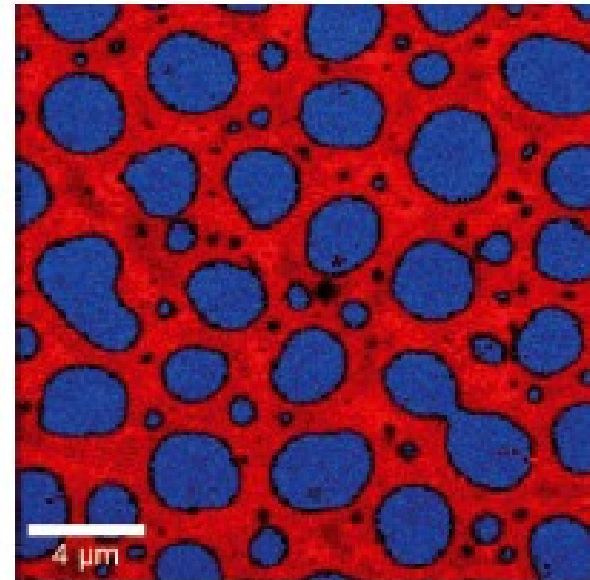
**měřítka 30 nm**



**Ramanovské zobrazení směsi polymerů PMMA-SBR.**

**Plochy PMMA jsou barevně kódovány modře, plochy  
SBR jsou zobrazeny**

**červeně. zobrazení: 200x200 spekter**

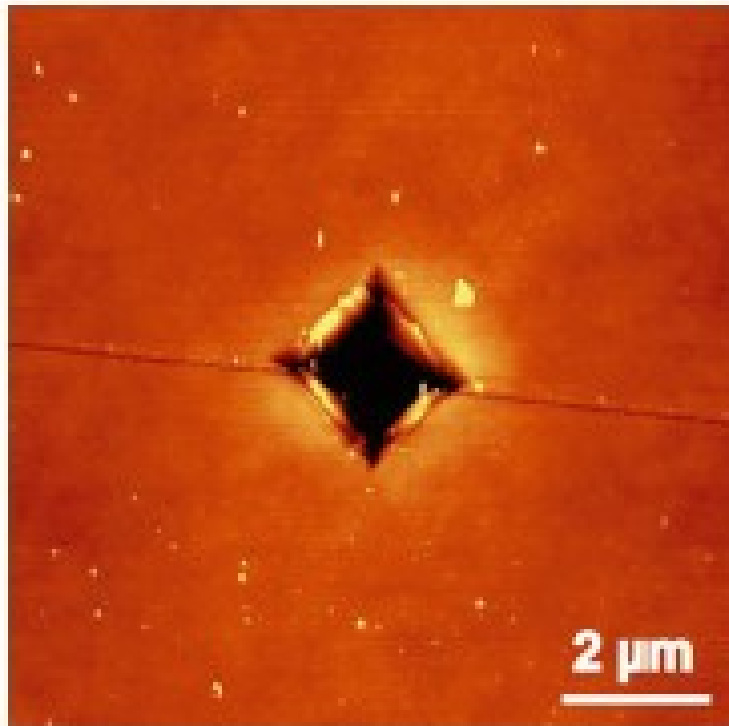


# Měření napětí v materiálu

AFM měření vtisku ze zkoušky tvrdosti Si dle Vickerse.

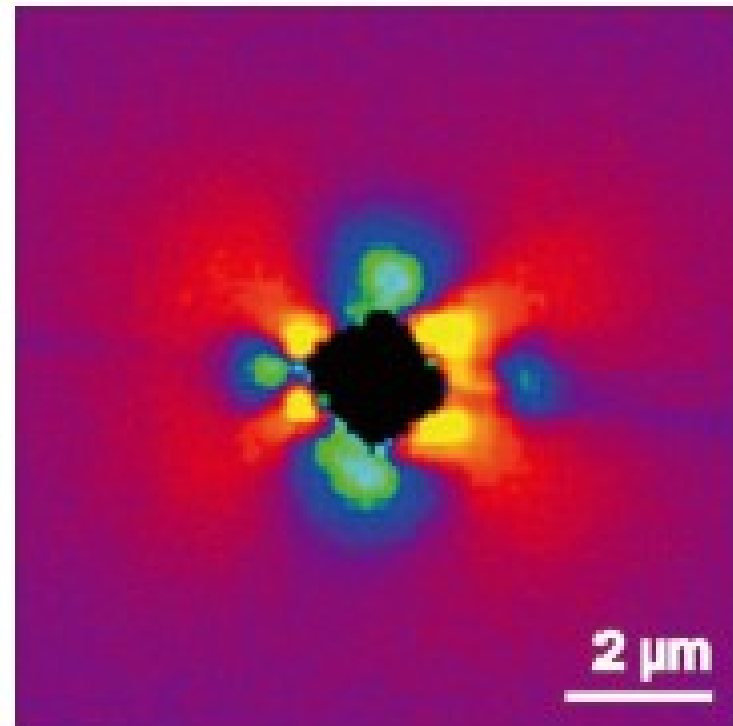
Vtisk o úhlopříčce  $2,75\ \mu\text{m}$  a hloubce  $210\ \text{nm}$  byl vytvořen silou

$50\ \text{mN}$ . Velikost skenované plochy:  $10 \times 10\ \mu\text{m}$ .

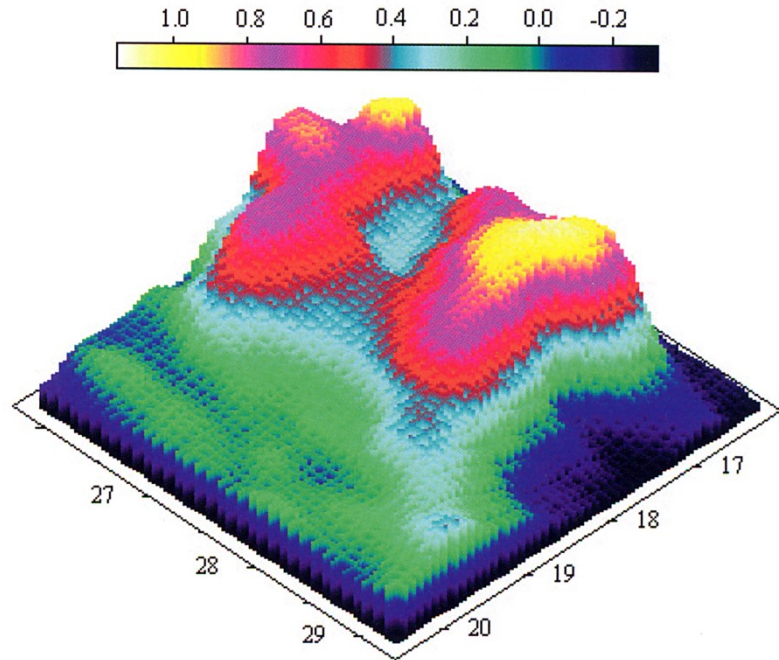


**Ramanovské zobrazení stejné oblasti jako na vedlejším obr.**

**Zobrazení bylo vypočteno z polohy píku parabolické aproximace**



# Měření napětí v materiálu \_ fonony

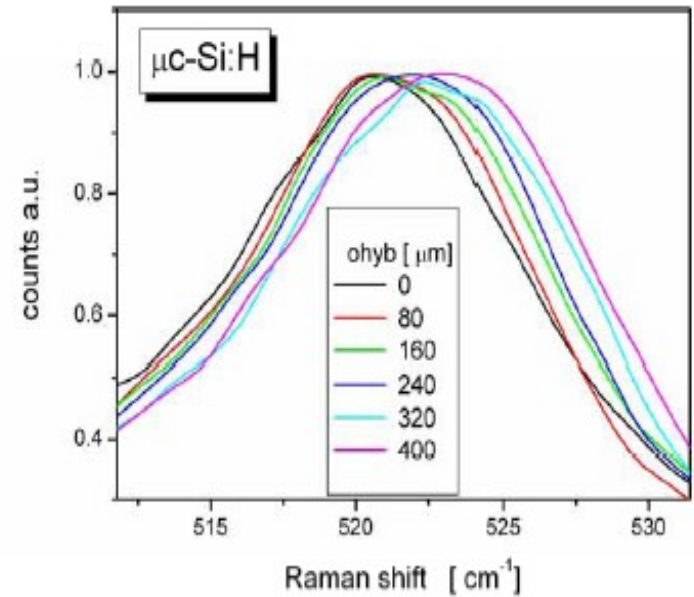
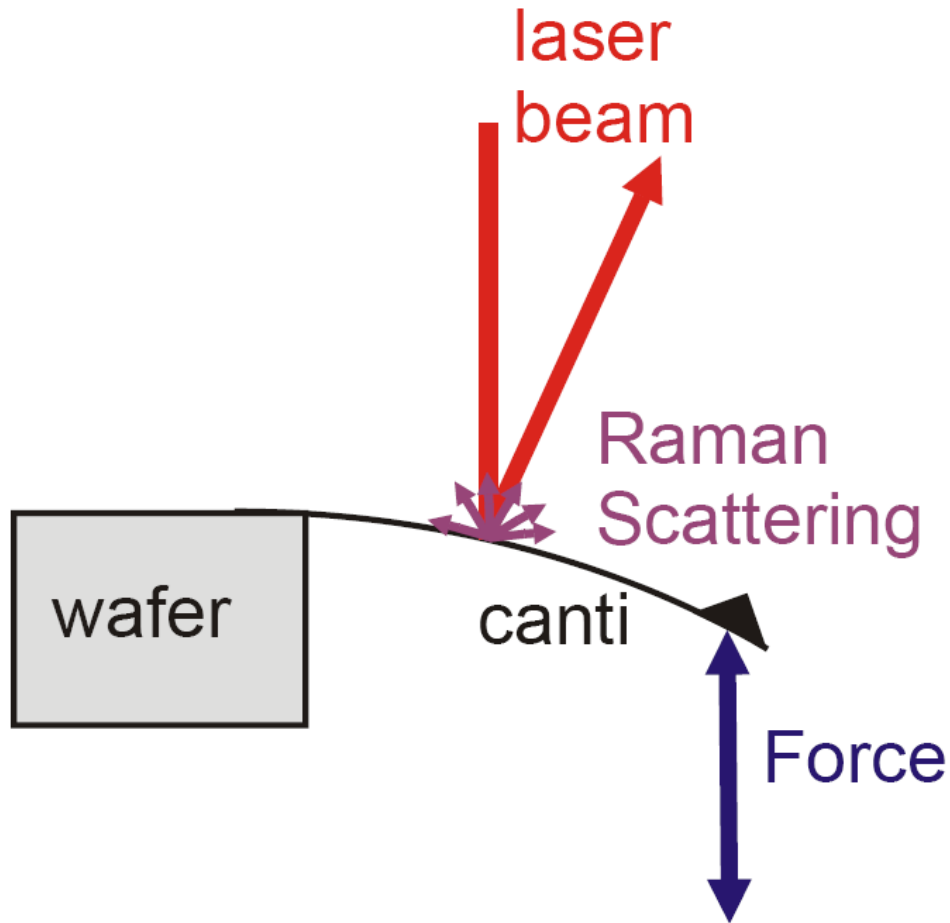


*High resolution analysis can provide very detailed information on intrinsic stress and strain in a sample. Raman map of a sub-micron structure ( $0,6 \times 0,6 \mu\text{m}^2$ ) showing the Si-phonon shift used for stress analysis.*

- ▶ **Fonon** – kvazičástice vibrací krystalové mřížce, vibrační kvantum šířící se krystalovou mříží. Pomocí fononů lze popisovat šíření zvukových vln v pevných látkách. Samotný název fonon vznikl jako analogie k fotonu. Foton je částicí elektromagnetického pole, fonon je kvazičásticí netlumeného zvukového pole v pevné látce.

Řadí se mezi bosony.

# Mechanické napětí v nanostrukturách



## Speciální techniky

---

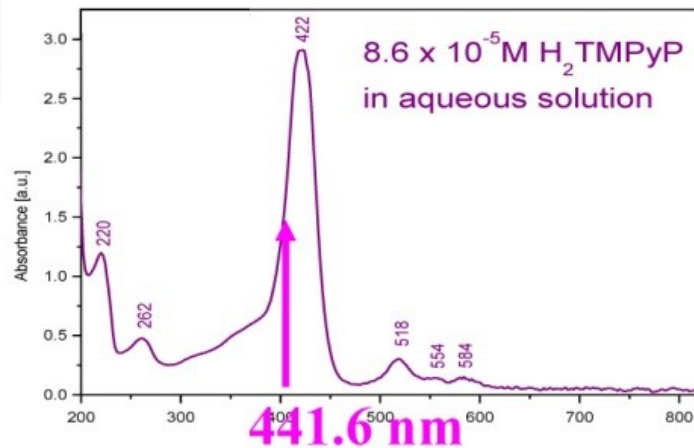
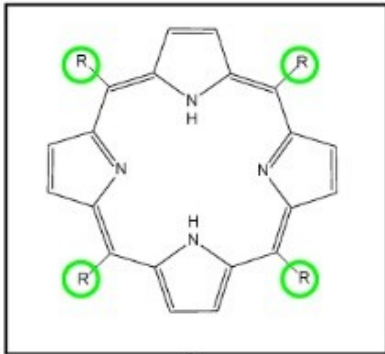
- ▶ rezonanční - RR
- ▶ povrchem zesílený - SERS
- ▶ rezonanční povrchem zesílený - SERRS
- ▶ fotoakustický – PARS (nelineární, pulzní)
- ▶ hyperRaman (two photon pumping)
- ▶ koherentní anti-Stokes - CARS
- ▶ koherentní Stokes - CSRS



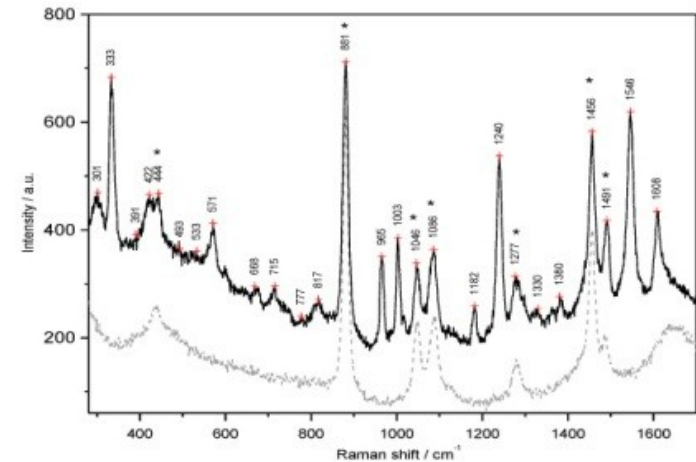
# RRS

## (Resonance Raman Scattering)

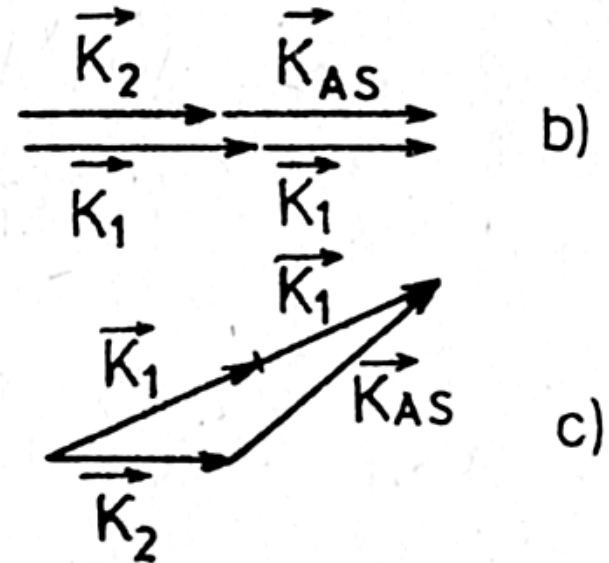
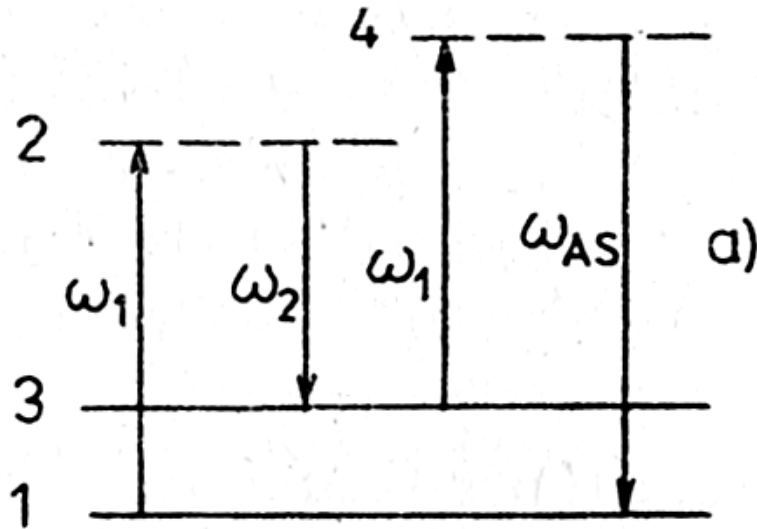
- ▶ Excitace do absorpčního pásu molekuly, ale hrozí fotodegradace a rušení výsledného Ramanova signálu fluorescencí



RRS  
10<sup>-6</sup> M porphyrin



# Metody nelineární - CARS

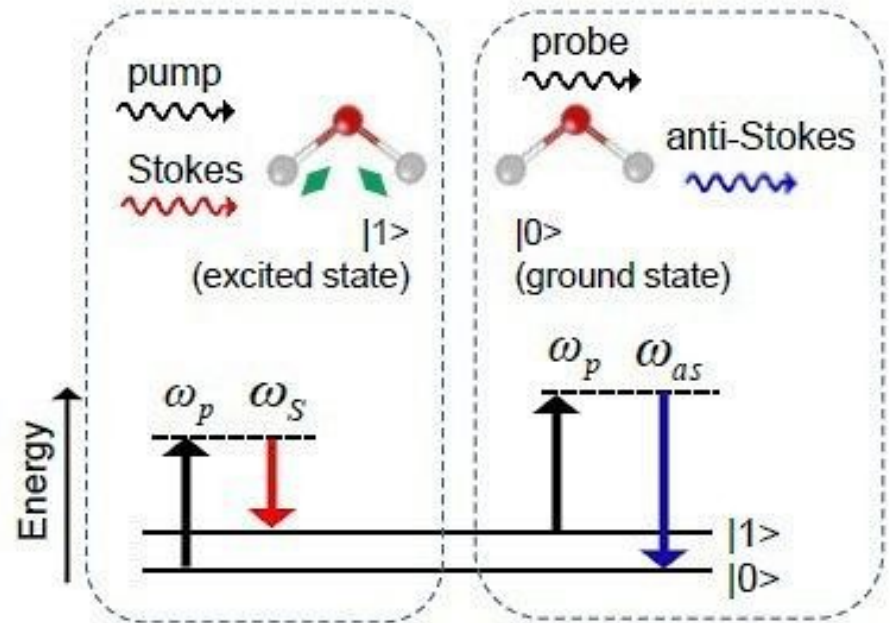


U metody CARS („čtyřfrekvenční směšování“), na rozdíl od ASRS, je relaxace z první virtuální hladiny 2 vynucená zářením druhého laseru s frekvencí  $\omega_2$ , které způsobí zvýšení populace hladiny 3 a antistokesův přechod má charakter stimulované emise koherentního a směrovaného záření. Emise záření  $\omega_{AS}$  vychází v podobě úzkého kužele. U disperzních vzorků (kapalin) se vlnové vektory sčítají vektorově (c), takže k oddělení detekovaného záření není potřeba žádný disperzní prvek, na rozdíl od plynů (b).

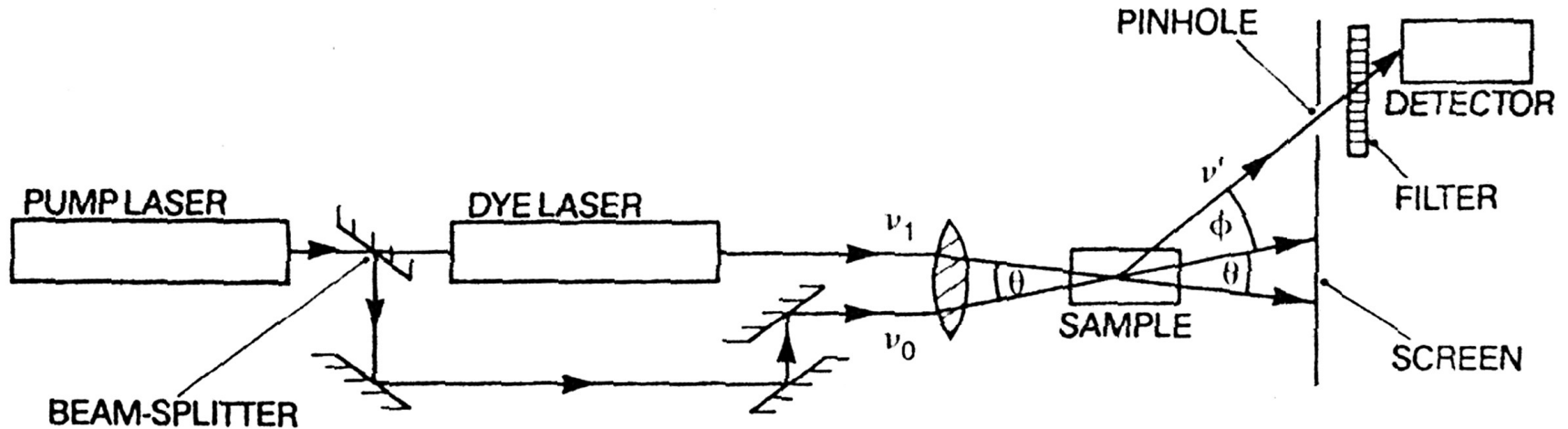


# Coherent Anti-Stokes Raman Scattering

- CARS can stimulate the production of a significantly larger amount of signal than spontaneous Raman microscopy. Like spontaneous Raman, CARS probes vibrational modes in molecules and does not require the introduction of exogenous dyes or markers, which is advantageous in imaging small molecules, such as metabolites, for which labeling may significantly affect their molecular properties.
- CARS is a process that involves four photons that interact with the third order nonlinear susceptibility of the sample, which is a function of the vibrational frequencies. To understand a CARS event, consider two photons: a pump, of energy  $\omega_p$ , and a Stokes, of lower energy  $\omega_s$ . Consider also a molecule with a single resonance, represented by a third order susceptibility. A CARS event can be understood in two steps. Upon the illumination of the molecule with the pump and Stokes photons, the first step is initiated if the condition is met; that is, if the difference in energy between the pump and Stokes photons matches the energy of the excited vibrational state of the molecule, so that the molecule is excited. Once this happens, the second step is the result of the interaction of this excited state with a third photon, known as the probe, of energy  $\omega_p$ . This photon gains the energy of excitation of the molecule, and an anti-Stokes photon is emitted with an energy that has a higher frequency than any of the incident photons.

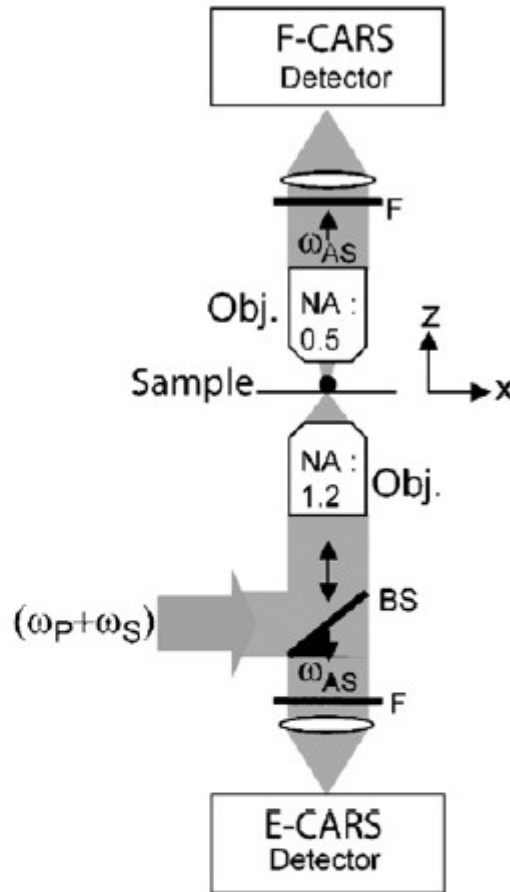
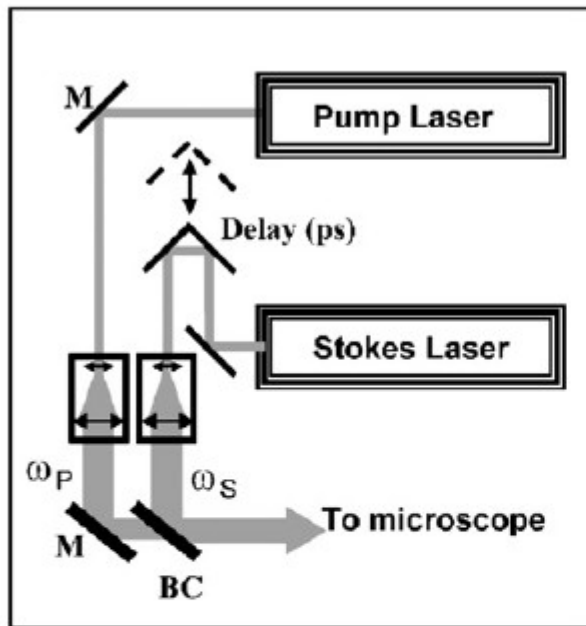


# CARS instrumentace



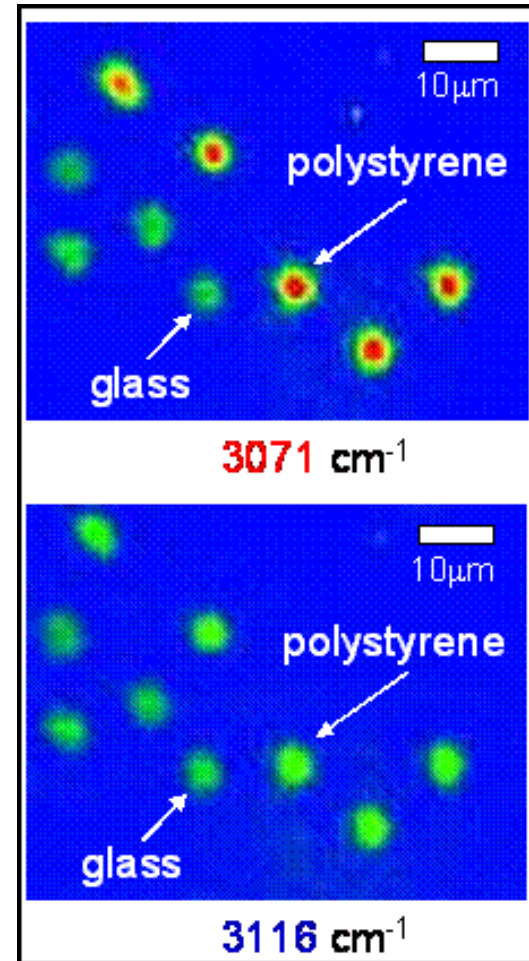
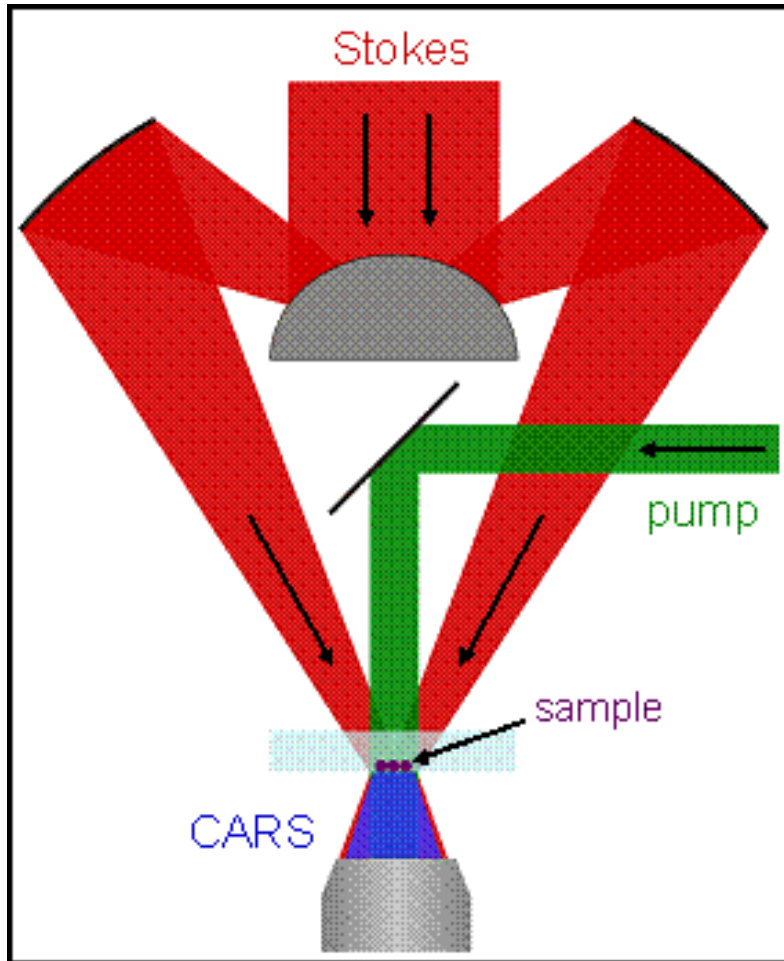
CARS vyžaduje především výkonové laditelné lasery, které jsou technicky i ekonomicky náročné. Na rozdíl od klasické Ramanovy spektrometrie jsou zářivé toky v CARS velmi intenzivní, takže nároky na detekci signálu jsou minimální. Např. při sledování vibračního přechodu benzenu u  $992\text{ cm}^{-1}$  (totálně symetrická vibrace vibrace benzenového kruhu), buzení do virtuálních hladin na  $513\text{ nm}$ ,  $P=100\text{ kW}/6\mu\text{s}$ , stimulace na  $540\text{ nm}$ ,  $P=30\text{ kW}/6\mu\text{s}$ , výkon koherentního záření z interakčního prostoru  $300\text{ W}$ ! Účinnost může dosáhnout až  $10\%$ , u spontánního Ramanova rozptylu je to  $10^{-5}$  až  $10^{-8}\%$ .

# Coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy (CARS):

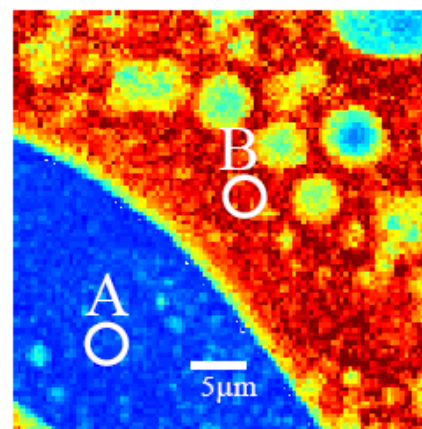
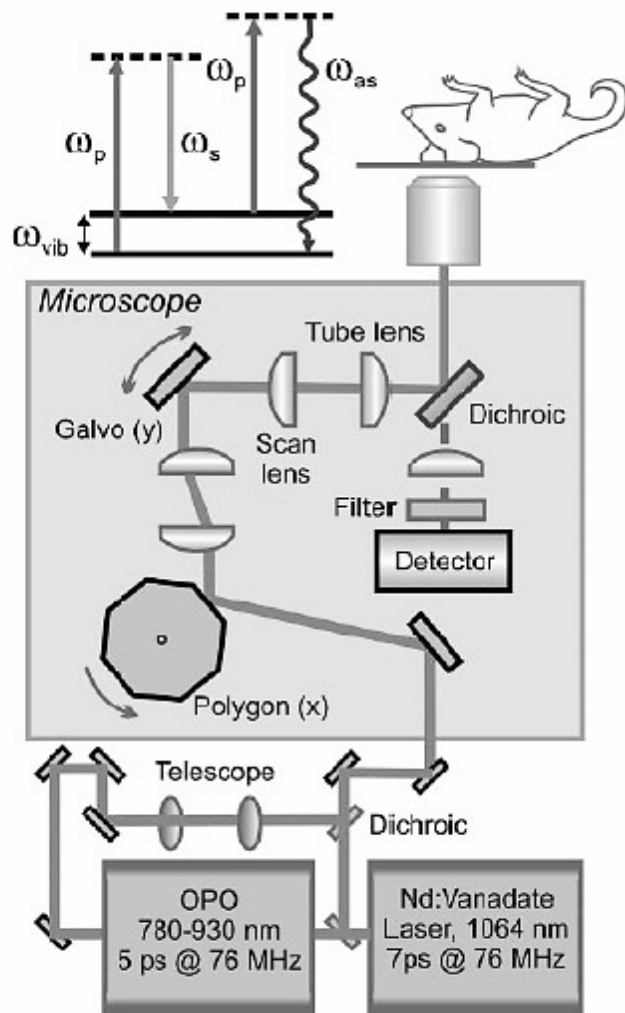


- ▶ F-CARS and E-CARS microscopy with co-propagating incident beams, forward and backward signal collection, respectively
- ▶ Obj., objective lens; F., filter; BC., beam combiner; L., lens; M., mirror

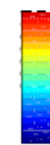
# CARS microscopy



# Broadband Coherent anti-Stokes Raman Microscope for Materials Research – CARS

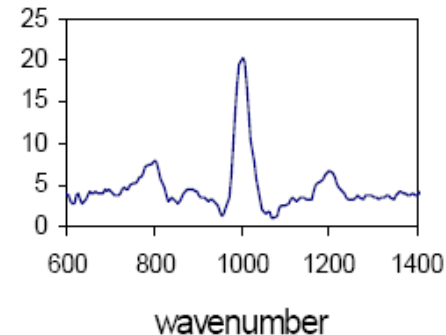
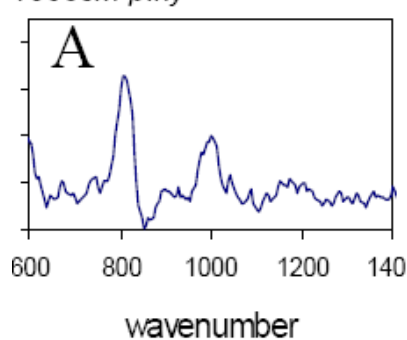


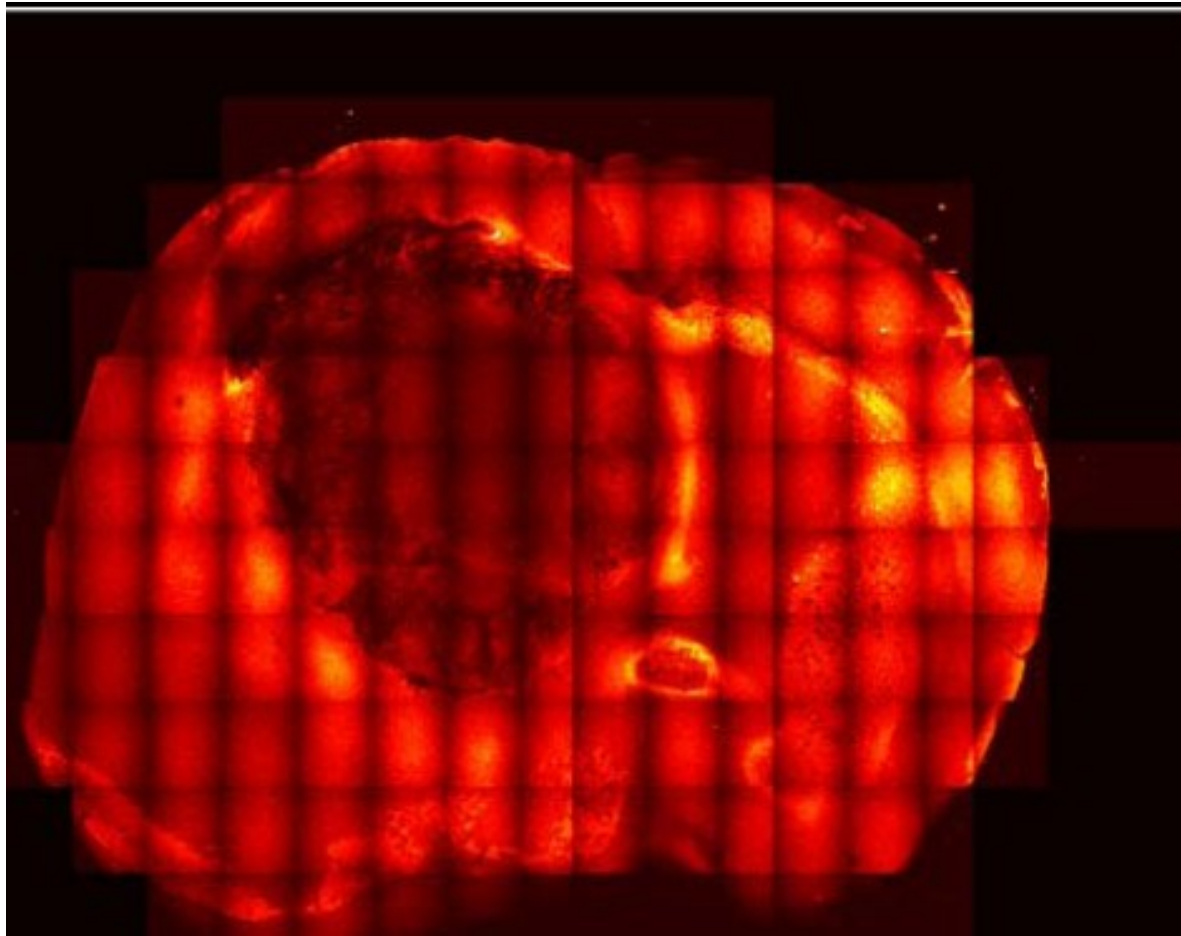
More PS



More PMMA

Obr. 1 ukazuje distribuci jednotlivých složek ve směsi polystyren (PS) – polymethylmetakrylát (PMMA).  
Obraz je vytvořen na základě relativního poměru mezi 800 a 1000cm píky





## **epi-CARS microscopy**

We used epi-CARS microscopy to image *ex vivo* mouse brain tissues. Epi-CARS microscopy suppresses the nonresonant background from the aqueous medium.

Mosaic picture of an epi-CARS mouse brain image. The brain tumor is on the left side and extends across the center line and distorts the symmetry of the brain. The magnification was 20x. Image is displayed in pseudo-color.





# Plasmonová rezonance (SPR)

---

**Plasmonika**

**Povrchově zesílená Ramanova  
spektroskopie**  
*Surface Enhanced Raman Spectroscopy*  
**SERS**

**Hrotem zesílená Ramanova spektroskopie**  
*Tip Enhanced Raman Spectroscopy/Microscopy*  
**TERS**





# Použití SPR

---

- ▶ **zvětšení citlivosti spektroskopických technik** vč. fluorescence, Ramanovy spektroskopie ... (povrchové zesílení Ramanovy spektroskopie  $\sim 10^{14} - 10^{15}x$  umožňuje identifikaci jediné molekuly)
- ▶ změna refrakčního indexu adsorpcí molekul na mezifázi kovu a dielektrika
- ▶ posun resonance v důsledku adsorpce molekul na mezifázi
- ▶ nanočástice vzácných kovů projevují silné UV-Vis absorpční pásy (nejsou přítomny u „makro“)
- ▶ měření tloušťky adsorbovaných vrstev, vazebné konstanty ligandů...



# Základní pojmy

---

- ▶ **SERS** – povrchem zesílený Ramanův rozptyl (Surface Enhanced Raman Scattering). Při Ramanově rozptylu na molekulách navázaných na povrch drahého kovu (zlata, stříbra) může dojít k zesílení jak rozptýleného tak dopadajícího záření díky rezonanční interakci fotonů s kvanty kmitů elektronového plynu v poli iontů krystalové mřížky vázaných na povrch.
- ▶ **Plazmon** – kvazičástice (kvantum) podélných oscilací elektronového plynu v pevných látkách (v krystalové mřížce kovů, v nekovech, v plastech). Například v kovech je možné vybudit oscilace plazmatu jako kolektivní excitace plynu vodivostních elektronů na pozadí kationtů krystalové mřížky. Odražené či prošlé elektrony nebo fotony interagující s plazmony vykazují ztráty energie rovné celistvým násobkům energie plazmonu. Vytváření plazmonů (ve většině materiálů o energii 10÷20 eV) vede k energetickým ztrátám, které se projeví ve formě tzv. Ferrelova záření (objeveno v roce 1960) v UV nebo vizuálním oboru.
- ▶ **Povrchové plazmony** – plazmony vyskytující se na rozhraní vakua či materiálu s kladnou relativní permitivitou a prostředí se zápornou relativní permitivitou (obvykle kovy či dotované polovodiče). Silně interagují s fotony a vytvářejí tak další kvazičástici – polariton.

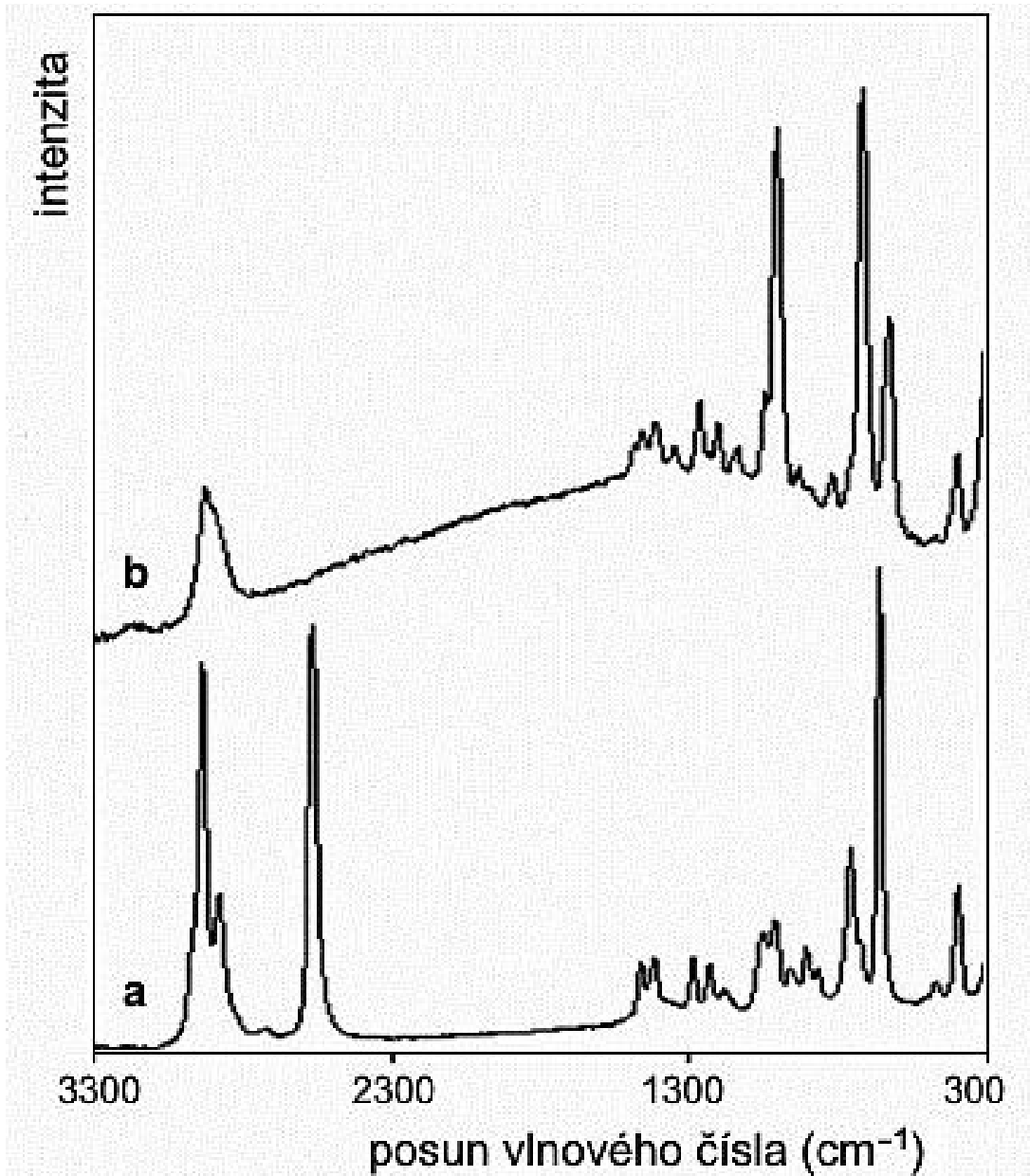


# SERS

---

- ▶ Surface Enhanced Raman Scattering – metoda přinesla velké zlepšení RS tím, že na zkoumaný povrch jsou nanесeny vhodné molekuly nebo nanočástice kovů (např. Ag).
- ▶ Zesílení Ramanových signálů je řádu  $10^4$  –  $10^6$ , v některých systémech může být i větší.
- ▶ Zlepšení citlivosti metody souvisí s tím, že u molekul v blízkosti Ag nebo Au nanočástic se projevuje povrchová plasmonová rezonance. Toto vysvětlení není však jediné.
- ▶ *Povrchový plasmon je kvazičástice. Je to kolektivní excitace volných elektronů na mezifázi vodiče a izolátoru.*



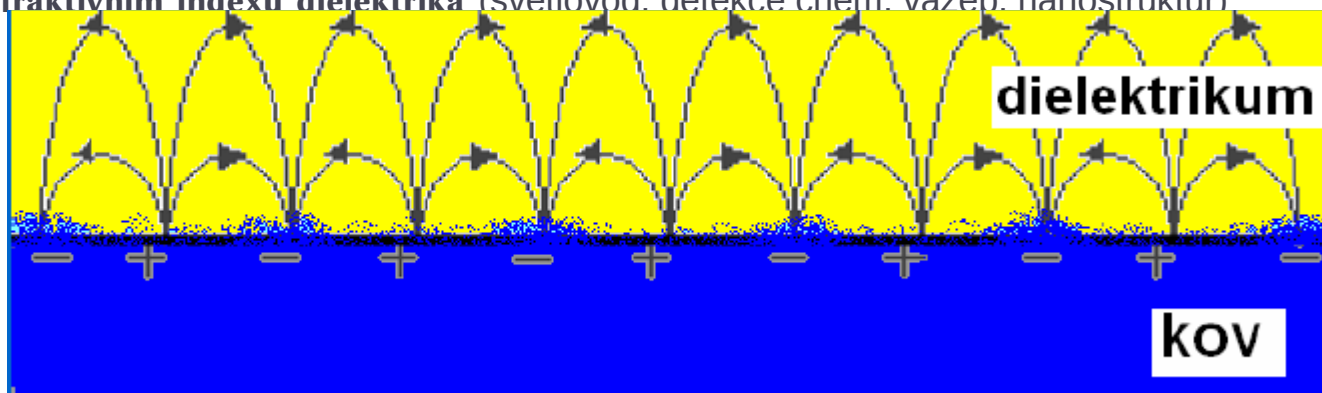


## Povrchem zesílený Ramanův rozptyl, SERS

Rozdíl mezi SERS spektrem 2-merkapt ethanolové monomolekulární vrstvy na povrchu zdrsňelého stříbra (a) a spektrem tekutého 2-merkapt ethanolu (b). V důsledku přitažlivých sil povrchu, které modifikují strukturu elektronového obalu, se obě spektra liší. (Pro názornost jsou spektra vzájemně posunuta a zobrazena v různých měřítcích.)  
Zdroj: Wikipedie.

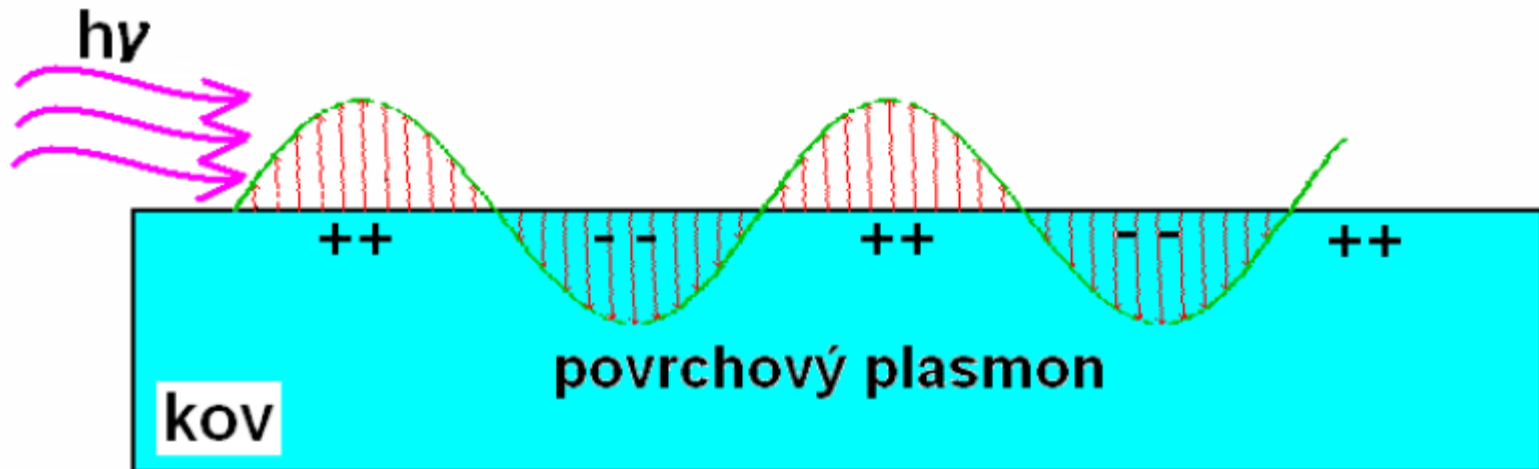
# Povrchové plazmony

- ▶ *Povrchový Plasmon - polariton* = koherentní „kolektivní“ oscilace elektronů ve vodivostním pásu
- ▶ Jeho elektromagnetické stavy jsou vázané k rozhraní kov/dielektrikum
- ▶ tvořen nábojem v kovu ( $e^-$ ) a elmg. polem v obou fázích
  - ▶- projevy: **spojené oscilace e-hustot a elmg. pole**
  - ▶(= „hladiny“ oscilací elektronových hustot)
  - ▶- Intenzita pole exponenciálně klesá se vzdáleností od povrchu kovové fáze
  - ▶(=> lokalizace v mezifázi) **ššíří se jako podélné vlny na mezifázi**
- ▶ *Vlastnosti plasmonu závisí na*
  - ▶- **složení mezifázi** ( $\epsilon$ ,  $Ra$ )
  - ▶- **refrakčním indexu dielektrika** (světlovod. detekce chem. vazeb. nanostruktur)



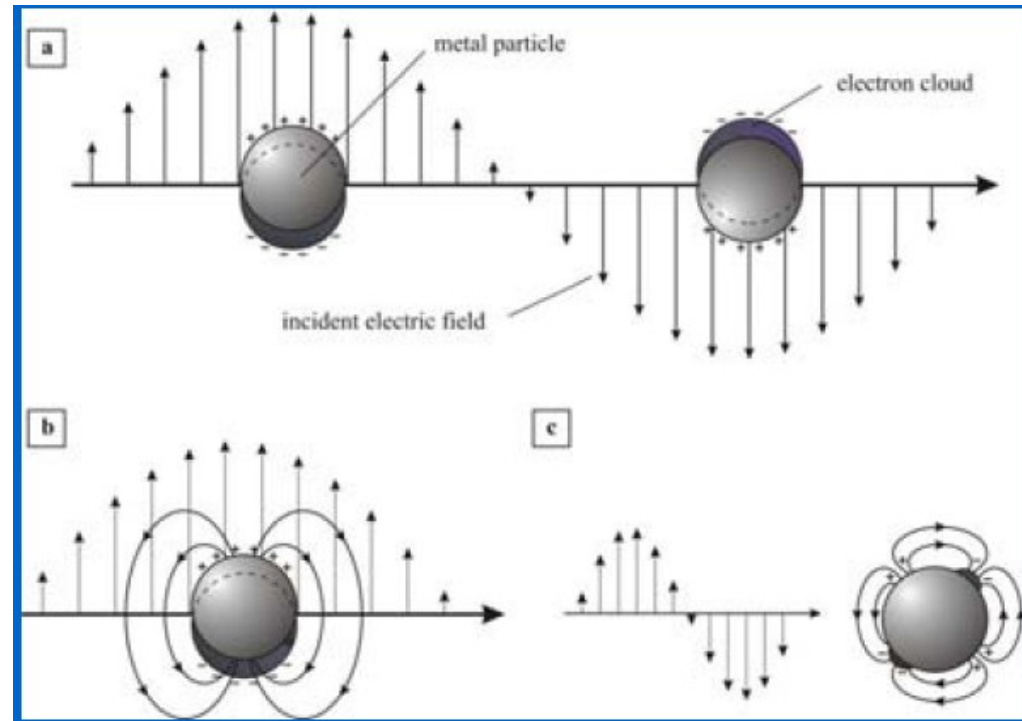
# Mechanismus povrchové plasmonové resonance (Surface Plasmon Resonance)

- ▶ Dopadající světlo  $\lambda$  ( $h\nu$ ) excituje oscilace oblaku elektronů vodivostního pásu s následným zesílením elmg. pole na fázovém rozhraní (povrchu)
- ▶  $\Rightarrow$  v resonanci absorpce světla  $\lambda$  SPEC vzroste o několik řádů (= povrchová plasmonová resonance)
- ▶ Kovová nanostruktura funguje jako anténa.



# Nanočásticové plazmony

- ▶ **Nanočásticový plasmon** již neexistují lokalizované energetické hladiny (tvoří pás/oblak). Min. rozměr částic:  $> 2$  nm.
- ▶ **Interakce se světlem => excitace oscilací e-oblaku => polariton (el.polarizace)**
  - ▶ Interakce malé nanočástice se světlem => dipólová radiace (E-pole) (a, b)
  - ▶ větší nanočástice => kvadrupólová radiace (c, d)





# Povrchově zesílená Ramanova spektroskopie

## Surface Enhanced Raman Spectroscopy

---

### ▶ **Podmínky:**

- ▶ Max. zesílení (dopadající i rozptýlené světlo (Raman) je zesílené plasmonovou rezonancí) pro frekvence s minimálním posunem  $\Delta\lambda$  (velmi posunutá nemohou být obě v rezonanci => menší zesílení)
- ▶ plasmonové oscilace musí být kolmé k povrchu
- ▶ použití Au, Ag, Cu (NIR-Vis) nanostruktur
- ▶ „Hot-Spots“ (signál není reprezentativní vzhledem k povrchu)

### ▶ **kombinuje výhody**

- ▶ fluorescence - vysoký světelný zisk
- ▶ Ramanovy spektroskopie - strukturní informace

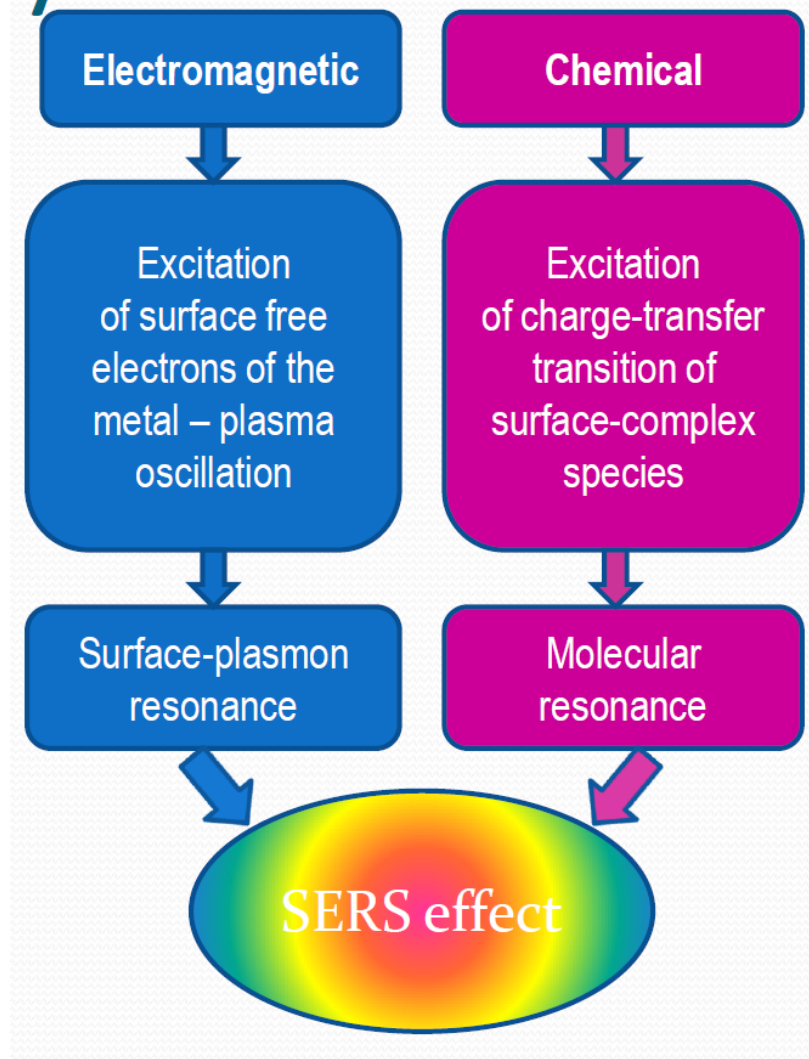
### ▶ **Teorie:**

- ▶ **vazebná** - přenos náboje, vznik vazeb
- ▶ **excitace** povrchových plasmonů
- ▶ ?



# SERS Spectroscopy

- ▶ giant enhancement of Raman signal
- ▶ two mechanisms involved
  - ▶ **electromagnetic**-long range, depends on metal-substrate properties (surface plasmons are involved) – coin metals – Au, Ag, Cu
  - ▶ **chemical**-local, molecular structure plays an important role (formation of surface complex)



# SERS - historie

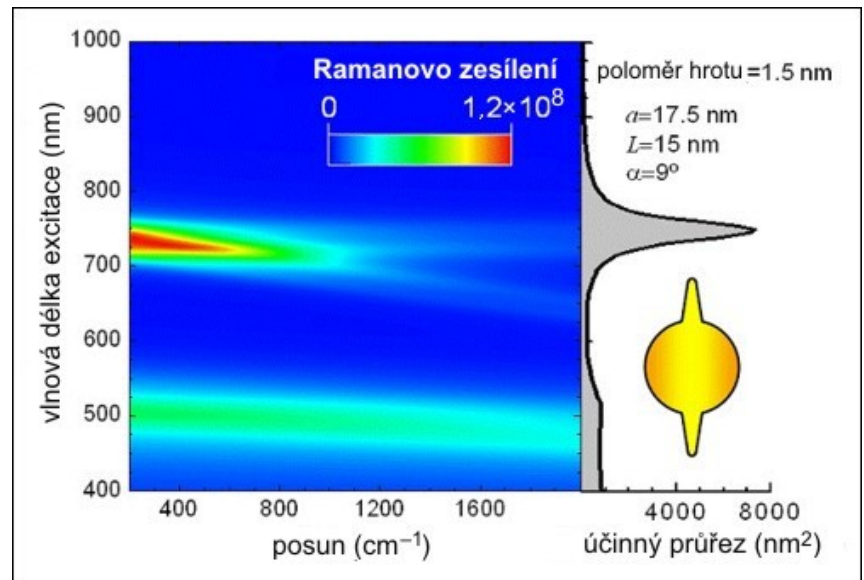
---

- ▶ Významným mezníkem k využití kombinačního rozptylu byl objev povrchově zesíleného Ramanova rozptylu uskutečněný roku 1977 dvěma skupinami výzkumníků nezávisle na sobě. Historicky první **SERS** – povrchem zesílený Ramanův rozptyl (Surface Enhanced Raman Scattering) pyridinu adsorbovaného na povrch elektrochemicky zdrsňelého stříbra byl naměřen již v roce 1974, ale nebyl správně interpretován. Obě skupiny zároveň navrhly dvě primární teorie SERS, uznávané dodnes: elektromagnetickou, založenou na excitaci plazmonů vázaných na povrch, zatímco chemická teorie je založena na tvorbě komplexů s přenosem náboje.
- ▶ Nejčastěji užívanými materiály pro SERS jsou zlato a stříbro s povrchem s nerovnostmi alespoň o řád menšími než je vlnová délka dopadajícího světla. Rezonanční frekvence těchto materiálů spadají do oblasti viditelného světla a blízkého infračerveného záření. Zesílení kombinačního rozptylu při plošném substrátu se pohybuje v rozsahu  $10^3$ – $10^6$ .



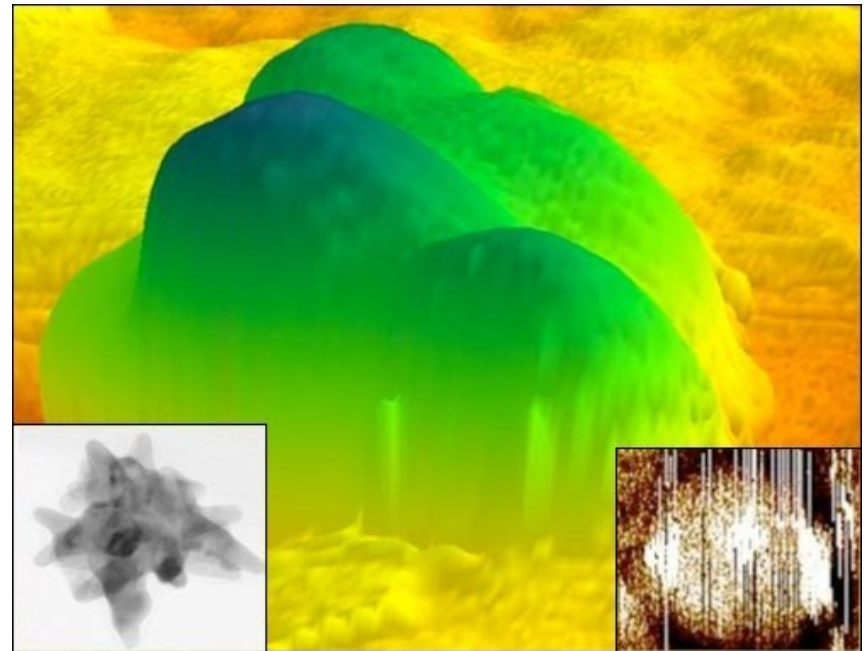
# SERS na nanohvězdičkách

- ▶ Vypočtené hodnoty zesílení a účinného průřezu pro hypotetickou nanohvězdičku se dvěma hroty.
- ▶ Zdroj: P. S. Kumar et al; Nanotechnology **19** (2008).



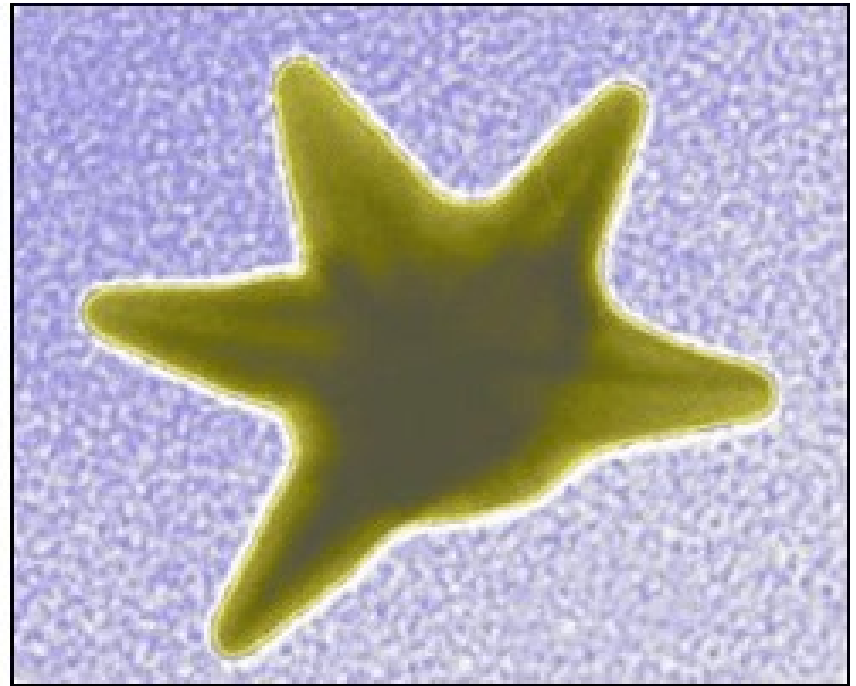
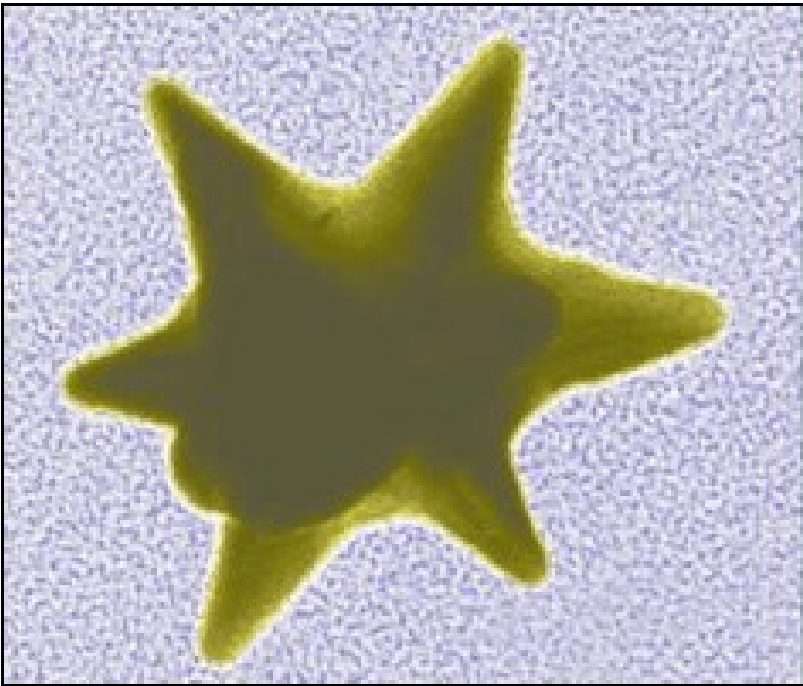
# Nanohvězdičky

Obrázek nanohvězdičky v [transmisním rastrovém elektronovém mikroskopu TEM](#) – Transmisní Elektronová Mikroskopie, vytváření obrazu tenkého předmětu průchodem energetických elektronů. Obraz tvořený prošlými elektrony je následně zvětšen a zaostřen elektronovou optikou a na stínítku převeden na viditelné záření, které je většinou dále zaznamenáváno CCD kamerou. Jinou technikou je SEM, při které se obraz vytváří z odražených elektronů. Je doplněn snímkem jediné zlaté nanohvězdy pomocí [mikroskopie na atomových silách AFM](#) – Atomic Force Microscope, mikroskop atomárních sil. Zařízení skenuje povrch materiálu pomocí hrotu zavěšeného na pružném výkyvném raménku. Hrot je přitahován elektrostatickými a van der Waalsovými silami. Výkyvy raménka nad povrchem jsou sledovány laserem. Mikroskop je tak citlivý, že může sledovat elektronové orbitály molekul materiálu. AFM mikroskop byl vynalezen v roce 1986 G. Binnigem, C. Quatem a C. Gerberem. (vlevo dole) a fázovým portrétem nanohvězdičky pomocí mikroskopie na elektrostatických silách (vpravo dole, bílá místa ukazují oblasti s kumulací náboje na ostrých vrcholech hvězdičky. Zdroj: Nanotechweb.



# Izolované nanohvězdičky

---

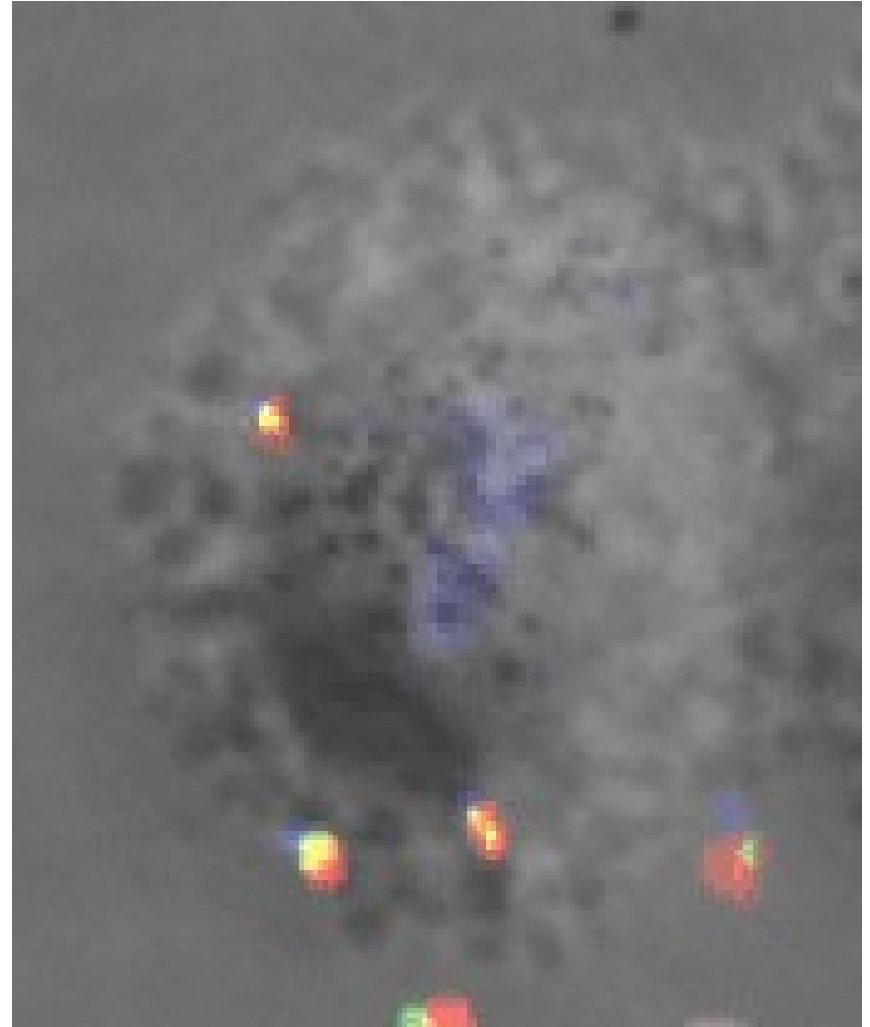


Zdroj: NIST



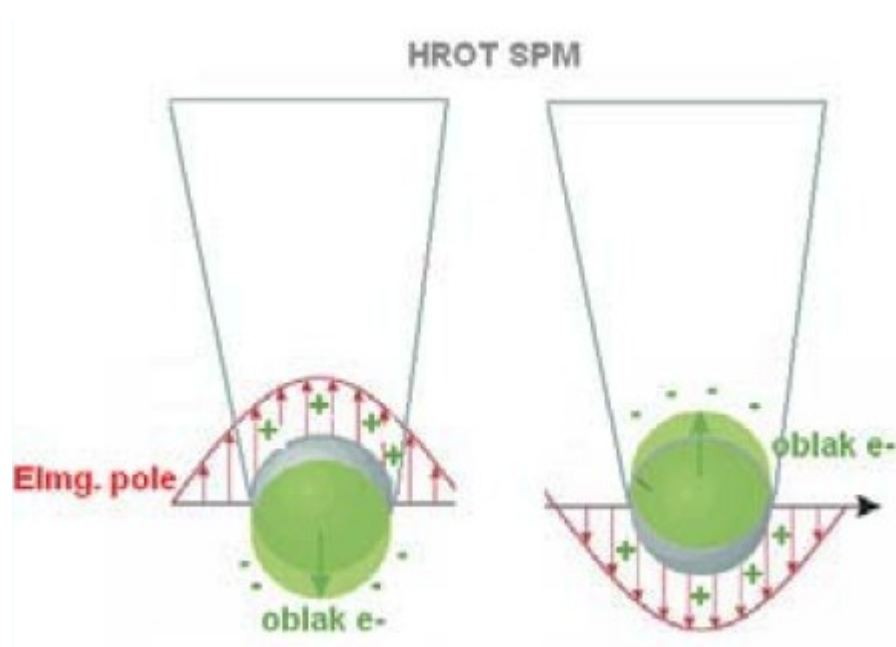
# Nanohvězdičky pronikají do živé buňky

- ▶ Videoklip ukazuje pohyb jednotlivých nanohvězdiček navázaných na molekuly bílkoviny EGFR (Receptor epidermálního růstového faktoru) v živé lidské buňce vypěstované ze zhoubného nádoru děložního čípku. Povšimněte si nenavázaných nanočástic rychle se pohybujících přes zorné pole. Navázané nanočástice se pohybují pomalu, směrem k buněčnému jádru.
- ▶ Zdroj: Aaron et al.: Opt. Express 16/3 (2008).



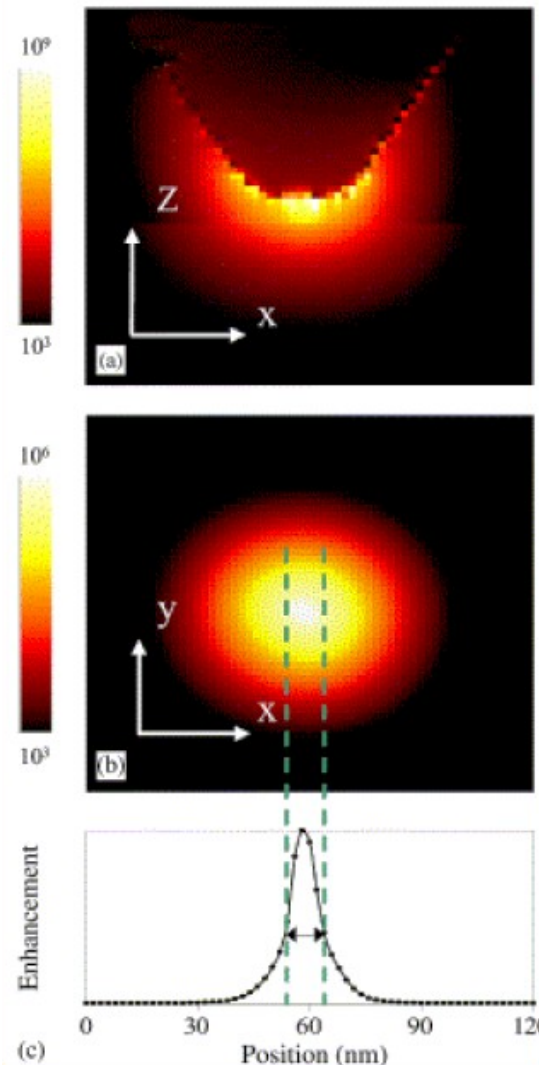


# Hrotem zesílená Ramanova spektroskopie (Tip Enhanced Raman Spectroscopy)



**Od nanočásticové plasmonové  
resonance (SE) k hrotovému zesílení (TE)**

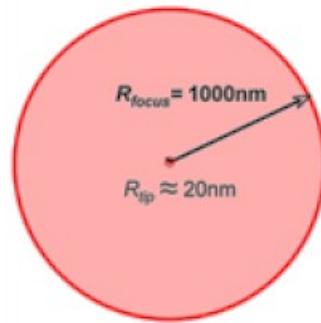
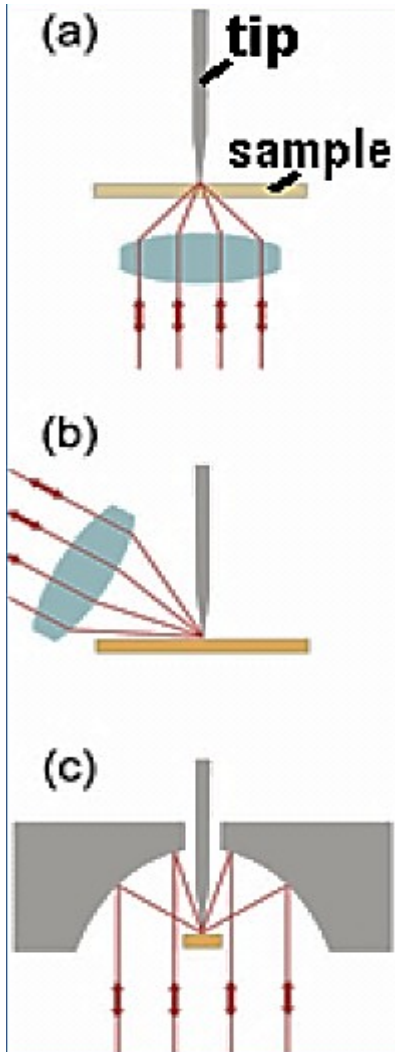
P. Hewageegana, M. I. Stockman:  
Plasmonics enhancing nanoantennas  
Infrared Physics & Technology 50 (2007)  
177–181



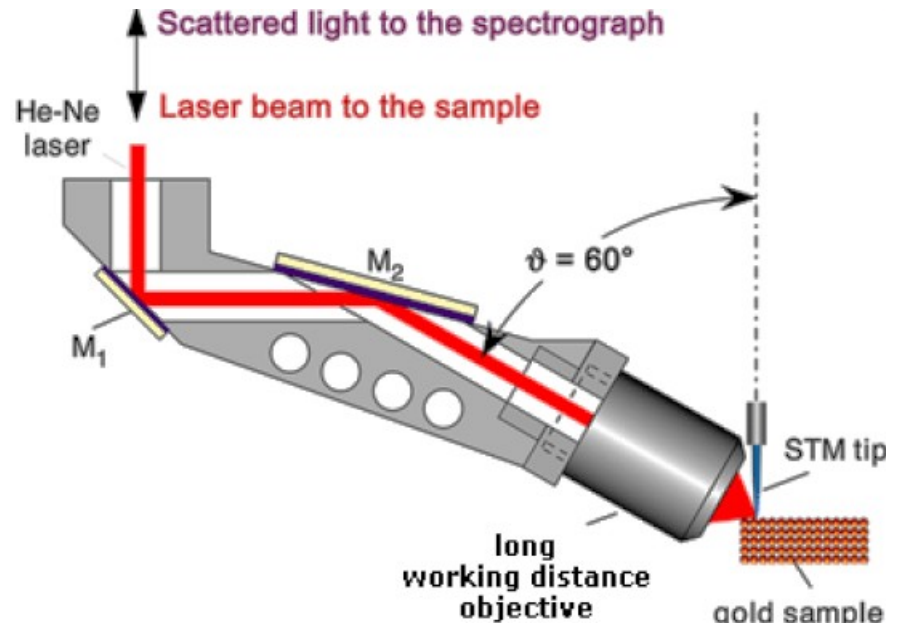
**Řez oblastí  
TER(S)  
( $A = |R_T|/|R_0|$ )  
 $\lambda = 541 \text{ nm}$ ,  
 $dT-S = 4 \text{ nm}$**



# TERS instrumentace



comparison of focus with tip apex area

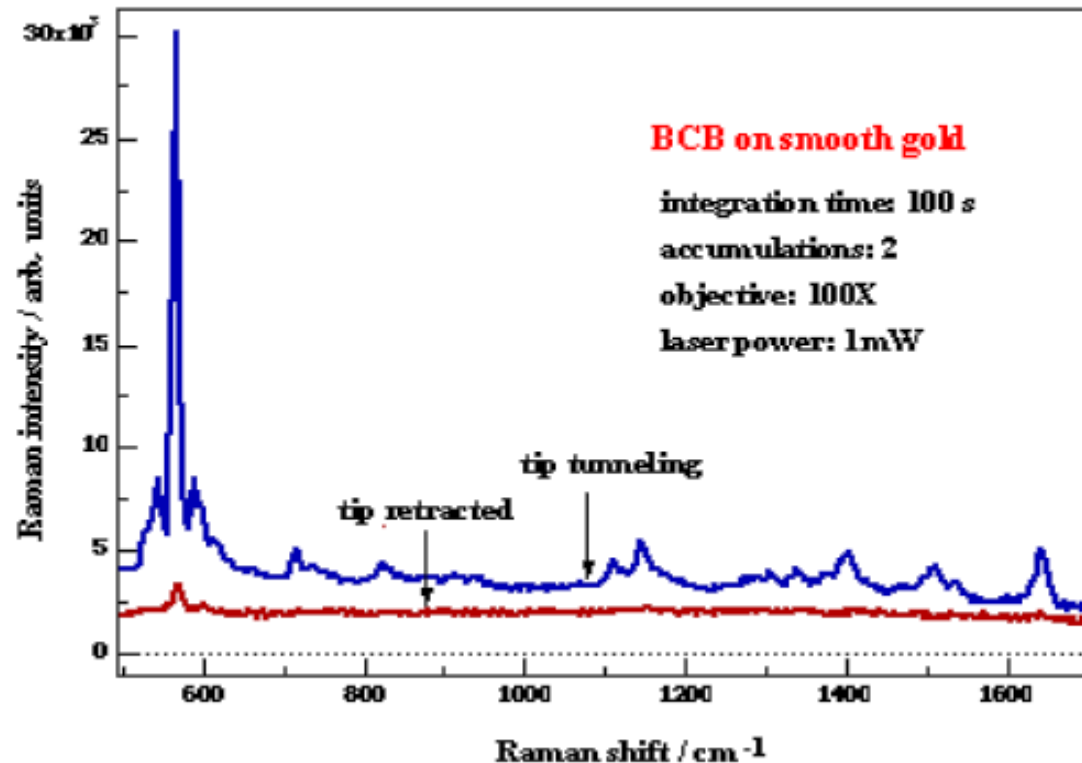


Zdroj: He-Ne laser (632.8 nm)  $\sim 0.3$  mW na vzorku



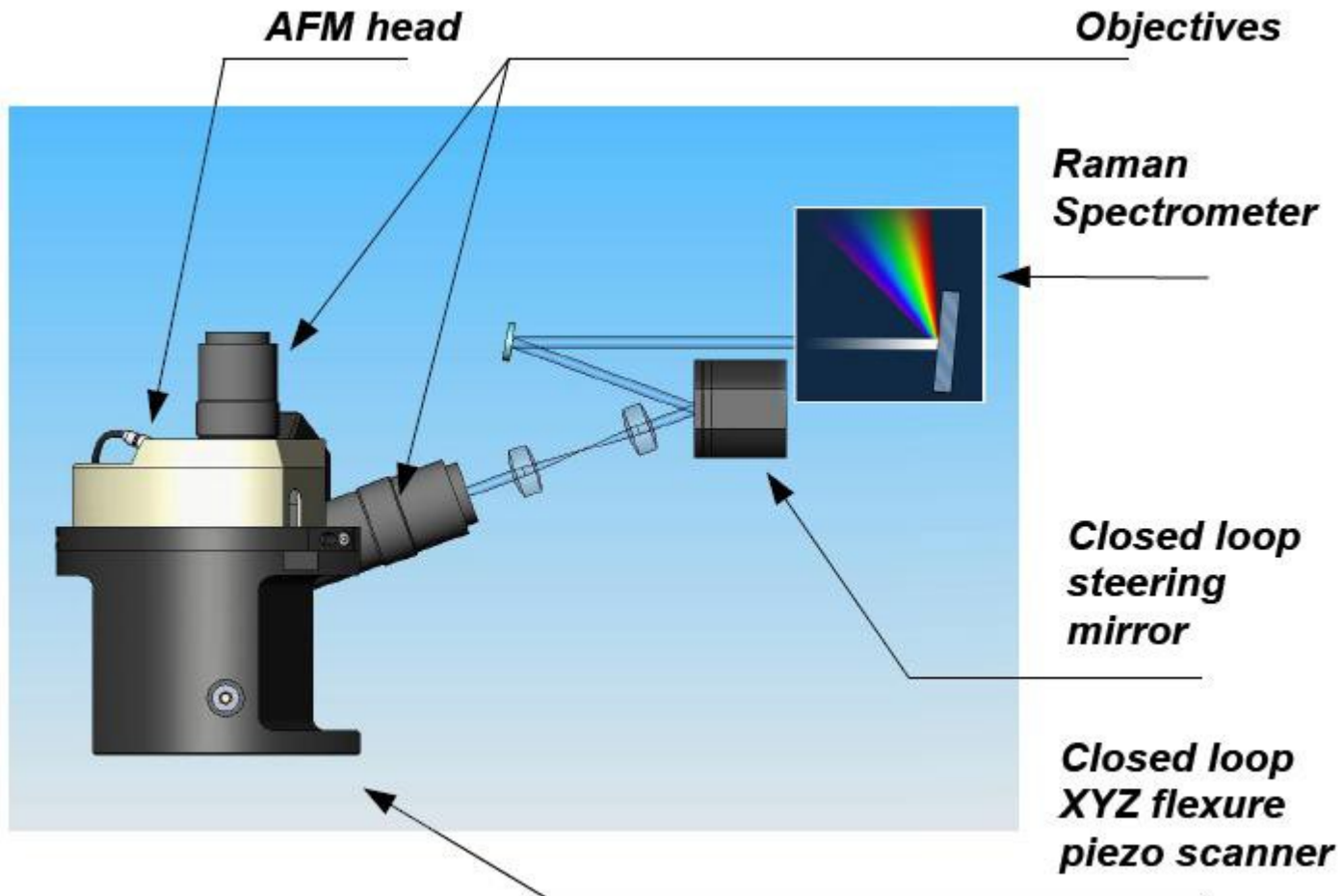
# Příklad použití TERS

## Brilliant Cresyl Blue (BCB) Dye on Gold

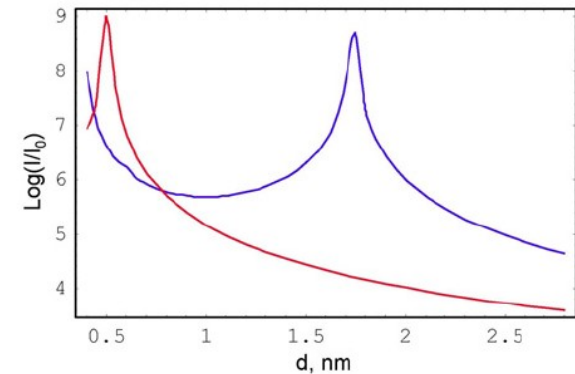
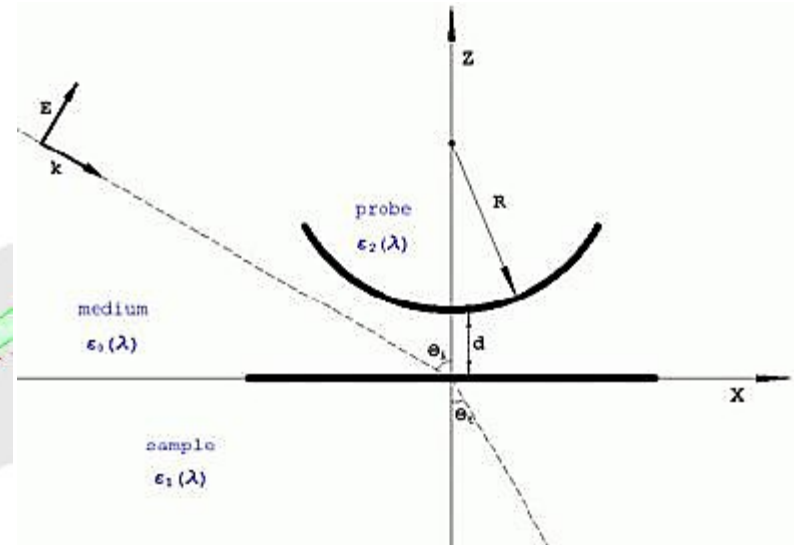
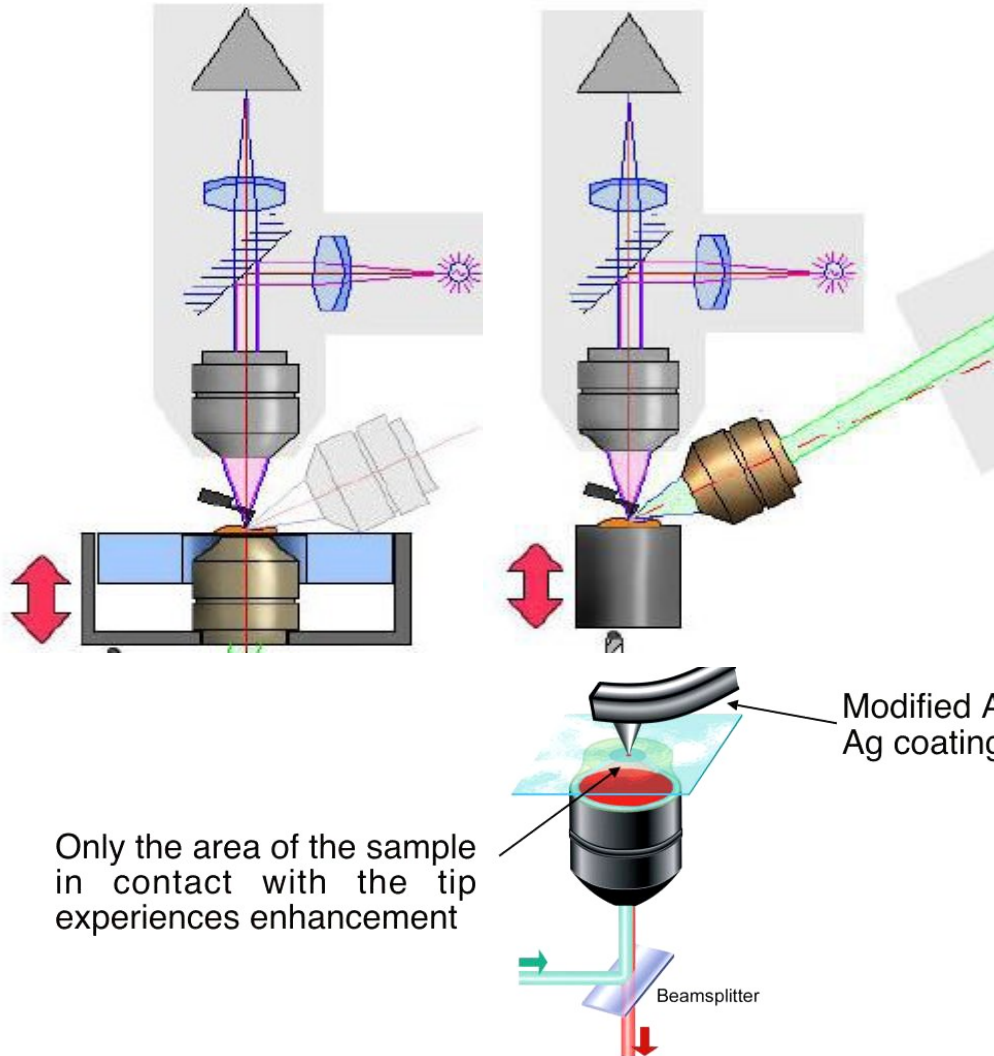


**Monovrstva barviva adsorbovaného na Au filmu, STM Ag-hrot**  
G. Picardi, K. Domke, D.Zhang, B. Ren, J. Steidtner B. Pettinger,  
Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft

# Instrumentace-integrované AFM + TERS



# Instrumentace - integrované AFM + TERS dva optické porty



Local field intensity dependence (logarithmic scale) on the probe-sample distance  $d$ .  
Here  $R=100$  nm,  $X=0$  nm,  $Y=0$  nm,  $Z=1$  nm; light wavelength: 653 nm and 775 nm.

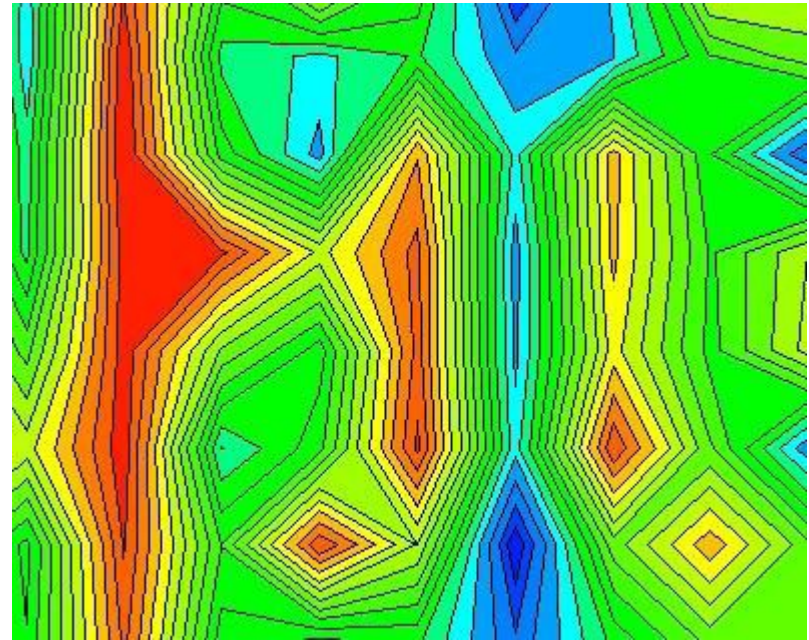
# Kombinace – AFM, Raman nanomapování

---

Paralelní obrazy křemíkového polovodiče



AFM obraz –9 x 7  $\mu\text{m}$



Obraz Ramanovy intensity–520  $\text{cm}^{-1}$ ,  
*stejná oblast*





# Aplikace

---

- ▶ podle typu zkoumaného materiálu
  - ▶ anorganický
  - ▶ organický
  - ▶ geologický
  - ▶ biologický ...
- ▶ podle vhodné instrumentace
  - ▶ disperzní vs. FT
  - ▶ makro x mikrox nano
- ▶ podle způsobu vyhodnocování dat
  - ▶ knihovny spekter, „luštění“, chemometrika...





# Studované materiály

---

- ▶ **VZORKY – pevné látky, kapaliny, fázové rozhraní**
- ▶ **příklady**
  - ▶ **anorganické** -*korozní vrstvy, povrchy pevných disků, křemík, amorfní uhlík, diamanty*
  - ▶ **organické** -*supramolekulární systémy, kontaminanty v životním prostředí*
  - ▶ **polymery** -*fotolabilní materiály*
  - ▶ **biologické**-*in vitro, in vivo*
  - ▶ **geologické** -*minerály, horniny*
  - ▶ **archeologické** -*od paleolitu po novověk*



# Terénní měření



Nalzovice27-03 - Scan068



Nalzovice27-03 - Scan065

3/27/2008 3:00 PM

# Terénní měření

Přenosný dispersní Ramanův spektrometr – AHURA



# Život na Marsu?

---

## **Metodická příprava**

- ▶ **vývoj spektrometru MaRS (microscope and Raman spectrometer)**
  - ▶ **miniaturní, lehký, a přitom robustní**
  - ▶ **prototyp -Montana State University**

D.L. Dickensheets, D.D. Wynn-Williams, H.G.M. Edwards, C. Schoen, C. Crowder, E.M. Newton, *Journal of Raman Spectroscopy***31**(2000) 633.

---

