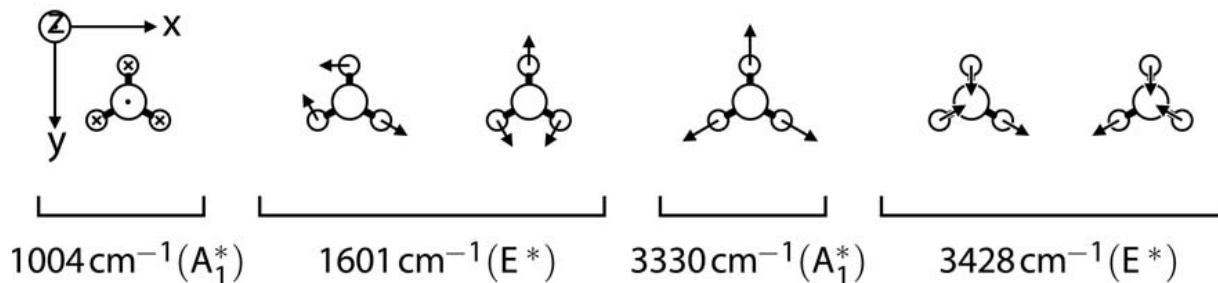


(teorie a praxe)

Vibrační spektroskopie



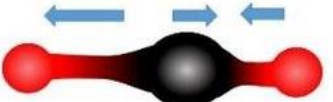
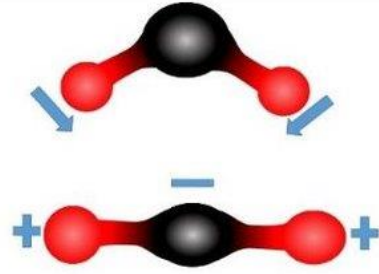
D. Hemzal



Infračervená absorpční spektroskopie (ν , dipólový moment μ)

Ramanská spektroskopie ($\Delta\nu$, polarizovatelnost α)

- počet a typ vibrací je dán symetrií molekuly
- vibrační frekvence jsou dány vlastními hodnotami dynamické matice v okolí rovnovážné polohy

| Vibrational mode | Molecular structure | IR and Raman activity |
|-----------------------|---|--|
| Equilibrium structure |  | No activity at equilibrium position |
| Symmetrical stretch |  | $\partial\mu/\partial Q = 0$ IR inactive $\partial\alpha/\partial Q \neq 0$ Raman active 1388 cm ⁻¹ |
| Asymmetrical stretch |  | $\partial\mu/\partial Q \neq 0$ IR active $\partial\alpha/\partial Q = 0$ Raman inactive 2349 cm ⁻¹ |
| Bending |  | $\partial\mu/\partial Q \neq 0$ IR active $\partial\alpha/\partial Q = 0$ Raman inactive 667 cm ⁻¹ |

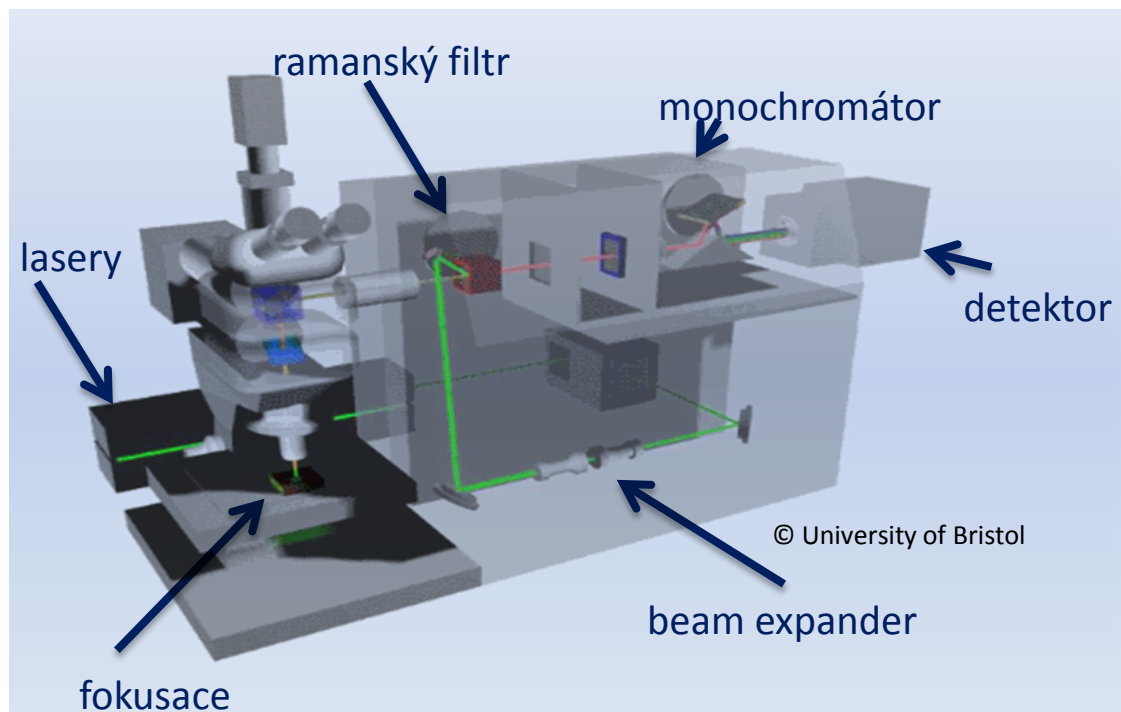
Ramanův rozptyl

nepružný rozptyl světla (Smekal 1923)
energie fotonů zpravidla předána látce

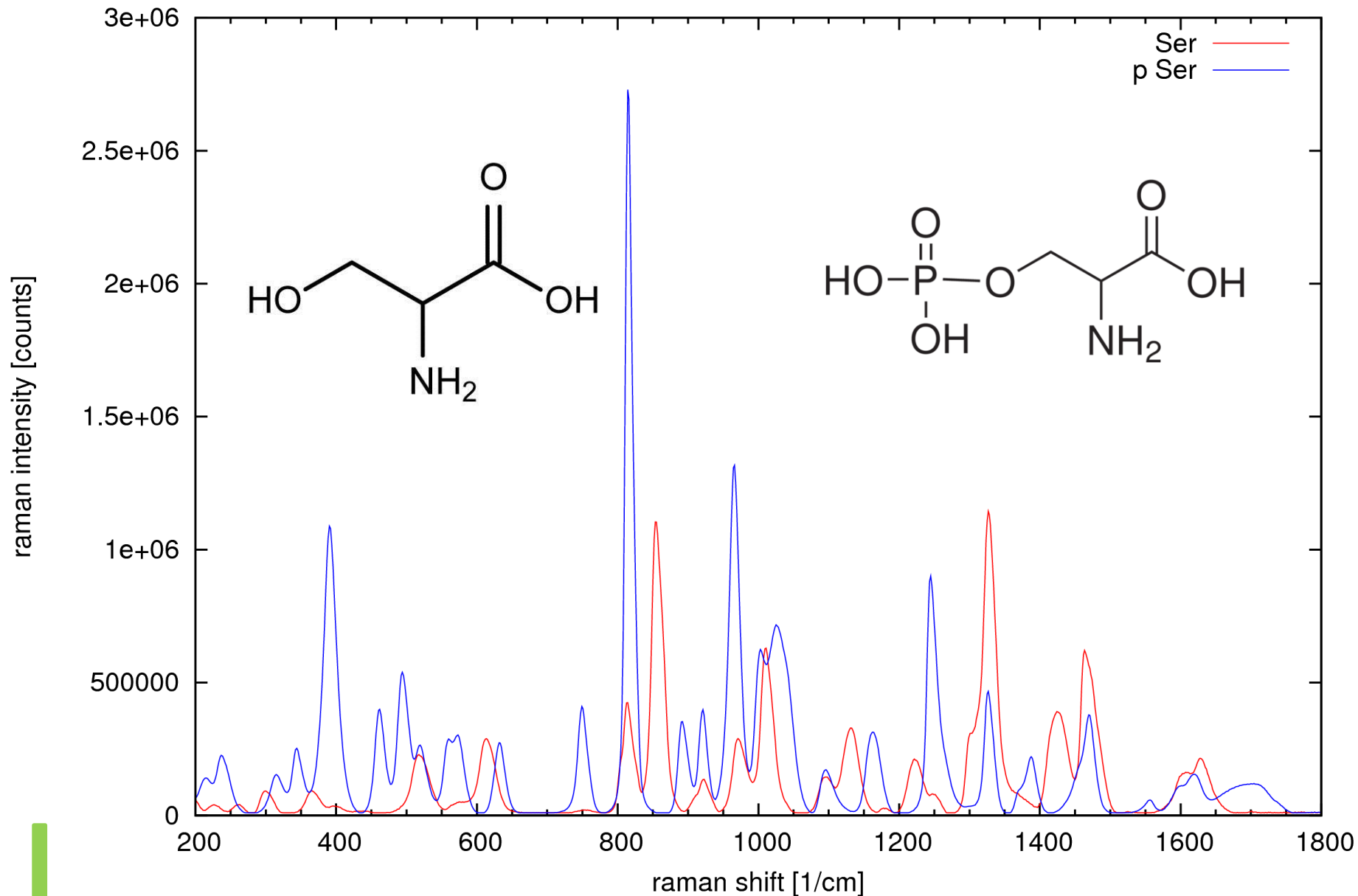
Raman, Krishnan 1928 (Nobelova cena 1930), nezávisle Landsberg, Mandelstam 1928
rubínový laser (Maiman 1960), předpovězeno Einstein 1917

- široce aplikovatelná spektroskopie (kapaliny, plyny, krystaly) s **charakteristickými otisky** materiálů
- reaguje na uspořádání zkoumané látky prostřednictvím interakce světla s **rovnovážnými vibracemi** jejích atomů
- velmi **slabý jev**
(rozptýlí se asi jeden foton z milionu)
- nutnost precizní detekce rozptýlených fotonů (vlnová délka téměř nezměněna)

$$\Delta \nu [1/\text{cm}] = \frac{1}{\lambda_{\text{laser}}} - \frac{1}{\lambda}$$



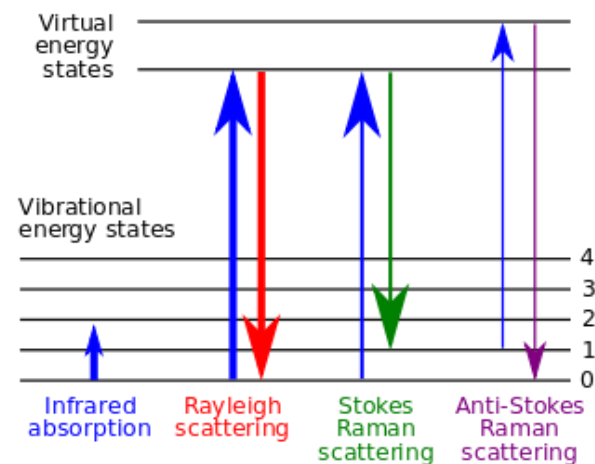
raman renishaw, 50x, 514 nm, 10 mW, 1000 s



vliv fosforylace serinu na ramanské spektrum

Ramanův rozptyl

nepružný rozptyl světla na
kmitech molekul či krystalové mříže



dopadající elmag. vlna: $\vec{E} = \vec{E}_0 \cos \omega t$

odezva atomů: $u(t) = u_0 \cos \Omega t$

indukovaný elektrický dipólový moment: $\alpha = \alpha_0 + \alpha_1 u(t) + \alpha_2 u^2(t) + \dots$

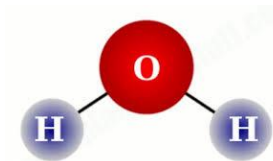
polarizovatelnost spojená s vibrací:

$$\vec{P} = \alpha \vec{E} \doteq \alpha_0 \vec{E}_0 \cos \omega t + \alpha_1 \vec{E}_0 u_0 \cos \omega t \cos \Omega t = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos \omega t + \frac{1}{2} \alpha_1 \vec{E}_0 u_0 [\cos(\omega + \Omega)t + \cos(\omega - \Omega)t]$$

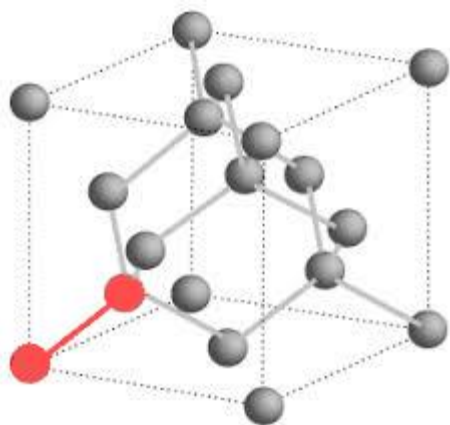
výběrová pravidla pro Ramanův rozptyl prvního řádu: $\omega = \omega' \pm \Omega$ $k = k' \pm K$

Ramanův rozptyl

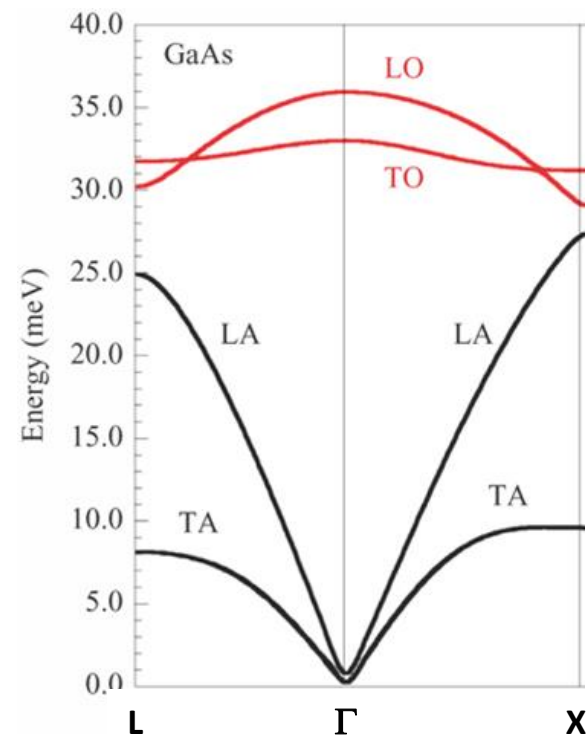
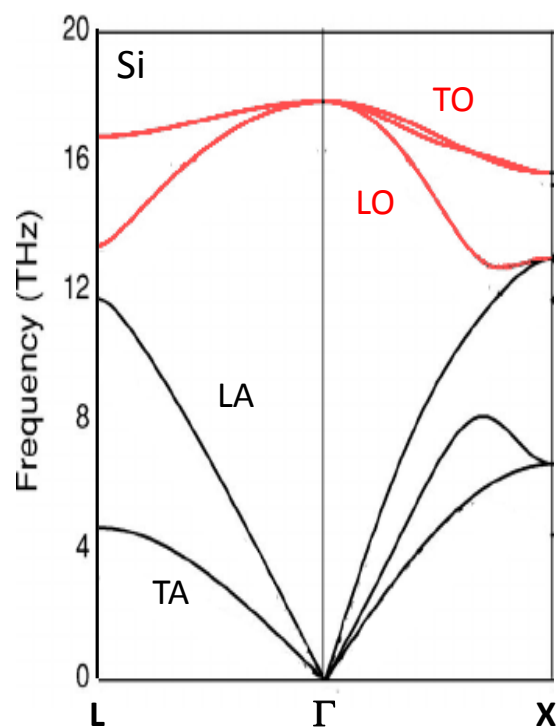
počet vibrací N-atomové molekuly: $3N-6$ (-translace a rotace)
($3N-5$ pro lineární)



Počet vibrací v krystalu: $3N-3$ (-translace)
s N atomy v elementární buňce



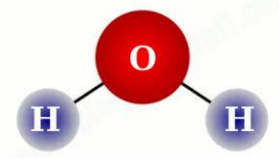
struktura diamantu



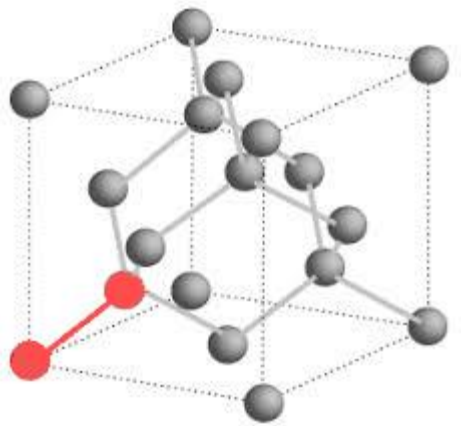
$$E[\text{meV}] = 4.135 f[\text{THz}]$$

Ramanův rozptyl

počet vibrací N-atomové molekuly: **3N-6** (-translace a rotace)
(3N-5 pro lineární)



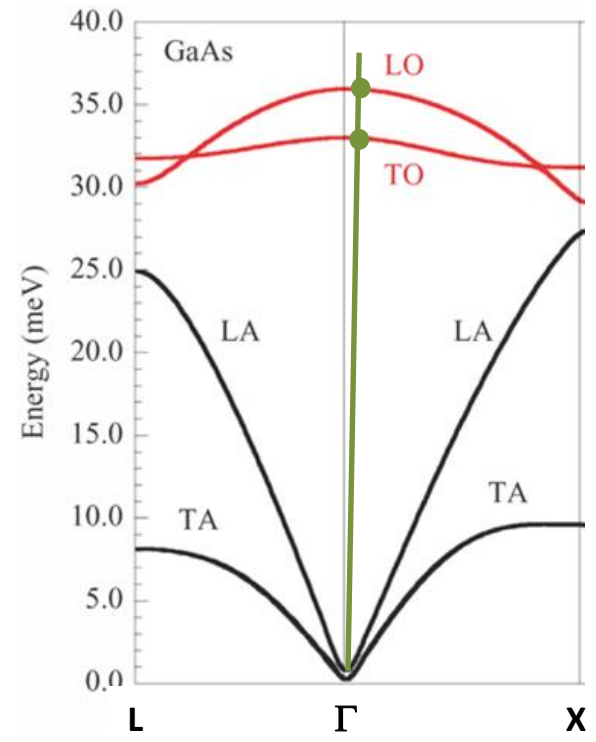
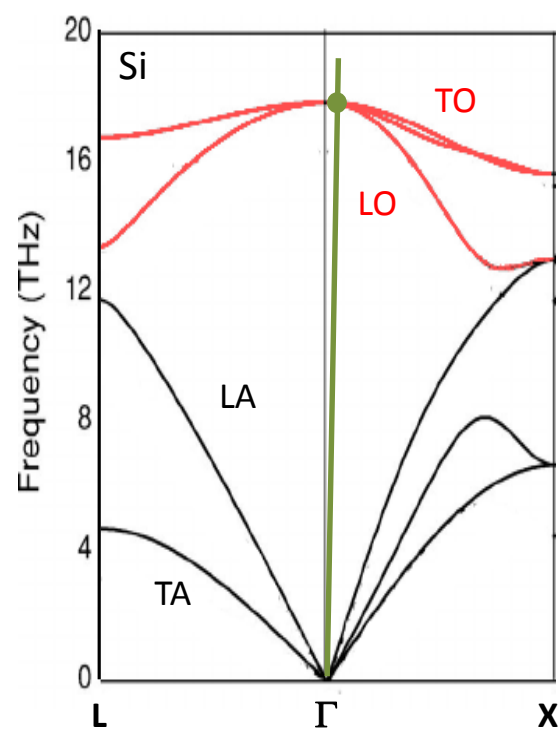
Počet vibrací v krystalu: **3N-3** (-translace)
s N atomy v elementární buňce



struktura diamantu

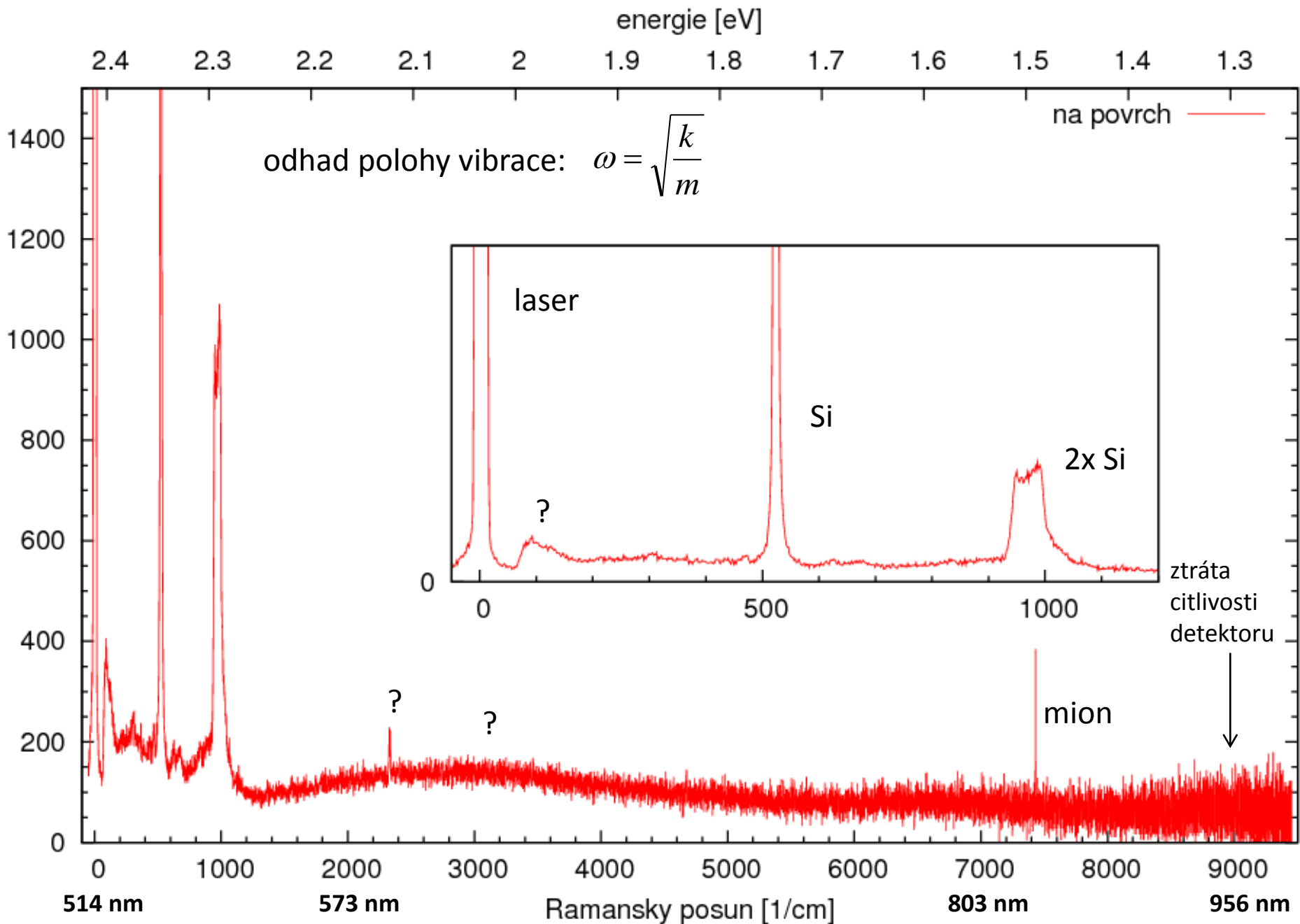
$$\omega = \omega' \pm \Omega \quad k = k' \pm K$$

světlo: $\omega = c k$

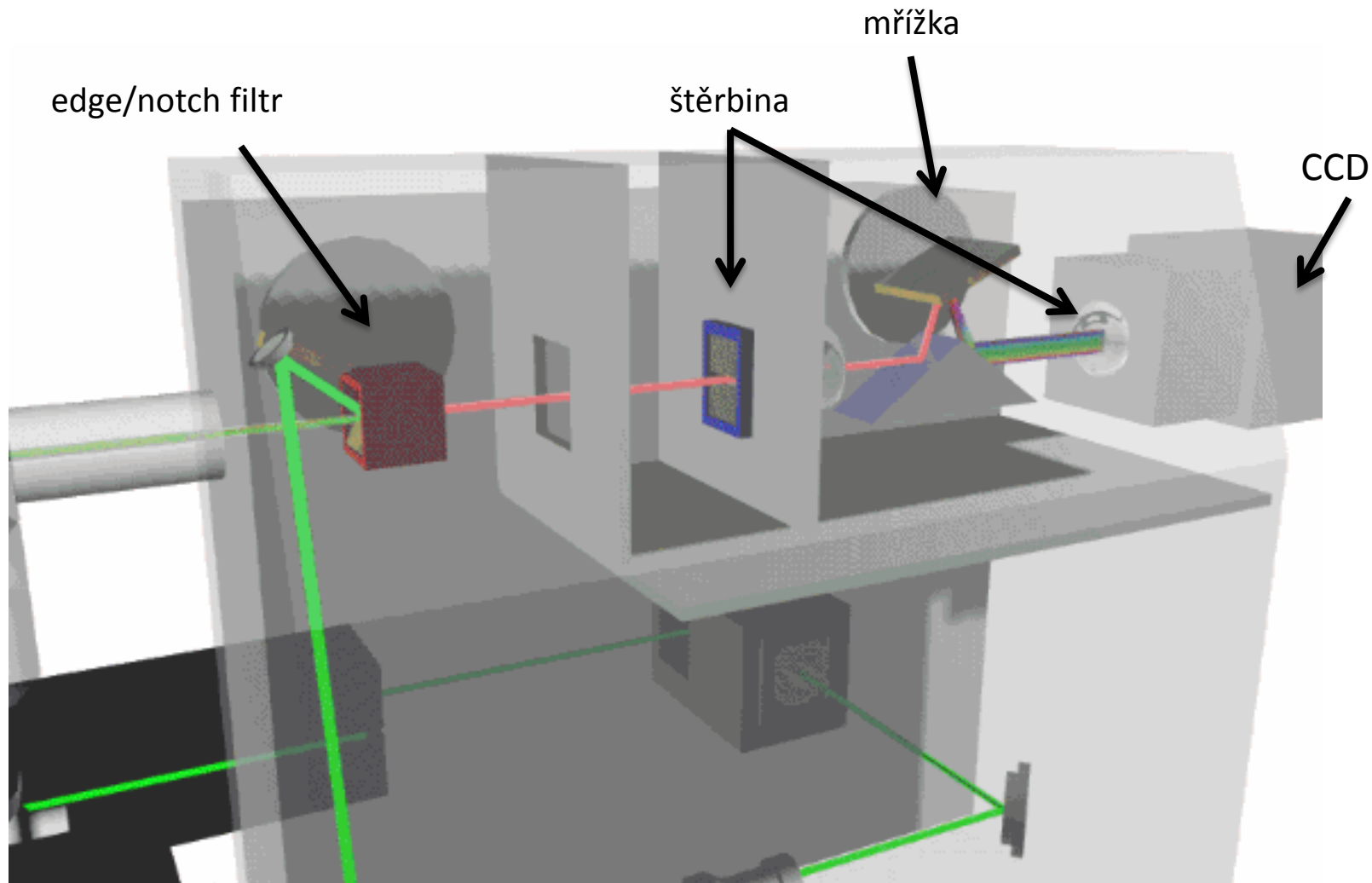


$$E[\text{meV}] = 4.135 f[\text{THz}]$$

epitaxe 15 um, neoxidovany, 20mW at 514 nm, AFM 10x, Janis 71K, 1x10s, pos 1

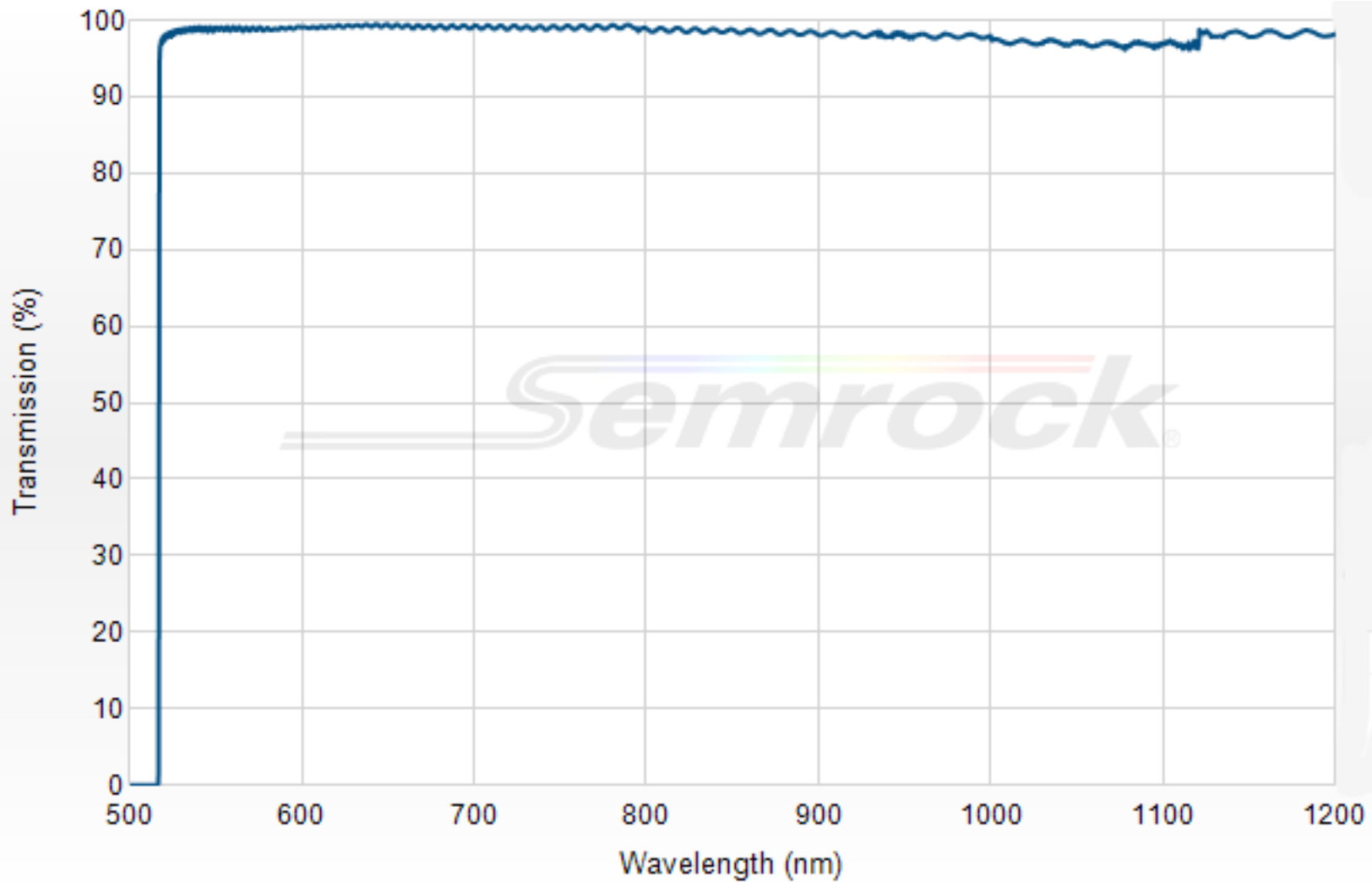


(mikro) Ramanský spektrometr



© University of Bristol

Renishaw inVia, detail optické cesty



514 nm RazorEdge® ultrasteep long-pass edge filter, SEMROCK

- Laser Wavelength = 514.5 nm
- 97 cm^{-1} transition
- $T_{\text{avg}} > 93\%$ 517.8 – 1160.5 nm

Custom sizing available in less than a week (sizing fee applies).

Part # [LP02-514RE-25](#)

\$995



hloubka ostrosti

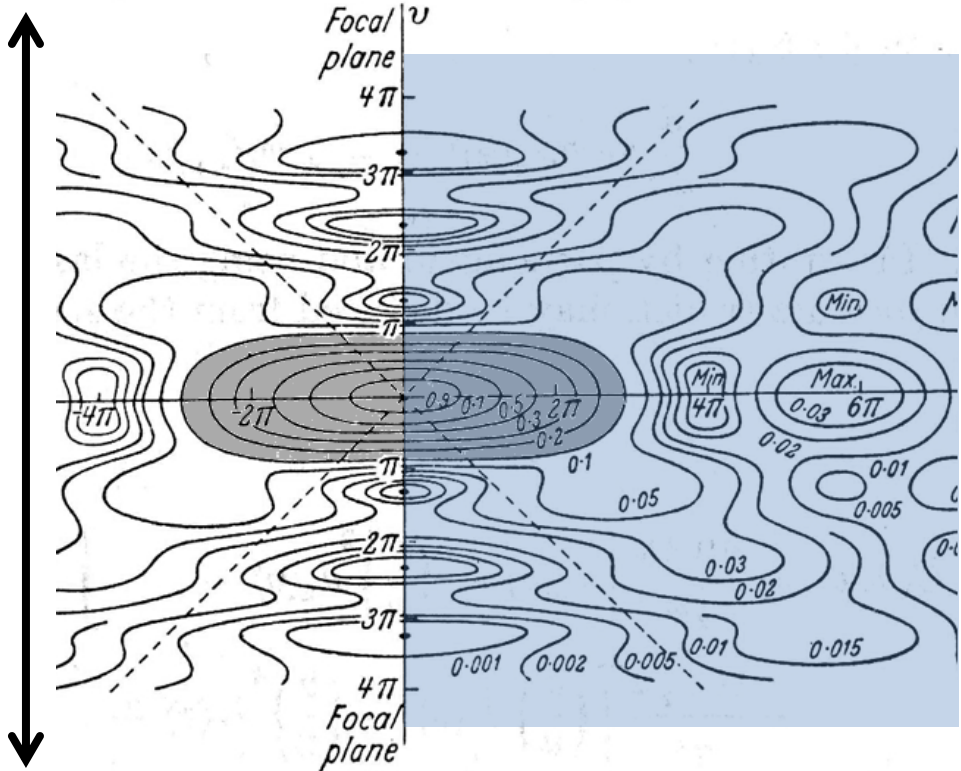
paprsky
v okolí
ohniska clona
 $c = f/d$

ideální optický systém: bodový předmět → **bodový obraz**

v okolí obrazu se paprsky rozbíhají v kuželu,
jehož úhel závisí na velikosti apertury

reálný optický systém: bodový předmět → **difrakční stopa**

kvůli konečná velikosti apertury je světlo fokusováno do tunelu válcového tvaru



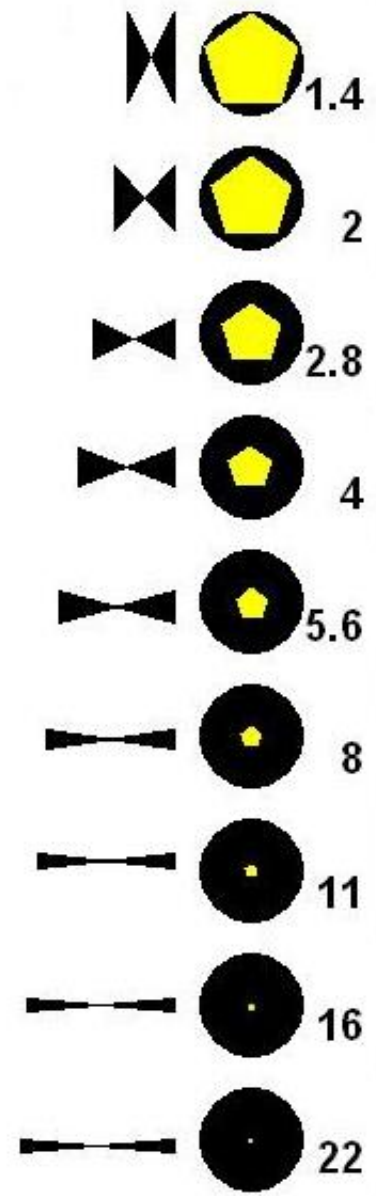
pro objektiv Z=20x : $l = 86 \mu\text{m}$, $d = 4.6 \mu\text{m}$
 $\Delta = 250 \text{ mm}$, $D = 2 \text{ mm}$, $\lambda = 550 \text{ nm}$

délka difrakčního tunelu:

$$\frac{l}{\lambda} \doteq \frac{1}{4} \frac{1}{Z^2 D^2}$$

šířka difrakčního tunelu:

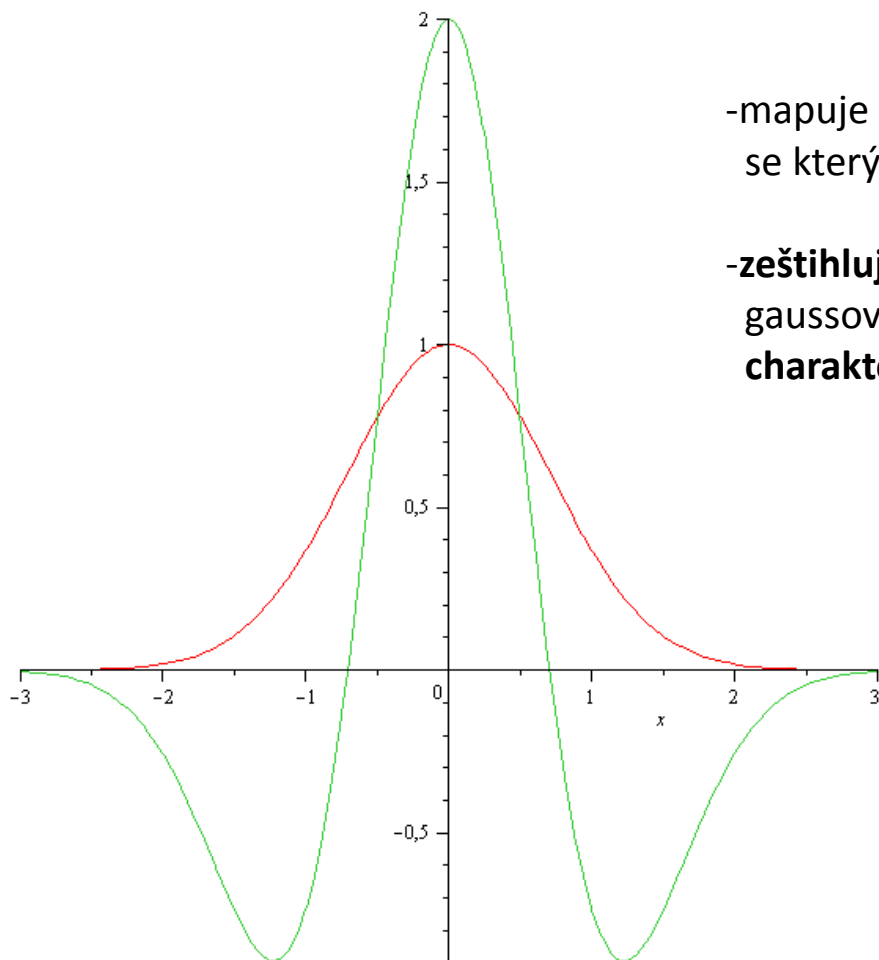
$$\frac{d}{\lambda} \doteq \frac{1}{3} \frac{1}{Z D}$$



intenzita ramanského rozptylu úměrná počtu vazeb v difrakční stopě

operace se spektry - rozklad vibračních pásů

výpočet druhé derivace představuje jednorozměrné zjednodušení analýzy laplasiánu skalárního pole. dá se ukázat, že



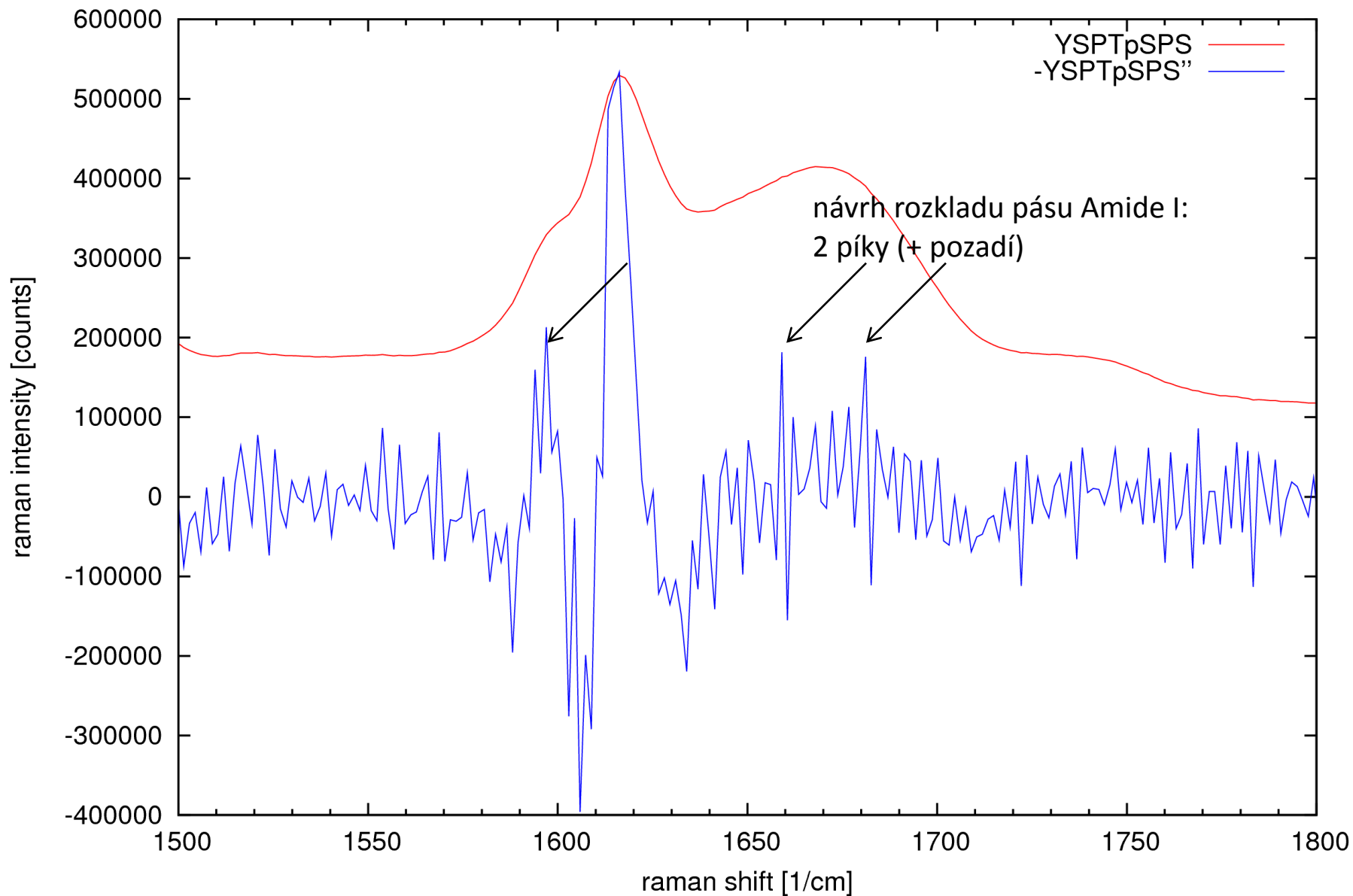
-mapuje křivost spektra, čímž rozpoznává i píky, se kterými není spojen lokální extrém ve spektru

-**zeštíhluje píky** již ve spektru přítomné – například gaussovský pík zhruba třikrát, přičemž jej vybaví **charakteristickými postraními zámkity**

$$y^*[i] = -(y[i-1] - 2[i] + y[i+1]))$$

důsledek: **záporně vzatá druhá derivace** změřeného spektra v oblasti pásu AMIDE udá návrh počtu a polohy píků k rozkladu

raman renishaw, 50x, 514 nm, 10 mW, 1000 s



ramanské spektrum (částečně fosforylovaného) CTD a jeho záporná druhá derivace

předpokládejme spektrum $y[k]$, které chceme rozložit na známé komponenty $x_i[k]$

optimálním způsobem: $y[k] = \sum_{i=1}^I a_i x_i[k]$, přičemž

z podmínky $\sum_{k=1}^K \left(y[k] - \sum_{i=1}^I a_i x_i[k] \right)^2 \rightarrow \min$ dostáváme

$$j = 1..I : \sum_{i=1}^I a_i \underbrace{\sum_{k=1}^K (x_i[k] x_j[k])}_{X_{ij}} = \underbrace{\sum_{k=1}^K y[k] x_j[k]}_{Y_j}$$

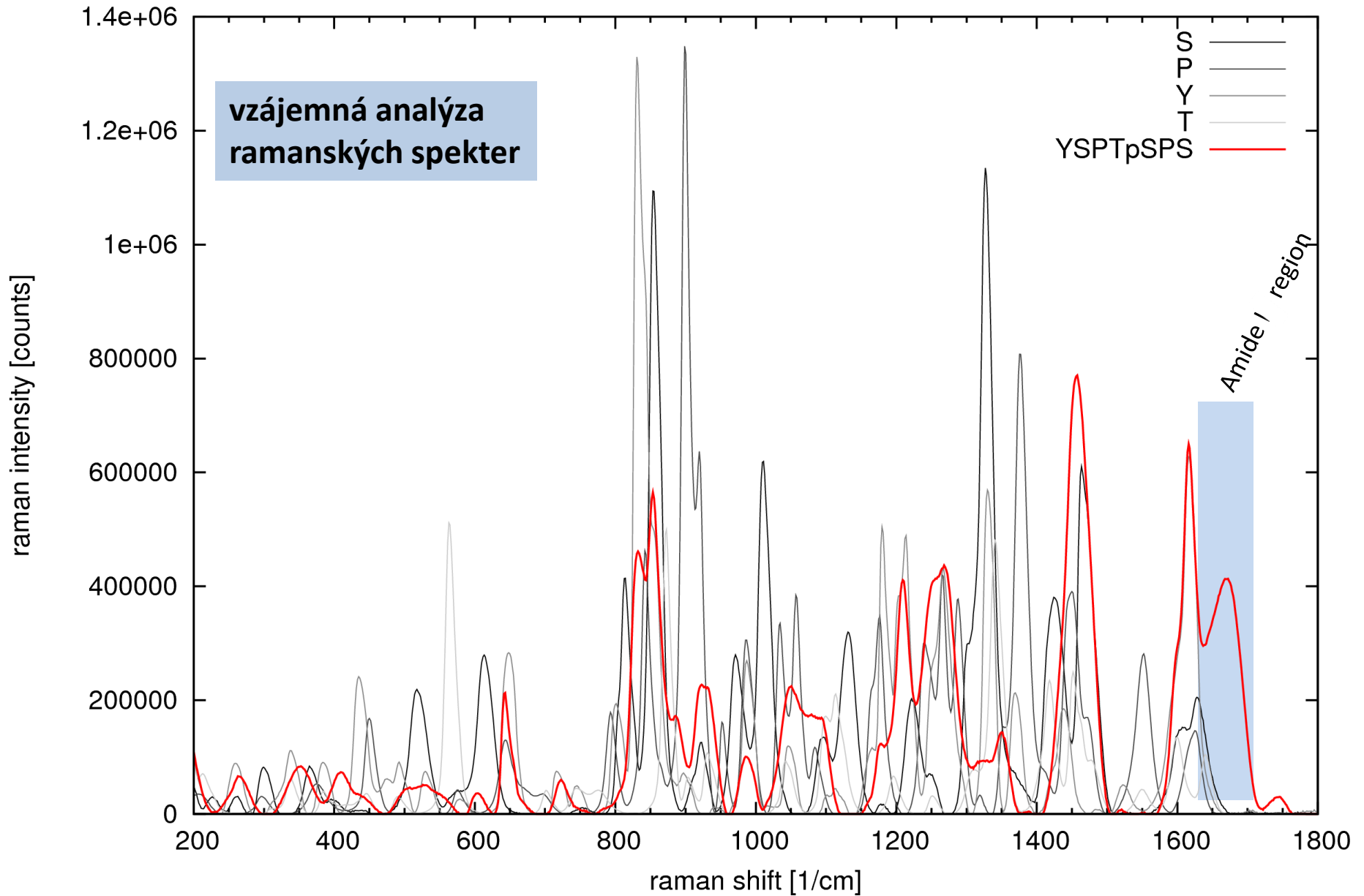
pokud by spektra byla ortogonální, $X_{ij} \equiv \delta_{ij}$, byl by rozklad prostou projekcí $a_j = Y_j$,

v obecném případě je třeba řešit vzniklou soustavu rovnic $\sum_i a_i X_{ij} = Y_j$

před rozkladem spektra je nutné odstranit případnou luminiscenci,

je vhodné vyloučit problematické oblasti (Rayleighův rozptyl apod)

raman renishaw, 50x, 514 nm, 10 mW, 1000 s

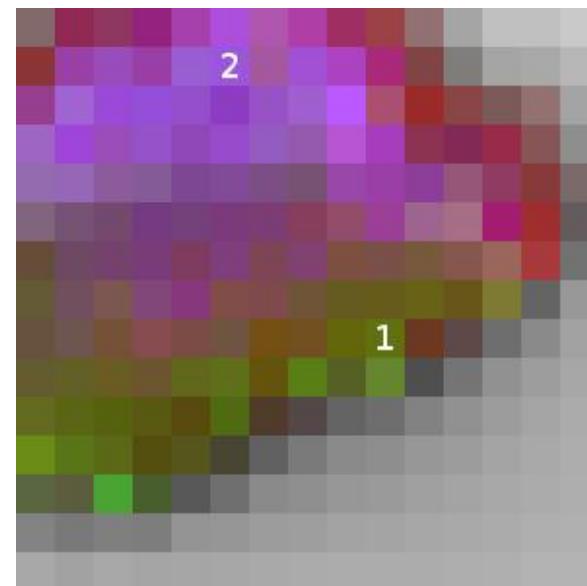
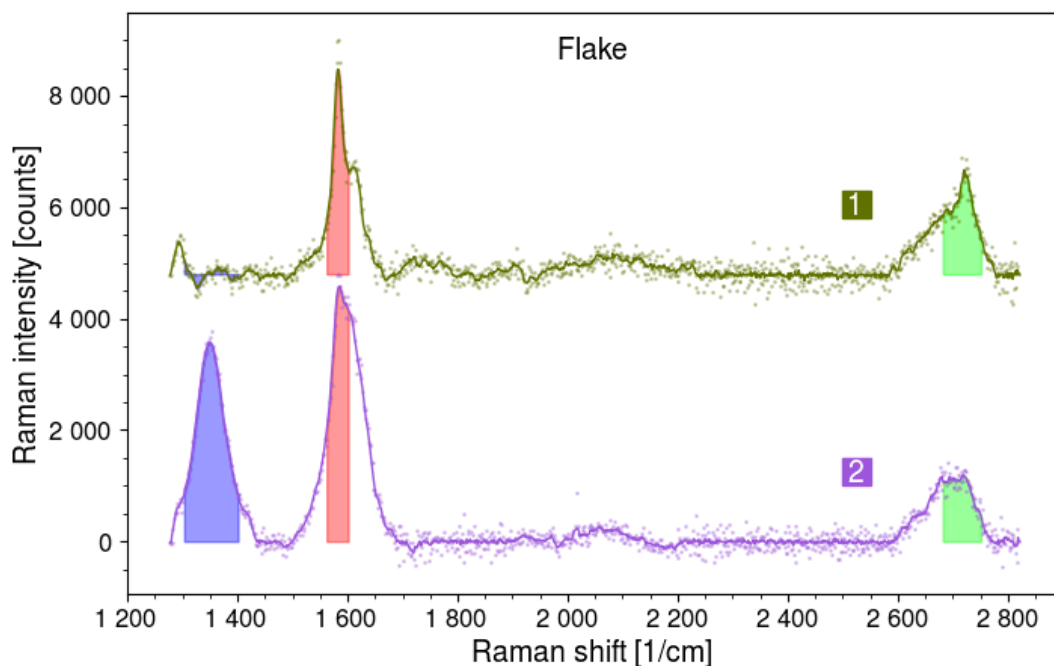


ramanská spektra (částečně fosforylovaného) CTD a jeho aminokyselinových konstituentů

Ramanské mapování

Moderní vybavení umožňuje specifický typ měření a jeho zobrazení – tzv. **ramanské mapy**:

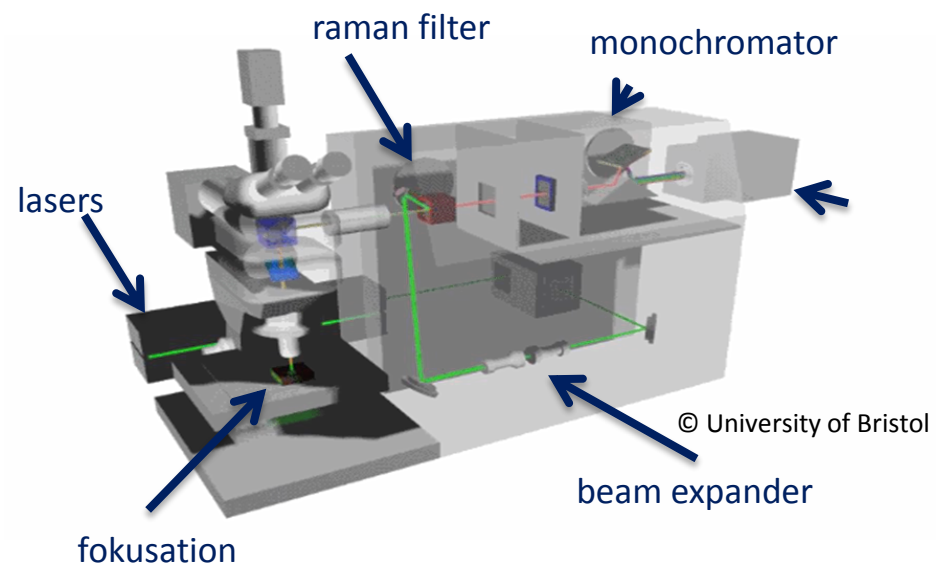
Vzorek je automaticky změřen na mnoha místech a vybraným nalezeným píkům jsou přiřazeny barevné odstíny, jejichž sytost odpovídá výšce píku.



Ramanská mapa grafitové šupiny

Pokud obraz složíme, vypovídací hodnota barevného tónování napy je pro nás vysoká.

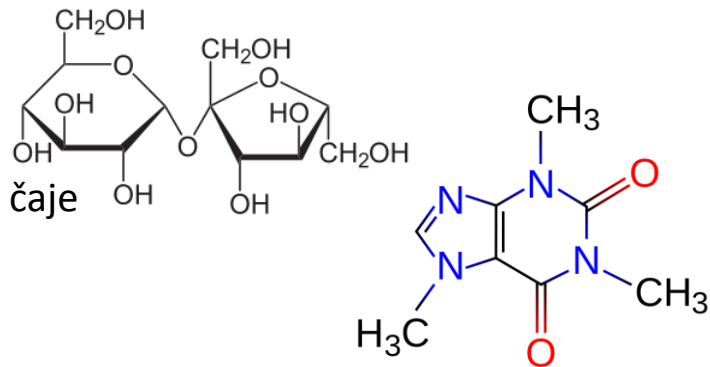
Povrchově zesílená ramanská spektroskopie



Ramanův rozptyl - koncentrace

cukr v čaji: 93 mM

1 čajová lžička (8 g sacharózy $C_{12}H_{22}O_{11}$, 342.3 g/mol) v 250 ml čaje

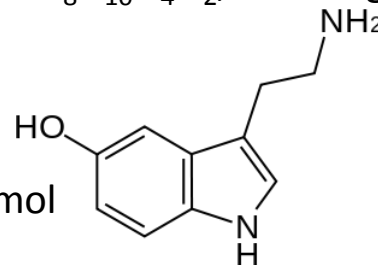


kofein v coca-cole: 0.494 mM

96 mg/l, purinový (tri methyl xanthine) alkaloid $C_8H_{10}N_4O_2$, 194.19 g/mol

serotonin v krevní plazmě: ~ 1 uM

neurotransmitter, vnímání dostupnosti zdrojů, 176.215 g/mol



**limit konvenční ramanské
spektroskopie: ~ 1 M**

**limit mikroramanské spektroskopie
v kapilárách: ~ 1 mM**

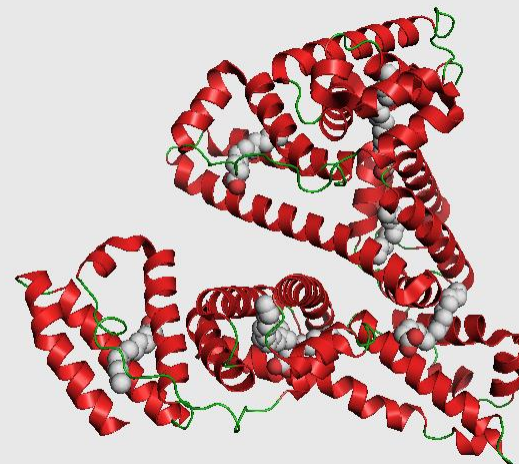
albumin v krevním séru: 0.63 mM

cca 2/3 krevních bílkovin, 35-50 g/l, 67 kDa,
kódován 609 amino kyselinami, 585 zůstává ve finálním produktu
(prvních 24 aminokyslein tvoří signální část genu)

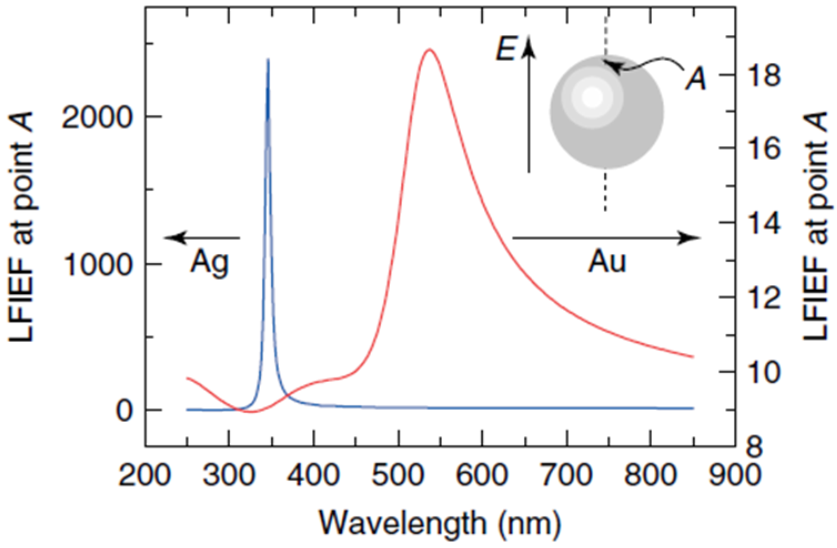
ALE: koncentrace alaninu z albuminu: 38.7 mM

(61 alaninů ve finálním produktu)

A: koncentrace 'proteinové páteře' z albuminu: 0.37 M



plazmonová rezonance

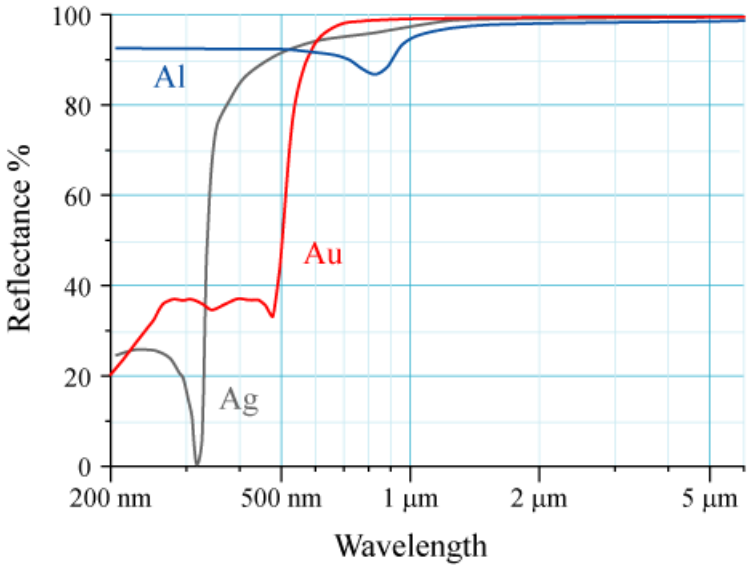


Kovové materiály vykazují v těsné blízkosti svých povrchů zesílení elektrického pole dopadajících elmag vln.

používané materiály:

- Ag** – největší zesílení
- Au** – nejstabilnější
- Cu, Sn, grafen..

SERS poprvé pozorován na zdrsňených stříbrných elektrodách



Poloha a síla plazmonové rezonance závisí na optických konstantách kovu.

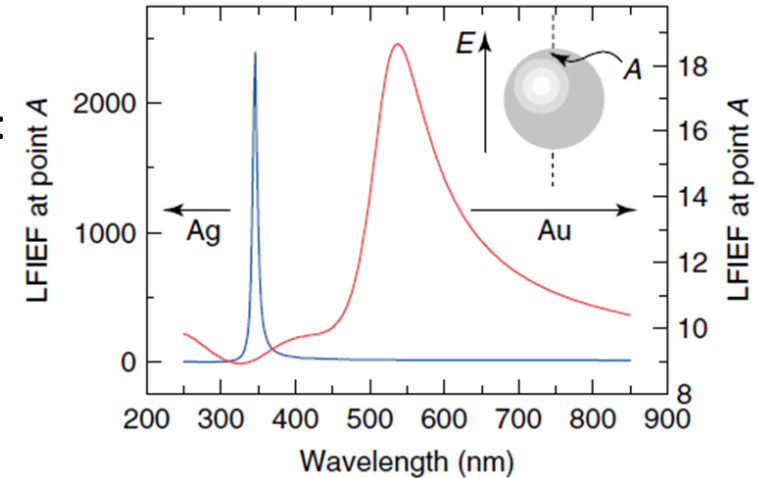
LFIEF (local field intensity enhancement)

$$LFIEF_{\vec{r}} = \frac{|\vec{E}(\vec{r})|}{E_0}$$

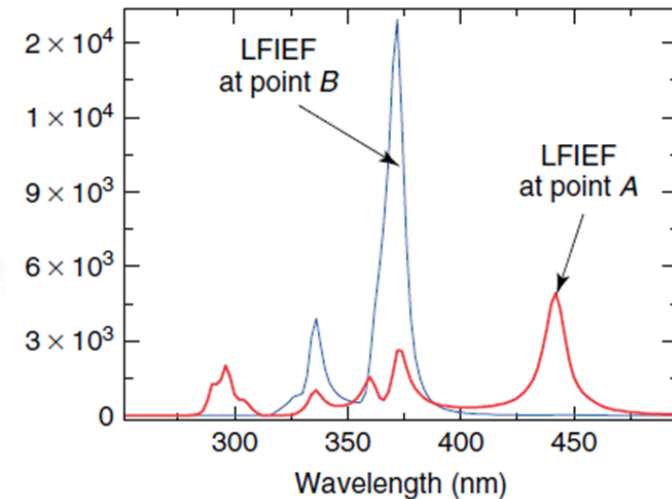
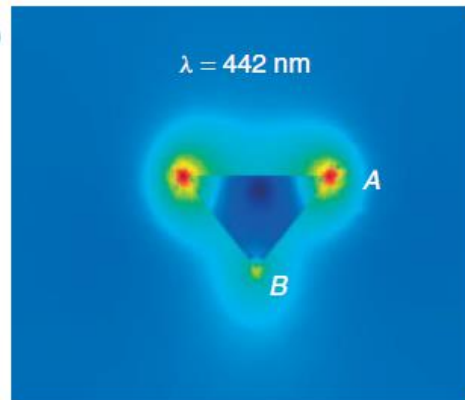
příprava nanočástic

kvůli biokompatibilitě preferujeme jako rozpouštědlo vodu:

- Au** - citrátová redukce HAuCl_4 při varu (Turkevich)
- sférické, průměr cca 15 nm
- excitace 633 nm

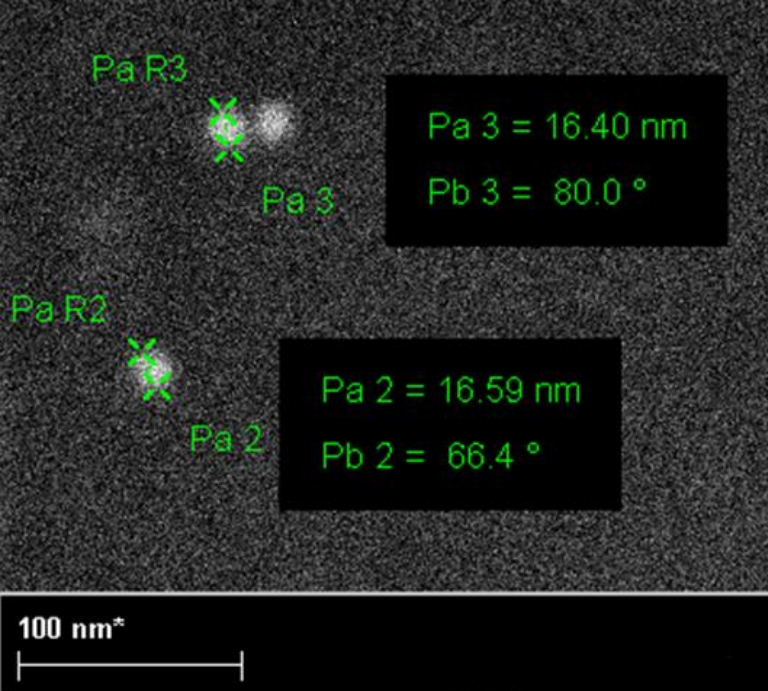


- Ag** - citrátová redukce AgNO_3 s leptacím činidlem za pokojové teploty
- trojhrany 15-60 nm, řiditelně
- excitace 514nm, 633 nm

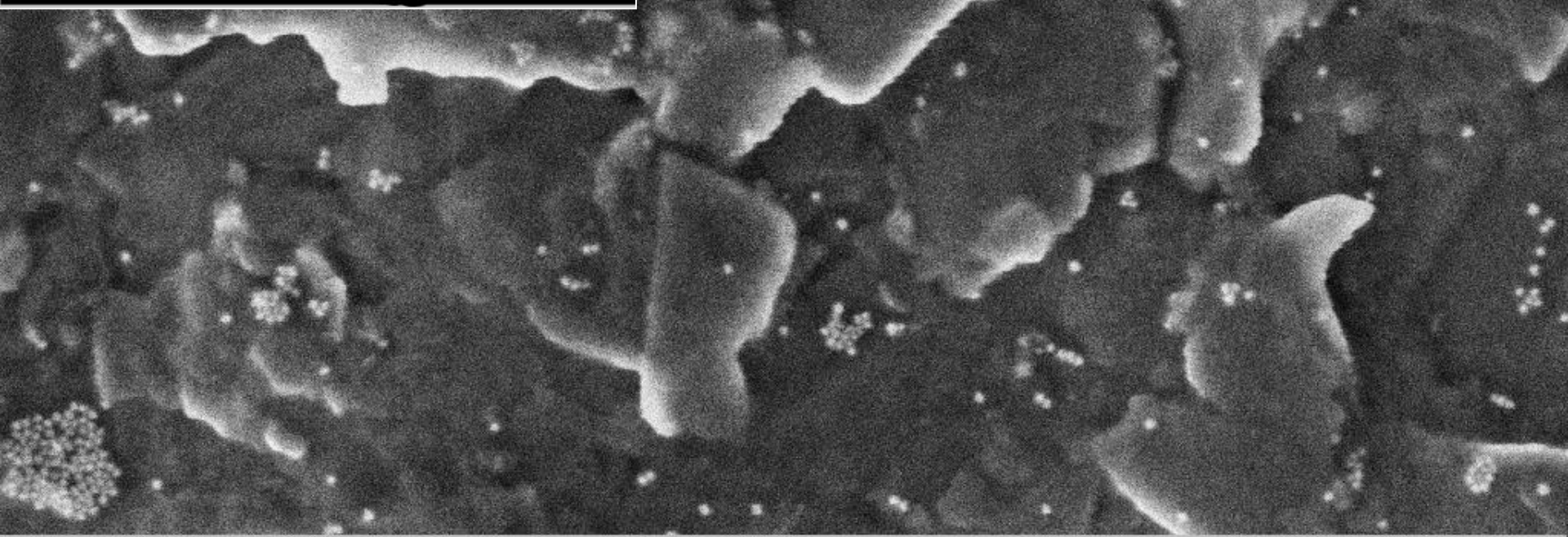


- oba druhy nanočástic pasivovány citrátem, nesou na povrchu záporný náboj
- připravené koloidní roztoky stabilní po dobu týdnů/měsíců

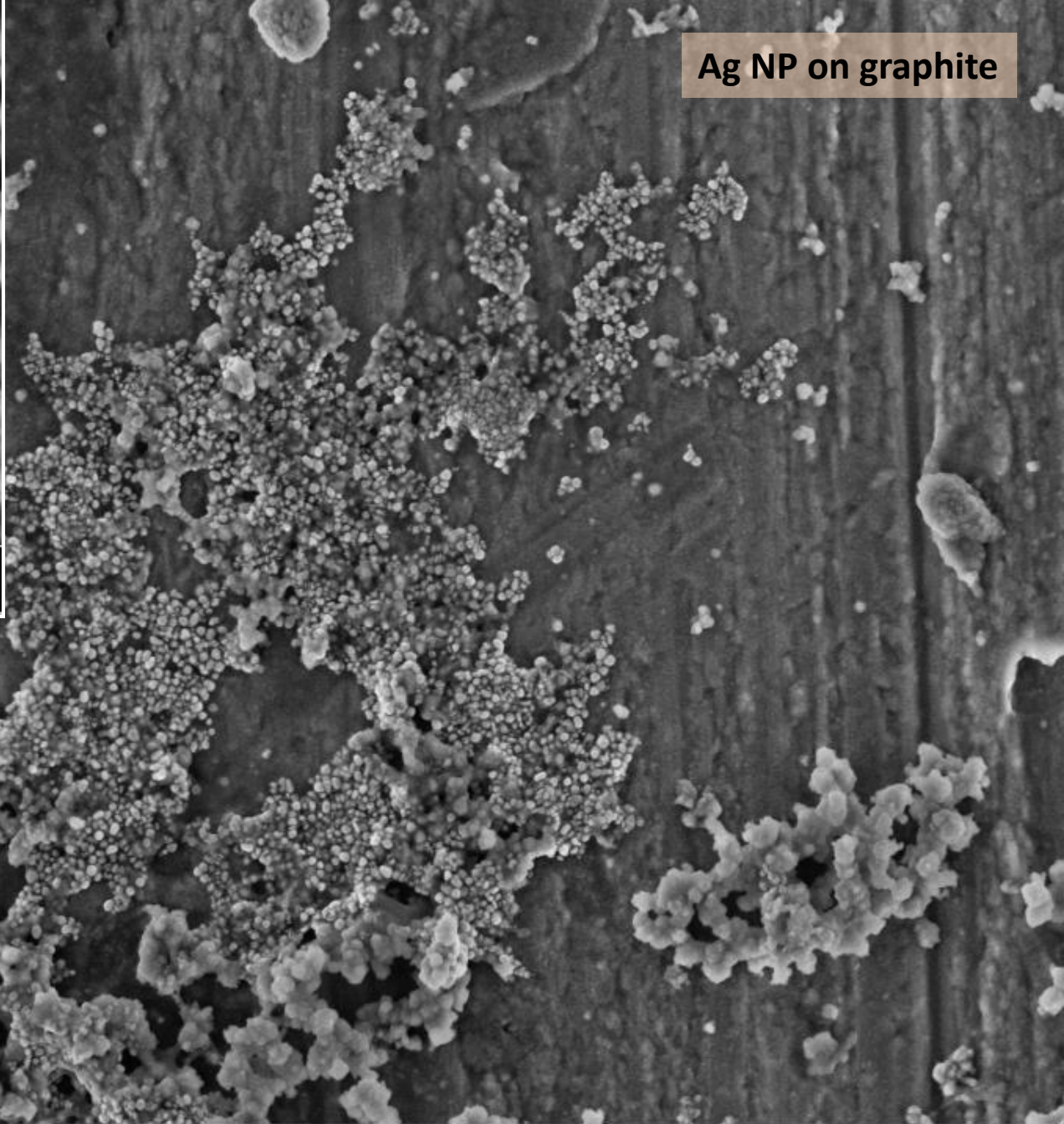
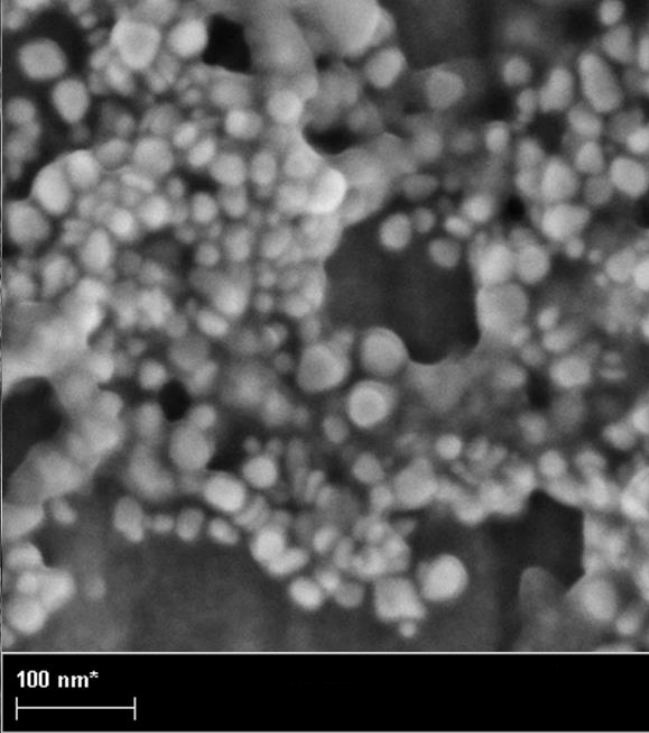
agregace nanočástic vede k dalšímu navýšení zeílení
řízené srážení nanočástic – MgSO_4 , NaCl , ..



Au NP on graphite



Ag NP on graphite



100 nm*

200 nm*

1.9 mm
20.00 K X

2.00 kV

Signal A = InLens

Width = 5.717 μ m

Pixel Size = 5.583 nm

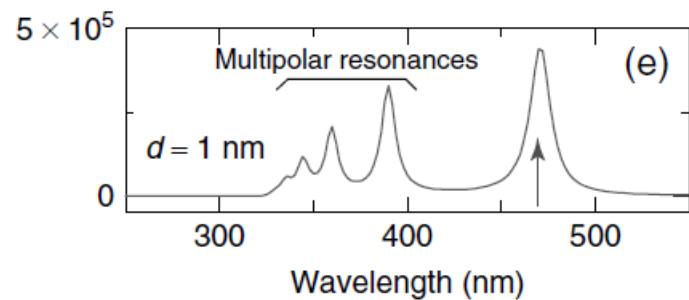
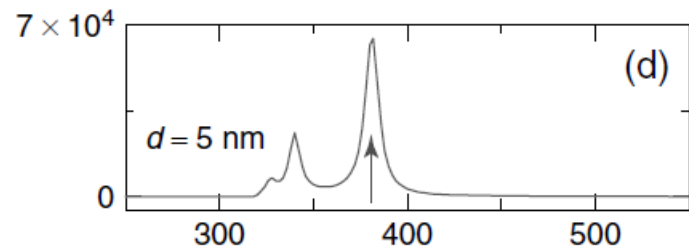
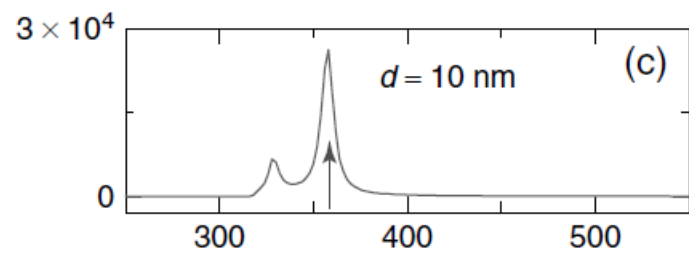
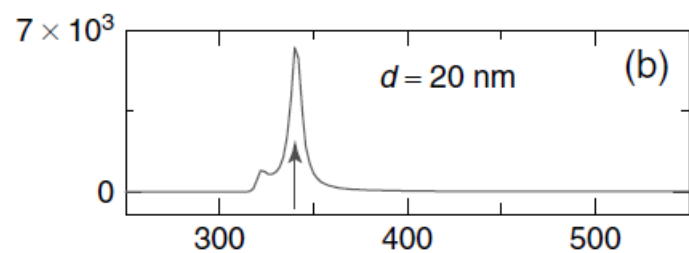
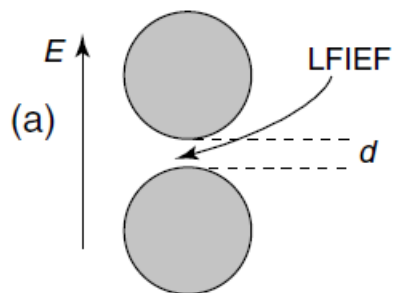
ESB Grid is = 0 V

26 Sep 2014

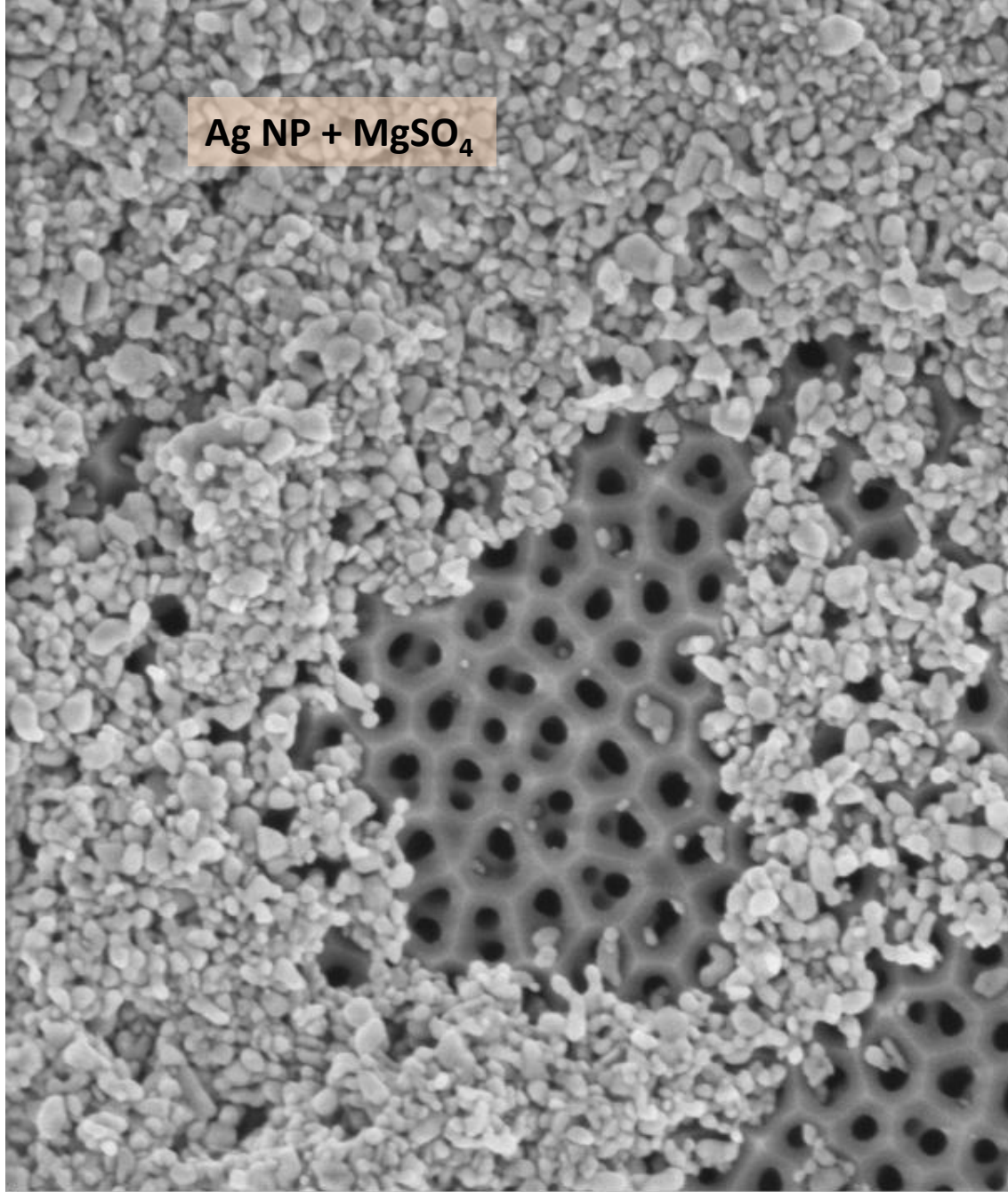
Photo No. = 2398

nanostibro huede reden_09.tif

aggregation



Ag NP + MgSO₄



100 nm*



2.2 mm

2.20 kV

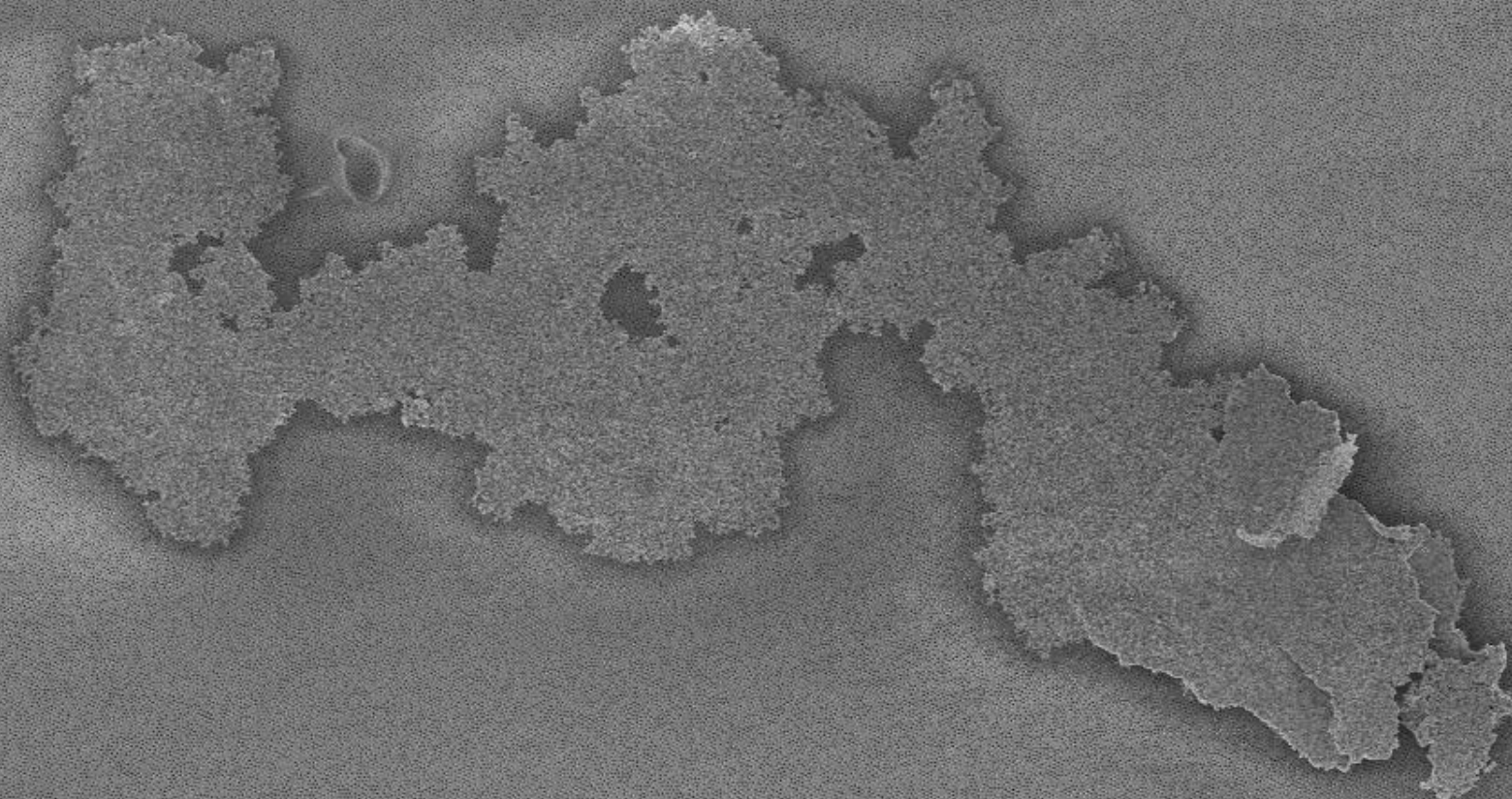
Signal A = InLens

40.00 K X

Width = 2.858 μm

Pixel Size = 2.791 nm

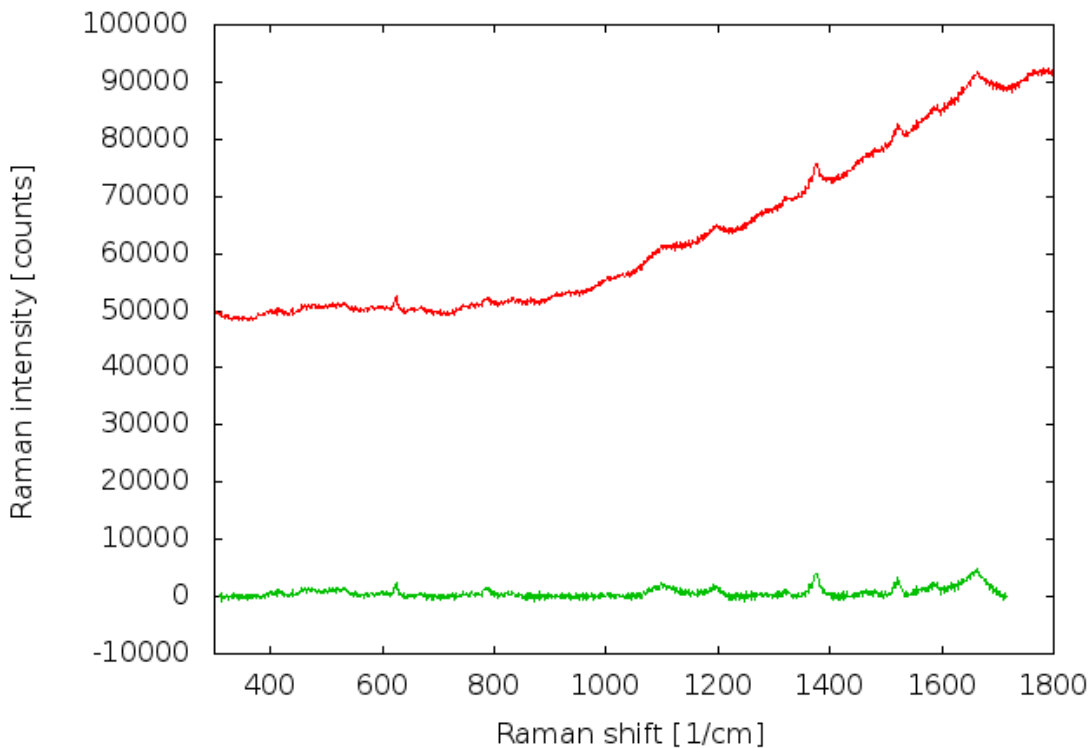
Ag NP + R6G



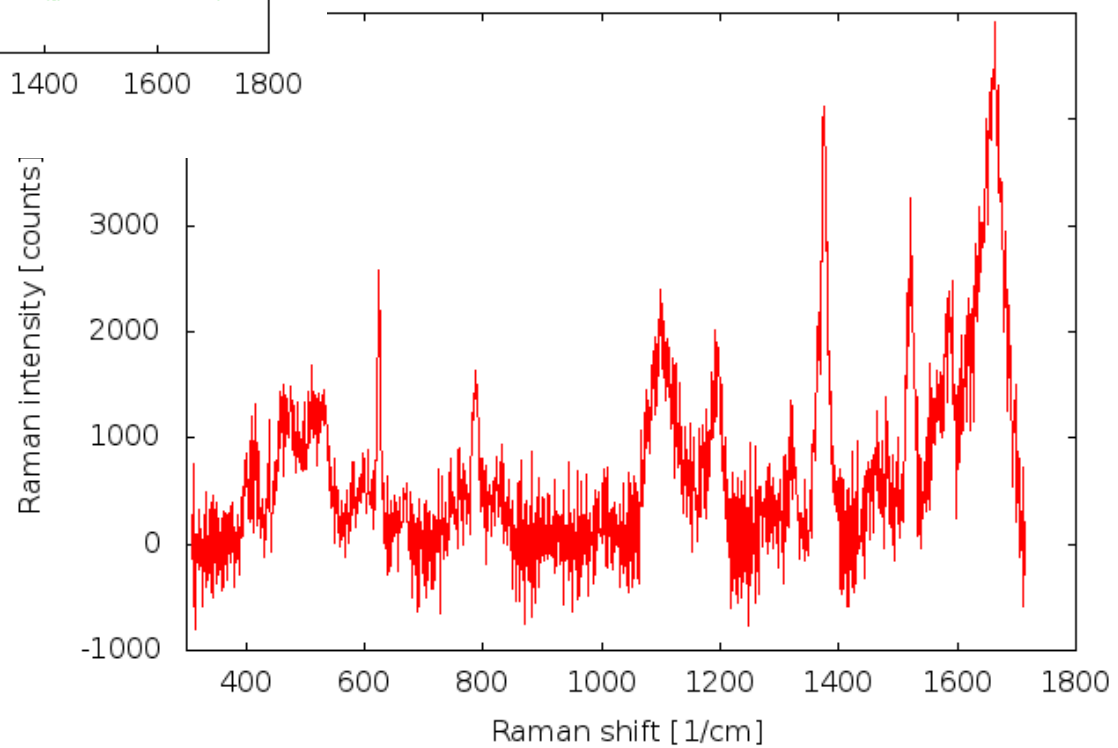
v některých případech lze s výhodou agregovat přímo analytem

rhodamine 6G SERS

100 μ M Rhodamine 6G, 20x capillary, 10x10s, 30 mW at 633 nm

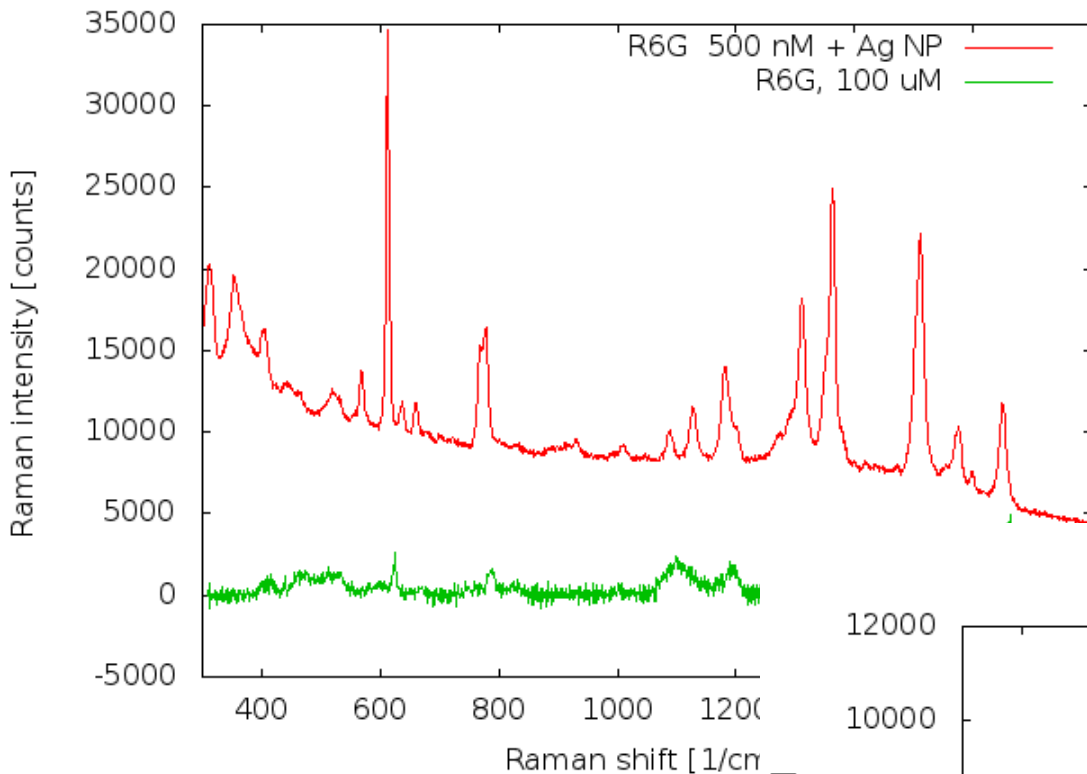


100 μ M Rhodamine 6G, 20x capillary, 10x10s, 30 mW at 633 nm



Rhodamine 6G SERS

rhodamine 6G SERS



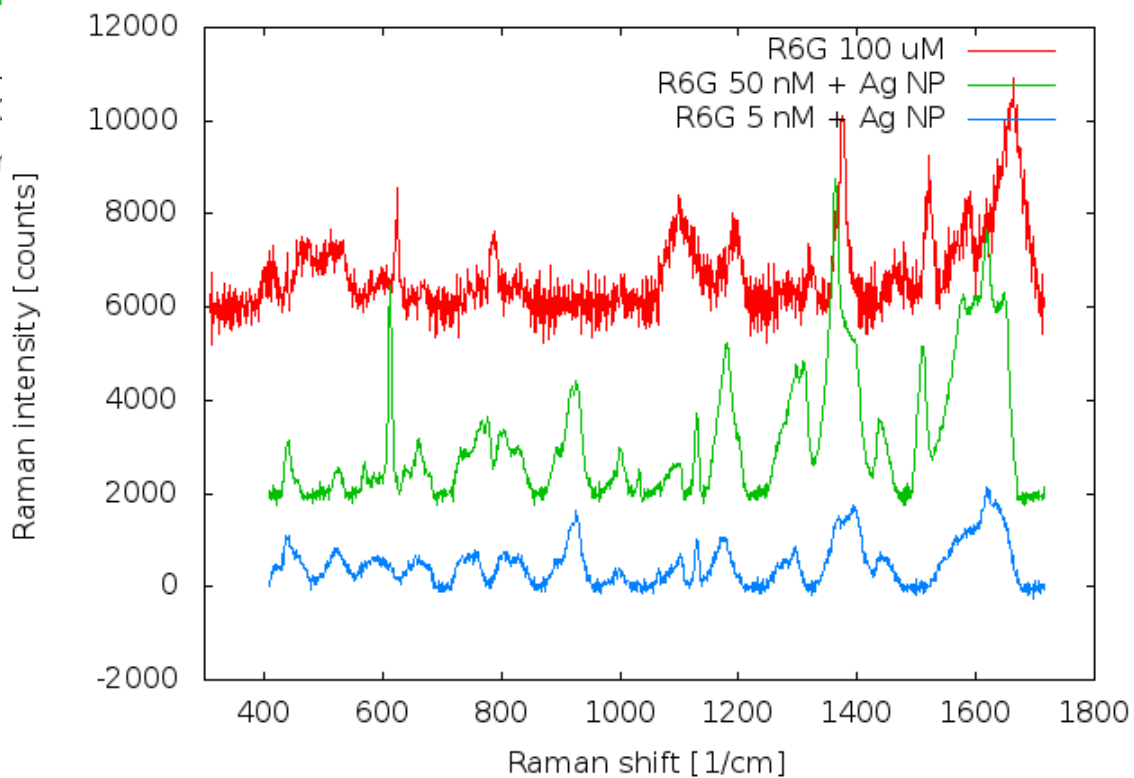
observed raman scattering
intensity enhancement:

50 000x

Rhodamine 6G SERS

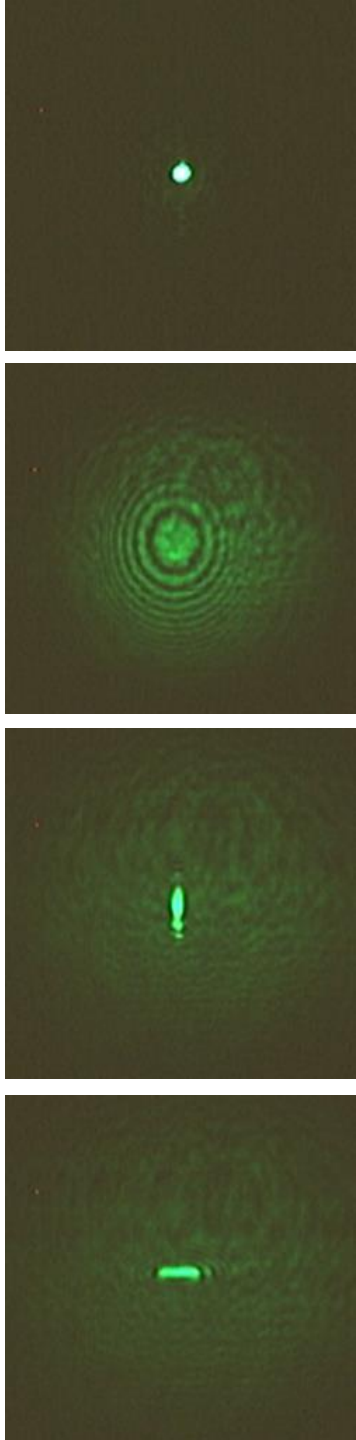
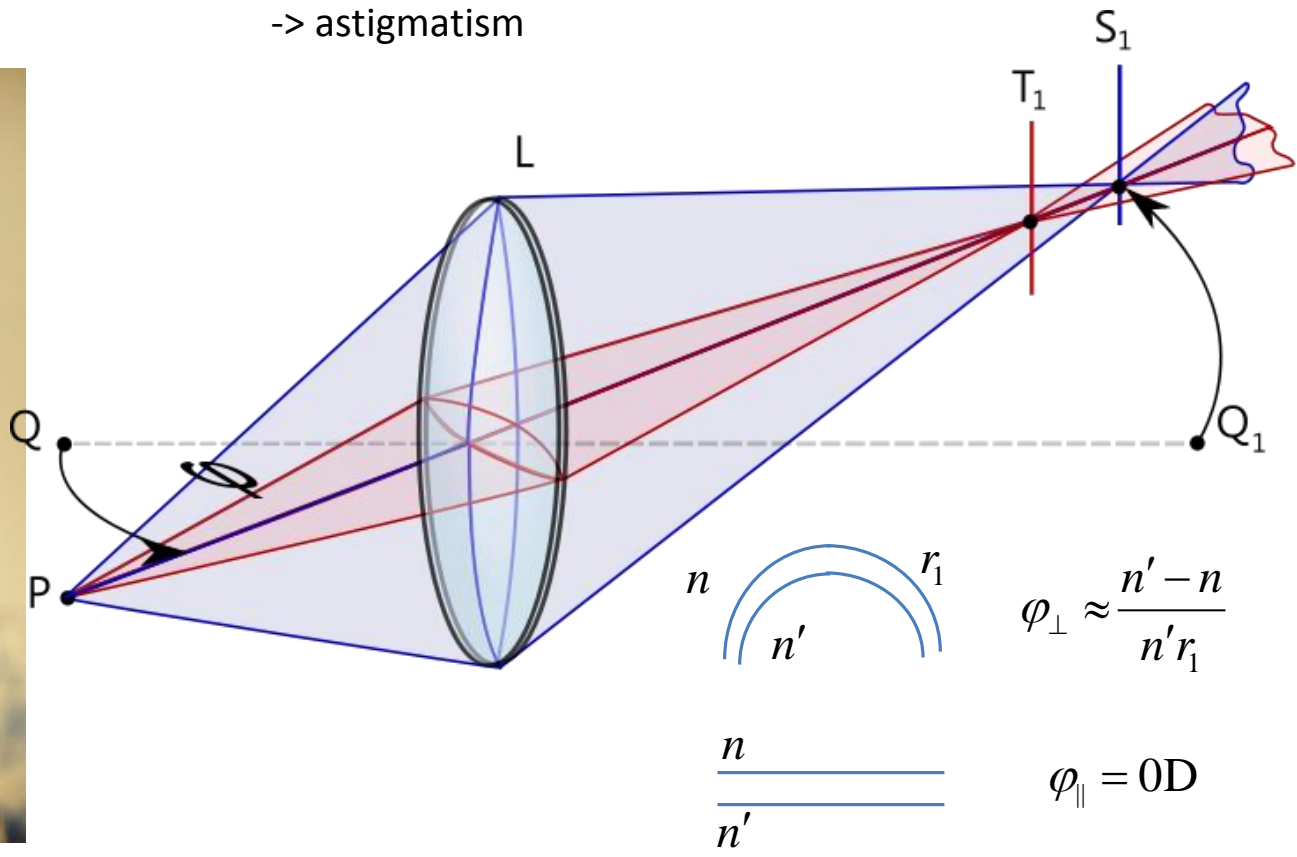
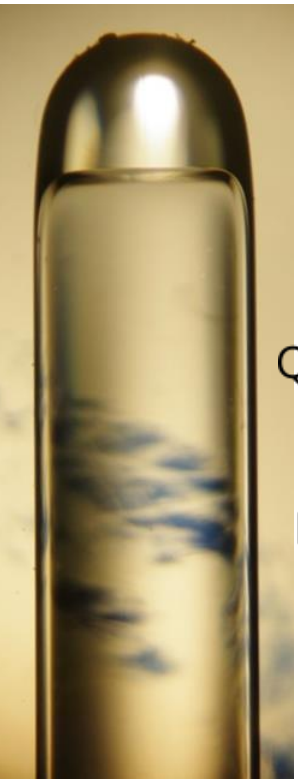
Rhodamine detection limit:

10 nM



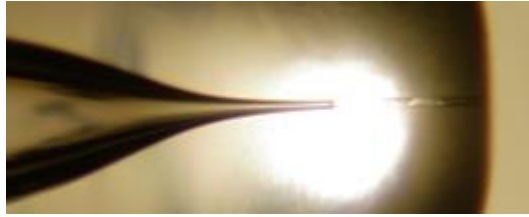
raman scattering, capillaries

cylindrical capillaries: different light focusing in different sections
 -> astigmatism



astigmatism mending:

- immersion
- square capillaries

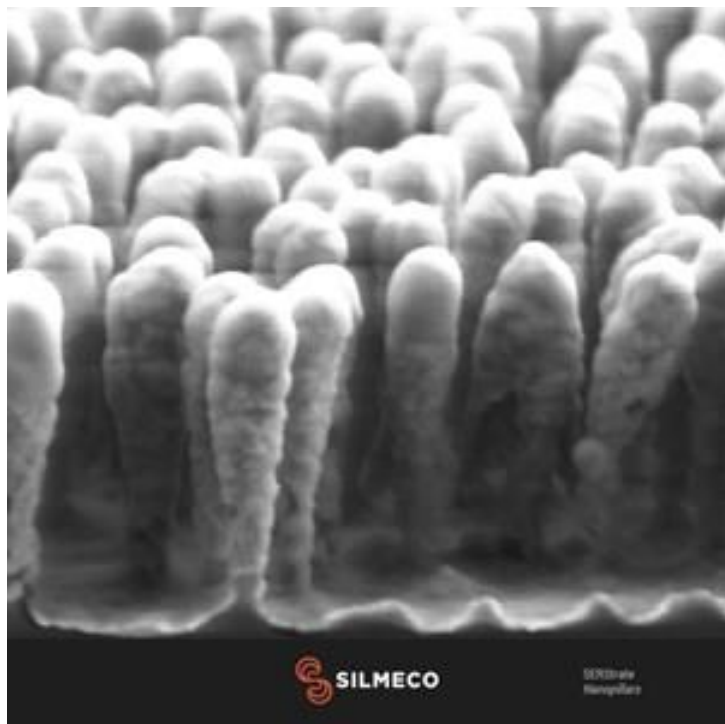


20x lens: focal cylinder

$$l = 86 \mu\text{m}, d = 4.6 \mu\text{m}$$

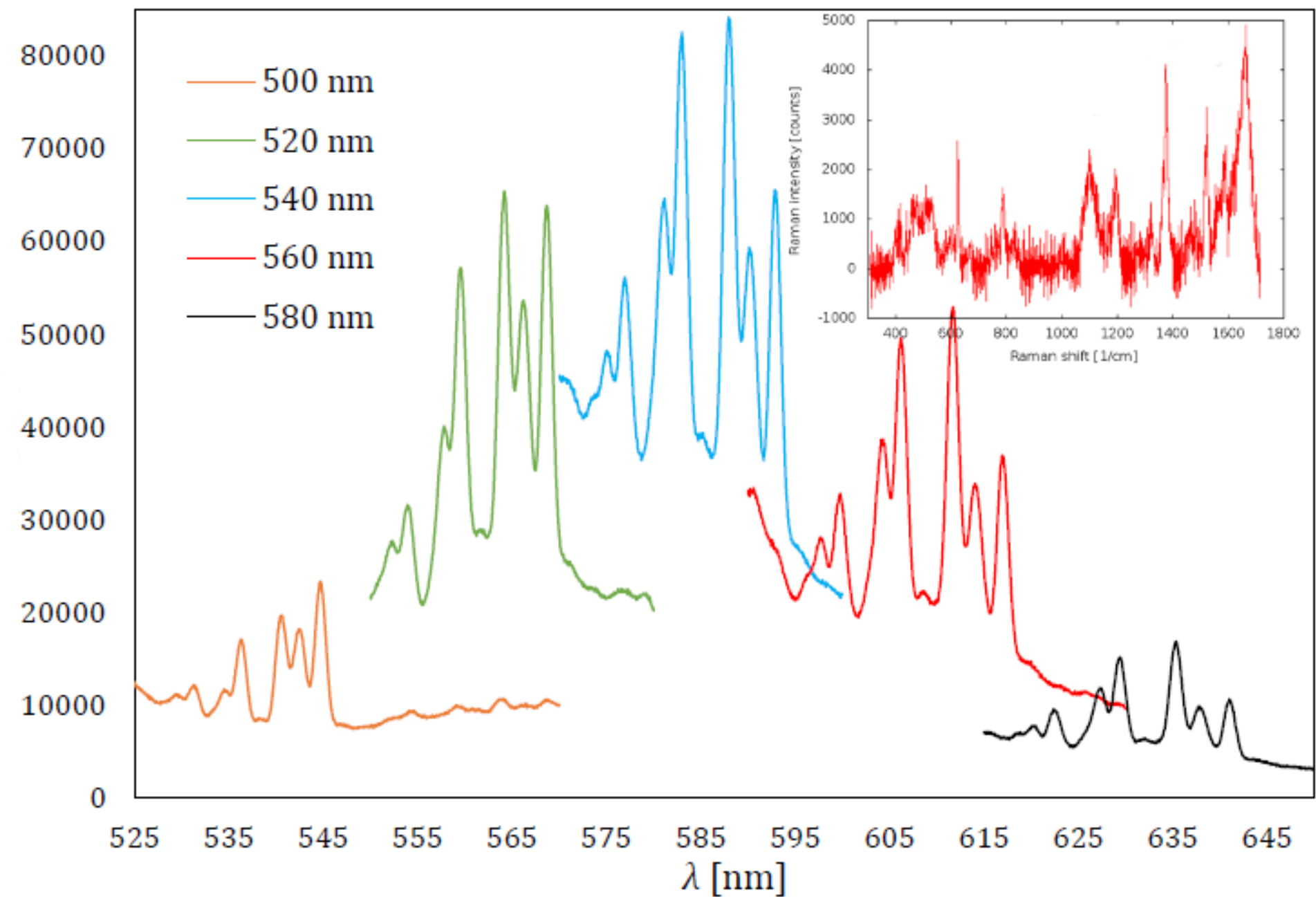
focal interval: 9 μm
 (1mm capillary, K10, water)

$$\varphi_{\perp} \approx 330D$$

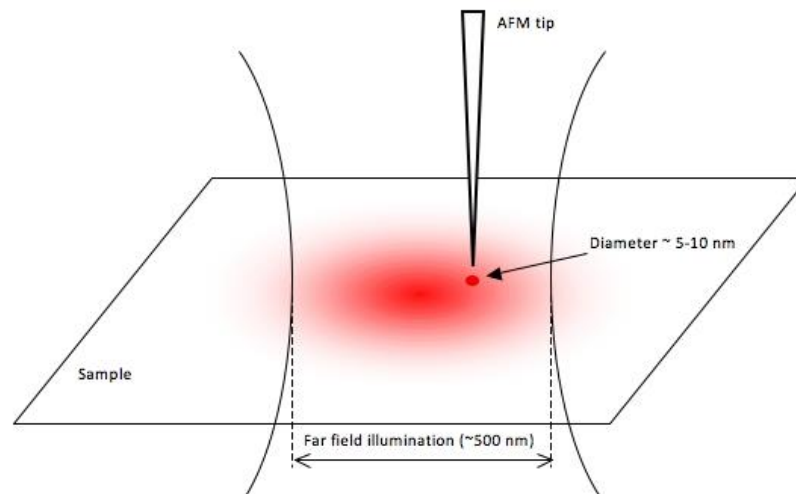


Komerční substráty (SILMECO) umožňují nakápnutí vzorku na povrch.

Continuous wavelength tunable Raman spectroscopy



TERS – TIP ENHANCED RAMAN SPECTROSCOPY



AFM tip as a hot spot

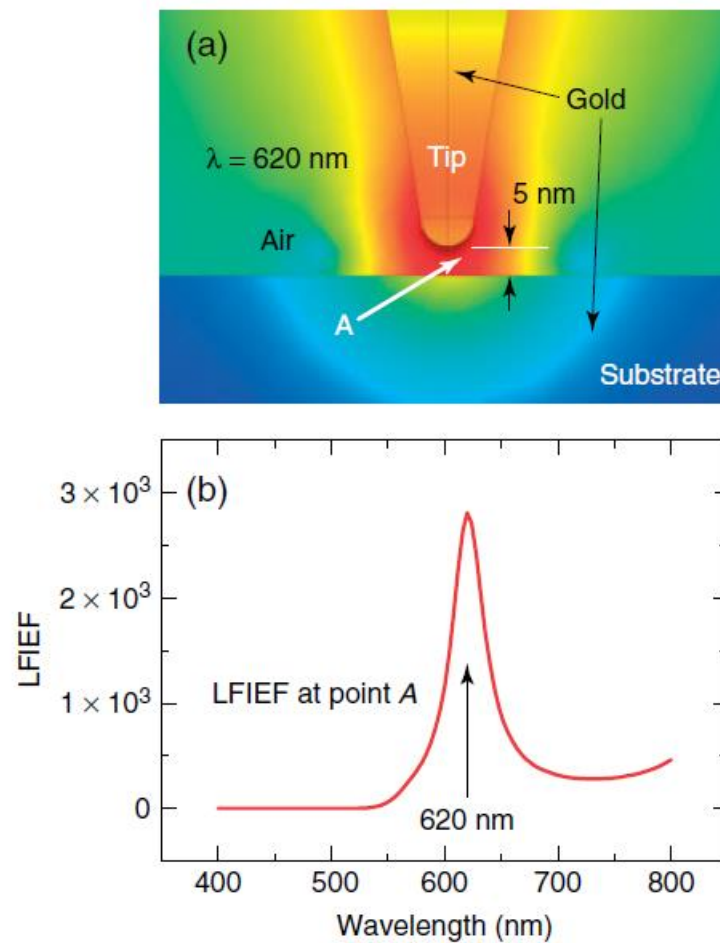
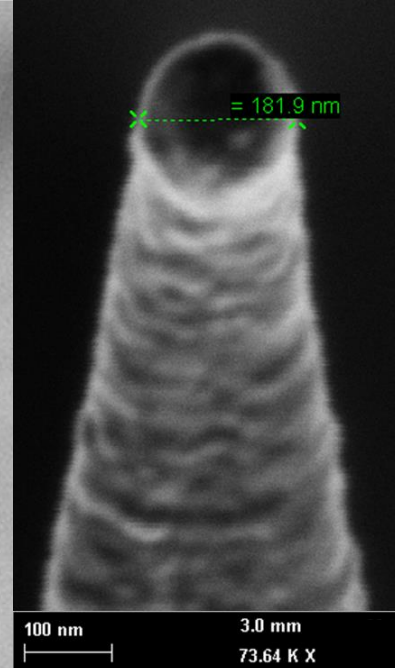
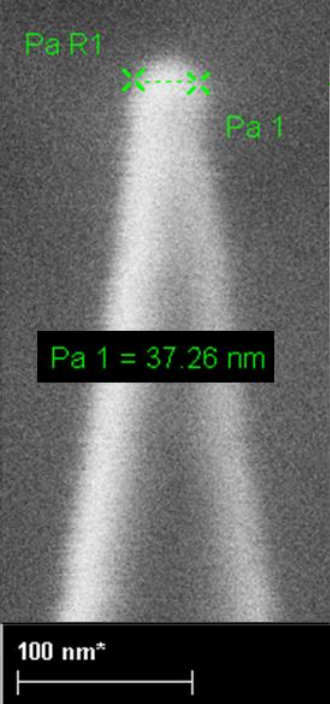


Figure 1.7 (a) A typical TERS geometry: a flat substrate and a tip (both made of gold in this case) are brought together with a gap of a few nanometers in between. The tip in this case has a conical body with a hemisphere termination (10 nm in diameter), and it is separated by 5 nm from the surface. A 3D simulation in the electrostatic approximation at 620 nm excitation (with the field E in the vertical direction) shows

the displayed LFIEF map (in a false-colour log-scale as shown in the previous figures). If we monitor the LFIEF for different λ 's at point A (which is 0.5 nm above the surface and immediately below the tip), we obtain the result displayed in (b). This would be approximately the position that could be occupied by a molecule lying on the surface. The peak at ~ 620 nm is the coupled plasmon resonance between the tip and the surface.

Si AFM tip, nosse type

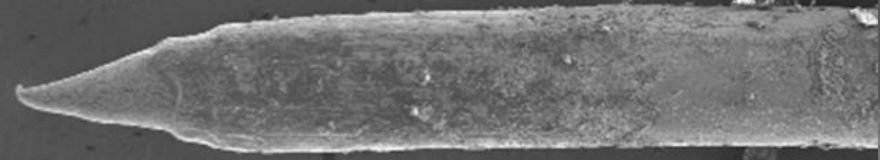
same tip + 100 nm Au



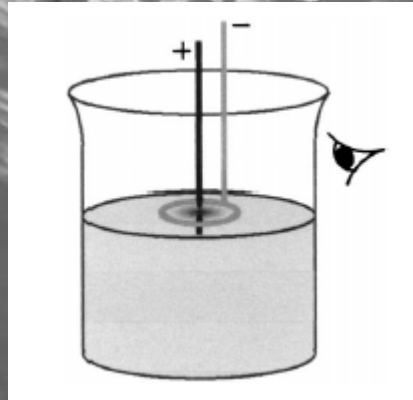
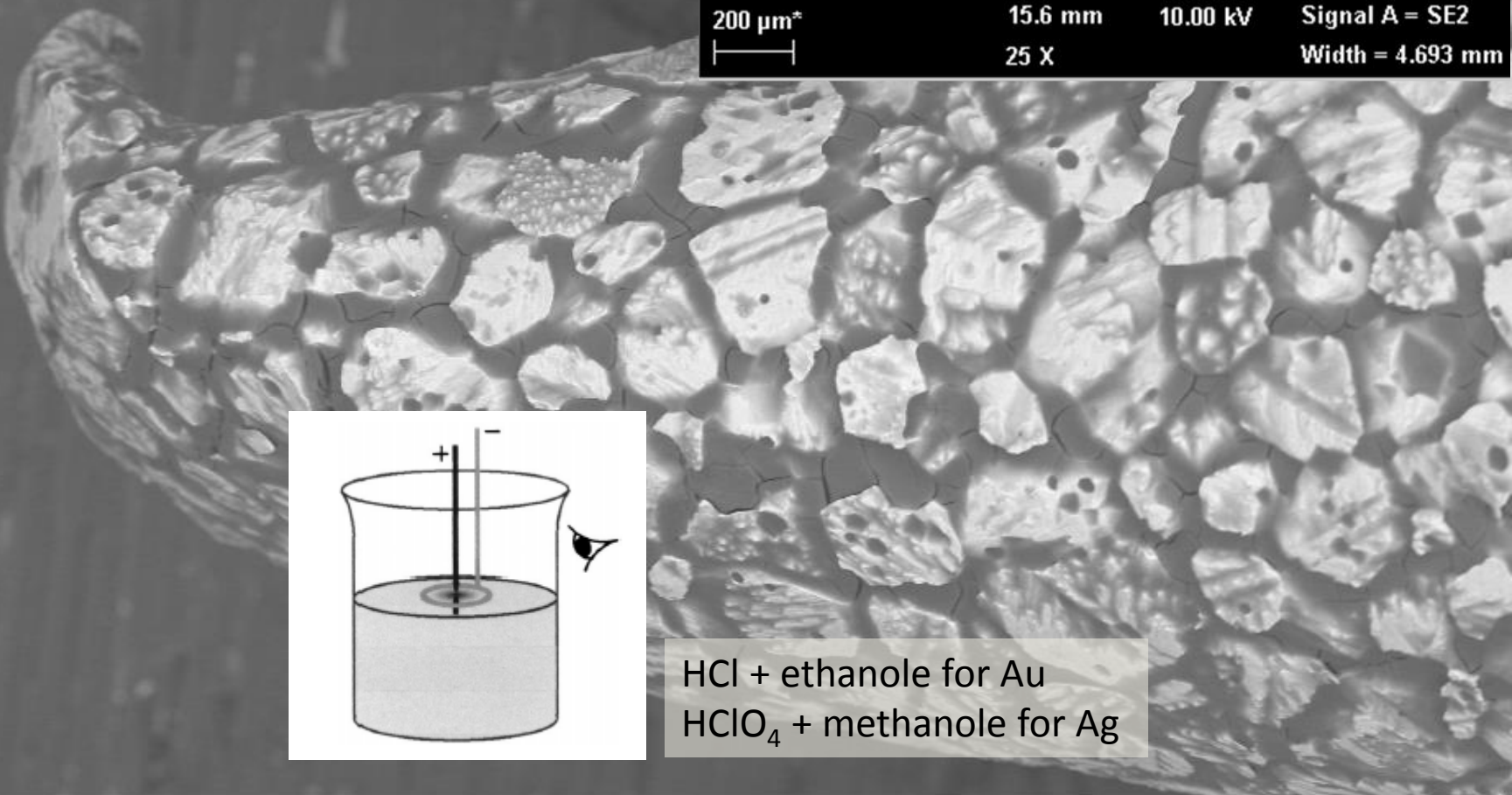
1 μ m* 1.5 mm 1.00 kV Signal A = InLens
Width = 32.67 μ m

1 μ m 1.5 mm 1.00 kV Signal A = InLens
Width = 41.74 μ m

Au wire, etched



200 μm^* | 15.6 mm | 10.00 kV | Signal A = SE2
| 25 X | Width = 4.693 mm



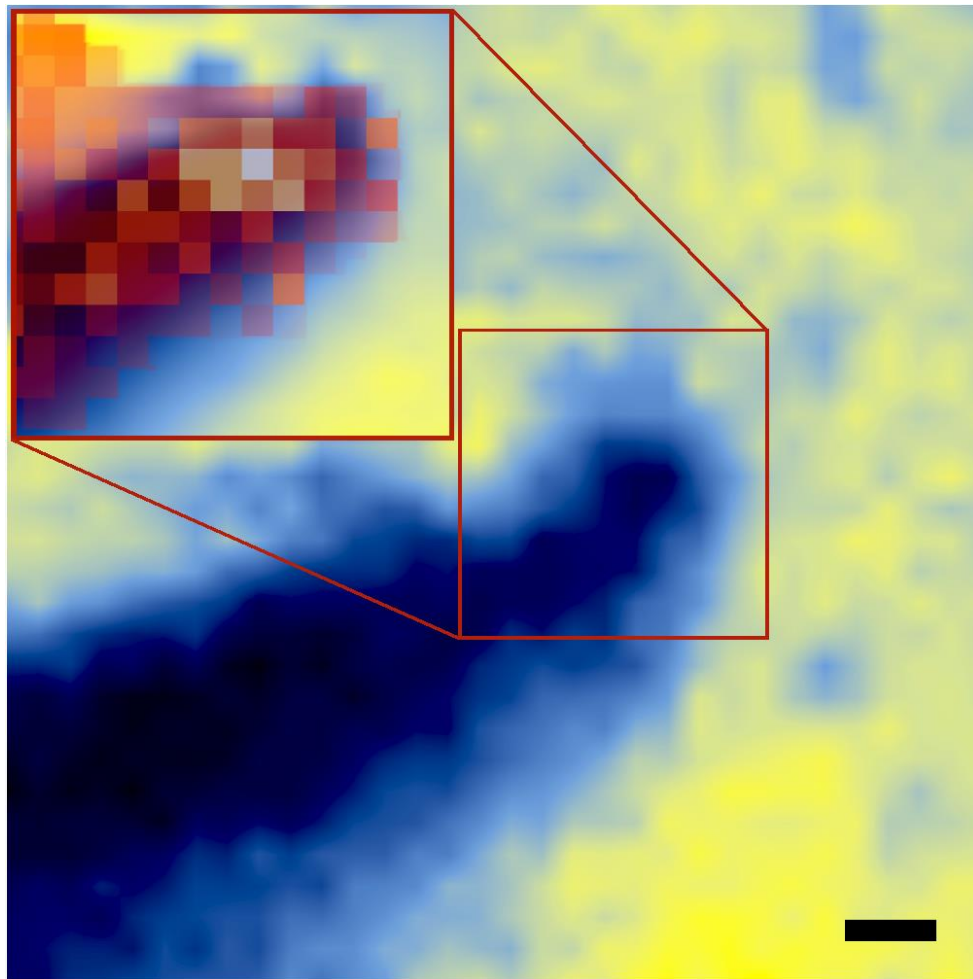
HCl + ethanole for Au
 HClO_4 + methanole for Ag

Au wire, etched

Pa R1

Pa 1

Pa 1 = 112.9 nm
Pb 1 = 21.8 °



Reflectivity mapping of on-site etched Au STM tip in contact with Au@BK7 substrate at room ambient; the scale bar is 1 μm . The inset shows higher resolution measurement overlaid with Raman map revealing the hot spot.

Questions?



Central European Institute of Technology
BRNO | CZECH REPUBLIC