

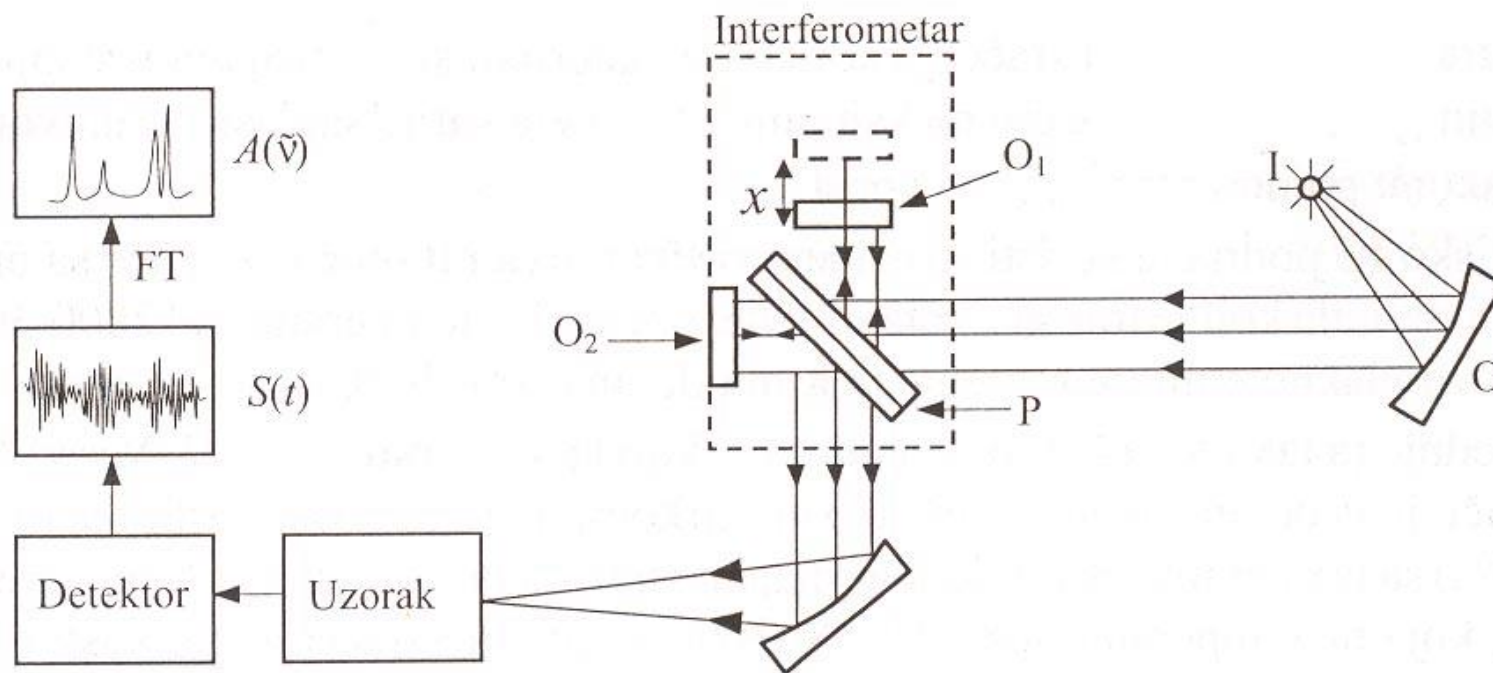
IC spektroskopija sa Furijeovom transformacijom

- FT-IC spektrometar na osnovu vibracionih spektara daje, u principu, iste informacije kao i klasični disperzioni instrumenti.
- Mogućnosti primene znatno povećane zahvaljujući osnovnim karakteristikama FT-IC spektrometara:
 1. Znatno povećan odnos signal/šum
 2. Veći svetlosni fluks
 3. Povećana osetljivost
 4. Visoka tačnost i preciznost određivanja talasnih dužina
 5. Visoka moć razlaganja
 6. Znatno povećana brzina snimanja spektra
 7. Olakšane operacije sa spektrima (čuvanje, sabiranje i oduzimanje spektara, automatsko konsultovanje biblioteke spektara) i samim tim otvorene nove mogućnosti korišćenja IC spektara

FT-IC spektroskopijom mogu se analizirati:

- Uzorci koji znatno apsorbuju
- Vodeni rastvori
- Mikro-uzorci
- Biološki sistemi
- Površine i procesi na površinama
- IC refleksioni i emisijski spektri, kao i
- Kinetika brzih procesa

Shema FT-IC spektrofotometra

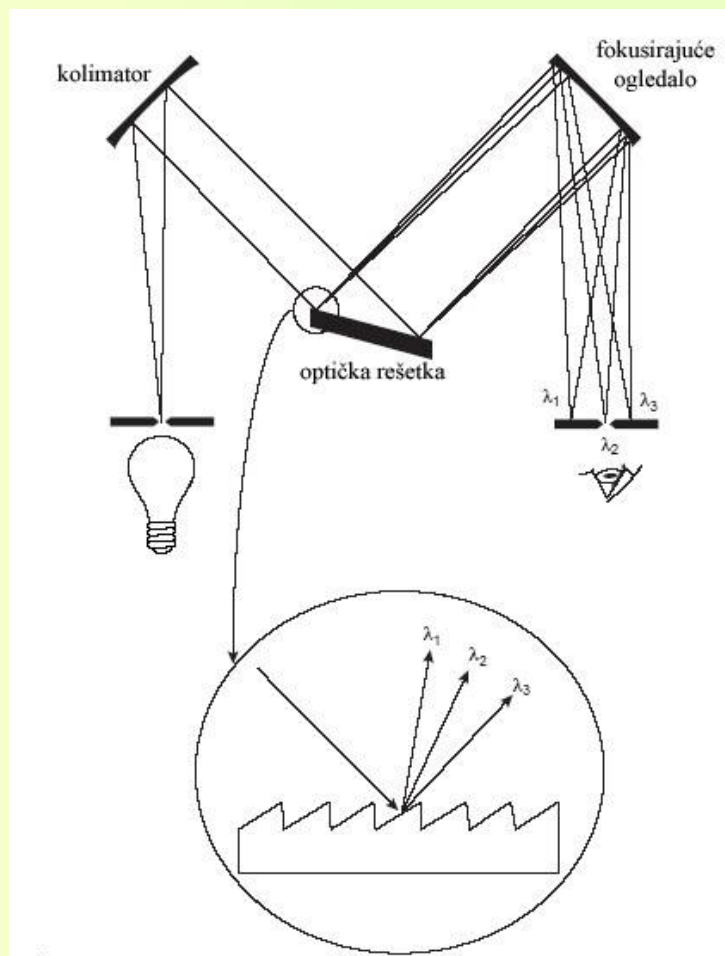


- 1892. godine američki fizičar A. A. Majkelson je konstruisao interferometar

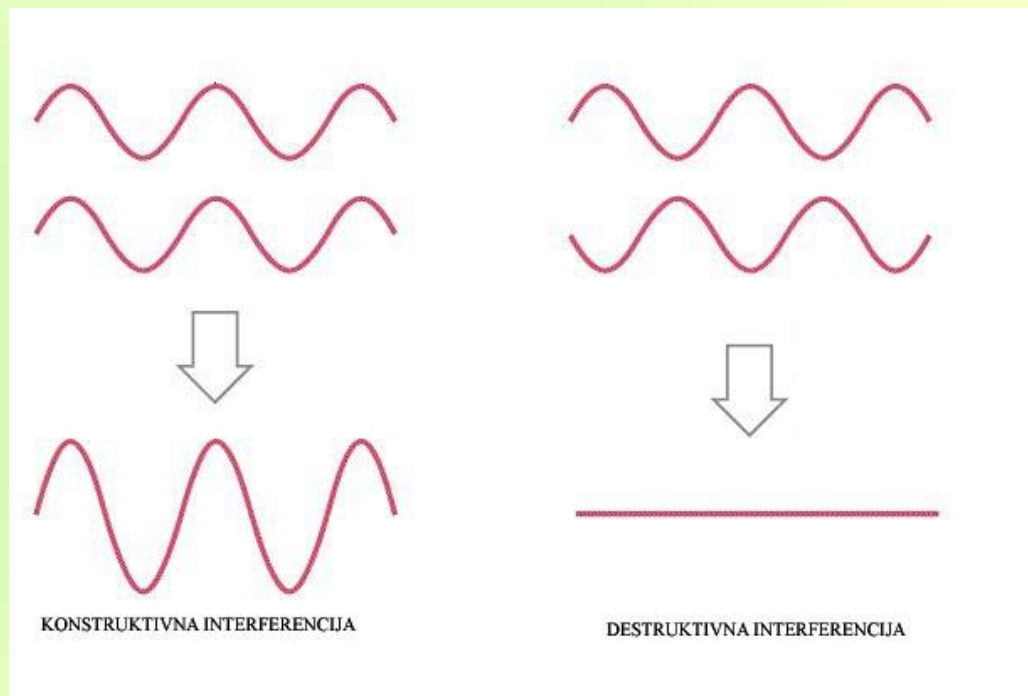
Između ostalog, koristi ga za određivanje dužine standardnog metra koji se čuva u Parizu

- 1907. godine je dobio Nobelovu nagradu za ovo otkriće
- 1927. godine u svom radu “Studies in Optics” predvideo je mogućnosti korišćenja interferometra kao disperzionog elementa

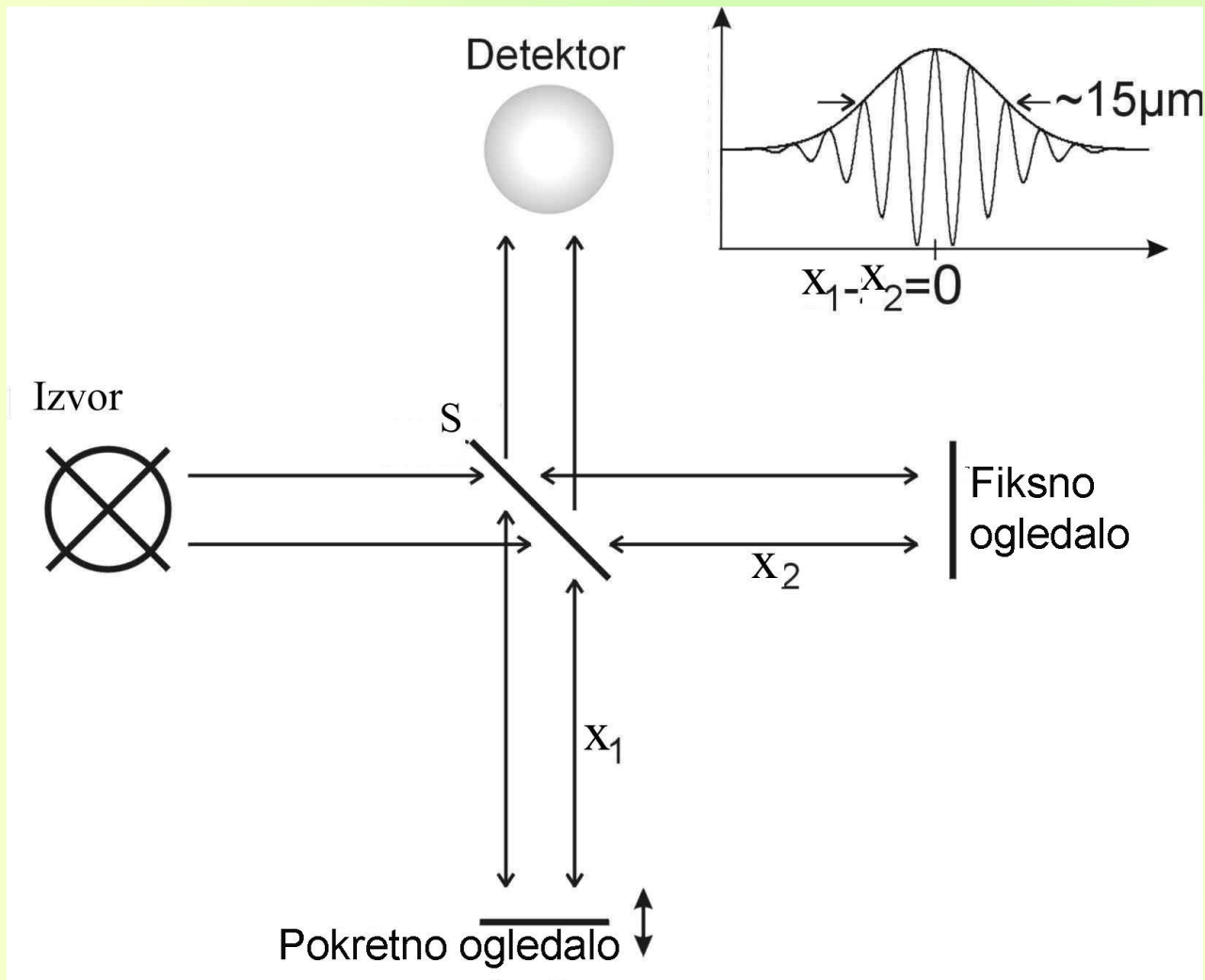
Instrument sa optičkom rešetkom



Interferencija talasa



Shema Majkelsonovog interferometra

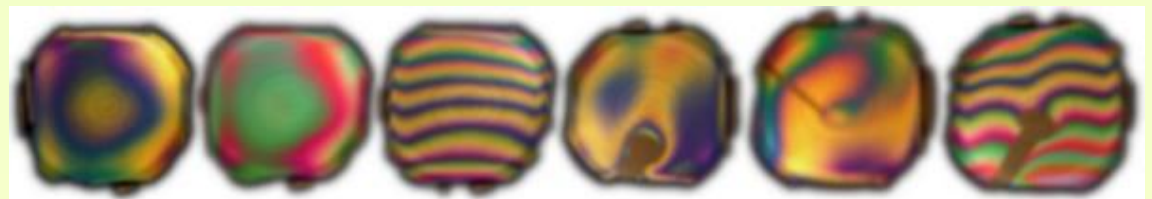
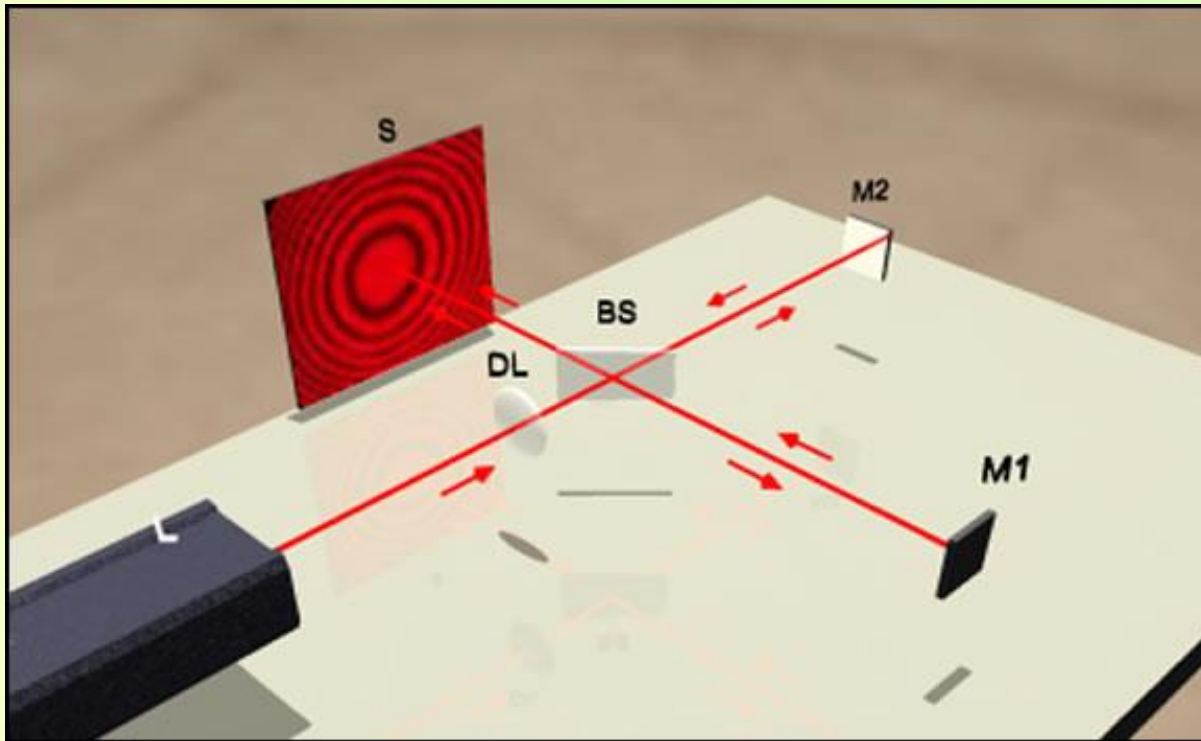


**S je separatrisa
(delitelj snopa)**

**engl. beam splitter
franc. la séparatrice**

**Sistem je evakuisan
($P = 1,33 \text{ Pa}$,
 $\sim 0,1 \text{ mm Hg}$) da bi se
sprečila apsorpcija
vodene pare iz
atmosfera**

Digresija: Formiranje holograma primenom Majkelsonovog interferometra



- Separatrisa je napravljena od materijala sa indeksom prelamanja takvim da oko 50 % zračenja reflektuje a oko 50 % zračenja propusti.
- Folija polimera ili sloj metala ili metalnih oksida naparen na podlogu od kvarca ili monokristalnog alkalnog ili zemnoalkalnog halogenida.
- Najčešće je to folija polietilen-tereftalata (Mylar) različite debljine, od čega zavisi oblast primene:

3,5 μm	700 – 150 cm^{-1}
6 μm	420 – 150 cm^{-1}
12 μm	22 – 50 cm^{-1}
25 μm	105 – 25 cm^{-1}
50 μm	55 – 10 cm^{-1}
- MgO na kvarcu: UV – 5000 cm^{-1}
- Si na CaF: 11000 – 1500 cm^{-1}
- Ge na KBr: 6000 – 400 cm^{-1}

- Detektor mora biti dovoljno osetljiv i dovoljno brz, pogotovo pri upotrebi savremenih brzoskanirajućih interferometara koji imaju optičko kašnjenje od 0,3 do 2 ili 3 cm/s
- Najčešće se koriste piroelektrični detektori (deuterisani triglicin sulfat za BIC i DIC oblast) i fotoprovodne ćelija (živa-kadmijum-telurid i indijum-antimonid na 77 K za BIC i SIC oblast)

Ako se pokretno ogledalo kreće konstantnom brzinom v_o i τ je vreme potrebno da pređe rastojanje od $\lambda/2$ onda sledi:

$$v_o \tau = \frac{\lambda}{2}$$

Tada je frekvencija signala koji stiže do detektora:

$$f = \frac{1}{\tau} = \frac{v_o}{\lambda/2} = \frac{2v_o}{\lambda} = 2v_o \bar{\nu}$$

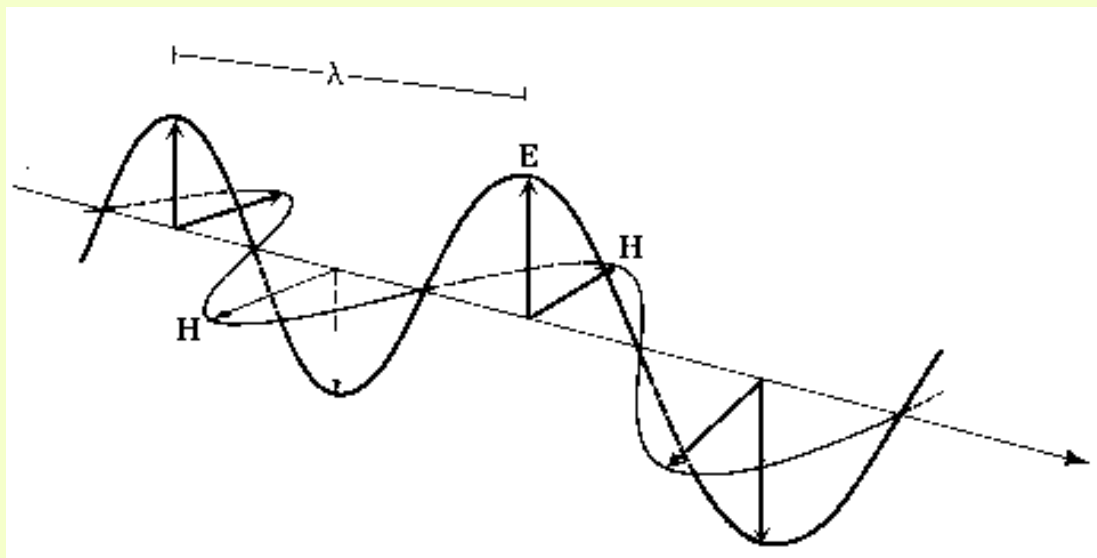
Veza između optičke frekvencije zračenja i frekvencije interferograma je:

$$f = \frac{2v_o}{c} \nu$$

v_o je const, tako da je f direktno proporcionalno ν

$$\frac{2v_o}{c} = \frac{2 \times 1,5 \text{ cm/s}}{3 \times 10^{10} \text{ cm/s}} = 10^{-10}$$

$$f = 10^{-10} \nu$$



Zračenje predstavlja promenu EM polja sa vremenom.

Furije je pokazao da vremenski zavisna promena može da se razloži u niz $\cos$ i $\sin$ talasa različite frekvencije. U tom slučaju spektar je Furijeova transformacija EM polja.

$$P(t) = A_1 \sin \omega t + A_2 \sin 2\omega t + A_3 \sin 3\omega t + \dots + B_0 + B_1 \cos \omega t + B_2 \cos 2\omega t + B_3 \cos 3\omega t + \dots$$

$$A_1, A_2, A_3, \dots, B_0, B_1, B_2, B_3, \dots$$

konstante

$$f(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} F(\nu) \cos 2\pi \nu t d\nu$$

$$F(\nu) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) \cos 2\pi \nu t dt$$

- Interferogram je kosinusni talas simetričan u odnosu na $x = 0$.
- a je amplituda svetlosnih snopova koji se razlikuju za optičko kašnjenje
- $I(x)$ je ukupan intenzitet svetlosti na detektoru ili separatriši
- Ako je zračenje monohromatsko, talasne dužine λ_0 , odnosno ν_0 tada detektor registruje intenzitet:

$$I(x) = a_1^2 + a_2^2 + 2a_1a_2 \cos 2\pi\tilde{\nu}_0 x$$

$$a_1 = a_2 = a$$

$$I(x) = 2a^2 (1 + \cos 2\pi\tilde{\nu}_0 x)$$

$$2a^2 = I$$

$$I(x) = I(1 + \cos 2\pi\tilde{\nu}_0 x)$$

Za polihromatsku svetlost mora se izvršiti integraljenje po svim frekvencijama:

$$I(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu} + \int_{-\infty}^{+\infty} I(\tilde{\nu}) \cos 2\pi\tilde{\nu}x d\tilde{\nu}$$

$I(\nu)$ je ukupan intenzitet zračenja na frekvenciji ν

za $x=0$

$$I(0) = 2 \int_{-\infty}^{+\infty} I(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu}$$

za $x \neq 0$

$$I(x) = \frac{1}{2} I(0) + \int_{-\infty}^{+\infty} I(\tilde{\nu}) \cos 2\pi\tilde{\nu}x d\tilde{\nu}$$

Interferogramska funkcija $F(x)$ koja se dobija kao razlika dva intenziteta jednaka je:

$$F(x) = I(x) - \frac{1}{2} I(0) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\tilde{\nu}) \cos 2\pi\tilde{\nu}x d\tilde{\nu}$$

i predstavlja kontinualnu funkciju optičkog kašnjenja (x) $\rightarrow$ Furijeov integral

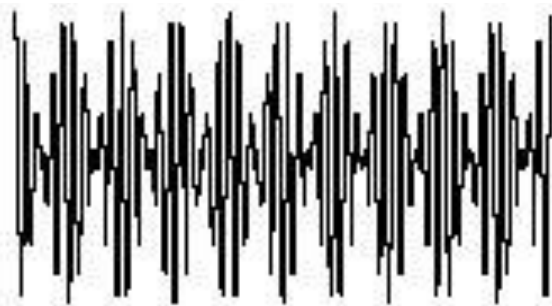
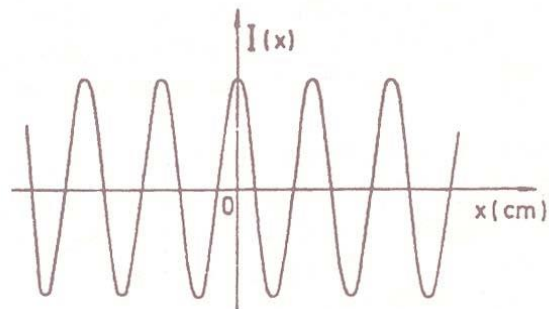
$$F(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\tilde{\nu}) \cos 2\pi \tilde{\nu} x d\tilde{\nu}$$

Neophodno je izvršiti Furijeovu transformaciju interferograma i dobiti intenzitet zračenja po svakoj frekvenciji:

$$I(\tilde{\nu}) = \int_{-\infty}^{+\infty} F(x) \cos 2\pi \tilde{\nu} x dx$$

$$I = f(x)$$

INTERFEROGRAMI

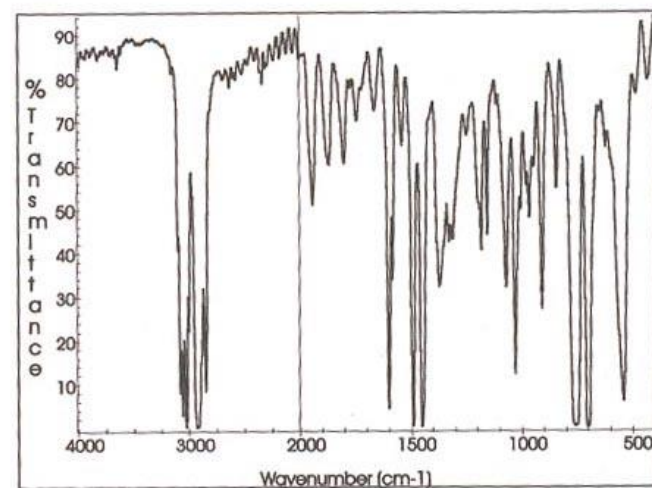
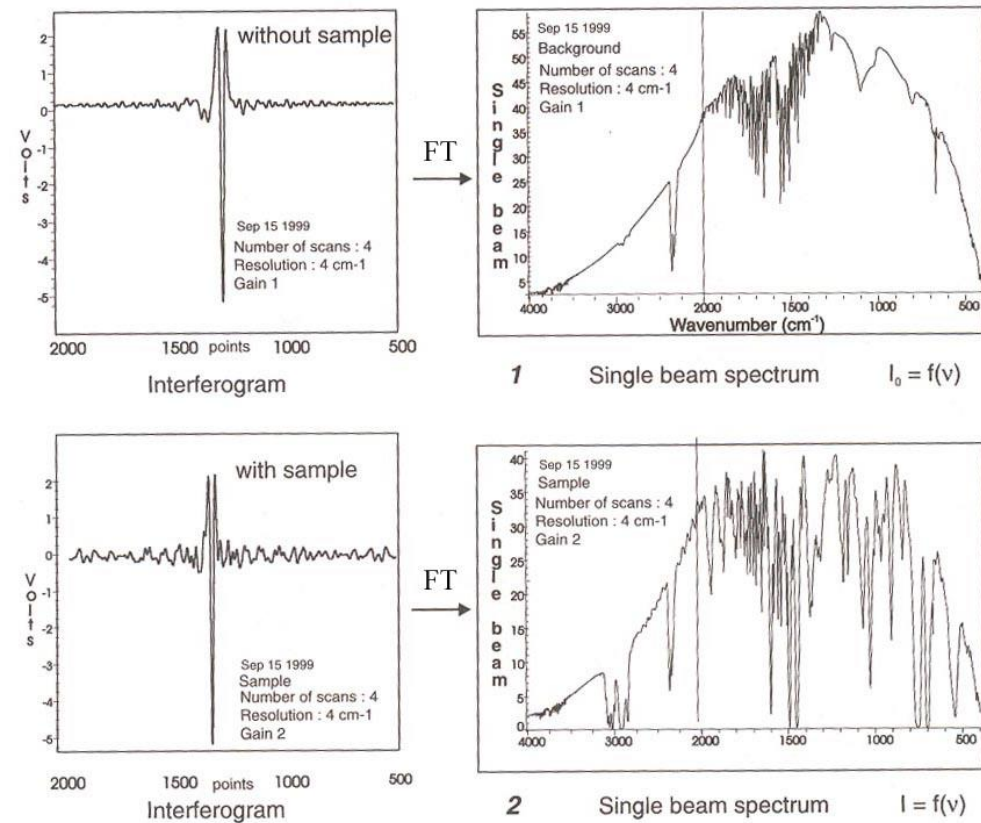


SPEKTRI



$$I = f(v)$$

- $F(x)$ se može izraziti analitički i koriste se numeričke metode da bi se odredila kosinusna Furijeova transformacija koja daje spektralnu raspodelu.
- Dovoljno brza numerička integracija moguća tek nakon 1956. godine kada je razvijen Kuli-Takijev (Cooley-Tukey) algoritam.
- Dobijeni spektar $I=f(\nu)$ ekvivalentan je onome koji bi se dobio jednozračnim spektrofotometrom.
- Znači da bi se dobio spektar uzorka neophodne su dve registracije.
- Zbog stabilnosti izvora, instrumenta, varijacija atmosfere, itd. vreme između registracije referentnog spektra i spektra uzorka treba da je što kraće.



**FTIC spektr polistirenskog filma
(rezultat oduzimanja
spektra 1 od spektra 2)**

- Moć razlaganja ovih instrumenata zavisi od puta koje pređe optičko ogledalo:

$$(R_v)_{\min} = 1/\Delta$$

$$(R_v)_{\min} = 1\text{cm}^{-1} \quad \text{za } \Delta = 2 \cdot 0,5 \text{ cm}$$

$$(R_v)_{\min} = 0,5\text{cm}^{-1} \quad \text{za } \Delta = 2 \cdot 1 \text{ cm}$$

Moć razlaganja zavisi i od dijametra otvora (d) i žižne daljine (f) fokusirajućeg sistema:

$$R_v = \nu d^2 / 8f^2$$

- Interferometri Nicolet 7199 i Bruker IFS 113V:

$$f = 24 \text{ cm}, d = 6 \text{ mm}$$

$$R_{4000\text{cm}}^{-1} = 0,3 \text{ cm}^{-1}$$

$$f = 24 \text{ cm}, d = 0,75 \text{ mm}$$

$$R_{4000\text{cm}}^{-1} = 0,01 \text{ cm}^{-1}$$

- **Felgett-ova prednost:** interferometar daje informacije o celoj spektralnoj oblasti u toku jednog snimanja, za razliku od disperzionih instrumenata koji daju informaciju o uskoj spektralnoj oblasti koja pada na razrez, pa otuda “multipliciranje” broja spektralnih elemenata

- Broj snimljenih spektralnih elemenata je: $M = \frac{\tilde{\nu}_{\max} - \tilde{\nu}_{\min}}{R_{\tilde{\nu}}}$

- Vreme za registrovanje jednog elementa kod jednokanalnog disperzionog spektrometra je: $t = \frac{T}{M} \Rightarrow M = \frac{T}{t}$

- Za interferometre $T = t'$: $M = \frac{t'}{t}$

Signal (S)

$$\frac{S'}{S} = \frac{t'}{t} \quad S' = \frac{t'}{t} \cdot S = M \cdot S$$

$$\frac{S'}{N'} = \sqrt{M} \frac{S}{N}$$

Šum (N)

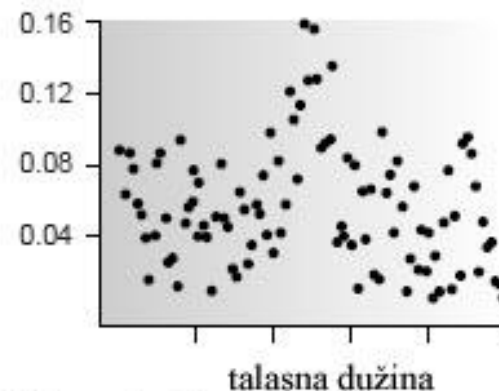
$$\frac{N'}{N} = \sqrt{\frac{t'}{t}} = \sqrt{M}$$

$$M = \frac{4000\text{cm}^{-1} - 400\text{cm}^{-1}}{1\text{cm}^{-1}} = 3600$$

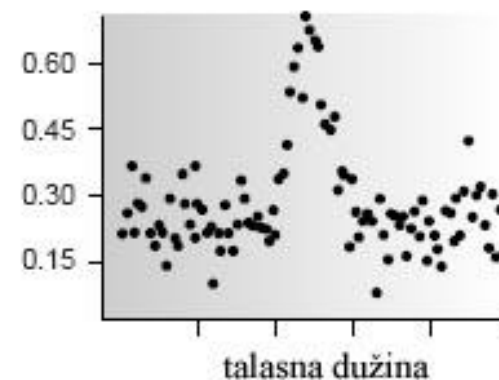
$$\frac{S'}{N'} = \sqrt{3600} \frac{S}{N} = 60 \frac{S}{N}$$

Poboljšanje odnosa
signal/šum sa većim
brojem akumulacija:

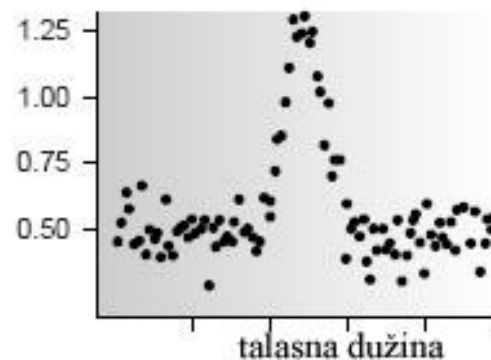
1 akumulacija



5 akumulacija



10 akumulacija



- Žakino-ova (Jacquinot) prednost ili prednost svetlosnog fluksa: FT-IC spektrofotometri nemaju klasične razreze (ulazni i izlazni) koji smanjuju svetlosni fluks, već relativno veliki kružni otvor, prečnika oko 2 mm, u blizini izvora. Na taj način energija koja dolazi do uzorka, pa samim tim i do detektora, je veća.
- Oko 300 puta više energije se može propustiti kroz interferometar na 4000 cm^{-1} , a oko 20 puta više na 400 cm^{-1} nego kroz najbolji instrument sa rešetkom.
- To smanjuje granicu detekcije ispod 1 ppb (u poređenju sa $\sim 1\%$ kod IC).
- Visoka tačnost talasnih brojeva: $0,001\text{ cm}^{-1}$

PROBLEMI GDE JE VAŽNA OSETLJIVOST, KADA SU ENERGIJE KOJE PADAJU NA DETEKTOR MALE

- Uzorci koji znatno apsorbuju ili kada ćelije znatno apsorbuju, npr. dijamantske ćelije za ispitivanja pod visokim pritiscima
- Mikro-probe
- Vodeni rastvori
- Refleksioni spektri
- Emisioni infracrveni spektri
- Biološki materijali

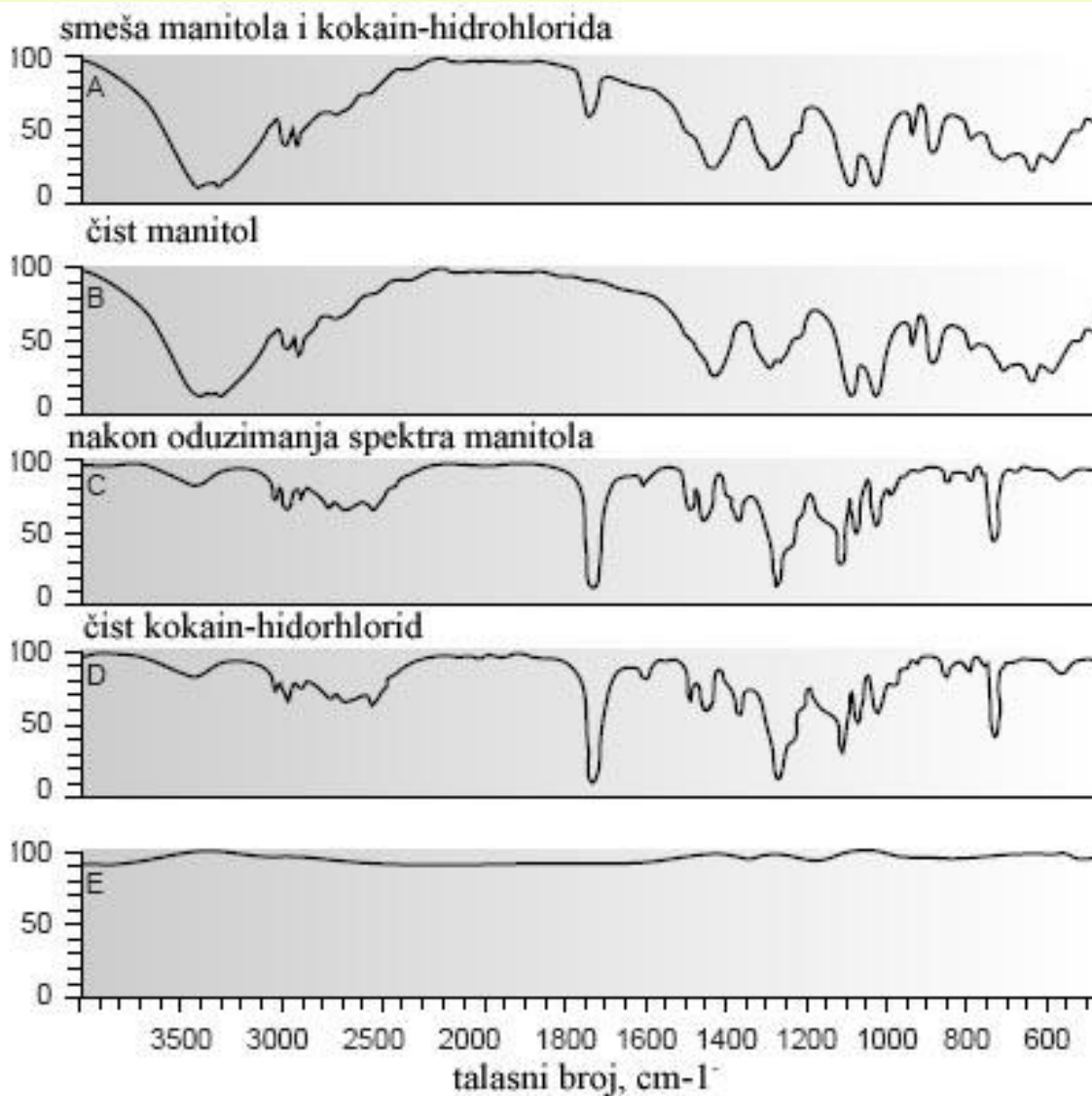
PROBLEMI KADA JE VAŽAN ODNOS SIGNAL/ŠUM

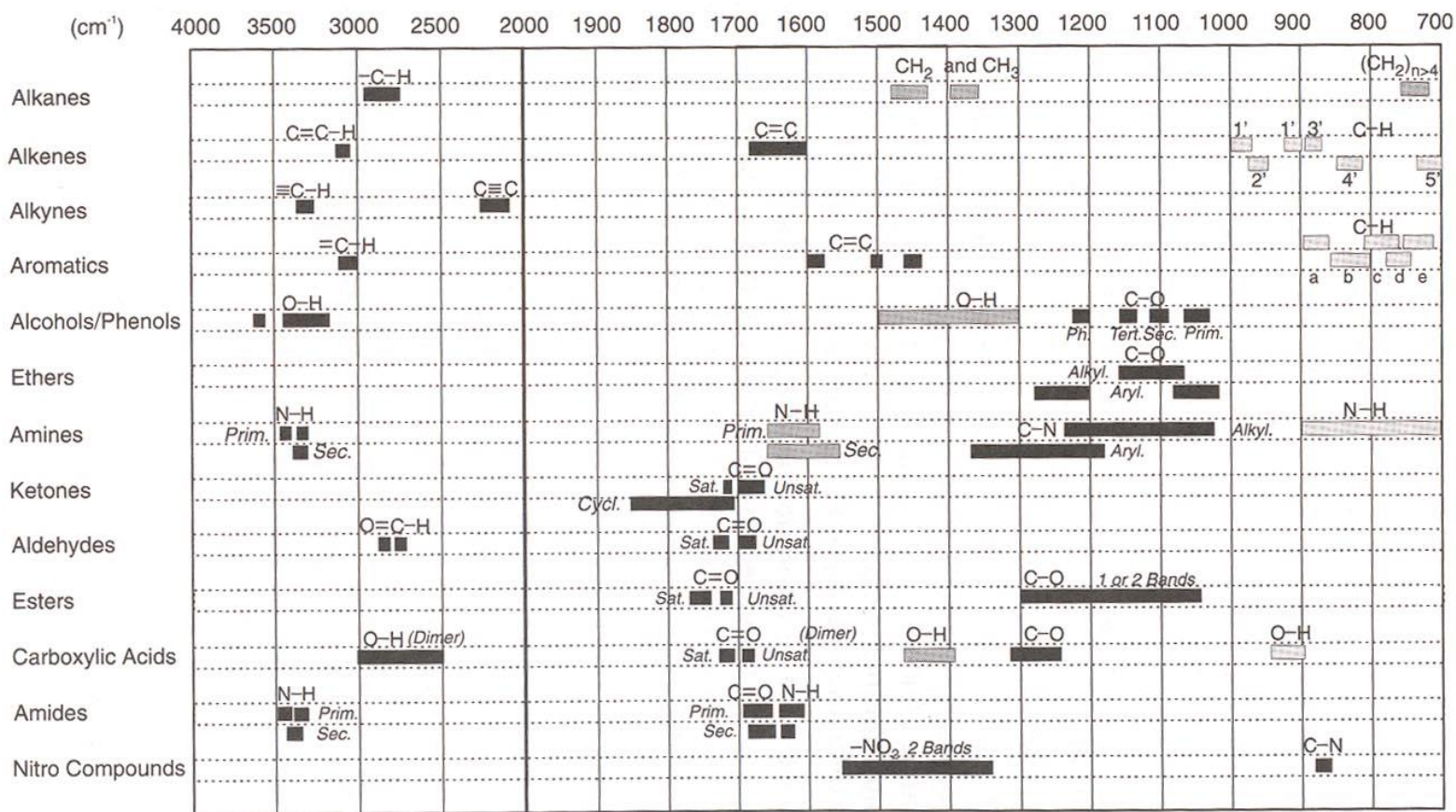
- Praćenje procesa na površinama
- Proučavanje procesa na elektrodama u toku elektrohemijskog procesa, tj. *in situ*
- Određivanje niskih koncentracija, kod oduzimanja rastvarača, odnosno rekonstrukcije sastava smeše

PROBLEMI GDE JE BRZINA SNIMANJA BITNA

- Praćenje kinetike različitih procesa, pošto je sa FT-IC spektrometrom moguće dobiti dobar IC spektar u celoj spektralnoj oblasti ili pratiti brze promene na jednoj apsorpcionoj traci
- Vezivanje spektrometra za hromatografsku liniju kada se postiže granica detekcije ispod 100 μg , ili druge instrumente npr. termoanalizator

Analiza smeša droga





■ Stretching Vibrations (ν)
 ■ Bending Vibrations (δ)
 ■ Out-of-plane Bending Vibrations (γ)

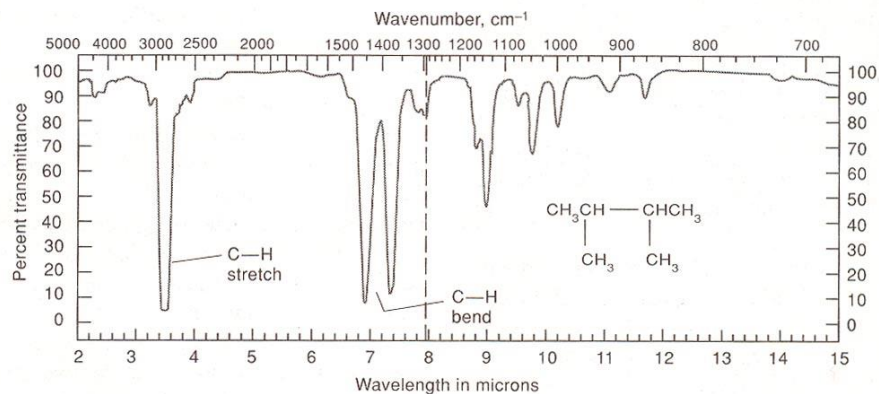
Abbreviations

Sat., Saturated
 Unsat., Unsaturated
 Prim., Primary
 Sec., Secondary
 Tert., Tertiary
 a 1H Isolated
 b 2H Adjacent
 c 3H Adjacent
 d 4H Adjacent
 e 5H Adjacent
 1' -CH=CH₂
 2' -CH=CH- (trans)
 3' -C=CH₂
 4' -C=CH-
 5' -CH=CH- (cis)

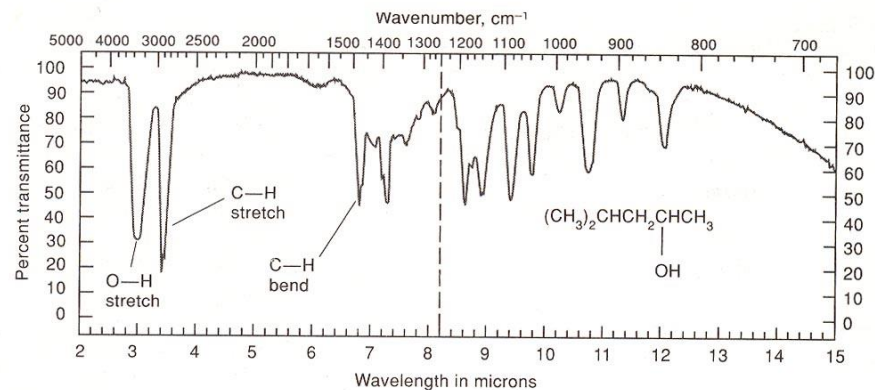
Skraćena tabela frekvencija funkcionalnih grupa organskih jedinjenja:

Veza	Tip jedinjenja	Opseg frekvencija, cm^{-1}	Intenzitet
C – H	alkani	2850-2970 1340-1470	jak
C-H	aromatični prsten	3010-3100 690-900	srednji
O-H	monomerni alkoholi, fenoli	3590-3650	promenljiv
N-H	amini, amidi	3300-3500	srednji
C=C	aromatični prsten	1500-1600	promenljiv

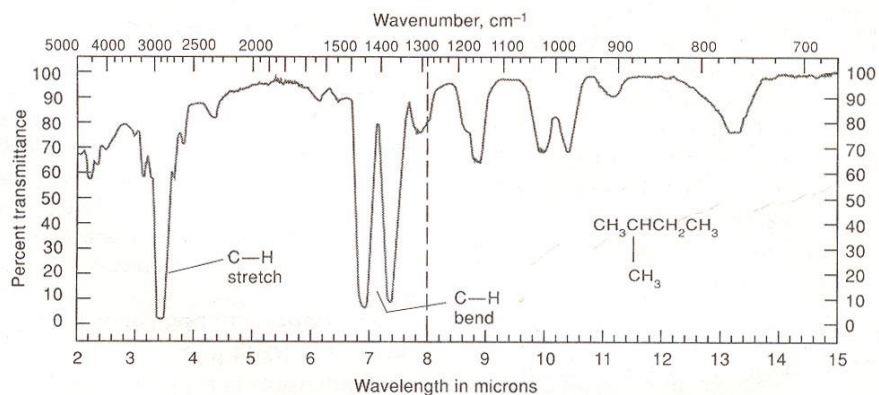
Oblast “otiska prstiju” – prednosti i ograničenja:



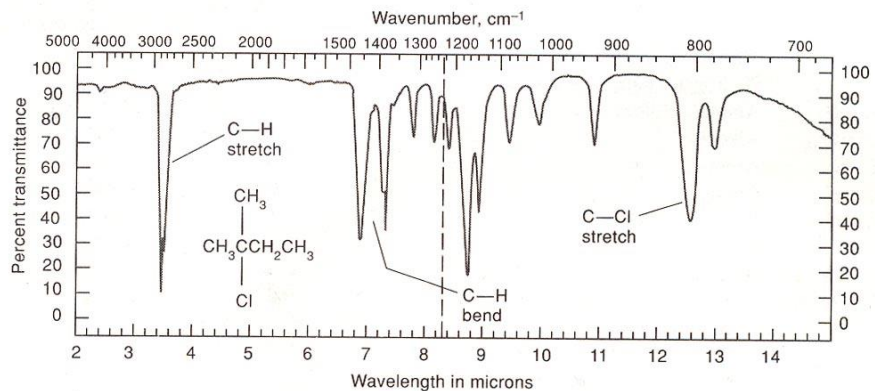
(a)



(c)



(b)

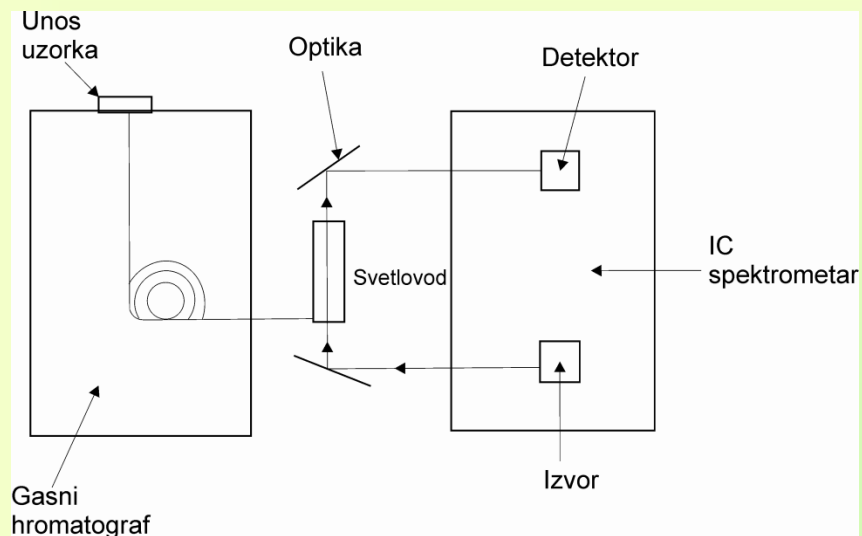


(d)

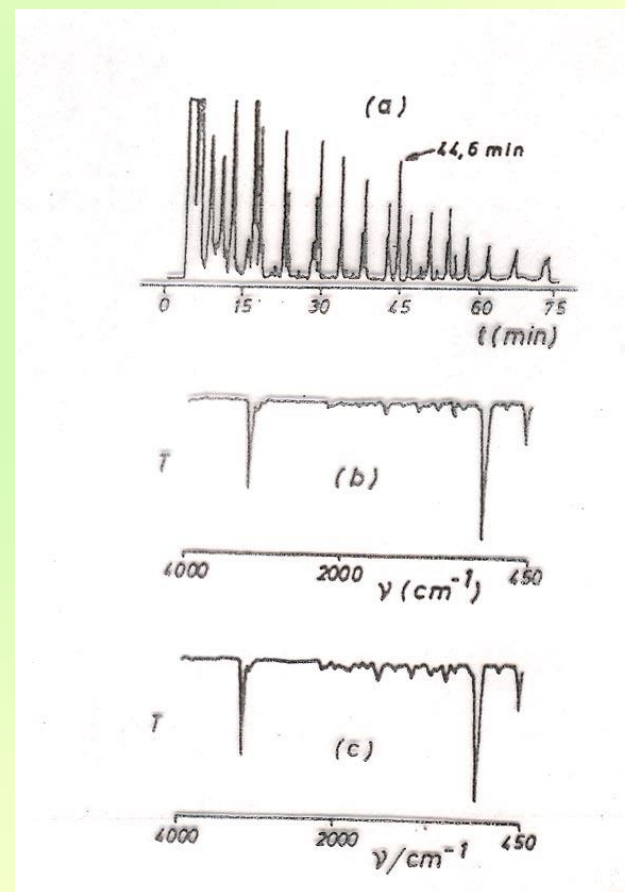
Group frequency region Fingerprint region

Group frequency region Fingerprint region

Blok shema linije GH-FT-IC spektrometar



- (a) Kriva pirolize polietilena na 1000°C;
- (b) GH-FT-IC spektar vrha (pika) od 44,6 min;
- (c) IC spektar naftalena iz biblioteke spektara

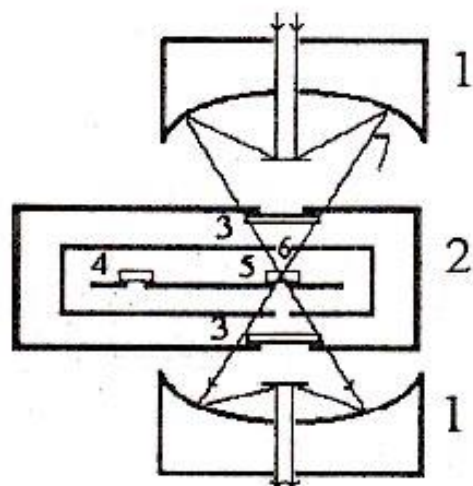


FTIC spektrometar povezan sa termovagom

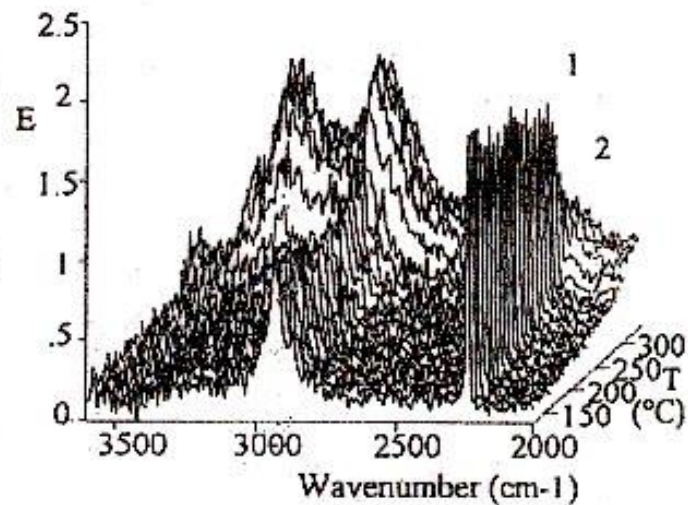


Blok shema kondenzatora zračenja i DTA-DSC ćelija u spektrometru:

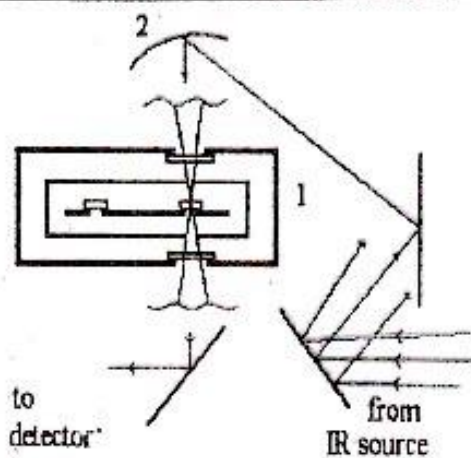
a) 1. konkavno ogledalo, 2. DTA-DSC ćelija; b) spektri poliakrilonitrila u toku uporednih merenja DTA krive 1. apsorpcija nitrila, 2. apsorpcija iminonitrila



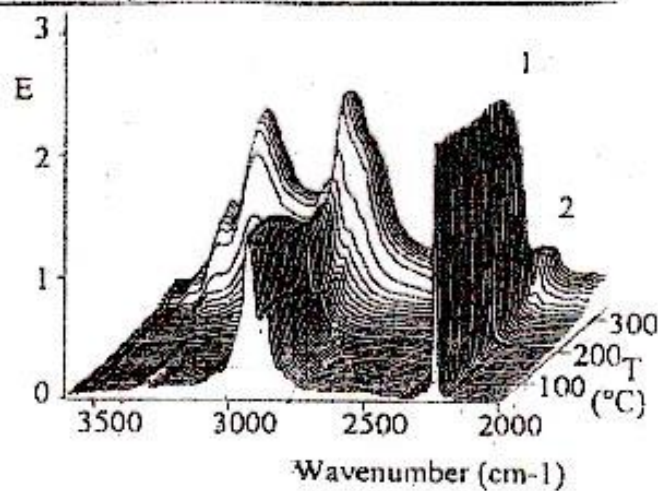
a



b

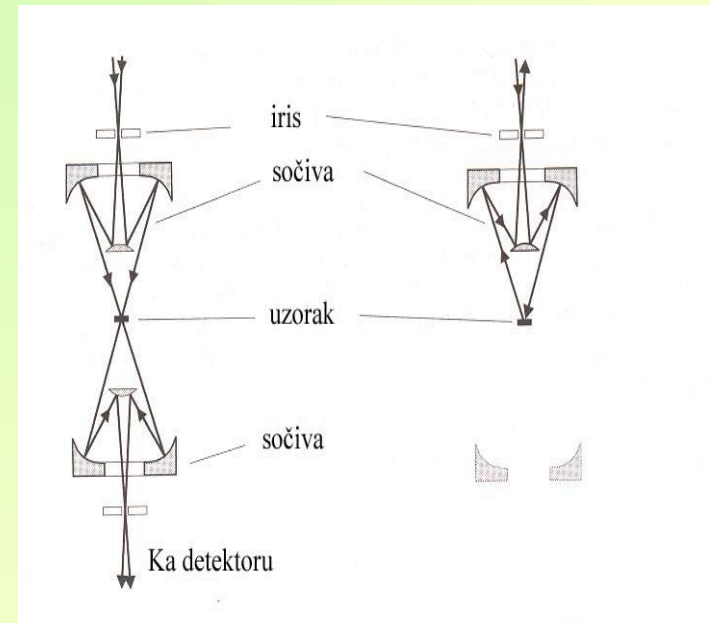


a



b

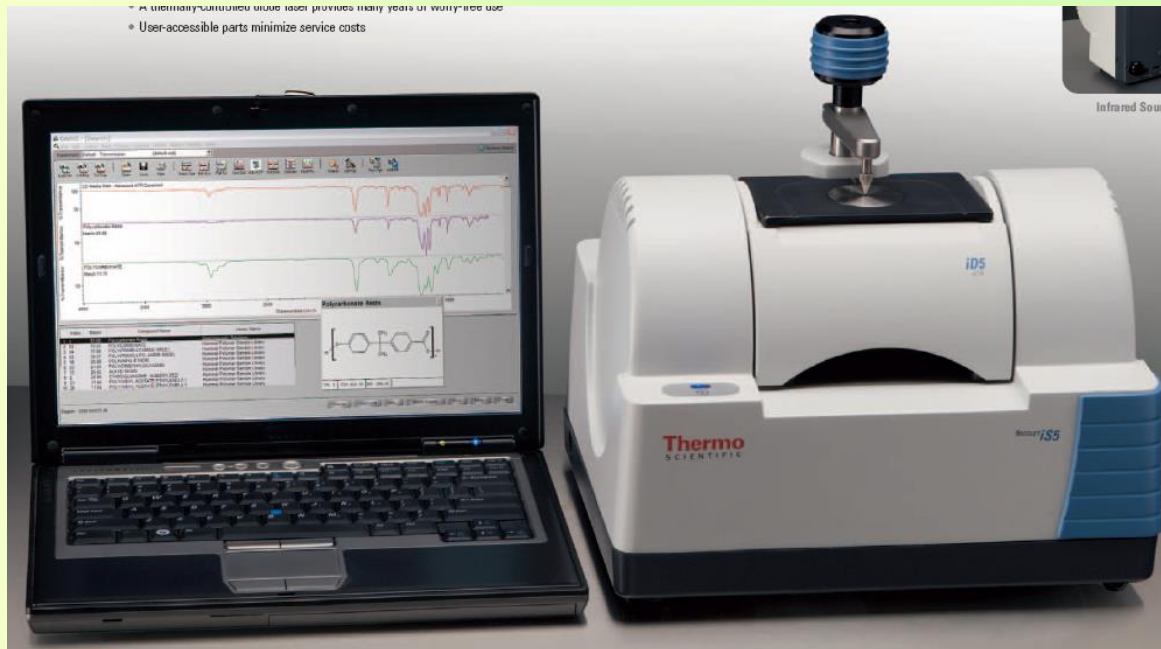
Kombinacija FT-IC spektrometra sa mikroskopom – IC oslikavanje



Perkin Elmer



Savremeni trendovi usmereni kao kompaktnim i laganim instrumentima



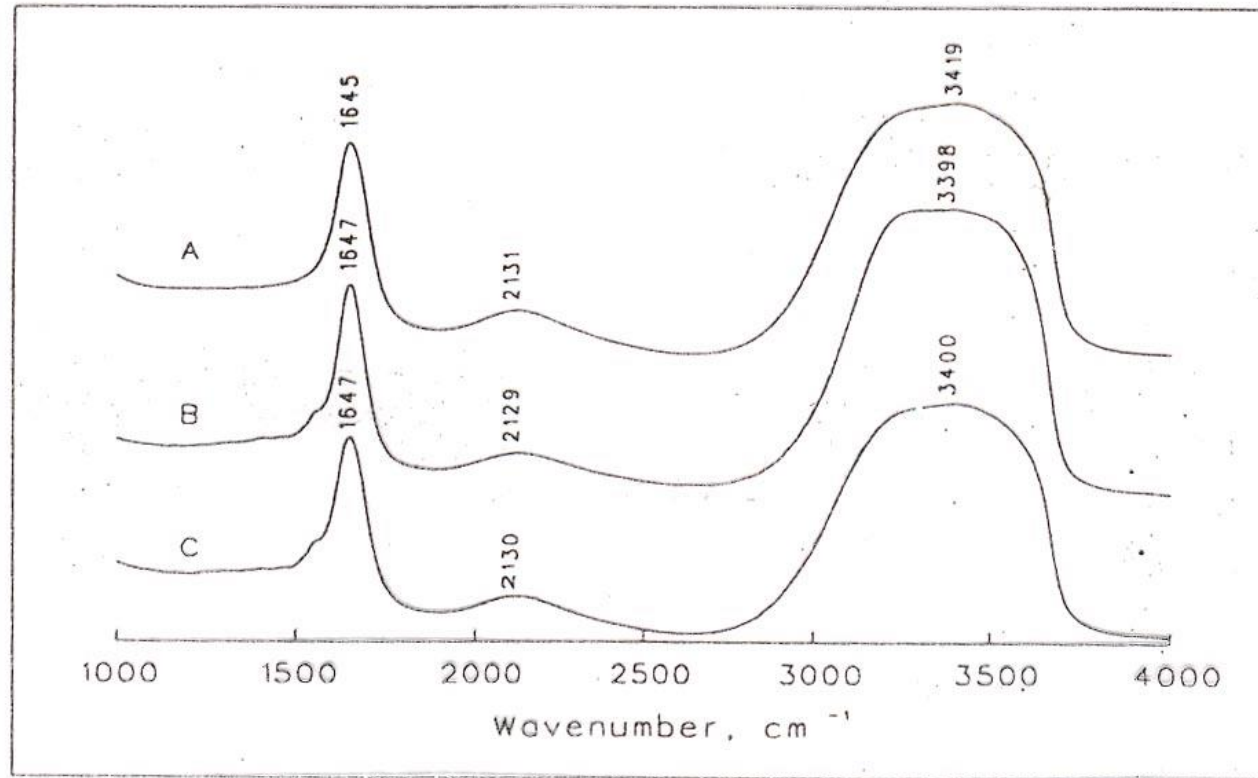
Vibraciona spektroskopija u medicini i biohemiji

Postoje tri pristupa:

1. Klinička biohemija – analiza fizioloških rastvora: krv, urin, ređe analiza zglobne tečnosti, itd.
2. Patologija tkiva različitih organa *ex vivo*
3. *In vivo* dijagnoza stanja bolesti

IC imidžing - oslikavanje

IC spektri (A) vode; (B) normalne zglobne tečnosti; (C) zglobna tečnost iz kolena sa osteoartritisom



Emisiona IC spektroskopija

- Svaki uzorak koji može da apsorbuje može i da emituje zračenje.
- Mogu se ispitivati i gasni i tečni i čvrsti uzorci, čak i na niskim temperaturama.
- Uzorak i crno telo su na istoj temperaturi i koriste se kao izvor.
- Emisioni spektri se mogu dobiti samo iz tankih slojeva tečnosti ili čvrstih uzoraka – optimalna debljina uzorka od 10^{-3} do 10^{-2} cm).
- Intenzitet emisije raste kako frekvencije opadaju - zbog zaposednutosti nivoa.
- Jake trake u apsorpciji → slabe trake u emisiji

- Svaki spektar koji nastaje u emisiji reprodukuje se u apsorpciji (prvo potvrđeno u atomskoj spektroskopiji).
- Kod molekulskih spektara važi isto pravilo: zagrejani molekuli, nastali recimo u plamenu, daju emisijski i apsorpcijski spektar veoma sličan apsorpcionom spektru iste komponente.
- Za kondenzovane sisteme, tečnosti i čvrsta tela, važno je mišljenje da do diskretnih emisijskih spektara ne može doći jer će se toplotom ekscitovani molekuli pre relaksirati translatornim kretanjem nego što će doći do emisije zračenja koje bi odgovaralo molekulskim prelazima.
- Međutim, dobijeni su spektri već na desetak stepeni iznad sobne temperature.
- Za analizu:
 - gasnih komponentata i temperatura vazдушnih polutanata iz dimova, toplih gasova iz motora za sagorevanje (mlaznih motora)
 - rastopa na relativno visokim temperaturama
 - faznih prelaza na visokim temperaturama i reakcija u čvrstom stanju
 - kod ispitivanja bioloških sistema.