

IR-SPEKTROSKOPIJA ZA POVRŠINE IN TRDNE SNOVI: ATR-IR IN BLIŽNJA-IR ODBOJNA SPEKTROSKOPIJA

¹Selena Bošnjak, ²Matjaž Finšgar

STROKOVNI ČLANEK

¹Zavod za gradbeništvo Slovenije, Dimičeva ulica 12, 1000 Ljubljana

²Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Smetanova ulica 17, 2000 Maribor

POVZETEK

Pogosto imamo opravka z vzorci, ki niso tekoči oz. niso vodna raztopina, zato moramo uporabiti tudi tehnike, primerne vzorcem v drugačnem agregatnem stanju. V tem delu je predstavljena tehnika infrardeče spektroskopije na oslavljen totalni odboj (angl. *attenuated total reflectance*, ATR) in njena uporaba. Spada v srednje področje infrardeče odbojne spektroskopije in je primerna za delo z vzorci, kot so trdne snovi omejene topnosti, in ima zato širok spekter uporabe. Druga primerna tehnika za analizo trdnih vzorcev je bližnja-IR (NIR) odbojna spektroskopija, ki je med najpomembnejšimi orodji za rutinsko kvantitativno določanje komponent v fino mletih trdnih snoveh. Območje spektra se začne pri približno 770 nm in sega vse do 2500 nm. NIR spektralni pasovi so navadno široki in se pogosto prekrivajo, zato le-ti ne omogočajo enostavne povezave s koncentracijo analita. Namesto tega se uporabljajo multivariantne tehnike kalibracije. Velika prednost NIR odbojne metode je hitrost in enostavnost priprave vzorca. Po razvoju metode je analiza trdnih vzorcev za več vrst lahko končana v nekaj minutah.

Ključne besede: trdne snovi, površine, ATR-spektroskopija, bližnja-IR odbojna spektroskopija

IR spectroscopy for surfaces and solids: ATR-IR and NEAR-IR reflectance spectroscopy

ABSTRACT

Often we are dealing with samples that are not aqueous solutions, so we have to use different techniques suitable for a different physical state. Attenuated total reflectance (ATR) spectroscopic technique belongs to the field of medium-infrared reflectance spectroscopy, which is suitable for working with samples such as solids with limited solubility, films, threads, pastes, adhesives, and powders. It has a wide range of applications. Another suitable technique for solid sample analysis is near-infrared (NIR) reflectance spectroscopy, which is one of the most important tools for the routine determination of the components of finely ground solids. The wavelength range of the spectrum is between 770 nm and 2500 nm. NIR spectral bands are usually broad and often overlap, and therefore they do not allow easy correlation with the analyte concentration. Therefore we have to use multivariate calibration technique. The great advantage of the NIR reflectance methods is the speed and simplicity of the sample preparation. After the development of the method, the analysis of solid samples of several types may be completed in a few minutes.

Keywords: solids, surfaces, ATR spectroscopy, near-IR reflectance spectroscopy

1 UVOD

Infrardeče sevanje je pojem, ki označuje elektromagnetno valovanje z valovnimi dolžinami, daljšimi od valovnih dolžin vidne svetlobe. Okoli 500 nm je valovna dolžina, za katero je človeško oko najbolj občutljivo, tj. zelena svetloba. Z večanjem valovne dolžine se odziv manjša do približno 750 nm, ko sevanja s prostim očesom ne zaznamo več. Ta meja je opredeljena kot spodnji rob infrardečega spektra.

IR-spekter lahko razdelimo na več podpodročij, in sicer bližnje IR-področje (NIR, področje 0,75–1,4 μm), kratkovalovno IR-področje (angl. *short wave infrared*, SWIR, področje 1,4–3,0 μm), srednje IR-področje (MidIR, področje 3–8 μm), dolgovalovno IR-področje (angl. *long wavelength infrared*, LWIR, 8–15 μm) in daljno IR-področje (angl. *far infrared*, FIR, področje 15–1000 μm) [1].

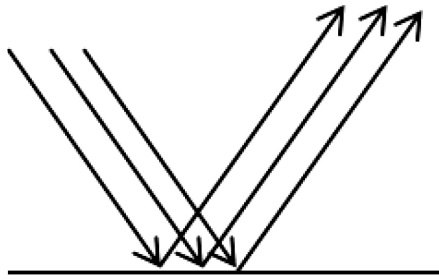
Poznamo dve vrsti tehnik snemanja IR-spektrov. Prve so prepustne tehnike, ki temeljijo na absorpciji IR-sevanja, kjer žarek prehaja skozi vzorec in se pri tem lahko absorbira. Druge vrste tehnik pa so odbojne, ki temeljijo na odboju IR-sevanja, pri čemer se lahko en del sevanja absorbira. Odbojna infrardeča spektroskopija je primerna metoda za številne aplikacije, zlasti za delo s trdnimi vzorci, ki jih je težko analizirati, na primer polimerne tanke plasti in vlakna, živila, gume in kmetijski proizvodi [2–4]. Čeprav odbojni spektri srednjega infrardečega območja niso enaki ustreznim absorpcijskim spektrom, imajo podobnosti v splošnem videzu in posredujejo enake informacije kot absorpcijski spektri. Spektri odbojne IR-spektroskopije se uporabljajo tako za kvalitativno kot tudi za kvantitativno analizo.

Večina proizvajalcev instrumentov ponujajo vmesnike, ki se prilegajo celicam absorpcijskih IR-instrumentov in omogočajo takojšnjo pridobitev odbojnega spektra [5]. Primer odbojne infrardeče spektroskopske tehnike je tehnika oslavljenega totalnega odboja (angl. *attenuated total reflectance*, ATR). Poleg odbojnih tehnik srednjega infrardečega območja pa poznamo tudi odbojne tehnike v bližnjem infrardečem območju. V to spada bližnja-IR odbojna spektroskopija. Splošno je najpomembnejša uporaba NIR-spektroskopije za rutinsko kvantitativno analizo vzorcev, kot so voda, proteini, ogljikovodiki z nizko molekularno maso in maščobe iz proizvodov kmetijstva, hrane, nafte in kemične industrije.

V tem delu sta predstavljeni tehnika ATR-IR in odbojna tehnika NIR (angl. (angl. *near-IR reflectance spectroscopy*)), ki omogočata analizo trdnih snovi.

2 VRSTE ODBOJA

V IR-spektroskopiji uporabljamo štiri vrste odboja svetlobe: zrcalni odboj (angl. *specular reflectance*), difuzni odboj (angl. *diffuse reflection*), notranji odboj



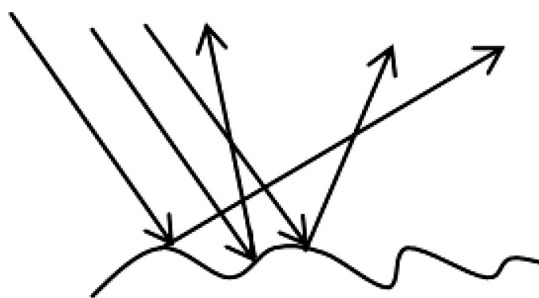
Slika 1: Zrcalni odboj

(angl. *internal reflection*) in oslabljeni totalni odboj (angl. *attenuated total reflectance*, ATR).

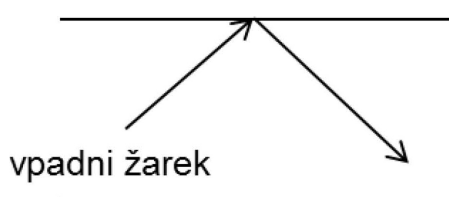
Zrcalni odboj se pojavi, ko je odbojni medij gladka polirana površina – prikazano na **sliki 1**. Tukaj je kót odboja enak vpadnemu kotu svetlobe. Če je površina sestavljena iz IR-absorberja, je relativna intenziteta odboja manjša pri valovnih dolžinah, ki se absorbirajo, kot pa pri tistih, ki se ne absorbirajo. Spektri zrcalnega odboja so uporabni za pregled in karakterizacijo gladkih površin trdnih snovi in trdnih snovi s prevlekami, vendar niso tako pogosto uporabljeni kot spektri difuznega odboja ali ATR [5].

Difuzni odboj se pojavi, ko površina ni popolnoma gladka, tako da se vpadni žarki odbijajo v različne smeri – prikazano na **sliki 2**. Difuzni odboj je zelo primeren za spektre kristaliničnih materialov ali materialov v prahu v srednjem ali bližnjem IR-območju.

Notranji odboj je tisti, pri katerem žarek zadane medij pod večjim kotom, kot je neki kritični kót, ki je normalen za površino. Z večanjem kota vpadnega žarka, se večja delež odbitega žarka do kota, ki se imenuje kritični kót, kjer žarek ne more prehajati in je popolnoma odbit. Kritični kót je tisti, nad katerim se



Slika 2: Difuzni odboj



Slika 3: Notranji odboj

zgodí popoln notranji odboj žarka. Notranji odboj je prikazan na **sliki 3** [5].

3 ATR-SPEKTROSKOPIJA

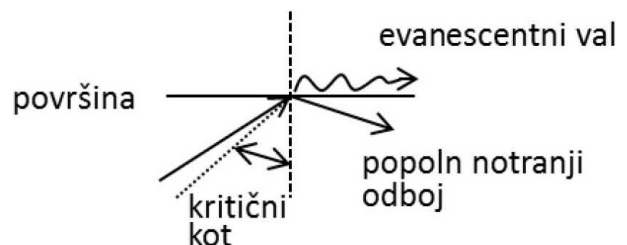
Tehnika ATR je prikladna za pridobitev IR-spektrov zahtevnih vzorcev, kot so trdne snovi omejene topnosti, tanke plasti, niti, paste, lepila in praški [2–5].

3.1 Princip delovanja tehnike ATR

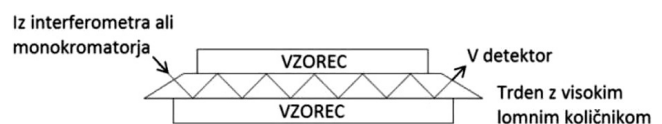
Ko žarek svetlobe preide iz optično gostejšega medija (kristal) v optično redkejši medij (vzorec), nastane odboj. Pri vpadnih kotih, večjih od kritičnega kota, nastane celo popoln odboj. Dokazano je, tako teoretično kot tudi eksperimentalno, da preden se žarek odbije, prodre za del valovne dolžine globoko v vzorec, ki selektivno absorbira IR-sevanje. Globina penetracije žarka je odvisna od valovne dolžine, lomnega količnika dveh materialov in kota žarka glede na podlago. Del žarka, ki prodre, imenujemo evanescentni val, ki je prikazan na **sliki 4**. Pri valovnih dolžinah, kjer redkejši medij absorbira evanescentno svetlobo, se pojavi oslabljenje žarka, kar poznamo kot oslabljeni totalni odboj ali ATR. Nastali ATR-spekter je podoben navadnemu absorpcijskemu IR-spektru z nekaterimi razlikami [5].

3.2 Instrument

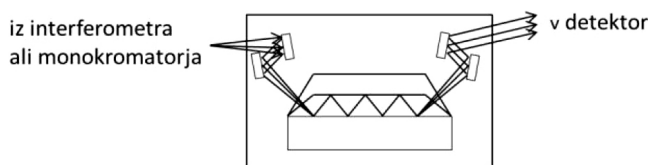
Slika 5 prikazuje napravo za meritev ATR. Kot je razvidno s slike, se vzorec (v tem primeru trden) namesti na nasprotni strani prozornega kristalnega materiala z visokim lomnim količnikom, za kar se uporabljajo kristali KRS-5 (talijev bromojodid), AgCl, germanij, silicij in diamant. Z ustrezno prilagoditvijo vpadnega kota se svetloba večkrat odbije (v tem primeru) pred prehodom iz kristala na detektor. Absorpcija in atenuacija (oslabljenje) potekata pri vsakem od teh odbojev svetlobe. Pri ATR-tehniki je



Slika 4: Shematski prikaz ATR-odboja



Slika 5: Naprava za meritev ATR [5]



Slika 6: Optični diagram adapterja [5]

pomembno, da se svetloba od vzorca odbije vsaj enkrat. Število odbojev se lahko regulira s kotom vpadne svetlobe.

Slika 6 prikazuje optični diagram adapterja, ki ustreza celicam večine IR-spektrofotometrov in omogoča meritve ATR. Na voljo pa so tudi celice za tekoče vzorce.

3.3 ATR-spektri

ATR-spektri so podobni, vendar ne enaki, kot navadni absorpcijski IR-spektri. Na splošno se relativna intenziteta za enak material razlikuje, čeprav je opaziti enaka področja vrhov.

Pri ATR-spektru je absorbanca, čeprav je odvisna od vpadnega kota, neodvisna od debeline vzorca, saj svetloba prehaja le nekaj mikrometrov ali manj v vzorec. Učinkovita globina penetracije d_p je odvisna od valovne dolžine žarka, lomnega količnika kristala in vzorca ter od kota žarka. Globino penetracije lahko izračunamo po naslednji enačbi:

$$d_p = \frac{\lambda_{\text{kristal}}}{2\pi \sqrt{\sin^2 \theta - \left(\frac{\eta_{\text{vzorec}}}{\eta_{\text{kristal}}}\right)^2}}$$

V enačbi λ_{kristal} označuje valovno dolžino v kristalu $\lambda/\eta_{\text{kristal}}$, θ vpadni kot ter η_{vzorec} in η_{kristal} lomni količnik kristala in vzorca.

Pozorni moramo biti, da se dejanska globina penetracije lahko spremeni s spremembo uporabljenega kristala, vpadnega kota ali obojega hkrati. Mogoče je tudi, da s tehniko ATR-spektroskopije pridobimo globinski profil površine. V praksi lahko z multireflekcijskim kristalom pod kotom 45° analiziramo večino rutinskih vzorcev [5].

Med glavnimi prednostmi ATR-spektroskopije je ta, da zlahka izmerimo absorpcijske spektre na različnih tipih vzorcev z minimalno predpripravo. Niti, preje, tkanine in vlakna se lahko raziščejo s pritiskom vzorca na gost kristal. Enako je mogoče ravnati s pastami, praški in suspenzijami. ATR-spektroskopijo lahko uporabimo za številne snovi, kot so tudi polimeri, gume in druge trdne snovi.

Spektri, izmerjeni z metodo ATR, se lahko razlikujejo od absorpcijskih IR-spektrov zaradi izkriv-

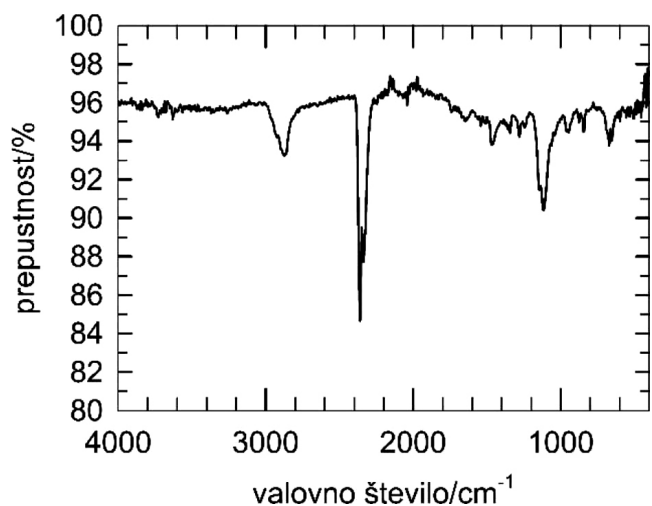
ljanja, ki se pojavlja ob močnih absorpcijskih območjih, kjer se lomni količnik v vzorcu hitro spreminja. Prav tako lahko tudi orientacija vzorca glede na ATR-kristal vpliva na obliko pasov v spektru in intenziteto oz. višino vrha. Navadno je intenziteta oz. višina vrha v ATR proporcionalna koncentraciji, tako da se lahko pridobijo kvantitativne informacije analita [5].

3.4 Primeri uporabe ATR-FTIR

Tehnika ATR-FTIR (FTIR – angl. *Fourier transform infrared spectroscopy*) je zelo primerna za analizo površin vzorcev, katerih predpriprava ni potrebna, in analizo kompleksnih trdnih snovi. Je nedestruktivna metoda in se izkaže za uporabno tudi pri vzorcih, ki premočno absorbirajo ali pa so predebeli za analizo s prepustno IR-tehniko.

Na primer, Ivanovski s sod. [6] je preiskoval več vzorcev ploščatega natrij-kalcijevega silikatnega stekla s tehniko FTIR-ATR. Raziskovalci so opravili raziskave in dobili spektre zrcalnega odboja, rezultate analize disperzije in odbojne spektre. Vsi ti dobljeni rezultati so kazali na izotropnost vzorcev. Po drugi strani pa je spekter, pridobljen s tehniko FTIR-ATR, kazal na anizotropno strukturo na površini vzorca, kar priča o pomembnosti ATR-spektrov.

Kamatchia s sod. [7] je ATR-FTIR spektroskopijo uporabil za analizo človeškega lasu. Namesto analiziranja krvi za ugotavljanje diabetesa so uporabili las, ki so ga analizirali s FTIR-ATR-tehniko. Najpomembnejše sestavine las so vlaknaste beljakovine (keratini), melanin, glikogen in maščobe. Lasni mešički se nahajajo 3–4 mm pod površino kože in so obdani z bogatim sistemom krvnih kapilar. V tej študiji so raziskovalci ocenili učinkovitost metformin-hidroklorida za zdravljenje diabetesa z uporabo FTIR-ATR spektroskopije tako, da so bolnikom odvzeli vzorec las



Slika 7: ATR-FTIR-spekter toliiltriazola na Cu

pred zdravljenjem z zdravilom metforminom in po njem. Spektri vzorcev las bolnikov z diabetesom so bili izmerjeni v srednjem IR-območju, 2,5–22 μm oz. od 4000–450 cm^{-1} . Ugotovili so, da se vrednosti absorpcije nekaterih biomolekul, kot so proteini, maščobe in glukoza, razlikujejo pred zdravljenjem in po njem [7].

Kot zadnji primer je na **sliki 7** prikazan ATR-FTIR spekter čistega bakra, ki je bil potopljen v raztopino 1 mM toliltriazola in 3 % NaCl (izmerjen v Laboratoriju za analizo kemijo in industrijsko analizo, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Mariboru). Ta komponenta se je adsorbirala na površino bakra.

4 NIR ODOBJNA SPEKTROSKOPIJA

NIR območje spektra se začne pri zgornjem koncu valovnih dolžin vidnega območja pri približno 770 nm in sega vse do 2500 nm (od valovnih števil 13.000 cm^{-1} do 4000 cm^{-1}) [8]. Absorpcijski trakovi v tem območju so višji harmonični toni (angl. *overtone*s) ali kombinacije temeljnih razteznih vibracij, ki se pojavljajo v območju od 3000 cm^{-1} do 1700 cm^{-1} . Vezi, ki so navadno analizirane, so C–H, N–H in O–H. Ker so v območjih višji harmonični toni ali kombinacije, so njihove molarne absorptivnosti nizke in meje zaznavnosti okoli 0,1 %.

Najpomembnejša uporaba NIR-svetlobe v spektroskopiji je rutinska kvantitativna analiza vzorcev. Spodaj je predstavljena bližnja-IR odbojna spektroskopska tehnika (angl. *near-IR reflectance spectroscopy*), ki je primerna za analizo trdnih snovi [6].

NIR odbojna spektroskopija je postala med najpomembnejšimi orodji za rutinsko kvantitativno določanje komponent v fino mletih trdnih snoveh. Najbolj razširjena uporaba te tehnike je za določanje proteinov, vlage, škroba, olja, lipidov in celuloze v kmetijskih pridelkih, kot so žita in oljna semena. Na primer, leta 1984 je bilo ocenjeno, da je 80–90 % vsega kanadskega žita analiziranega z NIR odbojno spektroskopijo. V primeru uporabe katere druge analitne tehnike, bi bili stroški mnogo višji [9].

V NIR odbojni spektroskopiji se fino zmlet trden vzorec obseva z enim ali več ozkimi trakovi svetlobe v območju valovnih dolžin od 1 μm do 2,5 μm ali valovnih števil od 10.000 cm^{-1} do 4000 cm^{-1} . Nastane difuzni odboj, pri čemer svetloba penetrira v površinsko plast delcev in vzbuja vibracije molekule analita, kar povzroči razpršitev žarka v vse smeri. Tako pridobimo spekter odbojnosti, ki je odvisen od sestave vzorca [5]. V nekatere instrumente vgrajujejo tudi interferenčne filtre, ki zagotavljajo ozke trakove svetlobe. Drugi so opremljeni z monokromatorji na

uklonsko mrežico. Navadno se meritve odbojnosti merijo pri dveh ali več valovnih dolžinah za analit.

Velika prednost NIR odbojne metode je hitrost in enostavnost priprave vzorca. Po razvoju metode je analiza trdnih vzorcev za več vrst lahko končana v nekaj minutah. Slabosti NIR odbojne metode pa so nerobustnost in kompleksnost postavitve modela [10].

4.1 Obdelava podatkov v NIR-spektroskopiji

NIR spektralni trakovi so navadno široki in se pogosto prekrivajo. Le redko obstajajo čisti spektralni trakovi, ki omogočajo enostavno korelacijo s koncentracijo analita. Namesto tega se uporabljajo multivariatne tehnike kalibracije [11, 12]. Najpogosteje se uporabljajo metoda najmanjših kvadratov, regresija glavnih osi (PCR) in umetne nevronske mreže. Takšna kalibracija vključuje razvoj kalibracijskega modela s pridobitvijo rezultatov o »nizu usposabljanja«, ki vključuje čim več mogočih pogojev, ki vplivajo na vzorce [13, 14].

Proizvajalci NIR-instrumentov vključujejo programske pakete za razvoj kalibracije modelov. Poleg tega je tudi na voljo programska oprema za multivariatne kalibracije.

4.2 Primer uporabe NIR odbojne spektroskopije

NIR odbojna spektroskopija je nedestruktivna in hitra tehnika, ki se uporablja predvsem na področju analize kvalitete živil.

Na primer raziskovalci so razvili posebno kalibracijo z NIR odbojno spektroskopijo. Posneli so spektre fekalij za oceno ravni koncentrata dopolnil na osnovi žit, ki so jih dajali kravam molznicam med laktacijo na planinskih pašnikih v poletnih mesecih. Vzorce fekalij so uporabili kot analitne matrice, saj je odvzem enostaven in ne invaziven do živali. Skupno 153 posameznih fekalnih vzorcev so zbrali na 28 planinskih kmetijah, ki so v italijanskih gorah. Ugotovljena je bila povprečna količina koncentrata, zagotovljenega kravam v obdobju laktacije na vsaki kmetiji in primerjana z zakonsko določeno. Na posušenem in zmletem blatu krav so naredili kemijsko analizo in blato izmerili z NIR odbojno spektroskopijo v območju med 1 μm in 2,5 μm . To kalibracijo so predlagali kot hitro in rutinsko orodje za oceno ravni koncentrata dopolnil na osnovi žita [15].

NIR odbojno spektroskopijo so med drugim uporabili tudi za merjenje in merilni nadzor kvalitete prehranske rastline pelin. Ugotovili so, da NIR odbojna spektroskopija daje hitro in neinvazivno orodje za določanje kvalitete prehranskega pelina [16].

5 SKLEP

Tako tehnika ATR kot tudi NIR odbojna spektroskopija sta uporabni za analizo površin in trdnih snovi. Obe tehniki imata prednost enostavne priprave vzorcev. Pri ATR je navadno intenziteta sorazmerna koncentraciji in s tem pridobimo kvantitativne informacije o vzorcu, medtem ko pri uporabi NIR svetlobe dobimo široke in prekrivajoče spektralne trake, ki ne omogočajo enostavne korelacije s koncentracijo analita, ampak moramo uporabiti multivariatne tehnike kalibracije.

6 LITERATURA

- [1] J. Byrnes, *Unexploded Ordnance Detection and Mitigation*. NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics, Springer Netherlands, 2009
- [2] F. M. Mirabella, *Modern Techniques in Applied Molecular Spectroscopy*, New York, Wiley, 1998
- [3] G. Kortum, *Reflectance Spectroscopy*, New York, Springer, 1969
- [4] N. J. Harrick, *Internal Reflection Spectroscopy*, New York: Wiley, 1967
- [5] D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, 6. izdaja, Belmont, Thomson, 2007
- [6] V. Ivanovski, T. G. Mayerhofer, A. Kriltz, J. Popp, *Spectrochim. Acta A*, 173 (2017), 608–617
- [7] S. Kamatchia, S. Gunasekaranb, E. Sailathaa, R. M. Pavithra, *J. Pharmaceut. Biomed.*, 136 (2017), 10–13
- [8] D. A. Burns, E. W. Ciurczak, *Handbook of Near-Infrared Analysis*, 2. izdaja, New York, Marcel Dekker, 2001
- [9] S. A. Borman, *Anal. Chem.*, 56 (1984), 933A–934A
- [10] A. Ferlan, *Vrednotenje vpliva izbranih procesnih parametrov na sproščanje modelne učinkovine iz hidrofilnih ogrodnih tablet*, magistrsko delo, Univerza v Ljubljani, 2008
- [11] K. R. Beebe, R. J. Pell, M. B. Seasholtz, *Chemometrics: A practical Guide*, 5. poglavje, New York, Wiley, 1998
- [12] T. Naes, *Multivariate Calibration*, New York, Wiley, 1989
- [13] M. A. Arnold, J. J. Burmeister, G. W. Small, *Anal. Chem.*, 70 (1998), 1773–1781
- [14] L. Zhang, G. W. Small, M.–A. Arnold, *Anal. Chem.*, 75 (2003), 5905–5915
- [15] M. Ottavian, E. Franceschin, E. Signorin, S. Segato, P. Berzaghi, B. Contiero, G. Cozzi, *Anim. Feed Sci. Tech.*, 202 (2015), 100–105
- [16] P. J. Olsoy, T. C. Griggs, A. C. Ulappa, K. Gehlken, L. A. Shipley, G. E. Shewmaker, J. Sorensen Forbey, *J. Arid Environ.*, 134 (2016), 125–131