

Glykolihamon vesikompleksien  
tutkiminen  
matriisi-isolaatiospektroskopian avulla

LuK-tutkielma  
Jyväskylän Yliopisto  
Kemian Laitos  
30.05.2018  
Johannes Parikka



## Tiivistelmä

Koko kandidaattityö koostui tutkielmasta sekä projektityöstä (kappale 6). Tutkielma käsittelee glykolihappoa ja sen vesikomplekseja sekä niiden mittaamista spektroskopian avulla. Lisäksi tutkielmassa käsiteltiin Raman- ja Infrapuna- eli IR-spektroskopioiden sekä matriisi-isolaation perusteet. Glykolihapon ominaisuudet tutkittavana molekyylinä sekä sen vesikompleksien laskennallinen data on myös esitelty.

Projektin tavoitteena oli tutustua sekä Raman- että IR-spektroskopiaan, luoda menetelmä tuoda vettä kidevedellisestä yhdisteestä matriisi-isoloituun näytteeseen sekä mitata glykolihapon vesikompleksi. Projekti koostui mittaustapahtuman optimoinnista, näytteen valmistamisesta ja sen analysoinnista käyttäen spektroskopisia menetelmiä.

Projektin lopuksi menetelmä saatiin optimoitua toimivaksi käyttäen kalsiumsulfaattia ja sen avulla vesikompleksia saatiin muodostettua kokeellisesti ensimmäistä kertaa. Tämä voitiin todeta spektriin muodostuneina, uusina piikkeinä. Menetelmää lisätä näytteeseen vettä voidaan mahdollisesti hyödyntää myös muissa matriisi-isolaatiokokeissa.

## Esipuhe

Tutkielma on kirjoitettu kevään 2018 aikana ja projekti suoritettu Jyväskylän Yliopiston Nanotiedekeskuksen laserlaboratoriossa 2018 maalis-huhtikuun aikana. Lähde-  
materiaalina käytin ohjaajaltani Jussi Ahokkaalta saamia artikkeleita sekä hakuteok-  
sia. Lisämateriaalia hain pääosin internetistä, Web Of Science -tietokannasta ja Google  
Scholarin kautta.

Haluan kiittää suuresti työni ohjannutta sekä tarkistanutta Jussi Ahokasta. Sain häneltä paljon apua tutkielman kirjoittamiseen sekä projektin suorittamiseen.

Jyväskylä, 30.05.2018  
Johannes Parikka

# Sisältö

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Tiivistelmä</b>  | <b>i</b>  |
| <b>Esipuhe</b>  | <b>ii</b> |
| <b>1 Johdanto</b>   | <b>1</b>  |
| <b>2 Matriisi-isolaatiospektroskopia</b>  | <b>2</b>  |
| <b>3 Värähdysspektroskopia</b>  | <b>5</b>  |
| 3.1 Infrapunaspektroskopia . . . . .  | 9         |
| 3.1.1 Tyypillinen Infrapunaspektroskopia-laitteisto . . . . .                         | 11        |
| 3.2 Ramanspektroskopia . . . . .  | 14        |
| 3.2.1 Tyypillinen Ramanspektroskopia-laitteisto takaisinsirontageometriassa . . . . . | 16        |
| <b>4 Glykoli happo</b>  | <b>18</b> |
| 4.1 Glykoli hapon ylivärähdyssuunnauksella indusoitu isomerisaatio . . .              | 19        |
| 4.2 Glykoli hapon vesikompleksit . . . . .  | 19        |
| <b>5 Kidevedellisen kalsiumsulfatin käyttö veden lähteenä matriisi-isolaatiossa</b>   | <b>22</b> |
| <b>6 Tutkimusprojekti</b>   | <b>23</b> |
| <b>7 Yhteenveto</b>   | <b>36</b> |
| <b>Kirjallisuus</b>   | <b>37</b> |

# 1 Johdanto

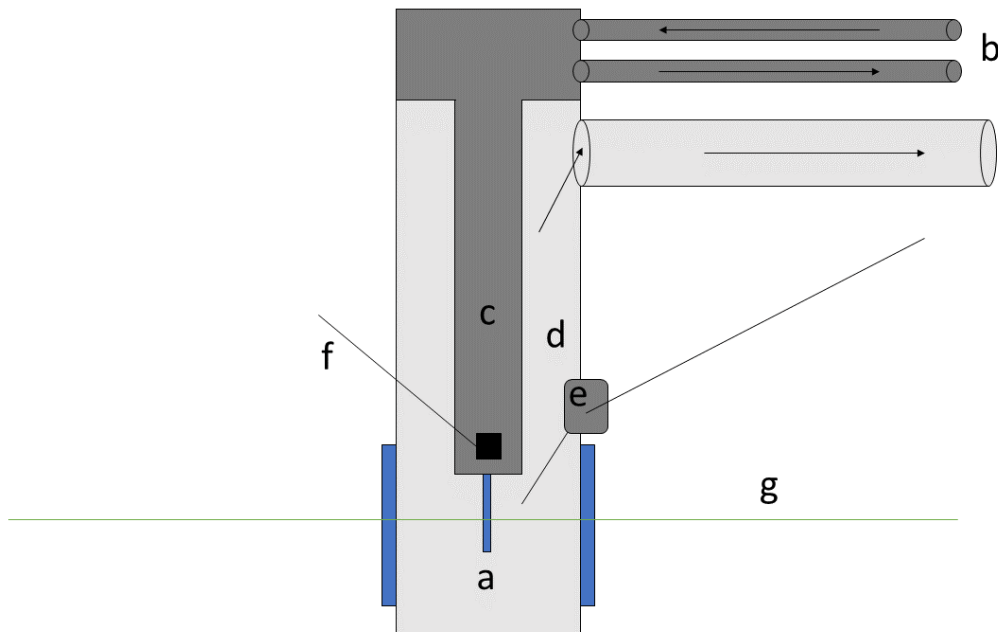
Glykolihappo ( $C_2H_4O_3$ ) on yksinkertainen  $\alpha$ -hydroksikarboksyylihappo<sup>1</sup>. Glykolihappoa käytetään pääosin erilaisissa teollisuuden puhdistustehtävissä, esim metallipintojen puhdistuksessa. Se on lisäksi vaaraton sekä biohajoava molekyyli, joten sitä käytetään myös lääketieteessä.<sup>2</sup>

Glykolihapon spektroskopiaa on tutkittu aiemmin ja sille on kokeellisesti havaittu neljä stabiilia konformeeriä<sup>3</sup>. Glykolihapon vesikomplekseja on vain tutkittu laskennallisesti<sup>1,4</sup> ja kirjoittajan tietoon ei ole tullut yhtään kokeellista tutkimusta aiheesta. Glykolihappo valikoitui kandidaattitutkielman aiheeksi, koska se on sama molekyyli, jota työni ohjaaja Jussi Ahokas itse tutkii. Vesikompleksit olivat pelkän glykolihapon sekä glykolihapon typpikompleksin jälkeen seuraavana kokeiltavana tutkimuskohteena. Glykolihapon ylivärahdyksiä on tutkittu myös aiemmin kokeellisesti sekä teoreettisesti<sup>5</sup>. Ylivärahdytiloja on tutkittu myös mm. ilmakehän kemian tutkimisessa<sup>6,7</sup>.

Vesikompleksi valmistettiin ja tutkittiin matriisi-isoloimalla näyte. Matriisi-isolaatio soveltuu vesikompleksien tutkimisympäristöksi hyvin, koska siellä päästään tutkimaan yksittäisiä komplekseja. Itse menetelmää on käytetty jo 1970-luvulta lähtien<sup>8</sup>. Työssä käytettävää matriisi-isolaatio menetelmää on käytetty aiemmin Jyväskylän Yliopistossa myös muille näytemolekyyleille, kuten muurahaishapolle<sup>9</sup>. Sama menetelmä toimisi myös muille pienille orgaanisille molekyyleille, jotka ovat glykolihapon kaltaisia.

## 2 Matriisi-isolaatiospektroskopia

Matriisi-isolaatiossa tutkittava aine eli vierasmolekyyli pyritään eristämään yksittäiseksi molekyyleiksi kondensoimalla se inertin isäntämolekyylin kanssa niin kutsutuksi matriisiksi eli optisesti läpinäkyväksi pinnaksi matalassa lämpötilassa.<sup>8</sup> Isäntämolekyylinä käytetään tyypillisesti jotain jalokaasua, kuten argonia, joka kondensoituu kiinteään muotoon päätyessään kylmälle pinnalle, johon näyte muodostuu.<sup>8,10</sup> Kryostaatin näyteikkunaa kutsutaan substraatiksi ja se on valmistettu valoa läpäisevästä aineesta, kuten safiirista. Etuliite kryo- viittaa matalaan lämpötilaan ja kryogeniikka on osa-alue, joka tutkii materiaaleja ja niiden ominaisuuksia matalissa lämpötiloissa.<sup>11</sup>



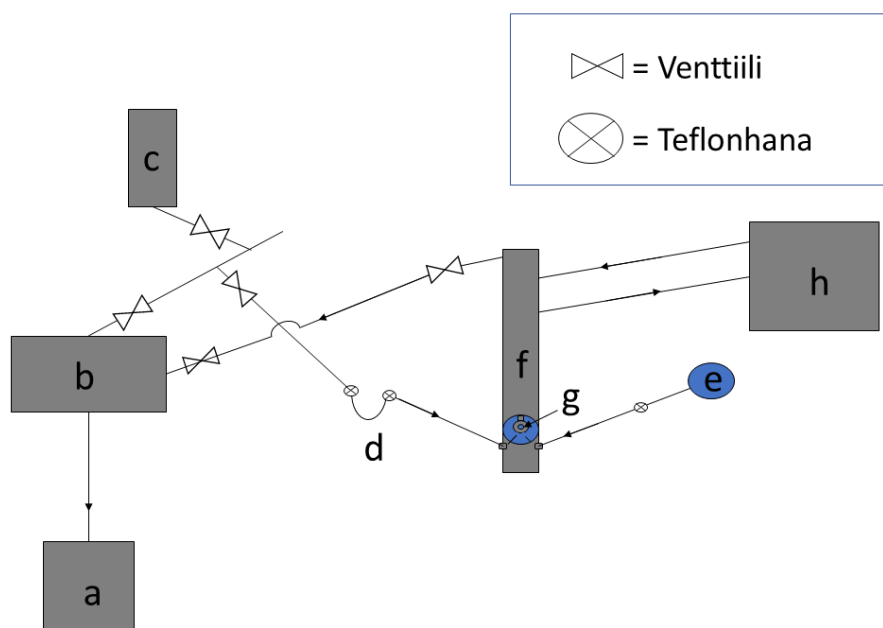
**Kuva 1:** Kryostaatin rakenne.

Perusvaatimukset kryostaatille (Kuva 1, kohdat a-g) ovat:<sup>10</sup>

- Näyteikkuna eli substraatti, johon näyte valmistetaan ja jossa sitä voidaan tutkia/mitata.
- Jäähdytyskierto, jolla päästään matalaan lämpötilaan. Tämä voidaan toteuttaa esim. suljetulla heliumkierrolla.
- Substraatin ja jäähdytyksen yhdistävä kylmäsovi/lämpösuoja, joka mahdollistaa näytteeseen hyvän termisen kontaktin ja ylläpitää halutun lämpötilan.

- d) Ulkokuori, jossa on ulommat valoa läpäisevät ikkunat. Ulkokuoren ja kylmä-sormen välisen tilan on oltava tyhjiössä, jolla estetään lämmönsiirto näytteeseen sekä mahdollisten epäpuhtauskaasujen kondensoituminen matriisiin.
- e) Menetelmä, eli esim. tiivistettävä aukko kapillaarille, jolla kaasuseos saadaan johdettua kryostaattiin ja sieltä substraatille.
- f) Lämpömittari näytteen läheisyyteen, jolla voidaan seurata näytteen lämpötilaa.
- g) Kohtisuora optinen linja ulkoikkunoiden sekä substraatin välillä.

Näytettä valmistettaessa substraatille johdetaan inerttiä isäntäkaasua, johon sekoitetaan näytemolekyylejä, esim. johtamalla kaasuvirtaus höyrystyneen näytteen läpi. Täten molekyylit sekoittuvat keskenään jo ennen substraatille päätymistä. Näytteen tulisi olla optisesti mahdollisimman läpinäkyvä. Kryostaatin käyttö vaatii matalaa lämpötilaa, jotta näyte saadaan isoitua, eli eristettyä yksittäisiksi molekyyleiksi matriisiin, hyvin. Kaasu johdetaan kryostaatin ulkokuoren läpi kapillaaria pitkin, joka on kohdistettu niin, että kaasuvirtaus osoittaa suoraan substraattia kohden. Täten saadaan tasainen näyte. Kaasuvirtauksen nopeutta säädellään venttiilin avulla, koska liian nopea depositiointi voi aiheuttaa "lumisen" ja voimakkaasti sirottavan matriisin, joka voi myös jopa tukkia kapillaarin pään.



**Kuva 2:** Vakuumi-/Depositioinja.



Kuva 2 esittää matriisi-isolaatiossa käytettävän depositiointi-vakuuvinjaston peruskomponentit: a on esivakuuvinpumppu, b on turbopumppu, c on sylinteri, josta isäntäkaasu depositoidaan, d on U-putki, jossa on näytemolekyylä ja josta kaasu johdetaan kryostaatille, e on toinen linja, josta voidaan depositoida toista yhdistettä, kuten vettä, f on kryostaatti, g on substraatti ja h on jäähdytyskierron kompressorä.

Usein matriisi-isolaatiolla viitataan juuri menetelmään, jossa molekyylejä vangitaan kaasusta muodostetulle, kiinteälle lasimaiselle pinnalle<sup>8</sup>. Matriisi-isolaatio on alun perin kehitetty epästabiilien molekyyläen tutkimiseen<sup>10</sup>. Kun molekyylä saadaan vangittua stabiiliin matriisiin, se ei pääse reagoimaan ja sitä voidaan tutkia spektroskopisesti, mikä olisi mahdotonta ilman molekyyläen isolointia.

Matriisiin muodostettua näytettä voidaan säteilyttää valolla ja sen aiheuttamia muutoksia voidaan tutkia mm. värähdysspektroskopiana, kuten IR- tai Ramanspektroskopiana, käyttäen. Matriisi-isolaation etuna on se, että näytettä voidaan tutkia eri spektroskopisilla menetelmillä. Ainoa vaatimus on, että näytettä täytyy saada säteilytettyä ja että säteily täytyy saada kerättyä. Kiinteässä matriisissa molekyylä ei yleensä pääse liikkumaan kovin voimakkaasti ja sen rotaatio on lähes estynyt, joten rotaatiohienorakenne ei välttämättä erotu. Lisäksi alhaisissa lämpötiloissa 11-18 K vain molekyyläen alimmat tilat ovat miehittyneet. Näiden ansiosta värähdysspektrissä havaitaan vain puhtaat värädyssiirtymät terävinä piikkeinä.

Eristämisellä voidaan estää näytteen bimolekulaariset reaktiot sekä keskinäiset vuorovaikutukset, jolloin päästään tutkimaan yksittäistä molekyylä. Näytteen vuorovaikutus matriisin kanssa on myös hyvin vähäistä. Kuitenkin näytemolekyylä saattaa isoloitua myös ns. aggregaattina eli monimolekyyläisenä ryhmittymänä.

### 3 Värähdyspektroskopia

Värähdyspektroskopiaa tutkittaessa käytetään yleensä joko IR-absorptiota tai Raman-sirontaa.<sup>12</sup> Molemmilla menetelmillä molekyyli muodostaa karakteristisen spektrin eri värähdysmoodien perusteella. Molempien laitteistot koostuvat spektrometrinä, jolla havaitaan siroaminen tai absorbanssi. Molekyylin eri värähdysvapausasteet riippuvat sen koosta ja muodosta seuraavasti; ei-lineaarinen molekyyli  $3N-6$  ja lineaarinen molekyyli  $3N-5$ , jossa  $N$  = atomien lukumäärä<sup>13</sup>. Glykolihappo on ei-lineaarinen molekyyli ja siinä on 9 molekyyliä, joten sillä on yhteensä  $3 \cdot 9 - 6 = 21$  värähdysmoodia.

Värähdyspektroskopiassa yksikkönä käytetään yleensä aaltolukuja ( $\text{cm}^{-1}$ ). Aallonpituus  $\lambda$  voidaan muuttaa aaltoluvuksi  $\tilde{\nu}$  yhtälöllä

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda}. \quad (1)$$

Seuraavaksi tarkastellaan molekyylin värähdystiloja ja niihin liittyvää energetiikkaa. Värähdystilojen tutkimista varten määritellään muutama termi.  $a$  (molekyyllille ominainen vakio) on

$$a = \left( \frac{m_{\text{eff}} \omega^2}{2hc\tilde{D}_e} \right)^{\frac{1}{2}}, \quad (2)$$

jossa  $m_{\text{eff}}$  on sidoksen atomien redusoitu massa,  $\omega$  on värähdystaajuus,  $h$  on Planckin vakio ( $6,626 \cdot 10^{-34}$  Js),  $c$  on valonnopeus ( $2,997 \cdot 10^8$  m/s) ja  $\tilde{D}_e$  on potentiaalikuopan syvyys.

Epäharmonisuustekijä  $x_e$  on muotoa

$$x_e = \frac{a^2 \hbar}{2m_{\text{eff}} \omega} = \frac{\tilde{\nu}}{4\tilde{D}_e}, \quad (3)$$

jossa  $\hbar$  on redusoitu Planckin vakio eli Diracin vakio ( $1,054 \cdot 10^{-34}$  Js).

Voimavakio  $k_f$  on määritelty potentiaalın  $V$  toisena derivaattana etäisyyden  $x$  suhteen ja se on muotoa

$$k_f = \left( \frac{d^2V}{dx^2} \right)_0. \quad (4)$$

Mitä suurempi  $k_f$  eli sidoksen voimavakio on, sitä kapeampi potentiaalienergian paraabeli on harmonisen approksimaation tapauksessa. Eli mitä vahvempi sidos, sitä vähemmän siinä on siirtymävaraa sen värähdellessä. Kun yksinkertaisempi malli riittää ja tutkitaan alimpia värähdystiloja, voidaan suorittaa harmoninen approksimaatio eli mallintaa molekyylin sidoksia harmonisina oskillaattoreina. Harmonisen värähtelijän ominaisenergia aaltolukuina tilalle  $\tilde{G}$  vibraatiokvanttiluvulla  $\nu$  saadaan yhtälöllä

$$\tilde{G}(\nu) = \left(\nu + \frac{1}{2}\right) \tilde{\nu}, \quad (5)$$

jossa värähdyksen aaltoluku  $\tilde{\nu}$  on

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \left(\frac{k_f}{m_{\text{eff}}}\right)^{\frac{1}{2}}. \quad (6)$$

Todelliset potentiaalit kuitenkin poikkeavat harmonisesta potentiaalista.<sup>14</sup> Todellista, epäharmonista potentiaalia voidaan kuvata käyttäen Morsen potentiaalia, joka on sidospituuden funktio ja muotoa

$$V = hc\tilde{D}_e\{1 - e^{-a(R-R_e)}\}^2, \quad (7)$$

jossa  $\tilde{D}_e$  on potentiaalikuopan syvyys,  $R$  sidospituus tietyllä hetkellä ja  $R_e$  on sidoksen pituus tasapainossa.

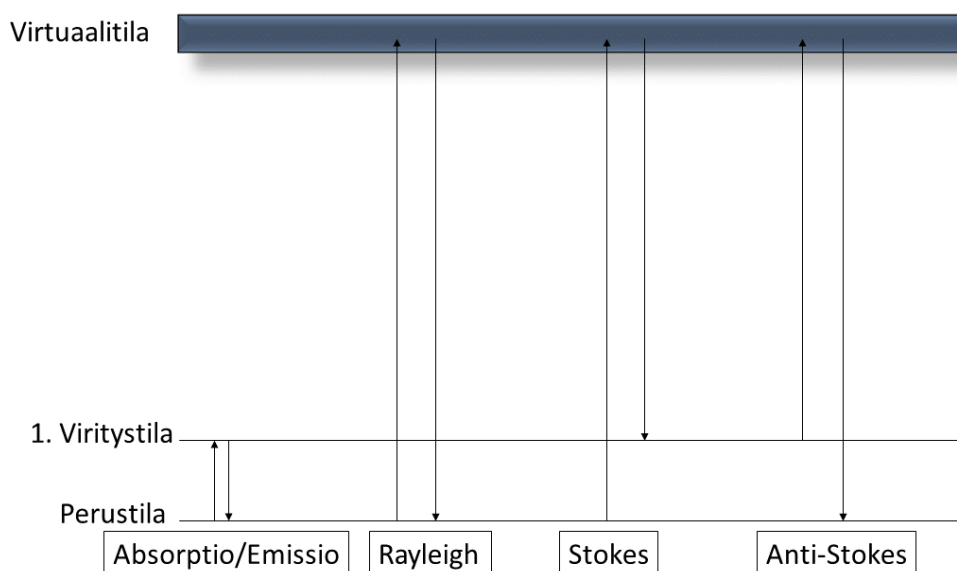
Schrödingerin yhtälö voidaan ratkaista värähdysliikkeelle Morsen potentiaalin tapauksessa, jolloin

$$\tilde{G}(\nu) = \left(\nu + \frac{1}{2}\right) \tilde{\nu} - \left(\nu + \frac{1}{2}\right)^2 x_e \tilde{\nu}, \quad (8)$$

jossa  $\nu$  on värähdystila,  $x_e$  on epäharmonisuustekijä ja  $\tilde{\nu}$  on sidoksen värähdyksen aaltoluku. Värähdystilojen energioista voidaan lisäksi sanoa, että niiden välinen energia pienenee, mitä korkeammille tiloille mennään. Harmoninen approksimaatio matalilla energiatiloilla toimii hyvin, koska harmoninen potentiaali approksimoii melko hyvin epäharmonista potentiaalia sen tasapainopisteen läheisyydessä.

**Taulukko 1:** Ramanin ja IR:n vertailu.

| Ominaisuus         | Raman                       | IR                          |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Intensiteetti      | Heikko                      | Voimakas                    |
| Ilmiö              | Fotonin sironta             | Fotonin absorptio           |
| Ehto värähdykselle | Polaroituvuuden muutos      | Dipolimomentin muutos       |
| Dipolimomentti     | Ei vaadi pysyvää            | Värähdyksessä muututtava    |
| Veden käyttäminen  | Kelpaa liuottimeksi         | IR-Absorptio liian voimakas |
| Näytteen olomuoto  | Ei merkitystä               | Toimii harvoin kaasulle     |
| Mittaus            | Pitkä mittausaika           | Nopeaa ja yksinkertaista    |
| Hinta              | Kallis instrumentaatio      | Edullisempi instrumentaatio |
| Mittausalue        | Näkyvä valo, lähi-IR ja -UV | Koko IR-alue                |

**Kuva 3:** IR- ja Ramansiirtymät.

Molempia menetelmiä käytetään molekyylien karakterisointiin ja rakenteen tutkimiseen. Menetelmää valittaessa voidaan hyödyntää tietoa molekyylin olomuodosta ja poolisuudesta.

Valintasääntö molempien vibraatiokvanttiluvun muutokselle on  $\Delta\nu \pm 1$ <sup>15</sup>, kun harmoninen potentiaali on oletettu. Ylivärähdystilat ( $\Delta\nu \pm 2,3,4$ ) ovat todellisuudessa mahdollisia, koska oikeasti potentiaali ei ole täysin harmoninen.<sup>14</sup> Harmonisuus on vain approksimaatio, joka toimii vain alimpien värähdystilojen ympäristössä, joten myös valintasääntö on vain approksimaatio. Voimme kuitenkin päätellä, että ylivärähdykset ovat epätodennäköisempiä, kuin valintasäännön mukaiset värähdykset, mutta ne

ovat kuitenkin mahdollisia. Ylivärdystilat esiintyvät harmonisessa approksimaatioissa perusvärähdyksen monikertoina, koska tilojen välinen energiaero on vakio. Epäharmonisessa tapauksessa ylivärdhdyksen aaltoluku on aina pienempi kuin perusvärähdyksen monikerta, koska epäharmonisten energiatilojen ero pienenee lähestyttäessä sidoksen dissosiaatioenergiaa  $\tilde{D}_0$ , jossa sidos katkeaa.

### 3.1 Infrapunaspektroskopia

Molekyylin dipolimomentti voidaan määrittellä yhtälöllä

$$\mu = \alpha E, \quad (9)$$

jossa  $\alpha$  on molekyylin polaroituvuus ja  $E$  ulkoisen sähkökentän voimakkuus. Ulkoisen sähkökentän luo molekyylin kanssa vuorovaikuttava fotoni ja sen voi olettaa olevan homogeeninen molekyylin ympärillä, koska säteilyn aallonpituus on paljon suurempi kuin molekyylin halkaisija.<sup>15</sup> Molekyylin transitiodipolimomentti<sup>14</sup> on

$$\mu_{fi} = \int \Psi_f^* \hat{\mu} \Psi_i d\tau, \quad (10)$$

jossa  $\hat{\mu}$  on sähköisen dipolimomentin operaattori ja  $\Psi_f$  ja  $\Psi_i$  on tilojen  $f$  ja  $i$  aaltofunktiot. Dipolimomentin tulee olla  $\neq 0$  värähtelyn amplitudin  $Q$  suhteen<sup>15</sup> eli

$$\left( \frac{\partial \mu}{\partial Q} \right)_0 \neq 0. \quad (11)$$

Tässä tapauksessa spektriin muodostuu absorption aiheuttama piikki.<sup>16</sup> IR-intensiteetti on verrannollinen dipolimomentin muutoksen neliöön<sup>15</sup>. Infrapunaspektroskopiassa näytettä säteilytetään infrapuna-alueen aallonpituuksia vastaavalla valolla. Usein mitataan aineen kykyä absorboida säteilyä, myös IR-emissiota voidaan mitata. Infrapunalle pätee valintasääntö  $\Delta\nu = \pm 1$ <sup>15</sup>. Jos  $\Delta\nu = +1$ , on kyseessä absorptio ja jos  $\Delta\nu = -1$ , kyseessä on emissio. Absorptio-IR:ssä mitataan näytteen läpäisseen säteilyn intensiteettiä Beerin ja Lambertin lain mukaisesti, joka on muotoa

$$I = I_0 10^{-\epsilon [J] l} = I_0 10^{-A}, \quad (12)$$

jossa  $\epsilon$  on näytteen molaarinen absorptiokerroin,  $[J]$  on molaarinen konsentraatio  $l$  näytteen paksuus (valon kulkema matka näytteessä) ja  $I_0$  tulevan säteilyn intensiteetti.

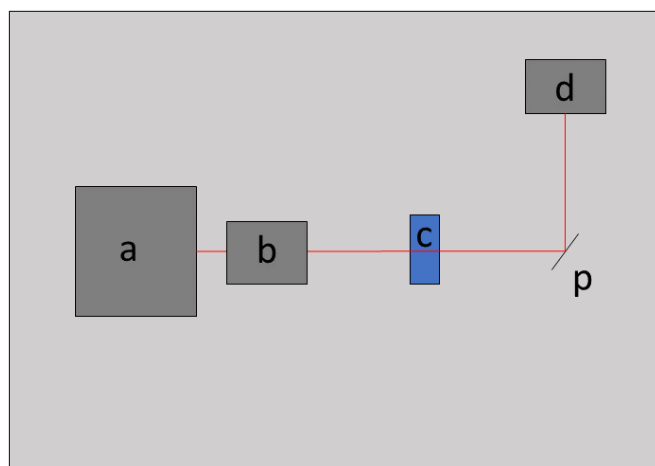
Näytteen absorbanssi voidaan myös määrittää säteilyn intensiteettien suhteesta

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon[J]l \quad (13)$$

Termiä  $\epsilon[J]l$  kutsutaan myös näytteen optiseksi tiheydeksi.<sup>14</sup> IR:n yksi haitta on, että sillä ei voida havaita värähdyksiä, joissa dipolimomentti ei muutu. Tällaisia värähdyksiä ovat mm. samanytimiset, kaksiatomiset molekyylit. Etuina taas on mm. nopea, monipuolinen ja yksinkertainen käyttö<sup>17</sup>.

### 3.1.1 Tyypillinen Infrapunaspektroskopialaitteisto

Nykyään lähes kaikki IR-spektrometrit perustuvat Fourierin muunnokseen (Fourier-transform infrared spectroscopy, FTIR), jossa diffraktiohila on korvattu interferometrillä. Fourierin muunnoksessa etäisyysjoukossa mitattu interferogrammi muutetaan taajuusjoukon näytespektriiksi.<sup>13</sup> Sen etuina on, että kaikkea näytteestä tulevaa säteilyä mitataan jatkuvasti, joten signaalia ei mene hukkaan. Tämän ansiosta myös resoluutio on tavallisia spektrometrejä parempi.<sup>14</sup> Tyypillinen laitteisto koostuu IR-valonlähteestä, Michelsonin interferometristä, näytteestä ja detektorista.

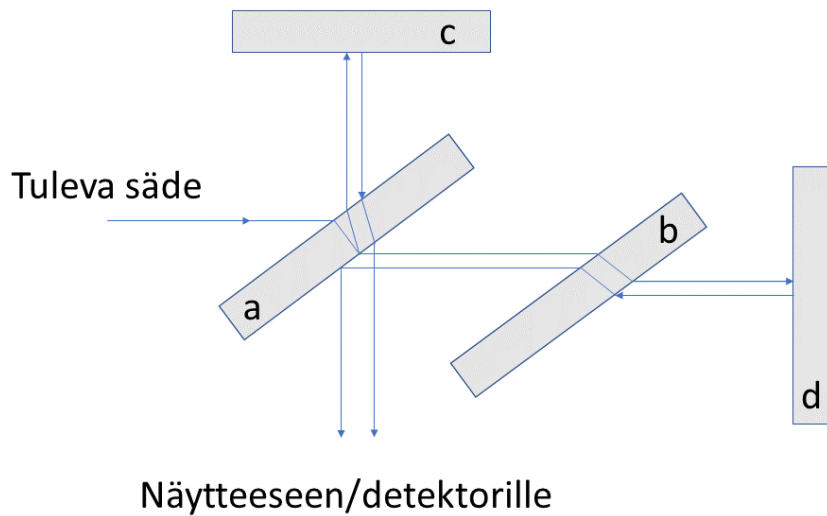


**Kuva 4:** IR-instrumentaatio.

Kuva 4 sisältää yksinkertaisimman mahdollisen IR-spektrometrin komponentit: p on peili, a on IR-valonlähde, b on Michelsonin interferometri, c on mitattava näyte ja d detektori, jolla havaintaan IR-absorptio.

FTIR:n ydin on Michelsonin interferometri, joka analysoi tulevan signaalin eri taajuuksia. Lähteen 14 mukaan koko tuleva signaali on kuin soitettu sointu ja Fourierin muunnoksella se saadaan jaettua yksittäisiin säveliin (taajuuksiin), joista spektrin piikit muodostuvat.





**Kuva 5:** Michelsonin interferometri.

Kuva 5 kuvaa Michelsonin interferometrin osat: a on säteenjakaja, b on toisen säteen kompensattori, jotta optisessa aineessa kuljettu matka on sama, c on siirrettävä peili ja d on paikallaan oleva peili. Michelsonin interferometri jakaa säteen kahteen osaan, joista toisen kulkemaa matkaa voidaan säädellä. Kun säteet yhdistyvät, ne interferoivat joko kokoavasti tai hajottavasti, riippuen kuljettujen matkojen erosta. Signaalin päätyessä detektorille, muodostetuu interferogrammi eli signaalien interferenssikuvio, josta voidaan Fourierin muunnoksella muodostetaa näytesyktri.<sup>13</sup>

Jos interferometrille tuleva IR-säteily on aaltolukua  $\tilde{\nu}$ , detektorilla havaittava signaali on riippuvainen IR-säteiden kulkemien matkojen erotuksesta  $p$ , joka aiheuttaa interferenssin. Infinitesimaalisen aaltolukukaistan ( $\tilde{\nu} \rightarrow \tilde{\nu} + d\tilde{\nu}$ ) intensiteetti, jota merkitään  $I(p, \tilde{\nu})d\tilde{\nu}$ , on

$$I(p, \tilde{\nu})d\tilde{\nu} = I(\tilde{\nu})(1 + \cos(2\pi\tilde{\nu}p))d\tilde{\nu}. \quad (14)$$

Interferometri muuttaa jokaisella aaltoluvulla havaittavan signaalin säteilyn intensiteetiksi, joka kulkeutuu detektorille. Signaali koostuu useista eri aaltoluvun säteilyistä ja kokonaisintensiteetti  $I(p)$  on integraali kaikkien aaltolukujen signaaleista ja täten muotoa

$$I(p) = \int_0^\infty I(p, \tilde{\nu}) d\tilde{\nu} = \int_0^\infty I(\tilde{\nu})(1 + \cos(2\pi\tilde{\nu}p)) d\tilde{\nu}. \quad (15)$$

Lopuksi menetelmässä täytyy löytää arvo intensiteetille aaltoluvun suhteen ( $I(\tilde{\nu})$ ), joka on haluttu näytespektri ja joka määritetään säteilyn kulkemasta matkasta riippuvaisesta intensiteetistä  $I(p)$ . Tämä suoritetaan "Fourien muunnoksella", joka on matemaattinen, numeerinen menetelmä.<sup>14</sup> Aaltoluvun suhteen riippuvainen intensiteetti  $I(\tilde{\nu})$  määritetään yhtälöllä

$$I(\tilde{\nu}) = 4 \int_0^\infty \left\{ I(p) - \frac{1}{2}I(0) \right\} \cos(2\pi\tilde{\nu}p) dp, \quad (16)$$

jossa intensiteetti  $I(0)$  saadaan yhtälöstä (15), kun  $p = 0$ .

Fourierin muunnos on siis numeerinen integraali, jonka spektrometrin tietokone suorittaa ja näyttää tuloksena syntyvän intensiteettijakauman aaltoluvun suhteen ( $I(\tilde{\nu})$ ) eli näytespektrin. Säteilyn kulkemasta matkasta riippuva intensiteetti  $I(p)$  on kosinien superpositio ja lisäksi intensiteetit  $I(\tilde{\nu})$  ja  $I(p)$  ovat keskenään muutettavissa.<sup>14</sup>

## 3.2 Ramanspektroskopia

Ramanspektroskopiassa monokromaattinen fotonisuihku johdetaan törmäämään näytemolekyylin kanssa.<sup>14</sup> Fotoni voi joko sirota elastisesti vuorovaikuttamatta näytteen kanssa (Rayleigh), luovuttaa molekyylille energiaa itse sirotten alempienergisenä (Stokes) tai saada molekyyliltä lisää energiaa, jolloin se siroaa korkeampienergisenä (anti-Stokes).<sup>15</sup> Anti-Stokes- ja Stokes-sironnat muodostavat niin kutsutun Ramansironnan<sup>16</sup>. Ramanspektroskopiassa on siis kyse säteilyn siroamisesta, ei absorptiosta kuten Infrapunassa. Todennäköisimmin tapahtuu Rayleighin sironna ( $10^{-3}$  alkuperäisen säteilyn intensiteetistä)<sup>15</sup>, Ramansironnan intensiteetti on vain  $10^{-6}$  alkuperäisen säteilyn intensiteetistä ja näistä harvinaisempi on anti-Stokes-sironna, koska se tapahtuu molekyylin viritystilalta, jossa on Boltzmannin jakauman mukaisesti vähiten molekyyliä perusolosuhteissa<sup>16</sup>. Rayleigh- ja Raman- eli anti-Stokes- ja Stokes-sironnat voidaan kuvata kaksifotoniprosesseina<sup>15</sup>. Tämä tarkoittaa, että säteilyn fotoni absorboituu molekyyliin hetkellisesti virittäen sen ”virtuaalitulalle” (Kuva 3) ja samanaikaisesti luoden sekä sirottaen uuden fotonin. Stokes- ja anti-Stokes-sironnat ovat aina epäelastisia törmäyksiä.

Käytännön Ramanspektroskopian mittauksessa lasersäde johdetaan näytteeseen ja sironnut valo ohjataan monokromaattorille tai spektrograafille. Ensin näytteestä tuleva säde jaetaan hilan (grating) diffraktion avulla useisiin aallonpituuksiin. Monokromaattorissa kapea aukko (slit) päästää vain tietyn aallonpituuskaistan läpi detektorille, jolloin voidaan mitata eri aallonpituuskaistoja kääntämällä hilaa.<sup>14</sup> Spektrograafissa kaikki aallonpituuskaistat ohjataan suoraan detektorille esim. CCD-kameralle (Charge-Coupled Device eli valoherkkä kenno, jolla kennolle tuleva säteily muunnetaan digitaaliseksi signaaliksi).

Jotta saavutetaan värähtelyramansiirtymä, molekyylin polaroituvuuden tulee muuttua värähtelyn amplitudin  $Q$  suhteen<sup>15</sup>

$$\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q}\right)_0 \neq 0. \quad (17)$$

Polaroituvuus on molekyylin elektronipilven muotoutumista ulkoisen sähkökentän vaikutuksesta<sup>15</sup>. Se aiheuttaa hetkellisen transitiodipolimomentin molekyyliin yhtä-

lön (10) mukaisesti, koska ulkoinen sähkökenttä muuttaa tilojen aaltofunktioita ja muutos puolestaan indusoi itse transitiodipolimomentin. Harmonisen värähtelyyn liittyvä valintasääntö värähdystilan muutokselle on<sup>15</sup>

$$\Delta\nu = \pm 1 \quad (18)$$

eli teoriassa voidaan siirtyä vain seuraavalle tai edelliselle tilalle. Jos  $\Delta\nu = +1$ , on kyseessä Stokes-siirtymä ja jos  $\Delta\nu = -1$ , kyseessä on anti-Stokes-siirtymä. Näistä anti-Stokesin intensiteetti on aina paljon pienempi.

Sironneen fotonin energia saadaan Bohrin taajuusehdosta<sup>13</sup>, joka on muotoa

$$h\nu = |E_1 - E_2|, \quad (19)$$

jossa  $E_1$  on lähtötilan energia,  $E_2$  on lopputilan energia,  $h$  on Planckin vakio ja  $\nu$  on sironneen fotonin taajuus. Ramansignaalin voimakkuus voidaan määritellä yhtälöllä<sup>12</sup>

$$I = Kl\alpha^2\omega^4, \quad (20)$$

jossa  $K$  on vakio, joka koostuu luonnonvakioista,  $l$  on laserteho,  $\omega$  on tulevan säteilyn taajuus ja  $\alpha$  on molekyylin polaroituvuus.

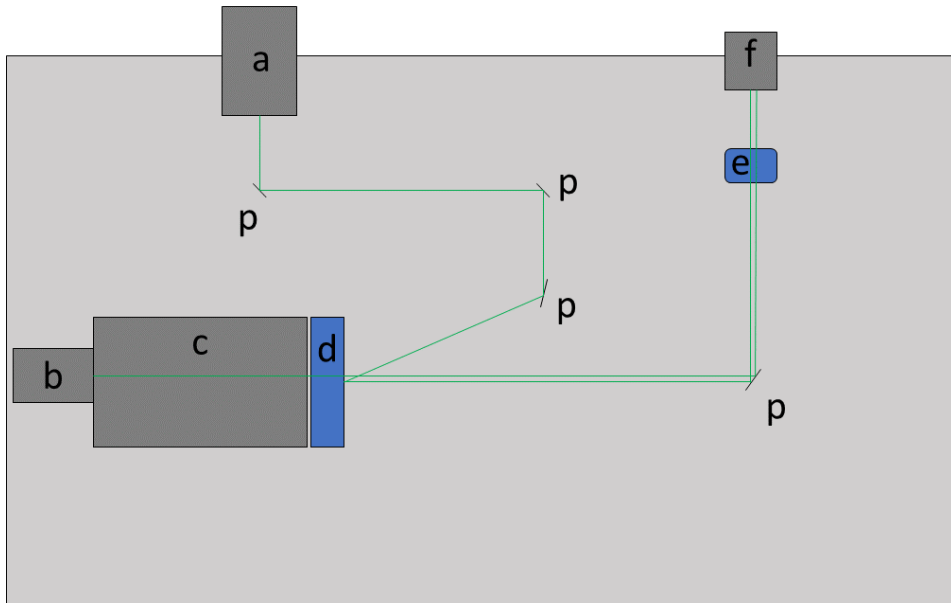
Ramansiirtymä eli sironnan aiheuttama aallonpituuden muutos voidaan laskea yhtälöllä

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda_{\text{Laser}}} - \frac{1}{\lambda_{\text{Sironna}}} \quad (21)$$

Ramanin etuja IR nähden on se, että sillä voidaan mitata myös kiinteitä aineita, koska se perustuu sironneeseen valoon. Tosin Ramansignaali on paljon IR-signaalia heikompi, joten mittausajat ovat pidempiä ja signaalin saaminen ei ole yhtä helppoa.

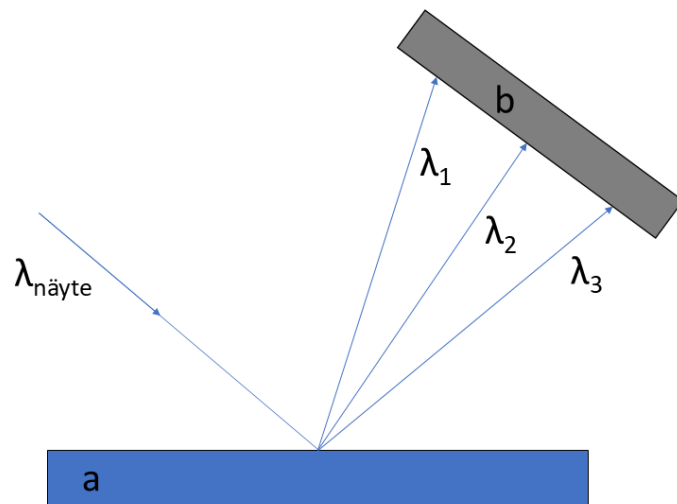
### 3.2.1 Tyypillinen Ramanspektroskopialaitteisto takaisinsirontageometriassa

Tyypillinen takaisinsirontageometrian Ramanlaitteisto koostuu linssistä, peleistä, laserista, filteristä, näytteestä, spektrograafista sekä CCD-kamerasta.<sup>18</sup> Näytettä pitää saada säteilytettyä esim. laserin avulla ja sironnut valo täytyy pystyä keräämään spektrograafille.



**Kuva 6:** Ramanlaitteisto takaisinsirontageometriassa.

Kuva 6 sisältää Ramanlaitteiston tärkeimmät komponentit: p on peili, a on laserlähde b on CCD-kamera, c on spektrograafi, d on suodatin, e on fokusoiva linssi ja f kryostaatti, jossa mitattava näyte sijaitsee.



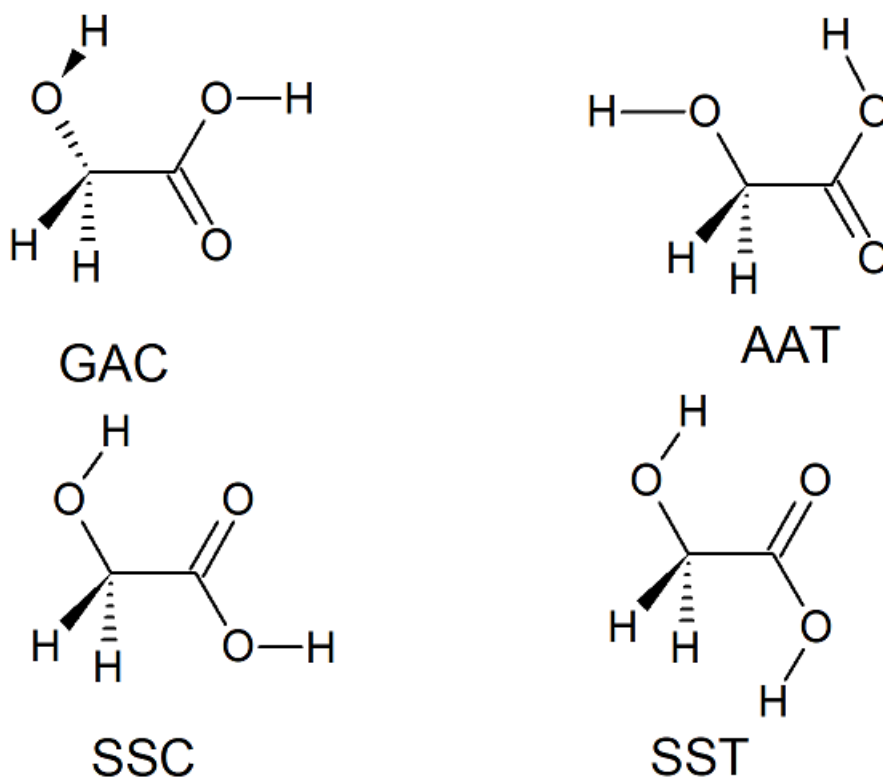
**Kuva 7:** Säteen diffraktio hilalla ennen detektoria.

Kuva 7 esittää hilan, jolla jaetaan säde useaan eri aallonpituuskaistaan. A on diffraktiohila ja b on detektori, kuten CCD-kamera, joka mittaa kaikkia aallonpituuskaistoja kerrallaan.

## 4 Glykolihapo

Glykolihapo (GA) koostuu 2 hiiliatomista, 3 happiatomista ja 4 vetyatomista. Glykolihapolla on 2 eri ympäristössä olevaa OH-ryhmää (alkoholi ja karboksyylihapon OH-ryhmä), joten se voi muodostaa molekyylien välisiä vetysidoksia. Täten glykolihapoa tutkittaessa on tärkeää saada se isoloitua hyvin, koska molekyylien välillä on voimakkaita vuorovaikutuksia. Glykolihapolla voimakkaita sekä karakterisoitavia värähdyksiä on mm. kaksi erilaista -OH ryhmän värähdystä sekä C=O värähdys. Glykolihapolle on löydetty tunnettuja rotameerejä (yksöissidoksen suhteen kiertymisestä muodostuvia konformeerejä) laskennallisesti kahdeksan<sup>1</sup>, mutta kokeellisesti on voitu havaita neljä<sup>3,19</sup>.

Glykolihapon kokeellisesti havaittuja konformeereja ovat yleisimmin esiintyvä, stabiilein SSC, kaksi korkeammalla energialla olevaa konformeeriä GAC ja AAT sekä aiemmassa tutkimuksessa<sup>3</sup> löydetty SST. SST-konformeerin huomattiin samassa tutkimuksessa palaavan stabiiliin SSC muotoon tunneloitumisreaktiossa, kun sen annettiin olla jäähdytettynä ja ilman säteilytystä pimeässä.



Kuva 8: Glykolihapon konformeerit<sup>3</sup>.

## 4.1 Glykolihapon ylivärdystilillä induoitu isomerisaatio

Ylivärdystilillä molekyylä säteilytetään lähi-Infrapunassa, jolloin se virittyy ylivärdystiloille, joissa vibraatiokvanttiluku  $\Delta\nu > 1$ .<sup>9</sup> Kun viritysenenergia jakautuu molekyylissä uudelleen, molekyylille voi tapahtua mm. isomerisaatiota, jossa sen konformaatio voi muuttua. Isomerisaatio havaitaan spektrissä piikkien paikkojen muuttumisena keski-IR:n alueella (400-4000  $\text{cm}^{-1}$ ), ylivärdystiloja havaitaan suuremmilla aaltoluvuilla eli lähi-IR-alueella (4000-12500  $\text{cm}^{-1}$ ). Kun näytettä säteilytetään, se virittyy ylivärdystiloille ja kun säteilytys lopetetaan, voidaan spektrin mittauksen avulla tunnistaa tapahtuneet muutokset. Valintasäännöstä  $\Delta\nu = \pm 1$  poiketen voidaan ylivärdystilillä saavuttaa siirtymiä useamman värdystilan yli esim.  $5 \leftarrow 0$ . Tämä johtuu siitä, että valintasääntö on approksimaatio, jossa potentiaalit on oletettu harmonisiksi. Todellisuudessa potentiaalit eivät ole täysin harmonisia, joten värdyskvanttitila voi muuttua enemmän kuin  $\Delta\nu \pm 1$ , tosin tämä on paljon epätodennäköisempää, kuin valintasäännön mukainen siirtymä.

## 4.2 Glykolihapon vesikompleksit

Glykolihapon vesikomplekseista löytyy kirjallisuudesta<sup>1,4,5</sup> vain laskennallista tietoa. Tämän työn tavoitteena oli valmistaa kokeellisesti glykolihapon vesikompleksi argonmatriisissa ja mitata siitä IR- ja Ramanspektrin sekä tunnistaa spektristä glykolihapon vesikompleksin värdykset.

Tarkasteluun on valittu lähteestä 1 kolme energeettisesti kiinnostavinta GA/H<sub>2</sub>O kompleksia ja kolme GA/2 H<sub>2</sub>O kompleksia. Alinenergiset yhden ja kahden veden kompleksit on asetettu energioiltaan arvoon 0 kcal/mol ja muut skaalattu sen mukaan. Komplekseille on tutkittu niiden esiintymistodennäköisyyksiä Boltzmannin jakauman avulla. Boltzmannin jakauman mukainen esiintymistodennäköisyys  $p$  kompleksille  $i$  on muotoa

$$p_i = e^{\frac{\Delta E_i}{kT}} \quad (22)$$



jossa  $E_i$  on kompleksin  $i$  energia,  $k$  on Boltzmannin vakio ( $1,380 \cdot 10^{-23}$  J/K) ja  $T$  lämpötila, jossa esiintymistodennäköisyyksiä tutkitaan. Koska  $\Delta E_i$  on jakaumaa varten muutettu yksiköstä kcal/mol yksikköön J/mol ( $1 \text{ kcal} = 4184 \text{ J}$ ) täytyy se vielä jakaa Avogadron vakiolla  $N_A$  ( $6,022 \cdot 10^{23}$  1/mol), jotta energia saadaan Jouleiksi ja esiintymistodennäköisyys yksiköttömäksi. Lisäksi tiedetään, että  $kN_a = R$ , joten jakauma saadaan muotoon

$$p_i = e^{\frac{\Delta E_i}{RT}}, \quad (23)$$

jossa  $R$  on moolinen kaasuvakio ( $8,3145$  J/K mol) Lisäksi, koska lasketaan esiintymistodennäköisyyksiä, jakauma on normitettu jakamalla jokainen esiintymistodennäköisyys kaikkien esiintymistodennäköisyyksien summalla, jolloin normitettu jakauma on muotoa

$$p_i = \frac{e^{\frac{\Delta E_i}{RT}}}{\sum e^{\frac{\Delta E_i}{RT}}}. \quad (24)$$

Normitettujen todennäköisyyksien summan tulee olla 1.

**Taulukko 2:** Boltzmann-jakauma GA/H<sub>2</sub>O komplekseille. Laskennalliset energiat ( $E_i$ ) lähteestä 1.

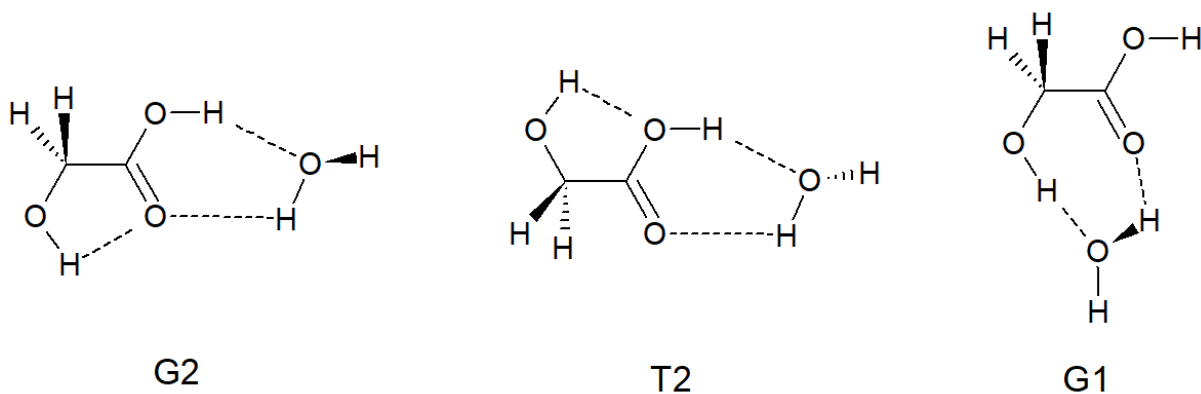
| i     | $E_i$ (kcal/mol) | $E_i$ (J/mol) | Boltzmann   | Normitettu Boltzmann | %      |
|-------|------------------|---------------|-------------|----------------------|--------|
| G2    | 0                | 0             | 1           | 0,97195              | 97,195 |
| T2    | 2,27             | 9497,68       | 0,0216396   | 0,02103              | 2,103  |
| G1    | 2,92             | 12217,28      | 0,0072203   | 0,00702              | 0,702  |
| Summa | -                | -             | 1,028859894 | 1                    | 100    |

**Taulukko 3:** Boltzmann-jakauma GA/2 H<sub>2</sub>O komplekseille. Laskennalliset energiat ( $E_i$ ) lähteestä 1.

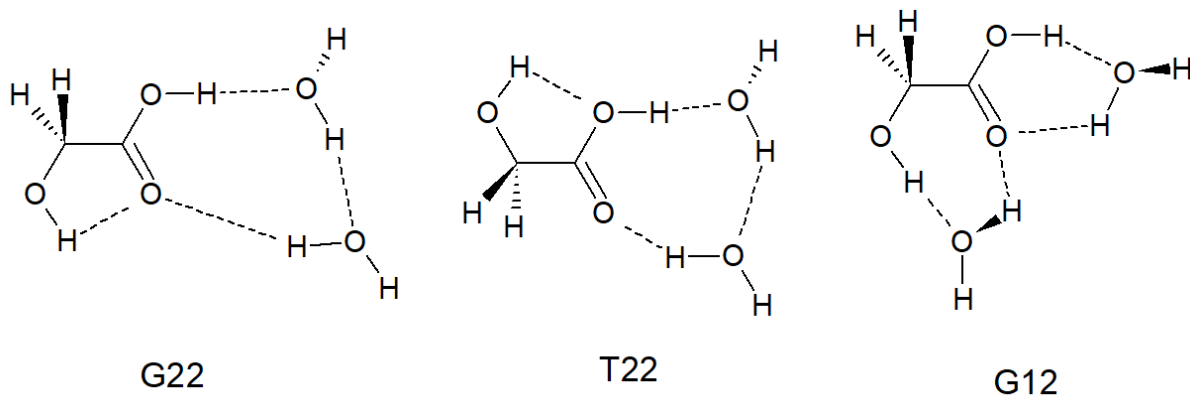
| i     | $E_i$ (kcal/mol) | $E_i$ (J/mol) | Boltzmann   | Normitettu Boltzmann | %      |
|-------|------------------|---------------|-------------|----------------------|--------|
| G22   | 0                | 0             | 1           | 0,96962              | 96,962 |
| T22   | 2,07             | 8660,88       | 0,0303335   | 0,02941              | 2,941  |
| G12   | 4,09             | 17112,56      | 0,0010012   | 0,00097              | 0,097  |
| Summa | -                | -             | 1,031334685 | 1                    | 100    |

Koska glykolihappo ja vesi sekoittuvat jo ennen substraattia, oletetaan ympäröiväksi lämpötilaksi huoneenlämpö. Jos lämpötilaa laskettaisiin, yhtälön 23 mukaan ekspo-

nennti kasvaksi ja täten muiden, kuin 0-energisten vesikompleksien suhteellinen esiintymistodennäköisyys laskisi huomattavasti. Taulukko 2 ja Taulukko 3 osoittavat, että alinenergiisiä (0-energian) komplekseja on huomattavasti enemmän myös huoneenlämmössä, kuin muita, korkeampienergiisiä kompleksia. Lisäksi glykolihapon ja veden suhde on näytteessä tuntematon, eikä sitä voida täysin tarkasti määrittää.



**Kuva 9:** Todennäköisimmät GA/H<sub>2</sub>O kompleksit.



**Kuva 10:** Todennäköisimmät GA/2 H<sub>2</sub>O kompleksit.

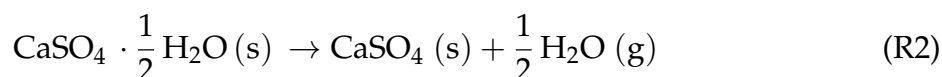
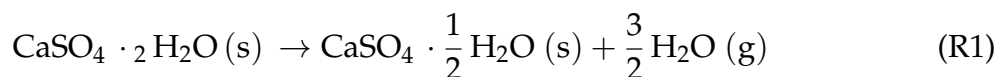
## 5 Kidevedellisen kalsiumsulfaatin käyttö veden lähteenä matriisi-isolaatiossa

Projektissa tarkoituksena on käyttää kidevedellistä kalsiumsulfaattia yhdisteenä, jolla näytteeseen saadaan kontrolloidusti tuotua vettä erillisen depositointilinjan kautta.

Tarkoituksena on tutkia, soveltuuko  $\text{CaSO}_4$  lämpötilan kontrolloinnin avulla veden lähteeksi vakuumijärjestelmässä. Tämän takia vaaditaan, että kidevesi ei ala vapautua vakuumin vaikutuksesta huoneenlämmössä/ilman lämpötilan nostamista. Kyseinen menetelmä on matriisi-isolaatiossa uusi, joten sen toimivuudesta ei vielä voida olla täysin varmoja. Toinen vaihtoehto olisi tuoda vettä näytteeseen suoraan vedestä, mutta tällöin vettä tulisi luultavimmin liikaa suhteessa glykolihappoon.

Artikkelin<sup>20</sup> mukaan kidevedellinen kalsiumsulfaatti yhdisteenä voisi olla hyvä lähtökohta veden saamiseksi näytteeseen, koska sen vapauttamaa kidevettä voidaan kontrolloida joko lämmityksen tai höyrynpaineen avulla. Vakuumissa höyrynpaineen kontrollointi on vaikeaa, joten kontrollointi toteutetaan lämpötilan säätelyllä. Tarvittaessa, jos kidevettä alkaa vapautua jo huoneenlämmössä, yhdiste voidaan jäähdyttää nestemäisen tyyppien avulla ja antaa lämmetä hitaasti takaisin huoneenlämpöön, jolloin vettä pitäisi myös vapautua vielä vähemmän. Toisen lähteen<sup>21</sup> mukaan veden ei pitäisi kuitenkaan vapautua vakuumissa ilman lämpötilan nostamista. Kalsiumsulfaatin tarvittavalle määrälle voidaan tehdä arvio hyödyntäen ideaalikaasulakia.

Kalsiumsulfaatti luovuttaa vettä kaksivaiheisessa reaktiossa<sup>20</sup>:



Täten kidevettä pitäisi myös saada reaktion molemmissa vaiheissa kinetiikan<sup>21</sup> mukaisesti. Reaktio R1 vaatii myös korkeamman lämpötilan (enemmän energiaa) kuin reaktio R2. Kokeessa yritetään haarukoida ensimmäisen reaktion toteutumiseen vaadittava lämpötila. Vettä halutaan lisäksi mahdollisimman tasaista ja melko hidasta vauhtia, jotta se saataisiin näytteeseen monomeerisenä eikä suurina rypäinä.

## 6 Tutkimusprojekti

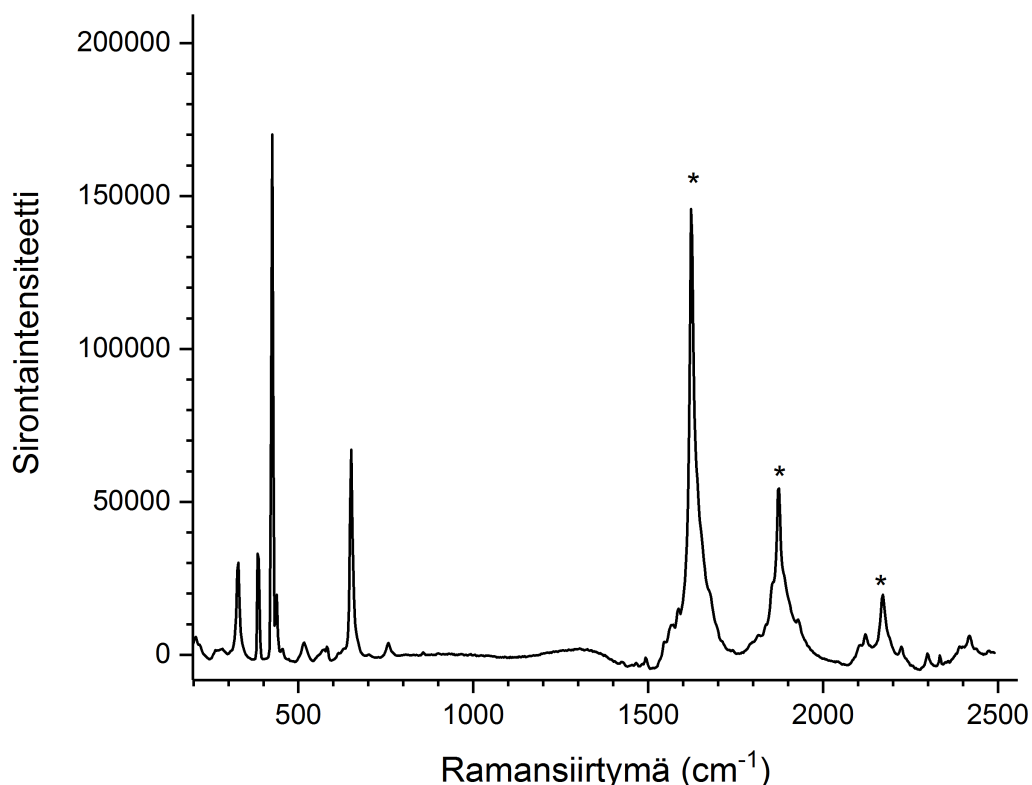
Työ aloitettiin Ramanspektroskopiolla tarkoituksena mitata pelkkä glykolihappo argonmatriisissa referenssispektriä, koska mittausasetelma Ramanmittauksille oli valmiina. Mittausasetelma oli takaisinsirontageometriassa, jossa lasersäde ohjataan substraatille näytteeseen ja siitä takaisin siroavaa Stokes-sirontaa kerätään CCD-kameralla. Ramanspektreissä x-akselin kalibraation suoritti automaattisesti mittausohjelmaan koodattu aliohjelma, jonka avulla myös itse spektrit mitattiin. Laitteiston kohina poistettiin spektristä mittaamalla taustaspektri (background), joka vähennettiin varsinaisesta spektristä. CCD-kamera pidettiin mittauksissa  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  lämpötilassa kohinan minimoimiseksi. Projektin Ramanlaitteisto, kuten Kuva 6:n laitteisto koostui seuraavista komponenteista: a. Coherent Verdi 532 nm, b. Andor Newton, c. Acton Spectrapro 2500i, d. Semrock RazorEdge Ultrasteep -pitkääpäästösuodin, e. Akromaattilinsi f(120 mm) ja f. APD 202A-kryostaatti (ulkoikkunat:  $\text{CaF}_2$ , substraatti: safiiri, jäähdytys nestemäisellä heliumikierrolla). Lämpötilan mittaus ja kontrollointi suoritettiin Lake Shore 330 -lämpötilasäätimellä. Näytteen valmistuksessa argonkaasua johdetaan kapillaaria pitkin substraatille Kuva 2:n mukaisesti, on esivakuumpumppu sekä turbopumppu. Pumpuilla vakuumi saadaan noin  $10^{-6}$  bar kertaluokkaan. Depositioitua argonia mitattiin jännitemittarin sekä painemittarin (MKS Baratron, kapasitiivinen mittaus) avulla. Depositiointilinjassa mitattu paine muutetaan jännitteeksi relaatiolla  $100\text{ torr} = 1\text{ V}$ . Täten esim. 50 torr depositio aiheuttaa jännitteessä 0,5 V laskun. Lisäksi paine voidaan muuttaa ideaalikaasulailla ainemääräksi, joka on depositioidun kaasun määrän käsittelyssä selkeämpi ja kuvaavampi suure. Ideaalikaasulaki on muotoa

$$pV = nRT \Leftrightarrow n = \frac{pV}{RT}, \quad (25)$$

jossa  $p$  on depositioidun kaasun kokonaispaine (Pa),  $V$  kaasun depositiointitilavuus ( $0,002\text{ m}^3$ ), joka pysyy mittauksien ajan vakiona,  $n$  kaasun ainemäärä (mol),  $R$  moolinen kaasuvakio ( $8,3145\text{ J/K mol}$ ) ja  $T$  vallitseva lämpötila (298 K). Spektreissä käytetyistä lyhenteistä  $T_d$  tarkoittaa depositiointilämpötilaa (K),  $n_d$  depositioidun argonin kokonaisainemäärää (mmol), joka on laskettu ideaalikaasulailla ja  $v_d$  depositiointi-

nopeutta (mmol/min), jossa ainemäärä on suhteutettu kokonaisdeposition kuluneeseen aikaan.

Alun mittauksissa huomattiin, että Ramanilla mitatuissa spektreissä esiintyi voimakas epäpuhtaus glykolihapon C=O-alueella (n. 1600-1800  $\text{cm}^{-1}$ ). Epäpuhtauden piikit estivät glykolihapon signaalin havaitsemisen.

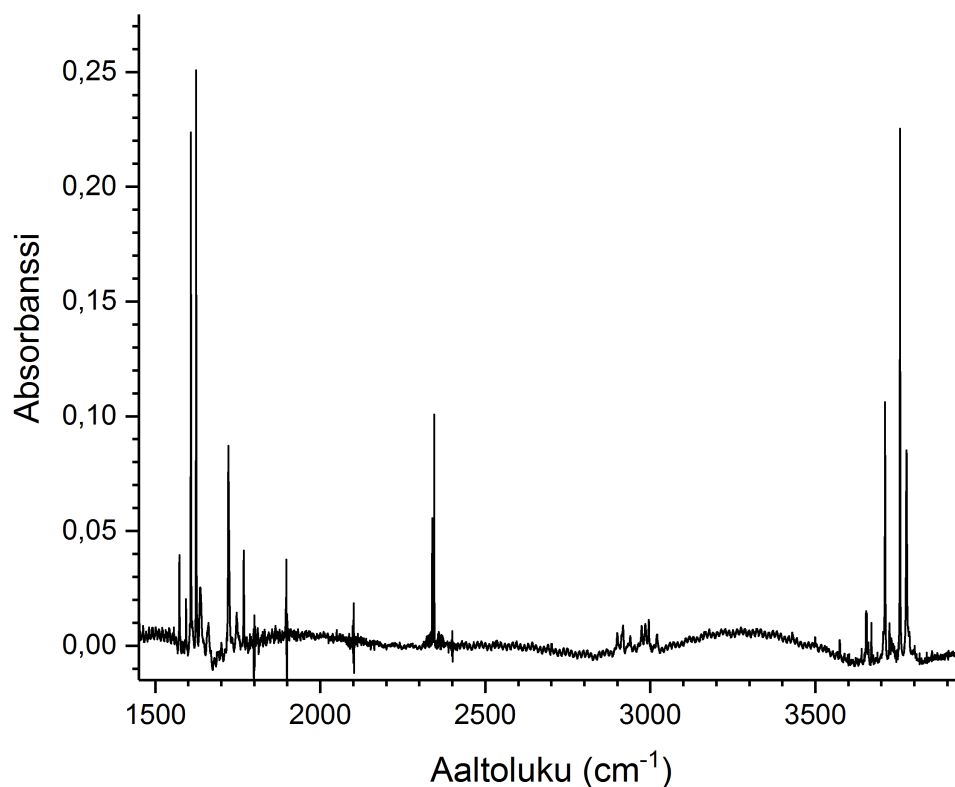


**Kuva 11:** Ramanspektri glykolihapolle argonmatriisissa. \* on epäpuhtaudesta aiheutuva signaali, alle  $1000 \text{ cm}^{-1}$  piikit aiheutuvat kryostaatin ulkoikkunoista ( $\text{CaF}_2$ ) tai safiirista.  $T_d = 18 \text{ K}$ ,  $v_d = 0,11 \text{ mmol/min}$ ,  $n_d = 3,4 \text{ mmol}$ ,  $P_{\text{laser}} = 200 \text{ mW}$ , mittaus  $10 \times 10 \text{ s}$ . Pikselit yhdistetty  $20 \times 2$  superpikseleiksi. (Mitattu 27.3.2018).

Epäpuhtauden poistamiseksi koko vakuuminjasto pestiin, huuhdeltiin asetonilla ja etanolilla sekä kuivattiin käyttäen kuumailmapuhallinta. Myös toista argonkaasupulloa (Scientific argon 6.0) kokeiltiin, mutta sekään ei poistanut epäpuhtautta. Epäpuhtauden uskotaan olevan jonkin orgaanisen aineen fluoresenssi, koska sen intensiteetti oli niin voimakas verrattuna tyypillisiin Ramansignaaleihin. Voimakkaaseen fluoresenssiin, verrattuna Ramansignaaliin, riittää hyvin pieni määrä epäpuhtautta. Koska laitteiston puhdistaminen ei auttanut epäpuhtauden poistamisessa, menetel-

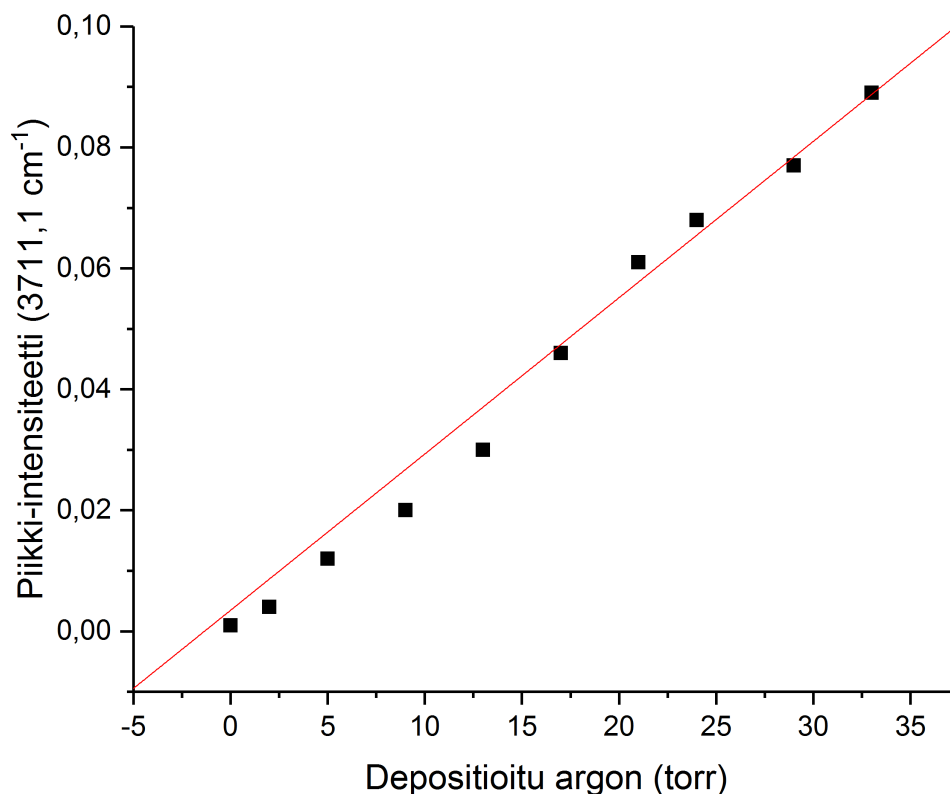
mä vaihdettiin IR-spektroskopiaan, joten tästä eteenpäin esitetyt spektrit ovat IR-absorptiospektrejä.

IR-spektroskopiolla ensimmäinen tavoite oli selvittää, näkyykö siinä sama epäpuhtaus mittaamalla pelkkää argonmatriisia. IR-spektrissä ei havaittu samoja piikkejä kuin Raman-spektrissä, mutta OH-alueelle ( $\nu > 3500 \text{ cm}^{-1}$ ) syntyi uusia epäpuhtauspiikkejä. Tämä osittain tukee fluoresenssi-teoriaa, koska se näkyisi vain Ramanmittauksissa IR:n ollessa absorptiomittaus. IR-spektrometrinä käytettiin Thermo Nicolet Mattson IR 300 Spectrometer -spektrometriä (resoluutio  $1 \text{ cm}^{-1}$ ). IR:ssä mitattiin ensin tausta (background), jolla esim. ilman vesihöyry sekä hiilidioksidi saatiin asetettua ns. nollatasolle. Taustaspektri vähennetään lopullisesta spektristä, jotta siitä saadaan pois kaikki taustassa näkyvät, ylimääräiset piikit. Taustaspektri toimii täten ikään kuin nollaliuksena, jolla mittaus kalibroidaan.



**Kuva 12:** Argonmatriisin IR-spektri. Negatiiviset absorbanssit ovat laitteistosta johtuvia virheellisiä arvoja, joten ne on rajattu kuvasta.  $T_d = 11 \text{ K}$ ,  $n_d = 3,8 \text{ mmol}$ ,  $v_d = 0,05 \text{ mmol/min}$  ja mittauksessa 64 skannausta. (Mitattu 16.4.2018).

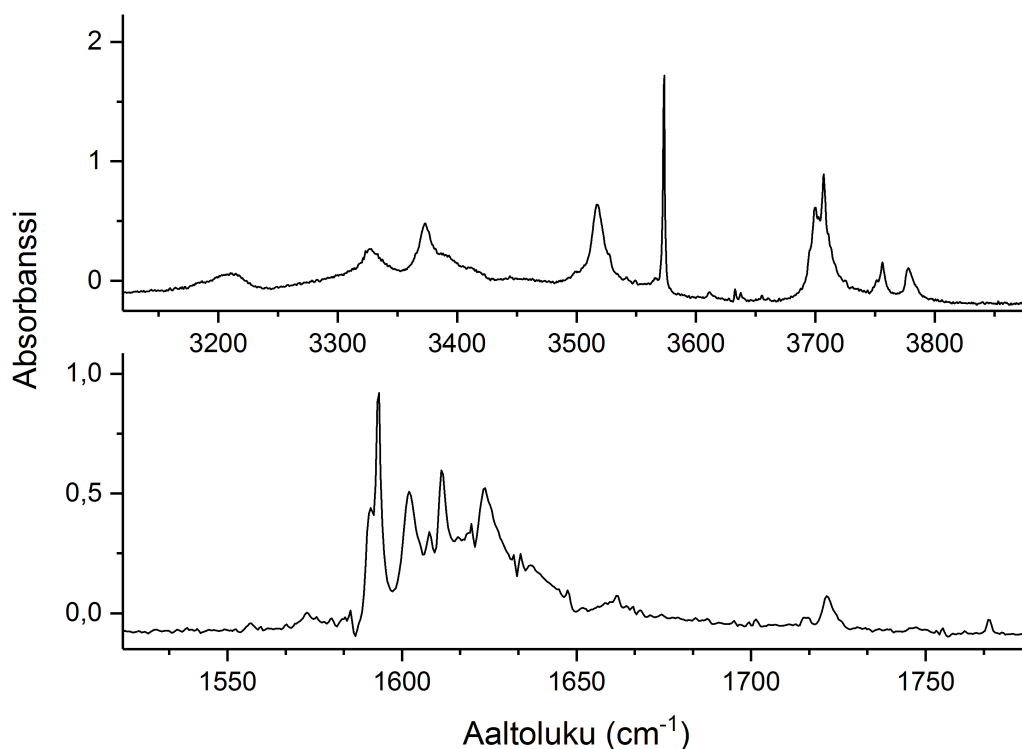
Epäpuhtaus näkyy aaltoluvuilla  $\nu > 3500 \text{ cm}^{-1}$ . Sen määrän huomattiin olevan depositionsuhteeseen verrannollinen. Tämä voitiin todeta tutkimalla aaltoluvulla  $3711,1 \text{ cm}^{-1}$  olevan epäpuhtauspiikin kasvua depositionsuhteen.



**Kuva 13:** Epäpuhtauden ja argonin relaatio on kokeelliseen dataan tehty suoransovitus.

Kuva 13 osoittaa, että epäpuhtaus kasvaa hyvin lineaarisesti, joten sen voidaan olettaa kulkeutuvan argonin mukana. Piikki-intensiteettiä (piikin korkeutta) voidaan käyttää piikin pinta-alan sijasta, koska piikin muoto pysyy samana, joten intensiteetin muutos on suoraan verrannollinen pinta-alaan.

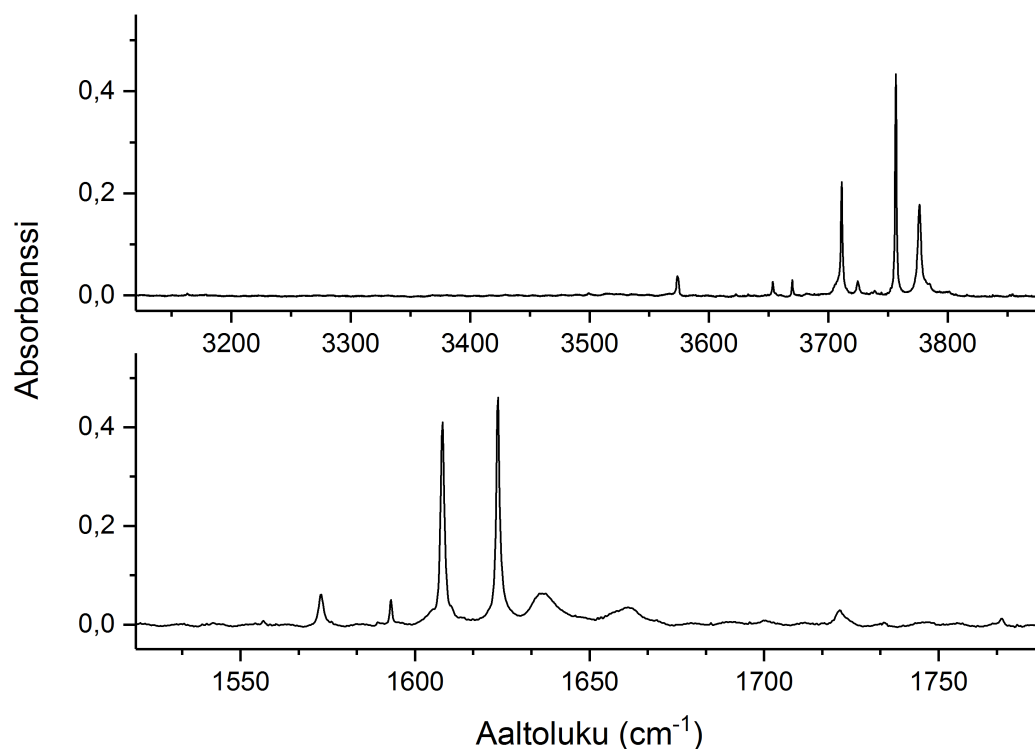
Kun argonista saatiin vertailuspektri jatkettiin lopullisen kompleksinvalmistuksen yksittäisten komponenttien optimointia mittaamalla niitä yksittäin. Seuraavaksi alettiin optimoida veden depositionsuhteita. Tässä vaiheessa koetta rajoitettiin tutkimaan -OH ja -C=O-alueita, koska veden sekä glykolihapon voimakkaimmat värähdykset tapahtuvat näillä alueilla. Aluksi vettä depositionsuhteettiin suoraan teflonhangan läpi kolvista, mutta tällöin vettä tuli liian paljon ja se isoiloitui polymeereinä matriisiin.



**Kuva 14:** Vesi argonmatriisissa ilman venttiiliä.  $T_d = 18$  K,  $v_d = 0,05$  mmol/min,  $n_d = 2,5$  mmol ja 2 skannausta. (Mitattu 10.4.2018).

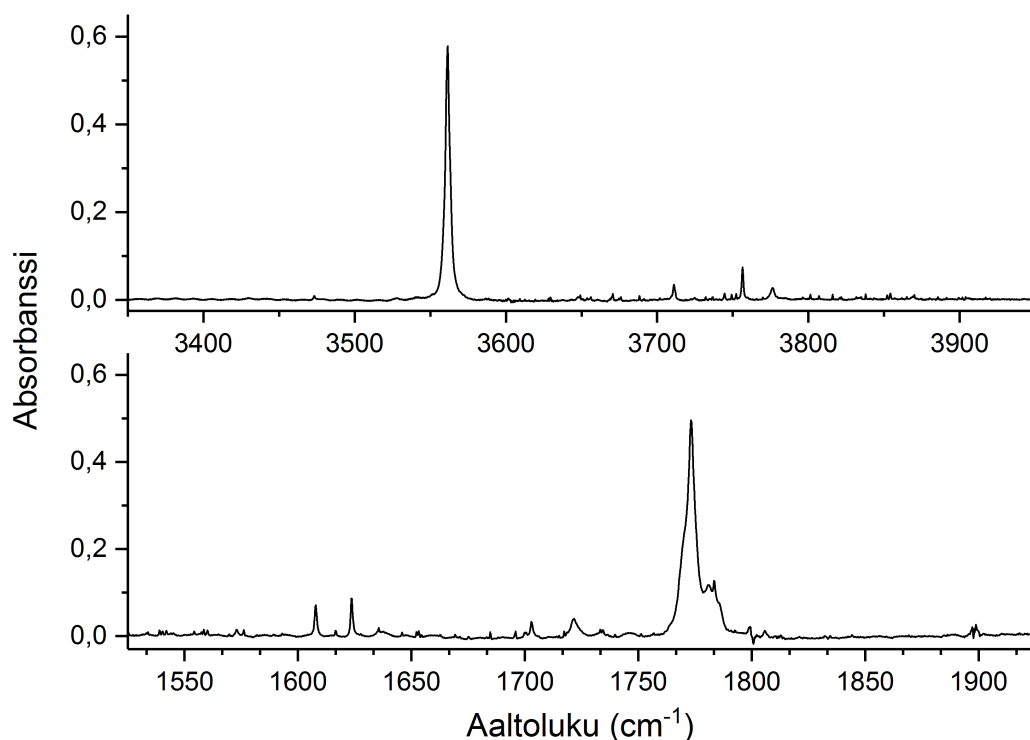
Kidevedellisestä yhdisteestä voitiin päätellä, että kidevesi alkoi vapautua jo pelkääntään vakuumin vaikutuksesta. Myöskään kolvin kylmentäminen nestemäisellä tyypellä ei auttanut, vaan vettä tuli yhä liikaa ja tarvittiin tarkemmin kontrolloitava depositiointimenetelmä kuin teflonhana. Koska kideveden irtoamisolosuhteisiin ei pystytty vaikuttamaan, laitteistoa muutettiin siten, että argonin depositioinnissa käytetty neulaventtiili siirrettiin teflonhanan tilalle ja argonin depositiointiin vaihdettiin epätarkempi venttiili. Tämän avulla voitiin etsiä neulaventtiilistä lukema, jolla vettä saadaan tarpeeksi hitaasti näytteeseen ja jolla vesi isoituu mahdollisimman mono-/dimeerisenä. Neulaventtiiliä lähdettiin avaamaan nolasta aina 50 yksikköä kerrallaan ja mittaamalla tästä spektri hetken depositioinnin jälkeen. Täten määriteltiin asento, jossa vettä alkaa vapautua sopivan hitaasti. Neulaventtiilin asetukseksi määritettiin lukema 425, joka kuvaa neulaventtiilin asentoa (0 = täysin kiinni, 999 = täysin auki). Myös spektrometri vaihdettiin samalla Nicolet Magna-IR 550 (resoluutio  $0,5$   $\text{cm}^{-1}$ ) -spektrometriin, koska vanha spektrometri ei toiminut täysin oikein ja uudella saatiin enemmän valotehoa sekä parempi resoluutio.





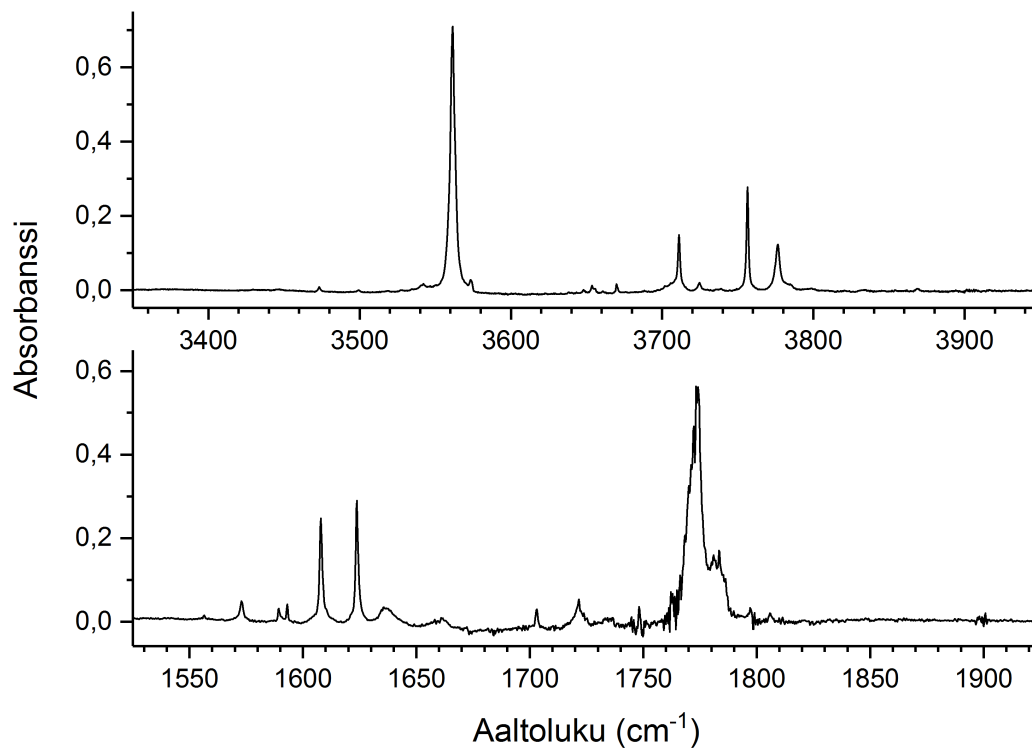
**Kuva 15:** Vesi argonmatriisissa, kun neulaventtiilin asento oli 425.  $T_d = 11$  K,  $n_d = 3,3$  mmol,  $v_d = 0,05$  mmol/min ja 64 skannausta. (Mitattu 13.4.2018).

Kuva 15:sta voidaan huomata, että vettä saatiin kontrolloidumpi määrä ja se isoitui enemmän mono-/dimeerisenä. Neulaventtiilin pystyi myös jättämään tähän asentoon ja sulkemaan läpäisyn koskematta säätöihin, joten venttiili oli suoraan valmis seuraavaan mittaukseen. Lisäksi kidevedellistä yhdistettä punnittiin alunperin kolviin (5,02 g), joten kideveden oletettiin myös riittävän loppuihin kokeisiin. Näillä asetuksilla veden depositio oli saatu optimoitua, joten seuraavaksi mitattiin glykolihappo argonmatriisissa, jotta puhtaasta glykolihaposta saatiin referenssispektri.

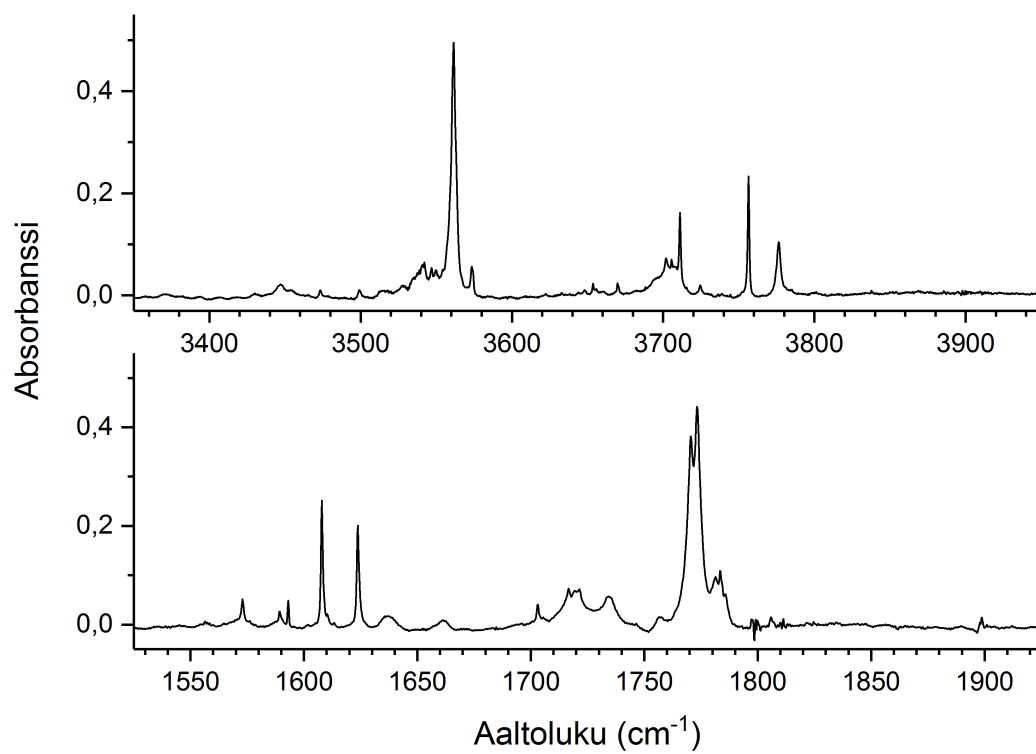


**Kuva 16:** Glykolihappo argonmatriisissa.  $T_d = 11$  K,  $n_d = 4,6$  mmol,  $v_d = 0,05$  mmol/min ja 64 skannausta. (Mitattu 18.4.2018).

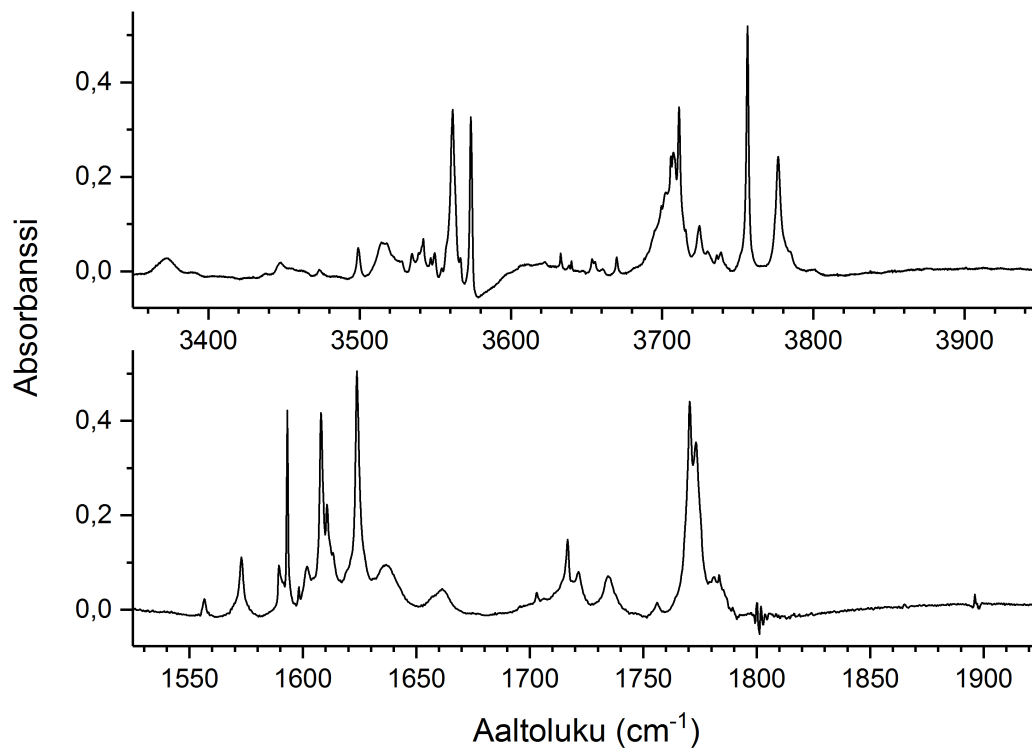
Lopulta, kun kaikki osa-alueet oli optimoitu sopivaksi, mitattiin vesi/glykolihappoyhdistelmä kahdella eri veden depositionsasetuksella (425 ja 435). Aluksi näytteen depositionsasetettiin muutama torr glykolihappoa/argonia, jonka jälkeen avattiin vesilinja. Näytteen valmistuksen jälkeen sille suoritettiin vielä lisäksi lämmityskoe, jossa näytteen lämpötilaa nostettiin noin 10 minuutin ajaksi 25–33 K:iin, jonka jälkeen se laskettiin takaisin 11 K ja mitattiin spektri.



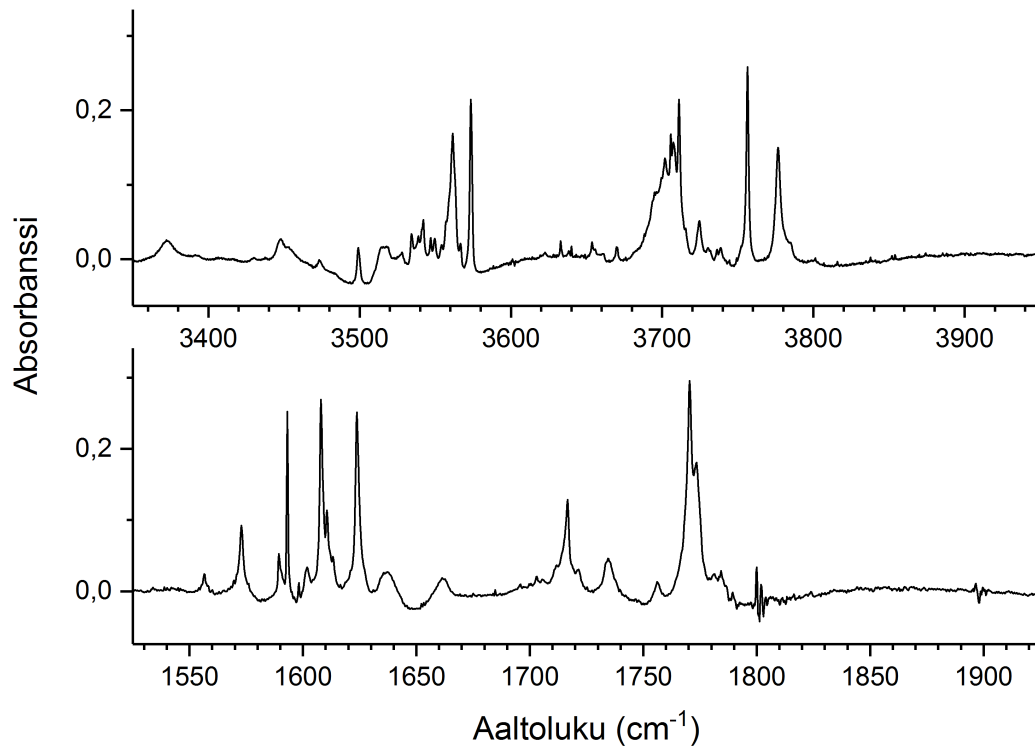
**Kuva 17:** Vesikompleksin spektri deposition jälkeen (1. mittaus). Vesiventtiilin asento 425.  $T_d = 11$  K,  $n_d = 4,6$  mmol,  $v_d = 0,05$  mmol/min ja 64 skannausta. (Mitattu 19.4.2018).



**Kuva 18:** 1. mittauksen kompleksi lämmityskokeen (33 K) jälkeen.



**Kuva 19:** Vesikompleksin spektri deposition jälkeen. Vesiventtiilin asento muutettiin 435:ksi.  $T_d = 11$  K,  $n_d = 5,2$  mmol,  $v_d = 0,05$  mmol/min ja 64 skannausta. (Mitattu 20.4.2018).



**Kuva 20:** 2. mittauksen kompleksi lämmityskokeen (33 K) jälkeen.

Veden sekä glykolihamon spektreistä määritettiin jokainen niille kuuluva värähdys, jotta kompleksi voidaan todentaa uusien piikkien avulla. Kompleksi saattaa myös hieman siirtää glykolihamon sekä veden piikkejä.

**Taulukko 4:** Työssä havaitut OH-alueen värähdykset aaltolukuina ( $\text{cm}^{-1}$ ) eri molekyyille, tunnistettuna kirjallisuuden avulla (vesi: viite 22 ja glykolihappo: viitteet 3,19,23,24 ja 25). Vesikompleksille tunnistetut piikit ovat työssä määritettyjä.

| H <sub>2</sub> O    | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> | (1.mittaus) H <sub>2</sub> O/C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> | (2.mittaus) H <sub>2</sub> O/C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> |
|---------------------|--|---|---|
| 3573,5 <sup>3</sup> | 3561,4 <sup>4</sup>                          | 3446,9 <sup>6</sup>   | 3372,2 <sup>7</sup>   |
| 3653,5 <sup>1</sup> | 3711,1 <sup>1</sup>                          | 3473,4 <sup>6</sup>   | 3447,6 <sup>7</sup>   |
| 3669,6 <sup>1</sup> | 3756,4 <sup>1</sup>                          | 3499,2 <sup>6</sup>   | 3499,2 <sup>7</sup>   |
| 3711,1 <sup>1</sup> | 3776,2 <sup>1</sup>                          | 3542,1 <sup>6</sup>   | 3517,8 <sup>5</sup>   |
| 3724,6 <sup>2</sup> |  | 3561,4 <sup>4</sup>   | 3534,6 <sup>7</sup>   |
| 3738,6 <sup>2</sup> |  | 3573,5 <sup>3</sup>   | 3542,1 <sup>7</sup>   |
| 3756,4 <sup>1</sup> |  | 3653,5 <sup>1</sup>   | 3546,9 <sup>6</sup>   |
| 3776,2 <sup>1</sup> |  | 3669,9 <sup>1</sup>   | 3549,6 <sup>7</sup>   |
|                     |  | 3701,9 <sup>7</sup>   | 3561,4 <sup>4</sup>   |
|                     |  | 3711,1 <sup>1</sup>   | 3566,7 <sup>6</sup>   |
|                     |  | 3724,8 <sup>2</sup>   | 3573,5 <sup>3</sup>   |
|                     |  | 3756,4 <sup>1</sup>   | 3632,8 <sup>7</sup>   |
|                     |  | 3776,7 <sup>1</sup>   | 3653,5 <sup>1</sup>   |
|                     |  |   | 3669,9 <sup>1</sup>   |
|                     |  |   | 3701,8 <sup>6</sup>   |
|                     |  |   | 3707,0 <sup>7</sup>   |
|                     |  |   | 3711,1 <sup>1</sup>   |
|                     |  |   | 3724,6 <sup>2</sup>   |
|                     |  |   | 3738,8 <sup>2</sup>   |
|                     |  |   | 3756,4 <sup>1</sup>   |
|                     |  |   | 3776,7 <sup>1</sup>   |

<sup>1</sup>Argonmatriisin spektrissä näkyvä, mahdollinen epäpuhtauspiikki.

<sup>2</sup>Veden monomeeri.

<sup>3</sup>Veden dimeeri.

<sup>4</sup>Glykolihapon SSC-konformeeri.

<sup>5</sup>Tunnistamaton piikki.

<sup>6</sup>Lämmityskokeiden vaikutuksesta syntynyt kompleksin piikki.

<sup>7</sup>Vesikompleksin piikki.

**Taulukko 5:** Työssä havaitut C=O-alueen värähdykset aaltolukuina ( $\text{cm}^{-1}$ ) eri molekyyille, tunnistettuna kirjallisuuden avulla (vesi: viite 22 ja glykolihappo: viitteet 3, 19, 23, 24 ja 25). Vesikompleksille tunnistetut piikit ovat työssä määritettyjä.

| H <sub>2</sub> O    | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> | (1.mittaus) H <sub>2</sub> O/C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> | (2.mittaus) H <sub>2</sub> O/C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> |
|---------------------|--|---|---|
| 1573,1 <sup>1</sup> | 1607,8 <sup>1</sup>                          | 1572,9 <sup>1</sup>   | 1556,5 <sup>9</sup>   |
| 1593,2 <sup>2</sup> | 1623,7 <sup>1</sup>                          | 1589,3 <sup>9</sup>   | 1572,9 <sup>1</sup>   |
| 1607,8 <sup>1</sup> | 1702,8 <sup>7</sup>                          | 1593,2 <sup>2</sup>   | 1589,3 <sup>9</sup>   |
| 1623,7 <sup>3</sup> | 1721,6 <sup>1</sup>                          | 1607,8 <sup>1</sup>   | 1593,2 <sup>2</sup>   |
| 1636,5 <sup>1</sup> | 1773,2 <sup>4</sup>                          | 1623,7 <sup>3</sup>   | 1601,8 <sup>9</sup>   |
| 1660,9 <sup>1</sup> | 1783,6 <sup>6</sup>                          | 1636,8 <sup>1</sup>   | 1607,8 <sup>1</sup>   |
| 1721,6 <sup>1</sup> | 1799,2 <sup>7</sup>                          | 1661,4 <sup>1</sup>   | 1610,5 <sup>9</sup>   |
|                     | 1805,7 <sup>5</sup>                          | 1703,1 <sup>7</sup>   | 1623,7 <sup>3</sup>   |
|                     | 1898,8 <sup>7</sup>                          | 1716,6 <sup>9</sup>   | 1638,0 <sup>1</sup>   |
|                     |  | 1721,4 <sup>1</sup>   | 1661,1 <sup>1</sup>   |
|                     |  | 1734,2 <sup>9</sup>   | 1716,6 <sup>9</sup>   |
|                     |  | 1748,1 <sup>9</sup>   | 1721,6 <sup>1</sup>   |
|                     |  | 1756,6 <sup>8</sup>   | 1734,6 <sup>9</sup>   |
|                     |  | 1762,1 <sup>9</sup>   | 1756,1 <sup>9</sup>   |
|                     |  | 1770,4 <sup>8</sup>   | 1770,4 <sup>9</sup>   |
|                     |  | 1773,2 <sup>4</sup>   | 1773,2 <sup>4</sup>   |
|                     |  | 1783,3 <sup>6</sup>   | 1783,3 <sup>6</sup>   |

<sup>1</sup>Argonmatriisin spektrissä näkyvä, mahdollinen epäpuhtauspiikki.

<sup>2</sup>Veden dimeeri.

<sup>3</sup>Veden polymeeri sekä Argonmatriisin spektrissä näkyvä, mahdollinen epäpuhtauspiikki.

<sup>4</sup>Glykolihapon SSC-konformeeri.

<sup>5</sup>Glykolihapon AAT-konformeeri.

<sup>6</sup>Glykolihapon GAC-konformeeri.

<sup>7</sup>Tunnistamaton piikki.

<sup>8</sup>Lämmityskokeiden vaikutuksesta syntynyt kompleksin piikki.

<sup>9</sup>Vesikompleksin piikki.

Lämmityksen vaikutuksesta jotkin rakenteet relaxoituvat, joka näkyy piikkien paikkojen tai intensiteettien muutoksena spektreissä. Lämmityksessä matriisi lämpenee sen verran, että molekyylit pääsevät liikkumaan mahdolliseen matalampaan energiaan. Kun molekyylit isoituvat, ne eivät välttämättä ole matalimmalla energialla/optimaalisimmassa asennossa. Osaa piikeistä ei pystytty varmasti tunnistamaan, koska se ei täsmännyt kirjallisuusarvoihin ja esiintyi jo ennen kompleksinvalmistusta.



## 7 Yhteenveto

Työn tuloksista voidaan sanoa, että kandidiprojekti oli kaiken kaikkiaan erittäin onnistunut. Tutkielmassa tutustuin perusteellisesti matriisi-isolaation perusteisiin, joka oli täysin uutta asiaa. Lisäksi syvensin tietojani IR- sekä Ramanspektroskopioista ja projektissa pääsin käyttämään molempia menetelmiä. Vesikompleksien esiintymistodennäköisyyksiä laskiessa oli yllättävää huomata, kuinka Boltzmannin jakaumaa voitiin soveltaa aihepiiriin.

Vaikka työ oli haastava, oli se hyvin mielenkiintoinen koko ajan. Erityisen mukavaa kokeellisessa osassa oli nähdä eri, miten eri laitteistot (vakuumi-/deposiointilinja, Ramanlaitteisto ja 2 IR-spektrometriä) koostuvat, miten ne toimivat ja miten niitä voidaan säätää tai huoltaa mittauksia varten.

Koska lopuksi saimme kokeellisen havainnon vesikompleksista sekä toimivan menetelmän lisätä vettä kidevedellisestä yhdisteestä, päästiin työn tavoitteisiin ja tämän ansiosta työ on tulevaisuutta ajatellen merkittävä. Myös aikataulullisesti työ sujui kuten oli suunniteltu. Erittäin palkitsevaa oli saada mitattua vesikompleksille spektri, jossa näkyi eroavaisuuksia puhtaaseen glykoliin happoon sekä puhtaaseen veteen verrattuna uusien piikkien muodossa.

Tutkimusta aiheesta aijotaan jatkaa eteenpäin ohjaajani Jussi Ahokkaan toimesta ja kandidiprojektini oli ensimmäinen osa tätä koesarjaa, joten sillä oli myös siltä kannalta iso merkitys menetelmän kehittämisessä, optimoinnissa ja käytössä. Veden deposiointimenetelmää voidaan jatkossa hyödyntää matriisi-isolaatiokokeissa.

## Viitteet

1. Thakkar A. J., Kassimi N. E.-B., Hu S. Hydrogen-bonded complexes of glycolic acid with one and two water molecules. *Chemical physics letters* **2004**, *387*, 142–148.
2. Rathin D., *Hydroxycarboxylic Acids*, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, Inc, **2004**.
3. Halasa A., Lapinski L., Reva I., Rostkowska H., Fausto R., Nowak M. J. Near-infrared laser-induced generation of three rare conformers of glycolic acid. *The Journal of Physical Chemistry A* **2014**, *118*, 5626–5635.
4. Gu Q., Shen D., Tang Z., Wu W., Su P., Xia Y., Yang Z., Trindle C. O. Dissection of H-bonding interactions in a glycolic acid-water dimer. *Physical chemistry chemical physics: PCCP* **2017**, *19*, 14238–14247.
5. Havey D. K., Feierabend K. J., Takahashi K., Skodje R. T., Vaida V. Experimental and theoretical investigation of vibrational overtones of glycolic acid and its hydrogen bonding interactions with water. *The Journal of Physical Chemistry A* **2006**, *110*, 6439–6446.
6. Vaida V., Donaldson D. Red-light initiated atmospheric reactions of vibrationally excited molecules. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2014**, *16*, 827–836.
7. Donaldson D., Tuck A., Vaida V. Atmospheric photochemistry via vibrational overtone absorption. *Chemical reviews* **2003**, *103*, 4717–4730.
8. Dunkin I. R., *Matrix-isolation techniques: a practical approach*, Oxford University Press, **1998**.
9. Olbert-Majkut A., Ahokas J., Lundell J., Pettersson M. Investigating isomerization reactions in solid state by using simultaneous high overtone pumping and Raman detection. *The Journal Of Chemical Physics* **2008**, *129*, 041101-1–041101-3.
10. Hallam H. E., et al., *Vibrational spectroscopy of trapped species*, Wiley, **1973**.
11. Umrath W., et al., *Grundlagen der Vakuumtechnik*, Leybold Vakuum, **1997**.
12. Dent G., Smith G., *Modern Raman spectroscopy: a practical approach*, John Wiley & Sons, **2005**.

13. Stuart B., *Infrared spectroscopy: Fundamental and applications*, John Wiley & Sons, **2004**.
14. Atkins P. W., de Paula J., *Atkins' Physical Chemistry*, Oxford University Press, **2010**.
15. Larkin P., *Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*, Elsevier, **2017**.
16. Schrader B., *Infrared and Raman spectroscopy Methods and Applications*, VCH Verlagsgesell Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, **1995**.
17. Smith B. C., *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*, CRC press, **2011**.
18. Olbert-Majkut A., Ahokas J., Lundell J., Pettersson M. Raman spectroscopy of formic acid and its dimers isolated in low temperature argon matrices. *Chemical Physics Letters* **2009**, *468*, 176–183.
19. Reva I. D., Jarmelo S., Lapinski L., Fausto R. First experimental evidence of the third conformer of glycolic acid: combined matrix isolation, FTIR and theoretical study. *Chemical physics letters* **2004**, *389*, 68–74.
20. McAdie H. The effect of water vapor upon the dehydration of  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . *Canadian Journal of Chemistry* **1964**, *42*, 792–801.
21. Molony B., Ridge M. Kinetics of the dehydration of calcium sulphate dihydrate in vacuo. *Australian Journal of Chemistry* **1968**, *21*, 1063–1065.
22. Ayers G., Pullin A. The ir spectra of matrix isolated water species—I. Assignment of bands to  $(\text{H}_2\text{O})_2$ ,  $(\text{D}_2\text{O})_2$  and HDO dimer species in argon matrices. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy* **1976**, *32*, 1629–1639.
23. Reva I. D., Jarmelo S., Lapinski L., Fausto R. IR-induced photoisomerization of glycolic acid isolated in low-temperature inert matrices. *The Journal of Physical Chemistry A* **2004**, *108*, 6982–6989.
24. Hollenstein H., Ha T.-K., Günthard H. H. IR induced conversion of rotamers, matrix spectra, ab initio calculation of conformers, assignment and valence force field of trans glycolic acid. *Journal of molecular structure* **1986**, *146*, 289–307.

25. Hollenstein H., Schär R., Schwizgebel N., Grassi G., Günthard H. H. A transferable valence force field for polyatomic molecules. A scheme for glycolic acid and methyl glycolate. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy* **1983**, 39, 193–213.