



Application Note 410000006-B

Niederfrequente Raman-Spektroskopie

Die Raman-Spektroskopie ist ein Analyseinstrument, das die Messung der Molekülstruktur und die Identifizierung von Materialien auf der Grundlage der Rotations- und Schwingungsmoden eines Moleküls ermöglicht. Die meisten kommerziellen Labor-Raman-Systeme decken den Fingerabdruck-Spektralbereich von 200-3400 cm^{-1} ab.

Die B&W Tek i-Raman Plus BAC102 Sonde kann auf

niederfrequente Moden bis hinunter zu 65 cm^{-1} zugreifen und bietet damit eine kostengünstige Lösung für Messungen in einem größeren Bereich. Der Zugang zu niederfrequenten Bereichen liefert wichtige Informationen für Anwendungen in der Proteincharakterisierung [1], der Erkennung und Identifizierung von Polymorphen [2] sowie der Bestimmung von Materialphasen und -strukturen.

EINFÜHRUNG

Der niederfrequente Bereich erhöht den Informationsgehalt des Fingerabdruckbereichs des Raman-Spektrums und erweitert die möglichen molekularen Anwendungen, wie z. B. den Nachweis

von Wasserstoffbrücken. Das Ergebnis ist eine höhere Nachweisempfindlichkeit und die Unterscheidung von sehr ähnlichen Materialien.

Aminosäuren

Die Raman-Spektroskopie ist eine moderne Methode zur Untersuchung der Struktur und Konformation der Bausteine von Proteinen - der Aminosäuren. Insbesondere die in einem Raman-Spektrum enthaltenen Schwingungsinformationen können bei der Interpretation von molekularen Wechselwirkungen und biologischen Prozessen helfen [3]. Im Gegensatz zu vielen Substanzen, die keine Peaks unterhalb von $\sim 400\text{ cm}^{-1}$ aufweisen, ist

der niederfrequente Teil des Raman-Spektrums eine notwendige Informationsquelle für eine umfassende Untersuchung von Aminosäuren. Dies wird im vollständigen Raman-Spektrum von L-Asparagin deutlich, das von $65\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ reicht (**Abbildung 1**). **Abbildung 1** zeigt sowohl den Fingerprint-Bereich (blau) als auch den niederfrequenten Raman-Bereich (rot) für L-Asparagin; man beachte die drei dominanten Banden unter 200 cm^{-1} .

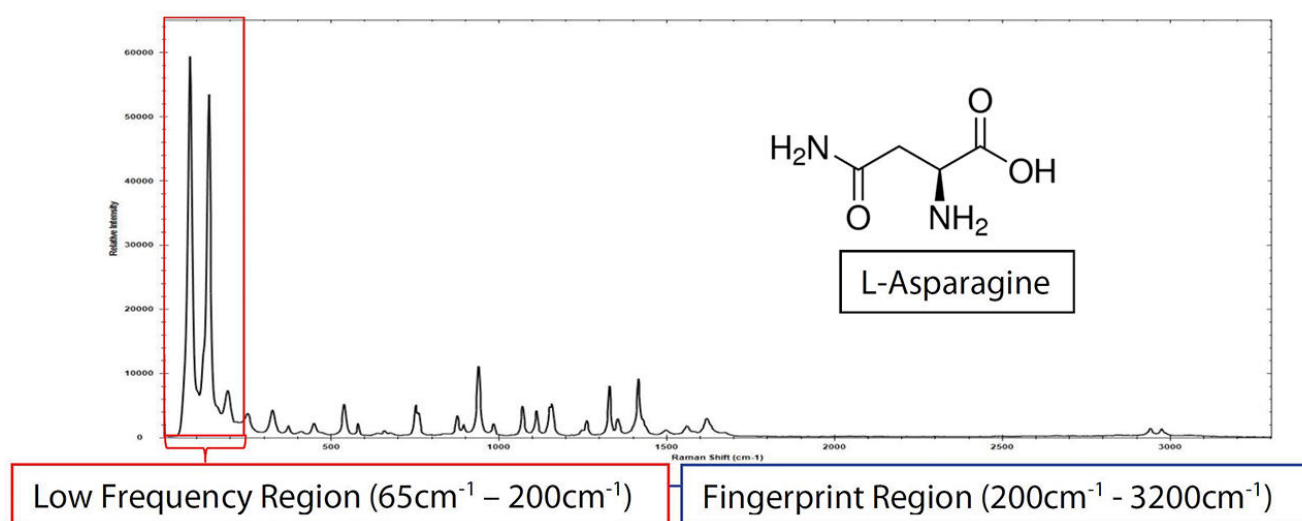


Abbildung 1 i-Raman Plus und eine BAC102 E-Grade-Sonde wurden verwendet, um die Niederfrequenzspektren von L-Asparagin mit einer Gesamtintegrationszeit von 1,2 s zu erfassen.

Für diese Anwendung wurde i-Raman Plus 785S, das Labor-Raman-Spektrometer von B&W Tek mit dem patentierten CleanLaze®, verwendet. Dieses Instrument bietet 785 nm Laseranregung mit einer Linienbreite von weniger als 0,2 nm und einer maximalen Ausgangsleistung von 300 mW. i-Raman Plus ist mit einem empfindlichen, TE-gekühlten, rückseitig verdünnten CCD ausgestattet. Eine BAC102

E-grade Sonde, die eine firmeneigene Technologie nutzt, unterstützt die Datenerfassung innerhalb eines vollen Spektralbereichs von 65-33500 cm^{-1} mit einer spektralen Auflösung von 4,5 cm^{-1} . Raman-Spektren wurden bei Raumtemperatur mit einer Laserleistung von 300 mW und Integrationszeiten zwischen 100 Millisekunden und 10 Sekunden erfasst (**Tabelle 1**).

Tabelle 1. Experimentelle Parameter.

Ausrüstung	Erfassungseinstellungen	
i-Raman Plus 785S	Laserleistung	300 mW
BAC102-Sonde	Integrationszeit	1,2 s
BWSpec-Software	Durchschnittswerte	1

ERGEBNISSE: NACHWEIS VON POLYMORPHIEN

Die Bestimmung der strukturellen Form von pharmazeutischen Wirkstoffen (APIs) ist ein Hauptanliegen der Pharmaindustrie. Dies gilt insbesondere für die Arzneimittelentwicklung, die Herstellung und die Qualitätskontrolle. APIs weisen Polymorphismus auf - identische chemische Zusammensetzung, aber unterschiedliche Festkörperstrukturen. Polymorphien können die Bioverfügbarkeit und den therapeutischen Index

beeinflussen. Die Wirksamkeit eines Arzneimittels kann beeinträchtigt werden, wenn die falsche Form verwendet wird [2]. Pseudo-Polymorphe umfassen Lösungsmittel, die in einer Gitterstruktur suspendiert sind. **Abbildung 2** ist ein Beispiel für das Pseudo-Polymorph D-Glucose, das die Fähigkeit der E-Grade-Sonde zeigt, Unterschiede zwischen der Monohydrat- und der wasserfreien Form bei Frequenzen unter 200 cm^{-1} zu erkennen.

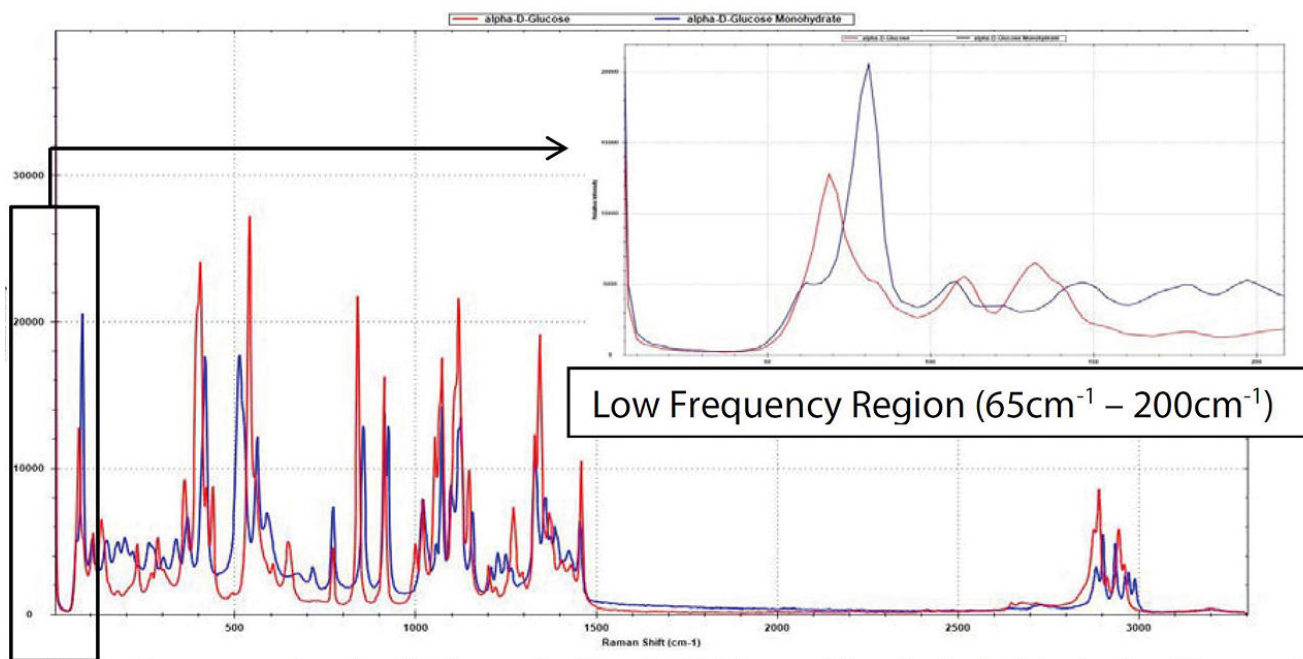


Abbildung 2. Raman-Spektren von α -D-Glucose (rot) und α -D-Glucose-Monohydrat (blau), aufgenommen mit einer Integrationszeit von 10 s. Man beachte den signifikanten Unterschied zwischen den beiden Pseudo-Polymorphen im niederfrequenten Bereich (siehe Einblendung).

ERGEBNISSE: ÜBERWACHUNG DES PHASENWECHSELS

Zur Überwachung von Phasenänderungen wie der Kristallisation in chemischen Prozessen ist eine außergewöhnliche Spezifität erforderlich. Die Niederfrequenzsonde der Klasse E kann solche Phasenänderungen überwachen, wie am Beispiel von Schwefel gezeigt (**Abbildung 3**). Fester α -Schwefel wurde auf einer Aluminiumschale abgeschieden und mit einer Heizplatte erhitzt, während die Raman-Spektren mit einer E-Grade-Sonde und i-Raman Plus

unter Verwendung von 100 % Laserleistung (~ 300 mW) und 0,1 s Integrationszeit sowohl für die feste als auch für die flüssige Phase gesammelt wurden. Nachdem die Probe über ihren Schmelzpunkt bei $115,2^\circ\text{C}$ erhitzt wurde, verbreiterte und verschob sich der niederfrequente Peak bei $83,6\text{ cm}^{-1}$ was auf den Wechsel von der α - zur λ -Form hinweist. Es ist zu beachten, dass innerhalb der Fingerprint-Region keine Veränderungen zu beobachten sind (**Abbildung 3**).

ERGEBNISSE: ÜBERWACHUNG DES PHASENWECHSELS

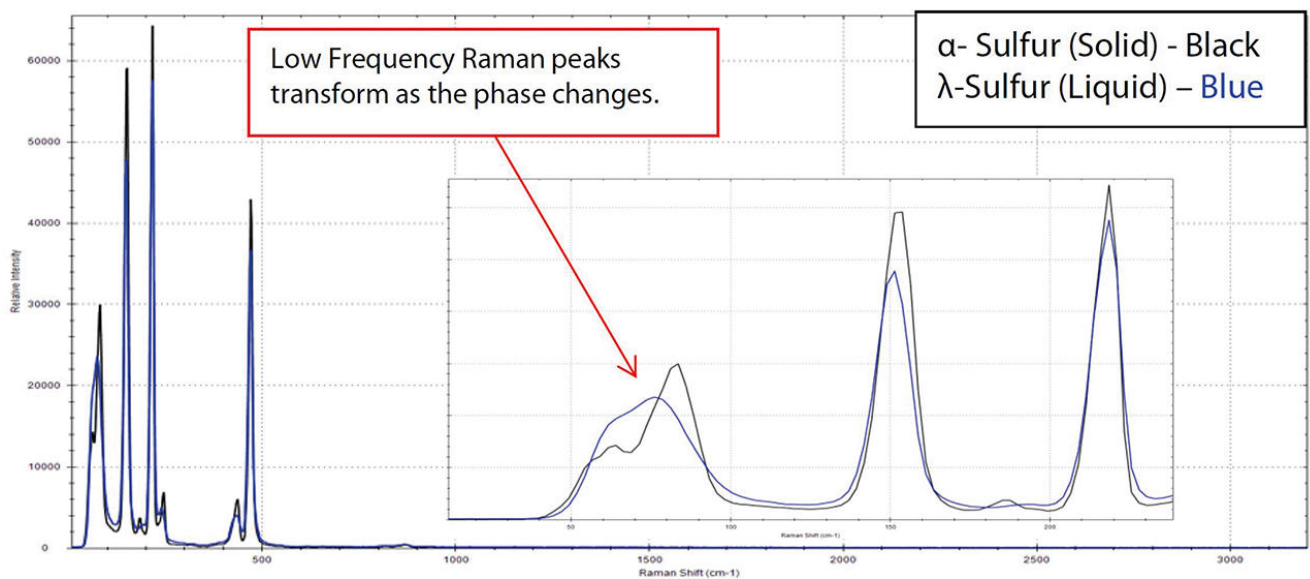


Abbildung 3. Raman-Spektren von Schwefel beim Übergang von der α-kristallinen Form in die λ-flüssige Form, aufgenommen mit einer Integrationszeit von 0,1 s. Man beachte die deutliche Verbreiterung der Peaks im niederfrequenten Bereich (siehe Einblendung).

FAZIT

Das Raman-Spektrometer i-Raman Plus 785S kann in Verbindung mit der Niederfrequenz-E-Grade-Sonde ein wertvolles Werkzeug für Anwendungen sein, die eine Niederfrequenzdetektion bis zu 65 cm⁻¹ erfordern¹. Die Fähigkeit, polymorphe und solvatisierte Formen zu charakterisieren, unterstützt Herstellungs- und Formulierungsprozesse in der pharmazeutischen und

biologischen Industrie.

Neben der Charakterisierung von Proteinen, Polymorphen und Phasen kann die niederfrequente Raman-Spektroskopie auch zur Untersuchung von Halbleitergittern [4], Kohlenstoff-Nanoröhren [5], Solarzellen und einer Reihe von Mineralien, Pigmenten und Edelsteinen eingesetzt werden.

REFERENZEN

1. Teixeira, A. M. R.; Freire, P. T. C.; Moreno, A. J. D.; et al. Hochdruck-Raman-Untersuchung von l-Alanin-Kristallen. *Festkörperkommunikation* **2000**, *116* (7), 405–409.
[https://doi.org/10.1016/S0038-1098\(00\)00342-2](https://doi.org/10.1016/S0038-1098(00)00342-2).
2. Larkin, P. J.; Dabros, M.; Sarsfield, B.; et al. Polymorphe Charakterisierung pharmazeutischer Wirkstoffe (APIs) mittels Niederfrequenz-Raman-Spektroskopie. *Appl Spectrosc* **2014**, *68* (7), 758–776.
<https://doi.org/10.1366/13-07329>.
3. Golichenko, B. Ö.; Naseka, V. M.; Strelchuk, V. V.; et al. Raman-Untersuchung von auf Aluminiumfolien adsorbierten L-Asparagin- und L-Glutamin-Molekülen in einem breiten Frequenzbereich. *Halbleiter. Physik. Quantenelektron. Optoelektron.* **2017**, *20* (3), 297–304.
<https://doi.org/10.15407/spqeo20.03.297>.
4. Smith, E.; Dent, G. *Moderne Raman-Spektroskopie: Ein praktischer Ansatz*, 2. Aufl.; John Wiley & Sons, 2019.
5. Pelletier, M. J. *Analytische Anwendungen der Raman-Spektroskopie*, 1. Aufl.; Blackwell Science: Oxford, 1999.

CONTACT

Metrohm Deutschland
In den Birken 3
70794 Filderstadt

info@metrohm.de

KONFIGURATION



i-Raman Plus 785S Tragbares Raman-Spektrometer

Das i-Raman® Plus 785S ist Bestandteil unserer preisgekrönten Serie der i-Raman tragbaren Raman-Spektrometer mit unserer innovativen intelligenten Spektrometertechnologie. Dieses tragbare Raman-Spektrometer nutzt einen CCD-Array-Detektor mit hoher Quanteneffizienz, TE-Kühlung sowie hohem Dynamikbereich und liefert so eine hervorragende Leistung mit geringem Rauschen, selbst bei Integrationszeiten von bis zu 30 Minuten. Somit können auch schwache Raman-Signale gemessen werden.

Das i-Raman Plus 785S verfügt über die einzigartige Kombination aus einem breiten Spektralbereich und einer hohen Auflösung mit Konfigurationen, die Messungen von 65 cm^{-1} bis 3350 cm^{-1} ermöglichen. Die kleine Grundfläche des Systems, die leichte Bauweise und der geringe Energieverbrauch sorgen überall für die Möglichkeit, Raman-Analysen auf Forschungsniveau durchzuführen. Das i-Raman Plus ist mit einer faseroptischen Sonde zur leichten Probennahme ausgestattet und kann mit einem Küvettenhalter, einem Videomikroskop, einem XYZ-Verschiebetisch mit Sondenhalter sowie unserer unternehmenseigenen multivariaten Analysesoftware BWIQ® und der Identifikationssoftware BWID® verwendet werden. Mit dem i-Raman Plus haben Sie immer eine hochpräzise Raman-Lösung für qualitative und quantitative Analysen zur Hand.



Raman-Sondenerweiterung mit Auslöser (785 nm)

Modul mit faseroptischer Raman-Sonde in Laborqualität für einen Cut-on-Start ab 65 cm^{-1} mit Handauslöser, $105\text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser, 0,22 NA Faseroptik für Anregung bei 785 nm, $200\text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser, 0,22 NA für Raman-Aufnahme. Optische Dichte > 6 ; 1,5 m Faserlänge mit SMA905-Anschluss am Spektrometerende und FC/PC-Anschluss am Laserende. Klebstoffversiegeltes Quarzglasfenster für die kontaktlose Probennahme. 5,4 mm Arbeitsabstand. Nicht zum Eintauchen geeignet.