

## INSTRUKCJA

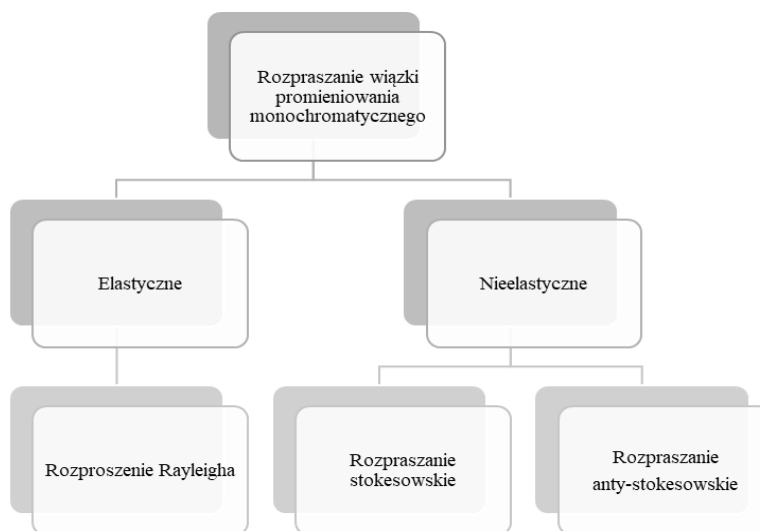
do ćwiczenia

### Określenie przybliżonej zawartości etanolu w benzynie na podstawie widm Ramana

#### I. Część teoretyczna, wstęp do metody

##### Spektroskopia Ramana

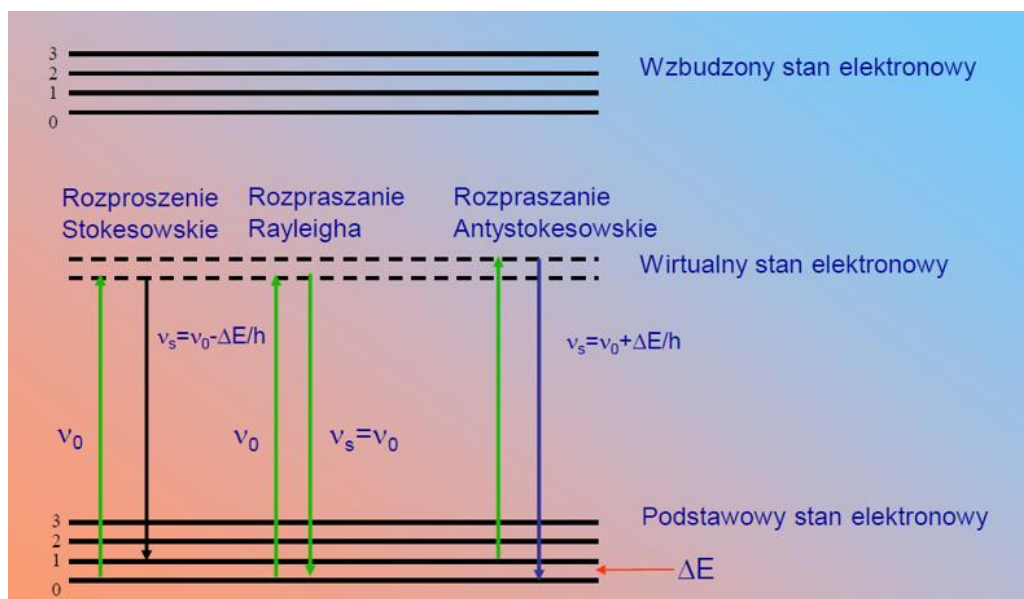
W spektroskopii Ramana wykorzystuje się zjawisko polegające na rozpraszaniu promieniowania przez próbkę.



Schemat 1. Typy pasm w widmie rozproszenia ramanowskiego.

Poddając analizie widmo Ramana uzyskuje się trzy podstawowe rodzaje pasm rozproszeniowych (*Rysunek 1*). Pierwszym z nich jest tzw. pasmo Rayleigha. Powstaje ono w przypadku, gdy fotony padającej wiązki promieniowania o częstotliwości  $\nu_0$  nie są dopasowane do poziomów energetycznych badanej cząsteczki. Zjawisko, podczas którego molekula poddana oddziaływaniu z promieniowaniem wraca do swojego początkowego poziomu energetycznego, zwane jest klasycznym rozproszeniem Rayleigha. Jest to rodzaj tzw. elastycznego rozpraszania wiązki promieniowania i jest związane z zachowaniem energii fotonu. Kolejnym rodzajem są pasma stokesowskie. Ich powstawanie jest związane z przeniesieniem cząsteczki na wyższy poziom oscylacyjny w porównaniu do poziomu początkowego po kontakcie z promieniowaniem. Foton, ulegający rozproszeniu podczas tego przejścia charakteryzuje się energią mniejszą o wartość odpowiadającą różnicy energii

poziomów oscylacyjnych  $h\nu$ . W takim przypadku dochodzi do przekazania energii z fotonu na molekułę i w konsekwencji do absorpcji promieniowania, związanej z obniżeniem jego częstości z jednoczesnym zwiększeniem długości fali.



Rysunek 1. Schemat powstawania pasm w widmie Ramana.

Ostatnim rodzajem są pasma antystokesowskie. Powstają one w sytuacji, gdy molekuła znajdowała się na wzbudzonym poziomie oscylacyjnym przed oddziaływaniem z promieniowaniem. Kontakt z wiązką monochromatyczną przenosi ją na zerowy poziom oscylacyjny. Energia fotonu, który ulega rozproszeniu po kontakcie z próbką zostaje zwiększona o różnicę energii poziomów oscylacyjnych  $h\nu$ , dochodzi do przekazania energii z molekuły na foton, zwiększenia częstości promieniowania przy jednoczesnym spadku długości fali, co wiąże się z emisją promieniowania.

Wymienione wyżej pasma tworzą charakterystyczny obraz widma. Pasma Rayleigha, znajdujące się w środkowej części wykresu, posiada największą częstotliwość, duże wartości natężenia, a długość jego fali odpowiada długości fali wzbudzającej. Pasma stokesowskie, znajdujące się po jednej ze stron względem pasma Rayleigha, posiadają niższe częstotliwości oraz większe długości fali, zaś antystokesowskie charakteryzują się wyższymi wartościami częstotliwości i mniejszymi długości fali, mają swoje miejsce po stronie przeciwnej do pasm stokesowskich w odniesieniu do maksimum Rayleigha.

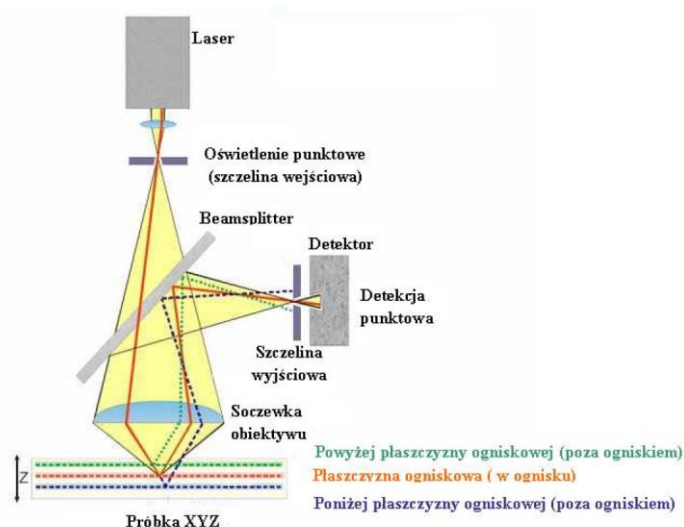
Jako źródło promieniowania we współczesnych spektrometrach Ramana wykorzystuje się lasery (Tabela 1), o emitowanej długości fali od zakresu ultrafioletu, światła widzialnego po podczerwień (spektrometry fourierowskie).

Tabela 1. Typy laserów.

| Typ lasera              | Długość emitowanej fali [nm] |
|-------------------------|------------------------------|
| Ar                      | 452-515                      |
| HeNe                    | 632,8                        |
| Nd <sup>3+</sup> :szkło | 1060                         |
| Nd <sup>3+</sup> :YAG   | 1064                         |

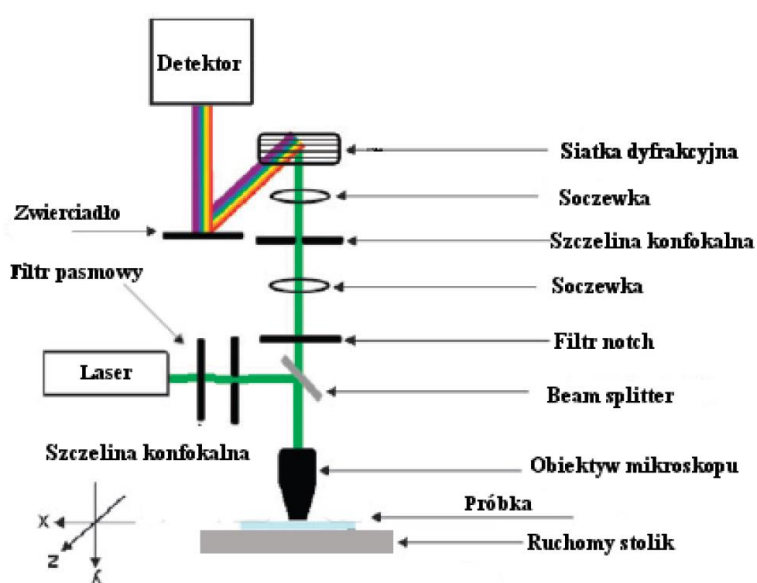
W przeciwieństwie do **widm w podczerwieni**, w których najbardziej intensywne są pasma **drgań grup polarnych**, w **widmie Ramana** silne są przede wszystkim drgania pochodzące od **niepolarnych**, homojądrowych ugrupowań, takich jak C=C a także symetrycznych drgań rozciągających np. pierścieni aromatycznych. Dużą zaletą spektroskopii Ramana jest brak konieczności specjalnego przygotowania próbki do pomiarów oraz łatwe rejestrowanie widm w zakresie dalekiej podczerwieni, co nie jest już takie proste w przypadku spektroskopii IR.

Niektóre spektrometry ramanowskie są rozbudowane o mikroskop konfokalny, co umożliwia analizowanie składu niejednorodnych próbek z dużą rozdzielczością konfokalną sięgającą 2  $\mu\text{m}$  (Rysunek 2). Zastosowanie zautomatyzowanego stolika mikroskopowego umożliwia wykonanie tzw. mapowania (rejestracja mapy zaznaczonego obszaru) czy też profilowania głębokościowego (mapowanie w głąb próbek) dla próbek niejednorodnych (np. tabletka, powłoki ochronne zol-żelowe). Innym dość ważnym ograniczeniem spektroskopii rozproszenia ramanowskiego jest występująca fluorescencja badanych materiałów, a także punktowe wypalanie się próbki w miejscu na które pada wiązka. W pierwszym przypadku możemy zmienić linię lasera a w drugim należy zredukować moc lasera na próbce.



Rysunek 2. Schemat ideologiczny mikroskopii konfokalnej.

W mikroskopie konfokalnym wygenerowana wiązka światła laserowego zostaje przepuszczona przez *pinhole* wejściowy, czego wynikiem jest powstanie świetlnego punktu na badanej próbce. Następnie przechodzi ona przez płytkę światłodzielącą (ang. *beamsplitter*). Jej zadaniem jest częściowe przepuszczanie i odbijanie padającej wiązki. Obiektyw umożliwia zogniskowanie promieniowania na małym obszarze badanej próbki w obrębie płaszczyzny ogniskowej soczewki. Światło, ulegające rozproszeniu w kontakcie z próbką zostaje zebrane przez obiektyw i przekazane dalej na *beamsplitter*, od którego odbija się w stronę wyjściowego *pinhole*. Szczelina ta odpowiedzialna jest za oddzielenie sygnału spoza poziomu ogniskowej obiektywu, czyli za konfokalność całego układu. Następnie światło trafia do detektora.



Rysunek 3. Schemat ideowy spektrometru sprzężonego z mikroskopem ramanowskim.

W przypadku mikroskopu ramanowskiego (Rysunek 3) wiązka promieniowania musi zostać poddana monochromatyzacji. W tym celu przechodzi ona w pierwszej kolejności przez filtr (pasmowy lub interferencyjny). Następnie zostaje przekierowana przez wejściową szczelinę konfokalną, po czym trafia na rozdzielacz wiązki, od którego się odbija. Odbita w ten sposób przechodzi następnie przez obiektyw i próbkę, na której dochodzi do jej wstecznego rozproszenia, zebrania jej przez obiektyw i powrotu na rozdzielacz. W następnej kolejności trafia na filtr *notch*. Służy on do pozbycia się wiązki wzbudzącej, a w konsekwencji do eliminacji pasma Rayleigha. Z filtru *notch* przechodzi przez soczewki do wyjściowego *pinhole* i dalej trafia na siatkę dyfrakcyjną, stanowiącą element dyspersyjny monochromatora. Monochromator ma za zadanie rozszczepienie światła i umożliwienie wydzielenie z całego jego spektrum fragmentu docelowego. Składa się on z dwóch przesłon

konfokalnych (wejściowej i wyjściowej), pomiędzy którymi znajduje się siatka dyfrakcyjna. Przesłony te mają swoje role – wejściowa odpowiada za geometrię wiązki, wyjściowa determinuje zdolność rozdzielczą układu monochromatora. Na koniec wiązka trafia do detektora. Detektorem może być fotopowielacz, zmieniający strumień fotonów na impulsy elektryczne, jednak najczęściej stosowane są tzw. detektory CCD (ang. *charge coupled device*, urządzenie sprzężonego ładowania). Sprzęt ten zbudowany jest z elementów światłoczułych, rejestrujących i umożliwiających odczytanie sygnału elektrycznego. Sygnał ten jest proporcjonalny do ilości światła padającego na detektor. U podstaw działania detektora CCD leży zjawisko fotoelektryczne wybicia nośników ładunku z materiału spowodowane oddziaływaniem z fotonem.

Dodatkowym wyposażeniem spektrometrów ramanowskich jest transformata Fouriera. Ich kluczowym elementem jest tzw. interferometr Michelsona, składający się z *beamsplittera* (rozdzielacza wiązki) oraz dwóch ustawionych pod kątem prostym w stosunku do siebie luster – jednego nieruchomego i jednego ruchomego, zwanego skanerem. Zwierciadło ruchome porusza się w trakcie pomiaru, co powoduje zmianę w różnicy dróg optycznych w czasie. Podczas przechodzenia przez rozdzielacz promieniowanie dzielone jest na dwie, prostopadłe do siebie wiązki, charakteryzujące się jednakowymi wartościami natężenia. Jedna z nich zostaje przekazana do lustra nieruchomego, gdzie następuje jej rozproszenie, druga zaś do zwierciadła ruchomego, na którym dochodzi do jej odbicia. Obie wiązki ponownie przechodzą przez *beamsplitter*, dochodzi do ich interferencji, po czym, już jako jedna wiązka zostają przekazane do dalszych elementów układu. Wynikiem pomiaru jest interferogram, ukazujący zależność zmiany intensywności sygnału względem czasu, jednak w celu otrzymania właściwego widma niezbędne jest przetworzenie go z domeny czasu na domenę częstotliwości. Pomiar za pomocą spektrometru fourierowskiego charakteryzuje się krótszym czasem pomiaru w porównaniu do zwykłego spektrometru Ramana, ponieważ widmo rejestrowane jest całościowo. Dodatkową zaletą jest zniwelowanie straty natężenia, które mają miejsce podczas analizy za pomocą spektrometrów dyspersyjnych.

### **Zastosowanie spektroskopii IR i Ramana**

- badanie pigmentów w dziełach sztuki;
- analizy na lotniskach, chemia sądowa;
- archeologia;
- nieinwazyjne metody pozwalające na pomiary *in situ* i *in vivo*.

## II. Pomiary:

*Oznaczenie zawartości etanolu w benzynie będzie wykonane metodą **dodawania wzorca**, którym będzie czysty etanol. Zawartość etanolu będzie śledzona poprzez pomiar intensywności wybranego pasma ramanowskiego, pochodzącego od drgań cząsteczek etanolu.*

1. Do kuwety pomiarowej wlać 500  $\mu\text{L}$  ( $0,500 \text{ cm}^3$ ) badanej benzyny i zmierzyć widmo Ramana. Zapisać widmo pod taką samą nazwą jak nazwa próbki benzyny (np.: B1, B2 itd.).
2. Zapisać w sprawozdaniu nazwę i objętość (w  $\mu\text{L}$ ) próbki benzyny. Objętość wpisać również do całej kolumny  $V_B$  w tabeli.
3. Do kuwety z benzyną dodać 50  $\mu\text{L}$  ( $0,050 \text{ cm}^3$ ) etanolu i wymieszać ostrożnie bagietką. Zmierzyć widmo Ramana i zapisać pod nazwą złożoną z nazwy benzyny i całkowitej objętości dodanego alkoholu (np. B2-050). Wpisać do zamieszczonej w sprawozdaniu tabeli nazwę widma, objętość dodanego etanolu  $V_E$  (w  $\mu\text{L}$ ), objętość całkowitą próbki  $V_C$  (w  $\mu\text{L}$ ) oraz procent objętościowy etanolu ( $\%E$ ). Ten pomiar będzie dalej oznaczany jako **(1)**.
4. Powtórzyć czterokrotnie czynności opisane w punkcie 3. Kolejne zmierzone widma zapisywać jako B2-100, B2-150; B2-200, B2-250. Wpisywać do tabeli nazwy widm, objętości całkowite  $V_E$ , objętości całkowite próbki  $V_C$  oraz stężenia etanolu  $\%E$ . Te pomiary będą dalej oznaczane jako **(n)**.
5. Porównać na ekranie widmo czystej benzyny z dostarczonym widmem czystego etanolu i wybrać pasmo specyficzne dla benzyny (najlepiej intensywne pasmo leżące w zakresie gdzie nie ma intensywnych pasm etanolu) oraz dla etanolu (tam gdzie prawie nie ma pasm benzyny). Wpisać do sprawozdania położenia tych pasm w  $\text{cm}^{-1}$ .
6. Ustalić granice całkowania pasm wybranych w punkcie 5 i wpisać je do sprawozdania.
7. Wyznaczyć integralne intensywności powyższych pasm w zmierzonych widmach od **(1)** do **(n)**, poprzez całkowanie powierzchni pod pasmami w ustalonych poprzednio granicach. Uzyskane wartości zapisać odpowiednio w tabeli w kolumnach  $I_B$  oraz  $I_E$ .

## II. Analiza wyników pomiarów:

*Intensywność rozpraszania ramanowskiego zależy od wielu czynników, jak: warunki wzbudzenia, stężenia roztworów, absorpcja promieniowania wzbudzającego oraz rozproszonego przez badany roztwór i inne. Z powyższych powodów należy dokonać odpowiedniej korekty intensywności pasma etanolu na przykład względem pasma benzyny traktowanego, jako wzorzec wewnętrzny. Przedtem jednak trzeba skorygować intensywność pasma benzyny ze względu na jej rozcieńczanie przez dodawany etanol. Obydwie korekty są przeprowadzane dla drugiego i następnych pomiarów (n), względem pierwszego pomiaru (1).*

1. Skorygować zmierzone intensywności pasma benzyny ze względu na rozcieńczanie etanolem. Intensywności  $I_B(n)$  należy pomnożyć przez całkowitą objętość **n**-tej próbki  $V_C(n)$  i podzielić przez całkowitą objętość pierwszej próbki  $V_C(1)$ :

$$IK_B(n) = I_B(n) * V_C(n) / V_C(1)$$

Obliczone wartości skorygowanych intensywności pasma benzyny  $IK_B(n)$  wpisać do tabeli. Dla pierwszego pomiaru  $IK_B(1) = I_B(1)$ .

2. Skorygować zmierzone intensywności pasma etanolu względem skorygowanych intensywności pasma benzyny  $IK_B(n)$ . Intensywności  $I_E(n)$  należy pomnożyć przez intensywność pasma benzyny w pierwszym pomiarze  $I_B(1)$  i podzielić przez

skorygowaną intensywność benzyny dla danego pomiaru  $IK_B(n)$ :

$$IK_E(n) = I_E(n) * I_B(1) / IK_B(n)$$

Obliczone wartości  $IK_E(n)$  wpisać do tabeli. Dla pierwszego pomiaru  $IK_E(1) = I_E(1)$ .

3. Sporządzić wykres  $IK_E$  (oś rzędnych, pionowa) względem  $\%E$  (oś odciętych, pozioma). Poprowadzić linię trendu i przedłużyć ją aż do przecięcia się z osią odciętych (przecięcie powinno wypaść po ujemnej stronie osi odciętych). Odczytać wartość bezwzględną  $\%E$  w punkcie przecięcia osi odciętych z linią trendu i wpisać do sprawozdania, jako wynik końcowy oznaczenia zawartości etanolu w benzynie.  
**Wykres dołączyć do sprawozdania.**

**UWAGA!** Do obliczeń i sporządzenia wykresu można wykorzystać arkusz kalkulacyjny (np. Excel). Wyznaczając komputerowo linię trendu, można włączyć pokazanie równania tej linii, a z niego wyliczyć procent etanolu, przyjmując  $y=0$ .

### **Zagadnienia do kolokwium:**

1. Zjawisko powstawania klasycznego widma Ramana. Reguły wyboru.
2. Schemat spektrometru ramanowskiego i funkcje każdego elementu.
3. Jakie są zalety spektroskopii ramanowskiej w porównaniu do spektroskopii IR?
4. Metoda 'dodatku wzorca'.
5. Omówić różnicę między fluorescencją a fosforescencją (Diagram Jabłońskiego).

### **UWAGA!**

Przed ćwiczeniami proszę się zastanowić: czy dodaje się alkoholu/alkoholi do produktów naftowych? Jeśli tak, to w jakim celu? Czy są jakieś przepisy normujące to?

### *Literatura:*

1. Z. Kęcki, „Podstawy spektroskopii molekularnej”, PWN, Warszawa (1998).
2. Z. Mielke, M. Wierzejewska-Hnat, M. Ilczyszyn, J. Baran, „Ćwiczenia laboratoryjne z fizyki chemicznej. Spektroskopia oscylacyjna”, Wydawnictwo UW, Wrocław (1995).
3. K. Małek i in., „Spektroskopia Oscylacyjna. Od teorii do praktyki”, PWN, Warszawa (2016).
4. K. Pigoń, Z. Ruziewicz, „Chemia fizyczna 2. Fizykochemia molekularna”, PWN, Warszawa (2005).
5. J. Sadlej, „Spektroskopia molekularna”, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa (2002).
6. A. Cygański, „Metody spektroskopowe w chemii analitycznej”, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa (2012).
7. G. Socrates, „Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts, 3rd Edition”, Wiley (2004) -dostępne również on-line.

## SPRAWOZDANIE

z ćwiczenia

### Określenie przybliżonej zawartości etanolu w benzynie na podstawie widm Ramana

Nazwiska wykonawców ćwiczenia

.....  
.....  
.....

Data wykonania ćwiczenia

.....

#### 1. Wstęp teoretyczny

#### 2. Krótki opis przebiegu ćwiczenia (metoda pomiaru, obróbka widm i schemat obliczeń)

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

3. Nazwa próbki benzyny ..... Objętość próbki benzyny [ $\mu\text{L}$ ].....  
Położenia pasm wybranych do pomiaru intensywności: (położenie maksimum pasm) [ $\text{cm}^{-1}$ ]:

benzyna .....

etanol .....

Zakresy całkowania pasm wybranych do pomiaru intensywności [ $\text{cm}^{-1}$ ]:

benzyna: od ..... do .....

etanol od ..... do .....

#### 4. Wyniki pomiarów i obliczenia

| Nazwa widma | $V_B$ | $V_E$ | $V_C$ | % E | $I_B$ | $I_E$ | $IK_B$ | $IK_E$ |
|-------------|-------|-------|-------|-----|-------|-------|--------|--------|
|             |       |       |       |     |       |       |        |        |
|             |       |       |       |     |       |       |        |        |
|             |       |       |       |     |       |       |        |        |
|             |       |       |       |     |       |       |        |        |
|             |       |       |       |     |       |       |        |        |

Wykryta zawartość alkoholu w benzynie [% obj.]: .....

#### 4. Wnioski

**UWAGA!** Do sprawozdania należy dołączyć wykres, z którego został odczytany wynik końcowy oraz widma Ramana roztworów lub ich nałożenia w celu porównania (samodzielnie narysowane) z zaznaczonymi pasmami markerowymi.