

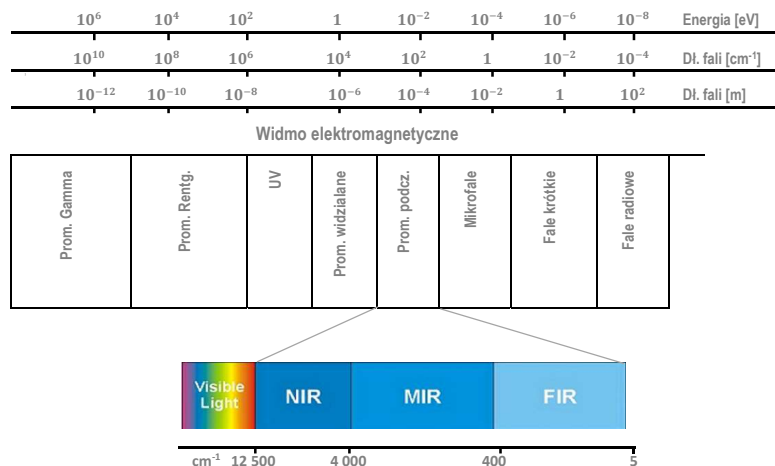
## SPEKTROFOTOMETRYCZNE OZNACZANIE ZAWARTOŚCI CHLOROFORMU W TETRACHLOROETYLENIE W ZAKRESIE PROMIENIOWANIA IR

### Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest oznaczenie zawartości chloroformu w tetrachloroetylenie metodą spektrofotometrii w podczerwieni.

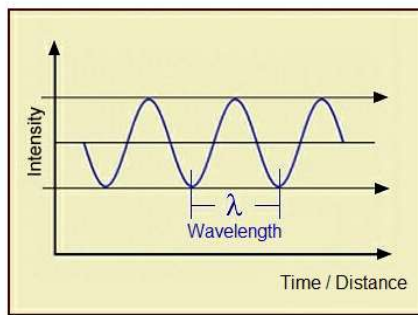
### Promieniowanie elektromagnetyczne

Promieniowanie podczerwone ma naturę elektromagnetyczną (patrz rysunek 1), a jego absorpcja przez materię podlega tym samym prawom, co absorpcja promieniowania widzialnego i ultrafioletowego.



Rysunek 1. Widmo elektromagnetyczne

Światło widzialne i podczerwone to dwa rodzaje promieniowania elektromagnetycznego, różniące się długością fal  $\lambda$  [nm] lub ich częstością,  $\nu$  [ $\text{Hz} = \text{s}^{-1}$ ]. **Długość fali** to odległość między dwoma maksimami na sinusoidalnej fali. **Częstość** z kolei, to **liczba długości fal** przypadająca na **jednostkę czasu** (patrz rysunek 2).



Rysunek 2 Promieniowanie elektromagnetyczne

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia w podczerwieni

Ponieważ wszystkie fale elektromagnetyczne przemieszczają się z prędkością światła, częstość odpowiadająca danej długości fali definiowana jest jako:

$$\nu = \frac{c}{\lambda}$$

Zgodnie z prawem promieniowania Plancka, częstość promieniowania elektromagnetycznego jest proporcjonalna do energii:

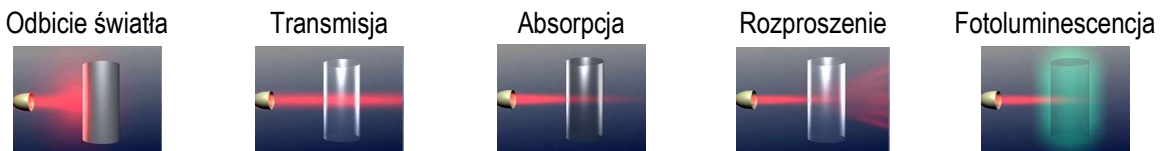
$$E = h \cdot \nu$$

W spektroskopii w podczerwieni do opisu elektromagnetycznego promieniowania używana jest **liczba falowa**,  $\tilde{\nu}$ . Określa ona **liczbę długości fal** przypadającą na **jednostkę odległości**. Dla długości fali  $\lambda$  wyrażonej w mikrometrach [ $\mu\text{m}$ ] liczba falowa  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] jest dana wzorem:

$$\tilde{\nu} = \frac{10\,000}{\lambda_{[\mu\text{m}]}} [\text{cm}^{-1}]$$

**Oddziaływanie promieniowania z materią**

Na skutek oddziaływania promieniowania podczerwonego z materią światło może ulec: odbiciu, transmisji, absorpcji, rozproszeniu lub procesowi fotoluminescencji (patrz rysunek 3), na który składają się m.in. fosforescencja czy rozproszenie ramanowskie.



Rysunek 3. Oddziaływanie promieniowania z materią [1]

**Spektroskopia IR** opiera się na **absorpcji** światła podczerwonego przez badaną substancję. Na skutek absorpcji promieniowania następuje **wzbudzenie drgań molekularnych i rotacji**, o częstościach odpowiadających energii promieniowania w zakresie podczerwieni.

**Jakie cząsteczki absorbują w podczerwieni?**

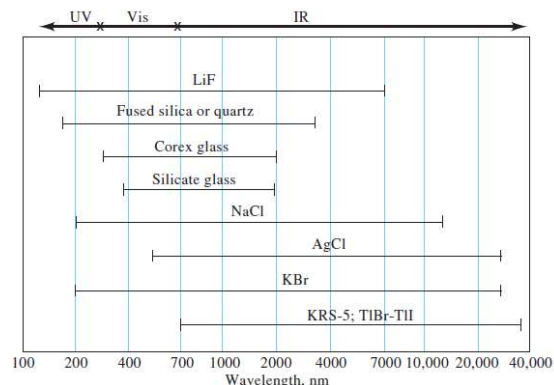
Światło podczerwone może być absorbowane przez cząsteczkę tylko wtedy, gdy moment dipolowy określonej grupy atomów zmienia się podczas oscylacji. Im większa zmiana momentu dipolowego, tym silniejsze będzie odpowiadające jej pasmo absorpcji IR. Drgania, którym **nie towarzyszą** zmiany momentu dipolowego nie ulegają wzbudzeniu przez absorpcję światła podczerwonego. Z tego powodu dwuatomowe homojądrowe cząsteczki, takie jak  $H_2$  lub  $O_2$ , nie dają widma IR.

**Uwaga:** Tego typu drgania są natomiast aktywne podczas rozproszenia Ramana. Techniki te zatem wzajemnie się uzupełniają.

**Materiały optyczne w IR (naczynka pomiarowe)**

Stosowane w przyrządach optycznych naczynka pomiarowe, okienka, soczewki oraz układy rozdzielcze muszą przepuszczać promieniowanie w danym zakresie długości fal (patrz rysunek 5.)

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia w podczerwieni



Rysunek 4. Zakres przepuszczalności różnych materiałów optycznych

Spektrometry IR

W zakresie podczerwieni możliwe jest zastosowanie dwóch rodzajów spektrometrów. Spektrometry IR pierwszej generacji to spektrometry **dyspersyjne**, wyposażone w elementy dyspersyjne takie jak pryzmaty czy siatki dyfrakcyjne.

W połowie lat 60-tych pojawiły się spektrometry drugiej generacji, wykorzystujące transformację Fouriera (FT-IR). **Spektrometry FT-IR** zostały wyposażone w element dyspersyjny w postaci zintegrowanego interferometru. Obecnie, prawie każdy spektrometr IR wykorzystuje transformację Fouriera. Spektrometry FT-IR pozwalają, w odróżnieniu od spektrometrów dyspersyjnych, w których pomiar możliwy jest tylko przy jednej, wybranej długości fali, na ciągły pomiar widma w całym zakresie promieniowania IR. Zastosowanie spektrometrów fourierowskich pozwala na znaczną oszczędność czasu, a wyniki uzyskane z ich pomocą charakteryzuje duża powtarzalność i precyzja.

Źródła promieniowania IR

Do typowych źródeł promieniowania IR (patrz rysunek 6.) należą rozgrzane ciała stałe (źródła termiczne). Są to np. **Globar** – źródło w kształcie pręta, wykonane z CSi, który po oporowym podgrzaniu (na skutek przepływu prądu) do 1500 °C emituje promieniowanie IR. Innymi, często stosowanymi, termicznymi źródłami promieniowania IR są: **włókno Nernsta** (cylinder wykonany z tlenków cyrkonu i itru - odporne termicznie tlenki metali) czy nisko kosztowe spirale z **chromonikieliny** (nikiel (80%) i chrom (20%), często z dodatkiem żelaza), z których wykonywane są np. spirale grzewcze w podgrzewaczach ogrodowych (patrz tabela 1).

Tabela 1.

Źródło	Zakres promieniowania [nm]	Rodzaj spektroskopii
Lampa ksenonowa	250 - 600	Fluorescencyjna
Lampa deuterowa i wodorowa	160 - 380	UV
Lampa rtęciowa/lampa halogenowa	240 - 2 500	UV/Vis/bliska podczerwień
Lampa rtęciowa	350 - 2 200	Vis/bliska podczerwień
Włókno Nernsta	400 - 20 000	Vis/bliska podczerwień
Spirala chromonikielinowa	750 - 20 000	IR
Globar	1 200 - 40 000	IR

### Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia w podczerwieni

---

#### Detektory w IR

Do pomiaru promieniowania podczerwonego nie nadają się detektory fotonów stosowane w spektroskopii UV-Vis. W obszarze promieniowania IR fotony nie mają wystarczającej energii, aby spowodować fotoemisję elektronów. Do wykrywania fal podczerwieni, z wyjątkiem najkrótszych, w starszych spektrometrach dyspersyjnych IR stosowano termopary, bolometry i urządzenia pneumatyczne. Współcześnie, większość spektrometrów IR z transformacją Fouriera wykorzystuje przetwornik piroelektryczny lub detektor fotoprzewodzący MCT.

Ogólna zasada działania detektorów termicznych opiera się na obecności małej, poczerniającej powierzchni, która pochłania promieniowanie podczerwone i w rezultacie zwiększa temperaturę. Wzrost temperatury jest przekształcany w sygnał elektryczny, który jest następnie wzmacniany i mierzony. W najbardziej czułych detektorach termicznych możliwa jest obserwacja zmiany temperatury wynosząca nawet kilka tysięcznych stopnia Celsjusza.

Poważnym, potencjalnym źródłem niepewności takiego pomiaru jest promieniowanie cieplne pochodzące z otoczenia (promieniowanie tła). Aby zminimalizować jego skutki, detektory termiczne są umieszczone w próżni i są starannie izolowane od otoczenia. Efekt tła oraz inne potencjalne zaszumienia są dodatkowo eliminowane przez zastosowane uzupełniająco rozwiązania elektroniczne (tzw. czopery).

Do głównych czterech typów przetworników termicznych należą:

1. Termopary – wytworzenie w obwodzie siły elektromotorycznej ( różnicy napięć) SEM na skutek umieszczenia dwóch złącz w różnych temperaturach.
2. Bolometry – urządzenia termooporowe – element przewodzący, którego opór elektryczny (a dalej napięcie) zmienia się z temperaturą.
3. Detektory pneumatyczne – cylindryczna komora z poczerniałą membraną pochłaniającą prom. IR. wypełniona ksenonem. Wzrost ciśnienia ogrzanego gazu generuje zmianę napięcia.
4. Detektory piroelektryczne – wykonane np. z tytanianu baru lub deuterowanego siarczanu trójglicyny. Kryształy tych piroelektryków umieszczone między parą elektrod, na skutek promieniowania IR wytwarzają siłę elektromotoryczną zależną od temperatury. Przetworniki piroelektryczne stosowane są w spektrometrach IR, w szczególności w instrumentach z transformacją Fouriera.

#### Prawo Lamberta – Beera

W analizie ilościowej roztworów w podczerwieni, podobnie jak w zakresie promieniowania UV-Vis, stosuje się **prawo Lamberta – Beera**. Prawo to, opisuje absorpcję promieniowania elektromagnetycznego **przez roztwory**.

W roztworach, sporządzonych w rozpuszczalniku nieabsorbującym w badanym zakresie promieniowania (molowy współczynnik absorpcji rozpuszczalnika równy zero), wiązka promieniowania monochromatycznego,

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia w podczerwieni

absorbowana przez jednorodny roztwór składnika badanego (absorbującego) o stężeniu  $c$ , ulega osłabieniu według następującego równania:

$$I = I_0 \cdot e^{-klc}$$

gdzie:  $I_0$  – oznacza natężenie wiązki promieniowania monochromatycznego padającego na jednorodny roztwór;  $I$  – natężenie wiązki promieniowania po przejściu przez roztwór absorbujący,  $l$  – grubość warstwy roztworu (droga optyczna),  $k$  – współczynnik absorpcji,  $e$  – podstawa logarytmu naturalnego. Powyższe równanie przedstawia się częściej w postaci zlogarytmowanej:

$$\ln \frac{I_0}{I} = k \cdot l \cdot c$$

lub

$$A = a \cdot l \cdot c,$$

gdzie:  $a = 0,4343 \cdot k$ , zaś  $A = \log \frac{I_0}{I}$  i nosi nazwę absorpcji (jest to wartość liczbową opisującą ilościowo zjawisko absorpcji promieniowania elektromagnetycznego przez materię). Absorbancja jest wielkością bezwymiarową [AU] i przyjmuje wartości od 0 do  $+\infty$ .

Inną wielkością stosowaną do określenia zjawiska oddziaływania materii z promieniowaniem elektromagnetycznym jest transmitancja  $T$ , definiowana jako:

$$T = \frac{I}{I_0} [\text{TU}]$$

Transmitancja może przybierać wartości od 0 do 1 [TU] lub wyrażona w procentach wartości od 0 do 100 %.

Między absorpcją i transmitancją zachodzi następująca zależność:

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T_{[\text{TU}]} \text{ lub}$$

$$A = 2 - \log \% T^1$$

Z równania  $A = a \cdot l \cdot c$  wynika, że wykres zależności absorpcji ( $A$ ) od stężenia roztworu ( $c$ ) jest linią prostą o nachyleniu  $a \cdot l$  lub gdy droga optyczna wyrażona jest w centymetrach ( $l$  [cm])  $a \cdot l = \varepsilon$  ( $\varepsilon$  – to molowy współczynnik absorpcji charakterystyczny dla badanego związku w danym rozpuszczalniku. Wówczas:

$$A = \varepsilon \cdot c$$

Wyznaczona w ten sposób prosta, stanowi podstawę do analizy ilościowej i nosi nazwę krzywej kalibracyjnej. Korzystając z tak skonstruowanej prostej, w łatwy sposób można wyznaczyć molowy współczynnik absorpcji analitu – reprezentowany w postaci nachylenia prostej:

$$\varepsilon = \frac{A}{c} \left[ \frac{\text{dm}^3}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \right]$$

Widmo IR w podczerwieni jest zapisywane jako zależność transmitancji od długości fali. Aby obliczyć absorpcję danego pasma należy najpierw wyeliminować absorpcję tła, czyli absorpcję pochodzącą od nieoznaczonych składników próbki.

<sup>1</sup>  $A = 2 - \log(T \times 100) = 2 - (\log T + \log 100) = 2 - (\log T + \log 10^2) = 2 - \log T - 2 \log 10 = 2 - \log T - 2 = -\log T$

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia w podczerwieni

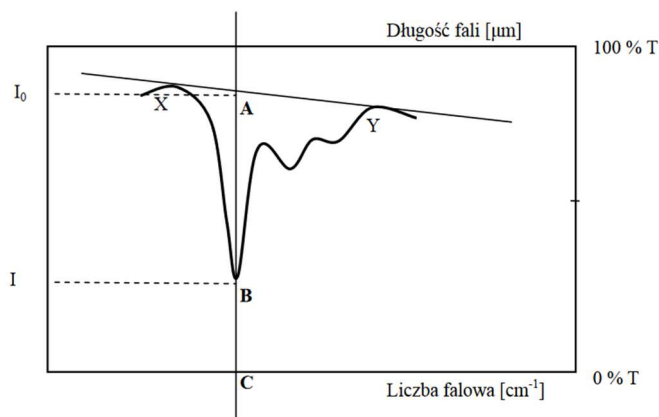
**Metoda linii podstawowej**

Najczęściej stosowaną metodą eliminacji tła jest metoda linii podstawowej (korekcja linii podstawowej). Graficzny sposób postępowania przedstawiono na rysunku poniżej. W celu eliminacji tła należy:

- Narysować linię styczną do krawędzi analizowanego pasma transmitancji łącząc dwa skrajne punkty: X i Y (otrzymujemy w ten sposób tzw. linię podstawową).
- Następnie rysuje się linię pionową przez środek analizowanego pasma, prostopadłą do linii 100 % T (linia ABC).
- Za pomocą linijki należy zmierzyć wartość odcinka  $\overline{AC}$  [mm] oraz  $\overline{BC}$  [mm].
- Dalej, korzystając z poniższego wzoru oblicza się absorbancję odpowiadającą zmierzonemu pasmu transmitancji przyjmując, że:

$$I_0 = \overline{AC}$$

$$I = \overline{BC}$$



Po uwzględnieniu powyższego, wyrażenie na absorbancję przyjmuje postać:

$$A = \log \frac{\overline{AC}}{\overline{BC}}$$

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia w podczerwieni

---

**Odczynniki i aparatura**

---


- roztwory chloroformu w tetrachloroetylenie o stężeniach 10, 20, 30 i 40 %
- spektrofotometr Bruker z kuetą wykonaną z kryształu jonowego ( $NaCl$ ,  $CaF_2$  itp.)

**Wykonanie oznaczenia**

---

**I. Wybór pasma analitycznego.**

Zarejestruj osobno widma IR chloroformu i tetrachloroetyleny w zakresie  $4\ 000 \div 400\text{ cm}^{-1}$ . W tym celu:

1. Z pulpitu uruchom oprogramowanie **OPUS** , hasło „student”
2. Umieść pustą kuetę pomiarową w aparacie.
3. Wybierz zakładkę **POMIAR**.
4. Wskaż **POMIAR TŁA**.
5. Do kuwety, za pomocą pipety automatycznej, wprowadź badany roztwór  $CHCl_3$ . Zadbaj, aby w kuvecie nie było pęcherzy powietrza. Zamknij kuetę.
6. Umieść kuetę w komorze pomiarowej.
7. Ponownie wybierz zakładkę **POMIAR**.
8. W linii nazwa próbki: nazwij próbkę.
9. Wybierz **POMIAR PRÓBK**.
10. Te same czynności wykonaj dla  $C_2Cl_4$ .
11. Wskaż różnice w zarejestrowanych widmach i na tej podstawie wybierz analityczną długość fali.

**UWAGA:** Pasma analityczne powinny być intensywne i nie powinny nakładać się na pasma innych składników próbki.

Do dalszych badań wybrano pasmo analityczne występujące przy ..... $\text{cm}^{-1}$ . Jest to pasmo odpowiadające drganiom .....(wpisz rodzaj drgań) grupy ..... (wpisz grupę atomów odpowiedzialnych za powstanie obserwowanego pasma).

**II. Kalibracja metody**

Zarejestruj widma IR roztworów wzorcowych chloroformu w  $C_2Cl_4$  o stężeniach 10, 20, 30, 40, 50 % w zakresie liczb falowych  $4\ 000 \div 400\text{ cm}^{-1}$ . W tym celu:

1. Wykonaj pomiar tła dla kuwety wypełnionej tetrachloroetylenem.
2. Następnie do kuwety wprowadź pierwszy roztwór wzorcowy o najniższym stężeniu. Zadbaj, aby w kuvecie nie było pęcherzy powietrza. Zamknij kuetę.
3. Umieść kuetę w komorze pomiarowej.
4. Bez zwłoki wykonaj pomiar próbki<sup>2</sup>
5. Wskaż zakładkę **POMIAR**.
6. W linii nazwa próbki: nazwij próbkę.  
Nadaj nazwę wg własnego, unikatowego pomysłu (warto, aby w nazwie znalazła się liczbowa wartość stężenia). Pliki/widma zapisywane są automatycznie w katalogu MEAS, który otwiera się automatycznie, gdy wybierzesz funkcję OTWÓRZ.
7. Wybierz **POMIAR PRÓBK**.
8. Widmo zostanie wyświetlone w obszarze widma, a skrót do danego widma wyświetlany jest w przeglądarce widm programu **OPUS** ( menu typu „tree” nad obszarem widma).

---

<sup>2</sup> **UWAGA 1:** Pamiętaj, że badane rozpuszczalniki są b. lotne. Zwłoka w pomiarze może prowadzić do zmiany składu mieszaniny i w konsekwencji nieprawidłowych wniosków.

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia w podczerwieni

---

9. Kroki pomiarowe powtórz dla wszystkich pozostałych próbek wzorcowych oraz próbek o nieznanym stężeniu.

Opracowanie wyników

---

**III. ODCZYT ABSORBANCJI**

1. Z menu przeglądarki widm programu **OPUS** wskaż lewym przyciskiem myszy widmo roztworu 10 %.
2. Wybierz zakres liczby falowej do wyświetlenia na ekranie wybierając ikonę **ZOOM IN** (przybliżenie pasma analitycznego). Na ekranie pojawią się dwie przecinające się linie. Trzymając wciśnięty lewy przycisk myszy wybierz interesujący Cię zakres widma. Wybrany zakres potwierdzasz klikając dwukrotnie lewym przyciskiem myszy. Rezygnujesz z wyboru klikając prawym przyciskiem myszy.
3. W tym miejscu dobrze jest dokonać ręcznej korekcji linii podstawowej dla każdego z widm. Klikając prawym przyciskiem myszy w dowolnym miejscu obszaru widma, uzyskujesz dostęp do menu rozwijalnego. Wybierz opcję **przesuń widmo**, a następnie **całe widmo**. Cursor myszki zamieni się w miniaturę rysunku widma. Złap myszką za dowolne widmo (trzymając lewy przycisk myszki) i przesuń je tak, żeby wszystkie widma wychodziły z jednego - wspólnego początku (Absorbancja = 0).
4. Wybierz ponownie polecenie **ZOOM IN**. Umieść przecięcie linii przerywanych na widmie w analitycznej liczbie falowej. W prawym, górnym narożniku wykresu – czerwona czcionka, wyświetlona zostanie pozycja przecięcia linii – wskazująca wartość rzędnej (absorbancja) i odciętej (liczba falowa).
5. Odczytaj absorbancję w analitycznej liczbie falowej.
6. Czynności powtórz dla pozostałych widm roztworów wzorcowych oraz próbek badanych.
7. Sporządź wykres zależności absorbancji vs. stężenie roztworu wzorcowego.
8. Omów przebieg uzyskanej krzywej. Omów **zasadność użycia** takiej krzywej /lub jej brak do badań ilościowych.
9. Na podstawie sporządzonego wykresu określ stężenia próbek badanych.

**IV. ODCZYT WARTOŚCI TRANSMITANCJI**

1. Z menu przeglądarki programu **OPUS** wskaż lewym przyciskiem myszy (ikona widma) widmo roztworu 10 %.
2. Z menu **MANIPULACJE** wybierz polecenie **zamiana ABS→Transmitancja**.
3. Czynności powtórz dla pozostałych widm.
4. Skoryguj linię podstawową podobnie jak poprzednio – przesuwając widma – tym razem ustalając wspólny początek przy wartości 100 % transmitancji.
5. Za pomocą polecenie **ZOOM IN** odczytaj wartość transmitancji w analitycznej liczbie falowej.
6. Czynności powtórz dla wszystkich widm (roztworów wzorcowych oraz próbek badanych).
7. Sporządź wykres zależności transmitancji od stężenia próbki. W tym celu, nanieś wartości transmitancji na poprzedni wykres (Abs. vs. Stężenie roztworu wzorcowego), umieszczając oś transmitancji po prawej stronie arkusza papieru milimetrowego.
8. Porównaj przebiegi uzyskanych krzywych. Omów zasadność użycia krzywej transmitancji/lub jej brak do badań ilościowych.

**V. WYZNACZENIE STĘŻENIA PRÓBEK Z WYKORZYSTANIEM GENERATORA METODY ILOŚCIOWEJ - GENERATOR METODY QUANT**

W pierwszym kroku **tworzymy** metodę (krzywą kalibracyjną) opartą na przygotowanych roztworach wzorcowych:



Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia w podczerwieni

---

1. Pracuj z widmami absorpcyjnymi
2. W menu przeglądarki widm wskaż widmo roztworu o stężeniu 10 %. Ponownie skorzystaj z menu **MANIPULACJE** wybierając polecenie zamiana **ABS**→**Transmitancja**.
3. Z menu **OBLICZENIA** wybierz **GENERATOR METODY QUANT**.
4. W menu kontekstowym **GENERATORA METODY QUANT**:
  - Wpisz w pierwszym okienku stężenie roztworu (10)
  - W podmenu **SKŁADNIK** wpisz nazwę próbki (np. CHCl<sub>3</sub>) oraz jednostkę [%]
  - W podmenu **METODA** zaznacz **NOWY**.
5. Kliknij pasek **USTAW POWIERZCHNIĘ CAŁKOWANIA**
  - Z rozwijalnego menu, przy obrazku metody całkowania (ikona strzałki), wybierz typ metody całkowania **<b>**.
  - W wyświetlanym, pomocniczym obszarze widma, przeciągając myszką wskaż granice powierzchni dla analitycznego piku (czynność tę można także wykonać wpisując wybrane wartości w wyświetlane na widmie okienka).
  - Wróć do **GENERATORA METODY QUANT** (Po prawej stronie GENERATORA na bieżąco wykreślana jest krzywa wzorcowa).
  - **ZAPISZ**
6. Pojawi się menu ZAPISU METODY
  - Wybierz **PULPIT**, katalog IR12IN, nazwij metodę kolejną cyfrą np. IR12IN#. **ZAPISZ**.
7. Wprowadzamy teraz do **GENERATOR METODY QUANT** kolejne widma roztworów wzorcowych. W tym celu:
  - Wskaż w przeglądarce widm programu OPUS kolejne widmo.
  - Kliknij ponownie pasek **GENERATOR METODY QUANT**.
  - W okienku stężenia wpisz wartość stężenia wybranego roztworu. **ZAPISZ** (nie musimy ponownie wybierać metody całkowania).
  - Kroki „f” i „g” powtórz dla pozostałych roztworów wzorcowych.
8. Na krzywej wzorcowej pojawiają się kolejne punkty obliczone na podstawie widm roztworów wzorcowych. Obliczane są także parametry krzywej (współczynnik R<sup>2</sup>) oraz równanie kalibracyjne.

W celu oznaczenia stężenia próbki badanej

1. W przeglądarce widm programu OPUS Zaznacz widmo roztworu badanego.
2. Kliknij z menu kartę ANALIZA ILOŚCIOWA.
3. Na ekranie pojawi się karta WYNIKI OBLICZEŃ QUANT gdzie: pierwsza kolumna: Wynik oznaczenia: wyświetlone zostanie stężenie oznaczanego roztworu. Kolumna Sigma ( $\sigma$ ) wskaże wartość odchylenia dla wartości stężenia.
4. Czynności z podpunktu a i b powtórz dla drugiego roztworu badanego.
5. Wynik oznaczenia zapisz wg poniższego wzoru:

$$\text{roztwór}_1: (\dots \pm \sigma)\%$$

$$\text{roztwór}_2: (\dots \pm \sigma)\%$$

Wyniki porównaj z uzyskanymi na podstawie własnoręcznie sporządzonego na papierze milimetrowym wykresu krzywej wzorcowej.