

Lucrare de laborator

**Determinarea concentratiei de
etanol in diferite bauturi alcoolice
utilizand un spectrometru Raman
portabil**

Dr. CS III Monica Potara

1. Efectul Raman – teorie

O sursa de lumina incidenta asupra substantei poate interactiona cu atomii sau moleculele substantei in diferite moduri. Astfel, fotonii pot fi absorbiti direct sau pot fi imprastiati. Atunci cand ne aflam in domeniul energetic infrarosu (IR) sau ultraviolet (UV), **absorbția luminii** este fenomenul cel mai probabil. In cazul absorbției IR se produce o excitare a modurilor vibrationale ale moleculelor, in timp ce absorbția UV produce o excitare a tranzitiilor electronice, care este adesea insotita de o emisie de radiatie, numita fluorescenta. Aceste fenomene sunt ilustrate in figura 1.

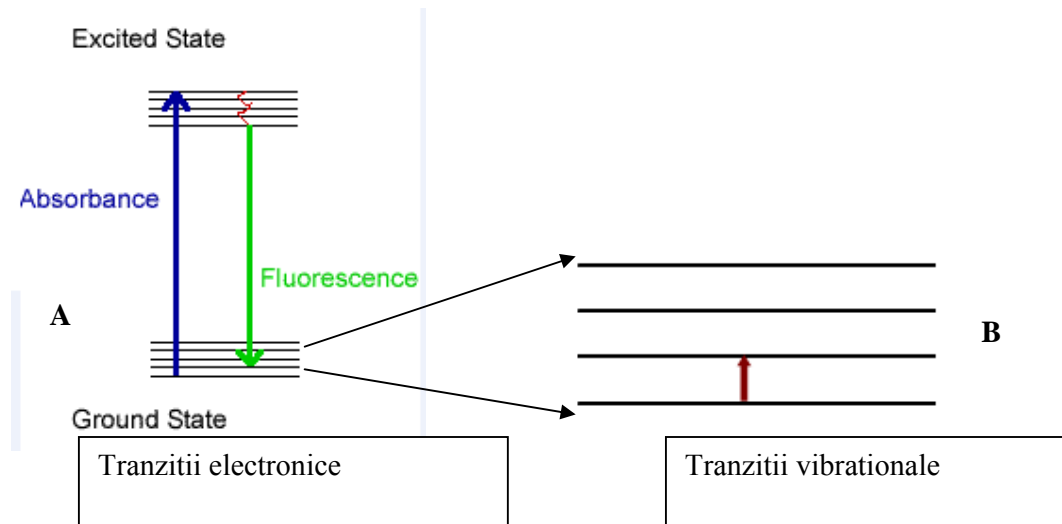


Fig.1 Diagrama nivelurilor energetice in cazul tranzițiilor electronice prin absorbție și fluorescență (A) și a tranzițiilor vibrationale prin absorbție IR (B)

In ceea ce priveste efectul de **imprastiere a luminii**, interactiunea radiatiei laser cu substanta poate produce trei tipuri de imprastieri: Stokes, anti-Stokes si Rayleigh. Aceste tipuri de imprastieri sunt ilustrate in fig. 2 .

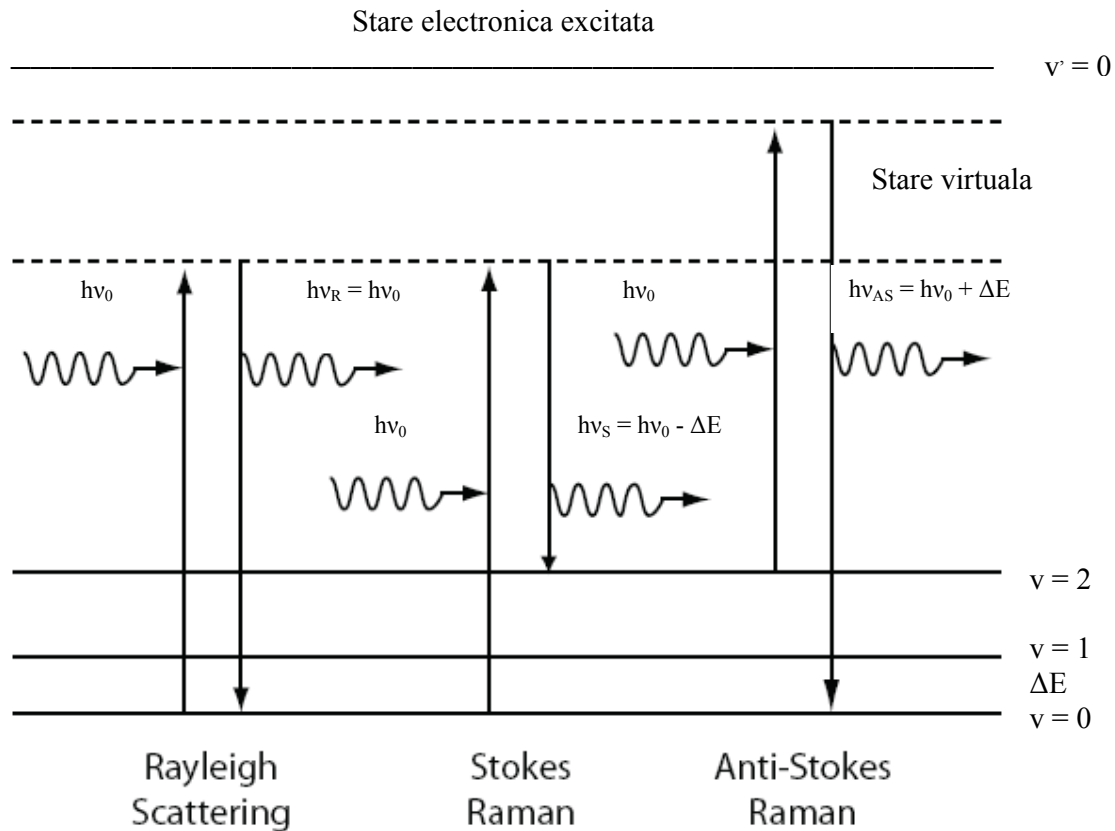


Fig.2 Diagrama nivelelor energetice implicate in cele trei tipuri de imprastieri ale luminii

In imprastierea Rayleigh, energia fotonului incident ($h\nu_0$) este transferata moleculei in urma ciocnirii cu aceasta. Molecula este excitata pe o stare energetica *virtuala*, definita astfel deoarece energia transferata in urma ciocnirii nu este suficienta pentru a excita molecula pe un nivel *electronic stationar*, *durata de viata in starea energetica virtuala considerandu-se infinit scurta*. Molecula excitata pe starea virtuala va re-emite instantaneu un foton de energie $h\nu_0$, egala cu energia fotonului incident si va reveni astfel pe starea fundamentala. In acest caz vorbim despre *imprastierea elastica a radiatiei incidente*, deci fara modificarea frecventei fotonilor imprastiati.

In imprastierea Raman de tip Stokes, molecula excitata pe nivelul virtual se va relaxa instantaneu, de data aceasta pe un nivel vibrational *excitat* al starii electronice fundamentale prin emisia unui foton de energie ceva mai mica decat cea a fotonului incident ($h\nu_S = h\nu_0 - \Delta E$).

Imprastierea anti-Stokes este similara cu imprastierea Stokes, cu diferenta ca in urma coliziunii cu un foton incident de energie $h\nu_0$, molecula este excitata pe un acelasi nivel virtual, urmata de relaxarea pe un nivel vibrational de energie cu ceva mai mica decat cea avuta in starea initiala, avand loc emisia unui foton de energie ceva mai mare decat cea a fotonului incident ($h\nu_{AS} = h\nu_0 + \Delta E$).

Conform distributiei Boltzman, popularea nivelelor vibrationale de energie mai mare este mica in raport cu cea a nivelului fundamental, ceea ce ne duce la concluzia ca liniile Raman Stokes sunt mult mai intense decat cele anti-Stokes, la temperatura camerei. De aceea, de obicei doar linile Stokes se iau in considerare in analiza chimica.

Pentru ca o vibratie sa fie activa Raman este necesar ca polarizabilitatea moleculei sa se modifice pe durata vibratiei. In acord cu teoria clasica, polarizarea, P, este data de relatia 1:

$$P = \alpha E \quad (1)$$

unde E este marimea vectorului electric al campului electromagnetic care actioneaza asupra moleculei, iar α este polarizabilitatea moleculei. Deoarece marimea vectorului electric al campului electromagnetic variaza cu timpul t intr-un mod sinusoidal,

$$E = E_0 \cos 2\pi\nu t \quad (2)$$

polarizarea devine:

$$P = \alpha E_0 \cos 2\pi\nu t \quad (3)$$

Polarizabilitatea α este formata din doua parti: α_0 reprezentand polarizabilitatea cand atomii unei molecule se afla in pozitia lor de echilibru si al doilea termen care reprezinta suma polarizabilitatilor moleculei datorita diferitelor miscari vibrationale si rotationale. Astfel,

$$\alpha = \alpha_0 + \sum (\delta\alpha_n / \delta r_n) r_n \cos 2\pi\nu_n t \quad (4)$$

unde α_n este polarizabilitatea asociata cu al n-lea mod vibrational sau rotational iar r_n este deplasarea maxima a atomilor implicati.

Combinand ecuatiile 3 si 4, obtinem:

$$P = E_0 \alpha_0 \cos 2\pi vt + E_0 \sum (\delta \alpha_n / \delta_r) r_n \cos 2\pi v_n t \cos 2\pi vt \quad (5)$$

si

$$P = E_0 \alpha_0 \cos 2\pi vt + \frac{1}{2} E_0 \sum (\delta \alpha_n / \delta_r) r_n \{ \cos 2\pi (v-v_n)t + \cos 2\pi (v+v_n)t \} \quad (6)$$

Primul termen din ecuatia 6 are frecventa radiatiei incidente si reprezinta imprastierea Rayleigh. Termenul al doilea reprezinta benzile Raman Stokes ($v-v_n$), respectiv anti-Stokes ($v+v_n$). Conditia pentru ca o molecula sa fie activa Raman este ca $\delta \alpha_n / \delta_r$ sa fie diferit de zero.

2. Determinarea continutului de etanol in bauturile alcoolice – metode existente

Pentru determinarea continutului de etanol in bauturile alcoolice comercializate sau ilegale au fost si sunt folosite numeroase metode. Cuantificarea etanolului este importanta pentru controlul calitativ si marcarea produselor in industria alimentara precum si pentru impunerea taxelor conform legilor diferitelor agentii guvernamentale. Metoda standard, in laboratoare, de determinare a etanolului si a celorlalti componente din bauturile alcoolice consta in cuplarea injectiei directe sau gaz-cromatografiei (CG) cu ionizarea cu flama sau spectrometria de masa (MS). Acest proces implica timp precum si prepararea probelor. De asemenea, continutul de zahar din diferite bauturi alcoolice influenteaza determinarea corecta a etanolului prin gaz-cromatografie.

O alta metoda consta in analiza etanolului prin injectie in flux sau secventiala. Detectia prin indicele de refractie, detectia spectrometrica enzimatica au fost folosite ca metode de injectie in flux. Detectia prin rezonanta magnetica nucleara de proton ($^1\text{H-NMR}$) a fost, de asemenea, explorata pentru a determina continutul de etanol in lichior. Folosirea acestei metode este limitata datorita prezentei picurilor de interferenta in aceeasi pozitie cu cea a picurilor gruparii metil din etanol. Totusi, aceasta metoda prezinta avantajul fata de gaz-cromatografie ca nu necesita prelucrarea prealabila a probelor, nici macar a celor colorate.

In comparatie cu metodele traditionale de determinare a continutului de etanol din bauturile alcoolice, tehnicile spectroscopice ofera o alternativa mai simpla si mai rapida. Spectroscopia Raman, combinata cu analiza principalului component, a fost folosita pentru a determina continutul de alcool in tequila. De asemenea, s-a folosit si spectroscopia Raman cu transformata Fourier, combinata cu modele de calibrare pentru a reduce efectul fluorescentei. O alta incercare a fost folosirea comparativa a tehnicilor spectroscopice NIR (infrarosu apropiat) si Raman pentru determinarea continutului de etanol in whiskey, vodka si bauturile alcoolice care contin zahar. Spectrele NIR sunt dominate de picurile corespunzatoare apei si

etanolului si necesita o prelucrare ulterioara prin metode multivariate de analiza. Spre deosebire de NIR, spectrele Raman ofera o corelare directa intre intensitatea semnalului si concentratia de etanol. Dezavantajul care apare in acest caz este semnalul de fluorescenta in cazul bauturilor alcoolice care contin zahar, precum si la whiskey, ceea ce impiedica o cuantificare directa a etanolului. Acest fapt impune o prelucrare ulterioara a spectrelor.

In cele ce urmeaza vom determina direct concentratia de etanol din vin, vodka si tuica de productie locala folosind un spectrometru Raman portabil, cu o excitatie laser la 785 nm. Folosirea unui laser in domeniul NIR prezinta avantajul reducerii semnalului de fluorescenta.

3. Descrierea aparaturii experimentale

Folosirea spectroscopiei Raman ofera o metoda simpla, rapida si nedistructiva de analiza a diferitilor componente, in general fara o prelucrare prealabila a probelor.

Spectrometrul Raman portabil folosit in acest experiment contine o dioda laser care emite o radiatie cu lungimea de unda de 785 nm. Radiatia laser este dirijata pe proba printr-o fibra optica. Puterea laser care ajunge pe proba poate fi reglata intre 5mW si 200 mW. Proba este situata intr-un compartiment special, care impiedica patrunderea luminii din exterior. Fiecare sonda laser este echipata cu un ecran de protectie, care ramane inchis atunci cand nu se fac masuratori. Lumina Raman imprastiata este separata de radiatia de excitatie pe o retea de difractie de tip Bragg inglobata in fibra optica si apoi este transmisa printr-un alt sistem de fibre optice spre spectrometru si detectorul CCD. Comunicarea dintre spectrometru si computer se face printr-un cablu USB. Domeniul spectral de masuratori este intre 150 si 1800 cm^{-1} . In figura 3 este prezentata imaginea fotografica a spectrometrului Raman portabil.



Fig. 3 Imaginea fotografica a spectrometrului Raman portabil

4. Mersul lucrării

Se prepara 7 soluții de etanol de concentrații: 100%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% și 0%, folosindu-se ca solvent apă distilată. Se măsoară spectrele Raman ale acestor soluții și se trasează curba de etalonare. Se măsoară spectrele Raman ale următoarelor băuturi: vin, vodcă și țuică, fără o prelucrare prealabilă a probelor.

4.1. Analiza spectrului Raman al etanolului

Etanolul sau alcoolul etilic are o structură liniară sub formă de lanț. Formula chimică a etanolului este C_2H_5OH . În practică se folosește o notatie alternativă, CH_3-CH_2-OH care indică faptul că atomul de carbon al grupului metil (CH_3-) se atacează de atomul grupului metilen ($-CH_2-$) care, la rândul său, se atacează de atomul de oxigen al grupului hidroxil ($-OH-$). Structura chimică a etanolului este ilustrată în fig.4

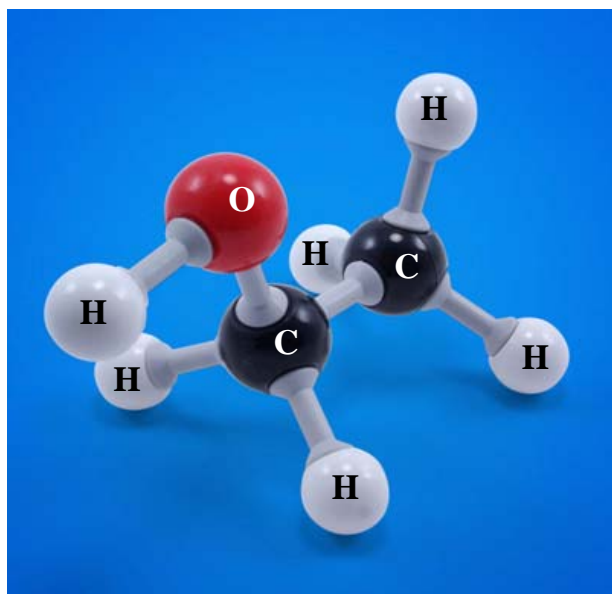


Fig.4 Structura chimică a etanolului

Analiza unui spectru Raman consta, pe de o parte, in identificarea benzilor caracteristice de grup, care au o relativa stabilitate a pozitiei indiferent de structura moleculei, iar pe de alta parte, in identificarea modurilor de amprenta digitala (fingerprint), care sunt unice pentru fiecare molecula. In general, benzile caracteristice de grup se afla la numere de unda mai mari de 1500 cm^{-1} , iar benzile specifice moleculei se afla la numere de unda mai mici de 1500 cm^{-1} . Această regiune spectrala situată sub 1500 cm^{-1} este mult mai complexa pentru analiza deoarece unele benzi caracteristice de grup se suprapun peste benzile specifice moleculei luata ca întreg.

Analiza unui spectru Raman incepe de obicei cu identificarea grupurilor functionale si atribuirea benzilor caracteristice de grup.

In figura 5 este prezentat spectrul Raman al etanolului de concentratie 100%.

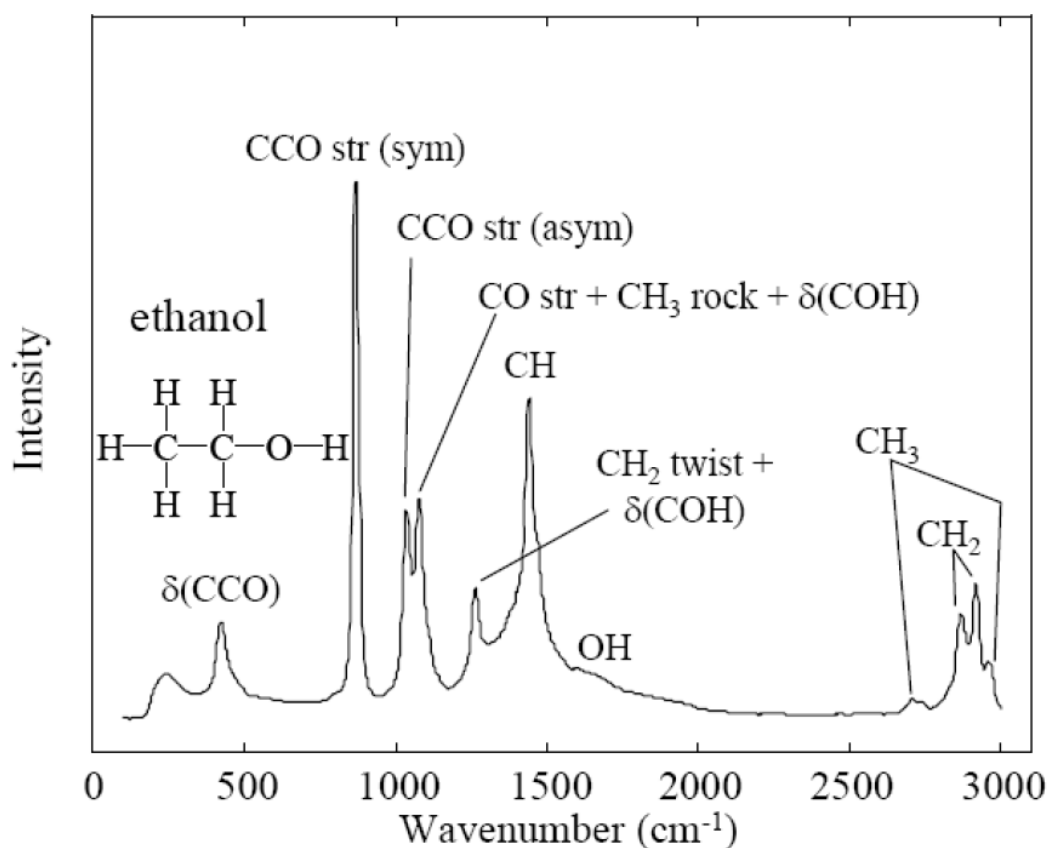


Fig.5 Spectrul Raman al etanolului de concentratie 100%

Asa cum am specificat deja, etanolul contine o grupare metil (CH_3), o grupare metilen (CH_2) si o grupare hidroxil (OH). Astfel, benzile de la 2962 cm^{-1} si 2872 cm^{-1} reprezinta un dublet al metilului (CH_3) si se datoreaza vibratiei asimetrice de intindere (2962 cm^{-1}), respectiv vibratiei simetrice de intindere (2872 cm^{-1}) a metilului in etanol. Metilenul (CH_2) are, de asemenea un dublet la 2935 cm^{-1} datorita vibratiei asimetrice de intindere, respectiv la 2883 cm^{-1} datorita vibratiei simetrice de intindere a metilenului in etanol. Banda de la 1455 cm^{-1} se datoreaza vibratiei de deformare C-H a metilului. **Banda de la 881 cm^{-1} se datoreaza vibratiei de intindere simetrica C-C-O**, iar cea de la 1045 cm^{-1} corespunde vibratiei de intindere asimetrica C-C-O, acestea doua fiind vibratii de *fingerprint*. Vibratia de deformare a C-C-O apare la 435 cm^{-1} , aceasta banda fiind, de asemenea, o banda de fingerprint. Banda de la 1092 cm^{-1} se datoreaza suprapunerii unor vibratii de grup functional, respectiv vibratia de balansare a metilului, cu vibratii de amprenta spectrala a moleculei de etanol, respectiv vibratia de intindere C-O si vibratia de deformare C-O-H. Banda de la 1277 cm^{-1} este datorata suprapunerii vibratiei de torsiune a grupui functional metilen in etanol cu vibratia de deformare a C-O-H (fingerprint).

4.2. Prelucrarea datelor experimentale

4.2.1. Metoda 1

Se traseaza curba de etalonare a alcoolului etilic. Pentru aceasta se reprezinta grafic intensitatea picului de la 881 cm^{-1} in functie de concentratiile celor 7 solutii de etanol. Se masoara intensitatea picurilor de la 881 cm^{-1} din spectrele Raman pentru vin, tuica si vodka. Se determina concentratia de etanol din acestea direct, folosind curba de etalonare a alcoolului etilic.

4.2.2. Metoda 2

Pentru trasarea curbei de etalonare a alcoolului etilic se reprezinta grafic aria picului de la 881 cm^{-1} in functie de concentratia celor 7 solutii de etanol. Se calculeaza aria picului de la 881 cm^{-1} din spectrele Raman obtinute pentru vin, vodka si tuica. Din curba de etalonare se determina direct concentratia de etanol in cele 3 bautu

Concluzii

Utilizarea unui spectrometru Raman portabil pentru determinarea concentrației de alcool în diferite băuturi oferă o metodă simplă și rapidă de analiză în laborator. Cuantificarea etanolului introduce studentilor conceptul de curbă de calibrare și analiză cantitativă.

Bibliografie

1. H. H. Willard, L. L. Merritt Jr., J. A. Dean, F. A. Settle Jr., *Instrumental methods of analysis*, Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, 7th edition
2. S. Astilean, *Metode și tehnici moderne de spectroscopie optică*, Cluj-Napoca : Casa Cărții de Știință, 2002
3. Caryn L. Sanford, Brent A. Mantooth, Bradley T. Jones, Determination of Ethanol in Alcohol Samples Using a Modular Raman Spectrometer, *Journal of chemical education*, 78 (2001) 9, 1221-1225.