Espectroscopia Raman

Objetivo: entender o espectro de espalhamento elástico e inelástico de moléculas devido a transições vibracionais. Veja a teoria em ATKINS, P. W. PAULA, J. de. Físico-Química – Espectroscopia molecular.

O equipamento utilizado para as medidas será o fluorímetro Perkin Elmer - LS
 50 B.

No fluorímetro você deve calibrar diferentes parâmetros para obter uma melhor resolução da sua medida. Para isso parâmetros como:

- velocidade da varredura do espectro (comprimento de onda por minuto),
- resolução espectral em nanômetro alterando abertura da fenda (*slit*) por onde passa a luz de excitação e emissão.
- Tensão aplicada a fotomultiplicadora que influencia no ganho de detecção (conversão fóton em elétron)
- comprimento de onda de excitação qualquer comprimento de onda.
- intervalo de comprimentos de onda de coleta.

Faça diversos testes para otimizar os parâmetros durante as medidas. Sendo que o ideal é variar um parâmetro e deixar os demais fixos.

Expresse o resultado em número de onda (cm⁻¹ como se encontra na literatura). Veja a fórmula correta para ser aplicada.

 Qual a relação e importância do comprimento de onda de excitação com o sinal Raman. O sinal (número de onda e intensidade) é constante para qualquer excitação?

Ao incidirmos luz sobre uma amostra (sólida, líquida ou gasosa), ocorrem diversos fenômenos, tais como refração, absorção, espalhamento (elástico e inelástico), entre outros. Assim, todos esses fenômenos podem ocorrer de maneira mais ou menos acentuada, tanto na amostra quanto no porta amostra (neste caso a cubeta). Pense

nisso e refita na necessidade de cubetas de diferentes materiais como plástico, vidro e quartzo.

Faremos inicialmente o espectro de água pura, e posteriormente amostras a serem medidas serão diferentes solventes incolores, pois, devido a sensibilidade da fotomultiplicadora, deve-se evitar compostos que podem emitir luz ou estruturas muito complexas.

Para o caso da água verifique em que condições se obtém o espectro esperado:



Figura 1 - Frequências de vibração da molécula de água (De Kananenka 2018 – The Journal of Chemical Physics)



Figura 2 - Espectro Raman da água (De: https://physicsopenlab.org/2022/01/08/water-molecule-vibrations-with-raman-spectroscopy/)

Para outras moléculas, consulte materiais de referência para encontrar o valor esperado com base nas ligações químicas presentes na molécula em questão. Observe que a frequência além de depender da ligação em si, depende da molécula em que essa ligação está. Pense e faça a analogia com o oscilador harmônio.

Varie os diâmetros do "slit", tanto o de emissão quanto o de excitação, para que se obtenha a melhor resolução dos dados obtidos, os valores de resolução vão de 2nm a 20nm, para isso mantenha fixa a voltagem da fotomultiplicadora em 775V. A velocidade de varredura também pode ser modificada, faça medidas em diferentes velocidades.

*O manual do fluorímetro está disponível em formato impresso e explica seu funcionamento de forma didática.



Perkin Elmer - LS 50 B



Após ligar o computador ligue o aparelho (Espectrômetro) apertando o botão (on/off) que se encontra do lado esquerdo :





Abra o software clicando no ícone na área de trabalho "BLDevelopment".

Este Computador	Bivalidation	Hg_fenda2,5			
Lixeira	Google Chrome	Hg fenda 5 Leandro			
Adobe Acrobat	WPS Presentation	Tutorial Operação Spectrómetro R			
BLAdministration	WPS Spreadsheets				
BLCalculator	WPS Writer				
BiDevelopment	Hg fands 10				
Routine	Hg Leandro				
4 0	• 9			^ ⊕ ⊲∋ POR <u>PTR</u> 2	15:00 16/02/2024

Vá em "File" e selecione "New Method".

BL Studio: New UNREGISTERED DEMO VERSION !	– 0 X
File Modules Calculator Options Help	
New Method 💦 🗔 🕨 👘	
Load Method	
Save Method Manual Control	Experiment Data
Load Sample Info	Name Comment
Save Sample Info	
Clear Data	
Load Data	
Save Data	
Clase Experiment	
Load Experiment	
Save Experiment	
EXIT	
Read Mode Intensity V Int. Time [s] 1 BG 0 Read	
Fx. WI [nm] 400 Fm. WI [nm] 500 Gain Medium x	
Ev Sit famil 10.0 Em Sit famil 10.0 Auto Jamp ozna u	
Ex. Sinc (finit) 10,0 Addo Lamp On Show Details	
Ex. Wl. [nm] 350,0 Em. Wl. [nm] 400,0 Intensity [#] 0,000	
Laboratorio	

Selecione "FL Scan".

BL Studio: New UNREGISTERED DEMO VERSION ! File Modules Calculator Options Help		– 0 ×
Samples Acquisition Manual Control		Experiment Data
Sample ID Int [#]		Name Comment
	New Method	
	FL Read	
	FL Scan 3D FL Timedrive	
	VV KinScan Perquisiton Module	
	Calculation Module	
	*None	
	DataCalc	
	View 3D	
	Report Module	
	*None	
	StdReport	
	Admin Module [▲]	
	StdExport	
Read Mode Intensity V Int. Time [s] 1	RG D Pood	
Ex. WL [nm] 400 Em. WL [nm] 500	Vain Medium V	
Ex. Slit [nm] 10,0 Em. Slit [nm] 10,0	Auto Lamp On V Show Details	
Ex. Wl. [nm] 350,0 Em. Wl. [ni		
Laboratorio	Magneto	

Na parte inferior ajuste os parâmetros como por exemplo: comprimento de onda de excitação, slit, etc. E na sequência clique em "Start Acquisition".

📓 BL Studio: New UNREGISTERED DEMO VERSION !	– 0 ×
File Modules Calculator Options Help	
Samples Acquisition Manual Control	Experiment Data
Start Acquisition	Name Comment
104 (#)	
11L[#] 50-	
500	
450 -	
400-	
350-	
300-	
250-	
200-	
	Ajuste os parametros
150-	de aquisição de dados.
100-	
50+	
400 500 600 700	
WL [nm]	
Scan type Emission V Start [nm] 400 End [nm] 700	
Ex. WL [nm] 400 Speed [nm/min] 1500 Gain Medium V	
Ex. Slit [nm] 10,0 Em. Slit [nm] 10,0 Auto Lamp On V V Show Details	
Ex. wi. [nm] 330,0 Em. wi. [nm] 400,0 Intensity [#] 0,000	
Laboratorio Created Method successfully	

Aparecerá uma mensagem informando para inserir a amostra.

BL Studio: New UNREGISTERED DEMO VERSION !	- 0 ×
Samples Acquisition Manual Control	Experiment Data
	Name Comment
T + 5 #3	1 Result Created 16/02
Int [#]	
4501	
400 -	
350 -	
300-	
250 -	
Please insert sample:	
Sample ID	
150 - Sample 1	
50-	
,	
400 500 600 700	
WL [nm]	
Scan type Emission V Start [nm] 400 End [nm] 700	
Ex. WL [nm] 400 Speed [nm/min] 1500 Gain Medium V	
Ex. Slit [nm] 10,0 Em. Slit [nm] 10,0 Auto Lamp On V	
	-
Ex. WI. [nm] 400,0 Em. WI. [nm] 400,0 Intensity [#] 0,000	
Laboratorio	1
Labolatorio	

Caso ainda não tenha feito siga os passos a seguir:

Abra o porta-amostra, insira a amostra "*cubeta com solução*" no local indicado e clique em Start para iniciar a coleta de dados.







BL Studio: New UNREGISTERED DEMO VERSION !	-	o ×
File Modules Calculator Options Help		
Samples Acquisition Manual Control	Experime	nt Data
Display as	able Name	Comment
Sample 1	1 Result	Created 16/02
	2 Result1	Created 16/02
Int [#]	3 Result2	Created 16/02
8,57		
8,0+		
7,5+ / \		
7,0+ / \		
6,5		
6,0 /		
5,5† /		
5,0 /		
4,5		
4,0 7		
3,5		
3,0		
2,3		
2,0		
370 380 390 400 410 420 430 440 450 460 470 480 490 500 510 520 530 540 550 560 570 580 590 600		
WL [nm]		
Scan type Emission V Start [nm] 370 End [nm] 600		
Ex. WL [nm] 350 Speed [nm/min] 500 Gain High ~		
Fx. Slit form 10.0 Fm. Slit form 10.0 Auto Lamp 0.0 Y		
Ex. WI. [nm] 350,0 Em. WI. [nm] 370,0 Intensity [#] -0,003		
Laboratorio	r	

Existe algumas funções que permite "medir" a posição por exemplo de um "pico" da curva no gráfico.

Para isso basta selecionar o ícone "Cursor X" ou "Cursor Y" ou ambos e arrastá-los com o mouse no gráfico.

🕅 BL Studio: New UNREGISTERED DEMO VERSION !	- 0 X
File Modules Calculator Options Help	
Samples Acquisition Manual Control	Experiment Data
Sample 1: 8,3857 [#]	Name Comment 1 Result Created 16/02 2 Result1 Created 16/02 3 Result2 Created 16/02
8,394 [#]	Cleated 10/02
8,5 8,0 7,5 7,0 6,5 6,0 5,5 5,0 7,0 6,5 6,0 5,5 5,0 7,0 6,5 6,0 7,5 7,0 7,5 7,0 7,0 7,0 7,0 7,0 7,5 7,0 7,0 7,0 7,0 7,5 7,0 7,0 7,0 7,0 7,5 7,0 7,0 7,0 7,0 7,0 7,0 7,5 7,0 7,0 7,0 7,0 7,0 7,0 7,0 7,0	
4,5 4,0 3,5 3,0 Valor da posiç do "Cursor X"	:ão
2,5 2,0 1,5 370 380 390 400 410 420 430 440 450 460 41 480 490 50 510 520 530 540 550 560 570 580 590 600 386,2 [nm]	
Scan type Emission Start [nm] 370 End [nm] 600 Ex. WL [nm] 350 Speed [nm/min] 500 Gain High ~ Ex. Slit [nm] 10,0 Em. Slit [nm] 10,0 Auto Lamp On ~ Show Details	
Ex. Wl. [nm] 350,0 Em. Wl. [nm] 370,0 Intensity [#] 0,000	

Para ampliar uma determinada região do gráfico basta posicionar o mouse no local de interesse e clicar com o botão direito arrastando para um outro ponto formando assim a região que será ampliada.

🐹 BL Studio: New UNREGISTERED DEMO VERSION !	– 0 ×
File Modules Calculator Options Help	
	🗖 🔁 🛃 🗶
Samples Acquisition Manual Control	Experiment Data
Sample 1: 8,3857 [#]	Name Comment 1 Result Created 16/02 2 Result1 Created 16/02
8,394 [#]	3 Result2 Created 16/02
8,5 8,0 7,5 7,0 6,5 5,5 5,0 4,5 4,0 3,5 3,0 2,5 2,0 1,5 1,0 370 380 390 400 410 420 430 440 450 460 470 480 490 500 510 520 530 540 550 560 570 580 590 600 386,2 [nm] Scan type Emission ~ Start [nm] 370 End [nm] 600 55 MI [nm] 250 Start [nm] 150 Content of the start of the	
EX. WL [nm] 350 Speed [nm/min] 500 Gain High V	
Ex. Slit [nm] 10,0 Em. Slit [nm] 10,0 Auto Lamp 0n V Show Details	
Ex. Wl. [nm] 350,0 Em. Wl. [nm] 370,0 Intensity [#] -0,001	
Laboratorio	



Para alterar a escala em x ou y ou definir um "range" basta utilizar os botões destacados na imagem abaixo:

🕺 BL Studio: New UNREGISTERED DEMO VERSION !	- 0 ×
File Modules Calculator Options Help	
	🗖 🖉 🛃 🗡
Samples Acquisition Manual Control	Experiment Data
Sample 1	Name Comment 1 Result Created 16/02
Int [#]	
400 T	
350 -	
300-	
250 -	
200-	
150 -	
100-	
50 -	
300 400 500 600	
vv. (nm)	
Scan type Emission V Start [nm] 300 End [nm] 600	
Ex. WL [nm] 350 Speed [nm/min] 500 Gain High ~	
Ex. Slit [nm] 5,0 Em. Slit [nm] 5,0 Auto Lamp On V I Show Details	
Ex. Wl. [nm] 350,0 Em. Wl. [nm] 300,0 Intensity [#] 0,000	
Laboratorio	

Não esqueça de desativar o "Auto Expand" quando alterar o "range".

rile ivi	oquies Calculator Of	nions meip					
	i 🖬 🗖 🖉	💈 🔜 🕨 💷 📗		A 🐨 🖓	. 🖪 🗠 🔁 🗐		
Samp	es Acquisition	Manual Control				Experim	ent Data
					Sample 1	Name 1 <mark>Result</mark>	Comment Created 16/02
	Int [#]						
4	00 T						
3	50-	Scale Graph					
3	00-	13	Y-Grid	ОК			
		Auto Expand	🔲 X-Grid	Cancer			
2	00-						
1	50-	0					
1	00-	Auto Expand 300	600				
	50-		,				
	0	400	500		600		
	300	400	WL [nm]		000		
Scan t	ype Emission ~	Start [nm] 300	End [nm] 600				
Ex. WL	[nm] 350	Speed [nm/min] 500	Gain High 🗸				
Ex. Slit	[nm] 5,0	Em. Slit [nm] 5,0	Auto Lamp On V	Show De	tails		
Ex.	Wl. [nm] 350	,0 Em. Wl. [nm]	300,0 Intensity [#]	-0,001			
Labora	torio					·	

Salvando os dados

Clique em "Display Table" e depois "Copy Table" e "cole" os dados onde for mais conveniente.

File Modules	s Calculator Op	tions Help						
B 者	🖬 🛛 🗖							🛛 🗖 🛃 🗡
Samples	Acquisition	Manual Control					Exp	eriment Data
WL [nm]	Int(Sample 1			_			Name	Comment
688,0	30,2919						1 Result	Created 16/02/2024 13:
688,5	5 24,9745		_			7	2 Result1	Created 16/02/2024 14:
689,0	19,657						3 Result2	Created 16/02/2024 14:
689,5	5 14,8858						4 Result3	Created 16/02/2024 14:
690,0	0 10,735						5 Result4	Created 16/02/2024 14:
690,5	5 7,6471						6 Result5	Created 16/02/2024 14:
691,0	5,7129						7 Result6	Created 16/02/2024 14:
691,5	5 5,3956						8 Result7	Created 16/02/2024 14:4
692,0	6,5857							
692,5	5 <u>8,95</u>							
693,0	12,4532							
693,5	5 16,7955							
694,0	21,6272							
694,5	5 Int(Sample 1)							
695,0	30,9484							
695,5	5 34,3064							
696,0	36,3495							
696,5	5 36,9344							
697,0	35,7344							
697,5	5 33,0321							
698,0	28,1706							
698,5	5 24,4127							
699,0	20,2444							
699,5	5 15,7186							
700,0	12,003					¥		
Scan type	Emission ~	Start [nm] 400	End [nm]	700				
Ex. WL [nm]] 400	Speed [nm/min] 500	Gain	Medium ~				
Ev Slit [nm	1 5 0	Em Slit [nm] 5.0	Auto Lam		- Chow Dataila			
ext one [fill]	3 070	citi one [init] 0,0			Show Details			
Ex. Wl.	[nm] <mark>350,</mark>	. 0 Em. Wl. [nm]	400,0 Int	ensity [#]	0,000			
Laboratorio								

Calibrando o espectrômetro utilizando uma lâmpada de Hg

Abra a tampa do "Porta-Amostra".



Remova o conjunto "base-porta-amostra" pressionando para baixo os dois pinos indicados na foto abaixo:













Encaixe a lâmpada de Hg conforme indicado na foto mas não esqueça de passar o cabo de alimentação através do furo quadrado da porta.



Atenuador de 1%



Encaixe um pino vermelho tipo "banana" no local indicado para garantir uma melhor fixação.





Feche a porta do porta-amostra, ligue a lâmpada de Hg, ajuste os parâmetros de aquisição, meça o espectro e compare com as linhas de referência do Hg no "NIST".

