

Laboratoře oboru (N352014)
1. ročník Mgr. 2011/2012, letní semestr

Práce č. 1: Cukrovarnictví, cukrovinky

Práce č. 1b: Infračervená spektroskopie čokolády

Vedoucí: Ing. Tomáš Taubner

Místnost: B48, linka: 3116

Práce probíhá v místnosti č. dv. 48, přízemí budova B

Cíl práce: Seznámit se s měřením a interpretací vibračních spekter cukrovinek.

Úkol: Analyzovat neznámé vzorky cukrovinek pomocí FTIR a FT NIR spekter naměřených na přístroji Nicolet 6700 (Thermo Scientific, USA); pokusit se určit rozdíly ve složení těchto vzorků na základě interpretace spekter.

Úvod

Čokolády jsou vyráběny z kakaové hmoty, kakaového másla a sacharosy. Tudiž obsahují tukuprostou kakaovou sušinu, kakaové máslo a sacharosu. Mléčné a bílé čokolády dále obsahují sušené mléko. Určité typy čokolád mohou mít část kakaového másla (max. 5 %) nahrazenou speciálním rostlinným tukem. V současné době se vyrábí celá řada výrobků, které mají recepturu složenou z kakaového prášku, speciálních rostlinných tuků, sacharosy a případně sušeného mléka. Mléčná chuť bývá často podpořena přidavkem syrovátky.

Infračervená spektroskopie je založena na schopnosti látek absorbovat elektromagnetické záření v infračervené oblasti ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$). Pohlcení kvanta infračerveného spektra (IČ) světla vede k vibraci jednotlivých vazeb a skupin v molekule. IČ spektrum látky obsahuje pásy odpovídající jednotlivým vibračním přechodům, přičemž každá vazba nebo skupina má obvykle několik absorpčních pásů. Rozlišují se valenční (ν) a deformační (δ, γ) vibrace:

- valenční, ν – mění se především délka vazby
- deformační rovinná, δ (kyvadlová ρ , nůžková δ) – mění se úhel mezi vazbami
- deformační mimorovinná, γ (vějířové ω , kroutivé τ) – některý atom kmitá mimo rovinu

Disperzní IČ spektroskopie používá pro měření spekter monochromatické světlo získané tak, že je světelný paprsek rozložen na hranolu nebo na mřížce do svých jednotlivých

barevných složek, resp. vlnových délek. Zařízení, ve kterém se vytváří monochromatický paprsek, se nazývá **monochromátor**. Při vlastním měření pak pomocí natáčení zrcadla prochází monochromatický paprsek proměnné vlnové délky vzorkem, se kterým reaguje a odezva je zaznamenána jako **IČ spektrum**, dané jako závislost absorpance (transmitance) na vlnočtu. Disperzní IČ spektrometr může být jedno- nebo dvoupraprskový. Nevýhodou disperzních spektrometrů je velký počet pohyblivých částí, malá rychlost záznamu spektra, malá optická propustnost spektrometru, rušivý vliv rozptýleného světla, absence vnitřní kalibrace přístroje a zahřívání vzorku.

V současnosti se od klasického způsobu měření upouští, jelikož je tato metoda příliš pomalá. Častěji využívanou metodou je nyní **IČ spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR)**. Místo monochromatického světla se zde využívá paprsek polychromatického světla. Přístroj pracuje na principu **skenujícího Michelsonova interferometru**. Vlastní interferometr se sestává ze dvou vzájemně kolmých rovinných zrcadel, upevněného a pohyblivého, a tzv. děliče svazků. Svazek paprsků dopadá na dělič, kde se dělí na dvě rovnocenné části, které postupují odděleně k oběma zrcadlům; na nich se odrážejí a na děliči se opět rekombinují. Na výstupu z děliče svazků je tak polychromatický paprsek interferovaného světla, který dopadá na vzorek (viz obr. 1). Výsledkem interakce paprsku se vzorkem je **interferogram**, který je sumou kosinových funkcí všech vlnových délek, které interferometrem prošly. Interferogram není použitelný pro interpretaci a tak je nutné ho převést na IČ spektrum pomocí **Fourierovy transformace (FT)**. Vzhledem k tomu, že FT je matematická metoda, je nutné mít pro zpracování interferogramu počítač s příslušným programovým vybavením. Výhoda FT-IR spektrometru spočívá v tom, že měření netrvá dlouho, jako je tomu u klasické spektroskopie; díky softwaru se získává přímo spektrum; pokud se zvýší počet skenů, dosáhne se větší přesnosti.

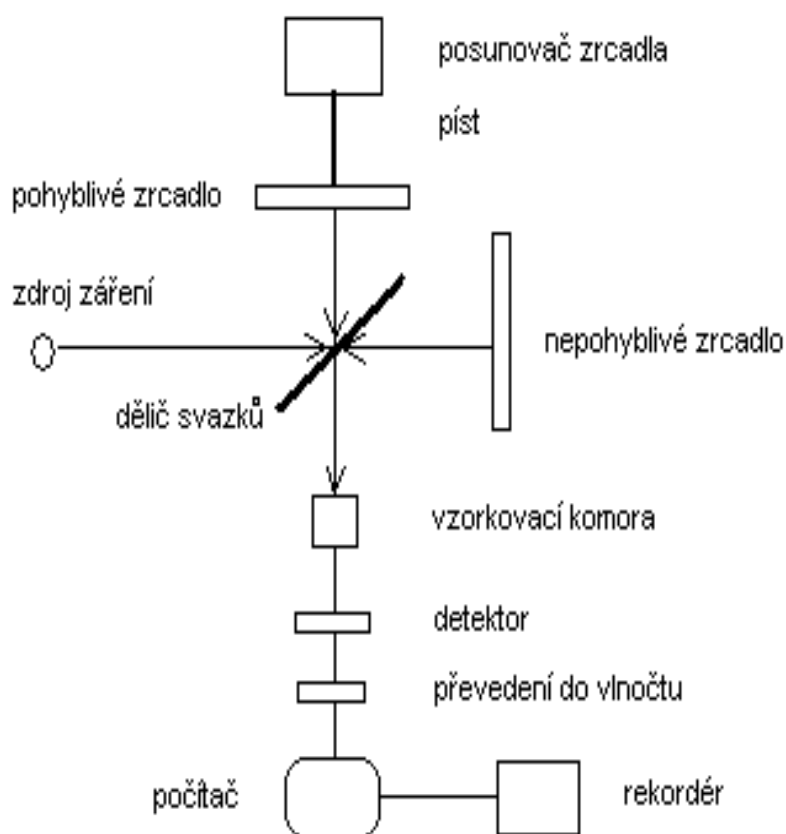
IČ spektra vzorků v různém stavu lze měřit různými technikami. Každá technika vyžaduje speciální podmínky. Kyvety používané pro měření IČ spekter plyných a kapalných vzorků musí být z materiálu, který je propustný pro IČ záření; takovým materiálem jsou halogenidy některých kovů, především alkalických. Při měření roztoků je nutné dbát na to, aby bylo použité rozpouštědlo propustné pro IČ záření v žádané oblasti. Voda se tímto jeví jako nevhodné medium, poněvadž absorbuje IČ záření v několika oblastech.

Pevné vzorky, které nelze rozpustit ve vhodném rozpouštědle nebo je není možné upravit do tenké vrstvy vhodným zpracováním (roztavením, lisováním nebo připravením samonosných filmů), se obvykle upravují do nujolové suspenze nebo KBr tablet. Při nujolové technice se vzorek mísí s parafinovým olejem (nujolem) a rozetře se v achátové misce na

hustou suspenzi, která se pak měří v kapilární vrstvě mezi dvěma solnými okénky. Tablety vzorku v bromidu draselném se připraví ze směsi vzorku a sušeného KBr (poměr 1–5 : 100). Tato směs se upraví tak, aby bylo dosaženo co nejjemnější konzistence, a poté se lisuje pod velkým tlakem na průhlednou tabletu.

Existují techniky měření IČ spekter, které umožňují analýzu složitých vzorků, např. prášků, vodných roztoků nebo směsí. Technikou **difúzní reflektance** (DRIFT, *diffuse reflectance infrared Fourier transform*) se měří především práškové vzorky, které nemohou být vystaveny vysokému tlaku, mezi analytem a matricí dochází k iontové výměně atd.

Měření je jednoduché: na homogenní vzorek dopadá zaostřené záření ze zdroje. Toto záření se na částicích vzorku zčásti odrazí a zčásti proniká, absorbované záření je buď zcela pohlceno, nebo pouze zeslabeno. Záření odražené od povrchu vzorku i záření vystupující ze vzorku je z prostoru nad vzorkem odvedeno pomocí zrcadla na detektor. Zde je záření rozděleno na několik složek a matematicky převedeno pomocí Kubelkovy-Munkovy rovnice na závislost hodnot $\log(1/R)$, kde R je reflektance (%), a koncentrací stanovované látky. Spojením FT-IR spektroskopie se **zeslabenou úplnou reflektancí** (ATR, *attenuated total reflectance*) se dosáhlo větší dokonalosti a odstranění problémů vznikajících u difúzní reflektance (velká absorpce vody, špatná propustnost ve střední IČ oblasti). ATR je založeno na transmisi IČ záření krystalem, který je v kontaktu se vzorkem. Při každém odrazu vlna pronikne prostorem za krystal do hloubky řádově několika mikrometrů. Vzorek, jenž je v kontaktu s touto styčnou plochou, může interagovat se svazkem IČ paprsků a poskytnout absorpční spektrum.



Obr. 1: Schema Michelsonova interferometru

Pracovní postup

Příprava vzorku a měření FTIR spekter – KBr tablety

Navažte asi 5 mg vzorku a smíchejte se 100 mg KBr v achátové misce. Nasypte směs do nástavce pro lisování KBr tablet a vložte do ručního lisu. Zatlačte páku a vyndejte nástavec s tabletou. Položte nástavec s čistým KBr do vzorkové komory přístroje. Naměřte pozadí. Vyměňte nástavec a naměřte spektrum tablety se vzorkem. Uložte spektrum a proveďte nutné úpravy (hlazení, korekce vlivu CO₂ a vodné páry, korekce základní linie). Vytiskněte spektrum a označte polohy pásu a jejich přiřazení na základě tabulky přiřazení vlnočtů.

Příprava vzorku a měření FTIR spekter – HATR

Naměřte pozadí (bez vzorku) a připravte přístroj ke měření vzorku. Položte vzorek na plochu nástavce (na krystal) a přitlačte, až se na obrazovce objeví výrazné spektrum. Naměřte spektrum vzorku, uložte ho a proveďte nutné úpravy (hlazení, ATR korekce a korekce základní linie). Vytiskněte spektrum a označte polohy pásu a jejich přiřazení na základě tabulky přiřazení vlnočtů.

Příprava vzorku a měření FTIR spekter – difúzní reflektance

Navážte asi 5 mg vzorku a smíchejte se 100 mg KBr v achátové misce. Nasypete směs do nástavce pro měření. Položte nástavec s čistým KBr do vzorkové komory přístroje. Naměřte pozadí. Vyměňte nástavec a naměřte spektrum vzorku. Vytiskněte spektrum a označte polohy pásu a jejich přiřazení na základě tabulky přiřazení vlnočtů.

Příprava vzorku a měření FT NIR spekter – difúzní reflektance

Naměřte pozadí (spektralonový standard). Položte vzorek na plochu nástavce a přitlačte ho shora. Naměřte spektrum vzorku a uložte ho. Vytiskněte spektrum a označte polohy pásu a jejich přiřazení na základě tabulky přiřazení vlnočtů v NIR oblasti.