

POMIARY SPEKTROFOTOMETRYCZNE

Cel ćwiczenia

Wyznaczenie względnej charakterystyki widmowej układu w zależności od zastosowanego zakresu fal.

Zakres wymaganych wiadomości

1. Prawa absorpcji.
2. Spektrofotometria absorpcyjna – sposoby oznaczenia badanych składników.
3. Wyznaczenie charakterystyki widmowej układu w zakresie długości fal 380 do 900 nm.
4. Wyznaczenie stężeń badanych próbek metodą algebraiczną.

1.1 Prawa absorpcji.

I Prawo absorpcji (prawo Lamberta), absorpcja, transmitancja

Spektrofotometria jest to technika spektroskopowa polegająca na ilościowym pomiarze absorpcji, emisji lub odbicia światła. Od zwykłej fotometrii różni się tym, że umożliwia pomiar światła w zależności od długości światła. W technikach spektrofotometrycznych mierzy się i porównuje intensywność poszczególnych sygnałów w kolejnych widmach spektroskopowych, natomiast w technikach spektroskopowych nie zaliczanych do spektrofotometrii pomiar wartości intensywności światła ma drugorzędne znaczenie, a ważne jest raczej występowanie i kształt sygnałów w widmach. Wiązka promieniowania monochromatycznego przechodząca przez warstwę roztworu jest osłabiona w stosunku do padającego. Promieniowanie o natężeniu I_0 ulega częściowo odbiciu lub rozproszeniu, częściowo pochłonięciu, a tylko część przechodzi przez roztwór (Rys.1). Powyższą obserwację można przedstawić w postaci równania (1):

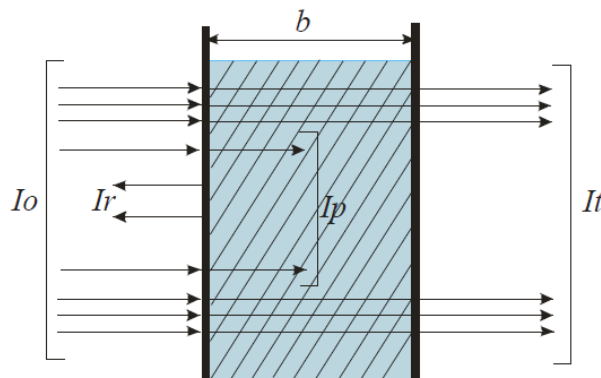
$$I_0 = I_r + I_p + I_t \tag{1}$$

gdzie:

- I_0 – natężenie wiązki promieniowania monochromatycznego,
- I_r – natężenie promieniowania rozproszonego i obitego,
- I_p – natężenie promieniowania pochłoniętego,
- I_t – natężenie promieniowania przechodzącego przez roztwór.

W przypadku roztworów, w których nie ma zawiesin, wartość I_r można praktycznie pominąć (2).

$$I_0 = I_p + I_t \tag{2}$$



Rys.1. Zjawisko absorpcji promieniowania.

Znając wartość natężenia I_0 oraz natężenia promieniowania przechodzącego przez roztwór I_t jesteśmy w stanie wyznaczyć wartość I_p . Natężenie światła przechodzącego I_t zależy od natężenia źródła światła I_0 oraz od grubości warstwy roztworu b . Zależność tę można wyrazić wzorem Lamberta:

$$I_t = I_0 \cdot e^{-kb} \quad (3)$$

gdzie:

k – współczynnik absorpcji.

Stąd po prostych przekształceniach otrzymujemy:

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I_t} = ab \quad (4)$$

gdzie: $a = 0,4343k$, $\log_{10} e = 0,4343$, A - zdolność pochłaniania promieniowania zwana **absorbancją**.

I prawo absorpcji można zatem sformułować w następujący sposób:

Absorbancja jest proporcjonalna do grubości warstwy absorbującej, jeśli wiązka promieniowania monochromatycznego przechodzi przez jednorodny ośrodek absorbujący.

Inną wielkością stosowaną do określenia absorpcji promieniowania jest **transmitancja (przepuszczalność) T**:

$$T = \frac{I_t}{I_0} \quad (5)$$

w konsekwencji:

$$A = \log \frac{1}{T} \quad (6)$$

Transmitancja wskazuje, jaka część promieniowania padającego została przepuszczona przez roztwór. Często transmitancja jest podawana w procentach %T.

$$\%T = 100 \cdot \frac{I_t}{I_0} \quad (7)$$

II Prawo absorpcji zwane również prawem Lamberta-Beera dotyczy absorpcji promieniowania przez roztwory i można je sformułować w następujący sposób:

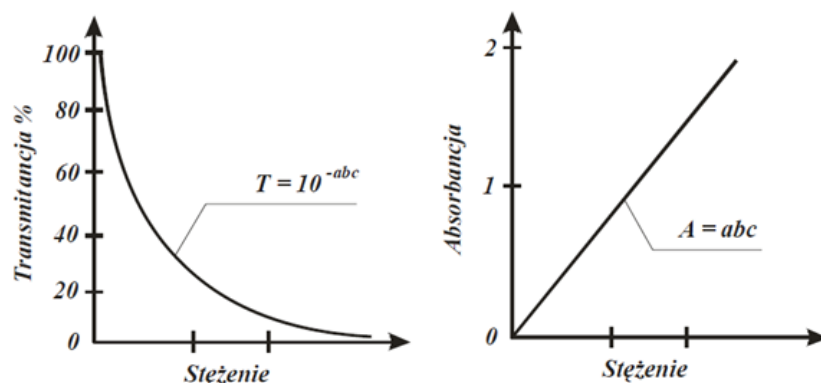
Jeżeli współczynnik absorpcji rozpuszczalnika jest równy zero, to wiązka promieniowania monochromatycznego, po przejściu przez jednorodny roztwór substancji absorbującej o stężeniu c, ulega osłabieniu według równania:

$$I_t = I_0 \cdot e^{-kbc} \quad (8)$$

po przekształceniach:

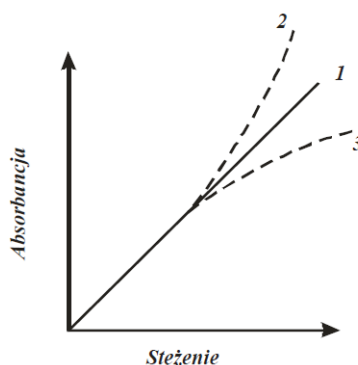
$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I_t} = abc \quad (9)$$

Zależność transmitancji od stężenia ma charakter wykładniczy, a zależność absorbancji od stężenia – prostoliniowy, co obrazuje Rys.2.



Rys.2. Zależność stężenia od transmitancji i absorpcji.

Pomiar absorpcji należy wykonywać przy długości fali, dla której uzyskuje się maksymalną absorpcję. W przypadku, gdy zależność 10 jest liniowa, wówczas dany roztwór podlega prawu Lamberta-Beera. Jednak w praktyce spotyka się odchylenia od tego prawa (Rys. 3) głównie za sprawą reakcji chemicznych zachodzących wraz ze zmianą stężenia lub błędami aparaturowymi, np. niską monochromatycznością promieniowania.



Rys.3. Zależność absorpcji od stężenia.

1 – prawo Lamberta-Beera spełnione, 2 i 3 – odchylenia od prawa Lamberta-Beera

Spełnienie prawa Lamberta-Beera nie jest jednak warunkiem koniecznym wykonania analizy spektrofotometrycznej. Odchylenia od prawa Lamberta-Beera powodują zwiększenie błędów oznaczania.

Odstępstwa od praw absorpcji.

- a) **związane z próbką**, zależą od charakteru środowiska:
 - zmiana współczynnika załamania promieniowania,
 - zbyt wysokie stężenie (oddziaływanie składników roztworu; hydroliza, solwatacja, polimeryzacja),
 - nakładanie się przekrojów czynnych cząstek.
- b) **instrumentalne**:
 - brak monochromatyzacji wiązki promieniowania,
 - niska klasa przyrządu.

Ze względu na powstawanie znacznych błędów nie należy dokonywać pomiarów przy bardzo niskim bądź wysokim stężeniu roztworu. Przy małych stężeniach wynik jest obarczony błędem, wskutek małych wartości absorpcji. Natomiast przy dużych stężeniach sytuacja jest odwrotna, mała część promieniowania przechodzi przez roztwór a zatem absorpcja ma wartości bardzo duże. Badanie czułości pomiaru można przeprowadzić wykorzystując stosunek $\Delta A/A$, który odpowiada najmniejszej różnicy absorpcji, możliwej do zmierzenia w stosunku do całej absorpcji.

2. Spektrofotometria absorpcyjna – sposoby oznaczenia badanych składników.

Oznaczanie badanego składnika wykonuje się najczęściej metodami: krzywej wzorcowej oraz metodą algebraiczną.

Metoda krzywej wzorcowej polega na ustaleniu zależności pomiędzy stężeniem oznaczonej substancji w roztworze, a absorbcją. W tym celu sporządza się serie roztworów wzorcowych oznaczonej substancji o różnych stężeniach i dla każdej z próbek wyznacza się krzywą absorbcji, czyli jej zależność od długości fali światła padającego. Na podstawie otrzymanych krzywych absorbcji dla każdej z próbek określa się długość fali, przy której absorbcja osiąga wartość minimalną. Z otrzymanych danych wykreśla się krzywą wzorcową.

Metodę algebraiczną stosuje się często w przypadku pojedynczych oznaczeń. Stężenie oznaczanego składnika oblicza się z bezpośrednio ze wzoru:

$$C = \frac{A}{a \cdot b} \quad (11)$$

gdzie:

A – absorbcja roztworu,

a – współczynnik absorbcji,

b – grubość warstwy roztworu.

W celu uzyskania większej dokładności pomiaru wartości współczynnika absorbcji wyznacza się jego wartość średnią mierząc przy danej długości fali absorbcję kilku roztworów wzorcowych.

Modyfikacją tej metody dającą pewniejsze wyniki jest sposób z dwoma roztworami wzorcowymi C_1 i C_2 tak dobranymi, aby $A_1 < A_x < A_2$. wówczas to nieznanne stężenie roztworu można obliczyć ze wzoru:

$$C_x = C_1 + \frac{C_2 - C_1}{A_2 - A_1} \cdot (A_x - A_1) \quad (12)$$

3. Przebieg ćwiczenia.

3.1. Sporządzenie roztworów.

- A) Z przygotowanego 0,05 M wzorcowego roztworu CuCl_2 (roztwór nr 1) odmierzyć za pomocą pipety do 4 kolb miarowych na 50 cm^3 odpowiednio 5, 10, 15, 20 cm^3 roztworu wzorcowego, następnie dopełnić roztwór wodą destylowaną do kreski miarowej i wymieszać. Przebrać każdy z roztworów do kuwetki i dla każdego wzorca zmierzyć absorbcję wobec wody jako odnośnika. Pomiarów wykonywać co $\Delta\lambda = 20$ nm, w zakresie od 380 do 900 nm. Wyniki umieścić w tabeli.
- B) Z przygotowanego 0,05 M wzorcowego roztworu zawierającego związku Fe_2O_3 , HNO_3 i KCNS (roztwór nr 2) odmierzyć za pomocą pipety do 4 kolb miarowych na 50 cm^3 odpowiednio 5, 10, 15, 20 cm^3 roztworu wzorcowego, następnie dopełnić roztwór wodą destylowaną do kreski miarowej i wymieszać. Przebrać każdy z roztworów do kuwetki i dla każdego wzorca zmierzyć absorbcję wobec wody jako odnośnika. Pomiarów wykonywać co $\Delta\lambda = 20$ nm, w zakresie od 380 do 900 nm. Wyniki umieścić w tabeli.

3.2. Ustawienie spektrofotometru.

Według instrukcji urządzenia.

4. Opracowanie wyników.

1. Na podstawie otrzymanych wyników wykreślić widma spektrofotometryczne zależności absorbcji od długości fali dla otrzymanych roztworów.
2. Wyznaczyć transmitancję dla poszczególnych roztworów.
3. Obliczyć stężenia badanych roztworów i wyznaczyć krzywe wzorcowe zależności stężenia roztworu i absorbcji dla danej długości fali (660 nm dla roztworu 1 i 480 nm dla roztworu 2).

Literatura

1. Mareczko Z., *Spektrofotometryczne oznaczanie pierwiastków*, PWN, Warszawa 1979.
2. Cygański A., *Podstawy metod elektroanalizy*, WNT, Warszawa 1999.
3. Szczepaniak W., *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, PWN, Warszawa 2007.