

5. vježba

SPEKTROFOTOMETRIJA

Beer-Lambertov zakon

SVRHA RADA

Upoznati se sa spektrofotometrom i provjeriti Beer-Lambertov zakon.

ZADATAK

1. Odrediti ovisnost apsorbancije o valnoj duljini (spektar) za vodenu otopinu KMnO_4 zadane koncentracije.
2. (a) Odrediti ovisnost apsorbancije o duljini puta svjetlosti (širini kivete) za vodenu otopinu KMnO_4 zadane koncentracije pri valnoj duljini maksimalne apsorpcije. Pomoću Beer-Lambertovog zakona odrediti vrijednost molarnog apsorpcijskog koeficijenta, ε .
2. (b) Odrediti ovisnost apsorbancije o koncentraciji KMnO_4 pri valnoj duljini maksimalne apsorpcije. Pomoću Beer-Lambertovog zakona odrediti vrijednost molarnog apsorpcijskog koeficijenta, ε .

UVOD

Apsorpcija svjetlosti

Svjetlost se, ovisno o valnoj duljini (λ) i svojstvu tvari, prolazeći kroz neki uzorak apsorbira uslijed čega se smanjuje intenzitet ili snaga svjetlosnog snopa. Smanjenje snage svjetlosnog snopa proporcionalno je debljini apsorbirajućeg sloja i koncentraciji jedinki koje apsorbiraju zračenje

$$-\frac{d\phi}{dx} = kc \phi \quad (1)$$

gdje je ϕ snaga zračenja (energija po vremenu), dx debljina sloja koji je prešla zraka svjetlosti, c (množinska) koncentracija tvari koja apsorbira svjetlost, a k (molarni Napierov koeficijent apsorpcije) konstanta proporcionalnosti čija vrijednost ovisi o valnoj duljini i svojstvu tvari.

Integriranjem gornjeg izraza u granicama od $x = 0$ do $x = l$, dobije se izraz koji opisuje smanjenje snage svjetlosti tijekom prolaza kroz uzorak debljine l

$$\int_{\phi_0}^{\phi} \frac{d\phi}{\phi} = -kc \int_0^l dx \quad (2)$$

što daje

$$\ln \frac{\phi_0}{\phi} = kcl \quad (3)$$

gdje je ϕ_0 snaga upadne svjetlosti, a ϕ snaga svjetlosti nakon prolaska kroz uzorak. Udio zračenja koje prolazi kroz otopinu naziva se transmitancija

$$T = \frac{\phi}{\phi_0} \quad (4)$$

Apsorbancija (A) definirana je dekadskim logaritmom omjera snaga zračenja propuštenog svjetla kroz uzorak i upadnog zračenja:

$$A = \lg \frac{\phi_0}{\phi} = \lg \frac{1}{T} = \frac{k}{\ln 10} cl \quad (5)$$

iskazuje udio apsorbiranog zračenja. Apsorpcijska sposobnost otopljene tvari karakterizira se molarnim (dekadskim) koeficijentom apsorpcije (ε), čija vrijednost ovisi o valnoj duljini.

$$\varepsilon = \frac{k}{\ln 10} \quad (6)$$

pa se jednadžba (5) može napisati kao

$$A = \varepsilon c l \quad (7)$$

Da bi se odredila koncentracija, potrebno je mjeriti apsorbanciju otopine u kiveti poznate širine l . Odabere se ona valna duljina pri kojoj je apsorpcija najizraženija (najveća vrijednost ε) i mjeri se apsorbancija. Vrijednost ε određuje se baždarenjem.

Spektrofotometri

Spektrofotometri su uređaji kojima se mjeri apsorbancija kao funkcija valne duljine svjetlosti. Sastoje se iz četiri dijela:

1. Izvor zračenja
2. Disperzni element
3. Prostor za uzorak
4. Detektor

1. Izvor zračenja

Kao izvor svjetlosti služi žarulja koja daje bijelu svjetlost podjednakih intenziteta za cijelo područje valnih duljina. Postoje više vrsta žarulja, a karakterizirane su područjem valnih duljina svjetlosti.

2. Disperzni element

Disperzni element je ili prizma ili optička rešetka koja svjetlost izvora razdvaja prema valnim duljinama. Moć razlučivanja ovisi o širini pukotine S_u između izvora i disperznog elementa, a raspon valnih duljina koji se propušta na uzorak ovisi o širini izlazne pukotine S_i .

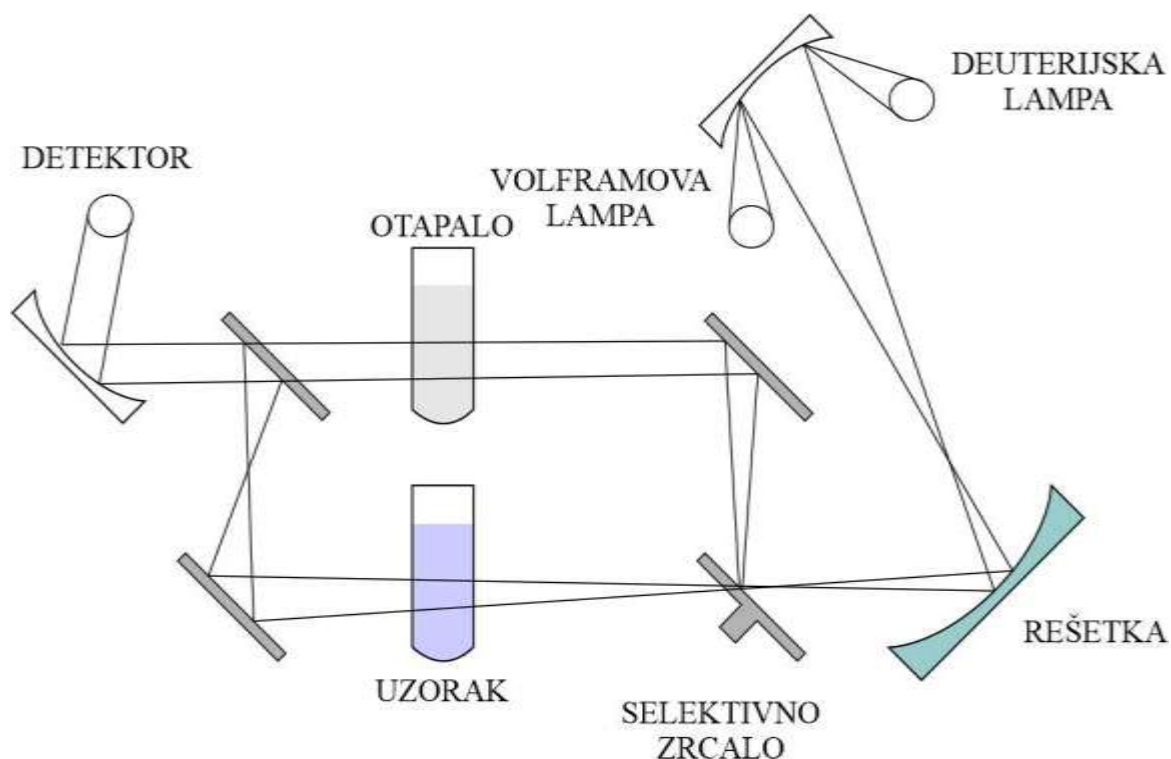
3. Uzorak

Tekući se uzorci stavljaju u posudu prozirnih paralelnih stijenki (ćelija, kiveta) čija udaljenost određuje duljinu puta svjetlosti kroz uzorak. Plinoviti se uzorci stavljaju u posebno izrađene ćelije, a čvrsti su uzorci u obliku pločica ili prešanih tableta. Potrebno je mjeriti snagu zrake prije i nakon prolaska kroz uzorak. To se provodi na dva načina. Jednostavniji je način da se za mjerenje upadne svjetlosti ukloni uzorak (sva svjetlost prolazi), koji se nakon toga postavi na put svjetlosti i mjeri se snaga izlazne zrake. U slučaju otopina, kao referentni uzorak obično služi kiveta s čistim otapalom. Otapalo (referentni uzorak) se mora nalaziti u kiveti od istog materijala i jednake debljine, kao i uzorak. Na taj su način konstruirani tzv. jednosnopni spektrofotometri (*single beam*). Složeniji i pogodniji su dvosnopni uređaji (*double beam*). Zraka monokromatske svjetlosti se razdvoji na dva snopa od kojih jedan prolazi kroz uzorak, a drugi kroz referentni uzorak (otapalo ili zrak). Snage snopova se mjere istodobno ili naizmjenice, i uspoređuju.

4. Detektor

Detektor se sastoji od fotoćelije koja služi kao osjetilo (senzor). Fotoćelija daje električni signal proporcionalan snazi svjetlosti, koji se pojačava i pretvara (preračunava) u apsorbanciju.

Na slici 1. shematski je prikazan dvosnopni spektrofotometar, uređaj sličan onom koji se rabi u ovoj vježbi.



Slika 1. Shema dvosnopnog spektrofotometra.

IZVEDBA EKSPERIMENTA

Priprema uzorka

Potrebno je pripremiti 50 cm³ vodene otopine KMnO₄ zadane koncentracije (od 1×10⁻⁴ mol dm⁻³ do 1×10⁻³ mol dm⁻³).

Spektrofotometar

Mjerenje se izvodi na Spektrofotometru CE 4400 (UV-Vis spektrofotometar s dvije zrake; 190–800 nm).

Snimanje spektra

1. Spektrofotometar se uključi kako bi se elektronički sustav i žarulja stabilizirali.
2. Način rada namjesti se za mjerenje apsorbancije.
3. Na spektrofotometru se namjesti početna vrijednost valne duljine ($\lambda = 600$ nm).
4. U obje se kivete ($l = 1$ cm) ulije otapalo (voda).
5. Kivete s otapalom (vodom) smjeste se unutar spektrofotometra u nosače kiveta.
6. Na spektrofotometru se okretanjem vijka (*absorbance zero*) namjesti vrijednost apsorbancije 0.
7. Snima se bazna linija na sljedeći način: izmjeri se apsorbancija u rasponu valnih duljina od 600 do 480 nm s korakom od 5 nm.
8. Iz prve kivete izlije se otapalo, kiveta se ispere vodenom otopinom KMnO₄ te se ispuni istom otopinom, i namjesti u nosač kivete.
9. Izmjeri se apsorbancija vodene otopine KMnO₄ u rasponu valnih duljina od 600 do 480 nm s korakom od 5 nm.
10. Apsorbancija otopine pri svakoj valnoj duljini dobiva se oduzimanjem bazne linije od izmjerene apsorbancije vodene otopine KMnO₄.

Ovisnost apsorbancije o koncentraciji

1. U odmjernim tikvicama od 25 cm³ pripremi se pet otopina KMnO₄ različitih koncentracija u rasponu od 10⁻⁴ do 10⁻³ mol dm⁻³ iz ishodne otopine koncentracije 10⁻³ mol dm⁻³.
2. Na spektrofotometru se odabere valna duljina pri kojoj otopina KMnO₄ maksimalno apsorbira (λ_{\max}).
3. Izmjeri se apsorbancija svake od pripremljenih otopina u kiveti optičkog puta 1 cm i korigira za apsorbanciju otapala pri toj valnoj duljini.

Ovisnost apsorbancije o duljini optičkog puta

1. U odmjernoj tikvici od 50 cm³ pripremi se otopina KMnO₄ koncentracije 5×10⁻⁵ mol dm⁻³ iz ishodne otopine koncentracije 10⁻⁴ mol dm⁻³.
2. Na spektrofotometru se odabere valna duljina pri kojoj otopina KMnO₄ maksimalno apsorbira (λ_{\max}).
3. U obje kivete određenog optičkog puta ulije se otapalo i izmjeri se apsorbancija.

4. Iz prve kivete izlije se otapalo, kiveta se ispere vodenom otopinom KMnO_4 te se ispuni istom otopinom, i namjesti u nosač kivete.
5. Izmjeri se apsorbancija pripremljene otopine KMnO_4 i oduzme se apsorbancija izmjerena za otapalo. Postupak se ponavlja korištenjem kiveta različitih optičkih puteva ($l = 1, 2, 4, 5 \text{ cm}$).

PRIKAZ I OBRADA MJERNIH PODATAKA

Rezultati mjerenja apsorbancija prikazu se tablično i grafički. Spektar je grafički prikaz apsorbancije korigirane za baznu liniju (A) prema valnoj duljini svjetlosti (λ). Iz spektra se odredi valna duljina maksimalne apsorpcije (λ_{max}).

Tablično i grafički se prikaže i ovisnost apsorbancije (A) o koncentraciji (c). Prema jednadžbi (7), molarni apsorpcijski koeficijent, ε , proporcionalan je nagibu funkcije $A = f(c)$. Potrebno je razmotriti primjenjivost Beer-Lambertova zakona.

Tablično i grafički se prikaže ovisnost apsorbancije (A) o duljini puta svjetlosti (l). Prema jednadžbi (7), molarni apsorpcijski koeficijent, ε , proporcionalan je nagibu funkcije $A = f(l)$. Potrebno je razmotriti primjenjivost Beer-Lambertova zakona.

Preporuka. Prije izvedbe vježbe potrebno je:

1. Razlikovati apsorpciju i apsorbanciju, te transmisiju i transmitanciju.
2. Objasniti što je spektar.
3. Objasniti Beer-Lambertov zakon.
4. Opisati način rada spektrofotometra.
5. Razlikovati monokromatsko i polikromatsko zračenje.