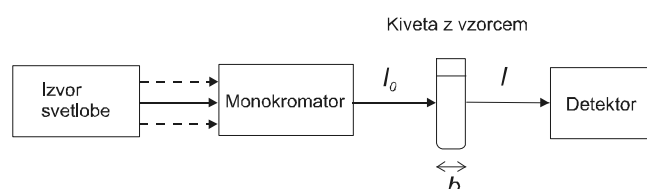


## Molekulska absorpcijska spektrometrija

Molekulska absorpcijska spektrometrija (spektrofotometrija) temelji na merjenju absorpcije svetlobe pri prehodu skozi raztopino vzorca. Za vzbujanje uporabimo monokromatsko svetlobo v ultravijoličnem ali vidnem področju. Molekulam, ki jih vzbujamo, se spremenijo elektronska stanja.



Shema spektrofotometra

Svetloba izbrane valovne dolžine z intenziteto  $I_0$  potuje skozi vzorec. Del svetlobe se pri tem absorbira, prepuščena svetloba intenzitete  $I$  pa pride do detektorja. Absorpcijo svetlobe podaja Beerov zakon, ki velja le za razredčene raztopine. Po njem velja, da je absorbanca  $A$  linearno sorazmerna koncentraciji snovi, ki absorbira svetlobo:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot b \cdot c,$$

pri čemer je  $\varepsilon$  molarna absorptivnost [ $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ],  $b$  je dolžina svetlobne poti – kivete [cm],  $c$  pa koncentracija snovi, ki absorbira svetlobo [ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ]. Molarna absorptivnost je karakteristika snovi in je odvisna od valovne dolžine. V primeru, da spojina sama ne absorbira svetlobe, lahko z dodatkom reagentov tvorimo obarvan produkt, ki mu lahko spektrofotometrično določimo koncentracijo.

Če merimo absorbanco pri različnih valovnih dolžinah svetlobe, dobimo spekter, ki je za molekule zvezen. Za kvantitativno določevanje izberemo valovno dolžino, pri kateri je absorbanca maksimalna. Ker je molekulska absorpcijska spektrometrija relativna tehnika, koncentracijo analita določimo posredno z metodo umeritvene krivulje ali standardnega dodatka.

Glavni problem v molekularni absorpcijski spektrometriji so motnje zaradi drugih komponent v vzorcu. Te namreč lahko tudi absorbirajo svetlobo pri izbrani valovni dolžini ali pa z reagentom tvorijo obarvane spojine. Preden merimo absorbanco, moramo zato odstraniti ali maskirati spojine, ki motijo določitev.

Nekateri pojmi, povezani s spektrofotometrijo:

**Prepustnost ali transmittanca T** je kvocient med intenziteto izstopajoče svetlobe  $I$  in intenziteto svetlobe, s katero vzorec osvetljujemo,  $I_0$ :

$$T = \frac{I}{I_0}.$$

**Absorpcija** je komplementarna prepustnosti:

$$\text{absorpcija} = 1 - T = 1 - \frac{I}{I_0} = \frac{I_0 - I}{I_0}.$$

**Absorbanca** je enaka negativnemu logaritmu transmittance:

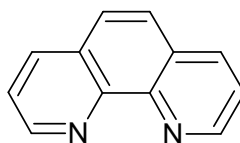
$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \log \frac{I_0}{I}.$$

**Aditivnost absorbcanc** – če imamo v raztopini dve ali več spojin, ki absorbirajo svetlobo izbrane valovne dolžine, potem se njihove absorbcance seštevajo:

$$A_{\text{tot}} = A_1 + A_2 + \dots = \varepsilon_1 \cdot b \cdot c_1 + \varepsilon_2 \cdot b \cdot c_2 + \dots$$

## 7. vaja: SPEKTROFOTOMETRIČNA DOLOČITEV ŽELEZA

Železo določimo spektrofotometrično po nastanku obarvanega kompleksa z 1,10-fenantrolinom pri valovni dolžini, ki ustreza maksimumu absorpcije.



1,10-fenantrolin



### Eksperimentalni del

Aparatura:  
spektrofotometer

#### Postopek:

Približno četrtno železove tablete natehtajte v suho 150 mL čašo in raztopite v približno 30 mL deionizirane vode. Raztopino kvantitativno prenesite v 100 mL bučko in dopolnite do oznake. 20 mL tako pripravljene raztopine odpipetirajte v 50 mL bučko in razredčite do oznake.

Označite sedem 25 mL bučk. V prvo odpipetirajte 1 mL pripravljenega vzorca (iz 50 mL bučke), v ostale pa po vrsti: 0 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL in 5 mL standardne raztopine železa z masno koncentracijo 5  $\mu\text{g/mL}$ . V vseh sedem bučk odpipetirajte 2 mL hidroksilamin hidroklorida ( $\text{NH}_3\text{OH}^+\text{Cl}^-$ ), ki reducira  $\text{Fe}^{3+}$  v  $\text{Fe}^{2+}$ , 1 mL acetatnega pufra in 1 mL 0,5 % 1,10-fenantrolina ter z deionizirano vodo razredčite do oznake. Dobro premešajte in počakajte 10 minut, da se razvije rdečkasta barva kelata.

Najprej posnemite absorpcijski spekter v območju 400–650 nm za vzorec z dodatkom reagentov. Pri snemanju spektra instrument avtomatično odšteje ozadje, ki ga pred tem posnemite z raztopino reagentov, ki ne vsebuje standardne raztopine železa.

Iz absorpcijskega spektra določite valovno dolžino, ki ustreza maksimumu absorpcije. Pri tej valovni dolžini izmerite absorbance za posamezne standardne raztopine železa in za raztopino vzorca. Načrtajte graf in iz umeritvene krivulje odčitajte masno koncentracijo železa v razredčenem vzorcu. Kot rezultat podajte masni delež železa v tableti (v %).

### Računska naloga:

Spojina A ima pri 500 nm molarno absorptivnost ( $\epsilon$ ) 1046 L/mol cm in pri 550 nm 828 L/mol cm. Spojina B ima pri 500 nm  $\epsilon$  670 L/mol cm ter pri 550 nm 1677 L/mol cm. Spojina A je v raztopini prisotna v koncentraciji  $3,5 \cdot 10^{-5}$  mol/L, spojina B pa v koncentraciji  $8,2 \cdot 10^{-5}$  mol/L. Kakšen delež svetlobe absorbira ta raztopina pri 500 nm in kakšen pri 550 nm, če merimo absorbanco v 1 cm kiveti? Kolikšna je prepustnost pri 500 nm in 550 nm, če raztopino dvakrat razredčimo?

Upoštevamo aditivnost absorbcanc:

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c = -\log T$$

$$A = A_A + A_B = b(\epsilon_A \cdot c_A + \epsilon_B \cdot c_B)$$

$$A_{500} = 1 \text{ cm} \cdot \left( 1046 \frac{\text{L}}{\text{cm} \cdot \text{mol}} \cdot 3,5 \cdot 10^{-5} \frac{\text{mol}}{\text{L}} + 670 \frac{\text{L}}{\text{cm} \cdot \text{mol}} \cdot 8,2 \cdot 10^{-5} \frac{\text{mol}}{\text{L}} \right) = 0,092$$

$$T_{500} = 81\%$$

$$(1 - T)_{500} = 1 - 10^{-A_{500}} \cdot 100\%$$

$$(1 - T)_{500} = 19\%$$

$$T_{550} = 68\%$$

$$(1 - T)_{550} = 32\%$$

$$A'_{500} = \frac{1}{2} \cdot A_{500} = 0,046$$

$$T'_{500} = -\log A'_{500} \cdot 100\% = 90\%$$

$$T'_{550} = 83\%$$

Raztopina absorbira 19 % svetlobe pri 500 nm in 32 % pri 550 nm. Če raztopino dvakrat razredčimo, sta ustrezni prepustnosti 90 % pri 500 nm in 83 % pri 550 nm.