

widzialnym). Jeżeli z tego widma elektronowego wydzieli się wąski wycinek (500 cm^{-1}) i zastosuje aparaturę o większej rozdzielczości, otrzyma się obraz pasm oscylacyjnych (rys. 3.14b). Zastosowanie aparatury o jeszcze większym rozdzieleniu umożliwi obserwację indywidualnych przemian rotacji, które tworzą zarys widma rotacyjnego (rys. 3.14c). Struktura rotacyjna w postaci pojedynczych linii występuje u par i gazów, przy zwiększeniu ciśnienia zanika i w cieczach z reguły nie występuje. W cieczach występuje tylko struktura oscylacyjna w postaci rozmytych pasm.

3.2. Spektrofotometria absorpcyjna cząsteczkowa

3.2.1. Zasada i podział spektrofotometrii

Promieniowanie elektromagnetyczne przechodzące przez dany ośrodek może ulec różnym procesom: absorpcji, odbiciu i rozproszeniu. W metodach spektrofotometrycznych wykorzystuje się absorpcję promieniowania. Warunkiem wystąpienia tego zjawiska jest, aby energia padającego promieniowania odpowiadała różnicy energii poziomów elektronowych danej cząsteczki, tj. aby elektrony pochłaniającej cząsteczki mogły być przeniesione ze stanu podstawowego do stanu wzbudzonego. Ulega wtedy zmianie energia elektronowa cząsteczki, co powoduje również na ogół zmianę energii oscylacyjnej i rotacyjnej – otrzymuje się cząsteczkowe widmo elektrownowo-oscyłacyjno-rotacyjne. Jeżeli elektrony danej substancji łatwo przechodzą w stan wzbudzony, to do wzbudzenia wystarczą kwanty o mniejszej energii. Dzieje się tak, jeżeli jest dużo bliskich sobie stanów energetycznych nieobsadzonych elektronami. Przykładem takich układów w związkach nieorganicznych są jony metali przejściowych. Pochłanianie promieniowania z zakresu widzialnego i nadfioletu jest więc uwarunkowane głównie przez strukturę elektronową cząsteczek i jonów, ponieważ powoduje zmianę energii elektronowej. Pochłanianie promieniowania w podczerwieni, o mniejszej energii (większej długości fali), powoduje tylko zmianę energii oscylacyjnej i powstanie widm oscylacyjno-rotacyjnych.

Spektrofotometrię dzieli się pod względem długości stosowanego promieniowania na trzy zasadnicze działy (por. s. 22, tab. 1.1):

- 1) spektrofotometrię w nadfiolecie (UV) (200–380 nm),
- 2) spektrofotometrię w świetle widzialnym: kolorymetria (VIS) (380–780 nm),
- 3) spektrofotometrię w podczerwieni (IR) (1–16 μm);

skrótów podane w nawiasach pochodzą od nazw angielskich: ultraviolet, visible, infra-red.

Między spektrofotometrią w świetle widzialnym i nadfiolecie nie ma istotnych różnic teoretycznych ani aparaturowych, natomiast spektrofotometria w podczerwieni jest zupełnie inna.

Promieniowanie w zakresie widzialnym jest najbardziej rozpowszechnione i stosowane w analizie. Podstawą podziału na kolorymetrię i spek-

trofotometrię VIS są różnice w sposobie pomiaru i w stosowanej aparaturze. *Kolorymetrią* nazywa się dział analizy oparty na pomiarze lub porównywaniu natężenia zabarwienia roztworów, a *spektrofotometrią* zespół metod badawczych opartych na pomiarze stosunku natężeń (lub funkcji tego stosunku, np. absorbancji) dwóch wiązek promieniowania w funkcji długości fali (patrz definicja spektrofotometru i spektrometru, s. 25, 194). Z dwóch wiązek jedna jest wiązką promieniowania padającego na badaną próbkę, a druga wiązką odniesienia [1.1]. Kolorymetria jest stosowana tylko do oznaczania substancji barwnych lub tworzących barwny związek w wyniku reakcji, a spektrofotometria również do analizy substancji bezbarwnych (nadfiolet, podczerwień). W kolorymetrii pomiary przeprowadza się wizualnie (przez bezpośrednią obserwację lub za pomocą – rzadko obecnie stosowanych – kolorymetrów wizualnych) albo kolorymetrów fotoelektrycznych. W spektrofotometrii prowadzi się pomiary absorbancji w spektrofotometrach. W praktyce analitycznej zarówno w spektrofotometrii, jak i w kolorymetrii największe znaczenie ma zakres promieniowania widzialnego. Układy barwne stosowane do oznaczeń spektrofotometrycznych powinny mieć następujące właściwości:

- duże natężenie zabarwienia, które jest warunkiem odpowiedniej czułości oznaczenia,
- trwałość zabarwienia,
- dobrą odtwarzalność zabarwienia,
- stosowność do prawa Beera,
- specyficzność lub selektywność.

3.2.2. Prawa absorpcji

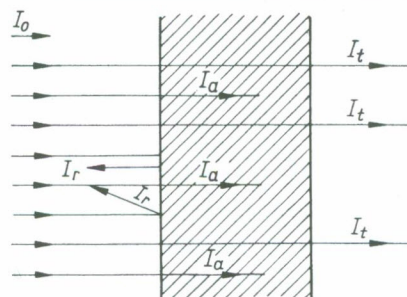
Z padającej na warstwę roztworu równoległej wiązki promieniowania monochromatycznego część ulega absorpcji (pochłonięciu), część przechodzi przez roztwór, część zaś (mniej niż 5%) ulega odbiciu i rozproszeniu [1.2]. Oznaczając przez: I_0 – natężenie promieniowania padającego (patrz rozdz. 1.1), I_a – natężenie promieniowania zaabsorbowanego, I_r – natężenie promieniowania odbitego i rozproszonego, I_t – natężenie promieniowania, które przeszło przez roztwór, można napisać

$$I_0 = I_a + I_r + I_t \quad (3.20)$$

Schemat podziału padającego promieniowania na badany ośrodek przedstawiono na rys. 3.15.

Pomiary absorpcji wykonuje się zawsze w zestawieniu z *roztworem porównawczym*, tzw. *odnośnikiem*. W celu wyeliminowania czynników dodatkowych, jak np. odbicie, rozpraszanie; najczęściej jest nim rozpuszczalnik lub ślepa próba (patrz rozdz. 3.2.7). Obydwa roztwory są umieszczone w identycznych kuwetach, więc natężenie I_r jest stałe i może być pominięte. Wtedy

$$I_0 = I_a + I_t$$



Rysunek 3.15. Schemat podziału promieniowania padającego na badaną próbkę

Pierwsze prawo Lamberta

Pierwsze prawo Lamberta dotyczy zależności między natężeniem światła padającego i natężeniem światła przechodzącego; uzależnia ono wielkość pochłaniania światła od natężenia światła padającego.

Jeżeli światło monochromatyczne o początkowym natężeniu I_0 przechodzi przez roztwór w kuwecie o równoległych ściankach, to natężenie światła zmniejsza się w miarę przechodzenia światła przez poszczególne warstwy.



Rysunek 3.16. Schemat zmian natężenia promieniowania w roztworze

Jeżeli umownie podzielimy roztwór, przez który przechodzi światło, na kilka warstw równej grubości (rys. 3.16), to różnice między natężeniami światła wchodzącego do danej warstwy i wychodzącego z niej będą się zmniejszać w kierunku przechodzenia światła

$$I_0 - I_1 > I_1 - I_2 > I_2 - I_3$$

Jednak w każdej warstwie stosunek zmniejszenia się natężenia światła do wartości natężenia światła wchodzącego do tej warstwy będzie jednaki

$$\frac{I_0 - I_1}{I_0} = \frac{I_1 - I_2}{I_1} = \frac{I_2 - I_3}{I_2} = K$$

dającego promieniowania o dI , to względne zmniejszenie natężenia dI/I jest, według Lamberta, proporcjonalne do grubości warstwy absorbującej. A zatem można napisać

$$\frac{dI}{I} = -kdl \quad (3.22)$$

gdzie: I – natężenie światła wchodzącego do danej warstwy, k – wielkość stała (współczynnik proporcjonalności). Prawa strona równania ma znak minus, ponieważ w miarę zwiększania grubości warstwy natężenie światła wychodzącego się zmniejsza, a nie zwiększa.

Całkując równanie (3.22) w granicach od I_0 do I_t i od 0 do l

$$\int_{I_0}^{I_t} \frac{dI}{I} = -k' \int_0^l dl$$

otrzymujemy

$$\ln \frac{I_0}{I_t} = -k'l \quad (3.23)$$

gdzie I_0 – natężenie początkowe wiązki, gdy $l = 0$.

Logarytmy naturalne zamienia się na dziesiętne

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = 0,4343 \ln \frac{I_0}{I_t}$$

Po wprowadzeniu nowej stałej $k = 0,4343k'$

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = kl \quad (3.24)$$

Logarytm stosunku natężenia promieniowania padającego I_0 do natężenia promieniowania wychodzącego nazywa się *absorbancją* dla odróżnienia od absorpcji jako zjawiska pochłaniania. Dawniej stosunek ten nazywano absorpcją, wartością absorpcji, gęstością optyczną (D) lub ekstynkcją (E – głównie w literaturze niemieckiej).

Ponieważ w absorbancji występuje stosunek I_0/I_t , definiuje się ją jako logarytm odwrotności transmitancji (patrz wzór (3.21))

$$A = \lg \frac{1}{T} \quad (3.25a)$$

Przez wprowadzenie stosunku I_0/I_t , unika się ujemnego znaku absorbancji.

Jeżeli transmitancja jest wyrażona w procentach, to absorbancję wyraża się wzorem

$$A = \lg \frac{100}{T} \quad (3.25b)$$

dającego promieniowania o dI , to względne zmniejszenie natężenia dI/I jest, według Lamberta, proporcjonalne do grubości warstwy absorbującej. A zatem można napisać

$$\frac{dI}{I} = -kdl \quad (3.22)$$

gdzie: I – natężenie światła wchodzącego do danej warstwy, k – wielkość stała (współczynnik proporcjonalności). Prawa strona równania ma znak minus, ponieważ w miarę zwiększania grubości warstwy natężenie światła wychodzącego się zmniejsza, a nie zwiększa.

Całkując równanie (3.22) w granicach od I_0 do I_t i od 0 do l

$$\int_{I_0}^{I_t} \frac{dI}{I} = -k' \int_0^l dl$$

otrzymujemy

$$\ln \frac{I_0}{I_t} = -k'l \quad (3.23)$$

gdzie I_0 – natężenie początkowe wiązki, gdy $l = 0$.

Logarytmy naturalne zamienia się na dziesiętne

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = 0,4343 \ln \frac{I_0}{I_t}$$

Po wprowadzeniu nowej stałej $k = 0,4343k'$

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = kl \quad (3.24)$$

Logarytm stosunku natężenia promieniowania padającego I_0 do natężenia promieniowania wychodzącego nazywa się *absorbancją* dla odróżnienia od absorpcji jako zjawiska pochłaniania. Dawniej stosunek ten nazywano absorpcją, wartością absorpcji, gęstością optyczną (D) lub ekstynkcją (E – głównie w literaturze niemieckiej).

Ponieważ w absorbancji występuje stosunek I_0/I_t , definiuje się ją jako logarytm odwrotności transmitancji (patrz wzór (3.21))

$$A = \lg \frac{1}{T} \quad (3.25a)$$

Przez wprowadzenie stosunku I_0/I_t , unika się ujemnego znaku absorbancji.

Jeżeli transmitancja jest wyrażona w procentach, to absorbancję wyraża się wzorem

$$A = \lg \frac{100}{T} \quad (3.25b)$$

Zależność odwrotną, tj. transmitancji od absorbancji, wyraża wzór

$$T = \frac{1}{10^A} \quad (3.26a)$$

a w procentach

$$T = \frac{100}{10^A} \quad (3.26b)$$

Zależność absorbancji od grubości warstwy można przedstawić w postaci wykładniczej po przekształceniu wzoru (3.24)

$$\lg \frac{I_t}{I_0} = -kl, \quad \frac{I_t}{I_0} = 10^{-kl}, \quad I_t = I_0 \cdot 10^{-kl} \quad (3.27)$$

Z równania (3.27) wynika, że natężenie światła przechodzącego przez warstwę absorbującą zmniejsza się wykładniczo wraz z liniowym zwiększaniem się grubości warstwy.

Prawo Beera

W 1852 roku Beer podał zależność absorbancji od stężenia substancji absorbującej w roztworze przy stałej grubości warstwy. Jest ona analogiczna do zależności absorbancji od grubości warstwy

$$A = K'c \quad (3.28)$$

gdzie c – stężenie substancji absorbującej.

W postaci wykładniczej równanie to wyraża wzór

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-K'c} \quad (3.29)$$

Prawo Bouguera–Lamberta–Beera–Waltera

Walter (37 lat później) uznał grubość warstwy roztworu absorbującego i jego stężenie za dwie wielkości, od których absorbancja zależy w jednakowy sposób. Wzór wyrażający prawo Beera–Waltera (ściślej Bouguera–Lamberta–Beera–Waltera lub w skrócie Lamberta–Beera) jest następujący:

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = acl \quad (3.30a)$$

gdzie: A – absorbancja, c – stężenie roztworu, l – grubość warstwy absorbującej, cm, a – współczynnik absorpcji, stosunek absorbancji do iloczynu grubości warstwy i stężenia substancji absorbującej ($a = A/cl$).

Stężenie substancji absorbującej można wyrazić w dwojaki sposób:

1) jako stężenie molowe c (liczba moli w 1 litrze roztworu) i wtedy

$$A = \varepsilon cl \quad (3.30b)$$

gdzie ε – molowy współczynnik absorpcji, L/(mol · cm),

- 2) jako stężenie masowe ρ (patrz s. 199 – w jednostkach masy w jednostce objętości roztworu) i wtedy

$$A = a_s \rho l \quad (3.30c)$$

gdzie a_s – współczynnik absorpcji właściwej, L/(g · cm).

Nazwa ta i symbol są zalecane przez IUPAC (ang. specific absorption coefficient) [3.6]. Jednak w aktualnej normie międzynarodowej [7.29], [7.30] przyjętej w 19 krajach, podana jest nazwa: współczynnik masowy absorpcji właściwej (masowy współczynnik absorpcji) i symbol a . Z tego względu oba zapisy są stosowane w podręczniku.

Z równania (3.30a) wynika, że absorbancja jest funkcją liczby cząsteczek absorbujących.

Podstawowe prawo spektrofotometrii w postaci wykładniczej wyraża wzór

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-\epsilon \rho l} \quad (3.31)$$

Prawo addytywności absorbancji

Omówione dotychczas prawa odnoszą się do przypadku, kiedy w roztworze znajduje się jedna substancja absorbująca. Jeżeli w roztworze znajduje się więcej substancji absorbujących, to absorbancja całkowita roztworu jest równa sumie absorbancji poszczególnych składników. To podstawowe prawo addytywności absorbancji (po założeniu, że grubość warstwy jest stała) wyraża wzór

$$A = A_1 + A_2 + \dots + A_n = (\epsilon_1 c_1 + \epsilon_2 c_2 + \dots + \epsilon_n c_n) l \quad (3.32)$$

Z prawa tego korzysta się w spektrofotometrycznej analizie układów wieloskładnikowych.

Odstępstwa od prawa absorpcji

Na rysunku 3.18 przedstawiono graficznie zależność między absorbancją (A) i stężeniem roztworu (c). Dla substancji spełniających prawo Beera przedstawia ją linia prosta przechodząca przez początek układu współrzędnych, której tangens kąta nachylenia równa się iloczynowi cl (krzywa 1). Krzywa 2 wskazuje na tzw. dodatnie odchylenie od prawa Beera, krzywa 3 – ma **odchylenie ujemne**.

Odstępstwa od prawa Beera mogą być spowodowane przyczynami chemicznymi i fizycznymi. Jeżeli kształt widma absorpcyjnego danej substancji zmienia się wraz ze zmianą stężenia substancji w roztworze, to występują odstępstwa chemiczne. Zachodzi wtedy oddziaływanie cząsteczek substancji ze sobą (dysocjacja, asocjacja) lub z cząsteczkami rozpuszczalnika (hydroliza, solwatacja). Pospolitym przykładem tego zjawiska jest zmiana barwy z pomarańczowej na żółtą, która zachodzi podczas rozcień-