



1

  
 Univerzita Palackého  
 v Olomouci  
**Absorpce záření ve Vis oblasti**

- Při dopadu bílého světla na vzorek může být záření zcela odraženo  $\Rightarrow$  látku vidíme jako bílou; nebo zcela pohlceno  $\Rightarrow$  látku vidíme jako černou.
- Pokud vzorek část záření pohltí a část odrazí  $\Rightarrow$  barva látky viditelná pro lidské oko odpovídá barvě odraženého záření (tzv. doplňková barva).

$\lambda$ (nm)	Pohlcená barva	Doplňková barva
400-435	fialová	žlutozelená
500-560	zelená	červeno-purpurová
580-595	žlutá	zelená
620-760	červená	modrozelená



Červený povrch



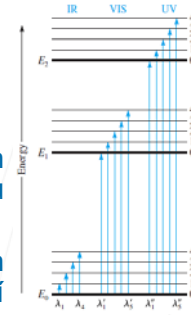
Zelený povrch

2

Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Teoretický základ

- Absorpční spektrometrie v UV-Vis je velmi rozšířená spíše rutinní technika molekulové spektrometrie využívaná především pro kvantitativní analýzu.
- Vymezení z hlediska vlnových délek:
  - 180-380 nm – UV oblast,
  - 380-780 nm – Vis oblast.
- Absorpce záření je spojena s přechodem valenčních  $e^-$  z molekulových orbitalů  $\sigma$ ,  $\pi$  a  $n$  na excitovanou hladinu.
- MO-LCAO (Molecular Orbital – Linear Combination of Atomic Orbitals) popisuje vznik MO pomocí lineární kombinace atomových orbitalů. K tomu dojde prostorovým překryvem AO atomů.



3

3

Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Teoretický základ – typy přechodů



- Přechody z hlediska kvantové mechaniky:
  - povolené přechody – viz obrázek
  - symetricky zakázané přechody ( $\sigma \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \sigma^*$ )
  - spinově zakázané přechody (ze singletového do tripletového stavu)

4

4



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Teoretický základ – typy přechodů

- $\sigma \rightarrow \sigma^*$  vytvářejí jednoduché vazby – alifatické uhlovodíky, typicky pod 180 nm, omezené použití. Alifatické uhlovodíky jsou vhodná rozpouštědla pro měření.
- $n \rightarrow \sigma^*$  poskytují substituenty s ne vazebnými  $e^-$  – nasycené sloučeniny se S, N, Br, I, které absorbují kolem 200 nm a O a Cl, které absorbují pod 200 nm. Voda, alkoholy a ethery vhodná rozpouštědla pro měření.
- $\pi \rightarrow \pi^*$  funkční skupiny s  $\pi e^-$  (konjugované systémy dvojných vazeb), 200-250 nm, maxima nezávislá na druhu atomu, jsou intenzivní:  $\epsilon \approx 10^3\text{-}10^5 \text{ l.mol}^{-1}\text{.cm}^{-1}$ .
- $n \rightarrow \pi^*$  ne vazebné elektronové páry lokalizované na atomech vázaných dvojnou vazbou (např. C=O), 280-500 nm, menší intenzita:  $\epsilon \approx 10^1\text{-}10^2 \text{ l.mol}^{-1}\text{.cm}^{-1}$ , absorpční maxima je silně závislé na druhu atomu.

5

5



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Teoretický základ – zvláštní přechody

- **Přenos náboje (CT – charge transfer)** absorpce záření je spojena s přesunem  $e^-$  z jedné části molekuly (organické či anorganické) nebo iontu (komplexního), tedy k vnitřní oxidačně-redukční reakci, intenzivní ve spektru  $\epsilon \approx 10^5 \text{ l.mol}^{-1}\text{.cm}^{-1}$ .
- Příklad: komplex kovu M a ligandu L:
 
$$\mathbf{M-L + h\nu \rightarrow M^+-L^-}$$
- Reakce komplexů Fe, například:  $[\text{Fe}^{2+}(\text{H}_2\text{O})] + h\nu \rightarrow [\text{Fe}^{3+}(\text{H}_2\text{O}^-)]$
- Barevné reakce iontů přechodných kovů s organickými činidly jako je tvorba červeného komplexu  $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$

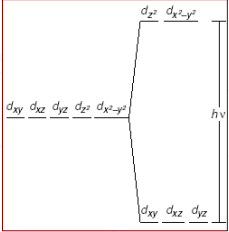
6

6

Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Teoretický základ – zvláštní přechody

- **Přechod způsobený ligandovým polem (LF – ligand field)** vyskytují se u komplexních sloučenin přechodných kovů s částečně zaplněnými d a f orbitaly, 300-800 nm, málo intenzivní ve spektru  $\epsilon \approx 10^1 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ .
- Za normálních okolností jsou orbitály degenerované (stejná E), ligand vytvářející elektrostatické pole způsobí vznik energetických rozdílů mezi orbitály s různou hodnotou vedlejšího magnetického čísla a může dojít k přechodům spojeným s absorpcí záření.
- Příklad:  $\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ ,  $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4^{2+}$

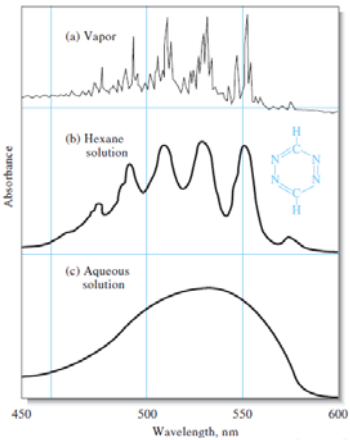


7

7

Univerzita Palackého  
v Olomouci

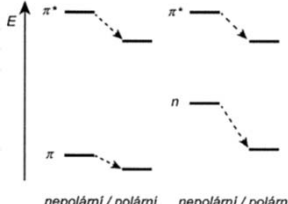
## Vliv podmínek na absorpční spektrum



Spektra 1,2,4,5-tetrazinu

- plynná fáze – kromě elektronových přechodů jsou vidět i rotační a vibrační přechody.
- nepolární rozpouštědlo – elektronové přechody, jemná struktura vibrací a rotací kvůli interakci analytu s rozpouštědlem.
- polární rozpouštědlo – kvůli mezimolekulové interakci došlo ke slítní elektronových pásů do obalové křivky.

- Změna energie  $e^-$  v MO (vliv rozpouštědla na spektrum  $\Rightarrow$  posuny  $\lambda$ ):



nepolární / polární    nepolární / polární

8

8



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Instrumentace

- **2 konstrukce spektrometrů UV-Vis lišící se pozicí monochromátoru:**
  - Přístroje s diodovým polem jako detektorem (256-4096 lineárně uspořádaných diod), kde spojitě záření dopadá na vzorek a prošlé záření do monochromátoru – jednopaprsková konstrukce.
  - Přístroje s fotonásobičem jako detektorem, kde je spojitě záření nejprve rozloženo v monochromátoru typu Czerny-Turner, pak dopadá na vzorek a prošlé záření na detektor – jednopaprsková i dvoupaprsková konstrukce.
  - Schémata v prezentaci IM02 Instrumentace v optické spektrometrii.
- **Zdroje záření:**
  - kombinace D2 lampy (UV) s W žárovkou (Vis)
  - Xe výbojka pokrývající celou UV-Vis oblast
- **UV-Vis-NIR spektrometry: 180-2700 nm v jednom přístroji, nutné doplnění o další detektor.**

9

9



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Instrumentace

- **Kyvety:**
  - tloušťka: 1-100 mm,
  - materiál: křemenné sklo, sklo, plast (např. akrylátové kyvety).
- **Klíčové charakteristiky spektrometrů:**
  - rozlišení: obvykle dáno šterbinou monochromátoru (0,1 – 10 nm),
  - správnost nastavení  $\lambda$  délky ( $\pm 0,1$  nm) – testuje se absorpčními standardy (oxidy holmia) a absorbance – testuje se např. roztoky  $K_2Cr_2O_7$ ,
  - lineární rozsah absorbancí (př. -4 až +4 Abs),
  - parazitní záření = detekované záření neodpovídající zvolené  $\lambda$ , vzniká na optických prvcích spektrometru (0,01-0,1 %),
  - drift – dlouhodobá stabilita elektroniky a zdroje záření,
  - šum – způsobuje distribuce fotonů ze zdroje a elektronika.

10

10

Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Rozpouštědla

- Volba dána zejména  $\lambda$  hranice použitelnosti a vhodností pro analyt (rozpustnost).
- Důležitá je dostatečná čistota rozpouštědla a odolnost materiálu kyvety (zejména plasty).

Rozpouštědlo	Použití od (nm)
acetonitril	190
chloroform	240
cyklohexan	205
ethanol	205
n-hexan	195
methanol	205
voda	185

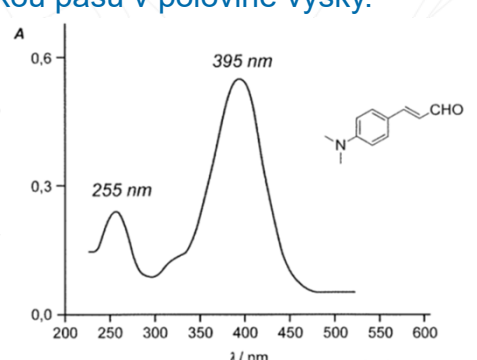
11

11

Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Aplikace UV-Vis absorpční spektrometrie

- Lze provádět jak kvalitativní tak kvantitativní analýzu.
- Spektra mají 1 či více pásů, které charakterizujeme  $\lambda$  maxima, molárním absorpčním koeficientem (absorbancí) v maximu a šířkou pásu v polovině výšky.



12

12



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Aplikace: kvalitativní analýza

- **Identifikace látek:** okrajová aplikace, protože spektra obsahují málo detailů pro spolehlivou identifikaci látek a je zde silný vliv použitého rozpouštědla a teploty.
- Princip: přítomnost skupin označovaných jako chromofory a auxochromy.
- **Chromofor:** funkční skupina organických molekul vykazující charakteristickou absorpci v UV-Vis (př. aromáty 200-250 nm, ketoskupiny (~ 300 nm)).
- **Auxochrom:** funkční skupina ovlivňující svou přítomností hodnotu absorpčních maxim nebo molárních absorpčních koeficientů (př. -OH skupina v sousedství karbonylu).

13

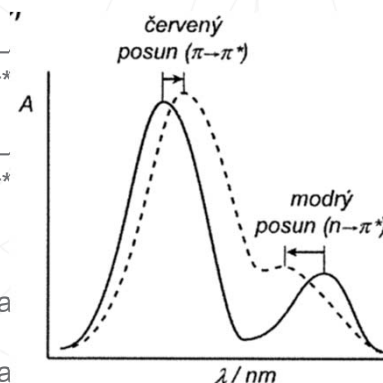
13



Univerzita Palackého  
v Olomouci


## Aplikace: kvalitativní analýza

- Vliv rozpouštědla:
  - **batochromní (červený) posun** – k delším  $\lambda$ , obvykle u  $\pi-\pi^*$  přechodů.
  - **hypsochromní (modrý) posun** – ke kratším  $\lambda$ , obvykle u  $n-\pi^*$  přechodů.
- Vliv auxochromu:
  - hyperchromní efekt = zvýšení  $\epsilon$  (a tím absorbance)
  - hypochromní efekt = snížení  $\epsilon$  (a tím absorbance)



14

14


 Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Aplikace: kvantitativní analýza

- Stanovení látek na základě Lambertova-Beerova zákona.
- Mez detekce  $\sim 10^{-5}$ - $10^{-7}$  mol·l<sup>-1</sup>
- Běžný, jednoduchý, levný, rychlý a spolehlivý způsob stanovení např.:
  - **některých kovů** – převedení na barevné sloučeniny (Mn → MnO<sub>4</sub><sup>-</sup>), vznik barevných komplexů (Fe<sup>2+</sup> s 1,10-fenanthrolinem, Fe<sup>3+</sup> → [Fe(SCN)]<sup>2+</sup>).
  - oproti atomové spektrometrii lze rozlišit oxidační stav iontů!
  - **některé anionty** – kyanidy, fluoridy, ...
  - **organické látky** – fenoly ve vodách.
- Další aplikace: klinická analýza (kyselina močová), potravinářství, farmacie, ...
- UV-Vis detektor pro HPLC.

15

15


 Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Aplikace: analýza vícesložkových směsí

- Možné díky aditivním vlastnostem Lambertova-Beerova zákona.

$$A = \sum_{i=1}^n A_i = \sum_{i=1}^n (\epsilon_i \cdot b \cdot c_i)$$

- Příklad: stanovení Fe<sup>3+</sup> a Cu<sup>2+</sup> ve směsi po reakci s Ru(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup>
  - proměřením čistých látek získáme  $\epsilon$  obou složek při 2 zvolených  $\lambda$ ,
  - proměříme směsný vzorek,
  - koncentrace získáme ze soustavy 2 rovnic o 2 neznámých.

	$\epsilon_{550}$	$\epsilon_{396}$
Fe <sup>3+</sup>	9970	84
Cu <sup>2+</sup>	34	856

$$A_{550} = 0.183 = 9970C_{Fe} + 34C_{Cu}$$

$$A_{396} = 0.109 = 84C_{Fe} + 856C_{Cu}$$



16



Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Aplikace: spektrometrická titrace

- Určování BE na základě změny absorbance s přidavkem titračního činidla. Tento způsob titrace je experimentálně jednoduchý a má uspokojivou přesnost.
- Tvary titračních křivek:
  - a) absorbuje pouze titrační činidlo (titrace s uvolňováním  $\text{Br}_2$ ,  $\text{I}_2$ ).
  - b) absorbuje produkt titrační reakce.
  - c) absorbuje pouze titrovaná látka.



17

17

Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Aplikace: studium rovnováh

- Studium komplexotvorných rovnováh – určení stechiometrického složení a podmíněné konstanty stability komplexu:

$$xM + yL \rightarrow M_xL_y$$

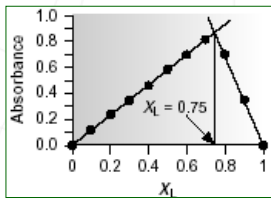
- Metoda kontinuálních variací: hledá se maximum závislosti  $A = f(X_L)$ , měří se série roztoku s konstantním  $n_{\text{tot}}$  a proměnným  $n_M$  a  $n_L$ :  $n_{\text{tot}} = n_M + (n_L)_i$

$$X_L = \frac{(n_L)_i}{n_{\text{tot}}}$$

$$X_M = 1 - X_L$$


$$y = \frac{X_L}{X_M} = \frac{X_L}{1 - X_L}$$

$X_L = 0,75$	$\Rightarrow$	$y = 3$	$\Rightarrow$	$\text{ML}_3$
$X_L = 0,5$	$\Rightarrow$	$y = 1$	$\Rightarrow$	$\text{ML}$
$X_L = 0,67$	$\Rightarrow$	$y = 2$	$\Rightarrow$	$\text{ML}_2$



18

18


 Univerzita Palackého  
v Olomouci

## Aplikace: automatické (průtokové) systémy

- Automatická analýza většího množství vzorků v průtokovém systému obvykle se spektrometrickou detekcí.
- Počátky v klinických laboratořích, kde je v 1 vzorku požadování stanovení více analytů.
- Nejrozšířenější metoda: průtoková vstřikovací analýza (FIA – flow injection analysis) popsána poprvé v r. 1975.

**1 – nosný proud s činidlem**

**2, 3 – další proudy s činidly**

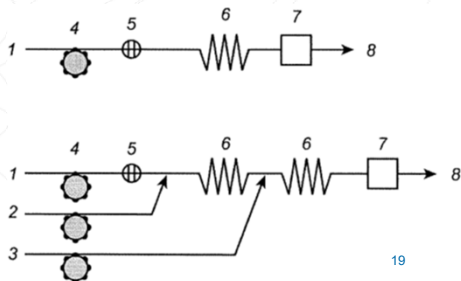
**4 – peristaltické čerpadlo**

**5 – dávkovací ventil na vzorek**

**6 – reaktor**


**7 – detektor**

**8 – zpracování signálu**



19

19

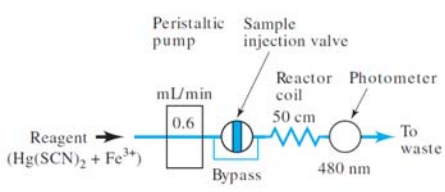

 Univerzita Palackého  
v Olomouci

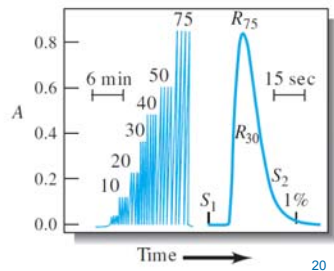
## Aplikace: automatické (průtokové) systémy

- Př. využití FIA – stanovení chloridů:
- nosný proud roztok  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$  a  $\text{Fe}^{3+}$  iontů,
- analyt ( $\text{Cl}^-$ ) reagují s  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$  a uvolněné  $\text{SCN}^-$  ionty pak s  $\text{Fe}^{3+}$  ionty za vzniku červeného produktu, jehož absorpance je měřena při 480 nm.

$$\text{Hg}(\text{SCN})_2(\text{aq}) + 2 \text{Cl}^- \rightarrow \text{HgCl}_2(\text{aq}) + 2 \text{SCN}^-$$

$$\text{SCN}^- + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$$





20

20