

## ĆWICZENIE 44

### ABSORPCJOMETRIA. WYZNACZANIE STĘŻENIA ROZTWORU

Kraków, 2022

#### SPIS TREŚCI

<b>I. CZĘŚĆ TEORETYCZNA.....</b>	<b>2</b>
PROMIENIOWANIE ELEKTROMAGNETYCZNE .....	2
ABSORPCJA PROMIENIOWANIA .....	2
WIDMA ABSORPCYJNE.....	3
SPEKTROSKOPIA .....	4
RODZAJE WIDM MOLEKULARNYCH.....	5
PRZEPUSZCZALNOŚĆ I EKSTYNKCJA .....	7
I PRAWO ABSORPCJI (PRAWO LAMBERTA) .....	7
II PRAWO ABSORPCJI (PRAWO BEERA).....	8
METODA ANALIZY ILOŚCIOWEJ .....	9
KOLORYMETRY, ABSORPCJOMETRY I SPEKTROFOTOMETRY .....	10
PRZYKŁADOWY SPEKTROFOTOMETR: SPEKOL .....	11
<b>LITERATURA UZUPEŁNIAJĄCA.....</b>	<b>12</b>
<b>ZASADA POMIARU .....</b>	<b>13</b>
<b>CEL ĆWICZENIA.....</b>	<b>13</b>
<b>WYKONANIE ĆWICZENIA .....</b>	<b>14</b>
<b>OPRACOWANIE WYNIKÓW .....</b>	<b>15</b>
<b>UZUPEŁNIENIE. PRAWO BEERA. ....</b>	<b>16</b>

#### **Zakres wymaganych wiadomości:**

Fale elektromagnetyczne. Natężenie promieniowania. Absorpcja. Widma absorpcyjne. Spektroskopia. Rodzaje widm molekularnych. Przepuszczalność. Ekstynkcja. Prawa absorpcji. Metoda fotometrycznej analizy ilościowej. Analityczna długość fali. Absorpcjometr fotoelektryczny. Spektrofotometr SPEKOL.

# I. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

## Promieniowanie elektromagnetyczne

Promieniowanie elektromagnetyczne jest poprzeczną falą rozchodzącą się w próżni z prędkością  $c = 3 \cdot 10^8$  m/s. Rejestrowane doświadczalnie fale elektromagnetyczne obejmują bardzo szeroki zakres długości od fal promieniowania kosmicznego o długości rzędu  $10^{-14}$  m do długich fal radiowych o długości rzędu  $10^6$  m. Światło widzialne jest też falą elektromagnetyczną, zajmuje jednak wąski zakres długości od około  $3.8 \cdot 10^{-7}$  m do około  $7.6 \cdot 10^{-7}$  m, to jest od 380 nm do 760 nm.

Falę elektromagnetyczną cechuje m. in.: prędkość rozchodzenia się  $c$ , długość fali  $\lambda$ , częstość drgań  $\nu$  i liczba falowa  $\bar{\nu}$ . Wielkości te związane są ze sobą zależnościami:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad \left[ \frac{1}{s} \right]$$

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad \left[ \frac{1}{cm} \right]$$

Promieniowanie elektromagnetyczne przejawia również naturę korpuskularną - jest zbiorem *kwantów* (porcji) energii. Energia  $E$  kwantu promieniowania, zwanego również *fotonem*, jest powiązana z wielkościami  $c$ ,  $\lambda$ ,  $\nu$ ,  $\bar{\nu}$ , wzorem Plancka:

$$E = h\nu = h\bar{\nu}c = \frac{hc}{\lambda} \quad (1)$$

gdzie:  $h$  - stała Plancka ( $h = 6.62 \times 10^{-34}$  J·s). Z przyczyn, których nie będziemy tu wyjaśniać energia promieniowania podawana jest często w jednostkach zwanych elektronowoltami (eV). Dla orientacji można podać, że fala elektromagnetyczna o długości 1m ma energię  $1.24 \cdot 10^{-6}$  eV.

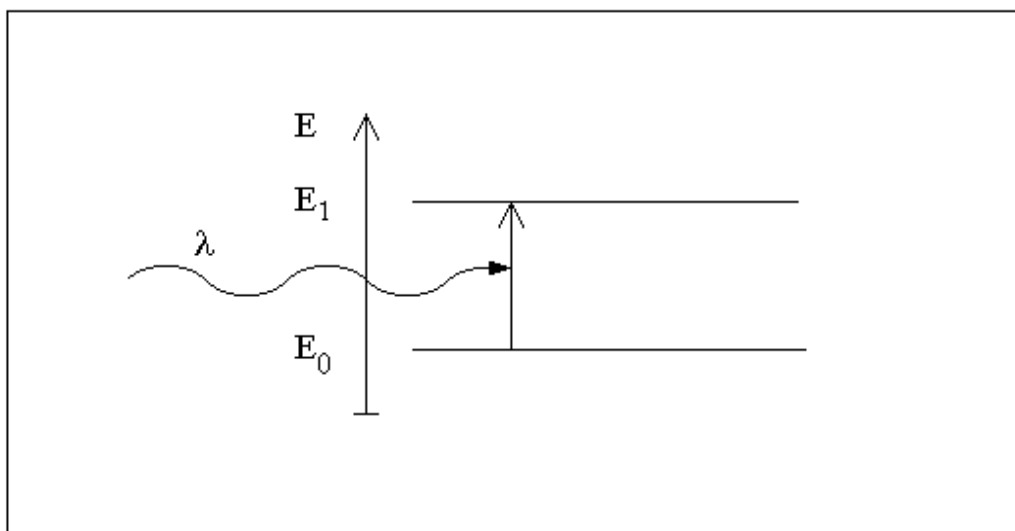
## Absorpcja promieniowania

Podczas przechodzenia fal elektromagnetycznych przez ośrodek materialny część jego energii zamieniana jest w sposób nieodwracalny na inne formy energii. Ten proces nazywa się *absorpcją* czyli pochłanianiem.

Przykładowo gdy światło wysyłane przez rozgrzane ciało stałe przechodzi przez chłodny gaz, wówczas znajdujące się w stanie podstawowym atomy lub cząsteczki tego gazu będą pochłaniały selektywnie światło o pewnych długościach fali. Absorpcja występuje tylko wówczas, gdy w świetle padającym obecne są fale o długościach, dla których energia określona równaniem (1) odpowiada różnicy energii skwantowanych poziomów energetycznych ciała absorbującego (rys.1). Jeżeli niższy stan energetyczny oznaczmy  $E_0$ , a wyższy stan energetyczny  $E_1$ , to absorpcja wystąpi zatem wówczas, gdy

$$\lambda = \frac{hc}{E_1 - E_0} \quad (2)$$

Światło o długościach fal nie spełniających równania (2) zostaje przez substancję przepuszczone.



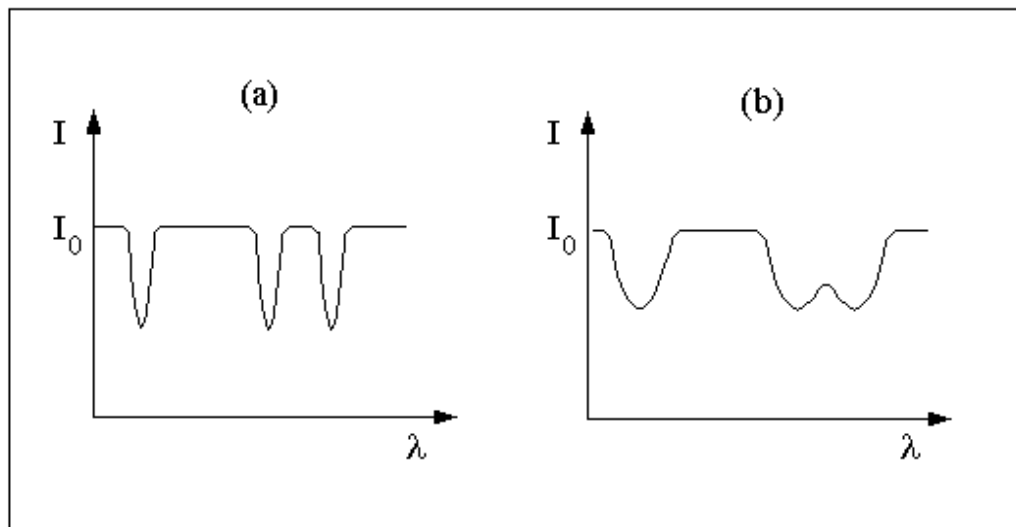
Rys.1. Absorpcja światła o długości fali równej  $h_0 / (E_2 - E_1)$  powoduje przejście atomu ze stanu o energii  $E_0$  do stanu  $E_1$

## Widma absorpcyjne

*Natężeniem promieniowania* nazywamy energię przechodzącą w ciągu jednej sekundy przez jednostkową powierzchnię prostopadłą do kierunku promieniowania.

*Widmo absorpcyjne* jest to zależność natężenia promieniowania ( $I$ ) rejestrowanego po przejściu przez substancję absorbującą od długości fali ( $\lambda$ ). Zgodnie z tym co powiedziano wyżej widmo absorpcyjne ciała absorbującego o skwantowanych poziomach energetycznych powinno składać się z bardzo wąskich linii

absorpcyjnych, tak jak to przedstawia rysa. W rzeczywistości obserwujemy jednak widmo w postaci przedstawionej na rys.2b, tzn. z poszerzonymi liniami widmowymi.



Rys.2. Widmo absorpcyjne o wąskich (a) i poszerzonych (b) liniach widmowych

Istnieje kilka przyczyn poszerzenia linii widmowych. Spośród tych przyczyn wymienimy tu: oddziaływania międzycząsteczkowe, efekty związane z kwantowomechaniczną zasadą nieoznaczoności Heisenberga, efekt Dopplera oraz przyczyny aparaturowe.

## Spektroskopia

*Spektroskopia* to dział fizyki doświadczalnej i teoretycznej obejmujący badanie i interpretację widma promieniowania elektromagnetycznego emitowanego, pochłanianego lub rozpraszanego przez cząsteczki, atomy i jądra atomowe. Biorąc pod uwagę długość fali analizowanego promieniowania elektromagnetycznego, spektroskopię dzielimy na:

- 1) *spektroskopię gamma i rentgenowską* (do 10 nm),
- 2) *spektroskopię optyczną*, którą dzieli się na:
  - a) zakres nadfioletu (UV) (od 10 do 400 nm),
  - b) zakres widzialny (Vis) (od 400 do 800 nm),
  - c) zakres podczerwieni (IR) (od 0.8 do 1000 nm),
- 3) *radiospektroskopię* (powyżej 1mm).

W nawiasach podano orientacyjne zakresy długości fal. Ze względu na rodzaj badanych układów spektroskopię dzielimy na *jądrową*, *atomową*, *molekularną* i *spektroskopię kryształów*. Metody

otrzymywania widma mogą być różne, w związku z czym rozróżniamy *spektroskopię absorpcyjną, emisyjną* i tzw. *ramanowską*. Poniższe ćwiczenie jest wprowadzeniem do absorpcyjnej spektroskopii molekularnej.

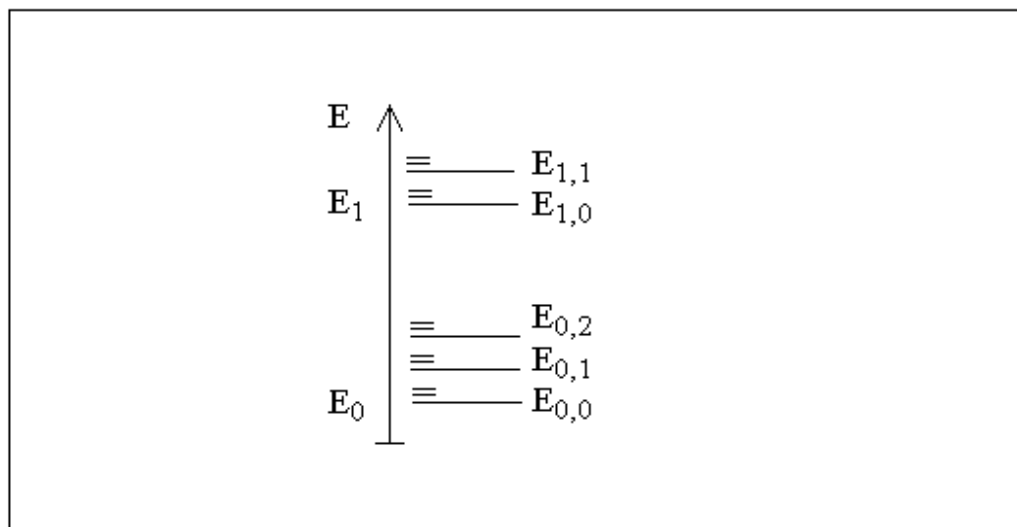
Niekiedy substancja pod wpływem stałego pola magnetycznego zaczyna pochłaniać fale elektromagnetyczne o pewnych długościach. Zjawisko to wykorzystywane jest w metodach spektroskopii *EPR* (elektronowy rezonans paramagnetyczny) i *MRJ* (jądrowy rezonans magnetyczny).

### Rodzaje widm molekularnych

Całkowita wewnętrzna energia kinetyczna  $E$  molekuly może być w przybliżeniu wyrażona w postaci sumy energii ruchu elektronowego  $E_{el}$ , oscylacyjnego  $E_{osc}$  i rotacyjnego (obrotowego)  $E_{rot}$ . Zmiana energii cząsteczki  $\Delta E$  zachodząca w wyniku absorpcji promieniowania elektromagnetycznego wynosi:

$$\Delta E = \Delta E_{el} + \Delta E_{osc} + \Delta E_{rot}.$$

W konsekwencji prosty schemat poziomów energetycznych cząsteczki przedstawiony na rys.1 powinien zostać zastąpiony bardziej realistycznym, przedstawionym na rys.3.



Rys.3. Schemat poziomów energetycznych cząsteczki.  $E_0$  i  $E_1$  oznaczają poziomy elektronowe a  $E_{0,1}$ ,  $E_{0,2}$  i  $E_{1,1}$  poziomy oscylacyjne

Zgodnie z tym rysunkiem poziomowi elektronowemu ( $E_0$ ,  $E_1, \dots$ ) odpowiada grupa poziomów oscylacyjnych ( $E_{0,1}$ ,  $E_{0,2}$ ,  $E_{1,1}$ , ...) a poziomowi oscylacyjnemu - poziomy rotacyjne. Skala energii na rysunku

(skala pionowa) jest jedynie schematyczna, ponieważ wartości energii elektronowej, oscylacyjnej i rotacyjnej mają się do siebie w przybliżeniu tak jak:

$$\Delta E_{el} : \Delta E_{osc} : \Delta E_{rot} = 1000 : 10 : 1$$

gdzie  $\Delta E_{el}$  jest rozumiane jako np.  $E_1 - E_0$  natomiast  $\Delta E_{osc} = E_{0,1} - E_{0,0}$  itd. Przejścia pomiędzy poziomami poszczególnych rodzajów odpowiadają więc absorpcji w zupełnie innych zakresach długości fal elektromagnetycznych. Poniżej podajemy orientacyjne dane na temat zakresów długości fal i energii odpowiadających przejściom pomiędzy poszczególnymi poziomami.

- 1) Poziomy elektronowe wewnętrznych i zewnętrznych powłok elektronowych. Energia przejść między poziomami wewnętrznymi jest rzędu dziesiątków i tysięcy elektronowoltów a otrzymane widmo jest widmem rentgenowskim. Energia wynikająca z przejść pomiędzy poziomami zewnętrznych powłok elektronowych jest rzędu kilku elektronowoltów, a powstające widmo przypada na zakres widzialny i ultrafiolet.
- 2) Poziomy oscylacyjne są wynikiem ruchów oscylacyjnych jąder. Energia tych drgań wynosi 0.01 do 1eV. Widmo powstałe w wyniku przejść między tymi poziomami przypada na zakres podczerwieni.
- 3) Poziomy rotacyjne są wynikiem ruchu obrotowego cząsteczki jako całości wokół własnej osi. Energia przejść między tymi poziomami wynosi  $10^{-5}$ - $10^{-2}$ eV. Widmo powstałe w wyniku tych przejść leży w podczerwieni.
- 4) Poziomy tzw. struktury subtelnej wynikają ze spinu elektronowego. Energia tych przejść zbliżona jest do  $10^{-4}$ eV. Przejścia te bada się metodami radiospektroskopii.
- 5) Poziomy tzw. struktury nadsubtelnej są wynikiem istnienia spinu jądrowego. Energia przejść między tymi poziomami wynosi od  $10^{-8}$  do  $10^{-7}$ eV. Badanie tych przejść jest dostępne metodami: rezonansu magnetycznego i tzw. rezonansu kwadrupolowego.

W przypadku cząsteczek izolowanych, np. w stanie gazowym, może ujawnić się struktura oscylacyjno-rotacyjna (tzw. struktura subtelna) widma elektronowego. W roztworach, w wyniku zahamowanej rotacji i oddziaływania rozpuszczalnika na poziomy oscylacyjne, struktura subtelna zwykle zanika i przejście elektronowe odzwierciedla w widmie szeroka, wygładzona obwiednia poszczególnych przejść oscylacyjno-rotacyjnych.

## Przepuszczalność i ekstynkcja

Przepuszczalność i ekstynkcja opisują ilościowo pochłanianie światła w substancji absorbującej.

*Przepuszczalność (transmitancja)*  $\mathcal{G}$  jest to stosunek natężenia światła  $I_T$  przechodzącego przez substancję absorbującą do natężenia światła padającego  $I_0$ :

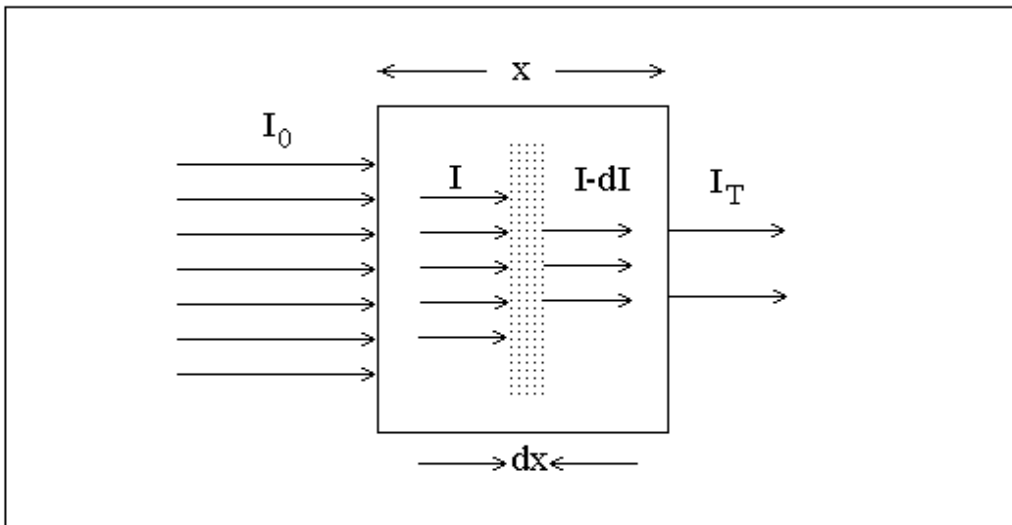
$$\mathcal{G} = \frac{I_T}{I_0} \quad (3)$$

Ponieważ wartości  $\mathcal{G}$  zawierają się w przedziale od 0 do 1 transmitancja najczęściej wyrażana jest w procentach. Drugą wielkością pozwalającą ocenić spadek natężenia wiązki światła po przejściu przez absorbującą warstwę jest ekstynkcja. *Ekstynkcją*  $E$  nazywamy logarytm dziesiętny odwrotności transmitancji:

$$E = \log \frac{1}{\mathcal{G}} \quad (4)$$

### I prawo absorpcji (prawo Lamberta)

By opisać od czego zależy wartość przepuszczalności i ekstynkcji rozważmy absorbującą równoległościenną ciało o szerokości  $x$  przedstawione na rys.4. Natężenie padającego monochromatycznego światła oznaczmy przez  $I_0$ . Światło to przechodząc przez ciało ulega absorpcji i na wybraną cienką warstwę (na rysunku zakreskowaną) pada światło o mniejszym natężeniu  $I$ . Wewnątrz tej warstwy oraz w dalszej części próbki następuje ustawiczne zmniejszanie natężenia światła. Natężenie światła wychodzącego oznaczmy przez  $I_T$ .

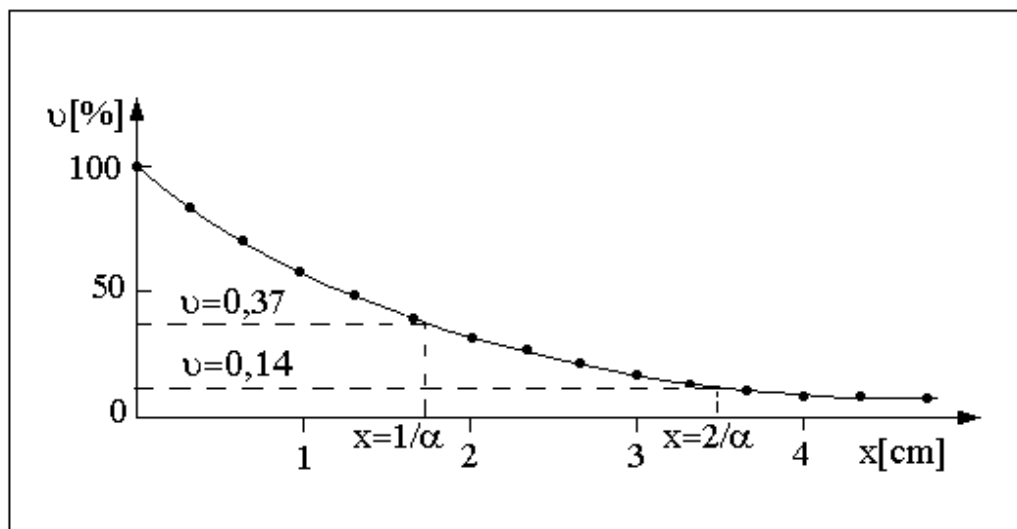


Rys.4. Absorpcja światła w płycie równoległościenną

Natężenie światła  $I_T$  wychodzącego z warstwy absorbującej o grubości  $x$  opisywane jest *prawem Lamberta*:

$$I_T = I_0 e^{-\alpha x} \quad (5)$$

gdzie  $e$  jest podstawą logarytmów naturalnych. Stała proporcjonalności  $\alpha$  nazywa się *współczynnikiem absorpcji* i dla danej długości fali  $\lambda$  charakteryzuje ośrodek absorbujący.



Rys.5. Przepuszczalność  $v$  równoległościennych płytek szklanych tworzących warstwy o grubościach  $x$ .

Dla przykładu na rysunku 5 przedstawiono zgodną z prawem Lamberta zależność przepuszczalności  $v$  od grubości warstwy absorbującej  $x$ . Pomiary przeprowadzono zmieniając liczbę płytek szklanych absorbujących światło białe. Zgodnie z równaniem (5) przedstawiona na rys.5 zależność  $v(x)$  ma postać eksponencjalną:  $v = e^{-\alpha x}$ . Dla bardzo cienkich warstw ( $x \ll 1/\alpha$ ) przepuszczalność jest bliska 1. Po przejściu przez warstwę o grubości  $x=1/\alpha$  natężenie światła spada o czynnik  $e^{-\alpha x} = e^{-1} = 1/e \approx 0.3679$ . Podwojenie tej grubości ( $x = 2/\alpha$ ) powoduje zmniejszenie natężenia o  $(1/e)^2$ , tzn.  $I_T$  stanowi  $0.1353 \cdot I_0$ .

## II prawo absorpcji (prawo Beera)

W celach analitycznych często bada się absorpcję substancji rozpuszczonych w ciekłych rozpuszczalnikach. Wówczas współczynnik absorpcji zależy nie tylko od długości fali ale i od stężenia roztworu. *Prawo Beera* stwierdza, że zależność współczynnika absorpcji ( $\alpha$ ) od stężenia ( $c$ ) jest liniowa:

$$\alpha = k c$$



tzn.:

$$I_T = I_0 e^{-kcx} \quad (6)$$

Po prostych przekształceniach i zlogarytmowaniu równania (6) otrzymujemy następujący związek pomiędzy ekstynkcją i grubością warstwy roztworu oraz jego stężeniem:

$$E = \varepsilon cx \quad (7)$$

gdzie współczynnik  $\varepsilon = k \cdot \log e = k/2.3026$  nazywany jest *współczynnikiem ekstynkcji*. Jeśli stężenie  $c$  wyrażone jest w molach na  $\text{dm}^3$  to  $\varepsilon$  nosi nazwę *molowego współczynnika ekstynkcji*. Wyrażając grubość warstwy roztworu  $x$  w [cm] wartości  $\varepsilon$  otrzymujemy w [ $\text{dm}^3/\text{cm} \cdot \text{mol}$ ].

Prawo Beera w postaci (7) stwierdza, że ekstynkcja ( $E$ ) roztworu substancji absorbującej jest wprost proporcjonalna do jej stężenia ( $c$ ) i grubości próbki ( $x$ ). Związek (7) wyjaśnia także dlaczego oprócz przepuszczalności do opisu absorpcji posługujemy się pojęciem ekstynkcji. Jest to użyteczne, ponieważ zależność przepuszczalności od stężenia jest bardziej skomplikowana od liniowej zależności (7).

Prawo Beera nie jest uniwersalnym prawem przyrody. W literaturze uzupełniającej podano przykłady odstępstw od tego prawa. Mogą być one spowodowane czynnikami fizycznymi, chemicznymi lub aparaturowymi.

### III prawo absorpcji (prawo addytywności ekstynkcji)

W roztworze dwuskładnikowym lub o większej liczbie składników cząsteczki poszczególnych substancji mogą nie oddziaływać na siebie tak, by wpływać na zmianę wartości współczynników ekstynkcji. Ekstynkcja roztworu jest wtedy sumą ekstynkcji poszczególnych składników:

$$E = (\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2 + \dots + \varepsilon_m c_m) x$$

### Metoda analizy ilościowej

Związek pomiędzy stężeniem badanej substancji i ekstynkcją można wykorzystać w metodzie *analizy ilościowej*, tzn. przy wykorzystaniu pomiarów fotometrycznych do wyznaczenia nieznanego stężenia substancji.

Pomiar stężenia roztworu wymaga doboru odpowiedniej do badań długości fali światła. Ta wybrana do analizy długość nazywa się *analityczną długością fali*. Sposób jej doboru dla poszczególnych zagadnień

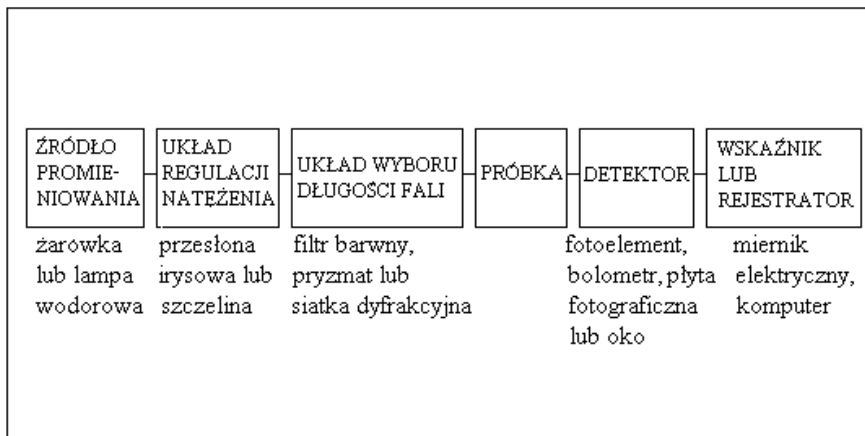
opisany jest w literaturze [patrz np. E.Szysko]. W tym ćwiczeniu jako analityczną długość fali światła obieramy tę wartość  $\lambda$ , dla której ekstynkcja  $E$  osiąga wartość maksymalną. Pomiar rozpoczyna się więc od wyznaczenia ekstynkcji w funkcji długości fali  $E(\lambda)$  w celu określenia położenia maksimum.

Nieznane stężenie roztworu można ustalić mierząc przy wybranej analitycznej długości fali ekstynkcję dla próbki nieznannej i dla szeregu próbek o różnych ale znanych stężeniach. Ze sporządzonego na podstawie tych pomiarów wykresu  $E(c)$  odczytać można bezpośrednio wartość nieznanego stężenia. Można również skorzystać z II prawa absorpcji (prawa Beera). Z wykresu  $E(c)$  odczytujemy lub obliczamy wartość współczynnika kierunkowego prostej  $E(c)$ , który jest na podstawie równania (7) równy  $\epsilon x$  i obliczamy wartość molowego współczynnika ekstynkcji  $\epsilon$ . Następnie, dysponując wynikiem pomiaru wartości ekstynkcji dla roztworu o nieznanym stężeniu, obliczamy to stężenie korzystając z równania (7).

III prawo absorpcji może być użyteczne w analizie ilościowej układów wieloskładnikowych. Jeżeli możliwy jest odpowiedni dobór różnych analitycznych długości fal:  $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_m$ , to dokonanie pomiaru ekstynkcji:  $E(\lambda_1), E(\lambda_2), \dots, E(\lambda_m)$  umożliwi obliczenie stężeń poszczególnych  $m$  składników.

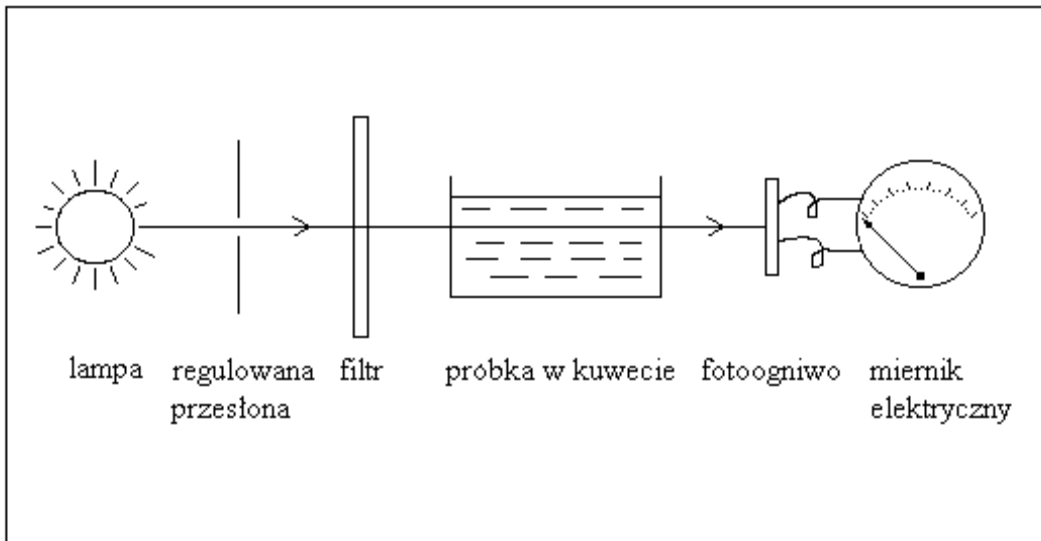
### Kolorymetry, absorpcjometry i spektrofotometry

Do pomiarów selektywnej absorpcji w roztworach służą kolorymetry, absorpcjometry i spektrofotometry. We wszystkich tych aparatach występują elementy realizujące podobne funkcje (rys.6).



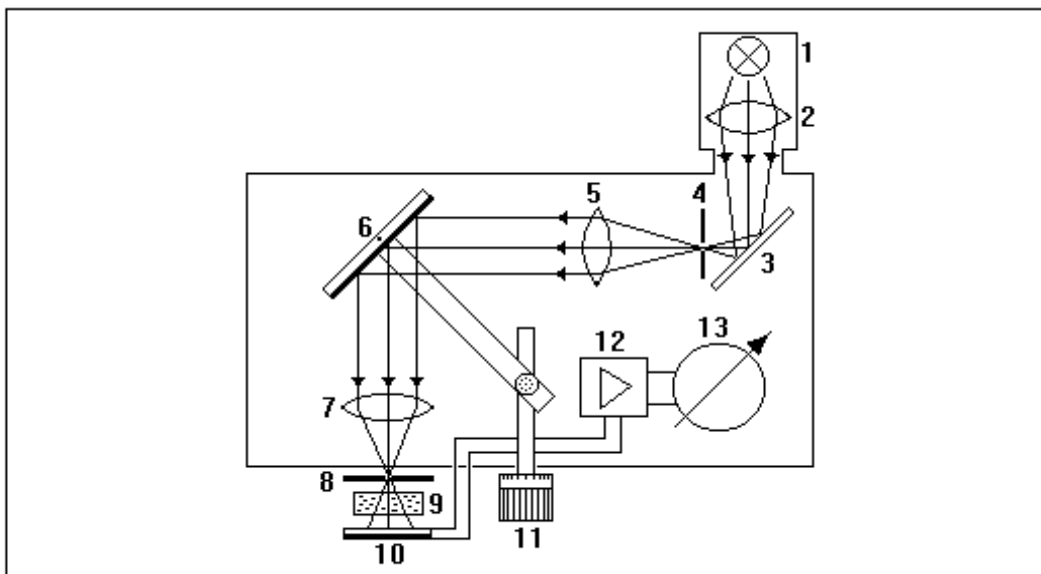
Rys.6. Schemat blokowy przyrządu do pomiaru selektywnej absorpcji

Przykład konstrukcji prostego absorpcjometru fotoelektrycznego ilustruje rys.7. Zasadniczymi elementami przyrządu są: żarówka z wklęsłym reflektorem, układ regulacji natężenia światła w formie regulowanej przesłony, barwny filtr szklany, próbka w kuwecie, fotoogniwo i połączony z nim miernik elektryczny. Wskazania miernika są proporcjonalne do natężenia światła docierającego do fotoogniwa. Pomiar absorpcji polega na porównaniu wskazań przyrządu uzyskanych dla cieczy wzorcowej, np. wody lub innego rozpuszczalnika, ze wskazaniami dla badanej cieczy.



Rys.7. Absorpcjometr fotoelektryczny

**Przykładowy spektrofotometr: SPEKOL**



Rys.8. Schemat układu spektrofotometru SPEKOL

Źródłem światła białego jest lampa żarzeniowa (1). Światło przechodzi przez soczewkę skupiającą (2) i odbija się od ukośnie ustawionego lusterka (3). Po przejściu przez szczelinę wejściową monochromatora (4) i kolimator (5) światło pada w postaci równoległej wiązki na powierzchnię odbiciowej siatki dyfrakcyjnej (6). Odbita wiązka światła przechodząc przez soczewkę skupiającą (7) ogniskowana jest w płaszczyźnie szczeliny wyjściowej (8). Po przejściu przez szczelinę monochromatyczna wiązka przechodzi przez kuwetę (9) z badaną cieczą i pada na powierzchnię fotoogniwa selenowego (10). Długość fali światła może być regulowana poprzez zmianę kąta ustawienia siatki. Umożliwia to pokrętło (11). Proporcjonalny do natężenia światła  $I$  fotoprąd wzmacniany jest we wzmacniaczu tranzystorowym (12). Połączony ze wzmacniaczem

mikroamperomierz (13) wyskalowany jest w wartościach transmitancji  $\upsilon$  (skala liniowa od 0% do 100%) i ekstynkcji E (skala logarytmiczna od 2 do 0).

#### **LITERATURA UZUPEŁNIAJĄCA**

Encyklopedia Fizyki, Tom 3, PWN, Warszawa 1974, s.373-419

Encyklopedia Fizyki Współczesnej, PWN, Warszawa 1983, s.285-345

Pigoń, K., Róźiewicz, Z., Chemia fizyczna, PWN, Warszawa 1986, cz.2, s.662-762

Sobczyk, L., (współautor), Eksperymentalna chemia fizyczna, PWN, Warszawa 1982, s.79-88, 146-162

Szczepaniak, W., Metody instrumentalne w analizie chemicznej, PWN, Warszawa 1985, s.15-77, 104-124, 208-215

Szysko, E., Instrumentalne metody analityczne, PZWL, Warszawa 1982, s.91-184, 229-272

# 44

## ABSORPCJOMETRIA. WYZNACZANIE STĘŻENIA ROZTWORU

### ZASADA POMIARU

Związek pomiędzy stężeniem roztworu badanej substancji i wyznaczaną fotometrycznie wielkością nazywaną absorbancją użyty może być do określenia nieznanego stężenia substancji. Pomiar stężenia roztworu wymaga doboru odpowiedniej do badań długości fali światła ( $\lambda$ ) zwanej *analityczną długością fali*. Jako analityczną długość fali obierzemy tę wartość  $\lambda$ , dla której absorbancja roztworu osiąga wartość maksymalną. Pomiar rozpoczyna się od wyznaczenia absorbancji w funkcji długości fali  $A(\lambda)$ .

Nieznane stężenie roztworu można ustalić mierząc przy ustalonej analitycznej długości fali absorbancję dla próbki nieznannej i dla szeregu próbek o różnych, ale znanych stężeniach. Ze sporządzonego na podstawie pomiarów wykresu  $A(c)$  odczytać można wartość nieznanego stężenia.

### CEL ĆWICZENIA

Celem ćwiczenia jest wyznaczenie: analitycznej długości fali, molowego współczynnika absorbancji i określenie nieznanego stężenia dla wodnych roztworów badanej substancji.



## WYKONANIE ĆWICZENIA

1. Poprosić prowadzącego o włączenie spektrofotometru. Po włączeniu odczekać około 15 minut do czasu ustalenia się równowagi cieplnej w obudowie żarówki.
2. W tym czasie sporządzić roztwory o stężeniach  $0.2c_0$ ,  $0.4c_0$ ,  $0.6c_0$  i  $0.8c_0$ . W tym celu do probówek nalać pipetą 2, 4, 6 i 8 cm<sup>3</sup> roztworu o znanym stężeniu  $c_0 = 25 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$  i dolać odpowiednio 8, 6, 4 i 2 cm<sup>3</sup> wody destylowanej.
3. Napełnić kuwety wodą destylowaną, roztworem bazowym  $c_0$  oraz sporządzonymi roztworami. PAMIĘTAJ, ABY NIE DOTYKAĆ PRZEZROCZYSTYCH ŚCIANEK KUWETY.
4. Kuwetę z wodą umieścić w pozycji 1, a kuwetę z roztworem bazowym  $c_0$  w pozycji 2. Zwróć uwagę na prawidłowe ustawienie kuwety: wiązka pomiarowa ma przechodzić przez przezroczyste ścianki kuwety.
5. Pokrętle zmiany długości fali ustawić długość fali 450 nm.
6. Używając dźwigni wózka z kuwetami ustawić kuwetę z wodą na drodze wiązki pomiarowej.
7. Nacisnąć przycisk kalibracji 100 %. Na wyświetlaczu pojawi się przez chwilę napis „Waiting”, a następnie wyświetlone zostaną bieżące pomiary transmitancji T oraz absorbancji A. Po kalibracji transmitancja powinna wynosić 100% (dopuszczalne jest odchylenie transmitancji do 0,2%)
8. Używając dźwigni wózka z kuwetami ustawić wózek w pozycji zasłaniającej bieg wiązki pomiarowej (dźwignia maksymalnie wysunięta).
9. Nacisnąć przycisk kalibracji 0 %. Ustalona wartości transmitancji powinna wynosić 0% (dopuszczalne jest odchylenie transmitancji do 0,2%)
10. Używając dźwigni wózka z kuwetami ustawić kuwetę z roztworem bazowym  $c_0$  na drodze wiązki pomiarowej.
11. Z wyświetlacza odczytać i zanotować wartość absorbancji A.
12. Zmieniając długość fali, co 10 nm powtórzyć czynności z punktów 6-11 dla długości fal od 450 do 750 nm.
13. Na podstawie danych z pomiarów zapisać w sprawozdaniu długość fali  $\lambda$ , dla której absorbancja A osiąga wartość maksymalną. Ta długość fali nazywa się *analityczną długością fali*
14. Pokrętle zmiany długości fali ustawić analityczną długość fali.
15. Wykonać procedurę kalibracji z punktów 6 – 9 używając kuwety z wodą destylowaną.
16. Używając dźwigni wózka z kuwetami ustawić kuwetę z roztworem bazowym  $c_0$  na drodze wiązki pomiarowej.
17. Wybrać mod tworzenia krzywej kalibracji pomiarów stężenia poprzez naciśnięcie przycisku MODE a następnie przycisku „▶” tak, aby migający kursor pojawił się z lewej strony napisu „NEW”. Operację zatwierdzamy naciskając przycisk ENTER.
18. W kolejnym menu za pomocą kursorów „◀” oraz „▶” ustawić kursor na cyfrze 1 i nacisnąć przycisk ENTER. Na panelu pojawi się pytanie czy zresetować dane krzywej (Clr Curve?) co należy potwierdzić naciskając kolejny raz ENTER.
19. Na ekranie pojawi się napis C>N>1> Empty. Nacisnąć przycisk EDIT. Spektrofotometr zmierzy bieżącą wartość absorbancji wyświetlając ją na wyświetlaczu. Zanotować w sprawozdaniu zmierzoną wartość. Zatwierdzić pomiar naciskając ENTER.
20. Używając klawiatury wprowadzić wartość stężenia  $25 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$  (wpisać wartość bez jednostki) i zatwierdzić wpis naciskając przycisk ENTER. Po poprawnym wprowadzeniu pojawi się na wyświetlaczu napis „C>N>1>0 Empty”.

21. Wyjąć kuwetę z roztworem bazowym i wodą destylowaną. W pozycjach 1 - 4 wózka z kuwetami umieścić kuwety z roztworami 5, 10, 15, 20  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ .
22. W biegu wiązki umieścić kuwetę z roztworem 5  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$  i wykonać procedurę z punktów 19 i 20 wpisując odpowiednie stężenie. Podobnie postępować dla pozostałych roztworów
23. Po wpisaniu 5 punktów kalibracyjnych wyświetlacz powinien pokazywać napis „C>N>1>01234 Empty”.
24. Naciskamy przycisk ESC. Spektrofotometr automatycznie dopasował do punktów kalibracyjnych prostą. Odczytać wartość parametrów dopasowanej prostej: K – wartość nachylenia prostej i B – wyraz wolny (wyniki zapisać w sprawozdaniu).
25. W celu pomiarów stężeń nieznanymi roztworami nacisnąć przycisk MODE. Na wyświetlaczu powinien pojawić się napis „C> LOAD NEW EDIT”. Przy użyciu kursorów „◀” oraz „▶” ustawić migający kwadrat z lewej strony napisu LOAD i nacisnąć ENTER.
26. Przy użyciu kursorów „◀” oraz „▶” wybrać liczbę „1” i nacisnąć ENTER
27. W wózku umieścić kuwety z roztworami I i II. Po umieszczeniu kuwety z badanym roztworem w biegu wiązki pomiarowej odczytać wartość C1 z wyświetlacza. Wartość ta to stężenie badanego roztworu wyrażone w  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ .
28. Po zakończeniu pomiarów wyciągnąć kuwety z wózka, wylać roztwory do pojemnika „zlewki”, wypłukać kuwety wodą destylowaną i poprosić prowadzącego o wyłączenie spektrofotometru.

## Opracowanie wyników

1. Sporządzić wykres zależności A od długości fali  $\lambda$  (na podstawie pomiarów z punktów 11 i 12).
2. Sporządzić wykres zależności A od stężenia roztworu c (na podstawie pomiarów z punktów 16-23)
3. Na wykresie A(c) narysować prostą o równaniu wyznaczonym w punkcie 24.
4. Na podstawie wzoru prostej wyznaczonej w punkcie 24 wyliczyć molowy współczynnik absorpcji.

## UZUPEŁNIENIE. Prawo Beera.

W celach analitycznych często bada się absorpcję substancji rozpuszczonych w ciekłych rozpuszczalnikach. Wówczas absorbancja  $A$  zależy nie tylko od długości fali, ale i od stężenia roztworu. Prawo Beera w jednej ze swych postaci stwierdza, że absorbancja ( $A$ ) roztworu substancji absorbującej jest wprost proporcjonalna do jej stężenia ( $c$ ) i grubości próbki ( $x$ ):

$$A = \epsilon xc$$

(1)

Stała  $\epsilon$  nazywana jest *współczynnikiem absorbcyjności*. Jeśli stężenie  $c$  wyrażone jest w molach na  $\text{dm}^3$  (lub w mikromolach na  $\text{dm}^3$  [ $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ]) to  $\epsilon$  nosi nazwę *molowego współczynnika absorbcyjności*. Wyrażając grubość warstwy roztworu  $x$  w [cm] wartości  $\epsilon$  otrzymujemy w [ $\text{dm}^3/\text{cm}\cdot\text{mol}$ ].

### DODATEK: Widmo błękitu metylowego

