

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ
ΧΗΜΙΚΗΣ
ΑΝΑΛΥΣΗΣ
ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ - ΟΡΑΤΟΥ**

Ομάδα Α10

Ημερομηνία διεξαγωγής: 15-10-2019

Ημερομηνία παράδοσης: 2-11-2019

Υπεύθυνη καθηγήτρια:

Θεωρητικό Μέρος

Σκοπός

Σκοπό της εργαστηριακής άσκησης αποτελεί η εκμάθηση της φασματομετρίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) και η εξοικείωση με το φασματόμετρο διπλής δέσμης. Παράλληλα, επιθυμείται η παρασκευή πρότυπης καμπύλης φωσφορικών (PO_4^{3-}) και ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης άγνωστου δείγματος.^[1]

Γενικά οι φασματοσκοπικές μέθοδοι χημικής ανάλυσης είναι ευρέως γνωστές για την επίλυση προβλημάτων χημείας που σχετίζονται με τη δομή, την κινητική, την ταυτοποίηση, την ποσοτική ανάλυση ενώσεων, κ.α. Σημαντικά πλεονεκτήματα αποτελούν η χρησιμοποίηση μικρής ποσότητας δείγματος, η οποία δεν καταστρέφεται με το τέλος της ανάλυσης. Παράλληλα, οι μέθοδοι χαρακτηρίζονται από μεγάλη ακρίβεια, εκλεκτικότητα και ευαισθησία, οπότε είναι δυνατή η ανίχνευση συγκεντρώσεων της τάξης του 10^{-7} . Τέλος, πραγματοποιούνται σε μικρό χρονικό διάστημα.^{[2], [3]}

Με τη φασματομετρία UV- Vis επιτυγχάνεται ποιοτική ανάλυση με βάση το φάσμα απορρόφησης. Η μέθοδος όμως, ενδείκνυται και για ποσοτικό προσδιορισμό, (με βάση την απορρόφηση του δείγματος με τη βοήθεια του νόμου Lambert- Beer και τη χρήση πρότυπων διαλυμάτων), αφού τα αντίστοιχα φάσματα δίνουν πληροφορίες για ορισμένες μόνο ομάδες ατόμων μέσα στο μόριο και δεν χαρακτηρίζουν το μόριο ως σύνολο.^{[4], [1]}

Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα αποτελείται από ακτινοβολίες με διαφορετικά μήκη κύματος. [3] Το ορατό φως αποτελεί ένα μικρό μέρος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. [5] Στο υπεριώδες διακρίνουμε δύο περιοχές: α) το εγγύς υπεριώδες (400 με 190 nm) και β) το άπω υπεριώδες (190 με 100 nm).^[2] Παρακάτω παρουσιάζονται οι επιμέρους ζώνες του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος.

Πίνακας 1.Επιμέρους περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. ^[5]

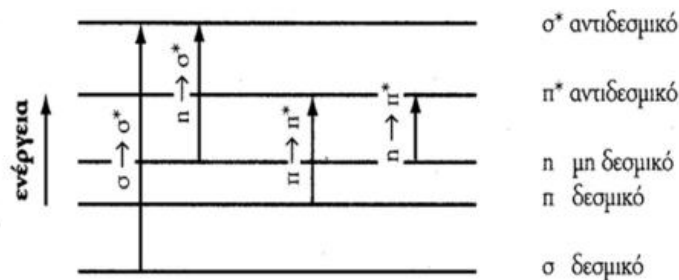
Περιοχή φάσματος	Μήκος Κύματος
Ακτίνες Χ	0,3 – 100 Å
Υπεριώδες	200 – 380 nm
Ορατό	380 – 750 nm
Υπέρυθρο	750 - 200000 nm
Μικροκύματα	0,2 – 7,0 mm
Ραδιοσυχνότητες	100 – 10000 m

Στην πράξη οι μετρήσεις μας περιορίζονται στην περιοχή 800- 400 nm (ορατό) και 400- 190 nm (εγγύς υπεριώδες), αφού στην περιοχή 190- 100 nm (άπω υπεριώδες) απορροφάει τόσο ο αέρας αλλά και το υλικό κατασκευής των κυψελίδων. ^[1]

Αρχή της Μεθόδου

Οι περισσότερες από τις φασματοφωτομετρικές μεθόδους βασίζονται στην επίδραση κατάλληλης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε μια ουσία η οποία δεσμεύεται από τα άτομα, ή τα μόρια της ύλης και προκαλεί διεγέρσεις στα ηλεκτρόνια, στους πυρήνες, καθώς και αλλαγές στην περιστροφή και τη δόνηση των μορίων. Στη συνέχεια, τα άτομα και τα μόρια επιστρέφουν συνήθως στην αρχική τους κατάσταση, αφού αποβάλλουν το ποσό της ενέργειας που απορρόφησαν. ^[2]

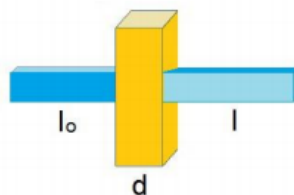
Η φασματομετρία υπεριώδους- ορατού στηρίζεται στην απορρόφηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (100 - 800 nm) από τα μόρια μιας διαλυμένης ουσίας, τα οποία και υφίστανται ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις. Πιο συγκεκριμένα, τα ηλεκτρόνια που βρίσκονται στα μοριακά δεσμικά ή μη δεσμικά τροχιακά χαμηλής ενέργειας (σ , π και n τροχιακά, αντίστοιχα) μεταπηδούν στα αντιδεσμικά τροχιακά υψηλότερης ενέργειας.



Εικόνα 1. Παραδείγματα ηλεκτρονιακών μεταπτώσεων ^[4]

Νόμος Lambert- Beer

Οι Lambert & Beer μελετώντας μονοχρωματικές ακτινοβολίες κατέληξαν στον παρακάτω νόμο που αποτελεί την αρχή της φασματοφωτομετρίας:



Εικόνα 2. Αναπαράσταση της απορρόφησης ακτινοβολίας από δείγμα ^[5]

Η απορρόφηση (A) για σταθερό πάχος στοιβάδας (d) και ορισμένο μήκος κύματος φωτός είναι γραμμική συνάρτηση της συγκέντρωσης του διαλύματος (C) της ουσίας που απορροφά. ^[5]

Συνεπώς, ισχύει: $A = -\log(I/I_0) = -\log T = \epsilon \cdot b \cdot C$

όπου I_0 : αρχική ένταση της ακτινοβολίας

I : η ένταση της ακτινοβολίας μετά τη μερική απορρόφησή της από το δείγμα

$T = I/I_0$ διαπερατότητα (το μετρούμενο μέγεθος στο φασματοφωτόμετρο)

ϵ : η μοριακή απορροφητικότητα της ουσίας

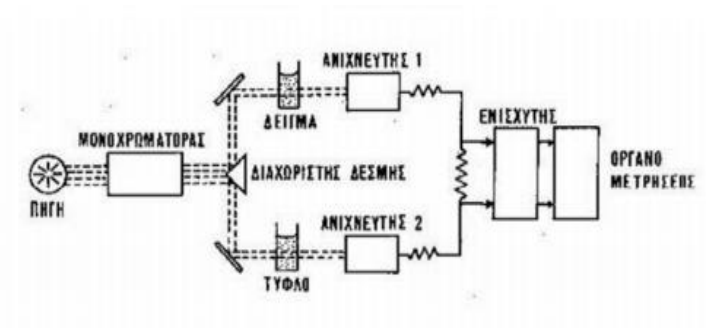
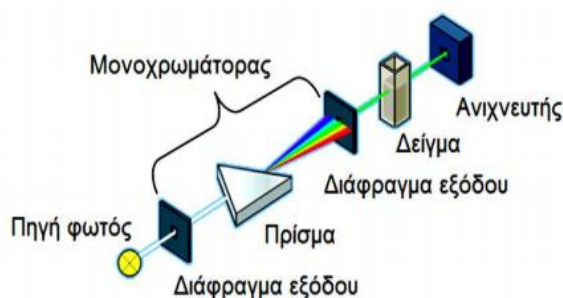
b : το μήκος της διαδρομής της ακτινοβολίας στο διάλυμα

C : η συγκέντρωση της ουσίας που αναλύεται ^{[1], [4]}

Το μήκος κύματος στο οποίο παρατηρείται το μεγαλύτερο ποσοστό απορρόφησης, ονομάζεται μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης και συμβολίζεται με λ_{\max} . Η τιμή του λ_{\max} είναι χαρακτηριστική της ουσίας, άρα μας δίνει ποιοτική πληροφορία. ^[2]

Διάγραμμα Ροής- Φασματοφωτόμετρο

Η μέτρηση της απορρόφησης του φωτός και η καταγραφή ενός φάσματος απορρόφησης γίνεται με ειδικά όργανα, τα φασματοφωτόμετρα. ^[5]



Εικόνα 3. Σχηματική παράσταση απλού (αριστερά) και διπλής δέσμης (δεξιά) φασματοφωτομέτρου UV-Vis ^{[4] [5]}

Μια τυπική διάταξη φασματοφωτομετρικού συστήματος αποτελείται από τα εξής βασικά τμήματα: ^{[4],[6]}

Φωτεινή πηγή: Για την περιοχή του υπεριώδους χρησιμοποιούνται συνήθως λυχνίες εκκένωσης υδρογόνου ή δευτερίου, με περίβλημα χαλαζία, ή υάλινο με παράθυρο χαλαζία που εκπέμπει συνεχή (160-340nm) και γραμμική ακτινοβολία. Για την περιοχή του ορατού χρησιμοποιούνται συνήθως λυχνίες πυράκτωσης με νήμα βολφραμίου (320–2400 nm) σε υάλινο υπό κενό περίβλημα με μικρή ποσότητα ιωδίου. Η ακτινοβολία που εκπέμπεται από τη φωτεινή πηγή διέρχεται μέσω ενός οπτικού συζεύκτη προς τη σχισμή εισόδου του μονοχρωμάτορα.

Μονοχρωμάτορας: το στοιχείο διασποράς του οποίου είναι συνήθως ένα φράγμα περίθλασης. Ο μονοχρωμάτορας σκεδάζει την εισερχόμενη οπτική δέσμη και μεταδίδει μια επιλεγμένη στενή ζώνη μηκών κύματος (20- 50 nm) προς τη σχισμή εξόδου του, η οποία συνδέεται με το θάλαμο που φιλοξενεί το δείγμα και το πρότυπο διάλυμα (λευκό).

Κυψελίδα δείγματος: έχουν συνήθως ορθογώνιο σχήμα και είναι κατασκευασμένες από χαλαζία (για την περιοχή του υπεριώδους). Πρόκειται για διαφανή, άχρωμα δοχεία που περιέχουν το προς εξέταση δείγμα.^[7]

Ανιχνευτής: ο οποίος είναι συνήθως ένας φωτοπολλαπλασιαστής ή μια συστοιχία φωτοδιόδων που λαμβάνει τη φασματική ισχύ ακτινοβολίας που ανακλάται από το αντικείμενο και το πρότυπο αναφοράς.

Ενισχυτής: ο οποίος ενισχύει το ηλεκτρικό σήμα στην έξοδο του ανιχνευτή.

Υπολογιστής: που συνδέεται με τον ανιχνευτή και χρησιμοποιείται για την ανάλυση, επεξεργασία και απεικόνιση των δεδομένων.

Εφαρμογές

Η UV- Vis χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό ιχνοστοιχείων σε κράματα και ορυκτά όπως και χαρακτηριστικών ομάδων (NO_2 , SO_3^{2-} , PO_4^{3-}) ενώ βρίσκει εφαρμογή στην Κλινική Χημεία (φάρμακα), στη μελέτη της κινητικής των αντιδράσεων, στη φωτομετρική ανάλυση ανόργανων ενώσεων μέσω συμπλοκοποίησής τους, στο φασματομετρικό προσδιορισμό τύπου συμπλόκων, κ.α.

Πειραματικό μέρος

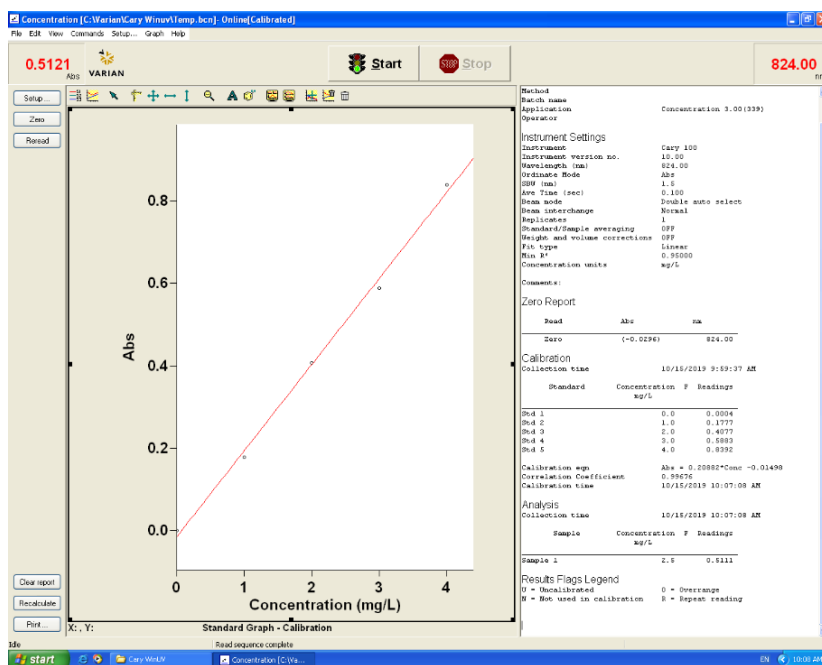
Πειραματική διαδικασία

Κατ' αρχάς, το φασματοφωτόμετρο βαθμονομήθηκε, προκειμένου να ληφθούν σωστά αποτελέσματα. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκε ένα δείγμα αναφοράς με μηδενική συγκέντρωση σε φωσφορικά ιόντα, και στην υποδοχή των προς μελέτη δειγμάτων τοποθετήθηκε επίσης ένα δείγμα μηδενικής συγκέντρωσης, που παράγει ένα συγκεκριμένο δυναμικό, το οποίο και αποτελεί τιμή αναφοράς. Ο ανιχνευτής του οργάνου μετράει τη διαφορά δυναμικού. Καταγράφεται η γραμμή βάσης (θόρυβος) ώστε μετά να αφαιρεθεί. Στη συνέχεια, στην υποδοχή της θέσης των μελετούμενων δειγμάτων τοποθετήθηκε πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 1 ppm σε φωσφορικά ιόντα, ενώ ως δείγμα αναφοράς διατηρήθηκε το προηγούμενο. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε και για πρότυπα διαλύματα 2, 3 και 4 ppm και το φασματοφωτόμετρο μέτρησε την απορρόφηση της ακτινοβολίας σε κάθε περίπτωση. Βάσει των παραπάνω αποτελεσμάτων, το πρόγραμμα του υπολογιστή δημιούργησε τη βέλτιστη ευθεία, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, που συνδέει τη συγκέντρωση του διαλύματος σε φωσφορικά ιόντα με την απορρόφηση της ακτινοβολίας. Χρησιμοποιώντας την παραπάνω ευθεία και μετρώντας την απορρόφηση της ακτινοβολίας ενός δείγματος άγνωστης συγκέντρωσης, υπολογίζεται η συγκέντρωσή του.

Σημειώνεται ότι, στα δείγματα είχε προστεθεί ασκορβικό οξύ, που είναι συντηρητική ουσία, επειδή τα σύμπλοκα είναι ασταθείς ενώσεις.

Υπολογισμοί

Παρακάτω φαίνεται η γραφική παράσταση της απορρόφησης ακτινοβολίας των πρότυπων διαλυμάτων συναρτήσει της συγκέντρωσής τους:



Εικόνα 4. Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης του διαλύματος σε φωσφορικά ιόντα συναρτήσει της απορρόφησης ακτινοβολίας.

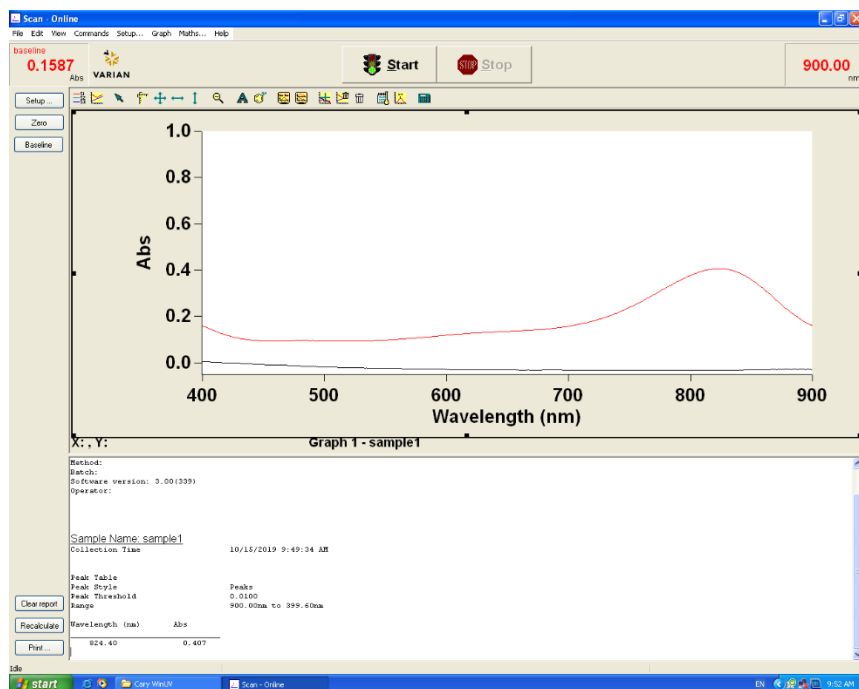
Zero Report			
Read	Abs	nm	
Zero	(-0.0296)	824.00	
Calibration			
Collection time	10/15/2019 9:59:37 AM		
Standard	Concentration mg/L	F	Readings
Std 1	0.0	0.0004	
Std 2	1.0	0.1777	
Std 3	2.0	0.4077	
Std 4	3.0	0.5883	
Std 5	4.0	0.8392	
Calibration eqn	Abs = 0.20882*Conc -0.01498		
Correlation Coefficient	0.99676		
Calibration time	10/15/2019 10:07:08 AM		
Analysis			
Collection time	10/15/2019 10:07:08 AM		
Sample	Concentration mg/L	F	Readings
Sample 1	2.5	0.5111	
Results Flags Legend			
U = Uncalibrated	O = Overrange		
N = Not used in calibration	R = Repeat reading		

Εικόνα 5. Η προκύπτουσα ευθεία είναι της μορφής $y = ax + \beta$.

Λαμβάνεται η ευθεία:

$$abs = 0,20882 * conc - 0,01498$$

Κατόπιν, λαμβάνεται το διάγραμμα μήκους κύματος – απορρόφησης για το διάλυμα άγνωστης συγκέντρωσης:



Sample Name: sample1

Collection Time 10/15/2019 9:49:34 AM

Peak Table
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 900.00nm to 399.60nm

Wavelength (nm)	Abs
824.40	0.407

Εικόνα 7. Αποτελέσματα της επεξεργασίας του προηγούμενου γραφήματος.

Εικόνα 6. Γραφική παράσταση του μήκους κύματος συναρτήσει της απορρόφησης της ακτινοβολίας.

Συμπεραίνεται ότι για το άγνωστο δείγμα είναι $abs = 0,407$

Επιλύοντας τη σχέση της ευθείας ως προς τη συγκέντρωση, λαμβάνεται:

$$conc = \frac{0,407 + 0,01498}{0,20882} = 2,0208 \frac{mg}{L}$$

Συζήτηση αποτελεσμάτων

Είναι γνωστό πως τα φωσφορικά ιόντα απορροφούν ακτινοβολία μεγίστου μήκους κύματος 825 nm^[1]. Στο συγκεκριμένο πείραμα, το μέγιστο μήκος κύματος του αγνώστου διαλύματος ανέρχεται σε 824,40 nm, γεγονός που οφείλεται σε σφάλματα του οργάνου. Στο διάγραμμα 1 (εικόνα 1), η απορρόφηση των πρότυπων διαλυμάτων μετρήθηκε για το συγκεκριμένο μήκος κύματος, $\lambda=824,0$ nm.

Η τιμή του αποτελέσματος (2,0208 ppm) που υπολογίζεται είναι αναμενόμενη, διότι στα πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 2 ppm η τιμή απορρόφησης προσδιορίζεται σε 0,477 και στο άγνωστο διάλυμα προσδιορίζεται σε 0,407. Είναι λογικό η συγκέντρωση του άγνωστου να υπολογίζεται κοντά σε αυτή του πρότυπου.