

Spektroskopia UV-Vis. Podstawowe pojęcia

Podstawowe pojęcia

Widmo elektromagnetyczne

Ultrafiolet (UV) i promieniowanie widzialne (Vis) obejmują tylko niewielką część widma elektromagnetycznego, które zawiera także m.in. takie formy promieniowania jak promieniowanie radiowe, podczerwone (IR), kosmiczne i rentgenowskie (patrz rysunek 1).

Energia związana z promieniowaniem elektromagnetycznym jest zdefiniowana następującym równaniem:

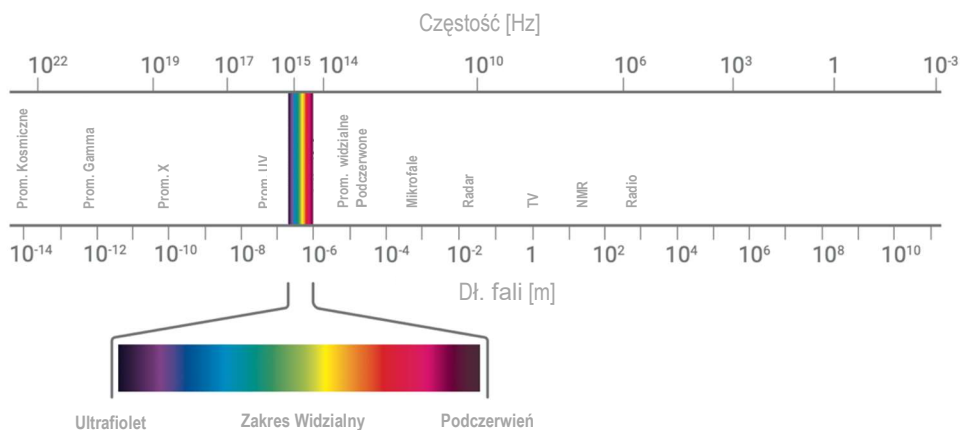
$$E = h\nu$$

gdzie

E jest energią (w dżulach (J)),

h jest stałą Plancka ($6,62 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$),

ν jest częstotliwością (w sekundach (s)).



Rysunek 1. Widmo elektromagnetyczne [3]

Długość i częstotać promieniowania

Promieniowanie elektromagnetyczne jest kombinacją zmiennych pól elektrycznego i magnetycznego, które przemieszczają się w przestrzeni wzdłuż ruchu fali. Ponieważ promieniowanie działa jak fala, można je opisać za pomocą długości fali lub częstotliwości, które są powiązane następującym równaniem:

$$\nu = \frac{c}{\lambda}$$

gdzie

ν to częstotać (w sekundach),

c to prędkość światła ($3 \times 10^8 \text{ m/s}$),

λ to długość fali (w metrach).

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

W spektroskopii UV-Vis długość fali jest zwykle wyrażana w nanometrach ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Z powyższych równań wynika, że promieniowanie o krótszej długości fali ma wyższą energię. W spektroskopii UV-Vis światło UV o niskiej wartości długości fali ma najwyższą energię.

Należy pamiętać, że w niektórych przypadkach energia ta jest wystarczająca do wywołania niepożądanych reakcji fotochemicznych. Podczas pomiaru widm próbki pamiętaj zatem, że to właśnie składnik UV światła powoduje oparzenia słoneczne.

Pochodzenie widm UV-Vis

Kiedy promieniowanie oddziałuje z materią, może zachodzić wiele procesów, w tym **odbicie**, **rozpraszanie**, **absorbpcja (pochlńanie)**, **fluorescencja/fosforescencja** (absorbpcja i reemisja) oraz **reakcja fotochemiczna** (absorbpcja i zerwanie wiązania). Jednakże, podczas pomiaru widm UV-Vis chcemy, aby występowała **wyłącznie** absorbpcja.

Ponieważ światło jest formą energii, absorbpcja światła przez materię powoduje wzrost całkowitej energii cząsteczek (lub atomów). Całkowita energia potencjalna cząsteczki jest reprezentowana jako suma jej energii elektronowej, wibracyjnej (oscylacyjnej) i obrotowej (rotacyjnej) oraz translacyjnej (energia ciągła):

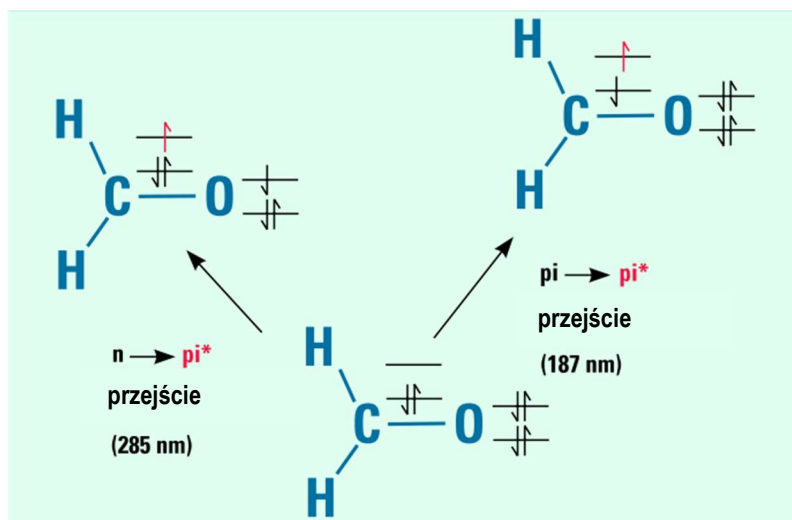
$$E_{\text{całk}} = E_{\text{el}} + E_{\text{osc}} + E_{\text{rot}} + E_{\text{translacyjna}}$$

Ilość energii, jaką cząsteczka posiada w formie energii elektronowej, oscylacyjnej i rotacyjnej nie jest continuum (podlega ograniczeniom kwantowym), ale serią dyskretnych poziomów lub stanów. Różnice w energii między różnymi stanami są następujące:

$$E_{\text{elektronowa}} > E_{\text{oscylacyjna}} > E_{\text{rotacyjna}}$$

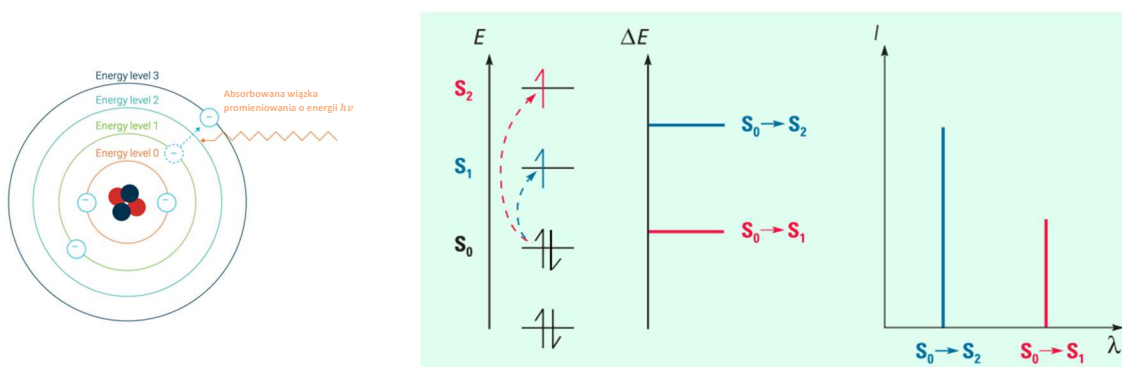
W niektórych cząsteczkach i atomach fotony UV i światła widzialnego mają wystarczającą energię, aby spowodować przejścia między różnymi poziomami energii elektronowej. Długość fali pochłoniętego światła to energia wymagana do przeniesienia elektronu z niższego poziomu energii na wyższy poziom energetyczny. Rysunek 2 pokazuje przykład przejść elektronowych i długości fal światła, które je powodują charakterystyczne dla cząsteczki formaldehydu.

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I



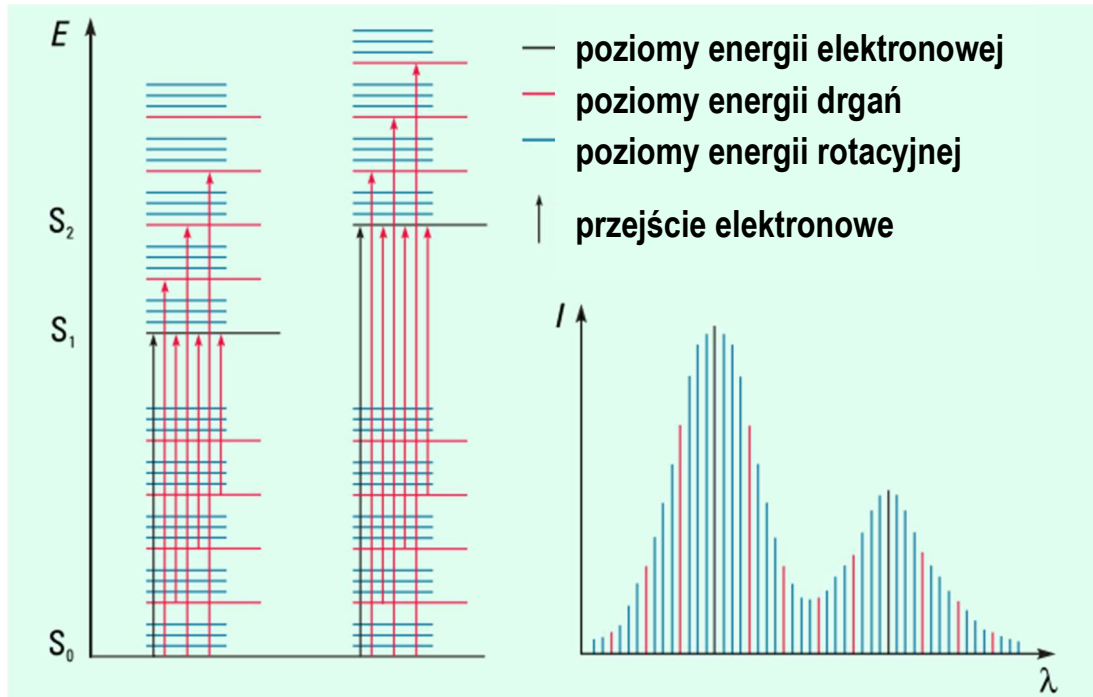
Rysunek 2. Przejścia elektronowe w formaldehydzie [1,2]

Wynikiem tych przejść powinny być bardzo wąskie pasma absorpcji o długościach fal charakterystycznych dla różnicy poziomów energii absorbujących indywidualów. Dotyczy to atomów, jak pokazano na rysunku 3.



Rysunek 3. Przejścia elektronowe i odpowiadające im widma atomów [1,2]

W praktyce jednak, w przypadku cząsteczek, poziomy energii **drgań i rotacji** nakładają się na poziomy energii **elektronowej** (patrz rysunek 4). W ten sposób, może wystąpić wiele przejść o różnych energiach, co prowadzi do poszerzenia pasm. W roztworach, na skutek interakcji rozpuszczalnik - substancja rozpuszczona, efekt ten jest jeszcze większy.



Rysunek 4. Przejścia elektronowe i widma UV-Vis cząsteczek [1,2]

Transmitancja i absorbcja

Gdy światło przechodzi lub odbija się od próbki, ilość pochłoniętego światła jest różnicą między promieniowaniem padającym (I_0) a promieniowaniem przechodzącym (I). Ilość pochłoniętego światła jest wyrażana jako przepuszczalność (transmitancja) lub absorbcja. Transmitancja jest zwykle podawana jako ułamek lub procent i jest wyrażana w następujący sposób:

$$T = \frac{I}{I_0} \text{ lub } \%T = \frac{I}{I_0} \times 100$$

Absorbancję z kolei, definiuje się jako:

$$A = -\log T \text{ lub}$$

$$A = 2 - \log \%T^1$$

W większości zastosowań używa się wyrażenia na absorbancję, ponieważ zależność między absorbancją a stężeniem, oraz absorbancją a długością fali jest na ogół liniowa.

¹ $A = 2 - \log(T \times 100) = 2 - (\log T + \log 100) = 2 - (\log T + \log 10^2) = 2 - \log T - 2\log 10 = 2 - \log T - 2 = -\log T$

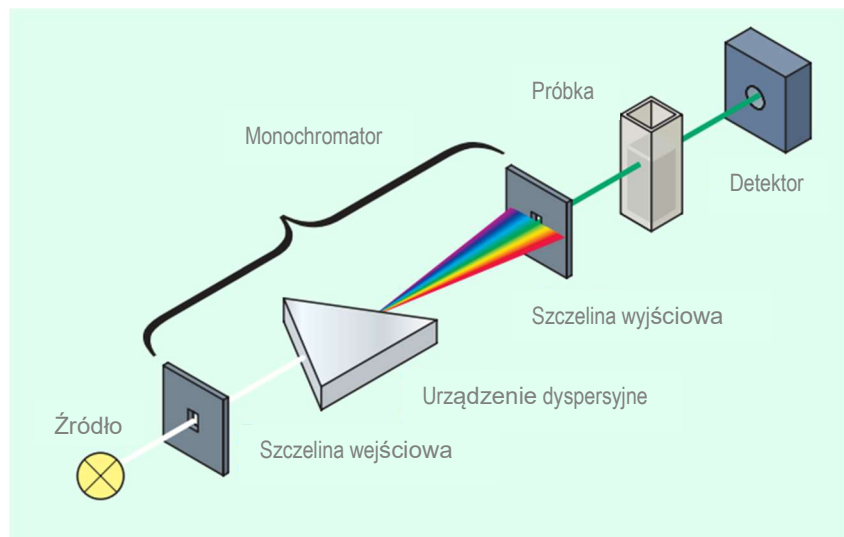
Aparatura

Jednowiązkowy spektrofotometr UV-Vis

Rysunek 5. przedstawia schemat konwencjonalnego spektrofotometru jednowiązkowego. Polichromatyczne światło opuszczające źródło skupia się na szczeliny wejściowej monochromatora, który selektywnie przepuszcza wąskie pasmo światła. Następnie wiązka przechodzi przez obszar próbki do detektora.

Absorbancję próbki określa się, mierząc natężenie światła docierającego do detektora bez próbki (ślepa próba) i porównując je z natężeniem światła docierającego do detektora po przejściu przez próbkę.

Obecnie, większość spektrofotometrów zawiera dwie lampy źródłowe, lampę deuterową i lampę wolframową, a jako detektory wykorzystuje się fotodiody albo rzadziej lampy fotopowielające.



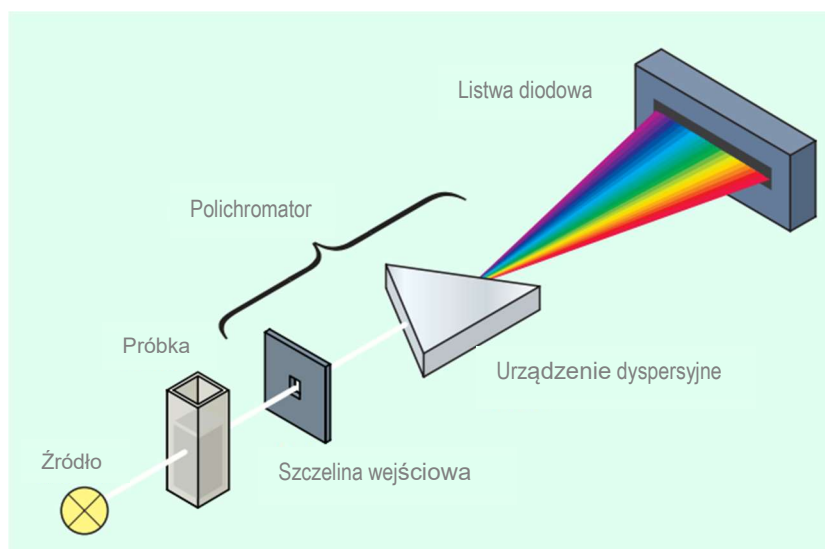
Rysunek 5. Schemat konwencjonalnego spektrofotometru [2]

Powyższa konstrukcja doskonale nadaje się do pomiaru absorbancji w jednym punkcie widma. Jest natomiast mniej odpowiednio do pomiaru różnych związków przy różnych długościach fal lub do rejestracji widm próbek. Aby wykonać takie zadania, części monochromatora muszą być obracane, co wprowadza do pomiarów problem mechaniczny skutkujący niską odtwarzalnością pomiarów. Co więcej, zbieranie seryjnych danych jest w tym przypadku procesem dość powolnym.

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

Jednowiązkowy spektrofotometr diodowy

Rysunek 6. przedstawia schemat jednowiązkowego spektrofotometru diodowego. W tym przypadku, polichromatyczne światło pochodzące ze źródła jest przepuszczone najpierw przez obszar próbki i dalej skupiane na szczeliny wejściowej polichromatora. Dalej, polichromator rozprasza światło kierując je na matrycę zbudowaną z diod (listwę diodową), na której każda dioda mierzy wąskie pasmo widma.



Rysunek 6. Schemat spektrofotometru diodowego [2]

Polichromator (szczelina wejściowa plus urządzenie dyspersyjne) wraz z listwą diodową stanowią jednostkę znaną jako spektrograf. Ponieważ względne pozycje próbki i elementu dyspersyjnego, w porównaniu z konwencjonalnym spektrofotometrem, są odwrócone konfiguracja ta jest często określana jako układ z odwróconą optyką.

Wadą spektrofotometru diodowego jest możliwość wystąpienia, na skutek naświetlania próbki wiązką światła polichromatycznego, niepożądanych reakcji fotochemicznych. Aby zminimalizować to ryzyko, w układzie zastosowana jest migawka, która blokuje przepływ światła ze źródła do czasu wykonania pomiaru. Po rozpoczęciu pomiaru migawka jest automatycznie otwierana, a światło przechodzi przez próbkę kierowane do układu diod.

Absorbancję próbki określa się, podobnie jak w spektrofotetrze klasycznym, mierząc natężenie światła docierającego do detektora dla ślepej próby i porównując je z natężeniem światła docierającego do detektora po przejściu przez próbkę.

Spektrofotometr diodowy jest z natury bardzo szybki ma doskonałą odtwarzalność długości fali i jest wysoce niezawodny.

Materiały optyczne

Kuwety pomiarowe/materiał

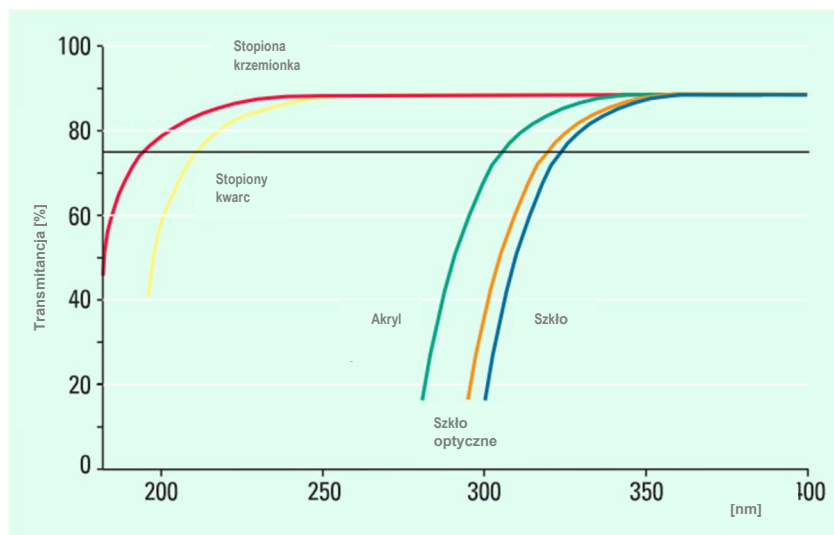
Spektroskopia UV-Vis służy przede wszystkim do pomiaru właściwości optycznych cieczy lub roztworów. W trakcie pomiaru materiał badany umieszcza się w przeznaczonych do tego specjalnych kuwetach pomiarowych. Idealnie byłoby, gdyby kuwety te były całkowicie przezroczyste w całym zakresie widma.

Najtańsze kuwety wykonane są z tworzywa sztucznego, zwykle akrylu. Kuwety te nie są odporne na działanie wielu rozpuszczalników organicznych, a także silnie absorbują poniżej 300 nm, co czyni je nieodpowiednimi do pomiarów w tym obszarze widma. Co więcej, parametry takie jak współczynnik absorpcji oraz długość drogi optycznej, mogą się różnić w zależności od kuwety i jej producenta.

Szklane kuwety są nieco droższe niż kuwety z tworzyw sztucznych, ale są też trwalsze i przy odpowiedniej pielęgnacji, mogą być użytkowane przez długie lata. Podobnie jednak jak kuwety z tworzyw sztucznych, szkło silnie pochłania światło poniżej 320 nm i dlatego kuwety szklane nie nadają się do pomiarów w obszarze widma UV.

Alternatywą są kuwety wykonane ze stopionego kwarcu, które są przezroczyste do 210 nm. Jednakże, najlepsze kuwety to cele wykonane z syntetycznej stopionej krzemionki. Charakteryzuje je wysoka czystość i wyróżniająca przezroczystość nawet do 170 nm.

Rysunek 7. przedstawia właściwości optyczne kuwet wykonanych ze wspomnianych materiałów. Należy zauważyć, że wszystkie tworzywa wykazują co najmniej 10. % utratę przepuszczalności światła w całym zakresie widma.



Rysunek 7. Charakterystyka przepuszczalności optycznej kuwet wykonanych z wybranych materiałów optycznych [2]

Pielęgnacja kuwet

Z kuwetami należy obchodzić się ostrożnie, aby zapobiec ich zarysowaniu. Nie należy dotykać powierzchni optycznych palcami, ponieważ olej z odcisków

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

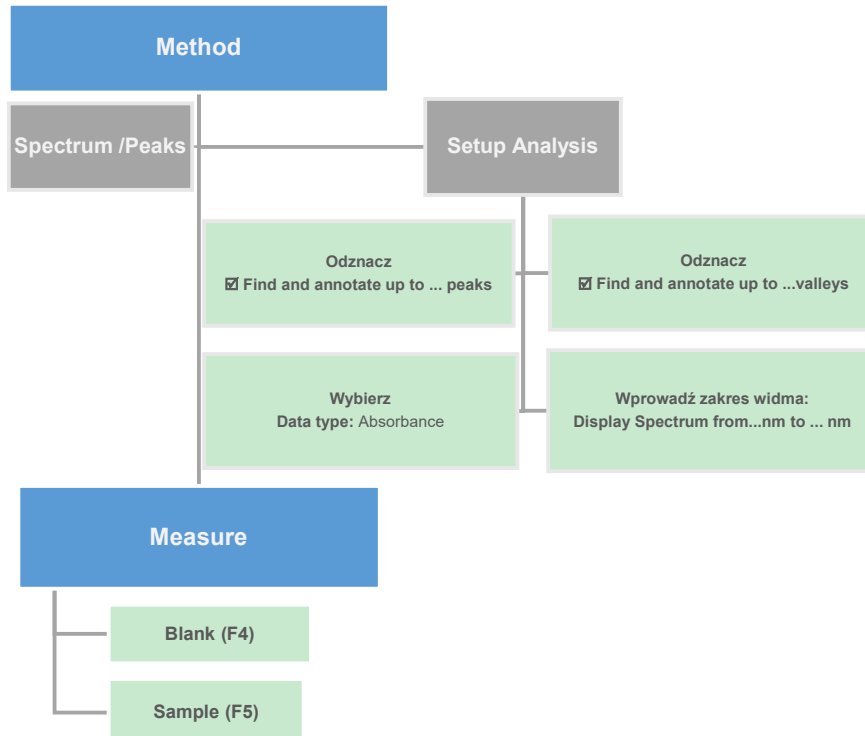
palców może powodować pogorszenie parametrów absorpcyjnych. Jeśli powierzchnie optyczne kuwety zostaną lekko zanieczyszczone, kuwetę można ostrożnie przetrzeć przeznaczoną do tego tkaniną. Jeśli kuweta zostanie poważnie zanieczyszczona, można ją oczyścić łagodnym detergentem. W skrajnych przypadkach dopuszcza się przemycie kuwety kwasem solnym lub azotowym.

Cel ćwiczenia

Dzięki temu ćwiczeniu pogłębisz wiedzę teoretyczną z zakresu spektroskopii UV-Vis. Eksperymenty i uzyskane wyniki pomogą lepiej zrozumieć teoretyczne podstawy spektroskopii UV oraz widzialnej. Ćwiczenia pozwolą zrozumieć możliwości, ale także źródła błędów, pułapek i ograniczeń podczas pracy ze spektroskopią UV-Vis.

Obsługa aparatu

1. Uruchom system WIN95
2. Z pulpitu wybierz aplikację **Hpuv-vis**
3. Podczas wyboru hasła do aplikacji wybierz **CANCEL**
4. Dalej postępuj zgodnie z poniższym schematem blokowym:



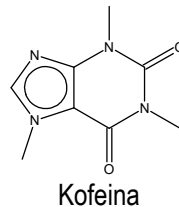
Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

Eksperyment 1

Odczynniki i aparatura

- Kofeina (roztwór wodny 5 mg/dm³)
- Barwnik spożywczy (roztwór wodny 8 mg/dm³)
- Woda demineralizowana

- Pipeta precyzyjna 0,5 ml
- Pipety Pasteura 3 ml (min. 3 szt.)
- Kuweta kwarcowa 10 mm
- Spektrofotometr diodowy



Wstęp

I. Czym jest widmo UV-Vis?

Widmo jest graficzną reprezentacją ilości światła pochłoniętego lub transmitowanego przez materię w funkcji długości fali.

Spektrofotometr UV-Vis mierzy absorbancję lub przepuszczalność (transmitancję) światła w zakresie światła UV, na który oko ludzkie nie jest wrażliwe oraz w zakresie długości fal widzialnych (Vis), na który z kolei oko ludzkie wrażliwość wykazuje.

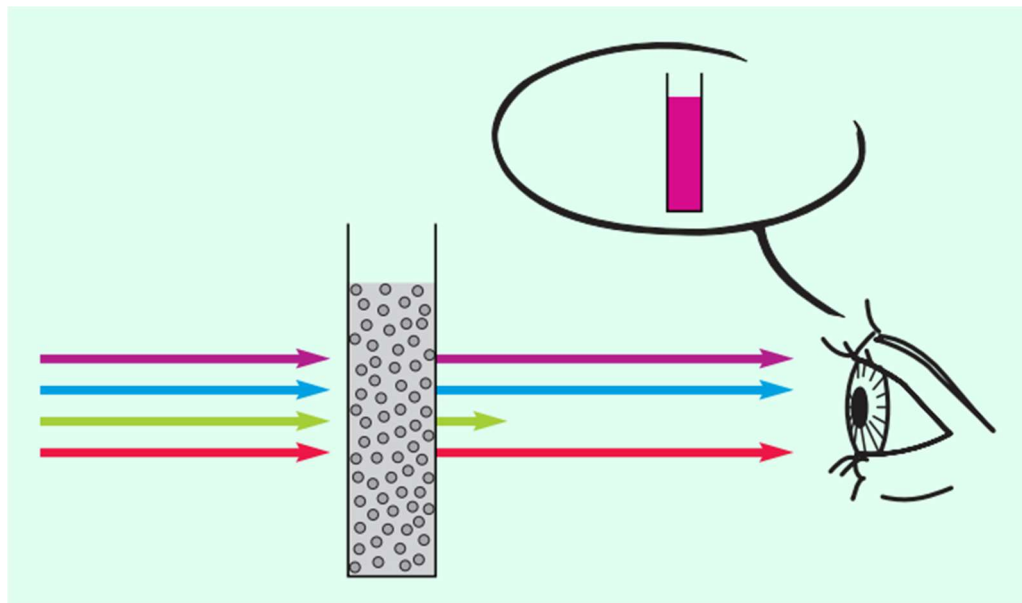
Kolor materii jest funkcją jej zdolności do pochłaniania i emitowania światła. Emisja światła może być spowodowana odbiciem powierzchniowym nieprzezroczystych próbek lub transmisją światła źródłowego przez próbki.

Sama materia może być również aktywnym źródłem światła, podobnie jak gazy w lampach. W temperaturze pokojowej materia zwykle odbija lub przepuszcza światło.

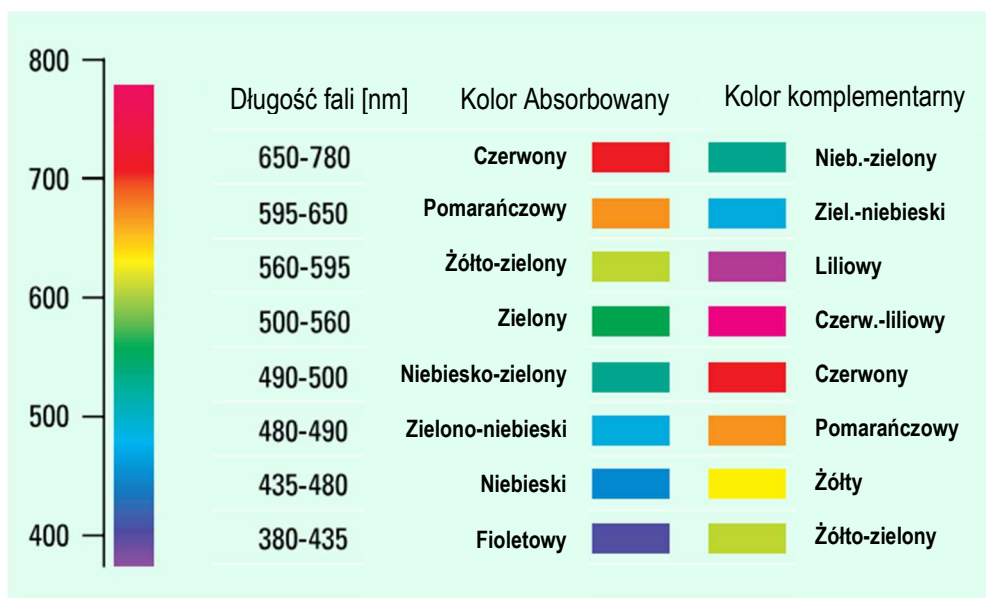
Kolor w potocznym znaczeniu odnosi się do światła dziennego jako „oświetlacza”. Ludzkie oko jest w stanie rozróżnić do 10 milionów różnych kolorów. Jest w stanie wykryć światło w zakresie od około 380 do 780 nm, czyli tzw. widzialną część widma elektromagnetycznego.

Ze względu na częściową absorpcję wybranych długości fal przezroczyste roztwory próbek mogą dawać wrażenie koloru. I tak, na przykład to, co ludzki obserwator widzi jako żółtą próbkę, to w istocie światło dzienne zredukowane o światło pochłonięte przez próbkę (patrz rysunek 8). Stąd, barwa próbki nazywana kolorem uzupełniającym (komplementarnym) w stosunku do koloru światła pochłanianego przez próbkę (patrz rysunek 9) w rzeczywistości jest mieszaniną fal o różnych częstotliwościach pozbawioną częstotliwości pochłanianej przez próbkę.

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I



Rysunek 8. Przepuszczalność a kolor [2]



Rysunek 9. Absorbcja i kolory uzupełniające [2]

W poniższym doświadczeniu mierzone będą widma dwóch związków, kolorowego i bezbarwnego. Celem eksperymentu jest wykazanie, że w wielu przypadkach bezbarwne dla oka ludzkiego związki wykazują absorbcję w zakresie światła ultrafioletowego (UV).

Wykonanie eksperymentu

1. Do kuwety o drodze optycznej równej 10 mm wprowadzić około 1 ml wody demineralizowanej. Wykonać pomiar tła (Blank (F4)).

Analiza Instrumentalna

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

- Do tej samej kuwety wprowadzić ok. 1 ml badanego roztworu barwnika spożywczego. Zarejestrować widmo (F5) w zakresie promieniowania 200 do 800 nm.
- Czynności z punktu 2. wykonać dla roztworu kofeiny.
- Pracować w trybie nakładania widm.

Opracowanie wyników

- Do poniższej tabeli wprowadzić długości fal głównych maksimów absorpcji kofeiny i barwnika spożywczego.

Tabela 1. Zmierzone długości fal i wartości absorpcji maksimów absorpcji

Związek	Absorbancja [AU]	λ_1 [nm]	λ_2 [nm]	λ_3 [nm]
Kofeina				
Barwnik spożywczy				

- Jeśli kolor światła i długość fali są powiązane w następujący sposób, jakie kolory światła absorbują kofeina i barwnik spożywczy?

Kolor	Zakres długości fali [nm]
fiolet	380-435
niebieski	435-480
zielony	480-560
żółty	560-595
pomarańczowy	595-650
czerwony	650-780

- Wyjaśnij związek między kolorem światła pochłanianego przez materię a kolorem światła, które możesz zaobserwować, patrząc na nią.

Związek	Kolor próbki	Absorbowany kolor światła
Kofeina		
Barwnik spożywczy		

Kofeina **absorbuje/nie absorbuje*** światło(a) w zakresie widzialnym i dlatego **nie ma koloru/jest barwna**. Barwnik spożywczy **nie pochłania/pochłania** światła(o) w zakresie widzialnym, dzięki czemu jest **barwny/bezbarwny**. Maksymalna absorbancja barwnika spożywczego występuje przy długości fali nm, więc kolor, który absorbuje, jestco opowiada częstotliwości promieniowaniaHz.

*Niepotrzebne wykreśl

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

UWAGA: Zwykle widzimy materię w świetle słonecznym lub podobnym, które jest zasadniczo światłem "białym" – mieszaniną wszystkich długości fal.

4. Poniższe równanie pokazuje zależność pomiędzy absorbancją a transmitancją:

$$A = 2 - \log T [\%]$$

Oblicz wartości transmitancji przy głównym maksimum absorpcji każdej próbki i wprowadź wartości w poniższej tabeli.

Tabela 2. Obliczone wartości transmitancji dla maksimum absorpcji

Związek	λ_{max} [nm]	Absorbancja [AU]	Transmitancja [% T]
Kofeina			
Barwnik spożywczy			

Absorbancja wynosi 1, gdy próbka pochłania % światła padającego.

5. Który związek pochłania światło o wyższej energii (foton)? Użyj poniższych równań, aby obliczyć energię światła w dżulach, która jest pochłaniana w maksimach absorpcji obu związków.

$$E = h \cdot \nu$$

$$c = \lambda \cdot \nu$$

gdzie:

E - energia [J]

h - stała Plancka ($6,62 \times 10^{-34}$ Js)

c - prędkość światła (3×10^8 m/s)

ν - częstość [1/s]

λ - długość fali [m]

Tabela 3. Zmierzone długości fal i wartości absorbancji dla maksimum absorpcji

Związek	λ_{max} [nm]	Energia [J]
Kofeina		
Barwnik spożywczy		

Kofeina pochłania światło o **wyższej/nizszej*** energii niż barwnik spożywczy. Im **nizsza/wyższa** długość fali, tym **wyższa** energia fotonu.

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

Eksperyment 2

Odczynniki i aparatura

- Aceton
- Acetaldehyd
- 2-propanol
- Woda demineralizowana

- Kolby miarowe (20 ml) 3 szt.
- Pipeta Pasteura (3 ml) min. 3 szt.
- Pipeta wielomiarowa 0,5 ml
- Kuweta kwarcowa 10 mm
- Spektrofotometr diodowy

Wstęp

II. Chromofory

Chromofory to fragmenty cząsteczki, które w widmie elektronowym wykazują pasma wskazujące na różnice energii pomiędzy poziomem stacjonarnym i wzbudzonym cząsteczki porównywalne z energiami światła UV-Vis, które jest przez nie absorbowane.

Na ogół są to ugrupowania, które zawierają wiązania π . Wśród chromoforów wymienić można na przykład: dieny, nityle, grupy karbonylowe lub karboksylowe,

Inne rodzaje chromoforów to kompleksy metali przejściowych i ich jony.

Cząsteczki bez chromoforów, takie jak woda, alkany lub alkohole, powinny być zatem idealnymi rozpuszczalnikami do zastosowania w spektroskopii UV-Vis, ponieważ prawie nie wykazują absorpcji w tym zakresie widma.

Poniższy eksperyment pokazuje, że niewielkie zmiany w strukturze cząsteczek mogą prowadzić do znacznych różnic w widmach absorpcji.

Wykonanie ćwiczenia

1. Przygotować następujące roztwory:
 - a. Do kolby miarowej o pojemności 25 ml wprowadzić 100 mcl acetonu, uzupełnić wodą demineralizowaną do kreski.
 - b. Do kolby miarowej o pojemności 25 ml wprowadzić 200 mcl acetaldehydu, uzupełnić wodą demineralizowaną do kreski.
 - c. Do kolby miarowej o pojemności 25 ml wprowadzić 100 mcl 2-propanolu, uzupełnić wodą demineralizowaną do kreski.
 2. Do kuwety wprowadzić ok. 1 ml wody demineralizowanej. Wykonaj pomiar referencyjny – pomiar tła (F4).
-

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

3. Do kuwety wprowadzić kolejno ok. 1 ml przygotowanego wcześniej roztworu acetonu, acetaldehydu, 2 - propanolu. Zarejestruj widma (F5) w zakresie promieniowania 200 do 350 nm.
4. Pracować w trybie nakładania widm.

Opracowanie wyników

1. Uzupelnic poniższą tabelę długościami fal absorpcji i odpowiadającymi im wartościami maksimum absorpcji każdego związku.

Tabela 4. Zmierzone długości fal i wartości absorpcji maksimum absorpcji

Związek	Wzór strukturalny	λ_{max} [nm]	Absorbancja [AU]
Aceton			
Acetaldehyd			
2-Propanol			

2. Omów różnice w widmach UV tych związków, biorąc pod uwagę ich wzory strukturalne?

Widoczne w zarejestrowanym widmie UV-Vis pasma absorpcji aldehydu octowego i acetonu są spowodowane obecnością chromoforu(wpisz wzór strukturalny chromoforu). Należy zauważyć, że położenie i intensywność pasm absorpcji są podobne. Jeżeli którykolwiek z tych rozpuszczalników musi być użyty do sporządzania roztworów próbek do pomiarów w zakresie promieniowania UV-Vis, absorbancja samego rozpuszczalnika będzie miała wpływ na dane w zakresie od do nm.

3. Który z tych rozpuszczalników byłby najlepszy jako rozpuszczalnik do analiz w zakresie promieniowania UV-Vis?

W cząsteczce 2-propanolu **nie ma/występuje** chromofor(u) dlatego nie wykazuje on znaczącego pasma absorpcji w zakresie promieniowania UV-Vis. Jest to prawie idealny rozpuszczalnik do badań w zakresie promieniowania UV-Vis.

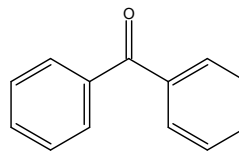
Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

Eksperyment 3

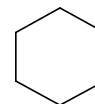
Odczynniki i aparatura

- Benzofenon
- Benzofenon w etanolu 25 mg/25 ml
- Benzofenon w cykloheksanie 25 mg/25 ml
- Benzofenon w n-heksanie 25 mg/25 ml
- Benzofenon w acetonitrylu 25 mg/25 ml
- Benzofenon w chlorku metylenu 25 mg/25 ml
- Etanol ((CH_3CH_2OH))
- Cykloheksan
- n-Heksan ($CH_3(CH_2)_4CH_3$)
- Acetonitryl (CH_3CN)
- Chlorek metylenu (CH_2Cl_2)

- Kolby miarowe (100 ml) 5 szt.
- Pipeta Pasteura (3 ml) min. 15 szt.
- Pipeta 1 ml
- Kuweta kwarcowa 10 mm
- Spektrofotometr diodowy



Benzofenon



Cykloheksan

Wstęp

III. Wpływ rozpuszczalnika na widma UV-Vis

Jak już wiemy chromofory powodują powstawanie "charakterystycznych" pasm absorpcji. Zmiany w ich otoczeniu (zarówno wewnątrz jak zewnątrz cząsteczkowe) powodują zmiany w ich poziomach energii w stanie podstawowym, które z kolei wpływają na długość fali i intensywność absorpcji.

Poniższy eksperyment pokazuje, że czynniki zewnętrzne, w tym przypadku zastosowany rozpuszczalnik wpływają na energię chromoforu. Ponieważ użyta substancja (benzofenon) wykazuje zarówno silne, jak i słabe pasma absorpcji przy różnych długościach fal, zbadane zostaną dwa różne stężenia próbki.

Wykonanie ćwiczenia

1. W kolbach miarowych o pojemności 25 ml przygotowano pięć roztworów benzofenonu o stężeniu 25 mg/25 ml (1mg/ml) we wskazanych rozpuszczalnikach.
 2. Przygotuj przez 100. krotne rozcieńczenie roztworów wyjściowych rozcieńczone roztwory benzofenonu dla każdego rozpuszczalnika o zawartości 10 mcg/ml benzofenonu (w kolbach o pojemności 10 ml)
 3. Pomiar spektrofotometryczny dla każdego roztworu wykonaj w następujących krokach:
 - a. Pomiar referencyjny (odniesienia) – pomiar tła. Wprowadzić do kuwety ok 1 ml odpowiedniego rozpuszczalnika. Wykonać pomiar referencyjny (F4).
-

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

- b. Zmierzyć widma absorpcji roztworów podstawowych benzofenonu (1 mg/ml) w zakresie promieniowania 300 do 400 nm (F5). Dokonaj interpretacji zjawisk zachodzących w widmach (Tabela 5).
- c. Zmierzyć widma absorpcji rozcieńczonych roztworów benzofenonu (10 mcg/ml) w zakresie promieniowania 225 do 300 nm (F5). Dokonaj interpretacji zjawisk zachodzących w widmach (Tabela 5).

Opracowanie wyników

- 1. Wprowadzić długości fal maksimum absorpcji benzofenonu dla różnych rozpuszczalników do poniższej tabeli.
- 2. Miarą polarności rozpuszczalnika jest jego stała dielektryczna. Sprawdź stałe dielektryczne użytych rozpuszczalników i wprowadź je do poniższej tabeli.

Tabela 5. Zmierzone długości fal i wartości absorbcji maksimum absorpcji

Rozpuszczalnik	λ_{max} , pasmo 1 [nm], (roztwory stężone)	λ_{max} , pasmo 2 [nm] (roztwory rozcieńczone)	Stała dielektryczna
n-Heksan			
Cykloheksan			
Etanol			
Acetonitryl			
Chlorek metylenu			

- 3. Czy istnieje związek między polarnością rozpuszczalnika, a długością fali dla jego maksymalnej absorpcji?

Istnieje/brak jest* wyraźna(ej) zależność(ci) między długościami fal maksimum absorpcji a polarnością zastosowanego rozpuszczalnika.

Wskaż obserwowane kierunki zmian:

Przesunięcia pasma w kierunku fal dłuższych nazywane jest przesunięciem bathochromowym. Przesunięcia do niższych długości fal nazywane są przesunięciami hipsokromowymi.

- 4. Czy można zaobserwować jakąkolwiek zmianę postaci pasm absorpcji w zakresie długości fali od 300 do 400 nm towarzyszącą zmianom polarności rozpuszczalnika?

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

Pasma w zakresie od 300 do 400 nm pokazują, że rozpuszczalniki **niepolarne/polarne***, takie jak alkany, pozwalają na zachowanie struktur **dyskretnych** w widmach wielu związków. **Polarne/Niepolarne** rozpuszczalniki, takie jak woda i alkohole, uwidaczniają tylko **szerokie** i pozbawione cech dyskretnych pasma.

5. Czy ważne jest użycie tego samego rozpuszczalnika, aby uzyskać spójne wyniki, na przykład między pomiarami wykonanymi w różnych laboratoriach?

Do wszystkich pomiarów analiz porównawczych **należy/nie trzeba** stosować **ten/tego sam(ego)** rozpuszczalnik(a).

Ćwiczenia laboratoryjne: Spektroskopia UV-Vis I

Materiały powstały na podstawie:

1. „Fundamentals of UV-visible Spectroscopy”, Workbook, Agilent Technologies, 2000
2. „Fundamentals of UV-visible Spectroscopy”, Primer, Tony Owen, Agilent Technologies, 2000
3. „The Basics of UV-Vis Spectrophotometry”, Agilent Technologies, 2021