

ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι φασματοσκοπικές μέθοδοι βασίζονται στην ικανότητα διαφόρων ουσιών να αλληλεπιδρούν με ακτινοβολίες χαρακτηριστικών συχνοτήτων. Μετρίεται η απορρόφηση ή η διαπερατότητα του δείγματος και βάσει αυτών γίνεται ποιοτική και ποσοτική ανάλυση.

Οι φασματοσκοπικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται συχνά και ευρέως στη ποσοτική ανάλυση και αυτό οφείλεται στα πολλαπλά πλεονεκτήματα αυτών, όπως η μεγάλη ευαισθησία και εκλεκτικότητα, η ταχύτητα, η απλότητα, η εύκολη αυτοματοποίηση, η δυνατότητα μη καταστροφής του δείγματος, κ.ά.

2. ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

Το φως είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που διαδίδεται στο κενό με ταχύτητα

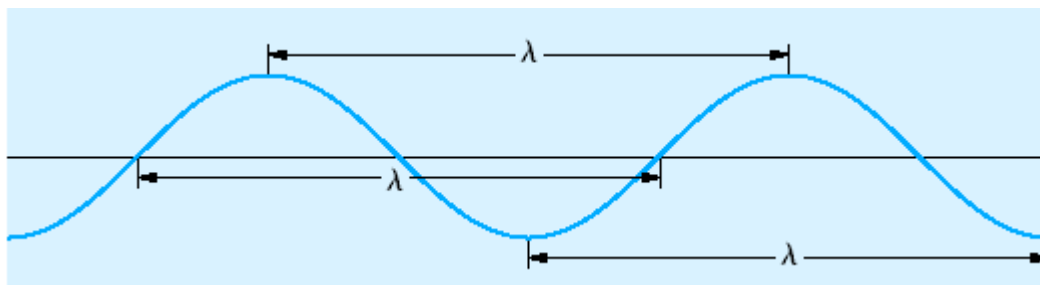
$$c = 3 \cdot 10^{10} \text{ cm / s}$$

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι μια μορφή ενέργειας με κυματικές και σωματιδιακές ιδιότητες. Ο σωματιδιακός χαρακτήρας της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (φωτόνια) είναι απαραίτητος για την κατανόηση της αλληλεπίδρασης αυτής με την ύλη.

Η ακτινοβολία χαρακτηρίζεται από την συχνότητα ν και από το μήκος κύματος λ . Η συχνότητα ν μιας ακτινοβολίας και το μήκος κύματος λ αυτής συνδέονται με τη σχέση

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

Το μήκος κύματος μιας ακτινοβολίας ορίζεται ως η απόσταση μεταξύ δύο κορυφών ή κοιλιών του κύματος κατά την διεύθυνση της μετάδοσης του κύματος, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.



Σχήμα 1. μήκος κύματος

Για τον χαρακτηρισμό μιας ακτινοβολίας προτιμάται το μήκος κύματος αυτής αν και η συχνότητα είναι περισσότερο θεμελιώδης έννοια. Η συχνότητα είναι σταθερή και ανεξάρτητη από το μέσο που διαδίδεται η ακτινοβολία, ενώ το μήκος

κύματος εξαρτάται από το μέσο (μεταβάλλεται ανάλογα με την ταχύτητα του φωτός μέσα στο μέσο).

Η ενέργεια ενός φωτονίου δίνεται από την σχέση

$$E = h \cdot \nu = c \cdot h/\lambda$$

όπου

E: ενέργεια

h :σταθερά Planck

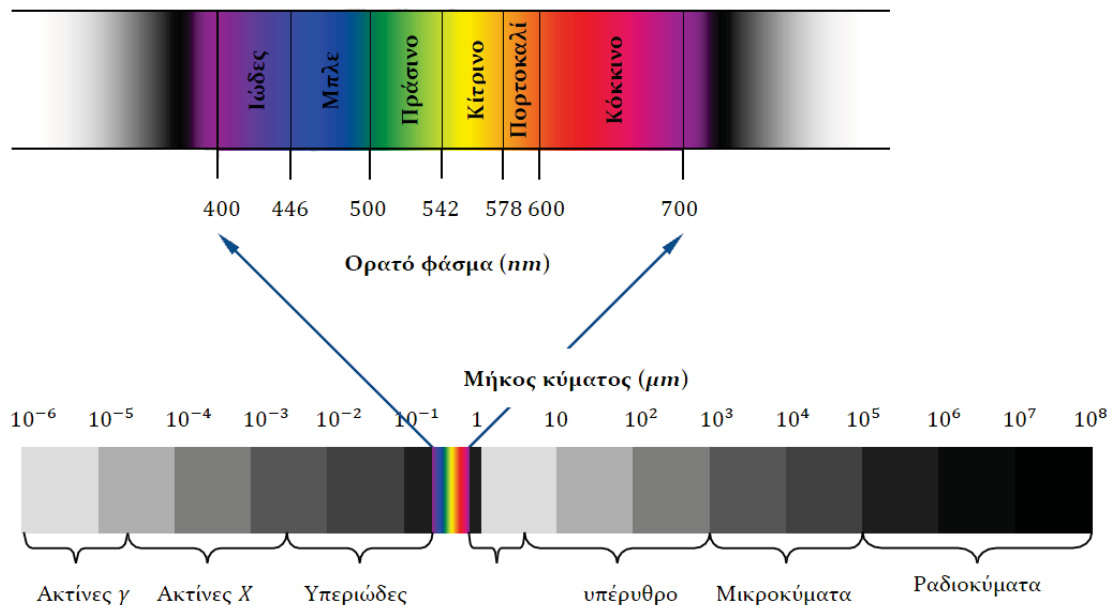
ν :συχνότητα

c :ταχύτητα φωτός

λ :μήκος κύματος

Όσο μικρότερο είναι το μήκος κύματος μιας ακτινοβολίας τόσο μεγαλύτερη ενέργεια έχει. Έτσι οι υπεριώδεις ακτίνες έχουν μεγαλύτερη ενέργεια από τις ορατές και αυτές από τις υπέρυθρες.

Ανάλογα με το μήκος κύματος διακρίνομε διάφορες περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος του φωτός, υπέρυθρο (infrared, IR), ορατό (visible, VIS), υπεριώδες (ultraviolet, UV) κ.ά., όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.



Σχήμα 2. Ηλεκτρομαγνητικά κύματα

Ο ανθρώπινος οφθαλμός αποκρίνεται σε μια μικρή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που ονομάζεται ορατό φάσμα. Το ορατό φως είναι μίγμα ακτινοβολιών με διάφορα μήκη κύματος που κυμαίνονται από 400 - 700 nm όπως φαίνεται στο Σχ. 2.

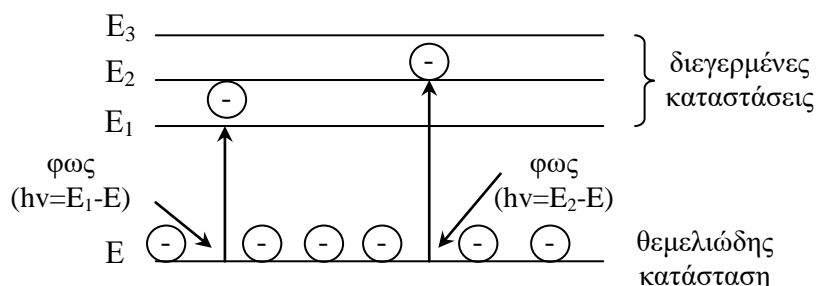
Η αντιστοιχία χρώματος και μήκους κύματος στην ορατή περιοχή φαίνεται στον Πίνακα 1. Στον ίδιο πίνακα φαίνονται τα συμπληρωματικά χρώματα. Ένα χρώμα και το συμπληρωματικό του είναι ένα ζεύγος οποιονδήποτε δύο χρωμάτων του φάσματος τα οποία όταν αναμιχθούν παράγουν λευκό φως.

Πίνακας 1. Χρώματα και συμπληρωματικά χρώματα

Μήκος κύματος (nm)	Χρώμα	Συμπληρωματικό χρώμα
400 – 435	Ιώδες	Κίτρινο πράσινο
435 – 480	Μπλε	Κίτρινο
480 – 490	Πράσινο μπλε	Πορτοκαλί
490 – 500	Μπλε πράσινο	Κόκκινο
500 – 560	Πράσινο	Κόκκινο ιώδες
560 – 580	Κίτρινο πράσινο	Ιώδες
595 – 610	Πορτοκαλί	Πράσινο μπλε
610 – 680	Κόκκινο	Μπλε πράσινο
680 – 700	Κόκκινο ιώδες	Πράσινο

2. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ - ΥΛΗΣ

Όταν φως προσπίπτει σε μια ουσία, ένα μέρος της ακτινοβολίας απορροφάται από την ουσία εκλεκτικά. Κάθε ουσία έχει τις δικές της ενεργειακές στάθμες ανάλογα με την μοριακή της δομή όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.



Σχήμα 3. Ενεργειακά επίπεδα των μορίων

Κατά την δίοδο πολυχρωματικής ακτινοβολίας από ένα διάλυμα μιας ουσίας γίνεται εκλεκτική απορρόφηση μέρους αυτής, δηλ. απορροφούνται μόνο οι ακτινοβολίες των οποίων τα φωτόνια έχουν ενέργεια ίση με την ενέργεια που απαιτείται για να μεταβεί η ουσία από μία ενεργειακή στάθμη σε μια άλλη υψηλότερης ενέργειας.

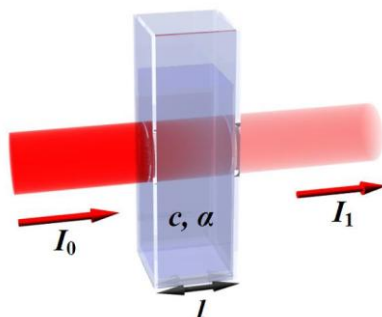
Η απορρόφηση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας προκαλεί μεταπτώσεις ηλεκτρονίων εξωτερικών στιβάδων. Επειδή υπάρχουν πολλές ενεργειακές στάθμες που διαφέρουν λίγο μεταξύ τους, γίνονται πολλές μεταπτώσεις και το φάσμα απορρόφησης στο ορατό ή το υπεριώδες που οφείλεται στη διέγερση των μορίων είναι ταινιωτό και όχι γραμμικό.

Η απορρόφηση ακτινοβολίας στο υπέρυθρο προκαλεί διεγέρσεις δονήσεως και περιστροφής των μορίων. Τα φάσματα υπέρυθρου χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της δομής και την ταυτοποίηση των οργανικών ενώσεων.

Κατά την αποδιέγερση των μορίων η απορροφηθείσα ενέργεια εκλύεται συνήθως σαν θερμότητα, μερικές φορές όμως και υπό μορφή ακτινοβολίας φθορισμού ή φωσφορισμού.

3. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ – ΝΟΜΟΣ LAMBERT-BEER

Όταν μονοχρωματική ακτινοβολία περάσει μέσα από διάλυμα που περιέχει ουσία που απορροφά, τότε η ένταση της ακτινοβολίας ελαττώνεται σταδιακά κατά μήκος της διαδρομής, λόγω απορρόφησης αυτής από την ουσία. (Σχήμα 4)



Σχήμα 4. Νόμος Lambert – Beer

Η μείωση της έντασης εξαρτάται από την συγκέντρωση της ουσίας και από την απόσταση που διανύει η ακτινοβολία μέσα στο διάλυμα. Ισχύει ο νόμος των Lambert – Beer

$$I = I_0 \cdot 10^{-\alpha lc} = I_0 \cdot 10^{-\epsilon lc} \quad (1)$$

όπου

I : ένταση εξερχόμενης ακτινοβολίας

I_0 : ένταση προσπίπτουσας ακτινοβολίας

α : σταθερά αναλογίας, όταν η συγκέντρωση c του διαλύματος εκφράζεται σε g/L, ονομαζόμενη απορροφητικότητα

l : μήκος διαδρομής (εσωτερικό πάχος κυψελίδας σε cm)

c : συγκέντρωση της απορροφούσης ουσίας

ϵ : σταθερά αναλογίας, όταν η συγκέντρωση c του διαλύματος εκφράζεται σε moles/L, ονομαζόμενη μοριακή απορροφητικότητα ($\epsilon = \alpha \cdot M_r$, όπου M_r η μοριακή μάζα της ουσίας)

Η διαπερατότητα (Transmittance) T , ορίζεται από την σχέση

$$T = I/I_0 \quad (2)$$

Ο δεκαδικός λογάριθμος του λόγου I_0/I ονομάζεται απορρόφηση (Absorbance) A και ορίζεται από την σχέση

$$A = \log (I_0/I) = \log 1/T = \log 10^{-\epsilon lc} = \epsilon lc \quad (3)$$

Η σταθερά αναλογίας α ή ϵ εξαρτάται από το μήκος κύματος, τον διαλύτη, την μοριακή δομή της απορροφούσης ουσίας και σε μικρό βαθμό από την θερμοκρασία. Αποτελεί μια ιδιότητα της ουσίας σε αντίθεση με την απορρόφηση A που είναι ιδιότητα του διαλύματος και μεταβάλλεται από την συγκέντρωση και τις διαστάσεις της κυψελίδας.

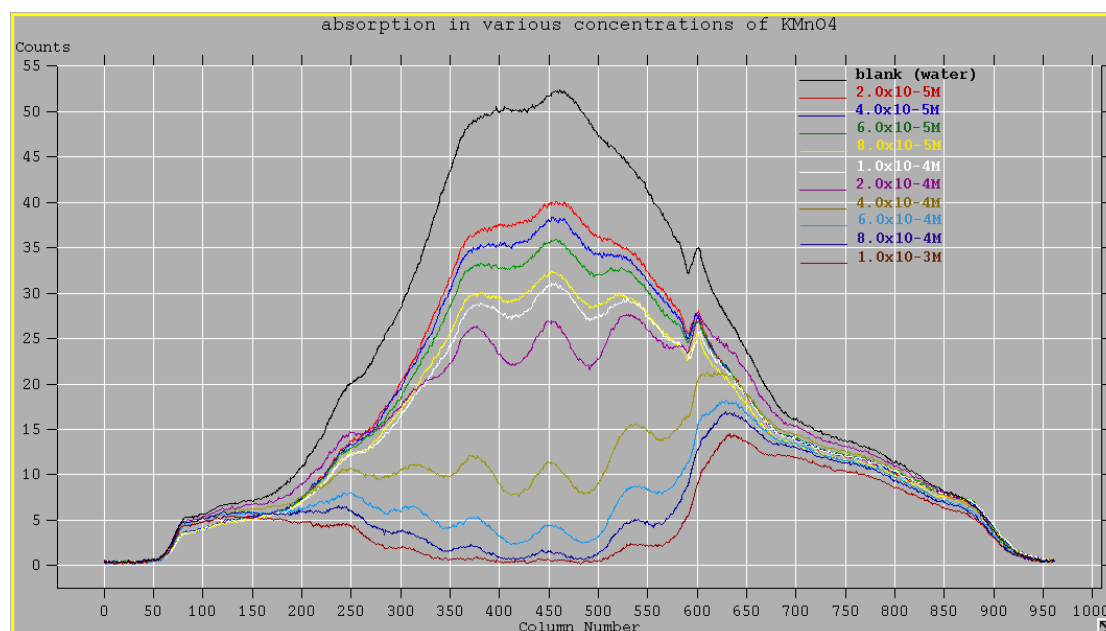
Η διαπερατότητα εκφράζεται συνήθως % (T %) και παίρνει τιμές από 100 έως 0 ενώ η απορρόφηση A παίρνει τιμές αντίστοιχα από 0 έως ∞. Στη πράξη σπάνια χρησιμοποιούνται απορροφήσεις μεγαλύτερες από 2.

4. ΦΑΣΜΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ – ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Το φάσμα απορρόφησης μιας ουσίας λαμβάνεται εάν μετρηθούν οι απορροφήσεις ενός διαλύματος της ουσίας, όταν από το διάλυμα αυτό περάσουν διάφορες μονοχρωματικές ακτινοβολίες με μήκη κύματος σε συγκεκριμένη περιοχή του φάσματος του φωτός (ορατό, υπεριώδες, υπέρυθρο).

Η γραφική παράσταση της απορρόφησης A ή της διαπερατότητας T συναρτήσει του μήκους κύματος λ της ακτινοβολίας ονομάζεται φάσμα απορρόφησης της ουσίας.

Το φάσμα απορρόφησης υδατικού διαλύματος KMnO_4 απεικονίζεται στο Σχήμα 5. Δίνονται τα φάσματα απορρόφησης δέκα διαλυμάτων KMnO_4 διαφορετικής συγκέντρωσης.



Σχήμα 5. Φάσμα απορρόφησης KMnO_4

Από σχήμα φαίνεται ότι η ιδανικότερη περιοχή συγκεντρώσεων είναι από $6.0 \times 10^{-5} \text{M}$ έως $6.0 \times 10^{-4} \text{M}$, γιατί γι' αυτές τις συγκεντρώσεις σχηματίζονται σαφείς περιοχές απορρόφησης. Επίσης φαίνεται ότι ανεξάρτητα από την συγκέντρωση η μεγαλύτερη απορρόφηση εμφανίζεται σε μήκος κύματος 525 nm (λ_{max}).

Το φάσμα απορρόφησης μιας ουσίας είναι χαρακτηριστικό αυτής. Τα φάσματα απορρόφησης (κυρίως στην υπέρυθη περιοχή) χρησιμοποιούνται στην ποιοτική ανάλυση για τον προσδιορισμό της δομής μιας ουσίας, την ύπαρξη χαρακτηριστικών ομάδων, την ταυτοποίηση μιας ουσίας (συγκρίνεται το φάσμα απορρόφησης μιας αγνώστου ουσίας με τα φάσματα απορρόφησης γνωστών ουσιών που έχουν ληφθεί κάτω από τις ίδιες συνθήκες) κ.ά. Επίσης από το φάσμα απορρόφησης μιας ουσίας βρίσκεται το μήκος κύματος στο οποίο παρατηρείται η

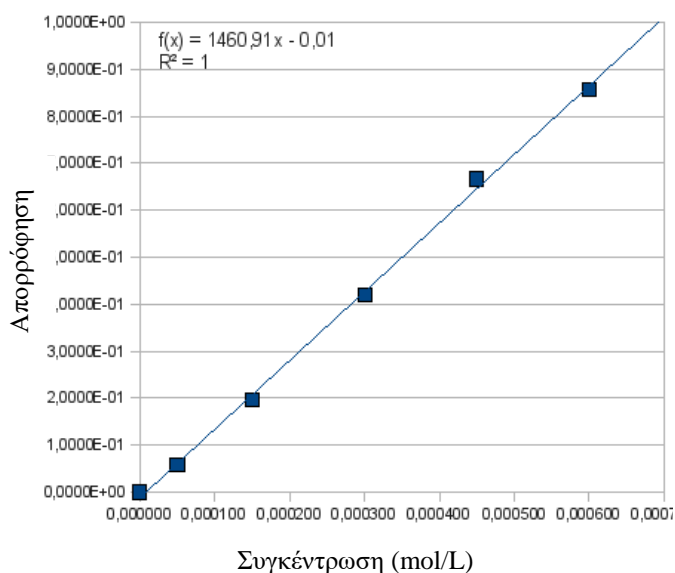
μεγαλύτερη απορρόφηση (λ_{\max}) και αυτό χρησιμοποιείται στη ποσοτική ανάλυση της ουσίας.

5. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ – ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Από την σχέση $A = \epsilon lc$ φαίνεται ότι η συγκέντρωση c της απορροφούσης ουσίας είναι ευθέως ανάλογη της απορρόφησης A . Η γραφική παράσταση της απορρόφησης συναρτήσει της συγκέντρωσης δίνει ευθεία γραμμή που περνά από την αρχή των αξόνων και έχει κλίση ίση με ϵl . Η ευθεία αυτή λέγεται **καμπύλη αναφοράς**.

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα της ουσίας και μετράται η απορρόφηση αυτών σε ορισμένο μήκος κύματος (λ_{\max})

Αν χρησιμοποιηθούν τα δεδομένα του Σχήματος 5, η καμπύλη αναφοράς που αντιστοιχεί στις απορροφήσεις των προτύπων διαλυμάτων KMnO_4 σε μήκος κύματος 525 nm (λ_{\max}) φαίνεται στο Σχήμα 6.

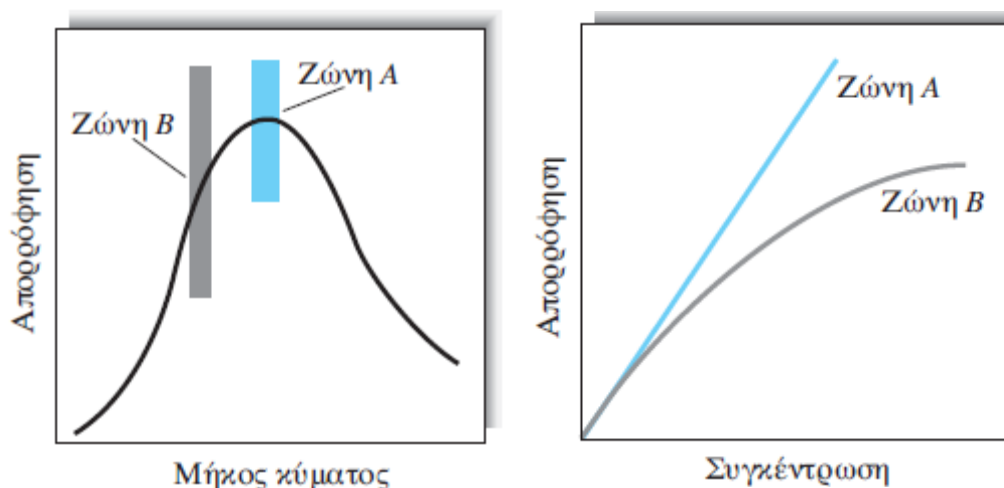


Σχήμα 6. Καμπύλη αναφοράς KMnO_4

Εάν η καμπύλη αναφοράς του KMnO_4 κατασκευαστεί σε μήκος κύματος όπου η απορρόφηση είναι μικρότερη π.χ. στα 565 nm, παρατηρούμε ότι η κλίση της καμπύλης είναι μικρότερη σε σχέση με την κλίση της καμπύλης αναφοράς στα 525 nm. Αυτό σημαίνει ότι η ευαισθησία της ανάλυσης ελαττώνεται (ελαττώνεται δηλ. η ελάχιστη συγκέντρωση της ουσίας που μπορεί να μετρηθεί με ανεκτή ακρίβεια)

Για να έχουμε μεγαλύτερη ευαισθησία πρέπει η κλίση της καμπύλης αναφοράς να είναι όσο το δυνατόν μεγαλύτερη. Αυτό επιτυγχάνεται με μέτρηση της απορρόφησης στο λ_{\max} .

Η γραμμική σχέση μεταξύ απορρόφησης και συγκέντρωσης δεν ισχύει σε υψηλές συγκεντρώσεις όπου έχουμε και υψηλές απορροφήσεις. Η καμπύλη αναφοράς δεν είναι ευθεία γραμμή αλλά παρουσιάζει αρνητική απόκλιση στις υψηλές συγκεντρώσεις, όπως φαίνεται στο Σχήμα 7.



Σχήμα 7. Επίδραση της πολυχρωματικότητας της ακτινοβολίας στον νόμο του Beer. Με μετρήσεις στη ζώνη Α οι αποκλίσεις είναι μικρές, επειδή το ϵ δεν μεταβάλλεται σημαντικά σε όλο το εύρος της ζώνης. Με μετρήσεις στη ζώνη Β οι αποκλίσεις είναι εντονότερες, επειδή το ϵ μεταβάλλεται σημαντικά στην περιοχή της.

Η ποσοτική ανάλυση δηλ. ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης ενός αγνώστου δείγματος γίνεται με την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα της ουσίας. Το μήκος κύματος με την μέγιστη απορρόφηση (λ_{\max}) πρέπει να χρησιμοποιηθεί. Μετά μετράται η απορρόφηση του αγνώστου δείγματος και προσδιορίζεται η συγκέντρωσή του από την καμπύλη αναφοράς, όπως φαίνεται στο σχήμα 6.

Αν το διάλυμα της προσδιοριζόμενης ουσίας δεν απορροφά επαρκώς στη περιοχή του φάσματος που μετράμε (υπεριώδες, ορατό, υπέρυθρο), μετατρέπουμε την ουσία σε άλλη που απορροφά με προσθήκη κατάλληλων αντιδραστηρίων.

Διάλυμα ιόντων Fe^{2+} είναι άχρωμο, άρα δεν απορροφά στην ορατή περιοχή. Αν προσθέσουμε στο διάλυμα 1,10- φαινανθρολίνη σχηματίζεται ερυθρό σύμπλοκο, γνωστό ως φερροΐνη και το διάλυμα απορροφά έντονα στην ορατή περιοχή.

6. ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ

Τα φασματοφωτόμετρα διακρίνονται σε φασματοφωτόμετρα υπεριώδους ή ορατού ή υπεριώδους-ορατού ή υπέρυθρου ,σε φασματοφωτόμετρα απλής ή διπλής δέσμης και σε φασματοφωτόμετρα άμεσου αναγνώσεως ή μηδενισμού.

Οι βασικές δομικές μονάδες ενός φασματοφωτομέτρου είναι :

- 1) σταθερή πηγή ακτινοβολίας (πηγή φωτός)
- 2) επιλογέας μήκους κύματος
- 3) κυψελίδα
- 4) ανιχνευτής ακτινοβολίας
- 5) σύστημα μέτρησης που περιλαμβάνει ενισχυτή και όργανο ανάγνωσης

Σαν πηγές φωτός για το ορατό φάσμα χρησιμοποιούνται λυχνίες βολφραμίου και για το υπεριώδες λυχνίες υδρογόνου.

Στη ποσοτική ανάλυση χρησιμοποιείται κατά κανόνα στενή περιοχή μηκών κύματος για να ισχύει ο νόμος των Lambert – Beer. Η απομόνωση της επιθυμητής

στενής περιοχής επιτυγχάνεται με φίλτρα ή μονοχρώματες (πρίσμα ή φράγμα περίθλασης).

Το υλικό κατασκευής των κυψελίδων εξαρτάται από την περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που μετράμε. Για την ορατή περιοχή χρησιμοποιούνται κυψελίδες από γυαλί, ενώ στο υπεριώδες από χαλαζία γιατί το κοινό γυαλί απορροφά έντονα την υπεριώδη ακτινοβολία. Για την υπέρυθρο περιοχή χρησιμοποιούνται κυψελίδες από αλογονίδια αλκαλίων.

Σαν ανιχνευτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν φωτοκύτταρα, φωτολυχνίες, φωτοπολλαπλασιαστές, θερμοζεύγη, βολόμετρα, κ.ά.

Ανεξάρτητα από τον τύπο του φασματοφωτόμετρου η μέτρηση της απορρόφησης είναι πάντοτε σχετική, δηλ. συγκρίνεται η απορρόφηση του δείγματος με την απορρόφηση προτύπου ή τυφλού διαλύματος.

Το τυφλό διάλυμα περιέχει όλα τα αντιδραστήρια και τον διαλύτη που χρησιμοποιήσαμε για την παρασκευή του δείγματος εκτός από την ουσία που πρόκειται να προσδιοριστεί.

Με το τυφλό ρυθμίζουμε το όργανο ώστε να δείχνει διαπερατότητα 100 % (απορρόφηση 0) και έτσι εξουδετερώνουμε σφάλματα που προέρχονται από απορρόφηση του διαλύτη και των αντιδραστηρίων, απορρόφηση της κυψελίδας, ανάκλαση μέρους της προσπίπτουσας ακτινοβολίας πάνω στη κυψελίδα, κ.ά.

Στα φασματοφωτόμετρα απλής δέσμης (Σχήμα 8) υπάρχει μία μόνο οπτική διαδρομή και αυτά βαθμονομούνται (0 % και 100 %) για κάθε μήκος κύματος.

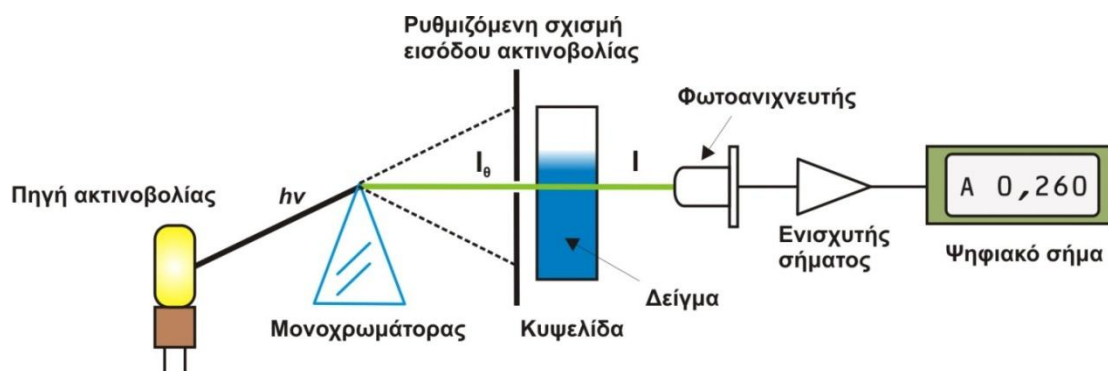
Χρησιμοποιούνται δύο κυψελίδες, μία με το τυφλό διάλυμα και μία με το δείγμα.

- Αρχικά γίνεται η ρύθμιση του 0% της διαπερατότητας με τον διακόπτη ρύθμισης του μηδενός.
- Τοποθετείται η κυψελίδα με το τυφλό και ρυθμίζεται το 100% της διαπερατότητας.
- Αντικαθίσταται η κυψελίδα με το τυφλό με την κυψελίδα με το δείγμα.
- Μετράται η απορρόφηση ή η διαπερατότητα του δείγματος.
- Κάθε φορά που αλλάζουμε μήκος κύματος πρέπει να ρυθμίζουμε το 100% της διαπερατότητας με το τυφλό.

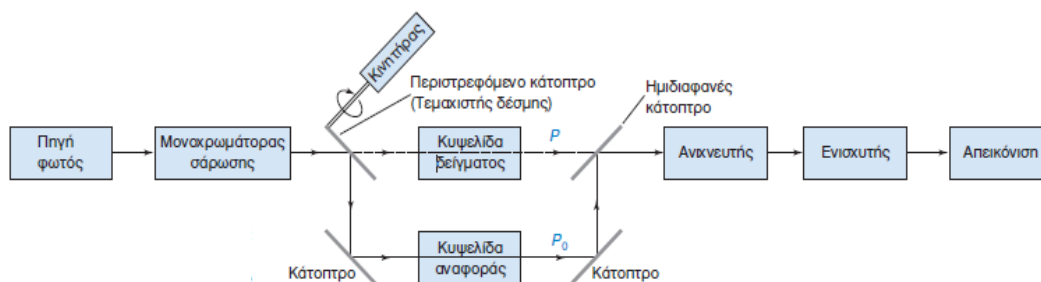
Στα φασματοφωτόμετρα διπλής δέσμης (Σχήμα 9) η ακτινοβολία μετά την διόδο από τον μονοχρωμάτορα, διχάζεται σε δύο δέσμες που περνούν μία από το τυφλό και μία από το δείγμα.

Έτσι η βαθμονόμηση του 100% της διαπερατότητας γίνεται αυτόματα από το όργανο.

Για την λήψη φασμάτων απορρόφησης χρησιμοποιούνται αποκλειστικά φασματοφωτόμετρα διπλής δέσμης.



Σχήμα 8. Φασματοφωτόμετρο απλής δέσμης



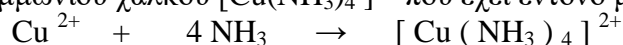
Σχήμα 9. Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ Cu

A. Αρχή μεθόδου

Διάλυμα CuSO_4 έχει ασθενές κυανούν χρώμα, το οποίο δεν είναι επαρκές για φασματοσκοπικό προσδιορισμό. Προσθήκη NH_3 στο διάλυμα δημιουργεί το σύμπλοκο του εναμμόνιου χαλκού $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ που έχει έντονο μπλε χρώμα.



B. Όργανα - Σκεύη - Αντιδραστήρια

1. Φασματοφωτόμετρο

2. Κυψελίδες

Για τον καλό χειρισμό των κυψελίδων ακολουθούνται οι παρακάτω κανόνες.

- δεν αγγίζουμε με τα χέρια το τμήμα της κυψελίδας από το οποίο περνάει η ακτινοβολία.
- η κυψελίδα πλένεται αρκετές φορές με απιονισμένο νερό και μετά με μικρές ποσότητες από το διάλυμα με το οποίο θα πληρωθεί. Ακολούθως γεμίζεται η κυψελίδα με το διάλυμα τόσο, ώστε ο μηνίσκος του διαλύματος να βρίσκεται πάνω από την δέσμη της ακτινοβολίας.
- το διάλυμα δεν πρέπει να είναι θολό, να περιέχει αιωρούμενες ουσίες ή φυσαλίδες αέρα.
- η κυψελίδα σκουπίζεται εξωτερικά με μαλακό χαρτί και τοποθετείται προσεκτικά στον υποδοχέα ώστε να μην γίνουν χαραγές στην εξωτερική επιφάνεια αυτής (οπτική επιφάνεια).
- η κυψελίδα πρέπει να τοποθετείται κάθε φορά με τον ίδιο τρόπο, ώστε η δέσμη φωτός να εισέρχεται κάθε φορά από την ίδια πλευρά της κυψελίδας.
- στα φασματοφωτόμετρα απλής δέσμης το ορθότερο είναι να χρησιμοποιηθεί η ίδια κυψελίδα και για το τυφλό και για το δείγμα. Επειδή αυτό είναι χρονοβόρο χρησιμοποιούμε δύο κυψελίδες, μία για το τυφλό και μία για το δείγμα προσέχοντας να είναι όσο το δυνατόν όμοιες. Στο εμπόριο κυκλοφορούν κυψελίδες κατά ζεύγη αλλά είναι πολύ ακριβές.

- μετά το τέλος των μετρήσεων οι κυψελίδες πλένονται με τον διαλύτη που χρησιμοποιήσαμε για την παρασκευή των δειγμάτων και μετά με απιονισμένο νερό αρκετές φορές.
- 3. Διάλυμα CuSO_4 περιεκτικότητας $3500 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{L}$
Ζυγίζονται $1,3752 \text{ g CuSO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$ και αραιώνονται στα 100 ml αφού προστεθούν $0,5 \text{ ml}$ πυκνού H_2SO_4 για την αποφυγή της υδρόλυσης.
- 4. Πυκνή NH_3
- 5. Ογκομετρικές φιάλες των 50 ml , Σιφόνια των 10 ml και 5 ml

Γ. Πείραμα 1^ο

Λήψη φάσματος απορρόφησης $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$

Παρασκευάζεται ένα πρότυπο διάλυμα Cu^{2+} περιεκτικότητας $420 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{L}$ ως ακολούθως:

Σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml προστίθενται 6 ml από το διάλυμα CuSO_4 περιεκτικότητας $3500 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{L}$, χρησιμοποιώντας αριθμημένο σιφόνι των 10 mL . Με σιφόνι των 5 ml προστίθενται 5 ml πυκνή NH_3 . Η διαδικασία αυτή γίνεται στον απαγωγό γιατί οι ατμοί NH_3 έχουν δριμεία οσμή. Αραιώνεται το διάλυμα με απιονισμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 50 ml .

Παρασκευάζεται το τυφλό διάλυμα με προσθήκη 5 ml πυκνής NH_3 σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml και αραιώση με απιονισμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 50 ml .

Ετοιμάζονται δύο όμοιες κυψελίδες, μία με το τυφλό και μία με το πρότυπο διάλυμα σύμφωνα με τις οδηγίες που αναφέρονται σε προηγούμενη παράγραφο.

Τίθεται το φασματοφωτόμετρο σε λειτουργία.

- Τοποθετείται το μήκος κύματος στα 420 nm
- Ρυθμίζεται το $0\% \text{ T}$
- Τοποθετείται η κυψελίδα με το τυφλό και ρυθμίζεται το $100\% \text{ T}$
- Απομακρύνεται η κυψελίδα με το τυφλό και τοποθετείται η κυψελίδα με το πρότυπο διάλυμα
- Μετρείται η απορρόφηση A ή η διαπερατότητα $T \%$ του προτύπου διαλύματος και αναγράφεται στον αντίστοιχο πίνακα.

Παρατήρηση: Αν το φασματοφωτόμετρο είναι απλής δέσμης αλλά διαθέτει υποδοχέα με περισσότερες από μία θέση για κυψελίδες, τοποθετούνται από την αρχή και οι δύο κυψελίδες με το τυφλό και το δείγμα και η εναλλαγή των κυψελίδων γίνεται με κατάλληλο κουμπί που έχει το φασματοφωτόμετρο.

Μετρείται η απορρόφηση (ή η διαπερατότητα $T\%$) του δείγματος στην περιοχή $420 - 780 \text{ nm}$ ανά διαστήματα 20 nm .

Στη περιοχή μεγαλύτερης απορρόφησης (ή μικρότερης διαπερατότητας) η μέτρηση γίνεται ανά 5 nm .

Προσοχή: Επισημαίνεται ότι κάθε φορά που αλλάζει το μήκος κύματος, επαναλαμβάνεται η ρύθμιση του $100\% \text{ T}$ με το τυφλό. Η ρύθμιση του $0\% \text{ T}$ δεν απαιτείται να γίνεται συνεχώς, αλλά περιοδικά μόνον ελέγχεται.

Πίνακας Ι. Τιμές διαπερατότητας και απορρόφησης σε διάφορα μήκη κύματος διαλύματος $420 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{L}$

λ (nm)	T %	$A = 2 - \log (\% T)$
420		
440		
460		
480		
.		
.		
.		

Από τις τιμές του Πίνακα Ι κατασκευάζεται το φάσμα απορρόφησης του $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, δηλ. η καμπύλη απορρόφησης συναρτήσει του μήκους κύματος, $A=f(\lambda)$.

Από την καμπύλη βρίσκεται το μήκος κύματος με την μεγαλύτερη απορρόφηση δηλ. το λ_{max} .

Έκθεση εργασίας

Στην έκθεση εργασίας θα πρέπει να αναφέρονται μεταξύ άλλων και τα εξής:

Θεωρητικό μέρος:

Να αναπτυχθούν σύντομα τα παρακάτω

- νόμος των Lambert – Beer
- απορρόφηση, διαπερατότητα
- το φάσμα απορρόφησης
- η οργανολογία φασματοφωτομέτρου

Μετρήσεις-αποτελέσματα

- πίνακας τιμών απορρόφησης ,μήκους κύματος
- χάραξη καμπύλης φάσματος απορρόφησης $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, σε χιλιοστομετρικό χαρτί
- εύρεση λ_{max} από το φάσμα απορρόφησης

Δ. Πείραμα 2^ο

Ποσοτικός προσδιορισμός Cu φασματοφωτομετρικά

Παρασκευάζονται πέντε πρότυπα διαλύματα σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα σε ογκομετρικές φιάλες των 50 mL.

Φιάλη	mL διαλύματος CuSO_4 3500 mg/L	mL πυκνής NH_3	Συγκέντρωση mg Cu^{2+}/L	Συγκέντρωση moles Cu^{2+}/L
1	2	5	140	$2,2 \cdot 10^{-3}$
2	4	5	280	$4,4 \cdot 10^{-3}$
3	6	5	420	$6,6 \cdot 10^{-3}$
4	8	5	560	$8,8 \cdot 10^{-3}$
5	10	5	700	$11 \cdot 10^{-3}$

Για την παρασκευή του πρώτου διαλύματος εργαζόμαστε ως ακολούθως.
 Σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL προστίθενται 2 mL διαλύματος CuSO_4 περιεκτικότητας 3500 mg Cu^{2+}/L , χρησιμοποιώντας αριθμημένο σιφόνι των 10 mL. Με σιφόνι των 5 ml προστίθενται 5 ml πυκνή NH_3 . Η διαδικασία αυτή γίνεται στον απαγωγό. Αραιώνεται το διάλυμα με απιονισμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 50 ml. Παρομοίως παρασκευάζονται και τα άλλα διαλύματα.

Η συγκέντρωση των διαλυμάτων βρίσκεται από τον τύπο αραιώσης των διαλυμάτων

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

Εφαρμογή του τύπου για το πρώτο διάλυμα

$$3500 (\text{mg Cu}^{2+} / \text{L}) \cdot 2 (\text{ mL}) = C_2 \cdot 50 (\text{ mL}) \leftrightarrow C_2 = 140 (\text{mg Cu}^{2+} / \text{L})$$

- Παρασκευάζεται το τυφλό όπως στο πείραμα 1.
- Τίθεται σε λειτουργία το φασματοφωτόμετρο
- Τοποθετείται το μήκος κύματος λ_{max} που βρέθηκε στο 1^ο πείραμα.
- Ρυθμίζεται το 0% T και με το τυφλό το 100% T
- Γεμίζεται η δεύτερη κυψελίδα με το πρότυπο διάλυμα μικρότερης συγκέντρωσης και τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο.
- Μετρείται η απορρόφηση (ή η διαπερατότητα) αυτού και αναγράφεται η τιμή στον αντίστοιχο Πίνακα II.
- Συνεχίζονται οι μετρήσεις με τα άλλα πρότυπα διαλύματα από το αραιότερο προς το πυκνότερο χρησιμοποιώντας την ίδια κυψελίδα. Κάθε φορά ξεπλένεται η κυψελίδα με το διάλυμα που πρόκειται να μετρηθεί.

Επειδή δεν αλλάζεται το μήκος κύματος δεν είναι απαραίτητη η ρύθμιση του 100%T κάθε φορά. Περιοδικά ελέγχεται το 0% T και το 100% T

Τέλος μετρείται η απορρόφηση (ή η διαπερατότητα) του αγνώστου διαλύματος και αναγράφεται η τιμή στον αντίστοιχο πίνακα II

Πίνακας II. Τιμές συγκέντρωσης, απορρόφησης

C (mg $\text{Cu}^{2+} / \text{L}$)	T %	A = 2 - log (%T)
140		
280		
420		
560		
700		
Άγνωστο		

Από τις τιμές το πίνακα II κατασκευάζεται η καμπύλη αναφοράς, απορρόφηση συναρτήσεως της συγκέντρωσης των προτύπων διαλυμάτων.

Από την καμπύλη αναφοράς βρίσκεται η συγκέντρωση του αγνώστου διαλύματος.

Έκθεση εργασίας

Στην έκθεση εργασίας θα πρέπει να αναφέρονται μεταξύ άλλων και τα εξής Θεωρητικό μέρος:

Να αναπτυχθούν σύντομα τα παρακάτω

- α) νόμος των Lambert – Beer
- β) ποσοτική ανάλυση
- γ) η οργανολογία φασματοφωτομέτρου

Μετρήσεις-αποτελέσματα

- α) Πίνακας τιμών απορρόφησης, συγκέντρωσης ($\text{mg Cu}^{2+}/\text{L}$)
- β) Χάραξη καμπύλης αναφοράς, απορρόφηση συναρτήσει συγκέντρωσης $\text{mg Cu}^{2+}/\text{L}$
- γ) Εύρεση συγκέντρωσης σε $\text{mg Cu}^{2+} / \text{L}$ αγνώστου διαλύματος από καμπύλη αναφοράς
- δ) Πίνακας τιμών απορρόφησης ,συγκέντρωσης σε $\text{moles Cu}^{2+}/\text{L}$
- ε) Χάραξη καμπύλης αναφοράς ,απορρόφηση συναρτήσει συγκέντρωσης σε $\text{moles Cu}^{2+}/\text{L}$ και υπολογισμός από αυτή της μοριακής απορροφητικότητας.