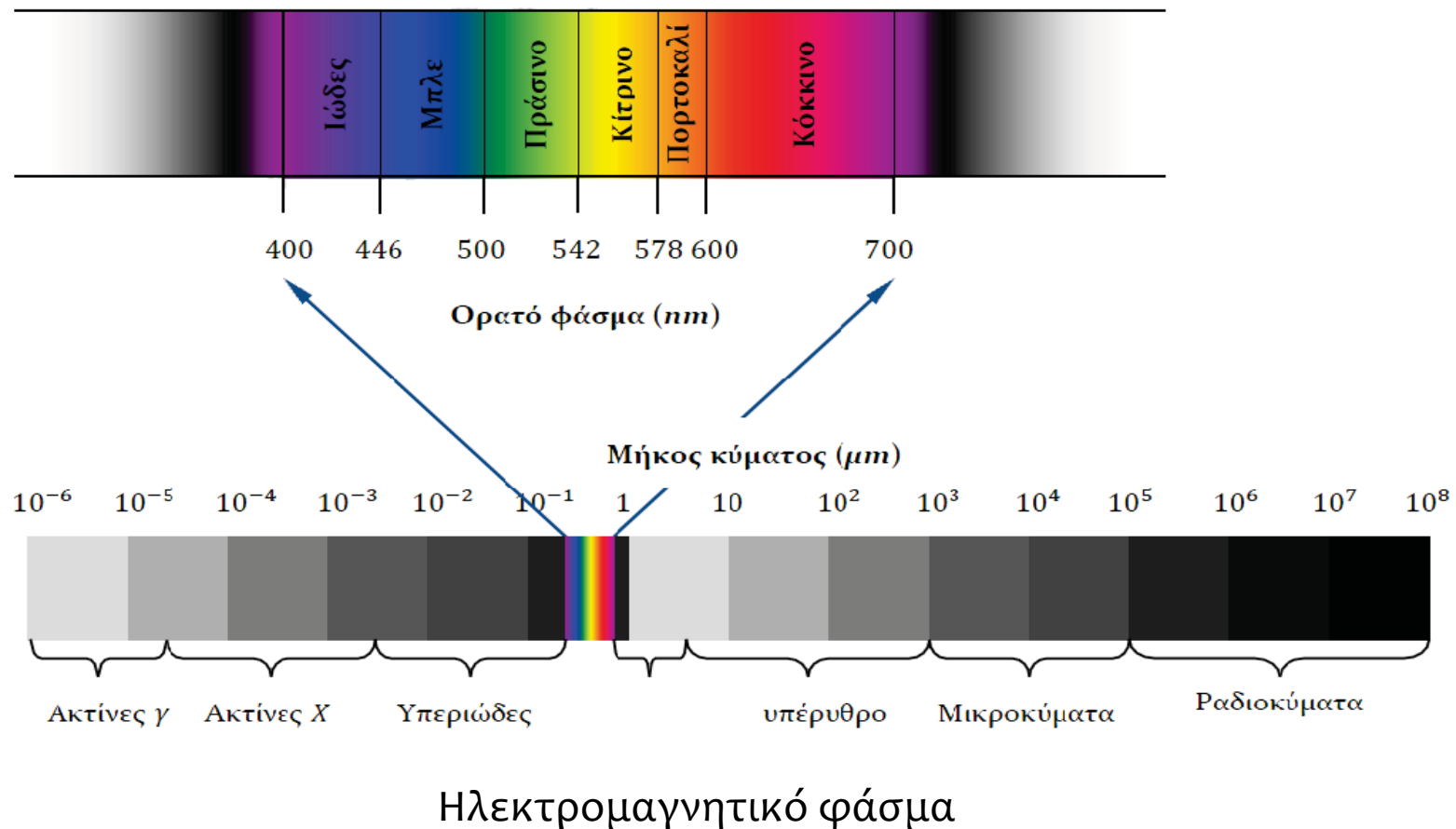


ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

**(Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους – Ορατού
(UV-Vis Absorption Spectroscopy))**

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

Είναι η μελέτη της **αλληλεπίδρασης** του **φωτός** με την **ύλη** με σκοπό την αποτίμηση της δομής της ύλης, τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό μειγμάτων διαφόρων ουσιών κ.λπ. Διακρίνεται σε διάφορα είδη ανάλογα με το είδος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που αλληλεπιδρά με την ύλη σε κάθε περίπτωση.



Η επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην ύλη εξαρτάται από την ενέργεια της πρώτης.

Φασματοσκοπική Μέθοδος

Χρησιμοποιούμενη Ενέργεια

UV-Vis

Υπεριώδης – Ορατή Ακτινοβολία

IR (Infra-Red)

Υπέρυθρη Ακτινοβολία

NMR (Nuclear Magnetic Resonance)

Ραδιοκύματα

Γενικά οι φασματοσκοπικές μέθοδοι χημικής ανάλυσης, όπου ανήκει και η φασματοφωτομετρία UV-VIS, χρησιμοποιούνται ευρύτατα για την επίλυση διαφόρων χημικών προβλημάτων, που σχετίζονται με τη δομή, την κινητική, την ταυτοποίηση, την ποσοτική ανάλυση διαφόρων ενώσεων, κ.α. Τα πλεονεκτήματα αυτών των μεθόδων είναι:

- χρησιμοποιούμε μικρή ποσότητα δείγματος
- δεν καταστρέφεται στο τέλος της ανάλυσης
- μεγάλη ακρίβεια και ευαισθησία
- μικρός χρόνος μέτρησης

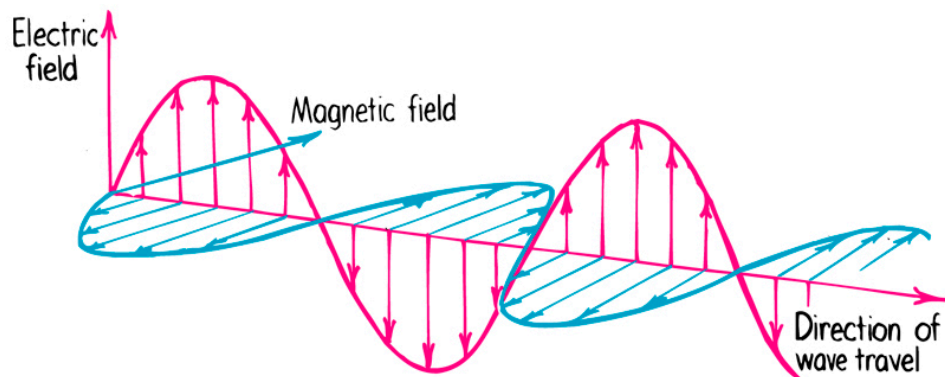
ΚΥΜΑΤΙΚΗ – ΣΩΜΑΤΙΔΙΑΚΗ ΦΥΣΗ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ

Το **κύμα** είναι μια *διαταραχή* που μεταδίδεται διαμέσου ενός μέσου στο χώρο και το χρόνο.

- Η διαταραχή σχετίζεται με ένα φυσικό μέγεθος.
- *Θαλάσσια κύματα*: διαταραχή του επιφανειακού στρώματος νερού.

Ηλεκτρομαγνητικό κύμα: διαταραχή της έντασης του ηλεκτρικού και του μαγνητικού πεδίου.

- Τα κύματα μεταφέρουν ενέργεια.

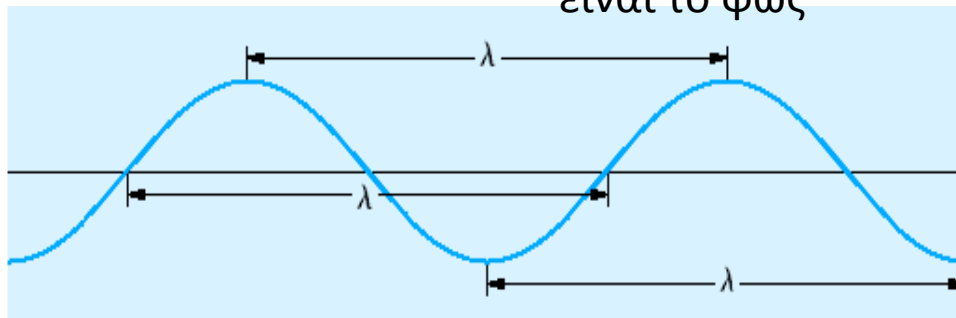


Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μπορεί να περιγραφεί ως κύμα που αποτελείται από ταλαντευόμενα ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία που είναι κάθετα στα επίπεδά τους.

Η κυματική θεωρία του φωτός. Σύμφωνα με την κυματική θεωρία, το φως είναι ηλεκτρομαγνητικό κύμα που διαδίδεται από μία πηγή στο χώρο με σταθερή ταχύτητα ($c = 3 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, στο κενό) μεταφέροντας ενέργεια. Τα είδη της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (ακτίνες γ , ακτίνες X, υπεριώδης, ορατή, υπέρυθρη, ραδιοκύματα κτλ.) διαφοροποιούνται με βάση το μήκος κύματος (λ) και τη συχνότητά τους (ν ή f). Τα μεγέθη αυτά συνδέονται με το θεμελιώδη νόμο της κυματικής:

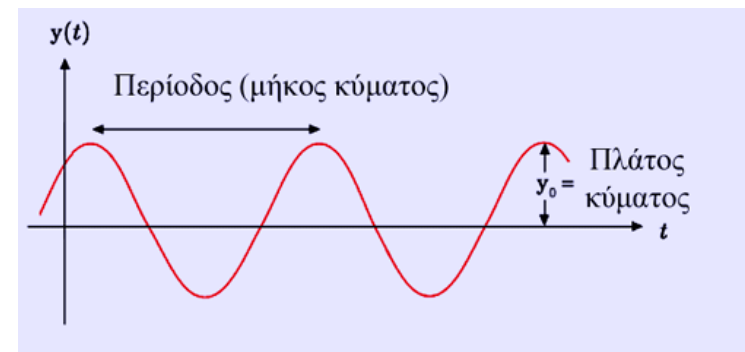
$$c = \lambda \cdot \nu$$

Το **μήκος κύματος (λ)** μιας ακτινοβολίας ορίζεται ως η απόσταση μεταξύ δύο κορυφών ή κοιλιών του κύματος κατά την διεύθυνση της μετάδοσης του κύματος, όπως φαίνεται στα παρακάτω σχήματα



Το **πλάτος** είναι το ύψος του κύματος Η απόσταση από τον κόμβο στην κορυφή ή από τον κόμβο στην κοιλάδα. Το πλάτος είναι ένα μέτρο της έντασης του φωτός - όσο μεγαλύτερο είναι το πλάτος, τόσο πιο έντονο είναι το φως

Συχνότητα ονομάζεται ο αριθμός των διαταραχών που δημιουργήθηκαν ή πέρασαν από ένα συγκεκριμένο σημείο ανά μονάδες χρόνου (s^{-1})



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 κβαντική θεωρία του φωτός. Αν και πολλά από τα φαινόμενα του φωτός μπορούσαν να εξηγηθούν με βάση την κυματική θεωρία, υπήρχαν και άλλα που δεν μπορούσαν να εξηγηθούν με βάση τη θεωρία αυτή. Το 1900 ο Max Planck πρότεινε ότι η φωτεινή ενέργεια που ακτινοβολείται από ένα θερμαινόμενο σώμα δεν εκπέμπεται κατά συνεχή ροή αλλά με τη μορφή αυτοτελών ποσοτήτων (κβάντων φωτός) με ενέργεια ανάλογη με τη συχνότητα (ν) του εκπεμπόμενου φωτός. Η ενέργεια ενός τέτοιου κβάντου δίνεται από τη σχέση:

$$E = h \cdot \nu$$

Επομένως, σύμφωνα με την κβαντική θεωρία του φωτός:

«Η ακτινοβολία εκπέμπεται ή απορροφάται όχι κατά τρόπο συνεχή, αλλά κατά «πακέτα» ενέργειας (κβάντα ή φωτόνια), κατά ορισμένες δηλαδή τιμές».

Με τον τρόπο αυτό η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία περιγράφεται ως ροή μικροσκοπικών σωματιδίων (φωτονίων) καθένα από τα οποία κινείται με την ταχύτητα του φωτός, μεταφέροντας ένα πακέτο ενέργειας (κβάντο) ανάλογο με τη συχνότητά του.

Η ενέργεια ενός φωτονίου δίνεται από την σχέση $E = h \cdot \nu = c \cdot h / \lambda$

E: ενέργεια

h :σταθερά Planck ($6,63 \cdot 10^{-34}$ J.s)

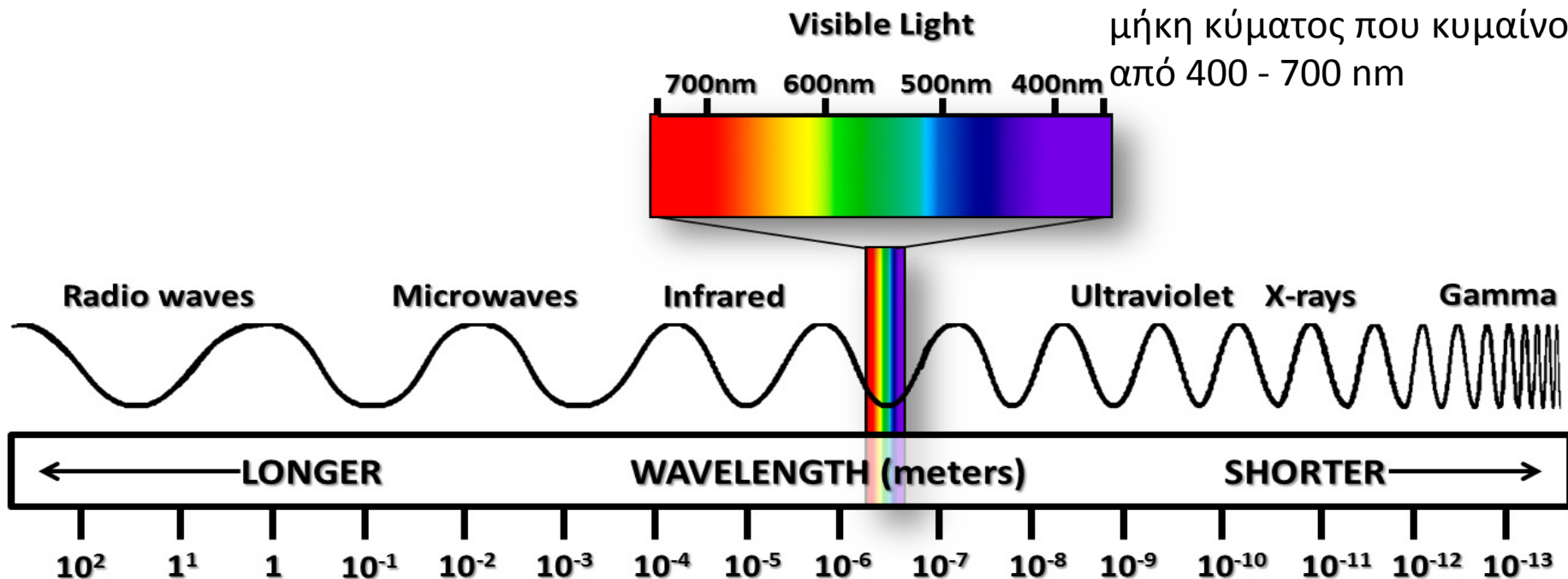
ν :συχνότητα (σε s^{-1} ή Hz)

c :ταχύτητα φωτός

λ :μήκος κύματος (σε μονάδες μήκους)

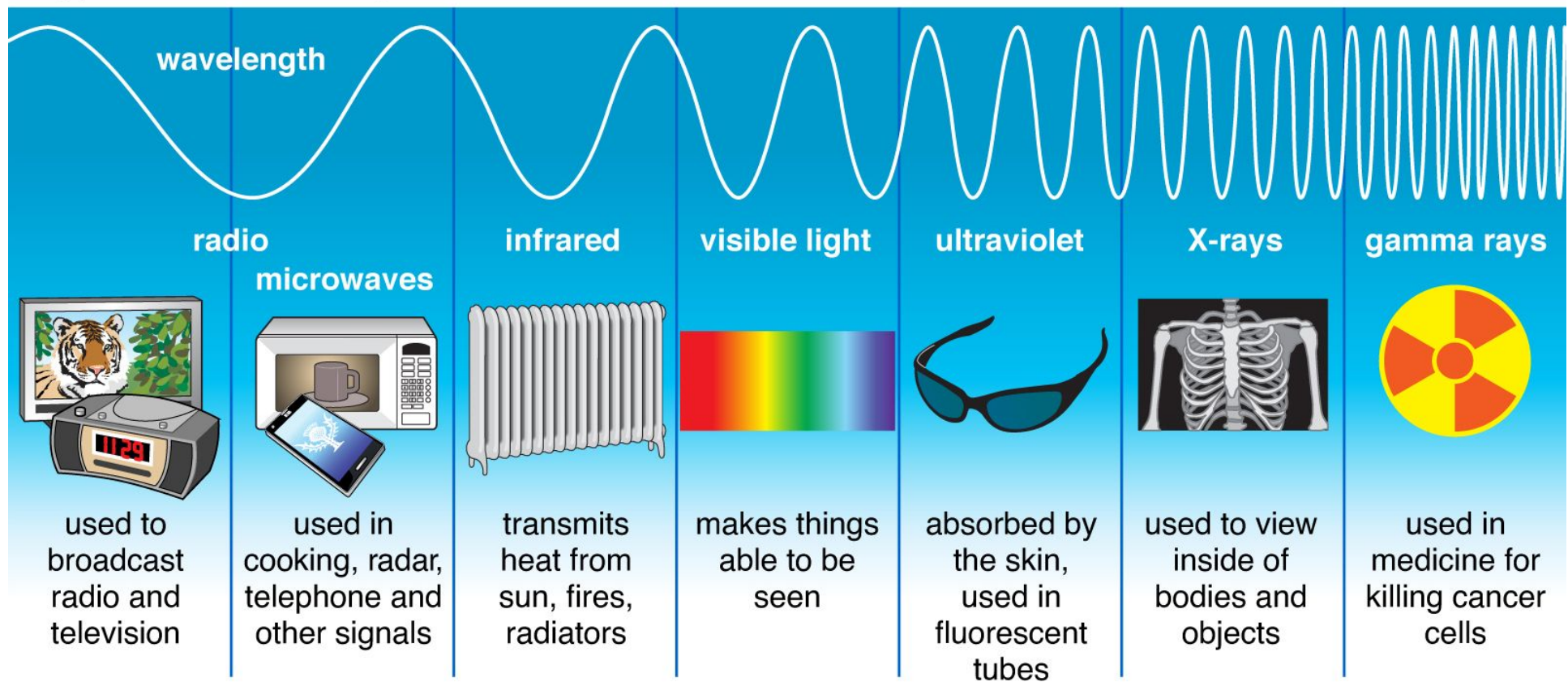
Όσο μικρότερο είναι το μήκος κύματος μιας ακτινοβολίας τόσο μεγαλύτερη ενέργεια έχει και τόσο μεγαλύτερη συχνότητα.....

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




Τα μάτια μας είναι ευαίσθητα στο φως το οποίο ανήκει σε μια πολύ μικρή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος (ορατό φως, με μήκος κύματος 400 – 700 nm) και έχει εύρος χρωμάτων από ιώδες μέχρι κόκκινο. Δεν μπορούμε να δούμε ακτινοβολία με μήκη κύματος εκτός του ορατού φάσματος και το άσπρο φως είναι μια μίξη των χρωμάτων του ορατού φάσματος, ενώ το μαύρο είναι η παντελής έλλειψη φωτός

Types of Electromagnetic Radiation



ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

- Συνήθως, η απορρόφηση της ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας οφείλεται στη διέγερση ηλεκτρονίων της στιβάδας σθένους.
- Απορρόφηση ακτινοβολίας έχουμε όταν μεταφέρεται ενέργεια (κβάντα) από τη δέσμη ακτινοβολίας στο δείγμα (άτομο ή μόριο).
- UV – Vis  μεταπτώσεις e- εξωτερικών στιβάδων
- Για να πραγματοποιηθεί απορρόφηση ακτινοβολίας, τα φωτόνια που προσκρούουν στο δείγμα πρέπει να έχουν ενέργεια ίση με αυτή που χρειάζεται για να προκληθεί μια κβαντισμένη ενεργειακή μεταβολή.

Απορρόφηση

Τα ηλεκτρόνια υπάρχουν σε απολύτως καθορισμένα ενεργειακά επίπεδα

Ένα άτομο απορροφά φως συγκεκριμένου μήκους κύματος

Χρησιμοποιεί ενέργεια για να μετακινήσει ένα ηλεκτρόνιο σε υψηλότερο ενεργειακό επίπεδο

Ηλεκτρόνιο εξωτερικής στιβάδας

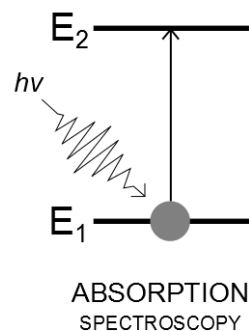
Θεμελιώδης Κατάσταση → Διεγερμένη Κατάσταση

Φως **συγκεκριμένης** ενέργειας απορροφάται για μια συγκεκριμένη αλλαγή στο ενεργειακό επίπεδο

Δίνει ένα φάσμα απορρόφησης

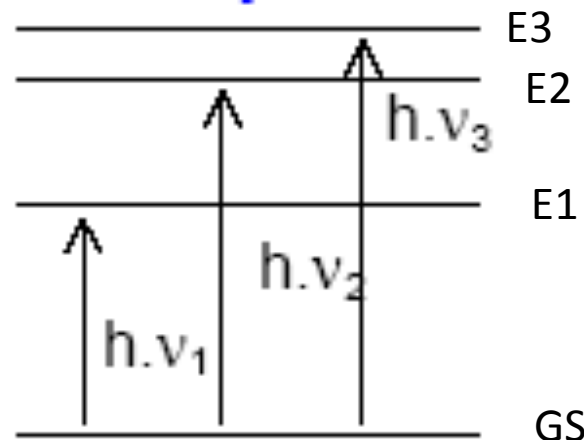
➤ Οι ενέργειες των **ηλεκτρονιακών καταστάσεων** εξαρτώνται από τη μοριακή δομή.

➤ Έτσι, η ενέργεια (ή το μήκος κύματος) της ακτινοβολίας που απορροφάται εξαρτάται από τη μοριακή δομή των απορροφώντων ειδών.



Η ενεργειακή διαφορά μεταξύ ηλεκτρονιακών καταστάσεων είναι στην περιοχή του UV & του ορατού φωτός

Absorption



GS: Ground state=Θεμελιώδης κατάσταση
E1: 1st Excited state = 1^η διεγερμένη κατάσταση
E2: 2nd Excited state = 2^η διεγερμένη
E3: 3rd Excited state = 3^η διεγερμένη

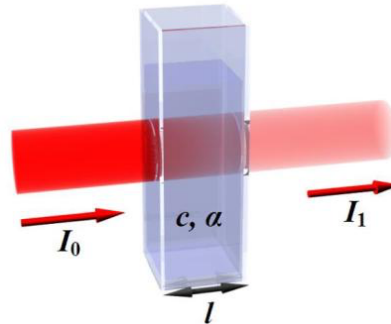
➤ **Αυτό που βλέπουμε είναι το αντανακλώμενο φως (το μη απορροφημένο φως)**

➤ Αυτό που βλέπουμε είναι το αντανακλώμενο φως (το μη απορροφημένο φως)

Περιοχή απορρόφησης	Χρώμα που απορροφάται	Χρώμα που βλέπουμε
< 400 nm	Υπεριώδης ακτινοβολία	
400-435 nm	Ιώδες	Κίτρινο-Πράσινο
435-480 nm	Μπλε	Κίτρινο
480-490 nm	Πράσινο-Μπλε	Πορτοκαλί
490-500 nm	Μπλε-Πράσινο (Cyan)	Κόκκινο
500-560 nm	Πράσινο	Κόκκινο-Ιώδες (Magenta)
560-580 nm	Κίτρινο-Πράσινο	Ιώδες
580-595 nm	Κίτρινο	Μπλε
595-605 nm	Πορτοκαλί	Πράσινο-Μπλε
605-700 nm	Κόκκινο	Μπλε-Πράσινο (Cyan)
> 700 nm	Υπέρυθρη ακτινοβολία	

ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ - Ν. 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.



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

$$I = I_0 \cdot 10^{-\alpha l c} = I_0 \cdot 10^{-\epsilon l c}$$

I :ένταση εξερχόμενης ακτινοβολίας

I_0 :ένταση προσπίπτουσας ακτινοβολίας

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

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** ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

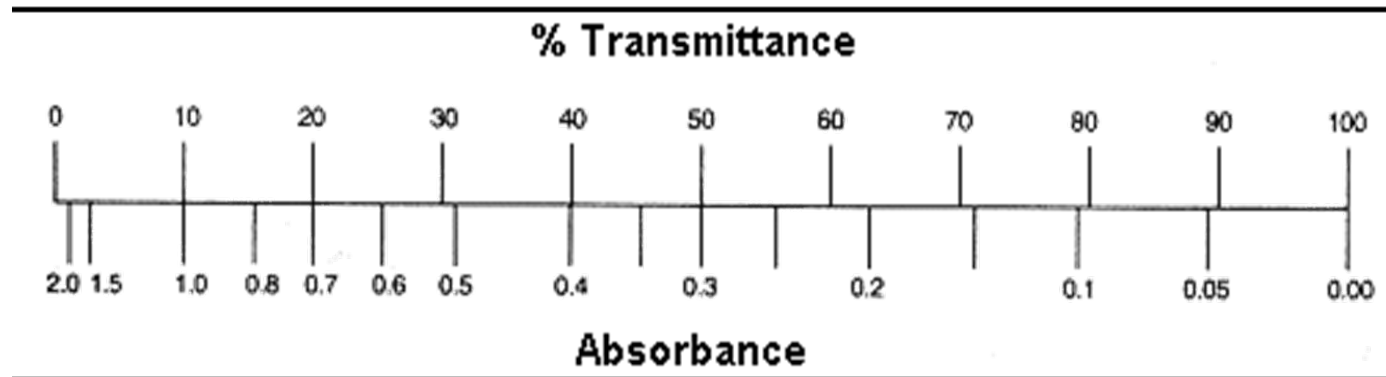
Η διαπερατότητα (Transmittance) T , ορίζεται από την σχέση $T = I/I_0$

Ο δεκαδικός λογάριθμος του λόγου I_0/I ονομάζεται απορρόφηση (Absorbance) A και ορίζεται από την σχέση $A = \log(I_0/I) = \log(1/T) = \log 1 - \log T = -\log 10^{-\epsilon l c}$

$$A = \epsilon l c$$

Η σταθερά αναλογίας 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. !!!!! (Μονάδες ϵ : $\text{cm}^{-1} \text{mol}^{-1} \text{L}$)

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. (Η Απορρόφηση είναι αδιάστατο μέγεθος !!!)



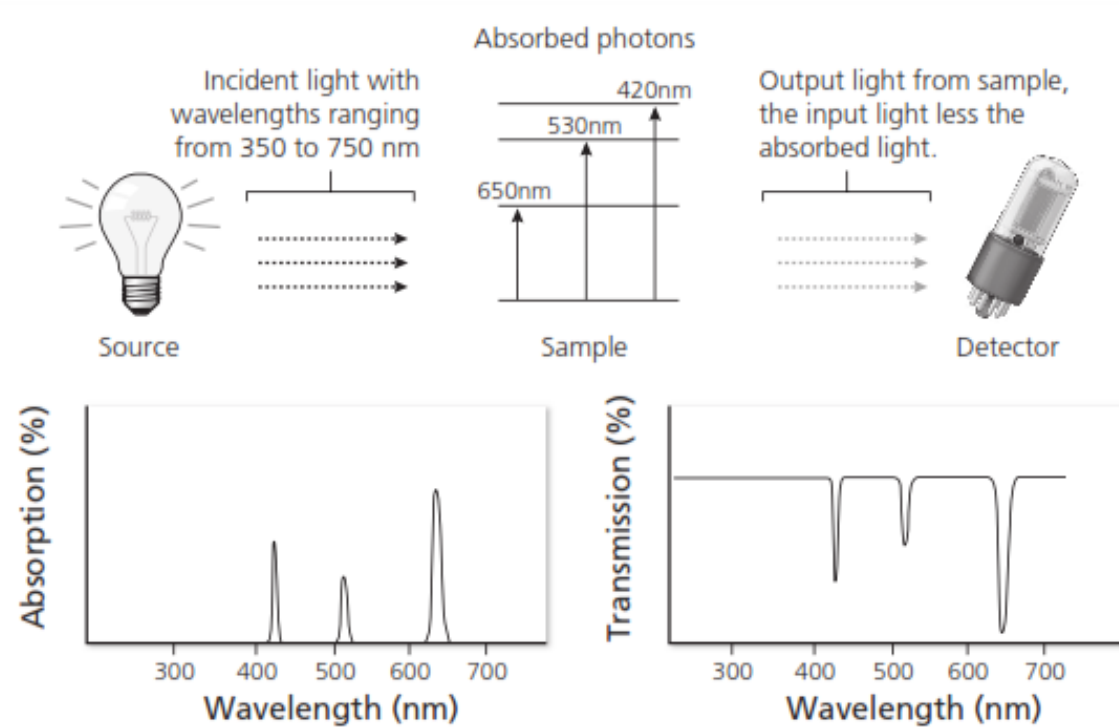
$$\text{Ισχύει } A = \log(1/T) = \log(100\% / \%T) = \log 100\% - \log \%T \rightarrow A = 2 - \log(\%T) \text{ !!!!}$$

ΧΡΗΣΙΜΟΙ ΤΥΠΟΙ

- $T = I/I_0$
- $A = \log(I_0/I)$
- $A = \log(1/T)$ ή $A = -\log(T)$ ή $-A = \log(T)$ ή $10^{-A} = 10^{\log T} = T$
- $A = -\log 10^{-\epsilon l C}$ ή $A = \epsilon l C$
- Όταν η διαπερατότητα εκφράζεται συνήθως % (T %)
- $A = 2 - \log(\%T)$

Η ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ (A) ΕΙΝΑΙ ΑΝΑΛΟΓΗ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΟΥ Δ/ΤΟΣ

(Διπλασιάζεται η C διπλασιάζεται και η A
Υποδιπλασιάζεται η C υποδιπλασιάζεται και η A)

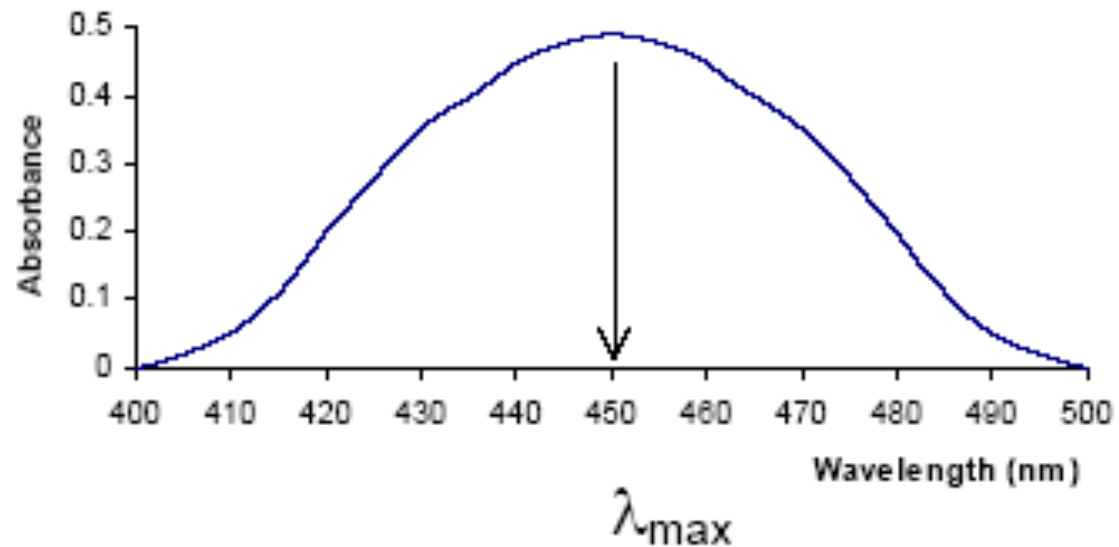


Οι προϋποθέσεις ισχύος του νόμου Lambert-Beer

- τα διαλύματα να μην είναι πυκνά ($0,01 < A < 1$),
 - η ακτινοβολία να είναι μονοχρωματική,
 - η κυψελίδα να έχει ομοιόμορφη διατομή,
- τα μόρια της διαλυμένης ουσίας να μην αντιδρούν μεταξύ τους,
- η μέτρηση να γίνεται στο λ_{max} (το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης, χαρακτηριστικό για κάθε ένωση).

Φάσμα Μοριακής Απορρόφησης

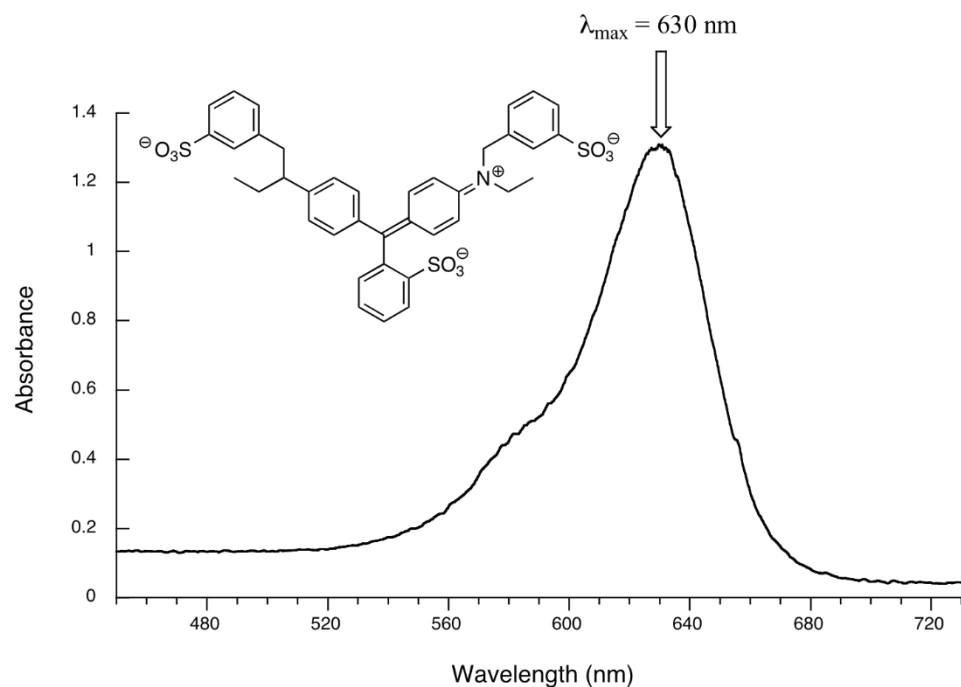
- Το μόριο απορροφά φως
- Τα ηλεκτρόνια των ατόμων μετακινούνται προς διαφορετικά ενεργειακά επίπεδα και οι δεσμοί δονούνται
- Το μόριο απορροφά φως διαφορετικών μηκών κύματος
- Παίρνουμε το φάσμα απορρόφησης



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).

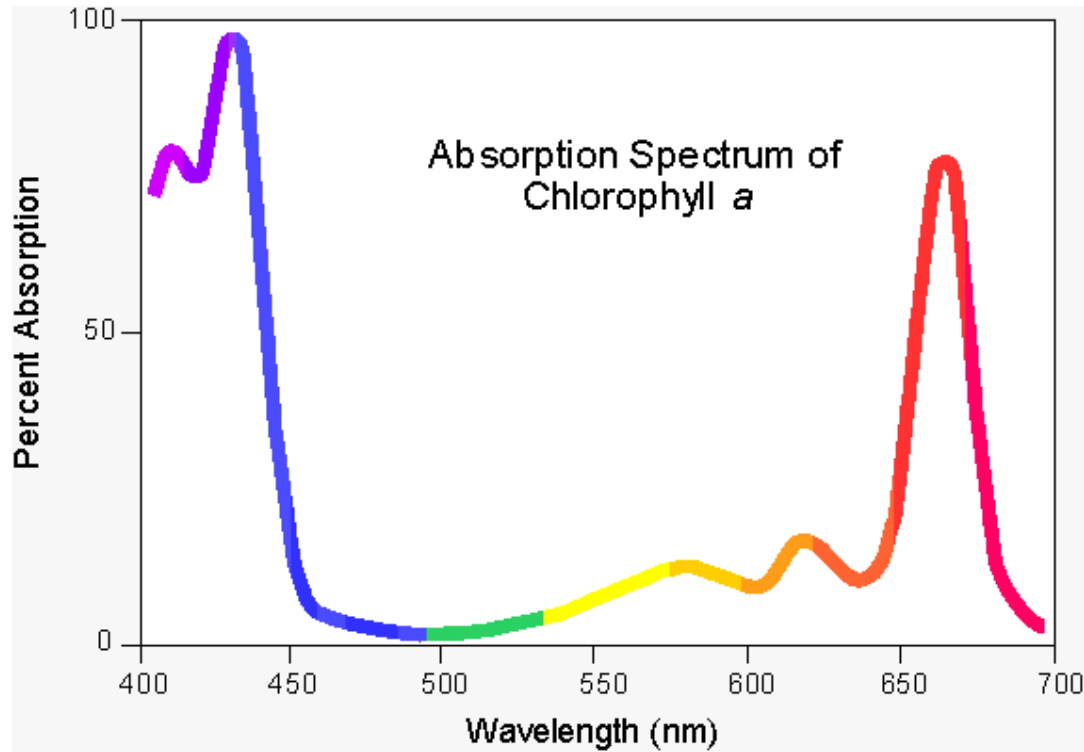
Η γραφική παράσταση της απορρόφησης A ή της διαπερατότητας T συναρτήσει του μήκους κύματος λ της ακτινοβολίας ονομάζεται φάσμα απορρόφησης της ουσίας.



Το 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.

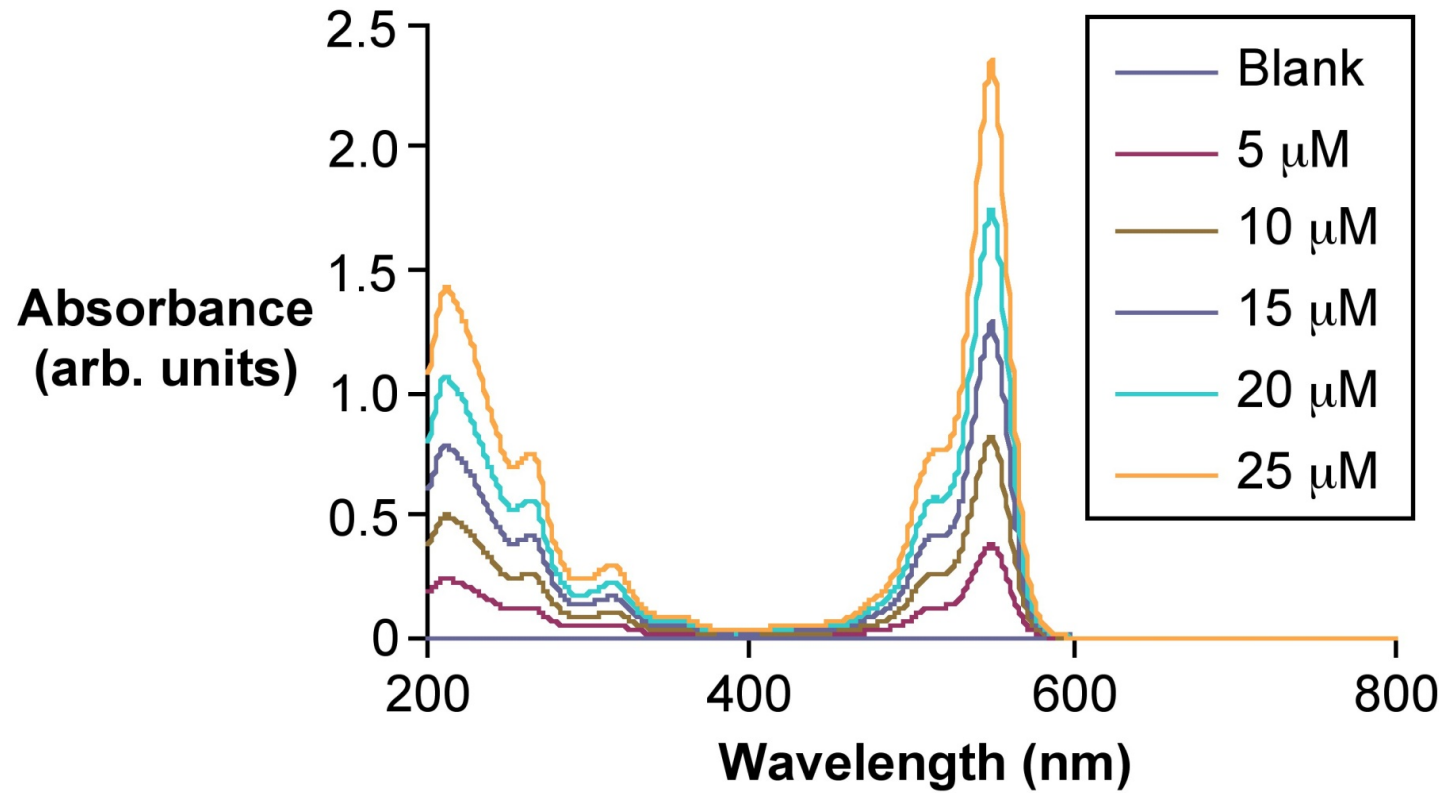
Το φάσμα είναι μια χαρακτηριστική μοριακή υπογραφή
Μετρίεται με ένα **φασματοφωτόμετρο**



Τι χρώμα είναι η χλωροφύλλη?

Η χλωροφύλλη απορροφά όλα τα μήκη κύματος του ορατού φωτός εκτός από το πράσινο, το οποίο αντανακλάται και κάνει τα φύλλα των δέντρων να φαίνονται πράσινα

Το εμβαδόν της κορυφής του φάσματος σχετίζεται με τη ποσότητα της ουσίας, άρα δίνει ποσοτική πληροφορία



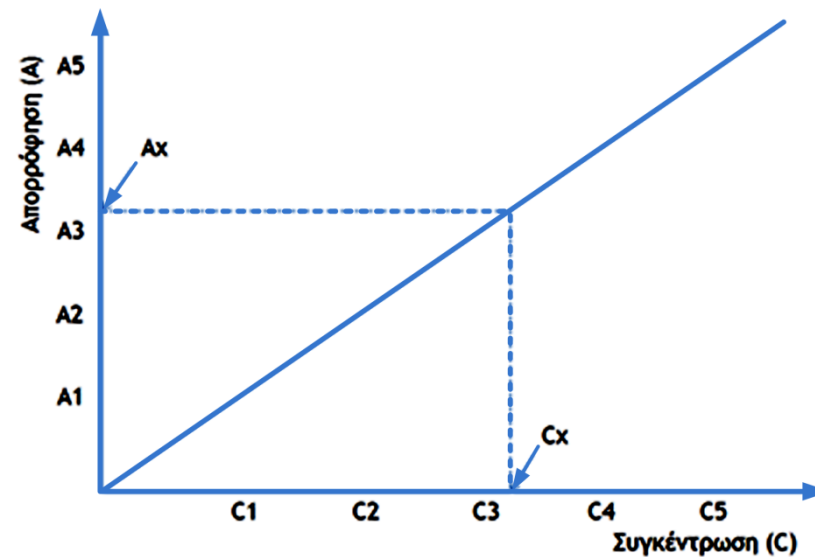
Από το φάσμα απορρόφησης μιας ουσίας βρίσκεται το μήκος κύματος στο οποίο παρατηρείται η μεγαλύτερη απορρόφηση (λ_{\max}) και αυτό χρησιμοποιείται στη ποσοτική ανάλυση της ουσίας.

ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ – ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Από την σχέση $A = \epsilon lc$ φαίνεται ότι η συγκέντρωση c της απορροφούμενης 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**.

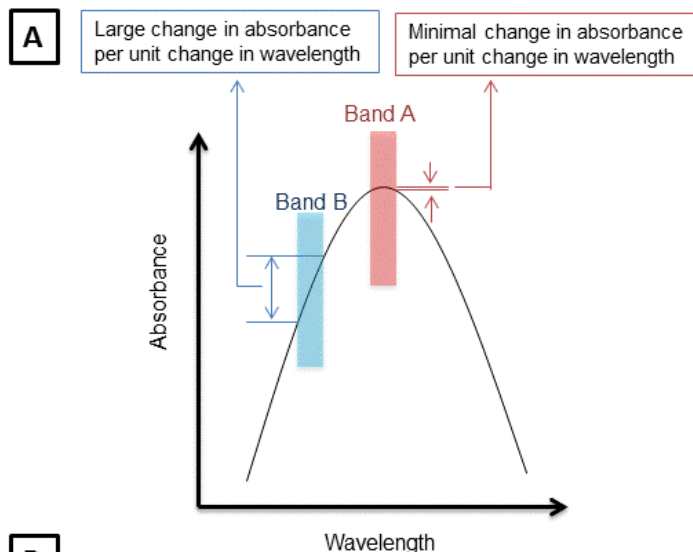
Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα της ουσίας και μετράται η απορρόφηση αυτών σε ορισμένο μήκος κύματος (λ_{\max})

Χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα της ουσίας που θέλουμε να αναλύσουμε. Με φωτομέτρηση των πρότυπων διαλυμάτων λαμβάνουμε τις απορροφήσεις τους (A_i). Με γραφική παράσταση, σε σύστημα ορθογώνιων αξόνων, των ζευγών (A_i, C_i) κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη

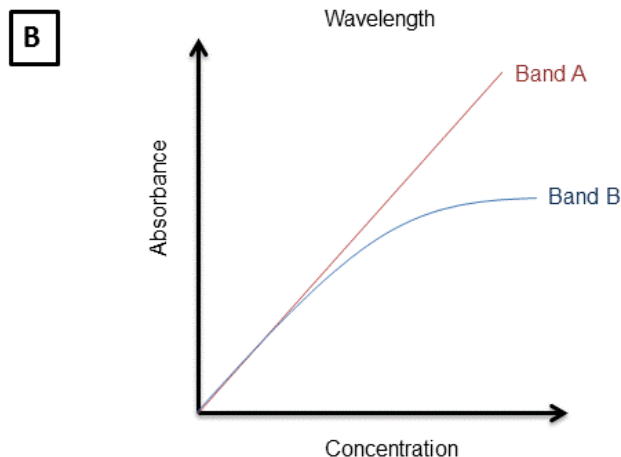


Για να έχουμε μεγαλύτερη ευαισθησία πρέπει η κλίση της καμπύλης αναφοράς να είναι όσο το δυνατόν μεγαλύτερη. Αυτό επιτυγχάνεται με μέτρηση της απορρόφησης στο λ_{max} .

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 β.



Σχήμα α



Σχήμα β

ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ

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

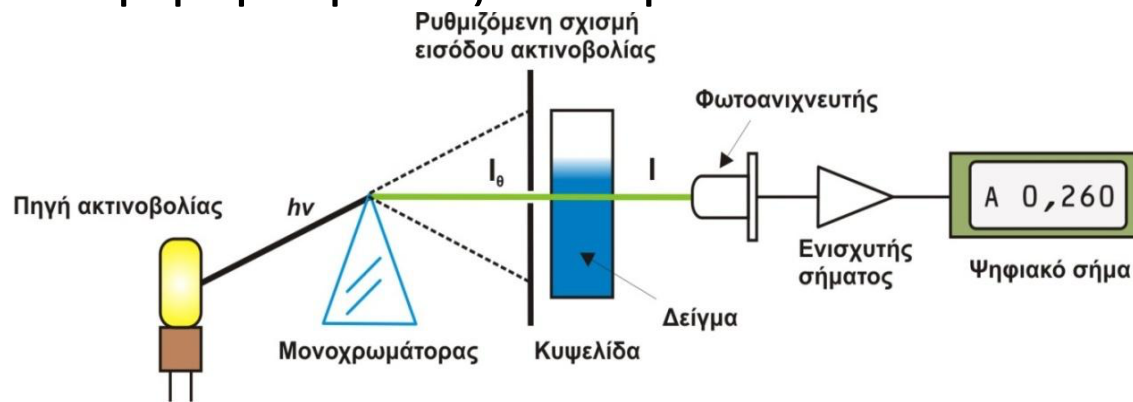
Σαν πηγές φωτός για το ορατό φάσμα χρησιμοποιούνται λυχνίες βολφραμίου και για το υπεριώδες λυχνίες υδρογόνου.

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.

Ανεξάρτητα από τον τύπο του φασματοφωτομέτρου 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.

- Το προσπίπτον φως ανακλάται από ένα φράγμα περίθλασης
Έτσι διαχωρίζεται στα συστατικά του χρώματα ή μήκη κύματος, τα οποία έπειτα αποκλείουν
- Τμήματα του φάσματος μπορούν να περάσουν επιλεκτικά μέσω της σχισμής έτσι ώστε μόνο ένα μήκος κύματος να περάσει στα άλλα τμήματα του φασματοφωτόμετρου
- Η θέση του φράγματος περίθλασης μπορεί να αλλάζει, έτσι ώστε διαφορετικά μήκη κύματος να περνάνε



- Το φως περνά μέσω της σχισμής στον σωλήνα με το δείγμα
- Το φως που δεν απορροφάται ταξιδεύει προς τον φωτοανιχνευτή
- Το φως δημιουργεί ένα ηλεκτρικό ρεύμα \propto με τον αριθμό των φωτονίων που προσπίπτουν στον ανιχνευτή

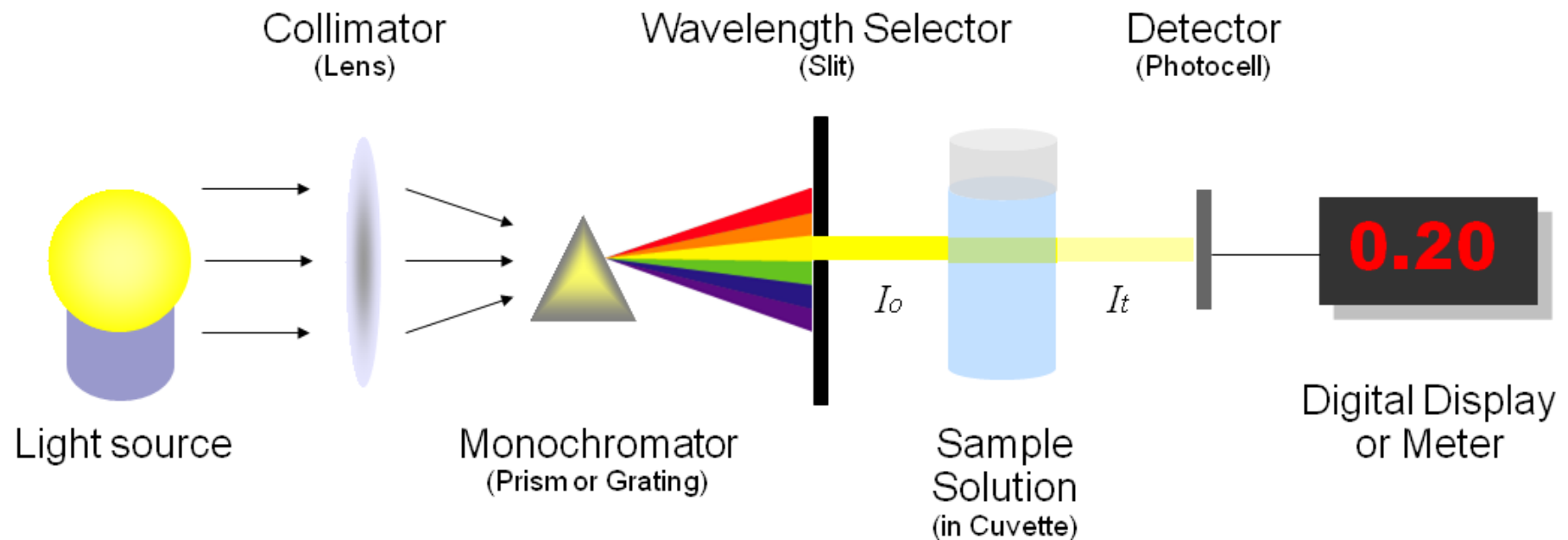
- Το ηλεκτρικό ρεύμα μετριέται και καταγράφεται από έναν ψηφιακό μετρητή

Η κλίμακα συνήθως βαθμονομείται με δυο τρόπους:

% διαπερατότητα (transmittance): 0 – 100 και

Απορρόφηση (absorbance) ή οπτική πυκνότητα (optical density)

με κλίμακα **0 – 2**



- Φασματοφωτόμετρα απλής δέσμης

Jenway 3065

Pharmacia Ultro100



Side to side beam



Front to back beam

Προετοιμασία δείγματος για UV-vis

Επιλογή κατάλληλου διαλύματος ή εναιωρήματος—
κατάλληλος διαλύτης κλπ.

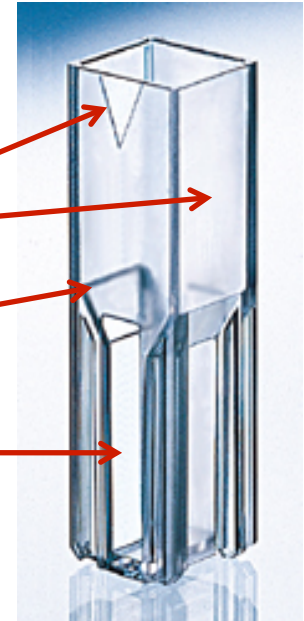
Επιλογή κατάλληλης κυψελίδας

Οι κυψελίδες μπορούν να είναι:

- 1. Διαφανές πλαστικό** – ΟΚ για υδατικά διαλύματα, αλλά όχι για οργανικά (480-600 nm). Φθηνές και αναλώσιμες, αλλά γρατσουνιούνται εύκολα
- 2. Γυάλινες** – ΟΚ για οργανικά (400-900 nm), λιγότερο εύκολο να γρατσουνιστούν
- 3. Fused silica ή χαλαζίας (quartz)** – πρέπει να χρησιμοποιείται για μήκη κύματος 190-750 nm, πολύ ακριβές!

Κυψελίδες

- 1 ml πλαστική (disposable) κυψελίδα
- Arrow shows face to direct towards beam
- Frosted face for holding
- Minimum fill level (1ml volume)
- Clear face where light passes
- 1 cm path length



- 3 ml κυψελίδα Quartz
- Q indicates quartz
- Frosted face for holding
- Minimum fill requires 3ml volume
- Clear face where light passes
- 1 cm path length

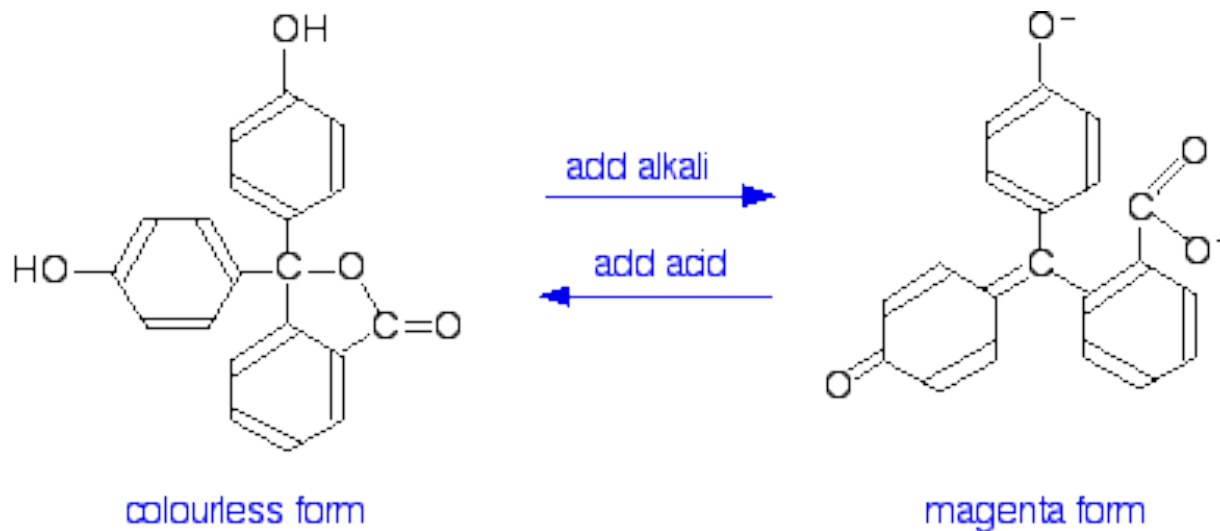
Χημική δομή και λ_{max} (η περίπτωση των δεικτών)

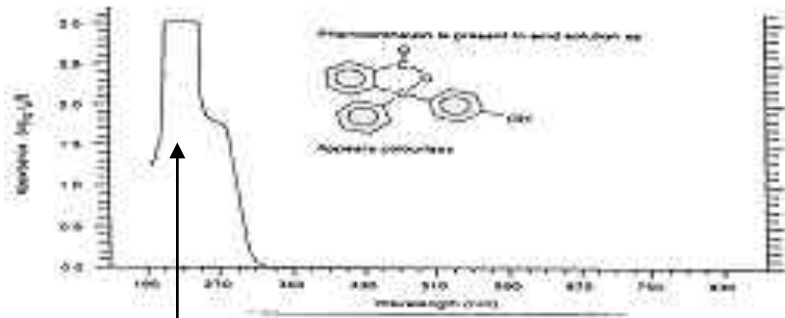
Πολύ μικρές αλλαγές στην μοριακή δομή μπορούν να επιφέρουν πολύ διαφορετικά φάσματα απορρόφησης

Αυτό είναι συχνά η βάση πολλών δεικτών με βάση την εξάρτησή τους από το pH πχ, φαινολοφθαλεινη

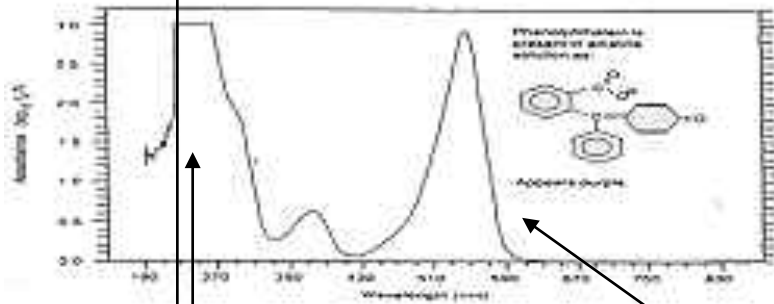
pH > 8.1 ο δείκτης είναι αποπρωτονιωμένος (ιοντισμένος) – ορατό χρώμα (ροζ/φούξια)

pH < 8.0 ο δείκτης είναι πρωτονιωμένος (όχι ιοντισμένος) – άχρωμο





Όξινη μορφή



Βασική μορφή

Και οι δυο
μορφές
απορροφούν
φως UV

Μόνο η βασική μορφή απορροφά
ορατό φως

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ – ΑΣΚΗΣΕΙΣ

1. Διάλυμα $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ παρουσιάζει απορρόφηση 0,680 στα 645 nm με πάχος κυψελίδας 1,0 cm; Ποια θα είναι η νέα απορρόφηση του εάν το διάλυμα αραιωθεί σε διπλάσιο όγκο και τοποθετηθεί σε κυψελίδα πάχους 2,0 cm;

2. Ένα διάλυμα Βιταμίνης-A έχει απορρόφηση $A = 1.4$ στα 328nm. Ποια είναι η συγκέντρωση του?

$$\epsilon_{(\text{VitaminA})} = 1550 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$$\text{Πάχος κυψελίδας } l = 1 \text{ cm}$$

Απ. 0,9 mM

3. Ένα διάλυμα NADH έχει απορρόφηση $A = 0.6222$ στα 340nm. Ποια είναι η συγκέντρωση του?

$$\epsilon_{(\text{NADH})} = 6222 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$l = 1 \text{ cm}$ (Το πάχος της κυψελίδας που χρησιμοποιήσαμε)

$c =$ συγκέντρωση (M)

$$A = \epsilon c l \rightarrow c = A / \epsilon l$$

$$c = 0.6222 / 6222 \times 1$$

$$c = 0.0001 \text{ M (or } 0.1 \text{ mM)}$$

Προσοχή στις μονάδες

4. Κατά την φασματομετρική ανάλυση ενός δείγματος παρατηρείτε πως η ένταση της προσπίπτουσας σε αυτό ακτινοβολίας ισούται με 100000 φωτόνια/s ενώ η ένταση της εξερχόμενης ακτινοβολίας ισούται 10000. Ποιά είναι η τιμή της απορρόφησης ????

Απ. $A=1$

5. Τι τιμή απορρόφησης A αντιστοιχεί σε 45% T ???

Απ. $A=0,35$

6. Αν μια ουσία (που απορροφά στο ορατό) σε ένα υδατικό διάλυμα συγκέντρωσης 0,001M έχει διαπερατότητα 45% (σε μήκος κύματος $\lambda = 610 \text{ nm}$), ποιά είναι η % T ενός διαλύματος της ίδια ουσίας με συγκέντρωση 0,002M ?

Απ. % $T = 20\%$