

The background of the slide features a light blue gradient with faint, white chemical structures and a spectral plot. The structures include a pyridine ring, a benzene ring, and a complex heterocyclic system. The spectral plot shows a series of peaks and troughs, typical of a UV-Vis or IR spectrum.

METODY SPEKTROSKOPOWE

Spektroskopia nazywa się zespół metod badawczych i analitycznych, które zajmują się badaniem oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego lub cząsteczkowego z materią.

W wyniku takiego oddziaływania energia może ulegać różnym procesom np. absorpcji, emisji, załamaniu.

W zależności od właściwości materii i energii promieniowania oddziaływania między nimi mogą mieć różny charakter i mogą im towarzyszyć różne procesy.

Spektroskopia zajmuje się teorią i interpretacją **widm** powstających w wyniku oddziaływań między promieniowaniem a materią.

Podziału metod spektroskopowych można dokonać według:

- ♦ zakresu promieniowania elektromagnetycznego (długość fali (częstotliwość promieniowania)),
- ♦ rodzaju układu materialnego,
- ♦ formy wymiany energii między promieniowaniem a materią (zjawiska zachodzące w układzie).

Podział metod spektroskopowych w zależności od długości fali (częstotliwości promieniowania) elektromagnetycznego

Lp.	Nazwa działu spektroskopii	Długość fali		Częstotliwość drgań Hz	Zachodzące zjawiska
		Jednostki układu SI pochodne metra	Jednostki dotychczas stosowane		
1	Spektroskopia kosmiczna	0,1—1,5 pm		$3 \cdot 10^{21}—2 \cdot 10^{20}$	reakcje jądrowe przejścia elektronów wewnętrznych
2	Spektroskopia gamma	0,03—30 pm	0,0003—0,3 Å	$10^{22}—10^{19}$	
3	Spektroskopia rentgenowska	0,001—1 nm	$10^{-2}—10$ Å	$10^{19}—5 \cdot 10^{16}$	
4	Spektroskopia optyczna w zakresie:				przejścia elektronów zewnętrznych
	a) nadfioletu próżniowego bliskiego	10—380 nm 10—200 nm 200—380 nm		$3 \cdot 10^{16}—8 \cdot 10^{14}$	
	b) widzialnym fioletowym niebieskim zielonym żółtym pomarańczowym czerwonym	380—780 nm 380—440 nm 440—480 nm 480—560 nm 560—600 nm 600—620 nm 620—780 nm		$8 \cdot 10^{14}—4 \cdot 10^{14}$	
	c) podczerwieni bliskiej średniej dalekiej	0,78—30000 μm 0,78—300 μm 300—3000 μm 3000—30000 μm	12 800—33,3 cm ⁻¹ 12 800—3333 cm ⁻¹ 3333—333 cm ⁻¹ 333—33,3 cm ⁻¹	$4 \cdot 10^{14}—10^{12}$	drgania nadtonowe drgania podstaw. (rozciąganie, } rotacja zginanie) } cząsteczek
5	Spektroskopia mikrofalowa	0,03—100 cm		$10^{12}—3 \cdot 10^8$	
6	Radiospektroskopia w zakresie:				magnetyczny rezonans jądrowy rotacja w cieczech i ciałach stałych
	ultrakrótkim	1 cm—10 m		$3 \cdot 10^{10}—3 \cdot 10^7$	
	krótkofalowym średniodalowym długofalowym	10—100 m 100—1000 m 1000 m—4 km		$3 \cdot 10^7—3 \cdot 10^6$ $3 \cdot 10^6—3 \cdot 10^5$ $3 \cdot 10^5—7,5 \cdot 10^4$	
7	Spektroskopia akustyczna	300 m—3 km		$10^5—10^3$	

1 Å = 10⁻¹⁰ m = 10⁻⁸ cm (1 angstrom — w układzie SI nie występuje)
cm⁻¹ — jednostka praktycznie stosowana w podczerwieni

Podział metod spektroskopowych w zależności od rodzaju układu materialnego

Układ materialny	Ogólna nazwa metody	Metoda analityczna
Atom	spektrometria atomowa	fotometria płomieniowa spektrografia i spektrometria emisyjna absorpcyjna spektrometria atomowa (ASA) fluorescencyjna spektrometria atomowa (FSA) spektrometria rentgenowska spektrometria elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR, ESR)
Cząsteczka	spektrofotometria cząsteczkowa, analiza spektrofotometryczna spektrometria cząsteczkowa	spektrometria absorpcyjna (VIS, UV, IR) spektrometria Ramana spektrofluorymetria
Jądro atomowe	spektrometria jądrowa	spektrometria jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR)
Jony, fragmenty cząsteczek mające ładunek	spektrometria mas	spektrometria masowa (MS)
Jony	spektrometria jonów	spektrometria masowa jonów wtórnych (SIMS) spektrometria jonów odbitych (ISS, BSS)
Elektrony	spektrometria elektronów	spektrometria elektronów wzbudzonych promieniowaniem rentgenowskim (XPS, ESCA, PESIS) lub nadfioletowym (UPS) spektrometria elektronów Augera (AES)

Podział metod spektroskopowych w zależności od zachodzącego zjawiska

Lp.	Zjawisko fizyczne będące podstawą metody	Lp.	Metody analityczne
1	Absorpcja promieniowania	1.1	Spektrofotometria absorpcyjna częstotczkowa (VIS, UV, IR)
		1.2	absorpcyjna spektrometria atomowa (ASA)
		1.3	absorpcja promieni rentgenowskich
		1.4	magnetyczny rezonans jądrowy (NMR)
		1.5	elektronowy rezonans paramagnetyczny (EPR, ESR)
2	Rozproszenie i absorpcja	2.1	turbidymetria
3	Rozproszenie promieniowania	3.1	nefelometria
		3.2	dyfrakcja promieni rentgenowskich
4	Odbicie światła	4.1	reflektometria
5	Załamanie światła	5.1	refraktometria
		5.2	interferometria
6	Skręcenie płaszczyzny polaryzacji światła spolaryzowanego	6.1	polarymetria
7	Emisja promieniowania	7.1	fotometria płomieniowa
		7.2	spektrografia i spektrometria emisyjna
		7.3	fluorescencja rentgenowska
		7.4	fluorescencja atomowa
		7.5	spektrofluorymetria
			} wzbudzenie termiczne
			} wzbudzenie optyczne
8	Strumień naładowanych cząstek o różnym m/z	8.1	spektrometria masowa
9	Strumień elektronów lub jonów o różnej energii	9.1	spektrometria elektronów i jonów

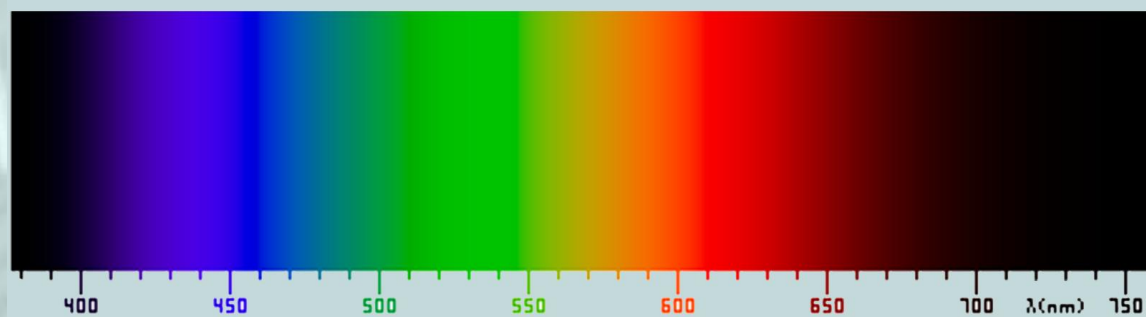
SPEKTROFOTOMETRIA ABSORPCYJNA

SPEKTROFOTOMETRIA UV/VIS

Spektrofotometrię dzieli się pod względem na długość zastosowanego promieniowania na trzy podstawowe działy:

- ♦ spektrofotometria w nadfiolecie – UV 200-380nm,
- ♦ spektrofotometria w świetle widzialnym – VIS 380-780 nm,
- ♦ spektrofotometria w podczerwieni – IR 1-16 μm .

Spektrofotometria absorpcyjna UV/VIS jest metodą wykorzystującą do celów analitycznych zjawisko absorpcji promieniowania elektromagnetycznego w zakresie UV/VIS przez cząsteczki substancji absorbującej co prowadzi do przejść elektronów walencyjnych między poziomami energetycznymi.

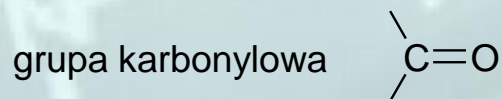
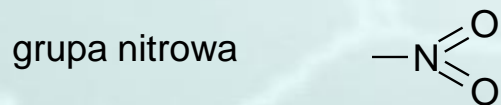


W zakresie UV/VIS efekty absorpcji zachodzą w związkach organicznych, w których występują ugrupowania atomów z wiązaniami wielokrotnymi zawierającymi wolne elektrony π .

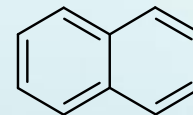
Kolor widziany, a długość fali pochłanianego promieniowania

λ_{\max} [nm]	kolor zaabsorbowany	kolor obserwowany
380-420	fioletowy	żółtozielony
420-440	fioletowoniebieski	żółty
440-470	niebieski	pomarańczowy
470-500	niebieskozielony	czerwony
500-520	zielony	purpurowy
520-550	żółto-zielony	fioletowy
550-580	żółty	fioletowoniebieski
580-620	pomarańczowy	niebieski
620-680	czerwony	zielononiebieski
680-780	czerwony	zielony

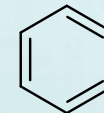
GRUPY CHROMOFOROWE - ugrupowania odpowiedzialne za barwę w zakresie promieniowania UV/VIS



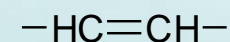
pierścień naftalenowy



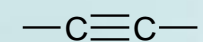
pierścień benzenowy



alkeny



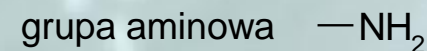
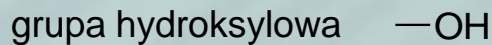
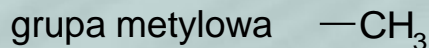
alkiny



Wzrost liczby grup chromoforowych w cząsteczce pogłębia barwę, przesuując maksimum absorpcji w kierunku fal dłuższych – **przesunięcie (efekt) batochromowe**.

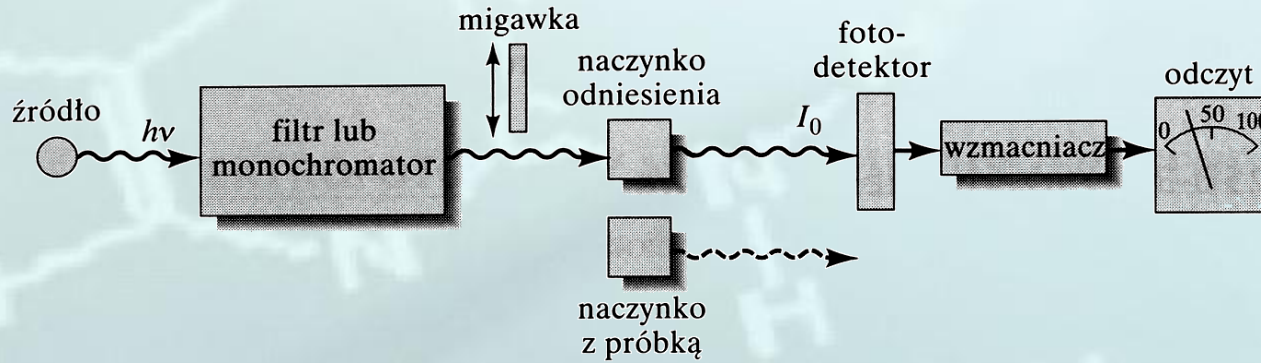
Przesunięcie w kierunku odwrotnym to **efekt hipsochromowy**.

GRUPY AUKSOCHROMOWE – powodują głównie wzrost intensywności zabarwienia, możliwy jest też efekt batochromowy.

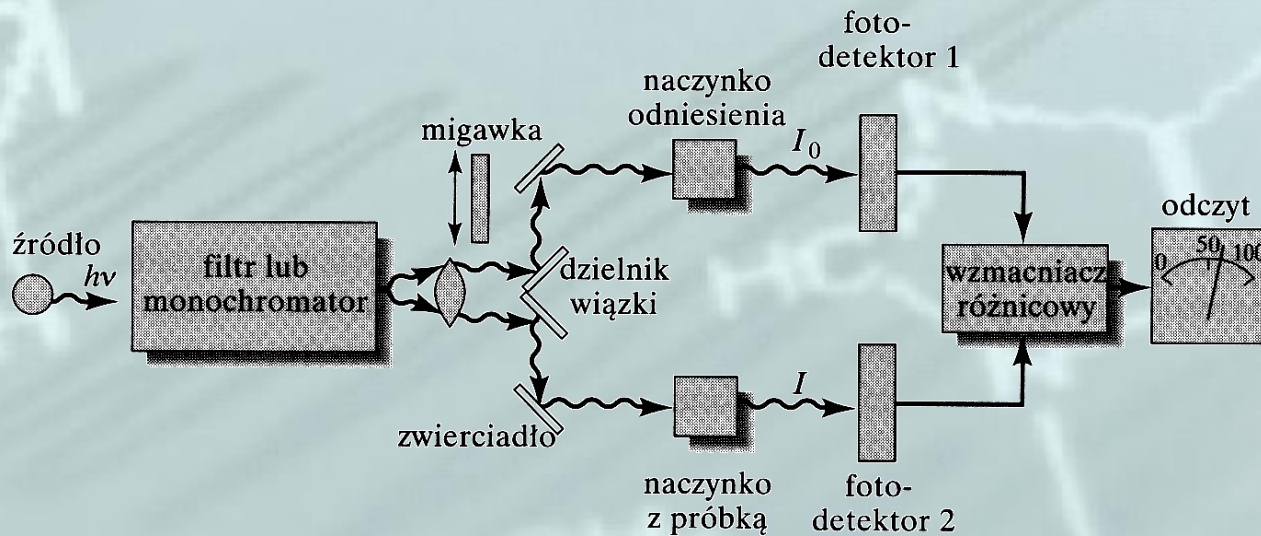


APARATURA POMIAROWA - SPEKTROFOTOMETR

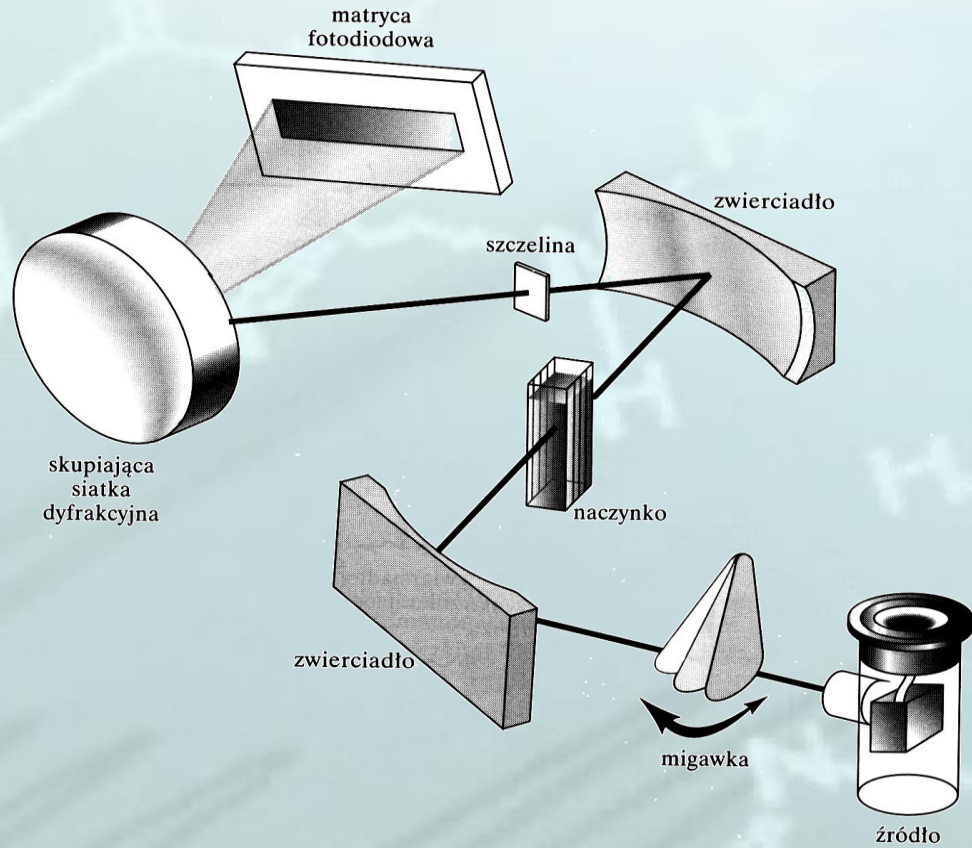
Schemat spektrofotometru jednowiązkowego



Schemat spektrofotometru dwuwiązkowego

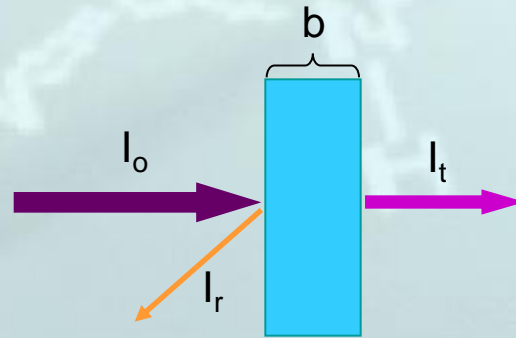


Schemat spektrofotometru z matrycą diodową



Z padającej na warstwę roztworu równoległej wiązki **promieniowania monochromatycznego** część ulega:

- ♦ absorpcji,
- ♦ odbiciu,
- ♦ rozproszeniu.

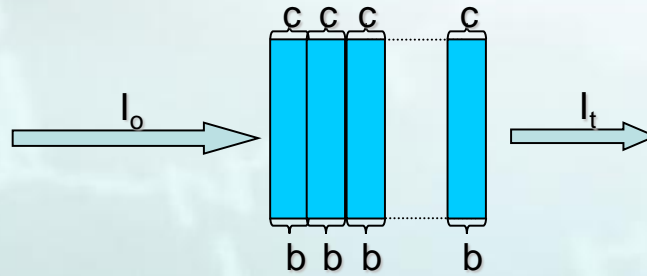


I_0 – natężenie promieniowania padającego,

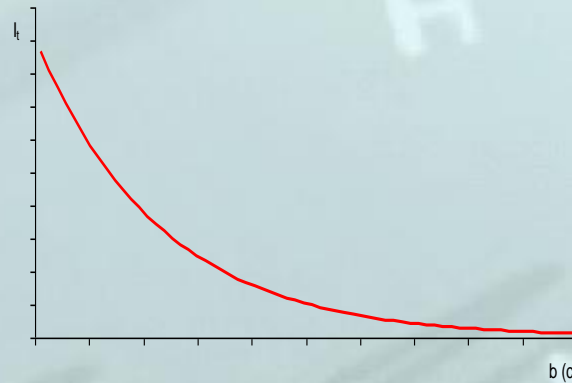
I_t – natężenie promieniowania po przejściu przez warstwę absorbującą,

I_r – natężenie promieniowania odbitego,

b – grubość warstwy pochłaniającej,



Jeżeli warstwa absorbująca składa się z małych warstewek o grubości b (stężeniu c), z których każda zmniejsza natężenie padającego promieniowania monochromatycznego o taką samą część promieniowania.



$$I_t = I_0 \cdot e^{-kb} \quad \text{prawo Bougera-Lamberta (I prawo absorpcji)}$$

$$I_t = I_0 \cdot e^{-kc} \quad \text{prawo Beera (II prawo absorpcji)}$$

k – współczynnik proporcjonalności

Prawo Bougera-Lamberta-Beera

$$I_t = I_o \cdot e^{-kbc}$$

Natężenie promieniowania monochromatycznego przechodzącego przez ośrodek absorbujący jest wprost proporcjonalne do natężenia promieniowania padającego i maleje wykładniczo wraz z liniowym wzrostem grubości warstwy absorbującej i stężenia.

$$\frac{I_t}{I_o} = e^{-kbc} \Rightarrow \ln \frac{I_t}{I_o} = -kbc \Rightarrow \ln \frac{I_o}{I_t} = kbc$$

$$\log \frac{I_o}{I_t} = 0.4343 \ln \frac{I_o}{I_t} \Rightarrow \log \frac{I_o}{I_t} = 0.4343 kbc \Rightarrow \log \frac{I_o}{I_t} = k'bc$$

k' – współczynnik proporcjonalności wyrażający absorbancję, jaką wykazuje roztwór przy jednostkowej grubości warstwy pochłaniającej i jednostkowym stężeniu.

$$\frac{I_t}{I_o} = \mathbf{T} \text{ transmitancja} \quad 0 \leq T \leq 100$$

$$\log \frac{I_o}{I_t} = \mathbf{A} \text{ absorbancja} \quad 0 \leq A < \infty$$

dla stężenia c wyrażonego w $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$

$k' = \epsilon$ molowy współczynnik absorpcji

$$A = \log \frac{1}{T} = \epsilon b c$$

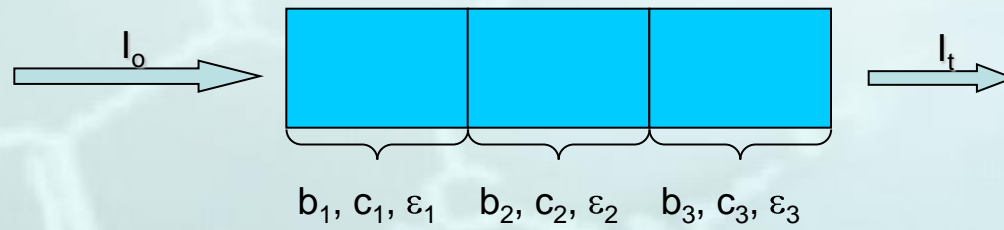
Absorbancja zależy od:

- ♦ stężenia substancji,
- ♦ grubości warstwy pochłaniającej,

Molowy współczynnik absorpcji zależy od:

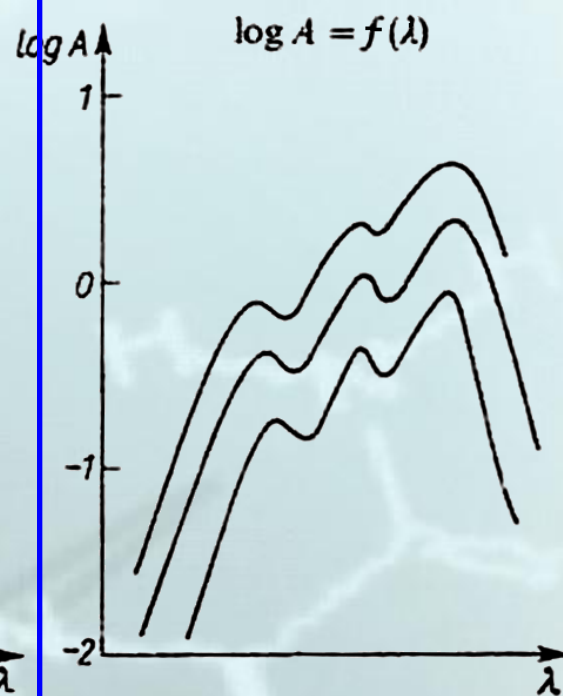
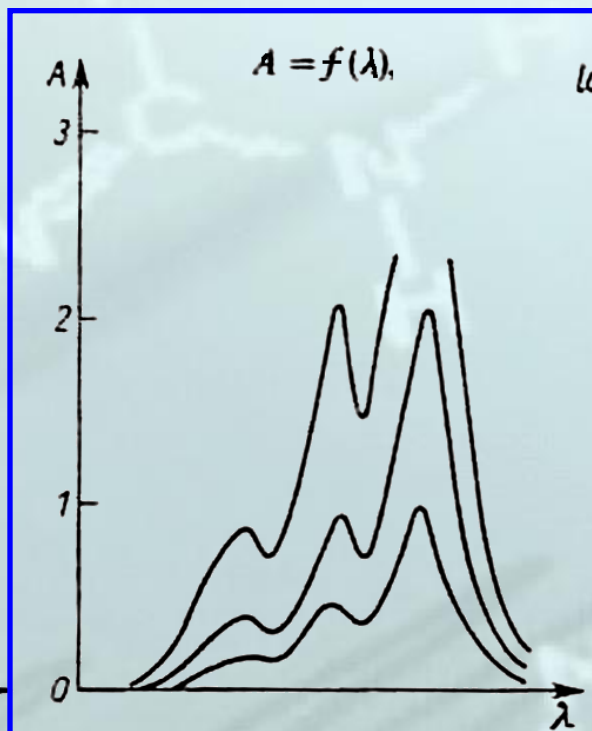
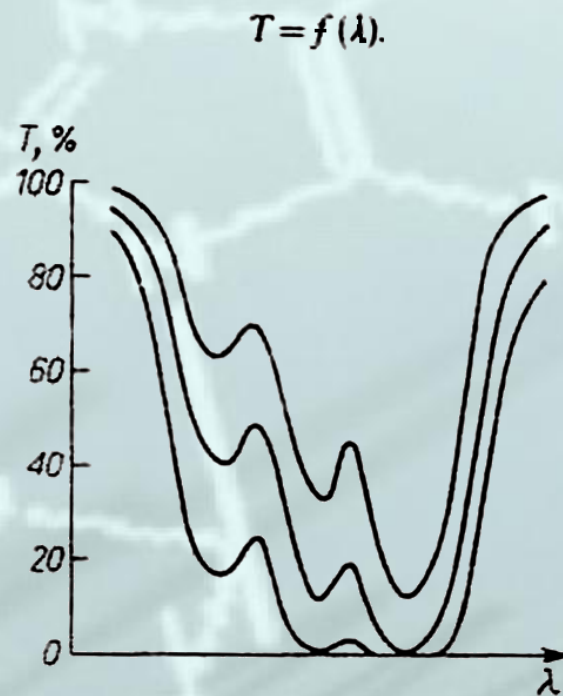
- ♦ rodzaju substancji,
- ♦ długości fali przy której wykonuje się pomiary,

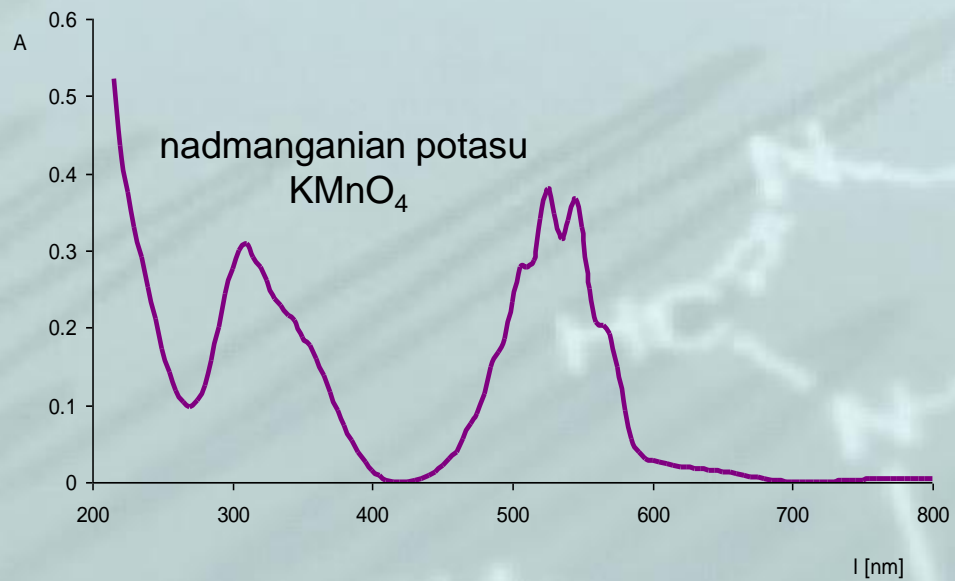
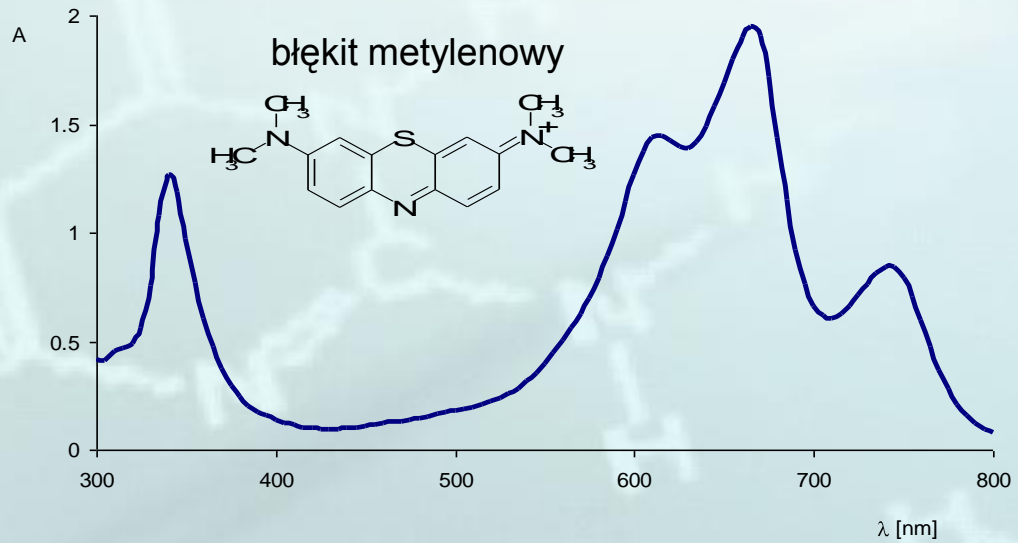
Prawo addytywności absorbancji

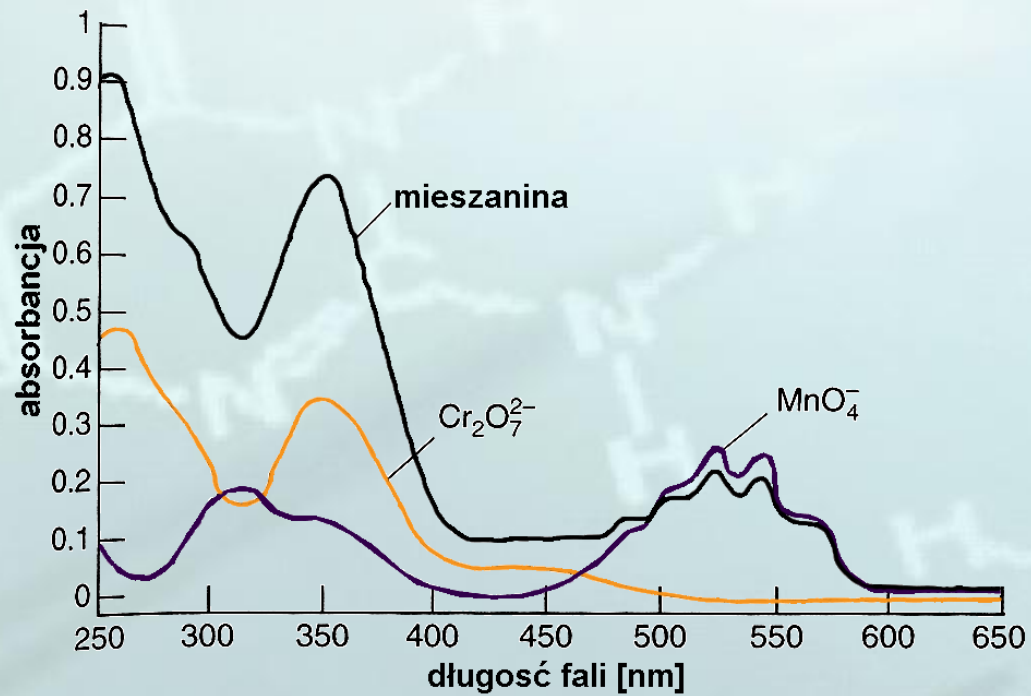


$$A = A_1 + A_2 + A_3$$

WIDMA ABSORPCJI

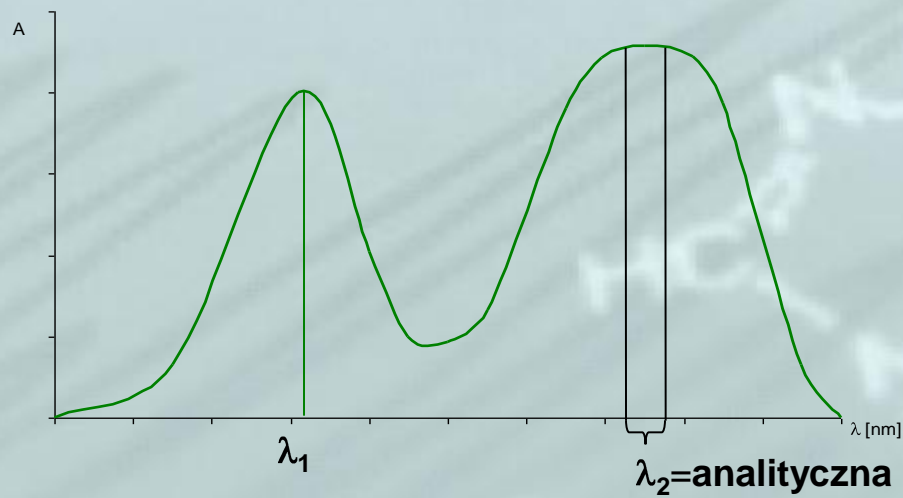
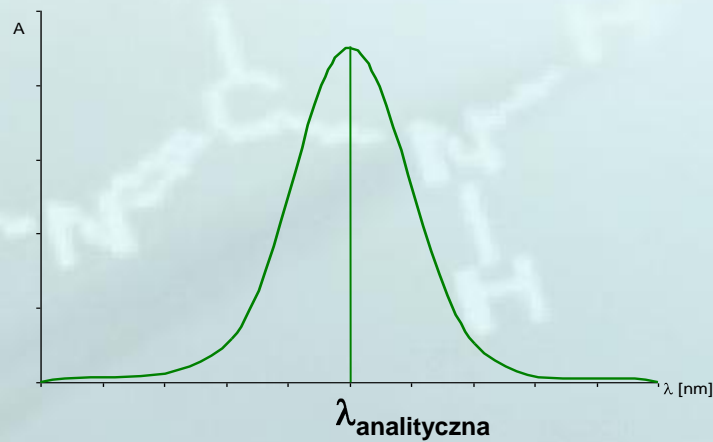




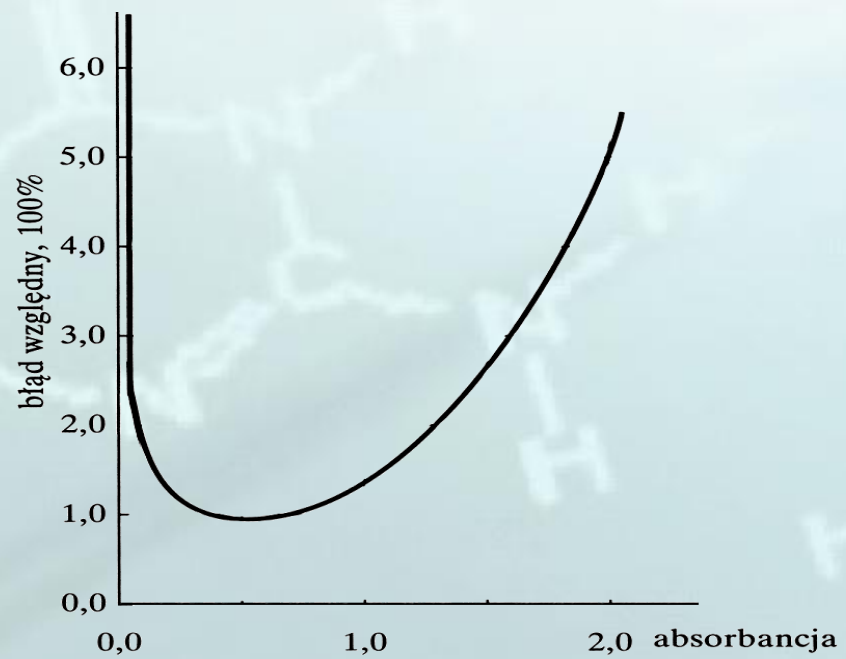


Analityczna długość fali

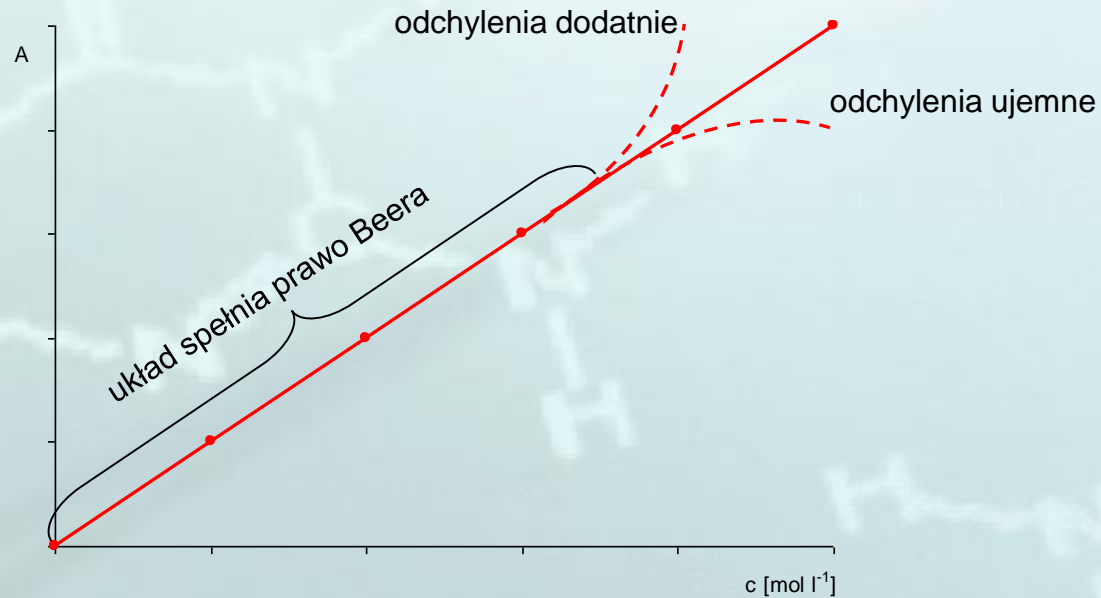
Aby uzyskać jak największą czułość pomiaru należy tak dobrać długość fali aby molowy współczynnik absorpcji osiągnął maksymalną wartość.



BŁĄD POMIARU ABSORBANCJI



ODCHYLENIA OD PRAWA BEERA



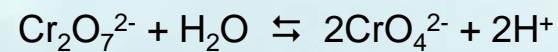
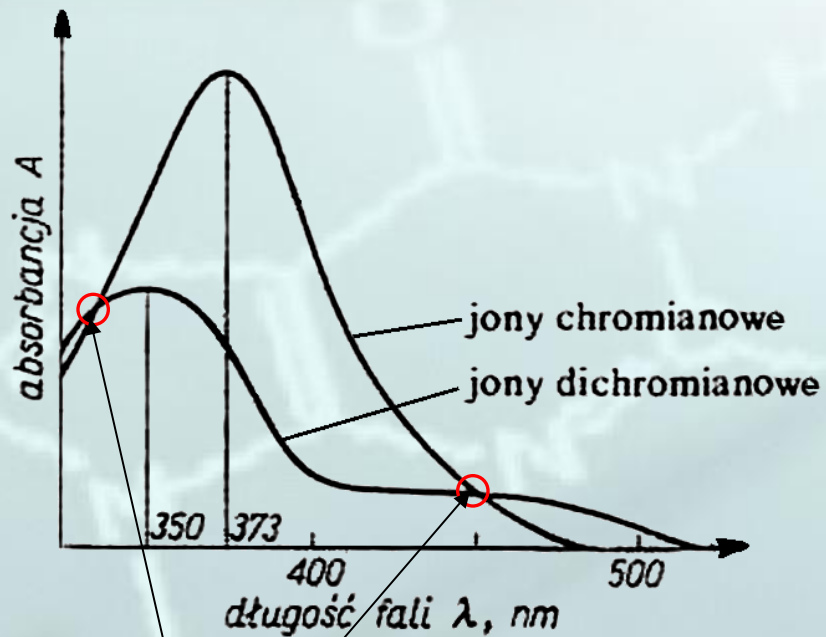
Odchylenia pozorne (przypadkowe)

wywołane czynnikami fizycznymi związanymi ze stosowaną aparaturą np.

- niestabilność źródła światła,
- niemonochromatyczność wiązki promieniowania,
- szumy detektora.

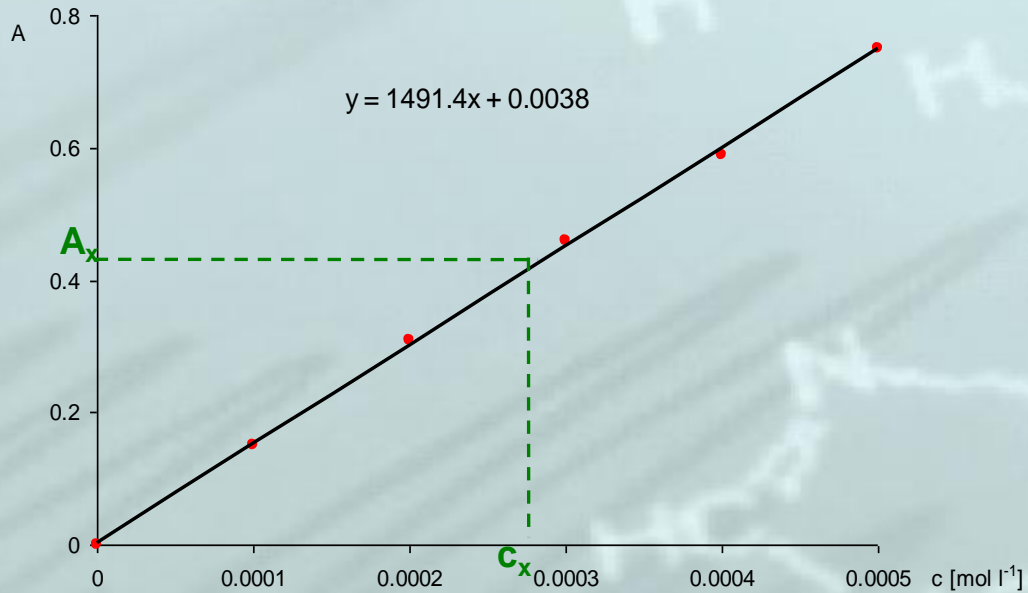
Odchylenia rzeczywiste

wywołane przyczynami chemicznymi takimi jak reakcje polimeryzacji, dysocjacji, hydrolizy, solwatacji czy tworzenia kompleksów.



ANALIZA ILOŚCIOWA

Oznaczenia jednoskładnikowe

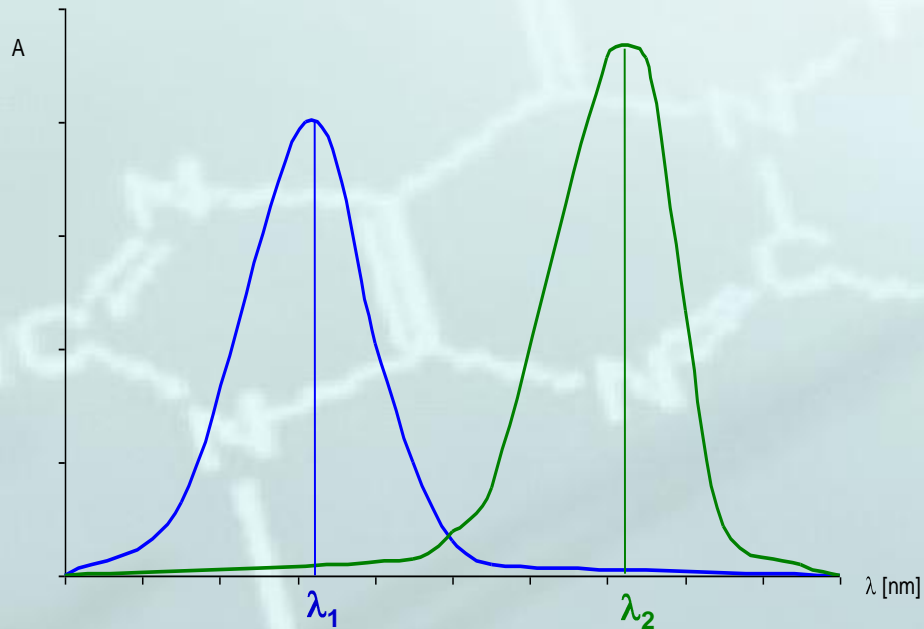


$$A_x = \epsilon \cdot c_x \cdot l$$

$$y = ax$$

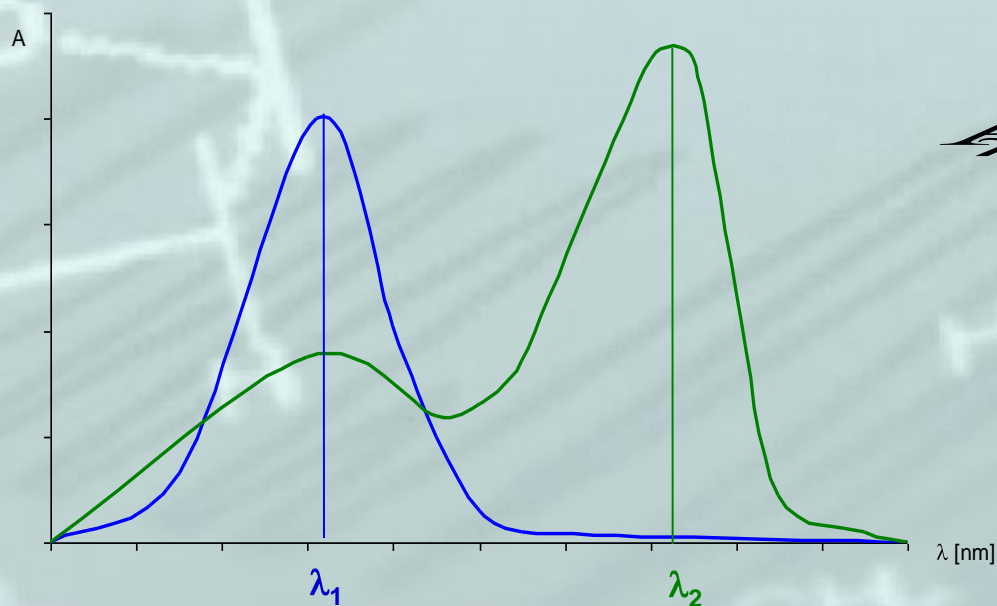
$$c_x = \frac{A_x}{\epsilon_x \cdot l}$$

Oznaczenia dwuskładnikowe



$$A_{\lambda_1} = \epsilon_{X\lambda_1} \cdot c_X \cdot l \Rightarrow c_X = \frac{A_{\lambda_1}}{\epsilon_{X\lambda_1} \cdot l}$$

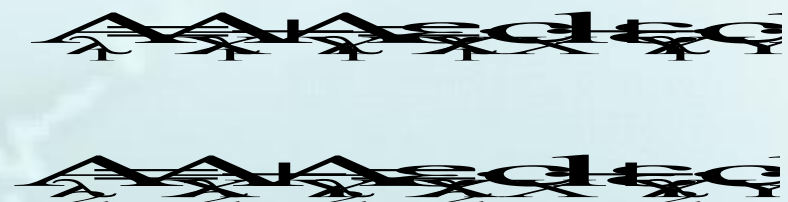
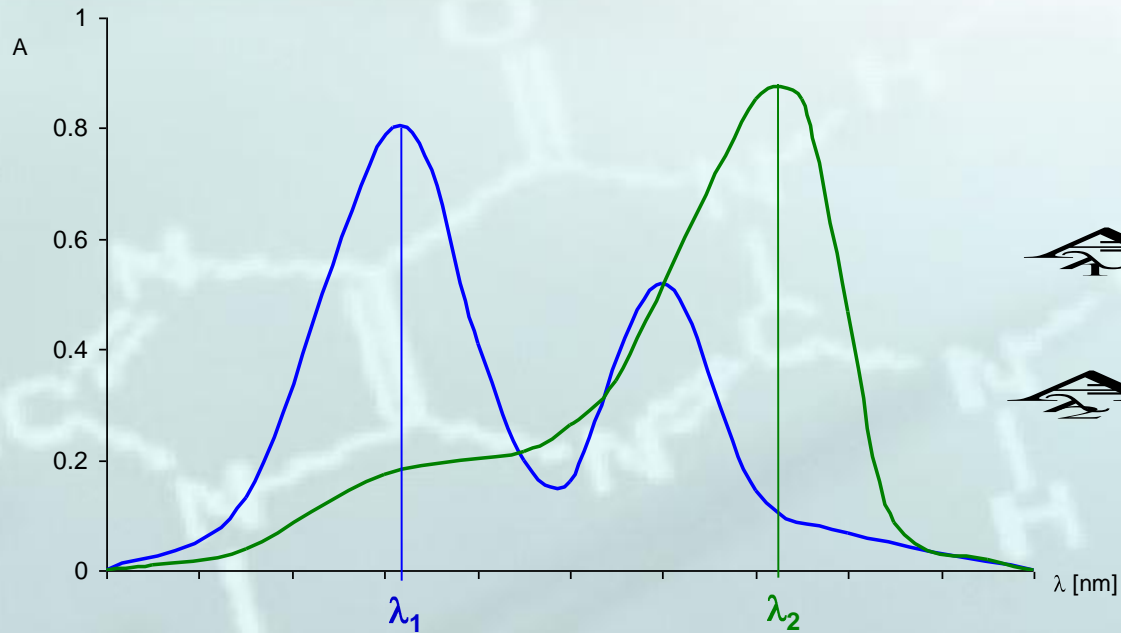
$$A_{\lambda_2} = \epsilon_{Y\lambda_2} \cdot c_Y \cdot l \Rightarrow c_Y = \frac{A_{\lambda_2}}{\epsilon_{Y\lambda_2} \cdot l}$$



~~$$A_{\lambda_1} = \epsilon_{X\lambda_1} \cdot c_X \cdot l \Rightarrow c_X = \frac{A_{\lambda_1}}{\epsilon_{X\lambda_1} \cdot l}$$~~

~~$$A_{\lambda_2} = \epsilon_{Y\lambda_2} \cdot c_Y \cdot l \Rightarrow c_Y = \frac{A_{\lambda_2}}{\epsilon_{Y\lambda_2} \cdot l}$$~~

~~$$A_{\lambda} = \epsilon_{X\lambda} \cdot c_X \cdot l + \epsilon_{Y\lambda} \cdot c_Y \cdot l$$~~

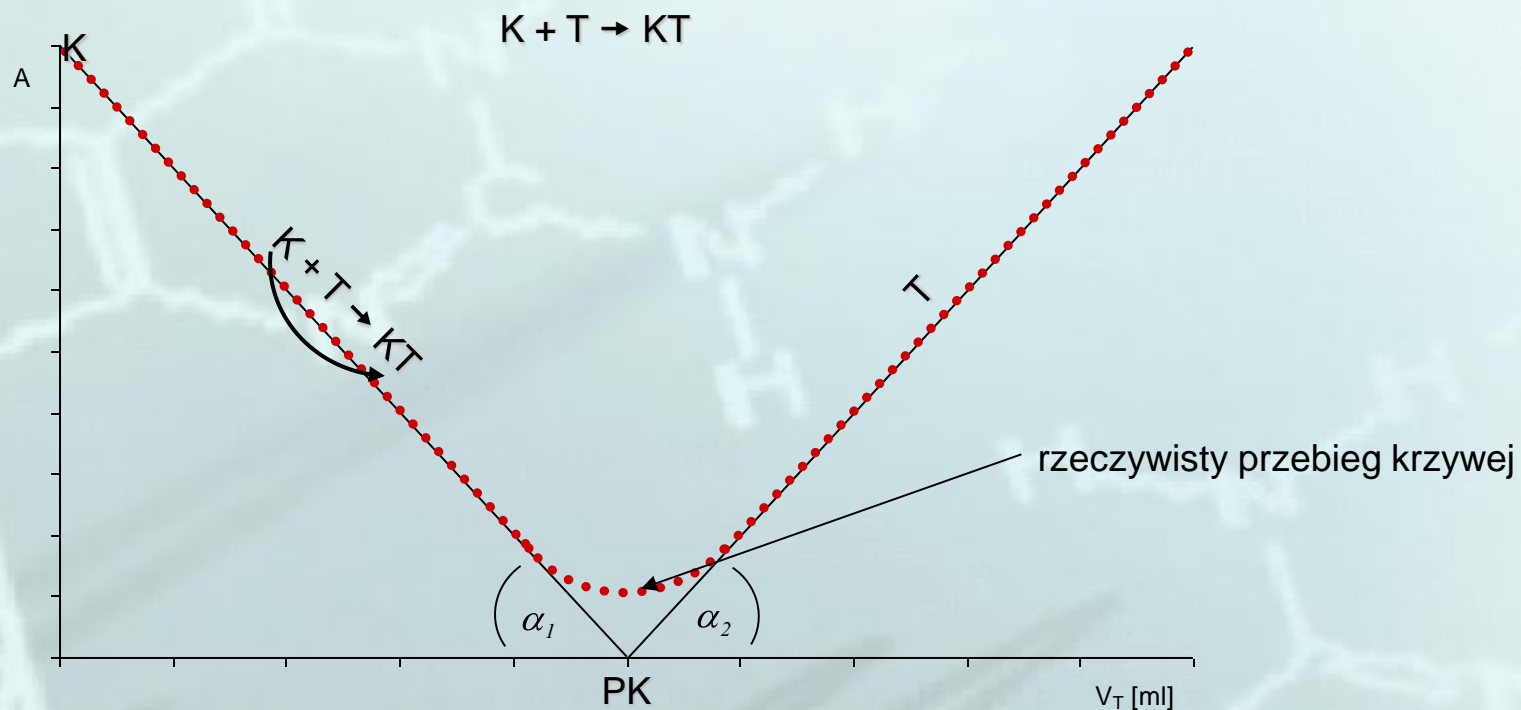


Warunek rozbieżności

$$\frac{E_{\lambda_2}}{E_{\lambda_1}} = \text{mini}$$

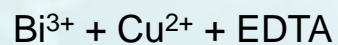
$$\frac{E_{\lambda_1}}{E_{\lambda_2}} = \text{maks}$$

MIARECZKOWANIE SPEKTROFOTOMETRYCZNE



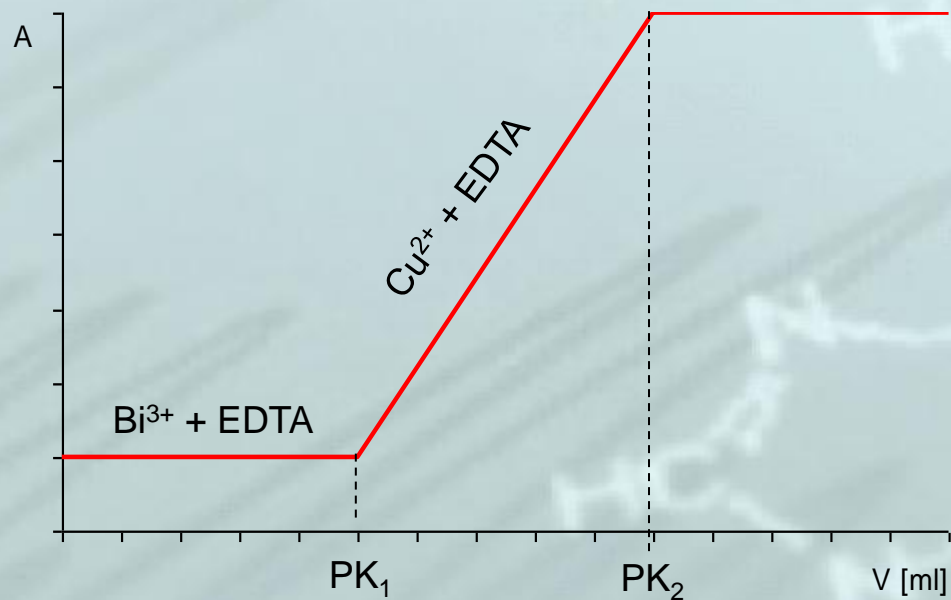
Po PK $A \neq 0$ ($\epsilon \neq 0$) \rightarrow titrant pochłania promieniowanie

MIARECZKOWANIE MIESZANINY DWUSKŁADNIKOWEJ



$$\lambda_{\text{anal}} = 745\text{nm} \quad pK_{\text{BiEDTA}} = 22.8, pK_{\text{CuEDTA}} = 18.8$$

$$\varepsilon_{\text{Bi}^{3+}} = 0 \quad \varepsilon_{\text{EDTA}} = 0 \quad \varepsilon_{\text{BiEDTA}} = 0 \quad \varepsilon_{\text{Cu}^{2+}} < \varepsilon_{\text{CuEDTA}}$$



Spektrofotometryczne wyznaczanie stałej dysocjacji

Związek barwny o charakterze słabego kwasu dysocjuje na jony zgodnie z równaniem:



Stan równowagi reakcji można opisać stałą równowagi zgodnie z równaniem:

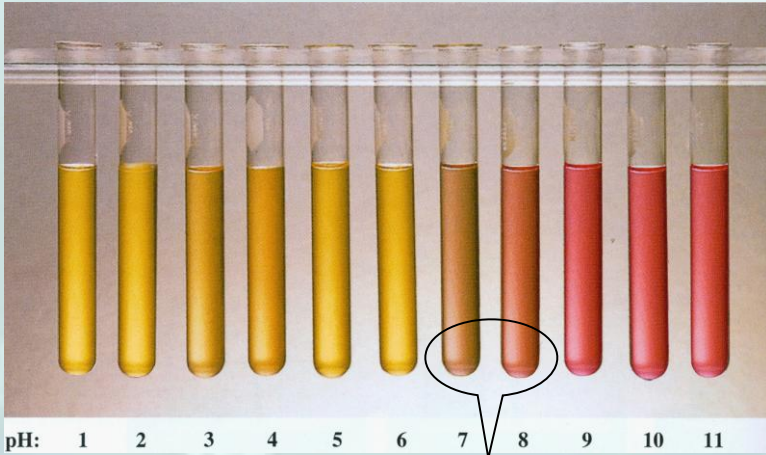
$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

$$\text{p}K = \text{pH} + \log \frac{[\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

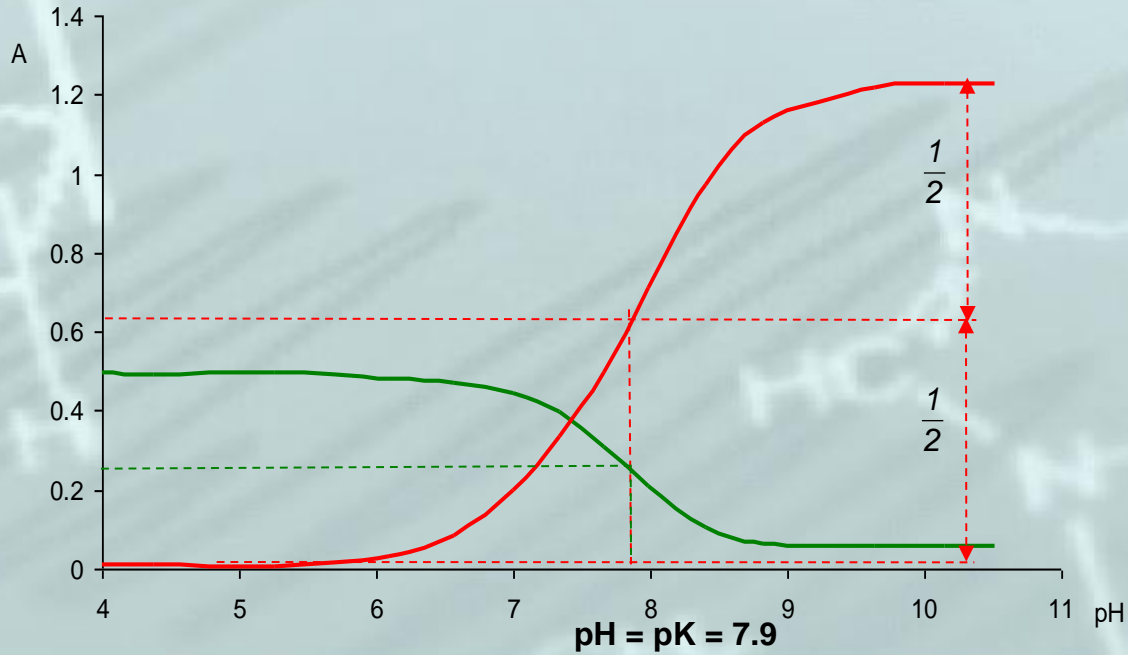
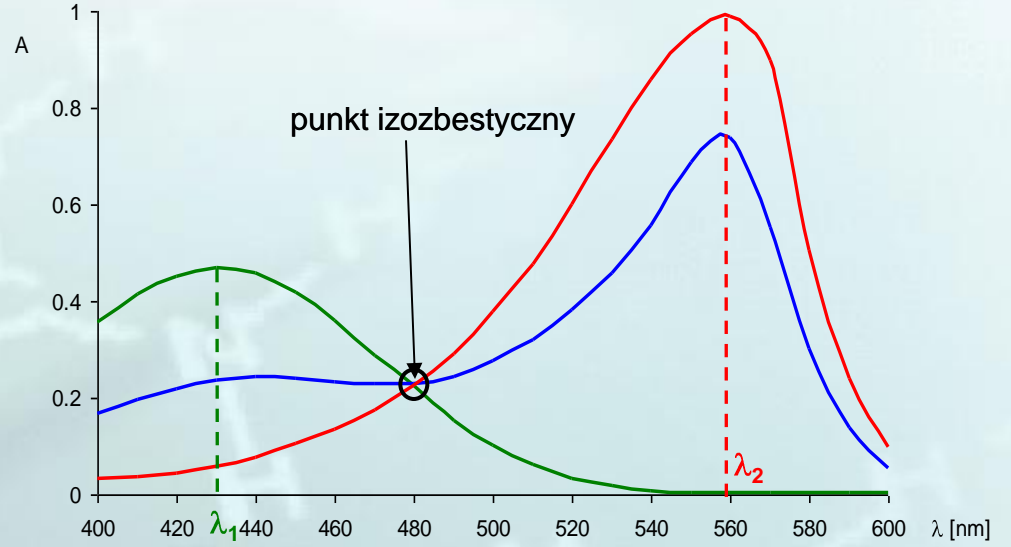
Przy odpowiednio niskim pH w roztworze istnieje tylko forma HIn, a przy odpowiednio wysokim forma In⁻. Dla odpowiedniego pH:

$$[\text{InH}] = [\text{In}^-] \Rightarrow \log \frac{[\text{In}^-]}{[\text{HIn}]} = 0 \Rightarrow \text{p}K = \text{pH}$$

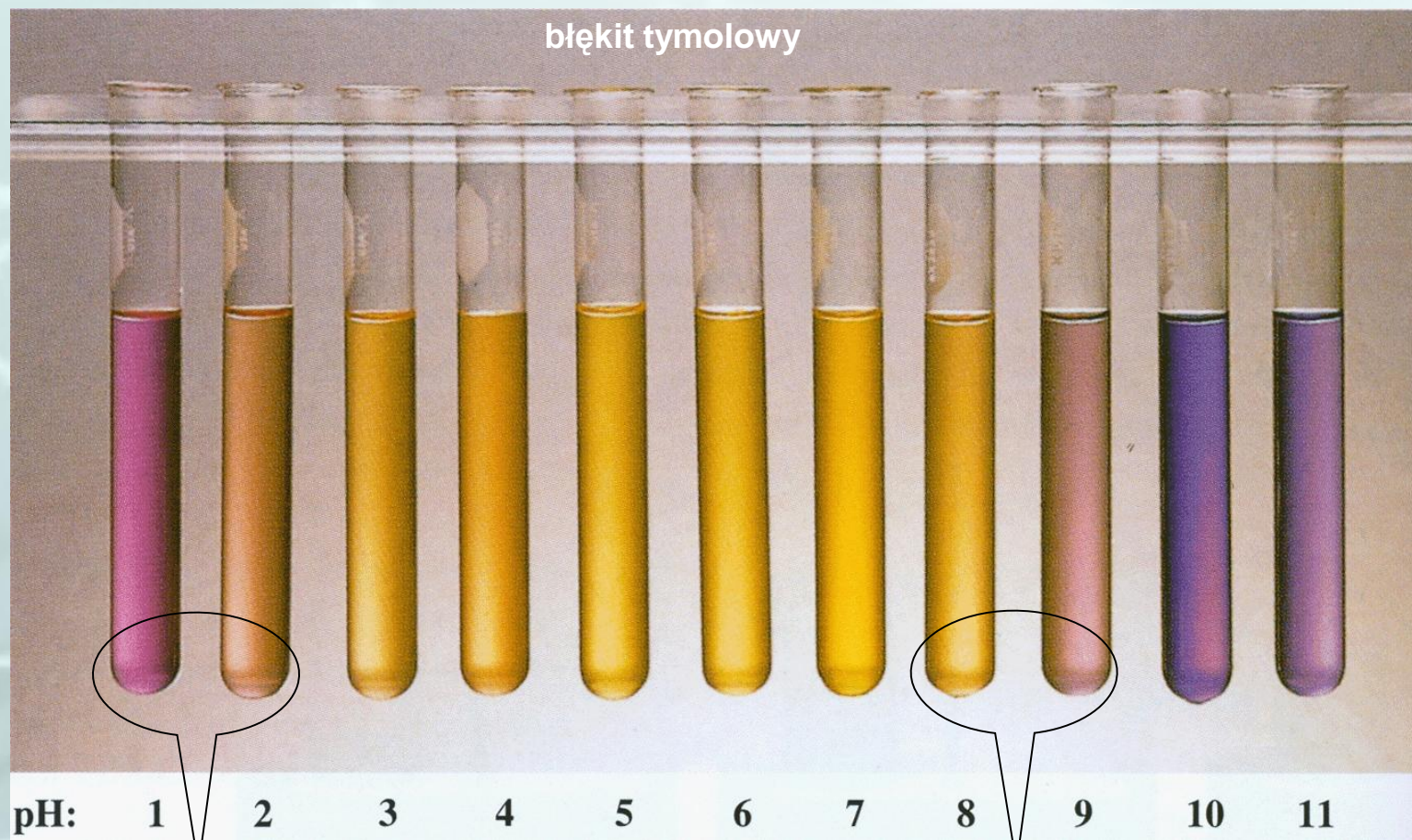
wskaźnik jednobarwny – czerwień fenolowa



zmiana barwy
pH 6.8-8.4



Wskaźnik dwubarwny



zmiana barwy pH 1.2-2.8
 $pK_1 = 1.7$

zmiana barwy pH 8.0-9.6
 $pK_2 = 8.9$

