

SPEKTROFOTOMETRIAI MÉRÉSEK

Elméleti bevezetés

A spektroszkópia, spektrofotometria az egyik legelterjedtebb anyagvizsgálati módszer. Az igen sokféle mérési technika közös alapja az, hogy az anyagok molekuláris,- atomi szintű **energiaátmenetei kvantáltak** és ezek az energiaszintek **jellemzőek** az adott anyagra. Az egyes energiaátmenetekhez meghatározott hullámhosszak (elnyelt vagy kibocsátott) tartoznak a $\Delta E = h\nu = hc/\lambda$ összefüggés alapján. Ha megvizsgáljuk egy gerjesztett állapotban levő anyag sugárzásának, a hullámhossz szerinti eloszlását (spektrumát), abból következtethetünk részben az anyagi minőségre, részben az anyagmennyiségre, sőt némely esetben a molekulaszerkezetre is. Ezt **emissziós színekélelemzésnek** nevezzük. Ugyanez a cél az **abszorpciós fotometriában**, itt egy alapállapotú anyagot világítunk át valamilyen folytonos sugárzással és az át bocsátott/elnyelt sugárzást elemezzük. Legegyszerűbbek és legelterjedtebbek a látható fényel történő mérések, de a szerves molekulák vizsgálatára az infravörös tartományba eső rezgési színeképeket használják, és nagyon sok módszer van, amely a belső pályán lévő elektronok UV vagy RTG szinthez tartozó átmeneteit használja mérésre.

Az anyagok spektroszkópia szempontjából fontos tulajdonsága a színe, amely szoros összefüggésben van molekula-szerkezetükkel. Színesnek akkor nevezünk egy anyagot, ha a ráeső fényből szelektíven abszorbeál, vagy szelektíven ver vissza. Ha pl. valamely anyag a fehér fényből a vöröset nyeli el, akkor a többi spektrumszín keverékét, vagyis a zöldet engedi át vagy veri vissza. (A zöld a vörös kiegészítő színe.) Lehetséges az is, hogy az anyag az ultraibolya vagy az infravörös tartományban abszorbeál, ezt szemünk nem érzékeli, az ilyen anyagokat színtelennek látjuk.

A spektroszkópia hőskora a XIX. század utolsó harmadában volt A hetvenes években fedezték fel, hogy a legtöbb színes szerves vegyület bizonyos hasonló atomcsoportokat tartalmaz, ezeket kromofór (színhordó) csoportoknak nevezték. Ilyen színhordó csoportok pl.: $=C=O$ (keto), $-N=O$ (nitrozo), $-N=N-$ (azo). Ezek az atomcsoportok önmagukban véve sokszor nem is a látható tartományban, hanem az UV-ban vagy IR-ben abszorbeálnak. Ugyanakkor léteznek olyan csoportok, amelyek az előzőekhez kapcsolódva képesek a fényabszorpciót a hosszabb, vagy a rövidebb hullámhosszak felé eltolni, ezeket auxokrom csoportoknak nevezzük. A kromofór csoportokban mindig megtalálhatók a lazábban kötött π elektronok, legtöbbször konjugált kötésben (hosszabb láncszakaszon minden második kötés kettős). A

szervetlen anyagok között nem található ilyen közös szerkezeti elem, itt az anyagi minőség és az atom kémiai környezete dönti el, hogy egy kötő- vagy vegyértékelektron milyen energiával gerjeszthető, azaz milyen hullámhosszúságú fényt nyel el.

Szabadon levő atomok, molekulák esetében (azaz gáz halmazállapotban) a gerjesztő energia néhány diszkrét érték lehet (az elemek energiaszintjei határozott értékek) ennek következtében az elnyelt fény is csak a megfelelő hullámhosszúságú (energiájú) lehet. Ezért a **gázok abszorpciós spektruma vonalas**. **Kondenzált rendszerekben**, így oldatokban is a közvetlen környezet, az erős kölcsönhatás a szomszédokkal azt eredményezi hogy az energiaszint-rendszer zavart szenved, torzul; **energiasávok** alakulnak ki. Ezért az elnyelt fény is egy hullámhossz-sávra terjed ki. Az abszorpciós sáv szélessége és helye is befolyásolható a szomszédos idegen molekulákkal. Az oldószer szolvát burka (vizes oldatban hidrát burka) jelentősen eltolhatja az abszorpciós sáv helyzetét. Pl. a jód ibolya színnel oldódik azokban az oldószerekben, amelyekben nem szolvatálódik, és barna vagy sárga színű, ha igen. Másik példa: a réz ion: hidratáltan kék, vízmentes környezetben színtelen.

Színes oldatok fényabszorpciója :

Az oldatban az oldott ionok vagy molekulák kölcsönhatásba lépnek a megvilágító fény fotonjaival, s azokból energiát nyelnek el. A molekulák energiafelvétele a fényintenzitás csökkenését vonja maga után. A színes oldaton átengedett fény **spektrális összetétele** az oldat anyagi minőségétől, **intenzitása** pedig a koncentrációtól és az átvilágított réteg vastagságától és természetesen az anyagi minőségtől függ (Bouguer - Lambert -Beer törvény)

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

ahol : I az átengedett fény intenzitása;

I_0 a belépő fény intenzitása;

c az oldat koncentrációja, (mól/ l) ;

l a rétegvastagság (az edény szélessége);

α a moláris abszorpciós (extinkciós) koefficiens (függ az anyagi minőségtől , valamint a hőmérséklettől, nyomástól és a megvilágító fény hullámhosszától).

Vezessük be a **$\lg(I_0/I) = A$** (abszorbancia , régebben extinkció) fogalmát:

$$A = \alpha l c .$$

α a definíció értelmében megegyezik annak a rétegvastagságnak a reciprokéval, amelyen áthaladva a fényintenzitás eredeti értékének tizedére csökken. Azok az anyagok,

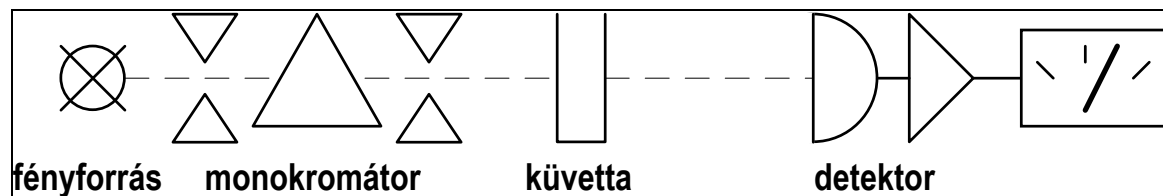
melyeknek az abszorpciós koefficiense a színek látható részében (380 és 780 nm között) állandó, színtelenek (fehérek, szürkék vagy feketék), azok viszont, amelyek extinkciós koefficiense a láthatón belül különböző hullámhosszon más és más - vagyis szelektíven abszorbeál - színesek.

Az I / I_0 hányadost átérésztésnek (transzmittanciának) nevezzük . Ennek értéke 0 és 1 (vagyis 0 és 100% transzmisszió) között változhat. A százalékban mért átérésztés negatív logaritmus az abszorpció

$$A = -\lg T \quad \text{ill.} \quad 100 I/I_0 = T\%$$

Spektrofotométerek általános felépítése

Az általunk használt műszerek mind egy fényutasak. Ezek blokkvázlata az alábbi



A **fényforrás** általában halogénlámpa, amellyel megfelelő stabilitású, folytonos sugárzást lehet előállítani a látható és IR tartományban. Az UV-ben is működő spektrofotométerekben még egy deutérium-lámpa is van, amely kb. 200 és 450 nm között szolgáltat folytonos sugárzást.

A **monokromátor** feladata, hogy a folytonos sugárzásból kiválasszassunk egy hullámhosszt (egy szűk sávot), amely a mintánk elnyelési sávjába esik, hiszen a spektrum összes többi hullámhossza csak fölösleges zaj a detektor számára. Ezért a spektrofotometria sokkal szelektívebb és érzékenyebb a fotometriánál, amelyben folytonos fehér fényt felbontás nélkül használnak. Monokromatikus fény előállításának több módja lehet

- **interferenciaszűrővel** (pl. Spektromom 410) – üvegre párologtatott vékony dielektrikumréteg (rétegrendszer), amelyen a rétegvastagságtól függő szűk hullámhossztartományra van pozitív interferencia az átérésztés irányában, a többi visszaverődik.

- **prizmás monokromátorral** (pl. Spektromom 195) – a prizma a fehér fényt elemeire bontja, a prizma kismértékű forgatásával elérhetjük, hogy a kívánt hullámhosszúságú fény jusson ki a kilépő résen.

- **optikai ráccsal** (pl. Spekol 10) – az optikai rácsról visszaverődő fénysugarak interferenciájának következtében minden hullámhosszra más szögben lesz erősítés, így a prizmaéhoz hasonló színelbontást kapunk. A különbség annyi, hogy a ráccsal előállított spektrum egyenletes lépésközű, míg a prizmánál a felbontás a kék tartomány felé nagyobb, a vörös felé kisebb. A kiválasztott hullámhosszúságú fényt itt is a rács elfordításával juttathatjuk a kilépő részre.

A monokromatikus fény a kilépő rész után a mérendő oldattal töltött küvettán halad keresztül. A **küvetta** igen tiszta üvegből (az UV-ban használt kvarcüvegből) készült, pontosan párhuzamosra csiszolt falú edény, amelyben a fényút is pontosan adott, általában 1,000 cm.

A **fotodetektor** többféle megoldású lehet (leggyakrabban félvezető fotodióda, ritkábban fotocella). Bármelyikre igaz, hogy spektrális érzékenysége nem állandó. (Ez az egyik ok, amiért minden hullámhosszon újra kell állítani a nulla pontot.) A szélesebb hullámhossz-tartományban dolgozó készülékekben két fotodetektort is használhatnak, egyik az UV és a látható alsó fele, másik a látható hosszabb hullámhosszú tartománya és esetleg a közeli IR érzékelésére.

A félvezető fotodetektorok olcsóbbá válása tette lehetővé egy új spektrofotométer típus kialakítását. Ebben egy (jellemzően 512 elemből álló) diódasor érzékeli a kilépő fényt, amely az ún. polikromátorból érkezik. Azaz a rács felbontja a fényt, de nem kell kiválasztani egy hullámhosszt, hanem a diódasor, és a hozzá kapcsolt elektronika egyszerre elemezheti a teljes átérésztési spektrumot.

Mérési elvek

A Lambert-Beer törvény alapján, ha ismerjük az extinkciós koefficienszt, elvileg közvetlen koncentráció- mérést is végezhetnénk, azonban ehhez minden paraméter pontos (hiteles) mérése lenne szükséges. Ezért gyakorlatilag csak összehasonlító módszerrel szoktak a spektrofotometriában mérni.

1. Az első lépés az, hogy megkeressük, kiválasztjuk a használt hullámhosszt. Ez az, ahol a mérendő anyag abszorpciója a legnagyobb, mert itt lesz legjobb a mérés érzékenysége.
2. Ezután a műszer alappontjainak beállítása történik
 - ◆ zárt résnél a 0 % transzmisszió (= végtelen abszorpció) beállítása
 - ◆ a nulla koncentrációhoz tartozó nulla abszorpció (=100%T) beállítása. Tiszta(!) küvettába desztillált vizet töltve a fényintenzitást egy rés segítségével addig szabályozzuk, míg $A = 0$ lesz. (amíg hullámhosszt nem váltunk, ezt a két pontot sem változtatjuk.)

3. Egy vagy néhány kalibráló (standard) oldatot készítünk, amelyek abszorpcióját mérve egy kalibráló egyenest rajzolunk. (A standard oldat akkor alkalmazható jól, ha koncentrációja a mérendő oldatok nagyságrendjébe esik és a nem mérendő komponensekből is kb. ugyanannyit tartalmaz, mint az ismeretlenek).
4. A mérendő mintákat sorban megmérjük, abszorpciójukat lejegyezzük és a kalibrációs egyenesből leolvassuk a koncentrációkat.

Sok olyan anyag van, amelynek oldata színtelen, vagy alig színes, ezek közvetlen mérése nem lehetséges. Ugyanakkor szinte mindegyikhez található olyan (általában szerves) reagens, amellyel reagáltatva már jó abszorpciójú oldatot kapunk. Pl. a Fe^{3+} halványsárga, kb. 0,1 mólos oldata még éppen mérhető egyszerű spektrofotométerben, de ha SCN^- (rodanid) ionokkal reagálhatjuk az érzékenység kb. 10^{-5} mól/l-re nő.

A műszeren (és a kalibrációs grafikonon) az A skála nagyjából 0,02 és 1,5 között használható, azaz a legkisebb és a legnagyobb mérhető koncentráció között kevesebb, mint két nagyságrendnyi különbség van. A méréshatár természetesen nem ennyire szűk, töményebb oldatokat viszonylag könnyű a mérhető tartományba hígítani, hígabb oldatoknál az ügy nehezebb, ha a küvettahossz max. 4-5 cm-re való növelése nem elégséges akkor valamilyen érzékenyebb reagenst kell keresni, esetleg más speciális megoldást lehet alkalmazni.