



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

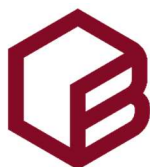
Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Ćwiczenie nr 15

Absorpcja światła (spektroskopia UV/Vis)



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Technologii
i Inżynierii Chemicznej



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Medyczny

PRACOWNIA BIOFIZYKI



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Wstęp

W zakresie UV-widzialnym widma elektromagnetycznego energia kwantów światła jest tak wysoka, że elektrony walencyjne w wiązaniach s oraz wiązaniach p molekuł są wzbudzone, przy czym następujące przejścia elektronowe mają znaczenie:

- Pomiedzy zajętymi a nie zajętymi poziomami energetycznymi π : $\pi \rightarrow \pi^*$
- Przejścia n-elektronów z niezwiązanych atomowych poziomów energetycznych do niezajętych poziomów energetycznych σ : $n \rightarrow \sigma^*$
- Przejścia n-elektronów z niezwiązanych atomowych poziomów energetycznych do niezajętych poziomów energetycznych π : $n \rightarrow \pi^*$
- Pomiedzy zajętymi poziomami wiążącymi a wzbudzonymi poziomami energetycznymi σ : $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Można przypisać pasmo do typu przejścia elektronowego, gdy zostanie określony logarytm dziesiętny molarnego współczynnika ekstynkcji przy maksimum pasma.

$$\varepsilon_i = \frac{E_\lambda}{c_i d}$$

Gdzie ε_i diadyczny molowy współczynnik ekstynkcji substancji i przy długości fali λ , E_λ wygaszanie przy długości fali λ , c_i koncentracja substancji w mol/l, d grubość warstwy w roztworze w cm.

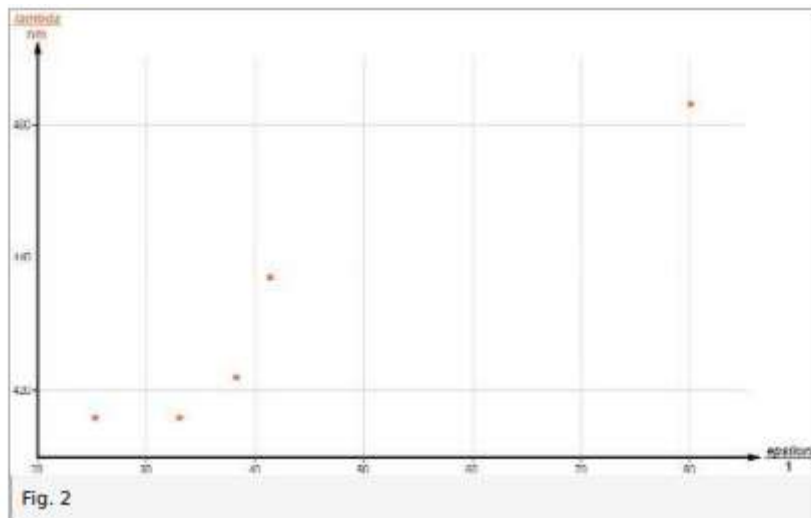
Wartości log większe niż 3 wskazują na przejście $\pi \rightarrow \pi^*$, podczas gdy wartości log ε mniejsze niż 2 wskazują na przejście: $n \rightarrow \pi^*$. Wzbudzenie cząsteczek organicznych wiąże się z przesunięciem ładunku elektrycznego, przy czym rozpuszczalniki polarne wywierają silny wpływ na energię wzbudzenia, a tym samym na położenie pasm. Zasadniczo, polarne stany wzbudzenia w rozpuszczalnikach polarnych są silniej stabilizowane niż stan podstawowy, co sprawia, że przejścia $\pi \rightarrow \pi^*$ wymagają mniej energii. Ta energia dostarczana jest przez promieniowanie o długich falach, co skutkuje przesunięciem ku czerwieni (przesunięcie batochromowe) przy przejściu do polarnych rozpuszczalników (pozytywne przesunięcie hipsochromowe).

Pasmo w zakresie widzialnym w spektrum oranżu metylowego wykazuje wyraźniejsze przesunięcie batochromowe wraz ze wzrostem polarności rozpuszczalnika. Związek ten jest bardzo wyraźnie ukazany na Rysunek 1. , Wyniki, gdzie długości fal maksymalnych absorpcji są wykreślane w stosunku do względnych stałych dielektrycznych rozpuszczalnika (ε_r , **Błąd! Nie można odnaleźć źródła odwołania.**). Odchylenie pokazane przez glikol etylenowy jest spowodowane wpływem wody w dodanym roztworze zapasowym.



Tabela 1. Względne stałe dielektryczne używanych rozpuszczalników.

Rozpuszczalnik	ϵ_r
Etanol	25,3
Metanol	33,0
DMF	38,3
Glikol	41,4
Woda	80,1



Rysunek 1. Wykres długości fal maksimum absorpcji metylooranżu w zależności od względnych stałych dielektrycznych różnych rozpuszczalników.

Zadania

- Wykreślić i omówić widma absorpcji w zakresie widzialnym UV oranżu metylowego w różnych rozpuszczalnikach.
- Na podstawie dekadowych molowych współczynników ekstynkcji pasm w zakresie widzialnym określ typ przejścia elektronowego, które powoduje te pasma, które powoduje powstanie tych pasm.
- Wykreślić długości fal maksimum absorpcji w zakresie widzialnym względem stałych dielektrycznych różnych rozpuszczalników.

Sprzęt

- Spektrofotometr (190-1100 nm)



Rysunek 2. Spektrofotometr (190-1100 nm).

Przebieg ćwiczenia

Spektrofotometr, który jest wymagany, przedstawiony jest na rysunku 1.

Przygotowanie roztworu zapasowego oranżu metylowego o stężeniu 0,001 molowym:

1. Zważ 33 mg oranżu metylowego i umieść go w 100 ml kolbie miarowej.
2. Rozpuść go w wodzie destylowanej, a następnie uzupełnij do znaku wodą destylowaną.

Pomiary spektroskopowe:

3. Użyj komórki kwarcowej do rejestrowania spektrometrów oranżu metylowego w następujących rozpuszczalnikach: wodzie, metanolu, etanolu, N,N-dimetyloformamidu oraz glikolu etylenowym.
4. W każdym przypadku pipetuj 3 ml rozpuszczalnika do komórki kwarcowej i przeprowadź wyrównanie podstawy.
5. Następnie dodaj 50 μ l roztworu zapasowego oranżu metylowego za pomocą pipety i zarejestruj spektrum w zakresie od 800 do 200 nm przy najwolniejszej prędkości skanowania.
6. Pozwól oprogramowaniu określić położenie pasm absorpcyjnych (szczytów) i zanotuj je wraz z odpowiadającymi wartościami ekstynkcji. Oranż metylowy ma jedno pasmo adsorpcyjne w zakresie widzialnym oraz ultrafioletowym.

Opracowanie wyników

Wykonaj wykres długości fal maksymalnych absorpcji oranżu metylowego przeciwko względnym stałym dielektrycznym różnych rozpuszczalników:



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Pytania kontrolne

1. Jakie są podstawowe zasady działania spektroskopii UV/widzialnej i jakie procesy fizyczne są w niej wykorzystywane do analizy substancji?
2. Co to jest współczynnik ekstynkcji molarnej i jak można go obliczyć? Jakie informacje można z niego uzyskać na temat badanego związku chemicznego?
3. Jakie znaczenie mają polarność rozpuszczalników w kontekście przesunięć hipsochromowe podczas pomiarów absorbancji? Wyjaśnij, co to jest przesunięcie batochromowe i hipsochromiczne.
4. Jakie są różnice w widmach absorpcyjnych między substancjami w różnych rozpuszczalnikach i jakie mogą być przyczyny tych różnic?
5. Jakie są zastosowania spektroskopii UV/widzialnej w diagnostyce medycznej oraz jakie konkretne przykłady można podać, ilustrując jej praktyczne zastosowanie w analizie biochemicznej?