

III. SPECTROMETRIA DE ABSORBȚIE MOLECULARĂ UV-VIS

Spectrometria de absorbție moleculară în UV – VIS este o metodă de analiză instrumentală care se bazează pe capacitatea moleculelor probei de analizat (gazoase, lichide sau solide) de a absorbi radiații electromagnetice din domeniile spectrale ultraviolet apropiat (100 -400 nm) și vizibil (400 – 780 nm) (UV – VIS).

Absorbția radiației electromagnetice de către molecule este mult mai complexă decât în cazul atomilor individuali, deoarece moleculele au un număr mult mai mare de stări energetice, între care pot avea loc tranziții, datorate în principal faptului că:

- în molecule atomii formează legături chimice, iar electronii de valență sunt situați pe orbitale moleculare obținute prin întrepătrunderea orbitalelor atomice;
- în molecule nucleeele nu sunt fixe, ci execută anumite mișcări unele față de altele, mișcări care determină vibrația și rotația moleculei.

III.1. Tranziții electronice moleculare

Interacțiunea radiațiilor electromagnetice din domeniile ultraviolet și vizibil cu specii moleculare constau în tranziția electronilor de valență, situați pe un orbital molecular (OM) de legătura σ sau π , sau pe un orbital de nelegătură n , pe un orbital molecular de antilegătură σ^* sau π^* (Fig. 3.1).

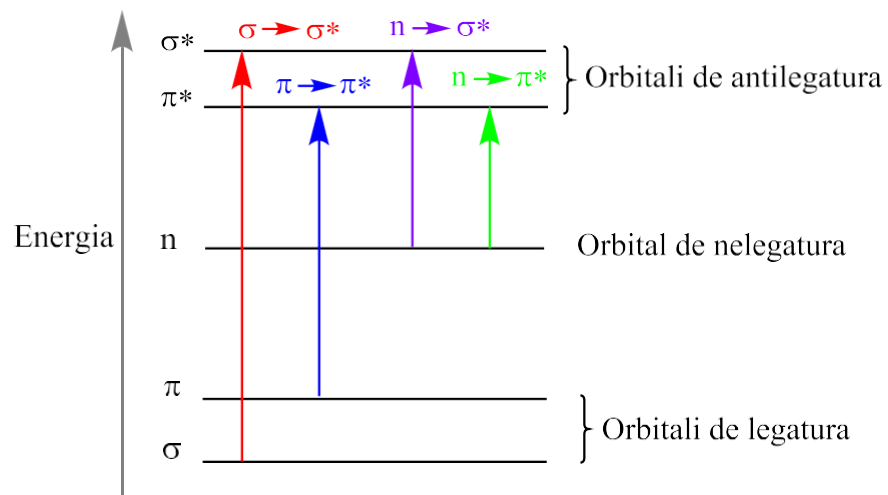


Figura 3.1. Nivele energetice moleculare și tranziții

Astfel tranzițiile electronice care pot avea loc între orbitalii moleculari pot fi reprezentate astfel:

tranziții $\sigma \rightarrow \sigma^*$, conform cărora un electron poate fi promovat dintr-un OM de legătură σ pe cel de antilegătură σ^* . Datorita valorilor mari corespunzătoare diferenței dintre nivelele energetice ale OM de legătură σ și OM de antilegătură σ^* (aprox. 185 kcal/mol), producerea acestor tranziții pot avea loc numai în urma interacțiunii speciilor moleculare cu radiații electromagnetice al domeniului ultraviolet UV în vid cu lungimi de unda 10 – 200 nm. Benzile de absorbție corespunzătoare tranzițiilor $\sigma \rightarrow \sigma^*$ se situează în afara domeniului uzual de măsură. Astfel de tranziții electronice se produc în cazul moleculelor alcanilor, care din acest motiv pot fi folosiți drept solvenți "transparenti" pentru înregistrarea spectrelor UV-VIS.

tranziții $n \rightarrow \sigma^*$ în care un electron provenind dintr-o pereche de electroni neparticipanți la legături (n), poate fi promovat dintr-un orbital atomic într-un orbital molecular de antilegătură σ^* . Sunt tranziții permise de regulile de selecție și conduc la înregistrarea unor benzi intense de absorbție în spectrul UV, situate la valori mici ale lungimii de unda $\lambda \approx 150$ (tabelul 3.1) Compușii organici care duc la înregistrarea acestui tip de benzi de absorbție sunt compuși saturați conținând grupări funcționale formate din atomi ce prezintă perechi de electroni neparticipanți la legături (derivați halogenați, alcooli, eteri, amine, tioli). Acești compuși sunt adesea folosiți drept solvenți la înregistrarea spectrelor de absorbție în subdomeniul ultraviolet apropiat (300 – 400 nm) și vizibil ale speciilor cu absorbții intense la lungimi de unda mai mari.

tranziții $\pi \rightarrow \pi^*$ în decursul cărora un electron poate fi promovat de pe un orbital molecular de legătură π pe cel de antilegătură π^* . Aceste tranziții apar la lungimi de undă situate în domeniul de radiații electromagnetice uzual (ultraviolet apropiat și vizibil) și sunt cele mai mult studiate din punct de vedere experimental. Benzile corespunzătoare tranzițiilor $\pi \rightarrow \pi^*$ au intensitățile cele mai mari din spectrele UV-VIS. Ele apar în spectrele de absorbție ale compușilor organici, care conțin grupări nesaturate cum ar fi: alchene, alchine, aldehide și cetone, acizi carboxilici, amide, nitroderivați, azoderivați, compușii anorganici și coordinativi colorați.

tranziții $n \rightarrow \pi^*$ în care un electron provenind dintr-o pereche de electroni neparticipanți la legături (n) ai unui atom, poate fi promovat pe un orbital molecular de antilegătură π^* . Aceste tranziții sunt "interzise" din punct de vedere al regulilor de selecție (din considerente de simetrie) astfel încât probabilitatea producerii lor este destul de mică, iar intensitatea benzilor corespunzătoare din spectrele UV-VIS este scăzută.

Generalizând cele expuse, se poate de concluzionat:

- un electron poate fi promovat de pe un orbital molecular de legătură σ pe orbital de antilegătură σ^* (tranziție $\sigma \rightarrow \sigma^*$)
- un electron poate fi promovat de pe orbital molecular de legătură π pe orbital de antilegătură π^* (tranziție $\pi \rightarrow \pi^*$);
- un electron din perechea de electroni neparticipanți la legături (n) poate fi promovat de pe un orbital atomic pe un orbital molecular de antilegătură π^* (tranziție $n \rightarrow \pi^*$);

- un electron din perechea de electroni neparticipanți la legături (n) poate fi promovat de pe orbital atomic pe un orbital molecular de antilegătură σ^* (tranziție $n \rightarrow \sigma^*$).

Este de reținut însă faptul că tranzițiile electronice sunt însoțite în cele mai multe cazuri de tranziții între stări energetice de vibrație și rotație (fig. 3.2) ceea ce conferă o structură fină benzilor de absorbție electronică. Această structură nu se poate observa decât pentru anumite tipuri de molecule. Frecvent, benzile de absorbție datorită vibrației și rotației (ce însoțesc o tranziție electronică) se contopesc, dând naștere unei benzi de absorbție late. Tranziția electronică determină poziția acestei benzi în spectru, iar tranzițiile de vibrație și rotație lățimea ei.

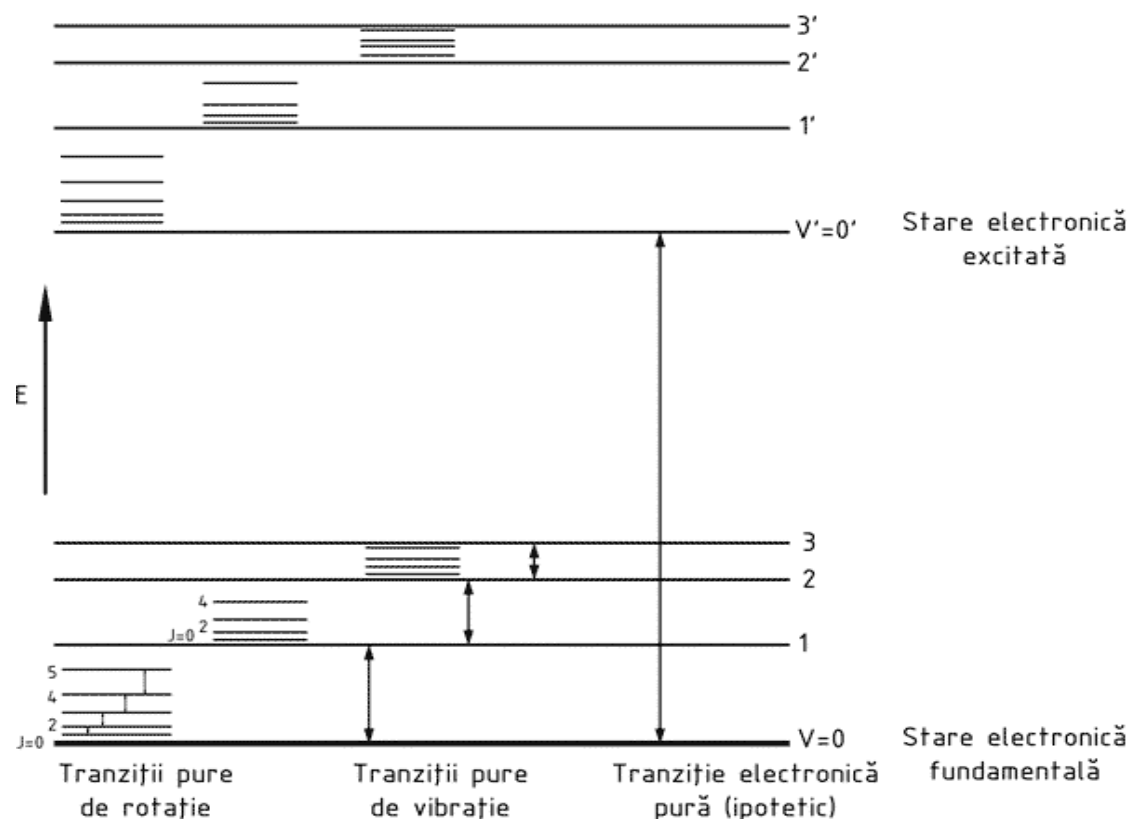


Figura 3.2. Tranziții între stări energetice de rotație, vibrație și electronice în molecule.

Frecvent, în urma unei tranziții electronice se modifică în mare măsură geometria moleculei față de starea inițială,

aceasta datorită slăbirii legăturii la care participă electronul ce au trecut pe nivelul excitat.

Domeniul radiațiilor electromagnetice	Intervalul de lungimi de undă λ , nm	Tipul tranzițiilor energetice	Domeniu energetic (Kcal/mol)
Ultraviolet în vid	10 – 200 nm	Electronică	286 - 143
Ultraviolet mediu	200 – 300 nm	Electronică	143 - 82
Ultraviolet apropiat și vizibil	300 – 800 nm	Electronică	82 - 36
Infraroșu apropiat	800 – 2000 nm	Vibrații	36 – 14,3
Infraroșu mediu	2000 – 16000 nm	Vibrații	14,3 - 8
Infraroșu îndepărtat	16 – 300 μm	Vibrații	8 - 1
Microunde	~ 1 cm	Rotații	$\sim 10^{-4}$
Radio	~ 1 m	Spin nuclear și electronic	$\sim 10^{-6}$

Tabelul 3.1. Domeniile radiațiilor electromagnetice și tranzițiile energetice provocate la interacțiunea cu speciile chimice

Tranzițiile electronice au loc într-un timp foarte scurt (10^{-15} s) corespunzând perioadei de oscilație a radiației electromagnetice, perioadă în care fotonul și molecula sunt în contact. Acest timp este mult mai scurt decât perioada de vibrație a atomilor ($10^{-10} - 10^{-13}$ s). Se poate considera deci, că în timpul tranziției electronice nucleele nu-și schimbă practic poziția, iar moleculele excitate electronic pot fi considerate imediat după tranziție într-o geometrie practic identică cu a stării lor fundamentale. Din acest motiv, tranzițiile electronice pot fi reprezentate sub forma unor linii verticale într-o diagramă energetică (fig. 3.3). Principiul Frank-Condon ne indică probabilitățile tranzițiilor de vibrație care însoțesc tranzițiile electronice. Tranzițiile sunt cele mai probabile în momentele în care molecula adoptă în cursul vibrațiilor o geometrie comună stării fundamentale și a celei excitate.

Să considerăm o moleculă în stare fundamentală. Deoarece aceasta vibrează chiar când se află pe nivelul de vibrație cel mai inferior, trebuie considerat un domeniu al distanței internucleare. Se poate considera că cea mai probabilă distanță internucleară va fi însă cea corespunzătoare poziției de echilibru, amplitudinea vibrațiilor fiind mică. Pentru stări vibraționale cu energie mai mare, cea mai probabilă poziție a nucleelor este la sfârșitul vibrațiilor, când atomii se opresc și își schimbă direcția.

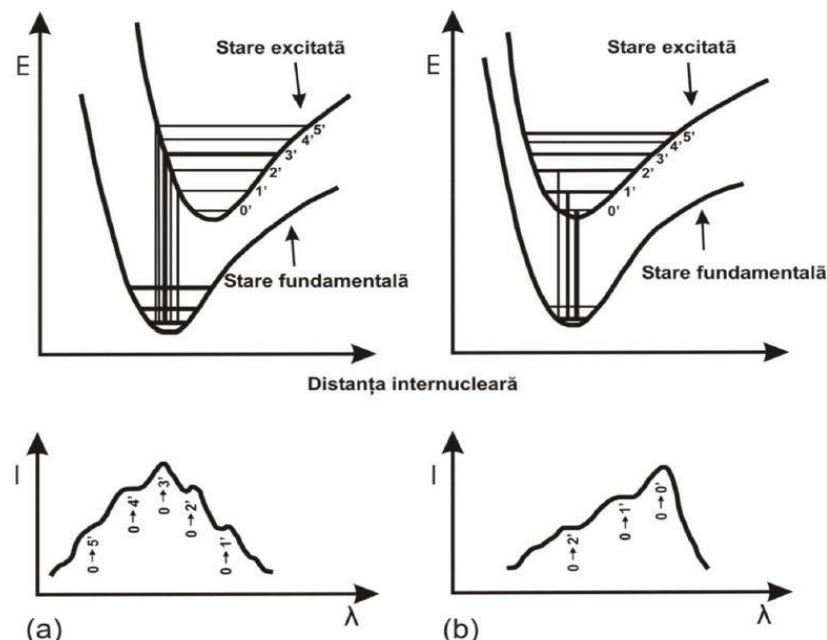


Fig. 3.3. Tranziții electronice însoțite de tranziții de vibrație conform principiului Frank-Condon și spectrele de absorbție corespunzătoare: (a) – cu slăbirea legăturii; (b) – fără slăbirea legăturii.

Fiecare formă de mișcare generează un anumit tip de energie, astfel energia totală a unei molecule (E_t) poate fi reprezentată ca suma a trei componente:

$$E_t = E_{el} + E_v + E_r$$

unde: E_{el} – energia electronilor din orbitalele moleculare;

E_v – energia de vibrație a moleculei;

E_r – energia de rotație a moleculei.

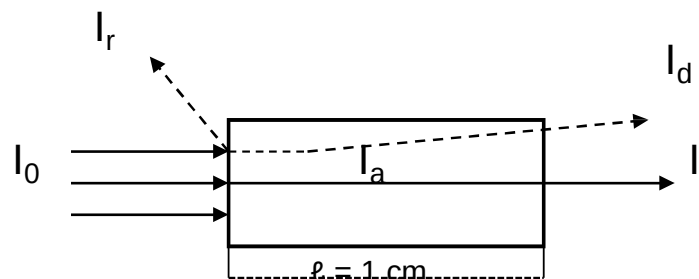
Fiecare din aceste forme de energie sunt cuantificate, astfel că molecula poate avea anumite stări electronice, de vibrație sau de rotație, stări care se pot modifica prin absorbția unei cuante de radiații electromagnetice corespunzătoare.

Trecerea moleculei prin absorbție de radiații din starea energetică fundamentală (energie minimă) în stare excitată este însoțită de variația uneia, a două sau a celor trei forme de energie moleculară.

Deoarece: $\Delta E_{el} \gg \Delta E_v \gg \Delta E_r \Rightarrow$ spectrele de tranziție electronice vor fi însoțite întotdeauna de spectrele de vibrație, iar spectrele de vibrație vor fi însoțite de spectrele de rotație. Prin urmare, în **cazul moleculelor** spectrele electronice și cele de vibrație sunt spectre de benzi, în timp ce spectrele de rotație sunt spectre de linii, și apar în domenii spectrale diferite.

III.2. Legea cantitativă a absorbției moleculare (Bouguer-Lambert-Beer)

La trecerea unui fascicul de radiații monocromatice printr-un strat de probă (cuva cu soluție ce conține specia absorbantă, de grosime ℓ), intensitatea radiațiilor scade datorită fenomenelor de difuzie, reflexie și absorbție.



unde: I_0 – intensitatea radiației incidente, I_r – intensitatea radiației reflectate, I_d – intensitatea radiației difuzate, I_a – intensitatea radiației absorbite, I_t – intensitatea radiației transmise.

$$I_0 = I_r + I_d + I_a + I_t$$

Într-un mediu omogen, fenomenele de reflexie și difuzie a radiațiilor pot fi neglijate și atunci:

$$I_0 = I_a + I_t \quad \text{sau} \quad I_a = I_0 - I_t$$

Mărimile I_0 și I_t pot fi determinate prin măsurători experimentale directe și sunt utilizate în caracterizarea cantitativă a fenomenului de absorbție de către proba de analizat deoarece I_a depinde de numărul de particule ale speciei de analizat cu care interacționează radiația electromagnetică. Relația dintre concentrația speciei absorbante și slăbirii intensității radiațiilor electromagnetice în rezultatul interacțiunii acestora cu soluția speciei absorbante, poate fi pusă în evidență efectuând următoarele notări și calcule:

▪ **transmitanța (T)** – capacitatea mediului (soluției) de a transmite radiația electromagnetică. Primește valorile între 0 și 1: $T = \frac{I_t}{I_0}$ sau în procente de la 0 și 100% $T, \% = \frac{I_t}{I_0} \cdot 100\%$.

▪ **absorbanța (A)** - capacitatea mediului (soluției) de a absorbi radiația electromagnetică. Primește valorile între 0 și

∞ , dar practic domeniul de măsurare este cuprinsă între 0 și 2: $A = -\lg T = \lg \frac{I_0}{I_t}$ (3.1)

Slăbirea intensității radiației ($-dI$) într-un strat absorbant infinit de mic ($d\ell$) este direct proporțională cu intensitatea radiației (I), în acel punct: $-dI = k \cdot I \cdot d\ell$

Integrând ecuația pe întreg drumul parcurs de radiație (de la 0 când intensitatea are valoarea I_0 , la I – când valoarea intensității este I_t) se obține:

$$\ln \frac{I_0}{I_t} = k \cdot \ell \quad (3.2) \quad \text{de unde:} \quad I_t = I_0 \cdot e^{-k \cdot \ell} \quad (3.3)$$

Formula 3.3 este expresia matematică a legii Bouguer – Lambert.

Beer a demonstra că atunci, când absorbția de radiații este datorată unei singure specii dizolvate, constanta de proporționalitate k este proporțională cu concentrația acesteia:

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = \varepsilon \cdot C \quad (3.4)$$

Îmbinând cele stabilite de către Bouguer și Lambert cu rezultatele Lui Beer obținem:

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = \varepsilon \cdot C \cdot \ell \quad (3.5)$$

$$\text{sau} \quad A = \varepsilon \cdot C \cdot \ell \quad (3.6)$$

unde: A este absorbanța, care se măsoară cu aparate speciale;

ℓ - grosimea stratului absorbant (lungimea drumului parcurs de radiația electromagnetică în sistemul absorbant, cm)

ε – coeficientul molar de absorbție (coeficient molar de extincție), caracteristică calitativă a speciei absorbante respective. Depinde de natura speciei absorbante, de lungimea de unde și de natura solventului soluției. Pentru soluțiile speciei absorbante date în același solvent la o lungime de undă coeficientul molar de absorbție are o mărime constantă. Formula 3.6 reprezintă expresia matematică a legii Bouguer-Lambert-Beer, legea de bază a absorbției luminii, și arată că absorbanta unui sistem omogen transparent (a unei soluții) este proporțională cu concentrația speciei absorbante în soluție (mol/L) și grosimea stratului absorbant (cm), sau altfel spus, exprimă relația dintre absorbanta soluției, concentrația speciei absorbante în soluție și grosimea stratului absorbant. Astfel legea Bouguer-Lambert-Beer este legea cantitativă a absorbției radiației electromagnetice în domeniul UV-VIS.

Examinând ecuației (3.6) se poate observa că dacă $\ell = 1\text{cm}$ și $C = 1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, atunci $\varepsilon = A$. Așadar, coeficientul molar de extincție reprezintă absorbanta unei soluții de concentrație 1 mol/L și grosimea stratului absorbant (calea parcursă de radiația electromagnetică prin sistemul absorbant) egală cu 1 cm. Legea este riguros respectată doar pentru o radiație monocromatică. Cu cât radiația electromagnetică absorbită de speciile chimice este mai omogenă după lungimea de undă (intervalul lungimilor de undă este mai îngust), cu atât linearitatea dependenței $A = f(C)$ se respectă pe un domeniu mai larg de concentrații. Astfel, reieșind din aceste considerente, se recomandă de folosit aparate care dispersează fasciculul de radiații electromagnetice cât mai bine pentru a expune proba analizată unui fascicul cât mai îngust. Aceasta se poate realiza lucrând cu fanta de intrare și de ieșire cât mai înguste. Dar deoarece intensitatea fascicului radiațiilor electromagnetice scade cu îngustarea fantei, performanțele metodei sunt condiționate și de capacitatea detectorului sau a amplificatorului în cazul folosirii ultimului.

O altă mărime utilizată în spectrofotometria UV-VIS este *absorbanța specifică (coeficient de extincție specifică sau simplă extincție specifică)*. Se notează $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ sau $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ și reprezintă absorbanta unui strat de soluție cu concentrația 1% (masa/volum) și grosimea de 1 cm, la o anumită lungime de undă. Este de asemenea o constantă ce caracterizează fiecare substanță.

Domeniul de concentrații al metodei, pentru care se respectă liniaritatea funcției $A = f(C)$, și respectiv al valabilității legii Bouguer-Lambert-Beer, din nefericire nu este prea larg. În general, peste nivele de concentrație de $10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ curba de etalonare își modifică panta (de regulă aceasta scade). De aceea, *metoda este adecvată mai ales pentru soluții diluate și nu este o metodă potrivită pentru analize de componente majore* (adică substanțe aflate în concentrații mai mici de 10^{-3}mol/L în probele analizate).

Observație: Absorbanța este o mărime aditivă $\Rightarrow$ dacă în soluția de analizat sunt prezente mai multe specii care absorb la aceeași lungime de undă, absorbanta soluției de analizat va fi egală cu suma absorbantelor speciilor individuale:

$$A = \sum A_i = \sum \varepsilon_i \cdot \ell \cdot C_i \quad (3.7)$$

unde: A_i , ε_i și C_i – reprezintă absorbanta, coeficientul molar de absorbție și respectiv concentrațiile speciei „i”.

Astfel, a doua lege care caracterizează absorbția unui sistem policomponent este legea aditivității.

Legea Bouguer-Lambert-Beer este valabilă pentru întreg domeniul spectral UV – VIS, indiferent de lungimea de undă, atunci când sunt îndeplinite următoarele condiții:

- *radiația incidentă trebuie să fie perfect monocromatică, să conțină raze paralele, care să cadă perpendicular și uniform distribuite pe suprafața mediului absorbant;*
- *reflexia și absorbția radiațiilor de către pereții cuvei să fie neglijabile;*
- *intensitatea radiației incidente să nu fie prea mare pentru a duce la efecte de saturație a absorbției și astfel la limitarea semnalului detectorului optic;*
- *mediul absorbant să fie suficient de diluat, astfel încât speciile absorbante (moleculele) să interacționeze independent unele față de altele cu radiația electromagnetică;*
- *prezența moleculelor solventului să nu influențeze interacțiunea radiația electromagnetică-specie absorbantă și absorbția solventului să fie neglijabilă.*
- *mediul absorbant să fie omogen și să nu aibă loc o dispersie a luminii la trecerea prin acesta;*
- *grosimea mediului absorbant să fie uniformă pe toată suprafața transversală a cuvei (lungimea drumului optic al radiației prin mediul absorbant să fie egal pe toată suprafața transversală a mediului absorbant)*
- *proba analizată este omogenă, indiferent de starea ei de agregare gazoasă sau lichidă;*
- *scăderea intensității radiației incidente se datorează numai absorbției de către speciile chimice;*
- *domenii limitate de concentrație (concentrația speciei absorbante să fie mai mică de 10^{-2} mol/L).*

Dacă aceste condiții nu se respectă, apar abateri de la linearitate dependenței $A_{(x)} = f(C_{(x)})$ (legea Bouguer-Lambert-Beer).

III.3. Spectrele de absorbție moleculară în UV – VIS

Spectrele de absorbție reprezintă dependența grafică a cantității de radiații electromagnetice din domeniul dat de speciile sistemului analizat de lungimea de undă sau frecvența radiației. Există mai multe variante de prezentare a spectrelor de absorbție, dar cea mai frecvent utilizată este varianta reprezentării dependenței *absorbanței în funcție de lungimea de undă*: $A = f(\lambda)$. Celelalte variante, mai puțin utilizate, numite toate spectre de absorbție sunt:

$T = f(\lambda)$; $\log A = f(\lambda)$; $\varepsilon = f(\lambda)$ sau $\log \varepsilon = f(\lambda)$. Ultimele două servesc în special pentru caracterizarea speciilor moleculare. Rareori spectrele electronice de absorbție în UV-VIS se reprezintă în forma brută, când se indică λ absorbanței maxime.

Spectrele de absorbție moleculară în domeniul UV – VIS se mai numesc *spectre electronice*, deoarece sunt determinate de tranzițiile electronilor moleculari din starea fundamentală în stare excitată, mai bogată în energie. Energiile corespunzătoare acestor tranziții sunt cuprinse între 30 și 300 kcal/mol.

Peste un timp foarte scurt după trecerea în starea energetică superioară ca rezultat al absorbției energiei radiațiilor electromagnetice (aproximativ 10^{-9} secunde), moleculele excitate revin în starea energetică fundamentală (prin emisie de radiații electromagnetice sau prin relaxare internă), fiind capabile să absoarbă din nou radiații.

Să considerăm o bandă de absorbție moleculară în domeniul UV-VIS:

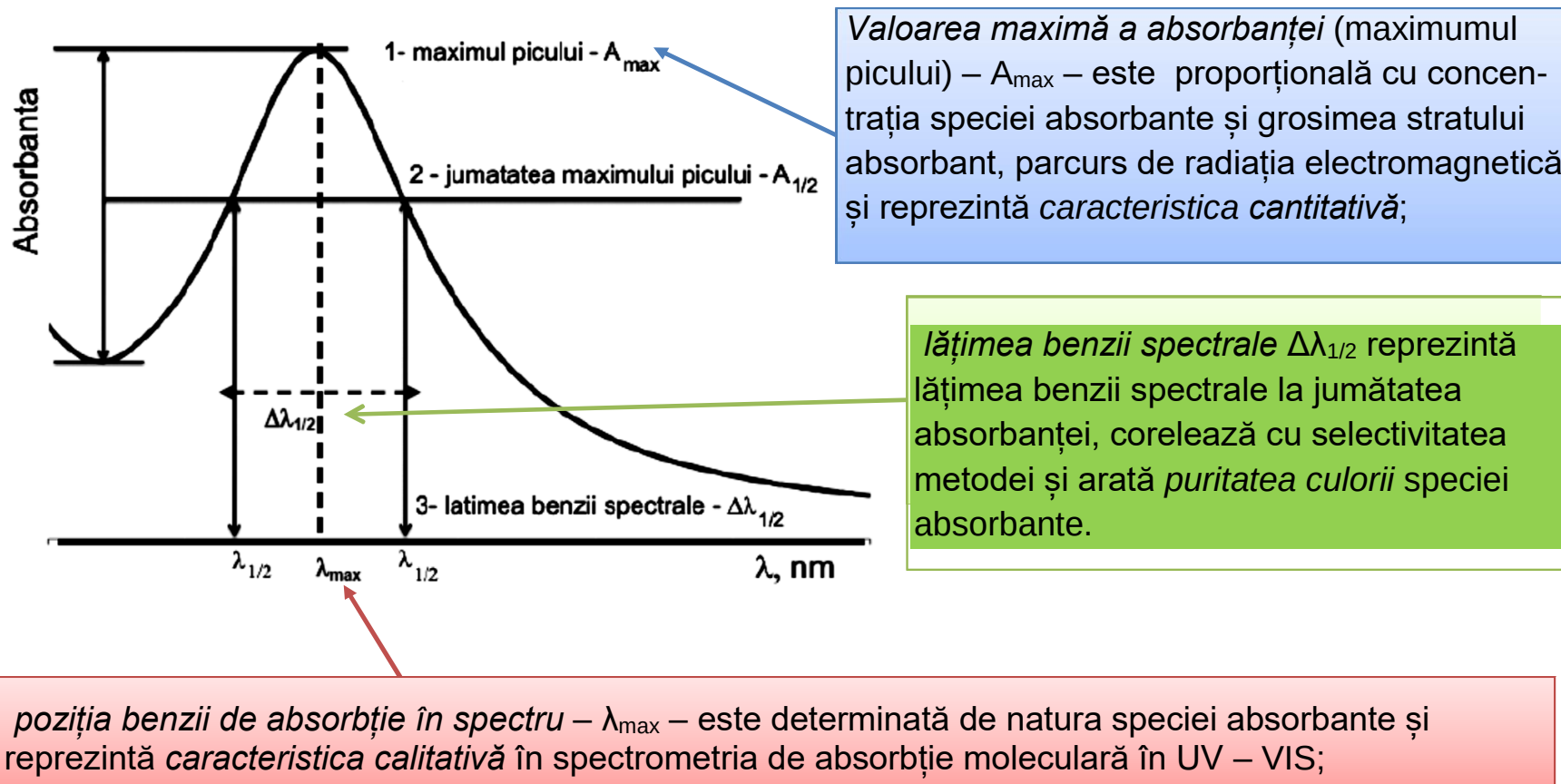


Fig.3.4. Caracteristicile unei benzi de absorbției în spectroscopia UV-VIS.

Forma unui spectru individual de absorbție al unei specii chimice moleculare **reprezintă o gaussiană, care în** mod normal, ar trebui să fie simetrică. Însă datorită slăbirii legăturilor chimice, electronii cărora participă la tranziții energetice, are loc deformarea acesteia. În plus, în majoritatea cazurilor în moleculă se pot afla electroni, care vor avea o energie de tranziție (ΔE) diferită, și atunci benzile de absorbție se pot suprapune parțial.

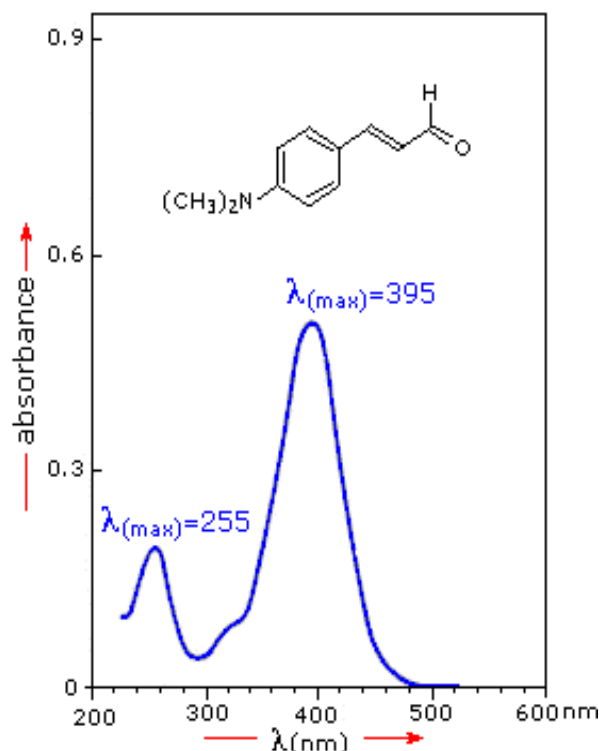


Fig. 3.5. Spectru electronic de absorbție

Principalele caracteristici ale unui spectru electronic de absorbție în UV-VIS sunt: **poziția benzii de absorbție** (lungimea de undă la care specia chimică respectivă absoarbe maximal (λ_{max}), **și mărimea absorbanței**.

Poziția benzii de absorbție depinde de natura speciei absorbante și lungimea de undă a absorbantei maxime (λ_{max}), corespunde lungimii de undă a radiației electromagnetice a cărei energie este egală cu energia necesară pentru producerea unei tranziții electronice.

Intensitatea absorbantei depinde de doi factori: **probabilitatea interacțiunii** dintre radiația electromagnetică și structura electronică a speciei, astfel încât să devină posibilă efectuarea unei tranziții din starea fundamentală într-o stare excitată, și **polaritatea stării excitate**.

În unele cazuri se ia în considerație și lățimea benzii de absorbție care, caracterizează puritatea sistemului studiat (se are în vedere benzile de absorbție a soluțiilor standard).

Prin interpretarea spectrelor de absorbție moleculară în UV – VIS se obțin informații calitative și cantitative despre proba de analizat.

Fiecare substanță are un spectru de absorbție caracteristic, ca formă generală, ca domeniu spectral, ca număr de maxime (denumite picuri) precum și ca raporturi între intensitățile diverselor picuri.

Caracteristicile unui spectru sunt redate pe fig. 3.4. Spectrul electronic de absorbție UV-VIS a unei substanțe poate avea unul sau mai multe maxime de absorbție. Numărul de maxime precum și forma generală a curbei, reprezintă **caracteristica calitativă**, după care se pot identifica substanțele.

În studiile spectrofotometrice a compușilor chimici, în special al compușilor coordinativi, și în scopuri analitice se mai folosesc și așa numitele spectre derivate. Spectrul de absorbție, care reprezintă dependența grafică a absorbantei funcție de lungimea de undă $A = f(\lambda)$ este **spectru de ordin 0**. Derivând acest spectru se obțin spectre derivate. În (fig. 3.6) sunt prezentate efectele derivării unui spectru cu un singur maxim de absorbție.

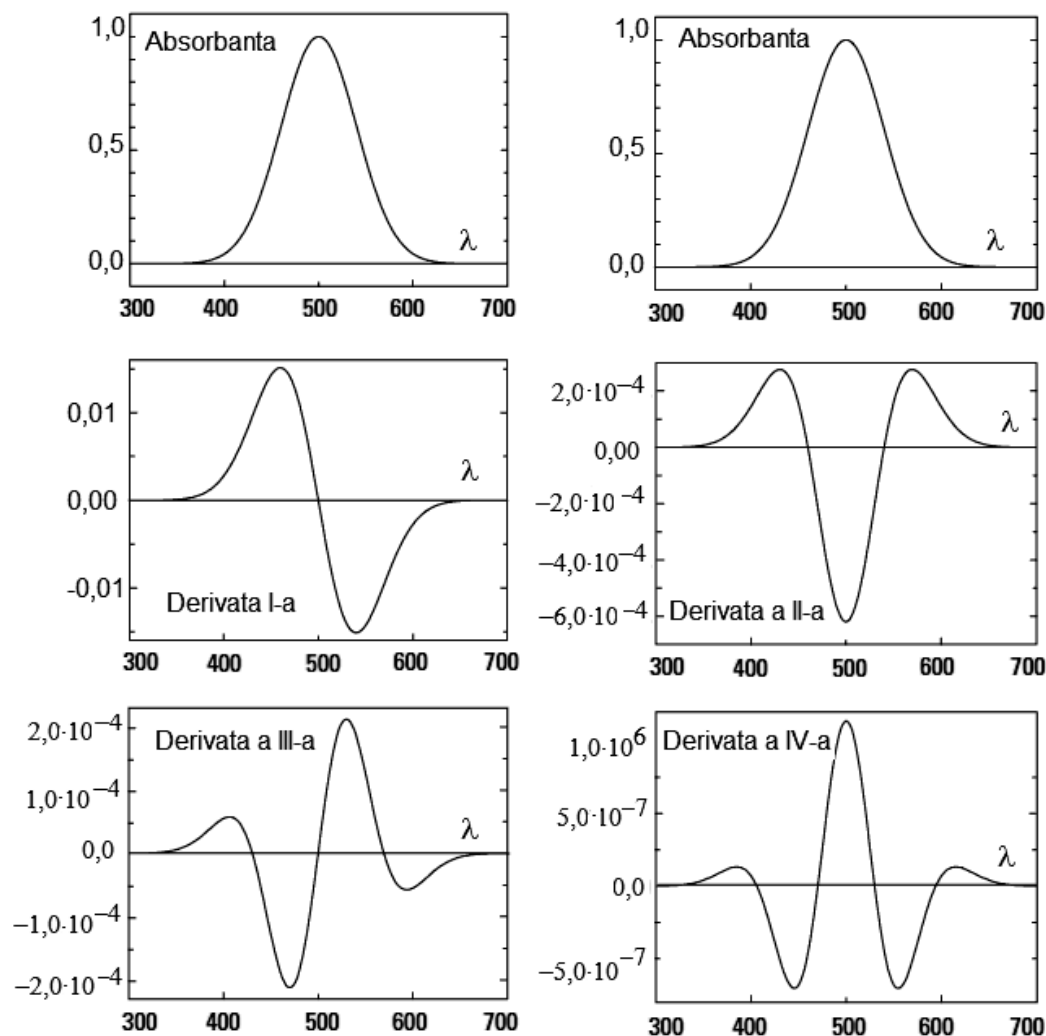


Figura 3.6. Spectrul electronic de absorbție în UV-VIS și derivatele lui.

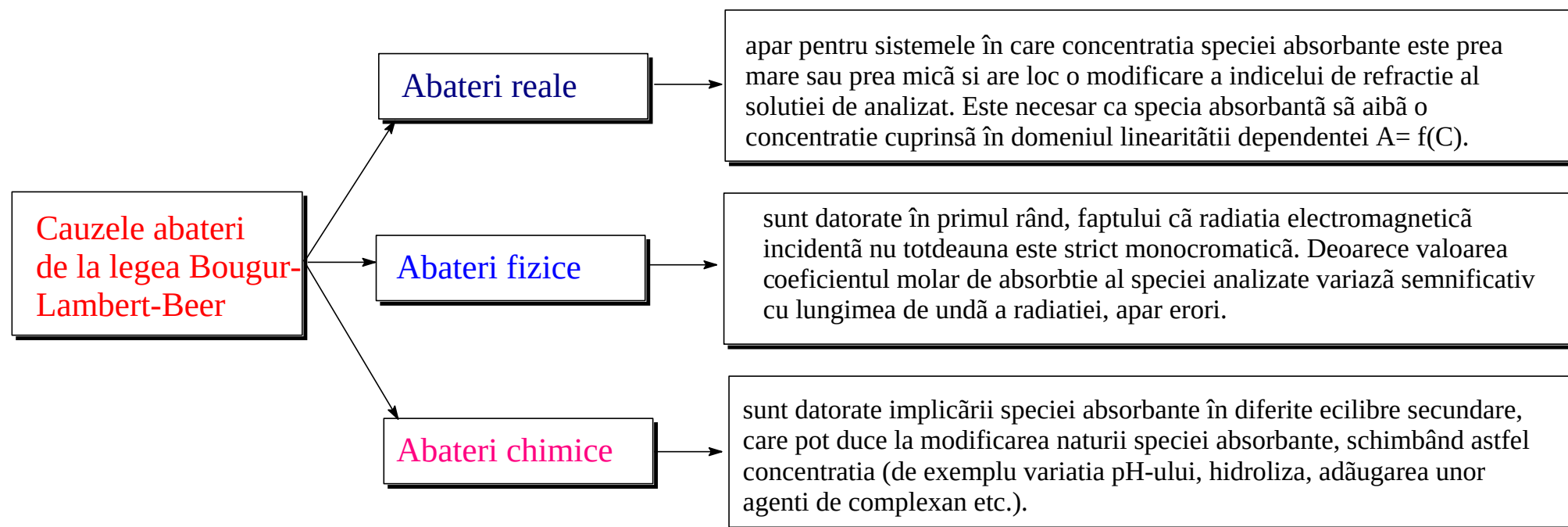
Derivata I-a $\frac{dA}{d\lambda} = f'(\lambda)$ se obține prin reprezentarea vitezei de variație a absorbanței în funcție de lungimea de undă. Spectrul începe și se termină la valoarea zero, trecând prin zero la valoarea lungimii de undă corespunzătoare maximului de absorbție.

Principala caracteristică a derivatei de ordin doi $\frac{d^2A}{d\lambda^2} = f''(\lambda)$ este un minim la aceeași lungime de undă ca și maximumul din spectrul de ordin zero. Derivata a patra prezintă o bandă pozitivă cu un maxim la aceeași lungime de undă ca și maximumul din spectrul de ordin zero.

Prin transformarea spectrului UV-VIS în derivate de ordinul I $\frac{dA}{d\lambda} = f'(\lambda)$ sau II $\frac{d^2A}{d\lambda^2} = f''(\lambda)$ se obține de regulă un profil mult mai complex decât în cazul spectrului de ordin zero. Spectrul derivat accentuează diferențele dintre benzile spectrului, poate rezolva suprapunerea benzilor și, cel mai important, poate reduce efectul interferențelor. Spectrele derivate pot fi utilizate la confirmarea identității unui compus prin compararea cu spectrele unor compuși de referință. Dacă spectrele sunt similare compușii sunt identici. Un efect nedorit al procesului de derivare este scăderea raportului semnal / zgomot odată cu creșterea gradului de derivare.

III.3. Abateri de la legea Bouguer-Lambert-Beer

Reieșind din expresia matematică a legii lui Bouguer-Lambert-Beer absorbanta este proporțională concentrației speciei absorbante și lungimii drumului, parcurs de radiația electromagnetică în mediul absorbant. În practică însă se atestă abateri de la linearitatea acestei dependențe. Acestea se împart în abateri pozitive, când absorbanta este mai mare decât mărimea corespunzătoare concentrației date, și negativă când absorbanta are o mărime mai mică decât cea corespunzătoare concentrației respective.



Pentru a exclude denaturarea rezultatelor analizelor spectrofotometrice în UV-VIS, este necesar de îndeplinit toate cerințele respective (vezi III.2, pag. 6), de verificat periodic corectitudinea funcționării aparatelor de înregistrare a datelor respective, folosind probe standard sau filtre speciale de lumină din dotarea aparatelor. Deoarece din componența spectrofotometrelor și fotocolorimetrelor fac parte sisteme optice complicate (calimator, prisma sau rețeaua de refracție, sursele de unde electromagnetic, etc.) este necesar de menținut aparatele în condițiile indicate în instrucțiunile tehnice însoțitoare și de cunoscut cu siguranță metodologia efectuării măsurătorilor.

III.4. Aparatura utilizată în spectrometria de absorbție moleculară în UV–VIS

Aparatele utilizate pentru măsurarea experimentală a absorbției moleculare în domeniul UV–VIS se numesc **spectrometre de absorbție moleculară în UV – VIS**. Există o gamă foarte largă de spectrofotometre, deosebirea constând în domeniul de lungimi de undă acoperit, în puterea de dispersie a monocromatorului, în natura detectorului, în mediul optic traversat sau chiar în principiul de construcție al instrumentului în ansamblu. Părțile componente principale ale unui spectrofotometru UV-VIS, indiferent de producător și performanța sa, sunt următoarele:

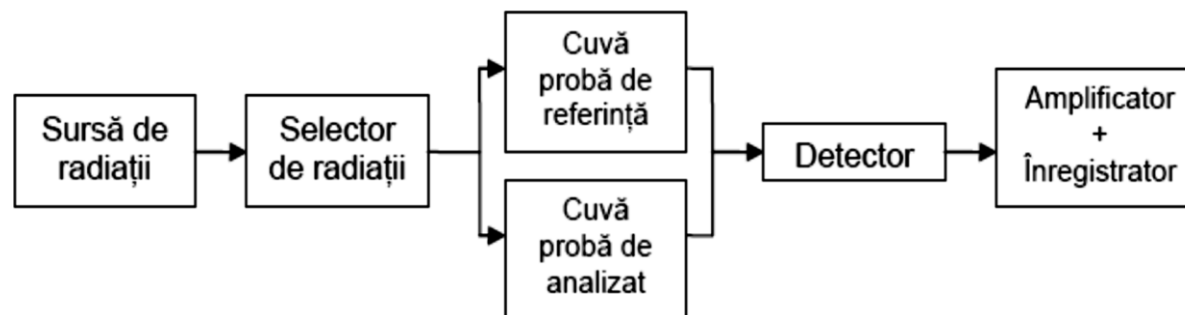


Figura 3.7. Schema bloc principală a unui aparat de măsurat absorbanta probelor în UV-VIS.

Deși toate aparatele spectrometrice de absorbție în UV-VIS au părțile componente prezentate în fig. 3.7, totuși sunt multe deosebiri între ele. Fără a intra în detalii, vom discuta în continuare numai modurile generale de operare ale unui spectrometru de absorbție. În dependență de modalitatea de compensare a semnalului analitic al soluției de referință, deosebim două tipuri de aparate – spectrofotometre cu un fascicul de unde electromagnetice (monofascicul) și spectrofotometre cu două fascicule.

Schematic, un spectrometru de absorbție monofascicul este redat în figura 3.8. Radiația incidentă, monocromatică, dispersată cu monocromatorul P (prismă) trece prin fanta de ieșire. În fața fantei de ieșire sunt plasate pe rând cuva cu soluția de referință și cu proba de analizat. Absorbția radiației de către probă de analizat se determină prin diferența intensității fasciculului transmis de soluția de referință și de proba de analizat. Astfel, mai întâi în calea fasciculului se plasează cuva cu soluție de referință (de comparație), care conține toți componentii ca și soluția de analizat, cu excepția speciei, absorbanta căreia se măsoară. Fasciculul trecut prin soluția de referință cade pe *detectorul* D, unde semnalul optic este transformat în semnal electric. Absorbanta soluției de referință se neglijează (instrumental se consideră transmitanța

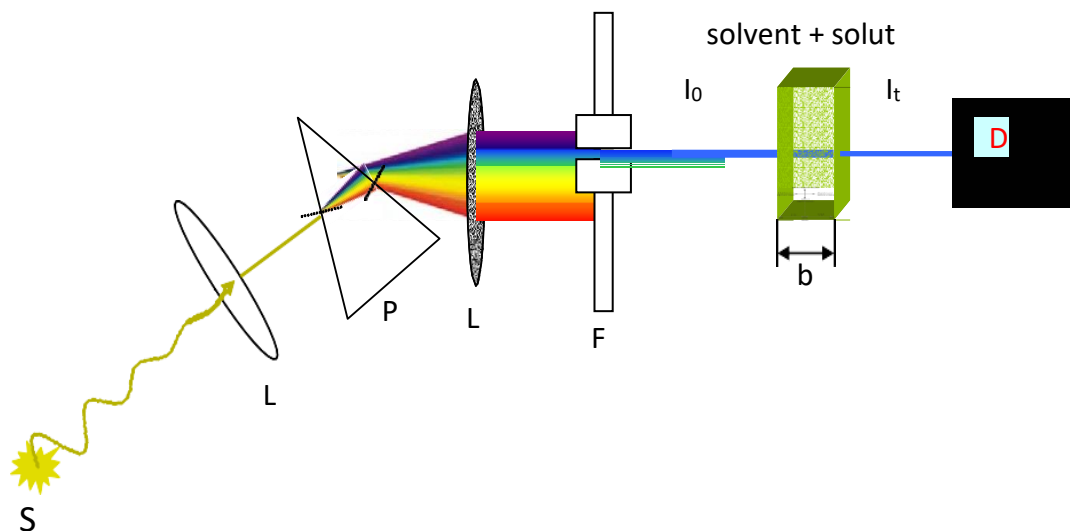


Fig. 3.8. Schema unui spectrofotometru cu un fascicul (monofascicul sau monocanal)
 S - sursa de radiație; P - monocromator (prismă); L - lentilă; F - fantă; D - detector

egală cu 100%). Mai apoi în fața fasciculului de radiații se plasează cuva de aceleași dimensiuni cu soluție de analizat și se înregistrează absorbanta ei. Este de accentuat că în procesul măsurărilor atât cuva cu referința, cât și cea cu proba analizată, sunt expuse numai fasciculului de radiații electromagnetice, care pătrund prin fanta de ieșire.

Din aceeași grupă de aparate fac parte și spectrofotometrele cu dispozitive *split-beam* (fig. 3.9), în care raza ieșită din monocromator este despărțită în două și una dintre aceste raze cade pe un detector care preia fondul (de exemplu, o fotodiodă 1 pe fig. 3.9), iar cealaltă, după ce trece prin probă (respectiv prin proba martor), cade pe un al doilea detector, notat 2 (fig. 3.9). Semnalul final rezultă prin diferența dintre semnalele date de cele două detectoare și prelucrat pentru a se măsura (sau înregistra) direct absorbanta. Avantajul spectrofotometrelor cu sisteme *split-beam* constă în faptul că folosind oglinda semitransparenă de separare a fasciculului de unde electromagnetice se compensează fluctuațiile nedorite ale sursei radiațiilor, ceea ce exclude erorile măsurărilor cauzate de acestea.

Spectrometrele monocanal, a căror schemă bloc este prezentată în fig. 3.9, sunt cele mai utilizate în aplicațiile de rutină.

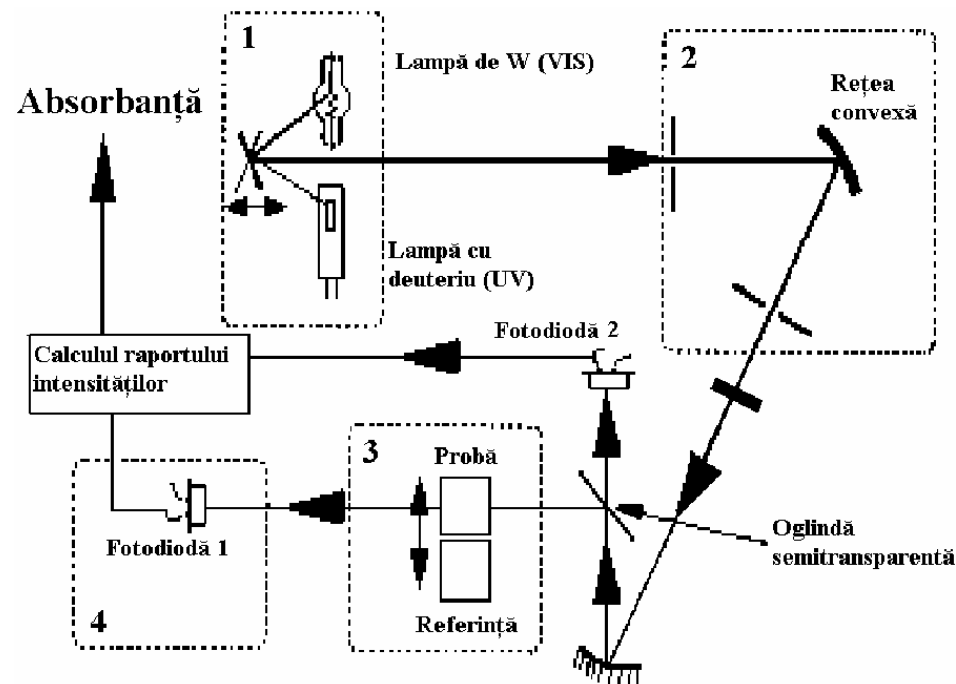


Fig. 3.9. Prezentarea schematică a unui spectrofotometru UV-VIS, monocanal, cu sistem split-beam; componentele principale sunt: 1- sursă, 2 - monocromator, 3 - probă, 4 - detector

Spectrometrele bazate pe comparație (cu dublu canal) sunt cele mai performante spectrofotometre cunoscute. În acestea, după despărțirea razei incidente monocromatice în două fascicule, una dintre acestea traversează proba, iar alta, simultan sau secvențial, traversează celula de referință care conține proba martor. Intensitățile celor două fascicule sunt apoi comparate, fie continuu, fie alternativ, de mai multe ori pe secundă. Astfel, în cazul instrumentelor cu două fascicule are loc o compensare a fluctuațiilor intensității sursei, a răspunsului detectorului și a amplificării, măsurându-se numai diferența celor două semnale.

Se cunosc cel puțin două variante de astfel de montaje. În una dintre acestea (fig. 3.10), montajul folosește pentru despărțirea fascicolului metoda amintită anterior în cazul spectrometrelor monocanal - oglinda semitransparentă - iar detectoarele (două fotodiode) sunt montate în opoziție. Avantajul constă în faptul că răspunsul detectorului este menținut constant, în funcție de λ , prin reglarea automată a intensității de intrare în monocromator (printr-un mecanism de *feed-back*).

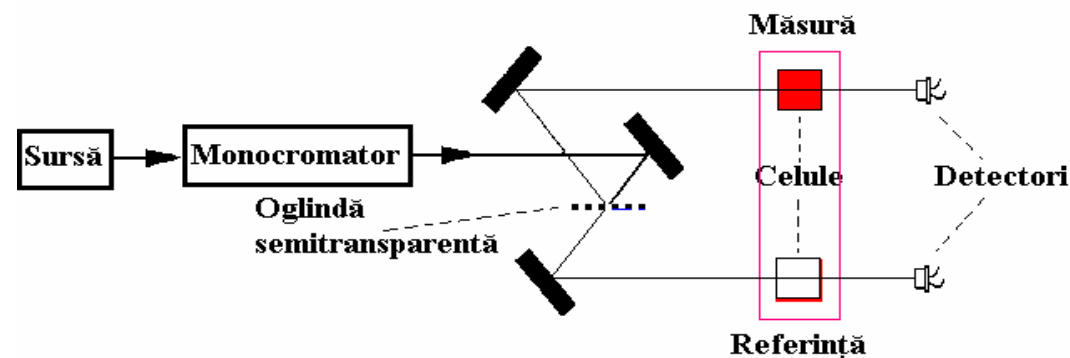


Fig. 3.10. Schema de principiu a spectrofotometrului cu dublu fascicul prevăzut cu oglindă

O altă variantă (fig. 3.11) folosește pentru despărțirea razei incidente, monocromatice, un disc rotitor prevăzut cu o oglindă în formă de sector de cerc (dispozitiv denumit curent în literatura de specialitate *chopper*). O jumătate de perioadă oglinda reflectă raza incidentă iar în cealaltă jumătate, o transmite. Așadar, una dintre raze trece prin celula de măsură, iar cealaltă prin cea de referință, fiind ulterior aduse prin montajul optic pe același detector - de astă dată un fotomultiplicator. Faptul că are loc amplificarea unui singur semnal compensează micile variații parazite ale intensității sursei. Circuitul de măsură funcționează sincron cu rotația *chopper*-ului; o perioadă semnalul corespunde celulei de măsură iar o altă o perioadă, celei de referință.

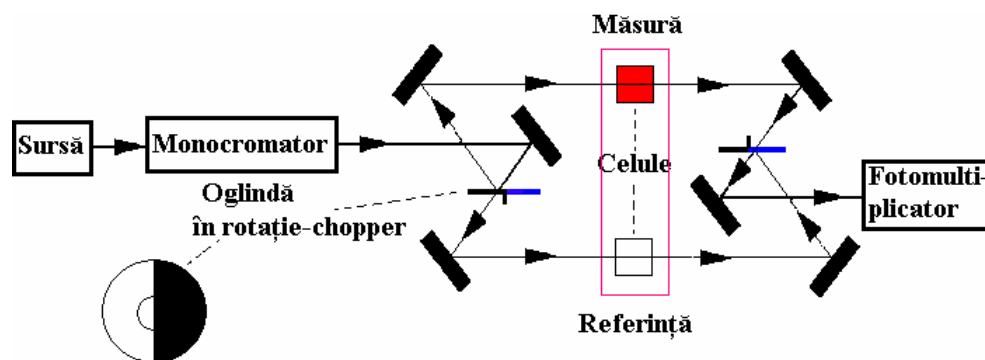


Fig. 3.11. Schema de principiu a spectrofotometrului cu dublu fascicul prevăzut cu chopper și fotomultiplicator

Aceste spectrofotometre se caracterizează printr-o viteză mare de baleiaj și prin aceea că pot măsura absorbanta cu valoarea mai mult de două unități.

Spectrofotometrele moderne sunt înzestrate cu mecanisme de schimbarea continuă a lungimii de undă a radiației electromagnetice în domeniul selectat (baleaj), iar valorile absorbției se înregistrează în programa de funcționare a aparatului și pe monitor se vizualizează spectrul de absorbție a speciei analizate. În ultimii ani s-au realizat progrese impunătoare în construcția de aparatură analitică. Spectrometrele moderne cu unul sau două fascicule sunt controlate de un calculator care ușurează foarte mult operarea acestora, spectrele de absorbție sau valorile măsurate fiind afișate pe monitor. Dacă parametrii efectuării măsurătorilor nu sunt optimali, se fac modificările convenite în programa de operare a spectrofotometrului, și se înregistrează spectrul de absorbție la parametri îmbunătățiți. *Înregistrare* actualmente nu mai înseamnă întotdeauna preluarea semnalului cu un înregistrator obișnuit, ci mai degrabă introducerea acestuia în memoria unui calculator, urmând de regulă prelucrarea automată a datelor.

Aparatele, care folosesc în calitate de selector de radiații filtrele de lumină, se numesc fotocolorimetre, iar metodele respective fotocolorimetrice.

În funcție de domeniul spectral în care se fac măsurătorile experimentale, părțile componente ale unui spectrometru de absorbție moleculară sunt diferite, și anume:

Componente	UV	VIS
Sursa de radiații	Lampa cu hidrogen sau deuteriu	Lampa cu filament de wolfram
Selector de radiații	Monocromator cu prismă de cuarț Filtre de interferență (în spectrofotometre)	Monocromator cu prismă de sticlă Filtre de absorbție
Cuva pentru probă	Cuve de cuarț	Cuve de sticlă
Detector	Celule fotoelectrice, Fotomultiplicatori	Celule fotoelectrice Fotomultiplicatori

În funcție de modul de construcție și de caracteristicile lor tehnice, aparatele utilizate pentru măsurarea experimentală a absorbției moleculare în domeniul UV – VIS, pot fi clasificate astfel:

- în funcție de natura selectorului de radiații:

- **fotocolorimetre** – selectorul de radiații este un filtru (de interferență sau de absorbție);
- **spectrofotometre** – selectorul de radiații este un monocromator (cu prismă sau cu rețea de difracție).

- în funcție de metoda de măsurare a absorbției:

- **aparate cu sistem monofascicul** – în acest caz cuva care conține proba de referință și cuva care conține soluția de

analizat se aduc succesiv în fața fascicului de radiații emis de sursă;

- *aparate cu sistem dublu fascicul* – în acest caz prin cele două cuve (cea cu proba de referință și cea care conține soluția de analizat) trec simultan două fascicule de radiații identice, care sunt preluate apoi de doi detectori.

- **în funcție de metoda de înregistrare:**

- *aparate cu înregistrare* – care înregistrează spectrul speciei absorbante pe tot domeniul UV-VIS, din care se determină apoi caracteristicile analitice;

- *aparate fără înregistrare* – afișează direct valoarea absorbanței măsurată experimental în funcție de lungimea de undă.

Metodele de analiză prin absorbție a radiației electromagnetice ce au la bază următorul principiu: un fascicol de unde electromagnetice, de o anumită lungime de undă, străbate proba de analizat și după capacitatea speciilor chimice de a absorbi radiația și proporția, în care aceasta este absorbită, fac parte din grupa metodelor spectrometrice de absorbție. .

Metodele de analiză, care folosesc radiația electromagnetică din domeniul ultraviolet și vizibil, se numesc *metode spectrofotometrice de absorbție moleculară UV-VIS*, iar principiul care stă la baza acestor metode - spectrofotometrie prin absorbție moleculară UV-VIS. Metodele de analiză, în care absorbția se măsoară cu aparate ce folosesc în calitate de selector de radiații filtre de lumină sau de interferență, se numesc metode fotocolorimetrice, iar aparatele folosite – fotocolorimetre. Denumirea de colorimetrie este improprie, acesta definind în realitate metodele de analiză pentru specificarea și descrierea culorilor.

Spectrele de absorbție în spectrofotometria de absorbție moleculară UV-VIS se mai numesc spectre electronice de absorbție (SEA), deoarece sunt cauzate de tranzițiile energetice a electronilor.

Metodele de analiză, bazate pe proprietatea speciilor chimice de a absorbi energia radiațiilor electromagnetice (absorbțiometrice), au cunoscut o evoluție considerabilă și datorită tehnicilor moderne de lucru și aparaturii folosite.

Metoda spectrofotometrică de absorbție moleculară în domeniul ultraviolet și vizibil folosește o gamă largă de aparate pentru efectuarea măsurătorilor, care se caracterizează prin veridicitatea rezultatelor și durată mică de realizare a măsurătorilor. Toate acestea în cuplaj cu metodicele de analiză, elaborate pentru un număr impunător de mare de specii chimice și obiecte, plasează această grupă de metode printre cele mai frecvent folosite nu numai în analiza chimică, dar și printre metodele de cercetare a compușilor chimici anorganici și organici de proveniență naturală și sintetică.

Evoluția considerabilă în ultimii ani a metodelor, bazate pe absorbția radiațiilor electromagnetice, în mare parte se datorează tehnicilor moderne și evoluției în construcția aparatelor cu care se efectuează măsurătorile respective.

Domenii de aplicare și avantaje

Datorită perfecționării aparaturii și metodelor de lucru, spectrofotometria de absorbție moleculară UV-VIS a devenit o metodă performantă, cu o eroare cuprinsă între 0,25 - 0,5%, comparabilă cu a metodelor chimice clasice, care însă nu

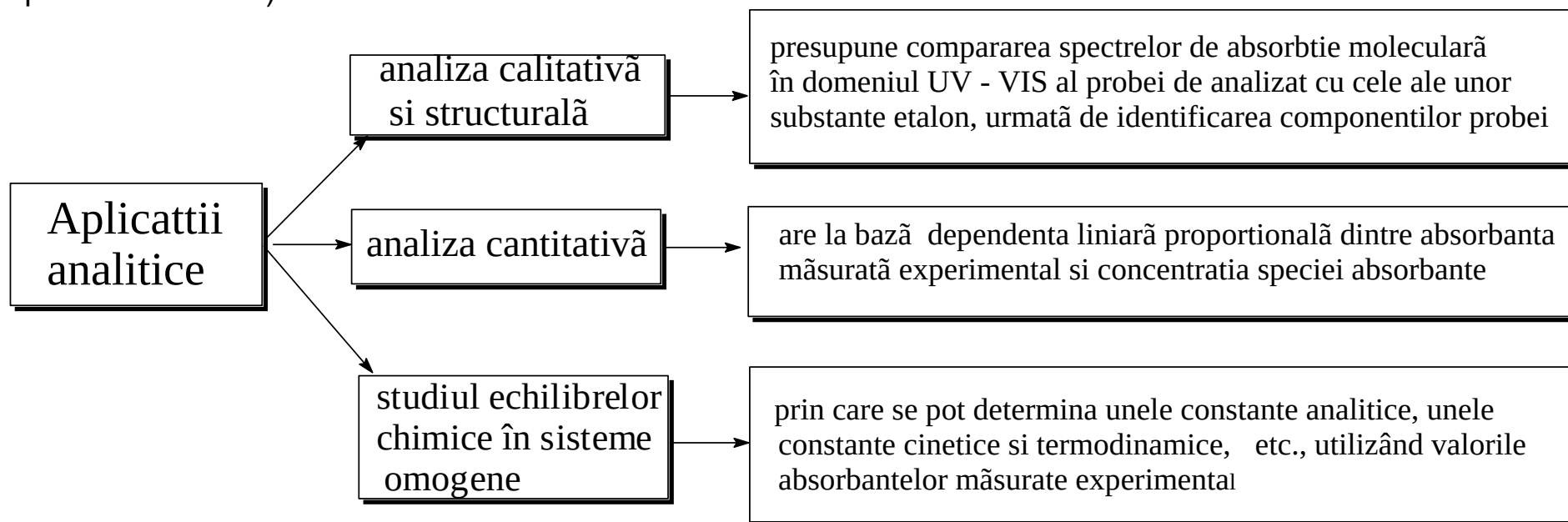
pot fi folosite în analiza urmelor. Principalele avantaje ale metodelor spectrofotometrice UV-VIS:

- se pot aplica pentru dozarea majorității substanțelor. În cazul în care specia chimică nu absoarbe în domeniul vizibil (este incoloră, optic pasivă în acest domeniu de radiații electromagnetice), poate fi transformat printr-o reacție chimică adecvată într-un compus colorat ce absoarbe în domeniul dat de radiații.

- folosirea reactivilor organici a condus la realizarea unor metode de determinare a urmelor de substanță.

- sunt metode rapide, prin măsurarea directă, fără a fi necesară adăugarea de soluție titrată. În multe cazuri se poate evita separarea altor componente, iar prin folosirea unor reactivi specifici și prin controlul strict al reacției se poate elimina interferența ionilor străini (controlul pH-ului, lungime de undă convenabil aleasă, utilizarea solvenților organici pentru extragerea complexilor colorați, utilizarea unor reacții redox etc.).

- prin metodele spectrofotometrice se poate pune în evidență punctul de echivalență într-o metodă titrimetrică (titrare spectrofotometrică).



Observație: Practic prin spectrometrie de absorbție moleculară în UV – VIS pot fi analizate toate substanțele colorate sau incolore, care prezintă un spectru caracteristic în domeniul UV-VIS de radiații electromagnetice. Atunci când acestea nu prezintă un spectru caracteristic, ele pot fi transformate în combinații optic active în aceste domenii (absorb radiația electromagnetică) cu ajutorul unor reacții chimice (de complexare, redox sau substituție în cazul compușilor organici prin care se introduc în moleculă grupe cromofore).

