

IV. APLICAȚII ANALITICE ALE ABSORBȚIEI MOLECULARE UV-VIS

Datorită absorbției selective a energiei radiațiilor electromagnetice de către speciile moleculare și ionice spectrofotometria de absorbție moleculară UV–VIS se aplică pe larg la analiza calitativă și cantitativă a substanțelor incolore, cât și a celor colorate. Se pot analiza atât substanțe organice cât și anorganice.

IV.1. Analiza calitativă

Analiza chimică calitativă se bazează pe compararea spectrelor de absorbție în domeniul UV-VIS (180-800 nm) ale speciilor chimice sau ale probelor de analizat cu spectrele speciilor cunoscute. Acest procedeu permite identificarea numai a acelor substanțe, care absorb în acest domeniu și spectrele cărora sunt cunoscute. În chimia organică, de exemplu, absorb în acest domeniu perechile de electroni de valență, angajați în legături σ și π , precum și perechile de electroni neparticipanți la legături chimice. Pentru că în cursul acestor tranziții apar modificări ale polarității legăturii respective, aceste spectre au primit numele de *spectre cu transfer de sarcină*. Fiecare tranziție are asociată o lungime de undă caracteristică (unde va apărea un maxim) și un coeficient molar de absorbție, ϵ , corespunzător. Acestea se datorează tranzițiilor electronilor de valență, adică a electronilor situați pe straturile exterioare ale atomilor angajați în legături chimice.

În substanțele formate din molecule covalente se cunosc așa-numitele *grupări cromofore sau auxochrome*, care sunt grupări de atomi, ce dau întregii molecule calitatea de a absorbi lumina în domeniul UV-VIS. O grupare cromoforă reprezintă locul din moleculă unde-și au originea tranzițiile electronice. S-a mai introdus și termenul de *cromogen*, care constituie ansamblul dintr-un schelet molecular, pe care se găsesc grefați mai mulți cromofori. Pentru o serie de molecule, toate având în componența lor același cromofor, poziția și intensitatea benzilor de absorbție rămân în mare măsură aceleași (tab. 4.1).

Tabelul 4.1. Câteva dintre cele mai intense grupări cromofore caracteristice moleculelor covalente ce conțin azot: lungimea de undă a absorbției maxime și valoarea coeficientului molar de absorbție

Denumirea	Amină	Oximă	Nitro	Azotit
Cromoforul	-NH ₂	=N-OH	-NO ₂	-O-NO
$\lambda_{\max}$ (nm)	195	190	210	230
$\epsilon_{\max}$ (L·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹)	3000	5000	3000	1500

Când nu este posibilă analiza directă a unor specii chimice din cauza lipsei culorii acestora, se pot realiza reacții care dau compuși colorați, prin apariția unor grupări cromofore, pe baza cărora se pot analiza anumite substanțe în

prezența altora, realizându-se astfel, pe cale chimică, o selectivitate a metodei. Astfel de reacții se numesc *reacții de culoare*.

Deși absorbția radiației UV rezultă în urma tranziției electronilor de la starea fundamentală la stare excitată, un rol important în absorbția radiației de o anumită lungime de undă îl au nucleele implicate în formarea legăturii covalente. Nucleele determină tăria legăturii la care participă electronii, deci prin urmare, influențează și diferența energetică dintre starea fundamentală și cea excitată. Astfel, tipul de tranziție și lungimea de undă a radiației absorbite sunt caracteristice mai degrabă unui grup de atomi (grupărilor cromofore) decât electronilor respectivi. Deoarece în acești compuși au loc modificări structurale, este de așteptat ca energia și intensitatea absorbției să se modifice corespunzător. Adesea este dificil de prevăzut, pe baza teoriei, modul de variației a absorbției în funcție de modificarea structurală a cromoforului, de aceea este necesară aplicarea, pe clase de compuși, a unor reguli empirice.

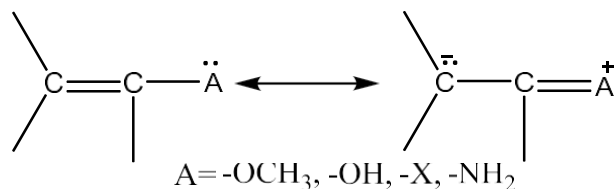
Alcani. În cazul acestor compuși, care conțin numai legături simple de tip σ și nu conțin atomi cu electroni neparticipanți, singurele tranziții posibile sunt de tip $\sigma \rightarrow \sigma^*$. Aceste tranziții necesită o energie relativ mare, de aceea absorb radiație ultravioletă la lungimi de undă foarte mici, mai mici decât lungimile de undă care sunt accesibile experimental. Astfel reprezentării acestei clase de compuși organici nu pot fi identificați cu metoda de absorbție moleculară UV-VIS utilizând spectrofotometre tipice.

Alcooli, eteri, amine și compuși cu sulf. În moleculele saturate conținând atomi cu electroni neparticipanți, devin importante tranzițiile de tip $n \rightarrow \sigma^*$. Moleculele de acest tip prezintă tranziții la energii relativ înalte, însă absorb radiații ce se situează într-un domeniu experimental accesibil. Alcoolii și aminele absorb în intervalul 175 – 200 nm, în timp ce tiolii și sulfiții absorb între 200 și 220 nm.

Alchene și alchine. În cazul moleculelor nesaturate sunt posibile tranzițiile de tip $n \rightarrow \pi^*$. Acest tip de tranziții are loc tot la energii înalte, însă poziționarea lor este sensibilă în cazul substituțiilor. Alchenele absorb la aproximativ 175 nm, iar alchinele la 170 nm.

Compușii carbonilici. Moleculele nesaturate care conțin atomi precum oxigenul sau azotul pot suferi tranziții de tip $n \rightarrow \pi^*$. Aceste tranziții sunt dintre cele mai interesante și mai intens studiate. Tranzițiile de acest tip sunt și mai sensibile la substituția pe o structură cromoforă. Un compus tipic carbonilic suferă tranziții de tip $n \rightarrow \pi^*$ în intervalul 280 – 290 nm ($\epsilon = 15$). De asemenea, compușii carbonilici suferă tranziții de tip $n \rightarrow \pi^*$ la aproximativ 188 nm ($\epsilon = 15$), ceea ce nu este suficient pentru identificarea acestor compuși.

Introducerea pe o structură cromoforă a unui substituent, în locul unui atom de hidrogen, va determina schimbarea poziției și intensității benzii de absorbție a cromoforului respectiv. Substituenții, care conțin grupări saturate, cu electroni



neparticipanți, care nu absorb în UV dar care, atașate unui cromofor, pot produce deplasarea maximului de absorbție spre lungimi de undă mai mici sau mai mari se numesc **auxocromi**. Exemple tipice includ grupările metil, hidroxi, alcoxi, halogeni și grupări amino.

În tabelul 4.2 sunt reprezentate tipurile de tranziții electronice și lungimile de undă corespunzătoare energiilor respective în cazul unor legături simple și duble neconjugate, frecvent întâlnite în structura unui șir de compuși organici.

Tabelul 4-2: Tipul tranzițiilor electronice în cazul unor legături simple și duble

Legătura	Tipul tranziției	λ (nm)
$-\text{C} - \text{C}-$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	150
$-\text{C} - \text{H}$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	150
$-\text{O}-$	$n \rightarrow \sigma^*$	185
$-\text{N}-$	$n \rightarrow \sigma^*$	195
$-\text{S}-$	$n \rightarrow \sigma^*$	195
$\text{>C} = \text{O}$	$n \rightarrow \sigma^*$	190
$\text{>C} = \text{O}$	$n \rightarrow \pi^*$	300
$\text{>C} = \text{C}<$	$\pi \rightarrow \pi^*$	190

Alți substituenți pot avea asupra absorbției una din următoarele patru tipuri de efecte (figura 4.1.):

- **Deplasare batocromă** (sau deplasare spre roșu) este deplasarea maximului de absorbție spre lungimi de undă mai mari (energii de excitație mai mici).

- **Deplasare hipsocromă** (spre albastru) este deplasarea maximului de absorbție spre lungimi de undă mai mici (energii de excitație mai mari).
- **Efect hipsocrom**, reprezintă descreșterea intensității absorbției, adică diminuarea intensității culorii.
- **Efect hipercrom**, reprezintă creșterea intensității absorbției, adică intensificarea culorii.

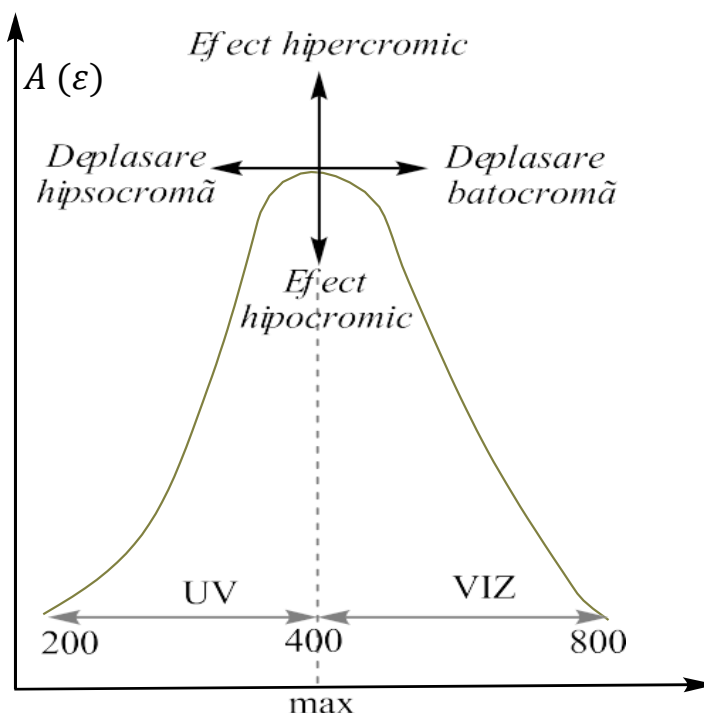


Figura 4.1. Tipuri de efecte în UV

Absorbția moleculară UV-VIS se aplică adesea la determinarea cationilor metalici în soluții apoase. În cazul în care cationii nu sunt colorați și nu absorb în domeniul UV-VIS, se aplică o reacție în urma căreia cationul metalului face parte din componența compusului colorat nou format, care absoarbe radiațiile electromagnetice din domeniul indicat. De cele mai dese ori acestea sunt reacții de formare a compușilor coordinativi. În urma reacției rezultă o specie absorbantă mult mai intens colorată comparativ cu cationul original, care se determină. Astfel de reacții se folosesc atât în analiza calitativă, cât și în cea cantitativă.

Pentru identificarea speciilor absorbante, prezente în proba de analizat se procedează astfel:

- se înregistrează (trasează) spectrul electronic de absorbție moleculară pe tot domeniul UV și/sau VIS;
- se identifică benzile de absorbție prezente în spectru;
- se determină parametrii spectrali ($\lambda_{\max}$, $A_{\max}$, $\epsilon_{\max}$, $\Delta\lambda_{1/2}$, caracteristici fiecărei benzi în parte;
- se compară valorile obținute cu valori tabelare, existente pentru substanțe etalon, în condiții experimentale identice (temperatură, solvent, în unele cazuri concentrație);
- se identifică gruparea funcțională prezenta în specia absorbantă din proba analizată.

De exemplu:

Grupare funcțională	Simbol	$\lambda_{\max}$, nm	$\epsilon_{\max}$, L/mol·cm
gruparea alchinică	$-\text{C} \equiv \text{C}-$	175 – 180	6000
gruparea aldehydică	$-\text{CH}=\text{O}$	210	10000
gruparea carboxil	$-\text{COOH}$	200 – 210	50 – 70
gruparea esterică	$-\text{COOR}$	205	50
gruparea eterică	$-\text{O}-$	185	1000
gruparea tiolică	$-\text{SH}$	195	1400

Necâtând la posibilitățile și unele avantaje ale absorbției moleculare UV-VIS în identificarea speciilor chimice, și în deosebi a celor organice, aplicarea acestei metode în analiza calitativă este limitată de un șir de factori cum sunt: valoarea mică a coeficientului molar de absorbție pentru majoritatea speciilor organice; selectivitatea relativ joasă a metodei în domeniul UV, în care de regulă absoarbe cea mai mare parte a compușilor organici; deseori lipsa solvenților pentru o parte din compușii organice care nu ar manifesta proprietăți de absorbant a radiațiilor electromagnetice care sunt absorbite de speciile de analizat.

IV.2. Analiza cantitativă

Analiza spectrofotometrică cantitativă în UV-VIS include două grupe de tehnici sau metode: *metode spectrofotometrice directe* și *metode spectrofotometrice indirecte*. Prin metodele directe pot fi determinate cantitativ toate speciile moleculare (organice sau anorganice) care absorb radiații în domeniul UV-VIS, sau care pot fi transformate în specii absorbante în aceste

domenii de radiații electromagnetice în urma unei reacții chimice.

Metodele indirecte includ astfel de tehnici, care permit determinarea speciilor colorate sau incolore, în care conținutul speciei analizate se determină după cantitatea de reactiv, cu care interacționează specia analizată.

Metodele cantitative directe au la bază legea Bouguer-Lambert–Beer, care reprezintă dependența liniară proporțională a absorbantei probelor analizate, măsurată experimental, de concentrația speciei absorbante din proba de analizat și grosimea stratului absorbant.

Condițiile ce trebuie îndeplinite pentru obținerea rezultatelor adecvate a determinărilor cantitative sunt următoarele:

- măsurătorile experimentale ale absorbantei se realizează la lungimea de undă corespunzătoare absorbantei maxime ($\lambda_{\max}$), sau la lungimea de undă, corespunzătoare diferenței maxime a absorbantei speciei de analizat și a interferențelor, cu condiția că absorbanta ultimelor este minimă;
- concentrația speciei de analizat trebuie să fie cuprinsă în domeniul liniarității dependenței absorbantei de concentrație, dar mărimea absorbantei să nu depășească valoarea 2,0;
- dacă în spectrul de absorbție al speciei de analizat există mai multe benzi, la realizarea determinărilor experimentale se va considera poziția maximului de absorbție a benzii, care prezintă valoarea cea mai mare (asigură sensibilitatea cea mai mare a metodei).

În aceste condiții dacă *proba de analizat conține o singură specie absorbantă* (sistem mono component) conform legii Bouguer-Lambert–Beer:

$$A_{\lambda_{\max}} = \varepsilon \cdot C_x \cdot \ell \quad (4.1)$$

ε - mărime constantă pentru orice specie chimică în condițiile efectuării măsurătorilor;

$\lambda_{\max}$ – lungimea de undă care corespunde absorbantei maxime a speciei în condițiile efectuării măsurătorilor;

ℓ - grosimea stratului absorbant;

Pentru simplitate în continuare lungimea de undă $\lambda_{\max}$, la care absorbanta se înregistrează, nu va fi indicată în expresia matematică a legii Bouguer-Lambert-Beer.

Reieșind din acestea absorbanta este proporțională cu concentrația speciei absorbante în soluția analizată:

$$A_x = \text{const.} \cdot C_x$$

unde: A_x este absorbanta soluției analizate;

const. – este produsul $\varepsilon \cdot \ell$, care reprezintă produsul a două mărimi cunoscute și de asemenea este o mărime

cunoscută;

C_x – concentrația speciei absorbante în soluția analizată.

Respectiv, înregistrând mărimea absorbanței soluției de analizat A_x și cunoscând valorile componentilor constantei ε și l , se determină concentrația speciei analizate:

$$C_x(\text{mol/L}) = \frac{A_x}{\varepsilon \cdot l} \quad \text{sau} \quad C_x(\text{mol/L}) = \frac{A_x}{\text{const}} \quad (4.2)$$

În cazurile când nu este cunoscută masa molară a substanței analizate se folosește *absorbanța specifică*, la o anumită lungime de undă. Aceasta reprezintă absorbanta unui strat de soluție cu grosimea de 1 cm ce conține 1g de substanță în 100 mL. Această mărime se notează $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ sau $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ și este absorbanta soluției speciei de analizat care conține 1 g de substanță în 100 mL (masă/volum) de soluție. Concentrația speciei de analizată (g/100 mL) sau propriu zis, în procente dacă densitatea soluției este egală cu 1g/mL, $\omega(x)$, %. Cunoscând valoarea absorbantei specifice se poate calcula concentrația substanței de analizat folosind relația:

$$C_x(\%) = \frac{A_x}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot l} \quad (4.3)$$

Analiza cantitativă directă se bazează pe măsurători comparative ale absorbantei probei de analizat și a unei serii de soluții etalon;

- Determinările concentrațiilor se pot efectua folosind următoarele metode sau tehnici:

- metoda valorii medii a coeficientului molar de absorbție;
- metoda graficului de etalonare;
- metoda probei standard (metoda comparației);
- metoda adaosului;
- metode diferențială;
- metoda determinărilor concomitente.

Fiecare dintre metodele de determinare a concentrației în spectroscopia moleculară de absorbție UV-VIS are specificul, caracteristicile, avantajele și dezavantajele sale, dar indiferent de metoda aplicată, sunt un șir de operații care se îndeplinesc în toate cazurile. Printre acestea sunt: prepararea soluției sau setului de soluții standard pentru determinarea caracteristicii cantitative de absorbție a speciei analizate; folosirea aceluiași solvent la prepararea atât a soluțiilor standard, cât și a soluției de analizat; efectuarea măsurătorilor cu exactitate înaltă (la folosirea spectrofotometrelor sau fotocolorimetrelor cu scală

absorbanța să fie cuprinsă în intervalul de valori 0,02 – 1,2, iar la folosirea aparatelor digitale să fie cuprinsă în intervalul 0,01 – 2,00); dacă reactivii adăugați la prepararea soluției de analizat absorb la lungimile de undă a absorbției maxime a speciei analizate, atunci soluția de referință trebuie să conțină acești componenți cu aceleași concentrații cu excepția speciei analizate; totdeauna se efectuează minimum trei măsurători paralele; cuvele folosite trebuie să fie confecționate din materiale absolut transparente pentru radiațiile electromagnetice aplicate, curățate minuțios în prealabil și spălate cu un volum mic de soluție, cu care va fi mai apoi umplută.

Alegerea solventului

Un rol foarte important în măsurătorile spectrofotometrice îl are alegerea solventului. Modul de alegere al solventului trebuie să țină cont de capacitatea de dizolvare a substanței analizate, de transparența sa la domeniul de radiație al aparatului, de volatilitatea sa, etc.

În cazul domeniului vizibil și ultraviolet apropiat, alegerea solventului este simplă, transparența acestuia în vizibil fiind observată cu ochiul liber.

Cel mai important solvent pentru substanțele anorganice este apa, ea fiind transparentă până în ultravioletul îndepărtat. În cazul substanțelor organice se folosesc metanolul, etanolul, cloroformul, hexanul, heptanul, octanul sau ciclohexanul. Principalii solvenți utilizați în măsurători spectrofotometrice UV sunt prezentați în tabelul următor:

Tabelul 4.1. Domeniul de absorbție în UV pentru unii solvenți

Solventul	Domeniul în care absoarbe (nm)	Solventul	Domeniul în care absoarbe (nm)
Apa	până la 190	Diclorometan	200 – 230
n-Hexan	până la 195	1,2-Diclorețan	200 – 233
Metanol	200 – 210	Cloroform	200 – 250
Etanol	200 – 210	Acetat de etil	200 – 260
Ciclohexan	200 – 210	Tetraclorură de carbon	200 – 265
Eter etilic	200 – 210	Dimetilformamidă	200 – 270
Acetonitril	200 – 212	Benzen	200 – 280
1,4-Dioxan	200 – 220	Toluen	200 – 285
Izoctan	200 – 220	Piridină	200 – 305
Glicerină	200 – 230	Acetonă	200 - 330

În același timp solvenții trebuie să fie puri, deoarece impurități la cantități chiar foarte mici pot determina apariția unor benzi de absorbție foarte intense, ce pot astfel masca sau influența benzile substanțelor analizate.

De asemenea, folosirea solvenților foarte volatili cum este de exemplu eterul etilic poate duce la erori datorate modificării concentrației soluției în urma procesului de volatilizare.

Cuve sau celule pentru susținerea probelor

Aceste containere pentru probe trebuie realizate din materiale transparente pentru radiațiile electromagnetice din domeniul spectral de interes.

Astfel, în domeniul de lungimi de undă 200 – 350 se folosesc cuvele de cuarț ele fiind transparente și în domeniul vizibil, iar în domeniul de lungimi de undă 350 – 800 nm de regulă se folosesc cuvele confecționate din sticlă transparentă pentru radiațiile electromagnetice respective.

Referitor la forma cuvelor este necesar ca suprafețele transparente să corespundă fantei de ieșire a radiației electromagnetice din monocromator, ferestrele lor să fie perfect normale pe direcția de propagare a radiației. Se elimină astfel pierderile de energie prin reflexie. Cele mai uzuale celule folosite în UV și VIZ au o grosime de 1 cm. O atenție deosebită trebuie acordată așezării corecte a acestor celule cu suprafețele transparente perpendiculare pe direcția de propagare a radiației electromagnetice la distanțe egale de fanta de ieșire.

Deoarece amprente, grăsimi și alte substanțe aflate pe pereții cuvelor modifică semnificativ transmisia celulei, este necesară spălarea lor înainte și după folosire.

În afară de condițiile de mai sus mai trebuie ținut cont de următoarele reguli practice, foarte importante pentru respectarea legii lui Lambert-Beer și totodată pentru obținerea de rezultate analitice corecte:

- *soluțiile trebuie să fie limpezi (fără suspensii) și să nu fie fluorescente;*
- *în soluțiile supuse măsurărilor nu trebuie să se petreacă transformări fotochimice sau reacții cu oxigenul din aer;*
- *substanța de analizat nu trebuie să dea asociații, cu compoziții variabile, cu solventul;*
- *punctele trebuie să se situeze cât mai riguros pe aceeași dreaptă și prelungirea dreptei să treacă cât mai aproape punctul 0 al coordonatelor;*
- *absorbanța măsurată pentru proba necunoscută, A_x , se recomandă să se situeze pe porțiunea din mijloc a*

domeniului punctelor de etalonare (graficului de etalonare).

a) Metoda valorii medii a coeficientului molar de absorbție sau factorilor analitici $\bar{\epsilon}$, $\tilde{A}_{1cm}^{1\%}$ sau $\bar{E}_{1cm}^{1\%}$:

Modalitatea de lucru la aplicarea metodei coeficientului molar mediu de absorbție este următoarea:

- se prepară o serie (5 – 8) de soluții standard (mol/L) a speciei analizate, care să fie cuprinse în domeniul dependenței liniare a absorbantei de concentrația speciei în soluții;
- dacă soluția de referință nu este solventul pur se prepară soluția de referință, care conține toți componenții soluției de analizat de aceleași concentrații, cu excepția speciei determinate;
- se înregistrează spectrul electronic de absorbție al unei soluții standard din setul de soluții preparate (se recomandă concentrația acestora să fie din mijlocul domeniului de concentrații) și se determină lungimea de undă la care vor fi efectuate măsurătorile;
- se înregistrează absorbantele soluțiilor standard, se calculează coeficientul molar de absorbție pentru fiecare soluție, apoi se determină coeficientul molar mediu $\bar{\epsilon}$;
- se înregistrează absorbanta soluției de analizat (A_x) și folosind formula

$$C_{x(mol/L)} = \frac{A_x}{\ell \cdot \bar{\epsilon}}$$

se calculează concentrația soluției analizate.

Observații: Determinarea coeficientului molar de absorbție și folosirea valorii acestuia permite de a reduce eroarea rezultatelor analizei cauzate de variația coeficientului de reflecție care depinde de intensitatea culorii soluției speciei absorbante. Se recomandă ca concentrația soluției analizate să fie cuprinsă în intervalul concentrațiilor soluțiilor standard.

Dacă nu este cunoscută masa molară a substanței analizate (în cazul polimerilor) se determină valoarea medie a coeficientului specific de absorbție $\tilde{A}_{1cm}^{1\%}$ sau $\bar{E}_{1cm}^{1\%}$, apoi se înregistrează absorbanta soluției de analizat (A_x) în cuva cu grosimea stratului absorbant 1 cm și se calculează conținutul speciei determinate g/100 mL (m/V) în soluția supusă analizei:

$$\begin{array}{l} A_{1cm}^{1\%} \dots\dots\dots 1 \text{ g/100 ml} \\ A \dots\dots\dots C \text{ g/100 ml} \end{array}$$

$$C_{x \text{ g100mL}} = \frac{A_x}{\tilde{A}_{1cm}^{1\%}}$$

Metoda poate aplicată numai în domeniul de concentrații, pentru care dependența $A = f(C)$ poartă caracter liniar.

Avantajele metodei:

- *Durata de timp relativ mică de realizare a analizei (coeficientul malar sau specific de absorbție poate fi determinat din timp);*
- *Măsurătorile se efectuează în domeniul de concentrații al dependenței liniare proporționale a absorbanței de concentrație (diferența valorile coeficienților molari de absorbție al soluțiilor și coeficientului mediu admisibilă $\leq 2\%$).*
- *Pot fi determinate speciile, masele molare ale cărora nu sunt cunoscute.*

Dezavantajele metodei:

- *Eroarea rezultatelor poate depăși eroarea admisibile pentru metodele spectrofotometrice (5%);*
- *Nu este luată în vedere eventuala prezență în soluția de analizat a speciilor jenante (care absorb radiația electromagnetică la lungimea de undă la care se efectuează măsurătorile).*

b) Metoda graficului de etalonare (curbei de etalonare):

În această metodă se utilizează dependența grafică $A = f(C)$ și expresia ei matematică. Modalitatea de lucru este următoarea:

- se prepară o serie (5 - 8) de soluții standard (mol/L) sau g/100 mL a speciei analizate, concentrațiile cărora să fie cuprinse în domeniul dependenței liniare a absorbanței de concentrația speciei în soluții și soluția de referință dacă este necesar;
- se înregistrează spectrul electronic de absorbție al unei soluții standard din setul de soluții preparate (se recomandă concentrația acestora să fie din mijlocul domeniului de concentrații) și se determină lungimea de undă la care vor fi efectuate măsurătorile;
- se înregistrează absorbanțele soluțiilor standard, se trasează dependențele grafice $A = (f \cdot C_{(\text{mol/L})})$ sau $A = (f \cdot C_{(\text{g/100 mL})})$ și se determină expresiile matematice ale acestor dependențe care poate fi exprimată cu formula:

$$A = a + b \cdot C \quad (4.5)$$

în care: A este absorbanța;

a și b sunt constante;

C – concentrația speciei absorbante (mol/L) sau (g/100 mL) respectiv.

Dacă $a = 0$, atunci $b = \epsilon$ sau respectiv sau $\tilde{A}_{1\text{cm}}^{1\%}$, iar dreapta trece prin origine axelor (0,0). Dreapta dependenței se

exprimă cu ecuația $A = \varepsilon \cdot C$. În cazuri contrare dreapta intersectează un fragment de pe axa absorbantei ($a > 0$), sau de pe axa concentrației ($a < 0$).

- se înregistrează absorbanta soluției analizate (A_x), care se depune pe axa absorbantei. Apoi din punctul corespunzător mărimii A_x se trasează paralelă la axa concentrației până la intersecție cu dreapta graficului de etalonare și din punctul de intersecție se trasează paralelă la axa absorbantei. Punctul de intersecție a axei concentrației indică concentrația speciei analizate în soluția supusă analizei (figura 4.2).

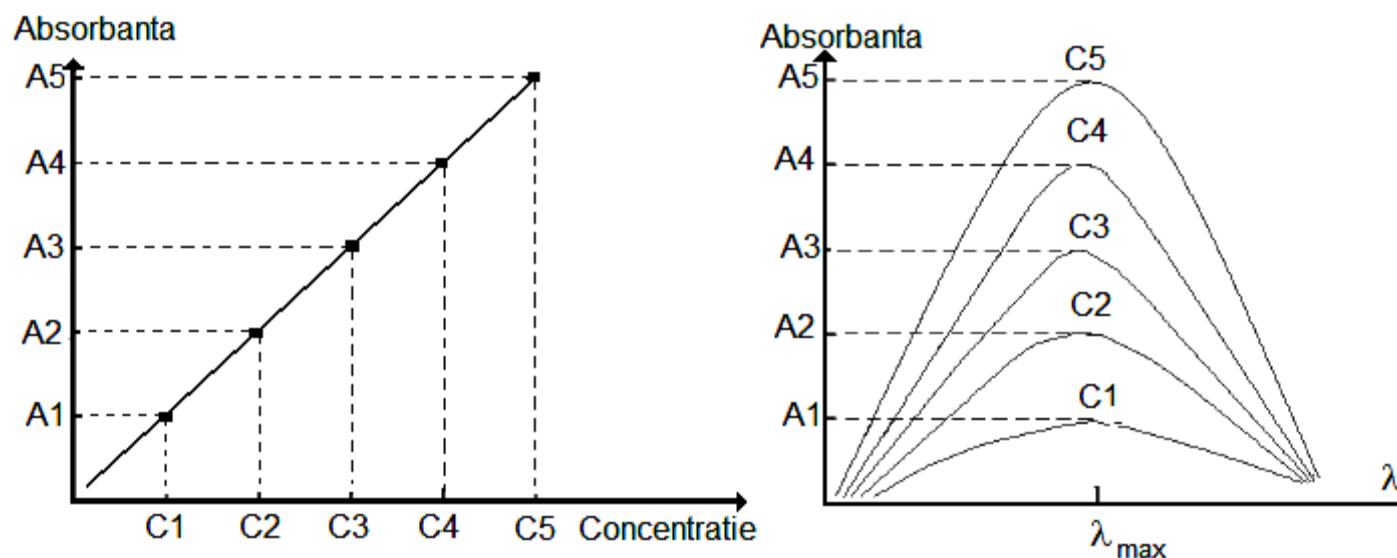


Figura 4.2. Graficul (curba) de etalonare în analiza spectrofotometrică de absorbție moleculară UV-VIS

Observație: Concentrația pe graficul de etalonare poate fi exprimată și în alte unități de măsură (mg/L, $\mu\text{g/mL}$ etc.) fiind respectiv recalculată.

La prepararea soluțiilor trebuie respectate următoarele cerințe:

- domeniul concentrațiilor seriei soluțiilor standard trebuie să cuprindă concentrația soluției de analizat, iar absorbanta soluției de analizat este de dorit să se afle în fragmentul de mijloc al graficului de etalonare;
- dependența absorbantei de concentrația soluțiilor standard și grosimea stratului absorbant la lungimea de undă la care se efectuează măsurătorile trebuie să fie liniară (graficul $A = f(C)$) (să se respecte legea de bază a absorbției radiațiilor electromagnetice);
- valorile absorbanțelor soluțiilor standard trebuie să se afle în domeniul celor mai mici erori (0,1 – 1,2).

Avantajele metodei:

- Durata de timp relativ mică de realizare a analizei (graficul de etalonare se trasează pentru 10-12 zile sau de fiecare dată când substanța etalon folosită este din altă serie);
- Măsurătorile se efectuează în domeniul de concentrații al dependenței liniare proporționale a absorbanței de concentrație (dacă sunt înregistrate mărimi a absorbanței, care nu se încadrează pe dreapta dependenței $A = f(C)$, pentru excluderea erorilor întâmplătoare, rezultatul respectiv se anulează, se prepară o nouă soluție de aceeași concentrație și se înregistrează absorbanta ei).
- Pot fi determinate speciile masele molare ale cărora nu sunt cunoscute.
- Respectarea tuturor cerințelor efectuării operațiilor și măsurărilor asigură o exactitate înaltă a rezultatelor (99,5 %).

Dezavantajele metodei:

- Nu este luată în vedere eventuala prezență în soluția de analizat a speciilor jenante (care absorb radiația electromagnetică la lungimea de undă la care se efectuează măsurătorile).

c) Metoda probei standard (metoda comparației)

Modalitatea de lucru la aplicarea acestei metode este următoarea:

- se prepară soluția de analizat (C_x) și soluția standard ($C_{st.}$) a speciei determinate, concentrația căreia se deosebește de concentrația soluției de analizat cu mai puțin de 40%. Dacă este necesar se prepară soluția de referință conform cerințelor respective.
- se înregistrează absorbanțele soluției de analizat (A_x) și a soluției standard ($A_{st.}$) față de soluția de referință în cuva cu aceeași grosime a stratului absorbant.

Deoarece în ambele soluții, de analizat și standard, absoarbe aceeași specie, $\epsilon_x = \epsilon_{st.}$. Pornind de expresia legii Bouguer-Lambert-Beer $A = \epsilon \cdot C \cdot \ell$ așa cum absorbantele soluțiilor au fost înregistrate în cuva cu aceeași grosime obținem:

$$\frac{A_x}{C_x} = \frac{A_{st}}{C_{st}} \quad (4.6)$$

de unde se exprimă concentrația speciei absorbante în soluția analizată:

$$C_x = \frac{C_{st} A_x}{A_{st}} \quad (4.7)$$

O altă tehnică a metodei probei standard de determinare a concentrației speciei absorbante prevede următoarea modalitate de lucru:

- se prepară două soluții standard al speciei de analizat $C_{st.1}$ și $C_{st.2}$ cu așa concentrații, încât absorbanta primei soluții A_1 să fie mai mică decât absorbanta soluției analizate A_x , iar absorbanta celeilalte A_2 să fie mai mare decât A_x .

▪ se înregistrează absorbanțele soluțiilor standard și a soluției de analizat. Concentrația speciei absorbante în soluția analizată se determină cu formula:

$$C_x = C_{st.1} + \frac{(C_{st.2} - C_{st.1})(A_x - A_1)}{A_2 - A_1} \quad (4.8)$$

Dacă concentrațiile soluțiilor standard și a soluției analizate, și respectiv absorbanțele lor sunt apropiate, metoda furnizează rezultate mai exacte.

Avantajele metodei:

▪ *Durata de timp relativ mică de realizare a analizei (se prepară doar o singură soluție standard și soluția de analizat);*

Dezavantajele metodei:

▪ *Nu este luată în vedere eventuala prezență în soluția de analizat a speciilor jenante (care absorb radiația electromagnetică la lungimea de undă la care se efectuează măsurătorile).*

▪ *Eroarea rezultatelor analizei uneori depășesc limita admisă pentru metoda spectrofotometrică de absorbție moleculară UV-VIS (5 %).*

▪ Metoda se aplică doar în cazurile când dependența $A = f(C)$ este liniară proporțională și trece prin originea axelor de coordonate.

d) Metoda adaosului standard

Metoda adaosului standard este o variantă a metodei de comparare și constă în înregistrarea absorbăției soluției de analizat fără adaos și cu un adaos cunoscut cu exactitate de specie de analizat. Această metodă permite de a înregistra absorbăția soluției de analizat și a soluției standard în aceleași condiții ceea ce permite de a exclude influența speciilor jenante. Această metodă deseori se aplică pentru verificare corectitudinii rezultatelor analizelor efectuate cu alte tehnici de analiză spectrofotometrică, care nu exclud influența speciilor jenante. Deosebim două tehnici de efectuare a analizei cu metoda adaosului standard:

a) *metoda comparării cu o soluție standard;*

b) *metoda grafică.*

În metoda comparării calculele se bazează pe egalitatea mărimii coeficientului molar de absorbție a soluției de analizat și a soluției standard (absorbă aceiași specie), care se adaugă la soluția de analizat. Modalitatea de lucru este următoarea:

▪ se prepară soluția standard a speciei de analizat, se înregistrează spectrul electronic de absorbție al acesteia și se determină lungimea de undă la care se vor efectua măsurătorile;

▪ soluția probei de analizat se aduce până la un volum bine determinat (V_0), ținând cont că concentrația acesteia să fie minimum de două ori mai mare decât concentrația, care ar avea o absorbăță de circa 0,4 – 0,8. Mai apoi volume egale de

soluție de analizat preparată se trec în două baloane cotate ce același volum și în unul din baloane se adaugă un volum măsurat exact de soluție standard a speciei de analizat. În ambele baloane se adaugă cantități egale de reactivi pentru trecerea speciei de analizat în formă optic activă (dacă este necesar), volumele soluțiilor se aduc cu solvent la cotă și se omogenizează;

- se înregistrează absorbanțele ambelor soluții și se efectuează calculele reieșind din următoarele notări:

V_0 – volumul inițial al soluției de analizat;

V_1 – volumul soluției de analizat care a fost trecut în cele două baloane cotate;

V_2 - volumul baloanelor cotate în care s-au trecut volume egale de soluție de analizat;

$V_{st.}$ – volumul soluției standard adăugată în unul din cele două baloane;

C_x – concentrația speciei de analizat în balonul fără adaos;

$C_{st.0}$ – concentrația speciei în soluția standard adăugată în unul din baloane;

$C_{st.1}$ – concentrația speciei în balonul cu adaos, cauzată de soluția standard adăugată;

$C_x + C_{st.1}$ – concentrația speciei în balonul cu adaos;

A_x – absorbanta soluției fără adaos;

$A_{x+st.1}$ – absorbanta soluției cu adaos.

Deoarece în ambele soluții absoarbe aceeași specie, este corectă egalitatea:

$$\epsilon_x = \epsilon_{x+st.1}$$

Pornind de la expresia matematică a legii de bază a absorbției moleculare UV-VIS, se exprimă ϵ_x și $\epsilon_{x+st.1}$:

$$\epsilon_x = \frac{A_x}{C_x} \quad \text{și respectiv} \quad \epsilon_{x+st.1} = \frac{A_{x+st.1}}{C_x + C_{st.1}}$$

Astfel:

$$\frac{A_x}{C_x} = \frac{A_{x+st.1}}{C_x + C_{st.1}} \quad (4.8)$$

Rezolvând această proporție obținem:

$$C_x \cdot A_{x+st.1} = A_x (C_x + C_{st.1})$$

$$C_x \cdot A_{x+st.1} = A_x \cdot C_x + A_x \cdot C_{st.1}$$

$$C_x \cdot A_{x+st.1} - A_x \cdot C_x = A_x \cdot C_{st.1}$$

de unde:

$$C_x = C_{st.1} \times \frac{A_x}{A_{x+st.1} - A_x} \quad (4.9)$$

Adaosul se face astfel, încât diferența $A_{x+st.1} - A_x$ să fie mai mare de 0,1.

Formula 4.9 permite de a calcula concentrația speciei absorbant în soluția analizată. Pentru determinarea masei speciei, care se conține în soluția analizată se folosește formula:

$$m_x(g) = C_x(\text{mol/L}) \cdot M_x(g/\text{mol}) \cdot V_2(L) \cdot \frac{V_0(\text{mL})}{V_2(\text{mL})}. \quad (4.10)$$

La efectuarea analizei probelor cu compoziția necunoscută este problematic de a pregăti soluția cu adaos, ținând cont de eventualele influențe cauzate de acțiunea componentilor. În așa cazuri se folosește metoda adaosurilor grafică. Din soluția de analizat se trec volume egale în n baloane cotate cu același volum și în $n-1$ baloane se adaugă volume în creștere, bine determinate, de soluție standard a speciei de analizat (C_{ai}). În unul din baloane nu se adaugă soluție standard (C_x). Volumele soluțiilor se aduce la cotă în toate baloanele (dacă este necesar în prealabil, în fiecare balon se adaugă cantități egale de reactivii pentru trecerea speciei analizate în forma optic activă în condițiile efectuării măsurătorilor), se omogenizează și se înregistrează absorbanțele lor. Mai apoi se trasează dependența absorbantei de concentrația speciei în soluții, creată prin adăugarea soluției standard. Extrapolând această dependență până la axa concentrațiilor, se determină concentrația speciei în soluția analizată (figura 4.3)

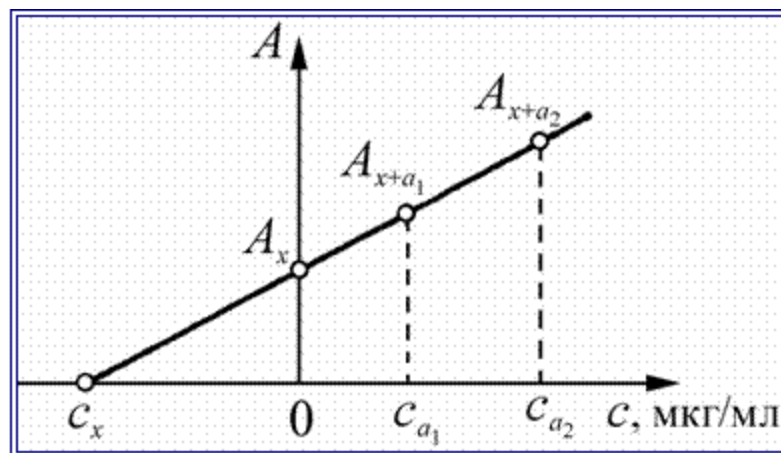


Figura 4.3. Determinarea concentrației speciei absorbante în metoda grafică a adaosului

Avantajele metodei:

- se neglijează influența speciilor jenante (specii optic active care pot fi prezente în soluția de analizat);

- durată de timp relativ mică de realizare a analizei;

Dezavantajele metodei:

- Eroarea rezultatelor analizei poate depăși limita admisă pentru metoda spectrofotometrică de absorbție moleculară UV-VIS (5 %).
- Metoda se aplică doar în cazurile când dependența $A = f(C)$ este strictă liniară proporțională și trece prin originea axelor de coordonate.

e) Metode diferențială

Metoda diferențială se aplică în cazurile când absorbanta soluțiilor analizate are o valoare mai mare de 1,3 – 1,5 și soluțiile nu pot fi diluate pentru micșorarea absorbantei din cauza desfășurării proceselor, în urma cărora se modifică compoziția speciei analizate (hidroliza, disociația electrolitică). Așa cum eroarea rezultatelor analizelor crește dacă absorbanta mărește de 1,2, metodele descrise anterior nu pot fi aplicate. Astfel, metoda diferențială se aplică la analiza probelor cu absorbanta $> 1,2$ pentru diminuarea erorii rezultatelor analizei. Deosebim două tehnici de efectuare a analizei spectrofotometrice diferențiale și respectiv de calculare a rezultatelor: metoda algebrică și metoda grafică.

Modalitatea de lucru în metoda diferențială algebrică este următoarea:

- se prepară soluția de analizat și două soluții standard. O soluție standard cu concentrația mai mică decât concentrația soluției de analizat (C_0), care se va folosi ca soluție de referință, și a doua soluție standard cu concentrația $C_{st.}$ apropiată de concentrația soluției analizate C_x ;
- se înregistrează spectrul electronic de absorbție al soluției de analizat față de solvent sau de soluția ce conține reactivii folosiți pentru trecerea speciei determinate în formă optic activă, cu excepția acestuia și se determină lungimea de undă la care se vor face măsurătorile;
- se înregistrează absorbantele soluției de analizat (C_x) și a soluției standard ($C_{st.}$) față de soluție standard cu concentrația mai mică (C_0).

Deoarece absorbanta soluției de referință se neglijează, calculele se fac reieșind din următoarele considerente:

$$\begin{aligned} A_x &= \varepsilon \cdot l \cdot (C_x - C_0) \\ A_{st.} &= \varepsilon \cdot l \cdot (C_{st.} - C_0) \\ \frac{A_x}{A_{st.}} &= \frac{(C_x - C_0)}{(C_{st.} - C_0)} \end{aligned} \quad (4.11)$$

de unde:

$$C_x = C_0 + \frac{A_x(C_{st}-C_0)}{A_{st}} \quad (4.12)$$

în care: A_x și A_{st} sunt respectiv absorbanțele soluției de analizat și standard;

C_0 și C_{st} - concentrațiile soluțiilor de referință și soluției standard.

Dacă raportul $\frac{(C_{st}-C_0)}{A_{st}}$, care este practic factorul de recalculare, se notează cu F , atunci expresia 4.12 capătă forma:

$$C_x = C_0 + A_x \cdot F \quad (4.13)$$

Concentrația speciei analizate în metoda diferențială poate fi determinată și folosind graficul de etalonare. În așa caz se prepară a serie de soluții stndar astfel, încât concentrația soluției de analizat să fie cuprinsă în domeniul de concentrații a soluțiilor standard (se recomandă să fie cât mai aproape de concentrația mijlocie) și se înregistrează absorbalele tuturor soluțiilor față de soluția cu cea mai mică concentrație. În baza datelor se trasează dependența grafică $A = f(C)$, care va intersecta axa concentrațiilor la valoarea egală cu concentrația soluției de referință (figura 4.4). Ma apoi se înregistrează absorbanta soluției de analizat în condiții similare și mărimea obținută (A_x) se depune pe axa absorbantelor și în modalitatea cunoscută deja se determină concentrația speciei în soluția analizate (figura 4.4):

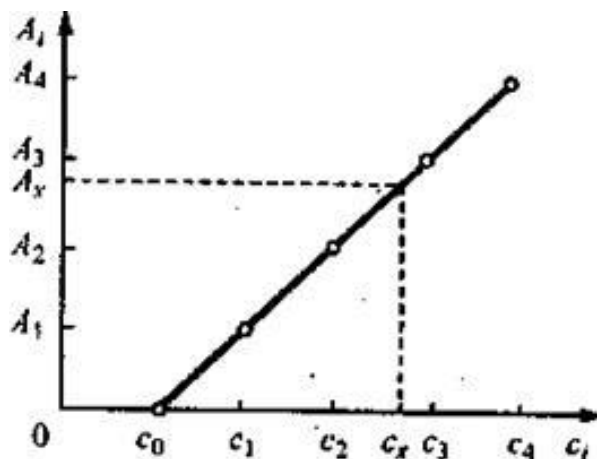


Figura 4.4. Graficul de etalonare în metoda spectrofotometrică diferențială și determinarea concentrației necunoscute

Deseori se trasează câteva grafie de etalonare, folosind soluții de referință de diferite concentrații, deoarece cu cât concentrația soluției de referință este mai aproape de concentrația soluției de analizat, cu atât rezultatele analizei sunt mai

exacte.

Metoda spectrofotometrică diferențială în diferite variante se aplică la determinarea metalelor în aliaje, a nemetalelor, compușilor organici și a produselor farmaceutice.

Avantajele metodei:

- *lărgiște domeniul de concentrații al soluțiilor cu absorbanță mare, care pot fi analizate cu metode spectrofotometrică, spre concentrații mari;*
- *micșorează eroarea rezultatelor analizelor soluțiilor cu absorbanta mare până la câteva zecimi de procent;*
- *durata de timp relativ mică de realizare a analizei;*
- *metode grafică poate aplicată și în cazurile abaterilor de la linearitate dependenței $A = f(C)$.*

Dezavantajele metodei:

- *nu se ține cont de prezența speciilor jenante;*
- Metoda se aplică doar în cazurile când dependența $A = f(C)$ este strict liniară proporțională.

f) Metoda determinărilor concomitente a câtorva componente

Metoda de absorbție moleculară UV-VIS permite determinarea concomitentă a două și chiar trei specii absorbante dacă acestea au diferite caracteristici absorbante cantitative la aceleași lungimi de undă. La baza acestor determinări se află legea aditivității absorbanțelor speciilor prezente în soluția de analizat. În cazul prezenței concomitente a două specii optice active în domeniul UV-VIS deosebim două variante:

a) spectrele electronice de absorbție ale componentelor se suprapun parțial, dar este un sector al lungimilor de undă, în care absoarbe numai un component sau absorbanta unuia din componente este foarte mică și poate fi neglijată;

b) spectrele electronice de absorbție ale speciilor absorbante se suprapun pe tot domeniul lungimilor de undă, dar sunt cel puțin două lungimi de undă, la care caracteristicile cantitative ale absorbanțelor (valorile coeficienților molari de absorbție) se deosebesc.

Tehnica efectuării analizei în primul caz (a) este următoarea:

- se prepară soluții standard ale speciilor de analizat ($C_{st}(Q)$ și $C_{st}(P)$), se înregistrează spectrele electronice de absorbție ale acestora și se determină lungimile de undă, la care se vor efectua măsurătorile. La λ_1 absoarbe numai specia P și are absorbanta maximală, iar la λ_2 absorb ambele specii (figura 4.5);

- se determină valorile coeficienților molari de absorbție a speciei P la lungimea de undă λ_1 ($\epsilon_{(P)}^{\lambda_1}$) și a ambelor specii

P și Q la lungimea de undă λ_2 ($\varepsilon_{(P)}^{\lambda_2}$, $\varepsilon_{(Q)}^{\lambda_2}$);

▪ se înregistrează spectrul electronic de absorbție al soluției probei de analizat și se stabilesc absorbanțele ei la lungimile de undă λ_1 și λ_2 .

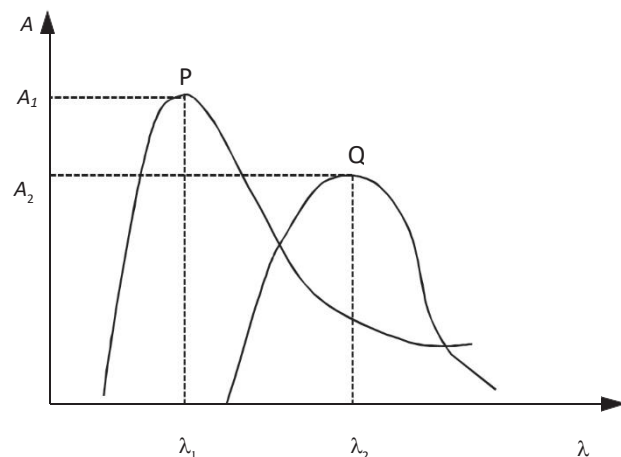


Figura 4.5. Spectrele electronice de absorbția ale soluțiilor standard individuale ale speciilor P și Q.

Deoarece la lungimea de undă λ_1 absoarbe doar specia P, și coeficientul molar de absorbție a speciei la această lungime de undă este cunoscut, se determină concentrația speciei P folosind expresia:

$$C_{(P)} = \frac{A_{(x)}^{\lambda_1}}{\varepsilon_{(P)}^{\lambda_1} \cdot \ell} \quad (4.14)$$

La lungimea de undă λ_2 absorbanta soluției de analizat reprezintă suma absorbanțelor speciilor P și Q prezente în soluția probei de analizat, astfel că:

$$A_{(x)}^{\lambda_2} = A_{(Q)}^{\lambda_2} + A_{(P)}^{\lambda_2} \quad (4.15)$$

Înlocuind în 4.14 $A_{(P)}^{\lambda_2} = C_{(P)} \cdot \varepsilon_{(P)}^{\lambda_2} \cdot \ell$ obținem expresia cu care se determină absorbanta speciei Q la λ_2 :

$$A_{(Q)}^{\lambda_2} = A_{(x)}^{\lambda_2} - (C_{(P)} \cdot \varepsilon_{(P)}^{\lambda_2} \cdot \ell) \quad (4.16)$$

și respectiv:

$$C_{(Q)} = \frac{A_{(x)}^{\lambda_2} - (C_{(P)} \cdot \varepsilon_{(P)}^{\lambda_2} \cdot \ell)}{\varepsilon_{(Q)}^{\lambda_2} \cdot \ell} \quad (4.17)$$

Ca exemplu poate servi determinarea concomitentă a cobaltului și nichelului în formă de compuși coordinați cu 8-oxichinolina. Compusul cobaltului în soluția cu solvent mixt acid clorhidric 1 mol/L – acetonă absoarbe la lungimile de undă 365 și 700 nm, iar compusul nichelului are banda de absorbție cu maximumul la 365 nm (figura 4.6)

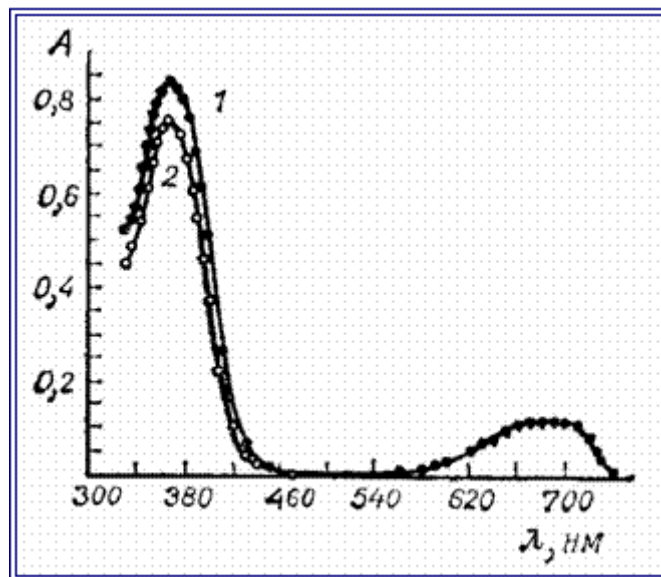


Figura 4.6. Spectrele electronice de absorbție a oxochinolinelor de cobalt (1) și nichel (2) în soluția cu solvent HCl 1 mol/L- acetonă, $\ell = 1$ cm.

λ , nm	ε (CoL)	ε (NiL)
363	3529	3228
700	428,9	0

Calculul concentrațiilor componentelor soluției analizate se efectuează cu formulele respective:

$$C_{(CoL)} = \frac{A_{700}}{428,9 \cdot \ell}; \quad C_{(NiL)} = \frac{A_{363} - \varepsilon_{(CoL)}^{363} \cdot C_{(CoL)}}{\varepsilon_{(NiL)}^{363}} = A_{363} - \frac{3529 \cdot C_{(CoL)}}{3228}$$

b) *Determinarea concentrației a două substanțe în amestec, spectrele electronice de absorbție ale cărora se suprapun, având maximumuri de absorbție la lungimi de undă diferite.* S-a constatat că spectrul de absorbție a unui amestec de doi componenți (x și y) este echivalent cu rezultatul însumării spectrelor caracteristice celor 2 componenți ca aceleași concentrații datorită respectării legii aditivității absorbantei unui sistem absorbant (figura 4.6.)

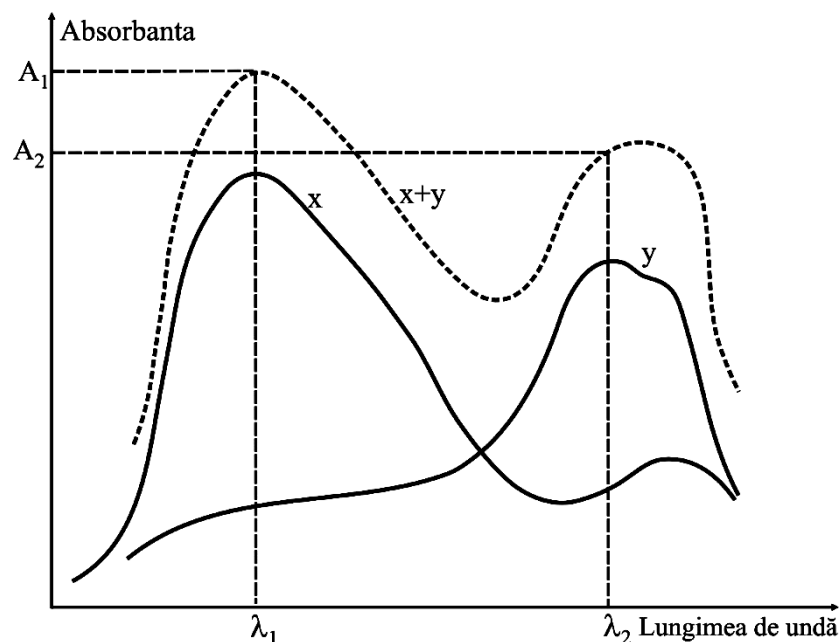


Figura 4.7. Spectrele electronice de absorbție a doi compuși x și y (separat) și a amestecului acestora.

Pentru determinarea concentrațiilor speciilor x și y în așa caz se efectuează următoarele operații și măsurători:

- se prepară soluții standard individuale ale speciilor respective, se înregistrează spectrul electronic de absorbție a fiecărei soluții și se determină lungimile de undă, la care soluțiile absorb maximal λ_1 și λ_2 ;
- se determină mărimile coeficienților molari de absorbție a fiecărei specie x și y la cele două lungimi de undă

$$\varepsilon_x^{\lambda_1}, \varepsilon_x^{\lambda_2}, \varepsilon_y^{\lambda_1}, \varepsilon_y^{\lambda_2};$$

▪ se înregistrează spectrul electronic de absorbție a soluției de analizat în aceleași condiții, în care au fost înregistrate SEA ale soluțiilor standard a speciilor x și y și se determină absorbanțele soluției de analizat la lungimile de undă λ_1 și λ_2 .

În baza rezultatelor obținute se calculează concentrațiile speciilor x și y reieșind din următoarele considerente:

$$\begin{aligned} A_{prob.}^{\lambda_1} &= A_x^{\lambda_1} + A_y^{\lambda_1} \\ A_{prob.}^{\lambda_2} &= A_x^{\lambda_2} + A_y^{\lambda_2} \end{aligned} \quad (4.18)$$

Deoarece conform ecuației Bouguer-Lambert-Beer $A_x^\lambda = \varepsilon_x^\lambda \cdot C_x \cdot \ell$ înlocuim absorbanțele cu produsele respective:

$$\begin{aligned} A_{prob.}^{\lambda_1} &= \varepsilon_x^{\lambda_1} \cdot C_x \cdot \ell + \varepsilon_y^{\lambda_1} \cdot C_y \cdot \ell \\ A_{prob.}^{\lambda_2} &= \varepsilon_x^{\lambda_2} \cdot C_x \cdot \ell + \varepsilon_y^{\lambda_2} \cdot C_y \cdot \ell \end{aligned} \quad (4.19)$$

Se rezolvă sistemul de ecuații și se determină C_x și C_y .

Dacă nu se cunosc masele molare ale speciilor x și y determinarea concentrațiilor lor (% m/V) se poate efectua folosind noțiunea de coeficient specific de absorbție $\tilde{A}_{1cm}^{1\%}$. În așa caz, dacă se determină absorbanța probelor la lungimile de undă λ_1 și λ_2 și sunt cunoscute valorile coeficienților specifici a componentelor x și y la aceste lungimi de undă, se pot scrie următoarele ecuații:

$$\begin{aligned} A_{prob.}^{\lambda_1} &= A_x^{\lambda_1} + A_y^{\lambda_1} = A_{cm,x}^{1\%,\lambda_1} \cdot C_x \cdot \ell + A_{cm,y}^{1\%,\lambda_1} \cdot C_y \cdot \ell \\ A_{prob.}^{\lambda_2} &= A_x^{\lambda_2} + A_y^{\lambda_2} = A_{cm,x}^{1\%,\lambda_2} \cdot C_x \cdot \ell + A_{cm,y}^{1\%,\lambda_2} \cdot C_y \cdot \ell \end{aligned} \quad (4.20)$$

Prin rezolvarea sistemului de ecuații, rezultă:

$$\begin{aligned} C_x &= \frac{A_{prob.}^{\lambda_1} \cdot A_{cm,y}^{1\%,\lambda_2} - A_{prob.}^{\lambda_2} \cdot A_{cm,y}^{1\%,\lambda_1}}{\ell (A_{cm,x}^{1\%,\lambda_1} \cdot A_{cm,y}^{1\%,\lambda_2} - A_{cm,x}^{1\%,\lambda_2} \cdot A_{cm,y}^{1\%,\lambda_1})}; & C_y &= \frac{A_{prob.}^{\lambda_2} - A_{cm,x}^{1\%,\lambda_2} \cdot C_x \cdot \ell}{A_{cm,y}^{1\%,\lambda_2} \cdot \ell} \end{aligned} \quad (4.21)$$

unde:

c_x = concentrația componentului x în probă (% m/V);

c_y = concentrația componentului y în probă;

$A_{prob.}^{\lambda_1}$ = absorbanta probei la lungimea de undă λ_1 ;

$A_{prob.}^{\lambda_2}$ = absorbanta probei la lungimea de undă λ_2 ;

$A_{cm,x}^{1\%,\lambda_1}$ = absorbanta specifică a componentei x la lungimea de undă λ_1 ;

$A_{cm,x}^{1\%,\lambda_2}$ = absorbanta specifică a componentei x la lungimea de undă λ_2 ;

$A_{cm,y}^{1\%,\lambda_1}$ = absorbanta specifică a componentei y la lungimea de undă λ_1 ;

$A_{cm,y}^{1\%,\lambda_2}$ = absorbanta specifică a componentei y la lungimea de undă λ_2 ;

ℓ = grosimea stratului absorbant (cm), (în general $\ell = 1$ cm).

Pentru a calcula absorbantele specifice a celor două componente la cele două lungimi de undă (dacă nu sunt cunoscute) se folosesc soluții etalon de concentrație 1% (m/v).

Metoda determinărilor concomitente permite de a analiza și mai mult de două specii în proba de analizat. În așa cazuri absorbantele probei de analizat se înregistrează la atâtea lungimi de undă, câți componenți se analizează în probă. La practică analiza a trei și mai mulți componenți se efectuează rar din cauza dificultăților efectuării calculelor.

În metode determinărilor concomitente absorbantele se înregistrează ca de obicei față de soluția de referință, care conține toți reactivii cu aceleași concentrații ca și soluția de analizat, cu excepția speciei determinate.

Pentru minimalizarea erorii rezultatelor analizelor cu metoda determinărilor concomitente se recomandă ca absorbantele soluției de analizat $A_{prob.}^{\lambda_1}$ și $A_{prob.}^{\lambda_2}$ să aibă mărimile cuprinse în intervalul 0,3 – 1,0, iar raportul mărimilor coeficienților molari de absorbție a speciilor analizate la aceeași lungime de undă $\frac{\epsilon_X^{\lambda_1}}{\epsilon_Y^{\lambda_1}}$ și $\frac{\epsilon_X^{\lambda_2}}{\epsilon_Y^{\lambda_2}}$ să fie cât mai mare.

Avantajele metodei:

- permite analiza probelor bi- și policomponente;
- durata relativ mică de efectuare a analizei.

Dezavantajele metodei:

- eroarea rezultatelor relativ mare în cazurile când pentru unul sau chiar pentru ambii componenți ne se respectă linearitatea dependenței $A = f(C)$, când diferența mărimilor coeficienților de absorbție a componenților la aceeași lungime de undă nu este suficient de mare și când absorbanțele probei analizate se găsesc în afara intervalului de mărimi 0,3 – 1,0;
- nu este înlăturată influența speciilor jenante

Analiza spectrofotometrică indirectă (titrarea spectrofotometrică)

Titrarea spectrofotometrică este metoda indirectă de analiză cantitativă, în care se urmărește variația absorbanței soluției de analizat la adăugarea unor volume mici și exact măsurate a unui titrant adecvat, care reacționează cantitativ cu specia de analizat.

Prin reprezentarea grafică a absorbanței în funcție de volumul de titrant adăugat ($A = f(V_{\text{titr.}})$) se obține curba de titrare spectrofotometrică, analiza căreia permite de a determina volumul titrantului consumat până la echivalență ($V_{\text{ech.}}$). Concentrația speciei de analizat din probă se calculează cu expresia matematică a legii echivalențelor.

Observații:

- Deoarece între absorbanta măsurată experimental și concentrația speciei de analizat din soluție există o dependență liniară, curbele de titrare spectrofotometrică sunt alcătuite din segmente de dreaptă. Punctul de intersecție al acestor segmente de dreaptă corespunde punctului de echivalență al reacției care se află la baza titrării.
- Titrarea spectrofotometrică poate fi utilizată pentru orice tip de reacție de titrare (acido- bazică, redox sau de complexare), în care cel puțin una dintre speciile participante la reacție sau produsul interacțiunii absoarbe radiații din domeniul UV-VIS la o anumită lungime de undă, iar coeficientul molar de absorbție este suficient de mare pentru a asigura o sensibilitate ridicată a determinării.
- Reacțiile folosite în titrimetria spectrofotometrică trebuie să corespundă tuturor cerințelor înaintate față de reacțiile folosite în titrimetria obișnuită.
- Titrantul nu trebuie să interacționeze cu ceilalți componenți ai probei de analizat.

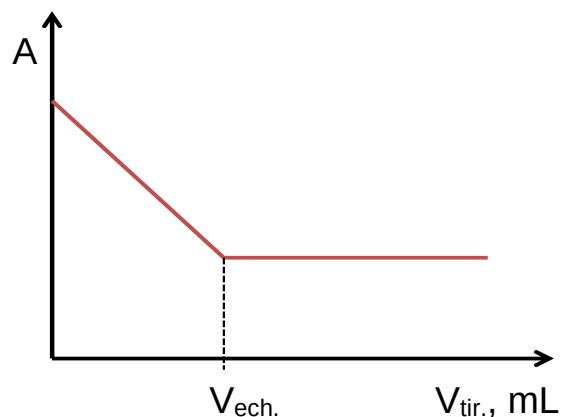
Dacă considerăm reacția care se află la baza titrării:



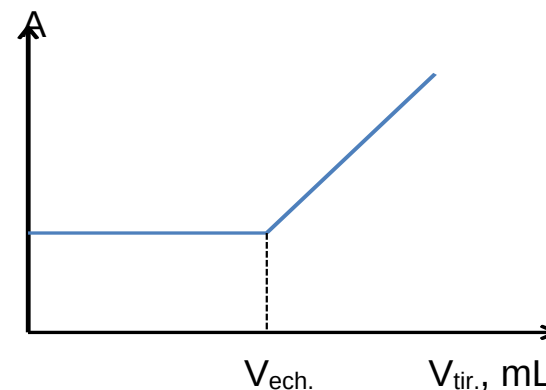
atunci alura curbei de titrare spectrofotometrică este determinată de proprietățile optice ale speciilor participante la reacție, la lungimea de undă la care se realizează măsurătorile. Astfel, dacă specia care se titrează (A) absoarbe la lungimea de undă, la care se efectuează măsurătorile, iar titrantul și produsele reacției nu absorb, curba de titrare va avea aspectul prezentat în

variante (a). În varianta (b) este prezentat aspectul curbei de titrare pentru cazul când absoarbe titrantul (**B**), iar specia titrată și produsul reacției nu absorb.

(a) **A** + B = C

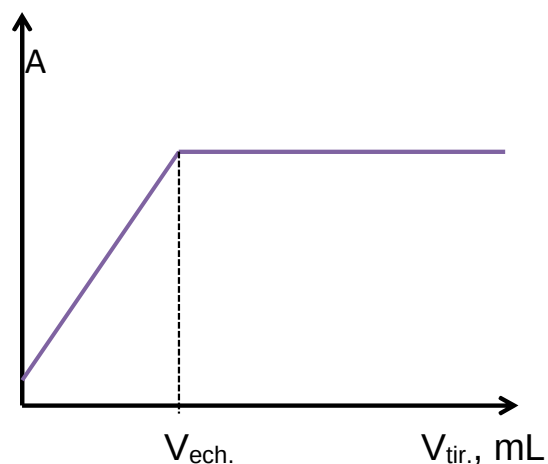


(b) A + **B** = C

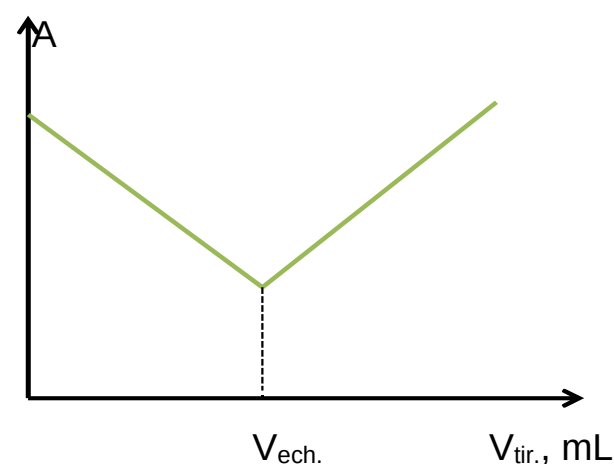


În varianta (c) este reprezentat aspectul curbei de titrare pentru cazul când absoarbe numai produsul reacției, iar specia care se titrează și titrantul nu absorb. În varianta (d) este redat aspectul curbei pentru cazul când absorb specia de analizat și titrantul, iar produsul reacției nu absoarbe.

(c) A + B = **C**



(d) **A** + **B** = C



Avantajele metodelor de titrare spectrofotometrică sunt:

- asigură o sensibilitate ridicată a determinărilor ($10^{-4} - 10^{-6}$ mol/L);
- sensibilitatea metodei poate fi mărită prin alegerea adecvată a condițiilor experimentale;
- nu este necesară efectuarea măsurărilor experimentale la valoarea maximului de absorbție ($\lambda_{\max}$);
- se pot analiza specii moleculare care nu prezintă proprietăți absorbante suficiente (sunt incolore sau slab colorate);
- nu este obligatoriu să se folosească radiație electromagnetică monicromatică;
- nu este necesară prezența substanței etalon a speciei analizate și respectiv a soluțiilor standard al acesteia.

Dezavantajele metodei:

- nu totdeauna poate fi exclusă interacțiunea titrantului cu alte specii prezente în proba de analizat;
- durata de timp relativ mare pentru efectuarea analizei.

Analizând metodele spectrofotometrice de determinare a concentrațiilor speciilor descrise, se poate de ajuns la concluzia că efectuarea unei determinări cantitative (dozări) spectrofotometrice sau elaborarea unei noi metode de dozare cuprinde următoarele etape de lucru:

a) Studiul reacției chimice ce stă la baza determinării (reacție de culoare) implicând:

- alegerea reactivului de culoare,
- a solventului, stoechiometria reacției,
- viteza de apariție a culorii,
- stabilitatea în timp a speciei colorate,
- influența diferiților factori asupra reacției de culoare (pH, temperatură, ordinea adăugării reactivilor, prezența speciilor străine, interferenți),
- sensibilitatea reacției de culoare,
- domeniul optim de concentrație.

b) Studiul aspectului fizic al determinării: alegerea lungimii de undă la care compusul colorat prezintă absorbanță

maximă și a metodei de măsurare.

c) Verificarea valabilității legii Lambert-Beer.

d) Construirea curbei de etalonare.

e) Măsurarea absorbantei probei de analizat (prelucrată în aceleași condiții cu etalonul) și deducerea valorii concentrației de pe curba de etalonare sau prin metoda de calcul folosind formula respectivă.

Sensibilitatea metodei spectrofotometrice depinde de doi factori: sensibilitatea reacției de culoare și sensibilitatea înregistrării (observării) diferențelor mici de absorbanță.

Sensibilitatea reacției de culoare este proporțională cu coeficientul molar de extincție al substanței ce absoarbe. Pe baza unor considerente teoretice a fost stabilit că valoarea maximă a coeficientului molar de absorbție ε este de ordinul 10^5 (100000).

Sandell afirma că sensibilitatea (S) unei reacții de culoare este dată de cantitatea de substanță (μg) dintr-un strat de soluție cu secțiunea de 1 cm^2 ce produce o absorbantă egală cu 0,001 (de exemplu, sensibilitatea reacției Fe^{2+} cu o-fenantrolină este $0,05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$; iar pentru Mn^{2+} după oxidare la MnO_4^- este $0,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$).

$$\frac{S \cdot \mu\text{g}}{\text{cm}^2} = S \frac{10^3 \cdot \mu\text{g}}{10^3 \cdot \text{cm}^3} \cdot \text{cm} = S \frac{\text{mg}}{\text{L}} \cdot \text{cm}$$

Prin analogie cu legea Bouguet–Lambert–Beer:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l = \varepsilon \cdot \frac{x \cdot \text{mol}}{\text{L}} \cdot \text{cm} = 0,001$$

$$A = S \cdot c \cdot l = S \cdot \frac{x \cdot \text{mg}}{\text{L}} \cdot \text{cm} = 0,001$$

Acest coeficient S , este definit de **Kortüm** ca fiind *cantitatea de substanță exprimată în mg conținută într-un litru de solvent, ce determină o absorbantă egală cu 0,001 pentru o grosime a stratului absorbant de 1 cm.*

Actualmente sunt elaborate și se aplică un număr foarte mare de metode de dozare atât pe compuși anorganici cât și organici. Practic, orice substanță poate fi dozată printr-o metodă spectrofotometrică, dacă se utilizează o reacție de culoare

adekvată pentru VIS sau UV.

Domenii de aplicare și avantaje generale

Datorită perfecționării aparaturii și metodelor de lucru, spectrofotometria UV-VIS a devenit o metodă performantă, cu o eroare mică de circa 0,25 - 0,5%, comparabilă cu a metodelor titrimetrice clasice.

Principalele avantaje ale metodelor de absorbție moleculară în domeniul UV-VIS:

- se pot aplica pentru dozarea majorității substanțelor. În cazul în care compusul nu absoarbe radiația electromagnetică din domeniul UV-VIS, poate fi transformat printr-o reacție chimică adecvată într-un compus optic activ în domeniul dat de radiații electromagnetice;

- folosirea reactivilor organici, care au coeficienți molari de absorbție mari, 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 interferențele 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);

- metodele spectrofotometrice sunt metode de analiză nondistructibile.

Avantajele generale ale metodelor spectrofotometrice de absorbție moleculară UV-VIS cât și avantajele fiecărei tehnici în parte fac ca această grupă de metode să se plaseze printre cele mai frecvent folosite metode instrumentale de analiză în controlul calității diferitor tehnologii de producere, a mediului ambiant, solului și aerului.

