

## Ćwiczenie 3

### Temat ćwiczenia: Pomiar absorpcji w celu wyznaczenia stężenia roztworu

#### 1. Wstęp

Absorbancja, nazywana również gęstością optyczną lub ekstynkcją, jest współczynnikiem absorpcji (pochłaniania) światła, stosowanym w spektrofotometrii do oznaczania stężenia substancji w roztworze. Absorbancja jest funkcją liczby cząsteczek absorbujących promieniowanie, znajdujących się na drodze promienia świetlnego, jest więc wprost proporcjonalna do stężenia roztworu.

Prawem opisującym absorbancję jest prawo Lamberta-Beera, które wiąże pochłanianie promieniowania z ilością (stężeniem) cząstek absorbujących w danej substancji. Według niego, równoległa wiązka promieniowania monochromatycznego ulega osłabieniu przy przejściu przez roztwór substancji absorbującej o współczynniku absorpcji  $\varepsilon$  i stężeniu  $c$ , zgodnie ze wzorem:

$$I = I_0 \cdot e^{-\varepsilon \cdot c \cdot d} \quad (1)$$

gdzie  $I_0$  jest natężeniem promieniowania padającego na ośrodek absorbujący,  $I$  oznacza natężenie promieniowania po przejściu przez ten ośrodek,  $\varepsilon$  jest współczynnikiem absorpcji wyrażonym w  $\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $c$  oznacza stężenie ośrodka (roztworu) absorbującego wyrażone w  $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ , natomiast  $d$  jest długością drogi optycznej.

Prawo Lamberta-Beera opisujące absorbancję zapisuje się w postaci:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (2)$$

Prawo to nie ma uniwersalnego charakteru (odstępstwa od niego spowodowane są występowaniem oddziaływań międzycząsteczkowych w roztworach). Jeżeli roztwór badanej substancji spełnia prawo Lamberta-Beera, to zależność  $A(c)$  jest liniowa dla określonej, ustalonej długości  $\lambda$  fali promieniowania elektromagnetycznego.

W praktyce eksperymentalnej badanie widm absorpcyjnych sprowadza się zazwyczaj do wyznaczenia natężenia i długości fali promieniowania oddziałującego z ośrodkiem. Ilość zaabsorbowanego promieniowania określamy podając jedną z następujących wielkości:

- transmisja, transmitancja  $T = I/I_0$  (może być wyrażona w procentach),
- absorpcja  $(I_0 - I)/I_0$  (może być wyrażona w procentach),
- absorbancja (ekstynkcja, gęstość optyczna)  $A = \log(I_0/I)$ .

Celem ćwiczenia jest zbadanie zależności  $A_{\lambda}(c)$  poprzez pomiar absorbancji roztworów o różnym stężeniu.

## 2. Przygotowanie do ćwiczenia

W ramach przygotowania do ćwiczenia należy zapoznać się z:

- zasadą działania spektrografu,
- instrukcją obsługi oprogramowania spektrografu – Spectra Suite.
- Prawem Lamberta-Beera
- definicją absorbancji, mola i stężenia molowego.

## 3. Przebieg ćwiczenia

Do wykonania ćwiczenia przygotowanych jest 5 kuwet z próbkami roztworu:

- woda destylowana (próbka referencyjna)
- roztwór  $\text{CuSO}_4$  o stężeniu  $0.001 \text{ mola/dm}^3$
- roztwór  $\text{CuSO}_4$  o stężeniu  $0.002 \text{ mola/dm}^3$
- roztwór  $\text{CuSO}_4$  o stężeniu  $0.005 \text{ mola/dm}^3$
- roztwór  $\text{CuSO}_4$  o stężeniu  $X \text{ mola/dm}^3$

Układ pomiarowy składa się ze źródła światła (żarówka) umiejscowionego w obudowie zawierającej uchwyt (kasetę) kuwet pomiarowych, spektrografu firmy Ocean Optics USB650, światłowodu, komputera PC z zainstalowanym oprogramowaniem Spectra Suite.

Jeden koniec światłowodu należy podłączyć do złączki na spektrografie, a drugi do złączki zamocowanej przy wielofunkcyjnym źródle światła. Spektrograf należy podłączyć do komputera PC za pomocą przewodu USB. Następnie uruchomić program Spectra Suite i sprawdzić, czy w oknie programu widać sygnał ze spektrografu. Umieścić w przeznaczonym do tego miejscu w uniwersalnym źródle światła kuwetę z wodą destylowaną (kuweta referencyjna). Włączyć żarówkę wciskając odpowiedni przycisk. Ustawić czas integracji w ten sposób aby maksymalne natężenie światła mieściło się w zakresie od 3500 do 4000. Wyłączyć źródło światła i zarejestrować prąd ciemny i widmo tła sensora CCD w spektrografie. Włączyć ponownie żarówkę i odczytać wartość natężenia światła dla trzech długości fali (np. dla 600, 650 i 700 nm). Pomiar powtórzyć dla wszystkich stężeń badanego roztworu. Zapisać zmierzone charakterystyki widmowe.

**UWAGA! Nie zmieniać raz wybranego czasu integracji.**

**Należy starać się aby umieszczać kolejne kuwety w tym samym położeniu.**

#### **4. Zadania do opracowania w sprawozdaniu z ćwiczenia**

- Sporządzić wykres  $I_\lambda(c)$  dla trzech długości fali dla trzech badanych roztworów o znanym stężeniu i wody destylowanej.
- Sporządzić wykres  $A_\lambda(c)$  dla trzech wybranych długości fali promieniowania dla trzech roztworów o znanym stężeniu. Absorbancję ( $A_\lambda$ ) oblicza się za pomocą wzoru:

$$A_\lambda = -\log_{10} \left( \frac{S_\lambda - D_\lambda}{R_\lambda - D_\lambda} \right) \quad (3)$$

gdzie  $S_\lambda$  oznacza intensywność światła przechodzącego przez próbkę przy długości fali  $\lambda$ ,  $D_\lambda$  jest intensywnością widma tła przy długości fali  $\lambda$ , natomiast  $R_\lambda$  oznacza referencyjną intensywność promieniowania przy długości fali  $\lambda$ .

- Do zmierzonych punktów pomiarowych trzech zależności  $A_\lambda = f(c)$  wyznaczyć proste wzorcowe (korzystając z regresji liniowej metodą najmniejszych kwadratów).
- Wykorzystując zmierzoną wartość absorbancji dla czwartego roztworu wyznaczyć jego stężenie z dopasowanej prostej dla każdej rozważanej długości fali.

Dodatkowo w sprawozdaniu powinien znaleźć się rysunek układu doświadczalnego. Regresję liniową można wykonać z wykorzystaniem aparatu matematycznego lub używając odpowiednich programów komputerowych, przy czym w sprawozdaniu należy opisać wykorzystany program i użytą metodę oraz podać wzór końcowy z jakiego korzystano. Na podstawie wykonanego ćwiczenia w sprawozdaniu zamieścić wnioski, spostrzeżenia i uwagi.