

## Лекція 2.

**Тема.** Ультрафіолетова та видима спектроскопія.

**Мета.** Поглибити знання студентів стосовно основних принципів УФ-видимої спектроскопії, детально познайомити їх із обладнанням (УФ-спектрофотометром), надати практичні навички, необхідні для роботи на УФ-спектрофотометрі, інтерпретації УФ-спектрів, що дасть змогу ідентифікувати досліджувані органічні та інші сполуки.

**Вступ.** Спектроскопію, що вивчає і досліджує спектри поглинання і відбиття в УФ- та видимій ділянці спектра – в оптичному діапазоні довжин бхвиль (10-760 нм) – ще називають **оптичною спектроскопією**. Випромінювання оптичного діапазону пов'язане з процесами, які відбуваються з участю зовнішніх (оптичних або валентних) електронів атомів. Останнім часом до оптичної спектроскопії відносять і методи, які використовують випромінювання інфрачервоного діапазону.

**Ультрафіолетова спектроскопія** – розділ спектроскопії, що вивчає і досліджує спектри поглинання і відбиття в УФ-області спектра, тобто від 400 нм до 10 нм.

Для багатьох хімічних сполук характерні сильні смуги поглинання в УФ- і видимій області, що створює переваги використання ультрафіолетової і видимої абсорбційної спектроскопії в спектральному аналізі. Різні молекули абсорбують опромінювання при різних довжинах хвилі. Спектр поглинання містить число смуг, які відповідають певним структурним групам досліджуваної молекули. Наприклад, абсорбція карбонільної групи ацетону спостерігається в УФ-області при тій же довжині хвилі, що і для діетилкетону.

Цей метод дозволяє відслідковувати кінетику хімічної реакції та її швидкість при вимірюванні спектрів поглинання через певні проміжки часу. Константа рівноваги  $K_p$  може бути також розрахована за допомогою УФ-спектрометричного методу. Після визначення оптимальних довжин хвиль для всіх компонентів (реагентів), які знаходяться у стані рівноваги, можна моніторити реакцію до досягнення її рівноважного стану і визначати концентрації реагуючих речовин при їх раніше зафіксованих довжинах хвиль. Так,  $K_p = [\text{Продукти реакції}] / [\text{Вихідні реагенти}]$ .

Іноді під спектрофотометрією розуміють розділ фізики, що об'єднує спектроскопію (як науку про спектри електромагнітного випромінювання), фотометрію і спектрометрію (як теорію і практику виміру інтенсивності і довжини хвилі (чи частоти) електромагнітного випромінювання); на практиці спектрофотометрію часто ототожнюють з оптичною спектроскопією.

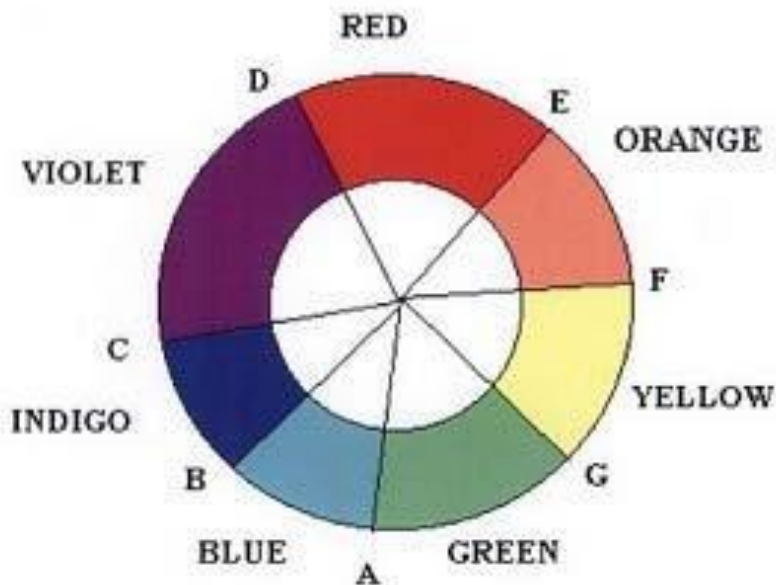
## План.

1. Історія відкриття методу.
2. Сутність методу.
3. Апаратурне обладнання.
4. Сфери застосування.

## Зміст лекції

### 1. Історія відкриття методу

Перші пояснення спектру видимого світла було описано Ісааком Ньютоном у книзі "Оптика" та Йоганном Гете в роботі "Теорія Кольорів". Хоча, до їх повідомлень Роджер Бэкон спостерігав оптичний спектр в склянці з водою. Ньютон, який перший розклав світло через призму, використав термін "спектр" (*лат. spectrum* – бачення, поява) у 1671 році, описуючи свої оптичні досліди. Ним було зафіксовано той факт, що коли промінь світла падає на поверхню скляної призми під кутом до неї, частина світла відбивається, а інша – проходить крізь скло, утворюючи різноколірні смуги. І. Ньютон припустив, що світло складається з потоку різнокольорових часток (корпускул), і що вони мають різну швидкість руху в прозорому середовищі. Тому, червоне світло рухалося швидше ніж фіолетове, оскільки червоний промінь, проходячи крізь призму, мав невеликий кут відхилення, на відміну від фіолетового – кут якого мав велике значення.



І. Ньютон розділив світло на сім кольорів: червоний, помаранчевий, жовтий, зеленій, блакитний, індиго і фіолетовий. Число сім вибрано з переконання, що існує зв'язок між кольорами, музичними нотами, об'єктами

Сонячної системи і днями тижня. Людське око відносно слабо сприймає частоти кольору індиго, тому деякі люди не можуть відрізнити його від блакитного або фіолетового кольору. Тому досить часто пропонувалося вважати індиго не самостійним кольором, а лише відтінком фіолетового або блакитного (у країнах Західної Європи, США та Канади його включено до спектру, в Україні – індиго відповідає синьому кольору).

Згідно уявлень Гете, на відміну від Ньютона, спектр виникає при накладенні різних складових частин світла. Спостерігаючи за широкими променями світла, він виявив, що при проходженні через призму на краях променя проявляються червоно-жовті і блакитні лінії, між якими світло залишається білим, а спектр з'являється, якщо наблизити ці краї досить близько один до одного.

Довжини хвиль, що відповідають різним кольорам видимого випромінювання були уперше представлені 12 листопада 1801 року у Бекерівській лекції Томасом Юнгом. Дані величини отримані шляхом перерахунку довжини хвиль кілець Ньютона, які були ним одержані пропусканням через лінзу, що лежить на рівній поверхні, світла потрібного кольору, який було одержано розкладанням видимого світла призмою. Повторюючи експеримент для кожного з кольорів Юнг оформив отримані довжини хвиль у вигляді таблиці, які виразив у французьких дюймах (1 дюйм = 27,07 мм). Значення цих величини непогано корелюють сучасним даним (у нм), які прийнято для різних кольорів.

Колір	Діапазон довжин хвиль, нм	Діапазон частот, ТГц	Діапазон енергій фотонів, еВ
Фіолетовий	380–440	790–680	2,82–3,26
Синій	440–485	680–620	2,56–2,82
Блакитний	485–500	620–600	2,48–2,56
Зелений	500–565	600–530	2,19–2,48
Жовтий	565–590	530–510	2,10–2,19
Помаранчевий	590–625	510–480	1,98–2,10
Червоний	625–740	480–400	1,68–1,98

У 1821 році Йозеф Фраунгофер започаткував вимір довжин хвиль спектральних ліній, отримавши їх від видимого випромінювання Сонця за допомогою дифракційних ґраток, вимірявши кути дифракції теодолітом і перевіривши в довжини хвиль. Як і Юнг, він виразив їх у французьких дюймах, які згодом були переведені в нанометри. Їх величини відрізняються від сучасних на одиниці. Таким чином, ще на початку ХІХ століття стало

можливим вимірювати довжини хвиль видимого випромінювання з точністю до декількох нанометрів.

## 2. Сутність методу

УФ- та видима абсорбційна спектроскопія базується на вимірюванні ступеню ослаблення інтенсивності променя світла після його проходження через зразок або після відбиття від поверхні певного зразка. Вимірювання абсорбції (поглинання) може відбуватися на одній довжині хвилі, або у певному спектральному діапазоні. Багато молекул поглинають ультрафіолет або видиме світло. Поглинання світла у розчині підвищується і при цьому одночасно відбувається ослаблення інтенсивності променя. Поглинання ( $A$ ) прямо пропорційне довжині шляху променю, що проходить через зразок ( $b$ ), і концентрації ( $c$ ) абсорбуючого зразка. Закон Бугера-Ламберта-Бера, який описує цей процес, стверджує, що  $A = \epsilon bc$ , де  $\epsilon$  – константа пропорційності, або молярний коефіцієнт абсорбції.

Світло, проходячи через будь-яке середовище, повністю або частково поглинається. Поглинання (абсорбція) світла пов'язане з перетворенням у речовині енергії електричного випромінювання у інші види енергії. З точки зору електронної теорії, взаємодія світла і речовини зводиться до взаємодії електромагнітного поля світлової хвилі з атомами і молекулами речовини. Енергія електромагнітної хвилі, яка затрачується на збудження коливань, частково повертається у вигляді випромінювання вторинних хвиль, які випромінюються зарядженими частинками, що рухаються, а частково переходить у інші форми енергії, наприклад у енергію руху атомів, тобто у внутрішню енергію речовини. Інтенсивність світла при проходженні через речовину зменшується – здійснюється поглинання світла.

Розглянемо однорідну речовину товщиною  $d$ , на яку падає пучок паралельних монохроматичних променів інтенсивністю  $I_0$ . При проходженні світла крізь поглинаючий шар речовини інтенсивність світла  $I$  послаблюється пропорційно товщині шару. Тому при проходженні світлом товщини шару  $dx$  зміна інтенсивності:

$$dI_x = -\alpha I_x dx, \quad (1)$$

де  $\alpha$  – коефіцієнт пропорційності (лінійний коефіцієнт поглинання світла), який залежить від виду поглинаючої речовини та від довжини хвилі. Знак мінус вказує на те, що із збільшенням товщини шару поглинаючого середовища інтенсивність світла, що проходить через нього, зменшується. Після відокремлення змінних у рівнянні отримаємо:

$$\frac{dI_x}{I_x} = -\alpha \cdot dx. \quad (2)$$

Інтегруючи рівняння (2), одержимо:

$$\int_{I_0}^I \frac{dI_x}{I_x} = -\alpha \int_0^d dx. \quad (3)$$

Після інтегрування маємо:

$$\ln I - \ln I_0 = -\alpha d, \quad (4)$$

тобто:

$$I = I_0 e^{-\alpha d}. \quad (5)$$

Отримане співвідношення називається **законом Бугера-Ламберта**. Фізичний зміст коефіцієнта поглинання  $\alpha$  можна визначити з такої умови: зменшення інтенсивності світла в  $e$  раз здійснюється при товщині поглинаючого шару  $d_e = 1/\alpha$ .

Встановлено, що у випадку проходження світла через розчин поглинаючої речовини у прозорому розчиннику коефіцієнт поглинання  $\alpha$  прямо пропорційний молекулярній концентрації  $C_0$  розчиненої речовини, тобто:

$$\alpha = \alpha_0 C_0, \quad (6)$$

де  $\alpha_0$  – коефіцієнт пропорційності, який залежить від природи розчиненої речовини і не залежить від її концентрації у розчині. З врахуванням співвідношення (6) закону Бугера-Ламберта, який виконується для газів і розчинів малих концентрацій, можна надати такий вигляд:

$$I = I_0 e^{-\alpha_0 C_0 d}. \quad (7)$$

При експериментальному дослідженні поглинання світла речовиною зазвичай вимірюють коефіцієнти пропускання  $\tau$  і оптичну густину  $D$ . **Коефіцієнт пропускання (прозорості)** показує яка частина світлового потоку, що падає на досліджуваний об'єкт і проходить через нього не поглинаючись. За визначенням:

$$\tau = \frac{I}{I_0}. \quad (8)$$

**Оптична густина речовини** характеризує ступінь поглинання нею монохроматичного випромінювання і описується співвідношенням:

$$D = -\lg \frac{I}{I_0} = -\lg(\tau). \quad (9)$$

Оскільки  $\ln \tau = -\alpha d$  і  $\lg \tau = -0,43\alpha d$ , то:

$$D = 0,43\alpha d, \quad (10)$$

а лінійний коефіцієнт поглинання  $\alpha$ :

$$\alpha = \frac{D}{0,43d}. \quad (11)$$

Якщо крізь речовину пропустити світло із суцільним спектром, то аналізуючи випромінювання, яке пройшло крізь неї, можна за зміною інтенсивності визначити спектр поглинання речовини, яка досліджується, тобто отримати залежність лінійного коефіцієнта поглинання від довжини хвилі, яка проходить крізь шар поглинаючої речовини.

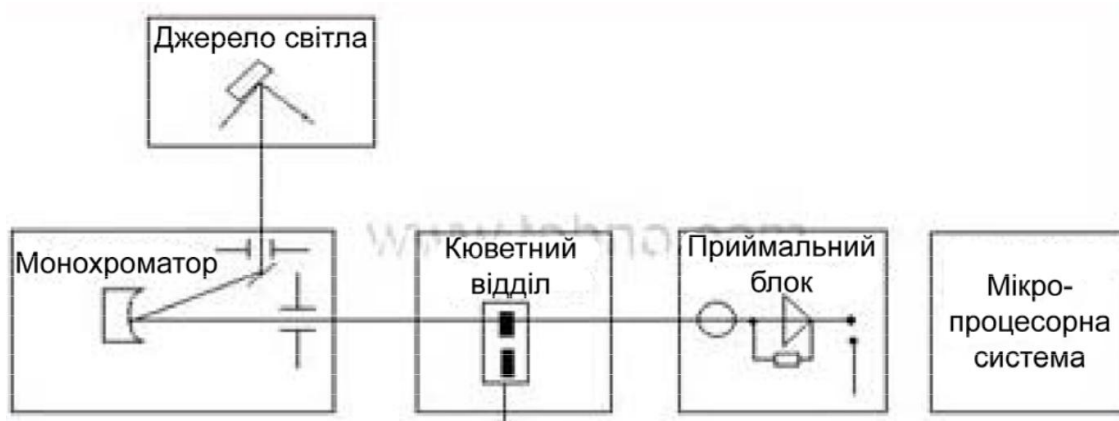
Застосування спектрофотометрії в УФ і видимій областях спектра засноване на поглинанні електромагнітного випромінювання сполуками, що містять хромофорні (наприклад,  $C=C$ ,  $C=O$ ) і ауксохромні ( $OCN_3$ ,  $OH$ ,  $NH_2$  тощо) групи. Поглинання випромінювання в цих областях пов'язане з збудженням електронів  $s$ -,  $p$ - і  $n$ -орбіталей основного стану та переходами молекул в збуджені стани:  $s \rightarrow s^*$ ,  $n \rightarrow s^*$ ,  $p \rightarrow p^*$  і  $n \rightarrow p^*$  (переходи перераховані в порядку зменшення енергії, необхідної для їх здійснення).

### 3. Апаратурне обладнання

Оптичні прилади для вимірювання абсорбції (поглинання) випромінювання називають **фотометрами**.

Якщо в фотометричних приладах використовується візуальна детекція – вони називаються **колориметрами**, якщо використовується фотоелектрична детекція – **фотоелектроколориметрами** і **спектрофотометрами**.

Фотоколориметри – прилади, призначені для визначення кількості забарвленої речовини шляхом вимірювання величин поглинання і пропускання у видимій частині електромагнітного спектру.



Оптичні прилади, що вимірюють поглинання поліхроматичного світлового потоку тільки видимого діапазону і використовують спрощений спосіб монохроматизації світла (монохроматорами є світлофільтри, які здатні вибірково пропускати випромінювання ділянок спектру  $\Delta \lambda = 10-100$  нм), називаються **фотоелектроколориметрами**.

Поглинання поліхроматичного світлового потоку всього оптичного діапазону з більш високим ступінь монохроматизації світла ( $\Delta \lambda = 0,5 - 1 \text{ нм}$ ) можна виміряти **спектрофотометрами**. Основна відмінність спектрофотометра від фотоколориметра полягає в можливості пропустити через досліджуваний зразок світловий потік будь-якої необхідної довжини хвилі, проводити фотометричні вимірювання, скануючи (переглядаючи) весь діапазон довжин хвиль не тільки видимого (VIS) світла – від 380 до 750 нм, але і ближнього ультрафіолету (UV) – від 200 до 380 нм.

Остання обставина не виключає доцільності випуску недорогих спектрофотометрів, що не мають джерела ультрафіолетового випромінювання і працюють тільки у видимій частині оптичного діапазону хвиль.

Метою згаданого і дуже важливого режиму роботи спектрофотометрів – режиму сканування – є побудова спектральної кривої поглинання (абсорбції) і знаходження на ній піків, а також дослідження процесів інтерференції і пошук помилкових піків, що призводять до помилкових результатів при спектрофотометричних дослідженнях.

### **Основні вузли спектрофотометра**

1. Джерело світла. Спектрофотометр UV / VIS (ультрафіолет + видиме світло) має два джерела світла: джерело для видимої ділянки спектра і джерело ультрафіолету – від 200 до 390 нм.

Джерелом видимого світла служить вольфрамова, як правило, галогенна лампа, що дає постійний потік світла в діапазоні 380-950 нм, будучи стабільним довговічним джерелом світлової енергії із середнім терміном служби більше 500 год.

Як джерело УФ використовуються водневі або дейтерієві лампи. Ультрафіолетові лампи, що містять дейтерій, мають високу інтенсивність випромінюваного потоку і безперервний спектр в діапазоні від 200 до 360 нм.

2. Кювети. Як відомо досліджуваний зразок поміщається в спеціальні приставки. Для кожного виду зразків вони різні. Для твердих – це спеціальні затискачі, а при спектральних вимірах рідких зразків використовуються спеціальні контейнери з кварцового скла, так звані кювети.

В більшості спектрофотометрів застосовуються стандартні кювети, які призначені для такого розміщення, яке передбачає горизонтальну траєкторію променя світла. Основним недоліком подібних кювет є те, що тільки невелика частина зразка (близько 10%) висвітлюється вимірює світлом. У разі великої цінності зразка або доступності його в невеликому об'ємі, можна використовувати мікрокювет або ультрамікрокювети з об'ємом 50 або навіть 2,5 мкл. Кювети дуже маленьких об'ємів виявляють капілярні властивості, і

виникають проблеми з утворенням пухирців повітря, що вимагає дегазації. Нарешті, з таких кювет складно витягти назад зразок.

3. Диспергуючий елемент. У спектрофотометрах як диспергуючий елемент найчастіше використовують призми і дифракційні решітки.

Дифракційна решітка технологічно більш складний виріб, ніж призма. Більшість вживаних в даний час решіток виготовлені способом випалювання і голографічного копіювання і являють собою пластини з великим числом паралельних штрихів – до кількох сотень на міліметр.

Основною перевагою використання призми в спектрофотометрі є її низька вартість.

Перевага дифракційних решіток полягає в тому, що вони забезпечують лінійну дисперсію світла на всьому діапазоні видимого і УФ спектрів. Негативним моментом застосування дифракційних решіток є їх висока вартість в порівнянні з призмами і світлофільтрами.

Однією з найважливіших характеристик монохроматоров є смуга пропускання, що виражається в одиницях довжин хвиль – нанометрах. Якщо інтерференційні фільтри дають ширину пропускання в діапазоні 6-20 нм, то призми і дифракційні решітки дають більш вузьку смугу – менше 5 нм, а отже, і більшу "чистоту" (монохромність) світла, що падає на кювету з зразком. Смуга пропускання є однією з найважливіших характеристик спектрофотометра. Зменшення смуги пропускання тягне за собою підвищення роздільної здатності спектрофотометра – значущої характеристики якості спектрофотометричних приладів.

#### **4. Сфери застосування**

Впродовж більш ніж двохсот років оптична спектроскопія застосовується в різних областях науки, виробництва та медицини, у тому числі в хімії та біології. Висока специфічність оптичної спектроскопії пояснюється тим, що кожна речовина володіє своїми спектральними властивостями, відмінними від спектральних характеристик інших речовин. З її допомогою можна встановлювати якісний і кількісний склад різних проб.

У порівнянні з іншими аналітичними методами оптична спектроскопія має низку переваг:

- метод не є руйнуючим або агресивним;
- вимірювання можна проводити з будь-якої відстані – від декількох міліметрів до кількох сотень кілометрів (з літаків і супутників) без фізичного контакту зі зразком. Небезпечні і недоступні об'єкти легко піддаються аналізу;



– легко досліджуються рідкі, тверді або газоподібні зразки, незалежно від їх оптичних властивостей. Для методу також не важливо, чи є об'єкт прозорим, напівпрозорим або зовсім непрозорим;

– за шириною охоплюваного діапазону концентрацій спектроскопічні методи перебивають всі інші аналітичні методи;

– радіоактивні маркери, що застосовуються для досліджень в біохімічних і молекулярно-біологічних процесах, все в зростаючій мірі замінюються дешевшими і безпечними люмінесцентними маркерами, а обладнання – недорогими люмінесцентними спектрометрами.

Зважаючи на велику різноманітність спектроскопічних методів освоєння цієї галузі аналітичної хімії завдання далеко не просте. При виборі конкретного методу дослідник повинен відповісти на безліч питань, що стосуються фундаментальних методичних основ. Наприклад: в якій області довжин хвиль проводити вимірювання? Який метод обрати для збудження випромінювання? Що за прилад є в наявності, яка його конструкція, можливості, годиться він для вирішення поставленого завдання? Подібний систематичний підхід полегшує і вивчення найновіших досягнень в області спектроскопії, які, як правило, здійснюються шляхом поступового вдосконалення як методів вимірювання, так і вимірювальної апаратури.

Сьогодні зручні й чутливі спектрофотометричні методи визначення відомі для більшості хімічних речовин. Кількісний аналіз з використанням молекулярних спектрів поглинання – найпоширеніший у практиці аналітичної хімії.

Метод універсальний, тому що дає змогу визначати численні неорганічні й органічні речовини, які поглинають у доступній спектральній ділянці. Зумовлено це тим, що є дуже багато реагентів, які утворюють з речовинами-аналітами забарвлені сполуки, а вимірювання оптичної густини можна проводити не тільки у видимій, але і в ультрафіолетовій частині спектра. За допомогою реакцій комплексоутворення коло таких речовин значно розширюється. Вимірювання в ультрафіолетовій частині спектра створили можливість визначати безбарвні інгредієнти, які поглинають світло в інтервалі 200-400 нм, що особливо широко використовують під час аналізу органічних речовин.

Спектрофотометричні методи застосовують, визначаючи відносно низький вміст аналізованої речовини, особливо тоді, коли її вміст не перевищує 0,1 мас. %.

Метод має порівняно високу чутливість – нижня межа визначення може досягати значень  $10^{-6}$ , а в окремих випадках і  $10^{-7}$  моль/л ( $10^{-4}$ - $10^{-9}$  % для

сильнозабарвлених речовин). Для більшості методів гранична визначувана концентрація становить  $10^{-7}$ – $10^{-8}$  моль/л.

Досягається і достатньо висока вибірковість за рахунок оптимізації умов вибору: рН, концентраційних умов, усунення впливу сторонніх компонентів.

Похибка визначення на фотометрах із застосуванням світлофільтрів коливається в межах 3 – 5%, у випадку використання спектрофотометрів – 1 – 2%, у диференційному варіанті – десятих відсотка.

Суттєвою перевагою спектрофотометричних методів є простота і експресність. Метод простий у реалізації, не вимагає надто дорогої апаратури, відзначається експресністю аналізу. Характерна риса сучасної спектрофотометрії – автоматизація серійних визначень, наприклад, моніторингу довкілля, контролю виробничих процесів. Можливості методу очевидні з величезного нагромадженого теоретичного й експериментального матеріалу. За кількістю літератури метод не має собі рівних.

До **недоліків** спектрофотометричних методів слід віднести невисоку селективність багатьох реакцій, які використовують у фотометрії.

Часто потрібно попередньо відокремити компоненти, що заважають визначенню. Це збільшує час проведення аналізу та зменшує точність.