

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.

Определение области применимости закона Бугера-Ламберта-Бера

При взаимодействии света с веществом может происходить преломление световых лучей, их рассеяние или поглощение фотонов молекулами. Через $10^{-8} - 10^{-9}$ с после поглощения кванта света молекулой может произойти люминесценция. Различают два вида люминесценции: *флуоресценцию* и *фосфорисценцию*, отличающихся временем жизни и энергией излучаемых фотонов (рис. 2).

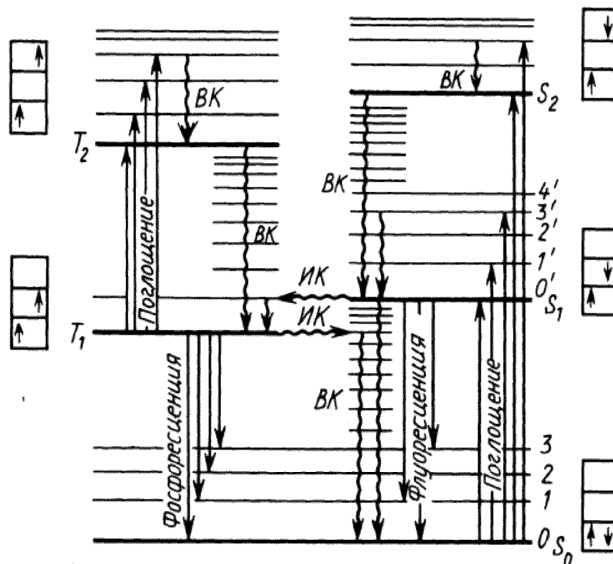


Рис. 2. Схема энергетических уровней молекулы в основном и возбужденном состояниях: S_0, S_1, S_2, T_1, T_2 – возбужденные синглетные и триплетные состояния; ВК – внутренняя конверсия; ИК - интеркомбинационная конверсия; тонкие горизонтальные линии - колебательные уровни

Спектр пропускания – это зависимость пропускания образца T от длины волны. *Спектр поглощения* любого вещества представляет собой зависимость оптического поглощения раствора A от длины волны (рис. 3).

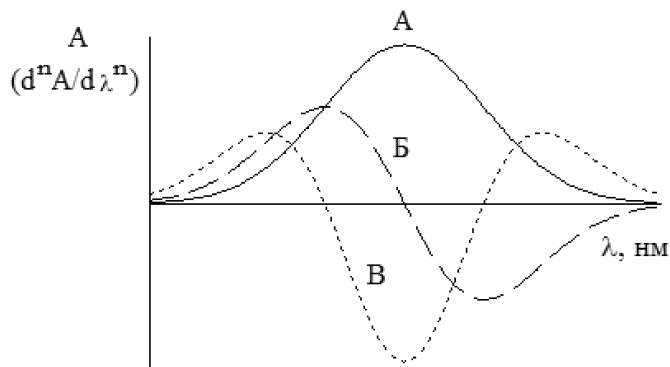


Рис. 3. Спектр поглощения вещества, имеющий форму кривой Гаусса (А), его первая (Б) и вторая (В) производные

Форма полос поглощения может дать важные сведения о природе поглощающих свет веществ. Отклонение ее от симметричной кривой Гаусса указывает на наложение разных электронных переходов, осуществляемых в одной и той же молекуле (ионе), или о наличии смеси поглощающих свет веществ, или о идущем в растворе ступенчатом комплексообразовании. Дифференцирование спектров позволяет более четко определить положение максимума поглощения. Для веществ, образующих в растворе димеры или более сложные ассоциаты, увеличение или уменьшение их концентрации приводит к отклонению от закона Бера вследствие различия в спектрах поглощения мономерных частиц и ассоциатов. Склонность к ассоциации проявляют многие красители и некоторые органические вещества. Ассоциация проявляется в сдвиге полосы поглощения и уменьшении или увеличении интенсивности поглощения.

Измерение спектров поглощения растворов и суспензий осуществляется посредством спектрофотометрии. *Спектрофотометрия* – это метод исследования, основанный на измерении спектров поглощения веществ в оптической области электромагнитного излучения.

Количественный спектрофотометрический анализ основан на *законах поглощения монохроматического излучения*, установленных на основе экспериментального изучения поглощения видимого света твердыми веществами, жидкостями и газами. Эти законы справедливы для изучения любой области спектра, в том числе ультрафиолетовой и инфракрасной.

Закон Бугера-Ламберта: равные последовательные слои однородного вещества поглощают равную долю падающего на них монохроматического излучения.

Закон Бера: поглощение монохроматического излучения прямо пропорционально концентрации поглощающего вещества.

Обобщенный закон Бугера-Ламберта-Бера: каждая молекула (ион) растворенного вещества поглощает одинаковую часть монохроматического излучения; интенсивность излучения после прохождения слоя раствора уменьшается экспоненциально с увеличением концентрации растворенного вещества, а оптическая плотность увеличивается с ростом концентрации:

$$I = I_0 \times e^{-k_{\lambda} I C} \quad , \quad (15)$$

где I – интенсивность света, прошедшего через слой исследуемого вещества;

I – толщина поглощаемого слоя вещества;

C – концентрация вещества в растворе;

k_{λ} - коэффициент поглощения;

I_0 – интенсивность света, падающего на исследуемое вещество.

Отношение интенсивности света, прошедшего через слой исследуемого вещества к интенсивности света, падающего на него называется *пропусканием* (Т) и выражается в %

$$(I/I_0) \cdot 100 \% = T, \quad (16)$$

а величина

$$A = \lg I_0/I \quad (17)$$

– *оптической плотностью* (от англ. *A* – *absorbance*, устаревшее обозначение *D* от англ. *density*).

$$A = k_\lambda l C \quad (18)$$

Оптическая плотность – это мера изменения интенсивности монохроматического излучения в результате его взаимодействия с растворенным веществом.

Если в растворе присутствует несколько поглощающих веществ, то оптическая плотность раствора равно сумме парциальных оптических поглощений, создаваемых входящими в него компонентами (закон аддитивности):

$$A = \sum k_{\lambda i} C_i l, \quad (19)$$

где $k_{\lambda i}$ – молярный коэффициент светопоглощения i -го компонента,

л·моль⁻¹·см⁻¹;

λ - длина волны, нм;

C_i – молярная концентрация i -ого компонента в смеси, моль/л.

Молекулярный коэффициент поглощения можно рассчитать, зная оптическую плотность (экстинкцию) D , концентрацию вещества и толщину поглощающего слоя (кюветы):

$$k_\lambda = \frac{A}{l \times C} \quad (20)$$

Молекулярный коэффициент поглощения равен поглощению излучения с длиной волны λ , приходящемуся на одну поглощающуюся частицу (молекулу или ион).

Если поглощение излучения раствором подчиняется закону Ламберта-Бугера-Бера, то *зависимость оптической плотности раствора от его концентрации* прямолинейна. Однако, пропорциональность между C и A (закон Бера) строго выполняется лишь для газов и достаточно разбавленных растворов в инертных растворителях, где отсутствует взаимодействие между поглощающими частицами. Коэффициент поглощения остается постоянным, когда закон Бера применим к исследуемым растворам. В случае отклонений от данного закона, зависимость $A=f(C)$ будет представлена кривыми (рис. 4).

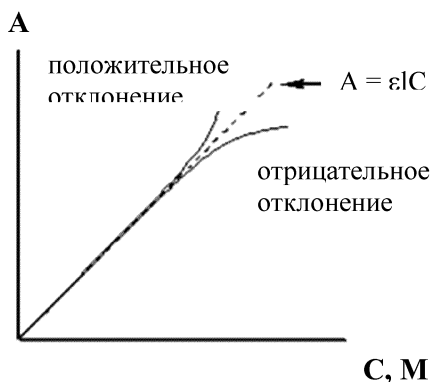


Рис. 4. Положительное и отрицательное отклонение от основного закона светопоглощения

Отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера бывают истинные и кажущиеся. *Истинные отклонения* связаны с изменением коэффициента преломления среды при изменении концентрации поглощающего вещества. Они заметно проявляются при больших концентрациях, следствием чего являются сравнительно «узкие» диапазоны определяемых концентраций для спектрофотометрических методик, обычно в пределах двух порядков.

Кажущиеся отклонения связаны с инструментальными и химическими причинами. К числу инструментальных причин относятся немонахроматичность источника излучения и влияние рассеяния света.

Причины отклонений от закона Бугера-Ламберта-Бера:

1) молекулы хромофоров распределены в растворе неравномерно; 2) характер взаимодействия между хромофорами меняется при повышении концентрации, например, происходит агрегация молекул, тогда значение $k_{\lambda} \neq \text{const}$; 3) немонахроматический свет; 4) фотохимические превращения хромофоров; 5) рассеяние света образцом завывает A ; 6) люминесценция образца занижает значение A ; 7) высокая интенсивность измеряющего светового пучка, приводящая к уменьшению концентрации невозбужденных молекул в ходе измерения.

Относительное изменение интенсивности излучения определяют с помощью *спектрофотометров*, которые состоят из следующих основных частей:

– источник лучистой энергии, дающий излучение сплошного спектра в пределах нужной спектральной области (для 210-350 нм применяется водородная или дейтериевая лампа, а для 350-1000 нм – лампа накаливания);

– монохроматор – спектральная диспергирующая система - выделяет узкий участок длин волн;

– приемник излучения – фотоэлемент и фотоумножитель - служит для измерения интенсивности излучения;

– дополнительные устройства – держатели кювет или твердых образцов, приспособления для стабилизации источников лучистой энергии и др.

Цель работы: научиться регистрировать спектры соединений спектрофотометрическим методом.

Учебные задачи:

1) измерить оптическая плотность растворов с помощью спектрофотометра; 2) исследовать зависимости $A=f(\lambda)$, $A=f(C)$; 3) рассчитать значения $k_{\lambda_{\max}}$; 4) сделать вывод о применимости закона Ламберта-Бугера-Бера.

Приборы и реактивы: фотоэлектроколориметр КФК-2, набор кювет, 4 мерные колбы емкостью 50 см³, пипетки емкостью 5 см³, 0,05 н. H₂SO₄ (растворитель), CuSO₄·5H₂O, мерная колба на 100 см³, карандаш по стеклу, фильтровальная бумага, мерный цилиндр на 25 см³.

дистиллированная вода.

Порядок выполнения работы

1. Из 0,2 М раствора CuSO₄ в 0,05 н. H₂SO₄ путем последовательного разбавления серной кислотой в мерных колбах приготовить серию растворов следующих концентраций: 0,1; 0,05; 0,025; 0,0125 М.

2. Выбрать кюветы в соответствии с интенсивностью окраски исследуемого раствора: для интенсивно окрашенных растворов подобрать кюветы с толщиной до 1 см, а для слабо окрашенных растворов – самые большие кюветы. Одну из кювет заполнить растворителем (раствор сравнения), а вторую – раствором исследуемого вещества. Записать значение толщины кюветы. Для двух указанных преподавателем растворов снять спектры поглощения.

3. Построить график зависимости $A=f(\lambda)$. Найти длину волны, при которой поглощение света исследуемым раствором максимальное - λ_{\max} .

4. Измерить оптическую плотность всех приготовленных растворов при λ_{\max} , начиная от самого разбавленного и заканчивая самым концентрированным, и рассчитать для каждого по формуле (20) коэффициент поглощения k_{λ} . Полученные результаты занести в таблицу 7.

Таблица 7

Данные спектрофотометрического исследования вещества

| $\lambda_{\max} = \dots$ нм | $C_{\text{CuSO}_4 \text{ в } 0,05 \text{ н. H}_2\text{SO}_4}, \text{ М}$ | | | | |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| | 0,2000 | 0,1000 | 0,0500 | 0,0250 | 0,0125 |
| A | | | | | |
| $k_{\lambda}, \text{ моль}^{-1} \cdot \text{дм}^3 \cdot \text{см}^{-1}$ | | | | | |

5. Построить график $A=f(C)$ и оценить протяженность линейного участка данной зависимости, на основании чего сделать вывод об области применимости закона Ламберта-Бугера-Бера.

Контрольные вопросы

1. Напишите математическое выражение объединенного закона светопоглощения Ламберта–Бугера-Бера. Какие два закона он объединяет?

2. Что называется коэффициентом поглощения? Какие из факторов: концентрация, толщина поглощающего слоя, температура, природа поглощающей среды, длина волны, время – влияют на коэффициент поглощения света раствором?

3. Что называется оптической плотностью раствора? Какие значения она может принимать?

4. Что представляет собой спектр поглощения вещества? Для чего их используют?

5. Из каких основных частей состоит спектральный прибор?

6. На каком принципе основано измерение оптических плотностей жидкого вещества?

7. Как экспериментально определяют коэффициенты поглощения?

8. Как определяется область применимости закона Ламберта – Бугера - Бера?

9. Что такое пропускание, и в каких пределах оно изменяется?

10. Перечислите области спектра электромагнитного излучения.

Задачи

1. Коэффициент молярного поглощения комплексного соединения алюминия с ализарином равен $1,6 \cdot 10^4$ моль⁻¹·дм³ см⁻¹ при длине волны $\lambda = 485$ нм. Какую кювету необходимо выбрать для фотометрирования, чтобы оптическая плотность раствора была не менее 0,3 при содержании алюминия 10^{-5} моль/дм³?

2. Оптическая плотность раствора, содержащего вещество с молярной массой $M=384$ в концентрации $C= 28$ мкг/мл, составляет 0,27 при длине волны $\lambda = 540$ нм в кювете длиной 2 см. Найти молярную концентрацию и коэффициент молярного поглощения k_λ для данного вещества.

ЗАДАНИЕ

1. Внимательно прочитать теоретическую часть и ход лабораторной работы.

2. Письменно ответить на десять контрольных вопросов.

3. Решить задачи.

4. Оформить отчет по лабораторной работе в ученической тетради. Данные для отчета будут отправлены старосте группы в день, когда по расписанию должно быть проведено занятие. **В конце работы написать вывод:** «Спектрофотометрическим методом изучены водные растворы ... Найдено, что закон Бугера-Ламберта-Бера выполняется для них в интервале концентраций от... до... моль/л».