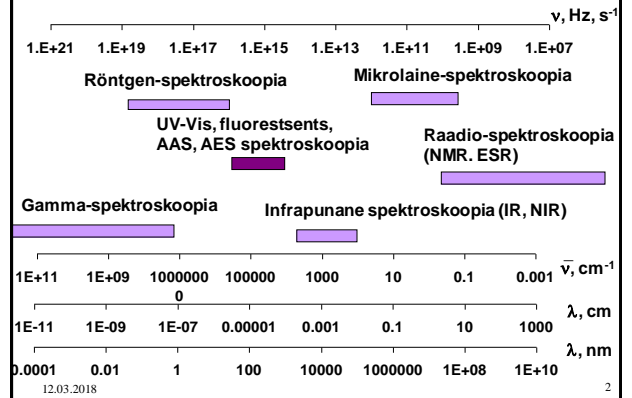


UV-Vis spektrometria

12.03.2018

1

Elektromagnetkiirgus ja meetodid



12.03.2018

2

Põhimõte

- Mõõdetakse aine poolt neelatud ultraviolet või nähtava valguse intensiivsust
- Neeldumise intensiivsuse järgi saab määrata aine hulka, maksimumi(de) kuju järgi põhimõtteliselt identifitseerida
- Analüüdiks on molekulid (ioonid, metallikompleksid) - see on **molekulspektroskoopia**

12.03.2018

3

Põhimõte

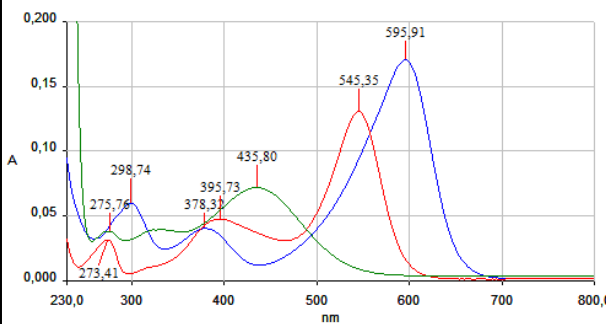
- Toimub kas UV, Vis (nähtavas) või NIR (lähi-infrapunases) spektrialas:
 - **UV**: 190 .. 400 nm
 - **Vis**: 400 .. 800 nm
 - (**NIR**: 800 .. 2500 nm)
- Need spektrialad võivad olla samas masinas koos
- Värvused Vis alas:

Värvus	Lainepikkus	Vastandvärvus
Punane	650-750	Sinakasroheline
Oranž	595-650	Rohekassine
Kollane	560-595	Sinine
Roheline	490-560	Purpur
Sinine	435-490	Oranž
Violetne	400-435	Kollakasroheline

12.03.2018

4

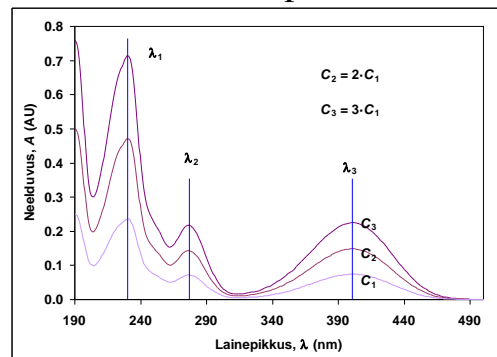
Mis värvi on need lahused?



12.03.2018

5

UV-Vis spekter



12.03.2018

6

Absorptsioonspektri teke

- Molekul (aatom) neelab kvandi elektronergastusel

$$M + h\nu = M^*$$

- Relaksatsioon
 - Soojuse eraldumisega: $M^* = M + E_{\text{soojus}}$
 - Fotokeemiline reaktsioon.
 - Fluorestsents või fosforestsents.
- Ergastatud oleku eluiga on lühike ($10^{-8} \dots 10^{-9}$ s).

12.03.2018

7

UV-Vis elektronüleminekud

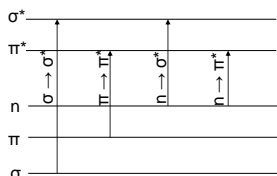
- Molekulisised üleminekud orgaanilistes ühendites.
- Laenguülekandega üleminekud.
- d ja f -elektronide üleminekud.

12.03.2018

8

Molekulisised üleminekud

- $\sigma \rightarrow \sigma^*$
- $n \rightarrow \sigma^*$
- $\pi \rightarrow \pi^*$
- $n \rightarrow \pi^*$



12.03.2018

9

$\sigma \rightarrow \sigma^*$

- Väga suure energiaga üleminek.
- Neeldumine on vaakum-UV piirkonnas, nt C-H sidemel ca 130 nm.
- Tavalise spektroskoopia jaoks huvi ei paku.

12.03.2018

10

$n \rightarrow \sigma^*$

- Küllastunud ühendid, mis sisaldavad vaba elektronpaariga aatomeid (O, N, Cl, I, S).
- Neeldumismaksimumid enamasti 150...250 nm.
- Tavaliselt ϵ üsna väike 100...3000 l/(cm·mol)
- Solvendi polaarsuse suurendamine nihutab neeldumismaksimumi enamasti lühemate lainepikkuste poole

12.03.2018

11

$\pi \rightarrow \pi^*$ ja $n \rightarrow \pi^*$

- Küllastamata ühendites.
- Neeldumised 200...700 nm piirkonnas.
- $\pi \rightarrow \pi^*$ korral $\epsilon = 1000 \dots 10\,000$ l/(cm·mol)
- $n \rightarrow \pi^*$ korral $\epsilon = 10 \dots 100$ l/(cm·mol)
- Solvendi polaarsuse suurenedes
 - $\pi \rightarrow \pi^*$ korral nihkub neeldumine tavaliselt pikemate lainepikkuste poole (punanihe ehk batokroomne nihe).
 - $n \rightarrow \pi^*$ korral nihkub neeldumine tavaliselt lühemate lainepikkuste poole (sininihe ehk hüpsokroomne nihe).

12.03.2018

12

Kromfoorid ja konjugatsioon

Ühend	Tüüp	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max}
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$		184	10000
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$		185	20000
$\text{CH}_2=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	konjugeeritud	217	21000
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{CH}_3$		282	27
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{CH}_3$		278	30
$\text{CH}_2=\text{CH}(\text{C}=\text{O})\text{CH}_3$	konjugeeritud	324	24
		219	3600

12.03.2018

13

Kromfoor

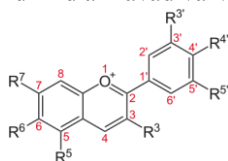
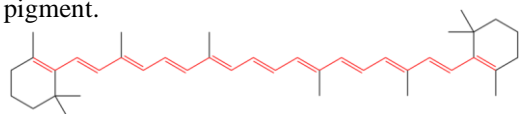
- Kromfoor on suhteliselt madalat ergastusenergiat omavate sidemelektronidega funktsionaalrühm, mis ...
 - kitsamas tähenduses annab ainele värvuse.
 - üldisemas tähenduses tagab neeldumise UV-Vis spektrialas.
- Tüüpilised kromfoorid on kaksik- ja kolmiksidemed, karbonüül-, karboksüül-, amido-, aso- ja nitro-rühmad.
- Kromfooride konjugeeritus nihutab neeldumismaksimumi pikemate lainepikkuste poole.

12.03.2018

14

Näiteid

- β -karoteen – taimedes esinev oranž-punane pigment.
- Antotsüanidiinid annavad värvuse nt mustikatele:

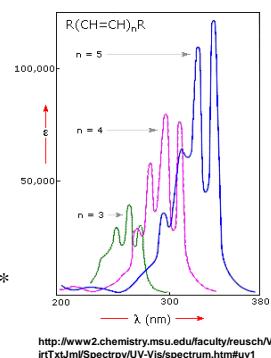


12.03.2018

15

Konjugatsioon

- Konjugatsiooni tõttu nihkuvad neeldumismaksimumid pikema lainepikkuse poole.
 - Konjugatsiooni tõttu on π -elektronid delokaliseeritud, mistõttu orbitaalid hõlmavad nelja (või enam) aatomitsentrit.
 - Delokalisatsioon alandab π^* orbitaali energiat (selle lõdvendav (*nonbonding*) iseloom väheneb).

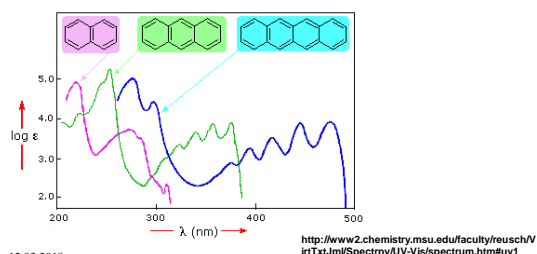


12.03.2018

16

Aromaatika

- Aromaatsed süsteemid
 - Benseenil on 3 neeldumiste gruppi 184, 204, 256 nm
 - Neeldumismaksimumide asukoht sõltub asendajatest
 - Vt. lisamaterjali uv-vis_spektrid.pdf ÕIS-is!



12.03.2018

17

d- ja f-elektronide üleminekutega seotud absorptsioon

- Suurem osa üleminekumetallide ioonidest neelab UV-Vis piirkonnas.
 - Lantanoidid ja aktinoidid – 4f ja 5f elektronid.
 - 1. ja 2. üleminekumetallide rida – 3d ja 4d elektronid
- Lantanoidide ja aktinoidide UV-Vis neeldumisjooned on kitsad ja iseloomulikud.
 - Vt. lisamaterjali uv-vis_spektrid.pdf ÕIS-is!

12.03.2018

18

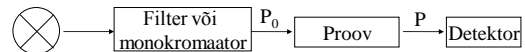
Laenguülekanedega neeldumine

- Väga intensiivse neeldumisega $\epsilon > 10\,000$ l/(cm·mol), mis tagab suure tundlikkuse.
- Laenguülekanedega komplekse moodustavad paljud anorgaanilised ioonid nt raud(III) tiotsüanaadiga, fenooliga.
- Neeldumine on seotud elektroni üleminekuga doonorilt aktseptori orbitaalile.

12.03.2018

19

Absorptsioonspektroskoopia



- Beeri reegel

$$A_\lambda = \log \frac{P_0}{P} = -\log T_\lambda = a_\lambda bc$$

– P, P_0 – kiirguse võimsus (vahel tähist ka I, I_0)

A_λ – (optiline) neelduvus

T_λ – läbilaskvus

b – optiline teepikkus

a_λ – neelduvustegur (kui c [mol/l] ja b [cm], siis ekstinktsioonikoefitsient ϵ_λ)

12.03.2018

20

Molaarne neeldumistegur

- Molaarne neeldumistegur sõltub:
 - Lainepikkusest
 - Väga tugevalt
 - Molekuli omadustest
 - Väga tugevalt
 - neeldumistegurite maksimaalsed väärtused ca $n \cdot 10^5$ l/(mol·cm)
 - pH-st
 - Indikaatoritel väga tugevalt, enamusel ainetel väga vähe
 - Temperatuurist, ioontugevusest
 - vähe
- Neeldumistegur ei sõltu kontsentratsioonist!

12.03.2018

21

Beeri reegel ainete segude korral

- Kui proovis on mitut liiki kiirgust neelavaid osakesi, mille vahel puuduvad interaktsioonid, siis kehtib järgmine seos:

$$A_{sum} = A_1 + A_2 + \dots + A_n = a_1bc_1 + a_2bc_2 + \dots + a_nbc_n$$

12.03.2018

22

Beeri reegli kehtivuspiirid

- Põhjused, miks mõnel juhul Beeri reegel ei kehti, jagatakse kolmeks:
 - Tõelised (füüsikalised) piirangud.
 - Näilised keemilised piirangud.
 - Näilised instrumentaalsed piirangud.

12.03.2018

23

Tõelised piirangud

- Beeri reegel kehtib suhteliselt lahjades lahustes (kuni umbes 0.01 M).
 - Kõrgematel kontsentratsioonidel hakkavad molekulid mõjutama oma naabrite laengujaotust, mis toob kaasa neelamisvõime muutuse.
 - Sarnane olukord võib esineda ka lahustes, mis sisaldavad suures hulgas elektroliite.
 - Mõnedel juhtudel (eriti suurte orgaaniliste molekulide korral) ei kehti Beeri reegel ka oluliselt lahjemates lahustes.
- Kõrvalekaldeid Beeri reeglist põhjustab ka proovi murdumisnäitaja muutumine analüüdi kontsentratsiooni muutudes.

12.03.2018

24

Keemilised piirangud

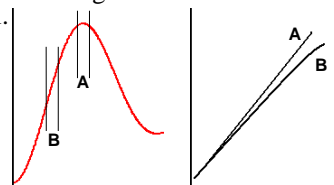
- Beeri reegel ei kehti, kui analüüt dissotsieerub, assotsieerub või reageerib lahuses ja produktide absorptsioon erineb analüüdi omast.
 - Näiteks happe-aluse indikaatori absorptsioonspekter sõltub keskkonna pH-st.

12.03.2018

25

Instrumentaalsed piirangud

- Beeri reegel kehtib rangelt monokromaatsel kiirguse korral.



- Hajuskiirgus – suvalise lainepikkusega kiirgus, mille intensiivsus ei sõltu proovi läbinud kiirguse intensiivsusest.
- Mõlemad efektid põhjustavad neelduvusi, mis on teoreetilistest väiksemad.

12.03.2018

26

Analüütilise lainepikkuse valimine

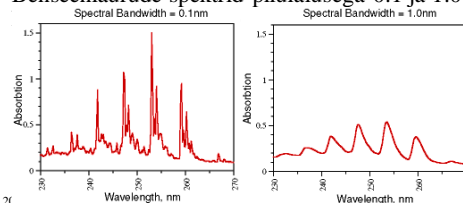
- Mida suuremal lainepikkusel määramine läbi viia, seda väiksem on oht, et mõni proovi komponent analüüsi segab.
- Mida suurem on ϵ analüüsiks kasutataval lainepikkusel, seda tundlikum on määramine.
- Analüütiliseks lainepikkuseks tasub võtta maksimumi lainepikkus.

12.03.2018

27

Pilulaiuse mõju spektritele

- Suure pilulaiuse korral kaovad spektritest detailid ja neeldumisjoonte intensiivsus väheneb.
 - Hea lahutusega spektrite saamiseks peaks kasutama väga kitsast pilu, kuid see toob kaasa kiirguse intensiivsuse kahanemise. Väikese intensiivsuse korral halveneb signaal-müra suhe.
 - Benseeniaarude spektrid pilulaiusega 0.1 ja 1.0 nm:



12.03.20...

28

Pilulaiuse mõju spektritele

- Optimaalse pilulaiuse leidmiseks peaks vähendama järk-järgult pilulaiust ja jääma sellise pilulaiuse juurde, mis annab vajaliku lahutuse (või jääb neeldumisjoonte intensiivsus konstantseks).
 - On leitud, et sobiv pilulaius moodustab ca 10% neeldumismaksimumi laiusest poolkõrgusel.

12.03.2018

29

Spektrid ja kasutamine

- UV-Vis spektrijooned on laiad, kuna elektronüleminekud on seotud võnkeergastustega.
- Neeldumisjoonte laia ja vähese iseloomulikkuse tõttu ei sobi UV-Vis kuigi hästi ainete identifitseerimiseks.
 - Analüüsimeetodina on UV-Vis väheselektiivne.
- UV-Vis spektroskoopiat kasutatakse just kvantitatiivseks analüüsiks.

12.03.2018

30

UV-Vis spektroskoopia rakendusi

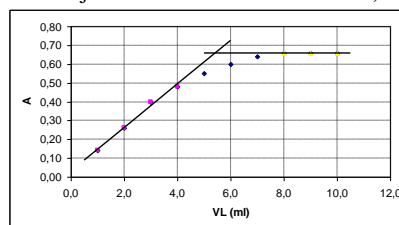
- Lihtne kvantitatiivne analüüs.
- Tasakaalukonstandid
 - Jaotustasakaal
 - Happe-aluse tasakaal
 - Lahustuvus
 - Kompleksimoodustumine
- Kiiruskonstandid

12.03.2018

31

Fotomeetriline tiitrimine

- Kasutatakse tiitrimise ekvivalentsuspunkti määramiseks, kui analüüt, reaktiiv või tiitrimise produkt neelab kiirgust.
- Neelduvuse väärtus parandatakse ruumala muutuse suhtes (korrutatakse suurusga $(V+v)/V$, kus V on lahuse esialgne ruumala ja v on lisatud titrandi ruumala).



12.03.2018

32

Fotomeetriline tiitrimine 2

- Meetodi plussid
 - Tulemused täpsemad, kui otsesel fotomeetrilisel analüüsil, sest ekvivalentsuspunkti määramiseks kasutatakse mitmete mõõtmiste tulemusi.
 - Muude kiirgust neelavate osakeste olemasolu ei sega, sest rolli mängib vaid **neelduvuse muutus**.
 - Kuna kasutatakse andmeid, mis saadakse ekvivalentsuspunkti kaugel, siis saab mõõta ka tiitrimisreaktsioone, mille tasakaalukonstant on väike.

12.03.2018

33

Nõuded UV-Vis solventidele

- Solvent olgu “läbipaistev” uuritavas lainelalas.
 - <https://www.chem.fsu.edu/~shatruk/docs/Solvent-UV-cutoffs.pdf>
- Peab lahustama analüüti.
- Ei tohi analüüdiga reageerida.
- Proovi ja standardlahuste mõõtmistel tuleb kasutada sama solventi.
- Polaarsed solventid kipuvad spektrite peenstruktuuri kinni katma.
- Mittepolaarsetes keskkondades saadud spektrid sarnanevad rohkem gaasifaasi spektritele.
- Solvent mõjutab ka neeldumismaksimumide asukohti.

12.03.2018

34

UV-Vis spektrite allikad

- NIST Chemistry WebBook:
<http://webbook.nist.gov/>
- Heinz-Helmut Perkampus, UV-VIS Atlas of Organic Compounds, VCH: Weinheim 1992. (TÜ keemiaraamatukogus)

12.03.2018

35

Nefelomeetria ja turbidimeetria

- Nefelomeetria
 - Lahuses olevatelt tahketelt osakestelt (suspensioon) hajunud valguse mõõtmine.
 - Mõõtmine viiakse läbi pealelangeva kiirguse suhtes nurga all (mitte tingimata 90°).
- Turbidimeetria
 - Mõõdetakse kiirguse intensiivsuse kahanemist suspensiooni läbimisel.
 - Mõõtmine toimub pealelangevate kiirte sihis.
 - Tihti kasutatakse UV-Vis instrumente.
- Kasutatakse laialt kliinilistes katsetes ja biokeemias.

12.03.2018

36