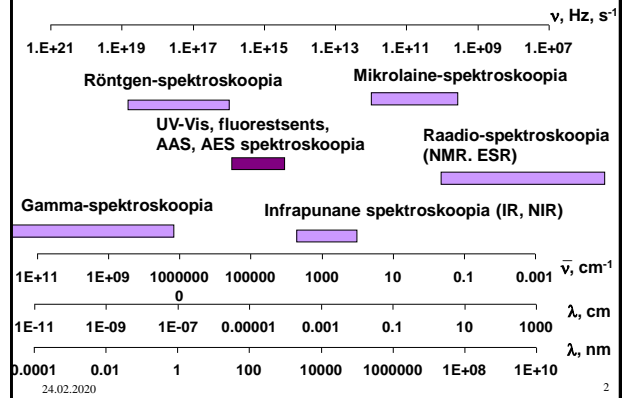


# UV-Vis spektromeetria

24.02.2020

1

## Elektromagnetkiirgus ja meetodid



24.02.2020

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**

24.02.2020

3

## Põhimõte

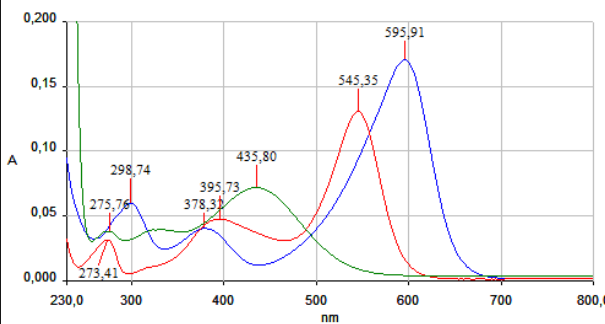
- Toimub kas UV, Vis (nähtavas) või NIR (lähi-infrapunases) spektrialas:
  - **UV:** 190 .. 400 nm
  - **Vis:** 400 .. 800 nm
  - **(NIR):** 800 .. 2500 nm
- Need spektrialad võivad olla samas masinas koos
- Värvused Vis alas:

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

24.02.2020

4

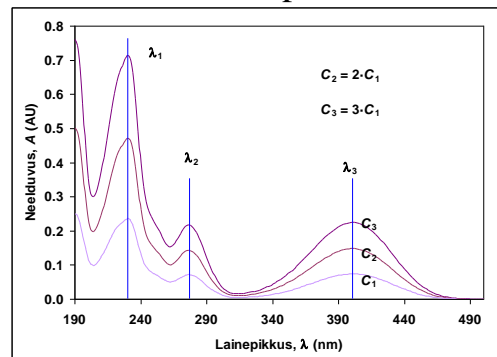
## Mis värvi on need lahused?



24.02.2020

5

## UV-Vis spekter



24.02.2020

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).

24.02.2020

7

## UV-Vis elektronüleminekud

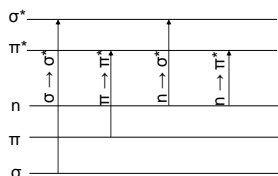
- Molekulisised üleminekud orgaanilistes ühendites.
- Laenguülekandega üleminekud.
- $d$  ja  $f$ -elektronide üleminekud.

24.02.2020

8

## Molekulisised üleminekud

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



24.02.2020

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.

24.02.2020

10

## $n \rightarrow \sigma^*$

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

24.02.2020

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).

24.02.2020

12

## Kromfoorid ja konjugatsioon

Ühend	Tüüp	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\epsilon_{\max}$
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$		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

24.02.2020

13

## Kromfoor

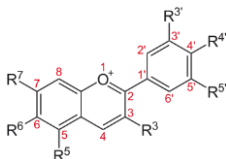
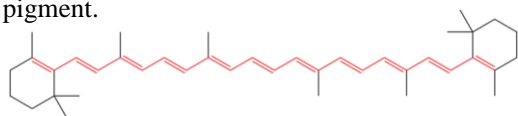
- Kromfoor on suhteliselt madalat ergastusenergiat omavate sidemelektronidega funktsionaalrühm, mis ...
  - kitsamas tähenduses annab ainele värvuse.
  - üldisemas tähenduses tagab neeldumise UV-Vis spektrialas.
- Tüüpilised kromfoorid on kaksik- ja kolmiksidemed, karbonüül-, karboksüül-, amido-, aso-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

24.02.2020

14

## Näiteid

- $\beta$ -karoteen – taimedes esinev oranž-punane pigment.
- Antotsüanidiinid annavad värvuse nt mustikatele:

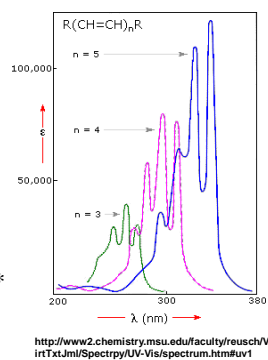


24.02.2020

15

## Konjugatsioon

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

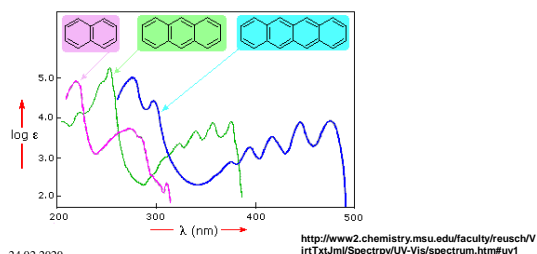


24.02.2020

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!



24.02.2020

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!

24.02.2020

18

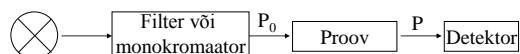
## Laenguülekanedega neeldumine

- 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.

24.02.2020

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  $I, I_0$ )
- $A_\lambda$  – (optiline) neelduvus
- $T_\lambda$  – läbilaskvus
- $b$  – optiline teepikkus
- $a_\lambda$  – neelduvustegur (kui  $c$  [mol/l] ja  $b$  [cm], siis ekstinktsioonikoefitsient  $\epsilon_\lambda$ )

24.02.2020

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!

24.02.2020

21

## Beeri reegel ainete segude korral

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

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

24.02.2020

22

## Beeri reegli kehtivuspiirid

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

24.02.2020

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.
    - Samane olukord võib esineda ka lahustes, mis sisaldavad suures hulgas elektrolüüte.
  - 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.

24.02.2020

24

## Keemilised piirangud

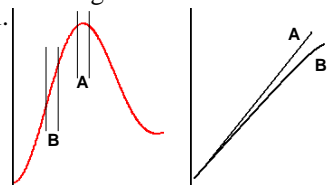
- Beeri reegel ei kehti, kui analüüt dissotsieerub, assotsieerub või reageerib lahuses ja produktide absorptsioon erineb analüüdi omast.
  - Näiteks happe-aluse indikaatori absorptsioonspekter sõltub keskkonna pH-st.

24.02.2020

25

## Instrumentaalsed piirangud

- Beeri reegel kehtib rangelt monokromaatse kiirguse korral.



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

24.02.2020

26

## Analüütilise lainepikkuse valimine

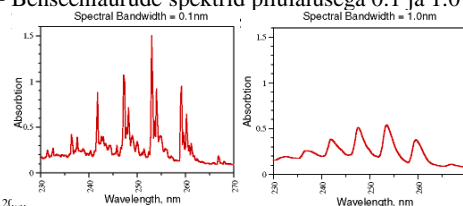
- Mida suuremal lainepikkusel määramine läbi viia, seda väiksem on oht, et mõni proovi komponent analüüsi segab.
- Mida suurem on  $\epsilon$  analüüsiks kasutataval lainepikkusel, seda tundlikum on määramine.
- Analüütiliseks lainepikkuseks tasub võtta maksimumi lainepikkus.

24.02.2020

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.
  - Benseeniaurude spektrid pilulaiusega 0.1 ja 1.0 nm:



24.02.20...

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.

24.02.2020

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.

24.02.2020

30

## UV-Vis spektroskoopia rakendusi

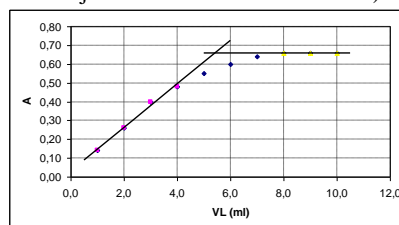
- Lihtne kvantitatiivne analüüs.
- Tasakaalukonstandid
  - Jaotustasakaal
  - Happe-aluse tasakaal
  - Lahustuvus
  - Kompleksimoodustumine
- Kiiruskonstandid

24.02.2020

31

## Fotomeetriline tiitrimine

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



24.02.2020

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 ekvivalentsuspunktist kaugel, siis saab mõõta ka tiitrimisreaktsioone, mille tasakaalukonstant on väike.

24.02.2020

33

## Nõuded UV-Vis solventidele

- Solvent olgu “läbipaistev” uuritavas lainelas.
  - <http://www.chem.ucla.edu/~bacher/General/30BL/tips/solvent.html>
- 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.

24.02.2020

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)

24.02.2020

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.

24.02.2020

36