

# **Εργαστήριο Γεωργικής Χημείας**

**Εργαστήριο # 8<sup>ο</sup>**

**Φασματοσκοπική ανάλυση –  
Ανίχνευση ουσιών με Φασματομετρία**

**Φίλιππος Βερβερίδης**

**13/12/2011**

# Περιεχόμενα

- Ύλη
- Πείραμα
- Υλικά & Μέθοδοι
- Αποτελέσματα
- Συμπεράσματα

# Αντικείμενο 8<sup>ου</sup> Εργαστηρίου

- Η όγδοη και τελευταία εργαστηριακή άσκηση περιλαμβάνει την εισαγωγή στη φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού. Περιλαμβάνονται οι ενότητες 14.1 (σελ. 255, σε γενικές γραμμές), 14.2 (σελ. 255, σε γενικές γραμμές), 14.3 (σελ. 257, σε γενικές γραμμές), 14.2 (σε γενικές γραμμές), 14.3.1(σελ. 257 μόνο), 14.3.2 (σελ. 262-63, σε γενικές γραμμές), 14.4 και 14.4.1. (Δηλ. οι σελ. 263 έως και τη μέση της 266).
- Πείραμα θα πραγματοποιηθεί πάνω σε δ/ματα  $\text{KMnO}_4$  σε φασματοφωτόμετρο ορατής ακτινοβολίας.

# ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



# ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

- Φασματοσκοπικές τεχνικές

# Φασματοσκοπία

Φασματοσκοπία υπερύθρου

Φασματοσκοπία ορατού-υπεριώδους

Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού

Φασματοσκοπία μάζας

Οι αρχές της μοριακής φασματοσκοπίας:  
Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία

# *Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία*

Διαδίδεται με την ταχύτητα του φωτός

Έχει ιδιότητες κυματικές και σωματιδιακές

Η ενέργεια ενός φωτονίου είναι ανάλογη της συχνότητάς του

# Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Μικρότερο μήκος κύματος ( $\lambda$ )

Μεγαλύτερο μήκος κύματος ( $\lambda$ )

400 nm

750 nm



Υψηλότερη συχνότητα ( $\nu$ )

Χαμηλότερη συχνότητα ( $\nu$ )

Υψηλότερη ενέργεια ( $E$ )

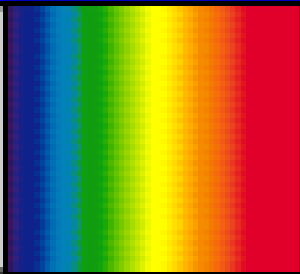
Χαμηλότερη ενέργεια ( $E$ )

# Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Μικρότερο μήκος κύματος ( $\lambda$ )

Μεγαλύτερο μήκος κύματος ( $\lambda$ )

Υπεριώδες



Υπέρυθρο

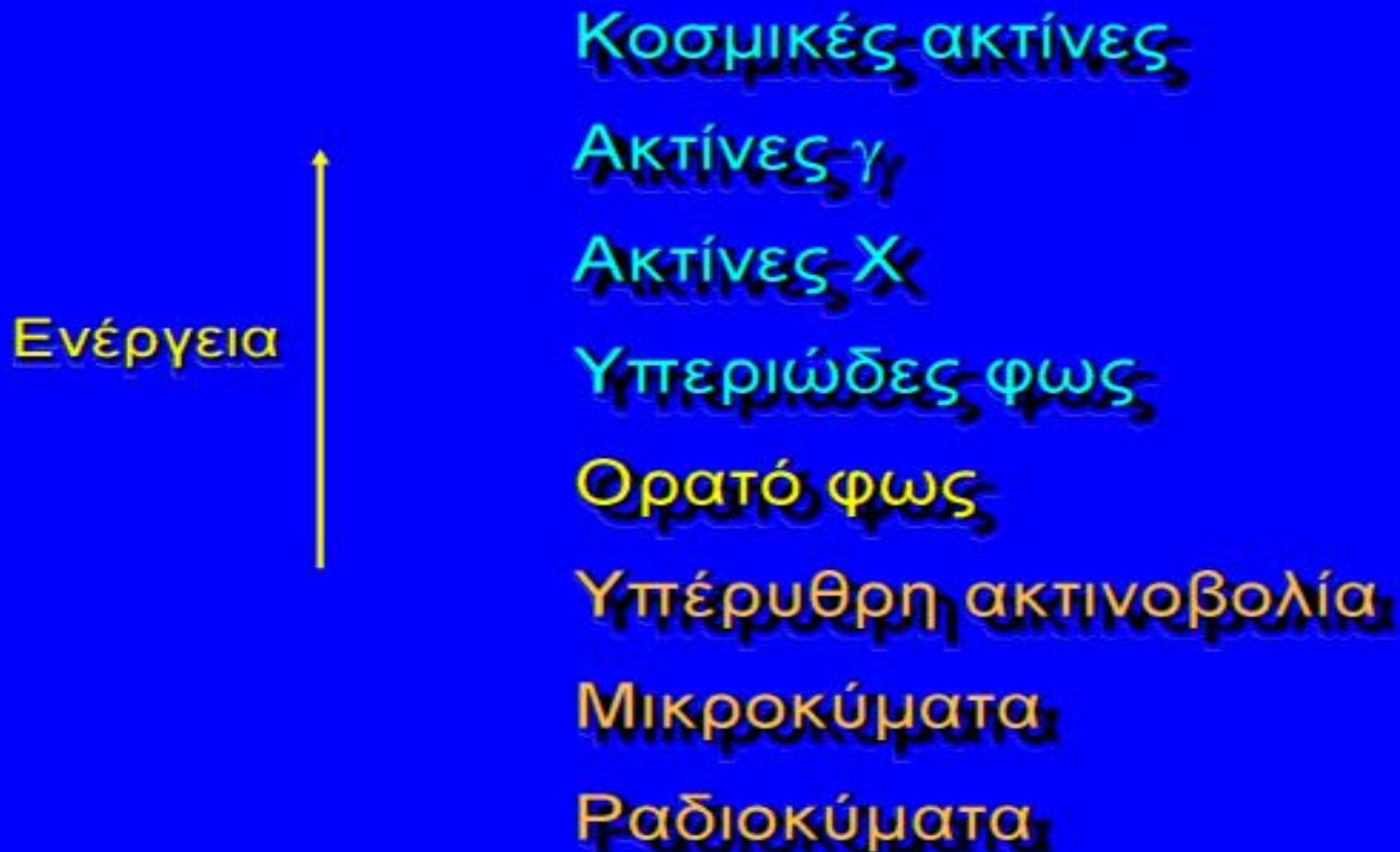
Υψηλότερη συχνότητα ( $\nu$ )

Χαμηλότερη συχνότητα ( $\nu$ )

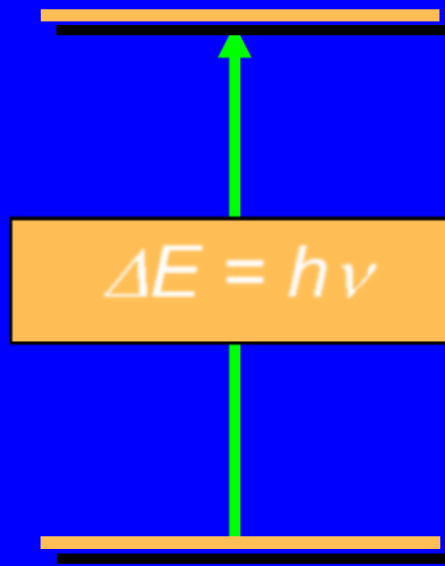
Υψηλότερη ενέργεια ( $E$ )

Χαμηλότερη ενέργεια ( $E$ )

# Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα



Οι αρχές της μοριακής φασματοσκοπίας:  
Κβαντισμένες ενεργειακές καταστάσεις



Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία απορροφάται  
όταν η ενέργεια του φωτονίου αντιστοιχεί στη διαφορά  
ενέργειας μεταξύ των δυο καταστάσεων.

## ***Τι προκαλεί η απορρόφηση;;***

- Η απορρόφηση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας προκαλεί μεταπτώσεις ηλεκτρονίων εξωτερικών στοιβάδων.

# *Τι είδους καταστάσεις;;*

ηλεκτρονικές

δονητικές

περιστροφικές

πυρηνικού spin

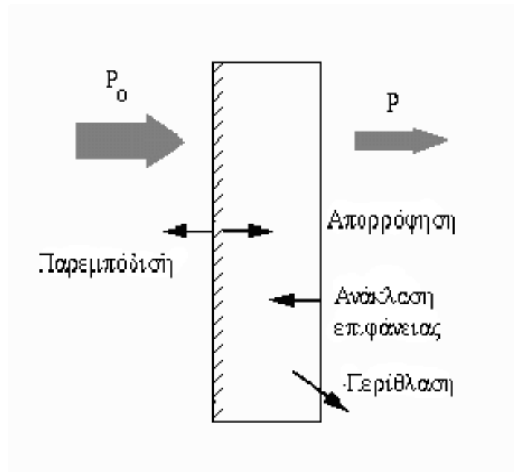
UV-Vis

υπερύθρου

μικροκύματος

ραδιοσυχνότητας

# • Νόμος Beer-Lambert



$$A = a_{\lambda} \times b \times c$$

$$A = \varepsilon_{\lambda} \times b \times c$$

A= Απορρόφηση

$a_{\lambda}$  = Συντελεστής απορρόφησης

c= συγκέντρωση

b = Μήκος διαδρομής

$\varepsilon_{\lambda}$  = Μοριακός συντελεστής απορρόφησης, M-1 cm-1

c= Μοριακότητα

$$A = (\varepsilon_1 \times b \times c_1) + (\varepsilon_2 \times b \times c_2) + \dots$$

Μείγμα  
αναλυτών

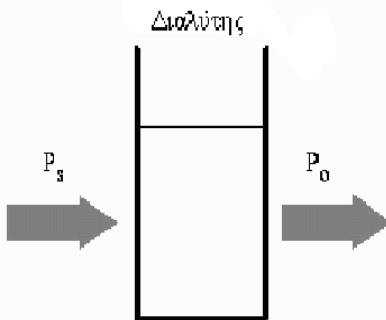
• T= Διαπερατότητα

$$T = \frac{P}{P_0}$$

$$A = -\log(T) = -\log\left(\frac{P}{P_0}\right)$$

# • Νόμος Beer-Lambert

Μέτρηση αναφοράς

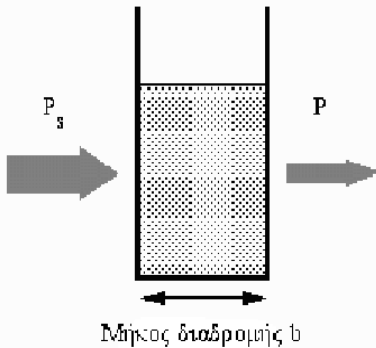


Απομάκρυνση παρεμποδίσεων όπως:

Ανάκλαση, περίθλαση,  
απορρόφηση διαλύτη, κά.

Μπορεί να γίνει είτε ξεχωριστά, είτε ταυτόχρονα.

Διάλυμα συγκέντρωσης  $c$



Μέτρηση δείγματος

## ΑΣΚΗΣΕΙΣ

1. Εκχύλιση - Διήθηση ➡ Διαχωρισμός-Απομόνωση
2. Φασματοφωτομετρία ➡ Ποσοτικός Προσδιορισμός
3. Ποτενσιομετρία ➡ Ηλεκτροχημεία
4. Χρωματογραφία ➡ Διαχωρισμός-Απομόνωση
5. Ταυτοποίηση Σακχάρων ➡ Χαρακτηριστικές Αντιδράσεις  
Ποιοτικός Προσδιορισμός

# Φασματοφωτομετρία

## ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ -

### 1. Κλασσικές (σχετίζονται με τη μάζα)

- Σταθμικές (ζυγός ακριβείας)
- Ογκομετρικές (βαθμ/να γυάλινα σκεύη)

### 2. Ενόργανες (σχετίζονται με την ενέργεια)

- Οπτικές (αλληλεπίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και δείγματος- απορρόφηση, εκπομπή, σκέδαση)
- Ηλεκτροχημικές (τελικό σημείο στις ογκομετρήσεις με ηλεκτρικές μετρήσεις)
- Ειδικές (χρωματογραφικές, ανοσοχημικές κ.λ.π.)

# ΟΠΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

*φασματοφωτομετρία*

## A. Φασματοσκοπικές Τεχνικές.

Βασίζονται:

i. στην ικανότητα διαφόρων ουσιών να εκπέμπουν ή να αλληλεπιδρούν με ακτινοβολίες χαρακτηριστικών συχνοτήτων

i. στη μέτρηση φασμάτων (μήκος κύματος, ισχύς-ένταση της ακτινοβολίας)

## B . Μη Φασματοσκοπικές Τεχνικές.

Βασίζονται:

στην αλληλεπίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και ύλης, η οποία συνεπάγεται αλλαγή στη διεύθυνση ή τις φυσικές ιδιότητες της ακτινοβολίας

➤ Δε χρησιμοποιούνται φάσματα

## ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

### 1. Υπεριώδους- ορατού (Ultraviolet-Visible – UV-Vis)

- απορρόφηση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας προκαλεί μεταπτώσεις ηλεκτρονίων εξωτερικών στοιβάδων

### 2. Υπερύθρου (Infra Red – IR)

- απορρόφηση υπερύθρου ακτινοβολίας προκαλεί διεγέρσεις δονήσεως, παραμορφώσεως και περιστροφής των δεσμών των μορίων

### 3. Πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ( Nuclear Magnetic Resonance – NMR)

Μεταβολές στην ενέργεια των πυρήνων

#### 1. Raman κ.α.

Σκεδαζόμενη  
ακτινοβολία

X-Rays

Far  
Ultra  
violetUltra  
violet

Visible

Near  
Infra  
redMid  
Infra  
redFar  
Infra  
redMicro  
wavesRadio  
Waves

# Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

## Τμήμα Ακτινοβολίας

## Μήκος Κύματος

|                 |                                           |
|-----------------|-------------------------------------------|
| Ακτίνες Χ       | 0,3-100 Å                                 |
| Υπεριώδες       | 200-400 nm                                |
| Ορατό           | 400-800 nm                                |
| Εγγύς Υπέρυθρο  | 0,8-2,5 μm (10000-4000 cm <sup>-1</sup> ) |
| Υπέρυθρο        | 2,5-15 μm (4000-400 cm <sup>-1</sup> )    |
| Άπω Υπέρυθρο    | 15-200 μm (400-10 cm <sup>-1</sup> )      |
| Μικροκύματα     | 0,2-7,0 mm                                |
| Ραδιοσυχνότητες | 100-10000 m                               |



Ορατή  
Ακτινοβολία

Υπέρυθρη  
Ακτινοβολία



Ο ήλιος μας βομβαρδίζει με ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μεγάλου εύρους.

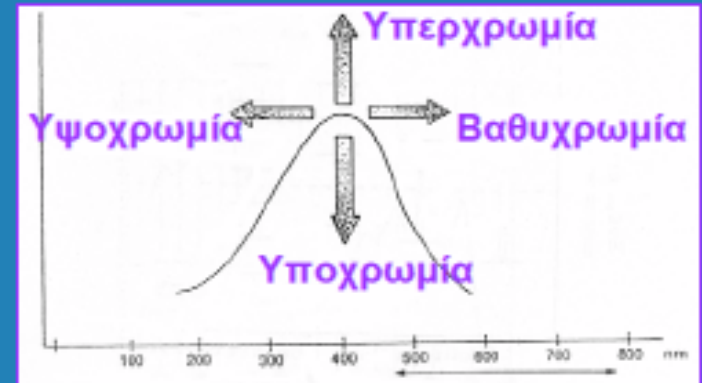
Τα μάτια μας αντιλαμβάνονται αρκετά τμήματα από αυτήν, ενώ άλλα παραμένουν αόρατα

# Absorption Spectrum of Light

| Wavelength of maximum absorption (nm) | Color Absorbed | Color Observed |
|---------------------------------------|----------------|----------------|
| 380 – 420                             | Violet         | Green-Yellow   |
| 420 - 440                             | Violet-Blue    | Yellow         |
| 440 – 470                             | Blue           | Orange         |
| 470 – 500                             | Blue-Green     | Red            |
| 500 – 520                             | Green          | Purple         |
| 520 – 550                             | Yellow-Green   | Violet         |
| 550 – 580                             | Yellow         | Violet-Blue    |
| 580 – 620                             | Orange         | Blue           |
| 620 – 680                             | Red            | Blue-Green     |
| 680 - 780                             | Purple         | Green          |

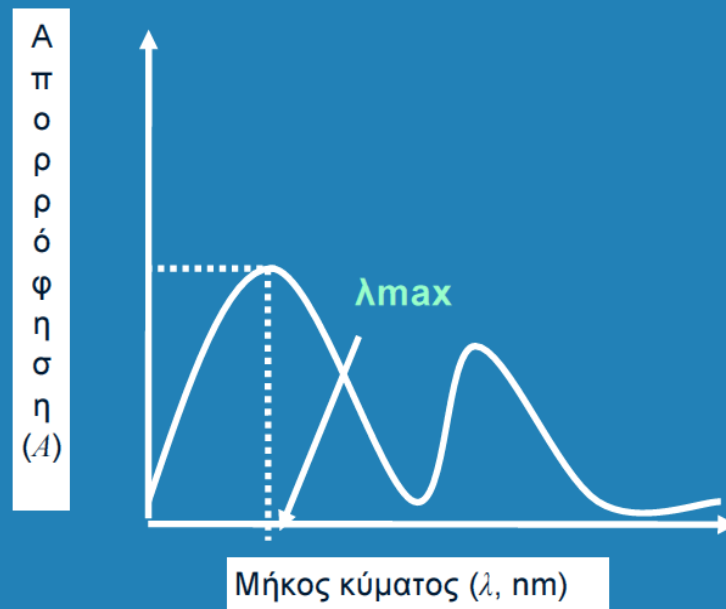
## Φασματοσκοπία Υπεριώδους Ορατού (Ultra Violet – Visible, UV-Vis, ακτινοβολία 200 – 800 nm)

- Το τμήμα του μορίου που είναι υπεύθυνο για την απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας καλείται **χρωμοφόρο**, αυτό μπορεί να είναι μία χαρακτηριστική ομάδα, ένας απομονωμένος πολλαπλός δεσμός ή ένα σύστημα πολλαπλών δεσμών.
- **Χρωμοφόρες ομάδες** π.χ.  $C=O$ ,  $C=C$ ,  $C=N$ ,  $N=O$ ,  $N=N$  κ.ά.
- **Αυξόχρωμες ομάδες:** είναι κορεσμένες ομάδες με ελεύθερα ζεύγη ηλεκτρονίων ( $-OH$ ,  $-OR$ ,  $-NH_2$ , αλογόνα)

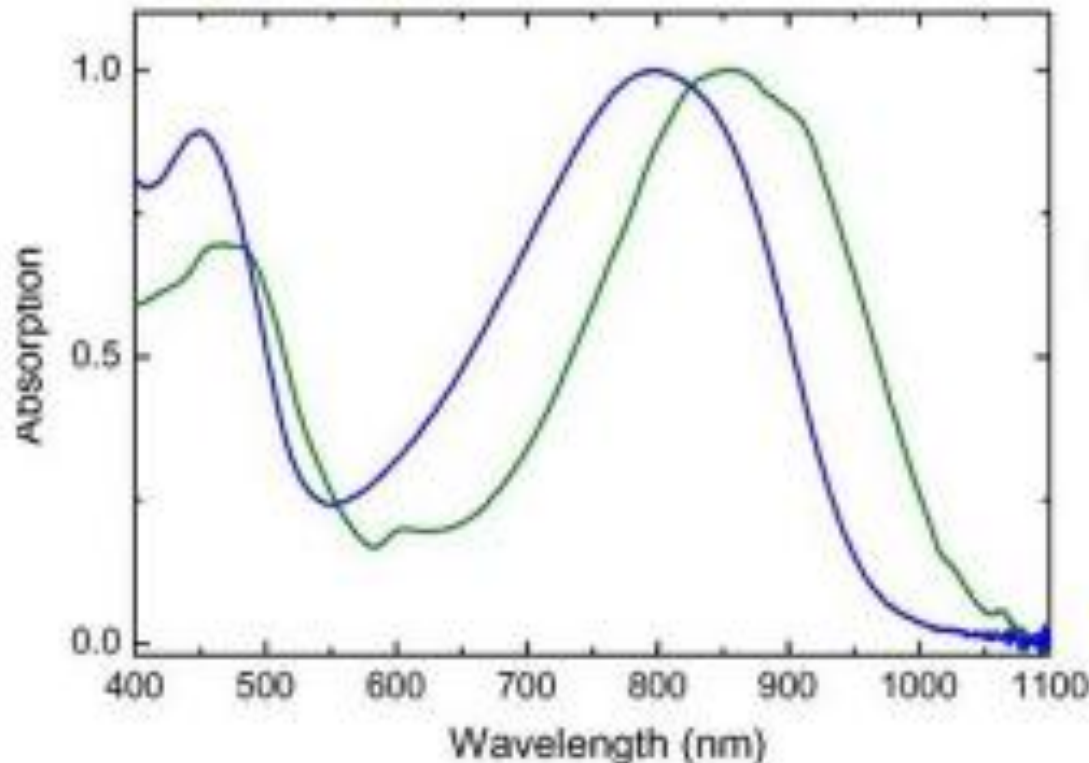
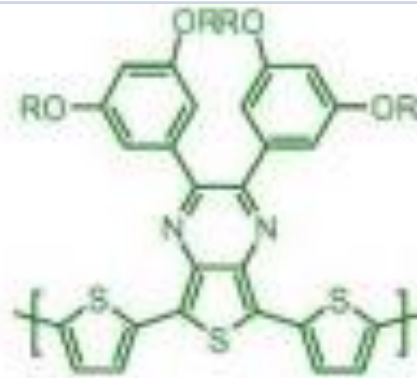


# Τι είναι το Φάσμα Απορρόφησης

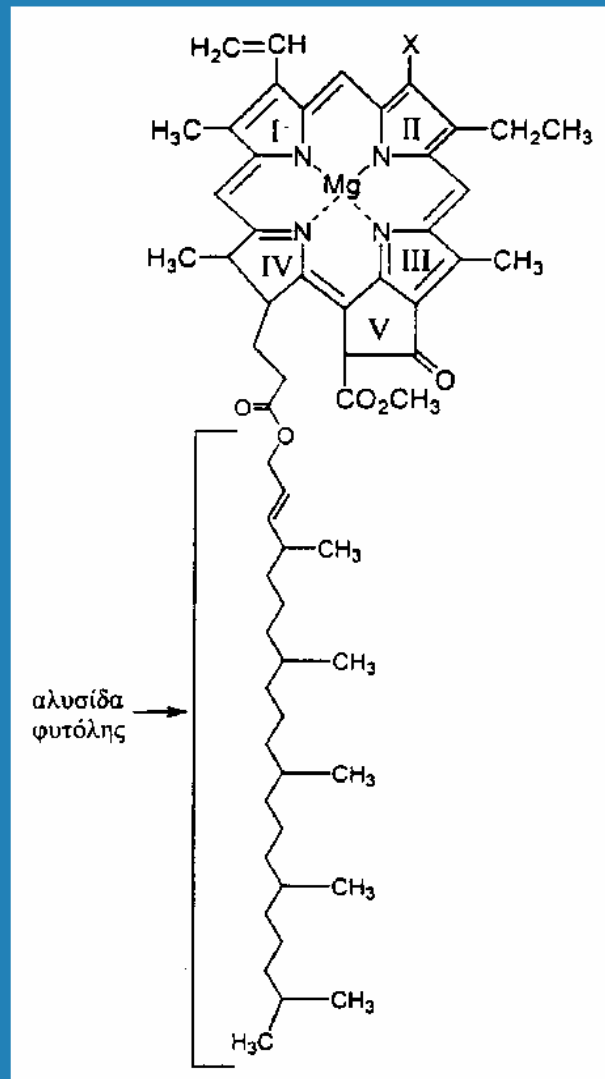
**Φάσμα απορρόφησης:** Η απεικόνιση της απορρόφησης, της διαπερατότητας ή της έντασης της ακτινοβολίας σε συνάρτηση με το μήκος κύματος.



# Τι είναι το Φάσμα Απορρόφησης



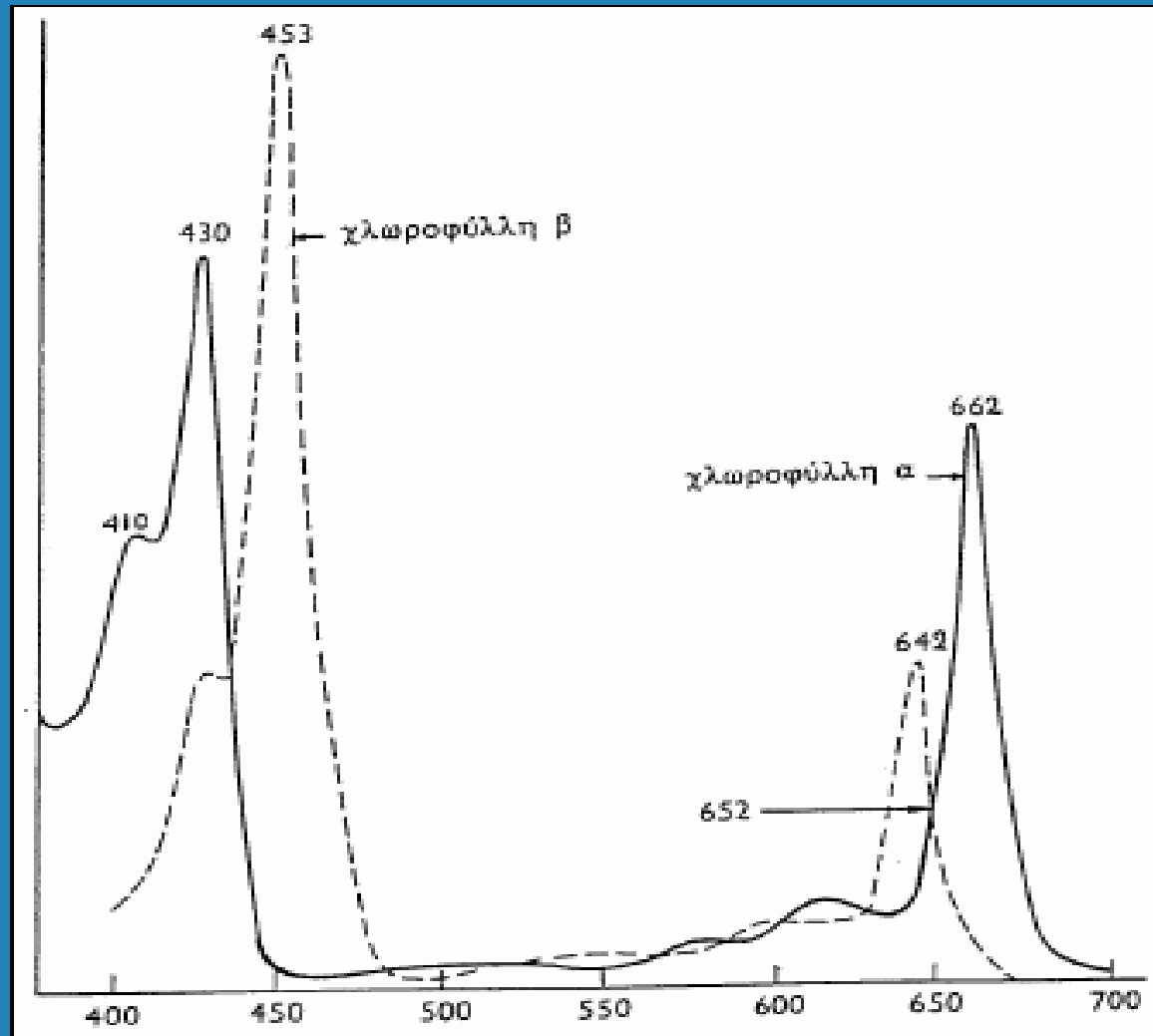
Η απεικόνιση της απορρόφησης, της διαπερατότητας ή της έντασης της ακτινοβολίας σε συνάρτηση με το μήκος κύματος.

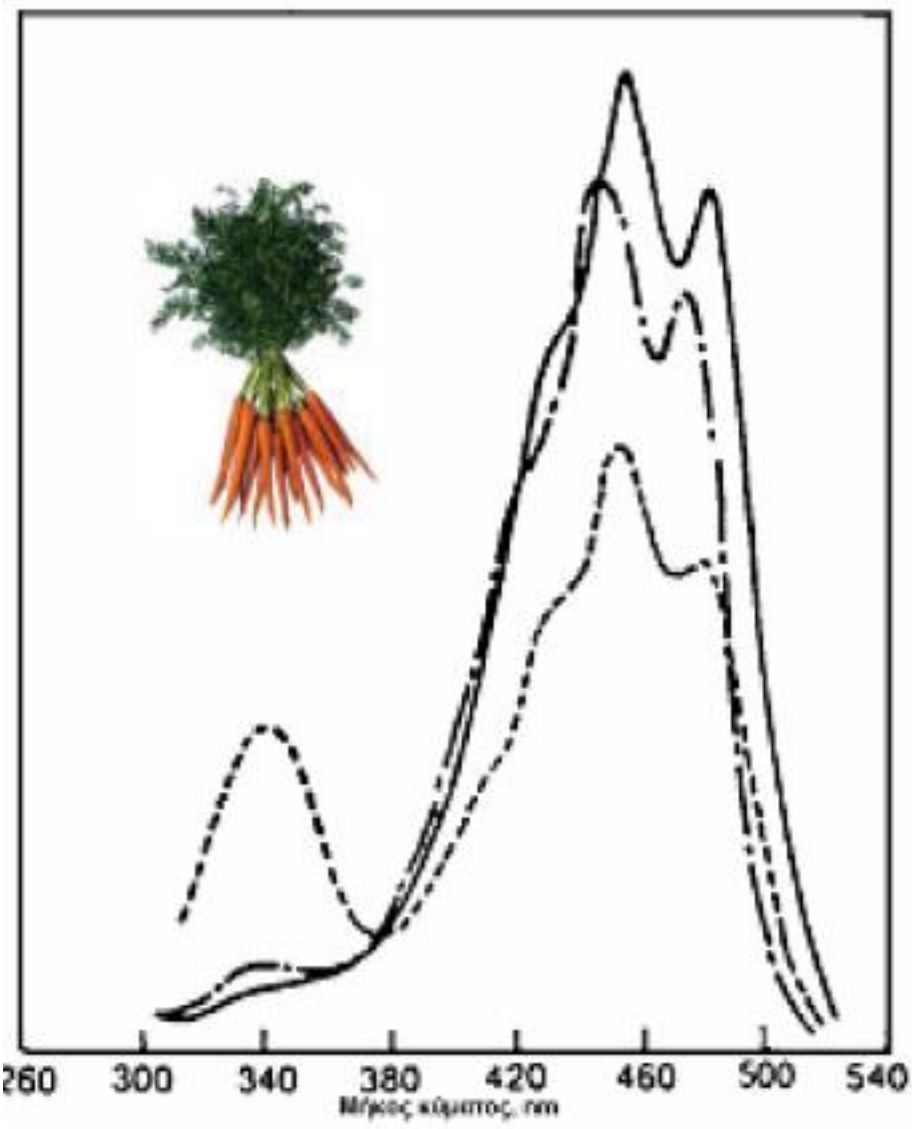


Χλωροφύλλες

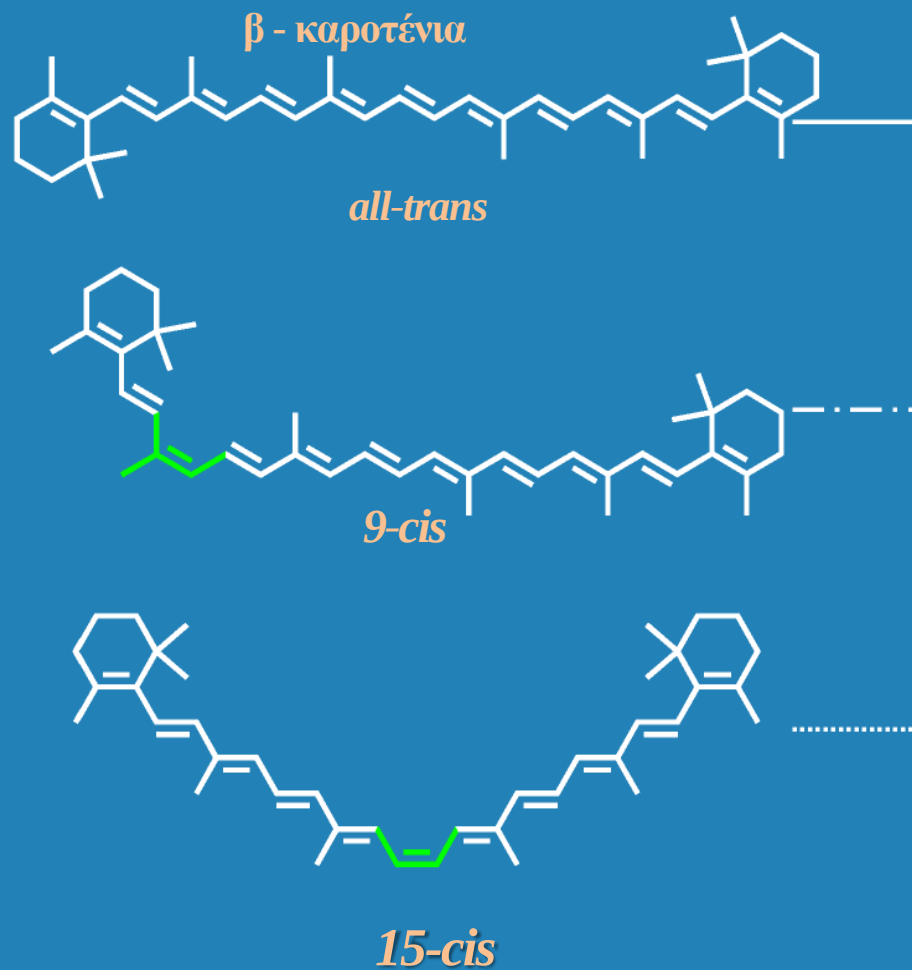
Χλωροφύλλη α:  $X=CH_3$

Χλωροφύλλη β:  $X=CHO$

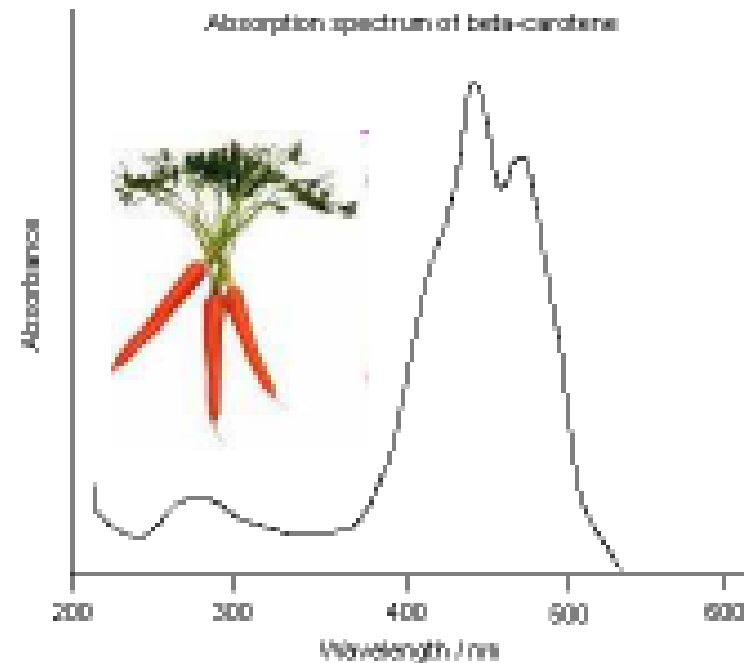




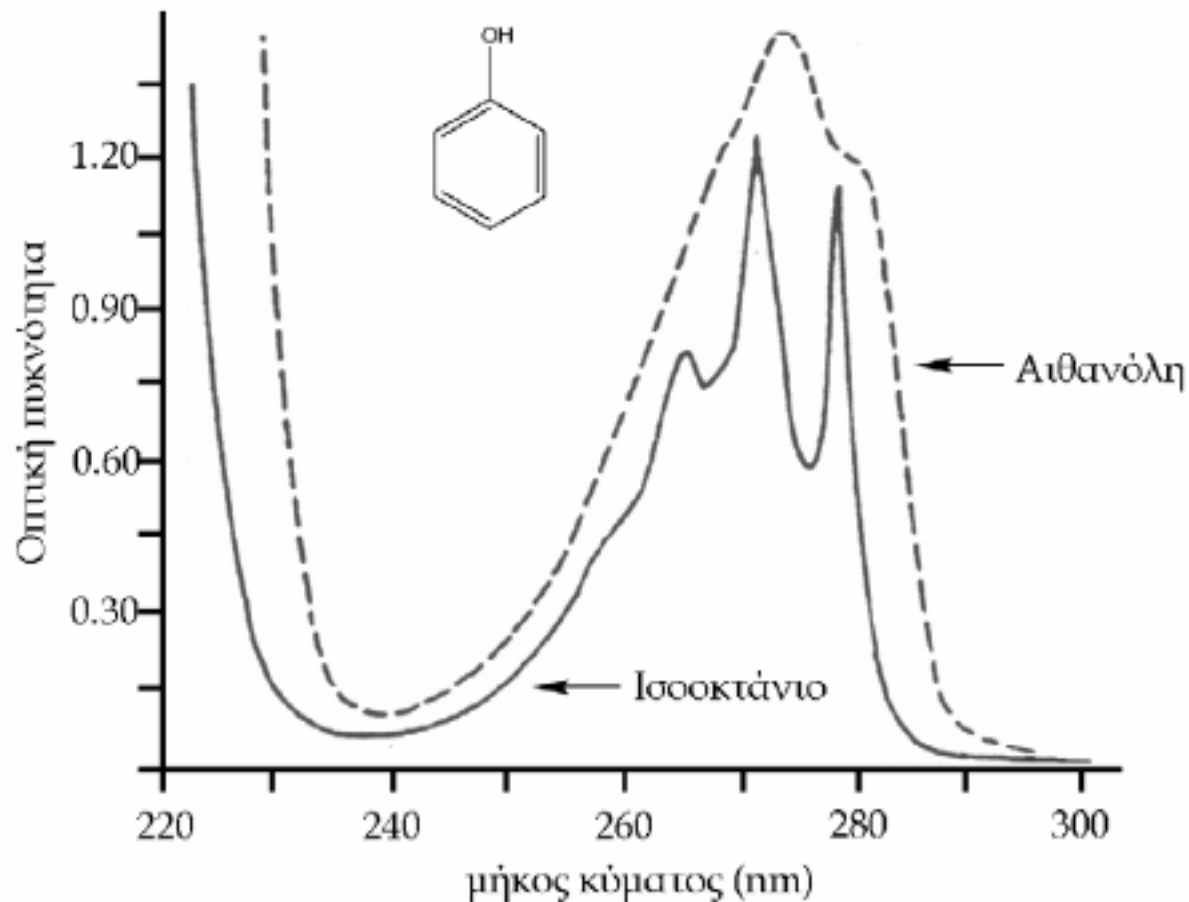
## Φάσματα UV-Vis των ισομερών του β-καροτενίου *all-trans*, *15-cis* και *9-cis*



# Τι είναι το Φάσμα Απορρόφησης



# Τι είναι το Φάσμα Απορρόφησης – Επίδραση του Διαλύτη

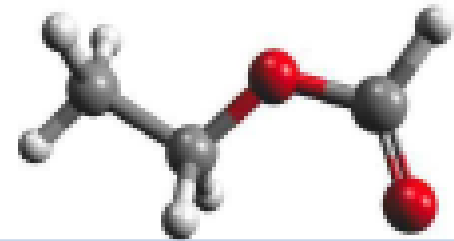


**Σχήμα 11.7.** Φάσμα UV της φαινόλης σε δύο διαλύτες, ένας πολικός και ένας μη πολικός.

# Εφαρμογές Φασματοσκοπίας

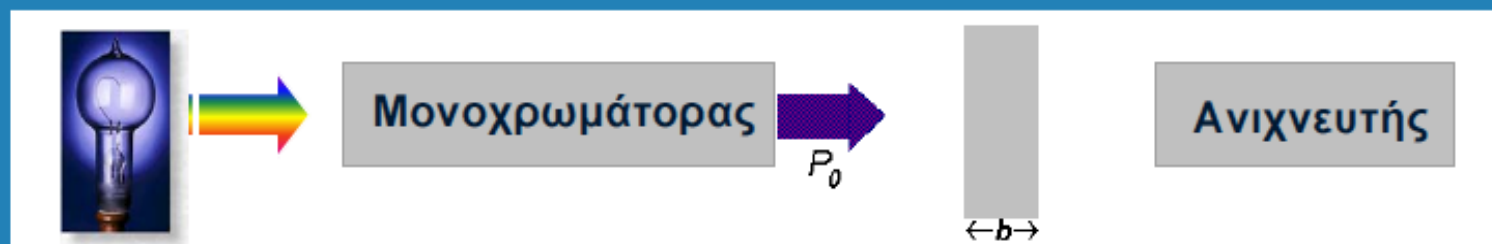
1. Προσδιορισμό της δομής μίας ένωσης
2. Ποιοτικό προσδιορισμό μίας ουσίας
3. Ποσοτική ανάλυση μίας ουσίας ή μίγματος ουσιών κ.ά.

# Τεχνική μέτρησης



- Μια πηγή συνεχούς ακτινοβολίας.
- Μια διάταξη που να επιλέγει από την ακτινοβολία αυτή μια στενή περιοχή μηκών κύματος. Ιδανικό αλλά δύσκολο θα ήταν η επιλογή ενός μόνου μήκους κύματος. Μια στενή περιοχή όμως είναι αρκετή για τις μετρήσεις. Η διάταξη αυτή λέγεται **μονοχρωμάτορας**.
- Ένας ανιχνευτής ο οποίος θα μετατρέπει την φωτεινή ενέργεια σε ηλεκτρική άρα σε χρήσιμο σήμα.
- Ένα σύστημα καταγραφής, καταγραφέας ή οθόνη του υπολογιστή, όπου θα καταγράφονται οι ανταποκρίσεις του ανιχνευτή. Αυτό θα είναι το φάσμα απορρόφησης της ουσίας.

# Νόμος των Beer-Lambert



$$A = \log(P_0 / P) = -\log T = \epsilon b c_{\text{mol/L}} = a b c_{\text{g/L}}$$

$A$  = Απορρόφηση (Absorbance). Καθαρός αριθμός.

$P_0$  = Ισχύς της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.

$P$  = Ισχύς της εξερχόμενης από το διάλυμα ακτινοβολίας.

$T$  = Διαπερατότητα (Transmittance) =  $P/P_0$  που εκφράζεται συνήθως επί τοις %  $T$ .

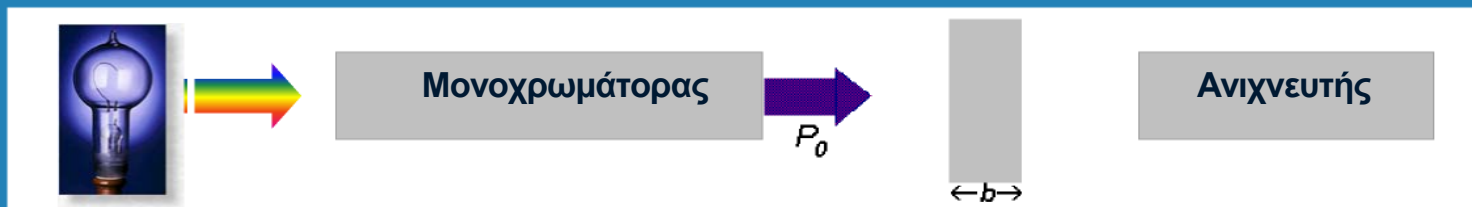
$c$  = η συγκέντρωση του διαλύματος σε mol/L ή g/L.

$b$  = το μήκος της διαδρομής που διάνυσε η δέσμη μέσα στο διάλυμα σε cm.

$\epsilon$  = σταθερά αναλογίας που ονομάζεται μοριακή απορροφητικότητα (molar absorptivity) όταν η  $c$  εκφράζεται σε mol/L.

$a$  = σταθερά αναλογίας που ονομάζεται απορροφητικότητα (absorptivity) όταν η  $c$  εκφράζεται σε g/L.

# Νόμος των Beer-Lambert



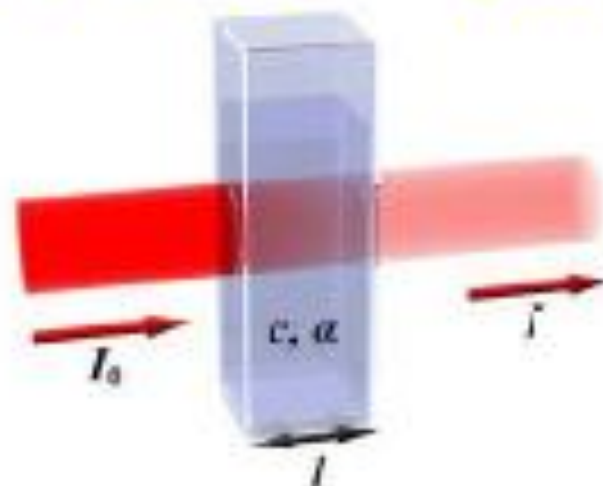
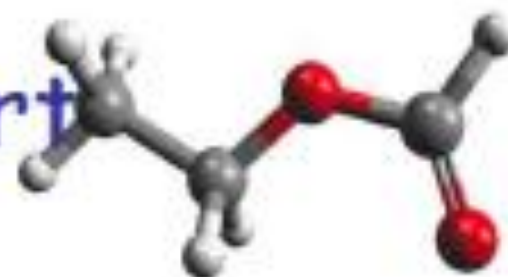
## β) απορρόφηση φωτός. Νόμος Lambert-Beer

Η εξασθένηση του φωτός λόγω απορρόφησης προβλέπεται από τον **νόμο** των **Lambert** και **beer**.

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu \cdot x} \quad (3)$$

Η παραπάνω σχέση έχει προκύψει ως εξής: Θεωρείται ότι η μείωση της έντασης φωτός  $dI$  που συμβαίνει λόγω απορρόφησης, εξαρτάται από το πάχος του υλικού, από την αρχική έντασή του φωτός  $I_0$  και από μια σταθερά, τον συντελεστή απορρόφησης  $\mu$ , ο οποίος έχει σχέση με το ίδιο το υλικό, την χρωστική ουσία, στην περίπτωση των έγχρωμων γυαλιών, των φίλτρων ή την επίστρωση που έχει χρησιμοποιηθεί.

# Νόμος των Beer - Lambert



$$A = \log(I_0/I) = -\log T = \epsilon l c_{\text{mol/L}} = a l c_{\text{g/L}}$$

$A$  = απορρόφηση (Καθαρός αριθμός),

$I_0$  = Ισχύς της προσπίπτουσας ακτινοβολίας,

$I$  = Ισχύς της εξερχόμενης από το διάλυμα ακτινοβολίας,

$T$  = Διαπερατότητα =  $I/I_0$  εκφράζεται συνήθως %  $T$ ,

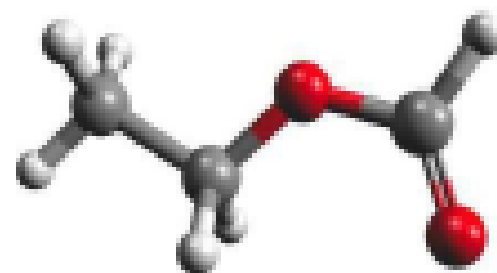
$c$  = η συγκέντρωση του διαλύματος σε mol/L ή g/L,

$l$  = το μήκος της διαδρομής που διάνυσε η δέσμη μέσα στο διάλυμα σε cm,

$\epsilon$  = σταθερά αναλογίας που ονομάζεται μοριακή απορροφητικότητα όταν η  $c$  εκφράζεται σε mol/L,

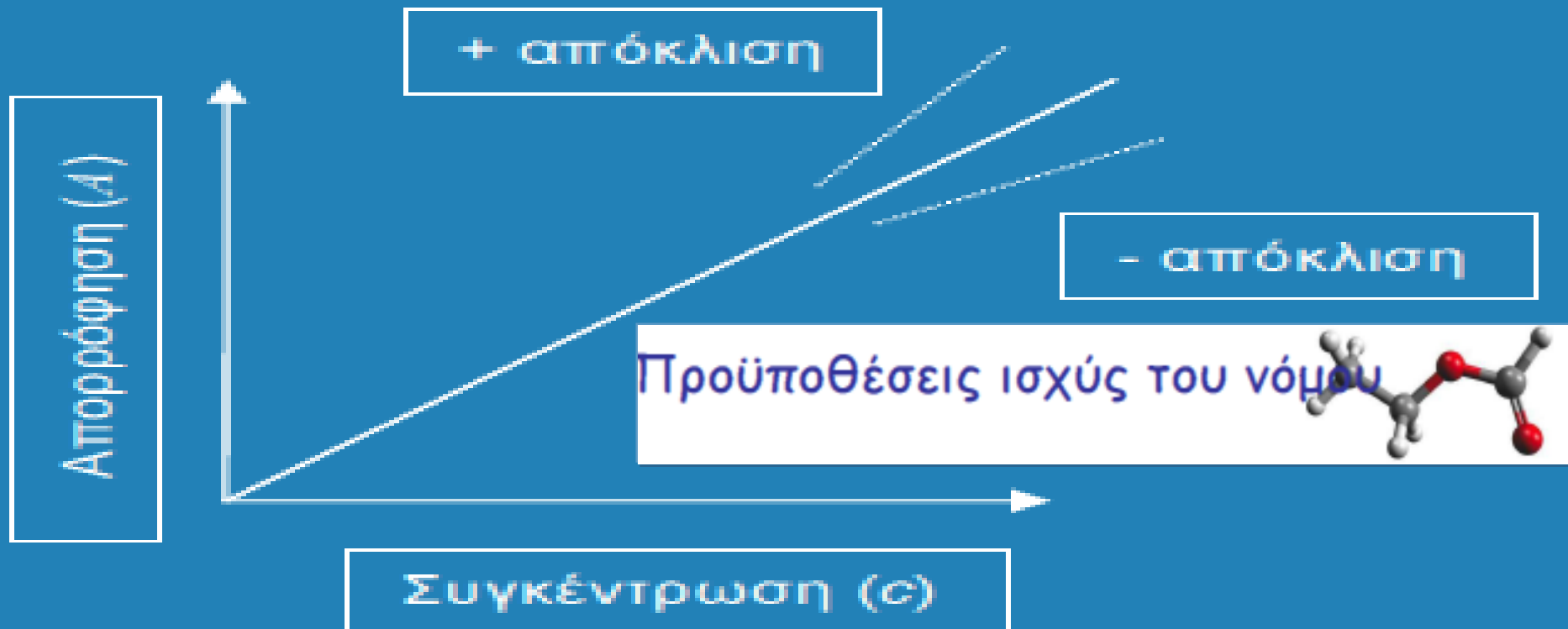
$a$  = σταθερά αναλογίας που ονομάζεται απορροφητικότητα όταν η  $c$  εκφράζεται σε g/L.

# Αρχή της μεθόδου



Αν οι συνθήκες όπως διαλυτής, θερμοκρασία, μήκος κύματος, προσπίπτουσα ακτινοβολία είναι οι ίδιες κατά τη διάρκεια της μέτρησης, τότε **η απορρόφηση είναι ανάλογη της συγκέντρωσης και της διαδρομής της ακτινοβολίας στο διάλυμα**. Ως διαδρομή εννοούμε το μήκος ή πλάτος του υποδοχέα που φέρει το διάλυμα. Το τελευταίο διατηρείται πάντα σταθερό με την χρήση κυψελίδων από γυαλί ή χαλαζία (ώστε να μην απορροφά την προσπίπτουσα ακτινοβολία) σταθερών διαστάσεων.

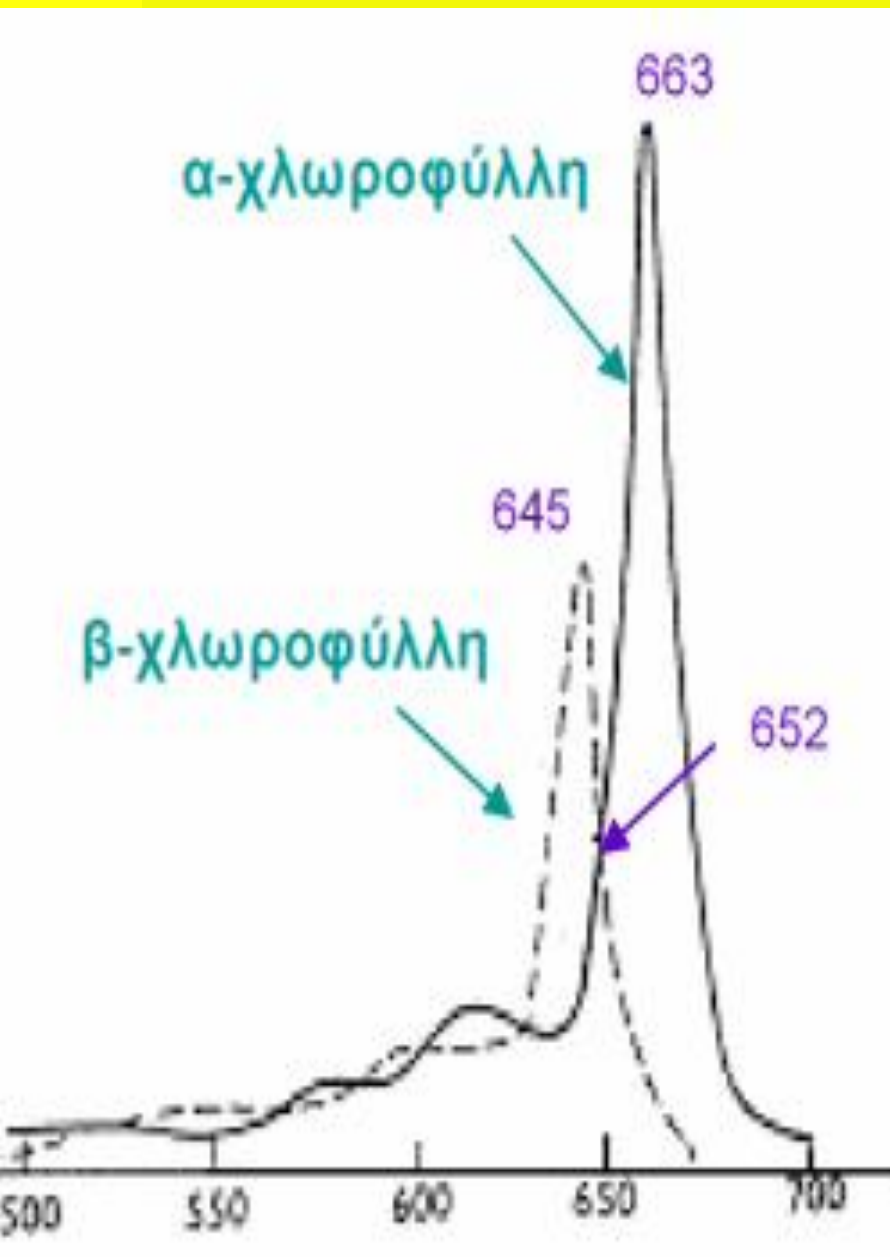
Αφού λοιπόν όλοι οι άλλοι παράγοντες ελέγχονται, η απορρόφηση του διαλύματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης. Συνεπώς μπορούμε να κατασκευάσουμε μια καμπύλη αναφοράς όπου στον άξονα τον  $x$  είναι οι γνωστές συγκεντρώσεις συνήθως σε  $\text{mg/L}$  ( $\text{ppm}$ ). Στον άξονα τον  $y$  σημειώνονται οι απορροφήσεις όπως δίνονται από το όργανο (εκφράζουν το ποσοστό ακτινοβολίας που απορροφάται ή διέρχεται).



Ο νόμος του Beer ισχύει με τις εξής προϋποθέσεις :

- τα διαλύματα δεν είναι πυκνά (απορρόφηση από 0,1 έως 1)
- ο μόνος μηχανισμός αλληλεπίδρασης μεταξύ διαλυμένης ουσίας και ακτινοβολίας είναι η απορρόφηση.
- η ακτινοβολία που πέφτει στο δείγμα είναι μονοχρωματική
- το δείγμα βρίσκεται σε κυψελίδα με ομοιόμορφη διατομή
- τα σωματίδια που απορροφούν δρουν ξεχωριστά το ένα από το άλλο και άσχετα προς τον αριθμό και το είδος τους.  $A_{ολ} = A_1 + A_2 + \dots + A_n$

# Ποσοτικός προσδιορισμός δύο συστατικών ενός διαλύτος



- ✓ Επιλέγουμε τα  $\lambda_1$  και  $\lambda_2$
- ✓ Εφαρμόζοντας τον Νόμο του Beer προσδιορίζουμε τους συντελεστές μοριακής απορρόφησης για κάθε συστατικό σε κάθε μήκος κύματος ( $\epsilon_{1\lambda_1}$ ,  $\epsilon_{1\lambda_2}$  και  $\epsilon_{2\lambda_1}$ ,  $\epsilon_{2\lambda_2}$ )
- ✓ Η ολική απορρόφηση του διαλύματος:

$$A_{ολ} = A_1 + A_2$$

Οπότε για τα δύο μήκη κύματος ισχύει:

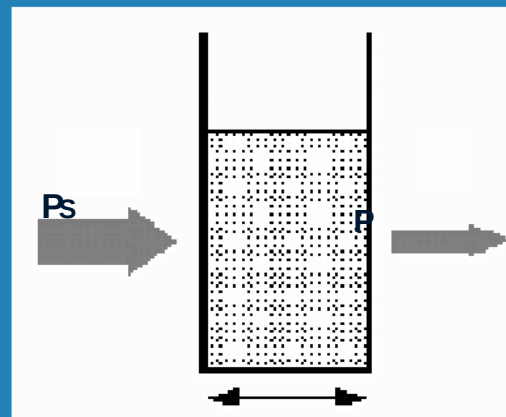
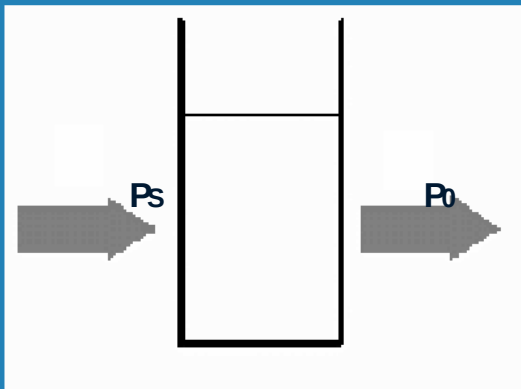
$$A_{\lambda_1} = c_1 \epsilon_{1\lambda_1} + c_2 \epsilon_{2\lambda_1}$$

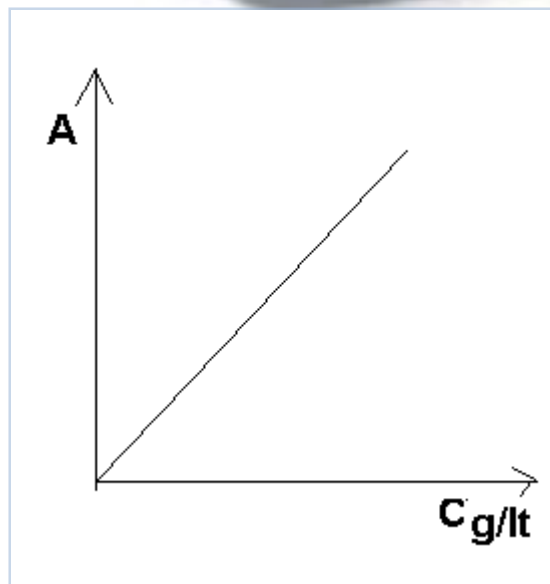
$$A_{\lambda_2} = c_1 \epsilon_{1\lambda_2} + c_2 \epsilon_{2\lambda_2}$$

- ✓ Υπολογίζουμε με λύση του συστήματος τις συγκεντρώσεις:

$$C_1 = \frac{\epsilon_{2\lambda_2} A_{\lambda_1} - \epsilon_{2\lambda_1} A_{\lambda_2}}{\epsilon_{1\lambda_1} \epsilon_{2\lambda_2} - \epsilon_{2\lambda_1} \epsilon_{1\lambda_2}} \quad C_2 = \frac{\epsilon_{1\lambda_1} A_{\lambda_2} - \epsilon_{1\lambda_2} A_{\lambda_1}}{\epsilon_{2\lambda_1} \epsilon_{1\lambda_1} - \epsilon_{1\lambda_2} \epsilon_{2\lambda_1}}$$

Μηδενίζουμε το φωτόμετρο στην απορρόφηση του νερού





Η σχέση της συγκέντρωσης με την απορρόφηση

Σύγχρονο ημιαυτόματο φωτόμετρο που  
περιέχει ενσωματωμένα προγράμματα



Απλό φασματοφωτόμετρο Vis-UV

# Τα βασικά μέρη ενός φασματοφωτόμετρου

1. **Η λυχνία παραγωγής φωτός (εκπομπέας φωτός).** Χρησιμοποιούνται διάφορες λυχνίες ανάλογα με το φάσμα του φωτός (UV, Vis, IR) που θέλουμε να παράγουμε (προσπίπτουσα ακτινοβολία  $P^0$ ).
2. **Το όργανο παραγωγής μονοχρωματικής ακτινοβολίας.** Όπως είπαμε η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που θα διέλθει από το διάλυμα πρέπει να έχει συγκεκριμένο μήκος κύματος τέτοιο ώστε να απορροφάται από την ουσία που θέλουμε να μετρήσουμε. Αυτό επιτυγχάνεται με χρήση ειδικών οργάνων όπως είναι οι α) μονοχρωμάτορες, β) φίλτρα γ) πρίσματα και δ) φράγματα περιθλάσεως.
3. **Κυψελίδες.** Οι κυψελίδες είναι μικρά γυάλινα κυλινδρικά ή ορθογώνια σωληνάρια μέσα στα οποία τοποθετείται το διάλυμα που θέλουμε να μετρήσουμε. Είναι συγκεκριμένου πάχους και διαμέτρου και κατασκευάζονται από διάφορα υλικά (όχι μόνο γυαλί) ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο μήκος κύματος. Οι κυψελίδες πρέπει να διατηρούνται σχολαστικά καθαρές αφού η παραμικρή ακαθαρσία θα επηρεάσει σημαντικά την μέτρηση μας.
4. **Φωτοκύτταρο (ανιχνευτής φωτός).** Είναι το όργανο που μετράει την ακτινοβολία  $P$  που διέρχεται μέσα από το διάλυμα.

# Οδηγίες χρήσης φασματοφωτομέτρου

- 1.Μηδενίζουμε το όργανο μετρώντας αέρα.
- 2.Μετράμε το τυφλό μας διάλυμα. Το τυφλό διάλυμα είναι διάλυμα που περιέχει όλες τις ουσίες του μετρούμενου διαλύματος (διαλύτη, αντιδραστήρια) εκτός από την μετρούμενη ουσία (δείγμα).
- 3.Μηδενίζουμε ξανά το όργανο
- 4.Μετράμε την απορρόφηση της πρότυπης ουσίας  $A_{\text{πρότυπου}}$ . Η πρότυπη ουσία είναι ένα δείγμα παρόμοιο με αυτό που θέλουμε να μετρήσουμε και το οποίο περιέχει την ουσία μας σε συγκεκριμένη γνωστή συγκέντρωση  $C_{\text{πρότυπου}}$ . Η μέτρηση της απορρόφησης του είναι απαραίτητη για τον υπολογισμό της άγνωστης συγκέντρωσης.
- 5.Μετράμε την απορρόφηση του δείγματος μας  $A_{\text{δείγματος}}$ .
- 6.Η άγνωστη συγκέντρωση του δείγματος  $C_{\text{δείγματος}}$  υπολογίζεται από τον τύπο:

$$C_{\text{δείγματος}} = \frac{A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{πρότυπου}}} \times C_{\text{πρότυπου}}$$

## Μεθοδολογία για τη μέτρηση των δειγμάτων

Πριν από την εκτέλεση μετρήσεων, μεγάλη προσοχή πρέπει να δίνεται στις γενικές προφυλάξεις που αφορούν στην καθαρότητα των γυάλινων σκευών και τη σωστή παρασκευή των διαλυμάτων.

Ιδιαίτερα πρέπει να προσέχουμε τα παρακάτω:

- ✚ Τα δείγματα που βρίσκονται μέσα στην κυψέλη να μην περιέχουν φυσαλίδες, οι οποίες αλλοιώνουν τη μέτρηση.
- ✚ Η κυψέλη πρέπει να είναι γεμάτη τουλάχιστον κατά τα 2/3.
- ✚ Να γίνεται τακτικά έλεγχος του 100% T για να διορθώνονται πιθανές μετατοπίσεις του δείκτη της κλίμακας.
- ✚ Αν η κυψέλη έχει ενδεικτική χαραγή, για μεγαλύτερη ακρίβεια, πρέπει αυτή να συμπίπτει με τη χαραγή στο επάνω μέρος της υποδοχής ώστε η κυψέλη να έχει πάντα τον ίδιο προσανατολισμό.

# ΣΗΜΕΡΙΝΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ



# Ανίχνευση Υπερμαγγανικού Καλίου - Potassium Permanganate ( $\text{KMnO}_4$ )

- Το  $\text{KMnO}_4$  είναι ένα διάλυμα χρώματος μωβ / βιολετί (purple / violet) που σημαίνει ότι έχει maximum απορρόφηση μεταξύ 500 – 550nm.
- Υπάρχουν 5 γνωστές συγκεντρώσεις  $\text{KMnO}_4$ : 1ppm, 20ppm, 40ppm, 60ppm, 80ppm

# Ανίχνευση Υπερμαγγανικού Καλίου - Potassium Permanganate ( $\text{KMnO}_4$ ) (2)

- Θα χρησιμοποιηθούν αρχικά για την εύρεση της μέγιστης απορρόφησης μια συγκέντρωση για την βαθμονόμηση του φασματοφωτόμετρου, HITACHI, στην ορατή περιοχή 450 – 600nm.
- Αναμένεται το  $\lambda_{\text{max}}$  του  $\text{KMnO}_4$  να είναι βέλτιστο στο  $\approx 520 \text{ nm}$

A – ΜΕΡΟΣ

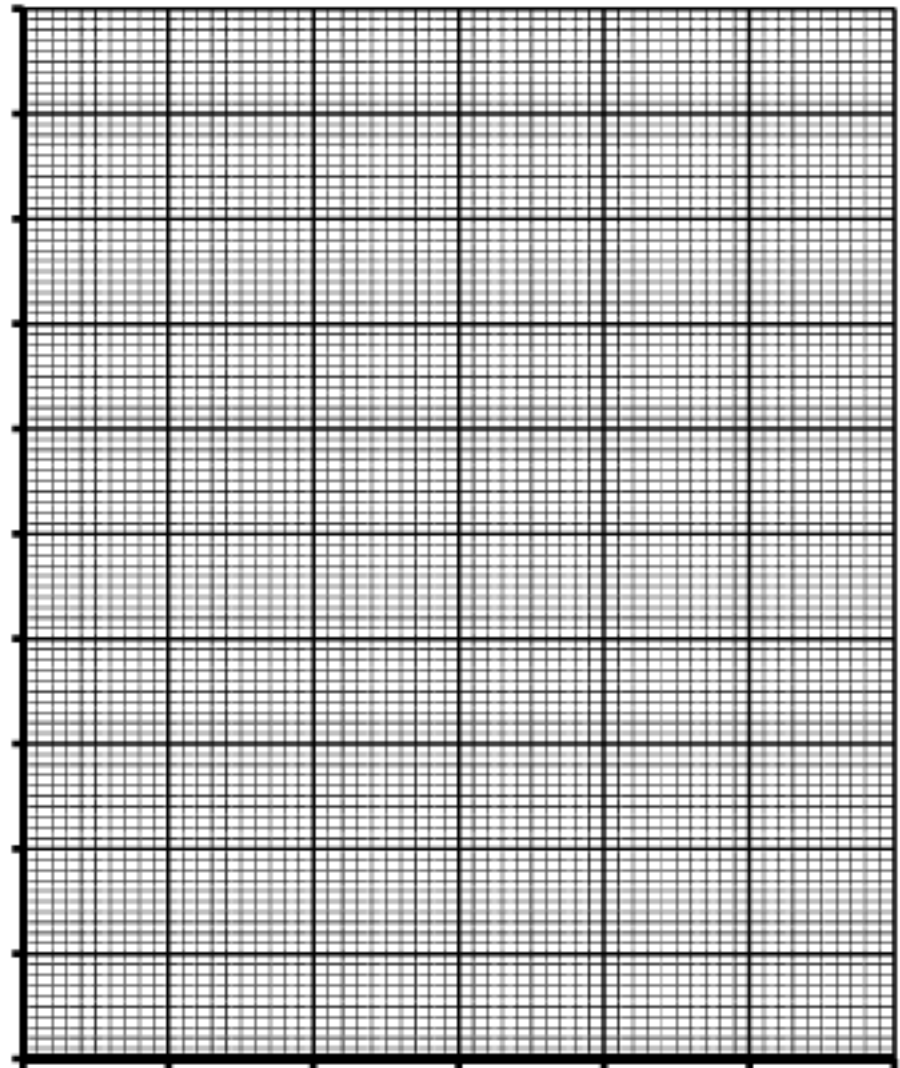
εύρεση του  $\lambda_{max}$  για την  
μέγιστη ABS

# Παράδειγμα χρήσης φασματοφωτομέτρου για την εύρεση του $\lambda_{\max}$ για την μέγιστη ABS

| $a/a$ | $\lambda$ (nm) | A | $D = 2 - \log A$ |
|-------|----------------|---|------------------|
| 1     | 450            |   |                  |
| 2     | 500            |   |                  |
| 3     | 525            |   |                  |
| 4     | 550            |   |                  |
| 5     | 575            |   |                  |
| 6     | 600            |   |                  |
| 6     | 610            |   |                  |
| 7     | 615            |   |                  |
| 8     | 620            |   |                  |
| 9     | 625            |   |                  |
| 10    | 650            |   |                  |
| 11    | 675            |   |                  |
| 12    | 700            |   |                  |

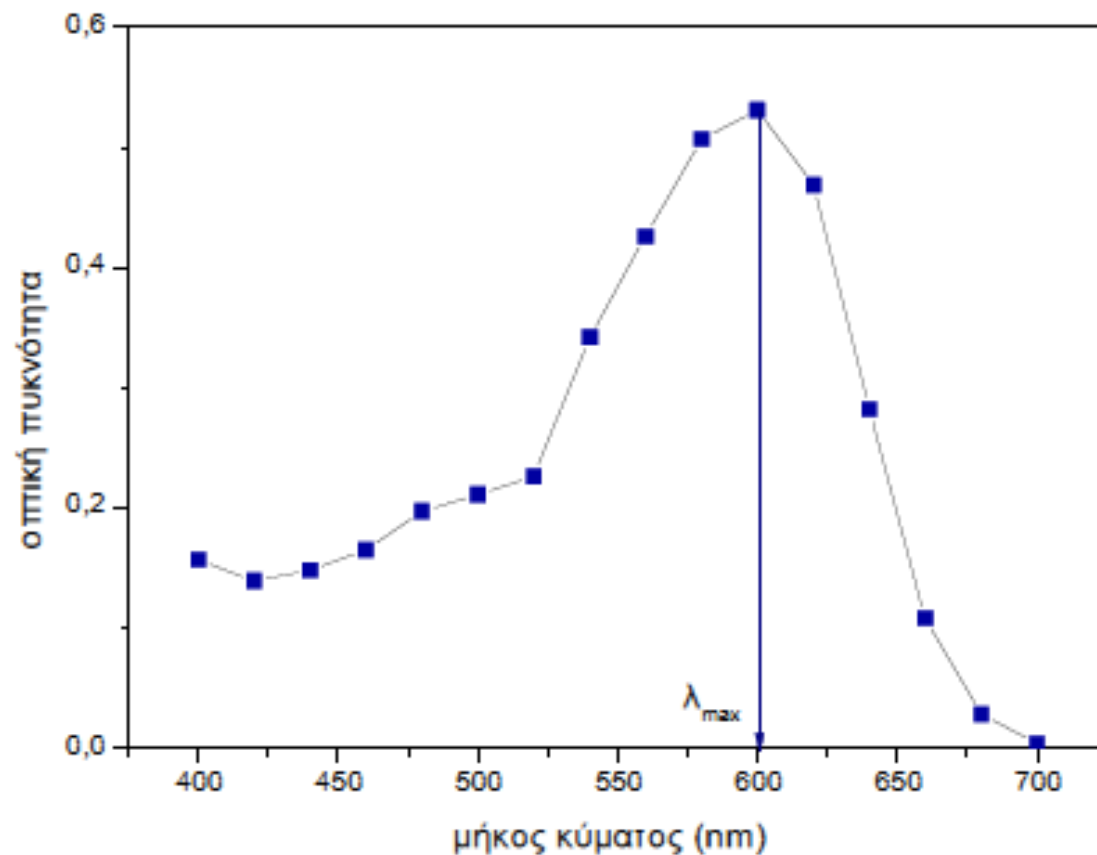
Αρχείο Excel e-Class

Οπτική πυκνότητα



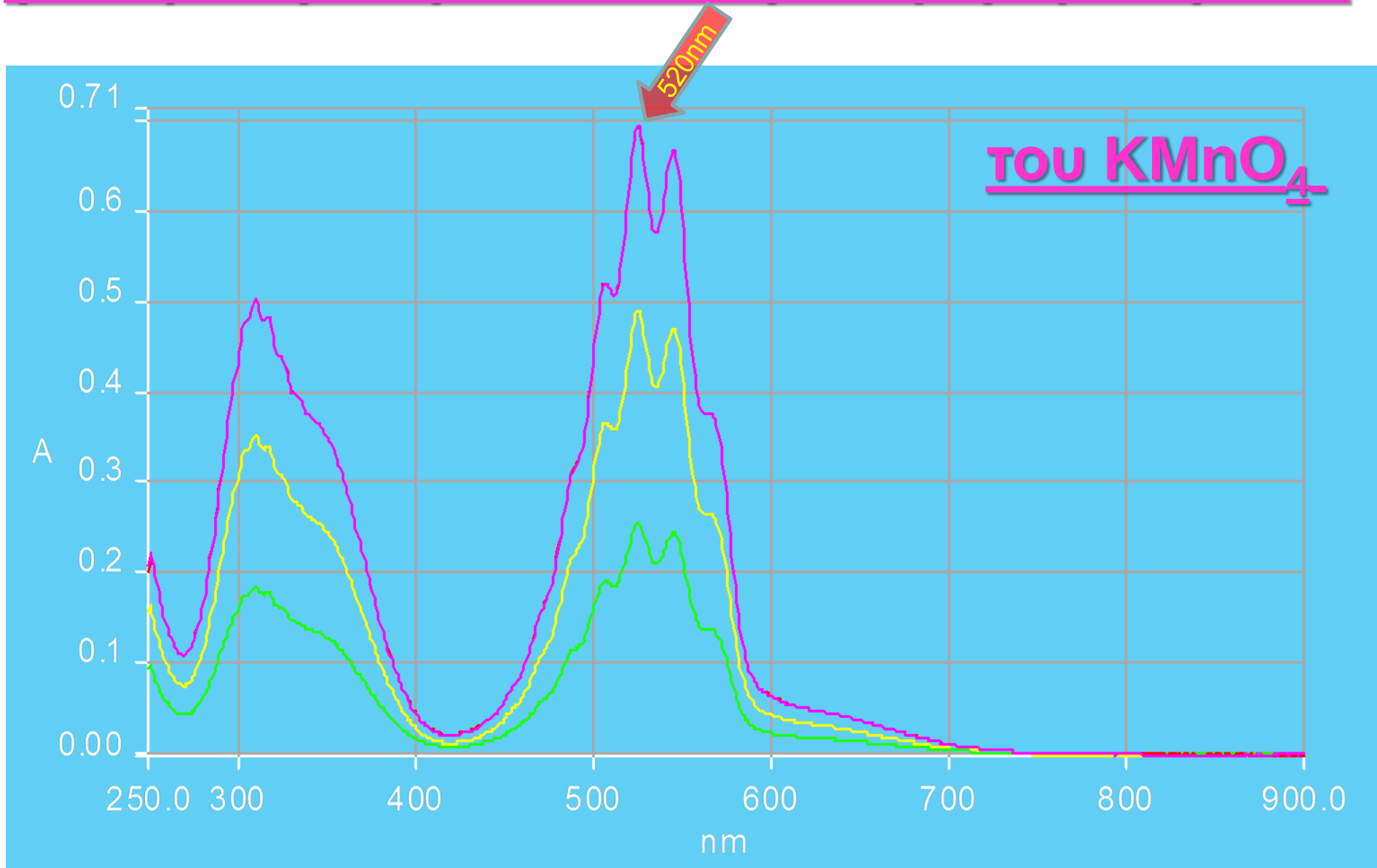
Μήκος κύματος (nm)

# Παράδειγμα χρήσης φασματοφωτομέτρου για την εύρεση του $\lambda_{\max}$ για την μέγιστη ABS



Φάσμα απορρόφησης έγχρωμης ουσίας στην περιοχή του ορατού.

# Παράδειγμα χρήσης φασματοφωτομέτρου για την εύρεση του $\lambda_{\max}$ για την μέγιστη ABS



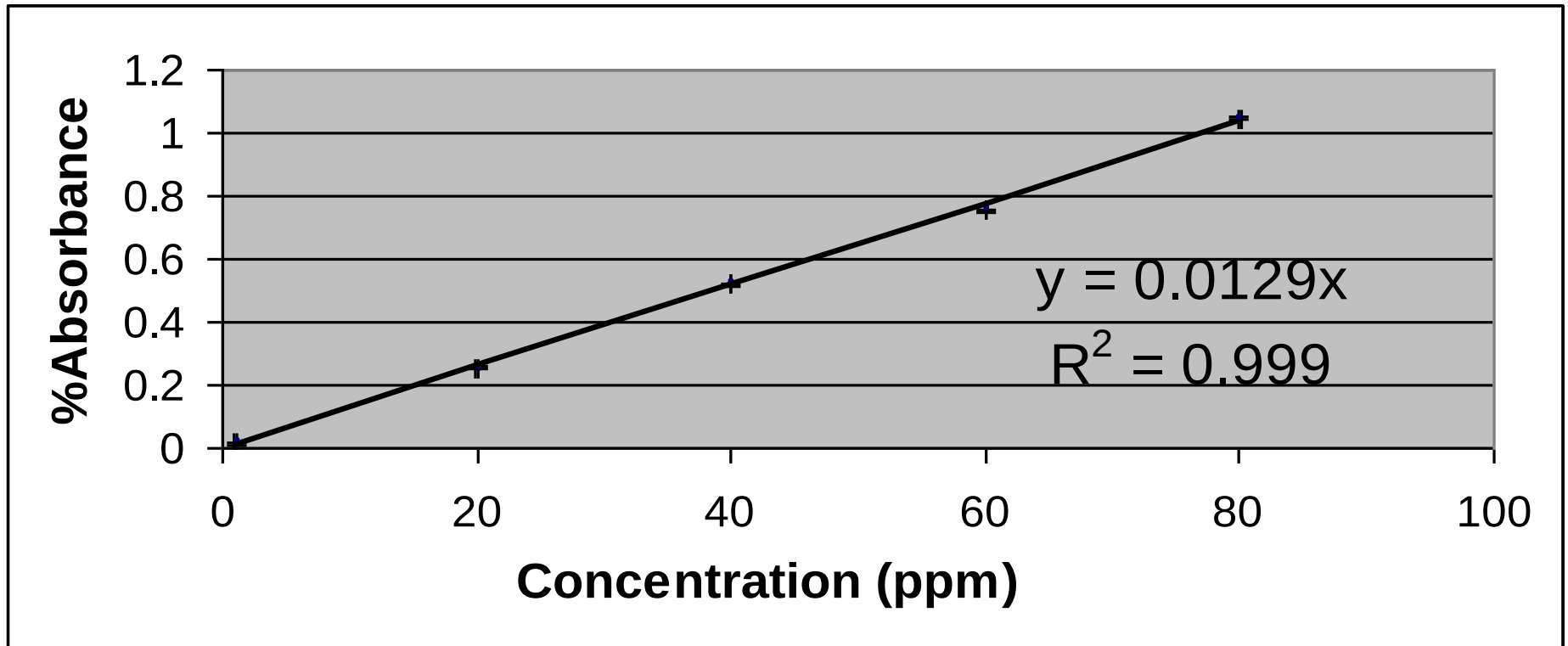
## **B – ΜΕΡΟΣ**

χρήση του  $\lambda_{max}$  για την μέγιστη  
ABS φασματοφωτομέτρου  
για τη δημιουργία πρότυπης  
καμπύλης

# *UV-Vis Μετρήσεις Απορόφησης του KMnO<sub>4</sub> γνωστών C στο 520 nm*

|            | Average %A<br>(after 3 runs) | Standard<br>Deviation (%A) |
|------------|------------------------------|----------------------------|
| 1 ppm      | 0.015                        | 0.004                      |
| 20 ppm     | 0.256                        | 0.001                      |
| 40 ppm     | 0.520                        | 0.004                      |
| 60 ppm     | 0.753                        | 0.002                      |
| 80 ppm     | 1.046                        | 0.001                      |
| Unknown #4 | 0.462                        | 0.001                      |

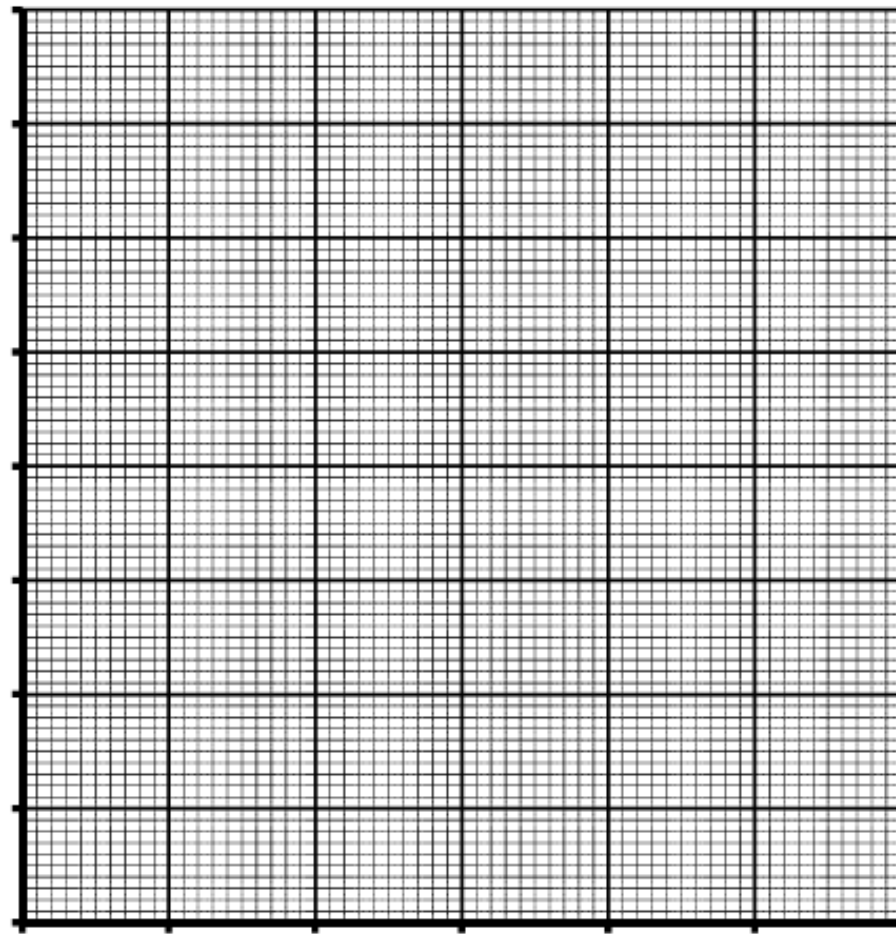
Πρότυπη Καμπύλη για το  $\text{KMnO}_4$   
χρησιμοποιώντας UV-Vis Φασματοσκοπία,  
Απορρόφηση -vs.- Συγκέντρωση



# Παράδειγμα χρήσης φασματοφωτομέτρου για την πρότυπη καμπύλη

| α/α   | C (mg L <sup>-1</sup> ) | T% | D |
|-------|-------------------------|----|---|
| 1     | 2                       |    |   |
| 2     | 4                       |    |   |
| 3     | 6                       |    |   |
| 4     | 8                       |    |   |
| 5     | 10                      |    |   |
| Αγν.1 |                         |    |   |
| Αγν.2 |                         |    |   |
|       |                         |    |   |

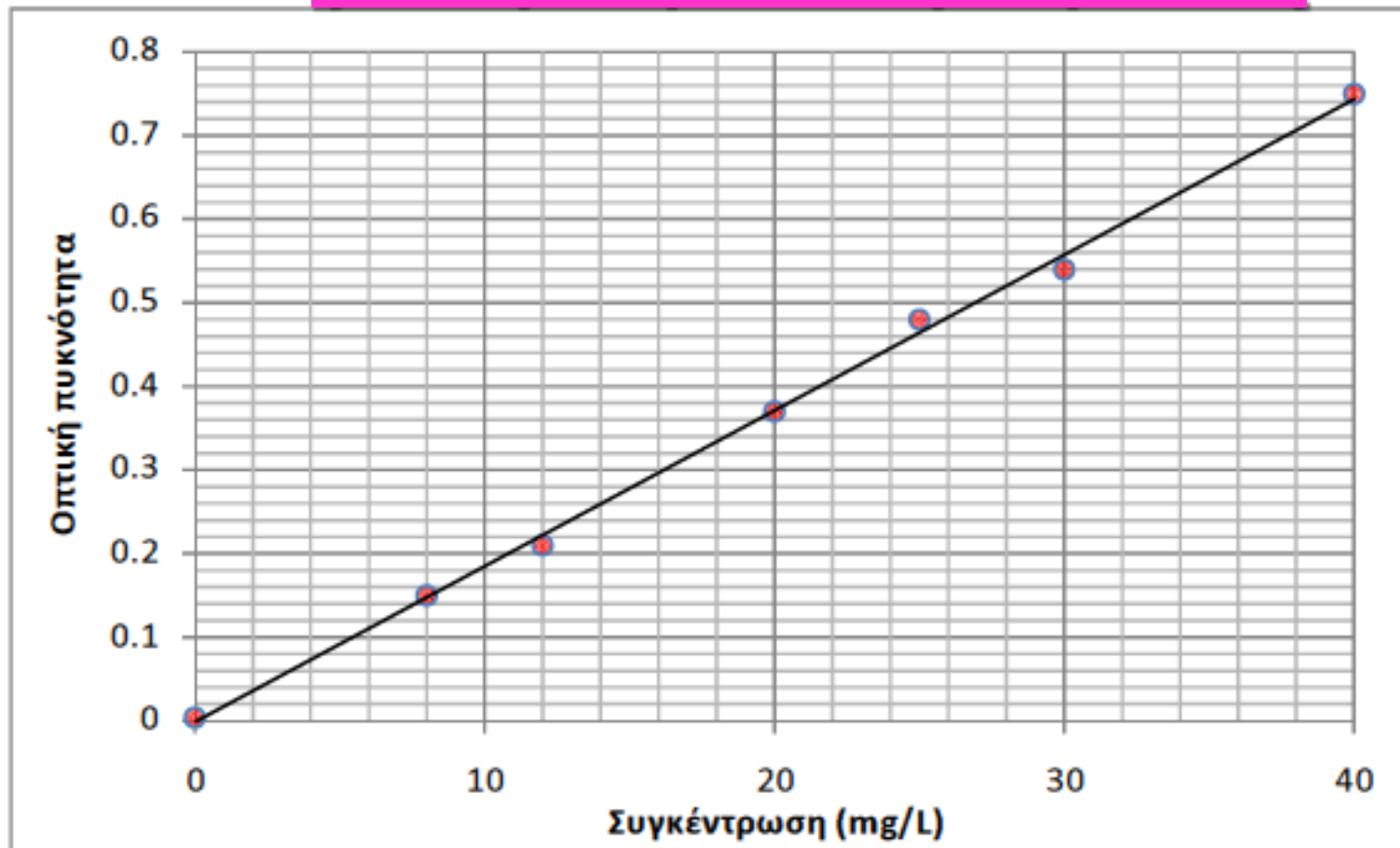
Οπτική πυκνότητα



Συγκέντρωση (mg/L)

Αρχείο Excel e-Class

# Παράδειγμα χρήσης φασματοφωτομέτρου για την πρότυπη καμπύλη

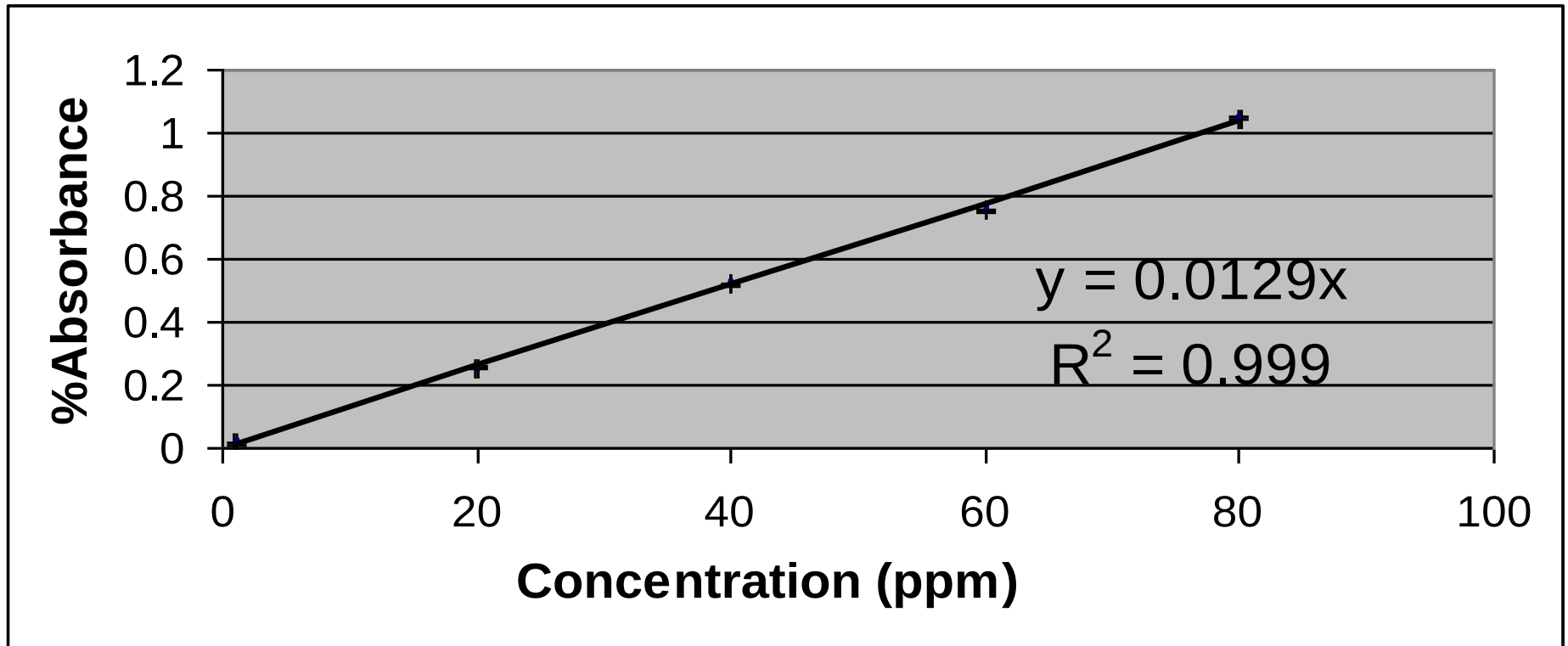


**Σχήμα 5:** Γραφική παράσταση της μεταβολής της οπτικής πυκνότητας με τη συγκέντρωση της χρωστικής.

# Γ – ΜΕΡΟΣ

χρήση του  $\lambda_{\max}$  και της  
πρότυπης καμπύλης για την  
εύρεση των αγνώστων  
συγκεντρώσεων  $\text{KMnO}_4$

Πρότυπη Καμπύλη για το  $\text{KMnO}_4$   
χρησιμοποιώντας UV-Vis Φασματοσκοπία,  
Απορρόφηση -vs.- Συγκέντρωση



# Υπολογισμός της αγνώστου συγκέντρωσης διαλ/τος του $\text{KMnO}_4$

- Μήκος χρησιμοποιηθείσας κυψελίδας 1cm
- Κλίση γραμμής με βάση την εξίσωση του αρχείου excel  $y(\text{ABS}) = 0,0129 \cdot x(\text{C})$  δηλαδή  
 $\epsilon = \text{slope of line} = 0.0129 \text{ ppm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
- Άγνωστης #4 Συγκέντρωσης θα βρεθεί  
χρησιμοποιώντας  $C = A / 0.0129$
- $36 \text{ ppm} = 0.462 \%A / 0.0129 \text{ ppm}^{-1}$

ΤΕΛΟΣ

