

UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIA

1

(Gyakorlati segédlet a műszeres analitika gyakorlathoz)



Összeállította: Tóth László

DE-TTK Szerves Kémia Tanszék

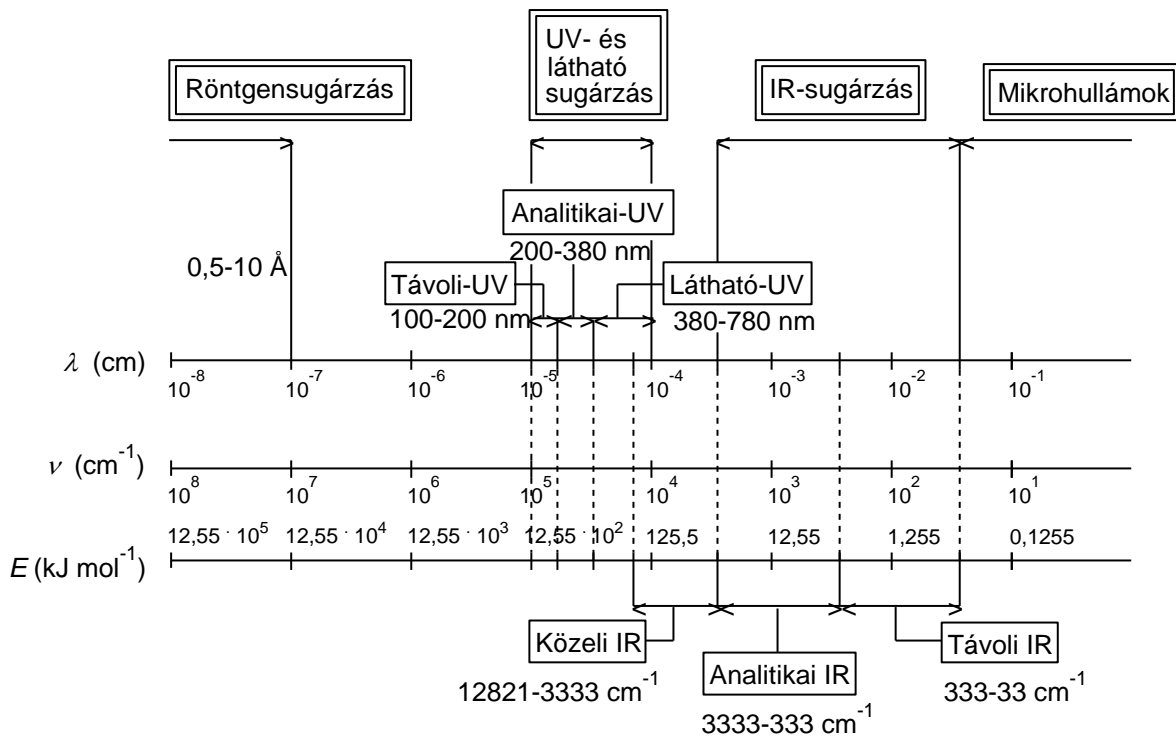
2019.

UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIA

1. Bevezetés

Fény és anyag kölcsönhatásán számos műszeres analitikai eljárás alapul. Ide sorolható az infravörös spektroszkópia (IR), a polarimetria, az UV-látható spektrofotometria (UV-VIS) és a cirkuláris dikroizmus (CD) is. Az előzőekben felsorolt technikák közös sajátossága, hogy kis vizsgálandó anyagmennyiséget igényelnek, és hogy roncsolás-mentes technikák. Tehát a vizsgált minta változatlan mennyiségben és anyagi minőségben rendelkezésre fog állni a vizsgálat után.

Az elektromágneses színektartomány 100-200 nm közötti tartományát távoli-UV, 200-380 nm közötti szeletét analitikai-UV tartománynak, míg a 380-780 nm közötti részét látható tartománynak nevezzük.



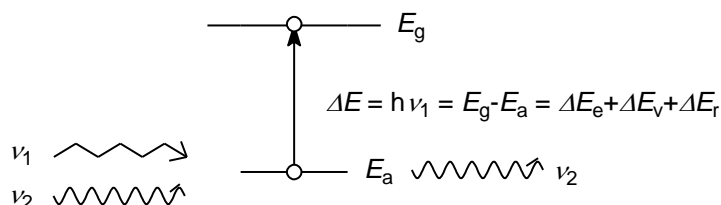
1. ábra: Az elektromágneses sugárzás színektartományai

A látható és az UV tartományban a hullámhosszt nanométerben (nm) fejezik ki, 1 nm = 10⁻⁹ m. Az elektromágneses sugárzás energiáját a Plank törvény írja le.

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = hc\nu^*$$

Ahol a h a Plank-féle hatáskvantum, melynek nagysága 6,63 · 10⁻³⁴ Js.

A spektrofotometriás mérés során a vizsgálandó anyag molekulái kölcsönhatnak az elektromágneses sugárzással, és annak energiájának egy részét abszorbeálják. Az elnyelt energia hatására alap energia állapotból (E_a) egy magasabb energiájú állapotba (E_g) kerülnek a molekulák. Ezt a folyamatot nevezzük gerjesztésnek.



2. ábra: A gerjesztés folyamata

Itt hívnám fel a figyelmet a gyakori hibára. Fény és anyag kölcsönhatásáról beszélünk, nem pedig fény és anyag reakciójáról.

Ha megvizsgáljuk az elektromágneses sugárzás kölcsönhatás előtti és utáni összetételét, akkor a mért változásból, azaz az abszorpciós spektrumból értékes következtetéseket vonhatunk le a molekulák szerkezetéről.

Ha meg szeretnénk vizsgálni a molekulák energiaállapotát ($E_{\text{össz}}$), akkor figyelembe kell vennünk a Born-Oppenheimer közelítést, ami szerint az atommag gerjesztés során a helyzetét nem változtatja meg. Továbbá elhagyhatjuk a molekulák nem kvantált kinetikus energiáját. Ezeket szem előtt tartva az alábbi összefüggéshez jutunk:

$$E_{\text{össz}} = E_e + E_v + E_r$$

Nézzük meg egyenként az egyes alkotókat.

- Az elektronenergia (E_e) a molekula összes elektronjának potenciális és kinetikus energiájának összege, nagysága átlagosan 400 kJ mol^{-1} .
- A rezgési energia (E_v) a molekula atomjainak a kötések mentén történő periodikus mozgásából származó potenciális- és kinetikus energiájának összege, mely $1\text{--}300 \text{ kJ mol}^{-1}$ közötti érték.
- A rotációs energia (E_r) a molekulát felépítő atomok – tömegközéppont körüli forgó mozgásából származó – kinetikus energiájának az összege. A rotációs energiaállapotok közötti különbség $10^{-2}\text{--}10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1}$ nagyságrendű.

Ha szemügyre vesszük az egyes energia értékeket jóllátszik, hogy az összefüggésben felsorolt energiaértékek a felsorolás sorrendjében csökkennek, legnagyobb az elektron energia nagysága. Így egyértelmű az, hogy tisztán elektrongerjesztési spektrumhoz nem tudunk jutni,

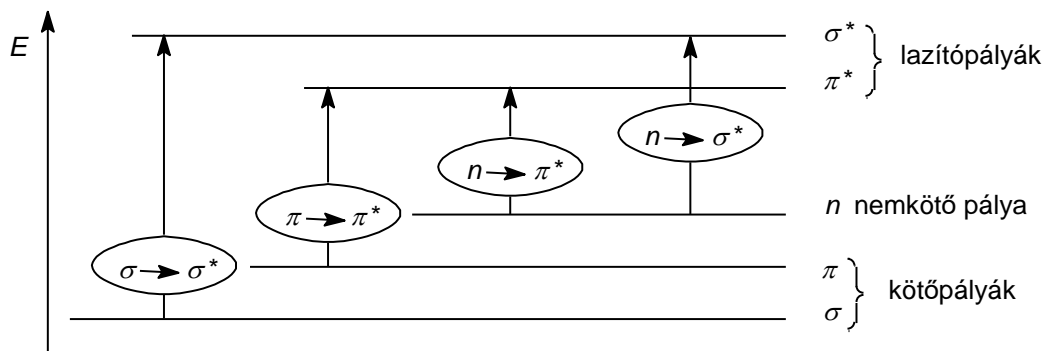
hiszen az elektrongerjesztés együtt jár a rezgési és a rotációs energiák gerjesztésével. Alapvetően az elektronok gerjesztését igénylő energia (4-500 kJ/mol) nagy energia érték. Ezt az elektromágneses sugárzás rövid hullámhosszú, azaz nagy frekvenciájú tartománya az UV és a látható képesek fedezni.

A molekulák csak diszkrét energiaállapotokban léteznek, így az elektron-, a rezgési- és a forgási-állapotokhoz is kvantált energiaszintek tartoznak. Mindezeknek megfelelően egy molekula folytonos elektromágneses sugárzásból, csak diszkrét energiafelvételre (szelektív abszorpcióra) képes, mégpedig a molekula energiaállapotát additíven meghatározó elektron-, rezgési- és forgási-állapotainak energiaszintjei szerint. Ezért, ha egy molekulát folytonos elektromágneses sugárzás ér – a molekula diszkrét abszorpciója miatt – az elektromágneses sugárzás spektrumának változása a molekula szerkezetének függvénye. Ilyen módon jellegzetes elektron-, rezgési- és forgási molekulaszínképekhez jutunk. Ne feledjük el az energiategyek nagyságát. Így az elektron-energia színképre mindig szuperponálódik rezgési és rotációs színkép. Míg a rezgési színképre rotációs színkép. A molekulák rezgési színképével az infravörös spektroszkópia foglalkozik.

Az *ultraibolya és látható fény spektrofotometria* tehát azon alapul, hogy a vizsgált molekula az ultraibolya (200–380 nm) vagy a látható fény (380–780 nm) adott hullámhosszúságú komponensét (komponenseit) abszorbeálja, aminek következtében a molekula egyik vegyértékelektronja alapállapotban elfoglalt ún. *kötő* vagy *nemkötő* pályáról egy nagyobb, ugyancsak kvantált energiájú gerjesztett, az ún. *lazító* pályára került át.

A vizsgált molekula valamennyi kötő elektronjára igaz az, hogy gerjesztési energiaigényük más és más. A molekulának azt a szerkezeti egységét, amely a fényabszorpcióért leginkább felelőssé tehető, a molekula *kromofor* (görög eredetű szó, jelentése: színhordozó) rendszerének nevezzük. A fényabszorpció során egy kötő vagy nemkötő molekulapályáján lévő vegyértékelektron lazító molekulapályára kerül.

Nézzük meg milyen elektronátmenetek fordulhatnak elő egy vegyületben:



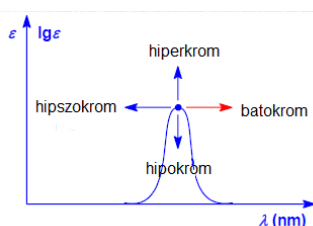
3. ábra: Az elektronátmenetek típusai

- **$\sigma \rightarrow \sigma^*$ átmenet:** Azon telített vegyületek, amelyek valamennyi vegyértékelektronja σ -típusú, a szokásos értelemben vett UV és látható spektrumtartományban (200–780 nm) nem abszorbeálnak, mivel a σ -típusú kötőpályán lévő elektronnak (HOMO) a σ^* -lazítópályára (LUMO) történő gerjesztése igen nagy energiát igényel. Ilyen elektronátmenet csak igen rövid hullámhosszú (kisebb mint 185 nm) UV-fénnyel váltható ki. Ehez speciális készülékre és inert gáz öblítésre van szükség a levegőben jelen lévő oxigén gáz önabszorpciója miatt, ezért a csak σ -kötéseket tartalmazó vegyületek (pl. alkánok) kromofor nélküli, optikailag “átlátszó” anyagoknak tekinthetők, és előnyösen használhatók oldószerként (pl. *n*-heptán, ciklohexán stb.) az UV-VIS spektrofotometriában.
- **$n \rightarrow \sigma^*$ átmenet:** Ha a heteroatomot (N, O, S, Hlg, stb.) tartalmazó telített vegyületek σ -kötésű heteroatomjának magányos elektronpárja (*n*) is van, akkor az $n \rightarrow \sigma^*$ átmenet sávja, ha kis intenzitással is, de már 200 nm felett is jelentkeznek. Az *n*-pálya viszonylagos nagyobb energiaállapota miatt, az *n* (HOMO) és σ^* (LUMO) pályák energiaszintjei között kisebb a különbség, mint a σ - és σ^* -pályák között. Az $n \rightarrow \sigma^*$ átmenetre a “heteroatomokat” tartalmazó telített vegyületek körében találunk tipikus példákat.
- **$\pi \rightarrow \pi^*$ átmenet:** A π -típusú kötő és lazító molekulapályák energiaszintjei között jóval kisebb a különbség, mint a σ -típusú pályák esetében, ezért az ilyen szerkezeti részeket tartalmazó vegyületek (pl. alkének, alkinek, aromás szénhidrogének, karbonil vegyületek stb.) kromofor rendszerükre jellemző UV-VIS színekpet adnak. Az elektronátmenetben érintett molekulapályák (π , π^*) kedvező térszerkezete miatt nemcsak intenzív abszorpciós sávot adnak, hanem az abszorpciós sáv hullámhossza és intenzitása a kémiai környezetet is jellemzően leképezi.
- **$n \rightarrow \pi^*$ átmenet:** Azokra az oxigén-, kén- vagy nitrogénatomot tartalmazó vegyületekre jellemző az $n \rightarrow \pi^*$ átmenet, amelyek heteroatomja kettős kötéssel kapcsolódik a szénatomhoz (C=O, C=N, C=S). Ekkor a legkisebb energiát igénylő átmenet (HOMO \rightarrow LUMO) a heteroatomon lévő nemkötő elektronpár egyik elektronjának a lazító π^* -pályára történő átmenete. Általában a hosszabb hullámhossznál jelentkező átmenet, amely kis intenzitású, mert az *n* orbitál merőleges a π^* -ra.

Aldehidek, ketonok: $\pi \rightarrow \pi^*$ 180-200 nm

$n \rightarrow \pi^*$ 270-290 nm.

Az UV-VIS abszorpció maximum helyét több tényező befolyásolja. Az abszorpció általános spektrumbeli helyének eltolódását nagyobb, illetve kisebb hullámhosszak felé *batokrom*, illetve *hipszokrom* eltolódásnak nevezzük. Az abszorpció intenzitásának növekedésekor, illetve csökkenésekor pedig *hiper-*, illetve *hipokrom* eltolódásról beszélünk. Azokat a csoportokat, amelyek önállóan nem rendelkeznek jellemző fényelnyeléssel, de egy kromofor abszorpciójára jellemző hatást gyakorolnak *auxokromnak* (görög eredetű szó, jelentése: színnövelő) nevezzük. Ilyenek például az -OH, -OR, -SH, -SR, halogének, -NH₂ stb. csoportok. Ezen csoportok auxokrom hatását az okozza, hogy a heteroatomon lévő magányos elektronpár (n) kölcsönhatásba lép a molekula π -kötésével és ezáltal a legfelső betöltött molekulapálya (HOMO) és a legalsó üres molekulapálya (LUMO) közötti energiakülönbség jelentősen lecsökken.



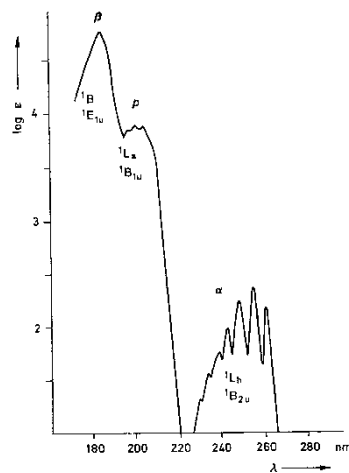
4. ábra: Eltolódások a spektrumban

Gyakorta használt tapasztalati szabály a Woodward-Fisher szabály. Konjugált dién rendszerek esetében a konjugálódó kettős kötések számának növekedtével batokrom hiperkrom eltolódás figyelhető meg. A konjugált poliének esetében a HOMO és LUMO pályák közötti energiakülönbség már annyira lecsökken, hogy e vegyületek a látható fényt is képesek abszorbeálni és ezért színesek.

Az aromás vegyületek különleges konjugált π -elektronrendszerük miatt jellegzetes UV színekkel rendelkeznek. A benzolesetében például a rövidebb hullámhosszak felé haladva növekvő intenzitással három abszorpciós sávot figyelhetünk meg. Mindhárom a $\pi \rightarrow \pi^*$ átmenettől származik. Holott a benzol szimmetriája miatt azt várnánk, hogy 189 nm-nél jelentkező sávhoz tartozik lokális töltésszétválás, illetve hoz létre indukált dipólus momentumot. Az ilyen elektronátmeneteket megengedetteknek nevezzük. Míg ha a gerjesztés során nem indukálódik dipólusmomentum, akkor szimmetriatiltott átmenetről beszélünk.

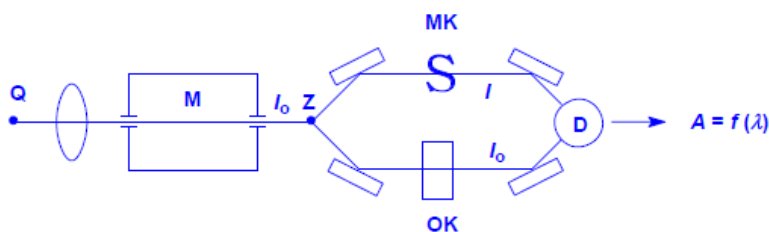
Az abszorpciós görbe alatti terület a gerjesztés valószínűségével és az indukált dipólusmomentum nagyságával is arányos, így a tiltott átmeneteket nem észlelhetnénk a

spektrumban. A szimmetriatiltott sávok megfigyelését a molekula elektrongerjesztésével együtt járó vibrációs mozgásai teszik lehetővé. Ezek segítségével ugyanis a szimmetriatiltott átmenetek a megengedett átmenetek indukált dipólusmomentumából “kölsönvesznek” egy kicsit és így megengedetté válnak. Ez a kölsönzés annál könnyebben valósul meg, minél közelebb van energetikailag egymáshoz a két kölsönhatásban lévő gerjesztési forma. A rezgési átmenetek szerepét a benzol esetében nemcsak a 204 nm-es sáv intenzitása ($\epsilon = 7400$), hanem 256 nm-es sáv finomszerkezete is egyértelműen mutatja.



5. ábra: A benzol UV-VIS spektruma

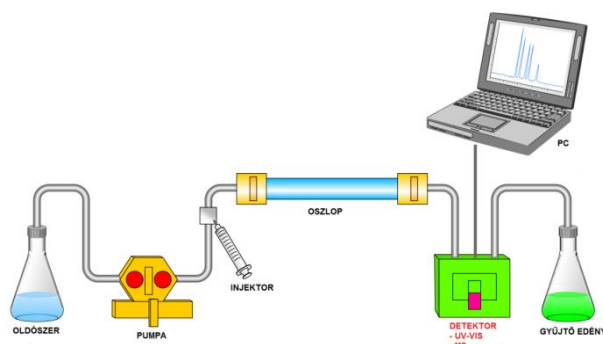
Az UV-VIS spektrofotometria igen széles körű gyakorlati felhasználással rendelkező műszeres analitikai eljárás. Alkalmazható mind minőségi, mind mennyiségi analitikai feladatok elvégzésére. Napjaink spektrofotométereikompakt, kis méretű berendezések. Az oldószer spektrumával való gyors, egyszerű korrekció érdekében két fénypárral rendelkeznek. Egyik fénypárra kerül a tiszta oldószert tartalmazó kűvetta, míg a másikba a minta homogén oldatát tartalmazó kűvetta. A mintatér általában termosztálható.



- Q: fényforrás
- M: monokromátor
- Z: forgó tükör
- OK: oldószer a referenciához
- MK: minta a mintasugárzásához



6. ábra: Két fényutas UV-VISfotométer sematikus rajza és a Jasco V-750 készülék küvettatere
Ezen túlmenően az egyik leggyakrabban alkalmazott dektektort jelenti. Hiszen a legtöbb nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) rendszer detektora.



7. ábra: HPLC rendszer sematikus rajza

A fényabszorpció mértékére két tapasztalati szabály írja le. Ezen szabályok nélkülözhetetlenek ahhoz, hogy a módszer felhasználható legyen minőségi analitikai feladatokon túl mennyiségi vizsgálatokhoz is.

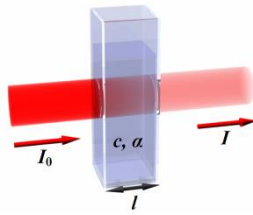
Bouger–Lambert törvény szerint, valamely homogén izotróp közegben a monokromatikus fényből abszorbeált hányad független a beeső fény intenzitásától, és minden egymást követő egységnyi réteg a beeső fény azonos hányadát abszorbeálja.

Beer törvénye szerint, abszorpciót önmagában nem mutató (tehát optikailag átlátszó) oldószerben a beeső fényből az oldott anyag által abszorbeált hányad csak a fény útjába eső oldott anyag mennyiségétől, azaz az abszorpció útba eső abszorbeáló molekulák számától függ.

A két törvény egyesítésével a következő összefüggést kapjuk:

$$A = \log(I_0 / I) = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

ahol A az oldat abszorbanciája; I_0 a beeső sugárzás intenzitása; I az áteresztett sugárzás intenzitása; ε az oldatra jellemző állandó, moláris abszorpciós koefficiens [$\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$]; c az abszorbeáló anyag koncentrációja (az összefüggés szigorúan csak híg oldatokra érvényes!) [mol dm^{-3}]; l a fénysugár által megtett úthossz az oldatban [cm]. Ha a koncentrációt g/100 mL egységben adjuk meg akkor a fajlagos, vagy specifikus abszorpciós koefficienset kapjuk.



8. ábra: A mintaoldatot tartalmazó küvetta áthaladva a beeső fény intenzitása csökken

2. Gyakorlati feladatok

A gyakorlati feladatokat egy kétsugaras JASCO V-750 UV-VIS spektrofotométer alkalmazásával végezzük. A készülék lég-termosztáttal ellátott, így a mintatere termosztálható, ennek hatékonyságát hőmérséklet-mérő szenzor ellenőrzi.

9



9. ábra: Jasco V-750 UV-VIS spektrofotométer

A Jasco V-750 spektrofotométer kezelése:

Rendkívül fontos dolog, hogy a készüléket a tökéletes üzem elérése érdekében minimum 30 perccel az első mérés megkezdése előtt be kell kapcsolni a készülék oldalán található billenő kapcsolóval. A termosztátot is ekkor szükséges áram alá helyezni. Ezután szükséges a készülék vezérlését végző számítógépet bekapcsolni. Ezen számítógépen található programcsomag segítségével történik a mért adatok kiértékelése is.



10. ábra: A spektrofotométer és a lég-termosztát berendezés

A küvetta kezelése:

A küvetta, melybe a vizsgálandó oldatot töltjük, egy rendkívül drága és sérülékeny precíziós üvegeszköz.



11. ábra: A küvetta a tárolására szolgáló fémdobozban

A küvetta használatával kapcsolatban betartandó általános kezelési szabályok:

- Soha ne érintsük meg pusztá kézzel a küvetta ablakát, azt ne dörzsöljük
- A küvetta a mattított oldalánál fogjuk meg
- Védjük az ütődésektől, sérülésektől
- A laborasztalra mindig puha papírfelületre tegyük le
- Kerüljük a fényútba eső oldalainak a szennyeződését
- Ha mégis elszennyeződött alkohollal szőszölődés-mentes kendővel tisztítsuk
- A lezáró dugókra figyeljünk, azokat is tartsuk tisztán
- A mérőcellát mindig buborékmentesen töltsük meg
- Sokáig ne tartsuk a mérendő oldatot a küvettaiban
- Mérések között tiszta oldószerezrel alaposan mossuk ki
- Mindig a vizsgálandó oldattal átöblített küvettaiba töltsük a mintát

Bármilyen a küvettaival való munkavégzés során felmerült problémáról azonnal értesíteni kell a gyakorlatvezetőt.

Oldatkészítés:

A mérési eredmények pontosságát, nagymértékben befolyásolja a koncentráció. Ezért rendkívül körültekintően kell a mintaoldatokat elkészíteni.

A szilárd anyagok bemérésére 5 tizedes jegy pontosságú analitikai mérlegen kerül sor. Nagyon figyeljünk rá, hogy a bemért szilárd anyag maradék nélkül átoldódjon a mérőlombikba, azt azonnal zárjuk le, egyértelműen iratozzuk fel. A beméréshez bemérőcsónakot használjunk. Ügyeljünk az analitikai mérleg és annak környezetének a tisztaságára. Ha a mérleg serpenyőjét véletlen beszennyeztük, azonnal jelezzük a gyakorlatvezetőnek!

Az oldatok elkészítését nagy tisztaságú spektroszkópiai oldószerezrel végezzük. Az oldószereből a szükséges mennyiséget egy tiszta és száraz főzőpohárba öntsük ki. Semmi

esetre se pipettázzunk az oldószeres üvegből. Az esetleg megmaradt oldószert az üvegbe visszatölteni szigorúan TILOS! Mivel a spektroszkópiai oldószerek rendkívül költségesek célravezetőbb többször kevesebb oldószert a főzőpohárba tölteni, mint sok hulladékot termelni. Ez környezettudatosabb magatartási forma.

Amennyiben bizonytalanok vagyunk, úgy a mérőlombikban a jelre állítást végezhetjük tiszta, száraz pipettával.

A bemérendő szilárd anyag mennyiségét, és az oldatok térfogatát a gyakorlatvezető a gyakorlat megkezdésekor közli, amiket a jegyzőkönyvbe fel kell jegyezni. A jegyzőkönyvben szerepelnie kell a pontosan bemért tömegeknek is, hiszen a számolásokhoz ezeket az adatokat szükséges felhasználni.

A kész oldatokat alaposan homogenizáljuk és a mérés megkezdéséig tartjuk azokat lezárt állapotban, a mérőlombikban.

Ne felejtsük el, hogy a mintának a pontos koncentráció ismeretéhez maradéktalanul oldódnia kell az oldószerben. Ezen felül minden úszó, lebegő szennyeződés, szemcse zavarja a pontos mérést. Amennyiben nehézségbe ütköztünk a minta feloldása során, az oldódást elősegíthetjük ultrahangos fürdő alkalmazásával.

Mérés a készüléken:

A számítógépen megnyitva a mérőprogramot [Spectra Manager], kiválaszthatjuk a Jasco V-750 spektrofotométert.

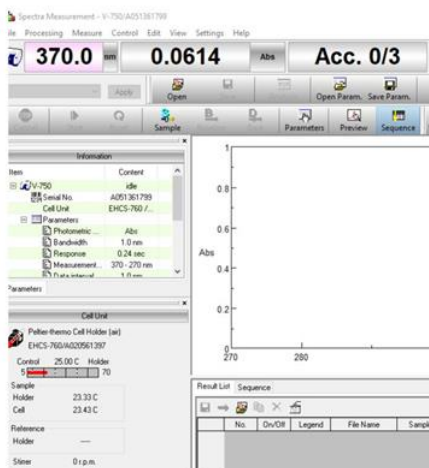


12. ábra: A Spectra Manager ablak

Jól látható, hogy a számítógép több készülék vezérléséért felel. Kulcsfontosságú, hogy a megfelelő készülékhez tartozó mérőprogramot nyissuk meg.

A mérési paraméterek beállítása előtt már rendelkezni kell a teljes mérendő mintasorral. A konkrét gyakorlati feladatot/feladatokat a gyakorlat elején a gyakorlatvezető jelöli ki. A mérés megkezdése előtt a készüléknek legalább 30 perce bekapcsolt állapotban kell lennie, hogy a fényforrások elérjék az optimális üzemi teljesítményüket. A műszerben wolfram lámpa felelős a látható, míg deutérium lámpa az UV-fény biztosításáért. Ezen lámpák 1000 óra üzemidőre lettek tervezve. Azt követően azokat szakember cseréli újra.

Megnyitva a mérőprogramot a kezdőképernyőn az előző mérés beállításai láthatóak. Ezek módosításával lehet aktualizálni a mérési paramétereket. A műszer termosztátja is ebből a programból vezérelhető.



13. ábra: Jasco V-750 spektrofotométer kezdőképernyő

A paraméterek gombra kattintva megjelenik a paramétertábla. Itt a gyakorlatvezető által megszabott paraméterek beállítására nyílik lehetőség.



14. ábra: Paraméter tábla

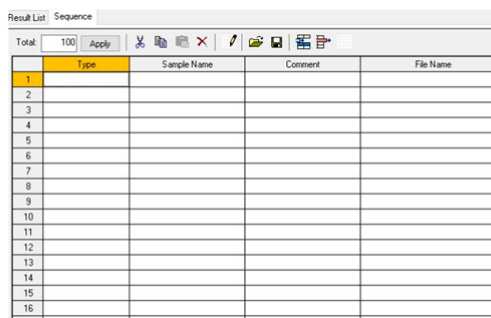
Ne feledkezzünk meg a termosztát beállításáról sem. A termosztátot célszerű automata módban használni. Beállítani, a kívánt hőmérsékletet, illetve azt az időtartamot, amennyit várakozzon a készülék, miután a mintatér elérte a kívánt hőmérsékletet. Az idő eltelte után a készülék automatikusan elindítja a mérést a megadott paraméterek szerint. Fontos odafigyelni arra, hogy ekkor már ne nyissuk ki a küvetta ajtaját.



15. ábra: A lég-termosztát beállításai

Fontos figyelembe venni azt, hogy a küvetta és a benne lévő oldatnak a termosztálása időt vesz igénybe. Ez magas külső hőmérséklet esetén mintánként akár 3-4 perc is lehet. Ezt a teljes mintasor mérési idejénél figyelembe kell venni. Szükség esetén a termosztálás mérés közben kihagyható, de a mérésben ez pontatlanságot okozhat.

Ezt követően az azonos mérési paraméterekkel mérendő mintákat be kell vezetni az alábbi szekvencia-táblába.



	Type	Sample Name	Comment	File Name
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				

16. ábra: Szekvencia tábla

A tábla első sorába mindig a háttér kerüljön. Ekkor a tiszta oldószerrel töltött kűvetta a termosztált mintahelyre kerül, a referencia ág [hátulsó kűvettatartó a 6. ábrán] pedig üresen marad. A háttér lemérése után a tiszta oldószerrel tartalmazó kűvetta kerül a hátulsó helyre, a mintával töltött mérőcella pedig a termosztált mintatartóba.

Itt megadható a minta neve, egyéb a mintát jellemző paraméterek (koncentráció, oldószer) és az is, hogy az adatokat hová mentse a készülék. Ez utóbbi nagyon fontos lesz az adatok kiértékelésekor. Az adatmentés helyét a gyakorlatvezető adja meg.

Nagyon fontos, hogy megírt és véglegesített mintatáblába utólag nem lehet mintát beszúrni, sem törölni, vagy paramétert módosítani. Így a mintatábla véglegesítése előtt annak helyességéről feltétlenül meg kell győződni.

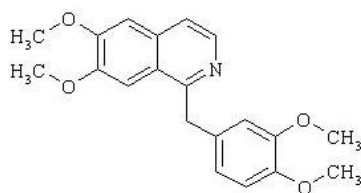
A lemért minták spektrumainak kiértékelésére a 12. ábrán látható analízis szoftvert használjuk.

A gyakorlaton lehetőség van a feldolgozott és kiértékelt spektrumok kinyomtatására. Így azoknak az otthoni értelmezése könnyebb.

Elvégzendő feladatok:

Gy-1: Ismeretlen koncentrációjú papaverin-hidroklorid sóoldat koncentrációjának a meghatározása

A papaverin ismert simaizom görcsoldó szerek hatóanyaga.



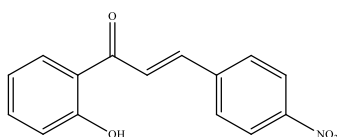
17. ábra: A papaverin szerkezeti képlete

5,00 g papaverin sósavas sót oldjunk fel 100 mL 0,01M-os sósav oldatban. Az oldatot alaposan homogenizáljuk. Ez jelenti a törzsoldatot. 10 mL-es mérőlombikba készítsünk belőle 2x-es, 5x-ös, 8x-os hígítást. A törzsoldatból a kimérést automata pipettával végezzük el, és figyeljünk a pontos jelre állításra.

Hígabb oldatoktól a töményebbek felé haladva vegyük fel az oldatok spektrumait, beleértve a törzsoldatot is. Utoljára az ismeretlen mérjük le. A 14. ábra tartalmazza a mérés pontos beállításait. A kalibráló oldatsorozat tagjainak abszorbanciáit ábrázoljuk a koncentráció függvényében. A kalibráló egyenes meredeksége a BLB törvényben az ϵ értékét adja meg. Az ismeretlen oldat koncentrációja így kiszámolhatóvá válik.

Gy-2: Ismeretlen koncentrációjú 2'-hidroxi-4-nitrokalkon oldat koncentrációjának a meghatározása

A kalkonok fontos természetes szerves vegyületek. Híg oldatukban is általában élénk sárga színűek.



18. ábra: 2'-hidroxi-4-nitrokalkon szerkezeti képlete

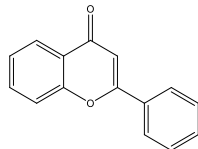
1,50 g 2'-hidroxi-5-nitrokalkont oldjunk fel 100 mL metanolban. Az oldatot alaposan homogenizáljuk. Ez jelenti a törzsoldatot. 10 mL-es mérőlombikba készítsünk belőle 2x-es, 5x-ös, 8x-os hígítást. A törzsoldatból a kimérést automata pipettával végezzük el, és figyeljünk a pontos jelre állításra.

Hígabb oldatoktól a töményebbek felé haladva vegyük fel az oldatok spektrumait, beleértve a törzsoldatot is. Utoljára az ismeretlen mérjük le. A mérés hullámhossztartománya 260-320 nm legyen. A kalibráló oldatsorozat tagjainak abszorbanciáit ábrázoljuk a koncentráció

függvényében. A kalibráló egyenes meredeksége a BLB törvényben az ϵ értékét adja meg. Az ismeretlen oldat koncentrációja így kiszámolhatóvá válik.

Gy-3: Ismeretlen koncentrációjú flavon oldat koncentrációjának a meghatározása

A flavonoidok fontos természetes vegyületek. Ismert vírus és gombaellenes hatással rendelkeznek.



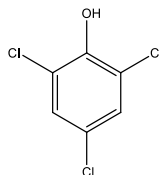
19. ábra: A flavon szerkezeti képlete

4,00 g flavont oldjunk fel 100 mL metanolban. Az oldatot alaposan homogenizáljuk. Ez jelenti a törzsoldatot. 10 mL-es mérőlombikba készítsünk belőle 2x-es, 5x-ös, 8x-os hígítást. A törzsoldatból a kimérést automata pipettával végezzük el, és figyeljünk a pontos jelre állításra.

Hígabb oldatoktól a töményebbek felé haladva vegyük fel az oldatok spektrumait, beleértve a törzsoldatot is. Utoljára az ismeretlent mérjük le. A mérés hullámhossztartománya 280-310 nm legyen. A kalibráló oldatsorozat tagjainak abszorbanciáit ábrázoljuk a koncentráció függvényében. A kalibráló egyenes meredeksége a BLB törvényben az ϵ értékét adja meg. Az ismeretlen oldat koncentrációja így kiszámolhatóvá válik.

Gy-4: A 2,4,6-triklórfenol pH függő UV-VIS spektrumának felvétele és a pH függés értelmezése

A 2,4,6-triklórfenol gyenge sav, $pK_a = 6,0$.



20. ábra: A 2,4,6-triklórfenol szerkezeti képlete

A 2,4,6-triklórfenolból készítsünk 1 mg/mL koncentrációjú törzsoldatot összesen 50 mL-t. Oldószerként víz:etanol = 9:1 – et használjunk. A törzsoldatból készítsünk 2x-es, 5x-ös, 10x-es, 20x-os hígításokat egyenként 10 mL-t. Vegyük fel az oldatok spektrumait 200-350 nm közötti tartományban.

Készítsünk 1mg/mL koncentrációjú 50 mL törzsoldatot 10% EtOH-t tartalmazó sósavoldattal. Készítsünk belőle 2x-es, 5x-ös, 10x-es, 20x-os hígításokat egyenként 10 mL-t. Vegyük fel az oldatok spektrumait 200-350 nm közötti tartományban.

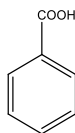
Készítsünk 1mg/mL koncentrációjú 50 mL törzsoldatot 10% EtOH-t tartalmazó 10%-os nátrium-hidroxid oldattal. Készítsünk belőle 2x-es, 5x-ös, 10x-es, 20x-os hígításokat egyenként 10 mL-t. Vegyük fel az oldatok spektrumait 200-350 nm közötti tartományban.

Hasonlítsuk össze az egyes mérési sorozatok megfelelő tagjait, és értelmezzük a spektrumokban mutatkozó eltéréseket.

A gyakorlatvezető bármelyik mérési sorozatban adhat ki ismeretlent. A megfelelő adatsor felhasználásával határozza meg az adott ismeretlen koncentrációjú 2,4,6-klórfenol oldat koncentrációját.

Gy-5: A benzoésav pH függő UV-VIS spektrumának felvétele és a pH függés értelmezése

A benzoésav nátrium sója, a nátrium-benzoát a háztartásokban is gyakran fellelhető tartósítószer.



21. ábra: A benzoésav szerkezeti képlete

A benzoésavból készítsünk 0,2 mg/mL koncentrációjú törzsoldatot összesen 50 mL-t. Oldószerként vizet használjunk. A törzsoldatból készítsünk 2x-es, 5x-ös, 10x-es, 20x-os hígításokat egyenként 10 mL-t. Vegyük fel az oldatok spektrumait 200-300 nm közötti tartományban.

Készítsünk 0,2 mg/mL koncentrációjú 50 mL törzsoldatot 10%-os NaOH oldattal. Készítsünk belőle 2x-es, 5x-ös, 10x-es, 20x-os hígításokat egyenként 10 mL-t. Vegyük fel az oldatok spektrumait 200-300 nm közötti tartományban.

Hasonlítsuk össze az egyes mérési sorozatok megfelelő tagjait, és értelmezzük a spektrumokban mutatkozó eltéréseket.

A gyakorlatvezető bármelyik mérési sorozatban adhat ki ismeretlent. A megfelelő adatsor felhasználásával határozza meg az adott ismeretlen koncentrációjú 2,4,6-klórfehol oldat koncentrációját.

3. Jegyzőkönyv

A gyakorlati munkáról minden hallgató köteles jegyzőkönyvet vezetni, és azt a gyakorlatvezetővel egyeztetett időpontban leadni. A jegyzőkönyvnek tartalmaznia kell 1-1,5 oldal elméleti bevezetőt, amiben a hallgató ismerteti a módszer elvi alapjait, alkalmazhatósági területét. Ezt mindenkinek szabatosan, saját szavaival megfogalmazva kell összeállítania. Természetesen internetes és egyéb források használhatóak, de azok szó szerinti átemelése az elméleti bevezetőbe elfogadhatatlan. A felhasznált forrásokat az elméleti bevezető végén egyértelműen, visszakereshetően meg kell adni.

Meg kell fogalmazni a gyakorlati feladatot, ismertetni kell a feladat elvégzéséhez szükséges eszközök listáját.

Szerepeltetni kell egyértelműen, átlátható formában a bemért minta tömegeket, a készített oldatok térfogatát. Ezek ismeretében az egyes minták koncentrációját.

Ismertetni kell a mérés menetét, egyértelműen szerepeltetni a mért adatokat. Figyeljünk rá, hogy megfelelő számú értékes jeggyel adjuk meg a mérések eredményét. Amennyiben lehetőségünk van, törekedjünk az adatok táblázatos formában történő rendszerezésére.

Az eredményekhez vezető számolásokat pontosan, részletesen levezetve szükséges megadni.

A jegyzőkönyv diszkusszióval zárul, amiben összefoglalja a tapasztalatait, mérési eredményeit, értékeli és értelmezi azokat.

4. Gyakorlati jegy

A gyakorlatra minden hallgató gyakorlati jegyet kap. Ezen jegybe beleszámít a gyakorlat előtti zh/referálás, a gyakorlati munka és a jegyzőkönyv vezetés.

5. Referálási/zh témakörök

♠ A fény és az anyag kölcsönhatása

♠ Az elektromágneses színeképtartomány

- ♠ Plank törvénye
- ♠ Az UV-VIS fotometria alapjai
- ♠ Az UV-VIS fotometria alapegyenlete
- ♠ Az oldószerekkel szemben támasztott követelmények
- ♠ Alapfogalmak (kromofor, auxokróóm, elektron energia)
- ♠ Az elektronátmenetek típusai és azok jellemzése
- ♠ Kétsugaras fotométer részei, alkalmazásának előnyei
- ♠ Koncentráció számítás

6. Ajánlott irodalom

- Antus Sándor Mátyus Péter : Szerves kémia I.
- https://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_519_42574_1/ch01s08.html
- Dinya Zoltán : Elektronspektroszkópia
- Tóth László : Spektroszkópiái módszerek kurzus ábraanyaga

A gyakorlaton bemutatott és használt JASCO V-750 UV-VIS spektrofotométer a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával került beszerzésre.