

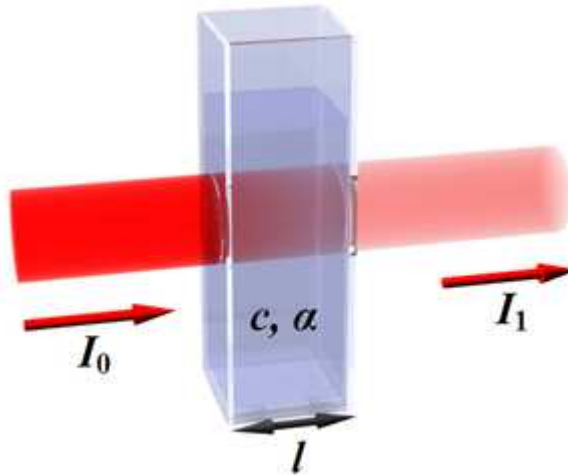
1. Szerves anyagok oldatbeli abszorpciós színekének meghatározása

1. Elméleti háttér

Az elnyelés mértékének jellemzésére használható fizikai mennyiség a **transzmittancia**:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{ill. százalékban:} \quad T = 100 \cdot \frac{I}{I_0} \quad (1-1)$$

ahol I_0 a mintára beeső fény intenzitása, I a mintán átmenő fény intenzitása. Ezzel a paraméterrel egykomponensű, többnyire szilárd mintákat (pl. fényszűrőket) jellemeznek.



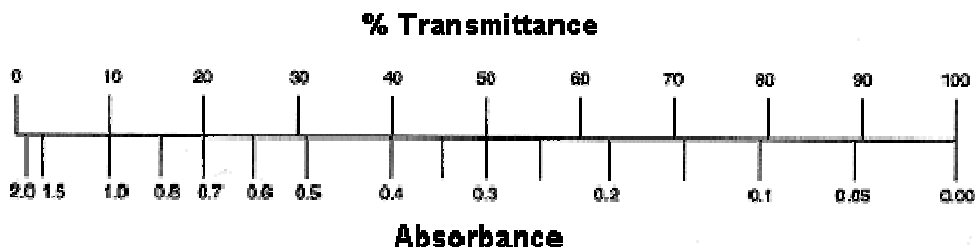
1.1. A fényabszorpciót bemutató rajz

Használatos jellemző még az **abszorbancia**:

$$A = \lg \frac{I_0}{I} \quad (1-2)$$

Az abszorbancia – szemben a transzmittanciával – additív mennyiség. Ez a tulajdonság pl. több komponenst tartalmazó folyékony mintáknál előnyösen kihasználható. Fentiekből következik, hogy az abszorbancia és a százalékos transzmisszió közötti kapcsolat a következő:

$$T = 10^{2-A} \quad (1-3)$$



1.2. Az abszorbancia és a a transzmittancia értékek közötti kapcsolat

Híg oldatok esetén az abszorbancia nagysága és a koncentráció között lineáris a kapcsolat. A Lambert-Beer törvény a következő:

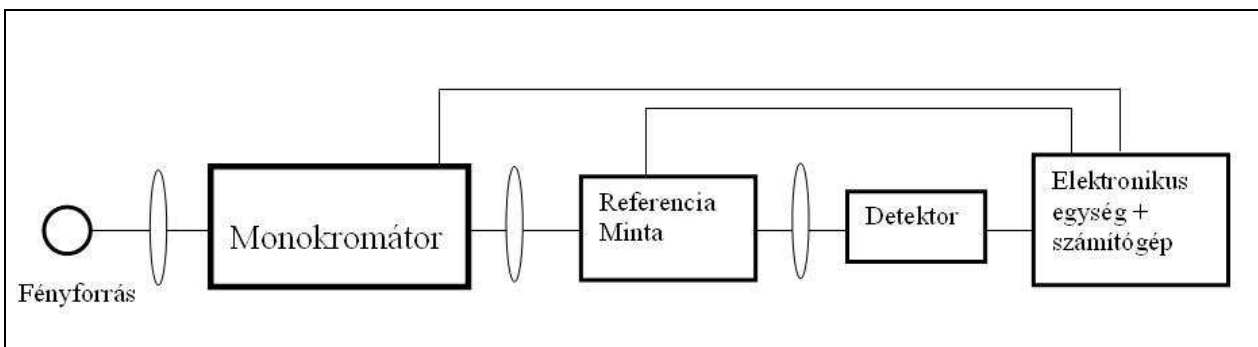
$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot x \quad (1-4)$$

ahol $A(\lambda)$ a minta abszorpciója az adott hullámhosszon, c a minta koncentrációja, x az abszorpciós úthossz, $\varepsilon(\lambda)$ az anyagi minőségre jellemző, a vizsgált anyag **moláris dekadikus abszorpciós (extinkciós) koefficiense** az adott hullámhosszon. Az összefüggés alapján az abszorbanca mérésével lehetőség van koncentráció meghatározásra.

2. Mérőberendezés

Fotométer felépítése, működése.

A 1.1. ábra az egyutas fotométer elvi felépítését mutatja. A fényforrás fényéből a monokromátor választja ki az adott hullámhosszúságú fényt, ami ezután a mintára illetve a referenciára esik. Az átmenő fény intenzitását detektor méri, aminek a jele számítógépre kerül. A spektrum felvételére is alkalmas fotométerben a monokromátor léptetését a számítógép vezérli.



1.3. ábra. Egyutas fotométer elvi felépítése

Oldat esetében az oldószerben oldott anyag elnyelésére vagyunk kíváncsiak. Az additivitás miatt az oldott anyag abszorpciója az oldat és az oldott anyag abszorpciójának különbsége:

$$A = A_{\text{össz}} - A_{\text{ref}} \quad (1-5)$$

A definíció miatt: $A_{\text{össz}} = \lg \frac{I_0}{I_m}$ és $A_{\text{ref}} = \lg \frac{I_0}{I_r}$, ahol I_m és I_r a mintán, ill. a referencián átmenő fény intenzitása. Ezeket (1-5)-be behelyettesítve és a logaritmus azonosságát kihasználva kapjuk:

$$A = A_{\text{össz}} - A_{\text{ref}} = \lg \frac{I_0}{I_m} - \lg \frac{I_0}{I_r} = \lg \frac{I_r}{I_m} \quad (1-6)$$

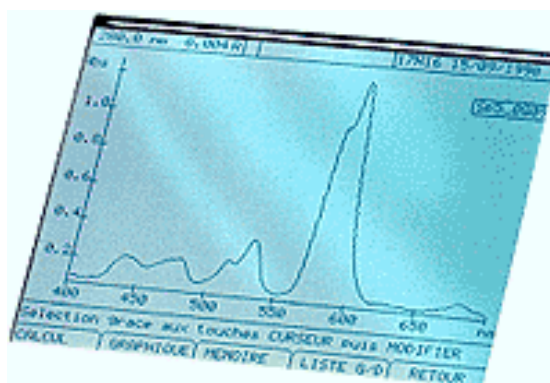
Ez azt jelenti, hogy nem kell ismernünk a mintára beeső fény intenzitását, elég megmérnünk a referencián és a mintán átmenő fény intenzitását.

A gyakorlat során használt mérőberendezés:

SECOMAM Anthelie Advanced 2; UV-VIS Spectrophotometer



1.4. ábra. A SECOMAM Anthelie Advanced 2; UV-VIS Spectrophotometer képe



1.5. ábra. Mért abszorpciós színek a kijelzőn

1.1. Táblázat. Az Anthelie Advanced 2 UV-VIS Spectrophotometer műszaki adatai

Anthelie Advanced 2	Az UV VIS spektrofotométer adatai
Monokromátor típusa	Jobin Yvon Monokromátor
Küvetta tartó hossza	10 - 100 mm
Monokromátor	Littrow rendszerű holografikus rács 1200 karcolat/mm
Optikai sávszélesség	4 nm
Spektrális tartomány	190-1000nm; 325-1000nm látható tartományban
Hullámhossz beállítás	Jobb mint ± 1 nm
Hullámhossz beállítás reprodukálása	0.1 nm
Önellenőrzés, kalibráció	Automatikus bekapcsolás után
Szórt fény	Kevesebb, mint 0.01% 220 nm-nél és 340 nm-nél
Saját képernyős kijelző	LCD kijelző 8 színek szimultán megjelenítésére
LCD kijelző	Nagy felbontású
Nullázás	Automatikus a Press gomb megnyomása után

Fotométer tartománya	Abszorpció: -0.3-3 A, Transzmisszió: 0-200% Kijelzés: 0-9999
Fotométer pontossága	Abszorpció: ± 0.005 A, Transzmisszió: 1 %
Fotométer zaja	Abszorpció esetében kisebb, mint ± 0.0002 (500nm)
Színkép felvétel sebessége	20, 500, 1200, 2400 nm/min
Stabilitás	Abszorpció esetében jobb, mint 0.001A/óránként állandó hőmérséklet esetén
Több hullámhosszú elemzés	2 és 3 hullámhossz szimultán
Görbe illesztés, kiértékelés	Egyenes, négyzetes vagy köbös; és még 30 standard
Cella és hullámhossz programozás	8 cella és 10 hullámhossz kombinációja
Módszer tárolása	30 program tárolható
Abszorpciós hányados képzés	Bármely két hullámhossz esetében
Csúcstartás	Automatikus kereső program, alapvonal korrekció
Reakció kinetika	Kiértékelési lehetőség
Mintaadagoló	100 minta adagolására alkalmas
Számítógép/nyomtató interface	Két irányú soros RS2-32 és paralell portok
Minta hőmérséklet	Hőmérsékletszabályozás, automatikus cella cserélő
Méret	480 x 340 x 205 mm
Súly	16.8 kg látható; 18.6 kg UV; + 0.9 kg printerrel
Elektromos teljesítmény szükséglet	110-250 V, 50/60Hz, 170W/120W UV/Visible versions

3. A SECOMAM Anthelie Advanced típusú egyutas fotométer kezelése

Bekapcsolás

Először a fotométert kell bekapcsolni, utána a számítógépet. A számítógép után indítsa el a LabPower Junior v3.20 programot, ami a fotométeren történő mérést vezérli. A képernyő alján „Initializing” felirat jelzi, hogy az első elindítás után megtörténnek a beállítások, kalibrálások, ez eltarthat néhány percig. A művelet befejezését a képernyő alján „Ready” felirat jelzi.

Mérés

A mérés megkezdéséhez ki kell választani a mérőmódszert: a felső menü sorban a „Methods”-ből „New Method” → „Wavelength Scan”.

A mérés paramétereinek beállításához: képernyő alján balra „Acquisition Parameters”, Edit →.

A felnyíló új ablakban több paramétert is be lehet állítani. Leggyakrabban az alábbi kettőnek a beállítására van szükség:

- a mérni kívánt hullámhossz tartomány → 200-800 nm
- a monokromátor mozgásának sebessége (scan speed, nm/min) → 2400

A paraméterek beállítása után el kell indítani a „Baseline” felvételét. A referencia lehet a levegő, vagy az oldószer. A mérés során legközelebb akkor kell újra felvenni a „Baseline”-t, ha a mérést más paraméterekkel akarja folytatni (hullámhossz tartomány változtatása, scan speed változtatása).

A képernyő alján jobbra megjelenő „Ready” felirat jelzi, hogy megkezdheti a minta mérését. Helyezze a fényútba a mérendő szűrőt, és az „Execute” menüpontban válassza a „Measure”-t. A „Scan in progress” felirat jelzi a mérés megkezdését. A mérés befejeződésekor a felnyíló ablakban grafikusán megjelenik az abszorpciós görbe.

A bal felső sarokban a függőleges skálát A (abszorpció) és T (transzmisszió) között kapcsolhatja.

A „View” menüpontban ezenkívül választhat táblázatos megjelenítést is („Table”).

A megmért adatok tárolása és konvertálása.

„File” → „Save As” után kell kiválasztani a könyvtárat (C:WindowsXP\Work\PTE\BiolLaborHallgatok), és a fájlnévet. A program az adatokat *scn* kiterjesztésű fájlban tárolja, ezt a formátumot azonban csak ez a program tudja kezelni. Szükséges tehát az adatok konvertálása (File → Export). Itt választhat az ASCII (ezt a text formában való tárolást szinte minden program tudja kezelni) és közvetlenül az Excel formátuma között. A fájlnévet itt már nem tudja megválasztani, csak a cél könyvtárat (ezt tegye is meg!) A különböző formátumú fájlok neve csak a kiterjesztésben fog különbözni.

Újabb mérés indítása előtt célszerű

- az adatokat eltárolni, konvertálni
- a mért grafikont mutató ablakot be kell csukni!

Következő minta behelyezése után: „Execute” → „Measure”.

Az exportált adatsorról: Bár a képernyőn lehet választani a megjelenítéskor az abszorpciós és a százalékos transzmissziós skála között, a tárolt adatsor minden esetben csak az abszorbancia értékeket tartalmazza az adott hullámhosszakhoz. Transzmisszió ábrázolásához ki kell számolnia az abszorbanciából (A) a százalékos transzmissziót (T) a (1-3) alapján.

A mérés menete

A mérés során szűrők transzmissziójának meghatározása a feladat. A vizsgálandó hullámhossz tartomány a 200-800 nm közötti. Mérje meg a kiadott szürke és színes szűrők, interferenciás szűrő, alul- ill. felülateresztő szűrő áteresztő (transzmissziós) képességét! Vizsgálja meg továbbá, hogy milyen hullámhosszú fényt milyen mértékben enged át az egyszerű üveg! Hozza el az órára napszemüvegét, és mérje meg, hogy milyen mértékben nyeli el az UV sugarakat!

4. Minta (vizsgálandó oldat) előkészítés

- fizikai előkészítés (a gyakorlatok előtt külön foglalkozáson)
- kémiai előkészítés (a gyakorlatok előtt külön foglalkozáson)

Vizsgált anyagok bemérések menete:

A bemérendő anyagok: Kinin szulfát, perilén, fluoreszcein, rodamin 6G. Ismerni kell ezek molekulaszervezetét, és ezzel a moláris tömegét.

Bemérendő koncentráció: $5 \cdot 10^{-5}$ M, 10^{-4} M;

Készüljön egy keverék minta is:

Törzsoldathoz a festékpórbemérése mérleggel történi „csónak”, vagy alufólia alkalmazásával
Hígítás: pipettával történi a törzsoldatból a „bemérés”, majd a lombikban felöntéssel áll elő a kívánt koncentráció

Szükséges anyagok, eszközök:

5 db 50 cm^3 -es mérőlombik

Pipetták,

Analitikai mérleg,

Festékek por alakban

Oldószer: etilalkohol,

5. Mérési feladatok

(Az adatforgalmat célszerű pendrive-on bonyolítani)

1. Helyezze üzembe a mérőberendezést! Kapcsolja be a fotométert! Kapcsolja be a számítógépet! Indítsa el a LabPowerJunior mérésvezérlő programot! A paraméterek beállítása után vegye fel a „Baseline”-t (200-800 nm)!
2. Mérje meg („vegye föl számítógéppel”) a kiadott oldatok abszorbancia színekét! Tárolja el a mért spektrumokat *scn* formátumban (adjon neki egyértelmű file nevet) és konvertálja a kívánt (ASCII vagy Excel) formátumba! Vegye át pendrive-ra!

6. Kiértékelés

1. Készítsen jegyzőkönyvet! A jegyzőkönyvben a következő adatok szerepeljenek: minta megnevezése, oldószere, koncentrációja, a küvetta rétegvastagsága, hőmérséklet, fájlnev! A jegyzőkönyvben a mért adatoknak csak a grafikonja kerüljön be! Nem kell csatolni a táblázatokat!
2. Számítsa ki a mérési adatokból az oldott anyag abszorpció koefficiensének, $a(\lambda)$, moláris dekadikus extinkció koefficiensének, $\epsilon(\lambda)$ és az abszorpció hatáskeresztmetszetének, $\sigma_a(\lambda)$ a hullámhossz függvényeit három nagyságrenden keresztül!
3. „Rajzolja meg számítógéppel” a kapott moláris dekadikus abszorpció koefficiens színeképeket hullámhossz skálán (egység: nm). Transzformálja (számolja át) a hullámhossz értékeket „energia skálára”. „Rajzolja meg a számítógéppel” a frekvencia (egység: THz); és az energia (egység: aJ) függvényében is a függvényeket!
4. Illesszen a színek hosszú hullámhosszú részére legalább két Gauss görbe összegét! Adja meg a maximum helyek és a sávok féltérték szélességének adatait!

7. Alkalmazási területek

8. Hivatkozások

1	Lambert–Beer-törvény http://hu.wikipedia.org/wiki/Lambert-Beer-törvény
2	Beer-Lambert Law Calculator http://www.changbioscience.com/calculator/BeerLambert.html
3	Műszeres analitikai kémiai laboratóriumi gyakorlatok (Galbács G.–Galbács Z.–Sipos P) http://www.sci.u-szeged.hu/inorg/fls.pdf