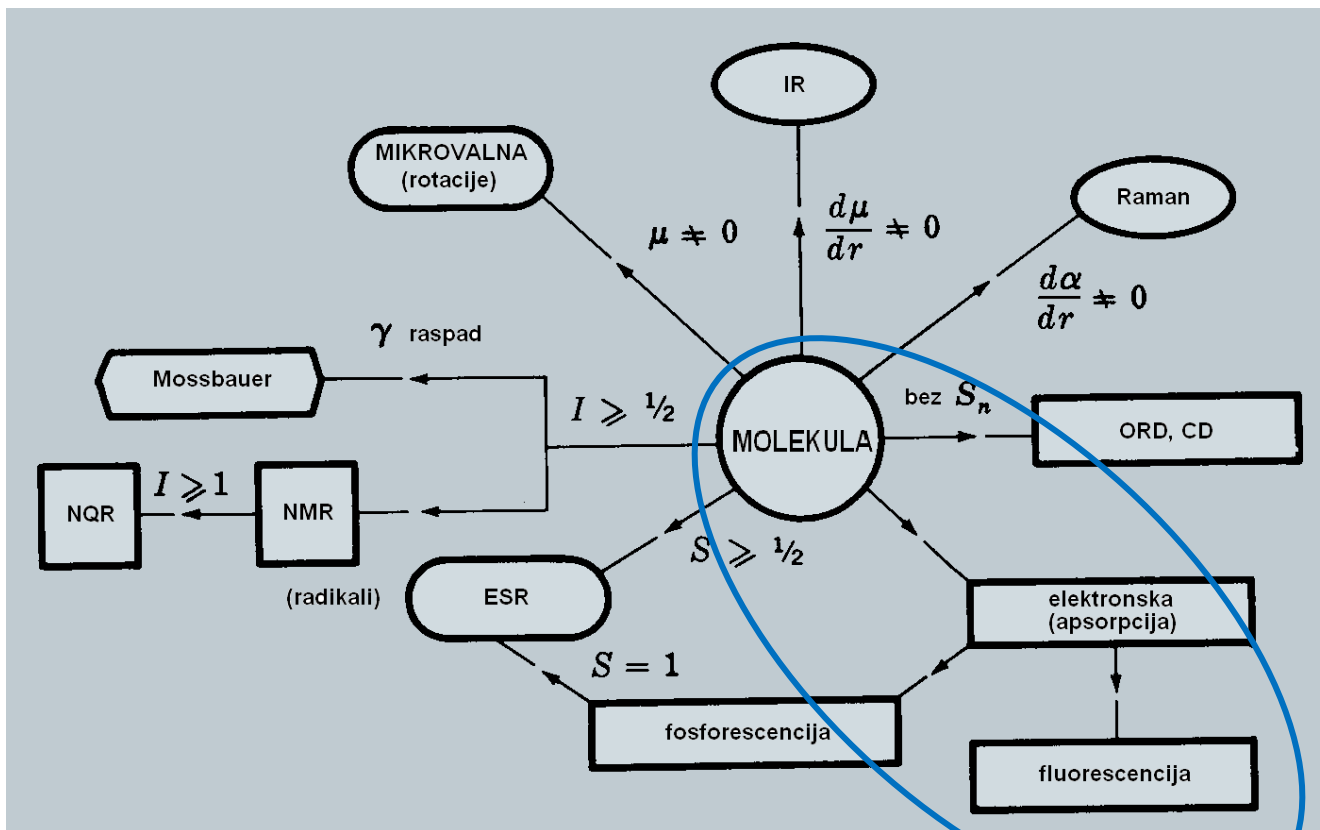


MOLEKULSKA SPEKTROSKOPIJA

- UV/VIS

SPEKTROSKOPSKE TEHNIKE I GLAVNE PRIMJENE

Tehnika	Temelj	Glavne primjene
emisijska plazma spektroskopija	atomska emisija nakon pobude u visokotemperaturnoj plinskoj plazmi	određivanje metala i nekih nemetala uglavnom na razini tragova
emisijska plamena spektroskopija	atomska emisija nakon pobude plamenom	određivanje alkalijskih i zemnoalkalijskih metala
atomska apsorpcijska spektroskopija	atomska apsorpcija nakon atomizacije plamenom ili elektrotermičkim putem	određivanje tragova metala i nekih nemetala
atomska fluorescencijska spektroskopija	atomska fluorescencijska emisija nakon pobude plamenom	određivanje žive i hidrida nemetala na razini tragova
rentgenska emisijska spektroskopija	atomska ili atomsko fluorescencijska emisija nakon pobude elektronima ili zračenjem	određivanje glavnih ili sporednih elementnih sastojaka metalurških ili geoloških uzoraka
γ -spektroskopija	emisija γ -zraka nakon nuklearne pobude	praćenje radioaktivnih elemenata u uzorcima iz okoliša
ultraljubičasta / vidljiva spektroskopija (UV/Vis)	elektronska molekulska apsorpcija u otopini	kvantitativno određivanje nezasićenih organskih spojeva



Oznake :

NMR – nuklearna magnetna rezonancija
 NQR – nuklearna kvadrupolna rezonancija

ESR – elektronska spinska rezonancija

ORD – optička rotorska disperzija

CD – cirkularni dikroizam

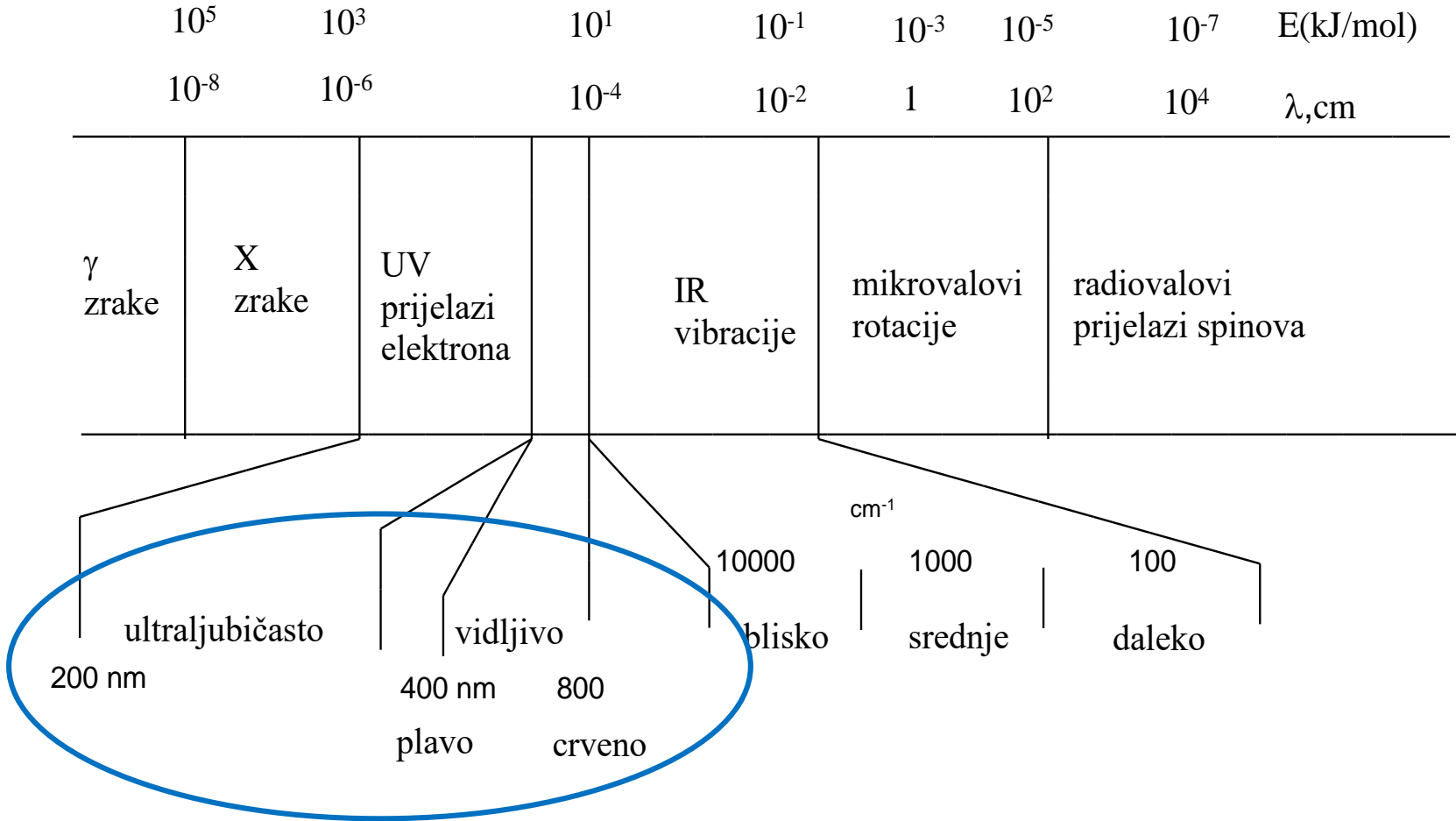
μ – električni dipolni moment

α – polarizabilnost

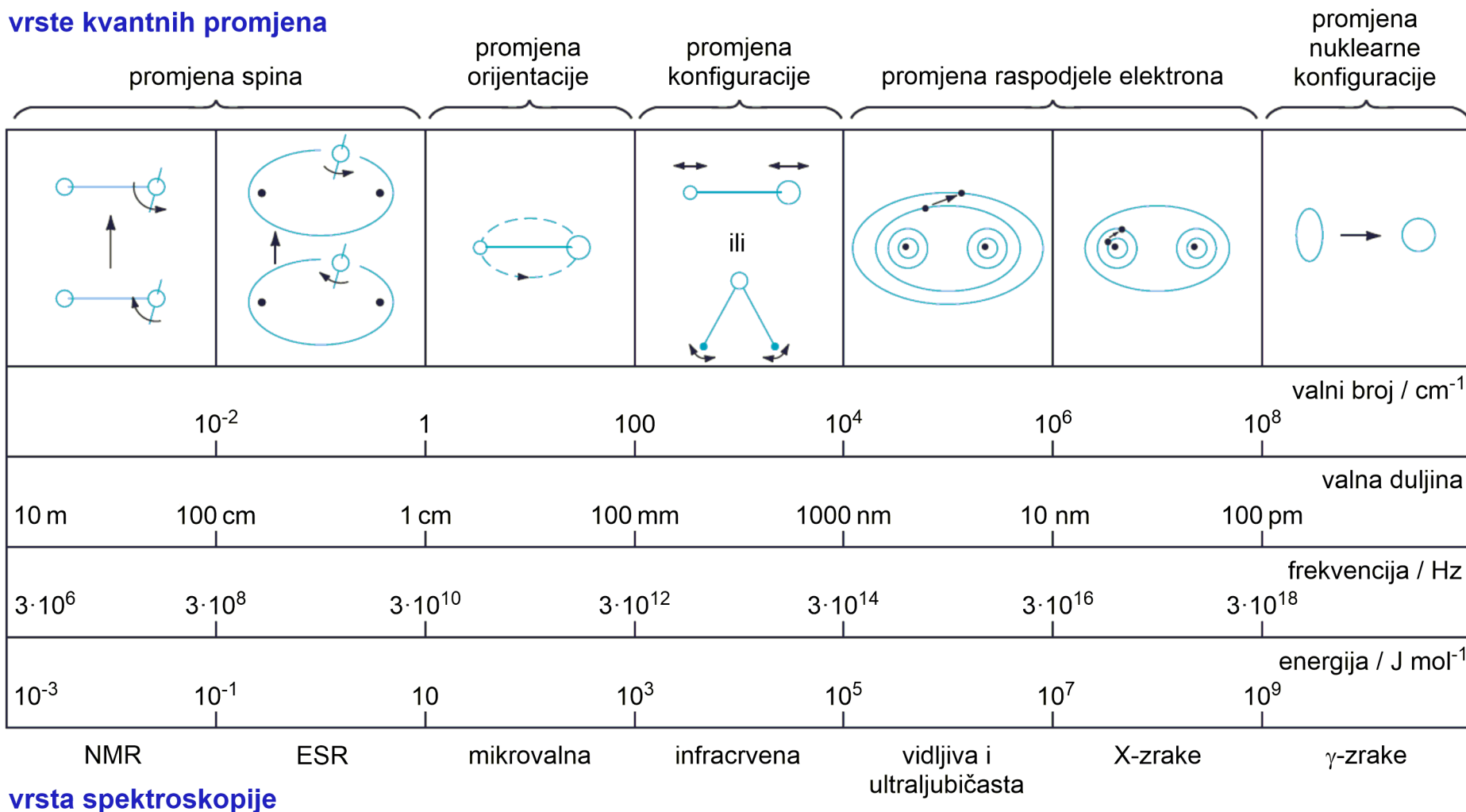
I – kvantni broj spina

S – elektronski kvantni broj

SPEKTAR ELEKTROMAGNETNOG ZRAČENJA

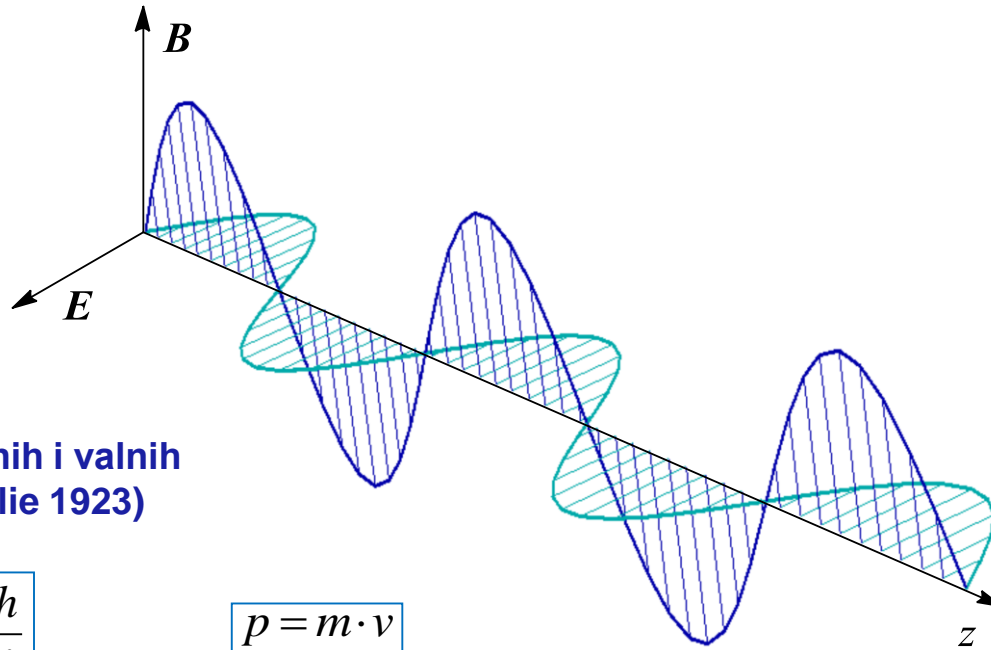


vrste kvantnih promjena



vrsta spektroskopije

ELEKTROMAGNETSKI VAL



Povezanost čestičnih i valnih svojstava (de Broglie 1923)

čestice

$$p = \frac{h}{\lambda}$$

$$p = m \cdot v$$

val

$$\lambda = \frac{h}{mv}$$

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda} = h \cdot c \cdot \tilde{\nu}$$

p - impuls / kg m s^{-1}

h - $6,626 \cdot 10^{-34} / \text{J s}$ **Planckova konstanta ili "kvant djelovanja"**

m - masa / kg

v - brzina / m s^{-1}

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda}$$

INTERAKCIJA ELEKTROMAGNETNOG ZRAČENJA I MATERIJE

APSORPCIJA

- elektronska spinska rezonancija (ESR)
- nuklearna magnetna rezonancija (NMR)
- mikrovalna spektroskopija (MR)
- infracrvena spektroskopija (IR)
- elektronska spektroskopija (UV/VIS)
- atomska spektroskopija (AA)
- Mössbauerova spektroskopija
- apsorpcija X-zraka

EMISIJA

- IR emisija
- luminescencija
(fluorescencija, fosforescencija)
- emisija X-zraka
- optička emisijska spektroskopija
- radioaktivno zračenje

RASPRŠENJE

- elastično
 - difrakcija X-zraka
- neelastično
 - Ramanova spektroskopija
 - refleksija
 - refraktometrija
 - polarizacija

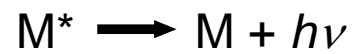
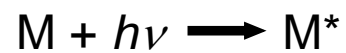
Karakteristike važnijih spektroskopskih metoda

	¹H-NMR	¹³C-NMR	MS	IR/RAMAN	UV-VIS	CD	X-RAY
Tip zračenja	rf	rf	nije bitno	IR	UV-vidljivo	UV-vidljivo	X zrake
Spektralna skala	0–15 ppm	0–220 ppm	50–4000 Da	400–4000 cm ⁻¹	200–800 nm	185–600 nm	nije bitno
Količina uzorka	1 mg	5 mg	< 1 mg	< 1 mg	< 1 mg	< 1 mg	kristal
Molekulska formula	djelomično	djelomično	da	ne	ne	ne	da
Funkcijske skupine	da	da	ograničeno	da	vrlo ograničeno	vrlo ograničeno	da
Podstrukture	da	da	da	ograničeno	ograničeno	ne	da
Ugljikov lanac	da	da	ne	ne	ne	ne	da
Regiokemija	da	da	ne	ograničeno	ne	ne	da
Stereokemija	da	da	ne	ograničeno	ne	ne	da
Analiza smjese izomera	da	da	da	da	ne	ne	ne
Čistoća	da	da	da	da	ograničeno	ograničeno	ograničeno
Što se mjeri	pomaci sprege relaksacija površina	pomaci sprege relaksacija	mono ili više nabijeni ioni	vibracijski prijelazi	elektronski prijelazi	eliptičnost	relativni položaji atoma
Jedinice	δ/ppm	δ/ppm	m/z	cm ⁻¹	nm	nm	–
Vremenska skala (s)	10 ⁻¹ –10 ⁻⁹	10 ⁻¹ –10 ⁻⁹		10 ⁻¹³	10 ⁻¹³ –10 ⁻¹⁴	10 ⁻¹³ –10 ⁻¹⁴	10 ⁻¹⁸

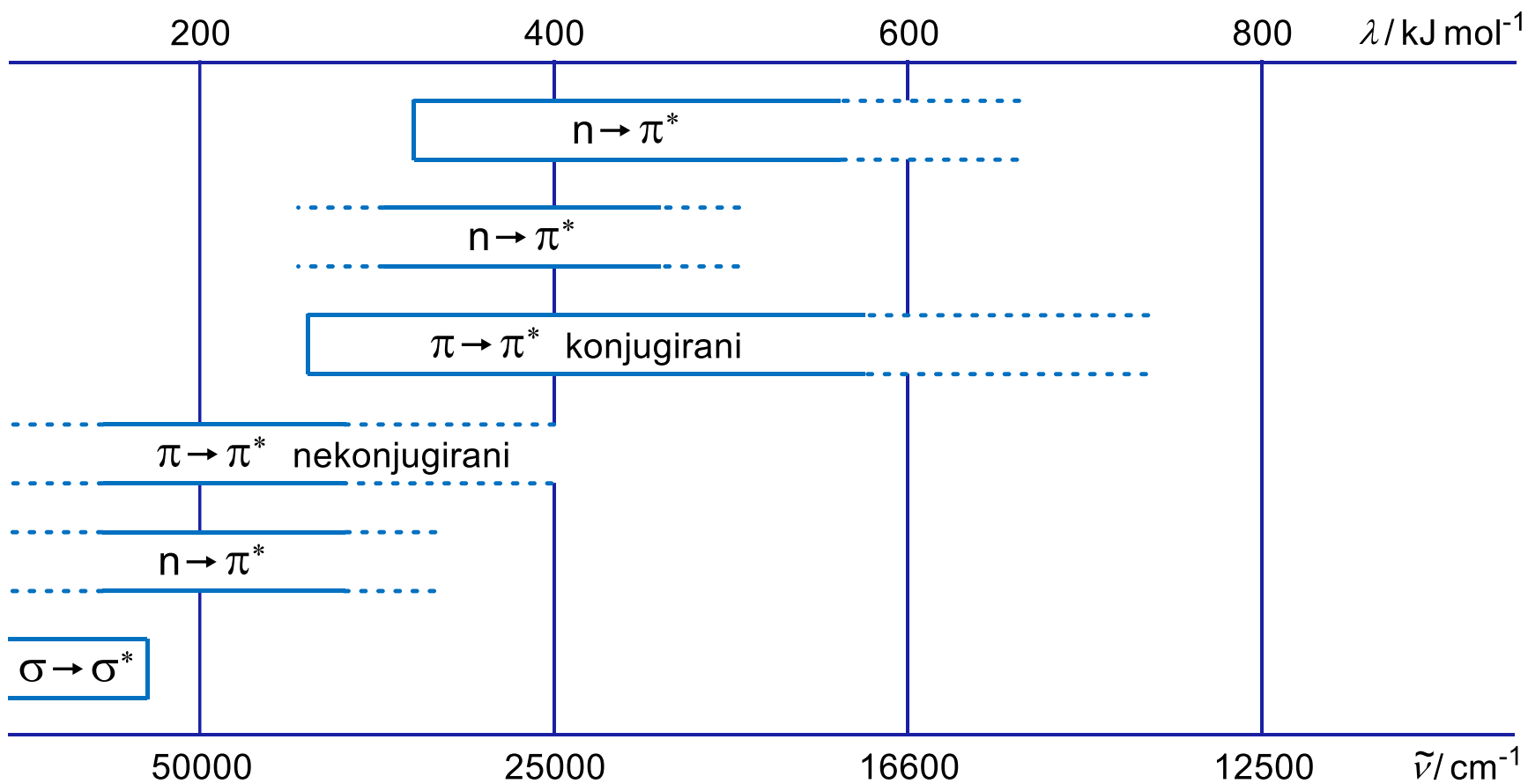
Vremenska ljestvica za neke analitičke tehnike

Tehnika	Vremenska ljestvica (s)
Elektronska difrakcija	10^{-20}
Neutronska difrakcija	10^{-18}
Difrakcija X-zraka	10^{-18}
UV spektroskopija	10^{-15}
Spektroskopija u vidljivom području	10^{-14}
IR i Ramanova spektroskopija	10^{-13}
EPR spektroskopija	$10^{-4} - 10^{-8}$
NMR spektroskopija	$10^{-1} - 10^{-9}$
NQR spektroskopija	$10^{-1} - 10^{-8}$
Eksp. odvajanje izomera	$>10^{-2}$

Apsorpcija UV/VIS zračenja



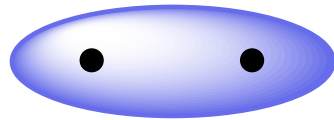
Područje apsorpcije UV/VIS zračenja za razne elektronske prijelaze



MOLEKULSKE ORBITALE

- LCAO – linearna kombinacija atomskih orbitala
- delokalizirane valne funkcije su **molekulske orbitale**
- elektroni zaposjedaju valne funkcije koje su razvučene preko cijele molekule

osnovno stanje

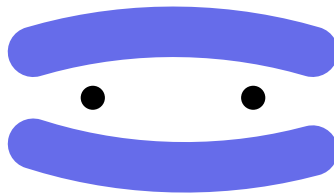


σ -orbitala

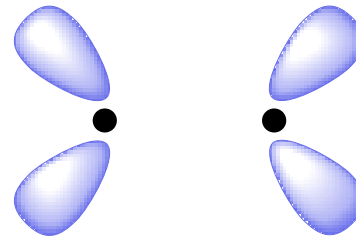
pobuđeno stanje



σ^* -orbitala



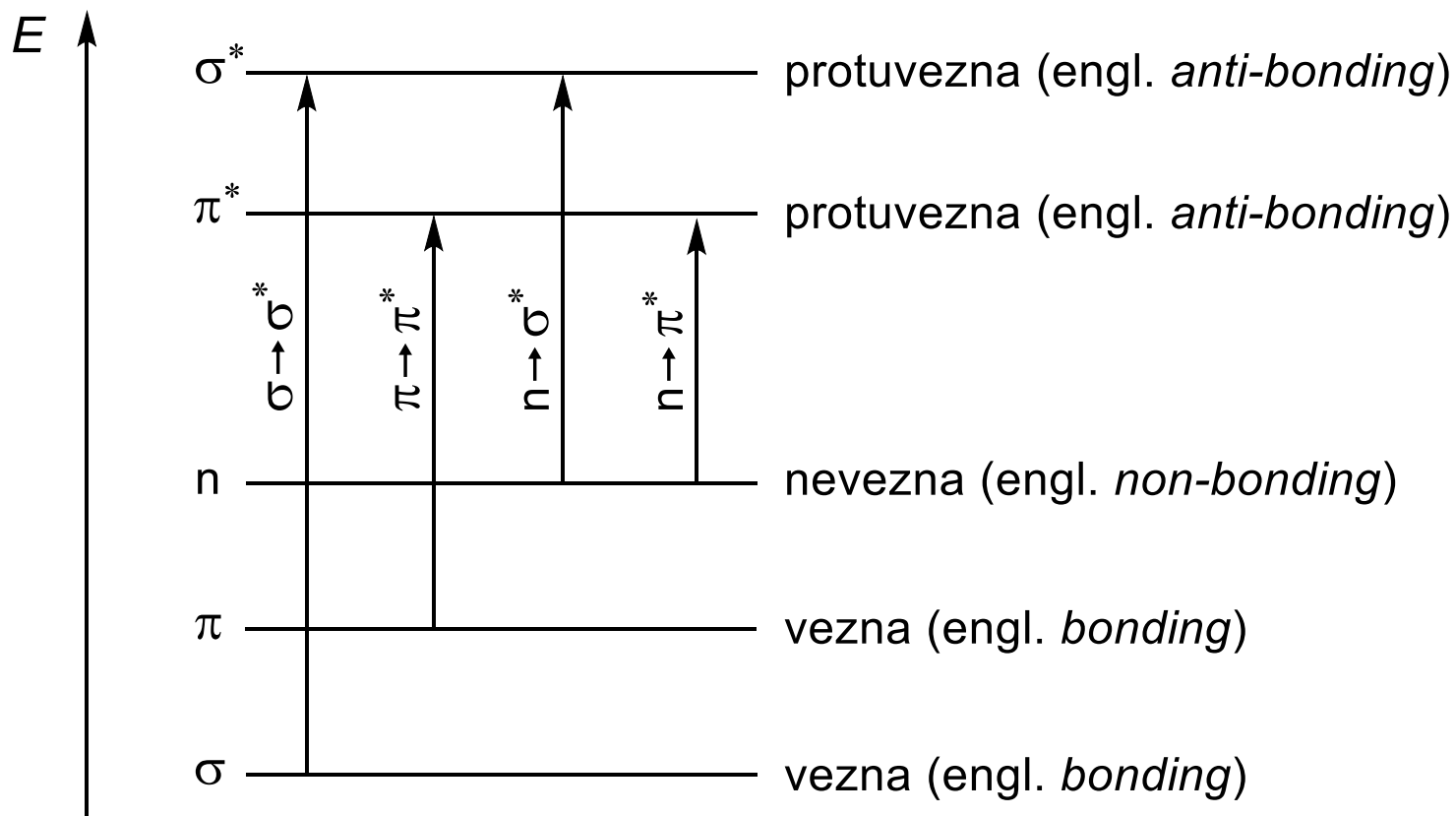
π -orbitala



π^* -orbitala

Elektronska raspodjela u molekulskim orbitalama σ i π

Elektronske energijske razine u molekuli



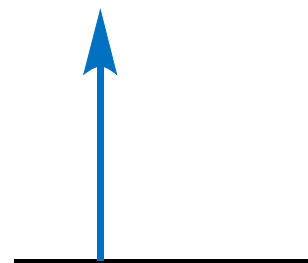
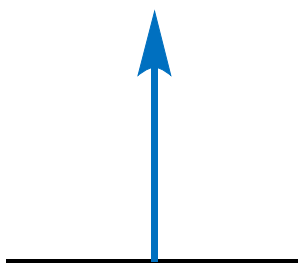
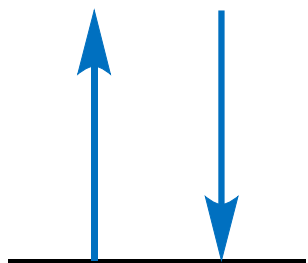
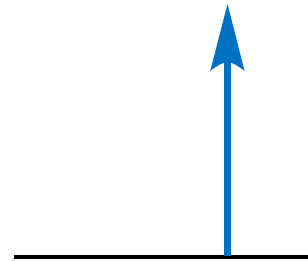
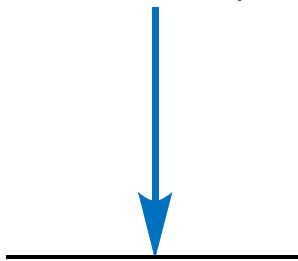
izborna pravila:
prijelazni moment $\neq 0$

MO prikaz

S_0

S_1

T_1



osnovno
singletno stanje

pobuđeno
singletno stanje

pobuđeno
tripletno stanje

spareni spinovi

nespareni spinovi

DEAKTIVACIJSKI PROCESI

Brzine apsorpcije i emisije

- apsorpcija: $10^{-14} - 10^{-15}$ s
- fluorescencija:
 - znatno sporija ($\approx 10^{-6}$ s)
 - obrnuti odnos između vremena trajanja pobuđenog stanja i molarne apsorptivnosti
- fosforescencija: $10^{-4} - 10$ s (prosječna brzina $T \rightarrow S < S \rightarrow S$)

Vibracijska relaksacija

- u otopini se višak vibracijske energije gubi uslijed sudara
- trajanje vibracijskih pobuđenih stanja $\leq 10^{-12}$ s
- zato do luminescencije najčešće dolazi iz najnižeg vibracijskog stanja

Unutarnja konverzija (pretvorba)

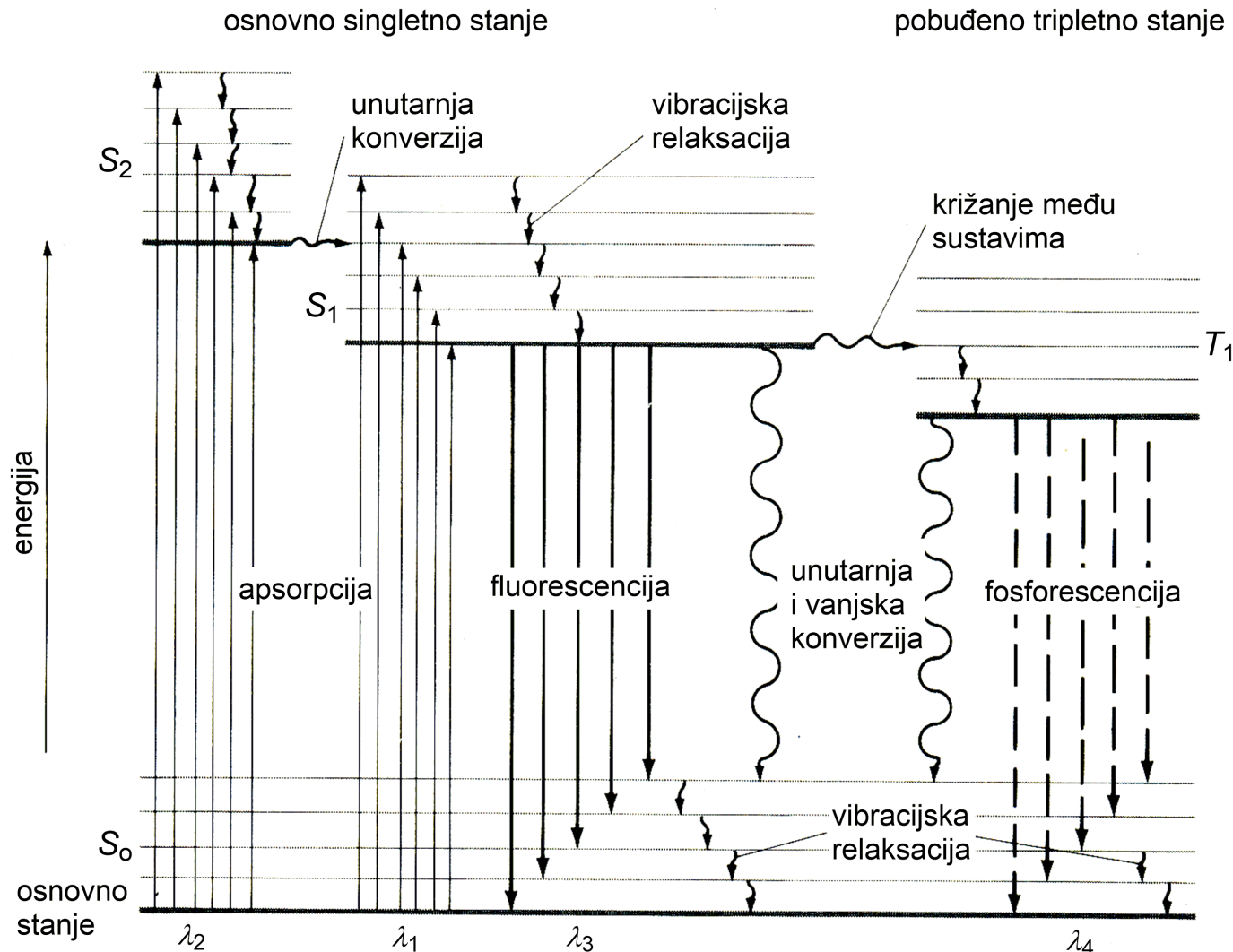
- prijelaz bez zračenja - nedovoljno poznat proces
- posebno djelotvoran ako su energije T_1 i S_1 blizu, pa se vibracijska stanja prekrivaju
- poseban oblik je predisocijacija (nije disocijacija)

Vanjska konverzija (pretvorba)

- uključuje izmjenu energije između analita i otopine

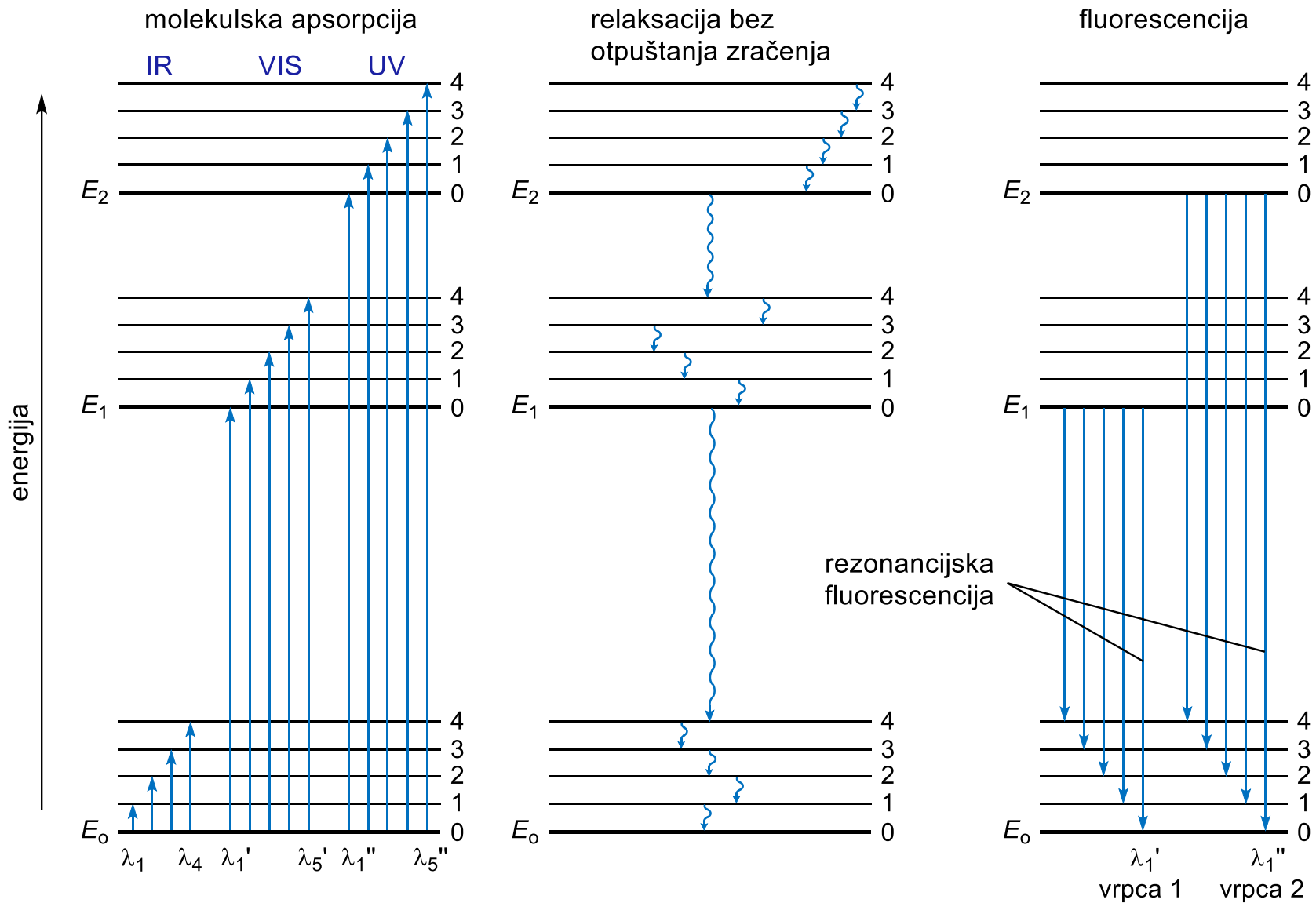
Križanje (prijelaz) među sustavima

- spin pobuđenog elektrona se reorijentira
- rezultat je promjena multipliciteta (S - jedno stanje, T - tri stanja)
- uzrok je prekrivanje vibracijskih stanja dvaju multiplleta (S i T)
- efekt teškog atoma (Br, I)
- paramagnetske primjese (npr. O_2) potiču ovaj proces



DIJAGRAM ENERGIJSKIH RAZINA FOTOLUMINESCENCIJSKOG SUSTAVA - DIJAGRAM JABLONSKOG

načelo: najveću prednost u povratku u osnovno stanje imaju procesi koji minimiziraju trajanje pobuđenog stanja



Dijagram energijskih razina koji prikazuje energetske promjene neke molekulske vrste pri apsorpciji, relaksaciji bez otpuštanja zračenja i fluorescenciji

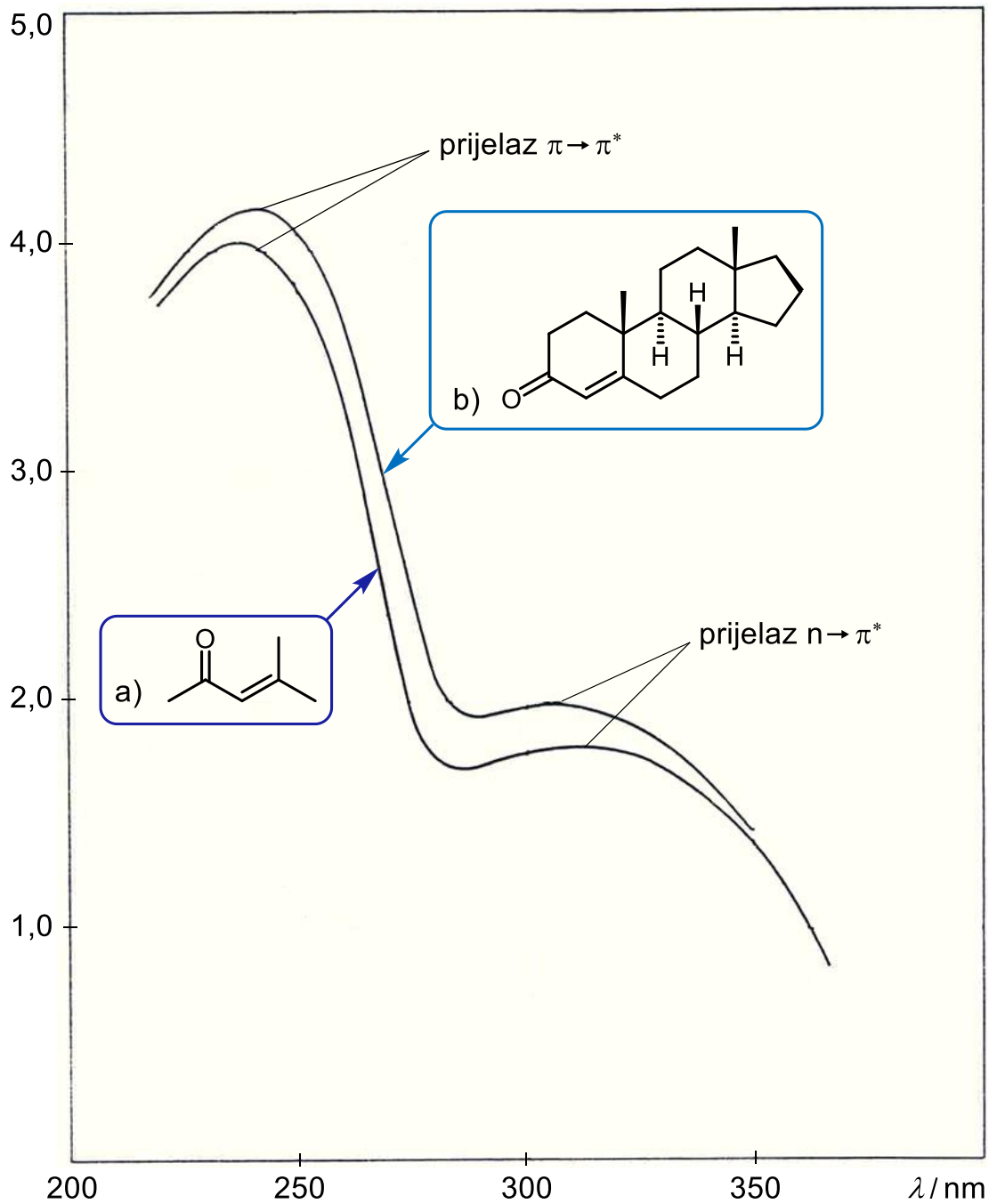
- prijelazi $\sigma \rightarrow \sigma^*$
- C–H veza CH_4 125 nm
- C–C (CH_3CH_3) 135 nm
- prijelazi $n \rightarrow \sigma^*$

Molekula	λ / nm	ϵ / $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$
H_2O	167	1480
CH_3OH	184	150
CH_3Cl	173	200
CH_3I	258	365
$(\text{CH}_3)_2\text{S}$	229	140
$(\text{CH}_3)_2\text{O}$	184	2500
CH_3NH_2	215	600
$(\text{CH}_3)_3\text{N}$	227	900

- **kromofor** - kovalentno vezana nezasićena skupina odgovorna za apsorpciju (npr. C=C, C=O, NO₂,...)
- **auksokrom** - zasićena skupina s neveznim elektronima, koja vezana za kromofor mijenja i valnu duljinu i intenzitet apsorpcije (npr. -OH, -NH₂, -Cl,...)
- **batokromni pomak** - pomak prema većim valnim duljinama
(crveni pomak)
- **hipsokromni pomak** - pomak prema kraćim valnim duljinama
(plavi pomak)
- **hiperkromni efekt** - porast apsorpcijskih intenziteta
- **hipokromni efekt** - pad apsorpcijskih intenziteta

} λ

} A



ultraljubičasti spektri
a) mezitil-oksida
b) derivata kolesterola

LUMINESCENCIJA

- FOTOLUMINESCENCIJA
 - fluorescencija $< 10^{-6}$ s
 - fosforescencija > 1 s
- KEMILUMINESCENCIJA
 - produkt kemijske reakcije - npr. oksidacijski produkt
 - katalitički ili inhibitorški efekti
- prednosti:
 - velika osjetljivost (1–3 reda veličine u odnosu na apsorpcijske metode, nema pozadinske apsorpcije, ovisi direktno o snazi upadnog zračenja)
 - velik linearni koncentracijski raspon
 - selektivnost
- nedostatak:
 - ograničen broj kemijskih sustava

Funkcijske skupine (kromofori)

- zbirni elektronski prijelazi

Primjer	Elektronski prijelaz	λ_{maks} / nm	ϵ_{maks} / L mol ⁻¹ cm ⁻¹	Vrpca
etan	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135	–	–
voda	$n \rightarrow \sigma^*$	167	7000	–
metanol	$n \rightarrow \sigma^*$	183	500	–
heksan-1-tiol	$n \rightarrow \sigma^*$	224	126	–
<i>n</i> -butil-jodid	$n \rightarrow \sigma^*$	257	486	–
etilen	$\pi \rightarrow \pi^*$	165	10000	–
acetilen	$\pi \rightarrow \pi^*$	173	6000	–
aceton	$\pi \rightarrow \pi^*$	oko 150	–	–
	$n \rightarrow \sigma^*$	188	1860	–
	$n \rightarrow \pi^*$	279	15	<i>R</i>
buta-1,3-dien	$\pi \rightarrow \pi^*$	217	21000	<i>K</i>
heksa-1,3,5-trien	$\pi \rightarrow \pi^*$	258	35000	<i>K</i>

oznake: *R* - radikalski tip; *K* - konjugirana (skupina) vrpca

Primjer	Elektronski prijelaz	$\lambda_{\text{maks}} / \text{nm}$	$\epsilon_{\text{maks}} / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$	Vrpca
akrolein	$\pi \rightarrow \pi^*$	210	11500	<i>K</i>
	$n \rightarrow \pi^*$	315	14	<i>R</i>
benzen	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	oko 180	60000	<i>E</i> ₁
	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	oko 200	8000	<i>E</i> ₂
	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	255	215	<i>B</i>
stiren	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	244	12000	<i>K</i>
	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	282	450	<i>B</i>
toluen	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	208	2460	<i>E</i> ₂
	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	262	174	<i>B</i>
acetofenon	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	240	13000	<i>K</i>
	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	278	1110	<i>B</i>
	$n \rightarrow \pi^*$	319	50	<i>R</i>
fenol	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	210	6200	<i>E</i> ₂
	aromatski $\pi \rightarrow \pi^*$	270	1450	<i>B</i>

oznake: *R* - radikalski tip; *K* - konjugirana (skupina) vrpca; *B* - benzenoidna vrpca; *E* - etilenska vrpca

Apsorpcijske značajke nekih uobičajenih organskih kromofora

Kromofor	Otapalo	$\lambda_{\text{maks}} / \text{nm}$	$\epsilon_{\text{maks}} / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$
alken	<i>n</i> -heptan	177	13000
konjugirani alken	<i>n</i> -heptan	217	21000
alkin	<i>n</i> -heptan	178	10000
		196	2000
keto ($\text{R}_2\text{C}=\text{O}$)	<i>n</i> -heksan	225	160
		186	1000
karboksil (RCOOH)	etanol	280	16
amido (RCONH_2)	voda	204	41
azo ($\text{RN}=\text{NR}$)	etanol	214	60
nitro (RNO_2)	izooktan	339	5
nitrozo (RNO)	etilni eter	280	22
		300	100
nitrat (RONO_2)	dioksan	665	20
		270	12
aromatski	<i>n</i> -heksan	204	7900
		256	200

Učinak multikromofora na apsorpciju

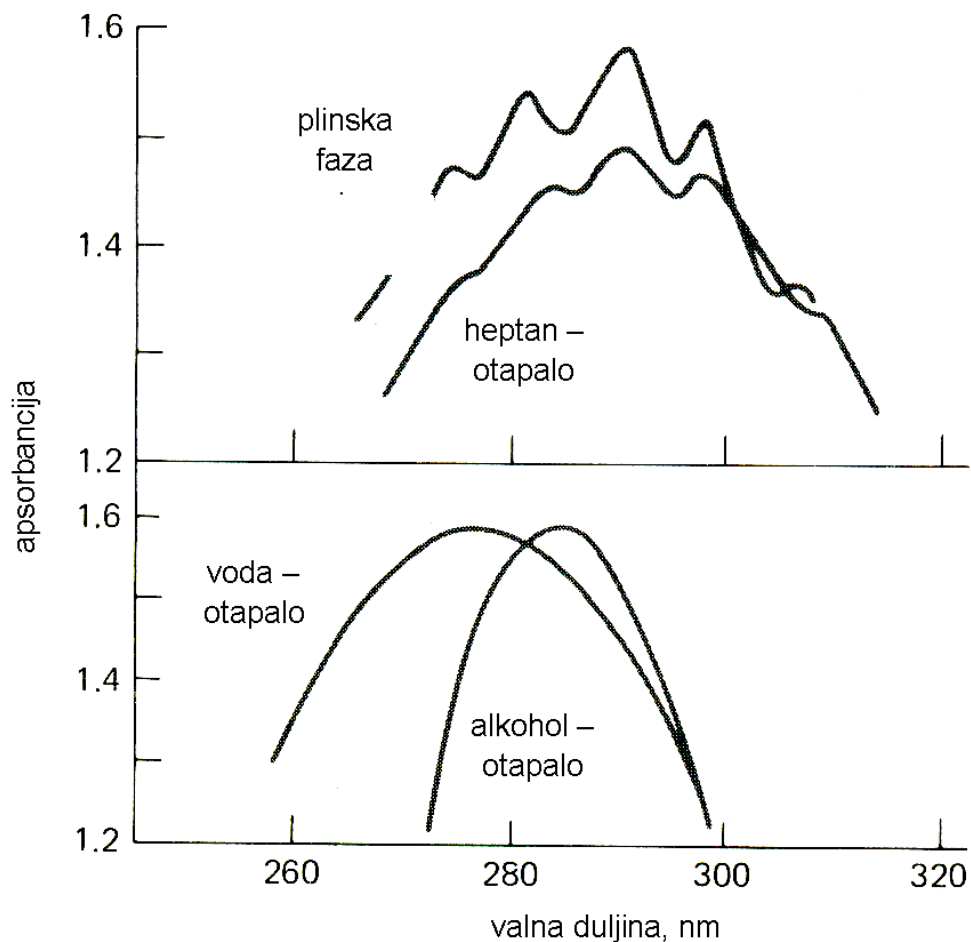
Tvar	Vrsta	$\lambda_{\text{maks}} / \text{nm}$	$\epsilon_{\text{maks}} / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	olefin	184	≈ 10000
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	diolefin (nekonjugirani)	185	≈ 20000
$\text{CH}_2=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	diolefin (konjugirani)	217	21000
$\text{CH}_2=\text{CHCH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	triolefin (konjugirani)	250	–
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COCH}_3$	keton	282	27
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{COCH}_3$	nezasićeni keton (nekonjugirani)	278	30
$\text{CH}_2=\text{CHCOCH}_3$	α,β -nezasićeni keton (konjugirani)	324	24
		219	3600

Otapala koja se koriste u UV/VIS području

Otapalo	Minimum transparentnosti (granična λ / nm)
voda	190
etanol	210
<i>n</i> -heksan	195
cikloheksan	210
benzen	280
dietil eter	210
aceton	330
1,4-dioksan	220

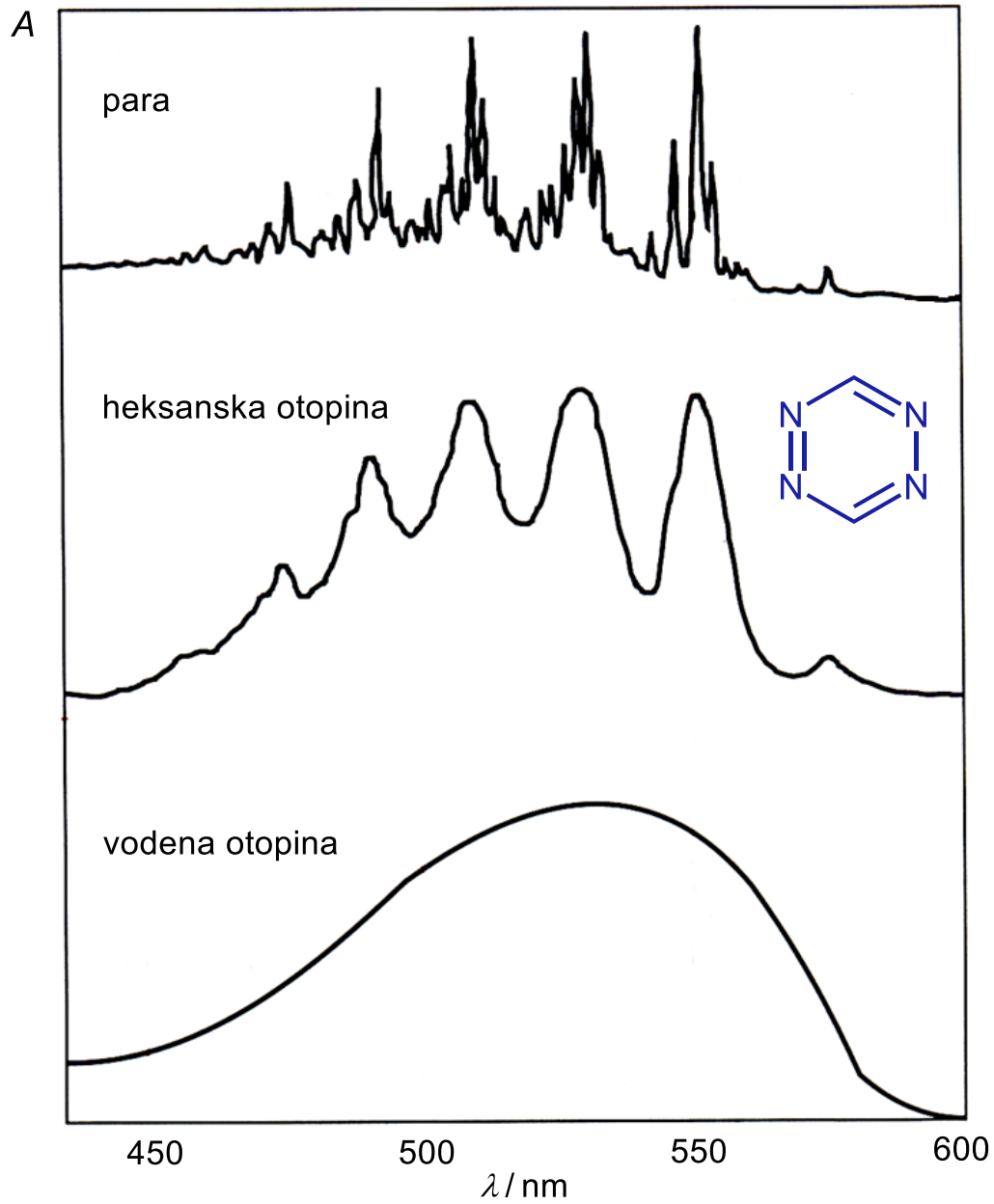
Kvalitativne tehnike

- apsorpcijski spektar acetaldehida



utjecaj nepolarnog otapala
(vibracijski detalji)

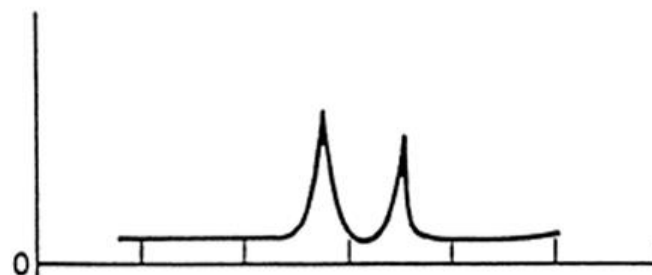
utjecaj polarnog otapala
(nema vibracijske fine strukture)



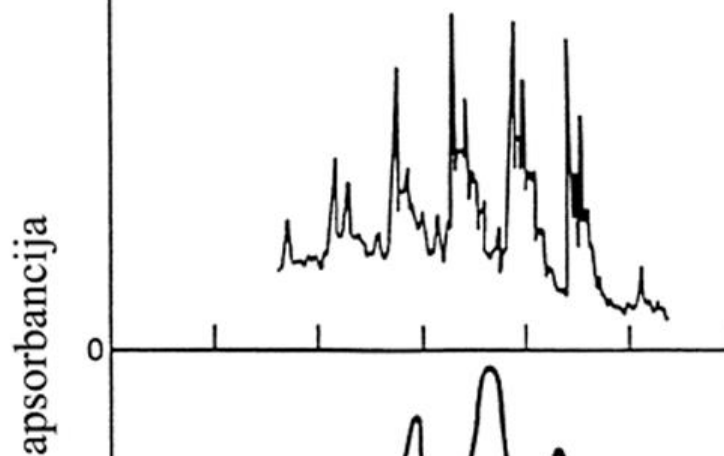
tipični ultraljubičasti
apsorpcijski spektri

- spoj 1,2,4,5-tetrazin

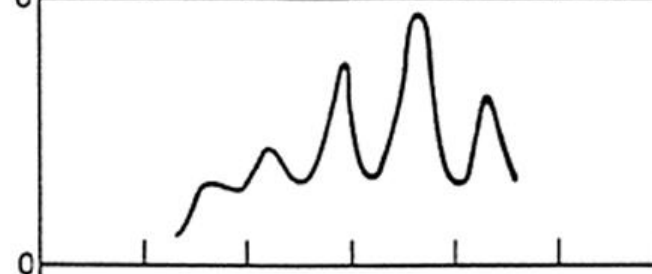
plinoviti Na



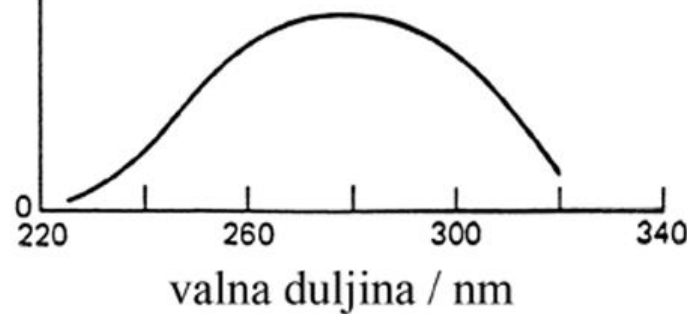
plinoviti benzen



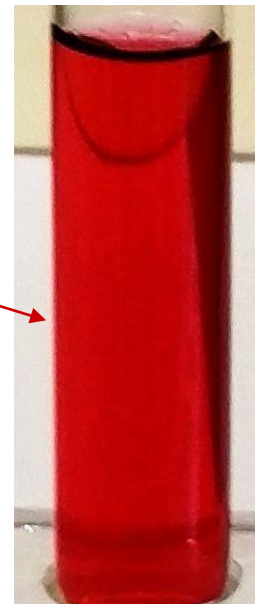
benzen u heksanu



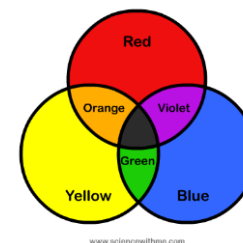
bifenil u heksanu



Zašto je otopina u epruveti obojena **crveno**?



Otopina apsorbira **zelenu** komponentu upadnog zračenja, a propušta **crvenu**!



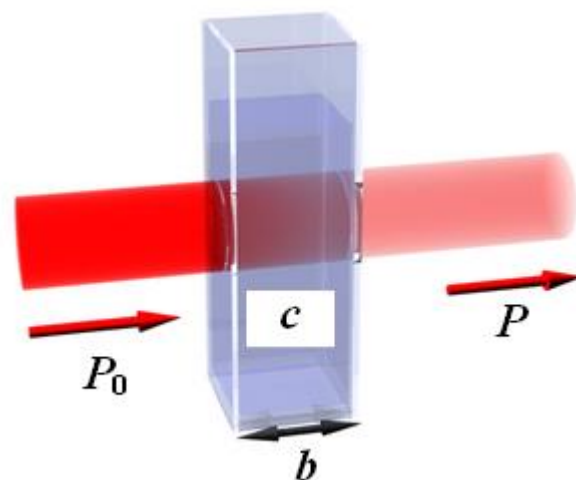
Apsorpcija vidljivog svjetla i boje

Valna duljina / nm	Boja (apsorbirano)	Opažena boja (propušteno; komplementarna nijansa)
< 380	ultraljubičasta	
380–435	ljubičasta	žučkasto zelena
435–480	plava	žuta
480–490	zelenkasto plava	narančasta
490–500	plavkasto zelena	crvena
500–560	zelena	grimizna
560–580	žučkasto zelena	ljubičasta
580–595	žuta	plava
595–650	narančasta	zelenkasto plava
650–780	crvena	plavkasto zelena
> 780 bliska infracrvena		

BEER-LAMBERTOV ZAKON → odnos apsorbancije i koncentracije

kvantitativna analiza → baždarni pravac

$$A = abc$$



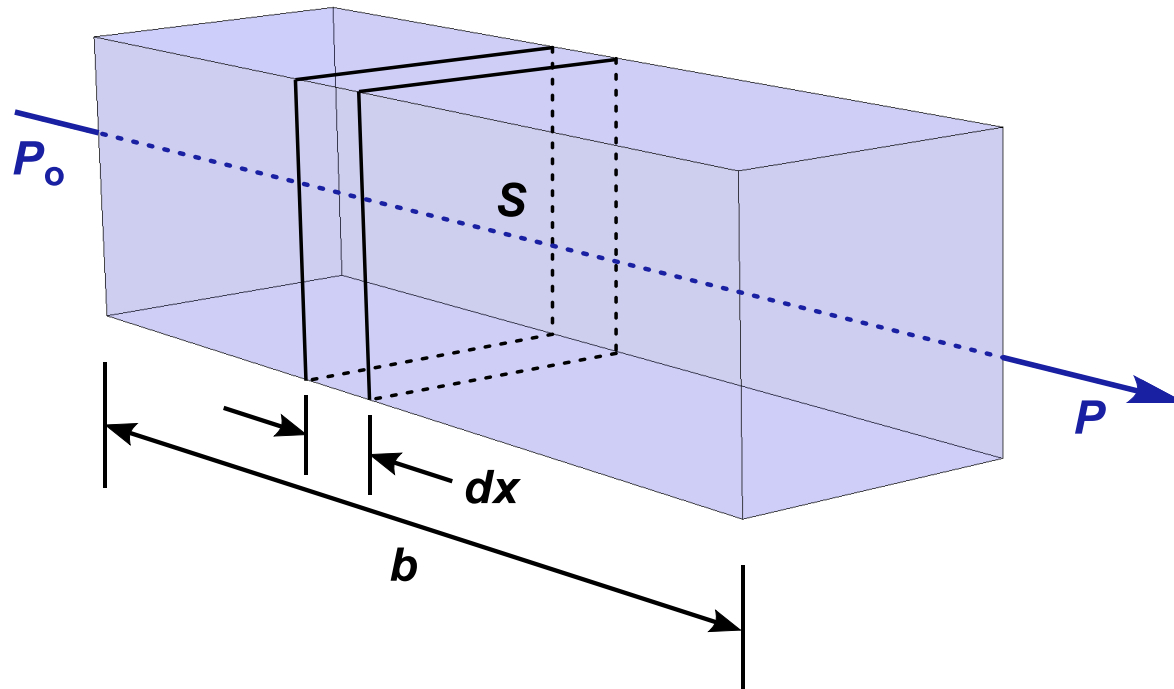
A = apsorbancija (bezdimenzijska veličina)

b = duljina puta zrake kroz uzorak (debljina sloja uzorka, debljina mjerne posudice, debljina kivete), cm

c = koncentracija

a = konstanta mjernog sustava \Rightarrow apsorpcijski koeficijent ili apsorptivnost (dimenzija ovisi o dimenziji c)

Beer-Lambertov zakon - izvod

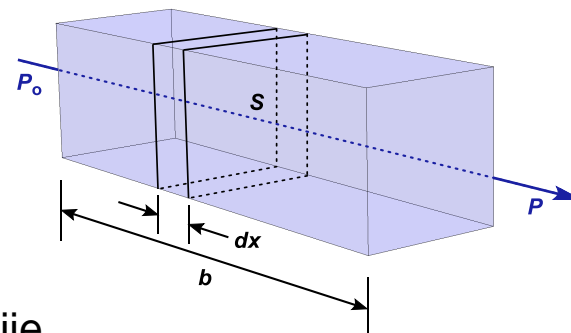


P_0 = snaga upadnog zračenja
 P = snaga propuštenog zračenja
 S = površina presjeka
 dx = infinitezimalna debljina

dn = broj čestica u presjeku
 a = konstanta razmjernosti
 b = duljina puta
 c = koncentracija

objašnjenje:

- snop paralelnog monokromatskog zračenja (P_0) pada okomito na uzorak koji apsorbira
- nakon prolaza duljinom b tvari koja sadrži n čestica koje apsorbiraju, snaga zračenja se smanjuje (P) zbog apsorpcije
- presječni sloj površine S i infinitezimalne debljine dx sadrži dn čestica koje apsorbiraju (svaka čestica predstavlja zamišljenu površinu na kojoj dolazi do "hvatanja" fotona \Rightarrow apsorpcija)
- ukupna projicirana "uhvatna" površina pri debljini dx je dS
- omjer "uhvatne" površine i ukupne površine presjeka je dS/S , što predstavlja vjerojatnost hvatanja fotona unutar tog presjeka
- snaga zračenja snopa koji pada na površinu presjeka P_x razmjerna je broju fotona po kvadratnom centimetru po sekundi
- dP_x predstavlja količinu zračenja uklonjenu po sekundi unutar presjeka
 - apsorbirani udio je tada $-dP_x/P_x \Rightarrow$ to je jednako prosječnoj vjerojatnosti "hvatanja" fotona \Rightarrow negativan predznak prikazuje smanjenje snage zračenja zbog apsorpcije



$$\longrightarrow -\frac{dP_x}{P_x} = \frac{dS}{S}$$

$$-\frac{dP_x}{P_x} = \frac{dS}{S}$$

- dS je razmjerno broju čestica:

$$dS = a \cdot dn$$

- kombinacija gornjih jednažbi i integriranje od 0 do n :

$$-\int_{P_0}^P \frac{dP_x}{P_x} = \int_0^n \frac{a \cdot dn}{S}$$

- račun integrala:

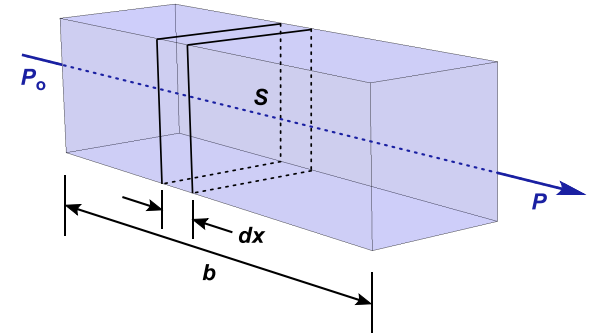
$$-\ln \frac{P}{P_0} = \frac{a \cdot n}{S}$$

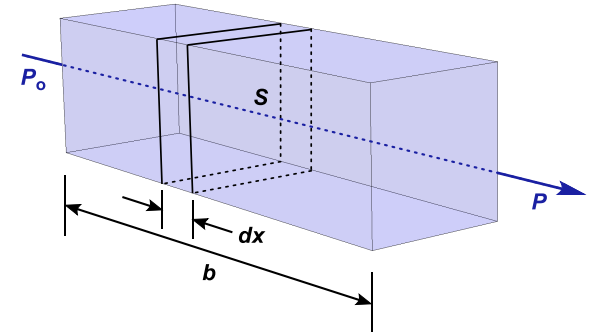
- pretvorba u logaritme baze 10 i inverzija razlomka zbog negativnog predznaka:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{a \cdot n}{2,303 S}$$

- n = ukupan broj čestica - presječna površina S može se izraziti pomoću njezinog volumena V i debljine b :

$$S = \frac{V}{b} \text{ cm}^2$$





- supstitucija u prethodnu jednadžbu:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{a n b}{2,303 V}$$

- izraz n/V ima dimenziju koncentracije - pretvorba u mol/L:

$$c = \frac{n}{6,02 \cdot 10^{23}} \cdot \frac{1000}{V} = \frac{1000 n}{6,02 \cdot 10^{23} V} \quad \text{mol/L}$$

- kombinacija s prethodnom jednadžbom:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{6,02 \cdot 10^{23} a b c}{2,303 \cdot 1000}$$

- sve se konstante skupe u novu konstantu a [ϵ (starija literatura)]:

$$\log \frac{P_0}{P} = a b c = A$$

Beer-Lambertov zakon

OGRANIČENJA BEER-LAMBERTOVOG ZAKONA

ISTINSKA

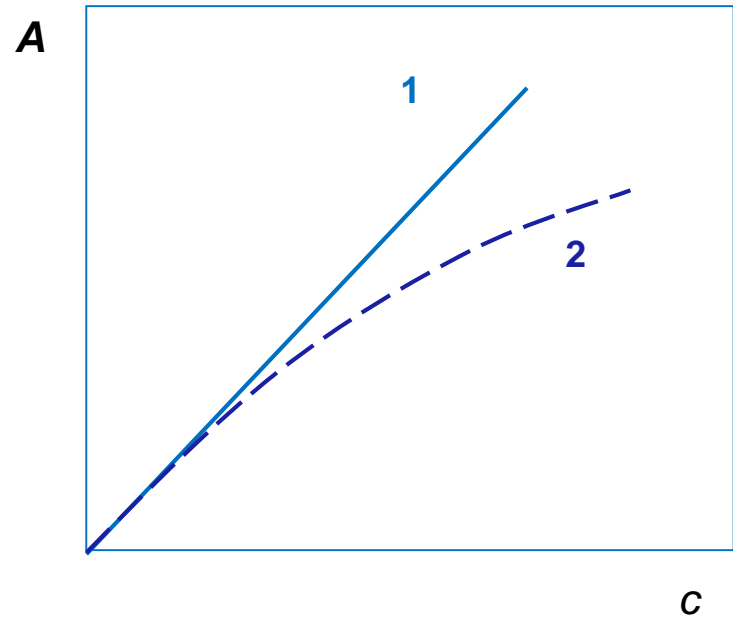
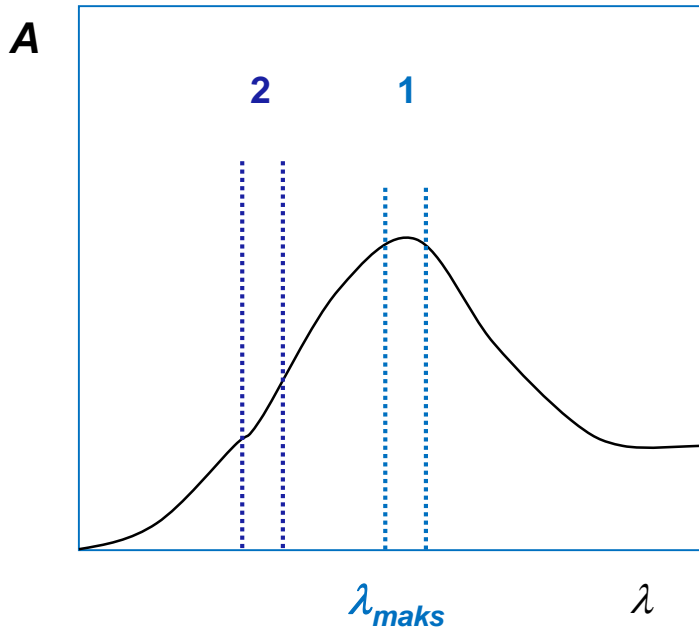
- vrijedi samo za razrijeđene otopine ($< 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$)
a ovisan o indeksu loma otopine → nema utjecaja za
 $c < 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$

KEMIJSKA

- posljedica:
- asocijacije
 - disocijacije
 - reakcije s otapalom...

INSTRUMENTNA

- nema odstupanja pri mjerenju uz pravo monokromatsko zračenje - sprega polikromatskog zračenja i monokromatora rezultira vrpcom valnih duljina



- raspršeno zračenje iz unutrašnjih dijelova instrumenta može dovesti do pogrešaka u mjerenoj apsorbanciji

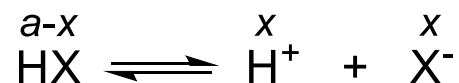
1. Molarna apsorptivnost slabe kiseline HX ($K_a = 1,00 \cdot 10^{-5}$) iznosi $1100 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ pri 305 nm. Pri toj valnoj duljini kiselinski anion ne apsorbira. Na temelju vrijednosti apsorpcija za otopine HX koncentracije $1,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $5,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ i $2,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ izmjerenih u kiveti debljine 1,00 cm, predvidite hoće li sustav biti u skladu s Beer-Lambertovim zakonom pri 305 nm. Objasnite!

$$K_a = 1,00 \cdot 10^{-5}$$

$$b = 1,00 \text{ cm}$$

$$c(\text{HX}) = 1,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$$

$$\varepsilon(\text{HX}) = 1100 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$



$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{X}^-]}{[\text{HX}]} = \frac{x^2}{c(\text{HX}) - x} \quad \Rightarrow \quad x^2 + K_a x - K_a c(\text{HX}) = 0$$

$$x_{1,2} = \frac{-K_a \pm \sqrt{K_a^2 + 4K_a c(\text{HX})}}{2}$$

$$x_1 = 9,51 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{HX}] = c(\text{HX}) - x_1 = 9,05 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = \varepsilon b c(\text{HX}) = 1,100$$

$$A_{\text{prava}} = \varepsilon b [\text{HX}] = 0,995$$

$$c(\text{HX}) = 5,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$x_{1,2} = \frac{-K_a \pm \sqrt{K_a^2 + 4K_a c(\text{HX})}}{2}$$

$$x_1 = 6,59 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{HX}] = c(\text{HX}) - x_1 = 4,34 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = \varepsilon b c(\text{HX}) = 0,550$$

$$A_{\text{prava}} = \varepsilon b [\text{HX}] = 0,478$$

$$c(\text{HX}) = 2,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$x_{1,2} = \frac{-K_a \pm \sqrt{K_a^2 + 4K_a c(\text{HX})}}{2}$$

$$x_1 = 4,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{HX}] = c(\text{HX}) - x_1 = 1,60 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = \varepsilon b c(\text{HX}) = 0,220$$

$$A_{\text{prava}} = \varepsilon b [\text{HX}] = 0,176$$

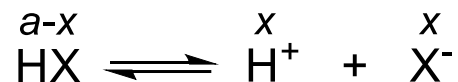
- sustav je u skladu s Beer-Lambertovim zakonom za ovisnost pravih vrijednosti A i ravnotežnih koncentracija, a ne vrijednosti A dobivenih iz analitičkih koncentracija

2. Indikator HX, čija konstanta disocijacije iznosi $1,00 \cdot 10^{-5}$, ima molarnu apsorptivnost $6,00 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ pri 480 nm, dok molarna apsorptivnost X^- pri toj valnoj duljini iznosi $120 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

I) Pomoću vrijednosti apsorpcija pri 480 nm u kiveti debljine 1,00 cm za otopine HX koncentracije: a) $5,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, b) $1,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, c) $2,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ i d) $3,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, odredite ponaša li se sustav u skladu s Beer-Lambertovim zakonom.

II) Hoće li doći do odstupanja od Beer-Lambertovog zakona, ako se ovim sustavima pomoću puferskih otopina pH održava konstantnim pri: a) 4,00 i b) 5,00?

$$K_a = 1,00 \cdot 10^{-5} \quad \varepsilon(\text{HX}) = 6000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \quad \varepsilon(X^-) = 120 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$



I a) $c(\text{HX}) = 5,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

$b = 1,00 \text{ cm}$

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{X}^-]}{[\text{HX}]} = \frac{x^2}{c(\text{HX}) - x} \quad \Rightarrow \quad x^2 + K_a x - K_a c(\text{HX}) = 0$$

$$x_{1,2} = \frac{-K_a \pm \sqrt{K_a^2 + 4K_a c(\text{HX})}}{2}$$

$$x_1 = [\text{X}^-] = 1,79 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{HX}] = c(\text{HX}) - x_1 = 3,21 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = \varepsilon(\text{HX}) b c(\text{HX}) = 0,300$$

$$A_{\text{prava}} = \varepsilon(\text{HX}) b [\text{HX}] + \varepsilon(\text{X}^-) b [\text{X}^-] = 0,195$$

$$\text{l b) } [\text{X}^-] = 2,70 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{HX}] = 7,30 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = 0,600$$

$$A_{\text{prava}} = 0,441$$

$$\text{l c) } [\text{X}^-] = 4,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{HX}] = 1,60 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = 1,200$$

$$A_{\text{prava}} = 0,965$$

$$\text{l d) } [\text{X}^-] = 5,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{HX}] = 2,50 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = 1,800$$

$$A_{\text{prava}} = 1,506$$

$$\text{II a) } \text{pH} = 4,00 \Rightarrow [\text{H}^+] = 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \qquad c(\text{HX}) = 5,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{HX}] = \alpha_0 c_{\text{HX}} = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_a} c_{\text{HX}} = 0,909 c_{\text{HX}} = 4,55 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{X}^-] = \alpha_1 c_{\text{HX}} = \frac{K_a}{[\text{H}^+] + K_a} c_{\text{HX}} = 0,091 c_{\text{HX}} = 4,55 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = \varepsilon(\text{HX}) b c(\text{HX}) = 0,300$$

$$A_{\text{prava}} = \varepsilon(\text{HX}) b [\text{HX}] + \varepsilon(\text{X}^-) b [\text{X}^-] = 0,273$$

$$c(\text{HX}) = 1,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = 0,600$$

$$A_{\text{prava}} = 0,547$$

$$c(\text{HX}) = 2,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = 1,200$$

$$A_{\text{prava}} = 1,093$$

$$c(\text{HX}) = 3,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = 1,800$$

$$A_{\text{prava}} = 1,640$$

$$\text{II b) } \text{pH} = 5,00 \Rightarrow [\text{H}^+] = 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} \qquad c(\text{HX}) = 5,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{HX}] = \alpha_0 c_{\text{HX}} = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_a} c_{\text{HX}} = 0,500 c_{\text{HX}} = 2,50 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{X}^-] = \alpha_1 c_{\text{HX}} = \frac{K_a}{[\text{H}^+] + K_a} c_{\text{HX}} = 0,500 c_{\text{HX}} = 2,50 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = \varepsilon(\text{HX}) b c(\text{HX}) = 0,300$$

$$A_{\text{prava}} = \varepsilon(\text{HX}) b [\text{HX}] + \varepsilon(\text{X}^-) b [\text{X}^-] = 0,153$$

$$c(\text{HX}) = 1,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = 0,600$$

$$A_{\text{prava}} = 0,306$$

$$c(\text{HX}) = 2,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = 1,200$$

$$A_{\text{prava}} = 0,612$$

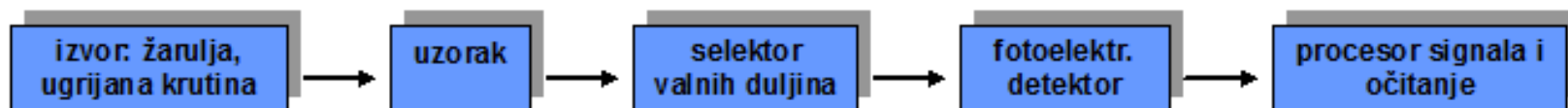
$$c(\text{HX}) = 3,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$A_{\text{analit}} = 1,800$$

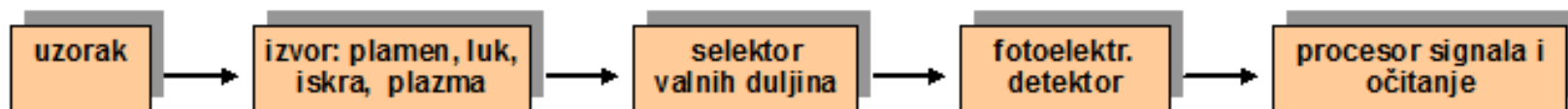
$$A_{\text{prava}} = 0,918$$

SHEME OPTIČKIH INSTRUMENATA

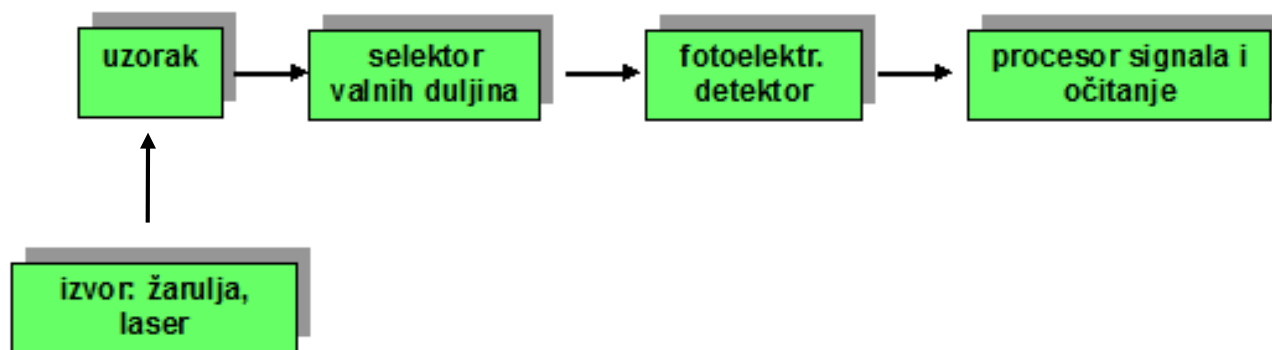
- **apsorpcijska spektroskopija**



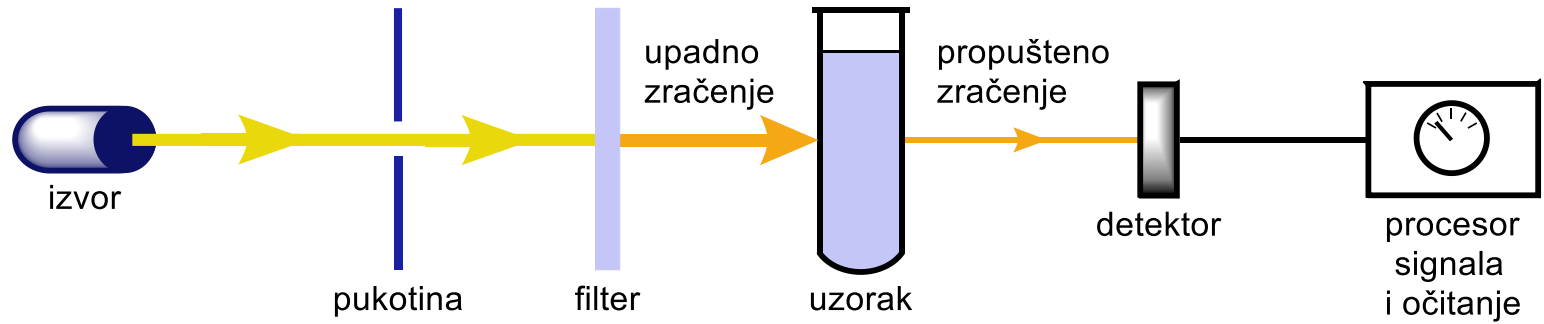
- **emisijska spektroskopija**



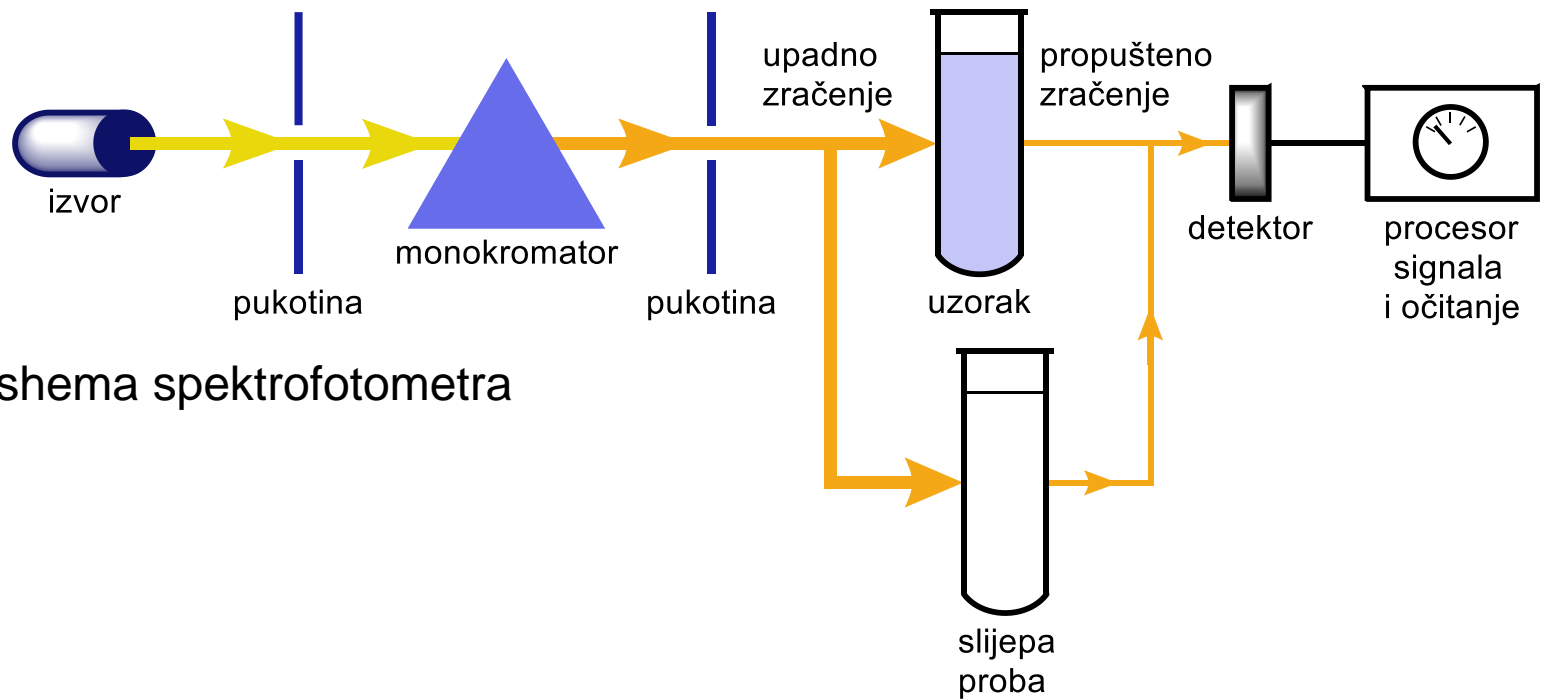
- **fluorescencija, fosforescencija i raspršenje**



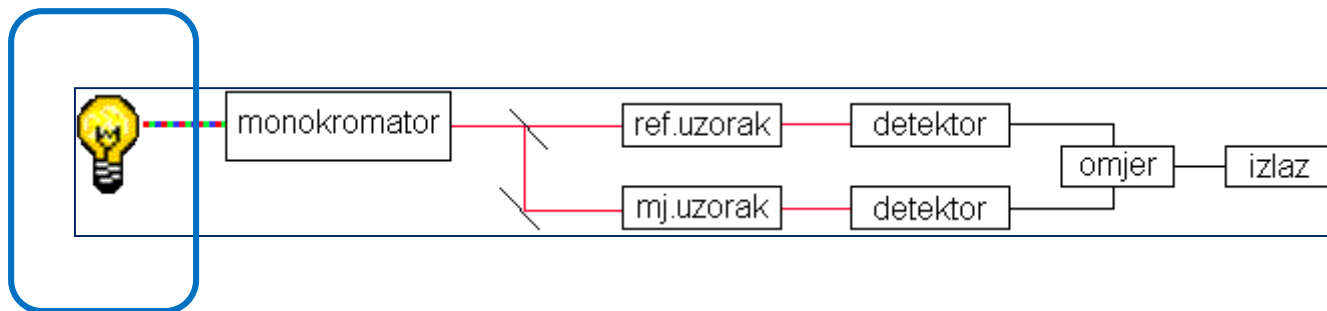
- shema fotometra s filterom



- shema spektrofotometra



- dvosnopni spektrofotometar



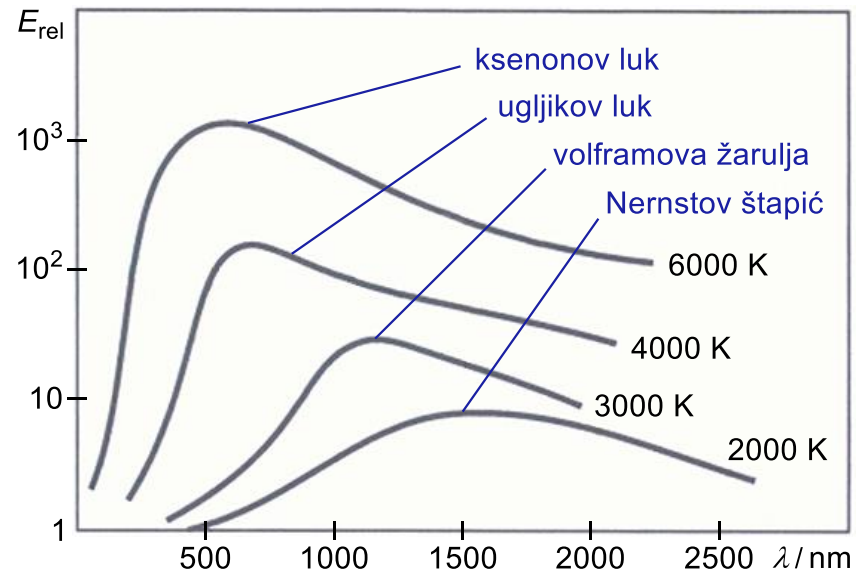
Izvor zračenja	Valno područje / nm	Vrsta spektroskopije
kontinuirani izvori		
kсенonova lampa	250 – 600	molekulska fluorescencijska i Ramanova
H ₂ i D ₂ lampa	160 – 380	UV molekulska apsorpcijska
volfram / halogen žarulja	240 – 2500	UV / VIS / bliski IR molekulska apsorpcijska
volframova žarulja	350 – 2200	VIS / bliski IR molekulska apsorpcijska
Nernstov štapić	400 – 20000	IR molekulska apsorpcijska
nikromska žica	750 – 20000	IR molekulska apsorpcijska
Globar	1200 – 40000	IR molekulska apsorpcijska
linijski izvori		
lampa sa šupljom katodom	UV / VIS	atomska apsorpcijska i atomska fluorescencijska
bezelektrodna lampa uz pražnjenje	UV / VIS	atomska apsorpcijska i atomska fluorescencijska
lampa s metalnim parama	UV / VIS	atomska apsorpcijska, molekulska fluorescencijska i Ramanova
laser	UV / VIS / IR	Ramanova, molekulska apsorpcijska i atomska fluorescencijska

- **toplinsko zračenje** - emisija elektromagnetskih valova pobuđenih molekula i atoma

- **Stefan-Boltzmannov zakon** -
ukupno zračenje crnog tijela:

$$\Phi = \sigma \cdot T^4$$

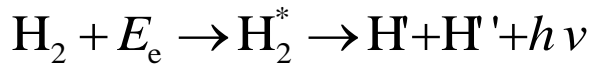
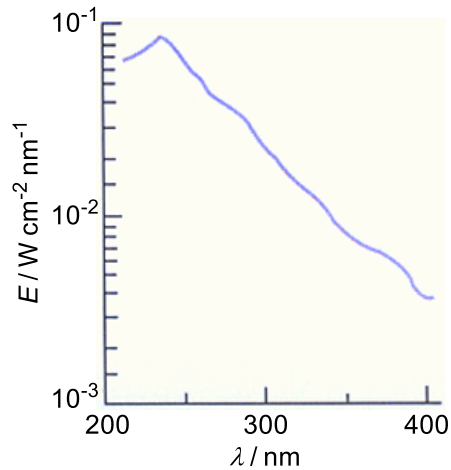
$$\sigma = 5,69 \cdot 10^{-8} \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-4}$$



- **Wienov zakon** - valna duljina za koju je energija zračenja crnog tijela maksimalna:

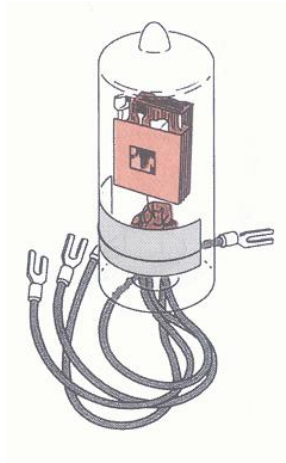
$$\lambda_{\text{maks}} = \frac{2,898 \cdot 10^{-3} \text{ m} \cdot \text{K}}{T}$$

- vodikova / deuterijeva žarulja (UV)

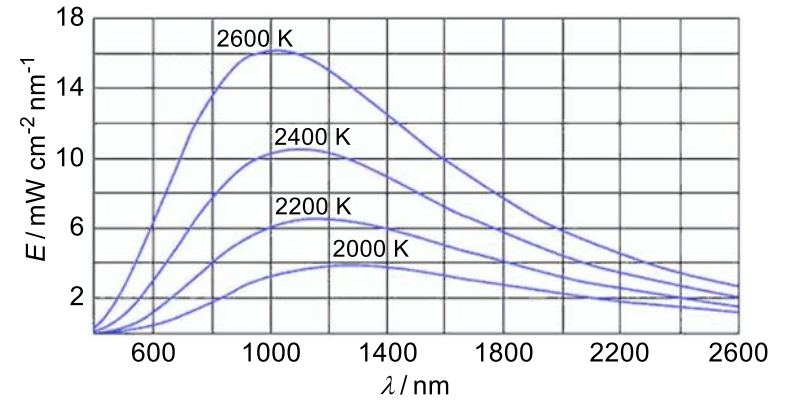


$$E_e = E_{\text{H}_2^*} = E_{\text{H}'} + E_{\text{H}''} + h\nu$$

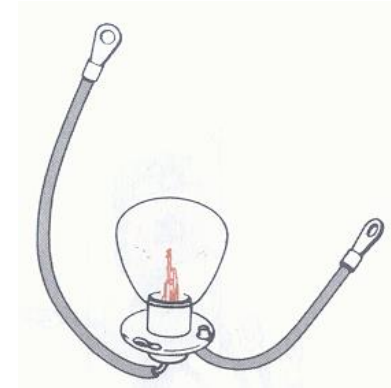
- električna pobuda D_2 ili H_2 pri niskom tlaku
- kontinuirani spektar: 160–375 nm



- volframova žarulja (VIS)



- valno područje: 320–2500 nm



3. Primijenite Wienov zakon za procjenu temperature crvene superzvijezde Betelgeuse. Naoko Betelgeuse izgleda crvena, ali njezina krivulja crnog tijela zapravo ima maksimum u bliskom infracrvenom području, pri valnoj duljini od 855 nm.

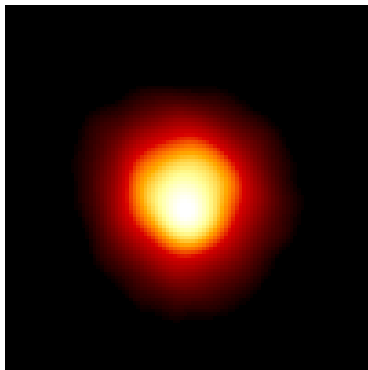
$$\lambda_{\text{maks}} = 855 \text{ nm} = 855 \cdot 10^{-9} \text{ m}$$

Wienov zakon:

$$\lambda_{\text{maks}} = \frac{2,898 \cdot 10^{-3} \text{ m} \cdot \text{K}}{T}$$

temperatura:

$$T = \frac{2,898 \cdot 10^{-3} \text{ m} \cdot \text{K}}{\lambda_{\text{maks}}} = 3389,5 \text{ K}$$



- **zvijeda Betelgeuse**¹
 - astronomi izgovaraju kao **beetle juice**

1. <https://www.spacetelescope.org/images/opo9604b/>

4. Zvijezda Rigel ima temperaturu od 10 100 K. Primjenom Wienovog zakona odredite valnu duljinu maksimuma zračenja zvijezde. Kojoj to boji odgovara?

$$T = 10100\text{K}$$

Wienov zakon:
$$\lambda_{\text{maks}} = \frac{2,898 \cdot 10^{-3} \text{ m} \cdot \text{K}}{T} = 2,869 \cdot 10^{-7} \text{ m} = 286,9 \text{ nm}$$



- **zvijezda Rigel**²
 - valna duljina maksimuma emisije zračenja iznosi 286,9 nm
 - plavkasta boja (granično područje s plavim područjem vidljivog spektra)

2. <http://ahzaeldawn.tripod.com/Rigel/Rigel.htm/>

5. Prema Wienovom zakonu je maksimum valne duljine zračenja crnog tijela, izražen u mikrometrima, prikazan sljedećom jednažbom:

$$\lambda_{\text{maks}} T = 2,898 \cdot 10^3 \mu\text{m} \cdot \text{K}$$

gdje je T temperatura u K.

Izračunajte maksimume valnih duljina crnog tijela ugrijanog na: a) 4000 K, b) 2000 K i c) 1000 K.

Wienov zakon:
$$\lambda_{\text{maks}} = \frac{2,898 \cdot 10^3 \mu\text{m} \cdot \text{K}}{T}$$

a) $T = 4000 \text{ K}$

$$\lambda_{\text{maks}} = 0,725 \mu\text{m}$$

b) $T = 2000 \text{ K}$

$$\lambda_{\text{maks}} = 1,449 \mu\text{m}$$

c) $T = 1000 \text{ K}$

$$\lambda_{\text{maks}} = 2,898 \mu\text{m}$$

Kivete - UV / VIS, fluorescencija



- kiveta za spektroskopiju UV / VIS

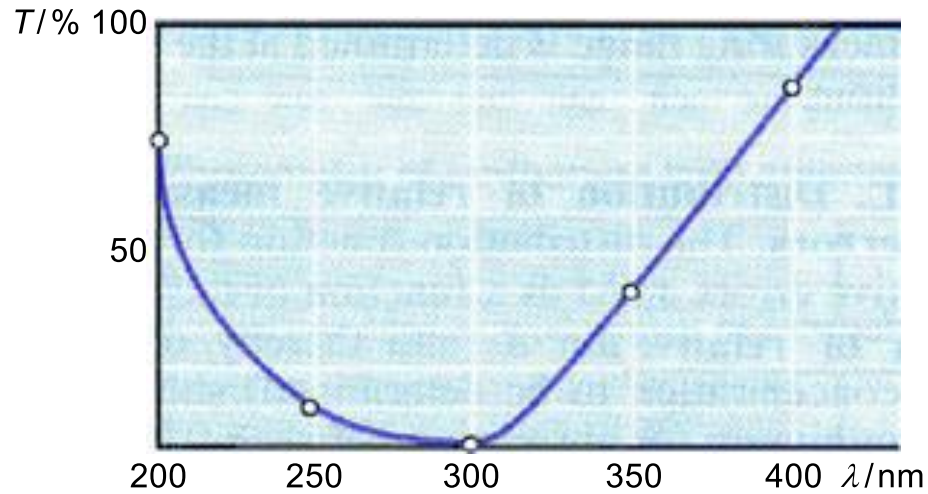


- kiveta za fluorescencijsku spektroskopiju



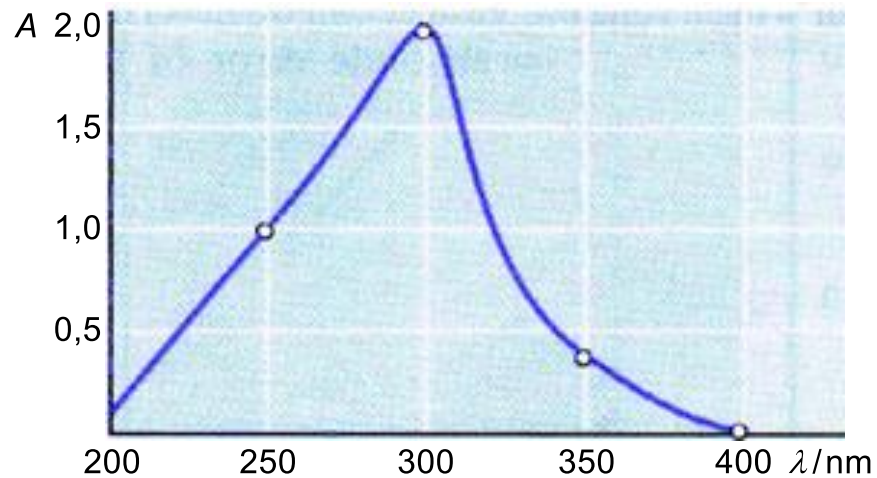
- materijali za izradu kiveta:
 - optičko ili Pyrex staklo
 - kvarc (UV i IR)
 - safir

SPEKTROSKOPIJA UV/VIS - PRIMJENA



- transmisijski spektar

$$A = -\log T$$



- apsorpcijski spektar

Woodwardova pravila

- pravila za empirijsko predviđanje valne duljine apsorpcijskog maksimuma
- vrijede za 4 tipa spojeva:
 - konjugirani dieni i ciklički trieni
 - nezasićeni aldehidi i ketoni
 - supstituirani benzenski prsteni
 - nezasićene kiseline, esteri, nitrili, amidi
- postupak:
 - osnovnoj vrijednosti λ pribraja se određena vrijednost za svaki pojedini supstituent



- Robert Burns Woodward (10.04.1917., Boston, Mass., SAD – 08.07.1979., Cambridge, Mass. SAD), američki kemičar najpoznatiji po sintezi složenih organskih tvari, uključujući kinin (1944.), kolesterol i kortizon (1951.), te vitamin B12 (1971.)
- Nobelova nagrada za kemiju 1965.

KONJUGIRANI DIENI I CIKLIČKI TRIENI

- 1) **osnovna vrijednost 214 nm** - za diene otvorenog lanca ili konjugirane dvostruke veze u odvojenim, ali spojenim šesteročlanim prstenima
osnovna vrijednost 253 nm - ako su konjugirane veze u jednom prstenu
- 2) **30 nm** - za svaku dodatnu konjugiranu dvostruku vezu
- 3) **5 nm** - za svaki alkilni supstituent ili ostatak prstena spojen na sustav dvostrukih veza
- 4) **5 nm** - za svaku dvostruku vezu izvan prstena

NEZASIĆENI ALDEHIDI I KETONI (α,β -NEZASIĆENI KARBONILI)

1) osnovna vrijednost

- **215 nm**: α,β -nezasićeni keton
- **210 nm**: α,β -nezasićeni aldehid
- **200 nm**: α,β -nezasićeni keton u peteročlanom prstenu

2) **30 nm** - za svaku dodatnu konjugiranu dvostruku vezu

3) **10 nm** - za α -alkilni supstituent

4) **12 nm** - za β -alkilni supstituent

5) **18 nm** - za γ - ili viši alkilni supstituent

6) **5 nm** - za dvostruku vezu izvan prstena

7) **39 nm** - za konjugiranu dvostruku vezu u istom prstenu

SUPSTITUIRANI BENZENSKI PRSTENI

(tip $R-C_6H_4-COX$, gdje je: R - elektron-donorska skupina, COX - karbonilna skupina, X - alkil, H, OH, OAlk)

1) osnovna vrijednost

- **250 nm**: X = H
- **246 nm**: X = alkil ili ostatak prstena
- **230 nm**: X = OH ili OAlk

2) **3 nm** - R = *o*- ili *m*-supstituirani alkil ili ostatak prstena

3) **10 nm** - R = *p*-supstituirani alkil ili ostatak prstena

4) **7 nm** - R = *o*- ili *m*-supstituirani OH, OMe, OAlk

5) **25 nm** - R = *p*-supstituirani OH, OMe, OAlk

NEZASIĆENE KISELINE, ESTERI, NITRILI, AMIDI

- 1) **osnovna vrijednost 195 nm** - za kiselinu ili ester
- 2) **30 nm** - za svaku dodatnu konjugiranu dvostruku vezu
- 3) **10 nm** - za svaki alkilni supstituent
- 3) **5 nm** - za svaku dvostruku vezu izvan prstena (egzocikličku)
- 4) **5 nm** - za svaku dvostruku vezu u 5- ili 7- članom prstenu (endocikličku)

6. Izračunajte valnu duljinu apsorpcijskog maksimuma za $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-\text{COOH}$.

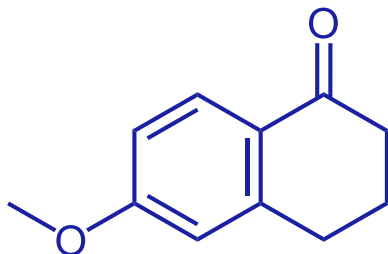
rješenje:

$(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-\text{COOH}$ - razred: nezasićene kiseline, esteri, nitrili, amidi

osnovna vrijednost:	195 nm
2 alkilna supstituenta:	$2 \cdot 10 = 20$ nm
<hr/>	
zbroj:	215 nm
<hr/>	
predviđena vrijednost:	$\lambda_{\text{maks}} = \mathbf{215 \text{ nm}}$
eksperimentna vrijednost:	$\lambda_{\text{maks}} = \mathbf{216 \text{ nm}}$
<hr/>	

7. Izračunajte valnu duljinu apsorpcijskog maksimuma 6-metoksitetralona.

rješenje:



- razred: supstituirani benzenski prsteni

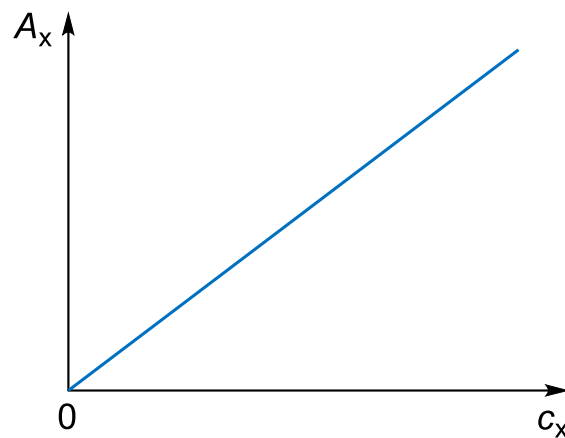
osnovna vrijednost:	246 nm
ostatak prstena u <i>o</i> -položaju:	3 nm
-OCH ₃ u <i>p</i> -položaju:	25 nm
<hr/>	
zbroj:	274 nm
<hr/>	
predviđena vrijednost:	$\lambda_{\text{maks}} = 274 \text{ nm}$
eksperimentalna vrijednost:	$\lambda_{\text{maks}} = 276 \text{ nm}$

Kvantitativna analiza

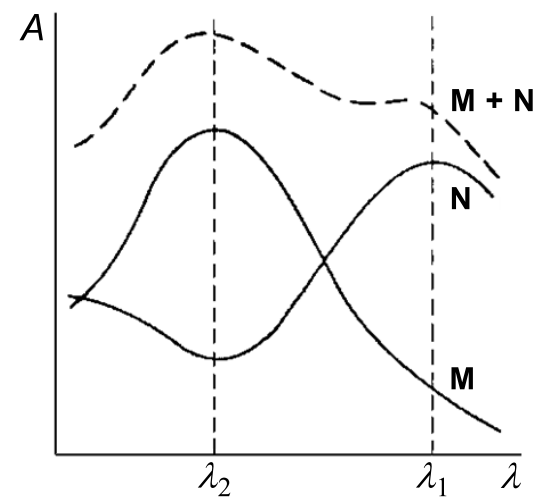
- priprema uzorka i slijepe probe



- kalibracijski (baždarni) pravac

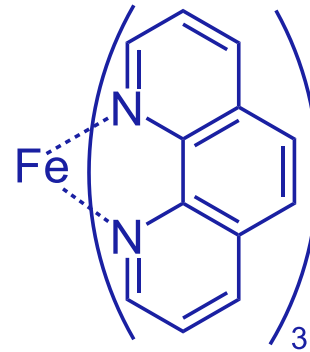


- analiza smjese



8. Razrjeđivanjem standardne otopine Fe(II) pripravljene su otopine koncentracija navedenih u priloženoj tablici. Kompleks željeza i 1,10-fenantrolina pripremljen je pomoću alikvota od 25,00 mL navedenih otopina, nakon čega su sustavi razrijeđeni na 50,00 mL. Izmjerene su apsorbancije tako pripremljenih otopina pri 510 nm u kiveti debljine 1,00 cm.

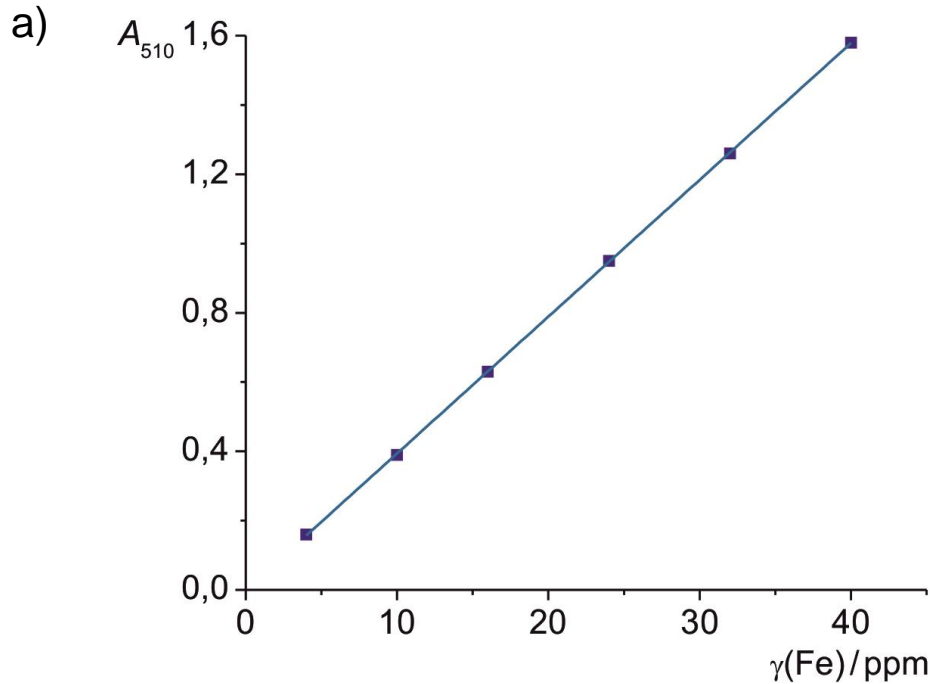
$\gamma(\text{Fe}) / \text{ppm}$	A_{510}
4,00	0,160
10,00	0,390
16,00	0,630
24,00	0,950
32,00	1,260
40,00	1,580



Kompleks Fe(II) i
1,10-fenantrolina

- Na temelju eksperimentalnih podataka nacrtajte kalibracijsku krivulju.
 - Pomoću metode najmanjih kvadrata odredite jednadžbu koja povezuje apsorbanciju i koncentraciju željeza.
- c) Izračunajte standardna odstupanja nagiba i odsječka dobivenog pravca.

rješenje:



b) $A_{510} = 0,03949 \gamma(\text{Fe}) - 0,00101$

c) standardno odstupanje nagiba:

$$s_a = 1,10 \cdot 10^{-4}$$

standardno odstupanje odsječka:

$$s_b = 2,68 \cdot 10^{-3}$$

formule:

$$s_a = \sqrt{s_r^2 / S_{xx}} = 1,10 \cdot 10^{-4} \quad s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - a^2 S_{xx}}{N - 2}} = 3,35 \cdot 10^{-3}$$

$$s_b = s_r \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{N \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}} = \sqrt{\frac{1}{N - (\sum x_i)^2 / \sum x_i^2}} = 2,68 \cdot 10^{-3}$$

jednadžba pravca: $y = ax + b$

prema jednadžbi slijedi:

N = broj parova podataka x, y

S_{xx} , S_{yy} = sume kvadrata odstupanja od srednje vrijednosti za pojedinačne x i y

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N}$$

$$S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{N}$$

$$\bar{y} = \frac{\sum y_i}{N}$$

$$S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 = \sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{N}$$

$$S_{xy} = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = \sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{N}$$

IZVEDENI IZRAZI **jednadžba pravca: $y = ax + b$**

nagib pravca, a	$a = S_{xy}/S_{xx}$
odsječak pravca, b	$b = \bar{y} - a\bar{x}$
standardno odstupanje regresije, s_r	$s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - a^2 S_{xx}}{N - 2}}$
standardno odstupanje nagiba, s_a	$s_a = \sqrt{s_r^2 / S_{xx}}$
standardno odstupanje odsječka, s_b	$s_b = s_r \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{N \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}} = \sqrt{\frac{1}{N - (\sum x_i)^2 / \sum x_i^2}}$
standardno odstupanje rezultata, s_c	$s_c = \frac{s_r}{a} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{a^2 S_{xx}}}$ <p> y_c = srednja vrijednost M istovjetnih analiza N = broj točaka </p>

9. Metoda opisana u prethodnom zadatku uporabljena je za određivanje željeza u alikvotima od 25,00 mL izvorske vode. Odredite masenu koncentraciju željeza (ppm) u uzorku kojemu je izmjerena apsorbancija 1,143 ($b = 1,00$ cm). Odredite standardno odstupanje izračunatog rezultata. Ponovite račun uz pretpostavku da je apsorbancija srednja vrijednost tri mjerenja.

$$A_{510}(\text{uz}) = 1,143$$

$$b = 1,00 \text{ cm}$$

$$A_{510} = 0,03949 \gamma(\text{Fe}) - 0,00101$$

$$\gamma(\text{Fe}) = \frac{A_{510}(\text{uz}) + 0,00101}{0,03949} = \frac{1,143 + 0,00101}{0,03949} = 28,97 \text{ ppm}$$

$$N = 6 \quad M = 1 \quad \bar{y}_c = 1,143$$

$$N = 6 \quad M = 3 \quad \bar{y}_c = 1,143$$

$$s_c = \frac{s_r}{a} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{a^2 S_{xx}}} = 0,09$$

$$s_c = \frac{s_r}{a} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{a^2 S_{xx}}} = 0,06$$

Analiza smjese

- Beer-Lambertov zakon se može primijeniti na i otopine koje sadrže više od jedne tvari koja apsorbira

- uvjeti:

- 1) nepostojanje međudjelovanja između pojedinačnih sastojaka smjese
- 2) dobro odvojene valne duljine apsorpcijskih maksimuma

- rezultat: aditivnost apsorbancija

$$A_i = \sum_{j=1}^n \varepsilon_{ij} c_j$$

- osnovni odnosi:

$$A_{\text{ukupno}} = A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n = \varepsilon_1 b_1 c_1 + \varepsilon_2 b_2 c_2 + \varepsilon_3 b_3 c_3 + \dots + \varepsilon_n b_n c_n$$

n = broj sastojaka smjese

i = valna duljina apsorpcije smjese

j = pojedinačne apsorbancije sastojaka

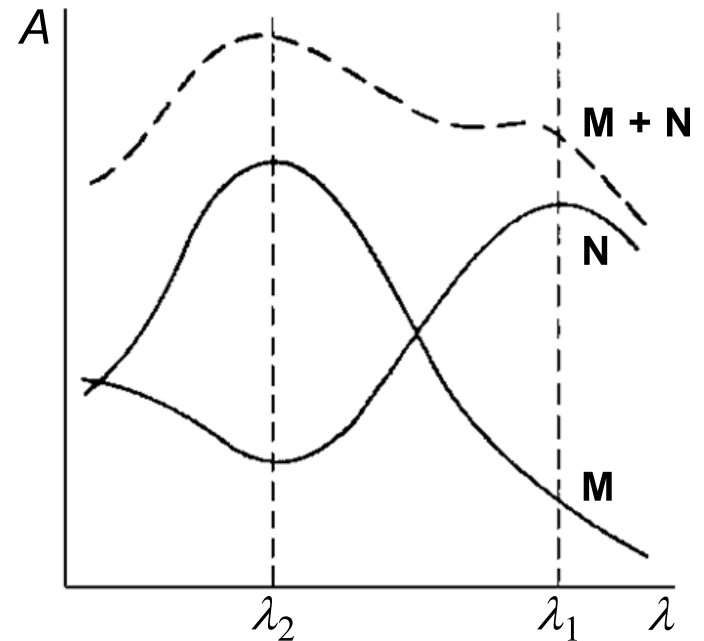
- dvokomponentna smjesa

- mjerenja se provode pri dvije valne duljine, obično u kivetama debljine 1 cm
- dobivaju se dvije jednađbe:

$$A_1 = \varepsilon_{11}c_1 + \varepsilon_{12}c_2$$

$$A_2 = \varepsilon_{21}c_1 + \varepsilon_{22}c_2$$

- odrede se molarni apsorpcijski koeficijenti za M i N pri valnim duljinama λ_1 i λ_2
- apsorbancije dva pojedinačna spektra pri λ_1 i λ_2 se znatno razlikuju
- stoga se apsorbancija smjese izmjeri pri te dvije valne duljine
- u novije vrijeme → derivacijska analiza



Spektri tvari M, N te smjese M i N

10. Istovremeno određivanje kobalta i nikla može se temeljiti na apsorpciji njihovih pojedinačnih kompleksa s 8-hidroksikinolinom. Molarni apsorpcijski koeficijenti koji odgovaraju njihovim apsorpcijskim maksimumima su:

Kompleks	$\epsilon_{365} / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$\epsilon_{700} / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$
Co	3529	428,9
Ni	3228	10,2

Izračunajte koncentracije (mol L^{-1}) kobalta i nikla u otopini njihove smjese čije izmjerene apsorbancije ($b = 1,00 \text{ cm}$) iznose $A_{365} = 0,602$ i $A_{700} = 0,044$.

$$A_{365} = 0,602$$

$$A_{700} = 0,044$$

$$b = 1,00 \text{ cm}$$

$$A_{365} = \epsilon_{365}(\text{Co}) b c(\text{Co}) + \epsilon_{365}(\text{Ni}) b c(\text{Ni})$$

$$A_{700} = \epsilon_{700}(\text{Co}) b c(\text{Co}) + \epsilon_{700}(\text{Ni}) b c(\text{Ni})$$

$$0,602 = 3529 c(\text{Co}) + 3228 c(\text{Ni})$$

$$0,044 = 428,9 c(\text{Co}) + 10,2 c(\text{Ni}) \Rightarrow c(\text{Co}) = \frac{0,044 - 10,2 c(\text{Ni})}{428,9}$$

$$0,602 = 3529 \frac{0,044 - 10,2 c(\text{Ni})}{428,9} + 3228 c(\text{Ni})$$

$$258,1978 = 3529 (0,044 - 10,2 c(\text{Ni})) + 1384489,2 c(\text{Ni})$$

$$c(\text{Ni}) = 7,63 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

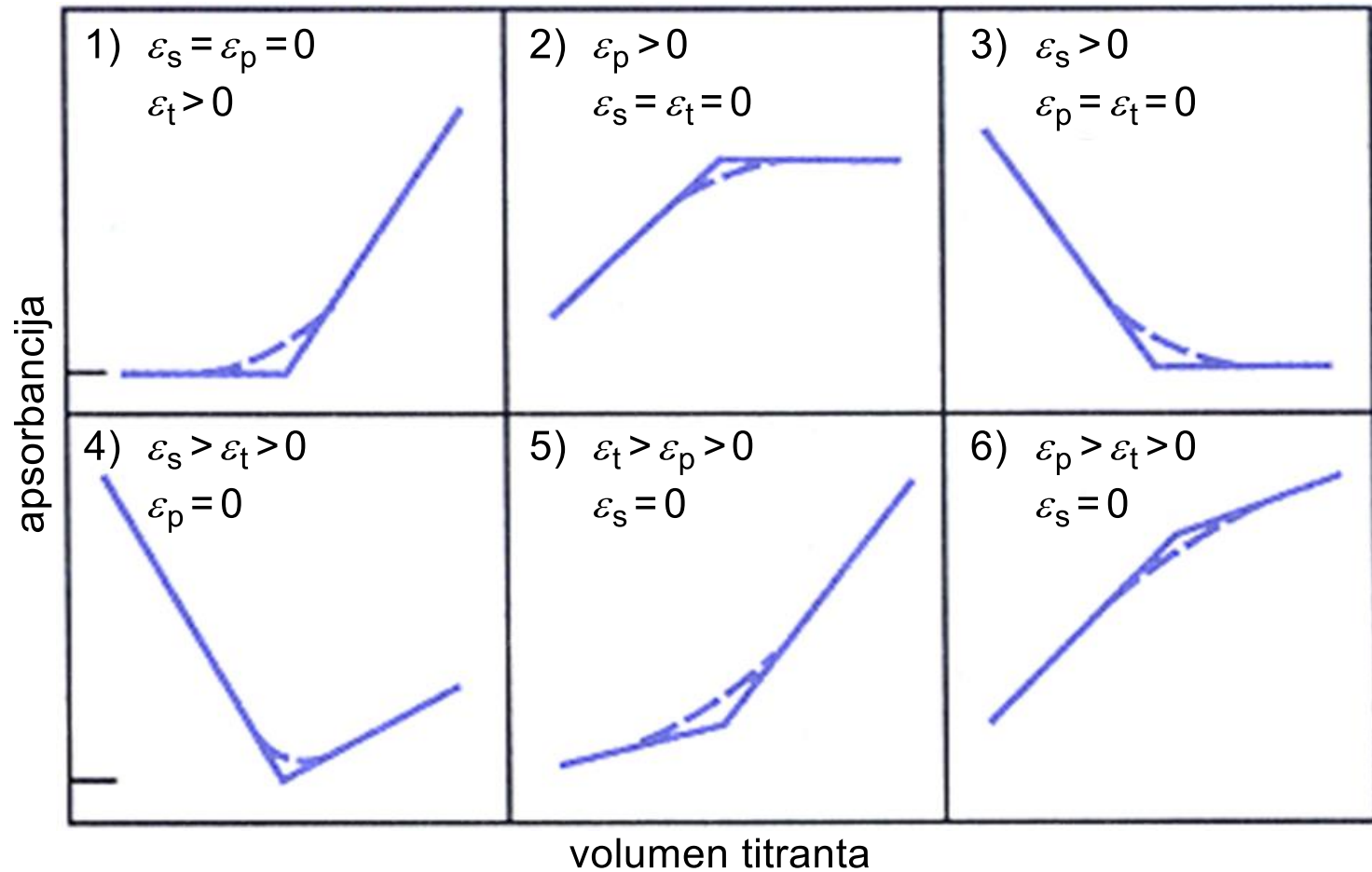
$$c(\text{Co}) = \frac{0,044 - 10,2 c(\text{Ni})}{428,9} = 1,01 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

Fotometrijska i spektrofotometrijska titracija

- **svrha:** određivanje završne točke titracije
- **zahtjev:** jedan ili više reaktanata ili produkata apsorbiraju zračenje ili se primijeni indikator koji apsorbira
- **podjela:**
 - **izravna** → temelji se na mjerenju apsorbancije reaktanata i/ili produkata
 - **neizravna** → temelji se na mjerenju apsorbancije indikatora
- **titracijska krivulja:** grafički prikaz apsorbancije analizirane otopine kao funkcije volumena titranta
- **uvjet:** sustav mora biti u skladu s Beer-Lambertovim zakonom (zbog linearnosti dijelova krivulja i mogućnosti određivanja završne točke ekstrapolacijom ravnih dijelova krivulje)

- **korekcija:** ako postoji velika promjena volumena tijekom titracije, apsorbanciju treba pomnožiti korigiranim volumenom $(V+v)/V$, gdje je V početni volumen otopine, a v volumen dodanog titranta
- **instrumenti:** fotometri i spektrofotometri
- **primjena:** prikladno za sve tipove reakcija (taložne, neutralizacijske, kompleksometrijske i redoks titracije)
- **prednosti:**
 - smanjena mogućnost interferencija jer se mjeri promjena apsorbancije
 - eksperimentalni podaci se skupljaju izvan područja ekvivalencije, pa konstanta ravnoteže reakcije ne mora biti tako povoljna kao za titracije koje ovise o promatranju blizu točke ekvivalencije (npr. promjena boje indikatora ili pH)
 - mogu se titrirati razrijeđene otopine

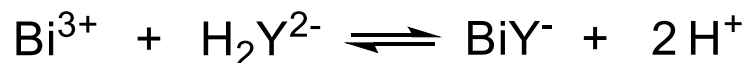
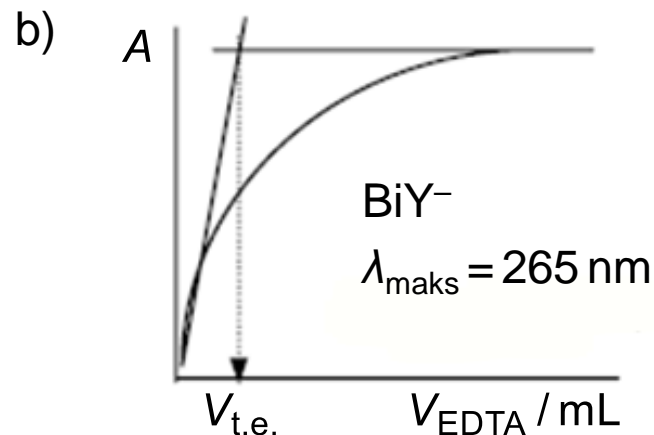
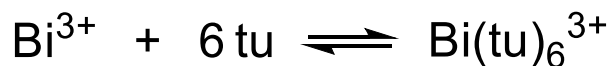
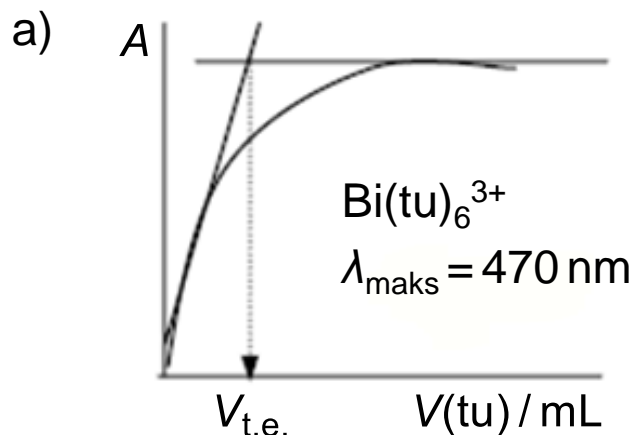
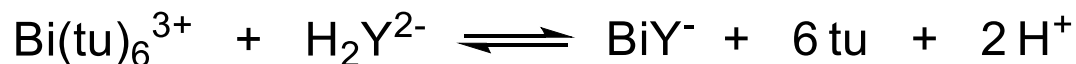
- primjer reakcije: **supstancija** + **titrant** \rightleftharpoons **produkt**

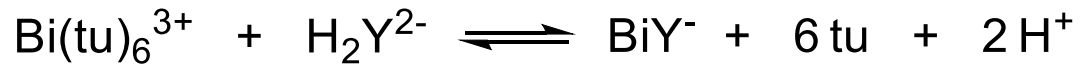


11. Kompleks Bi(III)-tiourea ima apsorpcijski maksimum pri 470 nm, a kompleks Bi(III)-EDTA pri 265 nm. Predvidite oblik krivulje fotometrijske titracije:

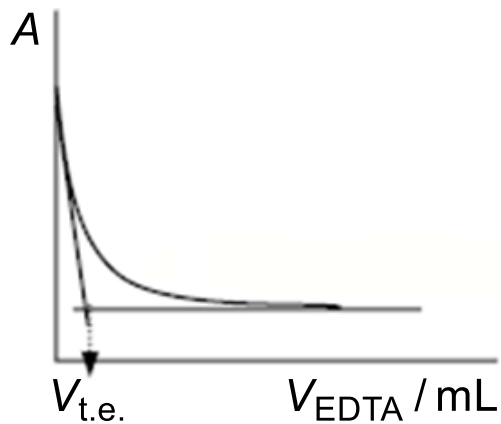
- bizmuta(III) s tioureom (tu) pri 470 nm;
- bizmuta(III) s EDTA (H_2Y^{2-}) pri 265 nm;
- kompleksa bizmut(III)-tiourea s EDTA pri 470 nm;
- kompleksa bizmut(III)-tiourea s EDTA pri 265 nm

Jednadžba reakcije za c) i d):

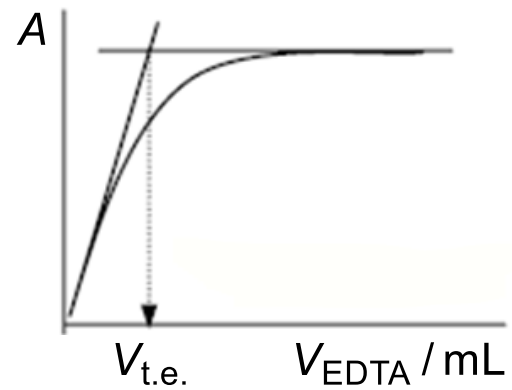




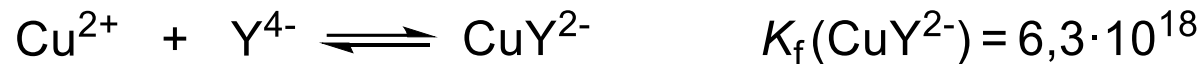
c) $\text{Bi}(\text{tu})_6\text{-EDTA} \Rightarrow \lambda_{\text{maks}} = 470 \text{ nm}$



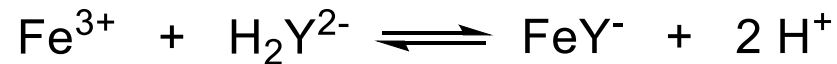
d) $\text{Bi}(\text{tu})_6\text{-EDTA} \Rightarrow \lambda_{\text{maks}} = 265 \text{ nm}$



12. Poznati su sljedeći podaci:



Pri valnoj duljini 750 nm apsorbira samo kompleks CuY^{2-} . Može li se i zašto bakar(II) primijeniti kao indikator za fotometrijsku titraciju željeza(III) s EDTA prema dolje navedenoj reakciji?

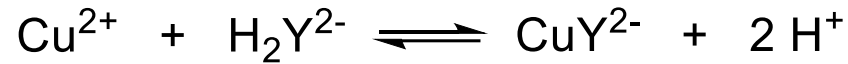
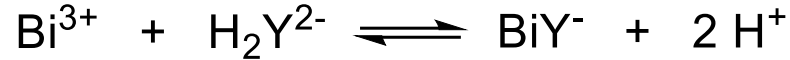


odgovor:

- s obzirom da je $K_f(\text{FeY}^-) \gg K_f(\text{CuY}^{2-})$, Fe^{3+} se titrira bez promjene boje dok se svi ioni Fe^{3+} ne vežu u FeY^- , a tada mala količina prisutnog Cu^{2+} naglo reagira sa suviškom H_2Y^{2-} tvoreći CuY^{2-} koji apsorbira pri 750 nm

13. Fotometrijskom titracijom s EDTA koncentracije $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$ određeni su bakar(II) i bizmut(III) u smjesi. Pri 475 nm apsorbira samo kompleks CuY^{2-} . Iz priloženih podataka za titraciju $20,00 \text{ mL}$ smjese, odredite koncentracije Cu(II) i Bi(III).

V(EDTA) / mL	A_{475}	V(EDTA) / mL	A_{475}
0,0	0,000	2,5	0,030
0,3	0,000	3,0	0,060
0,7	0,000	3,7	0,102
1,2	0,000	3,8	0,108
1,6	0,000	4,0	0,120
2,1	0,003	4,2	0,125
2,2	0,010	4,5	0,125
2,3	0,017	5,0	0,125



- očitano iz grafičkog prikaza:

$$V_1(\text{EDTA}) = 2,15 \text{ mL}$$

(kompleks BiY^-)

$$V_2(\text{EDTA}) = 4,15 \text{ mL}$$

(kompleks CuY^{2-})

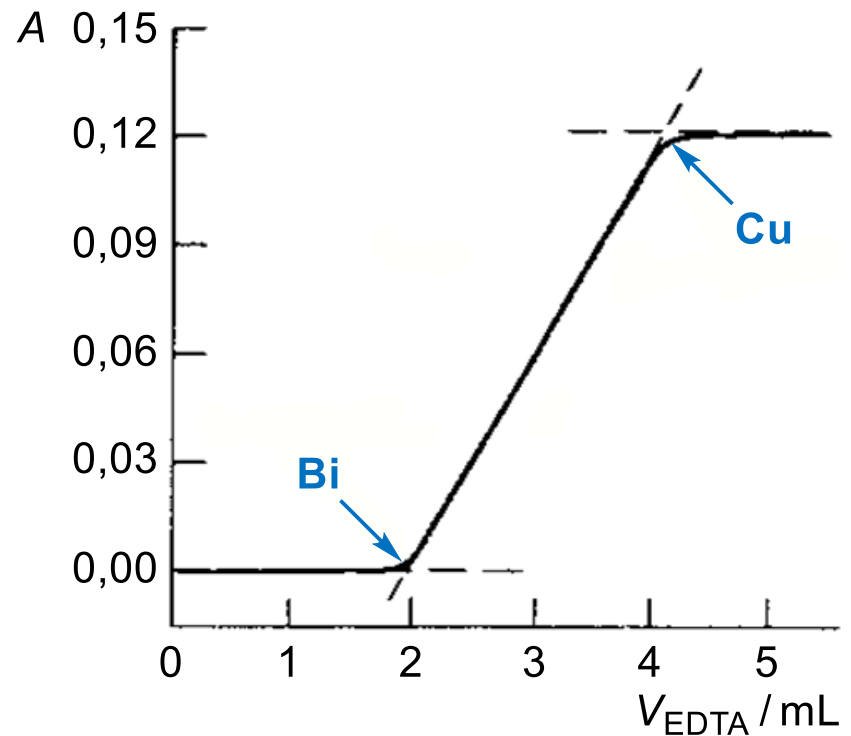
$$\begin{aligned} V_2(\text{EDTA}) - V_1(\text{EDTA}) &= \Delta V(\text{EDTA}) \\ &= 4,15 \text{ mL} - 2,15 \text{ mL} = 2,00 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$20 \cdot c(\text{Bi}^{3+}) = 2,15 \cdot 0,1000 \Rightarrow$$

$$c(\text{Bi}^{3+}) = 1,075 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$$

$$20 \cdot c(\text{Cu}^{2+}) = 2,00 \cdot 0,1000 \Rightarrow$$

$$c(\text{Cu}^{2+}) = 1,000 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$$



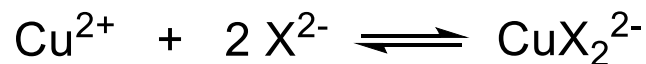
Spektrofotometrijsko određivanje sastava kompleksnog spoja u otopini

- **svrha:** određivanje sastava i konstante nastajanja kompleksnog spoja u otopini bez njegove izolacije u čvrstom stanju
 - nema promjene ravnoteža u otopini
 - primjena moguća za obojene i neobojene kompleksne ione
- **zahtjev:** sukladnost Beer-Lambertovom zakonu
- **metode:**
 - metoda molnih omjera
 - metoda kontinuirane varijacije (Jobova metoda)
 - metoda omjera nagiba pravaca

14. Apsorpcijski spektar kompleksa CuX_2^{2-} ima apsorpcijski maksimum pri 480 nm. Ako je koncentracija liganda veća od koncentracije metalnog iona 20 ili više puta, apsorbancija pri toj valnoj duljini ovisi samo o koncentraciji Cu(II) i sustav je sukladan Beer-Lambertovom zakonu u širokom koncentracijskom području.

Otopini množinske koncentracije $2,30 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ s obzirom na bakar(II), odnosno $8,60 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ s obzirom na X^{2-} izmjerena je apsorbancija 0,690 u kiveti debljine 1,00 cm. Drugoj otopini, čije koncentracije sastojaka iznose $2,30 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ i $5,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ X}^{2-}$, odgovara apsorbancija 0,540 pod istim uvjetima.

Pomoću ovih podataka izračunajte uvjetnu konstantu ravnoteže za reakciju:



$$c_{\text{Cu},1} = 2,30 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} = c_{\text{Cu},2} \quad c_{\text{X},1} = 8,60 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \quad A_1 = 0,690$$

$$c_{\text{X},2} = 5,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \quad A_2 = 0,540 \quad b = 1,00 \text{ cm}$$

- prva otopina sadrži ligand u suvišku, pa se pretpostavlja da je metalni ion potpuno vezan u kompleks
- stoga se molarna apsorptivnost računa iz apsorpcije prve otopine:

$$\varepsilon = \frac{A_1}{b c_{\text{Cu},1}} = 3,00 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

- druga otopina sadrži metalni ion, ligand i kompleksni spoj u ravnoteži
- iz podataka za drugu otopinu mogu se odrediti ravnotežne koncentracije pojedinih vrsti u otopini i konstanta ravnoteže K_f :

$$[\text{CuX}_2^{2-}] = \frac{A_2}{\varepsilon} = 1,80 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

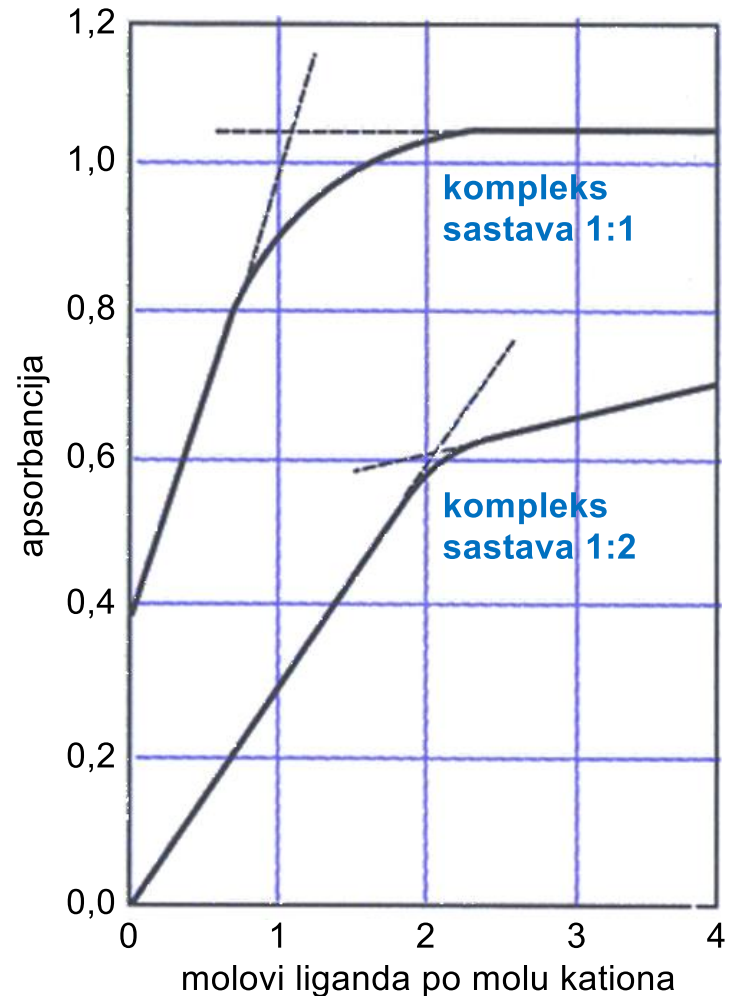
$$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{slobodni}} = c_{\text{Cu},2} - [\text{CuX}_2^{2-}] = 5,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$n_{\text{X}^{2-}} : n_{\text{CuX}_2^{2-}} = 2 : 1 \quad [\text{X}^{2-}]_{\text{slobodni}} = c_{\text{X},2} - 2[\text{CuX}_2^{2-}] = 1,40 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$K_f = \frac{[\text{CuX}_2^{2-}]}{[\text{Cu}^{2+}]_{\text{slobodni}} [\text{X}^{2-}]_{\text{slobodni}}^2} = 1,84 \cdot 10^8$$

- **metoda molnih omjera**

- pripravi se niz otopina gdje je koncentracija jednog reaktanta (obično metalni ion) stalna, a koncentracija drugog se mijenja
- grafički prikaz: **apsorbancija** u ovisnosti o omjeru množina (**molnom omjeru**) reaktanata
- sastav kompleksa je u sjecištu tangenti na ravne dijelove krivulje
- mogu se odrediti i stupnjevite konstante nastajanja
- pritom se njihove vrijednosti, kao i vrijednosti apsorptivnosti moraju dovoljno razlikovati



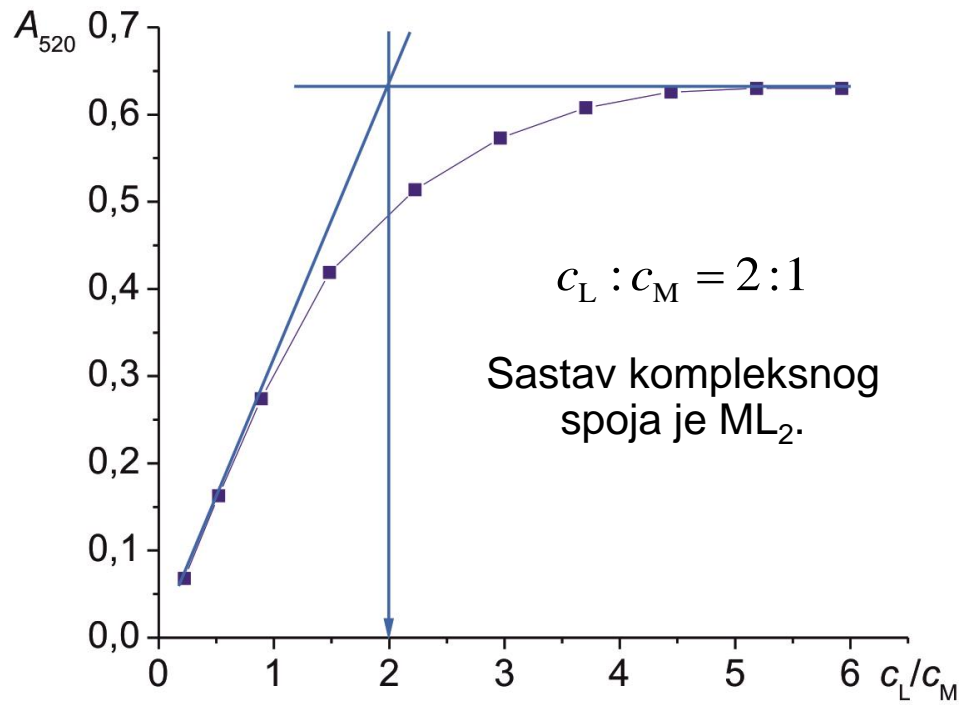
15. Miješanjem otopina koje sadrže ligand L i kation M^{2+} dobiva se kompleksni spoj čiji se apsorpcijski maksimum pojavljuje pri 520 nm. Pripravljen je niz otopina u kojima je koncentracija M^{2+} bila konstantna ($c = 1,35 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), a koncentracija L se mijenjala. Mjerenjem u kiveti debljine 1,00 cm dobiveni su sljedeći eksperimentalni podaci:

$c_L / \text{mol L}^{-1}$	A_{520}
$3,00 \cdot 10^{-5}$	0,068
$7,00 \cdot 10^{-5}$	0,163
$1,20 \cdot 10^{-4}$	0,274
$2,00 \cdot 10^{-4}$	0,419
$3,00 \cdot 10^{-4}$	0,514
$4,00 \cdot 10^{-4}$	0,573
$5,00 \cdot 10^{-4}$	0,608
$6,00 \cdot 10^{-4}$	0,626
$7,00 \cdot 10^{-4}$	0,630
$8,00 \cdot 10^{-4}$	0,630

- Koji je sastav kompleksa?
- Izračunajte vrijednost uvjetne konstante nastajanja kompleksnog spoja.

$$c_M = 1,35 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \quad b = 1,00 \text{ cm}$$

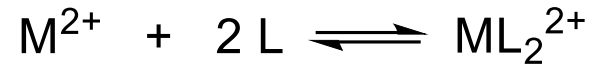
c_L / c_M	A_{520}
0,222	0,068
0,519	0,163
0,889	0,274
1,481	0,419
2,222	0,514
2,963	0,573
3,704	0,608
4,444	0,626
5,185	0,630
5,926	0,630



$$A_{\text{maks}} = 0,630$$

$$\varepsilon = \frac{A_{\text{maks}}}{b c_M} = 4,67 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

- vrijednosti za apsorbanciju otopine (0,514) i početnu koncentraciju liganda ($3,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) uzimaju se u točki gdje je $c_L : c_M = 2:1$



$$[\text{ML}_2^{2+}] = \frac{0,514}{4,67 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \cdot 1 \text{ cm}} = 1,10 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{M}^{2+}]_{\text{slobodni}} = c_M - [\text{ML}_2^{2+}] = 2,49 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$n_L : n_{\text{ML}_2^{2+}} = 2:1$$

$$[\text{L}]_{\text{slobodni}} = 3,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} - 2[\text{ML}_2^{2+}] = 7,97 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$K_f = \frac{[\text{ML}_2^{2+}]}{[\text{M}^{2+}]_{\text{slobodni}} [\text{L}]_{\text{slobodni}}^2} = 6,97 \cdot 10^8$$

- **metoda kontinuirane varijacije**

- pripravi se niz otopina kationa i liganda gdje je njihova množina uvijek stalna, a omjer množina se sustavno mijenja

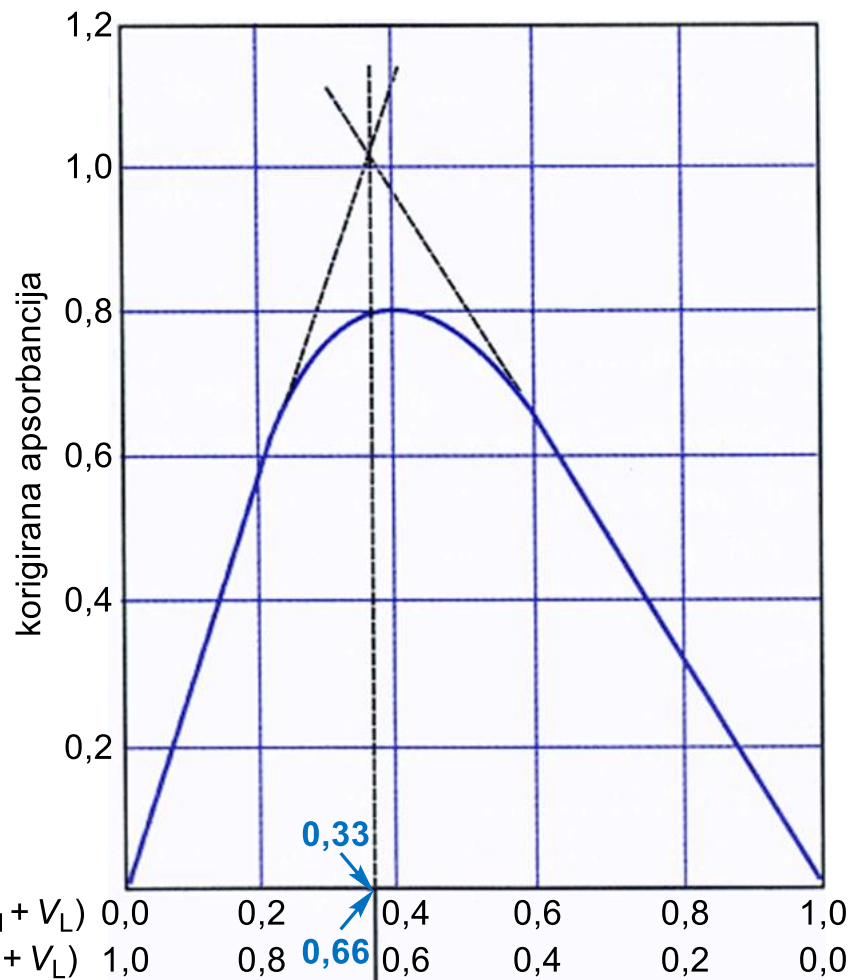
- grafički prikaz: **apsorbancija** u ovisnosti o **koncentracijskom udjelu** jedne od komponenata:

$$c_M / (c_M + c_L)$$

- iz sjecišta tangenti na ravne dijelove krivulje dobiva se sastav kompleksnog spoja

- ako su početne koncentracije komponenata identične, mogu se primijeniti volumni omjeri:

$$V_M / (V_M + V_L)$$



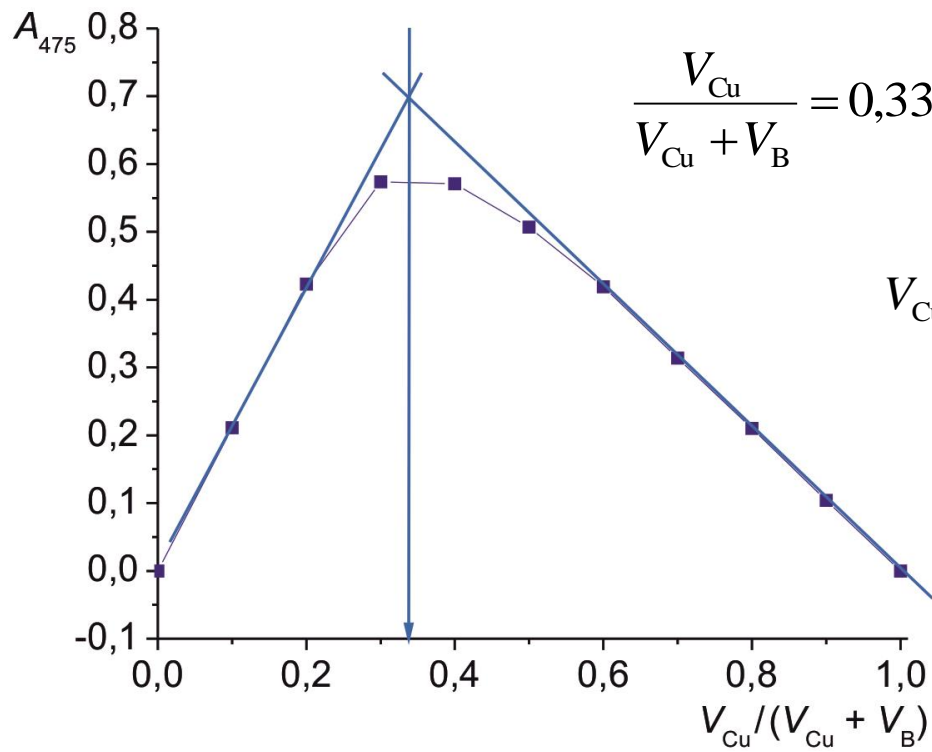
16. a) Bakar(II) tvori kompleksni spoj s ligandom H_2B . Pomoću eksperimentnih podataka prikazanih priloženom tablicom odredite sastav kompleksnog spoja ($b = 1,00 \text{ cm}$).

Otopina	$V_{\text{reaktant}} / \text{mL}$		A_{475}
	$8,00 \cdot 10^{-5} \text{ M Cu}$	$8,00 \cdot 10^{-5} \text{ M H}_2\text{B}$	
0	10,00	0,00	0,000
1	9,00	1,00	0,104
2	8,00	2,00	0,210
3	7,00	3,00	0,314
4	6,00	4,00	0,419
5	5,00	5,00	0,507
6	4,00	6,00	0,571
7	3,00	7,00	0,574
8	2,00	8,00	0,423
9	1,00	9,00	0,211
10	0,00	10,00	0,000

- b) Izračunajte prosječnu molarnu apsorptivnost nastalog kompleksa, uz pretpostavku da je u linearnim područjima krivulje komponenta prisutna u manjoj količini potpuno vezana u kompleksni spoj.
- c) Izračunajte uvjetnu konstantu nastajanja kompleksa, K_f , primjenom stehiometrijskih odnosa koji postoje pod uvjetima maksimalne apsorpcije.

a)

Otopina	$V_{\text{Cu}} / (V_{\text{Cu}} + V_{\text{B}})$	$V_{\text{B}} / (V_{\text{Cu}} + V_{\text{B}})$	A_{475}
0	1,00	0,00	0,000
1	0,90	0,10	0,104
2	0,80	0,20	0,210
3	0,70	0,30	0,314
4	0,60	0,40	0,419
5	0,50	0,50	0,507
6	0,40	0,60	0,571
7	0,30	0,70	0,574
8	0,20	0,80	0,423
9	0,10	0,90	0,211
10	0,00	1,00	0,000



$$\frac{V_{\text{Cu}}}{V_{\text{Cu}} + V_{\text{B}}} = 0,33 \Rightarrow \frac{V_{\text{B}}}{V_{\text{Cu}} + V_{\text{B}}} = 1 - \frac{V_{\text{Cu}}}{V_{\text{Cu}} + V_{\text{B}}} = 0,67$$

$$V_{\text{Cu}} : V_{\text{B}} = 0,33 : 0,67 = 1 : 2$$

Sastav kompleksnog spoja je CuB_2^{2-} .

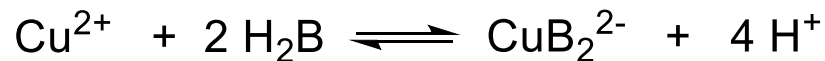
b)
$$A = \varepsilon b c_{\text{CuB}_2} \Rightarrow \varepsilon(\text{CuB}_2^{2-}) = \frac{A}{b c_{\text{CuB}_2}}$$

$$n(\text{H}_2\text{B}) : n(\text{CuB}_2^{2-}) = c_{\text{B}} : c_{\text{CuB}_2} = 2 : 1 \Rightarrow c_{\text{CuB}_2} = \frac{1}{2} c_{\text{B}}$$

Otopina	$V_{\text{Cu}}/(V_{\text{Cu}}+V_{\text{B}})$	$V_{\text{B}}/(V_{\text{Cu}}+V_{\text{B}})$	$c_{\text{Cu}}/\text{mol L}^{-1}$	$c_{\text{B}}/\text{mol L}^{-1}$	A_{475}	$\varepsilon(\text{CuB}_2)/\text{L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$
0	1,00	0,00	-	-	0,000	-
1	0,90	0,10	-	$8,00 \cdot 10^{-6}$	0,104	$2,60 \cdot 10^4$
2	0,80	0,20	-	$1,60 \cdot 10^{-5}$	0,210	$2,63 \cdot 10^4$
3	0,70	0,30	-	$2,4 \cdot 10^{-5}$	0,314	$2,62 \cdot 10^4$
4	0,60	0,40	-	$3,2 \cdot 10^{-5}$	0,419	$2,62 \cdot 10^4$
5	0,50	0,50	-	-	0,507	-
6	0,40	0,60	-	-	0,571	-
7	0,30	0,70	-	-	0,574	-
8	0,20	0,80	$1,60 \cdot 10^{-5}$	-	0,423	$2,64 \cdot 10^4$
9	0,10	0,90	$8,00 \cdot 10^{-6}$	-	0,211	$2,64 \cdot 10^4$
10	0,00	1,00	-	-	0,000	-

$$\bar{\varepsilon}(\text{CuB}_2^{2-}) = \frac{\varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \varepsilon_3 + \varepsilon_4 + \varepsilon_8 + \varepsilon_9}{6} = 2,62 \cdot 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$$c) A_{\max}(\text{CuB}_2^{2-}) = 0,574$$



$$c_{\text{Cu}} = \frac{3 \cdot 8,00 \cdot 10^{-5}}{10} = 2,40 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} \quad c_{\text{B}} = \frac{7 \cdot 8,00 \cdot 10^{-5}}{10} = 5,60 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{CuB}_2^{2-}] = \frac{0,574}{\bar{\varepsilon}(\text{CuB}_2^{2-})} = 2,19 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{slobodni}} = c_{\text{Cu}} - [\text{CuB}_2^{2-}] = 2,12 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$$

$$n_{\text{H}_2\text{B}} : n_{\text{CuB}_2} = 2 : 1 \quad [\text{H}_2\text{B}]_{\text{slobodni}} = c_{\text{B}} - 2[\text{CuB}_2^{2-}] = 1,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

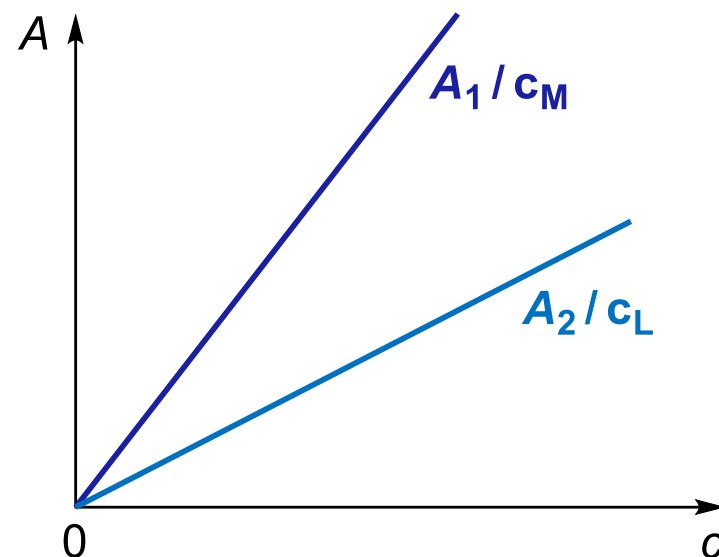
$$K_f = \frac{[\text{CuB}_2^{2-}]}{[\text{Cu}^{2+}]_{\text{slobodni}} [\text{H}_2\text{B}]_{\text{slobodni}}^2} = 6,88 \cdot 10^{10}$$

- **metoda omjera nagiba pravaca**

- prikladno za slabe komplekse
- mogu se analizirati sustavi gdje nastaje samo jedan kompleks
- **pretpostavka:** dodatkom suviška bilo kojeg od reaktanata postiže se potpunost reakcije i sukladnost Beer-Lambertovom zakonu
- pretpostavljena reakcija:



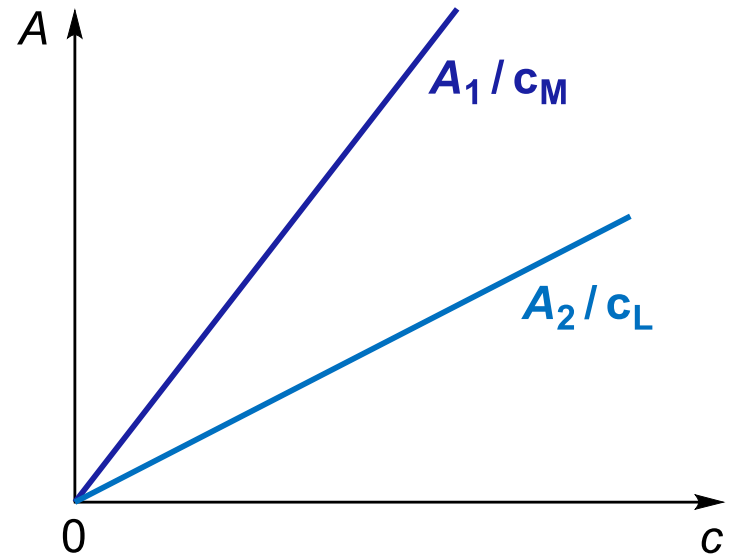
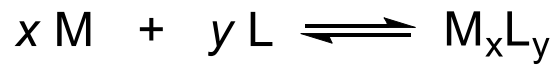
- **ligand u suvišku** \Rightarrow apsorbancija kompleksa ovisna o promjeni koncentracije metalnog iona
- nagib pravca: **$\text{tg } \alpha_1 = A_1 / c_M$**



- **metal u suvišku** \Rightarrow apsorbancija kompleksa ovisna o promjeni koncentracije liganda
- nagib pravca: **$\text{tg } \alpha_2 = A_2 / c_L$**

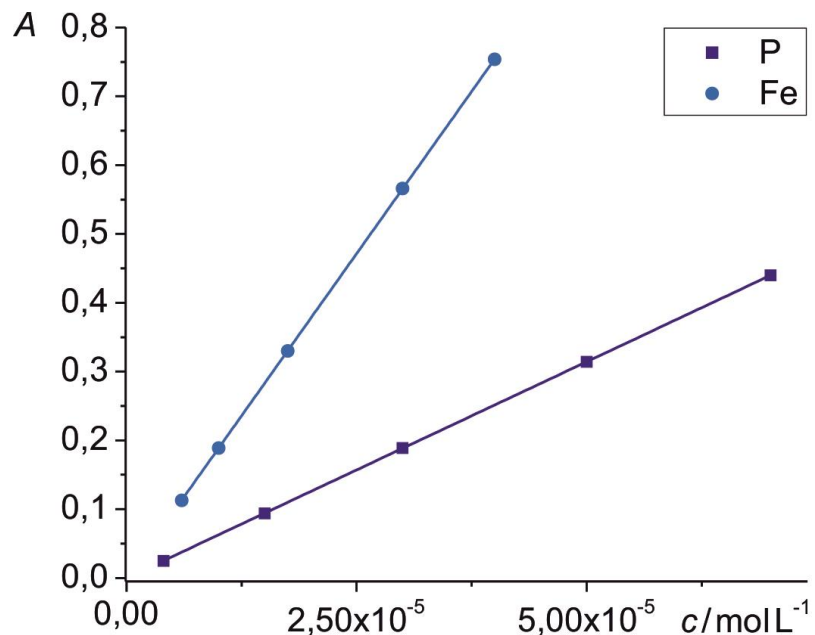
- konačan odnos:

$$\frac{\frac{A_1}{c_M}}{\frac{A_2}{c_L}} = \frac{ab \frac{c_M}{x} / c_M}{ab \frac{c_L}{y} / c_L} = \frac{y}{x} = \frac{\operatorname{tg} \alpha_1}{\operatorname{tg} \alpha_2}$$



17. Željezo(II) tvori kelat s ligandom P. Odredite sastav spoja FeP_n pomoću podataka priloženih u tablici ($b = 1,00 \text{ cm}$).

$c(\text{Fe}) = 2,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$		$c(\text{P}) = 2,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	
$c(\text{P}) / \text{mol L}^{-1}$	A	$c(\text{Fe}) / \text{mol L}^{-1}$	A
$4,00 \cdot 10^{-6}$	0,025	$6,00 \cdot 10^{-6}$	0,113
$1,50 \cdot 10^{-5}$	0,094	$1,00 \cdot 10^{-5}$	0,189
$3,00 \cdot 10^{-5}$	0,189	$1,75 \cdot 10^{-5}$	0,330
$5,00 \cdot 10^{-5}$	0,314	$3,00 \cdot 10^{-5}$	0,566
$7,00 \cdot 10^{-5}$	0,440	$4,00 \cdot 10^{-5}$	0,754



$$A(\text{P}) = a(\text{P}) c(\text{P}) + b(\text{P})$$

$$A(\text{Fe}) = a(\text{Fe}) c(\text{Fe}) + b(\text{Fe})$$

$$A(\text{P}) = 6286,91 c(\text{P}) - 9,74 \cdot 10^{-5}$$

$$A(\text{Fe}) = 18850,46 c(\text{Fe}) - 1,95 \cdot 10^{-4}$$

$$\frac{a(\text{Fe})}{a(\text{P})} = \frac{n(\text{P})}{n(\text{Fe})} = \frac{3}{1}$$

Sastav kompleksnog spoja je FeP_3 .

Spektrofluorimetrija



- fluorescencija u laboratoriju (PMF, Zagreb)



- fluorescencija u živom svijetu (S.E.A. Aquarium, Singapur)

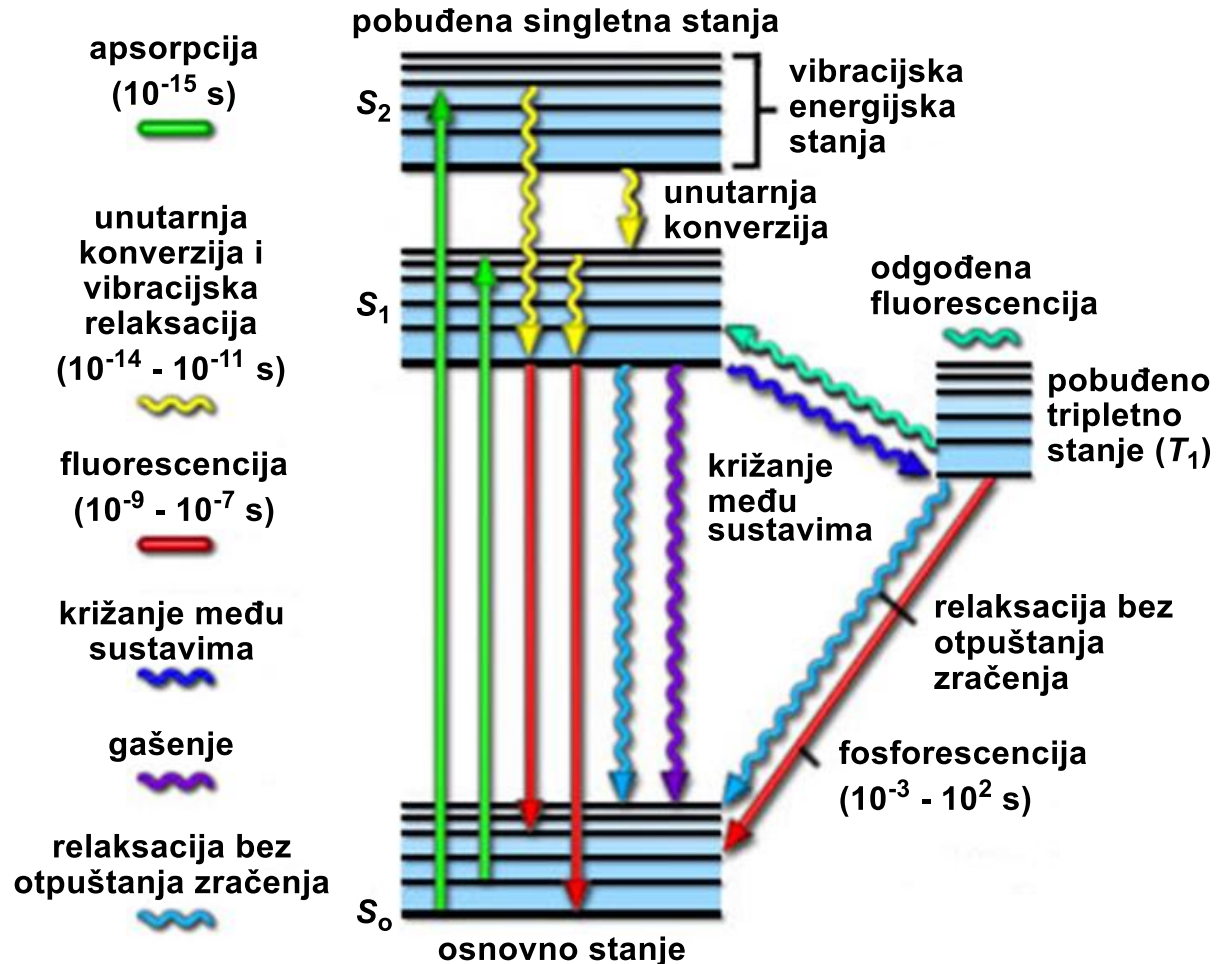
- **fluorescencija** - svojstvo nekih atoma i molekula da apsorbiraju zračenje određene valne duljine i potom emitiraju zračenje veće valne duljine
- emisija se odvija nakon kratkog vremenskog razdoblja - fluorescencijsko vrijeme trajanja vrlo kratko
- **fluorescencijski proces** - tri stupnja odvojena na vremenskoj ljestvici:
 - 1) **pobuda (ekscitacija)**
 - 2) **vibracijska relaksacija**
 - 3) **emisija fotona duljih valnih duljina i povratak u osnovno stanje**
- visokokonjugirane policikličke aromatske molekule s rigidnom strukturom snažno fluoresciraju

- energijske razine uključene u apsorpciju i emisiju zračenja uzorka klasično se prikazuju energijskim dijagramom po Jablonskom:



Alexander Jablonski
(1898-1980)

- Alexander Jablonski, poljski fizičar



- svaka pojedina molekula posjeduje nekoliko različitih elektronskih stanja (S_0 , S_1 , S_2), ovisno o sveukupnoj elektronskoj energiji i simetriji različitih elektronskih spinskih stanja
- svako elektronsko stanje dijeli se u niz vibracijskih i rotacijskih stanja povezanih s atomskim jezgrama i veznim orbitalama
- osnovno stanje - za većinu organskih molekula je elektronski singlet sa spinski sparenim elektronima
- pri sobnoj temperaturi malo molekula ima dovoljno unutrašnje energije za postizanje bilo kojeg drugog stanja osim najnižeg vibracijskog stanja osnovnog stanja
- stoga pobudni procesi obično potječu iz tog energijskog stanja

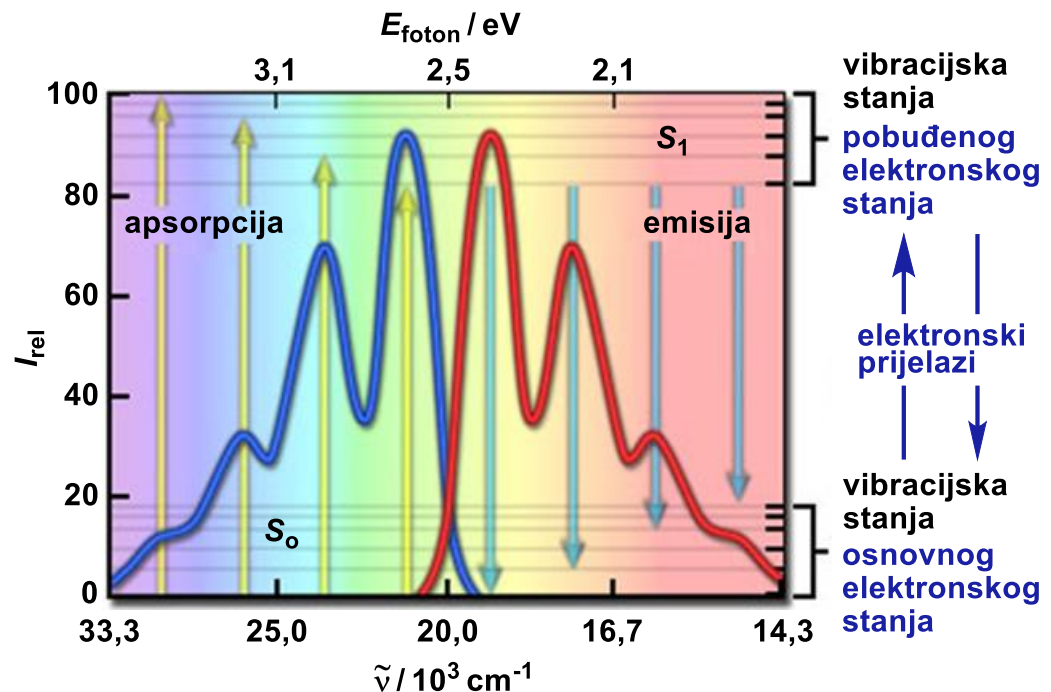
- apsorpcija energije se odvija između blisko smještenih vibracijskih i rotacijskih razina pobuđenih stanja u različitim molekulskim orbitalama
- tipičan dijagram po Jablonskom prikazuje singletno osnovno stanje S_0 , te prvo i drugo pobuđeno singletno stanje, S_1 i S_2
- skupina horizontalnih linija su elektronska i vibracijska energijska stanja, dok su rotacijske energije izostavljene
- prijelazi između stanja prikazani su ravnim ili valovitim strelicama:
 - ravne strelice: apsorpcija ili emisija fotona
 - valovite strelice: molekulska unutrašnja konverzija (pretvorba) ili relaksacijski proces bez otpuštanja zračenja (znatno dulji proces na vremenskoj skali)

- hipotetski apsorpcijski spektar (označen plavom linijom) nastaje zbog nekoliko preferiranih elektronskih prijelaza iz osnovnog stanja u najniže pobuđeno stanje (S_0 i S_1)
 - žute linije: prijelazi iz najniže vibracijske razine osnovnog stanja u više vibracijske energijske razine pobuđenog stanja
- apsorpcijski spektar = pobudni (ekscitacijski) spektar

- snimanje emisijskog (fluorescencijskog) spektra - crvena linija

- pobuda jednom valnom duljinom, ponajprije onom najviše apsorpcije

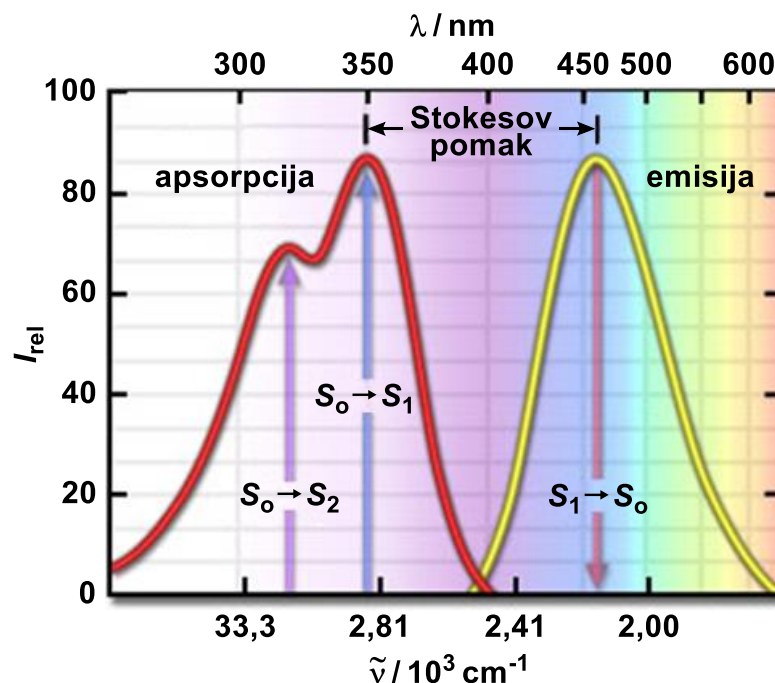
Hipotetski apsorpcijski i fluorescencijski spektar



- pobudni i emisijski spektar
 - raspodjela vjerojatnosti da će se foton neke kvantne energije apsorbirati i omogućiti u molekuli emisiju drugog fotona u obliku fluorescencijskog zračenja
- otopine
 - detaljna vibracijska struktura se općenito gubi i ostaje emisijski spektar kao široka vrpca
- vjerojatnost da se neki elektron emisijom vrati u određenu vibracijsku energijsku razinu osnovnog stanja slična je vjerojatnosti nalaženja tog elektrona u tom položaju, u osnovnom stanju, prije ekscitacije
 - stoga je emisijski spektar zrcalna slika apsorpcijskog

- apsorpcijski i emisijski spektar kinina
 - prirodni antimalarijski agens,
 - prvi poznati fluorescirajući spoj, fluorescencijska svojstva opisana 1845.
 - ne podliježe pravilu zrcalne slike (samo jedan maksimum pri 460 nm)
 - kratkovalna UV apsorpcija pri 310 nm nastaje zbog pobudnog prijelaza u drugo pobuđeno stanje (S_2) iz kojeg se brzo opušta u najniže pobuđeno stanje S_1
 - fluorescencijska emisija se odvija iz najnižeg pobuđenog singletnog stanja

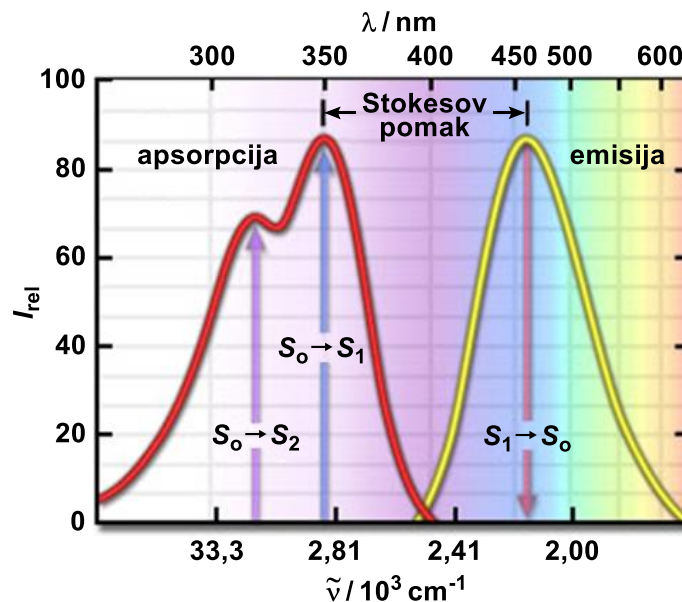
Apsorpcijski i emisijski spektar kinina



• Stokesov pomak

- energija povezana s fluorescencijskim emisijskim prijelazima tipično je manja od one apsorpcijskih
- rezultirajući emitirani fotoni imaju manju energiju i pomaknuti su prema višim valnim duljinama

Stokesov pomak u spektrima kinina



- Sir George G. Stokes (13.08.1819., Skreen, Irska – 01.02.1903., Cambridge, UK)
- irsko-engleski fizičar i matematičar
- prvi opisao fluorescenciju 1852. godine
- otkrio pomak valnih duljina prema višim vrijednostima

- **fluorescentne vrste**

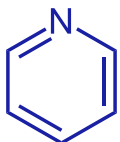
- sve molekule koje apsorbiraju imaju eventualnu mogućnost fluorescencije
- većina spojeva ne fluorescira jer njihova struktura dopušta relaksaciju bez otpuštanja zračenja bržu od fluorescencijske emisije

- **kvantno iskorištenje** (kvantni prinos ili kvantna djelotvornost) molekulske fluorescencije

- omjer broja fluorescirajućih molekula i ukupnog broja pobuđenih molekula
- može se definirati i kao omjer emitiranih i apsorbiranih fotona
- visokofluorescentne molekule (npr. fluorescein) imaju kvantni prinos ≈ 1
- kvantna djelotvornost fluorescencije opada s porastom temperature
- povećana učestalost kolizija pri povišenim temperaturama povećava vjerojatnost kolizijske relaksacije
- smanjenje viskoznosti otapala smanjuje kvantno iskorištenje

• fluorescencija i struktura

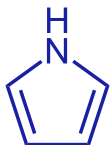
- supstitucija mijenja fluorescencijska svojstva aromatskih ugljikovodika
- većina nesupstituiranih aromatskih ugljikovodika fluorescira u otopini
- kvantno iskorištenje se povećava s brojem prstena i stupnjem kondenzacije
- jednostavni heterociklički spojevi ne fluoresciraju:



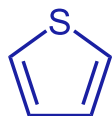
piridin



furan



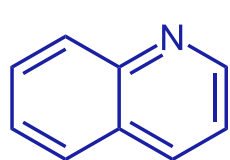
pirol



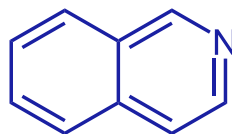
tiofen

Tvar	Relativni intenzitet fluorescencije
benzen	10
toluen	17
propilbenzen	17
fluorbenzen	10
klorbenzen	7
brombenzen	5
jodbenzen	0
fenol	18
fenolatni ion	10
anisol	20
anilin	20
benzojeva kiselina	3
nitrobenzen	0

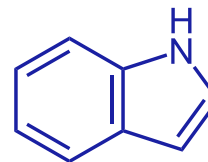
- kondenzirane strukture koje sadrže heterocikličke spojeve fluoresciraju



kinolin

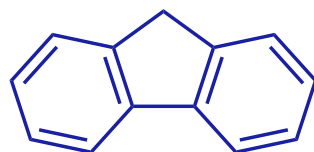


izokinolin



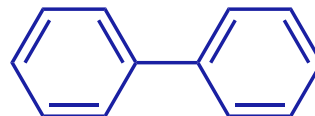
indol

- fluorescencija je posebice povoljna u rigidnim molekulama zbog smanjene brzine relaksacije bez otpuštanja zračenja



fluoren

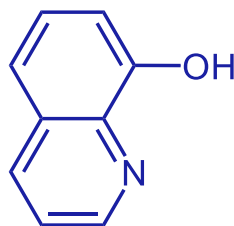
$\Phi \rightarrow 1$



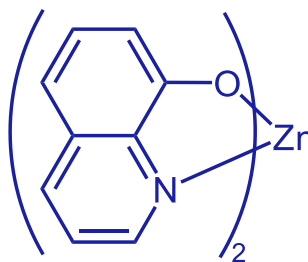
bifenil

$\Phi \rightarrow 0,2$

- rigidnost može objasniti povećanje fluorescencije nekih kelatnih agensa pri kompleksiranju s metalnim ionima:



ne fluorescira



fluorescira

- **fluorescencijski intenzitet i koncentracija**

- snaga fluorescencijskog zračenja proporcionalna je snazi zračenja pobudnog snopa koji se apsorbira u sustavu:

$$F = K'(P_0 - P)$$

P_0 = snaga upadnog zračenja

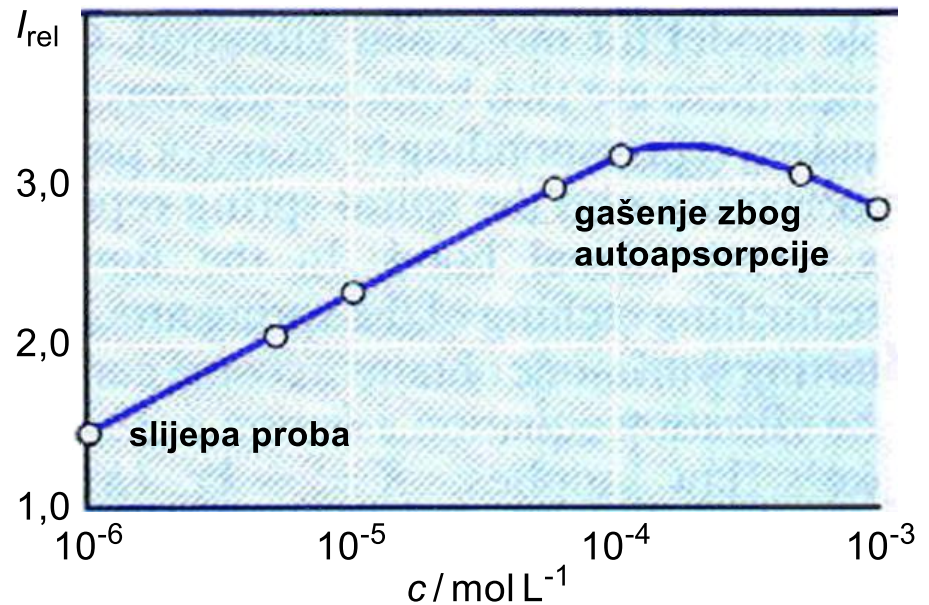
P = snaga snopa nakon prolaza duljinom b sredstva

K' = veličina ovisna o kvantnom iskorištenju fluorescentnog sustava

- Beer-Lambertov zakon:

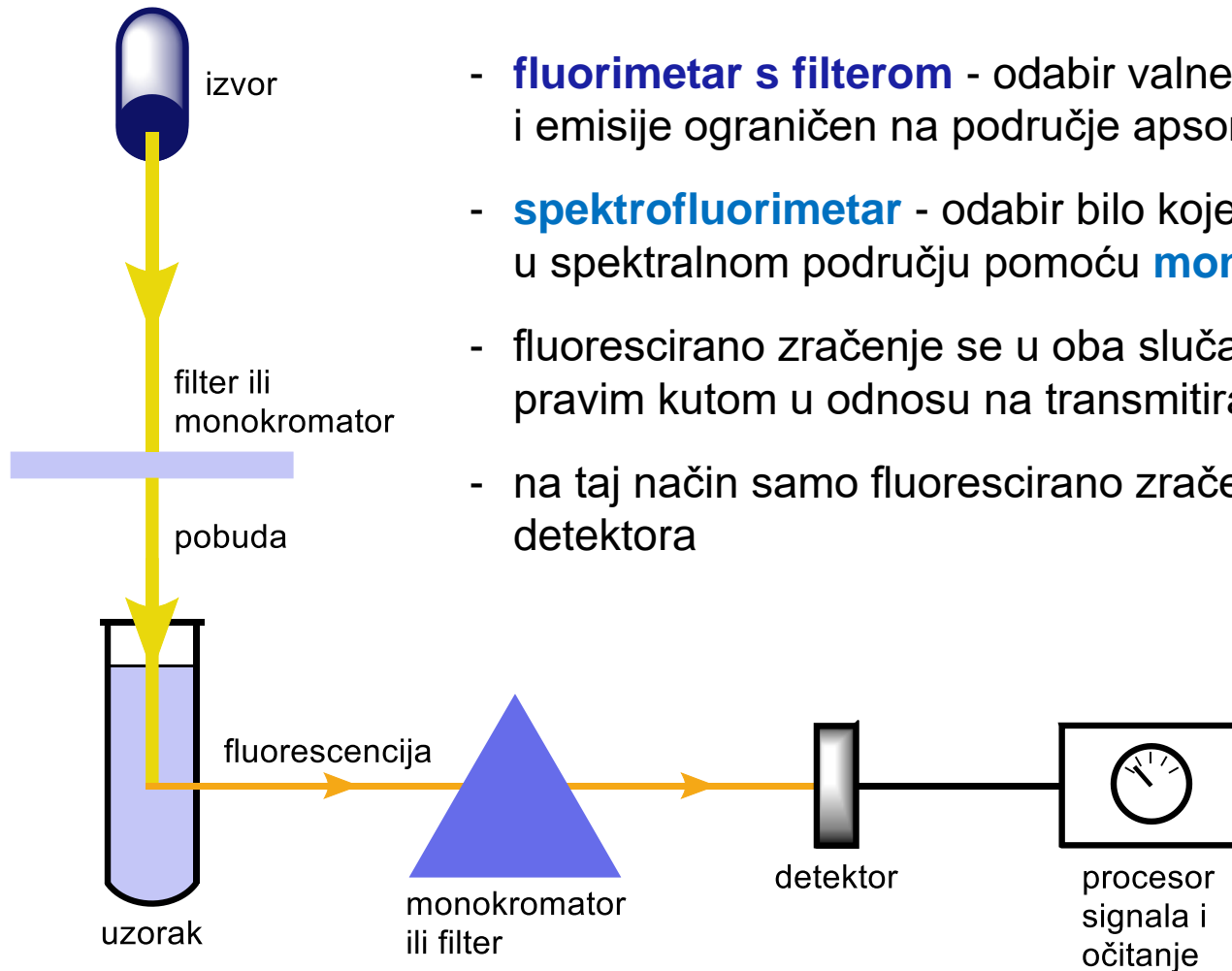
$$\frac{P}{P_0} = 10^{-\varepsilon b c}$$

- konačan odnos: $F = k c$



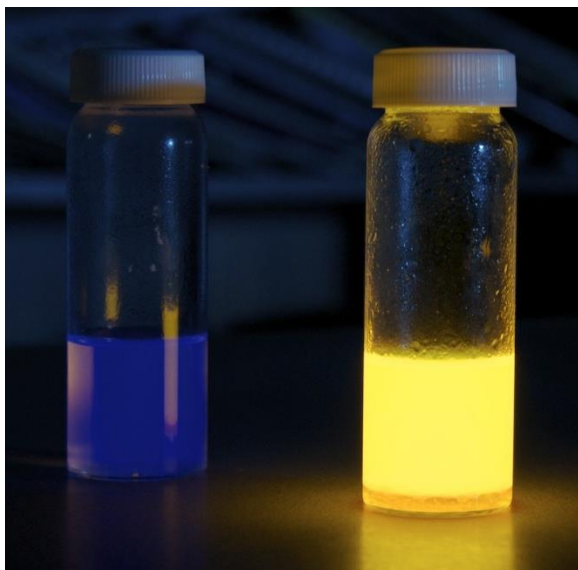
- **gašenje fluorescencije** može biti prouzrokovano interakcijom analita s fluorescentnim reagensom

- shema fluorimetra s filterom i spektrofluorimetra



- **fluorimetar s filterom** - odabir valne duljine pobude i emisije ograničen na područje apsorpcije **filtera**
- **spektrofluorimetar** - odabir bilo koje valne duljine u spektralnom području pomoću **monokromatora**
- fluorescirano zračenje se u oba slučaja prikuplja pod pravim kutom u odnosu na transmitirano zračenje
- na taj način samo fluorescirano zračenje dolazi do detektora

- primjena fluorescencijskih metoda
 - kvantitativna analiza: organske, anorganske i biokemijske vrste
 - biomedicinsko fluorescencijsko oslikavanje³
 - nanomedicina i nanoteranostika (terapeutika + dijagnostika)



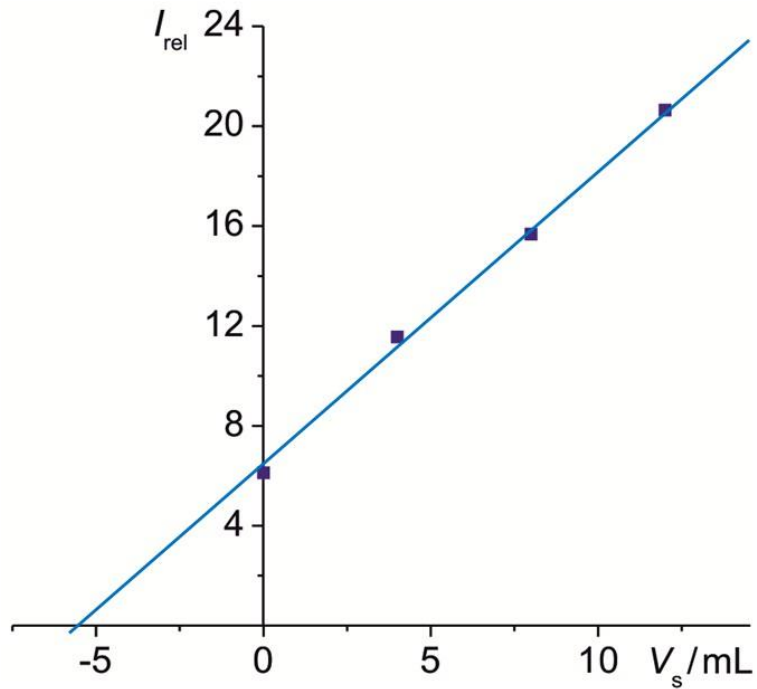
3. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:GFP_Mice_01.jpg

18. Alikvoti od 5,00 mL otopine uzorka koji je sadržavao cink prebačeni su u lijevke za odjeljivanje. Otopinama uzorka dodani su sljedeći volumeni standardne otopine cinka koncentracije 1,10 ppm: 0,00; 4,00; 8,00 i 12,00 mL. Svaka tako pripravljena otopina ekstrahirana je s tri alikvota od po 5 mL CCl_4 koji je sadržavao suvišak 8-hidroksikinolina. Pripadni ekstrakti su sakupljeni i svaka je otopina razrijeđena na 25,00 mL. Izmjereni fluorescencijski intenziteti navedeni su u priloženoj tablici.

V_s / mL	I_{rel}
0,00	6,12
4,00	11,56
8,00	15,68
12,00	20,64

- Grafički prikažite podatke
- Izvedite jednadžbu metodom najmanjih kvadrata za napravljene crtež.
- Izračunajte koncentraciju cinka u uzorku nepoznate koncentracije.

a)



b) $V_x = 5,00 \text{ mL}$ $V_t = 25,00 \text{ mL}$

$\gamma_s = 1,10 \text{ ppm}$

$$I_{rel} = a V_s + b$$

$$I_{rel} = 1,192 V_s + 6,348$$

c)

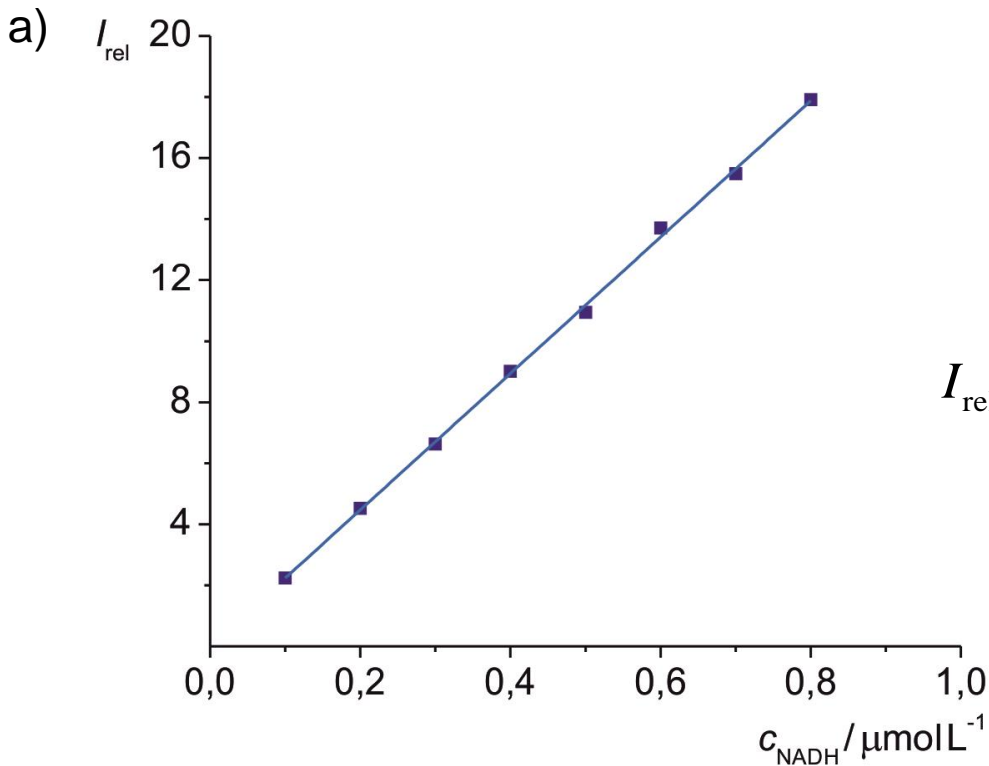
$$\gamma_x = \frac{b \gamma_s}{a V_x} = 1,17 \text{ ppm}$$

19. Reducirani oblik nikotinamid adenin dinukleotida (NADH) vrlo je fluorescentan koenzim. Njegov se apsorpcijski maksimum pojavljuje pri 340 nm, a emisijski pri 465 nm. Mjerenjem fluorescencijskih intenziteta standardnih otopina NADH dobiveni su podaci prikazani tablicom:

$c_{\text{NADH}} / \mu\text{mol L}^{-1}$	I_{rel}
0,100	2,24
0,200	4,52
0,300	6,63
0,400	9,01
0,500	10,94
0,600	13,71
0,700	15,49
0,800	17,91

- Nacrtajte baždarni pravac i izvedite jednadžbu metodom najmanjih kvadrata.
- Izračunajte standardno odstupanje nagiba i regresije.
- Izračunajte koncentraciju NADH u uzorku čiji je relativni intenzitet 12,16.

- d) Izračunajte relativno standardno odstupanje rezultata dobivenog pod c).
- e) Izračunajte relativno standardno odstupanje rezultata iz c), uz pretpostavku da je podatak 12,16 srednja vrijednost tri mjerenja.



$$I_{\text{rel}} = a c_{\text{NADH}} + b$$

$$I_{\text{rel}} = 22,346 c_{\text{NADH}} + 3,571 \cdot 10^{-4}$$

$$\text{b) } s_a = \sqrt{s_r^2 / S_{xx}} = 0,270 \qquad s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - a^2 S_{xx}}{N - 2}} = 0,175$$

$$\text{c) } I_{\text{rel}} = 12,16$$

$$I_{\text{rel}} = 22,346 c_{\text{NADH}} + 3,571 \cdot 10^{-4} \Rightarrow c_{\text{NADH}} = \frac{12,16 - 3,571 \cdot 10^{-4}}{22,346} = 0,544 \text{ ppm}$$

$$\text{d) } N = 8 \quad M = 1 \quad \bar{y}_c = 12,16$$

$$\text{e) } N = 8 \quad M = 3 \quad \bar{y}_c = 12,16$$

$$s_c = \frac{s_r}{a} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{a^2 S_{xx}}} = 0,008$$

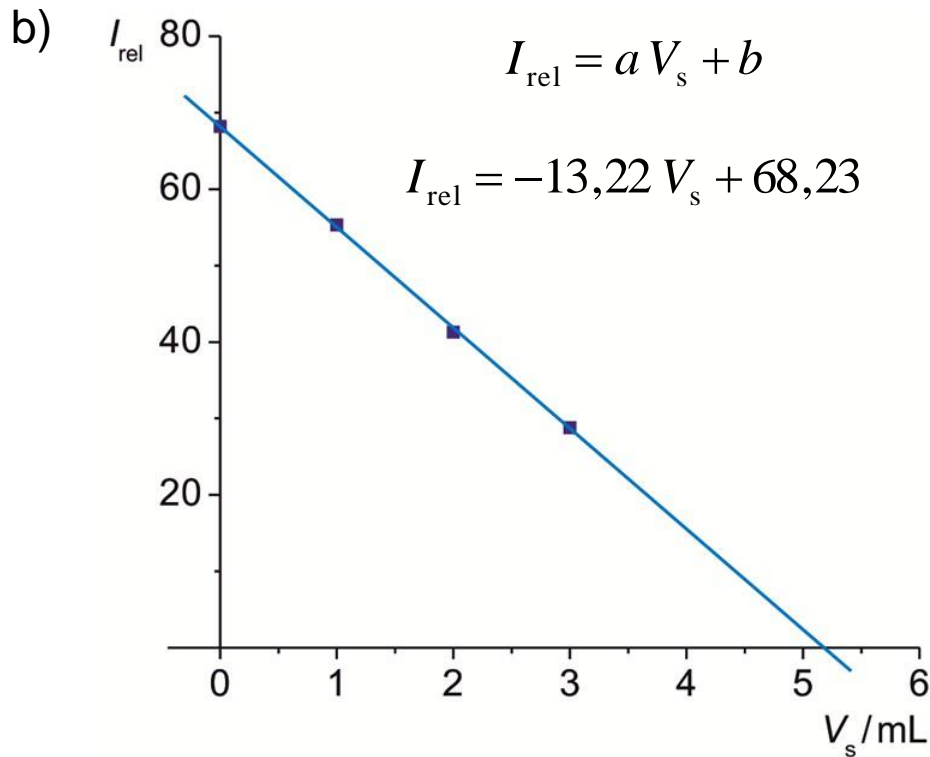
$$s_c = \frac{s_r}{a} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{a^2 S_{xx}}} = 0,005$$

20. Za analizu su uzeta 4 alikvota od po 5,00 mL uzorka vode. Alikvotima je dodano po 0,00; 1,00; 2,00 i 3,00 mL standardne otopine NaF koja je sadržavala 10,0 ppb F⁻. Zatim je u svaku otopinu dodano po 5,00 mL otopine koja je sadržavala snažno fluorescentan kompleks Al-Alizarin Garnet R, te su otopine nadopunjene do 50,00 mL. Izmjereni su sljedeći fluorescencijski intenziteti pripremljenih otopina:

V_{uz} / mL	V_s / mL	I_{rel}
5,00	0,00	68,2
5,00	1,00	55,3
5,00	2,00	41,3
5,00	3,00	28,8

- Objasnite kemijsku pozadinu analitičkog postupka.
- Pomoću metode najmanjih kvadrata izvedite jednadžbu koja povezuje smanjenje fluorescencijskog intenziteta i volumen standardne otopine.
- Izračunajte standardno odstupanje nagiba i regresije.
- Izračunajte količinu fluorida u uzorku i izrazite je u ppb.

a) Postupak se temelji na gašenju fluorescencije - dodatkom reagensa NaF smanjuje se intenzitet fluorescencije kompleksa Al-Alizarin Garnet R



c)

$$s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - a^2 S_{xx}}{N - 2}} = 0,435$$

$$s_a = \sqrt{s_r^2 / S_{xx}} = 0,194$$

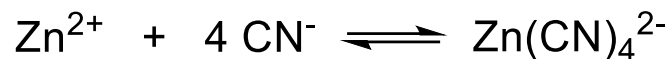
$$s_b = s_r \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{N \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}} = 0,364$$

d) $V_x = 5,00 \text{ mL}$ $\gamma_s = 10,0 \text{ ppb}$

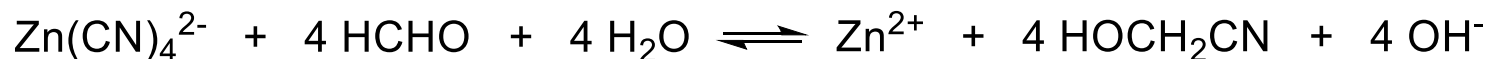
$$\gamma_{\text{uz}} = |\gamma_x| = \frac{b \gamma_s}{a V_x} = 10,3 \text{ ppb}$$

DODATNI ZADACI I PITANJA

21. a) Uzorak (0,4085 g) koji je sadržavao olovo, magnezij i cink, otopljen je i obrađen cijanidnim ionima koji tvorbom kompleksa maskiraju cink:



Za titraciju olova i magnezija utrošeno je 42,22 mL otopine EDTA koncentracije $0,02064 \text{ mol L}^{-1}$. Olovo je potom maskirano pomoću 2,3-dimerkaptopropanola, a oslobođena EDTA titrirana je s 19,35 mL otopine magnezija koncentracije $0,007857 \text{ mol L}^{-1}$. Konačno je uveden formaldehid za demaskiranje cinka:



koji je zatim titriran s 28,63 mL otopine EDTA koncentracije $0,02064 \text{ mol L}^{-1}$. Izračunajte masene udjele (%) sva tri metala u uzorku.

- b) Može li se EDTA koristiti kao titracijski reagens u spektrofotometrijskoj titraciji? Obrazložite.

a) $w(\text{Pb}) = 7,52\%$ $w(\text{Mg}) = 4,31\%$ $w(\text{Zn}) = 9,46\%$

- b) EDTA se može koristiti kao reagens u spektrofotometrijskoj titraciji, ako dobiveni kompleksni spoj absorbira u UV-Vis području.

22. Uzorak 24-satnog urina razrijeđen je na 2,00 L. Nakon ugađanja pH otopine, alikvot od 10,00 mL titriran je s 26,81 mL otopine EDTA koncentracije $0,003474 \text{ mol L}^{-1}$. U drugom alikvotu od 10,00 mL Ca^{2+} je kvantitativno istaložen kao CaC_2O_4 , odfiltriran i zatim ponovno otopljen u kiselini. Titracijom je utrošeno 11,63 mL otopine EDTA.

- a) Dnevne količine od 15–300 mg magnezija odnosno 50–400 mg kalcija u urinu normalne su vrijednosti. Pripada li ovaj uzorak urina zdravoj osobi?
- b) Može li se EDTA koristiti kao titracijski reagens u spektrofotometrijskoj titraciji? Objasnite.

a) $m(\text{Ca}^{2+}) = 324 \text{ mg}$

$m(\text{Mg}^{2+}) = 256 \text{ mg}$

23. Molarna apsorptivnost slabe kiseline HX ($K_a = 1,00 \cdot 10^{-5}$) iznosi $1100 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ pri 305 nm. Pri toj valnoj duljini kiselinski anion ne apsorbira. Na temelju vrijednosti apsorbanacija za otopine HX koncentracije $1,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $5,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ i $2,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ izmjerenih u kiveti debljine 1,00 cm, predvidite hoće li sustav biti u skladu s Beer-Lambertovim zakonom pri 305 nm. Objasnite!

za $c(\text{HX}) = 1,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $A_{\text{analit}} = 1,100$ $A_{\text{prava}} = 0,995$

za $c(\text{HX}) = 5,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ $A_{\text{analit}} = 0,550$ $A_{\text{prava}} = 0,478$

za $c(\text{HX}) = 2,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ $A_{\text{analit}} = 0,220$ $A_{\text{prava}} = 0,176$

24. Logaritam molarne apsorptivnosti acetona u etanolu iznosi 2,75. Izračunajte koncentracijsko područje acetona koje se može upotrijebiti, ako transmitancija mora biti veća od 10% i manja od 90%, uz primjenu kiveta od 1,50 cm.

$$5,42 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} < c < 1,19 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$$

25. Transmitancije otopina B i D supstancije X iznose 15,85%, odnosno 50,12%. U kojem volumnom omjeru je potrebno pomiješati otopine B i D za pripremu otopine transmitancije 21,13%? Pretpostavite da se sva mjerenja provode u istoj kiveti i pri istoj valnoj duljini.

$$V_B : V_D = 3 : 1$$

26. Količina željeza u izvorskoj vodi određena je sljedećim postupkom. U 25,0 mL uzorka dodani su dušična kiselina i suvišak tiocijanata, a tako dobivena otopina razrijeđena je do 50,0 mL. Otopina željeza volumena 10,0 mL i koncentracije $7,30 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ obrađena je na isti način. Slaganje u boji postignuto je kada je duljina puta svjetlosti kroz otopinu standarda iznosila 2,62 cm, a duljina puta svjetlosti kroz uzorak 1,98 cm. Izračunajte koncentraciju željeza (ppm) u uzorku izvorske vode.

$$\gamma(\text{Fe}) = 107,9 \text{ ppm}$$

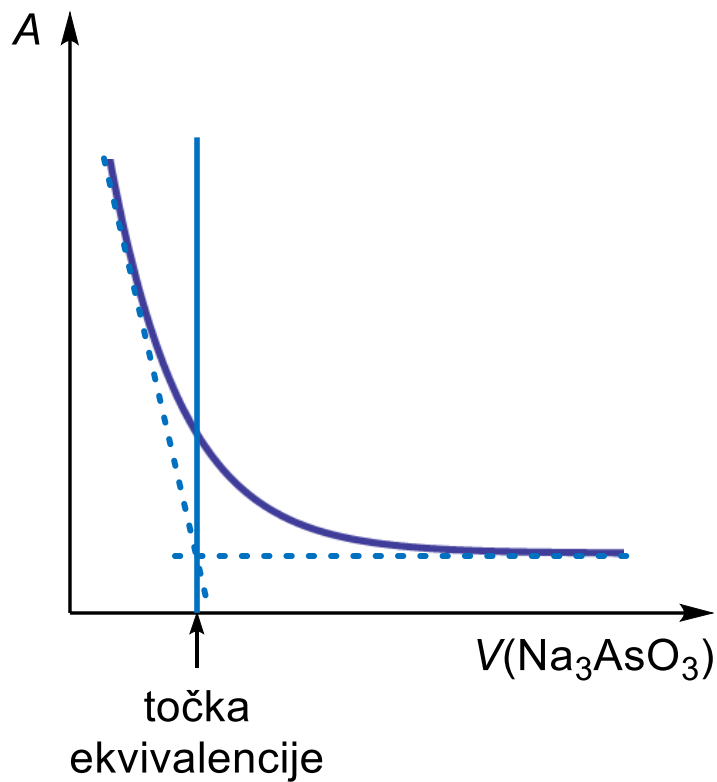
27. Spektrofotometrijski je analiziran sadržaj mangana u uzorku čelika. Za analizu je uzeto 1,0000 g uzorka. Mangan je oksidiran u permanganovu kiselinu, a otopina je razrijeđena do točno 500 mL. Pri 545 nm izmjerena je vrijednost apsorbancije 0,680 u kiveti debljine 2,0 cm.
- Ako je molarna apsorptivnost permanganove kiseline pri 545 nm $3 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, koliko mangana (izraženo u %) sadrži uzorak čelika?
 - Baždarna krivulja dobivena pomoću standardnih otopina KMnO_4 linearna je i prolazi kroz ishodište. Baždarna krivulja dobivena pomoću standardnih uzoraka čelika s različitim sadržajem mangana također je linearna, ali ne prolazi kroz ishodište. Mjerenjem standardnih uzoraka čelika s različitim sadržajem Mn, Cr, V i Mo dobiven je niz raspršenih točaka. Objasnite!
 - Primjenom drugih metoda analize utvrđeno je da je rezultat dobiven mjerenjem apsorbancije povišen u odnosu na stvarni sadržaj mangana. Nakon selektivne redukcije permanganatnog iona nađeno je da "slijepi" (referentni) uzorak ima apsorbanciju 0,160 mjerenu u kiveti debljine 4,0 cm. Koliki je pravi sadržaj Mn u uzorku čelika?
 - Otpipetirano je 20,0 mL oksidirane otopine uzorka čelika i spektrofotometrijski titrirano otopinom natrijeva arsenita koncentracije $0,001 \text{ mol L}^{-1}$, koji selektivno reducira permanganatni ion do Mn(II). Skicirajte i objasnite titracijsku krivulju.

a) $w(\text{Mn}) = 0,311\%$

c) $w(\text{Mn}) = 0,275\%$

d) $V = 20,0\text{mL}$

$c(\text{Na}_3\text{AsO}_3) = 0,001\text{molL}^{-1}$

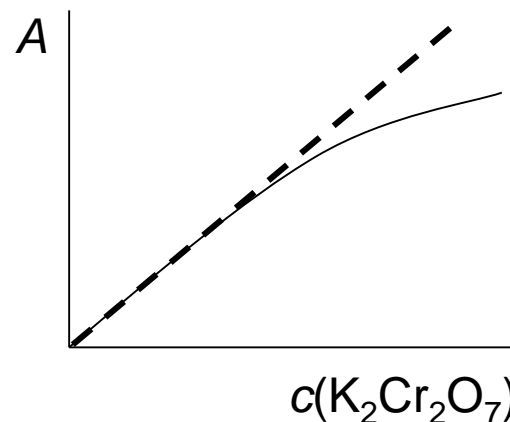
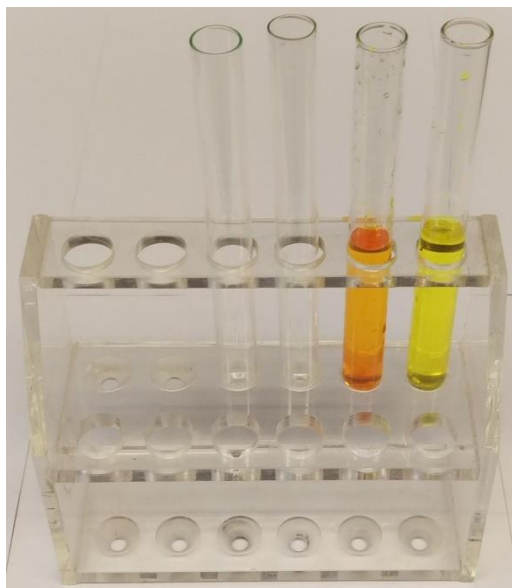


28. Apsorpcijski maksimum kalijevog bikromata pojavljuje se u vidljivom dijelu spektra pri 450 nm. Dvostrukim, trostrukim, odnosno četverostrukim razrjeđivanjem otopine $K_2Cr_2O_7$ koncentracije $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$ pripreme se otopine analitičkih koncentracija $0,0500 \text{ mol L}^{-1}$; $0,0333 \text{ mol L}^{-1}$, odnosno $0,025 \text{ mol L}^{-1}$.

Skicirajte i objasnite baždarnu krivulju za spektrofotometrijsko određivanje kalijevog bikromata pri 450 nm, ako u otopinama pri razrjeđivanju postoje sljedeće ravnoteže:



Kako se mogu izbjeći poteškoće koje se javljaju?



- odstupanje od linearnosti (dva oblika ovisna o pH)
- linearnost se postiže uz $\text{pH} = \text{konst.}$ (pufer)

29. Podaci o molarnim apsorpcijskim koeficijentima za kobaltov i niklov kompleks s 2,3-kinoksalinditiolom (L) prikazani su u tablici:

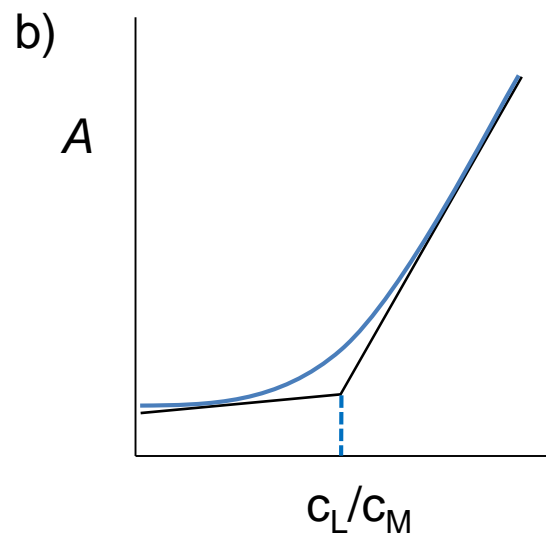
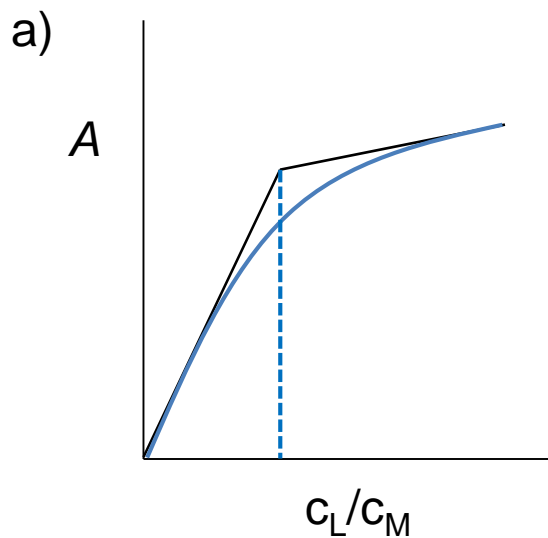
Kompleks	$\epsilon_{510} / \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	$\epsilon_{656} / \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
Co-L	36400	1240
Ni-L	5520	17500

Uzorak mase 0,425 g otopljen je i razrijeđen do 50,0 mL; alikvot od 25,0 mL obrađen je s ciljem uklanjanja interferencija; nakon dodatka 2,3-kinoksalinditiola otopina je nadopunjena do 50,0 mL. U kiveti debljine 1,00 cm izmjerena je apsorbanca tako pripravljene otopine, te su dobiveni podaci: $A(510 \text{ nm}) = 0,446$; $A(656 \text{ nm}) = 0,326$. Izračunajte sadržaj kobalta i nikla u izvornom uzorku i rezultat analize izrazite u ppm.

$$w(\text{Ni}) = 247,94 \text{ ppm}$$

$$w(\text{Co}) = 132,15 \text{ ppm}$$

30. Skicirajte krivulje koje prikazuju određivanje sastava kompleksnog spoja M_xL_y metodom molnih omjera, uz konstantnu koncentraciju metalnih iona u pripremljenim otopinama, ako je: a) $a_{MxLy} > y a_L$; b) $a_{MxLy} < y a_L$.



31. Prikazani podaci prikupljeni su spektrofotometrijskom titracijom 10,00 mL Pd(II) s $2,44 \cdot 10^{-4}$ M nitrozo R (O.W. Williams, M.M. Oldham, *Anal. Chem.*, **43** (1971) 262:

V_{reagens}	A_{500}
0,00	0,000
1,00	0,147
2,00	0,271
3,00	0,375
4,00	0,371
5,00	0,347
6,00	0,325
7,00	0,306
8,00	0,289

Izračunajte koncentraciju paladija u ishodnoj otopini, ako u obojenom titracijskom produktu omjer liganda i metala iznosi 2:1.

$$c(\text{Pd}^{2+}) = 3,66 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

32. a) Primijenite sljedeće apsorbancijske podatke ($b = 1,00 \text{ cm}$) za određivanje omjera liganda i kationa u kompleksnom spoju koji tvori Co(II) s bidentatnim ligandom Q:

otopina	$V_{\text{reaktant}} / \text{mL}$		A_{560}
	$9,50 \cdot 10^{-4} \text{ M Co(II)}$	$9,50 \cdot 10^{-4} \text{ M Q}$	
0	10,00	0,00	0,000
1	9,00	1,00	0,094
2	8,00	2,00	0,193
3	7,00	3,00	0,291
4	6,00	4,00	0,387
5	5,00	5,00	0,484
6	4,00	6,00	0,570
7	3,00	7,00	0,646
8	2,00	8,00	0,585
9	1,00	9,00	0,295

- b) Izračunajte prosječnu vrijednost molarne apsorptivnosti opisanog kompleksa; pri tome pretpostavite da su one vrste koje su prisutne u manjim količinama, potpuno vezane u kompleksni spoj u mjerenim otopinama kojima odgovaraju linearni dijelovi krivulje.
- c) Izračunajte K_f kompleksa primjenom stehiometrijskih odnosa koji postoje pod uvjetima maksimalne apsorpcije.
- d) Ukratko objasnite princip opisane analitičke metode.



b) $\bar{\epsilon}(\text{CoQ}_3) = 3054 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

c) $K_f = 1,02 \cdot 10^{14}$

- d) Metoda kontinuirane varijacije ili Jobova metoda

Pripravi se niz otopina kationa i liganda u kojima je ukupna množina stalna, a množinski omjer se sustavno mijenja. Sastav kompleksnog spoja dobiva se iz sjecišta tangenti na ravne dijelove krivulje.

33. Sljedeći eksperimentalni podaci dobiveni su pri određivanju sastava kompleksnog spoja koji Ni(II) tvori s 1-ciklopenten-1-ditiokarboksilnom kiselinom (CDA).

$c_{\text{CDA}} = 1,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$		$c_{\text{Ni}} = 1,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	
$c_{\text{Ni}} / \text{mol L}^{-1}$	A_{530}	$c_{\text{CDA}} / \text{mol L}^{-1}$	A_{530}
$5,00 \cdot 10^{-6}$	0,051	$9,00 \cdot 10^{-6}$	0,031
$1,20 \cdot 10^{-5}$	0,123	$1,50 \cdot 10^{-5}$	0,051
$3,50 \cdot 10^{-5}$	0,359	$2,70 \cdot 10^{-5}$	0,092
$5,00 \cdot 10^{-5}$	0,514	$4,00 \cdot 10^{-5}$	0,137
$6,00 \cdot 10^{-5}$	0,616	$6,00 \cdot 10^{-5}$	0,205
$7,00 \cdot 10^{-5}$	0,719	$7,00 \cdot 10^{-5}$	0,240

- a) Odredite sastav opisanog kompleksnog spoja. $\text{Ni}(\text{CDA})_3$
- b) Ukratko objasnite primijenjenu analitičku metodu.

Primijenjena je metoda omjera nagiba pravaca. Prvi pravac prikazuje ovisnost koncentracije metala o apsorbanciji kompleksa uz ligand u suvišku, a drugi ovisnost koncentracije liganda o apsorbanciji kompleksa uz metal u suvišku. Sastav kompleksa dobiva se iz omjera nagiba ovih pravaca.

34. Prilikom određivanja sastava kompleksa Ni^{2+} metodom kontinuirane varijacije maksimalnu apsorbanciju je pokazao uzorak sljedećeg sastava:

3,0 mL otopine liganda koncentracije $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ u CH_3COOH ;

1,0 mL vodene otopine Ni^{2+} koncentracije $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$;

5,0 mL etanola;

1,0 mL vode.

a) Kako treba odabrati sastav referentnog uzorka, ako ligand apsorbira u blizini apsorpcijskog maksimuma kompleksa?

b) Koji je sastav kompleksa?

a) Slijepi uzorak sadrži sve osim analiziranog metala:

3,0 mL otopine liganda koncentracije $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$

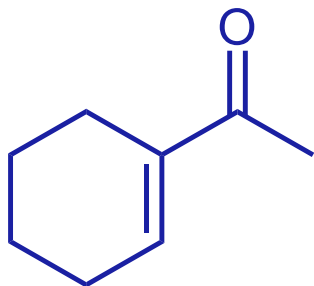
5,0 mL etanola

2,0 mL vode

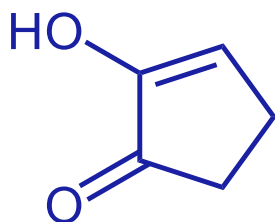
b) Sastav kompleksa je NiL_3 , a dobiva se iz omjera volumena liganda i metala pri maksimalnoj apsorbanciji

35. Pomoću podataka u priloženoj tablici odredite približnu valnu duljinu maksimuma apsorpcije za sljedeće spojeve snimljene u etanolu.

1)



2)



$$\lambda_1 = 215 + 10 = 225 \text{ nm}$$

$$\lambda_2 = 200 + 35 = 235 \text{ nm}$$

osnovna vrijednost		λ / nm
ravolančani α,β -nezasićeni ketoni		215
šesteročlani ciklički α,β -nezasićeni ketoni		215
peteročlani ciklički α,β -nezasićeni ketoni		200
α,β -nezasićeni aldehidi		210
α,β -nezasićene karboksilne kiseline i esteri		195
dodaci za supstituente		λ / nm
dodatna dvostruka veza u konjugaciji		+30
alkilna skupina, ostatak prstena u položajima:	α	+10
	β	+12
polarne skupine: -OH	α	+35
	β	+30
-OAc	α, β	+6
-Ome	α	+35
	β	+30
korekcija otapala		λ / nm
etanol		+0
dioksan		+5
kloroform		+1
voda		-8

36. Dvije tablete vitaminsko-mineralnog pripravka mase 6,08 g razorene su mokrim spaljivanjem u svrhu uklanjanja organskih tvari, a zatim razrijeđene do 1,00 L. Za analizu su uzeta dva alikvota od po 10,00 mL.

Na temelju sljedećih spektrofotometrijskih podataka izračunajte prosječnu masu željeza u pojedinačnoj tableti:

V / mL			A
1,0 ppm Fe(III)	ligand	H ₂ O	
0,00	25,00	15,00	0,492
15,00	25,00	0,00	0,571

$$m(\text{Fe})_{\text{tableta}} = 4,671 \text{ mg}$$

37. Reakcija Pd(II) sa 4,4'-bis(dimetilamino)tiobenzofenomom jedna je od osjetljivijih kromogenih reakcija ($\epsilon = 2,12 \cdot 10^5 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

a) Izračunajte najmanju koncentraciju paladija (mol dm^{-3}) koju se može odrediti mjerenjem navedenog kompleksnog spoja u kiveti debljine 10 cm, ako najmanje moguće očitavanje apsorbancije na mjernoj ljestvici spektrofotometra iznosi 0,001.

b) Kolika je najmanja masa paladija koja se može odrediti na opisani način, ako volumen kivete iznosi 10 cm^3 ?

a) $c_{\text{min}} = 4,72 \cdot 10^{-10} \text{ mol dm}^{-3}$

b) $m_{\text{min}}(\text{Pd}) = 5,02 \cdot 10^{-7} \text{ mg}$

38. Otopina kelata $[\text{CuX}_2]^{2+}$ u skladu je s Beer-Lambertovim zakonom pri 575 nm u širokom koncentracijskom području. Pojedinačni sastojci mjernog sustava ne apsorbiraju pri toj valnoj duljini. Otopina $[\text{CuX}_2]^{2+}$ koncentracije $3,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ima transmitanciju 18,2% izmjerenu u kiveti debljine 1,00 cm.

- Izračunajte apsorbanciju analizirane otopine.
- Izračunajte apsorbanciju otopine $[\text{CuX}_2]^{2+}$ čija transmitancija pri zadanoj valnoj duljini iznosi 36,4%.
- Izračunajte apsorbanciju otopine u kojoj je koncentracija kelata jednaka polovici koncentracije prve opisane otopine.
- Izračunajte koncentraciju $[\text{CuX}_2]^{2+}$ u otopini čija transmitancija pri zadanoj valnoj duljini iznosi 36,4%.

$$\text{a) } A_1 = 0,740 \quad \text{b) } A_2 = 0,439 \quad \text{c) } A' = 0,370 \quad \text{d) } c_2 = 2,02 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$$

39. Uz pretpostavku da vrijedi aditivnost apsorbancija dvokomponentne smjese, izvedite izraze za koncentracije komponenata M i N. Poznati su apsorpcijski koeficijenti sastojaka M i N, a'_N , a''_N , a'_M i a''_M , te apsorbancije A' i A'' smjese komponenata M i N pri valnim duljinama λ' i λ'' .

$$c_M = \frac{a'_N A'' - a''_N A'}{b(a''_M a'_N - a'_M a''_N)}$$

$$c_N = \frac{a''_M A' - a'_M A''}{b(a''_M a'_N - a'_M a''_N)}$$

40. Proučavanjem niza otopina koje su sadržavale čiste spojeve X i Y dobiveni su sljedeći spektrofotometrijski podaci ($b = 1,00 \text{ cm}$):

Podaci	Otopine			
	1	2	3	4
$c_X / \text{mol L}^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-4}$	0		
$c_Y / \text{mol L}^{-1}$	0	$3,00 \cdot 10^{-4}$		
$A_{394} (\lambda_{\text{maks}} \text{ za X})$	0,973	0,084	0,776	0,812
$A_{502} (\text{izobestična točka})$	0,364	0,546		0,602
$A_{610} (\lambda_{\text{maks}} \text{ za Y})$	0,102	1,076	0,934	

a) Izračunajte koncentracije X i Y u otopini 3.

$$c_{X,3} = 1,46 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \quad c_{Y,3} = 2,40 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

b) Izračunajte apsorbanciju otopine 3 u izobestičnoj točki. $A_{502,3} = 0,701$

c) Izračunajte koncentracije X i Y u otopini 4.

$$c_{X,4} = 1,57 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \quad c_{Y,4} = 1,74 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

d) Kolika je apsorbancija otopine 4 pri 610 nm? $A_{610,4} = 0,704$

41. U čeliku se istodobno mogu odrediti titanij i vanadij u obliku njihovih kompleksa. Pripravljeno je 50,00 mL otopine uzorka čelika mase 1,00 g koji sadrži 1,00 mg titanija te su izmjerene apsorbancije 0,269 pri 400 nm i 0,134 pri 460 nm. Drugi uzorak čelika mase 1,00 g sadržavao je 1,00 mg vanadija i obrađen je na isti način te su izmjerene apsorbancije 0,057 pri 400 nm i 0,091 pri 460 nm. Za niz uzoraka čelika mase 1,00 g obrađenih na prethodno navedeni način izmjerene su sljedeće vrijednosti apsorbancija, pomoću kojih izračunajte maseni udio (%) vanadija i titanija u svakom od uzoraka:

Uzorak	A_{400}	A_{460}	$w(V) / \%$	$w(Ti) / \%$
1	0,172	0,116	0,048	0,054
2	0,366	0,430	0,396	0,052
3	0,370	0,298	0,182	0,099
4	0,640	0,436	0,188	0,198
5	0,902	0,570	0,194	0,294
6	0,600	0,660	0,577	0,101
7	0,393	0,215	0,031	0,140
8	0,206	0,130	0,044	0,067
9	0,323	0,177	0,026	0,115

42. Skupina autora je objavila da torij(IV) tvori žuti kompleks s kvercetinom (3,3,4',5,7-pentahidroksiflavon), apsorpcijskog maksimuma pri 422 nm.⁴ Odredite sastav kompleksa na temelju sljedećih eksperimentalnih podataka izmjenjenih u kiveti debljine 1,00 cm:

$c_{\text{kvercetin}} / \text{mol L}^{-1}$	A_{422}	$c_{\text{torij}} / \text{mol L}^{-1}$	A_{422}
($c_{\text{torij}} = \text{konst.} = 5,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$)		($c_{\text{kvercetin}} = \text{konst.} = 5,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$)	
$6,0 \cdot 10^{-6}$	0,101	$4,0 \cdot 10^{-6}$	0,134
$1,1 \cdot 10^{-5}$	0,185	$9,0 \cdot 10^{-6}$	0,302
$1,5 \cdot 10^{-5}$	0,253	$1,6 \cdot 10^{-5}$	0,537
$2,0 \cdot 10^{-5}$	0,338	$2,0 \cdot 10^{-5}$	0,675
$2,5 \cdot 10^{-5}$	0,422	$2,3 \cdot 10^{-5}$	0,778

Sastav kompleksnog spoja je $\text{Th}(\text{kvercetin})_2$.

⁴ O. Menis, D. L. Manning, G. Goldstein, *Anal. Chem.* **29** (1957) 1426–1430.

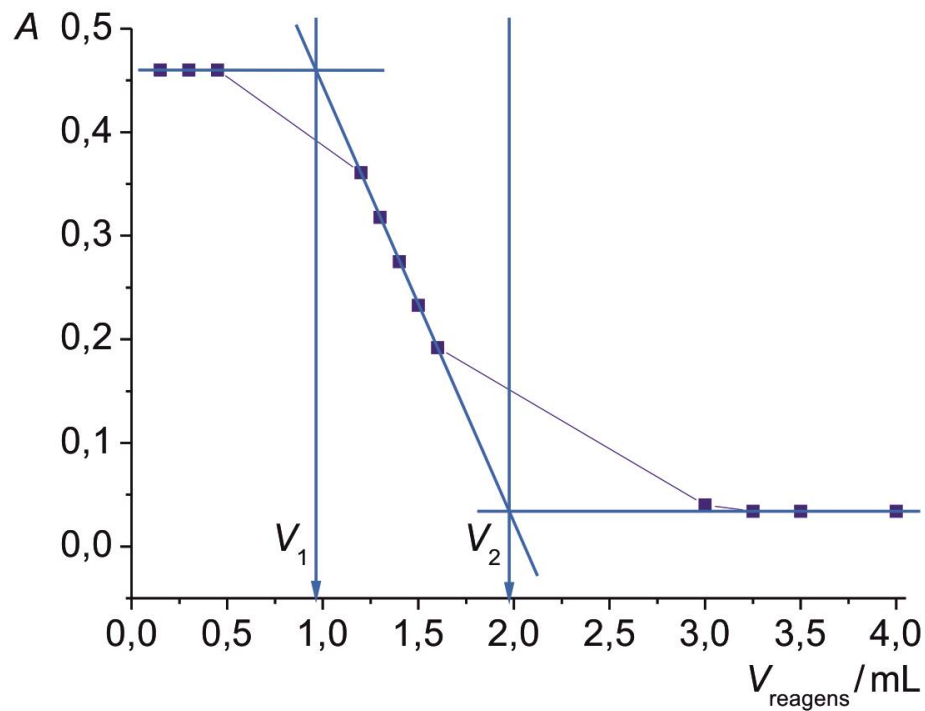
43. Metoda kontinuirane varijacije primijenjena je za ispitivanje sastava vrsta koje apsorbiraju pri 480 nm u otopinama smjese Fe(III) i SCN⁻ iona. Priloženi podaci dobiveni su mjerenjem apsorbancija otopina pripremljenih miješanjem navedenih volumena otopine željeza(III) koncentracije $1,90 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ s odgovarajućim volumenima otopine kalijeva tiocijanata koncentracije $1,90 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, da bi se postigao ukupni volumen od 20,0 mL. Koncentracija HNO₃ u obje izvorne otopine iznosila je $0,02 \text{ mol L}^{-1}$. Pomoću priloženih podataka odredite sastav kompleksa.

$V_{\text{Fe}} / \text{mL}$	A_{480}
0,00	0,000
2,00	0,183
4,00	0,340
6,00	0,440
8,00	0,501
10,00	0,525
12,00	0,493
14,00	0,435
16,00	0,336
18,00	0,185
20,00	0,002

Sastav kompleksnog spoja je Fe(SCN)²⁺.

44. Amini se mogu odrediti ako im se brzine acetiliranja dovoljno razlikuju i ako su im apsorpcijski maksimumi razlučeni. Smjesa anilina i 2-naftilamina titrirana je anhidridom octene kiseline, a titracija je praćena pri valnoj duljini maksimuma apsorpcije 2-naftilamina. Anilin se brže acetilira. Eksperimentalni podaci su prikazani tablično. Odredite volumen anhidrida octene kiseline koji se može pripisati završetku titracije opisane smjese. Objasnite.

$V_{\text{reagens}} / \text{mL}$	A
0,15	0,460
0,30	0,460
0,45	0,460
1,20	0,361
1,30	0,318
1,40	0,275
1,50	0,233
1,60	0,192
3,00	0,040
3,25	0,034
3,50	0,034
4,00	0,034

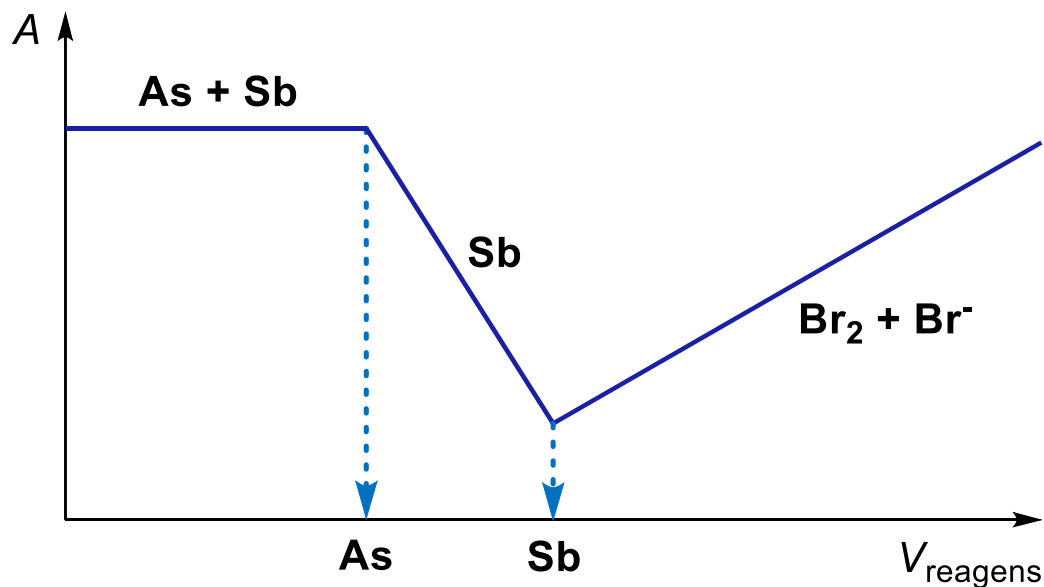


- prva točka ekvivalencije odgovara volumenu V_1 koji je potreban za reakciju s anilinom, koji se brže acetilira
- druga točka ekvivalencije odgovara volumenu V_2 kad su oba spoja acetilirana

45. Objavljena je metoda za određivanje smjese arsena(III) i antimona(III) u klorovodično kiseloj sredini, spektrofotometrijskom titracijom uz standardni reagens bromat-bromid pri 326 nm.

- Arsen(III) se bromom oksidira u arsen(V) brže nego što se antimon(III) oksidira u antimon(V).
- Antimon(III) tvori s kloridnim ionima kompleks kojemu se apsorpcijski maksimum nalazi pri 326 nm. Antimon(V), arsen(III) i arsen(V) ne tvore takve komplekse.
- Slobodni brom u prisutnosti suviška bromida apsorbira pri 326 nm. Sam bromidni ion ne apsorbira pri toj valnoj duljini.

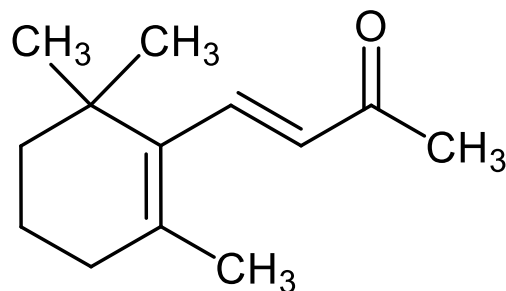
Na temelju navedenih podataka skicirajte i opišite titracijsku krivulju.



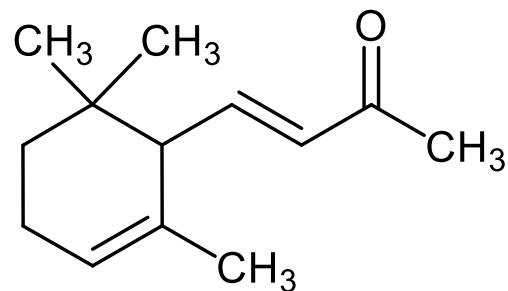
46. Na temelju sljedećih podataka i predloženih strukturnih formula odredite koji izomer je α , a koji je β :

α -izomer $\lambda_{\max} = 228 \text{ nm}$; $\epsilon_{\max} = 14000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

β -izomer $\lambda_{\max} = 296 \text{ nm}$; $\epsilon_{\max} = 11000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$



strukturna formula I



strukturna formula II

- strukturna formula I prikazuje konjugirani izomer, dok strukturna formula II odgovara nekonjugiranom izomeru spoja
- ako u spoju postoji konjugacija, valna duljina apsorpcijskog maksimuma se pomiče prema većim vrijednostima (crveni ili batokromni pomak)
- prema navedenim vrijednostima može se zaključiti da strukturna formula I odgovara β -izomeru, a strukturna formula II α -izomeru

47. Ukratko objasnite uporabu:

- metode unutrašnjeg standarda
- metode dodatka standarda

48. Što je baždarni pravac i koja mu je uloga u analitičkoj kemiji?

49. Što je elektromagnetsko zračenje i kojim se parametrima opisuje?

50. Objasnite izvod i analitičko značenje Beer-Lambertovog zakona.

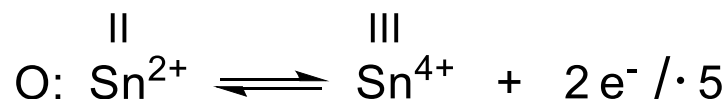
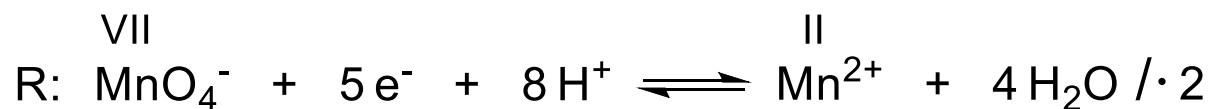
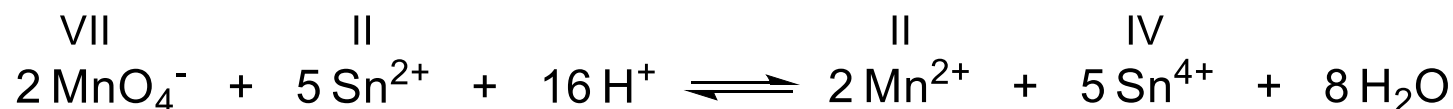
51. Opišite metodu kontinuirane varijacije, kao spektrofotometrijsku metodu za određivanje sastava kompleksnog spoja u otopini.

52. Objasnite metodu molarnih omjera za određivanje sastava vrste koja apsorbira.

53. Ukratko objasnite Woodwardova pravila.

54. Može li se Sn^{2+} određivati fotometrijskom titracijom pomoću MnO_4^- ?

- ioni Sn^{2+} se mogu određivati fotometrijskom titracijom pomoću MnO_4^-
- Sn^{2+} reagira s MnO_4^- ionima u kiseljoj otopini prema sljedećoj reakciji:



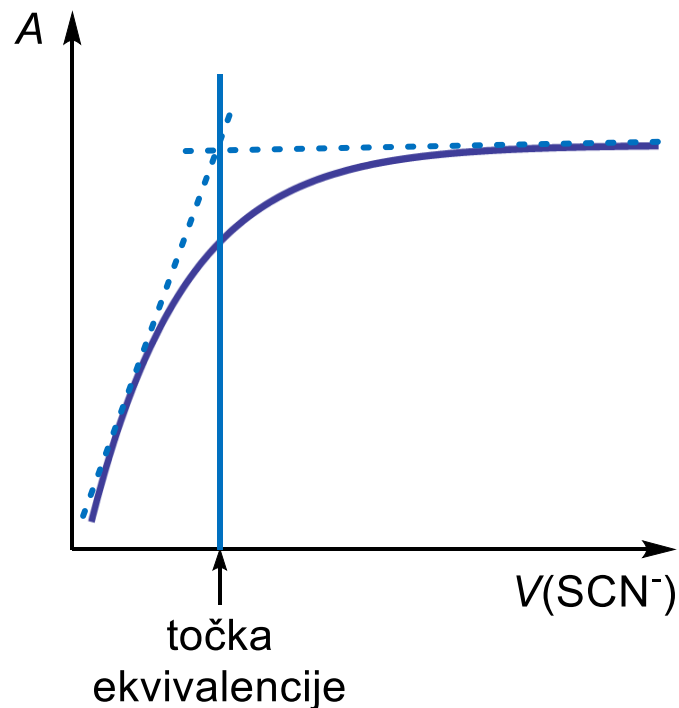
- na početku titracije otopina je bezbojna jer se MnO_4^- reducira u Mn^{2+}
- kad se boja otopine zadrži, ion MnO_4^- se nalazi u suvišku i može se očitati vrijednost apsorbancije
- na temelju dobivenih podataka može se konstruirati titracijska krivulja i odrediti volumen u točki ekvivalencije

55. Skicirajte i objasnite krivulju koja opisuje fotometrijsku titraciju željeza(III) otopinom tiocijanatnog iona uz primjenu zelenog filtera. Zašto je potrebno koristiti zeleni filter?

- dodatkom tiocijanatnog iona u otopinu željeza(III) nastaje crveno obojeni kompleks $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ prema reakciji:



- na početku titracije apsorbancija naglo raste zbog povećanja koncentracije kompleksa
- kad se svi ioni Fe^{3+} kompleksiraju, apsorbancija više ne ovisi o koncentraciji tiocijanata
- otopina je crvena jer apsorbira zelenu komponentu upadnog zračenja, a propušta crvenu
- zato treba koristiti zeleni filter



56. Objasnite podatke prikazane priloženom tablicom:

Spoj	Tip spoja	λ_{\max} / nm	ϵ_{\max} / L mol ⁻¹ cm ⁻¹
CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH=CH ₂	olefin	184	≈ 10 000
CH ₂ =CHCH ₂ CH ₂ CH=CH ₂	diolefin	185	≈ 20 000
CH ₂ =CHCH=CH ₂	diolefin	217	21 000

- 1,3-butadien je spoj s konjugiranim dvostrukim vezama, dok ostali spojevi imaju izolirane dvostruke veze
- ako u spoju postoji konjugacija, valna duljina apsorpcijskog maksimuma (λ_{\max}) se pomiče prema većim vrijednostima (crveni ili batokromni pomak)
- intenzitet maksimuma ovisi o broju dvostrukih veza (kromofora) u spoju