

# 3. Absorpční spektroskopie

# Lambert-Beerův zákon

Nechť kolimovaný svazek intenzity  $I_0(\lambda)$  dopadá na homogenní planparalelní vrstvu tloušťky  $l$ .

Při průchodu vrstvou  $(x, x+dx)$  se intenzita sníží o

$$dI = -\alpha(\lambda) I(\lambda, x) dx \quad (3.1)$$

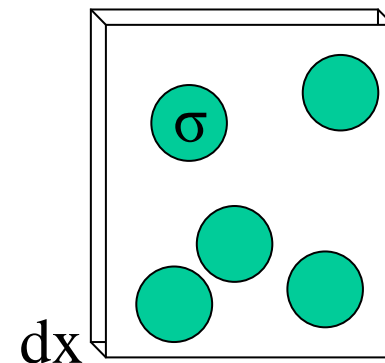
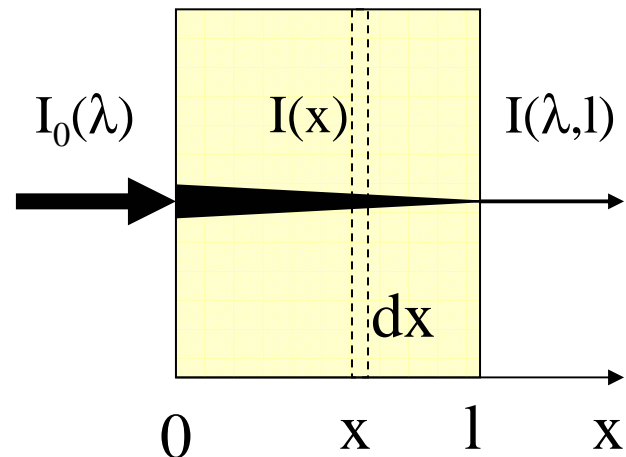
kde  $\alpha(\lambda)$  je absorpční konstanta. Úpravou a prointegrováním dostáváme

$$\int_0^{I(\lambda, l)} \frac{dI}{I(\lambda, x)} = -\alpha(\lambda) \int_0^l dx \quad (3.2)$$

$$\ln\left(\frac{I(\lambda, l)}{I_0(\lambda)}\right) = -\alpha(\lambda) l \quad (3.3)$$

$$I(\lambda, l) = I_0(\lambda) e^{-\alpha(\lambda) l} \quad (3.4)$$

Lambertův zákon



Pokud je v objemové jednotce  $N_0$  částic s absorpčním průřezem  $\sigma(\lambda)$  a předpokládáme, že se v tenké vrstvě nepřekrývají, pak ve vrstvě  $dx$  se jich nachází  $N_0 dx$  a vykryjí plochu  $\sigma(\lambda) N_0 dx$ . Protože

$$dI = -I(\lambda, x) \sigma(\lambda) N_0 dx \quad (3.5)$$

Srovnáním s (3.1) dostáváme  $\alpha(\lambda) = \sigma(\lambda) N_0 \quad (3.6)$

Beerův zákon

Spojením (3.4) a (3.6) dostáváme  zákon

$$I(\lambda, l) = I_0(\lambda) e^{-\sigma(\lambda) \cdot N_0 \cdot l} \quad (3.7)$$

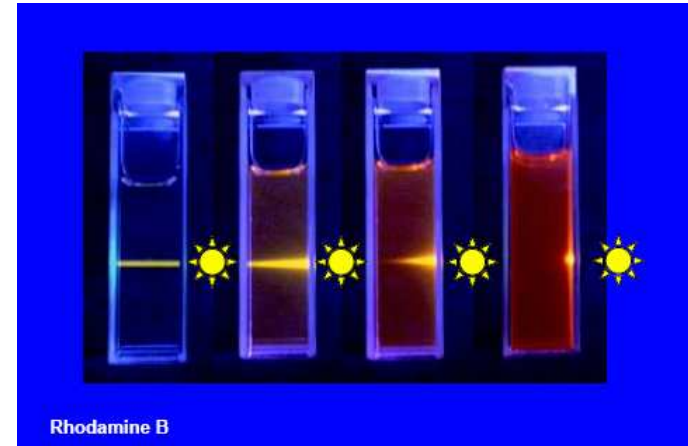
Častěji se setkáváme s praktickým zápisem

$$I(\lambda, l) = I_0(\lambda) \cdot 10^{-\varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot l} \quad (3.8)$$

kde  $c$  je molární koncentrace [ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1} = \text{M}$ ]

$\varepsilon(\lambda) = \frac{10N_A}{\ln 10} \sigma(\lambda)$  je molární extinkční koeficient [ $\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} = \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ]

$l$  je tloušťka v cm



**POZOR NA JEDNOTKY !**

Spektra bývají prezentována jako:

a)

$$T(\lambda) = \frac{I(\lambda, l)}{I_0(\lambda)} \cdot 100\% \quad (3.9)$$

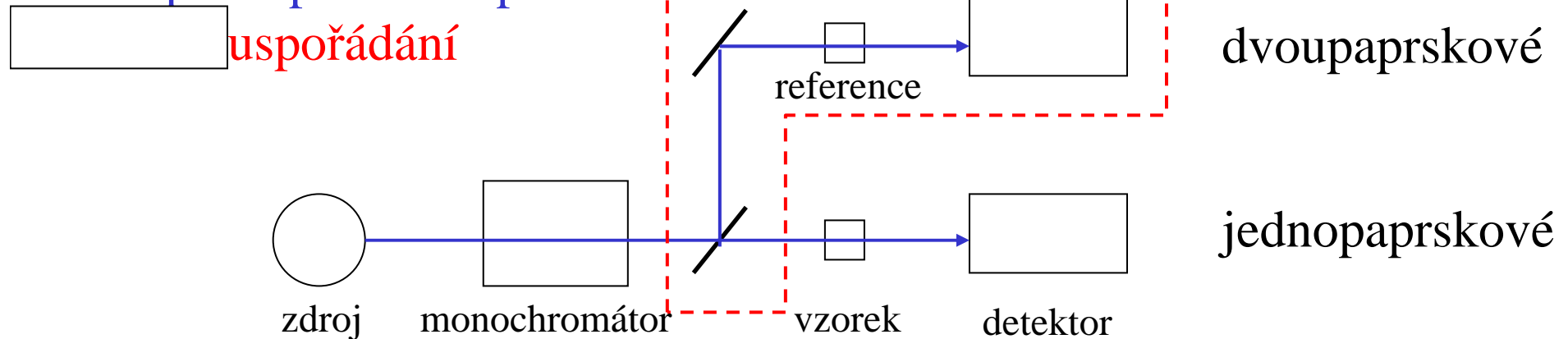
b)  A (optická hustota, OD)

$$A(\lambda) = -\log \frac{I(\lambda, l)}{I_0(\lambda)} = \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot l \quad (3.10)$$

Protože absorbance je přímo úměrná koncentraci molekul a její měření je velmi snadné, je měření absorbance nejužívanější metodou pro stanovení koncentrace látky, či pro sledování kinetiky chemických reakcí.

# Experimentální uspořádání

## Absorpční spektroskopie



## Speciální techniky

- 1) Diferenční spektrofotometrie – do referenčního svazku se dává vzorek beze změn, do měřeného svazku vzorek, v němž jsou vyvolány změny (škála  $\Delta A$ ).
- 2) Dvouvlnové spektrofotometry – jednou kyvetou procházejí mírně různoběžně dva paprsky o různých vlnových délkách – jde o dva nezávislé systémy monochromátor + detektor.
- 3) Derivační spektrofotometrie – zaznamenává se 1.(2.,3.,4.) derivace spektra – umožňuje přesnější stanovení polohy a tvaru pásu
- 4) Lineární a cirkulární dichroismus – vzorek je osvětlován lineárně (popř. kruhově) polarizovaným světlem – nutno uvážit, že detekční soustava může reagovat odlišně na různé polarizace světla.

# Praktické poznámky

Měření je neinvazivní a nedestruktivní (tzn. vzorek je možno dále použít).

Při měření porovnáваме intenzitu světla po průchodu vzorkem s intenzitou bez vzorku (standard). Lepší bývá dát jako standard kyvetu s vodou (či pufrem).

K zeslabení intenzity nepřispívá jen absorpce vzorkem, ale také **rozptyl** (měření pouze absorpce, tzv. absorptuance je v principu také možné, ale vyžaduje integrační kouli).

**Absorbance je rozumně měřitelná pro vzorky s  $A > 0,005$  ( $T < 99,5\%$ ), při velmi pečlivém měření  $A > 0,001$  ( $T < 99,9\%$ ). Měření je přesné pro  $A < 1$ , měření pro  $A > 2$  je již zatíženo velkou chybou.**

**Příklad 3.1:** Chceme určit koncentraci roztoku  $10^{-4}$  M Rhodaminu B, který má extinkční koeficient  $100\,000\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  na 590 nm v kyvetě s optickou dráhou 1 cm. Díky nedokonalosti monochromátoru je 99,99% intenzity na světla na 590 nm a 0,01% na delších vlnových délkách, které nejsou absorbovány Rhodaminem B. Jaká je skutečná a jaká je naměřená optická hustota roztoku ?

**Příklad 3.2:** Jak je možné měřit koncentraci vzorků, které absorbují příliš silně nebo naopak příliš slabě ?

Některé molekuly posunují své spektrum podle toho, v jakém stavu se nacházejí (protonovaná vs. deprotonovaná nebo volná vs. vázaná). Existuje jedna vlnová délka, při které má molekula stejný extinkční koeficient za obou podmínek – **isobestický bod**.

# Kvantově-mechanický popis stavů molekul

Do nerelativistické nečasové Schrödingerovy rovnice (SR)

$$H \Psi = E \Psi \quad (3.11)$$

vložíme hamiltonián ve tvaru

$$\left( -\frac{\hbar^2}{2m} \sum_{i=1}^n \Delta_i - \sum_{j=1}^N \frac{\hbar^2}{2M_j} \Delta_j + V \right) \Psi = E \Psi \quad (3.12)$$

kde první 2 členy popisují kinetickou energii elektronů a jader,  $V$  je potenciál zahrnující interakce elektrony-elektrony, jádra-jádra, elektrony-jádra a interakci elektronů a jader s vnějšími poli. Malá písmena označují veličiny vztahující se k elektronům a velká písmena se vztahují k jádrům.

Vzhledem k tomu, že elektrony jsou mnohem lehčí než jádra ( $m_p = 1836 m_e$ ), můžeme předpokládat, že **elektrony se pohybují podstatně rychleji než jádra**. V prvním přiblížení tedy předpokládáme, že:

- 1) Elektrony se pohybují v poli pevných jader
- 2) Rychle se pohybující elektrony vytvářejí nábojový oblak (efektivní pole), na jehož změny jádra jen pomalu reagují.

Budeme proto předpokládat, že řešíme 2 Schrödingerovy rovnice, jednu pro pohyb elektronů v poli pevných jader a druhou pro pohyb jader v efektivním poli vytvářeném rychle se pohybujícími elektrony.

To odpovídá separaci proměnných

$$\psi(\mathbf{r}_i, \mathbf{R}_j) = u_{R_j}(\mathbf{r}_i) v(\mathbf{R}_j) \quad (3.13)$$

kde  $\mathbf{r}_i$  jsou proměnné elektronů,  $\mathbf{R}_j$  jsou proměnné jader a  $u$  a  $v$  jsou vlnové funkce elektronů a jader. Předpokládáme, že **elektronová část vlnové funkce  $u_{R_j}(\mathbf{r}_i)$**  splňuje SR s pevnými jádery.

$$\left( -\frac{\hbar^2}{2m} \sum_{i=1}^n \Delta_i + V \right) u_{R_j} = U u_{R_j} \quad (3.14)$$

Vlnová funkce  $u$  a vlastní energie  $U$  této rovnice závisí parametricky na polohách jader  $\mathbf{R}_j$ . Abychom dostali SR pro **vlnovou funkci jader  $v$** , dosadíme předpoklad o separaci (3.13) do (3.12). Po dosazení a použití (3.14) dostáváme

$$U(\mathbf{R}_j) u_{R_j}(\mathbf{r}_i) v(\mathbf{R}_j) - \sum_j \frac{\hbar^2}{2M_j} \left[ v(\mathbf{R}_j) \Delta_j u_{R_j}(\mathbf{r}_i) + 2(\nabla_j u_{R_j}(\mathbf{r}_i)) (\nabla_j v(\mathbf{R}_j)) + u_{R_j}(\mathbf{r}_i) \Delta_j v(\mathbf{R}_j) \right] = E u_{R_j}(\mathbf{r}_i) v(\mathbf{R}_j) \quad (3.15)$$

Tato rovnice představuje tzv. **adiabatickou aproximaci**.

Budeme-li dále předpokládat, že se elektronová vlnová funkce  $u_{R_j}(\mathbf{r}_i)$  se změnou polohy jader mění jen málo a že platí

$$\Delta_j u_{R_j} = 0 \quad \nabla_j u_{R_j} = 0$$

dostaneme po vykrácení  $u$  jednodušší rovnici, v níž vystupuje pouze vlnová funkce jader  $v$

$$\left( -\sum_{j=1}^N \frac{\hbar^2}{2M_j} \Delta_j + U \right) v(\mathbf{R}_j) = E v(\mathbf{R}_j) \quad (3.16)$$

což představuje tzv. **Born-Oppenheimerovu aproximaci (BOa)**.

Obecné řešení SR (3.12) lze hledat ve tvaru

$$\Psi(r_i, R_j) = \sum \Phi_k(R_j) \Psi_k(r_i, R_j) \quad (3.17)$$

kde  $\Psi_k(r_i, R_j)$  jsou funkce nalezené v adiabatické aproximaci (3.15) a  $\Phi_k(R_j)$  jsou koeficienty rozvoje. Dosazením tohoto rozvoje do SR (3.12) a využitím (3.15) dostaneme systém rovnic pro koeficienty  $\Phi_k(R_j)$  energii z rovnice (3.12). Adiabatická aproximace tedy odpovídá tomu, že bereme jenom jeden člen řady (3.17)

$$\Psi(r_i, R_j) = \Phi_k(R_j) \Psi_k(r_i, R_j) \quad (3.18)$$

Protože  $\Phi_k(R_j)$  závisí jen na poloze jader, označujeme ji jako **vibrační vlnovou funkci v k-tém elektronovém stavu** (pohyby jader v molekule), zatímco  $\Psi_k(r_i, R_j)$  závisí i na poloze elektronů, takže ji označujeme jako **elektronovou vlnovou funkci**.  $E_k$  pak označujeme jako potenciální nadplochu v prostoru  $R$  ( $3N+1$  dimenzí). Při malých vibracích lze řez nadplochou  $E_k$  aproximovat parabolou.

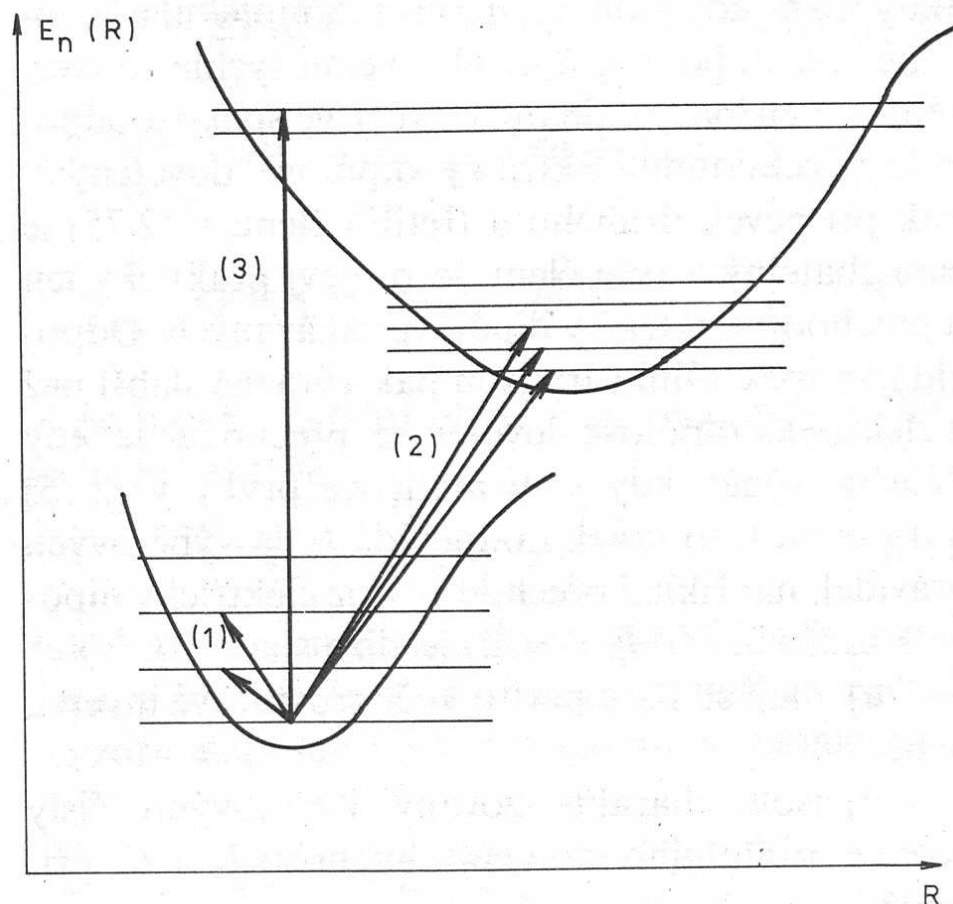


# Franck-Condonův princip

Uvažujme 2 elektronové stavy (základní a první excitovaný), přičemž při přechodu mezi nimi se změní rovnovážná poloha jader.

## Pravidla

- 1) **Přechod mezi elektronovými stavy se děje převážně ve vertikálním směru** – během elektronového přechodu ( $\sim 10^{-15}$ - $10^{-13}$  s) nestačí jádra změnit polohu (doba kmitu  $\sim 10^{-12}$  s); kvantově – přechody se změnou více než jednoho kvantového čísla jsou málo pravděpodobné.
- 2) Největší pravděpodobnost výskytu je v bodech obratu (kromě vibračního stavu 0, kde je pravděpodobnost největší uprostřed).



# Výběrová pravidla pro absorpci

Podle Fermiho zlatého pravidla je pravděpodobnost přechodu mezi stavy  $i$  a  $f$  rovna

$$p = \left| \left\langle i \left| \hat{\mu}_{el} \right| f \right\rangle \right|^2 \quad (3.19)$$

kde  $\mu_{el}$  je operátor průmětu elektrického dipólu molekuly do pole  $E$ , přičemž se skládá z jaderné a elektronové komponenty

$$\mu_{el} = \mu_j(\mathbf{R}) + \mu_e(\mathbf{r}) \quad (3.20)$$

Dosadíme-li výraz pro vlnovou funkci zobecněný o spinový stav

$$|i\rangle = \left| \Psi^i(\mathbf{R}, \mathbf{r}) \Phi_k^i(\mathbf{R}) \chi^i \right\rangle \quad (3.21)$$

$$\langle i | \mu_j(\mathbf{R}) + \mu_e(\mathbf{r}) | f \rangle = \langle i | \mu_j(\mathbf{R}) | f \rangle + \langle i | \mu_e(\mathbf{r}) | f \rangle \quad (3.22)$$

Předpokládejme, že můžeme zanedbat jadernou komponentu a že elektronová funkce nezávisí na poloze jader (BOa)

$$\langle i | \mu_j(\mathbf{R}) | f \rangle = 0 \quad \Psi^i(\mathbf{R}, \mathbf{r}) = \Psi^i(\mathbf{r})$$

Potom můžeme separovat elektronové, vibrační a spinové souřadnice

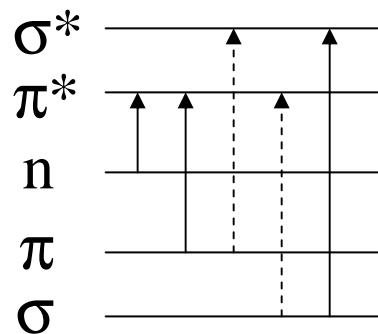
$$\langle i | \hat{\mu}_{el} | f \rangle = \underbrace{\langle \Psi^i(\mathbf{r}) | \mu_e(\mathbf{r}) | \Psi^i(\mathbf{r}) \rangle}_{\text{Elektronový součinitel}} \underbrace{\langle \Phi_k^i(\mathbf{R}) | \Phi_k^f(\mathbf{R}) \rangle}_{\text{Franck-Condonův integrál}} \underbrace{\langle \chi^i | \chi^f \rangle}_{\text{Spinový součinitel}} \quad \text{Pořadí síly zákazu:}$$

- 1) spinový
- 2) Franck-Condonův
- 3) Elektronový

Důležitou roli hrají symetrie a překryv orbitalů

# Typy přechodů mezi molekulovými orbitaly

Orbitaly  $\square$  (na spojnici jader),  $\square$  (mimo spojnici jader),  $\square$  (nevazebný).



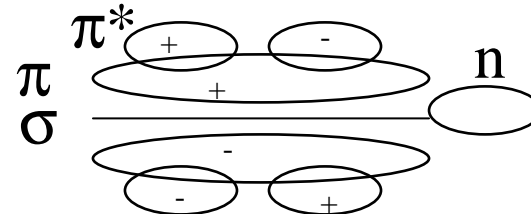
Energeticky

$(n, \pi^*) < (\pi, \pi^*) < (\pi, \sigma^*), (\sigma, \pi^*) < (\sigma, \sigma^*)$

## Příklady přechodů

Molekula	přechod	$\lambda$ [nm]	$\epsilon$ [M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]
CH <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub>	( $\sigma, \sigma^*$ )	<160	
CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> Cl	( $n, \sigma^*$ )	~200	
CH <sub>2</sub> =CH-CH=CH <sub>2</sub>	( $\pi, \pi^*$ )	~220	21 000
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO (aceton)	( $n, \pi^*$ )	~285	< 1000

Rozlišení ( $n, \pi^*$ ) a ( $\pi, \pi^*$ ) přechodů



1) Podle vlnové délky

$\lambda (n, \pi^*) > \lambda (\pi, \pi^*)$

2) Podle  $\epsilon$

$\epsilon (n, \pi^*) \ll \epsilon (\pi, \pi^*)$

malý překryv orbitalů ( $n, \pi^*$ )

3) Podle polarizace

( $n, \pi^*$ ) kolmé k rovině molekuly

( $\pi, \pi^*$ ) rovnoběžné

4) Vliv rozpouštědla

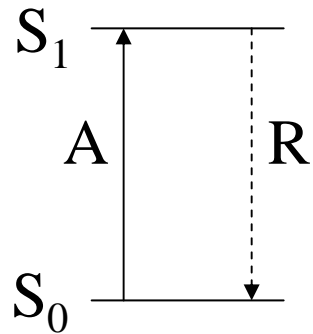
$\lambda (n, \pi^*)$  klesá s rostoucí polaritou

$\lambda (\pi, \pi^*)$  roste

Pozn.: u velkých heteroaromatických molekul může být systém energetických hladin komplikovanější

# (photobleaching)

Takto označujeme procesy, kdy absorpce světla má za následek snížení absorbance.



Pokud by docházelo pouze k absorpci, pak bude klesat koncentrace molekul v  $S_0$  a  $S_1$  neabsorbuje na  $\lambda$  (předpokládáme, že  $I(x) = I_0$ )

$$\frac{d[M_0]}{dt} = -\sigma(\lambda)I_0[M_0](t) \quad (3.24)$$

$$[M]_0(t) = [M]_0(0) \cdot e^{-\sigma(\lambda)I_0t} \quad (3.25)$$

Molekula ale relaxuje zpět do základního stavu s rychlostní konstantou  $k_R$  ( $\sim 10^9 \text{ s}^{-1}$ ).  
Potom je rovnice (3.24) modifikována na

$$\frac{d[M_0]}{dt} = -\sigma(\lambda)I_0[M_0](t) + k_R[M_1](t) \quad (3.26)$$

System je v rovnováze, když  $d[M_0]/dt = 0$  a tedy

$$\frac{[M_1]}{[M_0]} = \frac{\sigma(\lambda)I_0}{k_R} = \frac{\ln 10}{10 \cdot N_A} \frac{\epsilon(\lambda)I_0}{k_R} \quad (3.27)$$

## Odhad

Reálné světlo  $I_0 \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

$\sigma(\lambda) = 4 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$

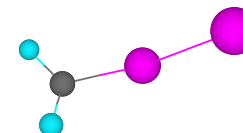
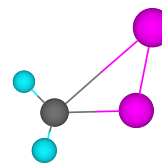
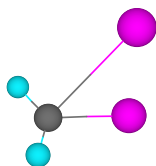
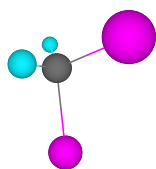
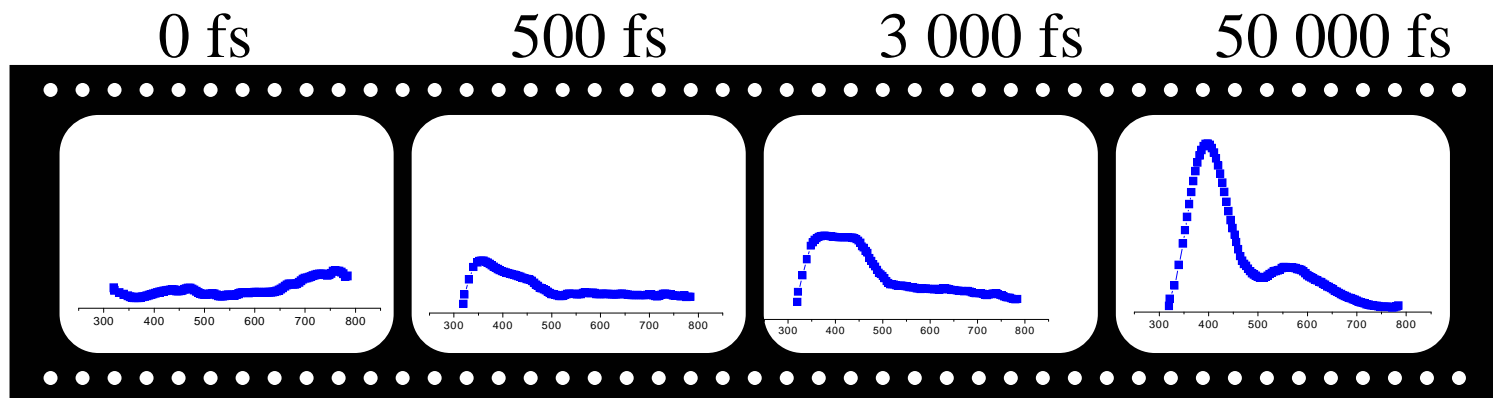
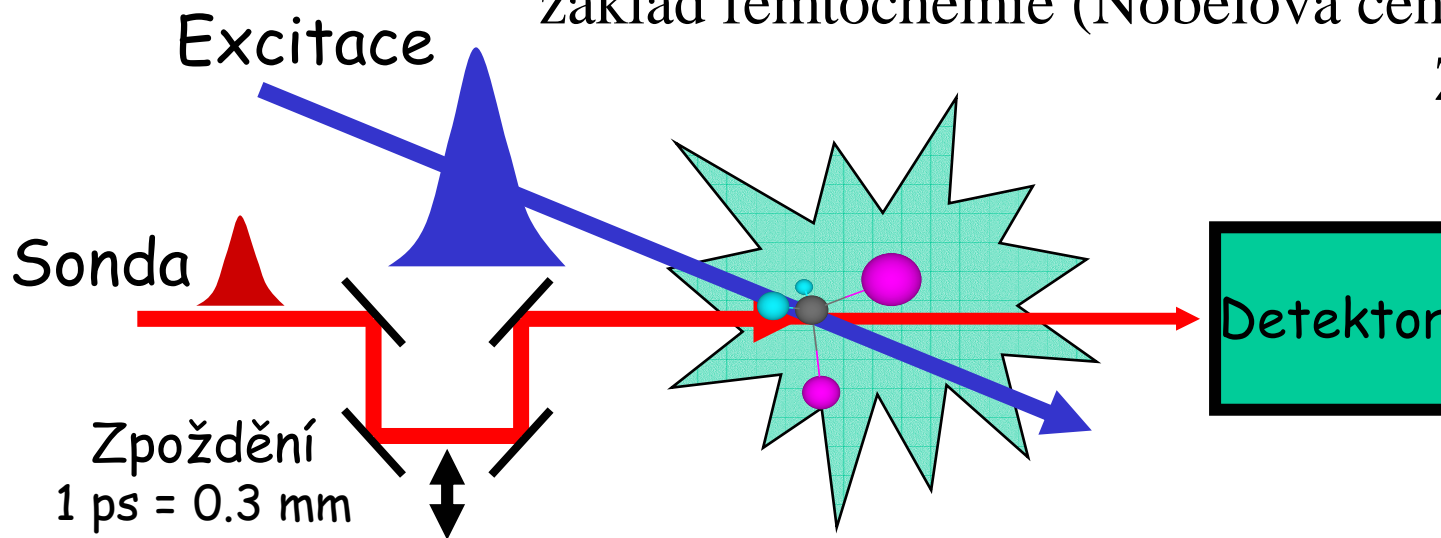
$[M_1]/[M_0] = 2,4 \cdot 10^{-10}$

zanedbatelné

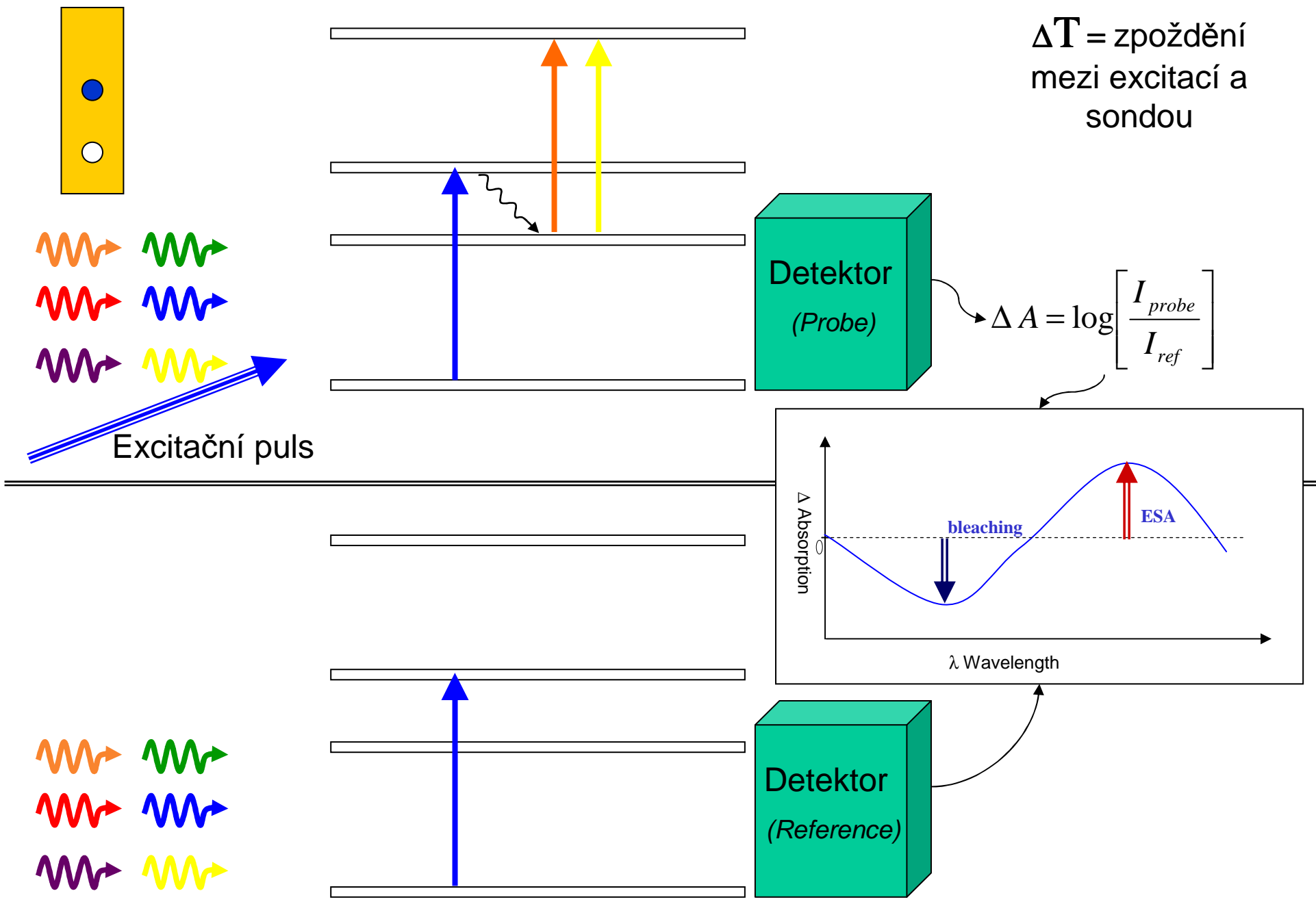
Vybělování přestává být zanedbatelné pro vysoké intenzity  $I_0$  (lasery), nebo když systém relaxuje do jiného než základního stavu (např. do tripletního).

# (transient absorption)

základ femtochemie (Nobelova cena 1999, Zewail)



$\Delta T$  = zpoždění  
mezi excitací a  
sondou



Detektor  
(Probe)

$$\Delta A = \log \left[ \frac{I_{probe}}{I_{ref}} \right]$$

$\Delta$  Absorption

$\lambda$  Wavelength

bleaching

ESA

Detektor  
(Reference)

Excitační puls

# Shrnutí

- Absorpci světla ve vzorku popisuje **Lambert-Beerův zákon**.
- Naměřené hodnoty se vyjadřují jako **absorbance** nebo **transmitance**.
- Absorpci obvykle měříme v **lineárním uspořádání**
- Absorpční spektrometry - jednopaprskové, dvoupaprskové
- Intenzitu paprsku procházejícího vzorkem zeslabuje také **rozptyl**.
- Měření dává rozumné výsledky pro absorbanci v intervalu (0,005 – 1).
- Teoretické výpočty jsou založeny na tom, že **elektrony jsou mnohem lehčí než jádra a pohybují se tedy mnohem rychleji**. Uvažujeme tedy, že se **elektrony pohybují v poli nehybných jader a jádra v efektivním poli elektronového oblaku (adiabatická a Born-Oppenheimerova aproximace)**.
- V BOa má vlnová funkce elektronovou a vibrační část.
- **Franck-Condonův princip** - **Přechod mezi elektronovými stavy** se děje převážně ve vertikálním směru.
- **Vybělování** není zanedbatelné pro vysoké intenzity  $I_0$  (lasery), nebo když systém relaxuje do jiného než základního stavu (např. do tripletního).
- Využití vybělování - přechodová absorpce (**transient absorption**)