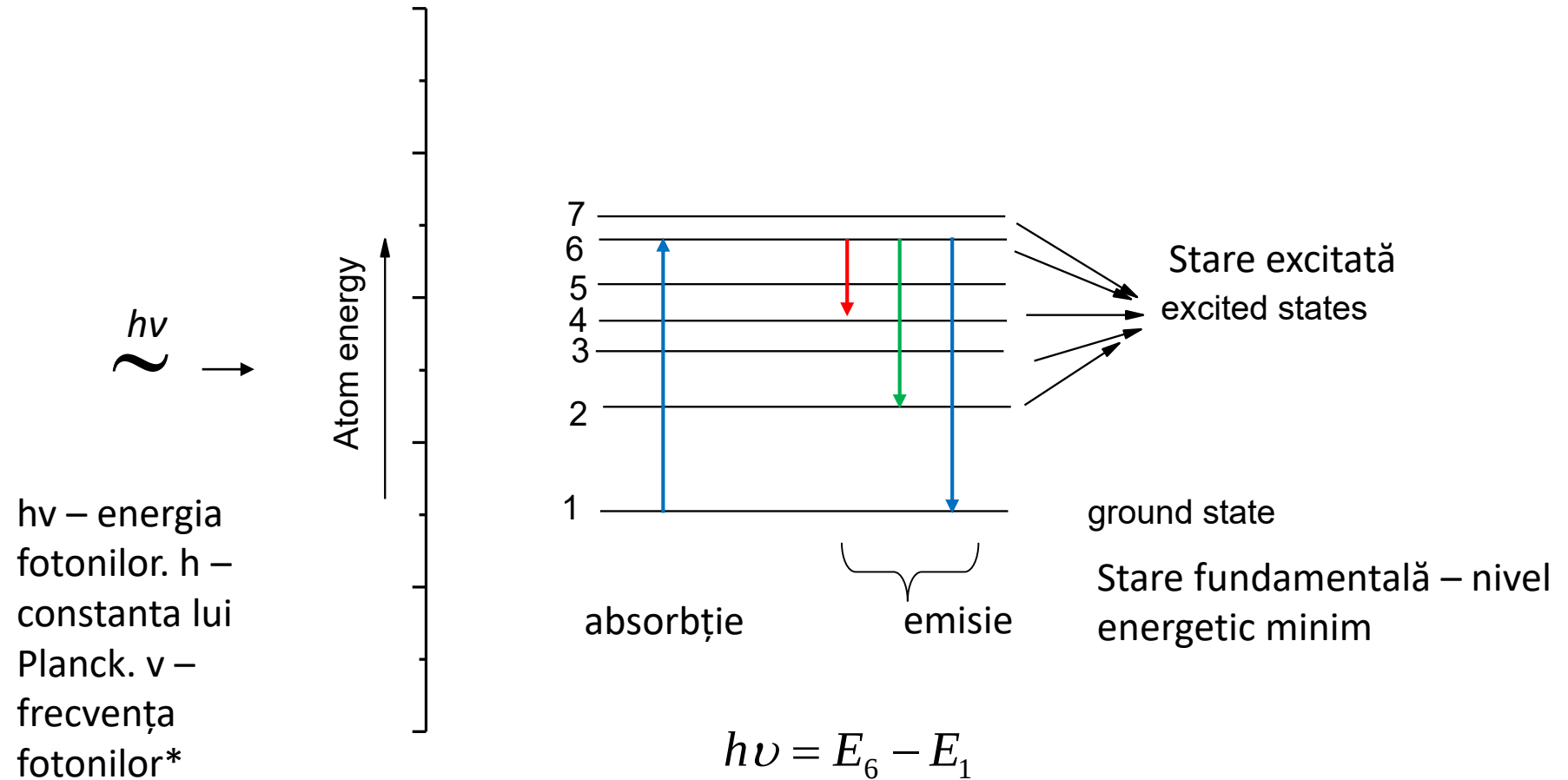


Spectroscopie

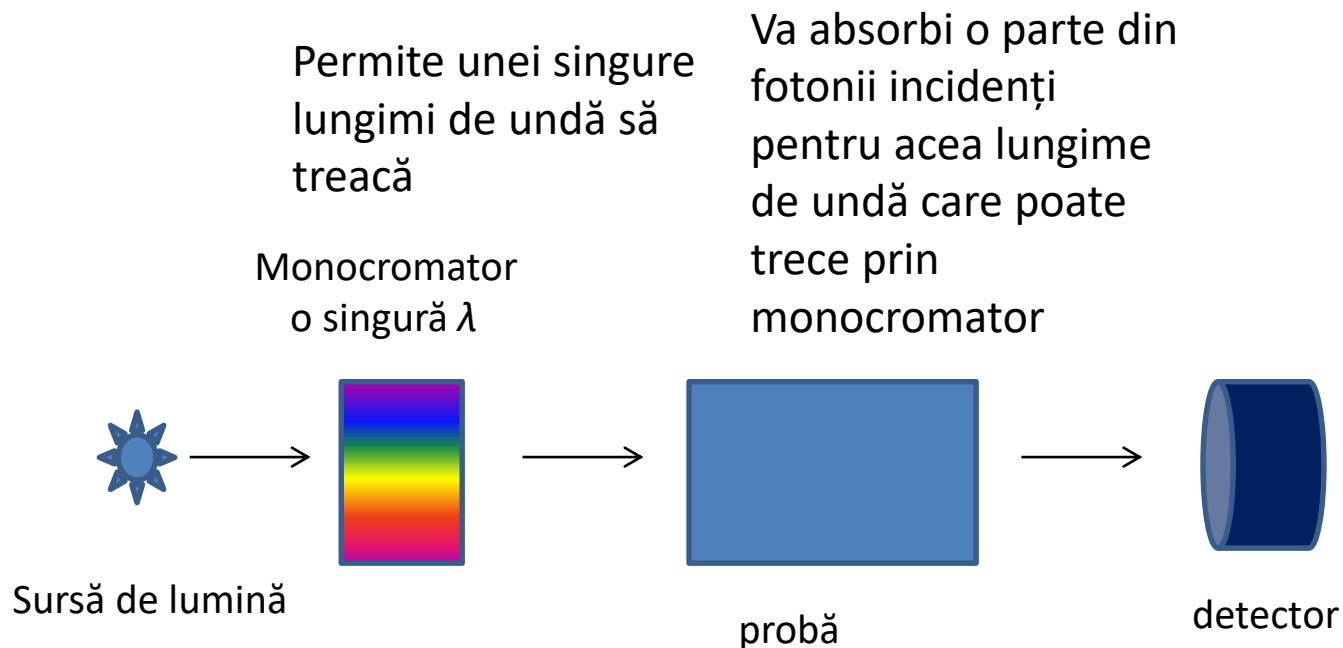
LP_3

- Spectroscopia reprezintă **studiul interacției dintre lumină** (radiație electromagnetică / fotoni) **și materie**.
- O moleculă **absoarbe** sau **emite** energie la trecerea dintr-o stare în alta
- Fiecare tip de moleculă are un **spectru de absorbție** specific
- În funcție de tipul de molecule fotonii de o anumită lungime de undă (și deci de o anumită energie) pot interacționa cu moleculele. Fotonii vor fi **absorbiți**, își vor ceda energia moleculelor pe care le vor duce din starea fundamentală într-o stare numită stare de excitație.
- După încetarea excitației moleculele pot trece pe nivele inferioare, emițând un foton de frecvență ν , proces numit **emisie radiativă**

Spectroscopie



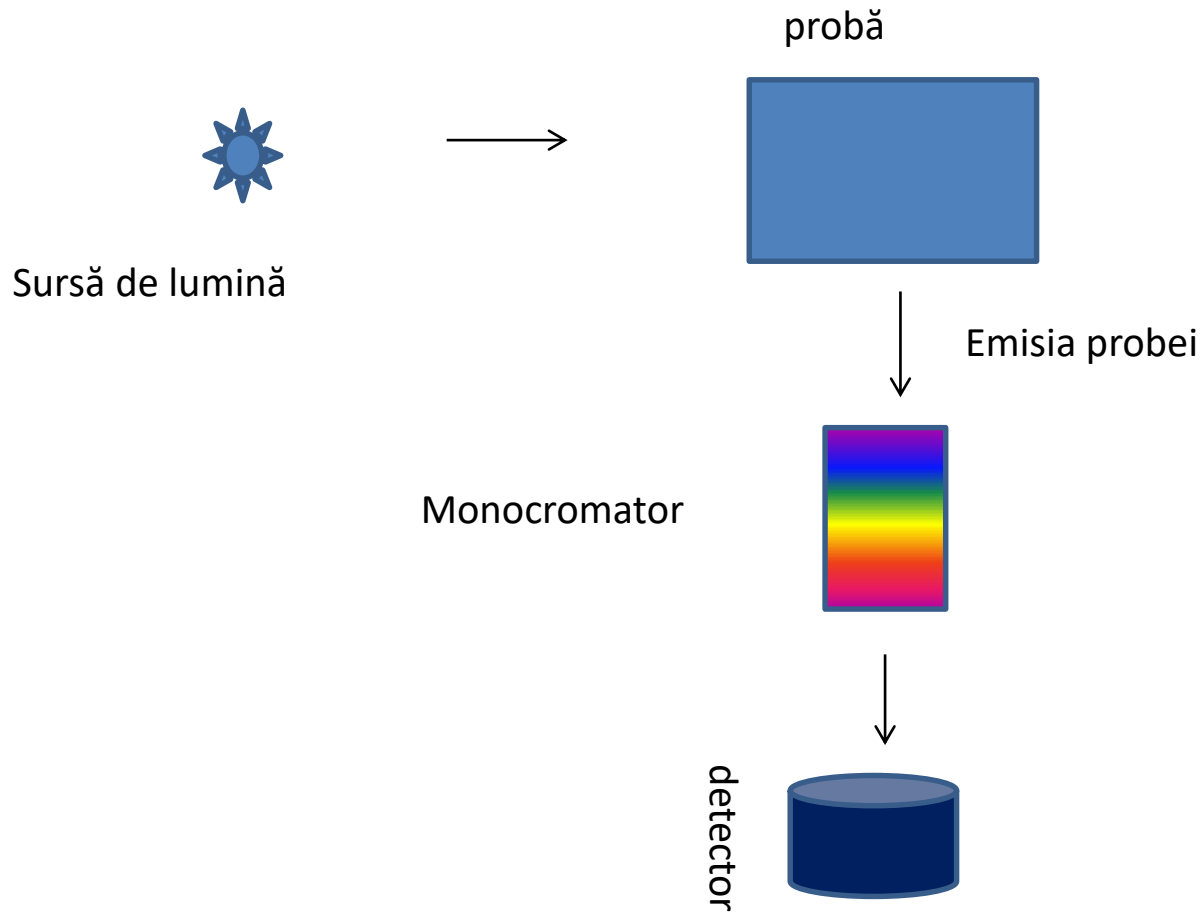
Spectroscopie – absorbție



Produce lumină cu o lungime de undă ce cuprinde un spectru larg

$$I = I_0 e^{-\alpha \cdot x}$$

Spectroscopie - emisie



Spectroscopie

Atenuare a cui? A
intensității luminii care
străbate proba

Legea Beer-Lambert – lege de atenuare. Descrie modul în care intensitatea luminii care străbate proba variază în funcție de o serie de parametrii

Intensitatea măsurată de
detector pentru o anumită
frecvență a fotonilor

Intensitatea inițială emisă
de sursă pentru acea
frecvență a fotonilor

$$I(\nu) = I_0(\nu)10^{-\varepsilon(\nu) \cdot c \cdot b}$$

unde:

ε – absorbitivitate molară (coeficient molar de extincție)

ν – frecvență

c – concentrație molară

b – grosimea probei

Absorbanță
(Extincție):

$$A = \log_{10} \frac{I_0(\nu)}{I(\nu)} = \varepsilon \cdot c \cdot b$$

Transmitanță:

$$T = \frac{I(\nu)}{I_0(\nu)}$$

Spectroscopie

Absorbanța – cuantifică cât din lumina incidentă pe probă a fost absorbită de către aceasta

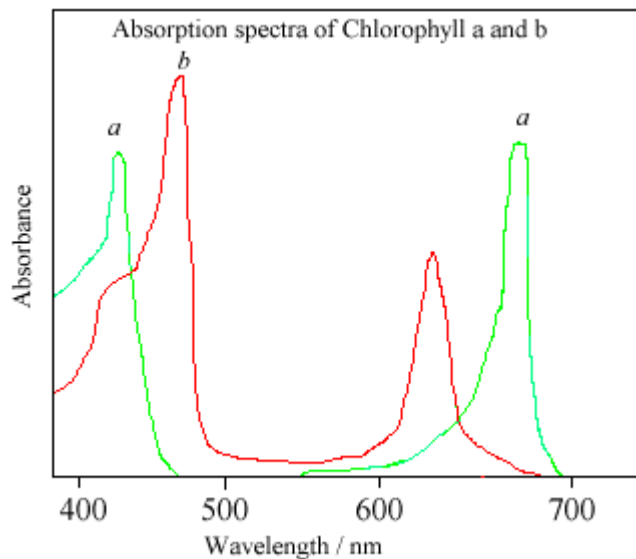
Transmitanța – cuantifică cât din lumina incidentă a fost transmisă mai departe către detector fără să fie absorbită

Odată determinate acești parametri se pot genera spectre de absorbție sau de transmisie – spectre care pot fi folosite în **analiză de tip calitativ**

Analiza calitativă are rolul de a cuantifica calități (ex. Tipul de substanță) ale probei în funcție de aspectul spectrului (fie de absorbție fie de transmisie)

Spectroscopie

EXEMPLU



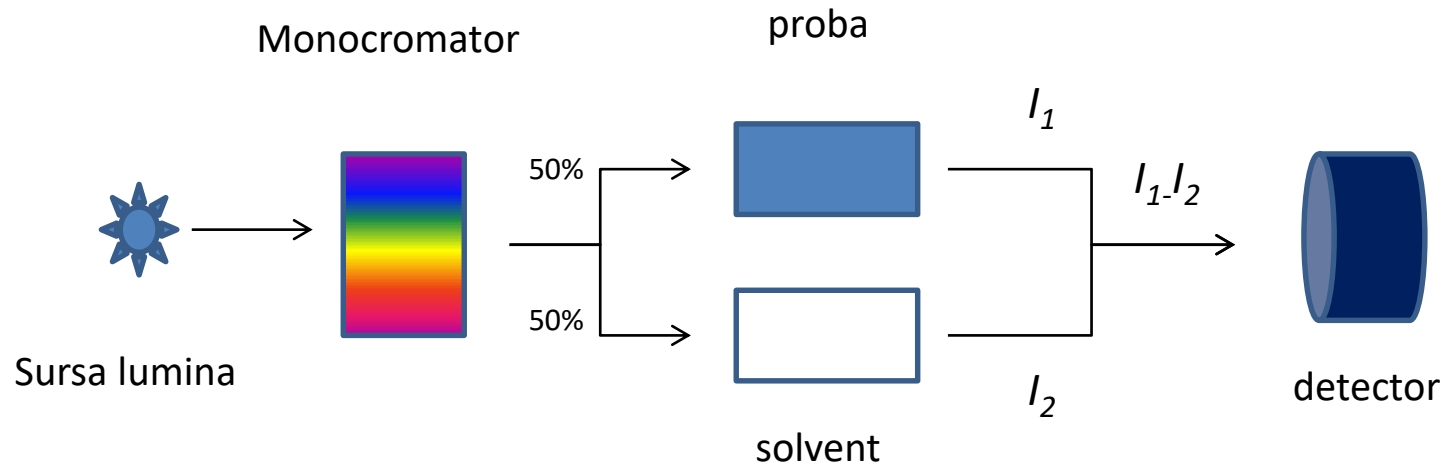
Spectrul de absorbție al clorofilei de tip a și b

Observăm că spectrul este un grafic în care pe axa OX avem lungimea de undă iar pe OY avem valoarea absorbanței

Prin generarea unui astfel de grafic putem determina natura unei substanțe necunoscute. Odată obținut graficul acesta poate fi comparat cu o serie de grafice similare dintr-o bază de date pentru a putea identifica dacă există suprapunere.

În cazul identificării unui grafic suficient de similar (identic) atunci putem spune că am identificat substanța.

Spectroscopie



În funcție de tipul de spectrometru acesta poate avea o capacitate pentru una sau două cuvete. Dacă există două cuvete, într-una se va pune proba de analizat iar în cealaltă doar solventul. În acest fel putem separa absorbanta generată de către cuveta și solvent de absorbanta generată de solvitul din probă (a cărei concentrație ne interesează)

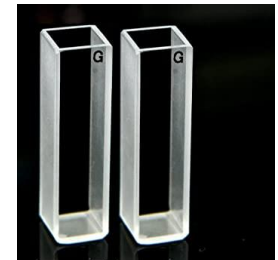
Dacă nu există posibilitatea de a încărca două cuvete acestea vor fi încărcate pe rând – întâi cea care conține doar solventul aparatul fiind adus la zero (calibrat să ignore absorbanta cuvetei și a solventului). Ulterior se va introduce cuveta cu proba și se va măsura absorbanta (care în acest moment va fi dată doar de către solvit)

Spectroscopie

Analiza calitativă → măsurarea T or A pentru a determina natura substanței investigate

Analiză cantitativă → măsurarea A pentru a determina concentrația

Cuvete pentru probe – grosime identică



Absorbanță:
$$A = \log_{10} \frac{I_0(\nu)}{I(\nu)} = \varepsilon \cdot c \cdot b$$

Două probe
$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_2} \cdot \frac{c_1}{c_2} \cdot \frac{b_1}{b_2}$$

Întrucât în acest caz grosimea probei este identică pentru ambele substanțe – vom folosi aceeași cuvă și același spectroscop parametrul b se reduce

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{c_1}{c_2}$$

De asemenea - întrucât ambele probe conțin același tip de substanță numai că în concentrații diferite, parametrul ε este identic pentru ambele probe și se reduce

Spectroscopie

după Prasad N Prasad *Introduction to Biophotonics*

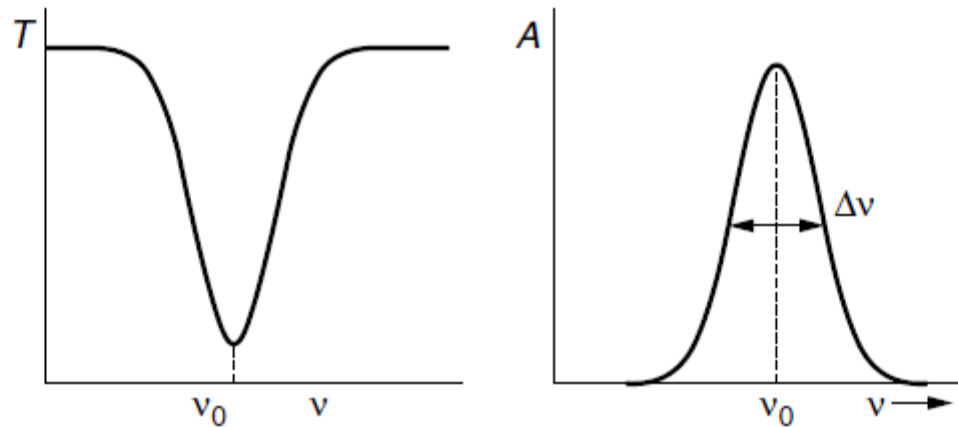


Figure 4.6. Absorption spectra in two different representations, obtainable on most spectrometers.

Observăm o relație de proporționalitate între transmitanță și absorbanță – pe măsură ce schimbăm frecvența fotonilor incidenți pe probă, la acele lungimi la care transmitanța începe să scadă absorbanta începe să crească.

Minimul transmitanței corespunde cu maximul absorbantei.

Ulterior, pe măsură ce transmitanța crește ca valori absorbanta va începe să scadă.