

Математичка гимназија

у Београду

Матурски рад

из физике

ПРОВЕРА ЛАМБЕР-БЕРОВОГ ЗАКОНА ОДРЕЂИВАЊЕМ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ РАСТВОРА АЛУРА ЦРВЕНЕ БОЈЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРОМ

Ученик

Мила Михајловић 46

Ментори

др Бећко Касалица, Физички факултет
др Милеса Срећковић, Електротехнички факултет

Београд, 2025

Садржај

1. Резиме	5
2. Увод	6
2.1 Историја светлости	6
2.2 Фотоелектрични ефекат	7
2.3 Принцип спектрофотометрије	8
2.4 Алура црвена боја	9
3. Материјали и методе	10
3.1 Делови спектрофотометра	10
3.2 Експеримент	12
4. Резултати и дискусија	17
5. Закључак	19
6. Литература	20
7. Захвалнице	21

Резиме

У оквиру овог експерименталног истраживања вршена је провера применљивости Ламбер-Беровог закона путем генерисања низа раствора познатих концентрација вештачке боје алура. Концентрације коришћених раствора су биле 1,2,3,5,8,20 mg/l. Мерења су спроведена на УВ-ВИС спектрометру Agilent типа CARRY 60. Изабрана је трака на таласној дужини од 502nm. Концентрације су помоћу пипете стављене у кивете, затим у спектрофотометар појединачно смо мерили апсорбцију за сваку. Параметри А и с су унесени у OriginPro.9.0.0.-и визуално приказани ради добијања параметара калибрационе криве. На основу добијене праве линије зависности између апсорпције и концентрације, извршено је одређивање непознате концентрације алура црвене боје. За вредност непознате концентрације је узето 2,5. Из резултата наше провере можемо закључити да је спектрофотометарска метода брза и применљива метода.

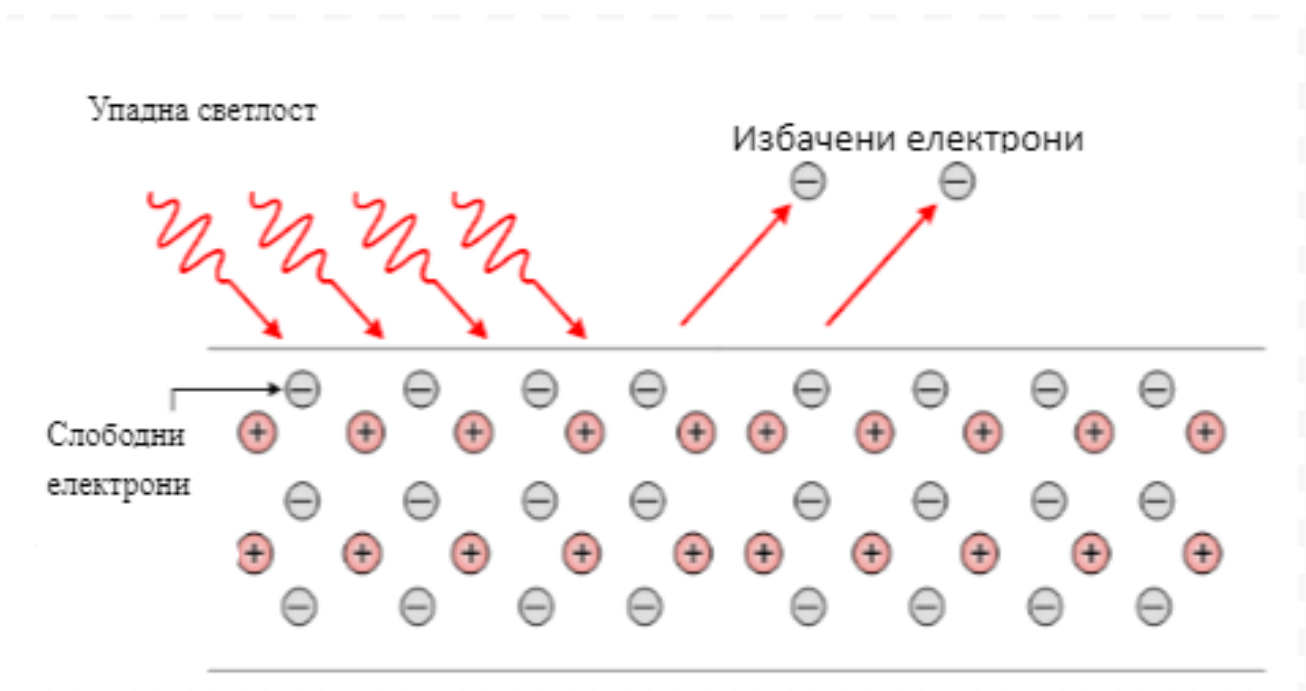
КЉУЧНЕ РЕЧИ: Ламбер-Беров закон, спектрофотометар, примена, Алура црвена боја

Увод

1. Историја светлости и спектрофотометрије

Почетак писаних докумената везаних за светлост потиче од старих Грка, иако је човек од почетка везан за њу.(3) Чињенице су била да су Грци знали за праволинијско простирање светлости (Херонови списи). Архимед је примењивао законе рефлексije код издубљених огледала. Арапи су знали да се помоћу стаклених сочива могу увећавати или умањивати ликови предмета. Стари Грчки филозофи покушали су да објасне природу светлости. У делима Емпедокла (V век п.н.е.) наилазимо на прве трагове о корпускуларној честичној природи светлости. Аристотел (IV век п.н.е.) је имао мишљење да се ради о таласној природи светлости.

Значајнији допринос објашњењу природе светлости после старих Грка јавља се тек у XVII веку у радовима Њутна и Хајгенса. Њутн је у својој теорији претпоставио да се светлост састоји из врло малих материјалних честица корпускула које светлосни извор емитује. Корпускуле су еластичне, а кроз простор се крећу праволинијски великим брзинама. Када ове корпускуле уђу у наше око изазивају осећај светлости. Њутн је први доказао да је бела светлост сложена, тј., да се састоји из корпускула различитих величина и да оне имају различите боје. Закон одбијања и преламања светлости тумачио је законима механике.(4) Хајгенс 1677. године, поставља теорију да је светлост таласна појава, он сматра да светлост није састављена од честица већ да је светлост таласно кретање. Касније, 1800. експерименти Томаса Јанга су показали да светлост може да интерферише односно да има таласну природу. Овај истраживач је изнео и своју претпоставку да светлост различитих боја има различите таласне дужине, као и да људи перципирају боје помоћу рецептора за основне три боје смештени у оку.(4) У току 19. века, експериментална и теоријска достигнућа у смеру разумевања електрицитета и магнетизма су кулминирала у раду Џ. К. Максвела, који је показао да се таласи јављају као последица осцилација електричног и магнетног поља. Предвиђао је да ови таласи пропадају брзином блиском брзини светлости, што је наводило на закључак да је (видљива) светлост заправо електромагнетни (ЕМ) феномен.(4) После је познато да је светлост заправо облик ЕМ зрачења високе фреквенције.(9) Иако је деловало да је питање природе светлости коначно разјашњено, Алберт Ајнштајн је показао 1905. године да је објашњење фотоелектричног ефекта немогуће уколико се не претпостави да се светлост јавља у дискретним пакетима, фотонима (За ово објашњење је он добио Нобелову награду 1921.), светлост се понаша као честице, „без масе” које су преносиоци светлости, а имају и таласну природу што се манифестује у свим експериментима.(5) Ову недоумицу је решио Де Брољ, уводећи чувену релацију по којој свака честица у микросвету има и честична и таласна својства, па сходно томе често кажемо да је светлост дуалне природе.



СЛИКА 1. Приказ фотоелектричног ефекта
FIGURE 1. Fotoeletrical efect

Приказ фотоелектричног ефекта модификацијом са упадним светлосним снопом и избаченим електронима.

2. Фотоелектрични ефекат

Фотоелектрични ефекат представља појаву емитовања електрона са површине метала када је та површина осветљена електромагнетним зрачењем, односно светлошћу одређене таласне дужине. Први пут је ова појава експериментално уочена у 19. веку, али је њено теоријско објашњење понуђено тек 1905. године, када је Алберт Ајнштајн објавио рад у коме је објаснио да се светлост понаша не само као талас, већ и као честица, тј. као сноп фотона. За то објашњење добио је Нобелову награду 1921. године.

Сваки фотон носи енергију која је директно пропорционална његовој фреквенцији, по формули:

$$E = h \cdot \nu$$

где је E енергија фотона, h је Планкова константа, а ν је фреквенција светлости. Када фотон удари у површину метала и његова енергија превазилази такозвану радну функцију метала (минималну енергију потребну да се електрон ослободи из метала), електрон бива избачен са површине. Вишак енергије фотона прелази у кинетичку енергију емитованог електрона.

Овај ефекат није могао бити објашњен класичном теоријом електромагнетизма, која је предвиђала да интензитет светлости, а не њена фреквенција, одређује да ли ће електрони бити избачени. Међутим, експерименти су показали да нискофреквентна светлост, ма колико интензивна била, не може изазвати фотоелектрични ефекат ако не прелази праг фреквенције — што је директан доказ за квантну природу светлости.

Примена фотоелектричног ефекта је веома широка. Он је основа за рад соларних ћелија, фотоћелија, детектора светлости, као и у основи неких типова електронских микроскопа.

3. Принцип спектрофотометрије

Док фотоелектрични ефекат описује како светлост може изазвати излазак електрона из материјала, спектрофотометрија се бави мерењем апсорпције светлости од стране супстанци — обично у раствору — како би се добиле информације о њиховој концентрацији или структури.

Спектрофотометрија је аналитичка метода која се заснива на чињеници да свака хемијска супстанца апсорбује светлост специфичних таласних дужина. Инструмент који се користи у овој методи зове се спектрофотометар. Он мери количину светлости коју супстанца апсорбује на одређеној таласној дужини, и ту апсорпцију повезује са концентрацијом те супстанце у раствору.

Спектрофотометар функционише по следећем принципу:

1. Светлосни извор емитује светлост која пролази кроз монохроматор, уређај који пропушта само одређену таласну дужину светлости.
2. Та монохроматска светлост пролази кроз ћелију која садржи узорак.
3. Детектор мери колико светлости је прошло кроз узорак (трансмисија) и колико је апсорбовано.
4. На основу Беровог-Ламберовог закона, апсорпција светлости (I) је пропорционални концентрацији супстанце (c):

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

где је ϵ моларни коефицијент апсорпције, c концентрација супстанце, а l дужина пута светлости кроз узорак (дебљина кивете).

Ова метода је нарочито корисна у биохемији, фармацији, медицини и екологији. Спектрофотометрија омогућава тачно мерење концентрације протеина, ензима, ДНК, лекова, као и праћење хемијских реакција у реалном времену.

Основне карактеристике спектрофотометрије

Спектрометрија представља проучавање деловања електромагнетног зрачења на састав и структуру материје и анализира спектре, који настају интеракцијом зрака са материјом. Спектроскопија је грана физике, која проучава ефекте повезане са емисијом и апсорпцијом електромагнетног зрачења. Оптичке методе анализе заснивају се на међусобној интеракцији дела електромагнетног зрачења и испитиване супстанце.(6) Њихова главна карактеристика је универзалност.

Беер-Ламбертов је фундаментални принцип који повезује слабљење светлости са својствима материјала кроз који светлост пролази.

Када монохроматско светло почетног интензитета (I_0) пролази кроз посуду у којој се

налази раствор, део светлости сапсорбује, што доводи до смањења интензитета пропуштене светлости (I_p).⁽⁶⁾

Слабљење светлости може настати услед различитих фактора као што су расејање честицама у раствору, рефлексија на интерфејсима и најважније, апсорпција од самог раствора. Однос између пропуштеног интензитета светлости (I_p) и почетног интензитета светлости (I_0) зависи од два кључна фактора: дужине путање (b) медијума и концентрације (I_p) раствора који апсорбује. Ови фактори су описани Ламбертовим и Бееровим законима. Закон гласи је:⁽⁷⁾

$$I_p = I_0 e^{-kb} \quad (1)$$

Што се применом Беровог закона и формуле за апсорбанцију може извести:⁽⁷⁾

$$A = \log \frac{I_0}{I_p} = abc \quad (2)$$

Постоје одређена ограничења Ламбер-Беровог закона: Реална (велике концентрације х међусобно реагују), хемијска (аналит дисоције/асоције или реагује са растварачем), инструментална ($a = f(x)$); уколико је извор полихроматски, а не искључиво монохроматски, расејана светлост настала рефлексијом на монохроматору)

Инструмент који се користи за проучавање УВ/ВИС спектра УВ/ВИС спектрофотометар.⁽⁶⁾ Спектрофотометар мери интензитет зрачења које је прошло кроз анализирани узорак (I) и упоређује га са интензитетом упадног зрачења (I_0).

4. Алура црвена боја

Алура црвена боја је вештака боја која је најкоришћенија, чије концентрације нису токсичне до 0,5% у храни и козметици.⁽¹⁾ Алур црвена боја може се користити и у другим областима као што су фотографија, графички дизајн, и уметничка дела. У РГБ је описана као боја која садржи 255 црвене, али варира од чистоће и концентрације раствора. Алура црвена се најчешће користи за бојење производа као што су газирана пића, желе бомбоне, слаткиши, пудинзи, сладоледи, печена добра и разне фармацеутске таблете или сирупи. Њена популарност потиче из чињенице да има добру термичку стабилност и да је визуелно привлачна, што производима даје интензивну и равномерну боју.

Међутим, употреба Алура црвене изазива одређене контроверзе. Нека истраживања су повезала ову боју са хиперактивношћу код деце, посебно када се користи у комбинацији са одређеним конзервансима (нпр. натријум бензоатом). Иако регулаторне агенције попут Европске агенције за безбедност хране (EFSA) и Америчке агенције за храну и лекове (FDA) дозвољавају њену употребу у одређеним количинама, у неким земљама се препоручује ознака упозорења или је потпуно забрањена.

У Европској унији, производи који садрже Алура црвену морају носити натпис да боја “може имати негативан утицај на активност и пажњу код деце”. Због тога многи произвођачи прелазе на природне алтернативе, као што су боје добијене од репе или паприке.

Материјали и методе

1. Делови спектрофотометра

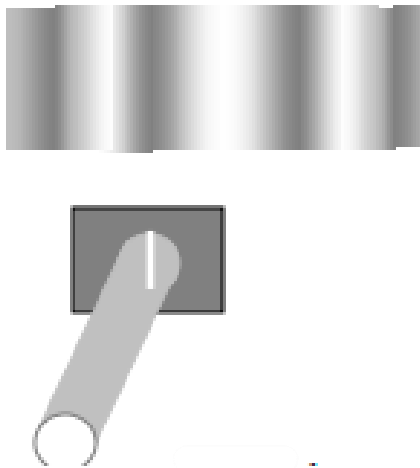
Монохроматор представља кључни део спектрофотометра, инструмента који се користи за разлагање светлости на њене појединачне компоненте, зависно од извора различите таласне дужине или боје.(5) Монохроматор је састављен од неколико кључних делова који омогућавају прецизно разлагање и анализу светлости. Улазна прорез је први део монохроматора који омогућава улазак светлости у сам систем. Овај део може бити контролисан и прилагођен како би се одабрала одређена светлост која ће бити анализирана. Колиматор, или колиматорска сочива, представља компоненту која се користи за формирање паралелних зрака светлости који пролазе кроз систем монохроматора. Циљ колиматора је обезбедити паралелне светлосне зраке које ће касније проћи кроз дисперзиону компоненту.(3) Дисперзиона компонента има кључну улогу у разлагању светлости на њене појединачне таласне дужине. Дисперзија се обично постиже помоћу призме или решетке, а одабир материјала и геометрије зависи од врсте спектрометра.(2) Ова компонента омогућава раздвајање светлости према њеним таласним дужинама, што је кључно за анализу.

Фокусна сочива, или фокусирајуће сочива, користе се за фокусирање различитих таласних дужина светлости на детектор. Циљ је добити оштар и прецизан спектар на детектору.(3) Излазни прорез је компонента која омогућава само пролазак одабране таласне дужине светлости ка детектору. Контрола излазне прореза омогућава корисницима да селекују тачну таласну дужину коју желе анализирати.

Детектор је кључна компонента која региструје интензитет светлости на одређеним таласним дужинама. Детектори могу бити различити, укључујући фотомултипликаторске цеви (FMP), фотодиодне детекторе или CCD камере.(2) Ови детектори омогућавају прецизно мерење интензитета светлости и омогућавају добијање спектралних информација. Поред ових основних делова, монохроматори често садрже ротационе и за механизме који омогућавају корисницима да прилагоде положај дисперзионе компоненте и излазне прореза.(3) Ово је кључно за прецизно избор таласних дужина и подешавање система према специфичним потребама експеримента или анализе.

Дифракција, феномен који се јавља при проласку светлости кроз отвор или препреку, кључан је принцип који омогућава деловање дисперзионе компоненте у монохроматору. Дифракција се јавља када светлосни таласи пролазе кроз отвор или се савијају око препреке, што доводи до разлагањем светлости на појединачне таласне дужине. Оптичке дифракционе решетке представљају кључан елемент дисперзионе компоненте у многим монохроматорима.(2) Ове решетке се састоје од великог броја паралелних призми, који делују као мали дифракциони елементи. Када светлост пролази кроз ове решетке, долази до интерференције таласа и разлагања светлости на појединачне таласне дужине. Дифракциона решетка се често прави на стакленој или другој површини, где се врши прецизно урезивање великог броја танких зареза. Сваки прорез делује као мали дифракциони елемент, доприносећи разлагању светлости на појединачне таласне дужине.

Интерференција таласа између различитих прореза а доприноси формирању интерференцијског узорка са светлима и тамним пругама, што омогућава прецизно разлагање светлости на њене компоненте.(3) Дифракција је кључни феномен који омогућава деловање дисперзионих компоненти у монохроматорима и омогућава разлагање светлости на појединачне таласне дужине.



СЛИКА 3. Принцип дифракције
FIGURE 3. Principle of diffraction

Дифракционе решетке су кључни оптички елементи који се користе у спектрофотометрији, спектроскопији, астрономији и другим областима где је потребно разлагање светлости на појединачне таласне дужине или боје.(11) Постоје различите врсте дифракционих решетака, а свака од њих има своје карактеристике и примене.



СЛИКА 4. Монохроматор
FIGURE 4. Monochromator

Прва врста дифракционих решетака су рефлексивне решетке. Ове решетке се састоје од редова паралелних жлебова на површини металне плоче.(3) Сваки жлеб служи као мали дифракциони елемент, који прелама светлост и омогућава разлагање на појединачне таласне дужине.(11) Рефлексивне решетке се често користе у спектроскопији за анализу светлости и емитованих спектра.

Друга врста су трансмисионе решетке, које пропуштају светлост кроз саме решетке. Ове решетке су често направљене од стакла или пластике, са уторима који су нанети на површину. Трансмисионе решетке се користе у различитим оптичким инструментима, укључујући спектрофотометре и спектрометре, због своје високе ефикасности и прецизности.(11)

Холографске решетке су трећа врста, које се производе користећи холографску технологију.(2) Ове решетке имају комплексне тродимензионалне структуре које се формирају интерференцијом светлости. Холографске решетке имају високу дисперзију и ефикасност, и често се користе у високотехнолошким применама где је потребна веома прецизна спектрална анализа.V

Интерферометарске решетке представљају још један тип дифракционих решетака који се користи у интерферометрији и оптичкој техници.(2) Ове решетке користе принцип интерференције светлости како би генерисале прецизне интерференцијске обрасце који се користе за мерење таласних дужина или процену оптичких карактеристика материјала.

2. Експеримент

У оквиру овог експерименталног истраживања вршена је провера применљивости Ламбер-Беровог закона путем генерисања низа раствора познатих концентрација вештачке боје алура црвене боје кода Е129 (молекулске формуле $C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$). Концентрације коришћених раствора су биле 1,2,3,5,8,20 mg/l. Концентрације од 8 mg/l, 5 mg/l, 3 mg/l, 2 mg/l и 1 mg/l. су направљене разблаживањем раствора од 20 mg/l коришћењем формуле (3),

$$V_1 \cdot c_1 = V_2 \cdot c_2 \quad , \quad (3)$$

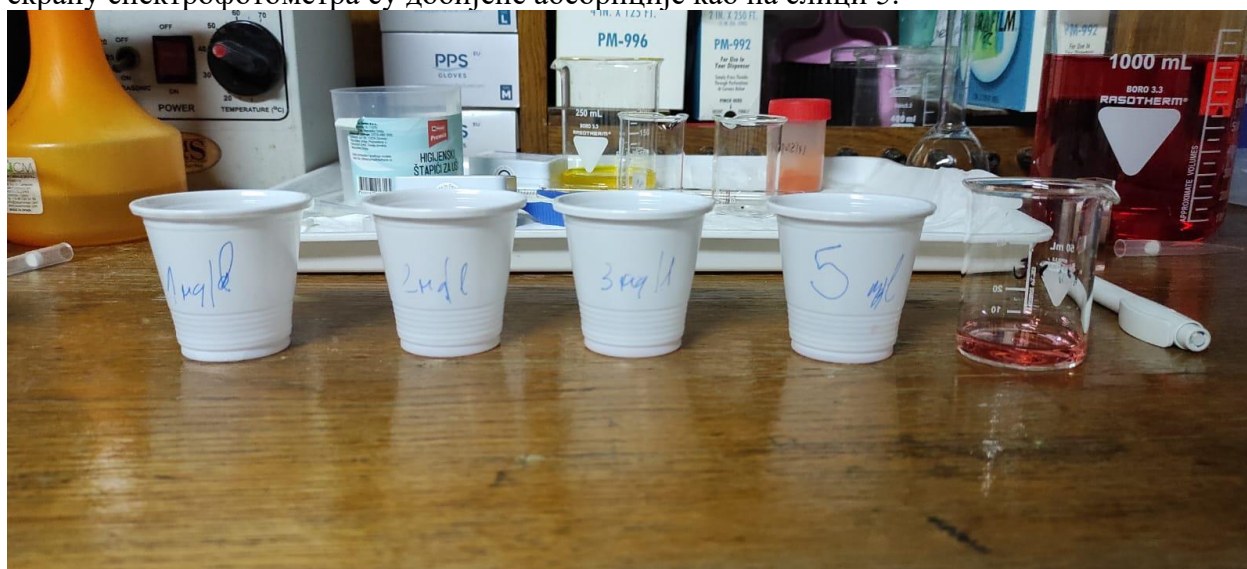
где су за вредности V_1 , c_1 , c_2 узете редом(1), 5 μ l као запремину кивете у коју ћемо ставити Алура црвену боју испитиване концентрације, x mg/l жељне концентрације и 20 mg/l као почетног концентрованог раствора. Када смо направили растворе за кивете који су приказани на слици 4.

Мерења су проведена на УВ-ВИС спектрометру Agilent типа CARRY 60, распона од 190 до 1100 nm.

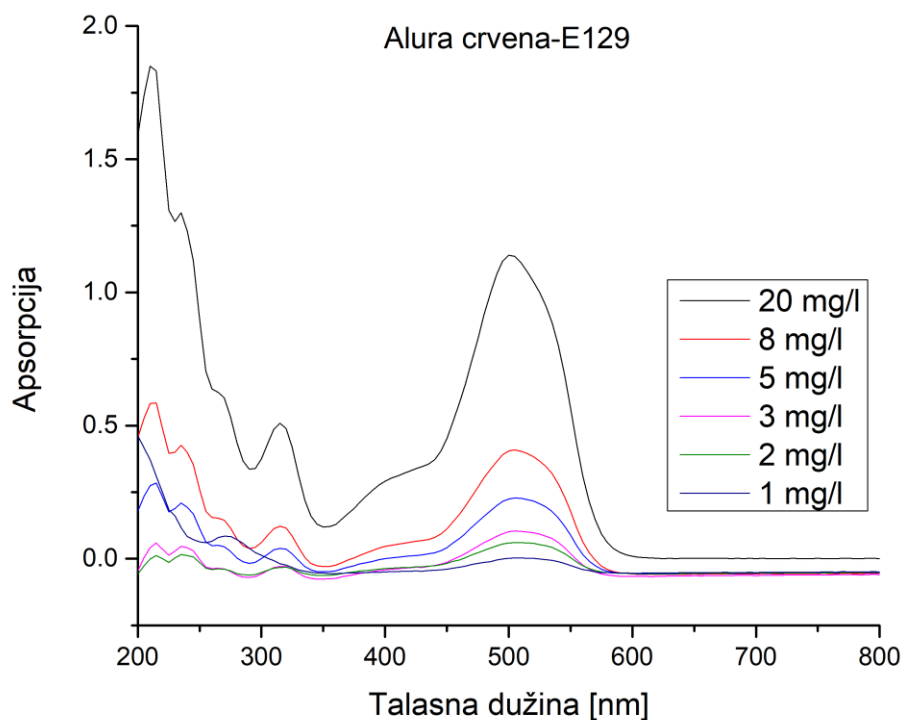


СЛИКА 5. UV-ВИС спектрофотометар Agilent типа CARRY 60
FIGURE 5. UV-VIS spectrophotometer Agilent type CARRY 60

Концентрације су помоћу пипете стављене у кивете, затим у спектрофотометар појединачно смо мерили апсорбцију за сваку. Изабрана је трака на таласној дужини од 502nm која је представљала пик концентрације од 20 mg/l. После дигиталног мерења на екрану спектрофотометра су добијене апсорпције као на слици 5.

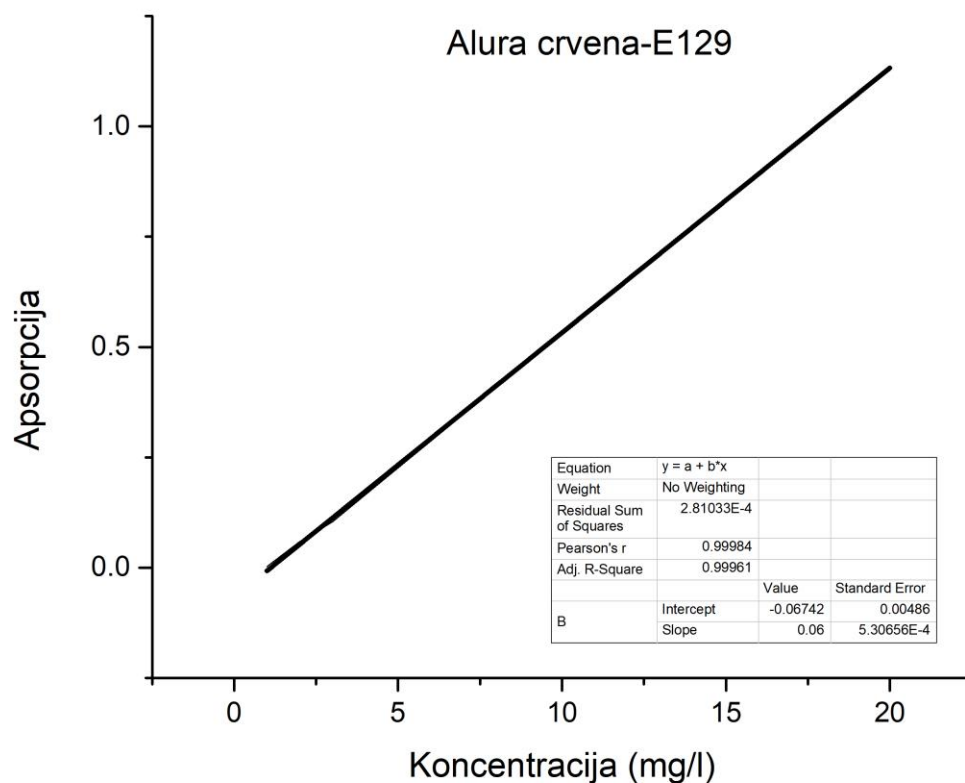


СЛИКА 6. Познате концентрације и наша непозната
FIGURE 6. Known concentrations and my unknown



СЛИКА 7. Зависност апсорпције од таласне дужине за познате концентрације
 FIGURE 7. Dependence of absorption on wavelength for known concentrations

За сваку концентрацију је одређена апсорпција на таласној дужини од 502 nm. После тога су одређени параметри праве. Параметри А и с су унесени у OriginPro.9.0.0.-и и визуално приказани ради добијања параметара калибрационе криве, са слике 6.

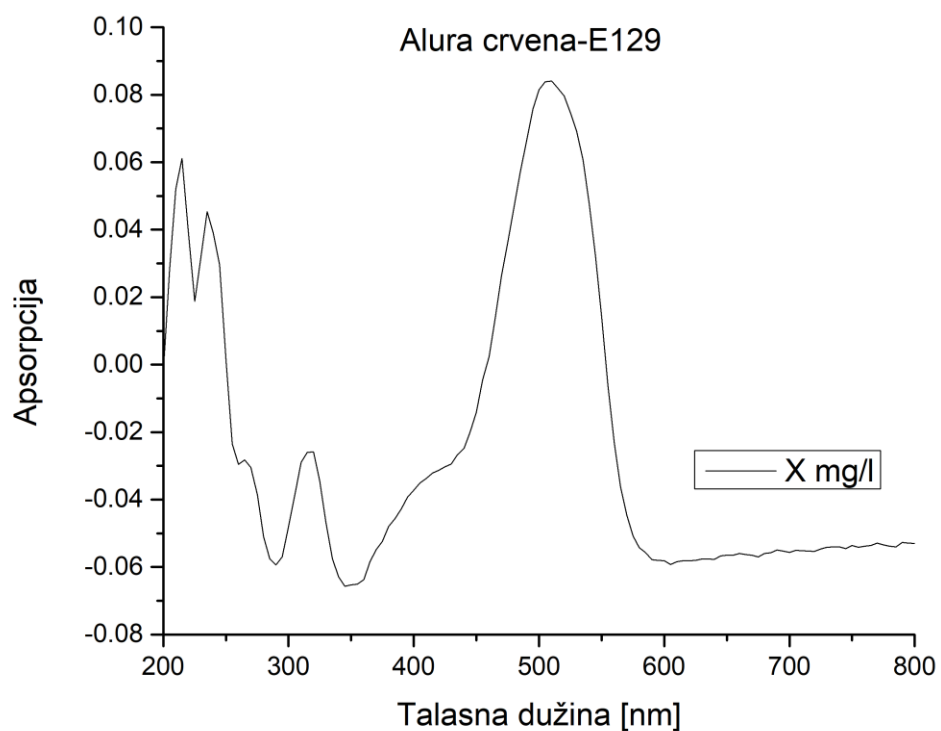


СЛИКА 8. Калибрациона крива
FIGURE 8. Calibration curve

На основу добијене праве линије зависности између апсорпције и концентрације, одређени су параметри те праве,

$$A = k \cdot c + n \quad (4)$$

Након тога је извршено одређивање непознате концентрације алура црвене боје. Растворена супстанца је стављена помоћу пипете у кивету, затим у спектрофотометар. Извршено је мерење апсорпције као на слици 9.



СЛИКА 9. Зависност таласне дужине од апсорбције непознате концентрације
 FIGURE 9. Dependency of wavelength on absorption of unknown concentration

На таласној дужини је узета вредност апсорпције за непознату концентрацију и вредности су убачене у формулу (4) ради добијања вредности непознате концентрације.

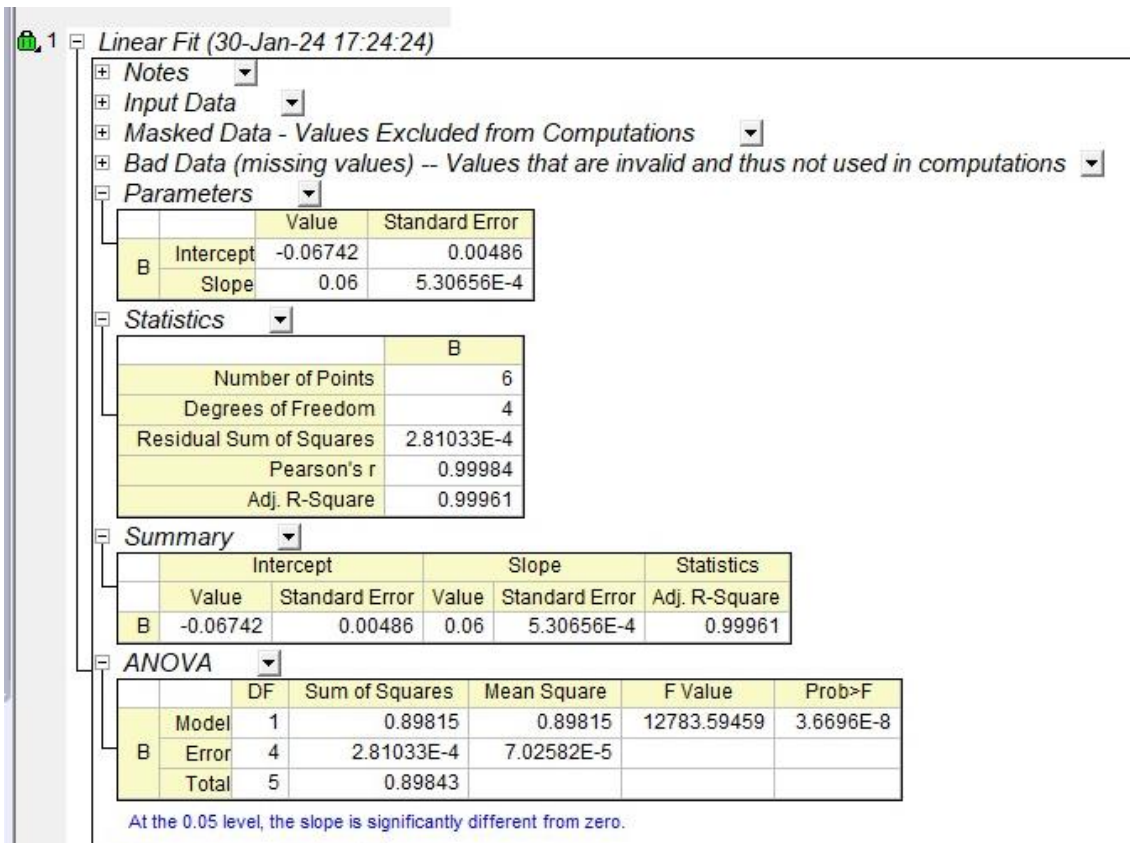
Резултати и дискусија

У Табели 1 су приказане апсорбанце узорака и са x је означена непозната концентрације. Неодређености при мерењу би могле бити неодређености самог инструмента (спектрофотометра) при одређивању апсорпције на пику од 502 nm. за фотодиодични детектор то износи 0,07 A, док за пипету 1 μ m.

ТАБЕЛА 1. Резултати апсорбције за дате концентрације
TABLE 1. Absorption results for given concentrations

	c(mg/l)	A(502 nm)
AR5	3	0,1037
AR7	2	0,0590
AR8	1	0,0021
AR9	5	0,2261
AR10	8	0,4085
AR1	20	1,1360
AR11	x	0,0821

Из Origin анализе калибрационе криве (Слика 7) је добијено да је $k=-0,06742$ и $n=0,06$ са слике 8. Одрађен је визуални приказ зависности апсорпције и концентрације.



СЛИКА 10. Резултати Origin 9.0 програма
FIGURE 10. Results of Origin 9.0 program

Применом једначине калибрационе криве (формула (4)) са $A=0,0821$ закључујемо да је $x=2,491\text{mg/l}$. Права вредност из Ламберт- Беровог закона за x је $2,5\text{ mg/l}$, што је приближно добијено нашим резултатима.

ЗАКЉУЧАК

За вредност непознате концентрације је узето 2,5. Из резултата наше провере можемо закључити да је спектрофотометарска метода брза и применљива метода. Спектрофотометрија представља важан алат у различитим областима, укључујући форензику, индустрију и фармацију. Ова техника се користи за анализу светлости коју апсорбују различите супстанце у различитим дужинама таласа светлости. Путем спектрофотометрије, могуће је одредити концентрацију, присуство или одсуство одређених супстанци у узорцима, што има широк спектар примена у различитим областима.(8)

У области форензике, спектрофотометрија се користи за анализу узорака наркотика и алкохола у крви. Ова анализа је кључна у истраживању кривичних дела, саобраћајних незгода и других инцидената.(8) Спектрофотометрија омогућава прецизно одређивање концентрације алкохола и различитих наркотика у крви, што има велики значај за судске поступке и истражне процедуре.

Једна од примарних примена спектрофотометрије у метеорологији је анализа атмосферских гасова.(10) Мерењем апсорпционих спектра гасова као што су озон (O₃), азот диоксид (NO₂), сумпор диоксид (CO₂) и други, метеоролози могу проучавати концентрације загађења и процесе у атмосфери који утичу на квалитет ваздуха и климатске промене.

Поред тога, спектрофотометри се користе и за праћење аеросола у атмосфери. Аеросоли, попут честица прашине, дима, полена и других суспендованих честица, имају значајан утицај на атмосферске процесе, време и климу.(10) Мерењем величине, састава и концентрације аеросола, метеоролози могу боље разумети њихов утицај на атмосферске феномене и животну средину.

У индустријском окружењу, спектрофотометрија се користи за контролу квалитета производа, анализу сировина и праћење процеса производње.(1) Примена ове технике у индустрији помаже у осигуравању конзистентности производа, идентификацији недостатака у производном процесу и одржавању стандарда квалитета.

Фармацеутска индустрија је једна од области која посебно користи спектрофотометрију за идентификацију и контролу квалитета лекова. Путем спектрофотометрије, могуће је испитати спектре апсорпције различитих супстанци у лековима, одређивање њихових концентрација и проверу чистоте сировина. Овај процес игра кључну улогу у осигуравању безбедности и ефикасности лекова који се стављају на тржиште.(8)

. Ова техника омогућава прецизну анализу узорака и контролу квалитета различитих материјала, што је од кључног значаја за безбедност, квалитет и ефикасност у различитим процесима и производима.

Литература

1. Р. Петронијевић, Испитивање могућности примене нових метода за контролу употребе вештачких боја код производа од меса, Београд, 2013
2. D.A. Skoog, J. F. Holler, Principles of Instrumental Analysis (6th ed.). Belmont, CA: Thomson Brooks/Cole 2007
3. M. L. Price, L.G. Butler. Rapid Visual Estimation and Spectrophotometric Determination of Tannin Content of Sorghum Grain, J. Agric., 1977
4. A.F. Harvey, Coherent light, Wiley-Interscience admission of John Willey & sons LTD, London, 1970
5. J.I. Goldstein, H. Yakowitz, J.R. Coleman, D.E. Newburg, E. Lifshin, J.W. Colboy, Practical scanning electron microscopy, Plenum Press, New York
6. Л.Д. Брахрах, А.П. Курочкин, Голография в микроскопской технике, Советское радио, Москва, 1979
7. D.R. Rossington, R.A. Gondrat, R.C. Synder, Advances in material characterization, Plenum Press, New York, 1983
8. H. Lang, Farbmetrik und Farbfernsehen, R. Oldenbourg Graphische Betriebe, Munchen, 1978
9. T.B. Brill, Light and its interaction Art and Antiquities, Plenum Press, New York, 1980
10. J. Pantelic-Babic, "Meterologija-ukratko", Zavod za instrumente i dragocene materijale, Beograd, 2008
11. А.А. Токовинин, Звезданные интерферометры, Наука, Москва, 1988

Захвалности

Желим да изразим велику захвалност својим менторима, др Бећку Касалици са Физичког факултета и др Милеси Срећковић са Електротехничког факултета, на несебичној помоћи, стручном вођењу и подршци током израде овог рада. Њихова посвећеност, јасна објашњења и охрабрујући савети били су од пресудног значаја за разумевање сложених научних појмова и успешну реализацију експеримента.