



**ГБПОУ СК «Ставропольский базовый медицинский колледж»
ЦМК лабораторной диагностики**

Ставрополь, 2020 год

Лекция №11

СУЩНОСТЬ

ФОТОМЕТРИЧЕСКИХ

МЕТОДОВ

ОП.06 Физико- химические методы
исследований и техника
лабораторных работ

1 курс 2 семестр

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ВЕЩЕСТВ

Химические

Физические

Физико-химические

спектральные
(оптические)

электрохимические

сорбционно-
экстракционные

фотометрия

поляриметрия

рефрактометрия

спектрометрия

потенциометрия

хроматография

экстракция

* 1. Понятие о спектральном анализе

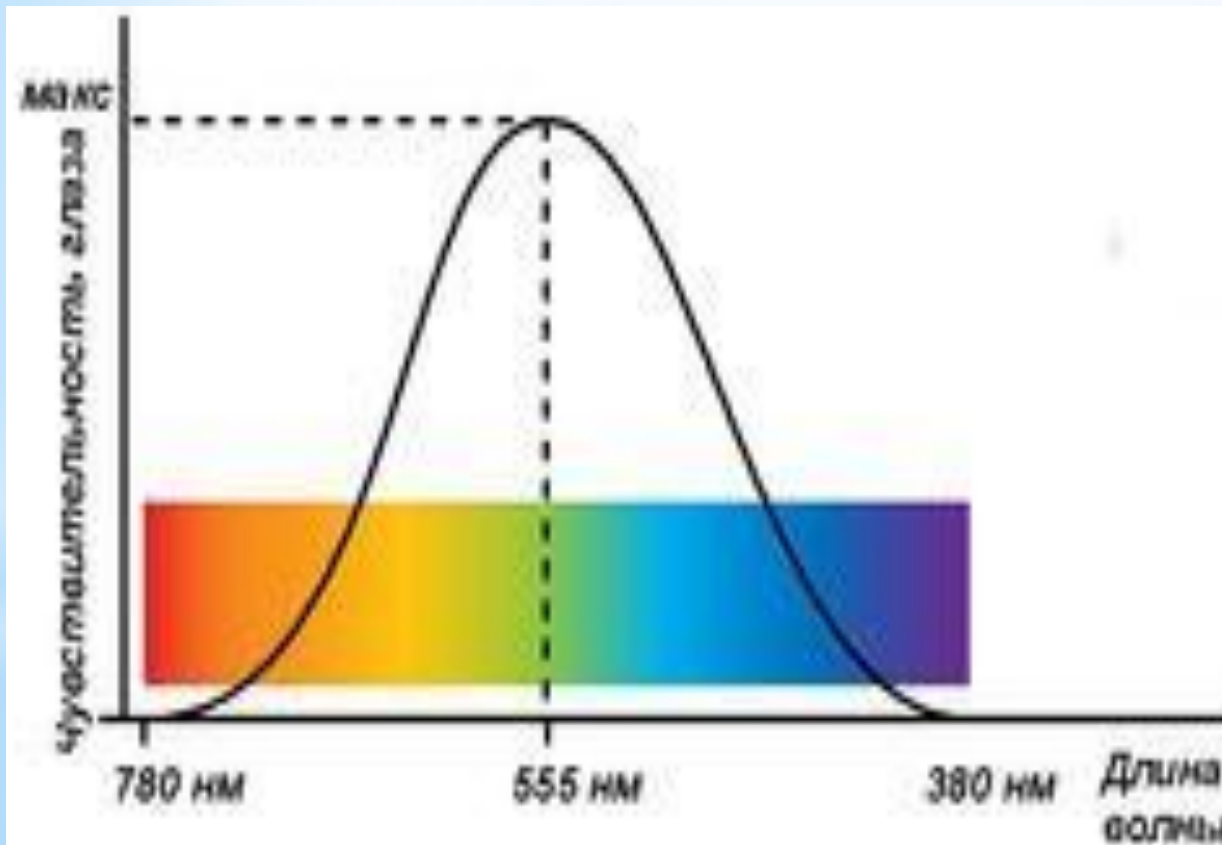
- * От аналитических методов требуется высокая производительность и возможность автоматизации отдельных представителей или всего анализа.
- * Ведущее место занимает спектральный анализ, в основе которого лежит связь между составом и оптическими свойствами системы (светопоглощением; светорассеянием; преломлением света и т.д.)

* Свет- это электромагнитное излучение, которое сочетает в себе :

- *волновые свойства* (в таких явлениях как интерференция, дифракция, поляризация, свет ведет себя как волна)
- *свойства, присущие частицам* (отражение, преломление, фотоэффект, когда свет ведёт себя как поток частиц-фотонов).

- * *Единица измерения длины световой волны в системе СИ- метр (м);*
- * *В ультрафиолетовой и видимой области- нанометр (нм)- $1\text{ нм} = 10^{-9}\text{ м}$.*

Воспринимаемое глазом (видимое) излучение лежит в промежутке длины волн от 380 до 780 нм.



* Слева от видимого спектра излучения находятся инфракрасное, а справа ультрафиолетовое излучение.

- * Спектральный анализ универсален.
- * Позволяет определять состав вещества, его качественные и количественные характеристики.
- * Вещества с близкими химическими свойствами, которые невозможно разделить химическим путем, легко определяются спектральными методами.
- * Можно изучать жидкие, твердые и газообразные вещества.

* В зависимости от изучаемых свойств света, выделяют такие спектральные методы изучения веществ как фотометрия, поляриметрия, рефрактометрия, спектрометрия и др.

* В зависимости от принципа измерения все методы спектрального анализа делят на:

- Абсорбционные- измеряют способность вещества к поглощению света

- Эмиссионные- измеряют способность вещества к испусканию света

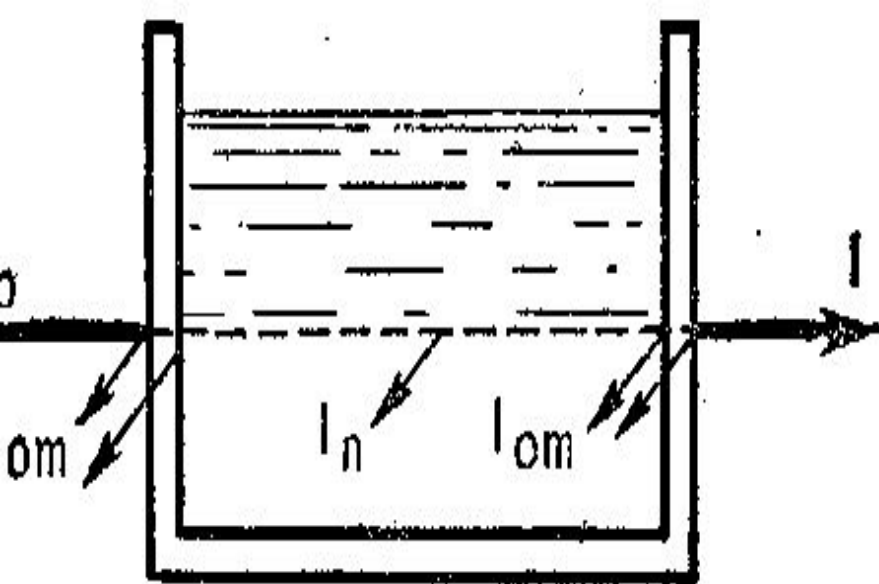
*

* 2. Абсорбционные методы спектрального анализа

- * В зависимости от типа абсорбционных спектральных приборов различают фотометрический и спектрофотометрический методы.
- * Оба метода объединяют в одну группу *фотометрических методов анализа*.
- * Основаны на способности окрашенных растворов, поглощать свет.
- * Степень поглощения излучения зависит от концентрации вещества в растворе.

- * Принцип фотометрических методов:
- * Каждое вещество поглощает излучение с определенными (характерные только для него) длинами волн, т.е. **длина волны поглощаемого излучения индивидуальна для каждого вещества.**

- * Спектр- это упорядоченное расположение излучения по длинам волн.
- * Для получения спектров поглощения анализируемую пробу помещают между источником света и спектральным аппаратом.
- * **Фотоколориметрия**- это определение поглощения вещества в видимой части спектра (исследуют окрашенные растворы)
- * Если исследуемое вещество не окрашено, его можно анализировать фотоэлектрофотометрически, предварительно, переводя его в окрашенное соединения путем химической реакции с определенными реагентами (фотометрической аналитической реакцией).



- * Согласно, *закону поглощения света*, поток света, попадая на объект, частично поглощается, отражается, частично проходит через слой вещества.

Интенсивность первоначального излучения после прохождения через поглощающий раствор снижается.

Если известна толщина исследуемого слоя и величина первоначального светового потока, а аппарат регистрирует величину оставшегося светового потока, то можно **вычислить концентрацию исследуемого вещества.**

- * Для характеристики поглощающего вещества используется значение **экстинкции (E)**.
- * Экстинкция- это логарифм отношения интенсивности первоначального излучения (I_0) и излучения после прохождения через кювету (I_t):
- * так как $\lg (J_0 / J_t) = \epsilon Ch$,
- * формула имеет вид: $E = \lg (I_0 / I_t)$;
- * где ϵ - молярный коэффициент поглощения;
- * C - концентрация;
- * h - толщина раствора.

$$E = \epsilon Ch;$$

* Молярный коэффициент поглощения (коэффициент экстинкции) равен оптической плотности одномолярного раствора при толщине слоя 1 см.

* Таким образом, экстинция (E) прямо пропорциональна толщине поглощающего слоя (h), концентрации раствора (C) и молярному коэффициенту поглощения (ϵ).

$$E = \epsilon Ch;$$

- * Оптимальные условия фотометрических определений.
- * Для проведения фотометрического анализа выбирают:
 - * 1) светофильтр
 - * 2) длину волны (оптическую плотность)
 - * 3) толщину слоя определе



- * А. Выбор светофильтра и оптимальной длины волны поглощаемого излучения.
- * Светофильтры- помещают на пути светового потока чтобы выделить из него лучи определенной длины волны.
- * Пропускают только лучи в определенном интервале длин волн. Это цветные стекла, пленки, окрашенные растворы.
- * Для каждого анализа, светофильтр и длину волны выбирают экспериментально, исходя из спектра поглощения лучей исследуемым раствором.

Цвет раствора	Область максимального поглощения лучей раствором, нм	Цвет светофильтра
Желто-зеленый	400- 450	Фиолетовый
Желтый	450- 480	Синий
Оранжевый	480- 490	Зелено-синий
Красный	490- 500	Сине-зеленый
Пурпурный	500- 560	Зеленый
Фиолетовый	560- 575	Желто-зеленый
Синий	575- 590	Желтый
Зелено-синий	590- 625	Оранжевый
Сине-зеленый	625- 700	Красный

- * Б. Оптимальная толщина светопоглощающего слоя
- * С увеличением толщины слоя раствора (длины оптического пути) возрастают потери на рассеяние света.
- * Для фотометрии растворов применяются специальные сосуды (кюветы), плоской формы с толщиной слоя менее 5 см.



* Приемы фотометрических измерений-

* метод градуировочного графика

- * Применение градуировочных графиков - наиболее распространенный и точный метод фотометрических измерений.
- * В соответствии с законом светопоглощения, график в координатах **оптическая плотность (значение экстинции) - концентрация** должен быть линейен и прямая должна проходить через начало координат.

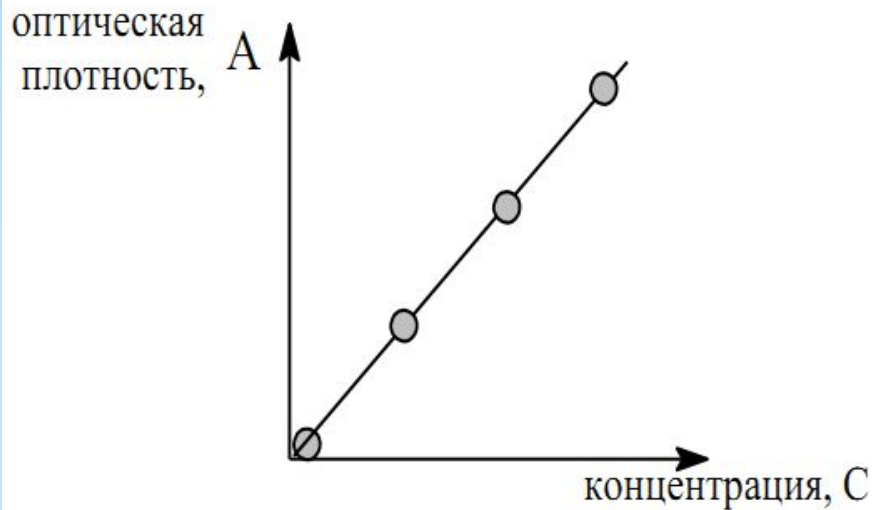


РИС. Графическое изображение зависимости $A = f(c)$

График строят не менее чем по трем точкам, что повышает точность и надежность определений.

При нарушении линейной зависимости, число точек на графике должно быть увеличено.

- * Основные ограничения метода связаны с трудностями приготовления эталонных растворов и учетом влияния «третьих компонентов», которые находятся в пробе, сами не определяются, но на результат влияют.

* Основные узлы приборов для фотоколориметрии:

- источник света- вольфрамовые лампы накаливания, газонаполненные лампы (водородная, ртутная);
- монохроматизатор света (или монохроматор) - устройство для получения света с заданной длиной волны.
- кювета с исследуемым веществом.
- рецептор (приемник света)
- оптическая система, состоящая из линз, призм и зеркал, которая служит для создания параллельного пучка света, изменения направления и фокусировки света,
- система для уравнивания интенсивности световых потоков (диафрагма, оптические клинья и т.д.).

- * Свет от источника освещения разлагается монохроматором на отдельные волны и направляются на кювету с исследуемым веществом и раствором сравнения.
- * Интенсивность монохроматического света, прошедшего через кювету, измеряется приемником света (рецептором).

Метод	Тип прибора	Рабочая область спектра, нм	Способ монохроматизации	Регистрируемые сигналы
Фотометрия	Фотометр (фотоколориметр)	Видимая 400- 750	Светофильтр	Оптическая плотность и пропускание в диапазоне длин волн, отвечающем полосе пропускания светофильтра
Спектрофотометрия	Спектрофотометр	УФ и видимая 100- 750	Монохроматор	Оптическая плотность и пропускание; электронные спектры поглощения в виде кривых

* 3. Эмиссионные методы спектрального анализа

- * Атомно-эмиссионная спектрометрия (АЭС)-методы элементного анализа, основанные на изучении спектров испускания свободных атомов и ионов в газовой фазе.
- * Эмиссионные спектры регистрируют в оптической области длин волн от 200 до 1000 нм.



- * АЭС- способ определения элементного состава вещества по оптическим линейчатым спектрам излучения атомов и ионов анализируемой пробы, возбуждаемым в источниках света.
- * Источник света- пламя горелки или различные виды плазмы (электрической искры или дуги, лазерной искры, индуктивно-связанную, тлеющий разряд и др.)

- * АЭС- самый распространённый экспрессный высокочувствительный метод идентификации и количественного определения элементов примесей в газообразных, жидких и твердых веществах.
- * Достоинства: возможность точного, бесконтактного, экспрессного, одновременного количественного определения большого числа элементов в широком интервале концентраций (при малой массе пробы).

*Спасибо за внимание!!!

