



САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ  
(ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)



Основан в 1828 году

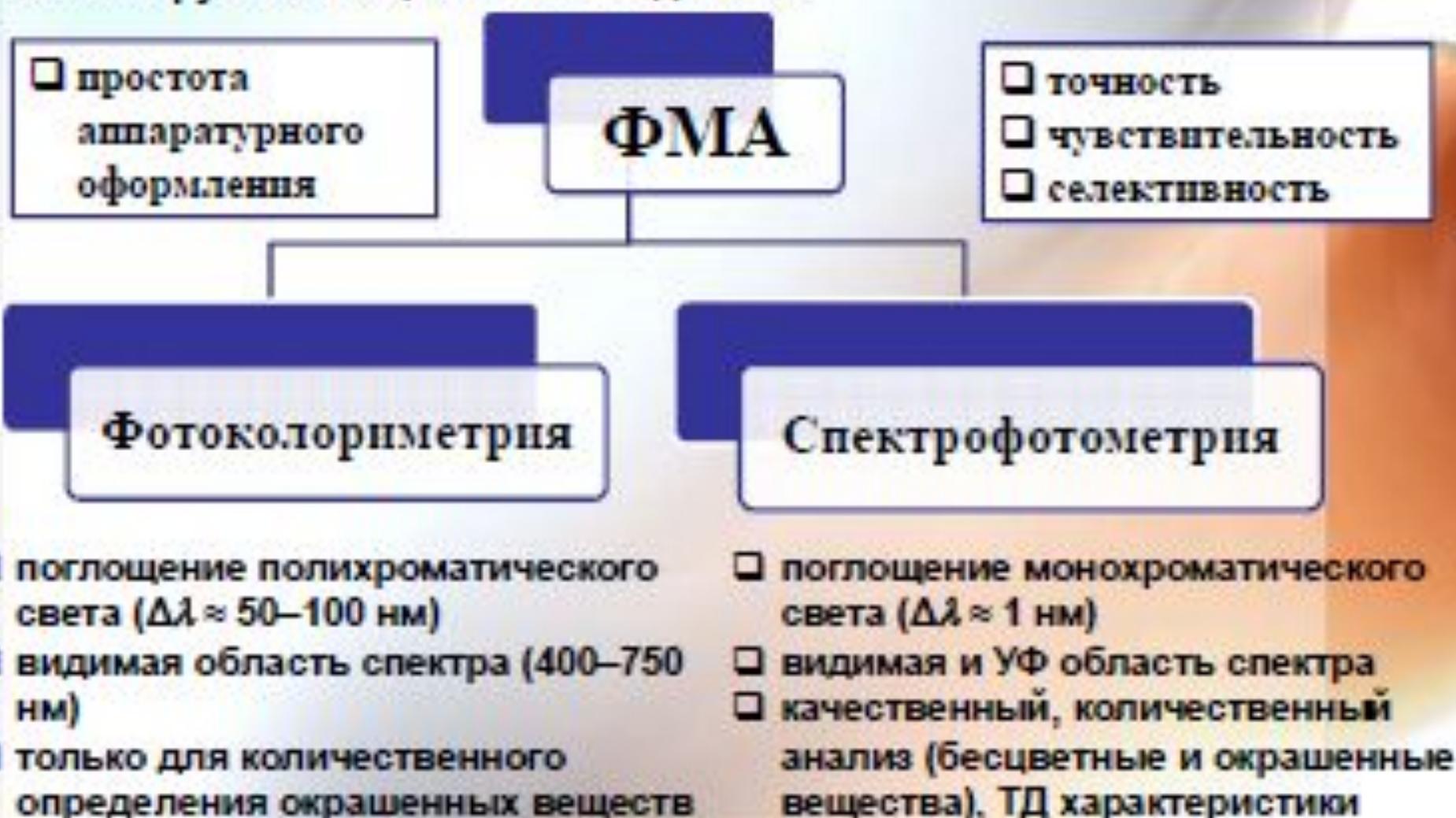
*Кафедра аналитической химии*

# Молекулярная абсорбционная спектрометрия

## 1. Фотометрические методы анализа

# Фотометрические методы анализа

Фотометрические методы анализа относятся к обширной группе методов молекулярной абсорбционной спектроскопии и основаны на избирательном поглощении света растворами анализируемых веществ или соединений



# ФЭК, СПЕКТРОФОТОМЕТРЫ



# Методы абсорбционного оптического анализа

1. **Атомно- абсорбционный** (фотометрия пламени, ААС)
2. **Молекулярный абсорбционный** (поглощения света молекулами / ионами вещества в УФ-, видимом и ИК-диапазонах)
  - 2а. **Фотоколориметрия** (поглощение полихроматического излучения)
  - 2б. **Спектрофотометрия** (поглощение монохроматического излучения )
3. **Нефелометрия, турбидиметрия** – анализ способности взвешенных частиц вещества рассеивать и пропускать излучение соответственно.
4. **Флуориметрия** анализ способности веществ переизлучать поглощенное излучение.
5. **Поляриметрия** – анализ способности веществ изменять степень поляризации излучения при прохождении его через оптически активные вещества.
6. **Рефрактометрия** - изучение показателя преломления оптического излучения твердых, жидких и газообразных веществ в зависимости от длины волны излучения

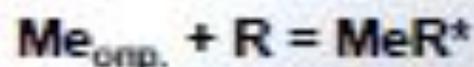
# Фотометрические методы анализа

ФМА

Прямые

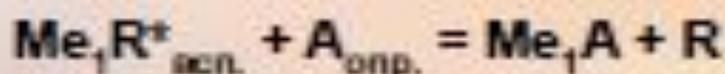
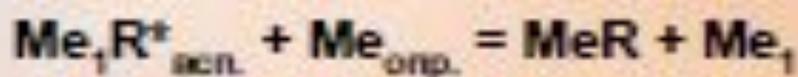
Косвенные

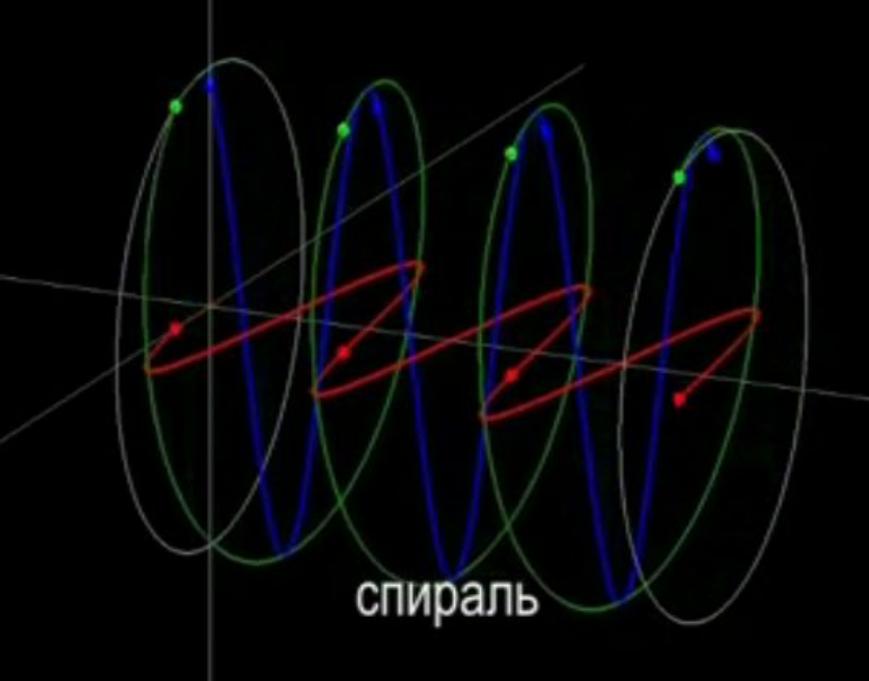
- собственное светопоглощение
- хим. реакция образования светопоглощающего соединения (СПС):



Продукты реакции - комплексные соединения

- вспомогательные СПС





спираль

Если по оси  $X$  изобразить колебания электрического поля, а по оси  $Y$  - колебания магнитного поля, то направление распространения волны будет происходить по оси  $Z$ .

Электромагнитные колебания можно изобразить в виде поперечных колебаний электрического и магнитного полей. Электрическое поле, магнитное поле и направление распространения волны все являются ортогональными, т.е. развёрнуты под углом в 90 градусов.

Направление оси  $Z$  совпадает с направлением хода времени, которое является параметром  $t$  в цилиндрических координатах.

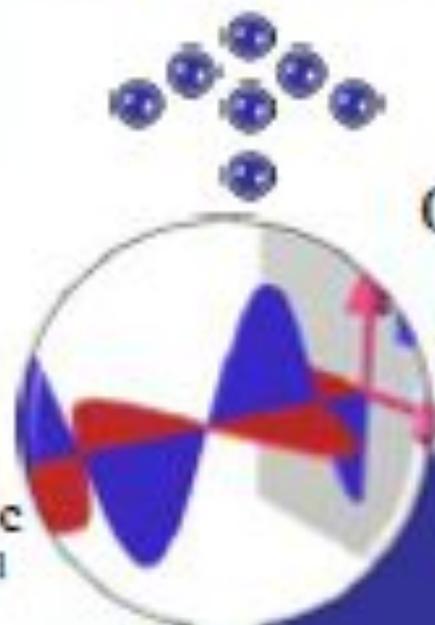
# Природа света

## КОРПУСКУЛЯРНО-ВОЛНОВОЙ ДУАЛИЗМ

$$E = \frac{hc}{\lambda}$$

$$E = h \times \nu$$

$h = 6,6262 \times 10^{-34}$  Дж $\times$ с  
 $\nu$  – частота, Гц или  $s^{-1}$



Длина волны –  $\lambda$

Частота –  $\nu$

Скорость  $c = 2,997925 \times 10^8$  м/с

$$c = \nu \times \lambda$$

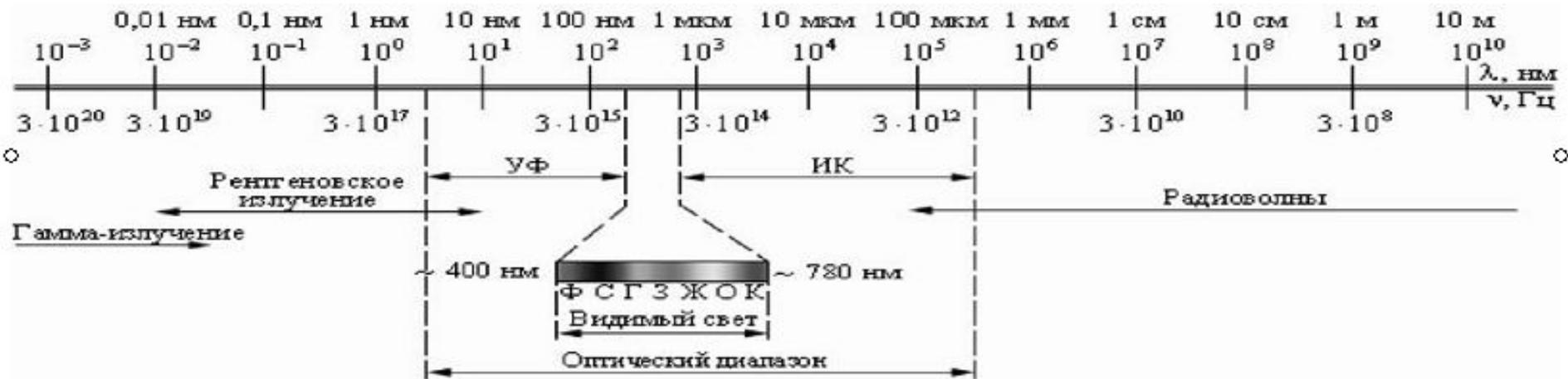
**Р. Гук: свет – это механические волны**

$$E = m \times c^2$$

**И. Ньютон: свет – это поток корпускул (частиц), выбрасываемых светящимся телом, которые распространяются в пространстве прямолинейно.**

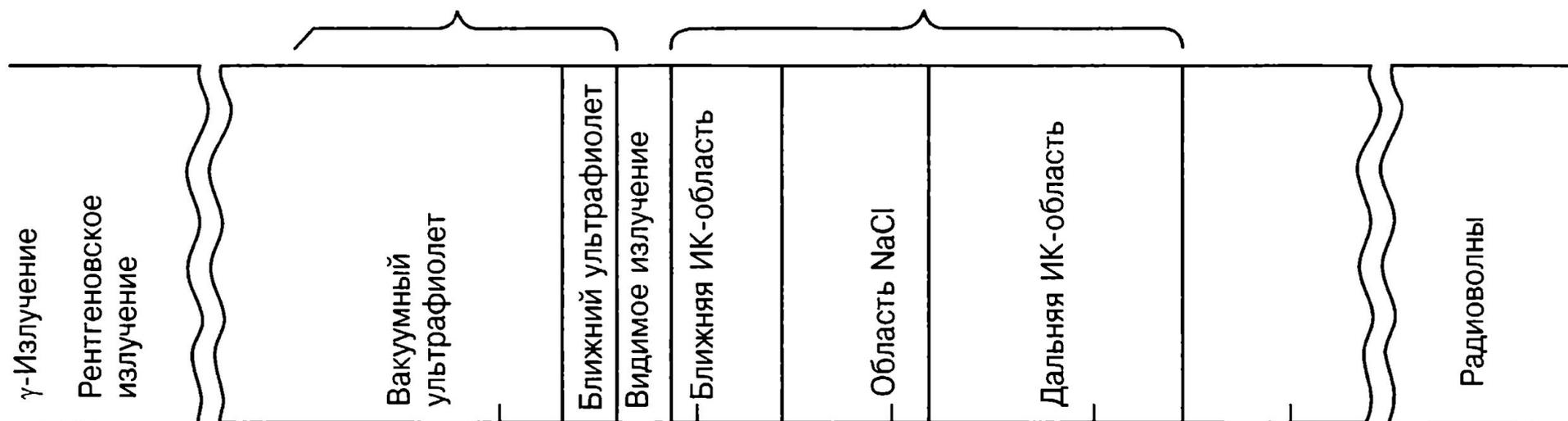


# Интервал оптического диапазона (видимого излучения - света) в полном спектре электромагнитного излучения



Ультрафиолет

ИК-область

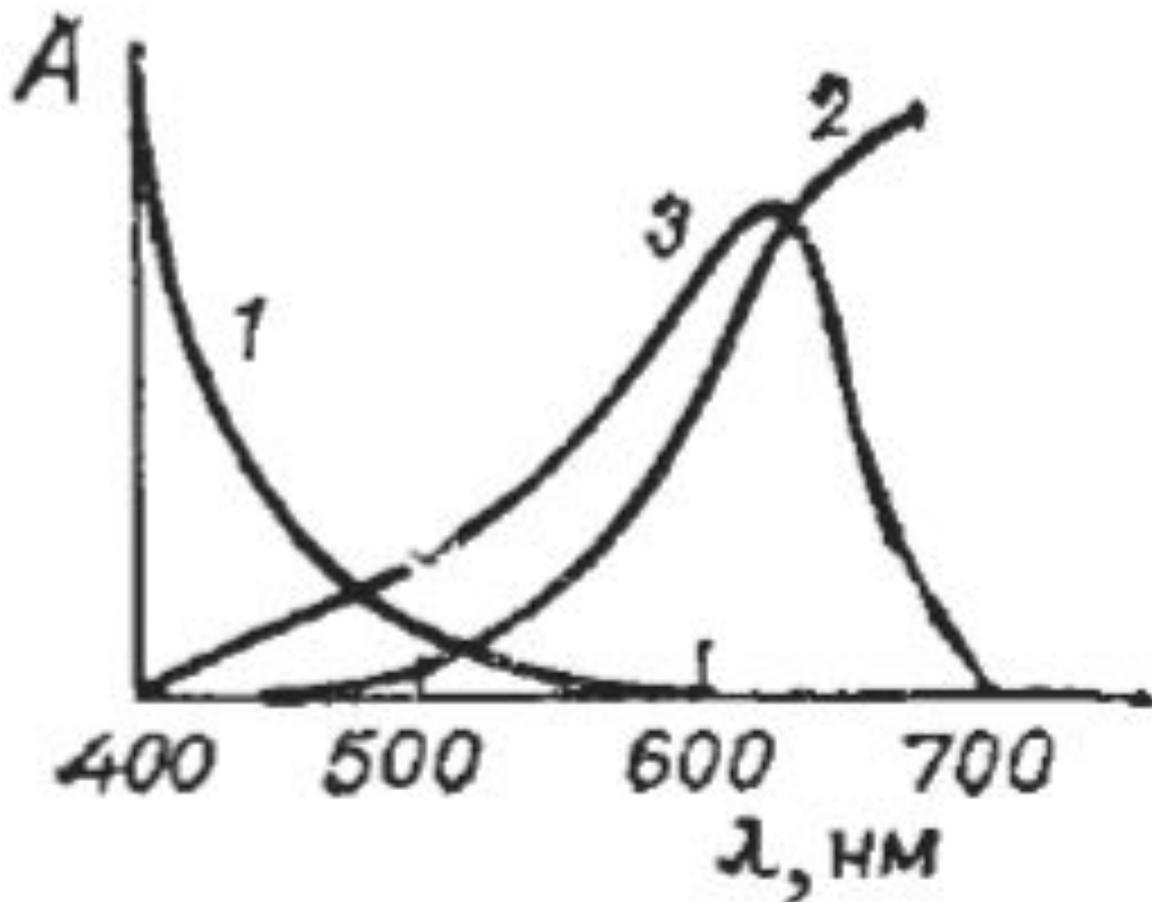


$\lambda$	10 нм	100 нм	1000 нм (мкм)	10 мкм	100	1000
$\bar{\nu}$ (см <sup>-1</sup> )	$10^6$	$10^5$	$10^4$	1000	100	10
$\nu$ (Гц)	$3 \cdot 10^{16}$	$3 \cdot 10^{15}$	$3 \cdot 10^{14}$	$3 \cdot 10^{13}$	$3 \cdot 10^{12}$	$3 \cdot 10^{11}$

# Диапазоны оптического излучения

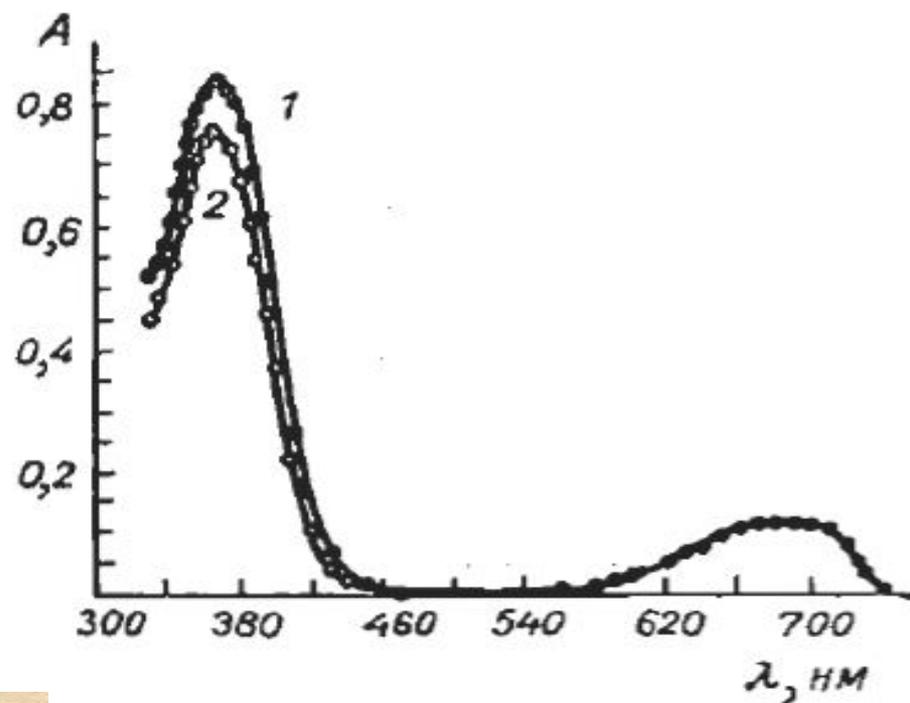
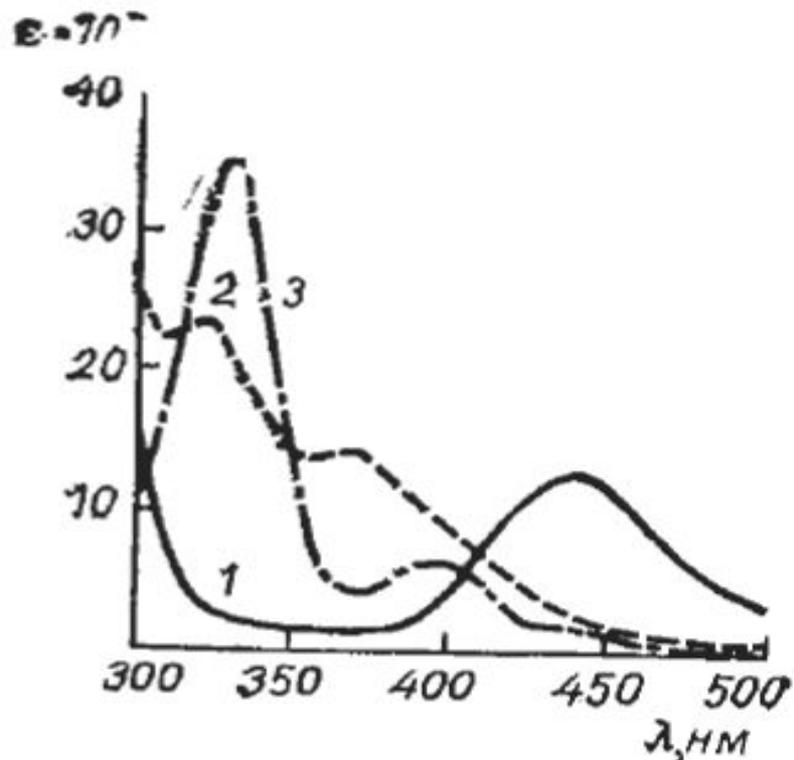
Обозначение	Волновой диапазон
Коротковолновое ультрафиолетовое излучение - С (УФ-С)	100 - 280 нм
Средневолновое ультрафиолетовое излучение - В (УФ -В)	280 - 315 нм
Длинноволновое ультрафиолетовое излучение - А (УФ -А)	315 - 380 нм
Видимый свет:	380 - 780 нм
Фиолетовый	380 – 435
Синий	435 – 490
Голубой	490 – 500
Зеленый	500 – 560
Желтый	560 – 595
Оранжевый	595 – 650
Красный	650 - 780
Ближнее инфракрасное излучение А (ИК-А)	780 нм - 1,4 мкм
Среднее инфракрасное излучение В (ИК -В)	1,4 - 3 мкм
Дальнее инфракрасное излучение С (ИК -С)	3 мкм - 1 мм

**Спектр поглощения – графическое изображение распределения интенсивности световой энергии (оптической плотности) по длинам волн (частотам излучения)**

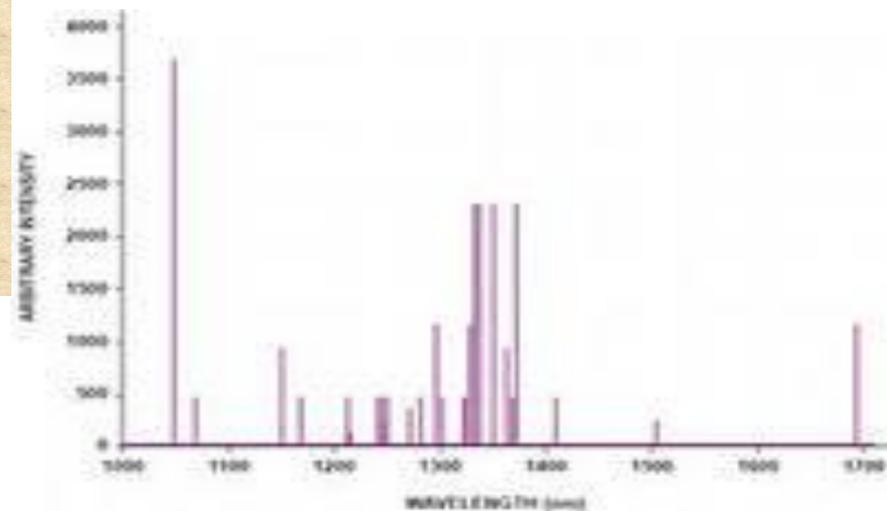


**Спектры видимой и УФ- областей ЭМИ имеют широкополосную структуру:**

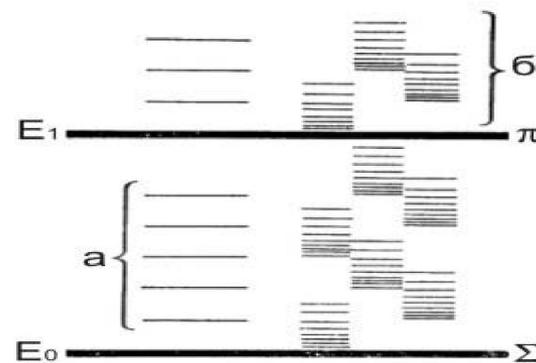
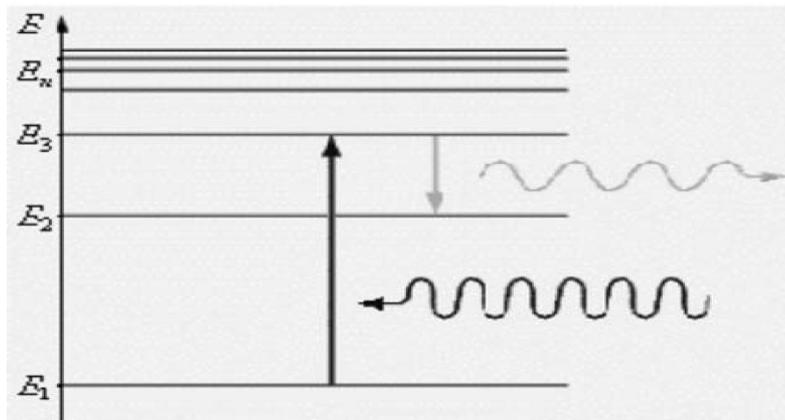
# UV/VIS-спектры в координатах « $\epsilon_{\lambda} - \lambda$ » или « $A - \lambda$ »



Качественное и количественное представление спектров поглощения элементов



# Причины уширения полос молекулярных спектров



Основные энергетические уровни атома и условное изображение процессов поглощения и испускания фотонов ЭМИ величиной

$$\Delta E = h\nu = hc / \lambda$$

Схематическое представление уровней энергии в двухатомной молекуле.

E0 – основное электронное состояние;  
E1 – первое возбужденное электронное состояние;

a – колебательные уровни атомов;

б - вращательные уровни молекулы.

Согласно принципу неопределенности Гейзенберга:

$$\Delta E \times \Delta t \sim h$$

$A \xrightarrow{\Delta E} A^*$  Время «жизни» атома  $A^*$

$$\Delta t \sim 10^{-8}$$

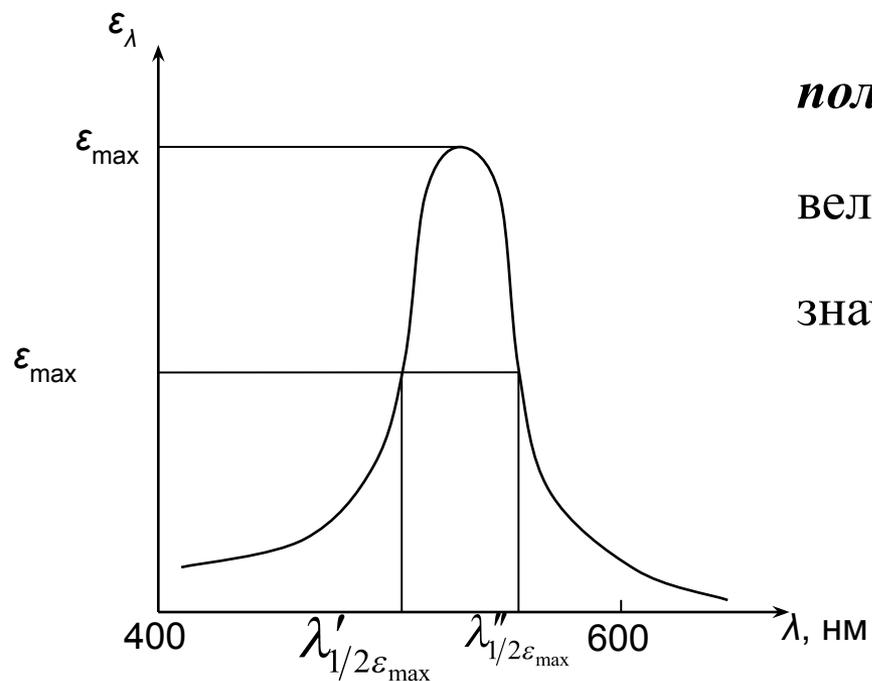
$$\Delta \lambda \sim 10^{-3} \text{ нм}$$

$M \xrightarrow{\Delta E} M^*$  Время «жизни» молекулы  $M^*$

$$\Delta t \sim 10^{-13}$$

$$12\Delta\lambda \sim 100 \text{ нм}$$

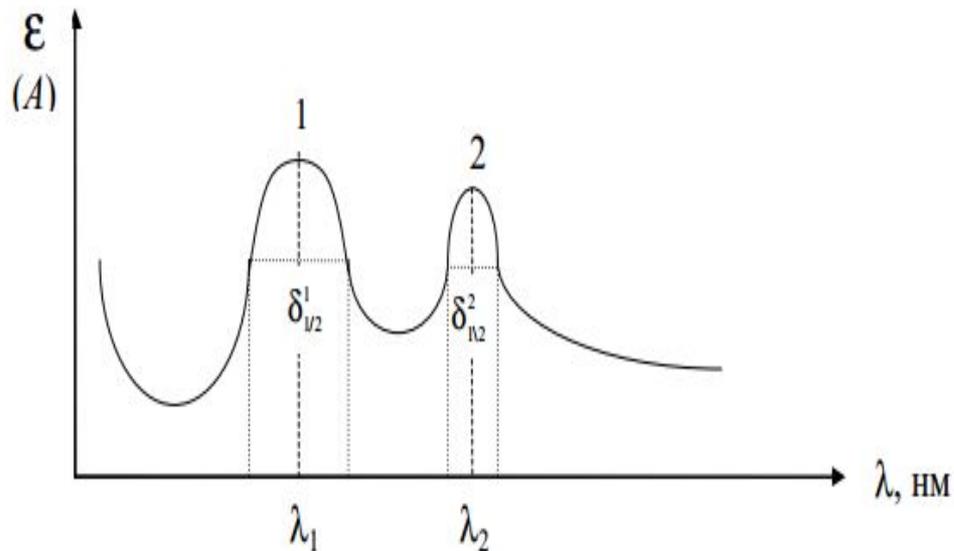
# Характеристики полос поглощения в молекулярных спектрах



*полуширина полосы поглощения –*

величина  $\Delta\lambda$  измеряемая при половинном

значении  $\epsilon_{\max}$  ( $\lambda'_{1/2\epsilon_{\max}} - \lambda''_{1/2\epsilon_{\max}}$ )

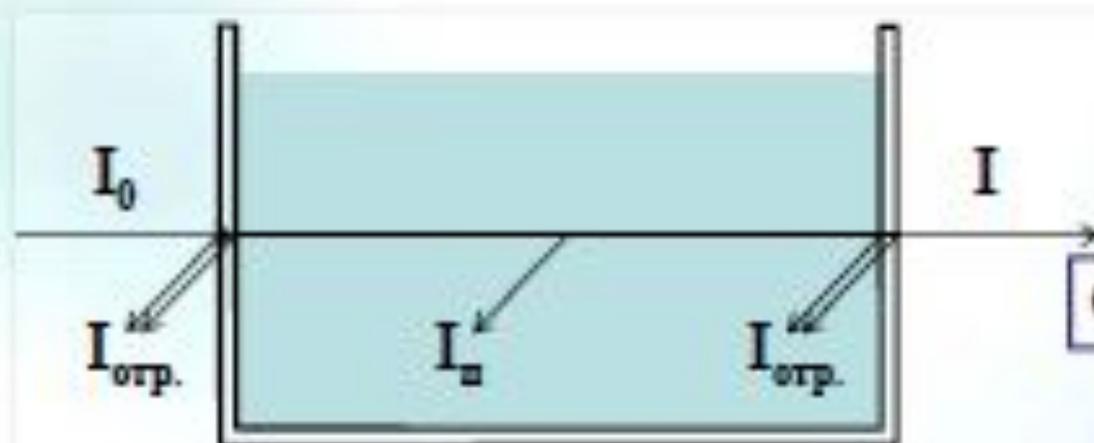


*достаточная контрастность  
фотометрической реакции*

(реагента)– разность длин волн  
на максимумах поглощения  
идентифицируемых соединений

**$\lambda_1$  и  $\lambda_2$  ( $\Delta\lambda=100$  нм)**

# Основной закон светопоглощения



Основной закон СВП

$$I = I_0 e^{-kcl}$$

$$I_0 = I + I_{\text{п.}} + I_{\text{отгр.}}$$

min

слои вещества одинаковой толщины  
всегда поглощают одну и ту же долю  
падающего на них излучения

Оптическая плотность

$$\log\left(\frac{I_0}{I}\right) = A$$

$$\log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon_{\lambda} cl$$

$$I = I_0 10^{-0.43kcl}$$

Светопропускание

$$T = \frac{I}{I_0}$$

$$A = -\log(T)$$

$$A = \varepsilon_{\lambda} cl$$

$$0.43k = \varepsilon_{\lambda}$$

$c$  – моль  $\times$  л $^{-1}$

$l$  – см

$\varepsilon_{\lambda}$  – л  $\times$  моль $^{-1}$   $\times$  см $^{-1}$

# Основной закон светопоглощения

$\epsilon_{\lambda}$  ЗАВИСИТ ОТ:

- природы вещества
- природы растворителя
- длины волны поглощаемого света
- температуры

$\epsilon_{\lambda}$  НЕ ЗАВИСИТ ОТ:

- концентрации СВР раствора
- толщины слоя раствора

$\epsilon_{\lambda}$  может принимать значения до  $120\,000 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$

$A = f(c)$  – аналитический сигнал в ФМА

Правило аддитивности оптических плотностей (принцип Фирорлта):

$$A_{\lambda_1} = \epsilon_{1\lambda_1} c_1 l + \epsilon_{2\lambda_1} c_2 l + \dots + \epsilon_{n\lambda_1} c_n l$$

используется в тех случаях, когда в любой области спектра одновременно свет поглощают несколько компонентов и необходимо определить концентрацию каждого из них

# Отклонения от основного закона светопоглощения

Для конкретной системы  $A$  линейно зависит от  $c$  раствора в определенном концентрационном интервале ( $10^{-2} - 10^{-6}$  моль/л)

## Отклонения

### Физической природы

- недостаточная монохроматичность излучения
- инструментальные погрешности измерения интенсивности излучения

### Химической природы

- неполный переход аналита в СП аналитическую форму (кажущиеся отклонения)
- изменение pH раствора

Проверяют соблюдение ОЗС в кюветах с различной  $l$

$$\frac{A}{l} = \epsilon_{\lambda} c$$

# Влияние кислотности среды

Влияние pH связано с изменением полноты протекания фотометрической реакции из-за побочных конкурирующих протолитических реакций

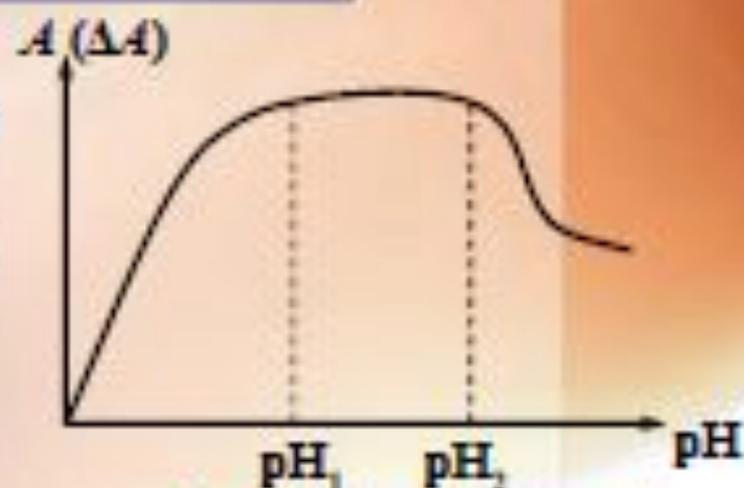
1. Комплексы металлов с анионами сильных кислот

Типично для Me, образующих прочные гидроксокомплексы

Оптимальное pH – в кислой области

2. Комплексы металлов с анионами слабых кислот

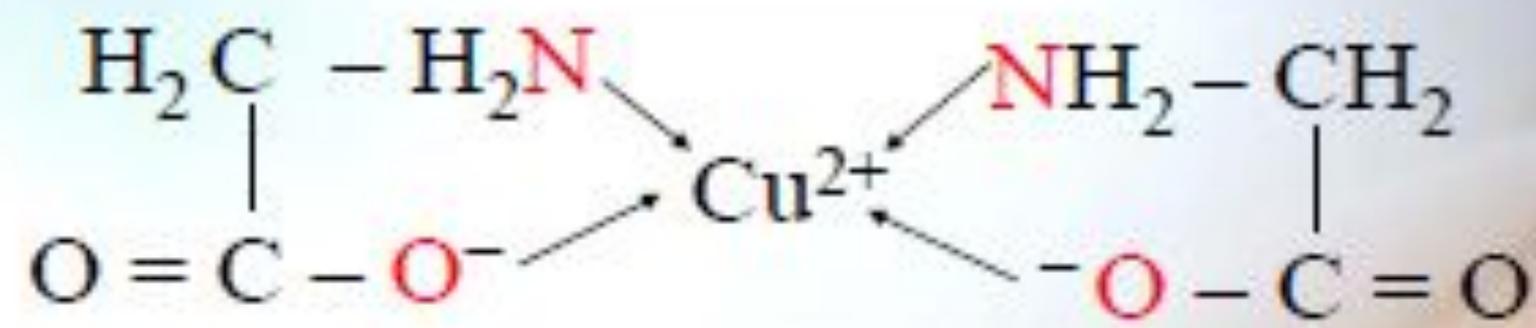
pH раствора выбирается таким, где суммарный эффект протонизации реагента и гидроксокомплексобразования определяемого катиона будет минимальным, т.е. при таком pH, где условная константа устойчивости ( $\beta_{MeR}$ ) фотометрируемого комплекса будет максимальна



$$\Delta pH = pH_1 \div pH_2$$

# Оргреагенты и растворители в ФМА

В ФМА используют такие реагенты, которые одновременно содержат хромофорную и хелатообразующую функциональные группы



**Органические растворители** в фотометрическом анализе применяют для увеличения растворимости некоторых реагентов и окрашенных соединений (полярные) и экстракционного выделения (неполярные)

# Методы количественного анализа

## 1. МЕТОД СРАВНЕНИЯ

$$A_x = \varepsilon_{\lambda} c_x l$$

$$A_{ст} = \varepsilon_{\lambda} c_{ст} l$$

$$\frac{A_x}{A_{ст}} = \frac{c_x}{c_{ст}} \Rightarrow c_x = c_{ст} \frac{A_x}{A_{ст}}$$

**Метод применяется при:**

- однократных определениях
- неустойчивости аналитического сигнала во времени

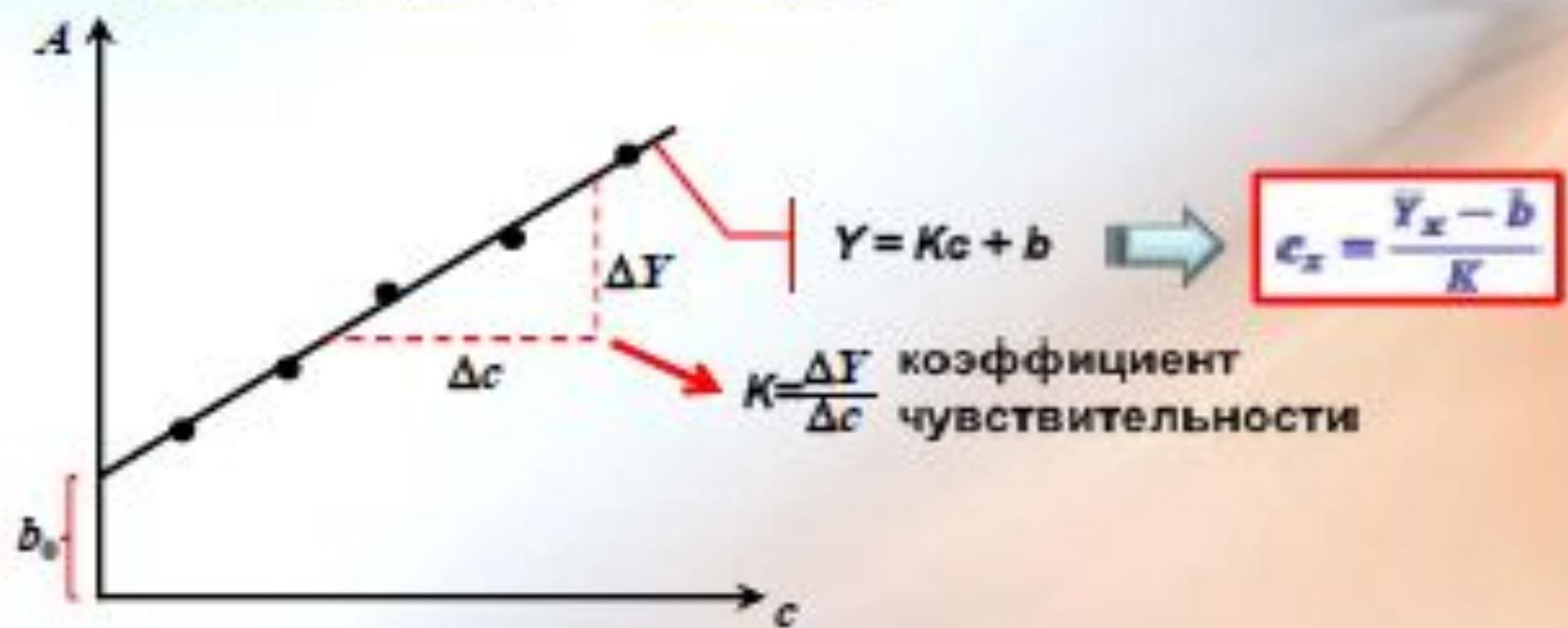
**Метод требует:**

- обязательного соблюдения основного закона светопоглощения

# Методы количественного анализа

## 2. МЕТОД ГРАДУИРОВОЧНОГО ГРАФИКА

$c_1; c_2; c_3; c_4; c_5 \rightarrow Y = f(c)$



Метод не требует строгого соблюдения основного закона светопоглощения

Метод применяется при многократных серийных анализах

# Методы количественного анализа

## 3. МЕТОД (СТАНДАРТНЫХ) ДОБАВОК

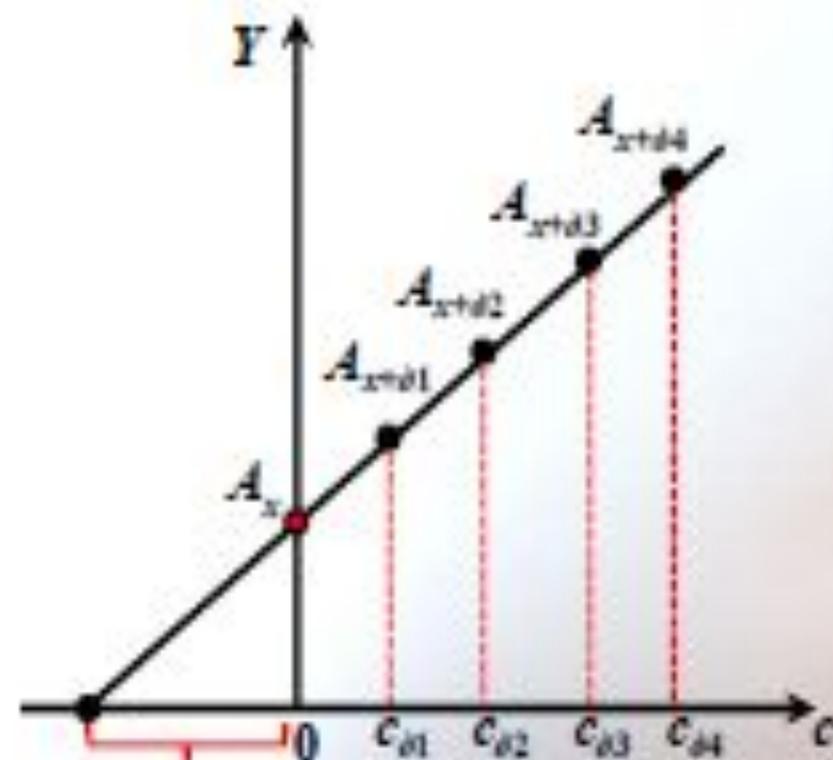
$$\begin{aligned}c_x &\rightarrow A_x \\c_x + c_A &\rightarrow A_{x+A}\end{aligned}$$



$$\begin{aligned}A_x &= Kc_x \\A_{x+A} &= K(c_x + c_A)\end{aligned}$$



$$c_x = c_A \frac{A_x}{(A_{x+A} - A_x)}$$



□ МАТРИЧНЫЙ ЭФФЕКТ

□  $Y_{x+A} \approx 2Y_x$

□ ТРЕБУЕТ ОБЯЗАТЕЛЬНОГО СОБЛЮДЕНИЯ ОСНОВНОГО ЗАКОНА СЕТОПОГЛОЩЕНИЯ

# Методы количественного анализа

## 4. ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

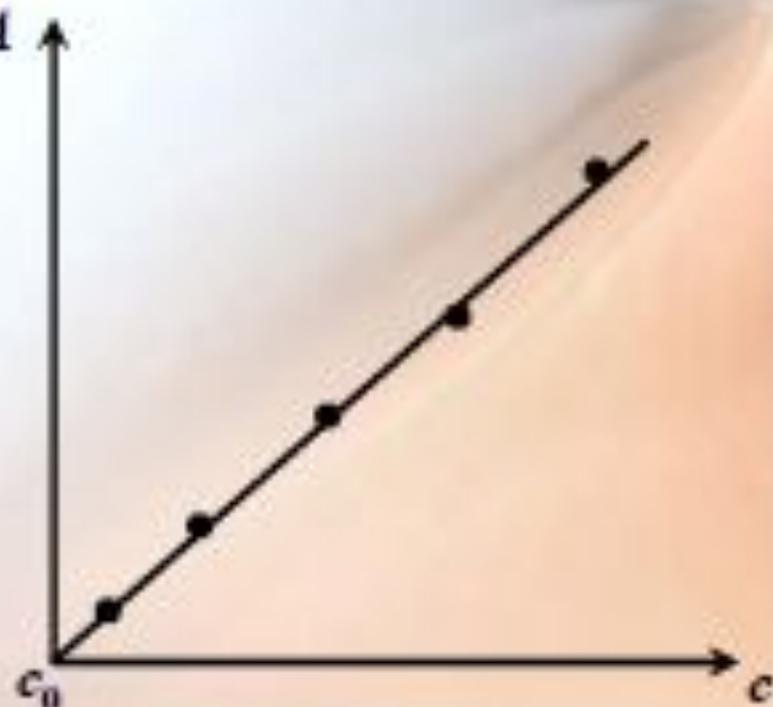
$A_x$  и  $A_{ст}$  измеряют по отношению к раствору определяемого элемента с известной концентрацией  $c_0$ , при этом  $c_0 \approx c_x$

$$A'_x = A_x - A_0 = \varepsilon_\lambda(c_x - c_0)l$$

$$A'_{ст} = A_{ст} - A_0 = \varepsilon_\lambda(c_{ст} - c_0)l$$

$$\frac{A'_x}{A'_{ст}} = \frac{c_x - c_0}{c_{ст} - c_0}$$

$$c_x = c_0 + \frac{A'_x(c_{ст} - c_0)}{A'_{ст}}$$

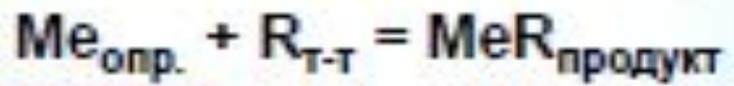


Метод применяют:

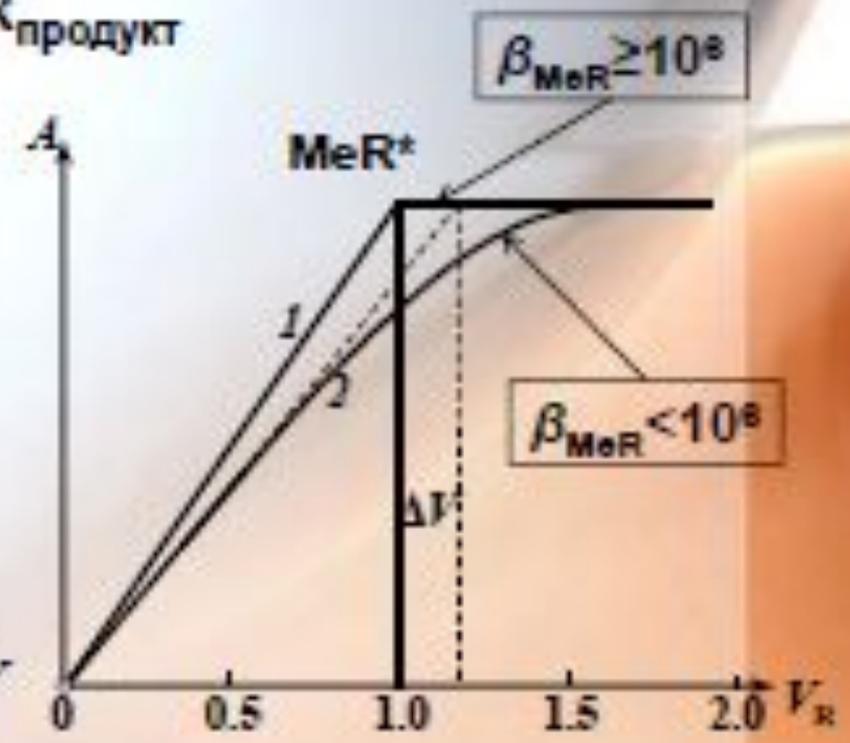
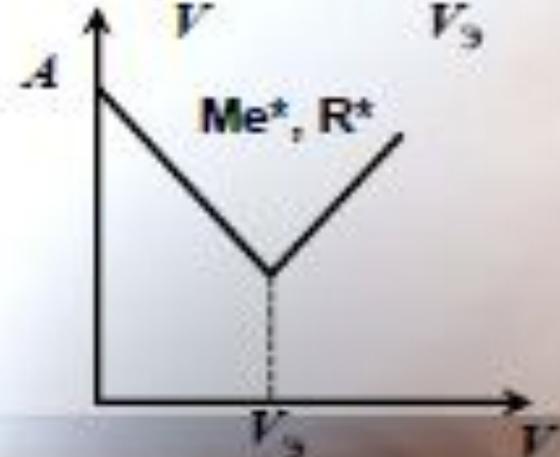
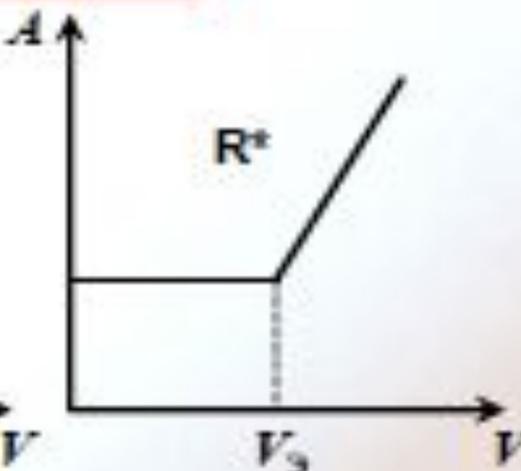
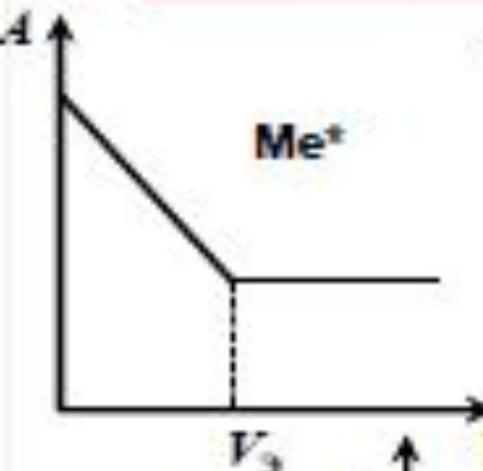
- при определении больших содержаний элементов
- для устранения мешающего влияния посторонних компонентов
- для исключения поглощения реагента

# Методы количественного анализа

## 5. ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ



$$m_{\text{Me}} = \frac{c_{\text{R}} V_{\text{Э}} M_{\text{Me}}}{n}$$

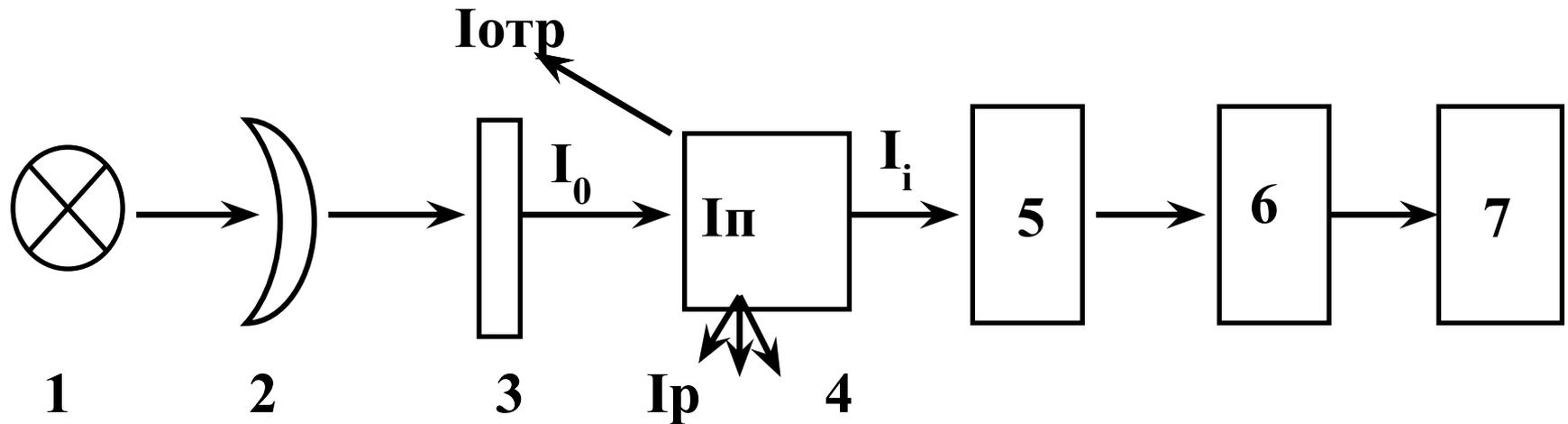


**АППАРАТУРА И  
ТЕХНИКА  
ИЗМЕРЕНИЙ В ФМА**

# Аппаратура для ФМА

- 
- Источник излучения
  - Монохроматор (Светоф-р)
  - Проба
  - Приемник излучения
  - Регистрирующее устройство

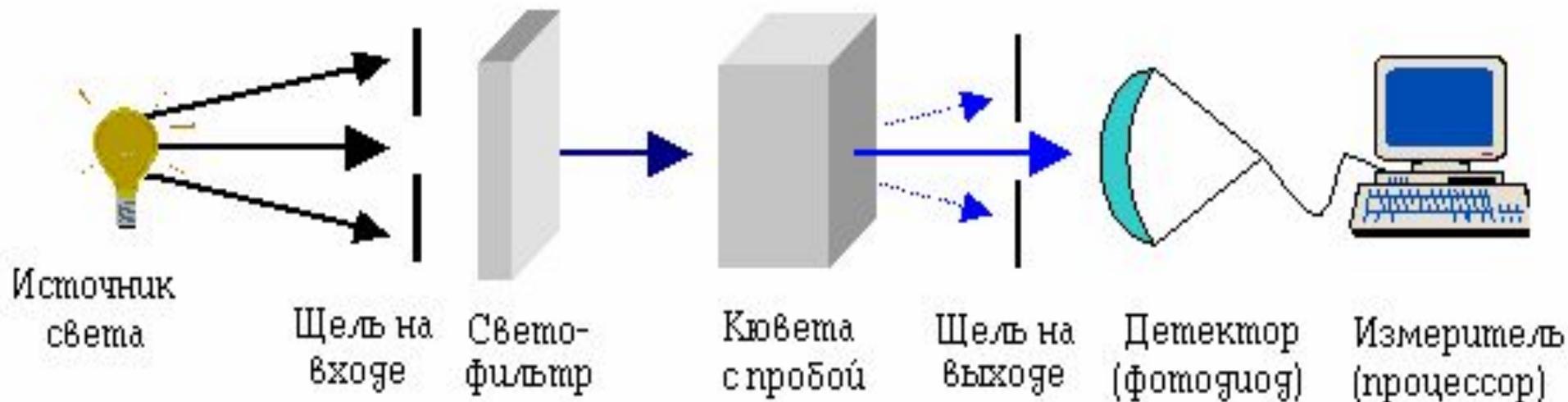
# Принципиальная блок-схема приборов для фотометрических измерений



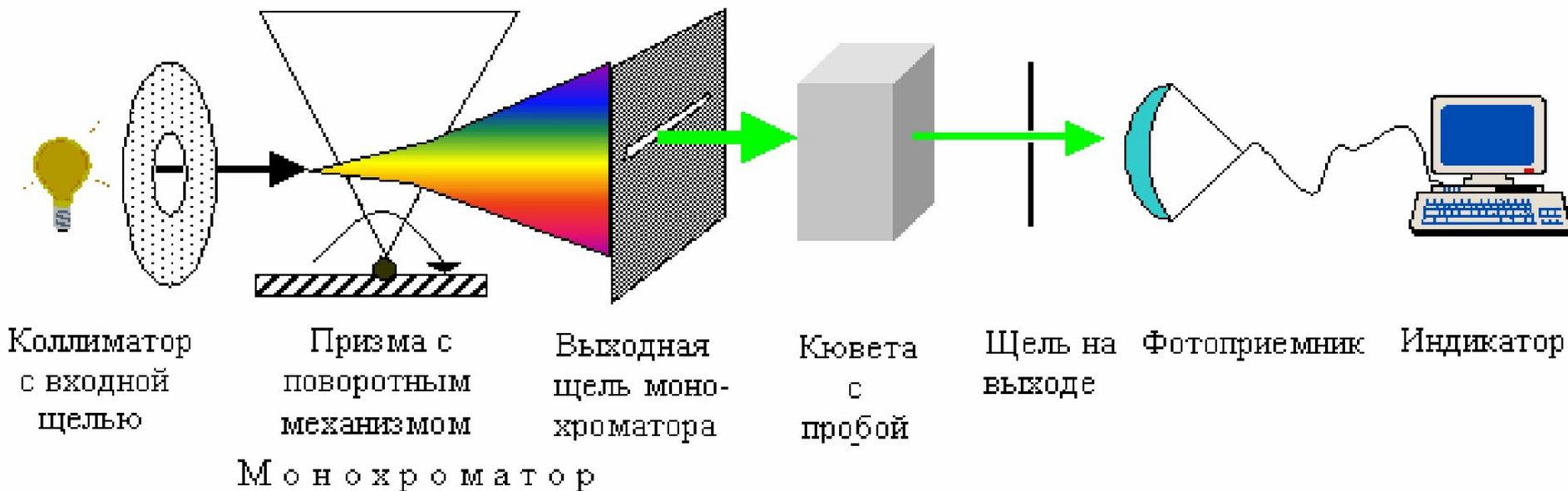
1 - источник излучения, 2 – фокусирующая линза,  
3 - светофильтр (монохроматор), 4 - кювета с раствором,  
5 - фотозлемент, 6 – усилитель сигнала, 7 - регистратор

Фотометрические методы анализа базируются на способности веществ поглощать энергию электромагнитных излучений оптического диапазона, применяются для количественного определения широкого круга веществ, а также для исследования физико-химических свойств растворов

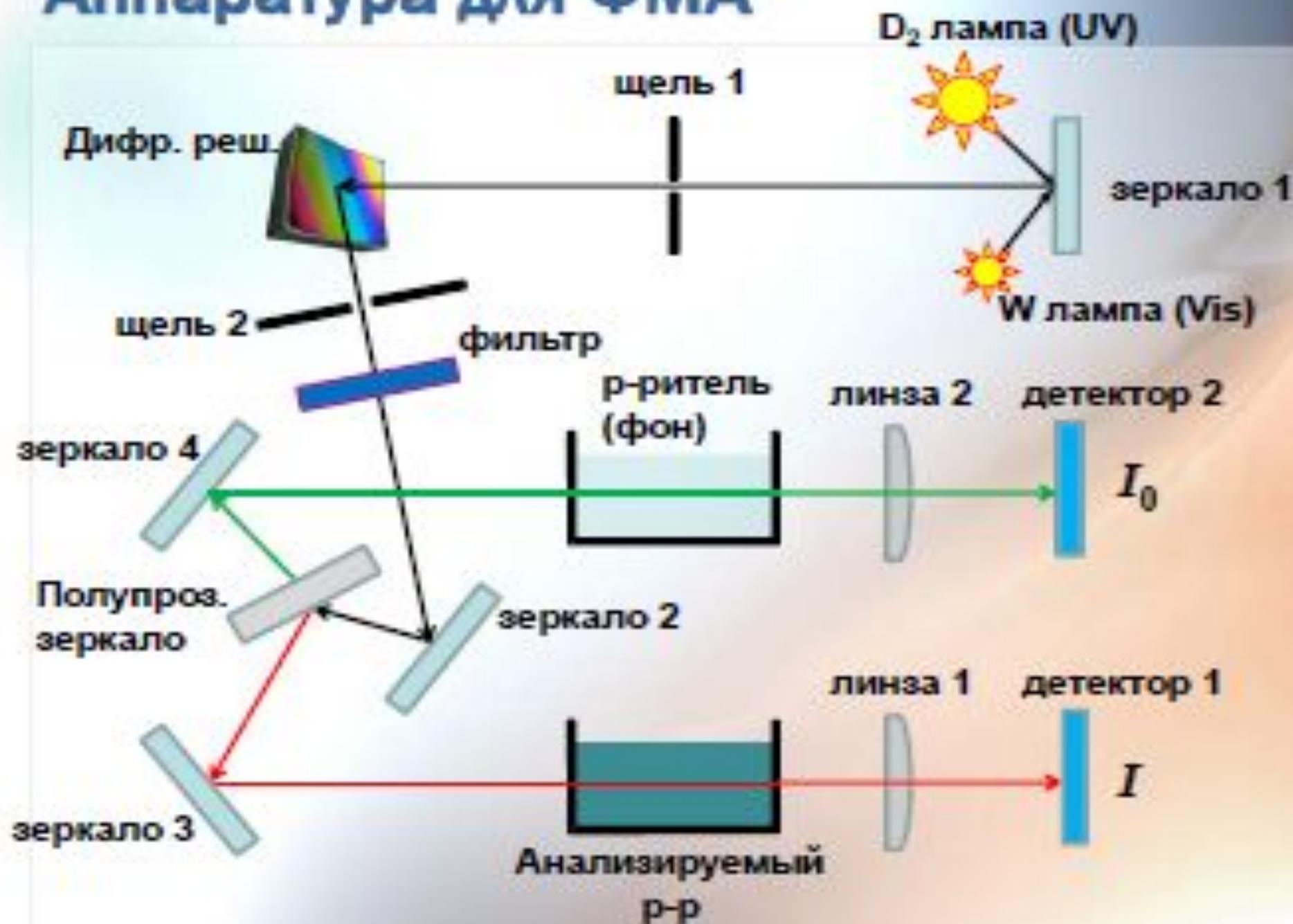
# Основные компоненты фотометра



# Основные компоненты спектрофотометра

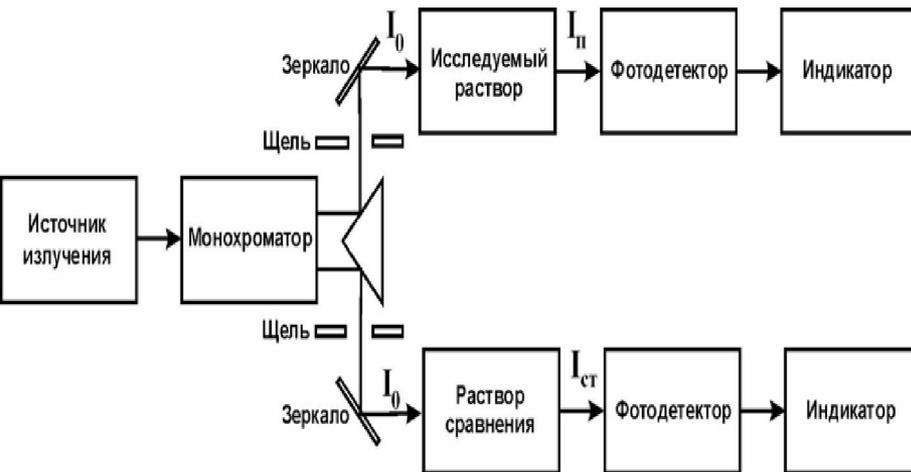


# Аппаратура для ФМА

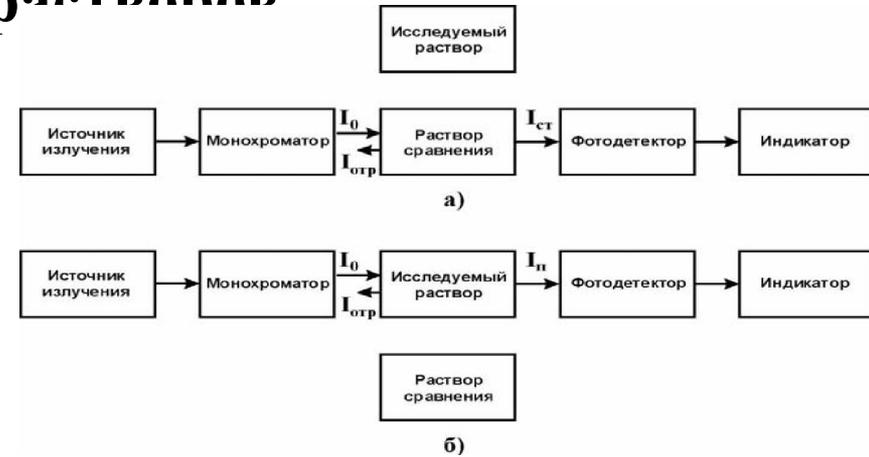
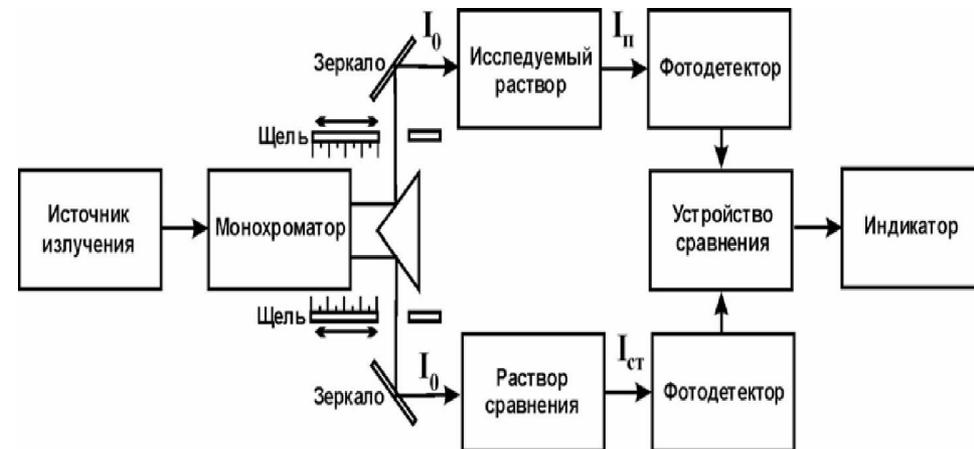


# Фотометрические схемы измерения оптического поглощения растворов

**Схема однолучевого метода измерения оптической плотности раствора**



**Схема двухлучевого фотометрирования с одним монохроматором, двумя фотоприемниками и одним устройством сравнения**

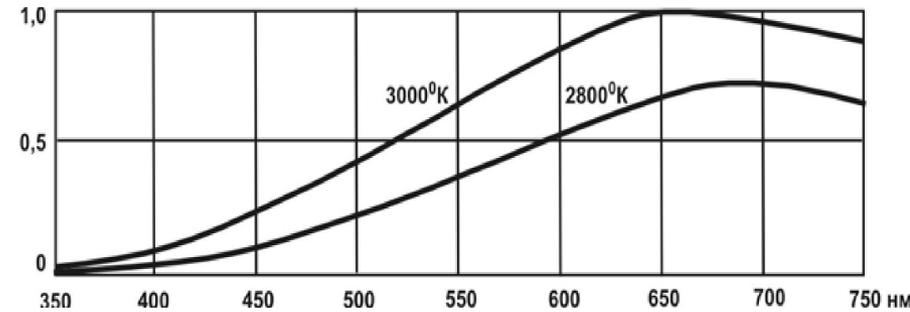


**Схема двухлучевого фотометрирования с одним монохроматором и двумя отдельными каналами измерения**

# Компоненты фотометрических приборов. 1. Источники света.

1. Лампы накаливания. ( $T \sim 2600-3000 \text{ OK}$ ),

Спектры вольфрамовой лампы накаливания при  $T = 3000^{\circ}\text{K}$  и  $2800^{\circ}\text{K}$ .  
Интенсивность излучения  $I = f(\lambda)$

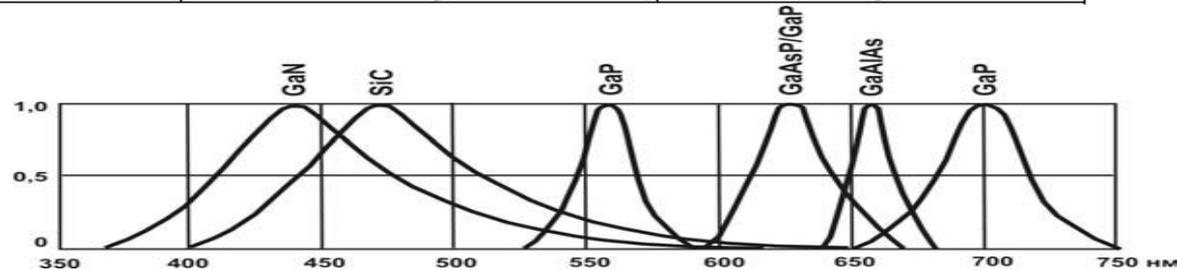


2. Галогеновые лампы (снижение потемнения колбы во времени)
3. Газоразрядные - водородные и дейтериевые лампы - дают непрерывный спектр в УФ-области (185—360 нм),
4. Дуговые ртутно-кварцевые лампы

**Относительное распределение потока излучения ламп типов ДРТ-230, ДРТ-400 и ДРТ-1000**

Длина волны спектральной линии, нм	Поток излучения линии, %	Длина волны спектральной линии, нм	Поток излучения линии, %
248,2	10,5	302,2	31,2
253,7	26,1	312,6	68,0
265,2	23,4	334,1	6,6
270,0	4,1	365,0	100,0
275,3	3,2	404,7	35,9
280,0	10,3	435,8	62,4
2894	5,0	546,1	71,8
296,7	14.3	577,0	70,4

5. Светоизлучающие диоды



# Источники излучения

Область спектра	Источник излучения
Вакуумная УФ	Аргоновые, ксеноновые лампы
УФ	Ксеноновые, водородные, дейтериевые лампы
Видимая	Вольфрамовые, галогеновые лампы



# Компоненты фотометрических приборов. 2а. Светофильтры

1. Стеклообразные абсорбционные фильтры  $\Delta \lambda > 50 \text{ нм}$
2. Комбинация широкополосных и отрезающих стеклообразных фильтров



Фильтры из цветного стекла 3C1 ( $\Delta \lambda = 80 \text{ нм}$ ) и комбинации стекол C3C22 и OC11 ( $\Delta \lambda = 31 \text{ нм}$ )

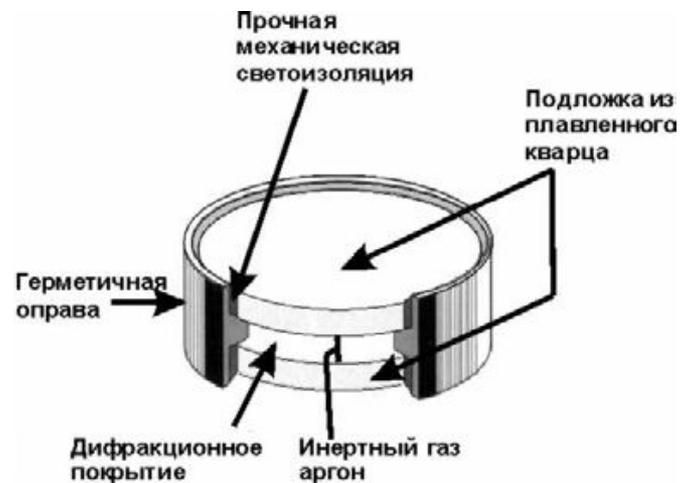
## 3. Узкополосные интерференционные фильтры

Типичные требования к ИСФ:

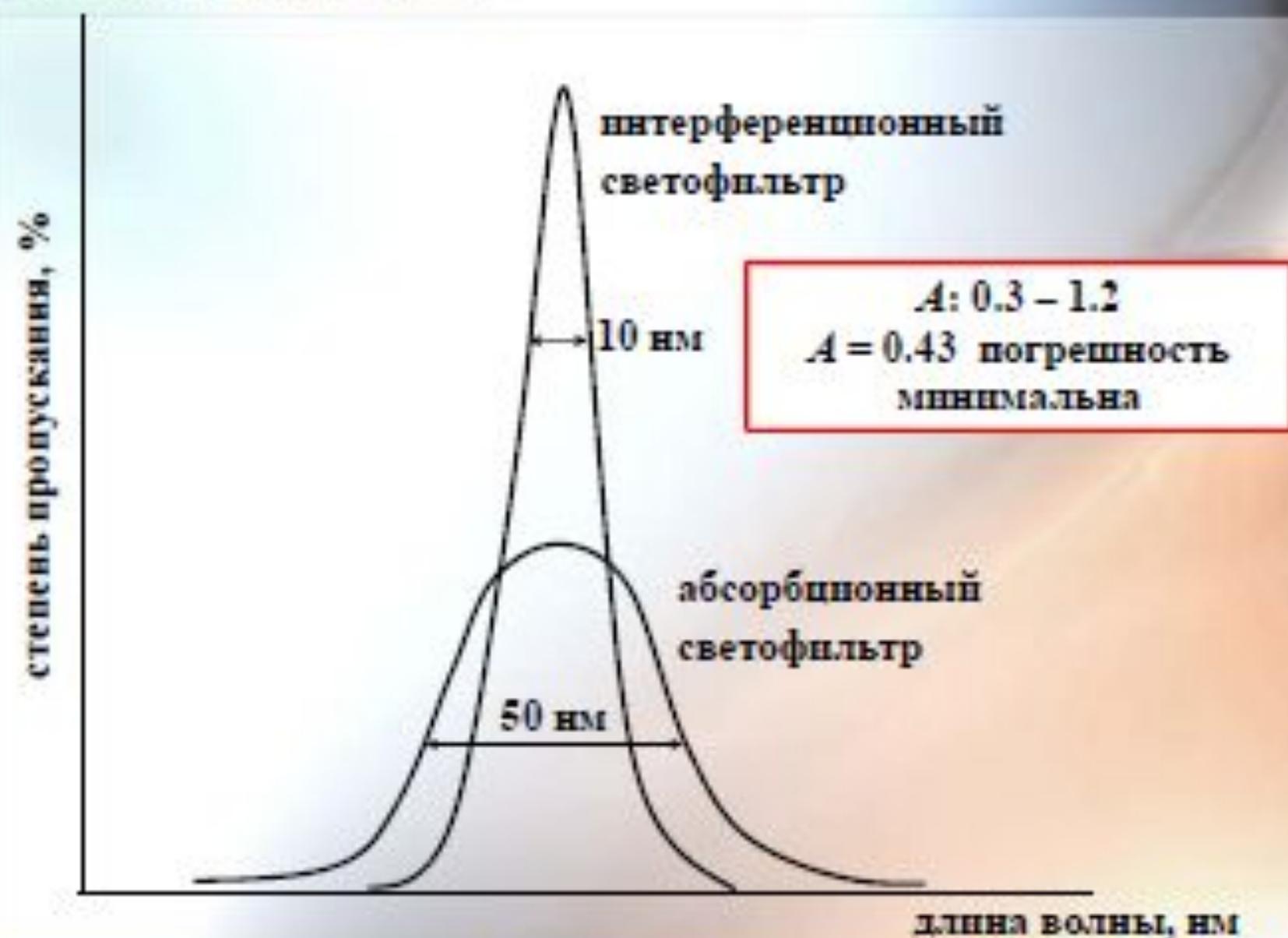
Точность установки длины волны -  $\pm 2 \text{ нм}$ ;

Спектральная полоса -  $10 \text{ нм} \pm 1 \text{ нм}$ ;

Высокая степень подавления постороннего света в диапазоне от 100 нм до 1200 нм (до  $10^4$ )

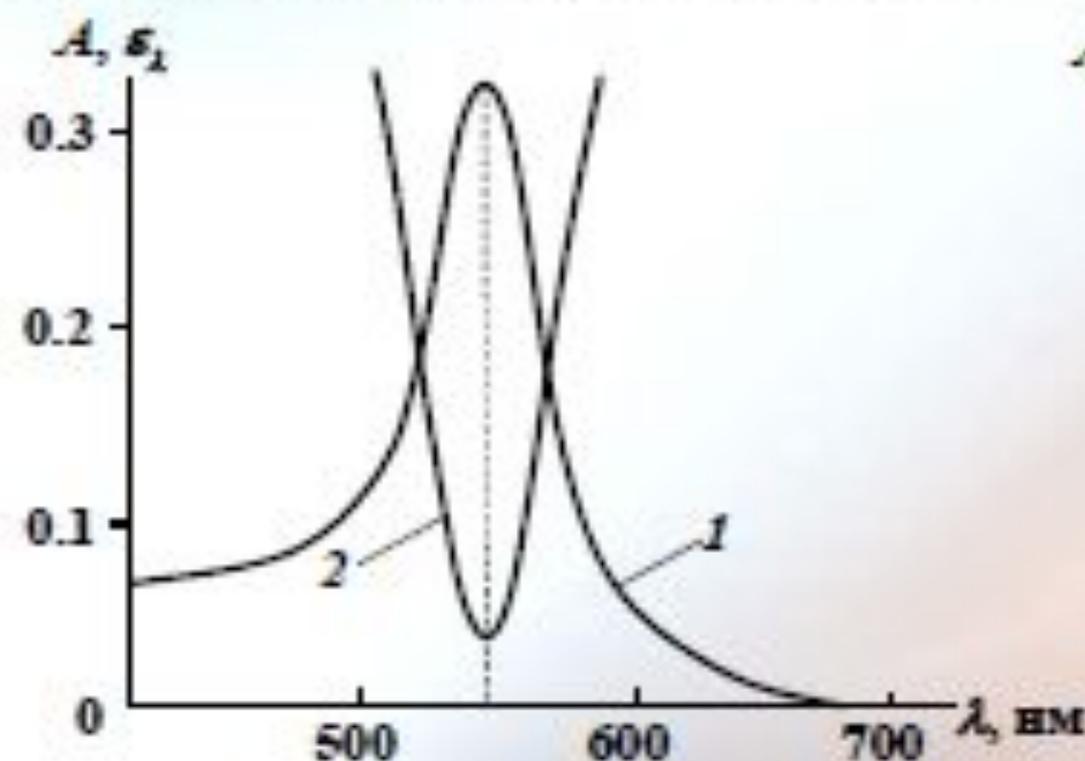


# Светофильтры

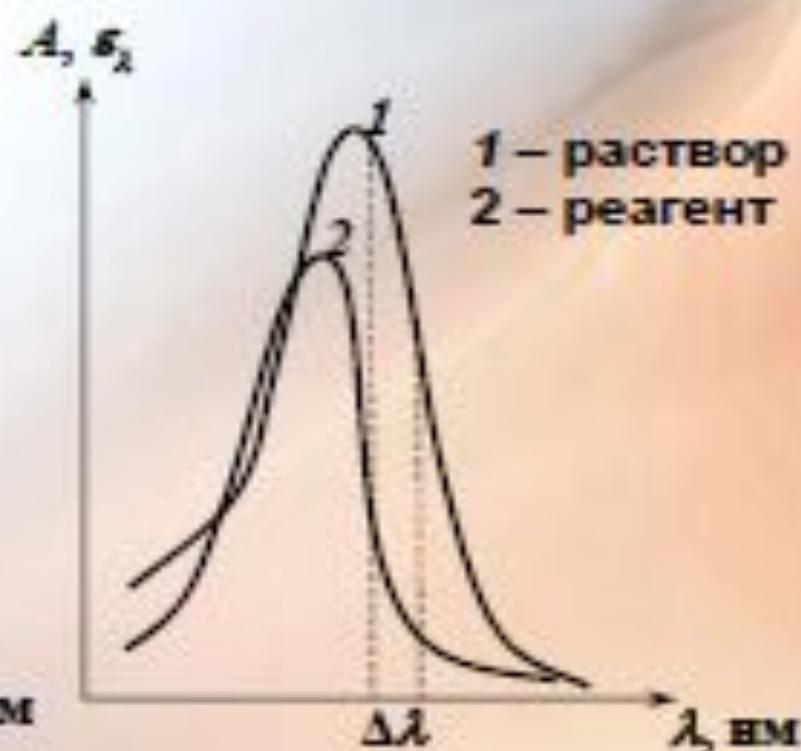


# Правила выбора светофильтров

Для обеспечения максимальной чувствительности фотометрического определения необходимо обеспечить наибольшее значение аналитического сигнала  $A = \lg(I_0/I)$ , а он обеспечивается при наименьшем значении величины прошедшего через поглощающий раствор света  $I$

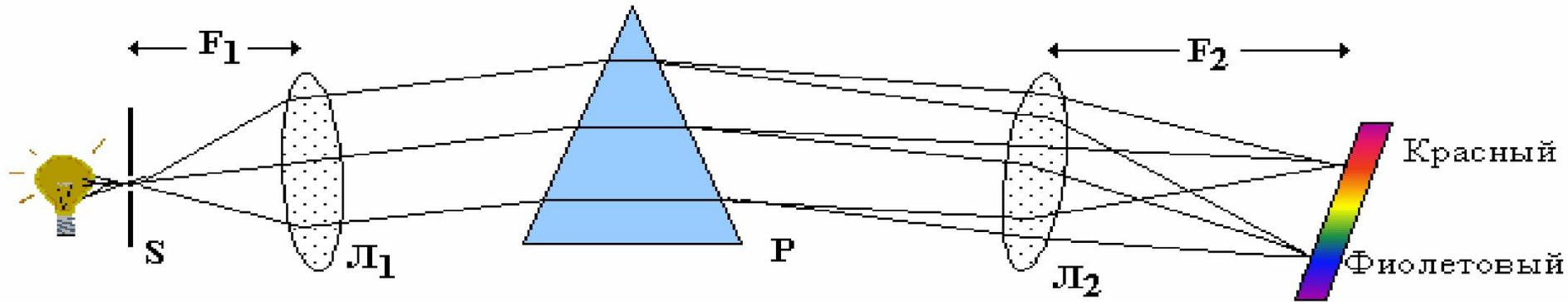


1 – фотометрируемый раствор  
2 – светофильтр



$$A_{\text{MeR}} = A_{\text{MeR+R}} - A_{\text{R}}$$

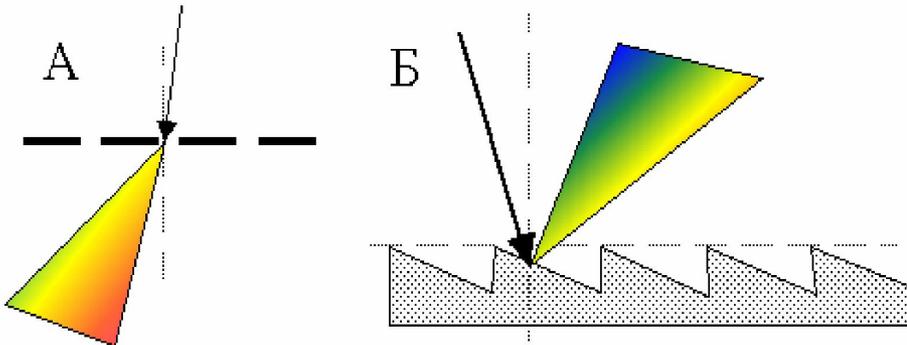
# Компоненты фотометрических приборов. 2б. Монохроматоры



Принципиальная схема монохроматора: входная щель + фокусирующая линза (коллиматор), диспергирующее устройство, фокусирующий объектив, выходная щель

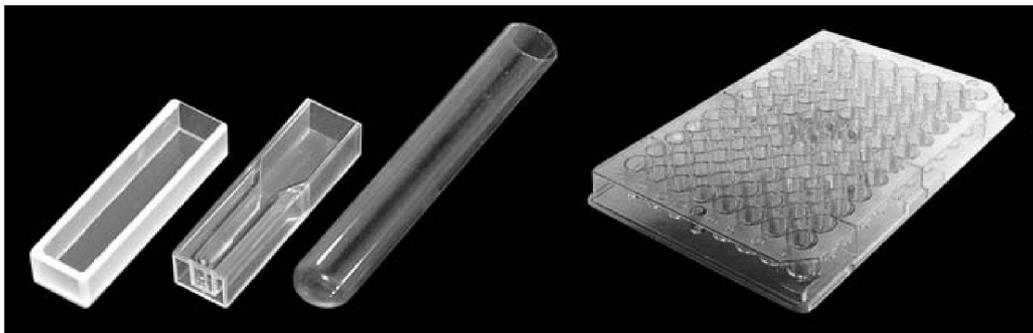
Диспергирующие устройства:

1. Призма
2. Дифракционная решетка (от 50 до 2000 штрихов/мм)
3. Голографическая решетка (до 6000 штрихов/мм)

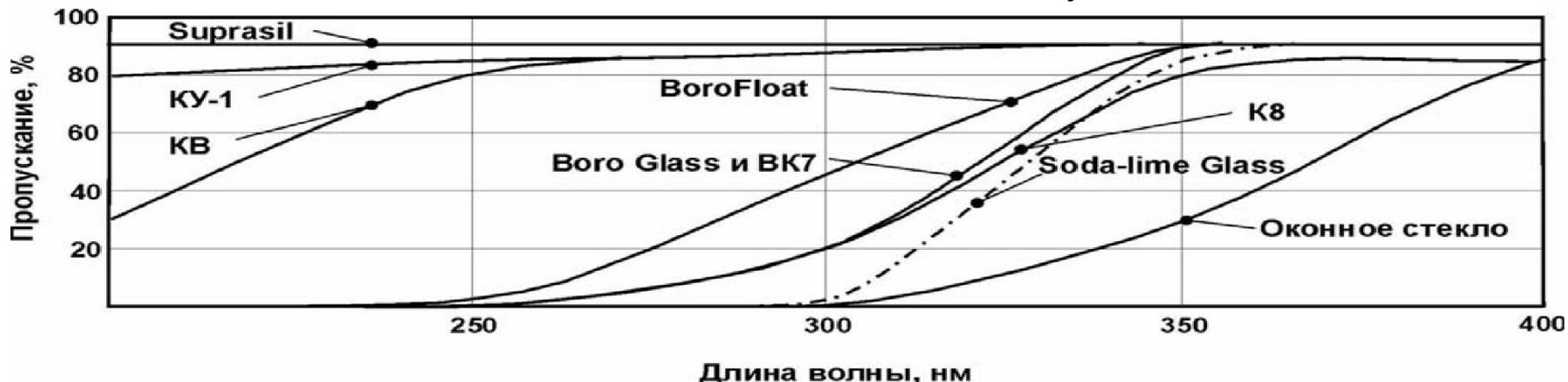


Получение спектра на дифракционных решетках.  
А – ход лучей на прозрачных решетках  
Б – ход лучей на отражательных решетках (эшелетах)

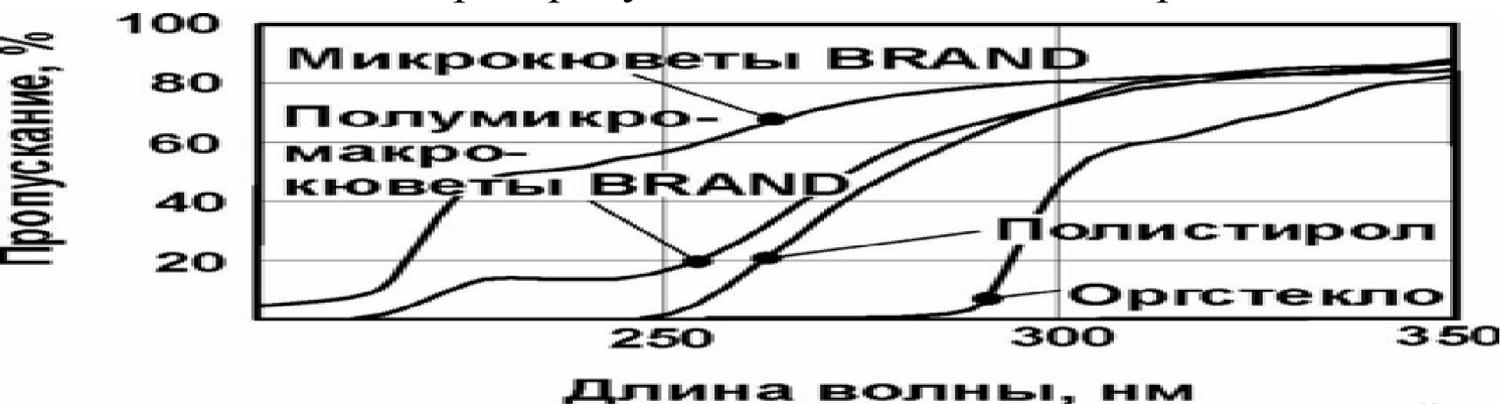
# Компоненты фотометрических приборов. 4. Кюветы



Стеклоянная и пластиковая полумикрокюветы, пробирка из боросиликатного стекла и полистирольный планшет с 96 лунками.



Спектры пропускания стеклянных и кварцевых кювет



Спектры пропускания пластмассовых кювет

# Методики фотометрических измерений

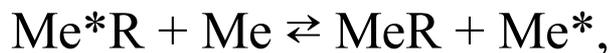
## Прямые фотометрические измерения

- соединения, обладающие собственным поглощением
- соединения металлов, образующие светопоглощающие комплексы с фотометрическими реагентами по реакции:



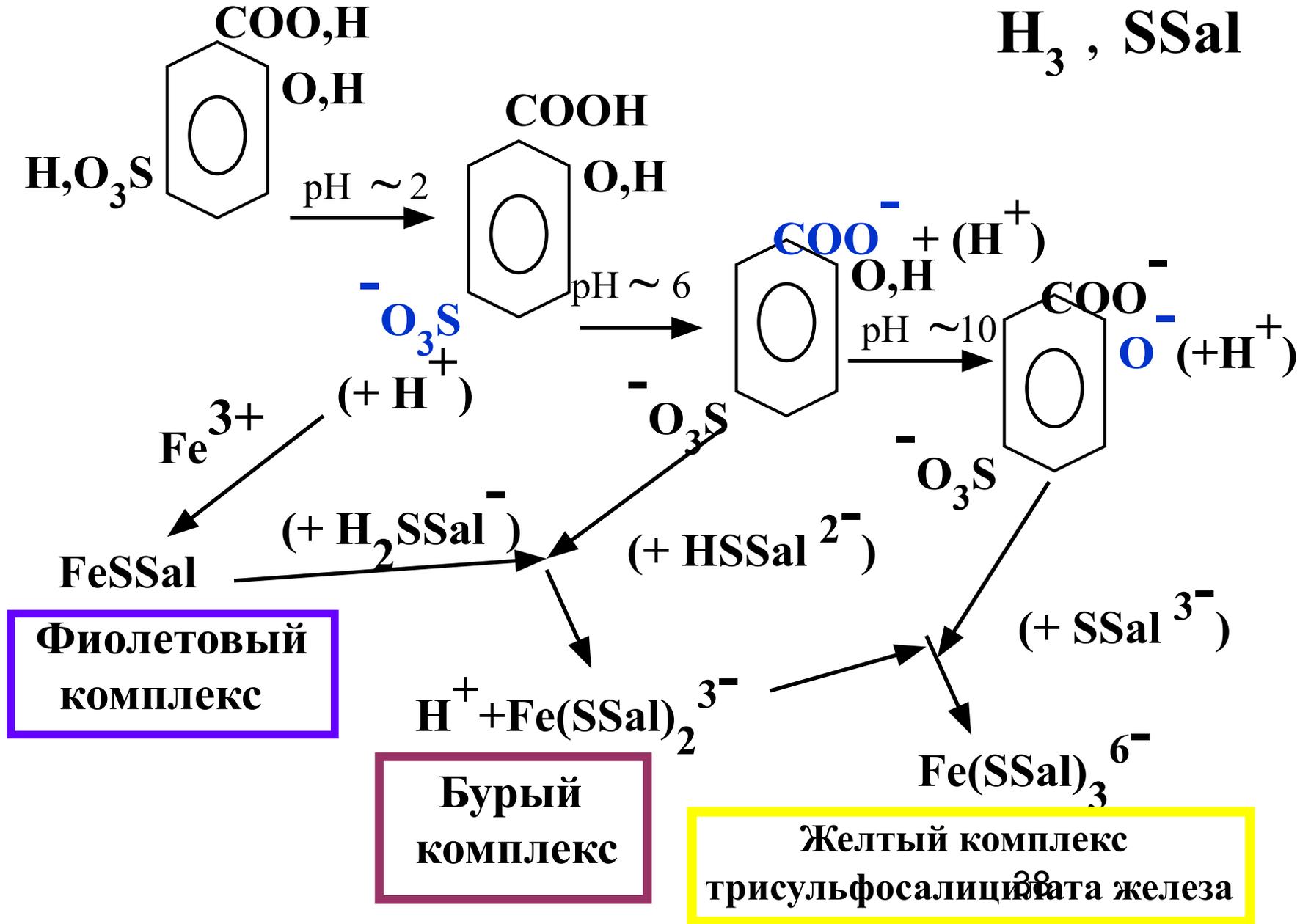
Обязательное условие для образования фотометрируемых аналитических форм - наличие (образование в процессе фотометрических реакций) у анализируемых веществ хромофорных групп, способных поглощать излучение

Косвенные фотометрические измерения – использование вспомогательных светопоглощающих реагентов, по убыли концентрации которых в реакциях обмена определяют концентрацию основного вещества



Где  $\text{Me}^*\text{R}$  - светопоглощающее вспомогательное соединение,  
 $\text{Me}$ - катион и  $\text{A}$  - анион,,  $\text{MeR}$ ,  $\text{Me}^*$ ,  $\text{Me}^*\text{A} + \text{R}$  – остальные компоненты реакции, не образующие светопоглощающих соединений

# Сульфосалициловая (2-гидрокси-5-сульфобензойная) кислота



# Фотометрические реагенты

## для определения железа в формах Fe<sup>2+</sup> и Fe<sup>3+</sup>

Аналитическая форма железа	Реагент	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм	$\epsilon, 10^4$ , л моль <sup>-1</sup> см <sup>-1</sup>	Минимальная концентрация, мкг/мл [4,6]	Условная чувствительность, мкг/см <sup>2</sup> [2]	Растворитель	ГОСТ
Fe(III)	KSCN, 20% р-р	480	0.70 1.50	0.10-0.20	0.0080 0.0040	Вода, pH≈2 Ацетон	5382-91
Fe(II)	1, 10-фенантролин (о-фенантролин), 0.25% р-р	508, 512	1.11	0.05	0.0050	Вода, pH≈3-4	25542.2-82 19609.1-89
Fe(II)	2,2'-дипиридил	522	0.87	0.20	0.0065	Вода, pH≈3-4	25542.2-82 14637.4-78
Fe(II)	Багофенантролин, 0.02% р-р в C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	533	2.24	0.01	0.0025	Хлороформ, изоамиловый спирт	
Fe(III)	Сульфосалициловая к-та, 10% р-р	425, 490 (510)	0.58 0.18 (0.26)	0.10	0.010	Вода, NH <sub>3</sub> , pH=8-11,5 Вода, pH≈2	5382-91 19609.1-89
Fe(III)	Антипириметан	475	3.50		0.0016	Хлороформ	
Fe(III)	Дибензоилметан	410	1.70		0.0033	Бутилацетат	
Fe(II) Fe(III)	Дифенилкарбазон	508, 507	3.57 5.03		0.0016 0.0011	Толуол	
Fe(III)	Ксиленоловый оранжевый	550	2.66	0.07	0.0021	Вода	

# Чувствительность фотометрических определений

минимальная концентрация  $c_{\text{мин}}$  [мкг×мл<sup>-1</sup>]

определяемый минимум  $m$  [мкг]

$$c_{\text{мин}} = \frac{10^3 A_{\text{мин}} M \mu}{\epsilon_{\lambda} l}$$

$$m = c_{\text{мин}} V = \frac{10^3 A_{\text{мин}} M \mu V}{\epsilon_{\lambda} l}$$

Основным фактором, влияющим на чувствительность определения, является  $\epsilon_{\lambda}$

$q = V l$  – «эффективное» сечение кюветы [см<sup>2</sup>]

$$m = \frac{10^3 A_{\text{мин}} q M \mu}{\epsilon_{\lambda}} \quad [\text{мкг} \times \text{см}^{-2}]$$

чувствительность по Сенделу

$$m_S = \frac{M \mu}{\epsilon_{\lambda}}$$

$$A_{\text{мин}} = 0.001 \quad q = 1 \text{ см}^2$$

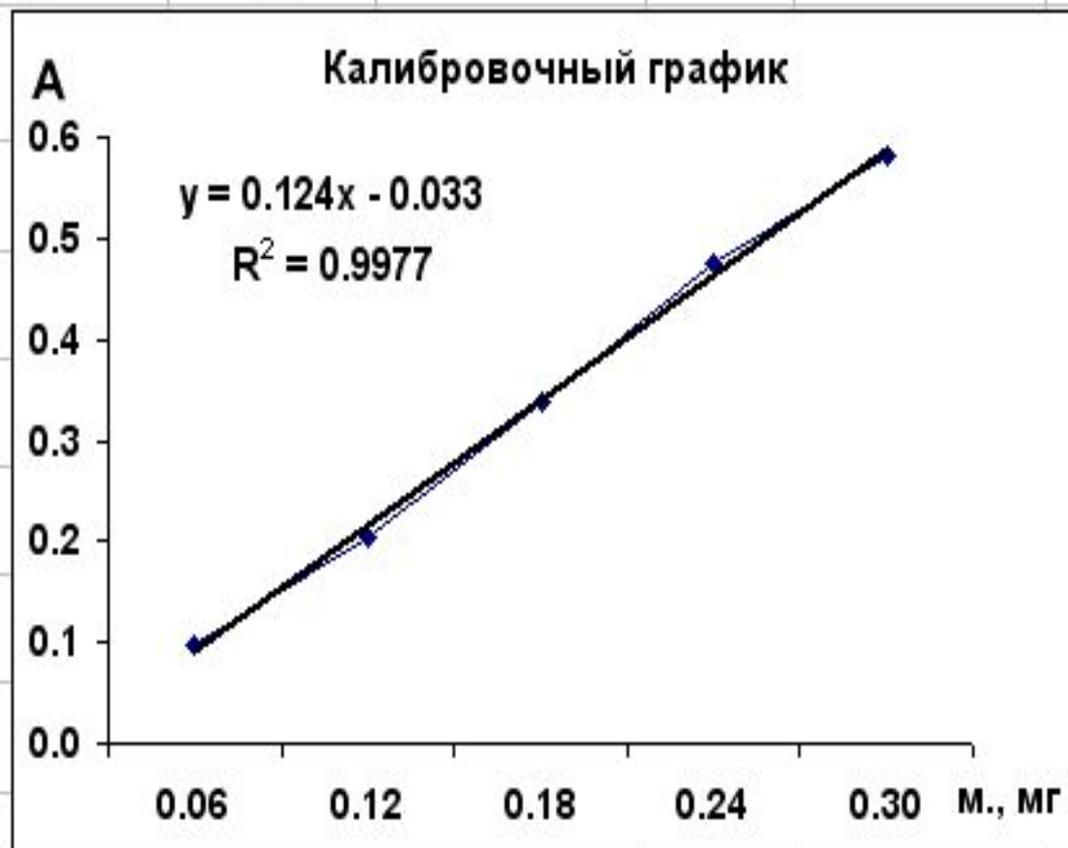
используют при оценке фотометрических реагентов

# 1. Построение графика линейной зависимости $A = f(C)$

Концентрация раствора, мг/мл

$C =$  60

$V$ , мл	$m$ , мг	$A$
1	0.060	0.097
2	0.120	0.203
3	0.180	0.339
4	0.240	0.475
5	0.300	0.581

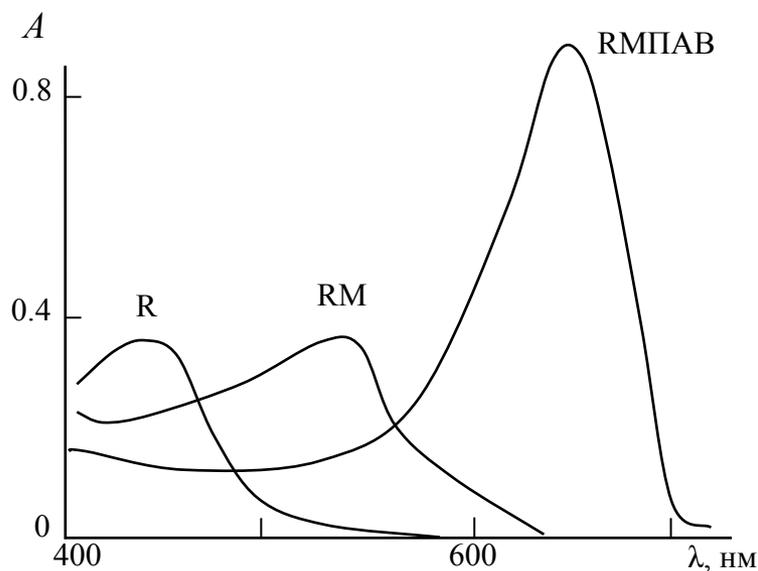


## 2. Определение количества Fe в анализируемой пробе

$A_{\text{ИЗМ}}$	$m_{\text{РАСЧ}}$
0.250	0.137

# Применение органических растворителей в фотометрии

- 1. Неполярные растворители**, ( хлороформ, тетрахлорметан, бензол, толуол) - для экстракционного выделения и концентрирования аналитов,
- 2. Полярные растворители**, (ацетон, диоксан, этиловый спирт - для повышения растворимости и относительной устойчивости окрашенных соединений, уменьшение степени диссоциации комплексов
- 3. Поверхностно-активные вещества (ПАВ).**- органические вещества содержащие как полярную (гидрофильные), так и неполярные (гидрофобные) функциональные группы.



Повышение чувствительности метода фотометрического определения металлов с помощью ПАВ:

М – аналит;

Р – реагент;

ПАВ – поверхностно- активное вещество