

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

**А.В. Булатов, А.Ю. Шишов, М.Т. Фалькова, К.С. Вах,
Н.В. Свиридова, Л.Н. Москвин**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ПРАКТИКУМУ
«СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ И ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ
МЕТОДЫ АНАЛИЗА»**

Санкт-Петербург, 2013

Рекомендовано Ученым советом Химического факультета СПбГУ

Рецензенты:

доктор хим. наук, проф. Л.А. Карцова (СПбГУ)

доктор хим. наук, проф. С.Ю. Гармонов (КНИТУ)

В методических указаниях кратко изложены основные представления о спектрофотометрических и люминесцентных методах анализа, рассматриваются свойства фотометрических реагентов, наиболее часто используемых в спектрофотометрическом анализе. Для иллюстрации аналитических возможностей этих методов приведены примеры аналитических задач, решаемых с их помощью. Методические указания предназначены для студентов химического факультета СПбГУ.

СОДЕРЖАНИЕ

Условные сокращения

1. Энергетические состояния молекул
2. Спектрофотометрические методы анализа
3. Инструментальные средства спектрофотометрического анализа
4. Общая схема проведения спектрофотометрического анализа
 - 4.1. Образование аналитических форм аналитов. Фотометрические реагенты
 - 4.1.1. N-гетероциклические азосоединения
 - 4.1.2. Арсоновые азосоединения
 - 4.1.3. Трифенилметановые реагенты
 - 4.1.4. Катионные (основные) красители
 - 4.1.5. Другие фотометрические реагенты
 - 4.2. Схемы измерения аналитического сигнала и определения концентрации аналитов
5. Люминесцентные методы анализа
6. Лабораторные работы

Лабораторная работа № 1. Спектрофотометрическое определение фосфат-ионов в водных средах

Лабораторная работа № 2. Спектрофотометрическое определение флавоноидов в растительном сырье

Лабораторная работа № 3. Спектрофотометрическое определение нитрат-ионов в минеральных удобрениях

Лабораторная работа № 4. Спектрофотометрическое определение ионов аммония в минеральных удобрениях

Лабораторная работа № 5. Экстракционно-фотометрическое определение анионных поверхностно-активных веществ в водных средах

Лабораторная работа № 6. Дифференциально-фотометрическое определение ионов меди (II) в водных средах

Лабораторная работа № 7. Флуориметрическое определение рибофлавина в витаминно-минеральных комплексах

Рекомендуемая литература

Приложение 1

Приложение 2

УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

- АПAB – анионное поверхностно-активное вещество
- ВФГПК – восстановленная гетерополикислота
- ВФМФК – восстановленная молибдофосфорная гетерополикислота
- ГПК – гетерополикислота
- МФГПК – молибдофосфорная гетерополикислота
- ПАВ – поверхностно-активное вещество
- ПАН – 1-(2-пиридилазо)-2-нафтол
- ПАР – 4-(2-пиридилазо) резорцин
- ПИА – проточно-инжекционный анализ
- ОНК – 2-окси-3-нафтойная кислота
- ФЭК – фотоэлектроколориметр
- ЦПХ – цетилпиридиния хлорид
- ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
- Na-ДДТК – диэтилдитиокарбамат натрия

1. Энергетические состояния молекул

Методы спектрофотометрии и люминесценции основаны на способности молекул к поглощению или испусканию квантов электромагнитного излучения, что связано с изменением их энергетических состояний. Общая энергия молекулы (E_M) складывается из ее электронной ($E_{эл}$), колебательной ($E_{кол}$) и вращательной ($E_{вр}$) энергий: $E_M = E_{эл} + E_{кол} + E_{вр}$. Наибольший вклад в величину E_M вносит $E_{эл}$: от 1 до 5 эВ. Это означает, что различия в энергии электронных уровней молекул находятся в диапазоне энергий квантов электромагнитного излучения, соответствующих ультрафиолетовой и видимой областям спектра. Энергия колебательных переходов $E_{кол}$ составляет: $10^{-2} \div 10^{-1}$ эВ, что соответствует ближней и средней ИК-области спектра, а вращательных $E_{вр}$: $10^{-5} \div 10^{-3}$ эВ, что соответствует дальней ИК-области спектра.

Диаграмма энергетических состояний молекул и возможных переходов из одного состояния в другое (диаграмма Яблонского) представлена на рис. 1. На данной диаграмме все энергетические переходы в молекулах, сопровождающиеся поглощением или испусканием квантов электромагнитного излучения, обозначены сплошными стрелками, а сопровождающиеся выделением тепла – пунктирными. При нормальных условиях молекула находится в основном синглетном электронном состоянии, обозначенном на диаграмме S_0 . Два более высоких энергетических уровня S_1 и T_1 отвечают электронновозбужденным синглетному и триплетному состояниям. Наиболее устойчивым состоянием молекул является синглетное. Это состояние соответствует суммарному спину, равному нулю. В синглетном состоянии спины электронов, занимающих одну и ту же орбиталь, антипараллельны. Электронные переходы без изменения спина называют синглет-синглетными.

Возможен случай, когда спины возбужденного электрона и электрона, оставшегося в основном состоянии, параллельны. Суммарный спин при этом равен 1. Этот случай соответствует триплетному состоянию молекулы. Время жизни триплетного состояния сравнительно велико: от 10^{-2} до 100 с.

Кроме приведенных на диаграмме S_0 , S_1 и T_1 может существовать множество других синглетных и триплетных уровней, число которых зависит от состава и структуры молекул. Каждому из этих электронных состояний молекулы соответствует n -колебательных подуровней (v_n), в свою очередь каждому колебательному – m -вращательных.

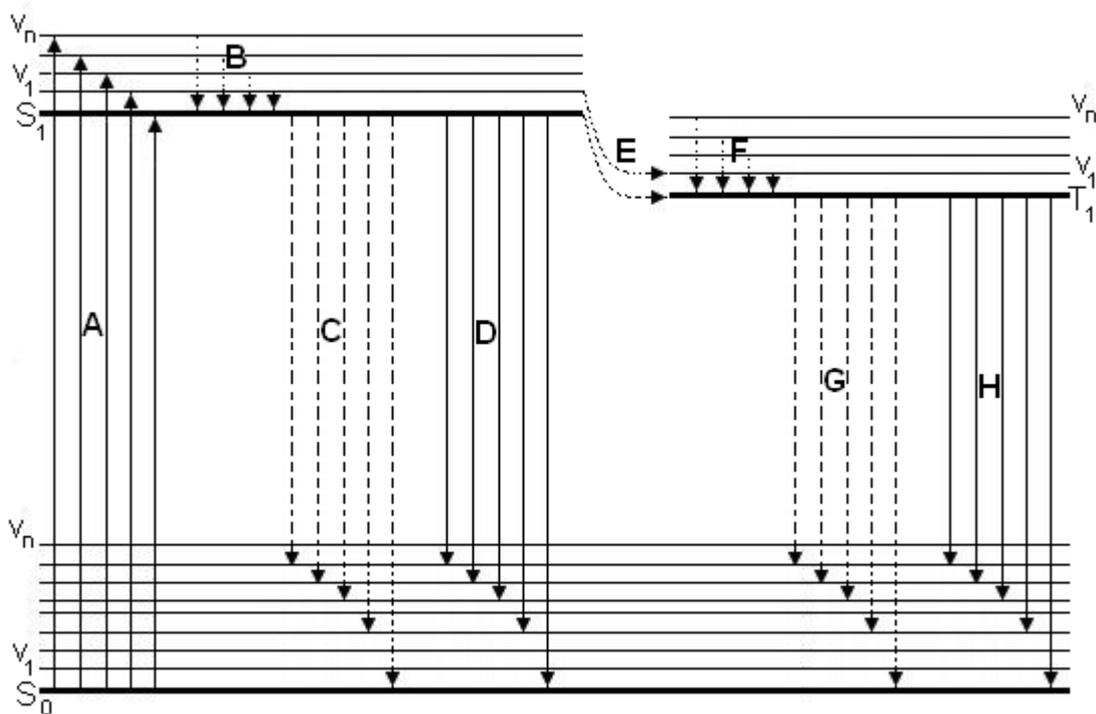


Рис. 1. Диаграмма энергетических уровней молекулы.

Переход молекулы на один из более высоких уровней, вызванный поглощением кванта электромагнитного излучения, по схеме: $S_0 + h\nu \rightarrow S_1(v_n)$ (процесс А на рис. 1), может произойти только в том случае, если энергия фотона, воздействующего на молекулу, равна энергии перехода с уровня S_0 на один из колебательных подуровней более высокого синглетного состояния. Далее молекула очень быстро ($\sim 10^{-13}$ с) переходит с колебательного подуровня $v_n(S_1)$ на основной возбужденный уровень S_1 с выделением избыточной энергии в форме тепла: $v_n(S_1) \rightarrow S_1 + Q$ (колебательная релаксация, процесс В на рис. 1). После чего молекула, оказавшись в возбужденном состоянии S_1 , может расходовать оставшуюся энергию возбуждения по одному из трех механизмов:

- передать ее в форме тепла при столкновении с другой химической частицей: $S_1 \rightarrow S_0 + Q$ (внутренняя конверсия, процесс С на рис. 1);

- испустить ее в виде кванта электромагнитного излучения (флуоресценция): $S_1 \rightarrow S_0 + h\nu$ (процесс D на рис. 1);

- перейти на какой-либо подуровень триплетного уровня, обладающий почти такой же энергией (интеркомбинационная конверсия): $S_1 \rightarrow v_n(T_1) + Q$ (процесс E на рис. 1).

В свою очередь молекула с подуровня $v_n(T_1)$ переходит на основной возбужденный уровень T_1 с выделением тепла: $v_n(T_1) \rightarrow T_1 + Q$ (колебательная релаксация, процесс F на рис. 1) и далее может расходовать оставшуюся энергию возбуждения по одному из двух механизмов:

– передать ее в форме тепла при столкновении с другой химической частицей: $T_1 \rightarrow S_0 + Q$ (внутренняя конверсия, процесс G на рис. 1);

– испустить ее в виде кванта электромагнитного излучения (фосфоресценция):
 $T_1 \rightarrow S_0 + h\nu$ (процесс H на рис. 1).

2. Спектрофотометрические методы анализа

Из рассмотренных выше схем изменения электронного энергетического состояния молекул наиболее вероятным событием является переход в возбужденное состояние при поглощении квантов электромагнитного излучения с характеристической для каждой молекулы энергией, равной разнице между возбужденным и основным состоянием молекулы. Методы анализа, основанные на измерении поглощения молекулами электромагнитного излучения в УФ (200 – 400 нм) и видимой (400 – 700 нм) областях спектра, называются спектрофотометрическими. Объектами спектрофотометрических измерений, как правило, являются растворы.

Ослабление интенсивности монохроматического излучения при его поглощении слоем раствора аналита толщиной l описывается законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon_\lambda \cdot C \cdot l,$$

где A – оптическая плотность раствора (безразмерная величина); I_0 и I – интенсивность светового потока до и после его прохождения через слой поглощающего раствора; ε_λ – молярный коэффициент светопоглощения при заданной длине волны λ ($\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$); C – молярная концентрация поглощающего вещества в растворе (моль/л).

Отношение I/I_0 называют пропусканием и обозначают T ($0 \leq T \leq 1$). Величина пропускания обычно выражается в %.

Если в растворе присутствует несколько поглощающих веществ, то оптическая плотность раствора равна сумме парциальных оптических плотностей, создаваемых входящими в него компонентами (закон аддитивности):

$$A = \sum \varepsilon_i \cdot C_i \cdot l,$$

где ε_i – молярный коэффициент светопоглощения i -ого компонента при заданной длине волны λ ($\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$); C_i – молярная концентрация i -ого компонента в смеси (моль/л).

При выводе закона Бугера-Ламберта-Бера в качестве обязательного условия принимается монохроматичность светового потока, но в тоже время не делается никаких допущений о природе поглощающей среды. Таким образом, он является универсальным и одинаково справедливым для любых поглощающих сред. Но в варианте

спектрофотометрии этот закон рассматривается применительно к растворам. При этом предполагается, что

- процесс поглощения квантов света уже возбужденными молекулами маловероятен (имеют место только однофотонные переходы);
- не происходят изменения состояния молекул поглощающего вещества в растворе;
- пучок лучей падающего светового потока параллелен;
- отсутствуют фотохимические процессы.

Только при соблюдении всех этих условий в совокупности с общим условием монохроматичности светового потока выполняется закон Бугера-Ламберта-Бера.

В действительности линейный характер зависимости оптической плотности от концентрации аналита в растворе часто нарушается, что является следствием инструментальных и физико-химических причин. Отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера бывают истинные и кажущиеся.

Истинные отклонения связаны с изменением коэффициента преломления среды при изменении концентрации поглощающего вещества. Они заметно проявляются при больших концентрациях, следствием чего являются сравнительно «узкие» диапазоны определяемых концентраций для спектрофотометрических методик, обычно в пределах двух порядков.

Кажущиеся отклонения связаны с инструментальными и химическими причинами. К числу инструментальных причин относятся немонохроматичность источника излучения и влияние рассеяния света.

Влияние немонохроматичности поясняется на рис. 2. Монохроматор пропускает свет в определенном интервале длин волн $\Delta\lambda$. Чем шире $\Delta\lambda$, тем больше эффект снижения оптической плотности по сравнению с её максимальным значением. Величина A_2 , измеренная в диапазоне длин волн $\Delta\lambda_2$, будет меньше A_1 , соответствующей диапазону $\Delta\lambda_1$, и обе они будут меньше A_{\max} , полученной при λ_{\max} . При этом, учитывая экспоненциальный характер зависимости интенсивности светового потока после его прохождения через слой поглощающего раствора от концентрации, эффект отклонения усредненного значения оптической плотности ($A_{\text{изм}}$) от значения оптической плотности при λ_{\max} (A_{\max}) тем больше, чем больше концентрация.

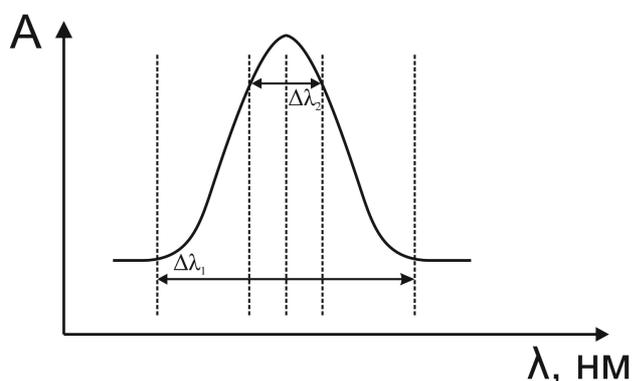


Рис. 2. Зависимость измеряемой величины оптической плотности от монохроматизации света.

Таким образом:

- для узких полос поглощения необходима максимально высокая монохроматичность, что реализуется в приборах – спектрофотометрах;
- для соединений, имеющих широкие полосы поглощения, допустимо применение приборов типа фотоэлектроколориметров (ФЭКов) с низкой монохроматизацией (большими $\Delta\lambda$).

Значительные отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера может вызывать и влияние рассеяния света, когда некоторая часть светового потока, минуя фотометрируемый раствор, попадает непосредственно на детектор.

Химические причины отклонений связаны с изменениями состояния молекул поглощающего вещества в растворе. Закон справедлив по отношению к определённому типу молекул, характеризующихся своим ε . Любые процессы в растворе, приводящие к непропорциональному изменению доли поглощающих молекул при изменении общей концентрации вещества, приводят к отклонениям от линейности зависимости A от C . Например, в растворе присутствует способный к диссоциации комплекс: $\text{MeLig} \leftrightarrow \text{Me} + \text{Lig}$. При этом общая концентрация комплексной и ионной форм металла является постоянной величиной: $[\text{MeLig}] + [\text{Me}] = C$, а концентрация комплексной формы $[\text{MeLig}]$ – переменной, зависящей от pH и ионной силы раствора. Изменение соотношения $[\text{MeLig}]/C$ приводит к ошибке в результатах анализа, так как градуировочный график построен в координатах A от C , а не от концентрации аналитической формы $[\text{MeLig}]$: $A_{\text{изм}} = \varepsilon_A(C - [\text{Me}])l + \varepsilon_{\text{Me}} [\text{Me}]l$, где ε_A и ε_{Me} – молярные коэффициенты поглощения комплексной и ионной форм металла, соответственно. Соответственно могут быть отрицательные отклонения, когда $\varepsilon_{\text{Me}} < \varepsilon_A$ и положительные при $\varepsilon_{\text{Me}} > \varepsilon_A$ (рис. 3).

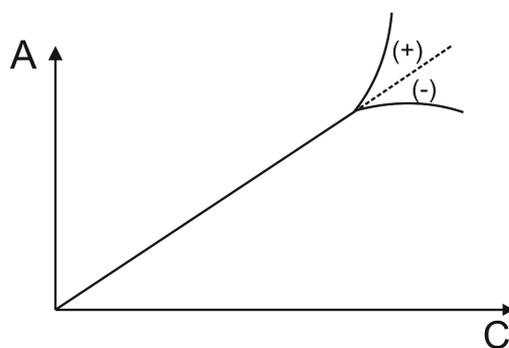


Рис. 3. Зависимость оптической плотности от концентрации аналита; положительные (+) и отрицательные (-) отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера.

3. Инструментальные средства спектрофотометрического анализа

Принципиальная схема прибора для измерения оптических плотностей растворов представлена на рис. 4. В спектрофотометрии необходимо варьировать длину волны света источника в широких пределах (от 200 до 700 нм). Для этих целей используют источники непрерывного спектра: для ультрафиолетовой области – водородную или дейтериевую лампы, для видимой области – обычно вольфрамовую лампу накаливания. Все оптические узлы прибора должны быть прозрачными для излучения в используемой области спектра. При работе в ультрафиолетовой области используют кварцевую оптику, а в видимой – стеклянную.

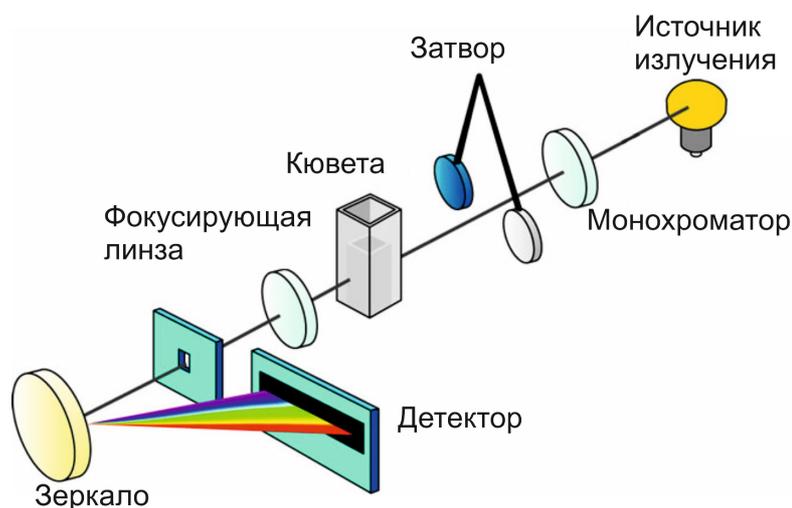


Рис. 4. Общая схема измерительного прибора в спектрофотометрии.

В зависимости от типа применяемого монохроматора приборы подразделяют на фотоэлектроколориметры (ФЭК) и спектрофотометры. В ФЭК для монохроматизации используют набор сменных светофильтров. Их спектральная полуширина полос

пропускания достаточно велика: 20 нм и выше. Такая степень монохроматизации может считаться достаточной только для веществ, обладающих широкополосными спектрами поглощения. Более эффективная монохроматизация достигается в спектрофотометрах, в которых в качестве монохроматоров используют призмы или дифракционные решетки, обеспечивающие полуширину полос пропускания от нескольких десятых долей нанометра до 2–3 нм.

Конструкция кюветного отделения зависит от схемы измерения: одно- или двухлучевой. При двухлучевой схеме кюветы с раствором сравнения и фотометрируемым раствором фиксируются параллельно лучу проходящего через них света. При однолучевой схеме предусматривается возможность последовательного пропускания луча света через обе кюветы. Преимущества той и другой схем не однозначны. Двухлучевая схема представляется более удобной, т.к. позволяет в качестве аналитического сигнала сразу получать разность оптических плотностей анализируемого раствора и раствора сравнения, но для этого необходимо обеспечить строго одинаковую чувствительность детекторов светового потока через обе кюветы, что представляет определенные трудности. Однолучевая схема свободна от этого недостатка.

В качестве детекторов используют фотоэлектрические преобразователи – фотоэлементы, фотодиоды или фотоэлектронные умножители.

Для регистрации сигнала применяются стрелочные вольтметры, обычно отградуированные в единицах А, или цифровые индикаторы.

4. Общая схема проведения спектрофотометрического анализа

4.1. Образование аналитических форм аналитов. Фотометрические реагенты

Спектрофотометрические методы анализа только в исключительных случаях основаны на измерении оптических плотностей растворов веществ, молекулы которых способны к поглощению света в видимой области спектра, несколько чаще – в УФ-области. Обычно общая схема спектрофотометрического анализа включает два обязательных этапа:

1. Образование аналитической формы при добавлении к аликвоте пробы буферного раствора и раствора фотометрического (хромогенного) реагента (проведение реакции образования фотометрируемого соединения);
2. Фотометрирование полученного окрашенного раствора аналитической формы.

В спектрофотометрическом анализе применяются различные по природе фотометрические реагенты, наиболее распространенными продуктами реакций которых с аналитами являются:

1. Хелатные (внутрикомплексные) соединения ионов металлов;
2. Соединения ионов металлов с кислотными и основными органическими красителями;
3. Разнолигандные комплексные соединения и ионные ассоциаты;
4. Монолигандные комплексы металлов с неорганическими лигандами и гетерополисоединения.

Все фотометрические реагенты объединяет общее требование: наличие у них хромофорных групп атомов, которыми поглощаются кванты света определенных длин волн за счет электронных переходов из основного состояния в возбужденное. Ниже представлены свойства некоторых фотометрических реагентов.

4.1.1. N-гетероциклические азосоединения

1-(2-пиридилазо)-2-нафтол (ПАН) (рис. 5) – фотометрический реагент из класса N-гетероциклических азосоединений, который в зависимости от pH может существовать в растворах в трех формах. При $\text{pH} < 2$ преобладает водорастворимая протонированная форма H_2R^+ , окрашенная в желто-зеленый цвет. В диапазоне pH от 3 до 11 ПАН существует в виде нейтральных молекул HR и даёт растворы жёлтого цвета в органических растворителях (в воде образуются коллоидные растворы). При $\text{pH} > 11$ ПАН существует в виде аниона R^- красного цвета.

ПАН обычно используют в виде метанольных или этанольных растворов. Он выступает как тридентатный лиганд, координируя ионы металлов по атому кислорода гидроксильной группы, пиридиновому атому азота и одному из атомов азота азогруппы. Комплексы металла с ПАН не заряжены, малорастворимы в воде и экстрагируются неполярными растворителями — хлороформом или бензолом. ПАН применяется для экстракционно-фотометрического определения ионов Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} и др. Молярные коэффициенты поглощения комплексов ионов металлов с ПАН составляют $(2\text{--}6) \cdot 10^4 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. При экстракции в органическую фазу переходят как комплексы ионов металлов, так и свободный реагент. Однако длины волн максимального поглощения реагента и его комплексов обычно сильно различаются.

Селективность методик с применением ПАН можно повысить путем варьирования pH и применения маскирующих реагентов. В частности, ионы железа (III), кобальта (II) и никеля (II) взаимодействуют с ПАН при pH 4. Это значение pH недостаточно для образования комплексов с ионами Mn^{2+} , Zn^{2+} и Cd^{2+} . При более высоких значениях pH в присутствии цианид-ионов можно определять ионы марганца (II) в присутствии ионов Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} и Cu^{2+} , образующих устойчивые цианидные комплексы.

4-(2-пиридилазо)резорцин (ПАР) (рис. 5) в отличие от ПАН растворим в воде и образует с ионами металлов водорастворимые комплексы. При pH < 2 ПАР существует в виде протонированных форм H_3R^{3+} , H_4R^{2+} и H_3R^+ . Нейтральные молекулы ПАР существуют в пределах pH от 2,1 до 4,2, а анион HR^- при pH от 4,2 до 7. При pH > 11 диссоциируют обе гидроксильные группы реагента и образуется ион R^{2-} .

ПАР образует окрашенные комплексы с ионами Cu^{2+} , Bi^{3+} и Ti^{3+} в сернокислых растворах, а в ацетатных растворах (pH от 3 до 6) с ионами Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} и Mn^{2+} .

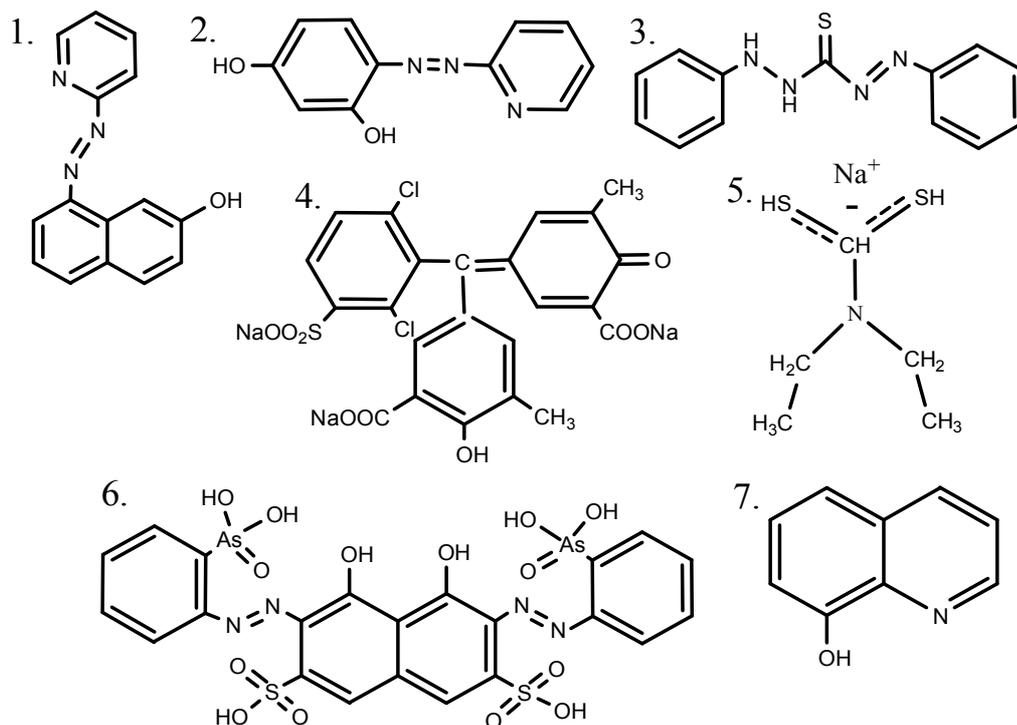


Рис. 5. Структурные формулы фотометрических реагентов: 1 – ПАН; 2 – ПАР; 3 – дитизон; 4 – хромазуrol-S; 5 – диэтилдитиокарбамат натрия; 6 – арсеназо III; 7 – 8-оксихинолин.

4.1.2. Арсоновые азосоединения

Арсоновые азосоединения образуют устойчивые комплексы с рядом ионов металлов даже в достаточно кислой среде благодаря наличию арсоновой группы ($-AsO_3H_2$).

Арсеназо III является одним из лучших фотометрических реагентов этой группы. Он умеренно растворим в нейтральных и кислых средах и хорошо растворим в слабощелочных. Сильные окислители и сильные восстановители разрушают реагент.

В сильнокислых средах реагент взаимодействует только с ионами Th, Zr, Hf и U. Молярные коэффициенты поглощения для комплексов составляют $10^5 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Максимум поглощения свободного арсеназо III находится при 520–530 нм. В области максимума поглощения комплексов большинства ионов металлов (655–665 нм)

поглощение свободного реагента незначительно. Большое различие в положениях максимумов поглощения этого реагента и его комплексов дает ему преимущество перед другими.

4.1.3. Трифенилметановые реагенты

Производные трифенилметана интенсивно окрашены и могут быть использованы в качестве фотометрических реагентов для определения микроконцентраций ионов Al^{3+} , Be^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} и др. К этому классу реагентов относятся пирокатехиновый фиолетовый, хромазуrol S, эриохромцианин R, ксиленоловый оранжевый.

Многие катионы металлов в присутствии поверхностно-активных веществ (ПАВ) образуют с реагентами данного класса интенсивно окрашенные трехкомпонентные комплексные соединения. Это позволяет увеличить контрастность фотометрической реакции и повысить молярные коэффициенты светопоглощения.

Хромазуrol-S (рис. 5) является лучшим фотометрическим реагентом для определения ионов алюминия. При взаимодействии ионов алюминия с хромазуролом-S возможно образование двух комплексов: при $pH < 3$ с соотношением $Al:R = 1:1$, при $pH > 3,5$ – $Al:R = 1:2$. Для спектрофотометрического определения ионов алюминия с хромазуролом S используют реакцию образования комплекса с соотношением компонентов 1:2, так как она характеризуется наиболее высокой контрастностью. В оптимальных условиях ($pH 5,8$) комплексообразование заканчивается в течение 10 мин, а растворы аналитической формы устойчивы во времени. Существенное мешающее влияние оказывают ионы $Fe(III)$, $Be(II)$, фторид-, тартрат- и цитрат-ионы. Восстановители (аскорбиновая и тиогликолевая кислоты) могут быть использованы для маскирования ионов $Fe(III)$ и $Cu(II)$.

4.1.4. Катионные (основные) красители

Многие анионные комплексы металлов (ванадия, галлия, сурьмы и др.) образуют с основными красителями ионные ассоциаты (ионные пары), которые экстрагируются в неполярные растворители.

Катионные красители (малахитовый зеленый, бриллиантовый зеленый, родамин В, метиленовый синий и др.) обычно используют в виде их галогеноводородных солей. Формой, в которой молекула красителя входит в состав ионного ассоциата, является однозарядный катион. В качестве растворителей для экстракции чаще всего используют бензол, толуол, хлороформ или 1,2-дихлорэтан. Иногда для улучшения экстракции добавляют кислородсодержащие растворители, обладающие электронно-донорными свойствами (например, бутанол или диизопропиловый эфир). В зависимости от природы используемого красителя и растворителя, pH водной фазы можно изменять в широких

пределах, начиная от умеренно концентрированных растворов минеральных кислот (HCl, H₂SO₄) и до pH 5.

4.1.5. Другие фотометрические реагенты

Дитизон (H₂Dz) (рис. 5) – распространенный реагент для высокочувствительного определения ионов Pb(II), Zn(II), Cd(II), Ag(I), Hg(II), Cu(II), Pd(II) и др. Дитизон часто применяют для экстракционного выделения ионов металлов перед их определением.

Дитизон нерастворим в водных растворах при pH < 7; в щелочной среде он растворяется, давая окрашенные в желтый цвет растворы, содержащие анион HDz⁻. Дитизон хорошо растворяется в CCl₄, CHCl₃, углеводородах и спиртах, образуя зеленые растворы.

Растворы дитизонатов металлов в органических растворителях интенсивно окрашены, их окраска значительно отличается от окраски свободного дитизона. Исключение составляет Pd(HDz)₂, раствор которого имеет серо-зеленый цвет. Большинство дитизонатов экстрагируются из кислых растворов.

Селективность определений при помощи дитизона обеспечивается выбором необходимой кислотности среды и применением маскирующих реагентов – трилона Б, цианид-, тиосульфат- и иодид-ионов.

Чаще всего методики определения ионов металлов с дитизоном включают экстракцию иона металла из водного раствора избытком раствора дитизона в CCl₄ или CHCl₃, удаление свободного дитизона из органической фазы путем встряхивания со щелочным водным раствором и измерение оптической плотности экстракта дитизоната металла.

В аналитической практике относительно широкое распространение для определения ионов металлов нашел фотометрический реагент – *диэтилдитиокарбамат натрия (Na-ДДТК)* (рис. 5). Диэтилдитиокарбаматы металлов мало растворимы в воде, но растворяются в органических растворителях – CHCl₃, CCl₄, амилацетате и ацетоне.

Спектрофотометрические методики с использованием Na-ДДТК характеризуются малой чувствительностью, поскольку интенсивность окраски соответствующих комплексов металлов слабая; наиболее интенсивно окрашены комплексы Cu(II) и Mn(II).

В кислых растворах Na-ДДТК разлагается с образованием диэтиламина и сероуглерода, поэтому растворы Na-ДДТК хранят в слабощелочной среде (при pH ~ 9).

8-оксихинолин (рис. 5) с рядом ионов металлов образует хелаты, большинство которых экстрагируется хлороформом и другими органическими растворителями. 8-оксихинолин – амфотерное соединение, которое растворяется в щелочных средах с образованием аниона оксихинолината, а в кислых – с образованием катиона

оксихинолиния. Реагент растворим в CHCl_3 , C_6H_6 , CCl_4 , этаноле, ацетоне и других органических растворителях. Распределение 8-оксихинолина между CHCl_3 и водой зависит от pH.

Растворы 8-оксихинолина в хлороформе имеют максимум поглощения при 315 нм. Растворы всех оксихинолинов металлов окрашены в основном в желтый цвет.

4.2. Схемы измерения аналитического сигнала и определения концентрации аналитов

Для определения концентрации веществ в растворе спектрофотометрическим методом после проведения хромогенной реакции предложен ряд схем выполнения аналитических процедур, условно называемых методами.

Метод одного эталона. Его можно использовать, если значение измеряемой величины оптической плотности находится на прямолинейном участке градуировочного графика, идущего из начала координат. При этом измеряют оптические плотности анализируемого (A_x) и стандартного ($A_{ст}$) растворов в кюветах с одинаковой толщиной поглощающего слоя при выбранной длине волны. Концентрацию аналита (C_x) в анализируемом растворе вычисляют по формуле: $C_x = \frac{C_{ст} \cdot A_x}{A_{ст}}$. При этом концентрации

аналита в анализируемом (C_x) и стандартном растворе ($C_{ст}$) должны быть близки.

Данный «метод» применяется в случае проведения единичных анализов. Ограниченные возможности этой схемы связаны с отсутствием, как правило, априорной информации о величине C_x , что приводит к большой погрешности ее определения из-за неправильного выбора $C_{ст}$.

Метод градуировочного графика. В этом случае готовят серию стандартных растворов с возрастающими концентрациями аналита (C_1, C_2, \dots, C_n). К аликвотам стандартных растворов добавляют растворы реагентов, необходимые для образования аналитических форм определяемых веществ, выдерживают в течение времени, необходимого для развития окраски растворов, измеряют оптические плотности приготовленных стандартных растворов относительно раствора сравнения, традиционно называемого «холостым». «Холостым» раствором служит раствор всех вспомогательных реагентов, необходимых для образования аналитической формы аналита, но не содержит последнего. Длину кюветы выбирают таким образом, чтобы оптические плотности для серии растворов во всем интервале концентраций были в пределах от 0,1 до 1. Строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс концентрации аналита в стандартных растворах, а по оси ординат – оптические плотности (рис. 6). Аналогично аликвоты растворов реагентов вводят в анализируемый раствор, выдерживают его в течение того же

времени, что и стандартные растворы, измеряют оптическую плотность и находят концентрацию аналита с помощью построенного градуировочного графика.

Достоинство этого «метода» состоит в том, что его можно использовать и при наличии отклонений от закона Бугера-Ламберта-Бера. Причём в случае нелинейности градуировочного графика число точек, по которым он строится, должно быть достаточно велико, чтобы уверенно установить характер зависимости в области нарушения линейности.

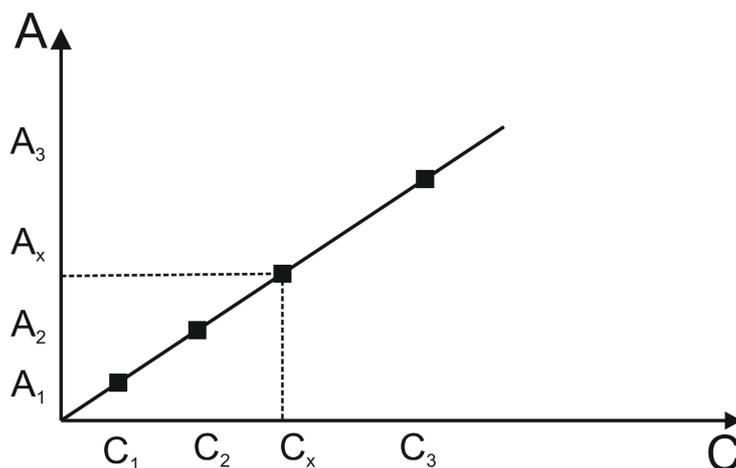


Рис. 6. Градуировочный график: A – оптическая плотность раствора, C – концентрация определяемого вещества.

5. Люминесцентные методы анализа

Люминесцентные методы анализа основаны на измерении интенсивности испускаемого частицами (атомами, молекулами, ионами и др.) света при переходе из возбужденного состояния в основное. Классификацию люминесцентных методов можно провести по нескольким независимым признакам:

1. Природе излучающих частиц: атомная и молекулярная люминесценция;
2. Природе процесса люминесценции: флуоресценция и фосфоресценция;
3. Источнику энергии для возбуждения излучающих частиц: фотолюминесценция (излучение УФ- и видимого диапазона), радиолюминесценция (радиоактивные излучения), хемилюминесценция (энергия химических реакций), катодолюминесценция (поток электронов) и т.д.

В аналитической практике чаще всего используется фотолюминесценция (флуоресценция и фосфоресценция). В этом случае важнейшим фактором, определяющим интенсивность люминесценции, является квантовый выход ($\Phi_{\text{кв}}$), равный отношению числа испущенных квантов света ($N_{\text{люм}}$) к числу поглощенных при возбуждении молекулы ($N_{\text{погл}}$):

$$\varphi_{\text{кв}} = \frac{N_{\text{люм}}}{N_{\text{погл}}}$$

Для подавляющего большинства молекул величина $\varphi_{\text{кв}}$ ничтожно мала. Такие вещества можно считать нелюминесцирующими. Для люминесцирующих веществ $0,01 < \varphi_{\text{кв}} < 1$.

Большинству элементарных актов люминесценции предшествует потеря части поглощённой энергии вследствие колебательной релаксации (см. раздел 1). Поэтому энергия испускаемого кванта ниже, чем поглощённого. Вследствие этого полосы излучения в спектре люминесценции смещены относительно полос поглощения в абсорбционном спектре в сторону меньших энергий (больших длин волн). Эта закономерность называется правилом Стокса-Ломмеля, которое справедливо как для флуоресценции, так и для фосфоресценции. При этом полосы в спектрах флуоресценции и поглощения одного и того же вещества, нормированные к их максимумам, зеркально симметричны относительно вертикали, проходящей через точку их пересечения (правило зеркальной симметрии В.Л. Левшина) (рис. 7).

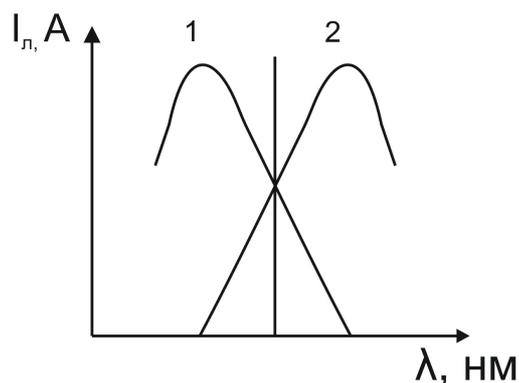


Рис. 7. Спектры поглощения (1) и люминесценции (2).

При низких концентрациях люминесцирующего вещества интенсивность люминесценции $I_{\text{л}}$ пропорциональна его концентрации (C):

$$I_{\text{л}} = 2,3 \cdot g \cdot K_n \cdot \varphi_{\text{кв}} \cdot I_o \cdot \varepsilon_{\lambda} \cdot C \cdot l$$

где ε_{λ} — молярный коэффициент поглощения возбуждающего излучения, $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$; l — толщина поглощающего слоя, см; g — приборный фактор (коэффициент), учитывающий долю регистрируемого люминесцирующего излучения; K_n — коэффициент пропорциональности.

Объединив все постоянные величины в вышеуказанном уравнении в одну (K), приходим к упрощенному выражению: $I_{\text{л}} = K \cdot C$, используемому в качестве уравнения градуировочного графика в методах люминесцентного анализа.

Для измерения интенсивности люминесценции необходимо регистрировать испускаемое излучение отдельно от исходного. Для этого люминесценцию, как правило, измеряют под прямым углом к направлению луча возбуждающего излучения. Схема простейшего люминесцентного фотометра (флуориметра) приведена на рис. 8. Так как большинство флуоресцирующих молекул поглощают УФ-излучение, в качестве источников возбуждающего излучения обычно используется ртутная лампа. В более сложных приборах (спектрофлуориметрах), которые обеспечивают возможность регулирования длин волн возбуждающего излучения, используют ксеноновые лампы высокого давления.

В флуориметре (рис. 8) первичный фильтр (фильтр 1) служит для монохроматизации возбуждающего излучения, а вторичный фильтр (фильтр 2) – для устранения влияния рассеянного света. Фильтры и кюветы изготавливают из кварцевого стекла. В спектрофлуориметрах вместо фильтров устанавливаются два сканирующих монохроматора: один выделяет длину волны возбуждающего излучения, другой – флуоресценции.

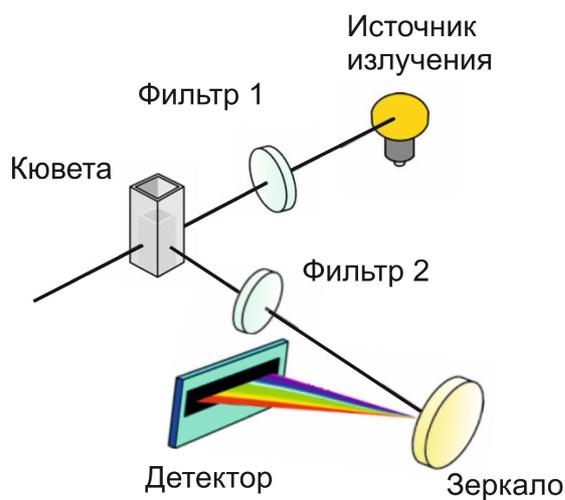


Рис. 8. Схема флуориметра.

В аналитической практике наиболее часто используют явление флуоресценции. При этом следует отметить, что число флуоресцирующих веществ весьма ограничено, лишь около 15% органических соединений способны к естественной флуоресценции за счет наличия у них таких общих свойств, как жесткая и планарная структура. Это относится к полиароматическим, гетероциклическим и фуранильным соединениям. Однако большинство молекул можно модифицировать так, чтобы стало возможным использовать метод исследования, основанный на флуоресценции.

Селективность флуоресцентных методов часто выше, чем спектрофотометрических. В табл. приведены характеристики некоторых флуориметрических методик.

Табл. Аналитические характеристики методик флуориметрического определения ионов.

Аналит	Реагент	Длина волны, нм		Предел обнаружения, мг/л	Мешающее влияние
		возбуждения	флуоресценции		
Al^{3+}	Морин	420	488	0,03	Be^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , F^-
F^-	тушение флуоресценции комплекса Al^{3+} с морином	420	488	0,01	Be^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}
$B_4O_7^{2-}$	Бензоин	370	450	0,04	Be^{2+} , Sb^{3+} , NH_3
Sn^{4+}	Флаванол	400	470	0,1	Zr^{4+} , F^- , PO_4^{3-}
Li^+	8-оксихинолин	370	570	0,2	Mg^{2+}

Фосфоресценцию используют для количественного анализа крайне редко, несмотря на то, что фосфоресцентный метод, как правило, селективнее флуоресцентного. Причины состоят в низкой точности фосфоресценции и необходимости использования низких температур. Известны методики фосфоресцентного определения ряда органических и биологических соединений – пестицидов, аминокислот, нуклеиновых кислот.

6. Лабораторные работы

Лабораторная работа № 1. Спектрофотометрическое определение фосфат-ионов

1. Предпосылки выбора условий выполнения анализа

Подавляющее большинство фотометрических методик определения фосфат-ионов основано на их способности образовывать гетерополикислоты (ГПК). Для определения фосфат-ионов обычно используют молибдофосфорную (МФГПК), молибдованадиевофосфорную и вольфрамванадиевофосфорную

гетерополиоксиды. Вольфрамфосфорная ГПК не окрашена и не пригодна для фотометрического определения фосфат-ионов. Образующиеся в этих условиях ГПК имеют желтую окраску (так называемая «жёлтая форма»), обусловленную переносом электронной плотности неподеленной электронной пары атома кислорода на металл внутри лиганда по σ -связи. Чем выше окислительные свойства иона металла, тем интенсивнее окраска (ванадий > молибден > вольфрам).

При фотометрировании водного раствора МФГПК результаты получаются весьма стабильные. Раствор МФГПК имеет максимум поглощения при длине волны 310–315 нм, молярный коэффициент поглощения при этом составляет $2 \cdot 10^4$ л·моль⁻¹·см⁻¹. Однако нельзя пренебречь поглощением равновесных форм молибдат-ионов в УФ-области спектра, т.к. их вводят в избытке для образования МФГПК. Поэтому фотометрирование обычно проводится при длине волны 400 нм, т.е. в области, соответствующей нисходящей ветви кривой поглощения самого комплекса. При этом молярный коэффициент поглощения снижается на порядок. Определению фосфат-ионов по реакции образования МФГПК мешают ионы вольфрама, ванадия, висмута, никеля, меди, фторида.

Методики, основанные на реакциях образования тройных ГПК (молибдованадиевофосфорной и вольфрамванадиевофосфорной ГПК), имеют ряд преимуществ перед методиками определения фосфат-ионов в виде двойных ГПК. Тройные гетерополиоксиды являются более устойчивыми в широком интервале pH. Реакция их образования более избирательна, т.к. способность к образованию тройных соединений встречается у ограниченного числа элементов. Для образования тройных гетерополиоксидов требуется меньше молибдат-ионов, а, соответственно, слабее проявляется влияние присутствия посторонних ионов, связывающих молибдат-ионы.

Повышение чувствительности при определении фосфат-ионов достигается за счёт восстановления содержащих молибден ГПК в соединения, окрашенные в синий цвет (в «синюю форму»). Для этого образовавшуюся в кислой среде ГПК подвергают воздействию восстановителя. В результате образуется восстановленная форма (ВФГПК), имеющая ярко-синюю окраску. В аналитической практике для фотометрического определения фосфат-ионов в форме ВФГПК наиболее часто используется реакция образования восстановленной молибдофосфорной ГПК (ВФМФК). Химизм образования ВФМФК до сих пор еще не выяснен окончательно. Имеющиеся данные по этому вопросу противоречивы. Основное противоречие заключается в том, что разные авторы находят различную степень восстановления молибдена в ВФМФК. Интенсивность же окраски ВФМФК зависит от доли

восстановленного молибдена в составе аналитической формы, что определяется условиями проведения реакции: природой восстановителя, кислотностью раствора, равновесной концентрацией молибдат-ионов, температурой и ионной силой. Поэтому в соответствующих методиках анализа все эти параметры строго фиксируются.

В качестве восстановителей предложено использовать ионы Fe(II), гидрохинон, хлорид олова (II), сульфат гидразина, аскорбиновую кислоту, тиомочевину и др. Природа восстановителя влияет как на время, необходимое для восстановления, так и на фотометрические характеристики образующейся ВФМФК. Взаимодействие с аскорбиновой кислотой при нагревании приводит к образованию ВФМФК с максимумом поглощения при 710 нм. При восстановлении МФГПК хлоридом олова (II) максимум поглощения наблюдается при длине волны 740 нм. На характеристики образующейся ВФМФК может влиять концентрация восстановителя. Например, при восстановлении МФГПК гидразинсульфатом получается продукт, максимум поглощения которого смещается от 825 нм к 760 нм по мере увеличения концентрации восстановителя, что связано с частичным разрушением ГПК. Исключением в этом плане является аскорбиновая кислота, использование которой при любых концентрациях приводит к образованию продуктов с максимумом поглощения при 710 нм.

Поэтому для реакции образования ВФМФК лучшим восстановителем признана аскорбиновая кислота, которая является мягким восстановителем, при её взаимодействии с МФГПК разрушения последней не наблюдается. Кроме того, в случае применения аскорбиновой кислоты достигается наибольшее значение молярного коэффициента светопоглощения ($\epsilon_{710}=5 \cdot 10^4$ л·моль⁻¹·см⁻¹). Однако количественное проведение фотометрической реакции в этом случае требует нагревания реакционной смеси, что значительно увеличивает продолжительность анализа. Ускорить реакцию образования аналитической формы удаётся введением в реакционную смесь сурьмяновиннокислого калия.

2. Подготовка к проведению анализа

2.1. Приготовление 1 г/л раствора фосфат-ионов

0,14 г KH_2PO_4 , предварительно высушенного в течение 3 ч при 110 °С, растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

2.2. Приготовление 20 г/л раствора аскорбиновой кислоты

0,3 г аскорбиновой кислоты растворяют в 15 мл дистиллированной воды. Раствор неустойчив при длительном хранении.

2.3. Приготовление 1,3 г/л раствора калия сурьмяновиннокислого

0,013 г калия сурьмяновиннокислого растворяют в 10 мл дистиллированной воды.

2.4. Приготовление 40 г/л раствора аммония молибденовокислого

0,4 г аммония молибденовокислого растворяют в 10 мл дистиллированной воды при нагревании.

2.5. Приготовление 2,5 М раствора H₂SO₄

9 мл концентрированной серной кислоты добавляют в 25 мл дистиллированной воды, охлаждают и разбавляют до 50 мл.

2.6. Приготовление смешанного раствора фотометрических реагентов

Смешивают 25 мл 2,5 М раствора H₂SO₄, 10 мл 40 г/л раствора аммония молибденовокислого, 15 мл 20 г/л раствора аскорбиновой кислоты, 2 мл 1,3 г/л раствора калия сурьмяновиннокислого. Полученный раствор устойчив в течение суток.

3. Проведение анализа

3.1. Построение спектра поглощения раствора ВФМФК

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10 мл 5 мг/л раствора фосфат-ионов, добавляют 5 мл смешанного раствора фотометрических реагентов. Нагревают колбу с раствором на кипящей водяной бане в течение 5 мин. Раствор охлаждают, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают содержимое колбы.

Раствор фотометрируют относительно дистиллированной воды в диапазоне длин волн от 500 до 800 нм на спектрофотометре с интервалом длин волн 20 нм в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм. Строят спектр поглощения раствора аналитической формы. Определяют λ_{\max} для проведения последующих измерений оптической плотности анализируемого и стандартных растворов. Рассчитывают молярный коэффициент светопоглощения ε при λ_{\max} :

$$\varepsilon = \frac{A}{C \cdot l},$$

где A – оптическая плотность фотометрируемого раствора; C – концентрация фосфат-ионов в фотометрируемом растворе, моль/л; l – длина оптического пути, см.

3.2. Построение градуировочного графика

В пять мерных колб вместимостью 25 мл помещают 2; 4; 6; 8; 10 мл 5 мг/л раствора фосфат-ионов и по 8; 6; 4; 2 и 0 мл дистиллированной воды соответственно, добавляют по 5 мл смешанного раствора фотометрических реагентов. Нагревают колбы с растворами на кипящей водяной бане в течение 5 мин. Растворы охлаждают, доводят объемы растворов в колбах до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают их содержимое.

Растворы фотометрируют относительно дистиллированной воды при выбранной λ_{\max} на спектрофотометре в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм. Строят

градуировочный график (зависимость оптической плотности фотометрируемого раствора от концентрации в нем аналита).

3.3. Анализ пробы

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают от 5 до 10 мл анализируемой пробы, добавляют такое количество дистиллированной воды, чтобы объем раствора составлял 10 мл, добавляют 5 мл смешанного раствора фотометрических реагентов. Нагревают колбу с раствором на кипящей водяной бане в течение 5 мин. Раствор охлаждают, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают ее содержимое.

Полученный раствор фотометрируют относительно дистиллированной воды при выбранной λ_{\max} на спектрофотометре в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм. По градуировочному графику определяют массовую концентрацию фосфат-ионов в пробе.

Проводят два параллельных измерения. После выполнения двух определений массовой концентрации фосфат-ионов вычисляют размах результатов r (%) по формуле:

$$r = \frac{(X_{\max} - X_{\min})}{X_{\min}} \cdot 100\%,$$

где X_{\max} – наибольший результат определения концентрации фосфат-ионов, мг/л;

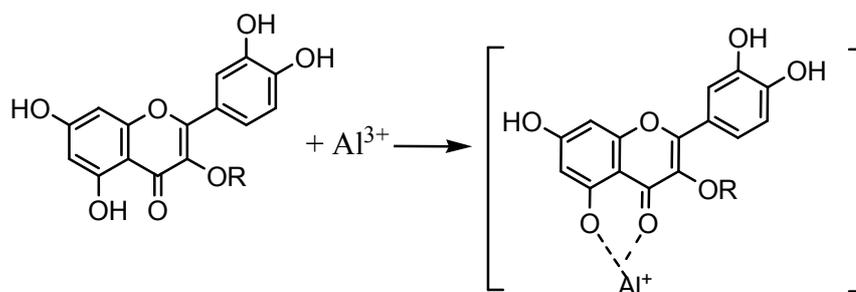
X_{\min} – наименьший результат определения концентрации фосфат-ионов, мг/л.

Если r больше значения критического диапазона $CR_{0,95}(2) = 2\%$, повторно проводят два измерения, вычисляют r , которое не должно превышать $CR_{0,95}$.

Лабораторная работа № 2. Спектрофотометрическое определение флавоноидов в растительном сырье

1. Предпосылки выбора условий выполнения анализа

Для спектрофотометрического определения флавоноидов в растительном сырье используют реакцию образования их комплексов с ионами алюминия (III):



Для увеличения скорости образования комплексов в реакционную смесь вводят ПАВ – цетилпиридиния хлорид (ЦПХ), в этом случае для образования аналитической

формы достаточно 10 мин. При проведении реакции в мицеллярной среде ЦПХ наблюдается гиперхромный эффект ($\epsilon_{415} = 1,9 \cdot 10^4 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$).

Расчет содержания флавоноидов в анализируемом растительном сырье общепринято осуществлять в пересчете на рутин, так как максимумы в спектрах поглощения аналитических форм различных флавоноидов совпадают с максимумом поглощения аналитической формы рутина.

2. Подготовка к проведению анализа

2.1 Приготовление 0,1 г/л раствора цетилпиридиния хлорида (ЦПХ)

0,01 г ЦПХ растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

2.2. Приготовление 10 г/л раствора хлорида алюминия

0,25 г хлорида алюминия растворяют в 25 мл 70% этилового спирта.

2.3. Приготовление 1 г/л раствора рутина

0,025 г рутина, предварительно высушенного в течение 3 часов при 130°C , растворяют в 15 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане (температура от 50 до 60°C). После растворения содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры и разбавляют 70% этиловым спиртом до 25 мл.

3. Проведение анализа

3.1 Построение спектра поглощения раствора рутина

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,5 мл 1 г/л раствора рутина, добавляют 1 мл 10 г/л раствора хлорида алюминия и 1 мл 0,1 г/л раствора ЦПХ. Для приготовления раствора сравнения в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл 1 г/л раствора рутина. Объем растворов в обеих колбах доводят до метки дистиллированной водой. Через 10 мин раствор фотометрируют относительно раствора сравнения в диапазоне длин волн от 350 до 500 нм на спектрофотометре с интервалом длин волн 10 нм в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм. Строят спектр поглощения раствора аналитической формы. Определяют λ_{max} для проведения последующих измерений оптической плотности анализируемого и стандартных растворов. Рассчитывают молярный коэффициент светопоглощения ϵ при λ_{max} :

$$\epsilon = \frac{A}{Cl},$$

где A – оптическая плотность фотометрируемого раствора; C – концентрация рутина в фотометрируемом растворе, моль/л; l – длина оптического пути, см.

3.2. Построение градуировочного графика

В 6 мерных колб вместимостью 25 мл помещают 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 мл 1 г/л раствора рутина, добавляют 1 мл 10 г/л раствора хлорида алюминия и 1 мл 0,1 г/л

раствора ЦПХ. Для приготовления раствора сравнения в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл 1 г/л раствора рутина. Объем растворов в колбах доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают их содержимое.

Через 10 мин растворы фотометрируют относительно раствора сравнения при выбранной λ_{\max} на спектрофотометре в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм. Строят градуировочный график (зависимость оптической плотности фотометрируемого раствора от концентрации в нем аналита).

3.3. Анализ пробы

0,1 г воздушно-сухой пробы сырья, измельченной и просеянной через сито с размером частиц 1–3 мм, помещают в круглодонную колбу емкостью 100 мл и добавляют 25 мл 70% этилового спирта. Извлечение осуществляют при нагревании с обратным холодильником на водяной бане в течение 30 мин. Полученный раствор охлаждают и отфильтровывают через бумажный фильтр (красная лента). Объем фильтрата доводят до метки 70% этиловым спиртом в мерной колбе вместимостью 25 мл.

1 мл приготовленного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 1 мл 10 г/л раствора хлорида алюминия, 1 мл 0,1 г/л раствора ЦПХ и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Через 10 мин измеряют оптическую плотность при выбранной λ_{\max} на спектрофотометре в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный разбавлением фильтрата в 25 раз дистиллированной водой.

Содержание флавоноидов (в массовых %) определяют по градуировочному графику, построенному по стандартным растворам рутина.

Проводят два параллельных измерения. После выполнения двух определений массовой доли флавоноидов вычисляют размах результатов r (%) по формуле:

$$r = \frac{(X_{\max} - X_{\min})}{X_{\min}} \cdot 100\%,$$

где X_{\max} – наибольший результат определения флавоноидов, %;

X_{\min} – наименьший результат определения флавоноидов, %.

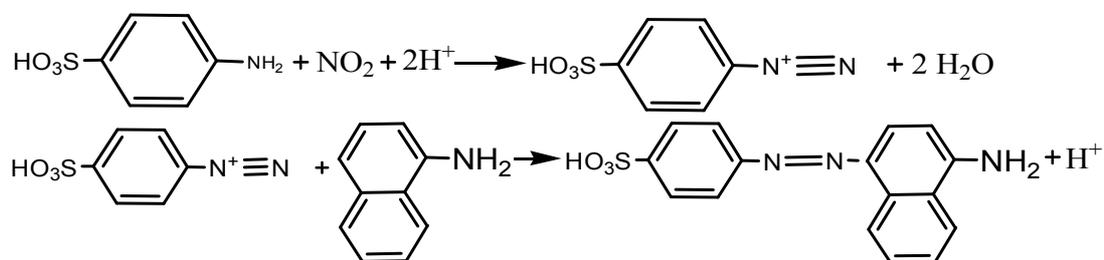
Если r больше значения критического диапазона $CR_{0,95}(2) = 2\%$, повторно проводят два измерения, вычисляют r , которое не должно превышать $CR_{0,95}$.

Лабораторная работа № 3. Спектрофотометрическое определение нитрат-ионов в минеральных удобрениях

1. Предпосылки выбора условий выполнения анализа

Нитрат-ионы чаще всего спектрофотометрически определяют по реакции Грисса или одной из ее модификаций после их восстановления до нитрит-ионов кадмием, гидразином или хлоридом титана.

В основе метода Грисса лежат реакции между нитрит-ионом, сульфаниловой кислотой и α -нафтиламином с образованием азокрасителя:



Молярный коэффициент поглощения продукта реакции при $\lambda_{\text{max}} = 520$ нм составляет $\varepsilon = 4,0 \cdot 10^4$ л·моль⁻¹·см⁻¹. Раствор, в котором проводится определение нитрит-ионов, не должен содержать окислителей, восстановителей и окрашенных веществ. Должны отсутствовать также мочевина и алифатические амины, поскольку они могут взаимодействовать с нитрит-ионами с выделением свободного азота. Должны отсутствовать также ионы Cu(II), которые катализируют разложение катиона диазония и вызывают, таким образом, занижение результатов. α -Нафтиламин является канцерогеном.

Предложено использовать вместо сульфаниловой кислоты и α -нафтиламина сульфаниламид и N-нафтилендиамин дигидрохлорид соответственно. Замена α -нафтиламина на N-нафтилендиамина дигидрохлорид приводит к существенному увеличению чувствительности метода.

2. Подготовка к проведению анализа

2.1 Приготовление буферного раствора

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 г натрия пирофосфорнокислого и 0,8 г гидроксида натрия, доводят объём раствора в колбе до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2.2 Приготовление 0,2 г/л раствора сульфата меди

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,006 г 5-водного сульфата меди, доводят объём раствора в колбе до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2.3 Приготовление раствора восстановителя

В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,275 г сернокислого гидразина, 3 мл 0,2 г/л раствора сульфата меди, доводят объём раствора в колбе до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2.4 Приготовление раствора фотометрического реагента

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,5 мл фосфорной кислоты, 0,12 г сульфаниламида, 0,025 г N-нафтилендиамина дигидрохлорида, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2.5. Приготовление 1 г/л раствора нитрат-ионов

0,137 г нитрата натрия растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 100 мл.

2.6. Приготовление 4 М раствора соляной кислоты

30 мл концентрированной соляной кислоты смешивают с 60 мл дистиллированной воды.

2.7. Приготовление 1 М раствора гидроксида натрия

4 г гидроксида натрия растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

3. Проведение анализа

3.1. Построение градуировочного графика

В пять мерных колб вместимостью 25 мл помещают 0; 0,5; 2; 4 и 6 мл 10 мг/л раствора нитрат-ионов и 6; 5,5; 4; 2 и 0 мл дистиллированной воды соответственно, добавляют 6 мл буферного раствора, 3 мл раствора восстановителя и тщательно перемешивают.

Колбы с растворами помещают в водяную баню (40 °С) и выдерживают в течение 5 мин. Затем добавляют 1,5 мл раствора фотометрического реагента, перемешивают и добавляют по 5 мл дистиллированной воды. Колбы с растворами повторно помещают в водяную баню (40 °С) и выдерживают в течение 5 мин.

Растворы в колбах охлаждают, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Растворы фотометрируют относительно холостой пробы при 540 нм на спектрофотометре в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм. Строят градуировочный график (зависимость оптической плотности фотометрируемого раствора от концентрации в нем аналита).

3.2. Анализ пробы

От 0,25 г до 1 г измельченной пробы помещают в стакан, добавляют 10 мл 4 М раствора соляной кислоты, кипятят до полного растворения пробы, нейтрализуют 1 М раствором гидроксида натрия, изменение кислотности контролируют с помощью индикаторной бумаги. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

1 мл полученного раствора переносят в колбу на 100 мл, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

В две мерные колбы вместимостью 25 мл помещают от 1 до 6 мл анализируемого раствора и такое количество дистиллированной воды, чтобы объем раствора составлял 6 мл, добавляют 6 мл буферного раствора, 3 мл раствора восстановителя и тщательно перемешивают.

Колбы с растворами помещают в водяную баню (40 °С) и выдерживают в течение 5 мин. Затем добавляют 1,5 мл раствора фотометрического реагента, перемешивают и добавляют по 5 мл дистиллированной воды. Колбы с растворами повторно помещают в водяную баню (40 °С) и выдерживают в течение 5 мин.

Растворы в колбах охлаждают, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Растворы фотометрируют относительно холостой пробы при 540 нм на спектрофотометре в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Содержание нитрат-ионов (в массовых %) определяют по градуировочному графику, построенному по стандартным растворам нитрат-ионов.

Проводят два параллельных измерения. После выполнения двух определений массовой доли нитрат-ионов вычисляют размах результатов r (%) по формуле:

$$r = \frac{(X_{\max} - X_{\min})}{X_{\min}} \cdot 100\%,$$

где X_{\max} – наибольший результат определения нитратов, %;

X_{\min} – наименьший результат определения нитратов, %.

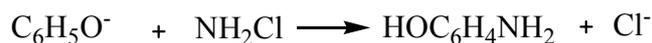
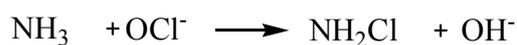
Если r больше значения критического диапазона $CR_{0,95}(2) = 2\%$, повторно проводят два измерения, вычисляют r , которое не должно превышать $CR_{0,95}$.

Лабораторная работа № 4. Спектрофотометрическое определение ионов аммония в минеральных удобрениях

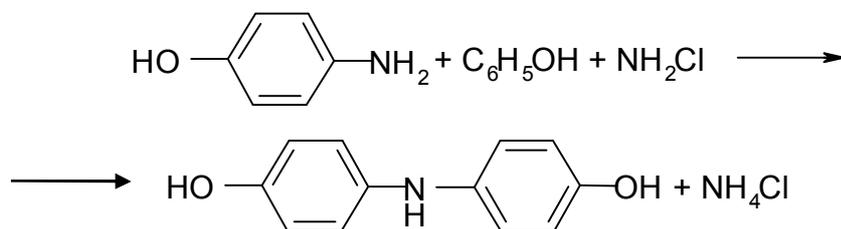
1. Предпосылки выбора условий выполнения анализа

Для спектрофотометрического определения ионов аммония наиболее часто используют метод Бертло, который основан на реакции аммиака с фенолом и гипохлоритом с образованием индофенола, имеющего голубую окраску в щелочной среде. Реакция Бертло протекает в три стадии:

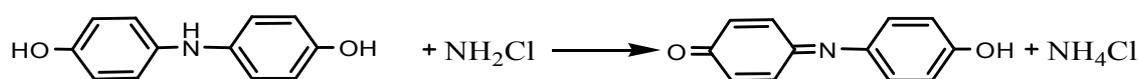
1) образование *n*-аминофенола при действии гипохлорита на аммиак в присутствии избытка фенола:



2) образование хинонхлорамина при реакции п-аминофенола с избытком фенола:



3) образование индофенола:



Спектрофотометрические методики, основанные на реакции Бергло, имеют один общий недостаток – использование высокотоксичных реагентов. Этот недостаток преодолевается заменой токсичного фенола салицилатом натрия.

2. Подготовка к проведению анализа

2.1. Приготовление смешанного раствора салицилата натрия и нитропруссид натрия

0,18 г салицилата натрия и 0,025 г нитропруссид натрия растворяют в 15 мл деионизованной воды в мерной колбе вместимостью 25 мл, добавляют 2,5 мл 0,5 М раствора NaOH, доводят объем раствора до метки деионизованной водой и тщательно перемешивают.

2.2. Приготовление 0,05 М раствора гипохлорита натрия

1 мл 0,15 М раствора гипохлорита натрия смешивают с 2 мл деионизованной воды.

2.3. Приготовление 1 г/л раствора ионов аммония

0,3 г NH₄Cl взвешивают в стаканчике, навеску количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, промывая стаканчик несколькими порциями деионизованной воды, доводят объем раствора до метки деионизованной водой и тщательно перемешивают.

2.4. Приготовление 4 М раствора соляной кислоты

30 мл концентрированной соляной кислоты смешивают с 60 мл дистиллированной воды.

2.5. Приготовление 1 М раствора гидроксида натрия

4 г гидроксида натрия растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

3. Проведение анализа

3.1. Построение градуировочного графика

В шесть мерных колб вместимостью 25 мл помещают 0; 1; 2, 3, 4 и 5 мл 5 мг/л раствора ионов аммония и 5; 4; 3; 2, 1 и 0 мл деионизованной воды соответственно, добавляют по 2 мл смешанного раствора салицилата натрия и нитропруссиды натрия, 0,1 мл 0,05 М раствора гипохлорита натрия. Полученные растворы термостатируют на водяной бане при температуре 40 °С в течение 5 мин. После этого растворы охлаждают до комнатной температуры, доводят в колбе до метки деионизованной водой и фотометрируют при 705 нм на спектрофотометре в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм относительно раствора сравнения. Строят градуировочный график (зависимость оптической плотности фотометрируемого раствора от концентрации в нем аналита).

3.2. Анализ пробы

1 г измельченной пробы помещают в стакан, добавляют 10 мл 4 М раствора соляной кислоты, кипятят до полного растворения пробы, нейтрализуют 1 М раствором гидроксида натрия, изменение кислотности контролируют с помощью индикаторной бумаги. Полученный раствор количественно переносят в колбу вместимостью 100 мл, доводят до метки деионизованной водой и перемешивают.

1 мл полученного раствора переносят в колбу вместимостью 100 мл, доводят до метки деионизованной водой и перемешивают.

В две мерные колбы вместимостью 25 мл помещают от 1 до 5 мл анализируемого раствора и такое количество деионизованной воды, чтобы объем раствора составлял 5 мл, добавляют 2 мл смешанного раствора салицилата натрия и нитропруссиды натрия, 0,1 мл 0,05 М раствора гипохлорита натрия. Полученные растворы термостатируют на водяной бане при температуре 40 °С в течение 5 мин. После этого растворы охлаждают до комнатной температуры, доводят до метки деионизованной водой и перемешивают. Полученные растворы фотометрируют при 705 нм на спектрофотометре в стеклянной кювете с длиной оптического пути 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный при смешении 5 мл деионизованной воды с фотометрическими

реагентами. Содержание ионов аммония (в массовых %) определяют по градуировочному графику, построенному по стандартным растворам ионов аммония.

Проводят два параллельных измерения. После выполнения двух определений массовой доли ионов аммония вычисляют размах результатов r (%) по формуле:

$$r = \frac{(X_{\max} - X_{\min})}{X_{\min}} \cdot 100\%,$$

где X_{\max} – наибольший результат определения ионов аммония, %;

X_{\min} – наименьший результат определения ионов аммония, %.

Если r больше значения критического диапазона $CR_{0,95}(2) = 2\%$, повторно проводят два измерения, вычисляют r , которое не должно превышать $CR_{0,95}$.

Лабораторная работа № 5. Экстракционно-фотометрическое определение анионных поверхностно-активных веществ в водных средах

1. Предпосылки выбора условий выполнения анализа

Для эффективного экстракционного выделения аналитов в химическом анализе используется жидкостная экстракция с диспергированием экстрагента, которая заключается в диспергировании экстрагента в исходной пробе воды за счет его введения в пробу в виде раствора в среде диспергатора. Диспергатором является растворитель, неограниченно смешивающийся как с экстрагентом, так и с водой. Обычно в качестве диспергатора используют полярный растворитель (метанол, этанол, ацетон и др.).

Образование эмульсии экстрагента в фазе анализируемого раствора с субмикронными размерами частиц экстрагента приводит к резкому увеличению поверхности массообмена, что обеспечивает резкое установление равновесия в системе.

К диспергатору и экстрагенту предъявляют ряд требований. Во-первых, плотность экстрагента должна максимально отличаться от плотности воды для обеспечения последующей агрегации частиц экстрагента в водной фазе центрифугированием. Во-вторых, экстрагент должен быть слабо растворим в воде и обеспечивать высокие значения коэффициента распределения аналита. В качестве экстрагентов обычно используют растворители, имеющие большую плотность, чем вода (хлороформ, четыреххлористый углерод, хлорбензол, дисульфид углерода и другие).

Благодаря отмеченному преимуществу, по сравнению с классической жидкостной экстракцией в условиях непосредственного контакта всего объема экстрагента и исходной водной фазы, предложенная схема осуществления экстракционного процесса позволяет наряду с сокращением времени установления равновесия минимизировать количество

экстрагента, что делает методики с применением жидкостной экстракции с диспергированием экстрагента экологически более безопасными и экспрессными.

Для фотометрического определения анионных поверхностно-активных веществ (АПАВ) в воде, как правило, применяется жидкостная экстракция их ион-парных ассоциатов с органическими красителями с последующим их детектированием в экстракте. В качестве реагентов, способных к образованию экстрагируемых ассоциатов с АПАВ, чаще всего применяются основные красители: метиленовый голубой, азур-1, этиловый фиолетовый и др. Для экстракционного выделения АПАВ в форме ассоциатов с азур-1 с диспергированием экстрагента используется смесь хлороформ-ацетон, в которой хлороформ является экстрагентом, а ацетон – диспергатором.

2. Подготовка к проведению анализа

2.1. Приготовление 0,5 г/л раствора додецилсульфата натрия

0,05 г додецилсульфата натрия растворяют в 100 мл дистиллированной воды. Раствор устойчив в течение одной недели.

2.2. Приготовление 0,1 г/л раствора азура-1

0,01 г азура-1 растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

2.3. Приготовление 0,5 М раствора лимонной кислоты

2,4 г лимонной кислоты растворяют в 25 мл дистиллированной воды

2.4. Приготовление 0,2 М раствора гидрофосфата натрия

1,8 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 25 мл дистиллированной воды.

2.5. Приготовление цитратного буферного раствора (pH 5)

Смешивают 50 мл 0,5 М раствора лимонной кислоты с 50 мл 0,2 М раствора гидрофосфата натрия.

2.6. Приготовление смеси хлороформ–ацетон (2:1)

Смешивают 10 мл хлороформа с 5 мл ацетона.

3. Проведение анализа

3.1. Построение градуировочного графика

В пять мерных колб вместимостью 25 мл помещают 1, 3, 5, 7, 10 мл 50 мг/л раствора додецилсульфата натрия, объем в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

В центрифужную пробирку помещают 5 мл приготовленного стандартного раствора додецилсульфата натрия, 1 мл 0,1 г/л раствора азура-1 и 1 мл цитратного буферного раствора. После этого с помощью шприца в пробирку быстро инжeksiруют 1,5 мл смеси хлороформ–ацетон (2:1). Пробирку помещают в центрифугу и проводят центрифугирование в течение 3 мин со скоростью 5000 об/мин.

После расслоения фаз органическую фазу аккуратно отбираю шприцом и переносят в кювету с длиной оптического пути 1 мм и измеряют оптическую плотность экстракта при длине волны 625 нм относительно холостой пробы на ФЭК.

Строят градуировочную зависимость оптической плотности экстракта от концентрации аналита в стандартном растворе.

3.2. Анализ пробы

В центрифужную пробирку помещают 5 мл пробы. Добавляют 1 мл 0,1 г/л раствора азур-1 и 1 мл цитратного буферного раствора. Далее с помощью шприца в пробирку быстро инжeksiруют 1,5 мл смеси хлороформ–ацетон (2:1). Пробирку помещают в центрифугу и проводят центрифугирование в течение 3 мин со скоростью 5000 об/мин.

После расслоения фаз органическую фазу аккуратно отбирают шприцом и переносят в кювету с длиной оптического пути 1 мм. Измеряют оптическую плотность экстракта при длине волны 625 нм относительно холостой пробы на ФЭК.

По градуировочной зависимости определяют массовую концентрацию АПАВ (мг/л) в пробе.

Проводят два параллельных измерения. После выполнения двух определений массовой концентрации АПАВ вычисляют размах результатов r (%) по формуле:

$$r = \frac{(X_{\max} - X_{\min})}{X_{\min}} \cdot 100\%,$$

где X_{\max} – наибольший результат определения АПАВ, мг/л;

X_{\min} – наименьший результат определения АПАВ, мг/л.

Если r больше значения критического диапазона $CR_{0,95}(2) = 2\%$, повторно проводят два измерения, вычисляют r , которое не должно превышать $CR_{0,95}$.

Лабораторная работа № 6. Дифференциально-фотометрическое определение ионов меди (II) в водных средах

1. Предпосылки выбора условий выполнения анализа

Для повышения воспроизводимости результатов фотометрического анализа при высоких концентрациях аналита и при низкой контрастности используемой фотометрической реакции применяется дифференциальная схема фотометрического анализа. Её сущность состоит в том, что оптические плотности анализируемого и стандартного растворов измеряются по отношению к раствору аналита с концентрацией, близкой к его концентрации в анализируемом растворе, а не по отношению к чистому растворителю или «холостому» раствору.

Среди многочисленных органических реагентов, образующих окрашенные соединения с ионами Cu(II), для фотометрического определения последних в аналитической практике нашли применение методики их фотометрического определения по реакции образования окрашенного комплекса с 4-(2-пиридилазо) резорцином (ПАР).

Ионы Cu(II) в зависимости от pH раствора образуют с ПАР различные по составу комплексы: при $\text{pH} < 3$ наблюдается образование комплекса $\text{Cu}:\text{ПАР} = 1:1$, при $\text{pH} > 6$ – $\text{Cu}:\text{ПАР} = 1:2$. Комплексы Cu(II) с ПАР устойчивы в течение нескольких часов.

Определению Cu(II) с ПАР могут мешать ионы свинца, цинка, кадмия, кобальта, никеля, ртути, марганца и др. Для устранения мешающего влияния элементов, реагирующих с ПАР, определение проводят в строго ограниченном диапазоне pH от 1,1 до 1,3, где влияние примесей минимально.

2. Подготовка к проведению анализа

2.1. Приготовление 5 г/л раствора ионов Cu(II)

1,25 г просушенного в течение 2 ч при температуре 120 °С сульфата меди растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

2.2. Приготовление 0,5 г/л раствора ПАР

0,05 г ПАР растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

2.3. Приготовление 0,05 М раствора серной кислоты

Для приготовления 0,05 М раствора серной кислоты растворяют 3 мл концентрированной серной кислоты в 1 л дистиллированной воды.

3. Проведение анализа

3.1. Выбор оптимальной концентрации фотометрического реагента.

В пять мерных колб вместимостью 25 мл помещают 5 мл 25 мг/л раствора ионов Cu(II), добавляют 5 мл 0,05 М раствора серной кислоты и 1, 3, 5, 7 и 10 мл 0,5 г/л раствора ПАР, доводят объем растворов до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Для приготовления холостых проб в пять мерных колб вместимостью 25 мл помещают 5 мл 0,05 М раствора серной кислоты и 1, 3, 5, 7 и 10 мл 0,5 г/л раствора ПАР, доводят объем растворов до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Проводят фотометрирование приготовленных растворов комплексов ионов Cu(II) с ПАР относительно соответствующих холостых проб.

Строят зависимость оптической плотности от концентрации ПАР. В качестве оптимальной концентрации ПАР выбирают такую, которая при минимальной концентрации реагента обеспечивает максимальное значение оптической плотности.

3.2. Построение градуировочного графика

В ряд мерных колб вместимостью 25 мл помещают 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 мл 25 мг/л раствора ионов Cu(II), добавляют 5 мл 0,05 М раствора серной кислоты и выбранный оптимальный объем 0,5 г/л раствора ПАР, доводят объем растворов до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Фотометрируют приготовленные растворы на ФЭК при длине волны 540 нм. В качестве раствора сравнения используют первый из приготовленных градуировочных растворов.

Строят градуировочную зависимость оптической плотности от концентрации аналита в фотометрируемом растворе по четырём оставшимся растворам.

3.2. Анализ пробы

В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают от 5 до 10 мл пробы, добавляют 5 мл 0,05 М раствора серной кислоты, 5 мл 0,5 г/л раствора ПАР, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Измеряют оптическую плотность приготовленного раствора на ФЭК при длине волны 540 нм в кювете с выбранной длиной оптического пути относительно первого градуировочного раствора.

По градуировочной зависимости определяют массовую концентрацию ионов Cu(II) (мг/л) в пробе.

Проводят два параллельных измерения. После выполнения двух определений массовой концентрации ионов меди (II) вычисляют размах результатов r (%) по формуле:

$$r = \frac{(X_{\max} - X_{\min})}{X_{\min}} \cdot 100\% ,$$

где X_{\max} – наибольший результат определения ионов Cu(II), мг/л;

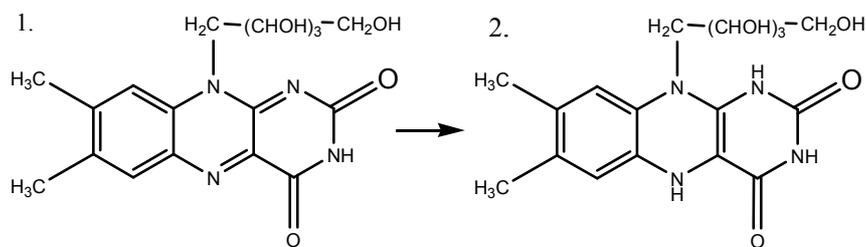
X_{\min} – наименьший результат определения ионов Cu(II), мг/л.

Если r больше значения критического диапазона $CR_{0,95}(2) = 2\%$, повторно проводят два измерения, вычисляют r , которое не должно превышать $CR_{0,95}$.

Лабораторная работа № 7. Флуориметрическое определение рибофлавина в витаминно-минеральных комплексах

1. Предпосылки выбора условий выполнения анализа

Для флуориметрического определения рибофлавина (витамина B₂) используют его собственную флуоресценцию при pH 6–8 или уменьшение его флуоресценции в присутствии восстановителя, например, тиосульфата натрия. При восстановлении рибофлавина происходит образование нелюминесцирующего лейкофлавина:



1. – Рибофлавин; 2. – Лейкофлавин.

При определении рибофлавина необходимо поддерживать кислую среду, т.к. в щелочной среде происходит его быстрое разрушение с образованием люмифлавина. Приготовленные растворы рибофлавина следует хранить в защищенном от света месте.

2. Подготовка к проведению анализа

2.1. Приготовление 5% раствора уксусной кислоты

В колбу вместимостью 500 мл помещают 20 мл ледяной уксусной кислоты, 380 мл дистиллированной воды и тщательно перемешивают.

2.2. Приготовление 0,1 М раствора соляной кислоты

2 мл концентрированной соляной кислоты помещают в колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2.3. Приготовление 0,05 г/л раствора рибофлавина

0,5 мл 10 г/л раствора рибофлавина-мононуклеотида (раствор для инъекций) помещают в колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки 5% раствором уксусной кислоты и тщательно перемешивают.

2.4. Приготовление 1 М раствора гидроксида натрия

1 г гидроксида натрия растворяют в 25 мл дистиллированной воды.

3. Проведение анализа

3.1. Построение спектров поглощения и флуоресценции

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10 мл 2,5 мг/л раствора рибофлавина, доводят объем раствора до метки 5% раствором уксусной кислоты и тщательно перемешивают. На спектрофлуориметре регистрируют спектры поглощения и флуоресценции для приготовленного раствора в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм. Определяют оптимальные длины волн возбуждения и регистрации свечения.

3.2. Построение градуировочного графика

В шесть мерных колб вместимостью 25 мл помещают 0, 2, 4, 6, 8 и 10 мл 2,5 мг/л раствора рибофлавина, доводят объемы растворов до метки 5% раствором уксусной кислоты и тщательно перемешивают.

Последовательно проводят измерение интенсивности флуоресценции для каждого из приготовленных растворов при выбранных длинах волн возбуждения и регистрации свечения в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм, начиная с раствора, не содержащего рибофлавин.

Строят градуировочную зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации аналита в растворе.

3.3. Анализ пробы

Взвешивают таблетку витаминно-минерального комплекса и измельчают в ступке. 1 г измельченной пробы помещают в стаканчик, добавляют 70 мл 0,1 М раствора соляной кислоты, прикрывают часовым стеклом и кипятят в течение 40 мин. Полученный раствор нейтрализуют 1 М раствором гидроксида натрия, изменение кислотности контролируют с помощью индикаторной бумаги. Раствор количественно переносят в колбу вместимостью 100 мл, промывая стакан несколькими порциями 5% раствора уксусной кислоты. Доводят объем раствора до метки 5% раствором уксусной кислоты и тщательно перемешивают. При необходимости раствор фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента».

В мерную колбу вместимостью 25 мл отбирают от 0,5 до 2 мл анализируемого раствора пробы, доводят объем раствора до метки 5% раствором уксусной кислоты и тщательно перемешивают.

Проводят два параллельных измерения интенсивности флуоресценции раствора пробы при выбранных длинах волн возбуждения и регистрации свечения в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм.

После выполнения двух параллельных определений содержания рибофлавина (мг) вычисляют размах результатов r (%) по формуле:

$$r = \frac{(X_{\max} - X_{\min})}{X_{\min}} \cdot 100\%,$$

где X_{\max} – наибольший результат определения рибофлавина, мг;

X_{\min} – наименьший результат определения рибофлавина, мг.

Если r больше значения критического диапазона $CR_{0,95}(2)=2\%$, повторно проводят два измерения, вычисляют r , которое не должно превышать $CR_{0,95}$.

Рекомендуемая литература

1. Аналитическая химия. Методы идентификации и определения веществ. Под ред. Москвина Л.Н. СПб.: Академия, 2008. Т. 1. 576 с.
2. Марченко З., Бальцежак М. Методы спектрофотометрии в УФ и видимой областях в неорганическом анализе. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. 712 с.
3. Мак-Махон Дж. Аналитические приборы. С-ПБ.: Профессия, 2009.
4. Кристиан Г. Аналитическая химия. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. Т. 2. 504 с.
5. Отто М. Современные методы аналитической химии. М.: Техносфера, 2008.
6. О.В. Родинков, Н.А. Бокач, А.В. Булатов. Основы метрологии физико-химических измерений и химического анализа. СПб.: ВВМ., 2010. 133 с.

Лабораторные работы выполняются на оборудовании Ресурсного образовательного центра по направлению химия.

1. Спектрофотометр однолучевой с разделением светового потока СФ-102



Спектрофотометр предназначен для измерения оптической плотности и скорости её изменения, коэффициента пропускания образца, снятия спектров пропускания (поглощения) компонентов образца.

Технические характеристики:

Автоматический держатель на 8 кювет;

Спектральный диапазон измерений: 200–1100 нм;

Воспроизводимость установки длины волны не более 0,2 нм;

Разрешающая способность 3 нм;

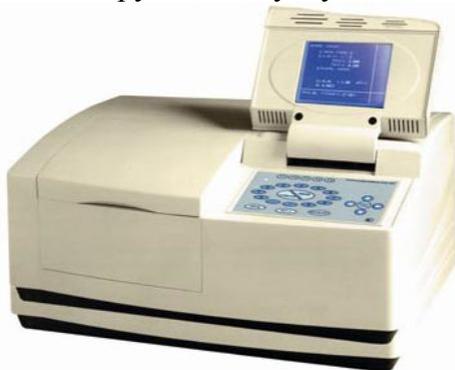
Источники света: дейтериевая и галогенная лампы на 12 В;

Фотометрический диапазон измерений:

поглощения от -0,3 до 3,0

пропускания, % от 0 до 200.

2. Сканирующий двухлучевой спектрофотометр СФ-104



Спектрофотометр предназначен для измерения оптической плотности и скорости её изменения, коэффициента пропускания образца, снятия спектров пропускания (поглощения) компонентов образца.

Технические характеристики:

Автоматический держатель на 8 кювет;

Спектральный диапазон измерений: 190–1100 нм;

Воспроизводимость установки длины волны не более 0,2 нм;

Разрешающая способность 2 нм;

Источники света: дейтериевая и галогенная лампы на 12 В;

Фотометрический диапазон измерений:

поглощения от -0,3 до 3,0

пропускания, % от 0 до 200.

3. Спектрофлуориметр Shimadzu RF-5301PC



Спектрофлуориметр предназначен для регистрации спектров возбуждения и пропускания с возможностью последующей обработки спектров. Позволяет получать результаты измерений в единицах концентрации и регистрировать изменение сигнала во времени.

Технические характеристики:

Источник света – ксеноновая лампа с мощностью 150 Вт;

Монохроматор – вогнутая концентрическая голографическая решетка;

Спектральный диапазон измерения: 220–750 нм (с возможностью расширения до 900 нм);

Ширина щели переменная, 6 ступеней, от 1.5 нм до 20 нм;

Точность установки длины волны $\pm 1,5$ нм;

Скорость сканирования длин волн не менее 7 ступеней от 5500 нм/мин и ниже;

Детектор – фотоэлектронный умножитель.

4. Спектрофотометр Shimadzu UV 1240 mini



Однолучевой сканирующий портативный спектрофотометр предназначен для измерения оптической плотности и скорости её изменения, коэффициента пропускания образца, снятия спектров пропускания.

Технические характеристики:

Спектральный диапазон измерений: 190–1100 нм;

Оптическая схема – однолучевая;

Воспроизводимость установки длины волны не более 0,3 нм;

Источники света – галогеновая и дейтериевая лампы;

Монохроматор – на основе вогнутой голографической решётки, исправленной на абберацию;

Детектор – кремниевый фотодиод.

5. Фотометр КФК-3



Предназначен для измерения коэффициентов пропускания и оптической плотности растворов.

Технические характеристики:

Спектральный диапазон измерений: 325–990 нм;

Оптическая схема – однолучевая

Воспроизводимость установки длины волны не более 1 нм;

Источник света – галогеновая лампа;

Монохроматор – дифракционная решётка 1200 л/мм;

Детектор – кремниевый фотодиод;

Фотометрический диапазон измерений:

поглощения от 0,0 до 3,0

пропускания, % от 0 до 100

Форма оформления протокола

НАЗВАНИЕ РАБОТЫ

1. Принципы и химические реакции, лежащие в основе методики
2. Используемые средства измерений, материалы и оборудование
3. Спектры поглощения/флуоресценции
4. Результаты построения градуировочной зависимости

k	Концентрация аналита в стандартном растворе, мг/л	Оптическая плотность (интенсивность флуоресценции)	Коэффициент корреляции (r^2)
1			
2			
3			
n			

5. Результаты определения аналита и формулы, используемые в расчетах

N	Оптическая плотность (интенсивность флуоресценции)	Найденная концентрация аналита в пробе	Среднеарифметический результат химического анализа	Размах результатов ($r, \%$)
1				
2				

6. Метрологическая обработка результатов анализа

7. Результат определения аналита

$$(\bar{x} \pm \Delta),$$

где \bar{x} – среднеарифметический результат химического анализа; Δ – абсолютная погрешность определения аналита.

Для заметок

Для заметок

