

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ



Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УТВЕРЖДАЮ

Зав. каф. промышленной и медицинской
электроники, проф., д.т.н.

_____ Г.С. Евтушенко

КОНЦЕНТРАЦИОННАЯ КОЛОРИМЕТРИЯ

Методические указания к выполнению лабораторной работы
по дисциплине «Биофизика» для студентов, направления
200300 «Биотехническая инженерия»

Томск – 2007

УДК 577.3.

Концентрационная колориметрия: Метод. указ. к выполн. лаб. раб. по дисциплине «Биофизика» для студентов, направления 200300 «Биотехническая инженерия». – Томск: Изд. ТПУ, 2007. – 9 с.

Составители: А.А. Аристов

Рецензент доцент, к.м.н. К.С. Бразовский

Методические указания рассмотрены и рекомендованы
к изданию методическим семинаром кафедры
промышленной и медицинской электроники 23 декабря 2007 г.

Зав. кафедрой
профессор, д.т.н.

_____ Г.С. Евтушенко

Лабораторная работа

КОНЦЕНТРАЦИОННАЯ КОЛОРИМЕТРИЯ

Цель работы:

изучение метода фотометрического определения концентрации окрашенных растворов.

Задачи:

ознакомиться с теоретическими основами изучаемого метода, устройством, принципом и порядком работы с используемым измерительным прибором, провести необходимые измерения для определения концентрации неизвестного раствора.

Приборы и принадлежности:

фотометр КФО, кюветы, мерный цилиндр, весы, разновесы, хим. стаканы, KMnO_4 (крист), вода.

I. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МЕТОДА

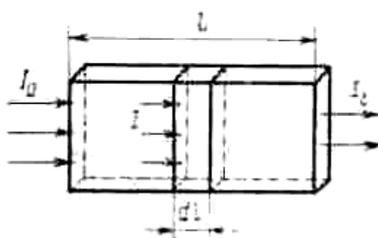


Рис. 1

При пропускании света через слой вещества его интенсивность уменьшается. Уменьшение интенсивности является следствием взаимодействия световой волны с электронами вещества, в результате которого часть световой энергии передается электронам. Это явление получило название *поглощения света*. Установим закон поглощения света веществом. Пусть через однородное вещество проходит пучок

параллельных монохроматических лучей длиной волны λ . Выделим элементарный участок слоя вещества толщиной dl (рис.1). При прохождении света через такой участок его интенсивность I ослабляется. Изменение интенсивности dI пропорционально интенсивности падающего света и толщине слоя dl :

$$dI = -\chi_{\lambda} I dl \quad (1)$$

где χ_{λ} — монохроматический натуральный показатель поглощения, зависящий от свойств среды. Знак « $-$ » означает, что интенсивность света уменьшается.

Найдем интенсивность I_l света, прошедшего слой вещества толщиной l , если интенсивность входящего в среду света I_0 . Для этого проинтегрируем выражение (1), предварительно разделив переменные:

$$\int_{I_0}^{I_l} \frac{dI}{I} = -\alpha_\lambda \int_0^l dl$$

В результате получим

$$\ln I_l - \ln I_0 = -\chi_\lambda l,$$

откуда

$$I = I_0 \exp(-\chi_\lambda l). \quad (2)$$

Это *закон Бугера*. Он показывает, что интенсивность света уменьшается в геометрической прогрессии, если толщина слоя возрастает в арифметической прогрессии. Натуральный мономатический показатель поглощения χ_λ является величиной, обратной расстоянию, на котором интенсивность света ослабляется в результате поглощения в среде в e раз.

Иногда закон Бугера записывают в виде

$$I = I_0 10^{-\chi'_\lambda l}$$

где χ'_λ — мономатический показатель поглощения.

Свет различных длин волн поглощается веществом различно, поэтому показатели поглощения χ_λ и χ'_λ зависят от длины волны.

Мономатический натуральный показатель поглощения раствора поглощающего вещества в не поглощающем растворителе пропорционален концентрации c раствора (*закон Бера*):

$$\chi_\lambda = \chi_1 c \quad (3)$$

где χ_1 — натуральный показатель поглощения, отнесенный к концентрации вещества.

Закон Бера выполняется только для разбавленных растворов. В концентрированных растворах он нарушается из-за влияния взаимодействия между близко расположенными молекулами поглощающего вещества. Подставляя выражение (3) в (2), получаем *закон Бугера — Ламберта — Бера*:

$$I_l = I_0 \exp(-\chi_\lambda c l) \text{ или } I = I_0 10^{-\chi'_\lambda c l} \quad (4)$$

Отношение $\tau = I_l/I_0$ называется *коэффициентом пропускания*. Оптическая плотность вещества равна

$$D = \lg l / \tau = \lg I_0 / I_l \quad (5)$$

Из выражений (4) и (5) получаем

$$D = \chi'_\lambda c l \quad (6)$$

Закон Бугера—Ламберта—Бера лежит в основе концентрационной колориметрии: фотометрических методов определения концентрации вещества в окрашенных растворах. В концентрационной колориметрии используются методы, связанные с той или иной формой фотометрии, т. е. изменением интенсивности света. Для этой цели используют фотоэлектроколориметры.

II. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ПРИБОРА КФО

1. Назначение

Колориметр фотоэлектрический однолучевой КФО предназначен для измерения коэффициентов пропускания прозрачных сред в видимой области спектра.

Прибор КФО может быть использован при колориметрическом анализе в лабораторном и технологическом контроле, а также при научных исследованиях в различных областях науки и народного хозяйства (биофизике, биохимии, биологии, медицине, металлургии, геологии, сельском хозяйстве и др.).

Эксплуатация прибора должна проводиться в помещении при температуре окружающей среды в пределах от 10 до 35°C при относительной влажности воздуха $65 \pm 15\%$.

2. Технические данные

2.1. Пределы измерения коэффициента пропускания, % 100—5

2.2. Приведенная погрешность измерений, % (абс) $\pm 1,5$

2.3. Случайная погрешность измерений, характеризуемая размахом, % (абс) 0,5

2.4. Дополнительная погрешность прибора при изменении температуры окружающего воздуха от +20° до +35°C и от +20° до +10°C — не более 1/2 приведенной погрешности.

2.5. Дополнительная погрешность от изменения напряжения питания на ± 22 В от номинального значения — не более 1/3 приведенной погрешности.

2.6. Спектральный диапазон работы прибора, нм 400—700.

Выделение отдельных участков спектра обеспечивается пятью стеклянными избирательными поглотителями с параметрами, приведенными в таблице 1.

2.7. Источник излучения — лампа накаливания РНб-7,5.

2.8. Приемник излучения — селеновый фотоэлемент ФЭС-Т.

2.9. Измерительный прибор — микроамперметр М907 шкала 100 мкА — 100 делений.

2.10. Прибор допускает непрерывную работу в нормальных условиях в течение 8 часов при изменении температуры в течение этого времени не более $\pm 5^\circ\text{C}$.

2.11. Питание прибора осуществляется от сети переменного тока напряжением $220 \pm 22\text{В}$, частотой $50 \pm 0,5$ Гц.

Таблица 1.

Маркировка поглотителя	Длина волны в нм, соответствующая максимуму пропускания
1	415 ± 10
2	500 ± 10
3	530 ± 10
4	600 ± 10
5	630 ± 10
6	неизбирательный

2.10. Прибор допускает непрерывную работу в нормальных условиях в течение 8 часов при изменении температуры в течение этого времени не более ± 5°С.

2.11. Питание прибора осуществляется от сети переменного тока напряжением 220±22В, частотой 50 ± 0,5 Гц.

2.12. Мощность, потребляемая прибором, не превышает 22 Вт.

2.13. Габаритные размеры, в мм, не более 235x315x300.

2.14. Масса, не более 9 кг.

3. Устройство прибора

3.1. Принцип работы

Принцип работы прибора заключается в измерении отношения двух световых потоков, полного и прошедшего через измеряемую среду, методом пропорциональных отклонений.

На фотоприемник поочередно направляются световые потоки: полный Φ_0 и пропущенный через измеряемую среду Φ .

Коэффициент пропускания τ измеряемой среды, представляющий собой отношение этих потоков, определяется в виде отношения соответствующих фототоков непосредственно по шкале микроамперметра, т. е.:

$$\tau = I/I_0 \cdot 100\%,$$

где I_0 — фототок, соответствующий полному световому потоку Φ_0 ;

I — фототок, соответствующий световому потоку Φ , прошедшему через измеряемую среду.

3.2. Оптическая схема

Оптическая схема прибора — одноканальная. Источник света 1 помещен в фокальной плоскости конденсора 3, после которого через кюветы 8 и до фотоприемника 6 идет параллельный пучок света. Для выделения отдельных участков спектра используются поглотители 2 из цветного стекла. Шторка 4

служит для перекрытия светового потока, падающего на фотоприемник. 7 — защитное стекло кюветной камеры.

Фотометрический клин 5, установленный перед фотоприемником, предназначен для выставки отсчета 100 по шкале микроамперметра. Плотность клина меняется от 0,5 до 1,7.

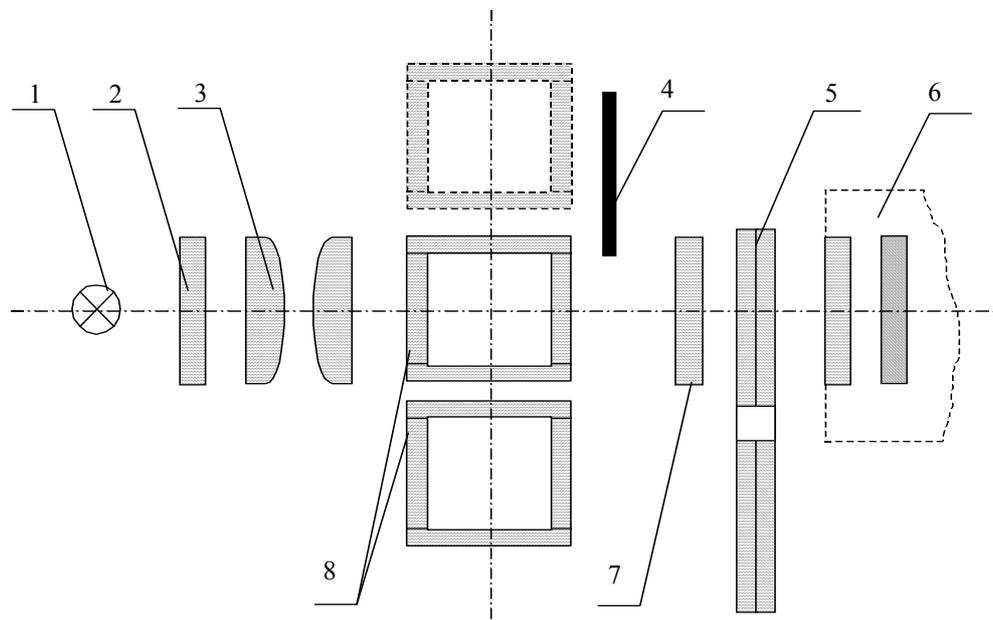


Рис. 2. Схема оптическая

3.3. Конструкция прибора

В прибор, изготовленный в виде одного блока, входят следующие основные узлы: осветитель; узел поглотителей; конденсатор; кюветная камера; держатели кювет; фотометрический клин; измерительная часть электросхемы; измерительный прибор; блок питания.

Осветитель (рис. 5)

Осветитель состоит из лампы накаливания 8, установленной в патроне 7, и держателя 9 патрона.

Конструкция держателя патрона обеспечивает перемещение лампы в 3-х взаимно перпендикулярных направлениях для ее правильной установки.

Узел поглотителей (рис. 5)

Узел поглотителей состоит из шести стеклянных поглотителей 6 в оправках, которые установлены в диске 5, вращаемом рукояткой избирательные поглотители. Положение каждого поглотителя в световом пучке фиксируется.

Цифры у выступа рукоятки «Избирательные поглотители» показывают, какого цвета поглотитель введен в световой пучок:

1 — синий,

- 2 — сине-зеленый,
- 3 — зеленый,
- 4 — оранжевый,
- 5 — красный,
- 6 — неизбирательный.

Неизбирательный поглотитель № 6 из нейтрального стекла с коэффициентом пропускания $\tau = 30\%$ позволяет проводить измерения во всем спектральном диапазоне работы прибора при том же уровне освещенности на фотоприемнике, который имеет место при работе с избирательными поглотителями.

Характеристики избирательных поглотителей приведены на рис. 3.

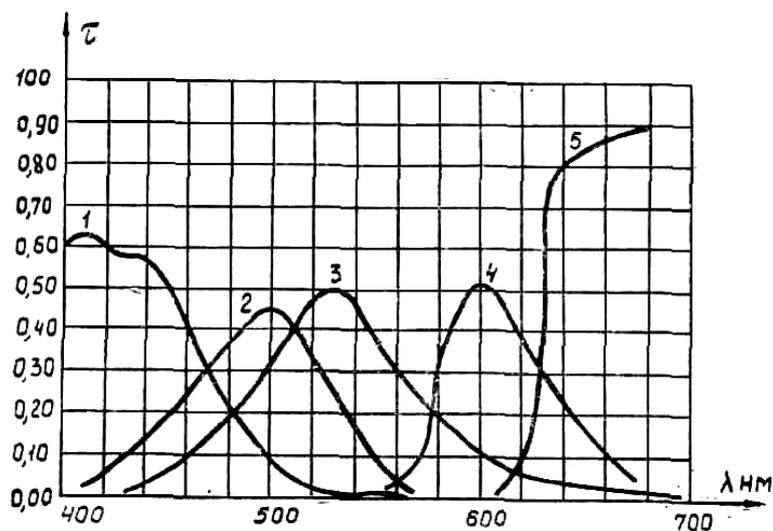


Рис. 3

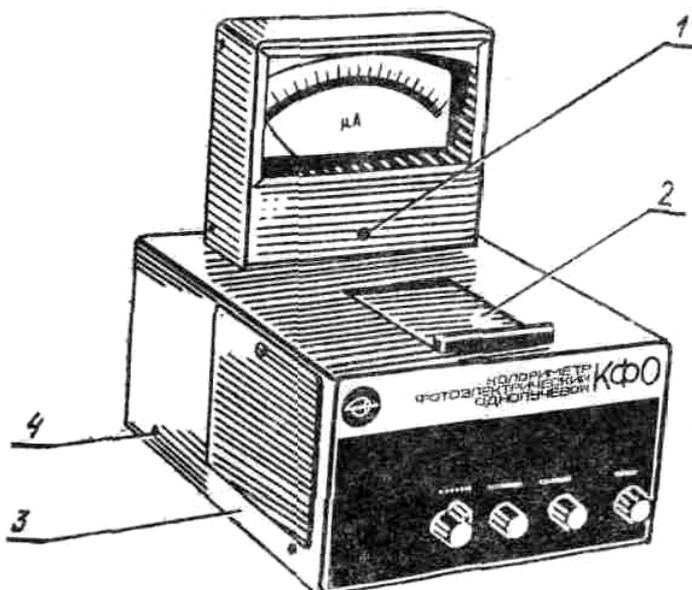


Рис. 4 Внешний вид прибора

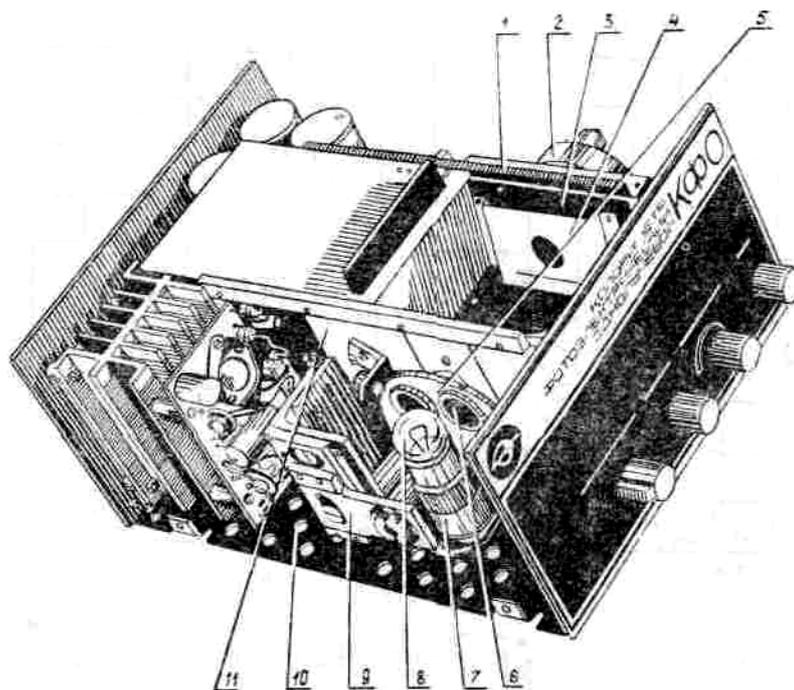


Рис. 5. Вид прибора без кожуха

Держатели кювет

В кюветодержатель устанавливают кюветы с исследуемым раствором и раствором сравнения и помещают его в кюветное отделение прибора.

Кюветодержатель устанавливают в кюветное отделение на столик так, чтобы две маленькие пружины находились с задней стороны.

Переключение кювет в световом пучке производится поворотом ручки КЮВЕТЫ до упора. При измерениях крышку 2 (рис. 4) кюветного отделения нужно закрывать до упора. При открывании крышки кюветного отделения шторка 3 (рис. 5) внутри кожуха 4 (рис. 5) закрывает окно перед фотоэлементом 2 (рис.5).

Фотометрический клин

Для выставки отсчета 100 на шкале микроамперметра применяется фотометрический круговой клин, укрепленный внутри полости 1 (рис. 5). Клин приводится во вращение рукояткой УСТАНОВКА 100. При вращении рукоятки по часовой стрелке отсчет по шкале микроамперметра увеличивается, а плотность клина уменьшается.

4. Принадлежности

4.1. Кюветы

К прибору прилагается 4 комплекта прямоугольных стеклянных кювет. Каждый комплект содержит 7 кювет. Набор кювет (14 шт.) упакован в пластмассовую коробку.

Рабочая длина кюветы, мм	50	30	20	10	5	3	1
Объем, мл	20	14	9	5	2,3	1,4	0,5

III. ИНСТРУКЦИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ

1. Введение

Прибор КФО, как и все оптические приборы, требует бережного отношения.

Прибор требуется оберегать от запыления, так как загрязненная оптика уменьшает чувствительность прибора.

При изменении температуры окружающей среды при эксплуатации ниже $+10^{\circ}\text{C}$ и выше $+35^{\circ}\text{C}$ прибор должен находиться в отключенном состоянии.

2. Общие указания

2.1. Перед началом работы необходимо осмотреть прибор и проверить отсутствие повреждений, наличие всех принадлежностей. Произвести проверку его технического состояния.

2.2. Ознакомиться с техническим описанием и инструкцией по эксплуатации. В процессе эксплуатации необходимо строго соблюдать все требования, изложенные в инструкции по эксплуатации.

2.3. Рабочие поверхности кювет должны перед каждым измерением тщательно протираться. При установке кювет в кюветодержатели нельзя касаться пальцами рабочих участков поверхностей (ниже уровня жидкости в кювете). Наличие загрязнений или капель раствора на рабочих поверхностях кюветы приводит к получению неверных результатов.

2.4. Если в процессе работы поглотитель, с которым производилось измерение, меняется на другой, то измерение рекомендуется производить не ранее чем через 1 минуту после смены поглотителя.

2.5. Для повышения точности измерений рекомендуется при градуировке и измерениях пользоваться одной и той же кюветой.

2.6. Не рекомендуется выключать прибор при непродолжительных перерывах в работе.

2.7. При работе с поглотителем № 5 рекомендуется снимать отсчеты по прибору не ранее чем через 10—15 с.

2.8. Кюветы рекомендуется закрывать крышками. При работе с дымящимися жидкостями (соляная кислота и т. д.) кюветы закрывать крышками обязательно, в противном случае на внутренних оптических деталях появляется налет, и прибор теряет чувствительность. Для снятия налета требуется разборка прибора, которая может быть произведена только специалистом. Жидкость в кюветы наливается до метки на боковой стенке кюветы.

IV. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ

1. До включения прибора в сеть установите минимальную чувствительность прибора, вращая ручку установка 100 против часовой стрелки до упора (введите в световой пучок участок клина с наибольшей плотностью).

2. Проверьте соответствие нулевого положения стрелки измерительного прибора и при необходимости выставьте ее на нуль корректором 1 (рис. 4). Нулевое положение стрелки микроамперметра необходимо проверять после каждого перемещения прибора.

3. Введите необходимый по роду измерения избирательный поглотитель.

4. Включите прибор в сеть.

5. Измерения на приборе можно начинать через 15 минут после включения прибора в сеть. В течение этого времени наступает стабильный режим работы источника излучения и блока питания.

V. ВЫПОЛНЕНИЕ РАБОТЫ

Задача: Определить неизвестную концентрацию раствора перманганата калия KMnO_4 (выдается преподавателем)

При определении концентрации вещества в растворе следует соблюдать следующую последовательность в работе:

- выбор избирательного поглотителя
- выбор кюветы;
- построение градуировочной кривой для данного вещества;
- измерение коэффициента пропускания исследуемого раствора и определение концентрации вещества в растворе.

I. Приготовить растворы перманганата калия с концентрацией растворенного вещества 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%

II. Выбор избирательного поглотителя

Наличие в приборе комплекта избирательных поглотителей позволяет подобрать такие условия для измерений, когда *погрешность в определении концентрации будет наименьшей.*

Выбор избирательного поглотителя производится следующим образом:

для двух растворов, отличающихся по концентрации на 10–15%, производят измерение коэффициента пропускания для всех избирательных поглотителей;

тот избирательный поглотитель, для которого разница в оптической плотности для этих двух концентраций имеет максимальное значение, выбирается для работы с данным раствором. Связь между коэффициентом пропускания τ и оптической плотностью D определяется формулой: $D = -\lg \tau$. Для расчетов, связанных с переходом от значений коэффициентов пропускания к оптической плотности и обратно, можно пользоваться таблицей 2.

Таблица 2.

D	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	1,000	0,977	0,955	0,933	0,912	0,891	0,871	0,851	0,832	0,813
0,1	0,794	0,776	0,759	0,741	0,724	0,708	0,692	0,676	0,661	0,646
0,2	0,631	0,617	0,603	0,589	0,575	0,562	0,549	0,537	0,525	0,513
0,3	0,501	0,490	0,479	0,468	0,457	0,447	0,437	0,427	0,417	0,407
0,4	0,398	0,389	0,380	0,371	0,363	0,355	0,347	0,339	0,331	0,324
0,5	0,316	0,309	0,302	0,295	0,288	0,282	0,275	0,269	0,263	0,257
0,6	0,251	0,245	0,240	0,234	0,229	0,224	0,219	0,214	0,209	0,204
0,7	0,199	0,195	0,191	0,186	0,182	0,178	0,174	0,170	0,166	0,162
0,8	0,158	0,155	0,151	0,148	0,145	0,141	0,138	0,135	0,132	0,129

В первом столбце таблицы даны значения оптической плотности D через 0,1, а в верхней строке помещены ее сотые доли.

На пересечении строки со столбцом приводятся соответствующие значения коэффициента пропускания. По этой таблице можно найти значения оптической плотности, отвечающие любым значениям коэффициента пропускания от 0,081 до 1.

При отыскании значений оптической плотности, соответствующих значениям коэффициентов пропускания меньшим 0,081, следует сначала увеличить данный коэффициент пропускания в 10 раз, затем найти значение оптической плотности, соответствующее полученному коэффициенту пропускания, и к этому значению оптической плотности добавить единицу.

Измерение коэффициента пропускания раствора

а) Установите при закрытой шторке (открытой крышке кюветного отделения) рукояткой установка нуля 0 по шкале микроамперметра.

б) Закрепите в одном гнезде кюветодержателя кювету с растворителем, во втором - кювету с измеряемым образцом. Установите кюветодержатель в кюветное отделение. С помощью ручки КЮВЕТЫ поместите в световой пучок образец с растворителем. Закройте крышку кюветного отделения и с помощью ручки «Установка 100» выставьте отсчет 100 по шкале измерительного прибора.

в) Поместите в световой пучок кювету с раствором и снимите отсчет N по шкале измерительного прибора. Отсчет N соответствует коэффициенту пропускания измеряемого образца. Для повышения точности измерений рекомендуется производить по 3 измерения и вычислять среднее арифметическое результатов трех измерений.

Примечание. Пункт Б («Установка 100») выполнять для каждого нового светофильтра.

Результаты измерений по выбору избирательного поглотителя занести в таблицу:

λ , нм	D_1	D_2	D_2-D_1
415 ± 10			
500 ± 10			
530 ± 10			
600 ± 10			
630 ± 10			

Где D_1 и D_2 оптические плотности растворов с концентрациями KMnO_4 0,1% и 0,2% соответственно

III. Построение градуировочной кривой

Используя приготовленные растворы KMnO_4 , измерить их коэффициент пропускания и определить оптические плотности. Результаты занести в таблицу:

c , %	D_1	D_2	D_3	(D)

По полученным данным построить градуировочную кривую, откладывая по горизонтальной оси известные концентрации, а по вертикальной — соответствующие им значения оптической плотности.

IV. Измерение коэффициента пропускания исследуемого раствора и определение концентрации вещества в растворе.

Преподавателем предлагается раствор, концентрацию которого нужно определить

Неизвестную концентрацию вещества в исследуемых растворах определяют по градуировочной кривой.

Для этого раствор наливают в ту же кювету, для которой построена градуировочная кривая и, включив тот же поглотитель, измеряют коэффициент пропускания, определяют оптическую плотность раствора. Затем по градуировочной кривой находят концентрацию, соответствующую измеренному значению оптической плотности. Часто в работе бывает удобнее пользоваться градуировочными таблицами, которые составляются по данным градуировочной кривой.

Вопросы и упражнения

1. В чем заключается явление поглощения света?
2. Выведите формулу закона Бугера.
3. Что называется коэффициентом пропускания и оптической плотностью вещества?
4. Сформулируйте закон Бугера-Ламберта-Бера.
5. В чем заключается сущность метода концентрационной колориметрии?
6. Опишите принцип действия фотоэлектрического компенсационного колориметра.

КОНЦЕНТРАЦИОННАЯ КОЛОРИМЕТРИЯ

Методические указания к выполнению лабораторной работы

Составители: А.А. Аристов

Подписано к печати 30.12.2007 г.

Усл. печ. л. 0,63.

Тираж 20 экз.

Рег. № xxxxx. – Томск: Изд. ТПУ, 2007. – 15 с.