

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

Количественный спектрофотометрический анализ

Порядок выполнения работы.

Прежде, чем приступать к выполнению практической части работы, следует изучить теорию спектрофотометрии, обратив особое внимание на следующие вопросы:

1. Аналитический сигнал и его основные характеристики.
2. Законы поглощения. Случаи нарушения законов поглощения.
3. Закон аддитивности оптической плотности.
4. Оптическая схема и принцип работы спектрофотометра.
5. Основные характеристики спектрофотометрического анализа.

Задание 1. Определить основные характеристики спектрофотометрического метода.

Используют образцы поглощающего вещества с известными концентрациями.

- готовят 6-8 образцов с известными концентрациями. Для этого используют концентрированный раствор с известной концентрацией (stock solution). Пробы готовят путем разбавления раствора 100-200 раз.

При этом необходимо, чтобы оптическая плотность приготовленных образцов (после разбавления) находилась в пределах 0,05-1,0 единиц.

Пример. Пусть имеется концентрированный раствор вещества, концентрация которого равна $2,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Для приготовления раствора, имеющего концентрацию $2,5 \cdot 10^{-6}$, в пробирку, содержащую 2,5 мл растворителя добавляют 25 мкл концентрата stock solution.

Таким образом, концентрация приготовленного раствора будет равна $C = \frac{C_0}{n}$, где C_0 - концентрация stock solution, n - кратность разведения. Кратность разведения равна отношению добавляемого объема stock solution ΔV к общему объему полученного раствора ($\Delta V + V$):

$$n = \frac{\Delta V_0 + V}{\Delta V_0} = 1 + \frac{V}{\Delta V_0}.$$

Если $V \gg \Delta V$ (в нашем примере $V / \Delta V = 100$), то для определения кратности разведения можно пользоваться приближенной формулой:

$$n \approx \frac{V}{\Delta V_0}, \text{ где } V - \text{объем взятого растворителя.}$$

Для приготовления проб с известной концентрацией на штативе располагают необходимое количество пробирок (6-8), в которые вначале добавляют по 2 мл растворителя.

Удобнее всего добавлять stock solution в пробирки с растворителем одинаковыми порциями, увеличивая содержание вещества в целое число раз (например, в 2, 3, 4 и т.д.).

Для набора веществ с известными концентрациями измеряют оптические плотности на длине волны, соответствующей максимуму поглощения. При этом надо иметь в виду, что для обеспечения максимальной точности оптическая плотность растворов должна быть в пределах 0,05-1,0.

Для выбора оптимальной оптической плотности следует руководствоваться значением коэффициента молярной экстинкции красителя (в максимуме длинноволновой полосы спектра поглощения):

- для красителя $A \quad \varepsilon=1,6 \cdot 10^4 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1} \text{ см}^{-1}$;
- для красителя $B \quad \varepsilon=2,2 \cdot 10^4 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1} \text{ см}^{-1}$.

Определить предел обнаружения данного вещества для используемого спектрофотометра

Для вычисления предела обнаружения определяют стандартное отклонение холостого хода:

$$s_{\text{хол}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_{i \text{ хол}} - \bar{d}_{\text{хол}})^2}{n-1}}.$$

Для этого при тех же условиях (в кювете одинаковой толщины и при одинаковых установках спектрофотометра) производят 4-6 измерений оптической плотности растворителя (холостой пробы).

Определяют среднее ее значение $\bar{d}_{\text{хол}}$.

Предел обнаружения концентрации рассчитывают по формуле

$$C_{\text{мин},P} = \frac{k s_{\text{хол}}}{S},$$

где k - коэффициент учитывающий доверительную вероятность (коэффициент Стьюдента), S - чувствительность прибора. Коэффициент Стьюдента следует взять из таблицы (см. Приложение).

Задание 2. Определить концентрации неизвестного раствора.

Концентрацию неизвестного раствора следует определять по методу калибровочного графика. Для построения калибровочного графика необходимо воспользоваться данными, полученными при выполнении Задания 1.

Определив по графику концентрацию, вычислить погрешности измерения.

Требования к отчету.

Отчет по данной работе должен содержать:

1. Калибровочный график.
2. Таблицу, содержащую используемые концентрации и значения измеренной оптической плотности.
3. Значения определяемых величин, записанных с учетом погрешностей измерений.
4. Расчет погрешностей измерений.

Приложение

Таблица Коэффициенты Стьюдента, $t_{n,P}$

Число испытаний, n	Вероятность, P			
	0,5	0,9	0,95	0,99
2	1,60	6,31	12,7	63,7
3	0,82	2,92	4,30	9,92
4	0,77	2,35	3,18	5,94
5	0,74	2,13	2,78	4,60
6	0,73	2,02	2,57	4,03
7	0,72	1,94	2,45	3,71
8	0,71	1,89	2,36	3,50
9	0,71	1,86	2,31	3,36
10	0,70	1,83	2,26	3,25
15	0,69	1,76	2,14	2,98
20	0,69	1,73	2,09	2,86
∞	0,68	1,65	1,96	2,59