

УДК 53.047.1

Супрунов В.В.¹, Шидаев А. М.¹.

Кубанский государственный университет «КубГУ», e-mail: ya.suprunov2012@yandex.ru

ФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЯ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Фотометрические концентрационные измерения заключаются в регистрации величины поглощения немонахроматического или монахроматического излучения, прошедшего через одинаковые порции исследуемого вещества. При фотоколориметрических и спектрофотометрических измерениях оценивается поглощение света в определяемом веществе. При прохождении света через вещество часть его отражается, и поглощается, часть рассеивается, и проходит через слой этого вещества. При спектрофотометрии оценивается светопропускание лучистого излучения веществом или веществами в зависимости от длины его волны.

Ключевые слова: фотометрия, поглощение и рассеяние света, закон Бера, спектрофотометрия, фотокалориметрия.

PHOTOMETRIC METHODS FOR MEASURING THE PROPERTIES OF BIOLOGICAL OBJECTS

Suprunov V.V.¹, Shidaev A.M.¹

Kuban State University "Kubgu", e-mail: ya.suprunov2012@yandex.ru

Photometric concentration measurements consist in recording the amount of absorption of non-monochromatized or monochromatized radiation that has passed through the same portions of the test substance. With photocolometric and spectrophotometric measurements, the absorption of light in the substance being determined is estimated. When light passes through a substance, part of it is reflected and absorbed, part is scattered and passes through a layer of this substance. In spectrophotometry, the light transmission of radiant radiation by a substance or substances is evaluated depending on its wavelength.

Keywords: photometry, light absorption and scattering, Behr's law, spectrophotometry, photocalorimetry.

Фотометрией называют раздел физической оптики, в котором рассматриваются энергетические характеристики оптического излучения в процессах его испускания, распространения и взаимодействия с веществом.

Взаимодействие лучистой энергии с анализируемым веществом оценивается с помощью: абсорбционного анализа, анализа по поглощению света веществом, свойства которого

определяются (*спектрофотометрия, фотокolorиметрия*); анализа по поглощению и рассеянию лучистой энергии взвешенными частицами определяемого вещества (*турбидиметрия, нефелометрия*). Это может быть люминесцентный анализ, основанный на измерении вторичного излучения, возникающего в результате взаимодействия лучистой энергии с веществом.

При фотокolorиметрических и спектрофотометрических измерениях оценивается поглощение света в определяемом веществе. При прохождении света через вещество часть его отражается, часть поглощается, часть рассеивается, а часть проходит через слой этого вещества.

Интенсивность светового потока I_0 , падающего на слой вещества, можно условно разложить на четыре составляющие: $I_0 = I + I_n + I_{om} + I_p$, где I - интенсивность светового потока, прошедшего через слой вещества; I_n - интенсивность светового потока, поглощенного веществом; I_{om} - интенсивность светового потока, отраженного веществом; I_p - интенсивность светового потока, рассеянного средой. Если закон светопоглощения соблюдается, то оптическая плотность раствора D прямо пропорциональна молярному коэффициенту светопоглощения ϵ_λ , концентрации вещества c и толщине раствора l

$$D = \epsilon_\lambda c l.$$

Молярный коэффициент светопоглощения зависит от длины волны проходящего света, температуры вещества и его природы, и не зависит от концентрации растворенного вещества и толщины поглощающего слоя.

Закон Бера утверждает, что оптическая плотность раствора прямо пропорциональна концентрации растворенного вещества при постоянной толщине поглощающего свет слоя.

$$D = \lg \frac{I_0}{I} = K_1 c,$$

где K_1 - коэффициент пропорциональности.

Интенсивность светопропускания в зависимости от толщины слоя вещества и зависимость оптической плотности от концентрации вещества в растворе иллюстрируются рис. 1

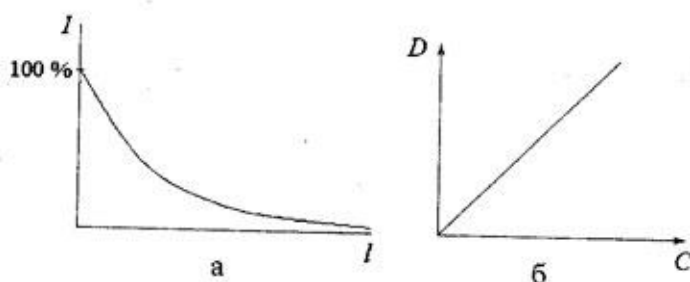


Рис. 1 Кривая интенсивности светового потока в зависимости от толщины слоя вещества (а); зависимость оптической плотности от концентрации раствора (б)

Оптическая плотность D и светопропускание связаны между собой зависимостью

$$D = l_g T, \quad T = \frac{I}{I_0}.$$

где T - светопропускание

Если используется не монохроматический, а полихроматический источник света, то вместо молярного коэффициента ε_λ в уравнения подставляется средний молярный коэффициент светопоглощения ε , зависящий от спектрального состава источника излучения.

На практике наблюдаются отклонения от закона Бера, вследствие действия ряда химических факторов. Это обстоятельство приходится учитывать при проведении измерений.

Молярный коэффициент поглощения и оптическая плотность раствора различны для разных длин волн света. Поэтому для полной характеристики растворов различных соединений используются спектры поглощения. Для этого проводят измерения оптической плотности раствора или молярного коэффициента поглощения света при различных длинах волн $D=f(\lambda)$; $\varepsilon_\lambda=f(\lambda)$ и строят кривые, характеризующие светопропускание. Для получения большей надежности результатов при фотометрии стремятся использовать тот участок спектра излучения, на котором наблюдается максимальное поглощение света данным веществом.

При спектральной фотометрии оценивается светопропускание лучистого излучения веществом или веществами в зависимости от длины его волны. От фотоколоритмии она отличается только тем, что в соответствующих приборах используются источники монохроматического света, интервал длин волн которых порядка (1÷2 нм). Для этого широко используются специальные светофильтры, устанавливаемые на пути прохождения световых потоков перед поглощающим свет веществом.

Фотометрические и спектрофотометрические методы широко используются в медицине и биологии при получении информации о концентрациях веществ, находящихся в жидкостях проб, а также при определении параметров, характерных для определенного объекта. При этом, в ряде случаев, определяемые вещества окрашиваются с помощью тех или иных красителей, как это, например, имеет место при электрофоретическом фракционном анализе белков

Основными затруднениями при косвенных определениях являются ограниченная специфичность и различные побочные процессы. Однако в ряде случаев, особенно когда необходимо отделение определяемого иона осаждением, использование косвенных определений вполне оправданно. Кроме того, при косвенных определениях может быть достигнута более высокая чувствительность определения, так как молярный коэффициент светопоглощения в пересчете на моль определяемого вещества может достигать 30 0000 – 350000. Очень высокой чувствительностью обладают методы с использованием каталитических реакций.

В фотоколориметрии степень поглощения света окрашенным раствором определяется при помощи колориметров с фотоэлементами (фотоколориметров). Фотоэлемент преобразует световую энергию, проходящую через фотометрируемый раствор, в электрическую. Согласно законам фотоэффекта, сила возникающего фототока прямо пропорциональна интенсивности падающего на фотоэлемент света. Следовательно, отношение интенсивности световых потоков, используемое в выражении основного закона светопоглощения, может быть заменено на равное ему отношение величин фототоков. Это и используется в фотоколориметрии, где фактически сравнивают не светопоглощение растворов, а величины фототоков.

В фотоколориметрии обычно употребляют три типа фотоэлементов: с запирающим слоем (вентильные), с внешним фотоэффектом (газонаполненные или вакуумные), с внутренним фотоэффектом (фотосопротивления).

Вентильный фотоэлемент состоит из железной пластинки, на которую нанесен слой полупроводника (селена, закиси меди или сульфида серебра), покрытый тончайшей полупрозрачной пленкой напыленного металла (золота, платины, серебра или меди). Граница между полупроводником и металлической пленкой образует так называемый запирающий слой, пропускающий ток только в одном направлении – от металлической пленки к полупроводнику (на рис.10.от золота к селену). При освещении фотоэлемента электроны в полупроводнике, получив дополнительную энергию от квантов падающего света, перескакивают через запирающий слой и попадают в хорошо проводящую ток металлическую пленку из золота, платины, серебра или меди. Из металлической пленки электроны через гальванометр и железную пластинку возвращаются в первоначальное положение, т. е. в полупроводник. Таким образом, фотоэлемент преобразует световую энергию в электрическую, которая, будучи строго пропорциональна силе света, падающего на фотоэлемент, регистрируется гальванометром. Фотоэлемент позволяет достаточно точно обнаружить уменьшение интенсивности светового потока, вследствие его поглощения окрашенным раствором. В фотоколориметрии наибольшее распространение получили

селеновые фотоэлементы с фронтальным фотоэффектом. Селеновые фотоэлементы высоко чувствительны, проявляют малую инерционность и хорошие эксплуатационные качества.

Список литературы

1. Берштейн И.Я., Каминский Ю.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. - Л.: Химия, 1986 - 200 с.
2. Бабко А.К., Пилипенко А.Т. Фотометрический анализ. - М.: Химия,
3. Булатов М.И., Калинин Н.П. Практическое руководство по фотометрическим и спектрофотометрическим методам анализа. –5-е изд. перераб. - Л. Химия, 1986 –432 с.
4. Васильев В.П. Физико-химические методы анализа. М.: Высшая школа,
5. Крамаренко В.Ф., Попова В.И. Фотометрия в фармацевтическом анализе. Киев.: Здоровье, 1972.-190 с.
6. Кулешова М.Н., Гусева Л.Н., Сивицкая О.К. Анализ лекарственных форм изготовленных в аптеках –2-е изд., перераб. и доп.-М.: Медицина,
7. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии/ Э. Н. Аксенова, О. П. Андрианова, А. П. Арзамасцев и др./ Под ред. А. П. Арзамасцева.– М.: Медицина, 1987.– 304 с.