

13. Kolorimetrija i fotometrija¹

Kolorimetrijske i fotometrijske metode pripadaju grupi instrumentalnih metoda, a zasnivaju se na optičkim svojstvima rastvora bojenih supstanci. Običnim posmatranjem može se zapaziti da obojene supstance pri rastvaranju, sa povećanjem koncentracije, daju sve intenzivnije obojen rastvor. Ovakvo zapažanje predstavlja individualni vizuelni doživljaj, što, zapravo boja i jeste. Međutim, uz primenu zakona apsorpcije svetlosnog zračenja u takvim rastvorima, koja je u vezi sa koncentracijom rastvorene supstance, može se uspostaviti matematička zavisnost na osnovu koje se dolazi do koncentracije rastvorene supstance.

Kolorimetrijske i fotometrijske metode ne spadaju u visoko-tačne analitičke metode, ali su veoma jeftine i lake za izvođenje što je veoma čest uslov primene u brzim industrijskim analizama kojim se prati proces u pojedinim svojim fazama. Ove metode, prema opšte-prihvaćenoj podeli, svrstavaju se u metode apsorpcione spektroskopije.

13.1 Teorijske osnove metode

Mnoge hemijske supstance daju obojene rastvore. Tako, na primer, rastvor KMnO_4 obojen je ljubičasto, rastvor CuSO_4 – plavo, K_2CrO_4 – žuto, i td. S druge strane, mnoge supstance koje daju bezbojne, ili sasvim slabo obojene rastvore, sa određenim reagensima daju jako obojene rastvore (jedinjenja). Na primer, Fe^{3+} -jon u vodi daje slabo-žuto obojenje, ali u prisustvu CNS^- -jona, nagrađuje se jedinjenje koje rastvor boji intenzivnom crvenom bojom; ili; jako razblaženi rastvori Cu^{2+} -jona su gotovo bezbojni, međutim u prisustvu $\text{NH}_3(\text{aq})$, od takvih rastvora, dobijaju se rastvori jake plave boje koja potiče od nastalog kompleksa bakra.

Bela svetlost (sunčeva svetlost) predstavlja mešavinu zračenja različitih talasnih dužina koje karakterišu odgovarajuće boje. Vizuelni fenomen boje u ljudskom oku javlja se kao posledica selektivne apsorpcije ili refleksije pojedinih talasnih dužina (frekvencija) zračenja odnosno, boja u vidljivom delu spektra bele svetlosti. Čvrsta tela reflektuju, a tečna i gasovita tela propuštaju onu talasnu dužinu (frekvencu, odnosno, boju) upadne svetlosti, koja odgovara boji tog tela, pa je ljudsko oko, kao takvu, vidi.

Na primer, čvrsto telo bele boje reflektuje sve talasne dužine bele svetlosti podjednako, dok bezbojan gas, odnosno tečnost, propušta sve boje spektra bele svetlosti, ne apsorbujući u većoj meri ni jednu. Iz tih razloga, takvo telo izgleda bele boje, a tečnost ili gas su bezbojni.

Osvetljeno crvenom svetlošću, telo bele boje, odnosno, bezbojna tečnost, izgledaće crveni jer, belo telo reflektuje sve talasne dužine (pa među njima i onu koja odgovara crvenoj boji), dok bezbojna tečnost propušta sve talasne dužine, pa i onu koja odgovara crvenoj boji.

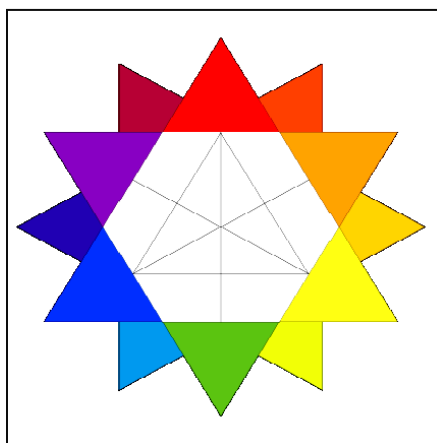
Ako je, međutim, čvrsto telo plave boje, ili rastvor plave boje, osvetljen crvenom svetlošću, izgledaće crni, jer telo plave boje reflektuje samo talasnu dužinu koja odgovara plavoj boji, dok sve ostale apsorbuje (pa i talasnu dužinu crvene boje). Tečnost plave boje, analogno, propušta samo talasnu dužinu zračenja koja odgovara plavoj boji, dok sve ostale (uključujući crvenu boju) apsorbuje, pa zato, tečnost izgleda crne boje.

Telo crne boje, odnosno, rastvor ili gas crne boje apsorbuju zračenje svih talasnih dužina, a ne reflektuju, odnosno, ne propuštaju, ni jednu talasnu dužinu, i ljudsko oko ih vidi kao crne.

Analogno rečenom, ako se neki neproziran predmet, odnosno tečnost, u beloj svetlosti vidi kao zeleno obojen, to znači da se sve talasne dužine izuzev zelene u čvrstom telu i tečnosti apsorbuju, dok se od čvrstog tela reflektuje, a kroz tečnost prolazi, samo zračenje koje odgovara talasnoj dužini zelene boje.

¹ Poglavlje je deo udžbenika Analitička hemija, izdavač: Srpska knjiga, Ruma-Beograd, 2004. Autor: prof. dr Dušan Stanojević

Čvrsto telo, odnosno, rastvor određene boje sa različitom efikasnošću apsorbuju zračenja različitih talasnih dužina sadržanih u beloj svetlosti (različite boje). Dokazano je da se najviše apsorbuju tzv. komplementarne boje, pa tako, zeleno obojeni rastvor najintenzivnije apsorbuje zračenje talasne dužine koja odgovara crvenoj svetlosti, koja je komplementarna zelenoj boji, dok žuto obojeni rastvor, najintenzivnije apsorbuje talasnu dužinu koja je komplementarna žutoj boji, a to je ljubičasta. Na Sl. 13.24 prikazana je tzv. „zvezda boja“ na kojoj se komplementarne boje nalaze na suprotnim stranama. Na primer crvena-zelena; ljubičasta-žuta i td.



Sl. 13.24 Zvezda boja

Opšta teorija apsorpcije zasnovana je na Bunzenovoj (Bunsen) jednačini koja se primenjuje i na apsorpciju energije zračenja u tečnosti, a data je izrazom 13.58:

$$P = P_0 10^{-a \cdot b \cdot c} \quad (13.58)$$

Gde je: P_0 – intenzitet upadnog zračenja; P – intenzitet propuštenog zračenja

a – apsorpcioni koeficijent; konstanta karakteristična za određenu supstancu i frekvenciju

b – debljina sloja tečnosti; c – koncentracija supstance koja daje obojenje rastvoru

Od jednačine 13.58, matematičkom transformacijom nastaje:

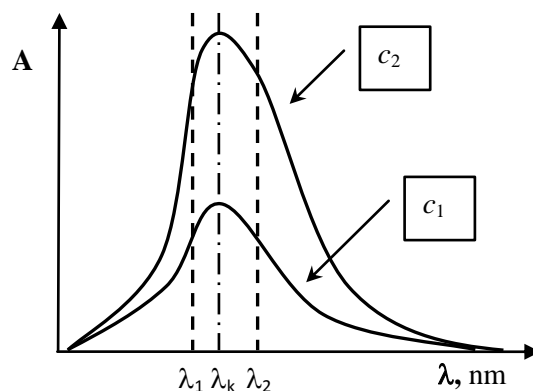
$$\frac{P}{P_0} = 10^{-a \cdot b \cdot c}; \text{ odnosno: } \frac{P_0}{P} = 10^{a \cdot b \cdot c} \quad (13.59)$$

$$\lg \frac{P_0}{P} = a \cdot b \cdot c = A \quad (13.60)$$

Logaritam odnosa intenziteta upadnog i propuštenog zračenja (A), naziva se apsorbcija (u literaturi i laboratorijskoj praksi se sreće i termin ekstinkcija, E), a pokazuje koji deo energije zračenja biva zadržan (apsorbovan) u rastvoru, što je, kako se vidi, proporcionalno debljini sloja rastvora, i koncentraciji supstance koja boji rastvor. Formulacija Bunzenove jednačine data izrazom 13.60 poznata je i kao Lamber-Berov zakon (Lambert-Beer), ili samo Berov zakon

Jednačine 13.59 i 13.60 primenljive su ako se kao izvor zračenja upotrebi svetlost jedne talasne dužine (monohromatska svetlost), uz zanemarivanje neminovnih gubitaka koji nastaju usled refleksije i apsorpcije svetlosti od sistema za merenje.

Ako se izvede eksperiment u kome se rastvor jedne boje izlaže zračenju različitih talasnih dužina (boja) svetlosti, i pri tome u zavisnosti od primenjene talasne dužine svetlosti meri apsorbancija, dobija se dijagram zavisnosti apsorbancije od talasne dužine svetlosti za rastvor takve boje. Ovakva zavisnost za jedan rastvor prikazana je na slici 13.25.



Sl. 13.25 Apsorpcioni spektri rastvora iste bojene supstance, različitih koncentracija ($c_1 < c_2$), pri izlaganju zračenjima različitih talasnih dužina

Vertikalna linija (tačka-crta) pokazuje maksimalnu apsorbanciju, koja se događa pri optimalnoj talasnoj dužini svetlosti λ_k , dok isprekidane vertikalne linije pokazuju oblast talasnih dužina (od λ_1 do λ_2) u kojoj su apsorbancije zadovoljavajuće visoke.

Sa slike 13.25 vidi se da se apsorbancija u istom rastvoru menja u zavisnosti od primenjene talasne dužine svetlosti, pokazujući maksimum koji odgovara jednoj karakterističnoj talasnoj dužini svetlosti - λ_k , bez obzira na vrednost koncentracije rastvora. Ova talasna dužina odgovara komplementarnoj boji, u odnosu na boju rastvora.

U tabeli 13.1. dat je pregled talasnih dužina nekih karakterističnih boja vidljivog dela spektra i njima odgovarajućih komplementarnih boja.

Tabela 13.1. Pregled talasnih dužina nekih boja vidljivog dela spektra (apsorbovana boja), i njihovih komplementarnih boja koje najviše apsorbuju (propuštena boja)

λ (nm)	Apsorbovana boja	Propuštena boja
380-435	ljubičasta	žuto-zelena
435-480	plava	žuta
480-490	zeleno-plava	narandžasta
490-500	plavo-zelena	crvena
500-560	zelena	purpurna
560-580	žuto-zelena	ljubičasta
580-595	žuta	plava
595-650	narandžasta	zeleno-plava
650-780	crvena	plavo-zelena

Da bi se zakonitost apsorpcije svetlosti u obojenim rastvorima mogla iskoristiti u analitičke svrhe, važno je da se merenja apsorbancije obavljaju svetlošću one talasne dužine koja pokazuje maksimalnu apsorbanciju (na slici 13.25, to je svetlost talasne dužine

λ_k), jer je očigledno da se u tom slučaju postiže najveća osetljivost pri merenju i, samim tim, i najtačniji rezultati. Naime, tačnost merenja će biti utoliko veća, ukoliko manju promenu koncentracije bojene supstance u rastvoru, prati veća promena apsorpcije. Praktično, to bi značilo da se za analitičke potrebe, kod određivanja koncentracije supstance jedne određene boje, mora primenjivati svetlost jedne tačno odgovarajuće talasne dužine, tj. monohromatska svetlost odgovarajuće komplementarne boje. Pošto takav zahtev, nekada, nije moguće tehnički jednostavno ostvariti, a i zahteva složeniju i skuplju optiku aparata, može se primenjivati uža ili šira «traka» talasnih dužina u koje spada i optimalna talasna dužina, što se postiže jednostavnijim optičkim sistemima. Na slici 13.25, ova traka odgovara oblasti talasnih dužina od λ_1 do λ_2 na slici 13.25.

13.2 Merenje apsorpcije

Primena Berovog zakona na rastvore u analitičke svrhe moguća je samo ako se raspolože odgovarajućom aparaturom. Ovakva aparatura neizostavno sadrži sledeće delove:

- Izvor svetlosti kojim se stvara kontinualni, vidljivi deo spektra
- Monohromator, kojim se iz trake talasnih dužina svetlosti izdvaja određena talasna dužina, ili uska traka talasnih dužina svetlosti
- Optički sistem kojim se obezbeđuje usmereni svetlosni snop
- Kivete (posude posebnog oblika, od optičkog stakla za smeštanje uzoraka rastvora)
- Uređaj za merenje intenziteta propuštene svetlosti

Izvor svetlosti koji se najčešće primenjuje u apsorpcionoj spektroskopiji za merenja u vidljivom delu spektra je lampa sa volframovim vlaknom. Karakteristika ovakve lampe je konstantnost emitovanja energije pri različitim talasnim dužinama, što je važan element od koga zavisi greška određivanja. Konstantnost emitovanja energije volframove lampe se postiže ako se lampa napaja električnom energijom konstantnih parametara.

Monohromatori različitim optičkim sistemima obezbeđuju manje ili više kvalitetnu monohromatsku svetlost, relativno uskog spektra talasnih dužina, pošto je čistu monohromatsku svetlost teško dobiti. Najčešće primenjeni monohromatori koriste obojene filtre, optičke prizme i difrakcione rešetke.

Obojeni filtri su polirane pločice od obojenog stakla. Njihov osnovni nedostatak je što propuštaju svetlost slabog intenziteta, relativno široke trake talasnih dužina, (od 30 do 50 nm).

Kombinovanjem osobina optičke prizme i difrakcione rešetke bela svetlost se razlaže na spektar i iz njega izdvaja traka poželjnih talasnih dužina. Ovako izdvojena traka ima širinu od 1 do 35 nm, ali relativno nisku energiju zračenja, što zavisi od vrste instrumenta.

Za posebno tačna merenja, kao izvor monohromatske svetlosti, primenjuju se tzv. «spektralne lampe», a to su lampe sa usijanim elektrodama od pojedinih metala (kadmijum, natrijum, živa, i td), koje daju uske spektre većeg intenziteta, iz kojih se filtrima lako izdvaja kvalitetnija monohromatska svetlost.

Uređaj za obezbeđivanje svetlosnog snopa može biti jednostavne ili složene konstrukcije, a služi da svetlost iz monohromatora uputi na kivetu. Sastoji se od sistema ogledala i poželjno je da minimalno apsorbuje proizvedenu monohromatsku svetlost.

Kivete mogu biti različitih veličina, a obično imaju oblik kvadra i izrađuju se od kvalitetnog optičkog stakla koje minimalno apsorbuje svetlost. U kivetu se smešta rastvor za merenja apsorpcije.

Registrowanje intenziteta propuštene svetlosti u apsorpcionoj spektroskopiji se može postići posmatranjem okom, foto-čelijom i pomoću foto-cevi.

Ljudsko oko pokazuje veliku osetljivost u pogledu razlikovanja tamnih i svetlih tonova boje. Međutim, zbog zamora, a i slabog memorisanja intenziteta boje, ljudsko oko je pogodno samo za neposredno upoređivanje različitih jačina svetlosti (tonova).

Osnovni deo foto-ćelije čini elektroda koja ispoljava fotoelektrični efekat. Izlaganjem delovanju svetlosti ovakva elektroda emituje foto-struju čija je jačina proporcionalna intenzitetu primenjene svetlosti. Fotoćelija ima ograničenu primenu kao merni uređaj jer pokazuje zamor, i potom, smanjenu osetljivost na svetlost.

Foto-cev radi na principu fotoćelije, međutim, korekcijom ugrađenim elektronskim kolima, nesavršenosti foto-ćelije su dobrim delom eliminisane. Foto-cev, međutim, pokazuje drugu vrstu nepoželjnog efekta koji se se ispoljava u proizvodnji male struje, čak i kad se ne izlaže svetlosti («dark current»), što se kompenzuje posebnim regulacionim kolima.

13.3 Principi kolorimetrije i fotometrije

Kolorimetrija i fotometrija se zasnivaju na istom principu, a to je apsorpcija svetlosti određene talasne dužine u rastvoru obojene supstance, što kvantitativno opisuje Berov zakon (jednačina 13.60). Međutim, koncentracija rastvorene bojene supstance se može određivati na dva načina. Po jednom od njih, apsorbciju u apsolutnom smislu, ne treba meriti, već se koncentracija određuje na bazi upoređivanja intenziteta obojenja dva rastvora iste supstance, od kojih je jedan poznate koncentracije. Ova metoda se naziva kolorimetrija, a instrumenti pomoću kojih se izvodi - kolorimetri.

Kod kolorimetrijskih merenja postupak se svodi na izjednačavanje apsorbcija u dva rastvora iste supstance koji se istovremeno izlažu svetlosti iste talasne dužine. Izjednačavanje apsorbcija može se ostvariti tako što će se u jednoj od kiveta sa rastvorima menjati debljina sloja kroz koji se svetlost propušta, sve dok se ne postigne da rastvori, u propuštenoj svetlosti, imaju istu boju (ton), što znači da su im apsorbcije izjednačene:

$$A_1 = a \cdot b_1 \cdot c_1; \quad i \quad A_2 = a \cdot b_2 \cdot c_x \quad (13.61)$$

Pošto se radi o istoj supstanci u oba rastvora, i istoj talasnoj dužini primenjene svetlosti, konstanta a je ista u oba rastvora. Izjednačavanjem apsorbcija, nastaje:

$$a \cdot b_1 \cdot c_1 = a \cdot b_2 \cdot c_x, \quad \text{odnosno,} \quad b_1 \cdot c_1 = b_2 \cdot c_x \quad (13.61)$$

odakle sledi:

$$c_x = c_1 \cdot \frac{b_1}{b_2} \quad (13.62)$$

Pošto se radi o upoređivanju apsorbcija u kolorimetriji nije neophodna monohromatska svetlost, što značajno pojednostavljuje i pojeftinjuje instrumentaciju i samu metodu.

Kod fotometrijskog određivanja nepoznate koncentracije meri se kvantitativni iznos apsorbcije rastvora nepoznate koncentracije. Postupak se izvodi tako što se prvo izmeri apsorbcija uzorka rastvora poznate koncentracije i debljine sloja, odakle se izračuna konstanta f koja je proizvod konstante a i debljine sloja rastvora, b :

$$A = a \cdot b \cdot c = f \cdot c, \quad (13.63)$$

Odavde je

$$f = \frac{A}{c} \quad (13.64)$$

Zatim se pod istim uslovima izmeri apsorbcija rastvora iste supstance, ali nepoznate koncentracije, pa koristeći izračunatu vrednost konstante f , nalazi nepoznata koncentracija:

$$A_x = f \cdot c_x, \text{ odakle je } c_x = \frac{A_x}{f} \quad (13.65)$$

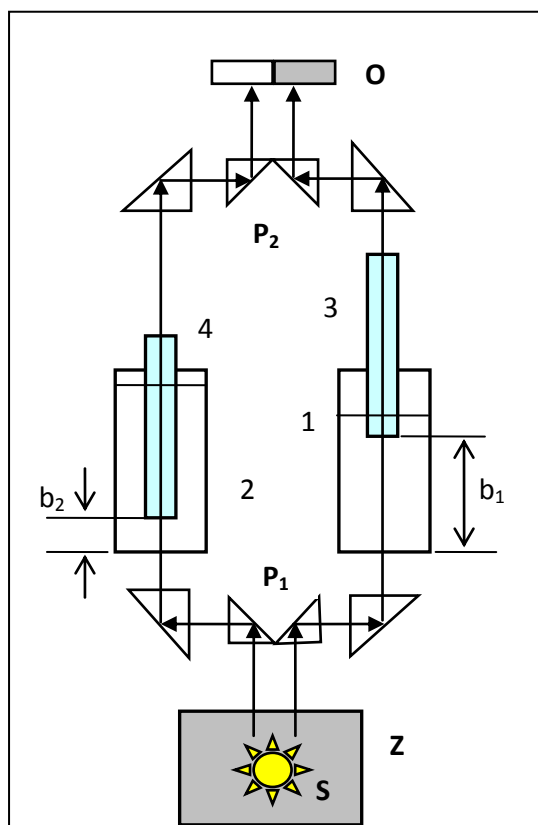
U praksi, u fotometriji je obavezno korišćenje monohromatske svetlosti da bi Berov zakon važio, pri čemu se, ako je moguće, primenjuje svetlost komplementarne boje.

13.4 Tipični kolorimetri i fotometri

Postoje veći broj konstrukcija kolorimetara i fotometara, manje ili veće složenosti. Za jednostavna brza, rutinska određivanja koncentracije obojenih rastvora, pri čemu tačnost nije najvažnija, kolorimetrija je veoma pogodna tehnika.

Jedan od tipičnih jednostavnih kolorimetara je Diboskov (Duboscq) kolorimetar. Na slici 13.26 prikazanje princip rada Diboskovog kolorimetra.

Instrument se sastoji od izvora svetlosti S u zaklonu Z iz koga se dva svetlosna zraka prolazeći kroz sistem prizmi P_1 , usmeravaju u dve kivete (1 i 2) u kojim se nalazi rastvor poznate, odnosno, nepoznate koncentracije c_1 i c_x . Dužina puta zraka kroz rastvore u kivetama reguliše se cilindrima 3 i 4 od optičkog stakla, koji se kreću vertikalno po kliznim lenjirima. Po prolasku kroz rastvore i staklene cilindre, zraci se preko sistema prizmu P_2 usmeravaju na okular O , koji je podeljen na dve plovine, za svaki zrak po jedna.

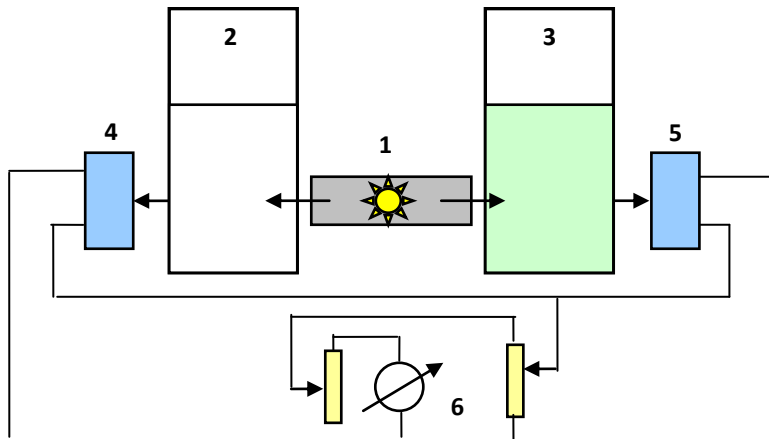


Sl. 13.26 Šema Diboskovog kolorimetra

Merenje nepoznate koncentracije Diboskovim kolorimetrom se izvodi tako što se u kivetu 1 nalije rastvor obojene supstance poznate koncentracije c_1 , a u kivetu 2, rastvor iste supstance, nepoznate koncentracije c_x . Uključi se izvor svetlosti S i svetlosni zraci usmere, kako je prikazano na slici 13.25. Podižući ili spuštajući staklene cilindre 3 i 4 u kivetama, menja se debljina rastvora do postizanja jednake apsorbcije svetlosti u oba rastvora (zraci tada prolaze kroz različite

Jednakost apsorbcija u obe kivete se prepoznaje po jednakom tonu (osvetljenosti) obe polovine okulara O , kada je zadovoljena jednakost u izrazu 13.61, pa se primenom izraza 13.62, dolazi do nepoznate koncentracije rastvora u kiveti 2.

Kod određivanja nepoznate koncentracije uz pomoć fotometara, potrebno je odrediti numeričku vrednost apsorbancije u rastvoru koji se ispituje. Zbog toga je neophodna primena monohromatske svetlosti, što metodu čini aparativno složenijom. Pri tome, kao uređaj za merenje intenziteta propuštene svetlosti, ljudsko oko se, zbog ranije navedenih razloga, retko primenjuje, već se merenja oslanjaju na fotoelektrične merne uređaje. Principijela šema jednog od jednostavnih fotometara po Langeu (Lange), prikazana je na slici 13.27



Sl.13.27 Šema Langeovog fotometra

- 1- Izvor monohromatske svetlosti
- 2 - Kiveta sa destilisanom vodom
- 3 - Kiveta sa rastvorom nepoznate koncentracije
- 4, 5 - Detektori intenziteta propuštene svetlosti
- 6 - Kompenzaciono električno kolo sa galvanometrom

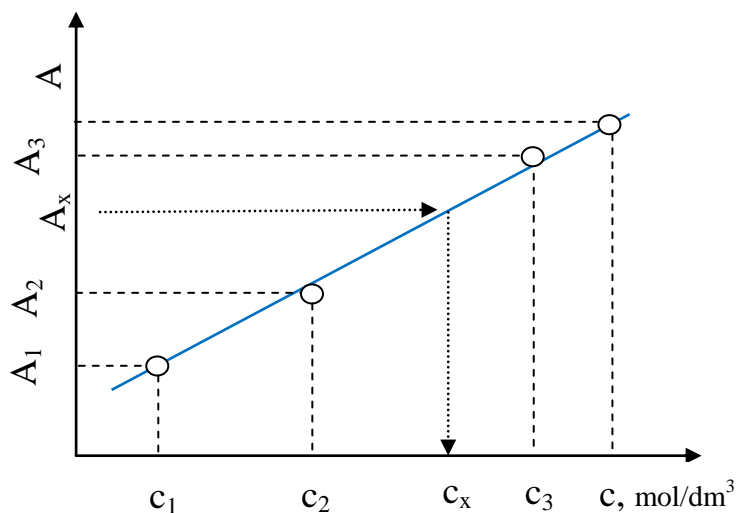
Langeov fotometar radi tako da se u kivetu 2 nalije rastvor destilisane vode, a u kivetu 4, rastvor obojene supstance čija se koncentracija određuje. Uključi se izvor svetlosti sa koga se kroz zastor 1 dva zraka monohromatske svetlosti upute na kivete 2 i 3. Propušteno zračenje pada na detektore (fotoelektrične uređaje) 4 i 5 stvarajući odgovarajuće fotostruje. Kompenzacionim kolom 6, obezbeđuje se merenje apsorbancije koja potiče od rastvorene obojene supstance čija se koncentracija određuje, uz istovremeno kompenzovanje apsorbancije svetlosti u vodi. Na ovaj način se na galvanometru očitava fotostruja koja odgovara intenzitetu propuštene svetlosti, a koja je zavisna od apsorbancije supstance čija se koncentracija određuje.

Kod savremenijih aparata, kompenzaciono kolo je složenije pa omogućuje direktno očitavanje apsorbancije, što pruža mogućnost direktne primene jednačina 13.63-13.65.

Određivanje nepoznate koncentracije može se izvesti i pomoću kalibracionog dijagrama: Pripremi se nekoliko rastvora različitih poznatih koncentracija obojene supstance koja se određuje, pa se izvede merenje apsorbancija tih rastvora. Na osnovu eksperimentalnih podataka koji se dobiju merenjem apsorbancije (A_1, A_2, A_3, \dots) pri različitim, poznatim koncentracijama (c_1, c_2, c_3, \dots), konstruiše se kalibracioni dijagram (na slici 13.28). Zatim se na izmeri apsorbancija uzorka iste supstance, nepoznate koncentracije A_x i sa dijagrama očitava koncentracija supstance c_x .

Savremeni fotometri su mali, kompaktni uređaji koji, u zavisnosti od namene (i cene) imaju jednostavniji, ili složeniji sistem za dobijanje monohromatske svetlosti. Jednostavniji aparati raspolažu sa nekoliko filtera, koji omogućuju rad u više talasnih područja (za različite boje rastvora), što omogućuje univerzalniju primenu metode, ali smanjuje tačnost određivanja.

Na slici 13.28. prikazan je izgled i korišćenje kalibracionog dijagrama za određivanje koncentracije bojene supstance, c_x .



Sl. 13.28. Kalibracioni dijagram za određivanje koncentracije fotometrom po Langeu

Savremeni fotometri su mali, prenosivi kompaktni uređaji koji, u zavisnosti od namene (i cene) imaju jednostavniji, ili složeniji sistem za dobijanje monohromatske svetlosti. Jednostavniji aparati raspolažu sa nekoliko filtera, koji omogućuju rad u više talasnih područja (za različite boje rastvora), što omogućuje univerzalniju primenu metode, ali smanjuje tačnost određivanja. Na slici 13.29 prikazan je izgled savremenog fotometra.



Sl. 13.29 Fotografija prenosivog savremenog fotometra