**Фотоколориметрия ОФС**

**Взамен ГФ X, ГФ XI**

Настоящая общая фармакопейная статья посвящена методу количественного определения действующих веществ с помощью метода фотоколориметрии.

Фотоколориметрия – метод, основанный на измерении степени поглощения немонохроматического света испытуемым веществом с помощью фотоэлектроколориметров (ФЭК). Данный метод применим для окрашенных прозрачных растворов. Для определения концентраций растворов фотоколориметрическим методом пользуются законом Бугера-Ламберта-Бера в форме уравнения:

c – концентрация испытуемого раствора, моль/л;

A – оптическая плотность;

*x* – молярный показатель поглощения раствора, л/(моль\*см);

b – толщина слоя вещества, см.

Величину *x* и *xb* определяют путем проведения серии предварительных измерений для растворов с известной концентрацией исследуемого вещества.

Для проведения измерений используют специальный прибор – фотоэлектроколориметр.

Фотоколориметр – оптический прибор, использующийся для измерения оптической плотности растворов в узком диапазоне спектра. Действие фотоколориметра основано на свойстве окрашенных растворов поглощать проходящий через них свет тем сильнее, чем выше в них концентрация светопоглощающего вещества. В отличие от спектрофотометра, измерения ведутся в луче не монохроматического, а полихроматического узко-спектрального света, формируемого специальными светофильтрами. Применение различных светофильтров с узкими спектральными диапазонами пропускаемого света позволяет определять по отдельности концентрации разных компонентов одного и того же раствора, так как они поглощают при разных длинах.

Обычно фотоколориметры используются для измерения оптической плотности растворов в диапазоне 315 – 630 нм и последующего определения концентрации этих растворов при помощи построения калибровочного графика.

Узкополосные светофильтры маркируются по длине волны максимального пропускания. В таблице 1 представлена стандартная маркировка светофильтров для ФЭК.

Таблица 1. Маркировка светофильтров.

|  |  |
| --- | --- |
| **Маркировка светофильтра** | **Длина волны, соответствующая**  **максимальному пропусканию светофильтра, нм** |
| 1 | 315 ± 5 |
| 2 | 364 ± 5 |
| 3 | 400 ± 5 |
| 4 | 440 ± 10 |
| 5 | 490 ± 10 |
| 6 | 540 ± 10 |
| 7 | 572 ± 10 |
| 8 | 590 ± 10 |
| 9 | 630 ± 10 |

Перед началом проведения измерений необходимо выбрать светофильтр. Светофильтры нужно выбирать так, чтобы максимум и минимум поглощения определяемого вещества попадал в диапазон между максимумом пропускания и минимумом поглощения светофильтра.

Светофильтры необходимо выбирать по окраске анализируемого раствора. В зависимости от цвета раствора, а значит области поглощения, необходимо выбрать светофильтр, вырезающий соответствующий диапазон длин волн (таблица 2).

Таблица 2. Характеристики светофильтров.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Цвет раствора** | **Область макс. светопоглощения (нм)** | **Цвет светофильтра** |
| Желто-зеленый | 400 - 450 | Фиолетовый |
| Желтый | 450 - 480 | Синий |
| Оранжевый | 480 - 490 | Зелено-синий |
| Красный | 490 - 500 | Сине-зеленый |
| Пурпурный | 500 - 560 | Зеленый |
| Синий | 575 - 590 | Желтый |
| Зелено-синий | 590 - 625 | Оранжевый |

Фотоколориметрический метод достаточно точен, погрешность составляет 3-5 %. Наименьшая ошибка достигается при величине оптической плотности 0,434. В интервале значении величин оптической плотности от 0,30 до 0,70 ошибка составляет ±3 %. Измерения, выполненные с помощью фотоколориметра, отличаются простотой и быстротой проведения. Точность их во многих случаях не уступает точности других, более сложных методов химического анализа. Нижние границы определяемых концентраций в зависимости от рода вещества составляют от 10−3 до 10−8 моль/л.

Принцип работы: световой поток от лампы разделяется на 2 потока (верхний и нижний) и отражаясь от зеркал попадает на два одинаковых фотоэлемента. Поток, который идет через верхний световой канал проходит через специально подобранный световой фильтр, конденсатор и оптический клин, а поток света, который идет через нижний световой канал проходит через нижний светофильтр Сф конденсатор и кюветы А, которая заполнена контролируемым веществом. Фотоприёмники Ф1 и Ф2 соединяются встречно и в их контур включается электронный усилитель. Меняя положения оптического клина, добиваются равенства световых потоков в обоих каналах. Тогда оба канала выдадут одинаковые фототоки и сигнал разбаланса на входе в электронный усилитель станет равен нулю, и индикатор гальванометра покажет ноль. После выставления показания прибора на ноль, т.е. уравновешивания схемы, кювету А помещают с контролируемым раствором в прибор, в следствии изменения равенства световых потоков возникнет разбаланс, который подастся на электронный усилитель. Для того, чтобы уровнять световые потоки необходимо перемещать оптический клин до тех пор, пока не перестанет подаваться сигнал разбаланса на усилитель, т.е. выровняются фототоки и стрелка, которая соединена с оптическим клином не покажет действующее значение концентрации раствора, размещенного в кювете А. Наиболее распространенными являются две принципиальные схемы фотоэлектроколориметров.

1. схема прямого действия с одним фотоэлементом;
2. дифференциальная схема с двумя фотоэлементами, рассчитанная на попадание пучков света, проходящих соответственно через испытуемый раствор и нулевой растворы, на два разных фотоэлемента.

Необходимую величину оптической плотности достигают подбором кюветы и концентрации анализируемого раствора.

К фотоколориметрам прилагается набор стеклянных кювет. Измерение оптической плотности легко летучих жидкостей проводят в закрытых крышкой кюветах. Для интенсивно окрашенных растворов применяют кюветы с меньшей толщиной слоя, для слабо окрашенных растворов выбирают кюветы с большей толщиной поглощающего слоя.

В качестве приёмников излучения в них используются фотоэлементы (селеновые и вакуумные), фотоэлектронные умножители, фоторезисторы (фотосопротивления) и фотодиоды. Сила фототока приемников определяется интенсивностью падающего на них света и, следовательно, степенью его поглощения в растворе (тем большей, чем выше концентрация). Помимо фотоэлектрического колориметра (фотоколориметра) с непосредственным отсчетом силы фототока, распространены компенсационные фотоколориметры, в которых разность сигналов, соответствующих стандартному и измеряемому растворам, сводится к нулю (компенсируется) электрическим или оптическим компенсатором (например, клином фотометрическим); отсчет в этом случае снимается со шкалы компенсатора. Компенсация позволяет свести к минимуму влияние условий измерений (температуры, нестабильности свойств элементов колориметра) на их точность. Показания фотоколориметра не дают сразу значений концентрации исследуемого вещества в растворе – для перехода к ним используют калибровочные графики, полученные при измерении растворов с известными концентрациями.

Для повышения точности фотоколориметрических измерений при определении высоких концентраций веществ (от 10 до 100%) возможно использование дифференциального метода анализа.