

ОСНОВЫ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

В ДВУХ ТОМАХ

Под редакцией академика Ю. А. ЗОЛотова

ТОМ 2

*Учебник
для студентов высших учебных заведений,
обучающихся по химическим направлениям*

5-е издание, стереотипное



Москва
Издательский центр «Академия»
2012

УДК 543(075.8)

ББК 24.4я73

О-753

Авторы:

*Н. В. Алов, Ю. А. Барбалат, А. Г. Борзенко, А. В. Гармаш, И. Ф. Долманова,
Ю. А. Золотов, А. А. Карякин, Е. И. Моросанова, Н. А. Пасекова, И. В. Плетнев,
М. А. Проскурнин, Г. В. Прохорова, Н. М. Сергеев, В. И. Фадеева, Т. Н. Шеховцова*

Рецензенты:

профессор кафедры аналитической химии Казанского государственного
университета, д-р хим. наук *Г. К. Будников*;
профессор кафедры аналитической химии Саратовского государственного
университета им. Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук *Р. К. Чернова*

Основы аналитической химии. В 2 т. Т. 2 : учеб. для студ. учреждений
О-753 высш. проф. образования / [Н. В. Алов и др.] ; под ред. Ю. А. Золотова. —
5-е изд., стер. — М. : Издательский центр «Академия», 2012. — 416 с.
ISBN 978-5-7695-9125-9

Учебник создан в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом по направлениям подготовки «Химия» (квалификация «бакалавр»), «Фундаментальная и прикладная химия» (квалификация «специалист»).

В двух томах учебника изложены теоретические основы аналитической химии с учетом современных научных достижений. Во втором томе освещены теоретические вопросы методов анализа, основанных на электрохимических свойствах растворов, а также на взаимодействии вещества с электромагнитным излучением, метода масс-спектрометрии, ядерно-физических, термических, биологических и биохимических методов, особое внимание уделено их практическому применению. Описаны принципиальные схемы аналитических приборов. Рассмотрены приемы получения и обработки аналитического сигнала. Даны сведения об автоматизации, компьютеризации и миниатюризации химического анализа. Представлены подходы к анализу наиболее важных объектов, приемы пробоотбора и пробоподготовки. Предложены задания для контроля за усвоением материала.

Для студентов учреждений высшего профессионального образования. Может быть полезен аспирантам, преподавателям, а также специалистам-аналитикам.

УДК 543(075.8)

ББК 24.4я73

*Оригинал-макет данного издания является собственностью
Издательского центра «Академия», и его воспроизведение любым способом
без согласия правообладателя запрещается*

ISBN 978-5-7695-9125-9 (т. 2)
ISBN 978-5-7695-9123-5

© Коллектив авторов, 2010
© Образовательно-издательский центр «Академия», 2010
© Оформление. Издательский центр «Академия», 2010

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

9.1. Общие сведения

Электрохимические методы анализа давно и плодотворно применяют в химии, биологии, медицине, в целях мониторинга объектов окружающей среды. Это обусловлено тем, что электрохимическим методам свойственна высокая чувствительность и селективность, в ряде случаев они легко могут быть автоматизированы, с их помощью возможна дистанционная запись результатов анализа.

Среди электрохимических методов есть и безэталонные (кулонометрия), и многоэлементные (вольтамперометрия), что в ряде случаев выгодно отличает их от других методов. Следует отметить универсальность электрохимических методов, их пригодность для определения неорганических и органических веществ в разнообразных природных и технических объектах, часто без сложной и трудоемкой пробоподготовки.

Современную медицину и биологию трудно представить без ионселективных электродов. Примером может служить применение калийселективного электрода с мембраной на основе валиномицина для определения ионов калия в крови при операциях на сердце. Миниатюризированный стеклянный рН-чувствительный электрод применяют при физиологических исследованиях для измерений в одной клетке.

Всем известна важность эколого-аналитического контроля поверхностных и сточных вод. Вольтамперометрические методы при использовании каталитических токов, например, в системе хром(III) — нитрат (нитрит) пригодны для прямого определения до 0,03 — 0,06 мг/л хрома(III) без предварительного концентрирования при предельно допустимых концентрациях (ПДК) 0,05 — 0,5 мг/л.

Особый интерес представляет использование электрохимических детекторов в проточных методах анализа. Сочетание электрохимического детектирования с ферментативными реакторами успешно используют в проточно-инжекционном анализе. Ферментативная реакция позволяет достичь нужной избирательности, а электрохимическое детектирование обеспечивает высокую чувствительность определения. Например, амперометрическое детектирование изменения концентрации растворенного кислорода в проточной системе после микрореактора с *L*-лизин- λ -оксидазой позволяет определять до 0,02 ммоль/л лизина в присутствии других аминокислот. Другим интересным примером является использование импульсного амперометрического детектора для селективного и высокочувствительного определения сахаров методом ионной хроматографии. В течение 20 мин можно определить содержание ксилита, сорбита, маннита, глюкозы, фруктозы и сахарозы в фруктовых соках на уровне концентраций 10^{-9} моль/л.

Электрохимические методы анализа и исследования основаны на изучении и использовании процессов, протекающих на поверхности электрода или в приэлектродном слое. Любой электрический параметр (потенциал, сила тока, сопро-

тивление и др.), функционально связанный с концентрацией определяемого компонента и подающийся правильному измерению, может служить *аналитическим сигналом*.

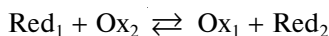
Различают прямые и косвенные электрохимические методы. В *прямых методах* используют зависимость силы тока (потенциала и др.) от концентрации определяемого компонента. В *косвенных методах* те же параметры (сила тока, потенциал и др.) измеряют с целью установления конечной точки титрования определяемого компонента подходящим титрантом, т.е. используют зависимость измеряемого параметра от объема титранта.

9.2. Теоретические основы электрохимических методов

9.2.1. Электрохимическая ячейка и ее электрический эквивалент

Для любого рода измерений необходима электрическая цепь (электрохимическая ячейка), составной частью которой является анализируемый раствор.

Простейшая *электрохимическая ячейка* состоит из пары электродов, погруженных в анализируемый раствор. Это устройство позволяет реализовать уникальную особенность окислительно-восстановительных реакций — их способность протекать при пространственном разделении окислителя и восстановителя. В этом случае перенос электронов от восстановителя Red_1 к окислителю Ox_2 осуществляется с помощью пары электродов и проводников во внешней цепи (рис. 9.1). Непосредственный контакт окислителя и восстановителя устраняют, помещая их в отдельные сосуды. Если соединить электроды внешним проводником, а растворы солевым мостиком, то электроны, полученные электродом 1 от восстановителя, перейдут по внешнему проводнику к электроду 2 и будут отданы им окислителю. В результате при замыкании цепи протекает та же реакция



что и при непосредственном контакте Red_1 и Ox_2 .

Механизм возникновения электрического тока на разных участках электрической цепи различен. В металлических проводниках ток обусловлен переносом электронов, в растворе — ионов, а на поверхности электродов цепь замыкается за счет перехода от ионной проводимости раствора к электронной в результате электрохимической реакции.

Ток, возникающий в результате окисления $\text{Red}_1 \rightarrow \text{Ox}_1$ на аноде, называют *анодным* (I_a), ток восстановления $\text{Ox}_2 \rightarrow \text{Red}_2$ на катоде — *катодным* (I_k). Эти токи соответствуют переносу электронов в противоположных направлениях, и обычно катодный ток считают положительным, анодный — отрицательным. И катодный, и анодный ток обусловлены процессом электролиза (электрохимическими реакциями), поэтому их называют *фарадеевскими токами* (I_F).

Очень полезно изобразить электрохимическую ячейку в виде *электрического эквивалента*, т.е. схемы, в которой абстрактно представлены происходящие в ней реальные процессы. Схема электрического эквивалента двухэлектродной ячейки приведена на рис. 9.2. На электродах 1, 2 (см. рис. 9.1) в результате процессов, происходящих на поверхности (адсорбция и десорбция) и у поверхности

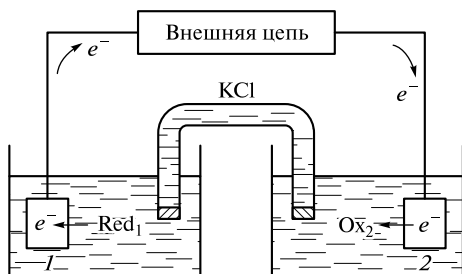


Рис. 9.1. Электрохимическая ячейка

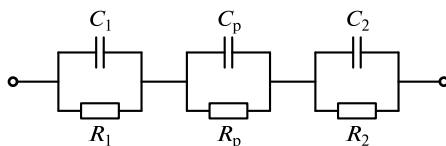


Рис. 9.2. Электрический эквивалент двухэлектродной ячейки

(диссоциация, протонирование и другие химические реакции) электрода, а также в результате электрохимической реакции (гетерогенная реакция переноса электронов или ионов через границу раздела фаз) возникают поляризационные сопротивления R_1 и R_2 . Каждый электрод, кроме того, в результате образования на нем двойного электрического слоя является конденсатором. Емкости этих конденсаторов C_1 и C_2 определяются соотношением

$$C = A/d,$$

где A — площадь поверхности электрода; d — расстояние ($\sim 10^{-8}$ см) между «обкладками» конденсатора.

Раствор, разделяющий электроды, имеет сопротивление R_p . И, наконец, электроды и находящийся между ними раствор образуют конденсатор емкостью C_p , называемой *межэлектродной емкостью*.

9.2.2. Ячейки без жидкостного соединения и с жидкостным соединением. Диффузионный потенциал

Электроды можно поместить в один раствор (*ячейка без жидкостного соединения*) или в разные растворы, контактирующие либо через пористую диафрагму, либо через солевой мостик (*ячейка с жидкостным соединением*; см. рис. 9.1).

Ячейки без жидкостного соединения применяют при измерении средних коэффициентов активности электролитов, стандартных потенциалов, но в практической аналитической работе удобнее ячейки с жидкостным соединением.

В ячейке с жидкостным соединением в местах контакта растворов, различающихся по составу или концентрациям (или по обоим параметрам), возникает *диффузионный потенциал*, или *потенциал жидкостного соединения* E_j . Как только жидкостная граница образовалась, начинается диффузия ионов из более концентрированного раствора в более разбавленный. При фиксированной разности концентраций скорость диффузии зависит только от подвижностей ионов (рис. 9.3). В результате пространственного разделения зарядов и возникает диффузионный потенциал. К сожалению, его трудно предсказать или оценить; в зависимости от солевого состава раствора диффузионный потенциал может колебаться от нескольких милливольт до нескольких десятков милливольт. Это вносит заметную погрешность в результаты измерения равновесного потенциала

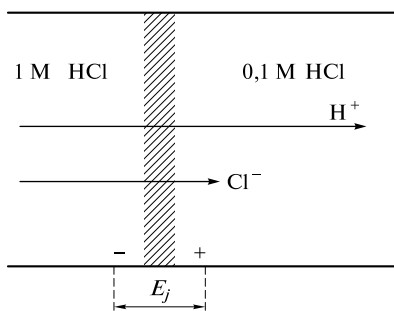


Рис. 9.3. Схема возникновения диффузионного потенциала E_j на жидкостной границе 1 М НСl — 0,1 М НСl (подвижность ионов H^+ почти в 5 раз выше подвижности ионов Cl^- , поэтому со стороны более концентрированного раствора граница заряжается отрицательно, а со стороны более разбавленного — положительно)

электрода. Диффузионный потенциал можно свести к небольшому (порядка нескольких милливольт) и воспроизводимому значению, если солевой мостик электрода сравнения заполнить насыщенным раствором соли, образованной ионами с одинаковыми подвижностями (KCl , NH_4NO_3). В таком случае имеют *ячейку с элиминированным диффузионным потенциалом*, и им действительно можно пренебречь во всех измерениях кроме прямых потенциометрических.

9.2.3. Индикаторный электрод и электрод сравнения

Один из электродов электрохимической ячейки должен обратимо реагировать на изменение состава анализируемого раствора, чтобы по наличию (или отсутствию) аналитического сигнала и его интенсивности можно было судить о том, присутствует ли интересующий нас компонент в растворе и в каком количестве. Этот электрод, являющийся как бы зондом, называют *индикаторным*. Индикаторные электроды не должны реагировать с компонентами раствора, поэтому для их изготовления применяют химически инертные токопроводящие материалы: благородные металлы (золото, платина, ртуть), углеродные материалы (графит, стеклоуглерод). В зависимости от природы измеряемого параметра индикаторные электроды различаются по материалу, из которого они изготовлены, размеру и форме. Все эти важные параметры обсуждаются при рассмотрении конкретных методов анализа.

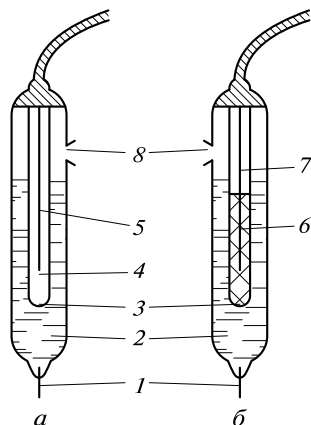
О роли второго электрода, называемого *электродом сравнения*, образно сказал Л. Мейтис: «Все, что от него требуется, — это не привлекать к себе внимания. С его стороны не должно быть никаких неожиданностей, отвлекающих исследователя от того, что происходит на индикаторном электроде»¹. Для выполнения этого, казалось бы, несложного условия необходимо, чтобы потенциал электрода сравнения был известен, постоянен и не зависел от состава анализируемого раствора. Иногда даже не обязательно знать его значение, лишь бы оно воспроизводилось от опыта к опыту, не изменялось при протекании через ячейку небольших токов, т. е. электрод не должен поляризоваться. Другие важные требования — низкое электрическое сопротивление, отсутствие влияния на состав анализируемого раствора, простота конструкции, низкий диффузионный потенциал.

Первичным электродом сравнения в электрохимии является *стандартный водородный электрод* (СВЭ), но для аналитических целей он неудобен из-за необходимости получения очень чистого водорода и ряда других причин. Поэтому используют хлоридсеребряный и каломельный электроды.

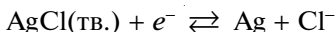
¹ Мейтис Л. Введение в курс химического равновесия и кинетики. — М.: Мир, 1984.

Рис. 9.4. Электроды сравнения хлоридсеребряный (а) и каломельный (б) с двойным солевым мостиком:

1 — асбестовое волокно, обеспечивающее контакт с анализируемым раствором; 2 — внешний насыщенный раствор KCl; 3 — крошечное отверстие для контакта; 4 — внутренний насыщенный раствор KCl, AgCl(тв.); 5 — серебряная проволока; 6 — паста из смеси Hg_2Cl_2 , Hg и насыщенного раствора KCl; 7 — платиновая проволока; 8 — отверстие для ввода раствора KCl



Хлоридсеребряный электрод (рис. 9.4, а) состоит из серебряной проволоочки, электролитически покрытой слоем хлорида серебра(I) и погруженной в 3 М раствор KCl, насыщенный AgCl. Для полуреакции



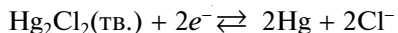
согласно уравнению Нернста

$$E = E_{\text{AgCl/Ag, Cl}^-}^\circ - 0,059 \lg a_{\text{Cl}^-}$$

потенциал хлоридсеребряного электрода зависит от активности ионов Cl^- (a_{Cl^-}).

В насыщенном растворе KCl при температуре 25 °С потенциал хлоридсеребряного электрода равен $(0,222 \pm 0,002)$ В (относительно СВЭ).

В основе работы *каломельного электрода* (рис. 9.4, б) лежит полуреакция



поэтому его потенциал также зависит от активности ионов Cl^- в растворе. Серийно выпускают более удобный для работы *насыщенный каломельный электрод* (НКЭ), поскольку в этом случае (насыщенный раствор KCl) легко обеспечить постоянство активности ионов Cl^- и, следовательно, постоянство потенциала НКЭ. При температуре 25 °С потенциал НКЭ равен $(0,247 \pm 0,001)$ В (относительно СВЭ).

Современные конструкции электродов сравнения имеют два раствора KCl. Второй (внешний) служит не только солевым мостиком, но и устраняет загрязнение внутреннего раствора, исключая его контакт с анализируемым раствором. Такие электроды называют *электродами с двойным солевым мостиком*.

9.2.4. Гальванический элемент и электролитическая ячейка

В электрохимической ячейке, описанной в подразд. 9.2.1, ток возникает в результате самопроизвольной химической реакции. Такие ячейки называют *гальваническими элементами*. Если ячейка работает в режиме гальванического элемента, то измерительное устройство во внешней цепи служит лишь для того, чтобы пропускать или не пропускать электроны во внешнюю цепь. Однако если во

внешнюю цепь ввести источник постоянного напряжения, то эта ячейка станет потребителем внешней энергии и будет работать в режиме *электролитической ячейки*. В этом случае, регулируя внешнее наложенное напряжение, можно не только изменять направление реакции, но и контролировать глубину ее протекания. Многие электрохимические ячейки в зависимости от условий могут работать в любом из этих режимов.

9.2.5. Равновесные электрохимические системы

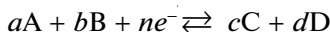
В результате электрохимической реакции возникает фарадеевский ток. При равновесии электрохимическая реакция протекает в обоих направлениях с одинаковыми скоростями, определяемыми плотностью тока обмена i_0 ($A \cdot cm^2$):

$$i_0 = |i_k| = |i_a|,$$

где i_a , i_k — плотность тока на аноде и катоде соответственно, $A \cdot cm^2$.

В этих условиях ток во внешней цепи не протекает и систему называют *равновесной*. Индикаторный электрод в условиях равновесия приобретает потенциал, называемый *равновесным* E_p . В этом случае можно оценить обратимость системы с позиций термодинамики. Обратимые равновесные электрохимические системы должны подчиняться уравнению Нернста.

Для полуреакции



в соответствии с уравнением Нернста

$$E = E^\circ + \frac{0,059}{n} \lg \frac{a_A^a a_B^b}{a_C^c a_D^d}$$

(a_A , a_B , a_C , a_D — активности соответствующих компонентов системы) можно записать, что зависимость потенциала E от активности a_C компонента С (при постоянных активностях компонентов А, В, D) выражается уравнением

$$\frac{dE}{d \lg a_C} = -0,059 \frac{c}{n},$$

а зависимость потенциала от активности a_A компонента А (при a_B , a_C , $a_D = \text{const}$) описывается уравнением

$$\frac{dE}{d \lg a_A} = +0,059 \frac{a}{n}.$$

Если подобные уравнения выполняются для всех участников полуреакции, то окислительно-восстановительную систему называют *обратимой*, или *нернстовской*.

Приведем примеры обратимых систем:

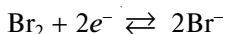
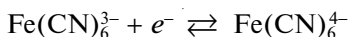
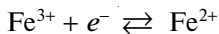
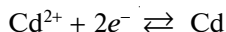
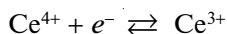
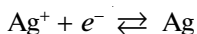
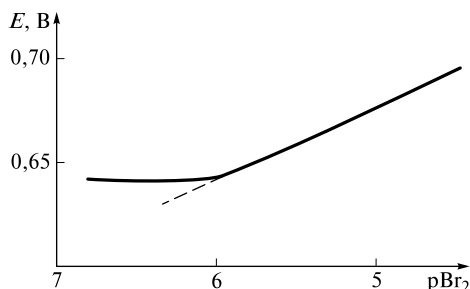
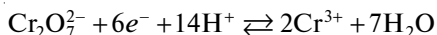
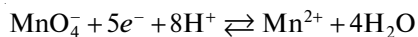


Рис. 9.5. Зависимость потенциала платинового электрода от концентрации брома в растворе с постоянной концентрацией бромид-ионов



Следует, однако, иметь в виду, что зависимость потенциала от активности является *н е р н с т о в с к о й* лишь в некотором ограниченном интервале. Типичная зависимость потенциала от активности одного из компонентов обратимой окислительно-восстановительной системы приведена на рис. 9.5. Для каждой системы существует предельное значение активности (концентрации), ниже которого система не подчиняется уравнению Нернста. В зависимости от природы окислительно-восстановительной системы это предельное значение изменяется в интервале $10^{-6} — 10^{-5}$ моль/л.

Известен ряд окислительно-восстановительных систем, не подчиняющихся уравнению Нернста ни при каких, даже максимально высоких концентрациях. Такие системы называют *необратимыми*; к ним относятся, например, системы



Как правило, в них участвует большое число электронов, постадийный перенос которых сопровождается перестройкой структуры.

9.2.6. Неравновесные электрохимические системы

Система выходит из состояния равновесия, как только во внешней цепи начинает протекать ток. В этих условиях в силу причин, рассматриваемых далее, потенциал электрода отклоняется от равновесного значения E_p , приобретаемого электродом в отсутствие тока.

В качестве примера рассмотрим гальванический элемент



с кадмиевым анодом, погруженным в раствор CdSO_4 , и медным катодом, погруженным в раствор CuSO_4 . Одинарной чертой обозначена граница раздела фаз электрод — раствор, двойной чертой — солевой мостик. При равновесии ($I = 0$) согласно уравнению Нернста $E_{\text{Cd}} = -0,462 \text{ В}$, $E_{\text{Cu}} = 0,278 \text{ В}$ и электродвижущая сила (ЭДС) гальванического элемента ($E_{\text{г.э}}$) равна

$$E_{\text{г.э}} = E_{\text{к}} - E_{\text{а}} = 0,278 - (-0,462) = 0,740 \text{ В},$$

где $E_{\text{к}}$, $E_{\text{а}}$ — потенциал соответственно катода (медного) и анода (кадмиевого), В.

Допустим, что при замыкании цепи протекает ток силой $I = 0,10 \text{ А}$, а ячейка имеет сопротивление $R = 5,0 \text{ Ом}$. Для прохождения тока необходимо преодолеть

сопротивление ионов,двигающихся к аноду или катоду. Эта движущая сила IR , называемая *омическим падением напряжения*, вызывает уменьшение ЭДС $E_{г.э}$, рассчитанной по уравнению Нернста ($I = 0$), и поэтому при $I \neq 0$ получим

$$E_{г.э} = 0,278 - (-0,462) - (0,1 \cdot 5,0) = 0,240 \text{ В},$$

т.е. измеренный потенциал значительно ниже действительного.

Из уравнения

$$E_{г.э} = E_{к} - E_{а} - IR$$

следует, что при постоянных значениях $E_{к}$ и $E_{а}$ зависимость между силой тока и потенциалом должна быть линейной. В реальных условиях это выполняется лишь при очень малых значениях силы тока. Нарушение этой зависимости при прохождении заметных токов вызывает изменение потенциала одного или обоих электродов, т.е. их поляризацию.

На рис. 9.6 приведены зависимости ток — потенциал (поляризационные кривые) для *идеально поляризуемого* (при изменении потенциала в широком интервале не протекают фарадеевские процессы) и *идеально неполяризуемого* (потенциал не зависит от протекающего через ячейку тока) *электродов*. Электроды, по поведению близкие к идеально неполяризуемым, пригодны в качестве электродов сравнения (хлоридсеребряный, каломельный).

На рис. 9.7 приведена поляризационная кривая для реальной ячейки с некоторым сопротивлением R . Электроды идеально неполяризуемы на участке AB кривой. За пределами указанного участка наблюдается поляризация (одного или обоих электродов), что и вызывает отклонение от линейной зависимости. Заметим, что участок кривой ниже горизонтальной оси относится к условиям, когда электрохимическая ячейка работает в режиме гальванического элемента, выше — в режиме электролитической ячейки. Из-за поляризации уменьшается ЭДС гальванического элемента $E_{г.э}$, а ЭДС $E_{э.я}$, необходимую для работы электролитической ячейки, требуется увеличить.

Существует несколько факторов, обуславливающих возникновение поляризации. На рис. 9.8 схематически показаны участки ячейки, где поляризация может возникать, — это собственно электрод, поверхностный слой и объем раствора.

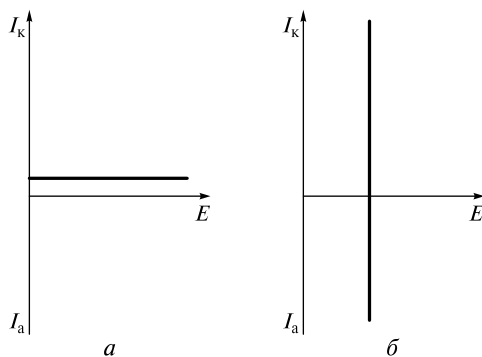


Рис. 9.6. Поляризационные кривые для идеально поляризуемого (а) и идеально неполяризуемого (б) электродов

Рис. 9.7. Поляризационная кривая для ячейки с сопротивлением R и электродами, идеально неполяризуемыми на участке AB

Электрохимический процесс $Ox + ne^- \rightleftharpoons Red$ включает ряд промежуточных стадий, которые схематически можно представить в виде сопротивлений. Все эти стадии в различной степени замедляют процесс. Лимитировать общую скорость процесса может, в принципе, любая стадия. Упрощенно можно рассматривать только две обязательные стадии: массоперенос и разряд-ионизация, т.е. стадия переноса электронов. Если лимитирующей стадией является массоперенос, то возникает концентрационная поляризация (η_c). В случае замедленной стадии разряд-ионизация возникает кинетическая поляризация (η_t).

Кинетическая поляризация, или **перенапряжение**, характеризуется дополнительной энергией, которую необходимо сообщить электроду в случае, если скорость переноса электронов мала, следовательно

$$\eta_t = E - E_{I=0}.$$

Величина η_t зависит от плотности тока, материала электрода (для жидких металлов она выше, чем для твердых) и природы окислительно-восстановительной системы (обычно значения η_t выше для систем, одной из форм которых является газообразное вещество). Далее мы увидим, насколько полезно высокое перенапряжение разряда ионов водорода ($2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$) на ртутном электроде.

Причиной возникновения **концентрационной поляризации** является обеднение поверхностного слоя электрохимически активным веществом, расходуемым в электрохимической реакции, из-за медленной диффузии его из глубины раствора. Поскольку из-за концентрационной поляризации измеренный потенциал $E_{г.э}$ всегда ниже действительного, в методах, основанных на измерении равновесного потенциала, концентрационную поляризацию необходимо свести к минимуму, снижая плотность тока и перемешивая раствор. Однако концентрационная поляризация может быть и основой электрохимических методов. В таких случаях (вольтамперометрические методы) создают условия для ее максимального проявления за счет высокой плотности тока на индикаторном электроде и проведения измерений в разбавленном неперемешиваемом растворе.

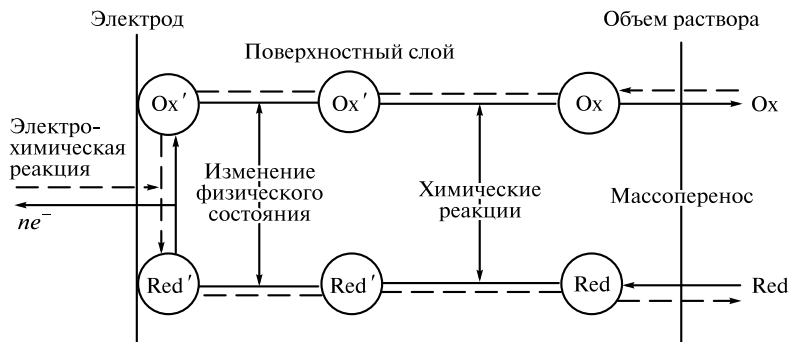
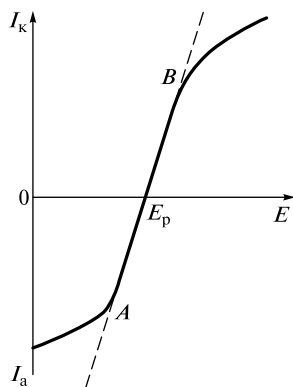


Рис. 9.8. Возникновение поляризации

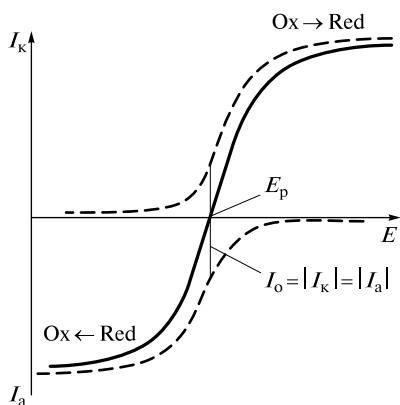


Рис. 9.9. Поляризационная кривая для обратимой электрохимической системы в условиях максимального проявления концентрационной поляризации

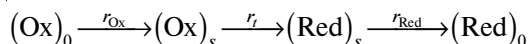
Поляризационная кривая для этих условий (единственным источником массопереноса является диффузия) приведена на рис. 9.9. Верхняя пунктирная линия изображает зависимость $I = f(E)$ для раствора, содержащего только окисленную форму окислительно-восстановительной пары, нижняя пунктирная линия — аналогичную зависимость для раствора, содержащего только восстановленную форму. Сплошной линией показана зависимость $I = f(E)$ для раствора, содержащего и окисленную и восстановленную формы. Далее мы увидим, как поляризационные кривые используют в электрохимических методах.

Рассмотрим подробнее линейный участок кривой. Он несет очень важную информацию об окислительно-восстановительной системе. На кривой легко зафиксировать точку, отвечающую равенству скоростей полуреакций окисления и восстановления ($|I_a| = |I_k|$), следовательно равновесный потенциал легко измерить. Перенапряжение мало, и достаточно лишь небольшого изменения потенциала индикаторного электрода по сравнению с потенциалом E_p , чтобы во внешней цепи протекал заметный ток, т.е. чтобы скорость электрохимического процесса восстановления окислителя или окисления восстановителя была достаточно высока. Наконец, видим, что ток обмена $I_0 = |I_a| = |I_k|$ большой. Эти отличительные признаки характерны для обратимых окислительно-восстановительных систем.

Сила тока обмена I_0 , характеризующая обратимость окислительно-восстановительной системы, зависит от константы скорости гетерогенной реакции переноса электронов. Последняя велика для обратимых ($\text{Cd}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Cd}$) и мала для необратимых ($\text{Ni}^{2+} + 2e^- \rightarrow \text{Ni}$) систем. Значения констант скоростей реакций, позволяющие отнести систему к обратимым или необратимым, зависят от способа регистрации поляризационных кривых, поэтому одна и та же система в зависимости от условий может быть обратимой или необратимой.

Сила тока обмена I_0 , характеризующая обратимость окислительно-восстановительной системы, зависит от константы скорости гетерогенной реакции переноса электронов. Последняя велика для обратимых ($\text{Cd}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Cd}$) и мала для необратимых ($\text{Ni}^{2+} + 2e^- \rightarrow \text{Ni}$) систем. Значения констант скоростей реакций, позволяющие отнести систему к обратимым или необратимым, зависят от способа регистрации поляризационных кривых, поэтому одна и та же система в зависимости от условий может быть обратимой или необратимой.

Таким образом, электрохимический процесс, включающий стадию диффузии окисленной формы из раствора к поверхности электрода (со скоростью r_{Ox}), стадию восстановления окисленной формы на поверхности электрода (со скоростью r_t) и стадию диффузии восстановленной формы от поверхности электрода в раствор (со скоростью r_{Red}):



(индексами 0, s обозначено состояние окисленной и восстановленной форм в растворе и на поверхности электрода соответственно), называют *обратимым*, если

$$r_{\text{Ox}} \approx r_{\text{Red}} \ll r_t,$$

и *необратимым*, если

$$r_t \ll r_{\text{Ox}} \text{ или } r_t \ll r_{\text{Red}}.$$

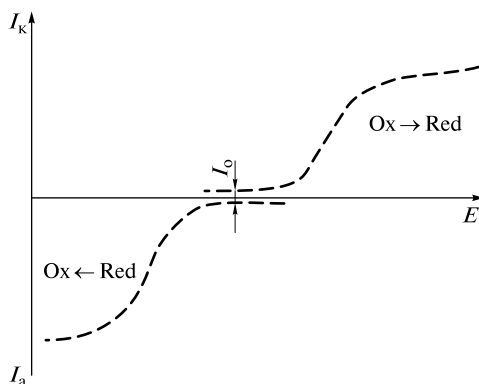


Рис. 9.10. Поляризационная кривая для необратимой электрохимической системы

Поляризационная кривая для необратимой электрохимической системы приведена на рис. 9.10. От кривой, изображенной на рис. 9.9, ее отличают, во-первых, ничтожно малый ток обмена, во-вторых, невозможность зафиксировать значение E_p и, в-третьих, необходимость дополнительной энергии, чтобы анодный или катодный процесс протекал с заметной скоростью, поскольку перенапряжение велико.

Далее будет показано, что такие системы нельзя использовать в методах, основанных на измерении равновесного потенциала. Эти системы неудобны и для методов, основанных на измерении силы тока.

9.2.7. Классификация электрохимических методов

Существует много способов классификации электрохимических методов — от очень простых до очень сложных, включающих рассмотрение деталей электродных процессов. В табл. 9.1 дана классификация электрохимических методов анализа по природе измеряемого параметра электрохимической ячейки.

Таблица 9.1

Классификация электрохимических методов анализа по измеряемому параметру электрохимической ячейки

Измеряемый параметр	Условия измерения	Метод
Потенциал E , В	$I = 0$	Потенциометрия
Сила тока I , мкА	$I = f(E)$	Вольтамперометрия
Количество электричества Q , Кл	$I = \text{const}$ или $E = \text{const}$	Кулонометрия
Удельная электропроводность κ , $\text{См} \cdot \text{см}^{-1}$	I_{ω} (1 000 Гц)	Кондуктометрия
Масса m , г	$I = \text{const}$ или $E = \text{const}$	Электрогравиметрия

9.3. Потенциометрия

9.3.1. Ионселективные электроды

Потенциометрия основана на изучении зависимости равновесного потенциала ионселективного (мембранного) или металлического индикаторного электрода от активности (концентрации) определяемых ионов.

Для измерений необходим гальванический элемент из подходящего индикаторного электрода и электрода сравнения и прибор для измерения потенциала в условиях, близких к термодинамическим, т. е. без отвода заметного тока от гальванического элемента при замыкании цепи.

Согласно определению IUPAC: *ионселективные электроды* — это сенсоры (чувствительные элементы, датчики), потенциалы которых линейно зависят от десятичного логарифма активности определяемых ионов в растворе.

Важнейшей частью большинства ионселективных электродов является *полупроницаемая мембрана* — тонкая пленка, отделяющая внутреннюю часть электрода (внутренний раствор) от анализируемого раствора, проницаемая только для ионов одного знака заряда (либо катионов, либо анионов). Возникновение потенциала мембранного электрода обусловлено ионообменными процессами на границе раздела электрод — раствор, поэтому мембранные электроды в отличие от металлических обладают ионной проводимостью.

Способность мембраны быть проницаемой только для ионов определенного знака заряда обусловлена наличием ионогенных групп. Если мембрана контактирует с двумя растворами определяемого иона A^+ с активностями a_1 (внешний или анализируемый раствор) и a_2 (внутренний раствор), на обеих сторонах мембраны происходит обмен ионами. Схематически это демонстрирует рис. 9.11.

Из-за различия активностей ионов A^+ в растворе и мембране на обеих сторонах мембраны возникают *граничные потенциалы* E_1 и E_2 . Разность $(E_1 - E_2)$, зависящую от градиента активностей ионов A^+ , называют *мембранным потенциалом* E_M :

$$E_M = E_1 - E_2 = 0,059 \lg \frac{a_1}{a_2}.$$

Активность ионов A^+ во внутреннем растворе постоянна, поэтому

$$E_M = k + 0,059 \lg a_1.$$

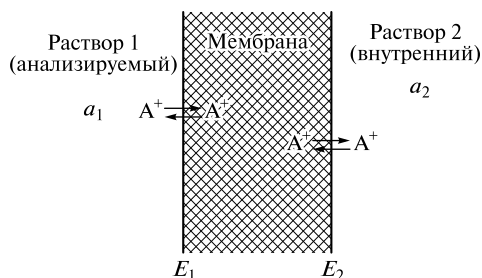
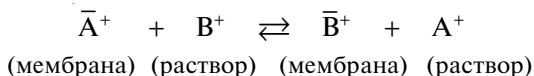


Рис. 9.11. Возникновение мембранного потенциала

Константа k зависит от природы мембраны. Из последнего уравнения вытекает очень важное следствие — мембранный потенциал линейно зависит от логарифма активности ионов A^+ в анализируемом растворе. Любая мембрана, к сожалению, проницаема не только для определяемых ионов, но в той или иной мере и для посторонних ионов того же знака заряда, находящихся в растворе. Поэтому необходимо учитывать влияние посторонних ионов на мембранный потенциал. Если в анализируемом растворе кроме ионов A^+ присутствуют, например, ионы B^+ , то они могут проникать в фазу мембраны в результате реакции обмена:



Константа равновесия этой реакции — *константа обмена* $K_{A/B}$ зависит от природы и мембраны, и ионов. Подвижности ионов A (u_A) и B (u_B) в фазе мембраны различны, поэтому возникает диффузионный потенциал, также вносящий определенный вклад в потенциал E_m .

Потенциал мембранного электрода в растворе, содержащем кроме определяемых ионов A посторонние ионы B , C и некоторые другие, описывается *уравнением Никольского*:

$$E_m = \text{const} + \frac{0,059}{z_A} \lg(a_A + k_{A,B} a_B^{z_A/z_B} + k_{A,C} a_C^{z_A/z_C} + \dots), \quad (9.1)$$

где z_A — целое число, по знаку и значению равное заряду иона A (зарядовое число); z_B , z_C — зарядовые числа ионов B , C ; a_A , a_B , a_C — активности ионов A , B , C ; $k_{A,B} = K_{A/B} u_B / u_A$ — потенциометрический коэффициент селективности, зависящий от природы мембраны ($K_{A/B}$) и природы ионов A и B (u_A , u_B); он характеризует способность мембраны отличать определяемый ион A от иона B и других посторонних ионов; $k_{A,C} = K_{A/C} u_C / u_A$.

Основные характеристики ионселективных электродов — электродная функция, селективность и время отклика.

Электрод отвечает *нернстовской электродной функции* в интервале, где наблюдается линейная зависимость потенциала от ра_A ($-\lg a_A$) с угловым коэффициентом $59,16/z_A$ мВ (температура 25°C). Протяженность этого интервала зависит от природы мембраны. При низких ($\sim 10^{-6}$ моль/л) концентрациях электрод не отвечает нернстовской электродной функции (рис. 9.12) и его потенциал пе-

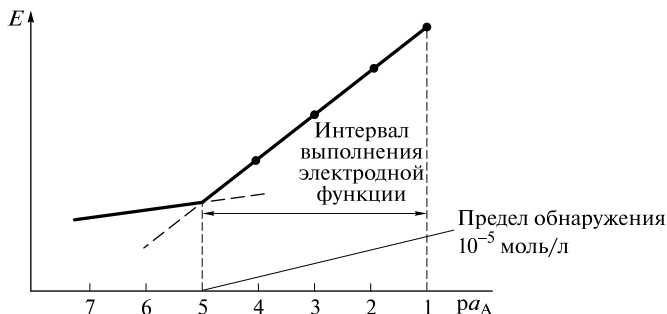


Рис. 9.12. Электродная функция $E = f(\text{ра}_A)$ ионселективного электрода

рестает зависеть от pA . Точка перегиба на графике, которую находят как точку пересечения линейных участков, характеризует минимальную определяемую концентрацию.

Селективность электрода определяется потенциометрическим коэффициентом селективности. Электрод селективен относительно ионов А, если $k_{A,B} < 1$. Чем меньше коэффициент $k_{A,B}$, тем выше селективность электрода.

Существует несколько способов оценки коэффициента $k_{A,B}$. Чаще других используют *метод смешанных растворов*, основанный на измерении потенциала электрода в растворах с постоянной активностью мешающих ионов В и переменной активностью определяемых ионов А. По точке пересечения линейных участков полученной зависимости (рис. 9.13, а) находят значение a_A и рассчитывают

$$k_{A,B} = a_A / a_B^{z_A/z_B}.$$

Иногда используют *метод отдельных растворов*, или *метод бионных потенциалов* (рис. 9.13, б), основанный на измерении потенциала электрода в растворах, содержащих только ионы А и только ионы В (кривые 1, 2 соответственно). По экспериментальным данным потенциометрический коэффициент селективности можно найти двумя способами:

1) по графику находят активности a_A , a_B , при которых электрод приобретает одинаковый потенциал в растворах А и В, и вычисляют

$$k_{A,B} = a_A / a_B;$$

2) находят потенциалы E_1 , E_2 , приобретаемые электродом в растворах с одинаковыми активностями ионов А и В, и вычисляют

$$\lg k_{A,B} = \frac{(E_2 - E_1)z_A}{0,059} + \left(1 - \frac{z_A}{z_B}\right) \lg a_A.$$

Метод отдельных растворов пригоден лишь для тех случаев, когда электрод отвечает нернстовской электродной функции. Он менее надежен, чем метод сме-

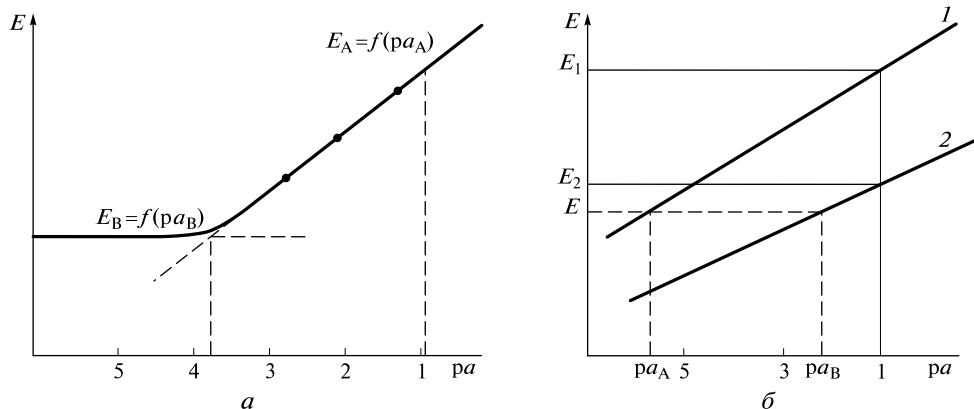


Рис. 9.13. Определение потенциометрического коэффициента селективности:

а — метод смешанных растворов ($a_B = \text{const}$); б — метод отдельных растворов
(1 — $a_B = 0$; 2 — $a_A = 0$)

шанных растворов, поскольку не учитывает реальные условия использования электрода.

Время отклика (время установления стационарного потенциала) находят по зависимости потенциала электрода от времени с момента погружения его в анализируемый раствор. В зависимости от природы мембраны оно может составлять от нескольких секунд до нескольких минут. Время отклика изменяется при переносе электрода в процессе измерений из более концентрированного раствора в более разбавленный, или наоборот. Для большинства электродов за 1 мин потенциал достигает 90 % максимального значения. Чем меньше время отклика, тем лучше, особенно при непрерывных измерениях в потоке или при автоматизированных измерениях.

9.3.2. Классификация ионселективных электродов

Согласно рекомендациям IUPAC различают три группы ионселективных электродов: первичные электроды, электроды с подвижными носителями и сенсibilизированные (активированные) электроды (табл. 9.2). В основу классификации положено различие природы электродно-активного вещества, применяемого для изготовления мембраны.

Первичные ионселективные электроды

К первичным ионселективным электродам относятся электроды с кристаллическими мембранами и электроды с жесткой матрицей.

Электроды с кристаллическими мембранами. Если электродно-активными веществами для изготовления мембран служат индивидуальные кристаллические соединения (LaF_3 , Ag_2S) или их гомогенные смеси ($\text{Ag}_2\text{S} + \text{AgCl}$, $\text{Ag}_2\text{S} + \text{CuS}$), получают электрод с гомогенной кристаллической мембраной. Известны электроды с гетерогенными кристаллическими мембранами. Для их изготовления электродно-активное вещество смешивают с инертной матрицей (силиконовой смолой) или наносят на гидрофобизованный графит.

Электрическая проводимость кристаллических мембран обусловлена способностью ионов решетки с наименьшим радиусом и зарядом перемещаться по вакансиям решетки. Для кристаллических мембран характерна высокая селективность, поскольку размер, форма и распределение зарядов вакансий решетки позволяют занять это место только определенным ионам. Малая растворимость электродно-активных веществ мембраны (LaF_3 , Ag_2S , $\text{Ag}_2\text{S} + \text{CuS}$) обеспечивает очень низкие пределы обнаружения.

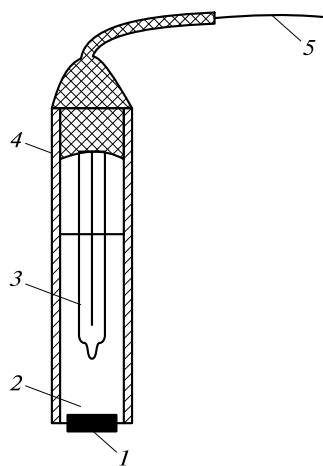
Превосходное кристаллическое электродно-активное вещество — сульфид серебра(I) Ag_2S . Он обладает низкой растворимостью ($K_s \sim 10^{-51}$), высокой устойчивостью к окислителям и восстановителям, низким электрическим сопротивлением. Мембрану можно изготовить из прессованного поликристаллического Ag_2S или из пластинки монокристалла. Благодаря низкому электрическому сопротивлению сульфид серебра(I) используют в качестве инертной токопроводящей матрицы для электрода, селективного по отношению к ионам Cu^{2+} (на основе гомогенной смеси CuS и Ag_2S), Pb^{2+} (на основе смеси Ag_2S и PbS).

Характеристики некоторых ионселективных электродов

Определяемый ион	Мембрана	Интервал выполнения электродной функции	Примечание
<i>Электроды с кристаллическими мембранами</i>			
F^-	LaF_3	$10^{-6}—10^1$ моль/л	$pH\ 4—8; k_{F^-, Cl^-, (Br^-, I^-, NO_3^-, SO_4^{2-})} \sim 10^{-3}$
Ag^+	Ag_2S	$10^{-7}—10^1$ моль/л	$pH\ 2—9; k_{Ag^+, Cu^{2+}} \sim 10^{-6}; k_{Ag^+, Pb^{2+}} \sim 10^{-11}$
Cu^{2+}	$CuS + Ag_2S$	$10^{-8}—10^1$ моль/л	$pH\ 0—14$; мешают ионы Ag^+ и Hg^{2+}
Br^-	$AgBr + Ag_2S$	$5 \cdot 10^{-6}—10^1$ моль/л	$pH\ 2—12; k_{Br^-, Cl^-} \sim 5 \cdot 10^{-3}; k_{Br^-, I^-} \sim 5 \cdot 10^3;$ $k_{Br^-, CN^-} = 10^2; k_{Br^-, OH^-} \sim 10^5$
<i>Электроды с жесткой матрицей (стеклянные)</i>			
H^+	Стекло состава $SiO_2—CaO—BaO—Cs_2O—Li_2O—La_2O_3$	$pH\ 0,5—1,0$	$k_{H^+, Na^+} = 10^{-13}$
Na^+	Стекло состава $Li_2O—B_2O_3—SiO_2$	$pH\ 0,5—11,0$	$k_{Na^+, K^+} = 10^{-3}$
<i>Электроды с подвижными носителями</i>			
Ca^{2+}	Дидодецилфосфат кальция	$10^{-5}—10^1$ моль/л	$pH\ 5,5—11; k_{Ca^{2+}, Mg^{2+}} = 1,4 \cdot 10^{-2}; k_{Ca^{2+}, Sr^{2+}} = 1,7 \cdot 10^{-2}$
K^+	Валиномицин	$10^{-5}—10^1$ моль/л	$pH\ 2—11; k_{K^+, Na^+} = 2,6 \cdot 10^{-4}; k_{K^+, Li^+} = 2,3 \cdot 10^{-4}$
NO_3^-	1,10-Фенантролилат никеля(II)	$10^{-5}—10^1$ моль/л	$pH\ 2—12; k_{NO_3^-, NO_2^-} = 6 \cdot 10^{-2}; k_{NO_3^-, Cl^-} = 6 \cdot 10^{-3};$ $k_{NO_3^-, PO_4^{3-}} = 3 \cdot 10^{-4}; k_{NO_3^-, F^-} = 9 \cdot 10^{-4}$

Рис. 9.14. Фторидселективный электрод:

1 — пластинка из LaF_3 ; 2 — внутренний стандартный раствор $\text{NaF} + \text{NaCl}$, насыщенный AgCl ; 3 — внутренний электрод сравнения; 4 — изоляция, 5 — токоотвод



Наиболее совершенным электродом с кристаллической мембраной является фторидселективный электрод (рис. 9.14) с мембраной из пластинки монокристалла LaF_3 , допированного BaF_2 или EuF_2 для повышения электропроводности за счет увеличения числа вакансий (дефектов решетки). Благодаря очень низкой растворимости фторида лантана электрод отвечает нернстовской электродной функции даже при активностях порядка $10^{-6} - 10^{-5}$ моль/л. Селективность электрода к ионам F^- в 1000 раз выше, чем к ионам Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , но всего в 10 раз выше, чем к ионам OH^- . Поэтому нернстовская электродная функция выполняется в интервале pH 4—7, оптимальный интервал pH 5,0—5,5. В более кислотной среде нернстовская электродная функция не выполняется из-за снижения активности ионов F^- в результате реакции $\text{F}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HF}$. В более щелочной среде на поверхности мембраны образуется слой $\text{La}(\text{OH})_3$ с растворимостью, близкой к растворимости LaF_3 . Поэтому в щелочной среде электрод реагирует на ионы OH^- , и нернстовская электродная функция не выполняется.

Электроды с кристаллическими мембранами можно изготовить без внутреннего раствора. Например, если при изготовлении хлоридселективного электрода на мембрану из гомогенной смеси $\text{AgCl} - \text{Ag}_2\text{S}$ последовательно нанести спрессованные слои $(\text{AgCl} + \text{Ag}_2\text{S} + \text{Ag})$ и $(\text{Ag}_2\text{S} + \text{Ag})$, то можно перейти от ионной проводимости мембраны к электронной проводимости металлического серебра и осуществить прямой контакт металлического проводника и мембраны. Такие электроды называют *твердотельными* (или *электродами с твердым контактом*); часто для работы они удобнее, чем электроды с внутренним раствором.

Электроды с жесткой матрицей. Это — стеклянные электроды. При изготовлении стеклянных мембран состав стекла можно подобрать так, чтобы мембрана проявляла повышенную селективность к определенным ионам и позволяла определять их в присутствии других ионов. Стеклянный электрод для измерения pH (рис. 9.15) был первым ионселективным электродом. В зависимости от назначения электрод может иметь разную форму и размер от крошечных стерженьков (для введения в полость зуба или даже в отдельную клетку) до шарика диаметром 10—15 мм (для лабораторных аналитических работ). В любом случае его главной частью является тонкая pH-чувствительная мембрана. Обычно ее делают из стекла, содержащего 22 % оксида натрия, 6 % оксида кальция и 72 % оксида кремния. Внутри шарика находится внутренний электрод сравнения Ag/AgCl и 0,1 М раствор HCl , насыщенный AgCl .

Поверхность стеклянной мембраны содержит фиксированные группировки $-\text{SiO}^-\text{Na}^+$. Чувствительной к ионам водорода мембрана становится только после

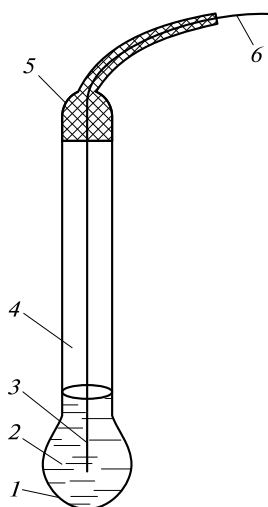


Рис. 9.15. Стеклянный электрод для измерения pH:
1 — стеклянная pH-чувствительная мембрана; 2 — 0,1 М раствор HCl, насыщенный AgCl; 3 — серебряная проволочка; 4 — стеклянная трубка; 5 — изоляция; 6 — токоотвод

длительного выдерживания ее в разбавленном водном растворе HCl. Это обусловлено тем, что на внешней стороне мембраны образуется тонкий ($\sim 10^{-4}$ мм) слой гидратированного геля — SiO^-H^+ (на внутренней стороне он уже есть!) за счет того, что протоны вытесняют ионы Na^+ из пустот слоя сухого стекла ($-\text{SiO}^-\text{Na}^+$). При движении в глубь мембраны число пустот, занятых ионами H^+ , уменьшается и увеличивается число пустот, занятых ионами Na^+ (в слое сухого стекла все пустоты заняты ионами Na^+). Специальными опытами с изотопами доказано, что ионы H^+ через слой сухого стекла ($\sim 10^{-1}$ мм) не проходят. Электропроводность стеклянной мембраны обусловлена тем, что ионы Na^+ способны перемещаться внутри пустот в слое сухого стекла на расстояние, равное нескольким ионным радиусам, и передавать полученную энергию соседним ионам Na^+ , что и создает ионную проводимость.

Потенциал стеклянного электрода описывается (25°C) уравнением

$$E = k + 0,059 \lg a_{\text{H}^+}, \quad (9.2)$$

т.е. электрод обладает водородной функцией. Константа k складывается из потенциалов внешнего и внутреннего электродов сравнения и потенциала асимметрии.

Потенциал асимметрии — небольшой, отличный от нуля потенциал, регистрируемый стеклянным электродом, даже если он помещен в раствор, идентичный внутреннему. Причиной его возникновения является неоднородность внешней и внутренней поверхностей мембраны, возникающая за счет растяжения, сжатия, улетучивания некоторых компонентов стекла с внешней поверхности уже

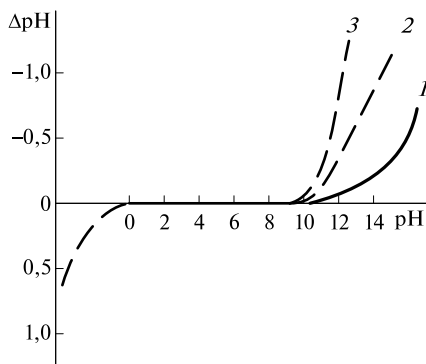
Таблица 9.3

**Буферные растворы, рекомендуемые IUPAC
для градуирования стеклянного pH-электрода (температура 25°C)**

Состав буферного раствора	pH
Гидротартрат калия (насыщенный раствор)	3,557
Гидротартрат калия (0,05 М)	3,776
Гидрофталат калия (0,05 М)	4,004
$\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{NaH}_2\text{PO}_4$ (0,025 М)	6,863
KH_2PO_4 (0,008695 М) + NaH_2PO_4 (0,0343 М)	7,415
$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (0,01 М)	9,183
$\text{NaHCO}_3 + \text{Na}_2\text{CO}_3$ (0,025 М)	10,014

Рис. 9.16. Погрешности измерения pH стеклянным электродом в зависимости от состава стекла, из которого изготовлены мембраны:

1 — Бекман Е; 2 — Бекман GP; 3 — Корнинг 015



при изготовлении электрода. Внешняя поверхность мембраны продолжает изменяться в процессе эксплуатации электрода: она дегидратируется, если электрод хранят на воздухе, подвергается механическому и химическому воздействию, загрязняется компонентами раствора. Потенциал асимметрии медленно изменяется во времени и может составлять порядка 1 единицы pH, поэтому правильные результаты получают только при регулярной настройке шкалы прибора по стандартным буферным растворам с известным pH. Иногда для этого достаточно одного буферного раствора, но для точных измерений надежнее использовать два. Для рекомендуемых IUPAC буферных растворов (табл. 9.3) характерна внутренняя согласованность: если шкалу прибора настроили с помощью электрода, помещенного в буферный раствор с pH 3,557, то в растворе тетрабората натрия «работоспособный» электрод должен показать pH 9,183.

Стеклянный электрод пригоден для измерения в ограниченном интервале pH, зависящем от состава стекла (рис. 9.16). Предполагают, что неправильные результаты в сильноокислых растворах обусловлены разрушением стекла. Знак погрешности измерения pH в щелочных растворах указывает на то, что электрод реагирует не только на ионы H^+ , но и на ионы щелочных металлов. Возникающая за счет этого погрешность зависит от состава стекла ($K_{H/M}$) и природы катиона (u_{M^+}), что следует из уравнения

$$E = \text{const} + 0,059 \lg \left(a_{H^+} + K_{H/M} \frac{u_{M^+}}{u_{H^+}} a_{M^+} \right). \quad (9.3)$$

Для хороших электродов $k_{H,M} \sim 10^{-12}$ и влияние ионов щелочных металлов проявляется лишь в сильнощелочной среде (при pH 11 — 12 в 1 М растворе NaCl погрешность составляет $-0,2$ единиц pH).

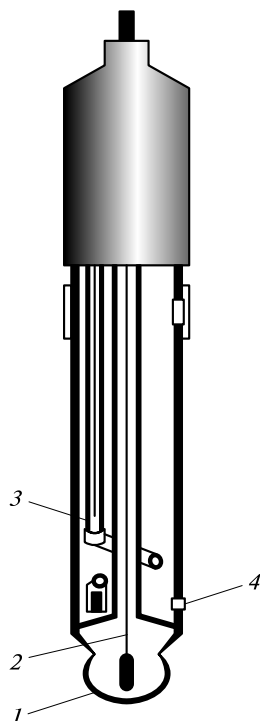


Рис. 9.17. Комбинированный электрод для измерения pH:

1 — стеклянная мембрана; 2 — внутренний электрод Ag/AgCl; 3 — электрод сравнения; 4 — отверстие для контакта электрода сравнения с анализируемым раствором

Из уравнения (9.3) следует, что, изменяя состав стекла, можно изготовить мембраны, обладающие пониженной селективностью к ионам H^+ и высокой селективностью к ионам M^+ . Имеются электроды серийного изготовления для определения ионов Na^+ , K^+ , NH_4^+ .

В настоящее время выпускают *комбинированные электроды* для измерения рН. Это — датчик, в корпус которого вмонтированы и рН-чувствительный стеклянный электрод, и внешний хлоридсеребряный электрод сравнения с двойным солевым мостиком. Каждый из них снабжен токоотводом. Контакт электрода сравнения с анализируемым раствором осуществляется через пористую керамику (рис. 9.17). Комбинированные электроды пригодны для измерения рН растворов малых объемов, их часто используют вместо традиционной пары электродов.

Ионселективные электроды на основе мембран с подвижными носителями¹

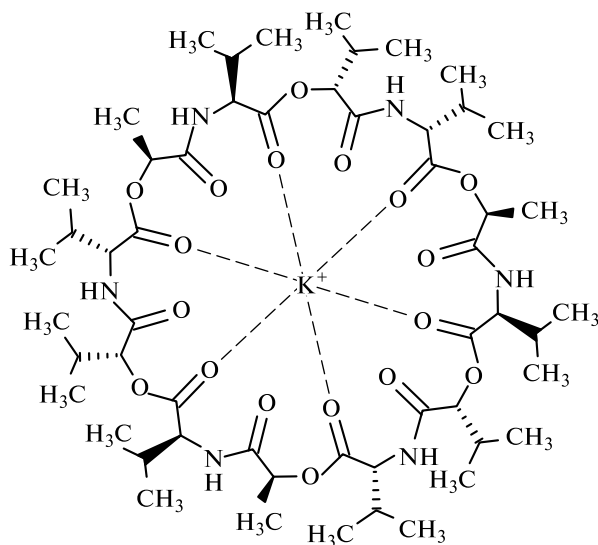
Ионселективные электроды с подвижными носителями имеют жидкие мембраны — слой несмешивающегося с водой жидкого ионообменника или нейтрального переносчика в органическом растворителе, удерживаемый на пористом полимере (рис. 9.18). На характеристики таких электродов влияет природа не только электродно-активного вещества, но и органического растворителя. Так, если электродно-активное вещество — кальциевую соль эфира фосфорной кислоты $[(\text{RO}_2)_2\text{POO}]_2\text{Ca}$ растворить в диоктилфенилфосфонате, то электрод пригоден для определения ионов Ca^{2+} в присутствии 100-кратных количеств ионов Mg^{2+} . Если же растворителем является деканол-1, электрод не различает ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} , но с его помощью можно определять постоянную жесткость воды.

Современные конструкции таких электродов выполняют на основе пластифицированных мембран. Для их изготовления электродно-активное вещество смешивают в определенных пропорциях с летучим органическим растворителем, полимерным связующим, например поливинилхлоридом, и пластификатором. После испарения растворителя из полученной пленки вырезают диск нужного диаметра и приклеивают к тефлоновому корпусу.

Электроды с хорошими характеристиками можно сделать, используя в качестве электродно-активных веществ ионные ассоциаты определяемых ионов с большими органическими катионами или анионами. Высокоселективные мембраны можно изготовить на основе таких макроциклических соединений, как краун-эфиры, каликс[*n*]арены и их ациклические аналоги, образующих с определяемыми ионами комплексы «гость — хозяин». Основной их особенностью являются многоцентровые взаимодействия без образования ковалентных связей. Комплекс образуется за счет водородных связей, ион-ионных и ион-дипольных взаимодействий. Селективность мембраны определяется электронным и стерическим соответствием переносчика — «хозяина» и определяемого иона — «гостя».

Одним из лучших электродов этого типа является К-селективный электрод с мембраной на основе нейтрального переносчика валиномицина:

¹ В данном подразделе использованы материалы, любезно предоставленные Н. В. Шведене.



Циклическая молекула валиномицина состоит из фрагментов *L*- и *D*-валина, *L*-молочной и *D*-гидроксивалериановой кислот. Размер циклической полости (0,27—0,33 нм) очень близок к диаметру иона K^+ (~0,27 нм), поэтому он, в отличие от ионов Na^+ или Li^+ меньшего размера, прочно удерживается в полости за счет ион-дипольных взаимодействий с атомами кислорода карбоксильных групп. Константа устойчивости комплекса K^+ —валиномицин $\sim 10^6$, а комплекса Na^+ —валиномицин всего 10^1 . Электрод пригоден для определения ионов K^+ в присутствии 10^4 -кратного количества ионов Na^+ .

Существует несколько моделей переноса определяемых ионов через мембрану с помощью нейтрального переносчика. Согласно одной из них через мембрану диффундирует комплекс, который образовался на поверхности мембраны, контактирующей с более концентрированным (внешним или внутренним) раствором. Достигнув противоположной стороны мембраны, комплекс диссоциирует и определяемые ионы переходят в более разбавленный раствор. На рис. 9.19 эта модель схематически представлена на примере комплекса ионов K^+ с валиномицином.

В некоторых случаях нейтральные переносчики транспортируют определяемые ионы (гидрофобные, большие органические) в основном лишь в поверхностных слоях мембраны, диффузия в глубь мембраны незначительна. Возможен эстафетный механизм — переносчики, расположившись поперек мембраны, об-

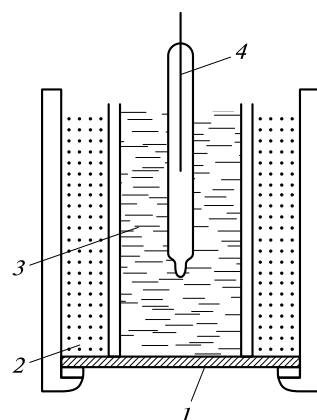


Рис. 9.18. Ионселективный электрод с жидкой мембраной (с подвижным носителем):

1 — мембрана; 2 — ионит; 3 — внутренний стандартный раствор; 4 — внутренний электрод сравнения

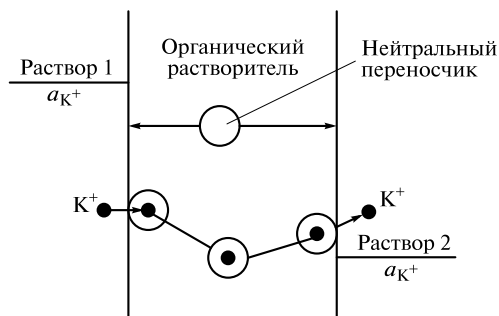


Рис. 9.19. Схема переноса ионов K^+ через мембрану с нейтральным переносчиком

разуют фиксированные цепи, а ионы, перескакивая от одного переносчика к другому, пересекают мембрану вдоль этих цепей.

Сенсибилизированные (активированные) ионселективные электроды

К сенсибилизированным (активированным) ионселективным электродам относятся газочувствительные и ферментные электроды.

Газочувствительные электроды — это датчики, объединяющие индикаторный электрод и электрод сравнения и имеющие газопроницаемую мембрану или воздушный зазор для отделения анализируемого раствора от тонкой пленки промежуточного раствора электролита. При взаимодействии электролита с определяемым газом изменяется какой-либо параметр промежуточного раствора, например pH, и это фиксирует ионселективный электрод. Отклик пропорционален парциальному давлению определяемого газа. Схема газочувствительного электрода

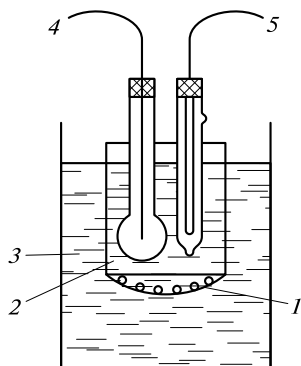


Рис. 9.20. Газочувствительный электрод для определения аммиака:

1 — гидрофобная газопроницаемая мембрана; 2 — внутренний раствор электролита; 3 — анализируемый раствор; 4 — аммонийселективный электрод; 5 — электрод сравнения

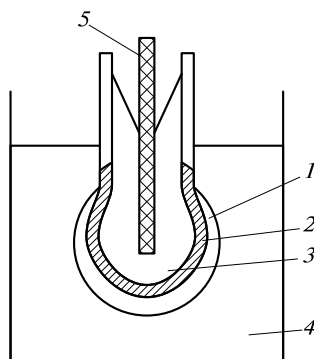


Рис. 9.21. Ферментный электрод для определения мочевины:

1 — гель, содержащий фермент уреазу; 2 — стеклянная мембрана, селективная по отношению к ионам NH_4^+ ; 3 — внутренний стандартный раствор, содержащий ионы NH_4^+ ; 4 — субстрат; 5 — внутренний электрод сравнения

Применение газочувствительных электродов

Определяемый газ	Индикаторный электрод	pH исследуемого раствора	Состав внутреннего раствора	Предел обнаружения, моль/л
CO ₂	Стекланный pH-чувствительный	< 4	10 ⁻² М NaHCO ₃ + 10 ⁻² М NaCl	10 ⁻⁵
NH ₃	То же	> 12	10 ⁻² М NH ₄ Cl + 10 ⁻¹ М KNO ₃	10 ⁻⁶
SO ₂	»	< 0,7	10 ⁻³ М NaHSO ₃ , pH 5	5 · 10 ⁻⁶
HF	Фторидселективный	< 2	1 М Н ⁺	10 ⁻⁸
H ₂ S	Сульфидселективный	< 5	Цитратный буферный раствор, pH 5	10 ⁻⁷

дана на рис. 9.20; в табл. 9.4 приведены примеры использования газочувствительных электродов.

Ферментные электроды — это датчики, в которых ионселективный электрод покрыт пленкой, содержащей фермент, способный вызвать реакцию органического или неорганического вещества (субстрата) с образованием ионов или молекул, на которые реагирует электрод. В основе работы электрода лежит ферментативная реакция:



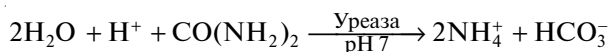
В результате такой реакции образуются ионы или молекулы, обуславливающие отклик электрода. Поэтому за изменением концентрации можно проследить с по-

Таблица 9.5

Применение ферментных электродов

Субстрат	Фермент	Электрохимически активная частица	Индикаторный электрод
Пенициллин	Пенициллиназа	H ⁺	Стекланный pH-чувствительный
Мочевина	Уреаза	NH ₄ ⁺	Стекланный NH ₄ ⁺ -чувствительный
		NH ₃	NH ₃ -газовый
Муравьиная кислота	Алкогольоксидаза	CO ₂	CO ₂ -газовый
Глюкоза	Глюкозооксидаза	H ⁺	Стекланный pH-чувствительный
Фосфат-ионы	Щелочная фосфатаза	O ₂	Платиновый

мощью ионселективного электрода. Селективность ферментных электродов очень высока, поскольку каждый фермент катализирует только определенную реакцию. На рис. 9.21 дана схема ферментного электрода для определения мочевины по ферментативной реакции



В табл. 9.5 приведены примеры использования ферментных электродов.

Металлические электроды

Различают активные и инертные металлические электроды. *Активные металлические электроды* изготавливают из металлов (Ag, Pb, Cu, Cd), образующих восстановленную форму обратимой окислительно-восстановительной системы. Потенциал таких электродов является функцией активности собственных ионов в растворе, например для серебряного индикаторного электрода ($\text{Ag}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}$) имеем

$$E = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^\circ + 0,059 \lg a_{\text{Ag}^+}.$$

Такие электроды называют *электродами первого рода*.

В присутствии анионов, образующих с ионами Ag^+ малорастворимое соединение (AgCl , AgBr и др.), потенциал серебряного электрода зависит от активности анионов. Например, в растворе, содержащем ионы Cl^- , потенциал серебряного электрода зависит от активности ионов Cl^- :

$$E = E_{\text{AgCl}/\text{Ag}, \text{Cl}^-}^\circ - 0,059 \lg a_{\text{Cl}^-},$$

где

$$E_{\text{AgCl}/\text{Ag}, \text{Cl}^-}^\circ = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^\circ + 0,059 \lg K_{s, \text{AgCl}}.$$

Этот электрод можно применить для определения ионов Cl^- . Такие электроды называют *электродами второго рода*.

Потенциалы электродов второго рода при достаточно большой площади поверхности и постоянной концентрации анионов хорошо воспроизводятся, поэтому их основное назначение — служить электродами сравнения (хлоридсеребряный и каломельный электроды сравнения).

Инертные металлические электроды изготавливают из благородных металлов (Pt, Au). Они служат переносчиками электронов от восстановленной формы к окисленной. Поскольку их потенциалы зависят от соотношения активностей окисленной и восстановленной форм, их используют для индикации конечной точки окислительно-восстановительного титрования.

9.3.3. Измерение потенциала ионселективного электрода

Ячейка для измерения потенциала ионселективного электрода схематически изображена на рис. 9.22. Как правило, такие ячейки имеют очень высокое ($\sim 10^8$ Ом) сопротивление. Для измерения потенциала необходим электронный

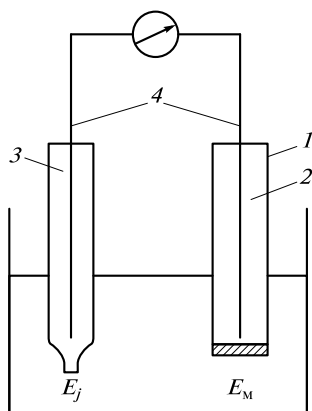


Рис. 9.22. Схема ячейки для измерения потенциала ионселективного электрода: 1 — ионселективный электрод; 2 — внутренний раствор А ($a_A = \text{const}$) + KCl, насыщенный AgCl; 3 — электрод сравнения Ag/AgCl; 4 — серебряная проволока

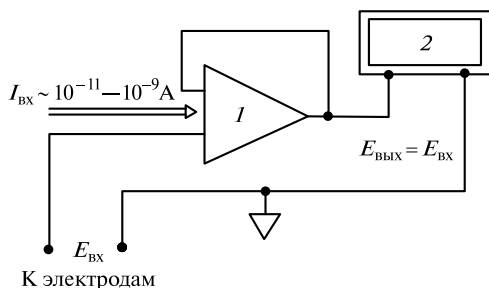


Рис. 9.23. Схема установки для измерения потенциала с помощью иономера (рН-метра):

1 — электронный усилитель тока; 2 — вольтметр цифровой или со шкалой, калиброванной в милливольтках и единицах рН

вольтметр с входным сопротивлением на несколько порядков выше сопротивления ячейки. В противном случае от ячейки будет отводиться заметный ток и измеренный потенциал будет значительно отличаться от равновесного. В аналитических лабораториях используют серийно выпускаемые цифровые вольтметры или вольтметры со шкалой, калиброванной в милливольтках и единицах рН. Эти приборы, называемые *иономерами* (или *рН-метрами*), имеют входное сопротивление $10^{11} - 10^{12}$ Ом (рис. 9.23).

9.3.4. Ионометрия

Метод прямой потенциометрии, где индикаторным электродом служит ионселективный электрод, называют *ионометрией*. Это — удобный, простой и экспрессный современный метод: продолжительность анализа определяется временем подготовки пробы, поскольку на само измерение тратится не более 1 — 2 мин. От других физико-химических методов ионометрия отличается прежде всего простотой методик и дешевизной измерительных приборов. Современные портативные иономеры позволяют определять разнообразные ионы и растворенные газы не только в лаборатории, но и в полевых условиях.

Уравнение для метода прямой потенциометрии, связывающее измеренный потенциал электрода E и pA , можно получить из выражений

$$E = E_{э.ср} - E_{и.э} + E_j, \quad E_{и.э} = k + s \lg a_A,$$

где E — измеренный потенциал; $E_{э.ср}$ — потенциал электрода сравнения; $E_{и.э}$ — потенциал ионселективного электрода; E_j — диффузионный потенциал; s — угловой коэффициент (крутизна) электродной функции, равный $0,059/z_A$ (25 °С).

Решая систему уравнений, получаем

$$pA = -\lg a_A = \frac{E - K'}{s}, \quad (9.4)$$

где константа K' включает постоянную k , потенциалы внешнего и внутреннего электродов сравнения и неизвестное значение E_j , поэтому ее нужно либо оценить, либо исключить.

Для этого используют метод калибровки электрода, метод градуировочного графика или метод добавок.

Самый быстрый и простой — *метод калибровки электрода*. Чтобы оценить константу K' , достаточно измерить потенциал электрода в растворе с известным pA . Недостатки метода: необходимо принимать найденную по уравнению (9.4) активность равной концентрации (коэффициент активности неизвестен!) и полагать неизменным значение K' во всех дальнейших измерениях.

При построении *градуировочного графика* во все стандартные и анализируемые растворы вводят одинаковый избыток индифферентного электролита для выравнивания ионной силы и по измеренному потенциалу находят искомую концентрацию

$$E_{и.э} = k + s \lg C_A.$$

Более надежен, особенно при анализе растворов сложного состава, *метод добавок*, основанный на измерении потенциала электрода в анализируемом растворе (E_1) и после введения в него известного объема стандартного раствора (E_2). Поскольку

$$-\lg C_A \alpha_A = \frac{z_A(E_1 - K')}{0,059},$$

$$-\lg \frac{C_A V_A + C_{ст} V_{ст}}{V_A + V_{ст}} \gamma_A = \frac{z_A(E_2 - K')}{0,059},$$

то

$$C_A = \frac{C_{ст} V_{ст}}{V_A + V_{ст}} \left(10^{\frac{z_A(E_2 - E_1)}{0,059}} - \frac{V_A}{V_A + V_{ст}} \right)^{-1},$$

где C_A — молярная концентрация ионов А; α_A — мольная доля ионов А; z_A — заряд иона А; V_A , $V_{ст}$ — объем раствора, содержащего ионы А, и объем стандартного раствора соответственно; $C_{ст}$ — молярная концентрация стандартного раствора; γ_A — коэффициент активности ионов А.

9.3.5. Потенциометрическое титрование

Зависимость равновесного потенциала индикаторного электрода от состава раствора, описываемую уравнением Нернста, можно использовать для нахождения конечной точки титрования. Для этого измеряют потенциал после добавления каждой порции титранта. Сначала титрант добавляют порциями по 1 мл и находят объем, при котором наблюдается резкое изменение потенциала (*скачок титрования*), затем проводят второе титрование — точное. Прибавив сразу почти весь установленный объем титранта (на 1,0 — 1,5 мл меньше), далее добавля-

Рис. 9.24. Графический способ нахождения конечной точки титрования:

a — интегральная кривая; b — первая производная; $в$ — вторая производная ($V_{\text{к.т.т}}$ — объем титранта, добавленного для достижения конечной точки титрования)

ют титрант маленькими порциями (по 0,10 мл из микробюретки или по 2—4 капли из обычной бюретки) до достижения резко-го изменения потенциала и еще некоторый избыток. Экспериментальные данные обычно представляют в виде таблицы, где для каждого значения объема добавленного титранта V указан соответствующий равновесный потенциал E электрода. Из экспериментальных данных методом численной интерполяции (вычислив значения $\Delta E/\Delta V$ или $\Delta^2 E/\Delta V^2$) можно найти объем титранта, затраченного до достижения конечной точки титрования. По полученным данным можно построить кривую титрования в интегральной форме, в виде первой и второй производных (рис. 9.24)

и найти конечную точку титрования графически. Во всех этих случаях полагают, что кривая титрования симметрична относительно точки эквивалентности, поскольку за конечную точку титрования принимают точку, в которой угол наклона кривой титрования к горизонтальной оси максимален. Если скачок титрования большой, то погрешность при невыполнении этого допущения невелика.

Существует способ обработки данных титрования (способ Грана) без использования точки максимального наклона кривой титрования. Экспериментальные данные преобразуют в функции, дающие линейную зависимость от объема титранта. Этот способ позволяет получить более точные результаты для тех случаев, когда скорость изменения p -функции вблизи точки эквивалентности мала и кривая титрования выражена плохо.

Пример. Рассмотрим пример использования способа Грана для обработки результатов титрования $2 \cdot 10^{-4}$ М раствора NaCl $2 \cdot 10^{-3}$ М раствором AgNO_3 (рис. 9.25). Кривая титрования I выражена плохо и отыскать точку максимального наклона кривой трудно.

Вблизи точки эквивалентности индикаторный серебряный электрод при титровании ионов Cl^- является электродом второго рода:

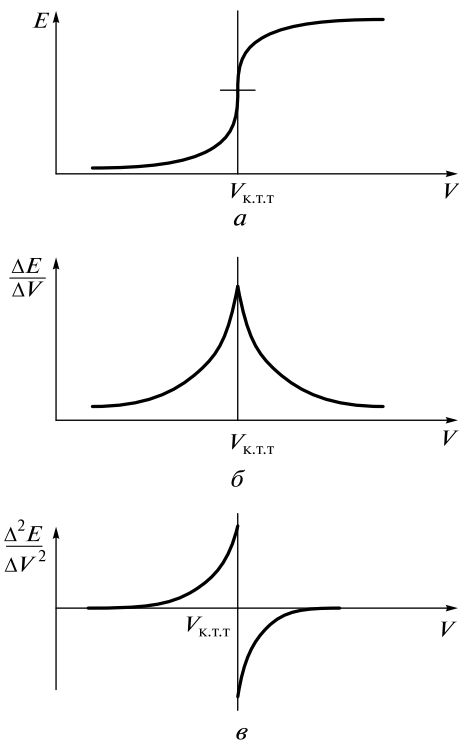
$$E_{\text{изм}} = E_{\text{AgCl/Ag, Cl}^-}^{\circ} - 0,059 \lg[\text{Cl}^-] - E_{\text{н.к.э}},$$

тогда

$$\lg[\text{Cl}^-] = -16,9 E_{\text{изм}} + K',$$

где $E_{\text{изм}}$ — измеренное значение потенциала; $E_{\text{н.к.э}}$ — потенциал насыщенного каломельного электрода; $K' = (E_{\text{AgCl/Ag, Cl}^-}^{\circ} - E_{\text{н.к.э}})/0,059$; $16,9 = 1/0,059$.

Следовательно



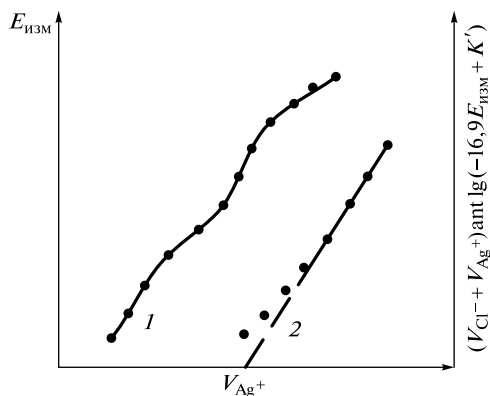


Рис. 9.25. Кривая титрования $2 \cdot 10^{-4}$ М раствора NaCl $2 \cdot 10^{-3}$ М раствором AgNO_3 (1) и соответствующий график Грана (2)

$$[\text{Cl}^-] = \text{antlg}(-16,9E_{\text{изм}} + K').$$

С другой стороны, до точки эквивалентности равновесную концентрацию ионов Cl^- можно рассчитать по формуле

$$[\text{Cl}^-] = \frac{V_{\text{Cl}^-} C_{\text{Cl}^-} - V_{\text{Ag}^+} C_{\text{Ag}^+}}{V_{\text{Cl}^-} + V_{\text{Ag}^+}}.$$

Объединяя последние две формулы, получаем

$$V_{\text{Cl}^-} C_{\text{Cl}^-} - V_{\text{Ag}^+} C_{\text{Ag}^+} = (V_{\text{Cl}^-} + V_{\text{Ag}^+}) \text{antlg}(-16,9E_{\text{изм}} + K').$$

В полученном выражении все величины постоянные кроме $E_{\text{изм}}$ и V_{Ag^+} , поэтому график зависимости $(V_{\text{Cl}^-} + V_{\text{Ag}^+}) \text{antlg}(-16,9E_{\text{изм}} + K')$ от V_{Ag^+} будет линейным (см. рис. 9.25, кривая 2). В непосредственной близости от точки эквивалентности линейная зависимость нарушается, и искривление графика наблюдается тем раньше, чем менее полно протекает реакция. В точке эквивалентности $V_{\text{Cl}^-} C_{\text{Cl}^-} = V_{\text{Ag}^+} C_{\text{Ag}^+}$, поэтому

$$(V_{\text{Cl}^-} + V_{\text{Ag}^+}) \text{antlg}(-16,9E_{\text{изм}} + K') = 0.$$

Экстраполяцией линейного участка графика функции находим точку на оси $(V_{\text{Cl}^-} + V_{\text{Ag}^+}) \text{antlg}(-16,9E_{\text{изм}} + K')$ с ординатой, равной нулю. Абсцисса этой точки и дает искомый объем титранта V_{Ag^+} .

Известен другой прием — титрование до заданного потенциала. Если есть возможность оценить потенциал в конечной точке титрования (это легко сделать, записав предварительно кривую титрования с помощью автотитратора), можно им воспользоваться.

В потенциометрическом титровании применяют реакции кислотно-основные, окисления-восстановления, комплексообразования и процессы осаждения, протекающие стехиометрически, быстро и количественно.

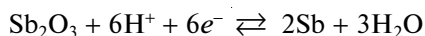
Для кислотно-основного титрования в качестве индикаторного применим любой электрод с водородной функцией. Главный из них — стеклянный электрод подробно описан в подразд. 9.3.2.

Водородный электрод. Зависимость потенциала водородного электрода в интервале рН 0—14 при температуре 25 °С описывается уравнением

$$E = -0,059 \text{ рН} + \text{const.}$$

В аналитических лабораториях его практически не применяют из-за сложности работы — нужен высокочистый водород.

Сурьмяный электрод. Этот металлоксидный электрод пригоден для измерения рН в интервале 3—10. Согласно полуреакции



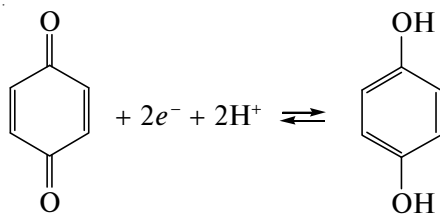
в указанном интервале рН потенциал электрода равен

$$E = k' - 0,059 \text{ рН},$$

где k' — константа, определяемая экспериментально для каждого конкретного электрода.

Сурьмяный электрод применяют редко — мешают окислители (кислород), восстановители (сероводород), ионы тяжелых металлов. Он удобен для работы в полевых условиях, например для измерения рН почвы.

Хингидронный электрод. Электрод состоит из платиновой пластинки, погруженной в насыщенный хингидроном (молекулярный комплекс хинона и гидрохинона 1 : 1) раствор. Потенциал платинового электрода в этих условиях согласно полуреакции



описывается при температуре 25 °С уравнением

$$E = 0,7044 - 0,059 \text{ рН}.$$

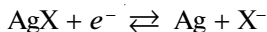
В сильнокислотной среде хингидронный электрод дает более точные и надежные результаты, чем стеклянный электрод, но при рН > 9 для измерения рН не пригоден — гидрохинон окисляется растворенным кислородом и нарушается необходимое соотношение 1 : 1. Мешают окислители и восстановители, реагирующие с хиноном и гидрохиноном.

Платиновый электрод. Этот электрод служит индикаторным в окислительно-восстановительном титровании. Величина скачка зависит от разности формальных потенциалов полуреакций. Для получения четкого скачка потенциала желательно, чтобы хотя бы одна из полуреакций была обратимой. При титровании не рекомендуется измерять потенциал до прибавления титранта и вблизи точки эквивалентности, так как в эти моменты из-за отсутствия одной из форм (окисленной или восстановленной) полуреакции образуется смешанная окисли-

тельно-восстановительная пара, где роль отсутствующей окисленной формы выполняет растворенный кислород, а роль отсутствующей восстановленной формы — вода. Приобретаемый электродом смешанный потенциал неустойчив и его трудно измерить.

Серебряный электрод. В осадительном титровании, например при титровании галогенид-ионов раствором нитрата серебра(I), серебряный электрод используют в качестве индикаторного.

До точки эквивалентности потенциал электрода в соответствии с уравнением

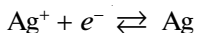


зависит от активности галогенид-ионов:

$$E = E_{\text{AgX}/\text{Ag},\text{X}^-}^\circ - 0,059 \lg a_{\text{X}^-},$$

и серебряный электрод является электродом второго рода.

После точки эквивалентности при избытке ионов Ag^+ потенциал электрода в соответствии с полуреакцией



зависит от активности собственных ионов

$$E = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^\circ + 0,059 \lg a_{\text{Ag}^+},$$

и серебряный электрод является электродом первого рода. Величина скачка зависит от растворимости образующегося осадка. Можно провести дифференцированное титрование смеси ионов Cl^- , Br^- , I^- .

Потенциометрическое титрование имеет ряд преимуществ перед прямой потенциометрией и титриметрией с визуальными индикаторами. В отличие от прямой потенциометрии правильность измерения потенциала не зависит от наличия диффузионного потенциала, его влияние проявляется лишь в смещении кривой титрования по оси потенциалов. Кроме того, не нужно знать коэффициент активности определяемых ионов.

К числу преимуществ перед титрованием с визуальными индикаторами относятся, прежде всего, исключение субъективных ошибок, возможность анализа мутных и окрашенных растворов, документальность и сравнительно легкая автоматизация. Основное преимущество заключается в возможности дифференцированного титрования компонентов смеси. Сочетание преимущества инструментального фиксирования конечной точки титрования с дифференцирующим эффектом органического растворителя, например метилизобутилкетона, позволяет зафиксировать отдельные скачки титрования для смеси пяти (!) кислот — хлорной, соляной, салициловой, уксусной и фенола, что совершенно невозможно сделать с помощью индикаторов.

9.4. Кулонометрия

9.4.1. Основы метода

Кулонометрия основана на измерении количества электричества, затраченного либо на превращение определяемого вещества под действием электрического

тока (*прямая кулонометрия*), либо на получение титранта, участвующего в химической реакции с определяемым веществом (*косвенная кулонометрия*). Это высокочувствительный, безэталонный и поэтому очень точный метод анализа.

Основатель метода М. Фарадей в 1834 г., используя фундаментальные законы сохранения массы вещества и энергии, сформулировал два закона электролиза.

1. Количество электропревращенного (восстановленного или окисленного) в процессе электролиза вещества прямо пропорционально количеству прошедшего электричества.

2. Массы различных веществ, выделенных на электроде или растворенных с поверхности электрода при прохождении одного и того же количества электричества, пропорциональны их электрохимическим эквивалентам.

Электрохимический эквивалент — это масса вещества, выделившегося на электроде (или растворившегося с электрода) в процессе электролиза при протекании единицы количества электричества, т. е. одного кулона (1 Кл).

Суть законов Фарадея заключается в том, что для выделения одного моля эквивалентов любого вещества в процессе электролиза необходимо затратить одно и то же количество электричества, называемое *числом Фарадея* (F):

$$F = \frac{QM}{mn} \eta, \quad (9.5)$$

где Q — количество электричества (It), необходимое для выделения на электроде m граммов вещества молярной массой эквивалента, равной M/n (M — молярная масса определяемого вещества; n — число электронов, участвующих в электродной реакции); η — эффективность тока, или выход по току (отношение экспериментально найденной массы вещества, выделенного в процессе электролиза, к теоретической).

Результаты нахождения массы вещества по измеренному количеству электричества будут достоверными, если стехиометрия электрохимической реакции с его участием известна и на электроде протекает только эта реакция, т. е. если обеспечен 100%-й выход по току.

Необходимо устранить конкурирующие реакции, в которых могут участвовать растворитель, материал электрода, компоненты анализируемого раствора, продукты электролиза, вступающие во вторичные электродные реакции. Как это сделать в прямой и косвенной кулонометрии, подробно обсуждается далее.

Помимо аналитических целей (вычисление массы m определяемого компонента) формула (9.5) пригодна и для установления стехиометрии реакции (вычисление n), молярной массы M , если известны другие параметры. Это позволяет использовать кулонометрию и как метод исследования.

9.4.2. Измерение количества электричества

Единицами количества электричества служат кулон (Кл) и фарадей (Ф). *Кулон* — это количество электричества, переносимое за 1 с при постоянном токе 1 А, т. е. $1 \text{ Кл} = 1 \text{ А} \cdot \text{с}$. *Фарадей* — это количество электричества, вызывающее электрохимическое превращение одного моля эквивалентов вещества. Один фарадей равен $6,02 \cdot 10^{23}$ электронов, или 96 487 Кл.

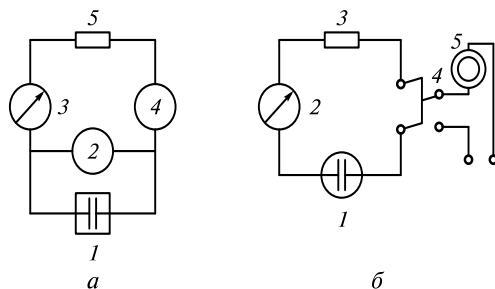


Рис. 9.26. Схемы установок для кулонометрических измерений:

а — при $E = \text{const}$ (*1* — ячейка; *2* — вольтметр; *3* — амперметр; *4* — кулонометр; *5* — потенциостат); *б* — при $I = \text{const}$ (*1* — ячейка; *2* — амперметр; *3* — источник постоянного тока; *4* — ключ для подключения электрохронометра; *5* — электрохронометр)

При выполнении анализа затраченное количество электричества измеряют либо при силе тока $I = \text{const}$ (*гальваностатическая кулонометрия*), либо при потенциале $E = \text{const}$ (*потенциостатическая кулонометрия*). Схемы установок даны на рис. 9.26.

При проведении электролиза при постоянной силе тока (*косвенная гальваностатическая кулонометрия*) количество электричества Q , прошедшее за время электролиза t_3 , равно $Q = It_3$, так как интеграл постоянного тока по времени представляет собой произведение силы тока на отрезок времени. Современные приборы позволяют очень точно контролировать даже небольшие токи, поэтому нужно лишь максимально точно измерить время электролиза. Сделать это можно с помощью электрохронометра, включенного в цепь ячейки (см. рис. 9.26, *б*).

В процессе электролиза при $E = \text{const}$ сила тока изменяется во времени (рис. 9.27), поэтому необходим автоматический потенциостат с устройством для считывания тока, которое фиксирует зависимость $I = f(t)$ и передает ее на электронный интегратор тока (см. рис. 9.26, *а*). Цифровой счетчик показывает количество кулонов электричества, затраченного на электропревращение определяемого вещества за время от t_0 до t_3 .

Можно использовать химические интеграторы тока, или кулонометры. *Кулонометр* — это электролитическая ячейка, в которой при замыкании цепи со

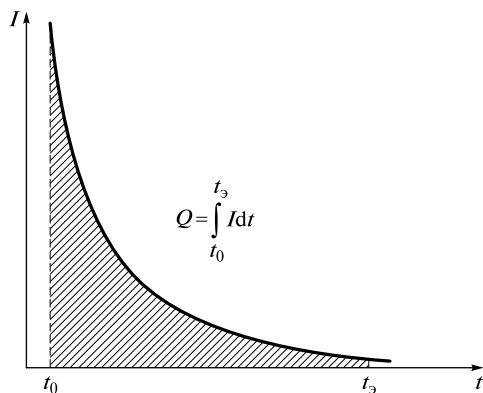
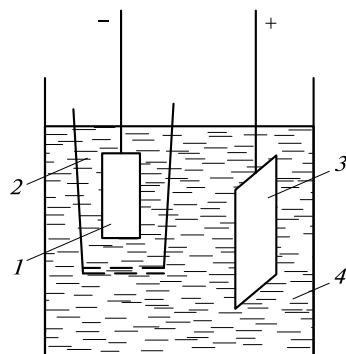


Рис. 9.27. Определение количества электричества в методе прямой кулонометрии ($E = \text{const}$)

Рис. 9.28. Серебряный кулонометр:

1 — платиновый катод; 2 — стеклянный тигель с пористым дном; 3 — серебряный анод; 4 — раствор нитрата серебра(I)



100%-м выходом по току протекает электрохимическая реакция известной стехиометрии. Кулонометр включают последовательно с кулонометрической ячейкой, поэтому за время электролиза через обе ячейки протекает одинаковое количество электричества. По массе образовавшегося в кулонометре за время электролиза вещества по формуле (9.5) можно рассчитать количество электричества.

По способу нахождения массы вещества различают гравиметрические (серебряный и медный) и титриметрические (иодный) кулонометры.

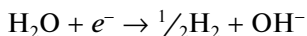
Серебряный кулонометр. Электролитическая ячейка состоит из платинового катода и серебряного анода, погруженных в раствор нитрата серебра(I). При прохождении тока на катоде осаждается металлическое серебро. Осадок хрупкий, поэтому катод помещают в стеклянный тигель с пористым дном, чтобы собрать упавшие с катода частички осадка (рис. 9.28). Тщательно вымытый тигель и катод высушивают до постоянной массы при температуре 150 °С и погружают в ячейку. По окончании электролиза тигель с катодом вынимают, тщательно моют, высушивают до постоянной массы при температуре 150 °С и взвешивают. Находят по разности массу серебра, рассчитывают количество электричества (согласно закону Фарадея при прохождении 1 Кл электричества осаждается 1,118 мг серебра).

Медный кулонометр. Электролитическая ячейка состоит из платиновых катода и анода, погруженных в раствор сульфата меди(II), подкисленный серной кислотой. При электролизе на катоде осаждается металлическая медь. По разности массы катода до и после электролиза рассчитывают количество электричества (при прохождении 1 Кл электричества осаждается 0,3295 мг меди).

Иодный кулонометр. Электролитическая ячейка состоит из платиновых анода и катода, разделенных пористой диафрагмой. Анодную камеру заполняют 10%-м раствором иодида калия, катодную — раствором иода в иоиде калия. При электролизе на аноде протекает реакция $\text{I}^- - e^- \rightarrow \frac{1}{2} \text{I}_2$, на катоде восстанавливается иод ($\text{I}_2 + 2e^- \rightarrow 2\text{I}^-$). По окончании электролиза массу иода I_2 , выделившегося в анодной камере, находят, титруя его стандартным раствором тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Медный и особенно серебряный кулонометры по точности превосходят все остальные кулонометры, но они неудобны в работе. Более удобны газовые кулонометры, применяемые для измерения малых количеств электричества.

Газовый кислородно-водородный кулонометр. В основе работы данного кулонометра лежит реакция электролитического разложения воды (рис. 9.29). При электролизе на катоде выделяется водород



на аноде — кислород

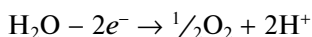
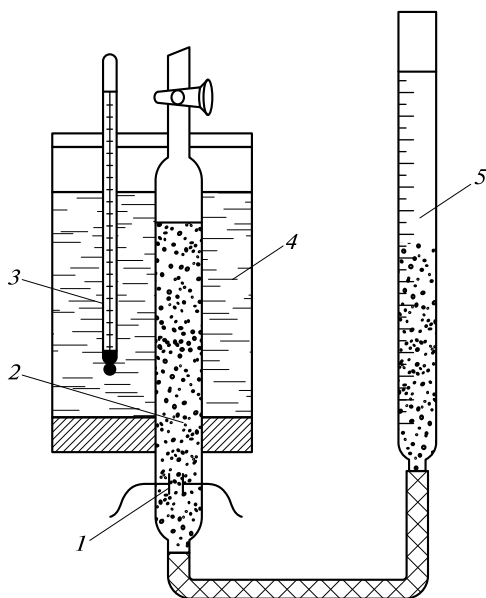


Рис. 9.29. Газовый кислородно-водородный кулонометр:

1 — платиновые электроды; 2 — раствор сульфата калия; 3 — термометр; 4 — вода; 5 — бюретка для измерения объема выделяющихся газов



По суммарному объему газов рассчитывают количество прошедшего электричества (при нормальных условиях 1 Кл соответствует $0,1791 \text{ см}^3$ газа). При плотности тока $0,05 \text{ А/см}^2$ газовый кулонометр дает заниженные результаты, поэтому для измерения малых количеств электричества рекомендуют газовый азотно-водородный кулонометр, основанный на реакции электролитического разложения раствора гидразина.

9.4.3. Прямая кулонометрия

Прямая кулонометрия позволяет определять только электрохимически активные вещества, поскольку в ее основе лежит непосредственное электрохимическое превращение определяемого компонента на электроде. Измерения можно проводить, поддерживая постоянными либо силу тока, либо потенциал рабочего электрода. В первом случае необходимо иметь гальваностат, во втором — потенциостат.

Чаще применяют прямую кулонометрию при постоянном потенциале рабочего электрода. Очень важно правильно выбрать потенциал электрода, чтобы исключить протекание конкурирующих реакций и тем самым обеспечить 100%-й выход по току. Для этого изучают поляризационные кривые в предполагаемых условиях проведения электролиза (материал электрода, состав раствора). Пример приведен на рис. 9.30.

Как следует из данных рис. 9.30, для определения ионов Pb^{2+} в присутствии ионов Cd^{2+} электролиз следует проводить при потенциале электрода, не превышающем потенциал E_1 , так как при более отрицательных потенциалах на электроде одновременно восстанавливаются и ионы Pb^{2+} , и ионы Cd^{2+} . Возможно и их последовательное определение, поскольку стандартные потенциалы этих полуреакций заметно различаются. Для этого после завершения восстановления ионов

Pb^{2+} потенциал электрода повышают до значения E_2 , при котором будут восстанавливаться ионы Cd^{2+} .

Как установить момент завершения электродной реакции в методе прямой кулонометрии? В процессе электролиза при $E = \text{const}$ (см. рис. 9.27) сила тока изменяется во времени по уравнению

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-kt}, \quad (9.6)$$

где I_t — сила тока в момент времени t ; I_0 — сила тока в начальный момент электролиза; k — константа, зависящая от площади поверхности A электрода, коэффициента диффузии вещества D , объема раствора V и толщины диффузионного слоя δ :

$$k = 0,43AD/(V\delta).$$

Из уравнения (9.6) следует, что для полного восстановления или окисления определяемого вещества на электроде требуется бесконечно большое время и практически невозможно полностью выделить на электроде определяемое вещество. Поэтому электролиз ведут не до $I = 0$, как это требуется при 100%-м электрохимическом превращении вещества, а до достижения остаточного тока I_t , определяемого требуемой точностью анализа.

Если допустима погрешность порядка 1 %, то электролиз можно считать завершенным при $I_t \sim 0,01I_0$; для снижения погрешности до 0,1 % необходимо добиться, чтобы $I_t \sim 0,001I_0$. Время достижения конца электрохимической реакции в соответствии с формулой (9.6) сокращается при использовании рабочих электродов с большой поверхностью (сетчатые электроды) и при интенсивном перемешивании раствора для уменьшения толщины диффузного слоя. Иногда можно повысить температуру для увеличения коэффициента диффузии вещества.

Интересным примером применения прямой кулонометрии при постоянном потенциале является определение содержания кислорода в газах. Анализируемый газ (рис. 9.31) по трубке подают в ячейку, заполненную 25%-м раствором гидроксида калия. На конце трубки находится барботер из губчатого серебра, поэтому образуются мелкие пузырьки. Серебряный барботер одновременно служит ка-

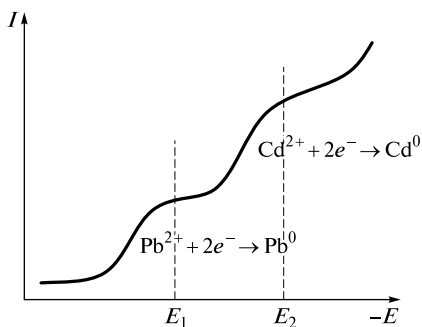


Рис. 9.30. Зависимость силы тока от потенциала рабочего электрода в растворе, содержащем ионы Cd^{2+} и Pb^{2+}

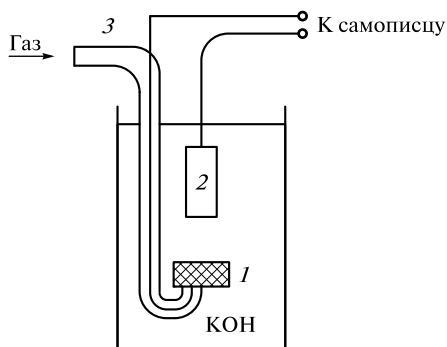


Рис. 9.31. Ячейка для прямого кулонометрического определения кислорода в газах: 1 — катод (барботер) из губчатого серебра; 2 — кадмиевый анод

тодом, и в его порах восстанавливается кислород $O_2 + 4e^- + 2H_2O \rightleftharpoons 4OH^-$. На аноде из пластинки металлического кадмия протекает реакция $Cd - 2e^- + 2OH^- \rightleftharpoons Cd(OH)_2$.

Источник внешнего напряжения в данном случае не нужен, поскольку образуется гальванический элемент. Ток восстановления кислорода регистрируют с помощью самописца и содержание кислорода рассчитывают по уравнению (9.8) (см. далее). Если диаграммную ленту самописца проградуировать по газовым смесям с известным содержанием кислорода, то ее можно использовать для прямого считывания результатов анализа.

Прямую кулонометрию при постоянной силе тока в анализе применяют сравнительно редко, поскольку определяемый компонент нужно предварительно выделить на электроде в виде металла или оксида. Тем не менее метод полезен, например, при определении толщины металлических покрытий. В этом случае изучаемый образец служит рабочим электродом. Как только весь определяемый металл будет удален с поверхности электрода в виде ионов M^{n+} , произойдет скачок потенциала, свидетельствующий об окончании электродной реакции $M - ne^- \rightarrow M^{n+}$. Массу определяемого металла находят, измерив время до скачка потенциала.

Прямая кулонометрия — это высокочувствительный и точный метод анализа. Если погрешность измерения времени не превышает 5 с (погрешность измерения электронным хронометром порядка 0,01 с), общая погрешность составляет порядка 0,5 %. При электролизе в течение 10^3 с и силе тока 1 мкА можно определить до 10^{-9} г вещества. Метод безэталоный и легко поддается автоматизации.

9.4.4. Кулонометрическое титрование

Кулонометрическое титрование проводят, поддерживая постоянную силу тока. Титрант получают непосредственно в процессе титрования в результате электрохимической реакции на электроде. Такой титрант называют *электрогенерированным*, а электрод, на котором его получают, — *генераторным*. Если титрант стехиометрически, быстро и количественно реагирует с определяемым компонентом и существует надежный способ установления конца титрования, по количеству затраченного электричества можно рассчитать массу определяемого компонента.

Электрогенерированные титранты можно получать из растворителя (например, при восстановлении воды на катоде получают ионы OH^- , а при окислении воды на аноде — ионы H^+), иногда из материала генераторного электрода. Так, на аноде из ванадия (пригодны также электроды из хрома, серебра, меди) можно получить ионы $V(V)$, что значительно более выгодно, чем получать ионы $V(V)$, окисляя ионы $V(IV)$ (сравните время генерации для реакций $V^0 - 5e^- \rightarrow V(V)$ и $V(IV) - e^- \rightarrow V(V)$!). Чаше для этого используют специально введенный в ячейку вспомогательный реагент (например, из иодида калия на аноде генерируют иод I_2). Другие примеры получения электрогенерированных титрантов и их применения даны в табл. 9.6.

Электрогенерированный титрант можно получать либо непосредственно в ячейке для кулонометрического титрования (*внутренняя генерация*), либо в отдельном устройстве (*внешняя генерация*), а затем вводить его в кулонометрическую ячейку. К последнему способу прибегают в том случае, если по каким-либо причинам внутренняя генерация невозможна, но это бывает редко.

Примеры применения кулонометрического титрования

Титрант	Вспомогательный реагент	Реакция на генераторном электроде	Применение
<i>Кислотно-основное титрование</i>			
ОН ⁻	H ₂ O	$2\text{H}_2\text{O} + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{OH}^- + \text{H}_2$	Титрование кислот
H ⁺	H ₂ O	$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons 2\text{H}^+ + \frac{1}{2}\text{O}_2 + 2e^-$	Титрование оснований
<i>Осадительное титрование</i>			
Ag ⁺	Серебряный анод	$\text{Ag} \rightleftharpoons \text{Ag}^+ + e^-$	Титрование ионов Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , органических серасодержащих веществ
<i>Окислительно-восстановительное титрование</i>			
Mn ³⁺	MnSO ₄	$\text{Mn}^{2+} \rightleftharpoons \text{Mn}^{3+} + e^-$	Титрование ионов Fe(II), H ₂ C ₂ O ₄
Br ₂	KBr	$2\text{Br}^- \rightleftharpoons \text{Br}_2 + 2e^-$	Титрование ионов I ⁻ , As(III), фенолов
CuCl ₃ ²⁻	CuCl ₂	$\text{Cu}^{2+} + 3\text{Cl}^- + e^- \rightleftharpoons \text{CuCl}_3^{2-}$	Титрование ионов Cr(VI), IO ₃ ⁻
Cl ₂	KCl	$2\text{Cl}^- \rightleftharpoons \text{Cl}_2 + 2e^-$	Титрование ионов I ⁻ , As(III)
I ₂	KI	$2\text{I}^- \rightleftharpoons \text{I}_2 + 2e^-$	Титрование ионов S ₂ O ₃ ²⁻ , As(III)

Для обеспечения 100%-го выхода по току необходим избыток вспомогательно-го реагента для устранения конкурирующих реакций на электроде и генерирования титранта в количестве, эквивалентном определяемому веществу. Тогда по затраченному количеству электричества можно правильно найти его содержание. При генерации титранта из воды или материала электрода эта проблема не возникает.

Нужно также провести предварительный электролиз (предэлектролиз) для устранения примесей, способных реагировать с титрантом. Например, перед титрованием соляной кислоты электрогенерированными ионами OH⁻ нужно до введения пробы в ячейку в процессе предэлектролиза оттитровать содержащуюся в растворе угольную кислоту. Перед титрованием ионов S₂O₃²⁻ нужно удалить с помощью предэлектролиза посторонние восстановители, способные реагировать с электрогенерированным иодом.

Для установления конца кулонометрического титрования пригодны практически все способы, применяемые в титриметрии. Используют визуальные индикаторы (крахмал при титровании восстановителей электрогенерированным иодом или фенолфталеин в кислотно-основном титровании) и инструментальные методы (рН-метрия, амперометрия, спектрофотометрия). Например, при титровании кислот электрогенерированными ионами OH⁻ или оснований электрогенерированными ионами H⁺ изменение рН в процессе титрования можно фиксировать с помощью стеклянного рН-электрода (рис. 9.32).

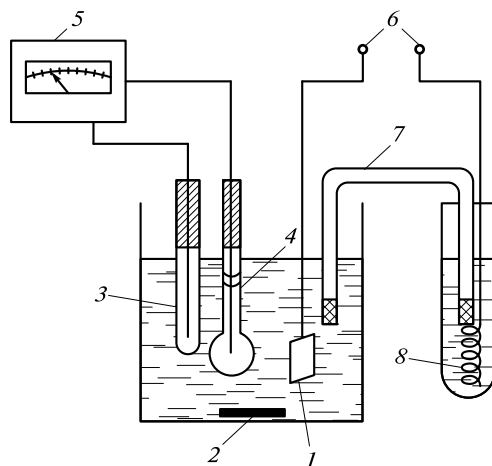


Рис. 9.32. Схема установки для кислотно-основного кулонометрического титрования:

1 — генераторный платиновый электрод для получения ионов OH^- (катод) или ионов H^+ (анод); 2 — магнитная мешалка; 3 — индикаторный стеклянный pH-электрод; 4 — электрод сравнения Ag/AgCl; 5 — pH-метр; 6 — источник постоянного тока; 7 — солевой мостик; 8 — вспомогательный электрод

Методом кислотно-основного кулонометрического титрования определяют содержание кислорода O_2 в стали: после превращения кислорода O_2 в углекислый газ CO_2 и поглощения последнего водой титруют угольную кислоту H_2CO_3 электрогенерированными ионами OH^- . Не менее интересный пример — титрование галогенидов после их экстракционного выделения из различных природных объектов электрогенерированными из серебряного анода ионами Ag^+ .

Кулонометрическое титрование позволяет определять как электрохимически активные, так и электрохимически неактивные вещества (см. табл. 9.6).

Кулонометрическое титрование имеет ряд преимуществ перед другими титриметрическими методами: 1) электрогенерировать можно огромное число титрантов, в том числе таких, которые трудно или даже невозможно получить обычным способом (ионы Mn^{3+} , Cl_2 ; титранты не нужно не только стандартизировать и хранить, но и готовить; способ получения любого титранта очень простой — нужен лишь источник постоянного тока; 2) получение титранта *in situ* позволяет легко вычислить его точную концентрацию, если генерация протекает со 100%-м выходом по току и имеется электрохронометр; 3) регулируя силу тока, можно «добавлять» титрант сколь угодно малыми порциями и строго стехиометрически; при таком способе «добавления» титранта не происходит разбавления раствора.

9.5. Вольтамперометрия

9.5.1. Основы метода

Вольтамперометрия основана на анализе поляризационных кривых — зависимостей силы тока, протекающего через ячейку $I_{\text{э.я}}$, от внешнего наложенного напряжения $E_{\text{в.н}}$: $I_{\text{э.я}} = f(E_{\text{в.н}})$, называемых *вольтамперограммами*.

Вольтамперограммы используют и для качественного, и для количественного анализа, поскольку они содержат информацию и о природе электрохимически активного вещества, и о его концентрации в анализируемом растворе. Вольтамперограмма дает важные сведения о механизме электродного процесса.

Вольтамперометрия — высокочувствительный (предел обнаружения $\sim 10^{-10}$ — 10^{-8} моль/л) и экспрессный метод определения большого числа неорганических и органических соединений, применяемый также для анализа разнообразных промышленных, природных, биологических, медицинских, фармацевтических и других объектов. Это — один из наиболее универсальных методов определения следовых количеств элементов после несложного и непродолжительного предварительного концентрирования.

Вольтамперометрия — один из немногих многоэлементных методов анализа; часто можно определять 4 — 5 компонентов анализируемого объекта при совместном присутствии. Очень важно и то, что линейная зависимость силы тока от концентрации наблюдается в широком (более шести порядков) интервале.

В вольтамперометрии применяют двухэлектродные (индикаторный микроэлектрод и электрод сравнения) и трехэлектродные (индикаторный микроэлектрод, электрод сравнения, вспомогательный электрод) ячейки (рис. 9.33).

Индикаторный электрод (часто его называют *рабочим*) служит переносчиком электронов, участвующих в электродном процессе. Для изготовления индикаторных электродов пригодны токопроводящие, химически инертные (не реагирующие с растворителем и фоновым электролитом, используемым для повышения электропроводности раствора) материалы — ртуть, благородные металлы (платина, золото), а также графит и его модификации — стеклоуглерод, пирографит.

Выбор материала в первую очередь обусловлен необходимым интервалом поляризации электрода, который ограничивается потенциалами электрохимических реакций с участием фонового электролита и материала электрода (рис. 9.34). Чем шире интервал потенциалов, в котором поведение электрода близко к идеально поляризуемому (см. подразд. 9.1.6), тем более универсален электрод.

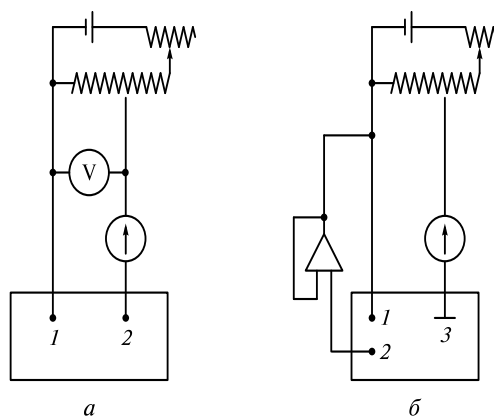


Рис. 9.33. Двухэлектродная (а) и трехэлектродная (б) вольтамперометрические ячейки:

1 — индикаторный электрод; 2 — электрод сравнения; 3 — вспомогательный электрод

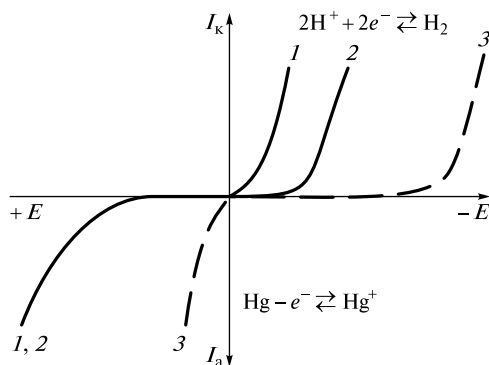


Рис. 9.34. Интервалы поляризации платинового (1), графитового (2) и ртутного (3) электродов

Перенапряжение разряда ионов водорода ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$) на ртути гораздо выше, чем на платине и графите, поэтому ртутный электрод можно использовать при высоких отрицательных потенциалах даже в кислых растворах, тогда как интервал поляризации графитового и особенно платинового электродов ограничен гораздо более низкими отрицательными потенциалами (см. рис. 9.34). В анодной области интервал поляризации ртутного электрода ограничен реакцией окисления металлической ртути ($\text{Hg}^0 - \text{e}^- \rightarrow \text{Hg}^+$). Поскольку она окисляется довольно легко (примерно при 0 В в щелочной и при 0,2—0,4 В в кислотной среде), ртутный электрод практически не пригоден для изучения анодных процессов. На платиновом и графитовом электродах можно изучать процессы с участием веществ, окисляющихся при потенциалах 1,4—1,6 В. При более положительных потенциалах интервал поляризации этих электродов ограничен реакцией с участием растворенного кислорода.

Вольтамперограммы можно регистрировать на стационарном или вращающемся платиновом (графитовом) электроде. При скорости вращения электрода более 400 оборотов в минуту создаются условия для стационарной диффузии электрохимически активного вещества из глубины раствора в приэлектродный слой и вольтамперограмма имеет S-образную форму (рис. 9.35, кривая 2). Если электрод не вращается, то из-за обеднения приэлектродного слоя после достижения максимума наблюдается спад тока (см. рис. 9.35, кривая 1). Воспроизводимость результатов на вращающемся электроде значительно выше, чем на стационарном.

При регистрации вольтамперограмм поверхность твердого электрода не возобновляется и поэтому загрязняется продуктами электродной реакции. Для получения правильных и воспроизводимых результатов поверхность нужно очищать перед регистрацией каждой вольтамперо-

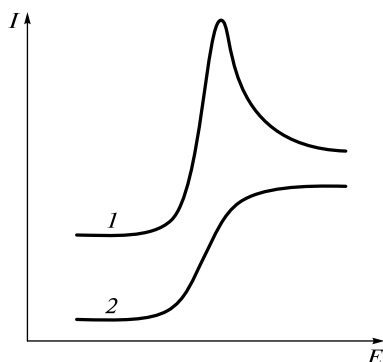
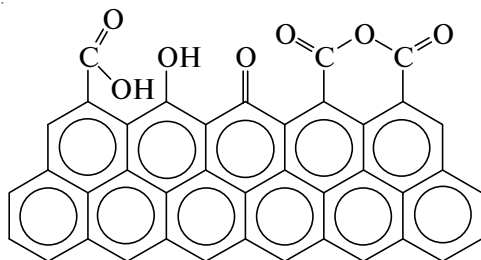


Рис. 9.35. Вольтамперограммы, полученные на стационарном (1) и вращающемся (2) графитовом электроде

граммы. Используют механические (полирование мелкодисперсным порошком оксида алюминия или оксида хрома, нанесенным на фильтровальную бумагу, или — более надежный современный прием — срезание тонкого слоя с поверхности электрода специальным устройством) и электрохимические (выдерживание электрода в течение некоторого времени при высоком положительном или отрицательном потенциале или — более надежный современный прием — циклическую поляризацию электрода в широком интервале потенциалов) способы очистки. Оптимальный способ выбирают эмпирически. Поверхность графитового электрода очистить значительно легче, поэтому его чаще применяют несмотря на весьма существенный недостаток — наличие высокого остаточного тока. Кроме графита для изготовления электрода пригодны пирографит и стеклоуглерод, можно использовать пасту из угольного порошка и подходящей связующей органической жидкости (силоксан, нуйол). Интервал поляризации этих электродов примерно такой же, как и графитового (от +1,3 до -1,0 В).

Свойства электрода можно существенно изменять, нанося на поверхность тонкий слой вещества — модификатора. Такие электроды называют *химически модифицированными*. Для нанесения модификатора используют либо хемосорбцию, либо сшивку модификатора с поверхностью графитового электрода за счет ковалентных связей. Графитированный углерод состоит из гигантских слоев конденсированных ароматических колец, на поверхности которых находятся различные функциональные группы, например:



Число таких групп невелико, и они скорее всего сконцентрированы вдоль дефектов поверхности, образуя ее край (границу). Высокая плотность *p*-электронов способствует сильному хемосорбционному взаимодействию, особенно с ненасыщенными органическими соединениями.

На химически модифицированном электроде скорость переноса электронов обычно выше, чем на немодифицированном, т.е. электродный процесс более обратим. Он обладает и более высокой селективностью, чем немодифицированный, так как модифицирующая пленка способна изолировать электрод от присутствующих в растворе примесей. Кроме того, из-за усиления адсорбционных свойств поверхности химически модифицированные электроды пригодны для предварительного адсорбционного концентрирования определяемого компонента, т.е. для повышения чувствительности его определения (см. с. 60—63).

Угольный пастовый электрод, модифицированный фталоцианином кобальта(II), обладает каталитическими свойствами и благоприятствует процессу окисления щавелевой кислоты и ряда α -кетокислот (пировиноградной, фенилпировиноградной, кетомасляной, кетоглутаровой, кетокапроновой). На немодифици-

рованном электроде эти кислоты окисляются при потенциалах порядка +1,2 В, а на модифицированном — в интервале от +0,7 до +0,9 В. Такой электрод пригоден для создания электрохимического детектора для высокоэффективной жидкостной хроматографии, с его помощью можно детектировать щавелевую кислоту и α -кетокислоты в моче, лишь разбавив и профильтровав ее перед вводом в колонку. Предел обнаружения для щавелевой кислоты (при потенциале электрода +0,75 В) составляет $3 \cdot 10^{-13}$ моль/л, для α -кетокислот — менее $1 \cdot 10^{-9}$ моль/л. В этом случае в результате модифицирования удалось выполнить основное требование к электроду в электрохимическом датчике — обеспечить сравнительно низкий потенциал окисления детектируемых веществ.

Кратко обсудим конструкции ртутных индикаторных электродов. Ртуть — жидкий металл при комнатной температуре, обладающий чистой, микроскопически однородной поверхностью и высоким поверхностным натяжением. Из ртути достаточно просто изготовить электрод с легко возобновляемой чистой поверхностью и, что очень важно, с идеально воспроизводимой площадью поверхности. Это можно сделать (рис. 9.36) с помощью:

- капилляра, соединенного с резервуаром с ртутью, из которого под давлением столба ртути через строго определенные промежутки времени самопроизвольно вытекают абсолютно одинаковые капли ртути (*ртутный капаящий электрод*);

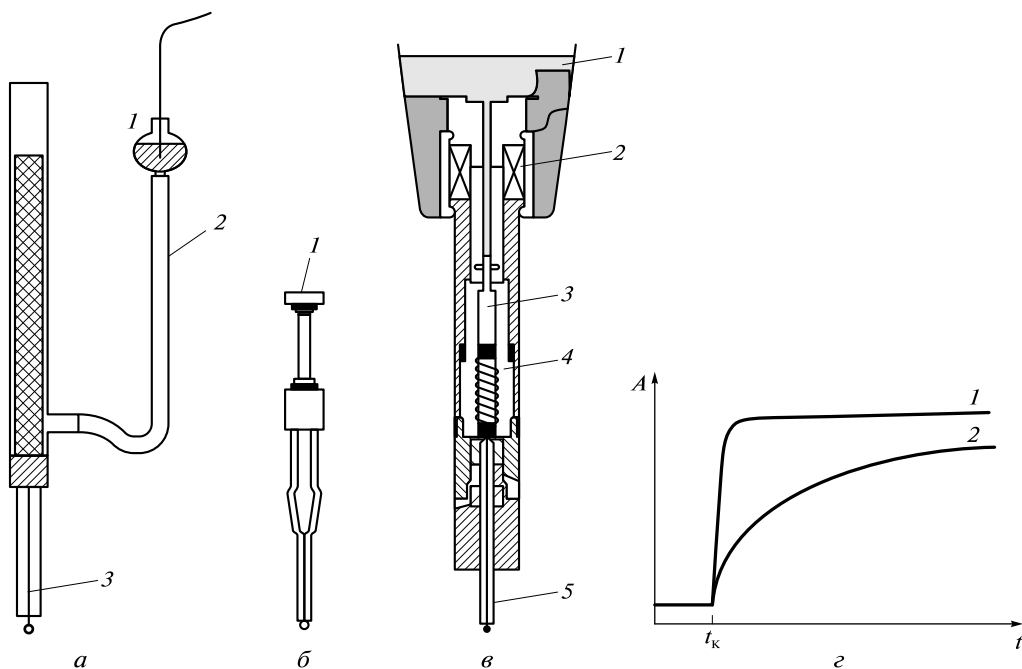


Рис. 9.36. Ртутные индикаторные электроды:

a — капаящий (1 — резервуар с ртутью; 2 — тефлоновый шланг; 3 — капилляр); *б* — стационарный (1 — микровинт); *в* — статический (1 — резервуар с ртутью; 2 — соленоид; 3 — плунжер; 4 — компрессионная пружина; 5 — капилляр); *z* — изменение во времени t площади поверхности A статического ртутного капельного электрода (1) и ртутного капаящего электрода (2) (t_k — время, отвечающее моменту образования новой капли)

- герметически закрытого тонкого капилляра с ртутью, из которого специальным микровинтом выдавливают капли нужного размера (*стационарный, или висящий, ртутный капельный электрод*);

- капилляра, соединенного с резервуаром с ртутью, из которого с помощью электромагнитного устройства (соленоида) можно выдавливать и периодически стряхивать капли ртути (*статический ртутный капельный электрод*); это самая современная конструкция ртутного электрода, важным достоинством ее является очень быстрое достижение постоянной площади поверхности A капли ртути по сравнению с ртутным капающим электродом (см. рис. 9.36, *з*), поэтому емкостный ток на таком электроде значительно ниже, чем на ртутном капающем электроде (см. далее).

Можно изготовить пленочный ртутный электрод, сформировав пленку ртути на поверхности электропроводящей, обычно графитовой, подложки. Такой электрод применяют в инверсионной вольтамперометрии (см. с. 60—63).

Электродом сравнения в вольтамперометрической ячейке служит насыщенный каломельный или хлоридсеребряный электрод, *вспомогательным электродом* — платиновая проволочка или пластинка.

Чем определяется выбор двух- или трехэлектродной ячейки? Особенность ячеек для регистрации вольтамперограмм заключается в том, что площадь поверхности индикаторного электрода (микроэлектрода) во много (десятки тысяч) раз меньше площади поверхности электрода сравнения. Поэтому плотность тока на индикаторном электроде намного выше, и подаваемое от внешнего источника на ячейку напряжение расходуется практически только на поляризацию индикаторного электрода, а электрод сравнения не поляризуется — его потенциал остается постоянным. Поэтому при расшифровке вольтамперограммы потенциал в любой ее точке можно принять равным внешнему наложенному напряжению. Однако это справедливо лишь при протекании через ячейку сравнительно небольших токов.

Часто при регистрации вольтамперограмм через ячейку протекают достаточно большие токи, поэтому надежнее (особенно в исследовательских работах, когда целью эксперимента является измерение потенциала) использовать трехэлектродные ячейки. В таких ячейках ток через электрод сравнения не протекает, его потенциал постоянен и с гораздо большей уверенностью можно полагать, что в любой точке вольтамперограммы потенциал индикаторного электрода равен внешнему наложенному напряжению.

Сравнительно недавно предложена довольно простая конструкция трехэлектродной ячейки с планарными электродами, изготавливаемой методом трафаретной (screen-printed) печати. Данный метод позволяет достаточно просто сформировать компактную ячейку, в ряде случаев способную заменить классическую трехэлектродную ячейку. На химически и электрически инертную полимерную подложку послойно наносят электропроводящую серебряную пасту, графитовую пасту и слой изолирующей пасты. Состав последней зависит от среды (фоновое электролит), в которой предполагается работать. После нанесения каждого слоя поверхность тщательно высушивают, поскольку каждая из паст представляет собой раствор в подходящем органическом растворителе.

Серебряная паста обладает высокой электропроводностью, с ее помощью на подложке печатают токоотводы от индикаторного, вспомогательного и электрода сравнения и поверхность для формирования хлоридсеребряного электрода сравнения. Графитовая паста служит для формирования поверхностей индикатор-

ного и вспомогательного электродов. Обязательный компонент углеродной пасты — высокомолекулярный органический наполнитель, необходимый для улучшения адгезии пасты к подложке. В зависимости от фирмы-изготовителя графитовые пасты могут отличаться размером частиц углерода и содержать разные функциональные группы (карбоксильные, карбонильные или гидроксильные). Недавно появились пасты с наночастицами благородных металлов — золота, платины, палладия, осмия.

От состава графитовой пасты зависит не только воспроизводимость геометрической поверхности электрода, т.е. скорость протекания электродной реакции, но и легкость очистки поверхности, т.е. пригодность для многократных измерений. К сожалению, планарные электроды часто являются одноразовыми.

9.5.2. Полярография

Для регистрации вольтамперограммы на двух- или трехэлектродную ячейку подают поляризующее напряжение от внешнего источника постоянного или переменного напряжения. Вид получаемой вольтамперограммы и метрологические характеристики (предел обнаружения, разрешающая способность) соответствующего метода зависят от типа индикаторного электрода, вида и способа наложения внешнего поляризующего напряжения и способа регистрации тока.

Прежде чем познакомиться с современными разновидностями вольтамперометрии, вернемся к ее истокам и рассмотрим основы полярографии — метода, предложенного в 1922 г. выдающимся чешским электрохимиком Я. Гейровским. За разработку теории и практики метода в 1959 г. Я. Гейровскому присуждена Нобелевская премия.

Для изучения зависимостей $I = f(E)$ Я. Гейровский сконструировал ячейку с ртутным капаящим электродом (рис. 9.37). Он же создал и первый прибор для фоторегистрации этих зависимостей — полярограф (1925). Признательные потомки сохранили название метода — *полярография* для разновидности вольтамперометрии с использованием ртутного капаящего электрода, и термин «полярограмма» для получаемых зависимостей силы тока от наложенного на ячейку напряжения.

Для регистрации полярограммы на ячейку с индикаторным ртутным капаящим электродом (см. рис. 9.37) через калиброванное линейное сопротивление от источника постоянного напряжения подают линейную развертку потенциала со скоростью 2—5 мВ/с. Для обеспечения достаточной электропроводности в анализируемый раствор вводят индифферентный электро-

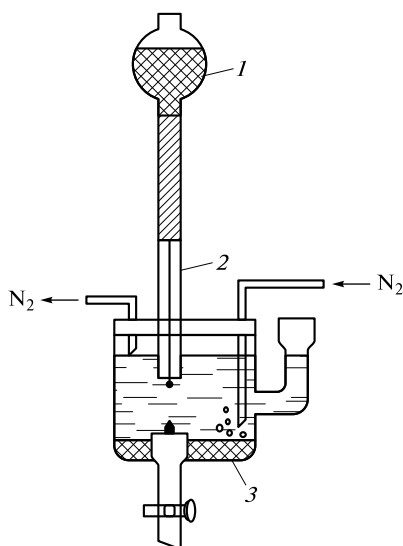


Рис. 9.37. Полярографическая ячейка, предложенная Я. Гейровским:

1 — груша с металлической ртутью; 2 — ртутный капаящий электрод; 3 — электрод сравнения (донная ртуть)

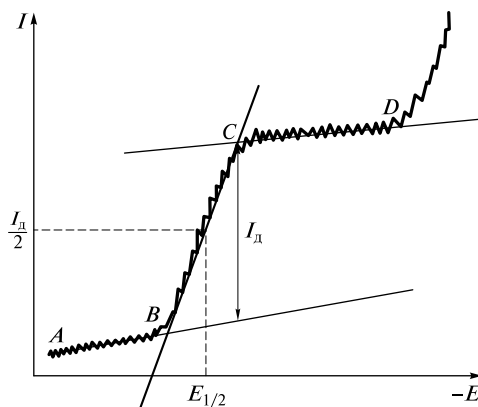


Рис. 9.38. Классическая полярограмма

лит (фон) до концентрации 0,05 — 1 моль/л. В этих условиях электрический эквивалент ячейки (см. рис. 9.2) можно упростить и представить в виде параллельно соединенных активного сопротивления индикаторного ртутного капяющего электрода ($R_{и.э.}$) и емкости двойного электрического слоя, поэтому $E_{в.н} \approx IR_{и.э.}$ и, следовательно, вид полярограммы определяется только сопротивлением ртутного капяющего электрода.

Перед регистрацией полярограммы удаляют растворенный кислород, поскольку он электрохимически активен и, восстанавливаясь в две стадии ($O_2 \rightarrow H_2O_2$ и далее $H_2O_2 \rightarrow H_2O$), занимает практически весь интервал поляризации ртутного капяющего электрода. Для этого через раствор пропускают инертный газ — азот или аргон. Из щелочных растворов иногда кислород удаляют с помощью сульфита натрия ($O_2 + 2Na_2SO_3 \rightarrow 2Na_2SO_4$).

Общий вид полярограммы приведен на рис. 9.38. Характеристиками полярограммы являются сила тока (I , мкА), зависящая от концентрации электрохимически активного вещества в растворе, потенциал полуволны ($E_{1/2}$, В), зависящий от природы электрохимически активного вещества, и тангенс угла наклона восходящего участка полярограммы, зависящий от обратимости электродной реакции, т. е. скорости переноса электронов.

Из рис. 9.38 видно, что полярограмма состоит из трех участков. Осцилляции тока на каждом из них отражают рост и падение каждой вытекающей из капилляра капли ртути. До начала электрохимической реакции (точка В) ртутный капяющий электрод ведет себя как почти идеально поляризуемый электрод: при изменении потенциала электрода через ячейку протекает незначительный ток, называемый *остаточным*. Основной вклад в него вносит ток заряжения конденсатора, образующегося на каждой вытекающей из капилляра капле ртути. Расстояние между обкладками конденсатора (одна — заряженная поверхность ртутной капли, другая — плоскость, проходящая через центры максимально приближенных к электроду противоионов) всего порядка 0,1 нм, поэтому емкость его весьма велика. Формирование и заряджение конденсатора повторяется на каждой вытекающей из капилляра капле, поэтому и протекает устойчивый *ток заряжения* I_C , или *емкостный ток*. Вторая составляющая остаточного тока — *ток восстановления электрохимически активных примесей* в растворе, главная из которых — следы неудаленного кислорода.

Остаточный ток не связан с концентрацией определяемого вещества, поэтому его желательно уменьшить. Вклад электрохимически активных примесей можно заметно снизить, используя для приготовления растворов химически чистые реактивы и воду и тщательно удаляя растворенный кислород. Емкостный ток при работе с ртутным капаящим электродом снизить нельзя и это является основным недостатком полярографии.

При достижении потенциала, соответствующего точке B , иногда называемого *потенциалом выделения*, на электроде начинается электродная реакция, например:



Из рис. 9.38 видно, что начиная с этого момента рост силы тока фактически опережает рост потенциала электрода. В таких случаях говорят, что электрод *деполяризуется*, а вещество, участвующее в электродной реакции, называют *деполяризатором*.

Сначала восстанавливаются наиболее богатые энергией ионы Cd^{2+} , находящиеся непосредственно у поверхности электрода, затем ионы с меньшей энергией. Их количество экспоненциально растет по мере убыли энергии, по такому же закону растет и протекающий через ячейку фарадеевский ток. Вокруг ртутной капли создается обедненный ионами Cd^{2+} слой, в который они диффундируют из глубины раствора. Обычно скорость электродной реакции выше скорости диффузии, поэтому устанавливается стабильное динамическое равновесие между силой тока I , градиентом концентрации dC/dx и толщиной диффузионного слоя δ , при которой все ионы Cd^{2+} , достигшие поверхности электрода, мгновенно восстанавливаются и ток достигает предельного значения, не зависящего от потенциала электрода (концепция диффузионного слоя Нернста).

Массоперенос деполяризатора к поверхности электрода осуществляется не только за счет диффузии, но и благодаря механической и тепловой конвекции, а также за счет электростатического притяжения ионов заряженной поверхностью электрода. Таким образом, протекающий через ячейку ток является суммой диффузионного (I_d), конвекционного ($I_{\text{кон}}$) и миграционного (I_m) токов. Для получения более простой зависимости силы тока от концентрации деполяризатора желательно устранить две последние составляющие. Если ячейку термостатировать, а при регистрации полярограмм раствор не перемешивать, то устраняются и тепловая, и механическая конвекция. Введение в анализируемый раствор избытка индифферентного (фоновое) электролита практически сводит к нулю долю миграционного тока, переносимого ионами Cd^{2+} , по сравнению с ионами фона. В этих условиях на участке CD протекает ток, зависящий только от скорости диффузии ионов Cd^{2+} из объема раствора в обедненный приэлектродный слой, называемый *предельным диффузионным током* ($I_{\text{пр.д}}$).

Скорость диффузии (v_d) пропорциональна разности концентраций ионов в объеме раствора (C_0) и у поверхности электрода (C_s):

$$v_d = k'(C_0 - C_s),$$

поэтому

$$I_d = k''v_d = k'k''(C_0 - C_s) = k(C_0 - C_s).$$

При потенциалах предельного тока $C_s \approx 0$, поэтому предельный диффузионный ток зависит от концентрации ионов в объеме раствора:

$$I_{\text{пр.д}} = kC_0. \quad (9.7)$$

Д.Илькович, используя законы электролиза Фарадея и законы диффузии Фика, вывел уравнение для зависимости предельного диффузионного тока ($I_{\text{пр.д}}$, мкА) от концентрации вещества (C , ммоль/л), восстанавливающегося на ртутном капаящем электроде:

$$I_{\text{пр.д}} = 607nD^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C, \quad (9.8)$$

где n — число электронов, участвующих в электродной реакции; D — коэффициент диффузии ионов, $\text{см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$; m — скорость вытекания ртути из капилляра, $\text{мг} \cdot \text{с}^{-1}$; t — период капания ртути (время жизни капли), с.

Предельный диффузионный ток зависит и от условий эксперимента — температуры, влияние которой проявляется через коэффициент диффузии ионов, и высоты (H) столба ртути над капилляром.

Поскольку $m = kH$, а $t = k/H$, то $I_{\text{пр.д}} = kH^{1/2}$. Для получения воспроизводимых результатов нужно термостатировать ячейку и поддерживать постоянной высоту столба ртути над капилляром. Изменение температуры на один градус вносит погрешность в определяемое значение предельного диффузионного тока 1 — 2 %.

Уравнение (9.8) можно использовать для нахождения не только концентрации (методом добавок или методом градуировочного графика), но и таких важных характеристик деполяризатора, как его коэффициент диффузии в данном растворе или число электронов, участвующих в электродной реакции, если остальные величины известны.

Если самой медленной стадией электродного процесса является диффузия, электродный процесс считают обратимым. Для обратимых процессов характерны высокие константы скоростей гетерогенных реакций переноса электронов. В условиях классической полярографии в зависимости от константы скорости гетерогенной реакции (k_s , $\text{см} \cdot \text{с}^{-1}$) различают обратимые ($k_s > 2 \cdot 10^{-2}$), квазиобратимые ($k_s = 2 \cdot 10^{-5} - 2 \cdot 10^{-2}$) и необратимые ($k_s < 5 \cdot 10^{-5}$) процессы.

В табл. 9.7 приведено несколько примеров, анализ которых позволяет сделать интересные выводы. Константа k_s зависит от природы окислительно-восстанови-

Таблица 9.7

Константы скоростей некоторых гетерогенных реакций, измеренные на ртутном капаящем электроде в условиях классической полярографии ($t \sim 3$ с, $v = 5$ мВ/с)

Окислительно-восстановительная система	Фон	k_s , $\text{см} \cdot \text{с}^{-1}$
$\text{Cd}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Cd}$	1 М КСl	2,9
$\text{Tl}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Tl}$	1 М КСl	0,15
$\text{Pb}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pb}$	1 М КСl	0,2
$\text{Cr}^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons \text{Cr}$	1 М КСl	$1 \cdot 10^{-5}$
$\text{Bi}^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons \text{Bi}$	1 М НСl	2,0
$\text{Bi}^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons \text{Bi}$	1 М НСlO ₄	$3 \cdot 10^{-4}$

тельной системы. «Удобные» для полярографического определения окислительно-восстановительные системы ($\text{Cd}^{2+} \rightarrow \text{Cd}$, $\text{Ti}^+ \rightarrow \text{Ti}$, $\text{Pb}^{2+} \rightarrow \text{Pb}$) имеют высокие значения k_s . Состав фона существенно влияет на величину k_s и иногда, например для реакции $\text{Bi}^{3+} + 3e^- \rightarrow \text{Bi}$, можно, подобрав фон, существенно повысить обратимость электродного процесса.

Степень обратимости отражается на форме полярограммы. При равенстве концентраций и числа электронов для обратимой электродной реакции полярограмма выражена более четко и в меньшей степени искажается остаточным током.

Для обратимого электродного процесса на ртутном каплюющем электроде:



выведено уравнение, связывающее потенциал и силу тока в любой точке восходящего участка полярограммы.

Для обратимых процессов, когда значение k_s велико, соотношение $C_{\text{Ox}}/C_{\text{Red}}$ на поверхности электрода определяется потенциалом в соответствии с уравнением Нернста:

$$E = E_{\text{M}^{n+}/\text{M}}^\circ - \frac{0,059}{n} \lg \frac{C_{\text{M,a}} D_{\text{M}}}{C_{\text{M}^{n+},s} D_{\text{M}^{n+}}},$$

где $C_{\text{M,a}}$ — концентрация металла М в амальгаме М(Нг); $C_{\text{M}^{n+},s}$ — концентрация ионов M^{n+} на поверхности электрода; D_{M} , $D_{\text{M}^{n+}}$ — коэффициент диффузии соответственно атомов металла М в амальгаме и ионов металла M^{n+} в растворе.

При увеличении потенциала электрода $C_{\text{M}^{n+},s} \rightarrow 0$, а $C_{\text{M,a}} \rightarrow \infty$. Введем обозначение: $C_{\text{M}^{n+},0}$ — концентрация ионов M^{n+} в анализируемом растворе. Из уравнения $I = D_{\text{M}^{n+}}(C_{\text{M}^{n+},0} - C_{\text{M}^{n+},s})$ для любой точки полярографической волны и уравнения $I_{\text{пр.д}} = D_{\text{M}^{n+}} C_{\text{M}^{n+},0}$ при потенциалах предельного тока находим

$$C_{\text{M}^{n+},s} = \frac{I_{\text{пр.д}}}{D_{\text{M}^{n+}}}.$$

Концентрация металла в амальгаме $C_{\text{M,a}}$ в любой точке волны определяется уравнением

$$C_{\text{M,a}} = \frac{I}{D_{\text{M}}}.$$

Подставив найденные выражения для $C_{\text{M}^{n+},s}$ и $C_{\text{M,a}}$ в уравнение Нернста, получим *уравнение обратимой полярографической волны*:

$$E = E_{\text{M}^{n+}/\text{M}}^\circ - \frac{0,059}{n} \lg \frac{I}{I_{\text{пр.д}} - I} = E_{1/2} - \frac{0,059}{n} \lg \frac{I}{I_{\text{пр.д}} - I}, \quad (9.9)$$

описывающее зависимость силы тока от потенциала в любой точке восходящего участка волны.

Полярограмму (рис. 9.39, а), описываемую уравнением (9.9), можно представить графически (рис. 9.39, б). По графику можно точнее, чем непосредственно по полярограмме, найти значение $E_{1/2}$, а по котангенсу угла наклона (теоретиче-

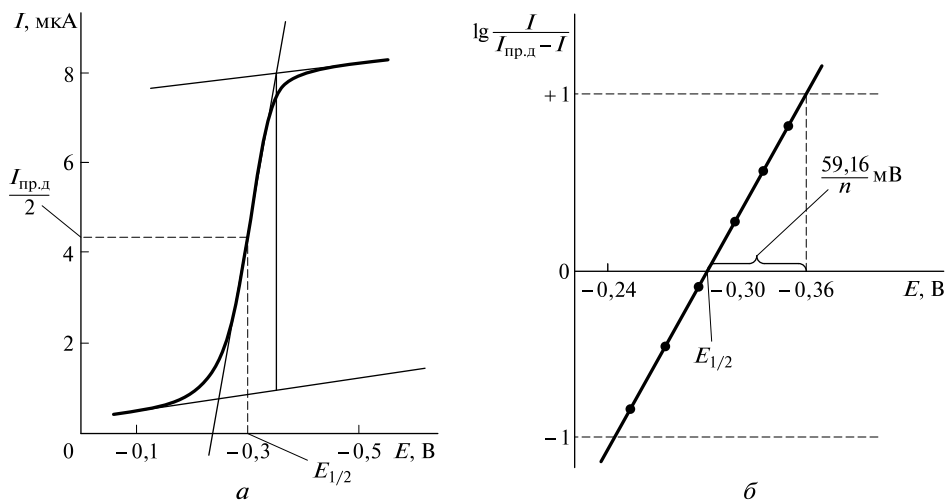


Рис. 9.39. Полярограмма обратимо восстанавливающегося деполаризатора:

$a - I = f(E)$; $b - \lg[I/(I_{\text{пр.д}} - I)] = f(E)$

ское значение для обратимого процесса $59,16/n$ мВ при температуре 25°C ; см. рис. 9.39, б) оценить число электронов, участвующих в электродной реакции. Если число электронов известно, это уравнение пригодно для оценки обратимости электродного процесса: достаточно сравнить экспериментальное значение котангенса угла наклона с теоретическим.

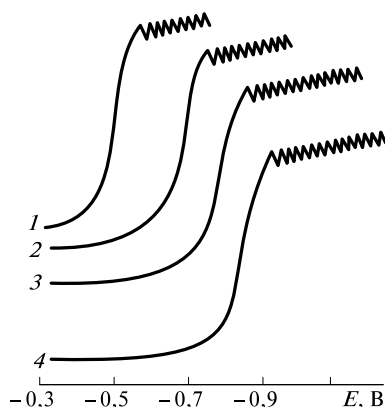
Анализ уравнения (9.9) показывает, что полярографию можно использовать для изучения комплексообразования при обратимом восстановлении иона металла из комплекса. В этом случае равновесие между формами M^{n+} , L^{x-} , $ML_p^{(n-px)+}$ устанавливается быстро. Чем прочнее комплекс, тем при более отрицательных потенциалах наблюдается восстановление иона металла из комплекса по сравнению с волной восстановления свободного иона M^{n+} (рис. 9.40).

По зависимости потенциала $E_{1/2}$ от равновесной концентрации лиганда можно найти константу устойчивости и число координированных лигандов:

$$E_{1/2(\text{комп})} - E_{1/2(\text{своб})} = -\frac{0,059}{n} \lg \beta_i - 0,059 \frac{i}{n} \lg [L]. \quad (9.10)$$

Графически уравнение (9.10) выражается прямой с тангенсом угла наклона, зависящим от числа координированных лигандов. Уравнение (9.10) справедливо при большом избытке лиганда, когда можно принять $[L] = C_L$. В справочниках можно встретить константы устойчивости

Рис. 9.40. Смещение потенциала полувольты $E_{1/2}$ ионов $Pb(II)$ в зависимости от концентрации $NaOH$:
1 — 1 М KNO_3 ; 2 — 1 М KNO_3 + $1 \cdot 10^{-2}$ М $NaOH$; 3 — 0,9 М KNO_3 + 0,1 М $NaOH$; 4 — 1 М $NaOH$



многих комплексов, найденные по уравнению (9.10); например, для комплексов ионов Cd^{2+} с этилендиамином, 1,10-фенантролином, 2,2'-бипиридилем, ионов In^{3+} с хлорид-ионами, ионов Pb^{2+} с гидроксид-ионами.

Все приведенные в данном подразделе уравнения справедливы только для классической полярографии (скорость линейной развертки постоянного поляризующего напряжения при регистрации полярограмм 2—5 мВ/с, электродный процесс согласно концепции Нернста контролируется только диффузией (уравнение (9.8)) и протекает обратимо).

На полярограммах могут появляться острые пики в начале площадки предельного тока или пологие пики на площадке предельного тока. Это так называемые полярографические максимумы первого и второго рода. В качестве примера на рис. 9.41 приведена полярограмма кислорода на фоне 0,05 М раствора KCl, на которой на первой волне восстановления кислорода до пероксида водорода наблюдается максимум первого рода.

Появление максимумов, выражающееся в увеличении силы тока сверх предельного диффузионного, обусловлено перемешиванием раствора движущейся поверхностью капли ртути. Существуют два фактора, обуславливающие движение поверхности растущей капли ртути. Из-за частичного экранирования капли капилляром заряд, а соответственно и поверхностное натяжение по поверхности капли распределяются неравномерно. Возникшие участки с высоким поверхностным натяжением стремятся сократиться, а с более низким — растянуться. Движение раствора вблизи капли при потенциалах образования максимумов наблюдали с помощью микрочастиц угольного порошка. До потенциала $-0,6$ В (точка нулевого заряда) поверхность ртути в растворе заряжена положительно, при более отрицательных потенциалах — отрицательно. Интересно, что в зависимости от заряда поверхности ртутной капли (рис. 9.42) раствор перемещается в разных направлениях. Так возникают максимумы на полярограммах веществ с потенциалом $E_{1/2}$ менее или более отрицательным, чем $-0,6$ В. На полярограммах веществ с потенциалом $E_{1/2}$ вблизи точки нулевого заряда максимумы не наблюдаются.

Максимумы искажают полярограмму и затрудняют ее расшифровку. К счастью, их довольно легко удалить с помощью поверхностно-активных веществ

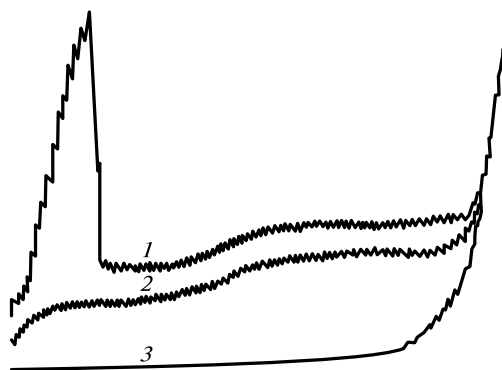
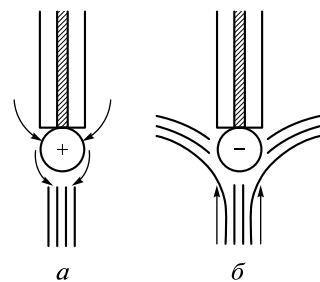


Рис. 9.41. Максимум первого рода на полярограммах:

1 — кислорода на фоне 0,05 М раствора KCl; 2 — то же после добавления желатина; 3 — 0,05 М раствора KCl после удаления кислорода

Рис. 9.42. Направление движения раствора у поверхности положительно (а) и отрицательно (б) заряженной ртутной капли



(ПАВ), адсорбирующихся в данном интервале потенциалов. Поверхностно-активные вещества адсорбируются на участках капли с более высоким поверхностным натяжением и, понижая его, выравнивают поверхностное натяжение. Движение поверхности прекращается, и максимум исчезает. Пригодны желатин, камфара, высшие спирты и разнообразные синтетические ПАВ, например тритон X-100. Оптимальную концентрацию ПАВ подбирают эмпирически. Большой избыток ПАВ нежелателен — может произойти искажение полярограммы (снижение предельного тока, смещение волны к более отрицательным потенциалам и др.).

Другой причиной перемешивания раствора за счет движения поверхности капли и, соответственно, появления максимумов второго рода являются завихрения внутри капли, возникающие при слишком быстром вытекании ртути из капилляра, поэтому обычно достаточно уменьшить давление ртути, снизив высоту ртутного столба, чтобы максимум второго рода исчез.

9.5.3. Современные вольтамперометрические методы

Классической полярографии присущи два существенных недостатка — перемешивание приэлектродного слоя раствора растущей каплей ртути вызывает появление максимумов и искажает полярограмму, а невозможность улучшения соотношения фарадеевского (I_F) и емкостного (I_C) токов обуславливает достаточно высокий предел обнаружения, поскольку токи I_F , I_C становятся сопоставимыми уже при концентрациях порядка 10^{-5} моль/л.

Первый недостаток легко устранить, заменив капающий ртутный электрод статическим или пленочным ртутным. Соотношение I_F/I_C можно улучшить, используя иной, чем в классической полярографии (линейная развертка постоянного напряжения со скоростью 2—5 мВ/с и непрерывная регистрация протекающего через ячейку тока), вид развертки поляризующего напряжения и способ регистрации тока. Указанные способы реализуются в четырех основных современных методах вольтамперометрии:

- 1) импульсная и квадратно-волновая вольтамперометрия (поляризация электрода кратковременными импульсами и измерение тока в конце импульса — временная селекция токов I_F и I_C);

- 2) синусоидальная переменноточковая вольтамперометрия (фазовая селекция токов I_F и I_C);

- 3) инверсионная вольтамперометрия (увеличение тока I_F за счет предварительного концентрирования определяемого компонента);

- 4) вольтамперометрия с быстрой линейной разверткой потенциала, циклическая вольтамперометрия (высокая скорость поляризации статического электрода позволяет увеличить ток I_F и снизить I_C).

Исторически эти методы возникли в результате попыток усовершенствования классической полярографии и были известны как импульсная (1957), перемен-

ноточковая (1957), амальгамная с накоплением (1959) и осциллографическая (1953) полярография. Характеристики их улучшились после создания более совершенных конструкций ртутных индикаторных электродов, чем капающий (см. рис. 9.36).

Импульсная вольтамперометрия

В импульсной вольтамперометрии постоянное поляризующее напряжение налагают на индикаторный электрод отдельными кратковременными ($\sim 10—50$ мс) импульсами, а ток измеряют в конце наложения импульса. Почему именно в конце импульса? После наложения импульса и ток I_F , и ток I_C резко возрастают, а затем снижаются. Эти токи имеют разную природу. Емкостный ток согласно уравнению

$$I_C \sim e^{-kt}$$

затухает быстрее, чем фарадеевский

$$I_F \approx t^{-1/2},$$

поэтому к концу наложения импульса он спадает практически до нуля, а фарадеевский ток в этот момент имеет вполне измеримое значение (рис. 9.43), которое можно еще и увеличить с помощью усилителя тока. Такой прием улучшения соотношения токов I_F и I_C называют *временной селекцией токов*.

Существует два способа наложения импульсов и соответственно две разновидности импульсной вольтамперометрии — нормальная и дифференциальная.

Нормальная импульсная вольтамперометрия. Индикаторный электрод поляризуют кратковременными линейно возрастающими импульсами постоянного напряжения, налагаемыми на потенциал E_0 , выбранный для начала регистрации вольтамперограммы. Ток измеряют в конце наложения каждого импульса, т. е. используют временную селекцию токов I_F и I_C . Через 10—50 мс после подачи импульса потенциал возвращается к исходному значению E_0 (рис. 9.44, а). Нормальная импульсная вольтамперограмма имеет S-образную форму (рис. 9.44, б), горизонтальные площадки соответствуют моментам размыкания цепи после измерения тока.

В нормальной импульсной вольтамперометрии зависимость предельного тока от концентрации описывается уравнением

$$I_{\text{пр}} = nFAD^{1/2}C/(\pi^{1/2}t^{1/2}), \quad (9.11)$$

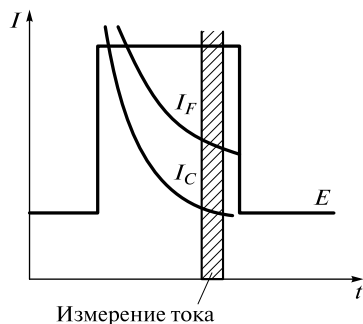


Рис. 9.43. Изменение фарадеевского I_F и емкостного I_C токов во времени

где n — число электронов; A — площадь поверхности электрода; D — коэффициент диффузии; C — концентрация; t — время от момента подачи импульса до измерения тока.

Зависимость силы тока от потенциала в любой точке восходящего участка вольтамперограммы, как и в классической полярографии, описывается уравнением (9.9). За счет временной селекции токов в нормальной импульсной вольтамперометрии предел обнаружения снижается до $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л, разрешающая способность, как и в полярографии, составляет $\Delta E_{1/2} = 0,1—0,2$ В при равных концентрациях депольризаторов.

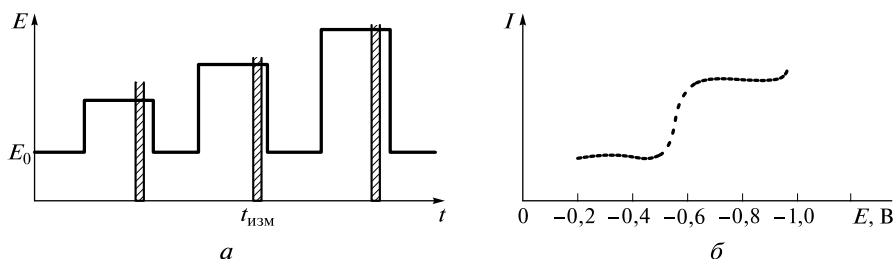


Рис. 9.44. Развертка поляризующего напряжения в нормальной импульсной вольтамперометрии (а) и нормальная импульсная вольтамперограмма (б)

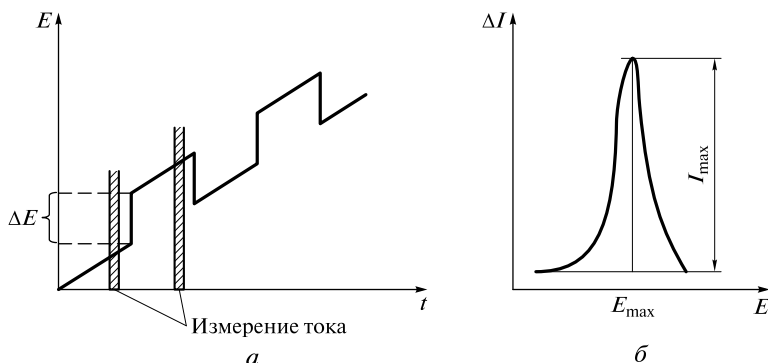


Рис. 9.45. Развертка поляризующего напряжения в дифференциальной импульсной вольтамперометрии (а) и дифференциальная импульсная вольтамперограмма (б)

Дифференциальная импульсная вольтамперометрия. Согласно этому методу на линейно увеличивающееся постоянное напряжение (5 мВ/с) через равные промежутки времени подают одинаковые (20 — 100 мВ) импульсы продолжительностью ~ 20 мс (рис. 9.45, а). Ток измеряют дважды: до подачи импульса и в конце импульса. Зависимость разности токов ΔI от линейно увеличивающегося постоянного напряжения выражается кривой с максимумом ($E_{\max} = E_{1/2}$) и называется *дифференциальной импульсной вольтамперограммой* (рис. 9.45, б).

Предел обнаружения зависит от обратимости электродного процесса: для обратимых процессов он составляет 10^{-8} моль/л, для необратимых — почти на порядок выше. Разрешающая способность очень высокая: пики достаточно хорошо разделяются при разности потенциалов пиков 0,04 — 0,05 В.

Переменноточковая вольтамперометрия

Существует две разновидности переменноточковой вольтамперометрии: синусоидальная и квадратно-волновая.

Синусоидальная переменноточковая вольтамперометрия. Поляризующее напряжение в данном случае является суперпозицией линейно увеличивающегося постоянного напряжения (E_{\pm}) и переменного напряжения (E_{\sim}) синусоидальной формы с фиксированной частотой (~ 50 Гц) и амплитудой ($\Delta E \sim 10$ мВ):

$$E = E_{\pm} + \Delta E \sin \omega t.$$

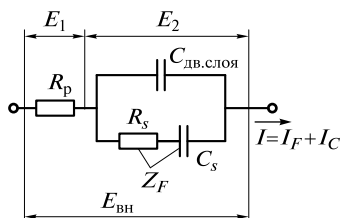


Рис. 9.46. Электрический эквивалент ячейки в условиях протекания переменного тока

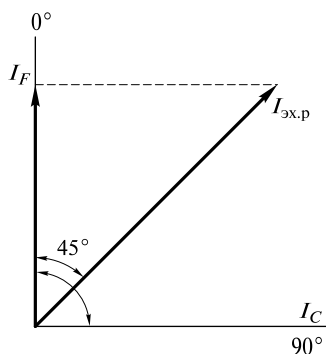


Рис. 9.47. Векторная диаграмма для фарадеевского и емкостного токов

В результате через ячейку протекает и постоянный, и переменный ток. Возникновение переменного тока обусловлено периодическими изменениями концентрации окисленной и восстановленной форм деполаризатора за счет флуктуации потенциала электрода относительно номинального значения. Это наблюдается при потенциалах подъема волны, когда у поверхности электрода одновременно присутствуют и окисленная и восстановленная формы деполаризатора: за один полупериод увеличивается концентрация восстановленной формы, за другой — окисленной. Полезную информацию несет в данном случае только переменный ток, поэтому постоянный ток отделяют с помощью конденсатора. Протекающий через ячейку переменный ток имеет ту же частоту, что и переменное модулирующее напряжение, но сдвинут по фазе:

$$I_{\infty} = I(E) \sin(\omega t + \varphi).$$

Фазовый сдвиг φ зависит от обратимости электродного процесса; для обратимых процессов $\varphi = 45^\circ$.

Наличие фазового сдвига указывает на то, что сопротивление индикаторного электрода при протекании через ячейку переменного тока является комплексным (импеданс Z) и состоит из активного сопротивления R_s и реактивного сопротивления, или псевдоемкости C_s . (Вспомним, что на емкости сдвиг фаз 90° !) Поскольку протекающий через ячейку ток $I_{\text{эк.п}}$ возникает в результате электрохимической реакции, импеданс называют фарадеевским (Z_F). Схематически это показано на рис. 9.46.

Если фазовый селектор (рис. 9.47) настроить так, чтобы он пропускал лишь составляющую тока, совпадающую по фазе с модулирующим напряжением (сдвиг фаз 0°), то из протекающего через ячейку тока $I_{\text{эк.п}}$ можно выделить ток I_F и отделить емкостный ток, обусловленный наличием псевдоемкости C_s (см. рис. 9.46). Этот прием улучшения со-

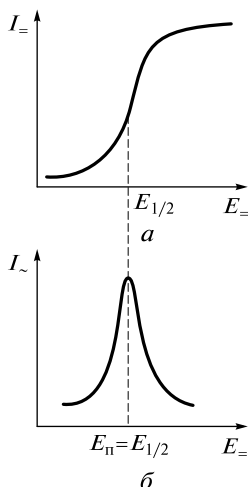


Рис. 9.48. Классическая полярограмма (а) и переменноточковая вольтамперограмма (б)

отношения I_F/I_C называют *фазовой селекцией токов*. Он эффективен для разделения токов I_F и I_C только для обратимых электродных процессов.

Амплитуда переменного тока модулирована по постоянному напряжению и при медленном его изменении меняется. График зависимости амплитуды переменного тока от линейно меняющегося постоянного поляризующего напряжения называют *переменнотокковой вольтамперограммой*. На рис. 9.48 показано соотношение между классической полярограммой и переменнотокковой вольтамперограммой для обратимого электродного процесса. Максимального значения амплитуда переменного тока достигает при потенциале $E_{1/2}$ на классической полярограмме.

Характеристиками переменнотокковой вольтамперограммы являются потенциал пика $E_{\text{п}}$ (В), ширина пика σ (мВ) на половине высоты и сила тока I (мкА) пика. Сила тока пика линейно зависит от концентрации деполаризатора. Ширина пика σ зависит от числа электронов и обратимости электродного процесса. Для обратимого электродного процесса $\sigma = 90/n$ мВ (25°C). Для необратимого электродного процесса $\sigma > 90/n$ мВ, пик несимметричен и плохо выражен (сила тока мала). Для обратимого процесса предел обнаружения порядка $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л. Разрешающая способность метода $\Delta E_{\text{п}} \sim 50$ мВ.

Квадратно-волновая переменнотокковая вольтамперометрия. Линейно изменяющееся постоянное напряжение в данном случае модулируют одинаковыми прямоугольными импульсами переменного напряжения (рис. 9.49). Для улучшения соотношения I_F/I_C , как и в методе дифференциальной импульсной вольтамперометрии, используют временную селекцию токов I_F и I_C , но измеряют ток дважды — до наложения импульса и в конце импульса. Благодаря двойной выборке тока временная селекция дает лучшие результаты, чем фазовая. Поэтому предел обнаружения для обратимого электродного процесса в квадратно-волновой переменнотокковой вольтамперометрии на порядок ниже ($5 \cdot 10^{-8}$ моль/л), чем в синусоидальной. Разрешающая способность составляет $\Delta E_{\text{п}} \sim 50$ мВ.

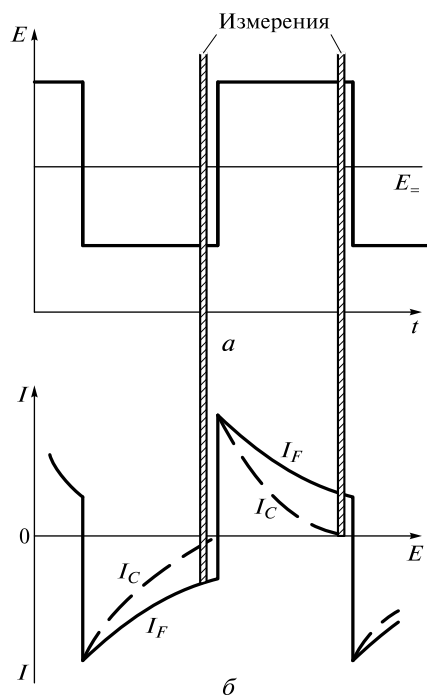


Рис 9.49. Развертка потенциала (а) и изменение токов I_F и I_C (б) в методе квадратно-волновой вольтамперометрии

Вольтамперометрия с быстрой линейной разверткой потенциала. Циклическая вольтамперометрия¹

В вольтамперометрии с быстрой линейной разверткой потенциала и циклической вольтамперометрии поляризующее постоянное напряжение, изменяющееся по линейному закону (рис. 9.50, *а*), с высокой скоростью ($10^{-1} - 10^2$ В/с) периодически подают на стационарный индикаторный электрод с постоянной площадью поверхности. Первоначально при развитии этого варианта вольтамперометрии использовали ртутный капаящий электрод, поэтому развертку потенциала от потенциала E_0 (см. рис. 9.50, *а*) включали ближе к концу жизни капли ($\sim 0,7t$), когда площадь ее поверхности уже практически не изменялась (см. рис. 9.36, *з*). Высокая скорость развертки потенциала позволяла зарегистрировать полярограмму за время жизни одной капли.

Общий вид получаемой вольтамперограммы приведен на рис. 9.50, *б*. Спад тока после достижения максимума объясняется расширением обедненного деполяризатором приэлектродного слоя за счет протекания электродной реакции. Поскольку используют высокие скорости развертки потенциала, обедненный деполяризатором слой не так далеко, как при медленной развертке потенциала, распространяется в глубь раствора. Градиент концентраций остается достаточно высоким, поэтому максимальный ток I_{\max} заметно выше предельного тока $I_{\text{пр}}$ на классической полярограмме, в результате чего снижается предел обнаружения.

За столь короткое время развертки потенциала площадь поверхности индикаторного электрода практически не изменяется, поэтому емкостный ток значительно ниже, чем при регистрации классической полярограммы на непрерывно возобновляющихся и растущих каплях ртути. Это вторая причина, обуславливающая повышение чувствительности метода почти на порядок (до 10^{-6} моль/л) по сравнению с классической полярографией.

При скоростях изменения потенциала выше нескольких милливольт в секунду в приэлектродном слое не успевает устанавливаться устойчивое квазиравновесное распределение концентрации между электродом и раствором, поэтому на величину I_{\max} влияет скорость развертки потенциала. Эта зависимость выражается уравнением

$$I_{\max} = kn^{3/2} AD^{1/2} v^{1/2} C, \quad (9.12)$$

где n — число электронов; A — площадь поверхности электрода; D — коэффициент диффузии; v — скорость развертки потенциала; C — концентрация.

К сожалению, емкостный ток растет быстрее ($I_C \sim kv$), поэтому из-за уменьшения соотношения I_F/I_C с повышением скорости развертки форма вольтамперограммы может ухудшаться. Оптимальную скорость развертки подбирают эмпирически. Разрешающая способность характеризуется величиной $\Delta E_n \sim 0,05$ В.

Если в какой-то момент направление линейной развертки изменить и вернуть потенциал к начальному значению E_0 , получим так называемую циклическую (треугольную) развертку потенциала (рис. 9.51 *а*, *в*). Вольтамперограмму, зарегистрированную при изменении потенциала сначала в прямом, а затем в обратном

¹ В данном подразделе использованы материалы, любезно предоставленные Е. А. Осиповой.

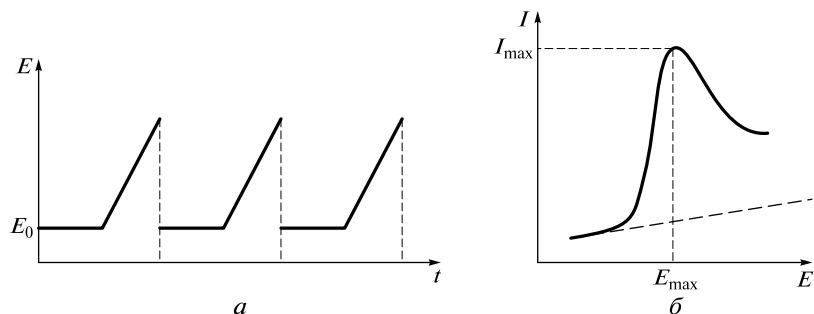


Рис. 9.50. Развертка поляризующего напряжения $E = E_0 - vt$ (а) и вольтамперограмма (б) в методе вольтамперометрии с быстрой линейной разверткой потенциала

направлении, называют *циклической* (рис. 9.51, б, в). На ней, как видно из рис. 9.51, в, фиксируются два пика — катодный и анодный. Катодный пик соответствует процессу восстановления исходного деполаризатора при развертке потенциала в прямом направлении (точки *A, B, C, D*), анодный — процессу окисления полученного продукта при развертке потенциала в обратном направлении (точки *F, G, H*). Изменение направления развертки потенциала происходит в точке *E*.

Циклическая вольтамперограмма характеризуется рядом важных параметров. Прежде всего, это — значения токов I_K и I_a и потенциалов пиков $E_{п.к.}$, $E_{п.а.}$. Из

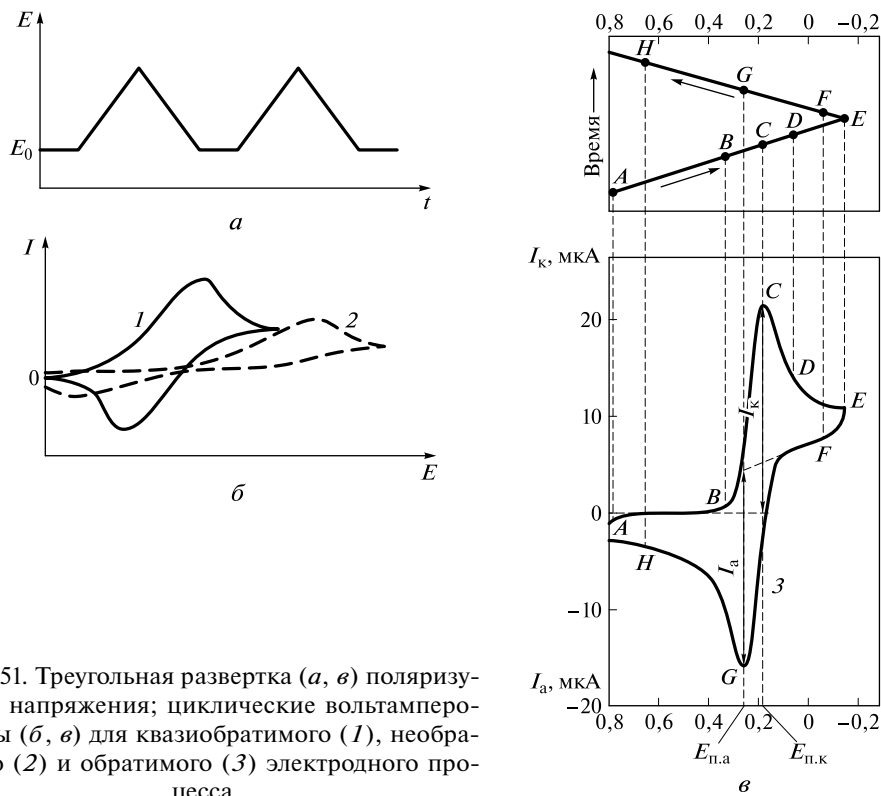


Рис. 9.51. Треугольная развертка (а, в) поляризующего напряжения; циклические вольтамперограммы (б, в) для квазиобратимого (1), необратимого (2) и обратимого (3) электродного процесса

экспериментально найденных значений $E_{п.к}$, $E_{п.а}$ можно рассчитать формальный потенциал ($E^{\circ'}$) изучаемой окислительно-восстановительной системы при условии, что электродный процесс протекает обратимо:

$$E^{\circ'} = \frac{E_{п.к} + E_{п.а}}{2}.$$

О высокой степени обратимости электродного процесса свидетельствуют три характеристики циклической вольтамперограммы, не зависящие от скорости v развертки потенциала:

- 1) симметричность катодного и анодного пиков;
- 2) отношение $I_k/I_a = 1$;
- 3) значение $\Delta E = E_{п.к} - E_{п.а}$ близко по значению к $2,3RT/(nF) = 0,059/n$ В (25°C); для квазиобратимых и необратимых процессов значение ΔE гораздо больше (см. рис. 9.51, б); это простой и достаточно надежный способ оценки обратимости электродного процесса.

С помощью циклической вольтамперометрии можно получать полезную информацию о кинетике и термодинамике электродных процессов восстановления органических и неорганических соединений на ртутных электродах и окисления на электродах из платины и углеродных материалов, оценивать обратимость процессов, устанавливать стехиометрию электродной реакции по найденному числу электронов. На основе зависимостей потенциалов и токов пиков от скорости развертки потенциала можно оценить константы скоростей гетерогенного переноса электронов и гомогенных химических реакций, сопутствующих стадии переноса заряда.

Инверсионная вольтамперометрия

Инверсионная вольтамперометрия — это самый высокочувствительный вольтамперометрический метод, позволяющий определять следовые количества многих неорганических и органических веществ.

Метод включает три важные стадии: 1) предварительное электролитическое или адсорбционное концентрирование определяемого компонента на поверхности индикаторного электрода при интенсивном перемешивании раствора; 2) успокоение раствора (выдерживание электрода 20 — 30 с при выключенной мешалке); 3) регистрация дифференциальной импульсной или квадратно-волновой вольтамперограммы полученного концентрата. Все эти стадии показаны на рис. 9.52.

Электролитически концентрируют вещества, способные восстанавливаться на пленочном ртутном или окисляться на графитовом электроде. Концентрирование проводят при потенциале предельного тока определяемого компонента. Для полного выделения определяемого компонента из раствора понадобилось бы бесконечно большое время, что для анализа неприемлемо, поэтому электролиз обычно проводят в течение некоторого разумного времени (1 — 5 мин). Если на этой стадии условия эксперимента (поверхность электрода, потенциал и время электролиза, а также скорость перемешивания раствора) строго контролируют, на электроде выделяется воспроизводимое количество определяемого компонента, пропорциональное его содержанию в анализируемом растворе.

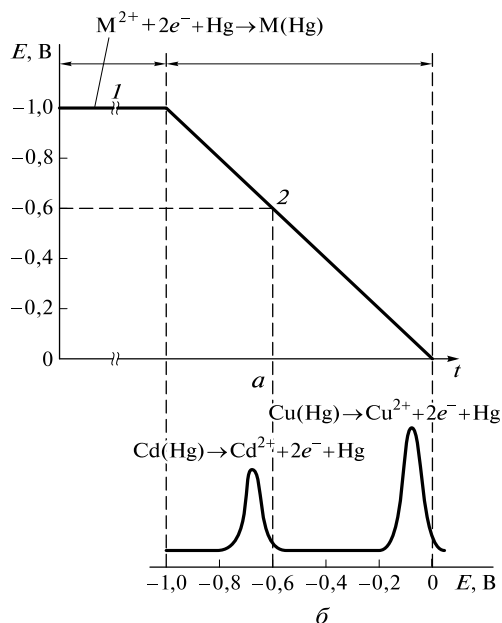
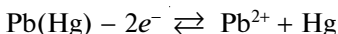


Рис. 9.52. Инверсионная вольтамперометрия:

a — 1 — стадия электролитического накопления на стационарном ртутном электроде; 2 — стадия растворения полученной амальгамы при развертке потенциала; b — анодная инверсионная вольтамперограмма

Если в процессе электролиза определяемый компонент накапливают на ртутном электроде в виде продукта восстановления (например, $\text{Pb}^{2+} + 2e^- + \text{Hg} \rightleftharpoons \text{Pb}(\text{Hg})$), то при развертке потенциала регистрируют анодный ток растворения полученной амальгамы:



Этот вариант метода называют *анодной инверсионной вольтамперометрией*.

Есть другой вариант метода — *катодная инверсионная вольтамперометрия*. В этом случае определяемый компонент концентрируют на электроде в виде продукта окисления. Например, ионы $\text{Mn}(\text{II})$ при потенциале предельного тока их окисления можно сконцентрировать в виде оксида MnO_2 . При развертке потенциала от потенциала электролиза к более отрицательным потенциалам регистрируют катодную инверсионную вольтамперограмму восстановления полученного оксида MnO_2 до ионов $\text{Mn}(\text{II})$.

Ртутный электрод применяют для определения ионов металлов (Tl , Cu , Cd , Pb , Zn , In), хорошо растворимых в ртути, и анионов (S^{2-} , SCN^- , I^- , Br^- , Cl^-), образующих малорастворимые соединения с ртутью.

При определении анионов электролиз проводят при потенциале окисления ртути ($\text{Hg} - 2e^- \rightleftharpoons \text{Hg}^{2+}$) и затем регистрируют катодную вольтамперограмму восстановления полученного на поверхности электрода соединения, например $\text{HgS} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Hg} + \text{S}^{2-}$.

В настоящее время вместо стационарного капельного ртутного электрода чаще применяют ртутный пленочный электрод на графитовой подложке. Пленку рту-

ти на поверхности графитового дискового электрода формируют *in situ* из раствора нитрата ртути(II) в процессе накопления определяемого компонента. Это позволяет не только не использовать металлическую ртуть, но и повысить чувствительность определения. Последнее обусловлено тем, что при прочих равных условиях (концентрация определяемого компонента, время и потенциал предварительного накопления, скорость перемешивания) сконцентрированный металл находится в тонком слое ртути на поверхности графита и поэтому практически весь растворяется при регистрации анодной вольтамперограммы. На стационарном капельном электроде заметная часть накопленного металла диффундирует из поверхностного слоя в глубь ртутной капли и не участвует в процессе анодного растворения.

Недостатком ртутных пленочных электродов является более низкая воспроизводимость и стабилизация поверхности электрода. Поэтому каждый раз перед стадией концентрирования поверхность электрода электрохимически очищают, выдерживая электрод при потенциале растворения ртути. При проведении анализа регистрируют несколько вольтамперограмм, из которых одну-две, полученные еще на нестабилизированной поверхности, отбрасывают.

Для одновременного определения нескольких элементов при совместном присутствии электролиз ведут при потенциале предельного тока деполяризатора с наиболее отрицательным потенциалом $E_{1/2}$. При правильном выборе фонового электролита на инверсионной вольтамперограмме наблюдают отдельные пики компонентов смеси. На рис. 9.53 приведена анодная инверсионная вольтамперограмма пробы речной воды, содержащей следовые количества ионов нескольких тяжелых металлов.

Большой интерес для аналитиков представляет современная разновидность инверсионной вольтамперометрии — *адсорбционная инверсионная вольтамперометрия*. Она основана на предварительном адсорбционном концентрировании определяемого компонента на поверхности электрода. Таким способом можно концентрировать многие органические вещества, а также ионы металлов в виде их комплексов с органическими лигандами с N- и S-донорными атомами. Концентрируют, как правило, в течение строго контролируемого времени при потенциале максимальной адсорбции, найденном в предварительных исследованиях. Пригодны и стационарные, и пленочные ртутные электроды, и электроды из углеродных материалов, особенно химически модифицированные, поскольку наличие реакционноспособных групп способствует концентрированию определя-

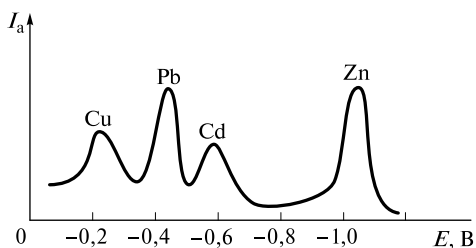


Рис. 9.53. Анодная инверсионная вольтамперограмма пробы речной воды, содержащей 5 мкг/л ионов Cu^{2+} , 0,5 мкг/л Cd^{2+} , 15 мкг/л Pb^{2+} и 15 мкг/л Zn^{2+} ; получена после 5 мин электролиза при потенциале $-1,2$ В на пленочном ртутном электроде

емого вещества исключительно на поверхности электрода, в результате чувствительность определения повышается.

Адсорбционная инверсионная вольтамперометрия обладает превосходными метрологическими характеристиками: после предварительного накопления в течение 1—1,5 мин по полученной дифференциальной импульсной или квадратно-волновой вольтамперограмме удастся одновременно определять 4—5 компонентов с пределом обнаружения порядка 10^{-12} — 10^{-10} моль/л. Метод пригоден и для определения многочисленных органических и неорганических веществ, способных сильно и воспроизводимо адсорбироваться на электроде.

9.5.4. Амперометрическое титрование

Амперометрическое титрование (косвенная вольтамперометрия) основано на измерении объема титранта V , затраченного на достижение конечной точки титрования; последнюю фиксируют по изменению тока восстановления (или тока окисления) электрохимически активного участника химической реакции, протекающей в процессе титрования. Суть метода демонстрирует рис. 9.54.

На рис. 9.54, *а* представлены вольтамперограммы электрохимически активного вещества. Установим на индикаторном электроде потенциал предельного диффузионного тока E_1 . В ячейку с раствором этого вещества будем добавлять титрант, реагирующий с ним и поэтому вызывающий уменьшение его концентрации, и измерять силу тока после добавления каждой очередной порции титранта. Если изменение силы тока в зависимости от объема титранта изобразить графически, то получим кривую амперометрического титрования (рис. 9.54, *б*). Объем титранта в конечной точке титрования находим по пересечению прямолнейных участков кривой титрования.

Вид кривой титрования зависит от того, какое вещество является электрохимически активным — определяемый компонент (рис. 9.55, *а*), титрант (рис. 9.55, *б*) или образующийся продукт (рис. 9.55, *в*). Например, при титровании ионов Pb^{2+} раствором серной кислоты конец титрования можно установить по изменению тока восстановления ионов Pb^{2+} на ртутном капаящем электроде. При добавлении титранта из-за уменьшения концентрации ионов Pb^{2+} ток будет снижаться, достигая некоторого постоянного значения, обусловленного растворимостью сульфата свинца $PbSO_4$. Полученная кривая титрования изображена на рис. 9.55, *а*.

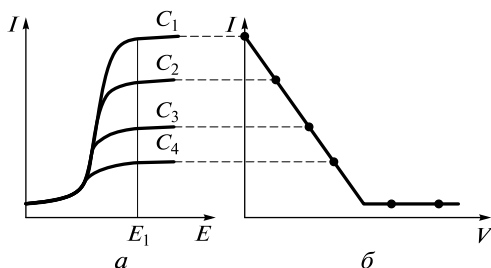


Рис. 9.54. Вольтамперограммы (*а*) электрохимически активного вещества при концентрациях $C_1 > C_2 > C_3 > C_4$ и кривая амперометрического титрования (*б*) этого вещества при потенциале индикаторного электрода E_1

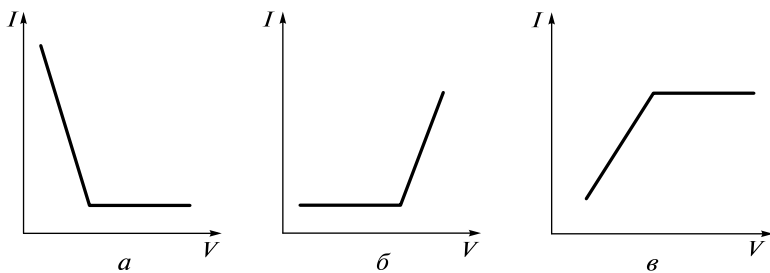


Рис. 9.55. Кривые амперометрического титрования для случаев, когда электрохимически активен титруемый компонент (а), титрант (б) и продукт реакции (в)

Если электрохимически активным является титрант, ток будет оставаться практически равным нулю, пока в растворе не появится избыток титранта. Начиная с этого момента ток будет расти (рис. 9.55, б). Такая кривая наблюдается при титровании ионов Zn^{2+} раствором гексацианоферрата(II) калия $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ при потенциале предельного тока окисления титранта на графитовом электроде.

Амперометрическое титрование возможно и в том случае, если ни определяемый компонент, ни титрант не являются электрохимически активными, но активен продукт реакции (рис. 9.55, в).

Индикаторным электродом для амперометрического титрования служит вращающийся платиновый или графитовый электрод; ртутный электрод практически не используют из-за необходимости удаления растворенного кислорода. Большое число органических реагентов, окисляющихся при потенциалах поляризации этих электродов и пригодных в качестве титрантов, позволяет найти условия для селективного определения многих элементов. Селективность определения можно повысить, регулируя pH и вводя маскирующие агенты для устранения влияния примесей.

Перед титрованием необходимо провести предварительное исследование. Прежде всего необходимо подобрать электрод, на котором электрохимически активен хотя бы один из участников реакции (определяемый ион, титрант или продукт их взаимодействия), протекающей при титровании. Нужно также определить потенциал электрода, при котором наблюдается линейная зависимость между током окисления (или током восстановления) электрохимически активного участника реакции титрования и его концентрацией. Важно обеспечить полноту протекания химической реакции, лежащей в основе титрования. Для этого подбирают pH (например, ионы Fe^{3+} можно титровать раствором ЭДТА в кислотной среде, а ионы Zn^{2+} — в ацетатной буферной смеси) или растворитель (например, при титровании ионов SO_4^{2-} раствором нитрата свинца(II) для понижения растворимости сульфата свинца(II) можно добавить этанол).

Примеры применения амперометрического титрования приведены в табл. 9.8.

Достоинством амперометрического титрования является, прежде всего, экспрессность и простота. Для построения кривой титрования по значениям силы тока после прибавления нескольких порций титранта до и после конечной точки титрования нужно гораздо меньше времени, чем для регистрации вольтамперограмм и построения градуировочного графика. Для амперометрического титрования нужна очень простая аппаратура: источник постоянного напряжения, миллиамперметр и стаканчик с магнитной мешалкой.

Примеры применения амперометрического титрования

Определяемый ион	Титрант	Фон	Электрод	Потенциал, В	Электрохимически активное вещество
<i>Процессы осаждения</i>					
Ba^{2+}	K_2CrO_4	0,1 М NaOH	Ртутный капающий	– 1,0	CrO_4^{2-}
SO_4^{2-}	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	0,1 М CH_3COOH	Ртутный капающий	– 0,8	Pb^{2+}
Al^{3+}	8-Гидрокси-хинолин	Ацетатный буферный раствор (рН 3,5)	Ртутный капающий	– 1,45	8-Гидрокси-хинолин
Zn^{2+}	$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$	0,1 М K_2SO_4	Pt	+ 1,0	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$
<i>Реакции комплексообразования</i>					
Zn^{2+}	ЭДТА	Ацетатный буферный раствор (рН 4,7)	Ртутный капающий	– 1,4	Zn^{2+}
Bi^{3+}	ЭДТА	Тартрат натрия, рН 2	Ртутный капающий	– 0,2	Bi^{3+}
Fe^{3+}	ЭДТА	0,1 М HCl	Pt	+ 0,9	ЭДТА
<i>Реакции окисления-восстановления</i>					
Fe^{2+}	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	1 М HCl	Pt	+ 1,0	Fe^{2+}
Fe^{2+}	Ce^{4+}	1 М H_2SO_4	Pt	+ 1,2	Ce^{4+}
Fe^{3+}	Аскорбиновая кислота	1 М H_2SO_4	Pt	+ 0,59	Аскорбиновая кислота

Метод более универсален, чем прямая вольтамперометрия, так как определяемое вещество не обязательно должно быть электрохимически активным.

9.5.5. Вольтамперометрическое определение органических соединений

На графитовом (платиновом) электроде способны окисляться многие органические соединения. Электрохимически активными являются соединения с функциональными группами $-\text{OH}$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{NH}_2$ и др. Примеры органических соединений, которые можно определять методом прямой вольтамперометрии, приведены в табл. 9.9. Некоторые из этих соединений пригодны в качестве электрохимически активных титрантов в методе амперометрического титрования, поскольку они либо являются комплексообразующими лигандами (например, ЭДТА), либо способны участвовать в окислительно-восстановительных (аскорбиновая кислота) и осадительных (8-меркаптохинолин) процессах.

Органические соединения, окисляющиеся на графитовом (платиновом) электроде

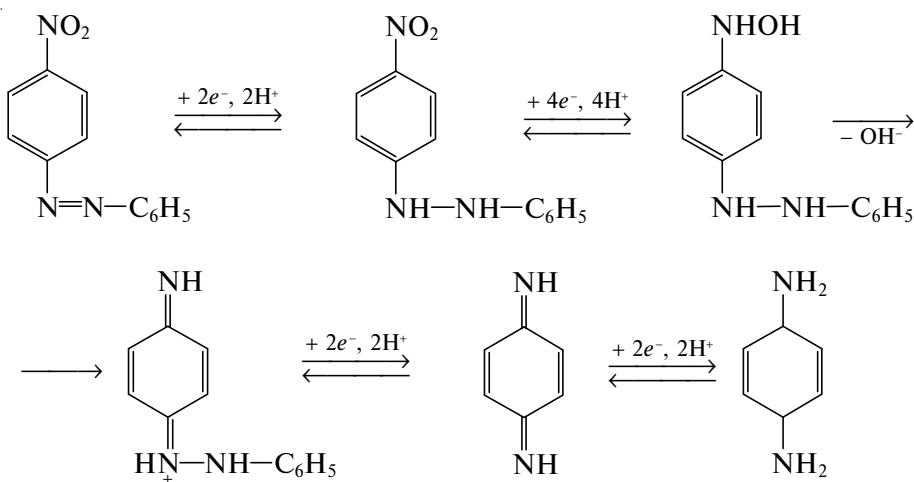
Соединение	Фоновый элемент	$E_{1/2}$, В*
Аскорбиновая кислота	1 М H_2SO_4	0,8
ЭДТА	0,1 М HCl	0,7
Фенолы и их производные	pH 2—8	0,3—0,6
Аминокислоты (оксифенил-аланин)	0,01 М H_2SO_4	1,1
8-Меркаптохинолин	Ацетатный буферный раствор, pH 4	0,6
Тиодиуксусная кислота	Ацетатный буферный раствор, pH 4—6	1,0

* Потенциал полуволны $E_{1/2}$ приведен относительно насыщенного каломельного электрода.

Известно большое число органических соединений, способных восстанавливаться на ртутном электроде. К ним относятся альдегиды, α - и β -ненасыщенные кетоны, нитро- и нитрозосоединения, углеводороды с сопряженными двойными и тройными связями, галогенопроизводные, кислоты, пероксиды. Электрохимическая активность их обусловлена наличием одной или нескольких функциональных групп, восстанавливающихся в интервале потенциалов поляризации ртутного электрода.

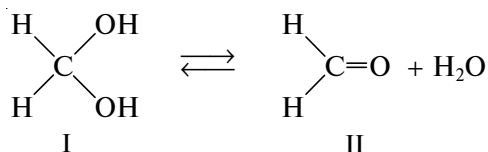
Восстановление органических соединений протекает гораздо сложнее, чем неорганических, по ряду причин.

Во-первых, электродный процесс включает несравненно большее число стадий и образуются гораздо более сложные продукты. Например, при восстановлении *n*-нитроазобензола до конечного продукта (*n*-диаминобензола) перенос электронов в водной среде происходит по схеме, включающей как обратимые, так и необратимые стадии:



Во-вторых, как правило, в электродных реакциях участвуют ионы водорода. Поэтому потенциал $E_{1/2}$ является функцией pH раствора. Если буферная емкость раствора мала, pH приэлектродного слоя может существенно измениться, что неизбежно осложнит протекание электродного процесса и интерпретацию данных. В растворах с высокой буферной емкостью предельные токи обычно линейно зависят от концентрации органического соединения и поэтому пригодны в аналитических целях. Для повышения растворимости органических соединений часто применяют либо неводные растворители, например диметилформамид, либо водно-органические смеси, например вода — диоксан или вода — спирт. Такие смеси сохраняют многие особенности водных растворов и позволяют в качестве электрода сравнения использовать водный насыщенный каломельный электрод.

В-третьих, очень часто предельные токи восстановления органических соединений не являются диффузионными. Одна из причин заключается в том, что электрохимически активная форма соединения образуется в результате химической реакции, протекающей в непосредственной близости от поверхности электрода. Если эта реакция протекает медленно, то предельный ток определяется ее скоростью и является кинетическим. Например, формальдегид в водных растворах присутствует в основном в виде электрохимически неактивной гидратированной формы (I), а концентрация карбонильной формы (II), способной восстанавливаться на ртутном электроде, мала. Поэтому при восстановлении формальдегида скорость электродного процесса будет лимитироваться скоростью реакции дегидратации:



Предельный кинетический ток $I_{\text{пр.к}}$ зависит от константы скорости k' реакции дегидратации в соответствии с уравнением

$$I_{\text{пр.к}} = knm^{2/3}t^{2/3}k'C_p,$$

где n — число электронов; m — скорость вытекания ртути; t — время жизни капли; C_p — концентрация неактивной формы.

Температурный коэффициент для кинетического тока намного выше, чем для диффузионного, поэтому ячейку необходимо термостатировать.

Как правило, либо исходное органическое соединение, либо продукты его частичного или полного восстановления адсорбируются на поверхности ртутного электрода. Поэтому часто наблюдаются адсорбционные токи, которые зависят от количества адсорбированного на электроде деполаризатора. В отличие от диффузионных адсорбционные токи имеют отрицательные температурные коэффициенты. Линейная зависимость между адсорбционным током и концентрацией деполаризатора наблюдается в гораздо более узком интервале, чем для диффузионного тока.

Ранее было показано, что способность многих электрохимически неактивных органических соединений адсорбироваться на ртутном электроде используют для устранения полярографических максимумов.

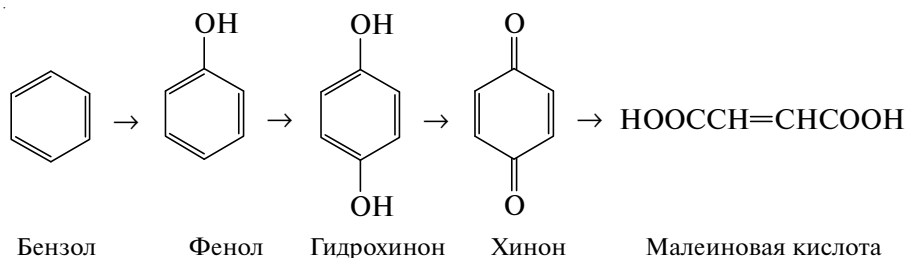
Многие органические соединения, особенно с N- и S-донорными атомами, и их комплексы с катионами переходных элементов снижают перенапряжение водорода на ртутном электроде. В результате возникают каталитические токи водорода — токи, которые в строго контролируемых условиях пропорциональны концентрации катализатора — соединения, снижающего перенапряжение водорода.

Несмотря на все перечисленные сложности, вольтамперометрия пригодна для определения многих органических соединений в весьма сложных объектах. Существуют и прямые методы определения электрохимически активных веществ (определяют следы нитробензола в анилине), и косвенные методы, основанные, например, на измерении степени подавления полярографических максимумов. Так можно оценивать молекулярную массу продуктов гидролиза крахмала или определять степень загрязнения различных вод природными и синтетическими ПАВ. Современные фармакопеи многих развитых стран рекомендуют вольтамперометрию для анализа лекарственных препаратов — алкалоидов, гормонов, антибиотиков, витаминов.

Вольтамперометрию наряду с другими методами с успехом используют для изучения структуры органических соединений. Легкость протекания процесса электровосстановления, численно характеризуемая потенциалом $E_{1/2}$, зависит от распределения электронной плотности в молекуле и для данной электрохимически активной группы может изменяться в довольно широких пределах в зависимости от положения ее в молекуле, геометрии молекулы и влияния других заместителей. Поэтому для серии родственных соединений потенциал $E_{1/2}$ характеризует электронное и стерическое взаимодействие с электрохимически неактивной частью молекулы и является источником информации о реакционной способности соединения. Эмпирические правила о взаимосвязи потенциала $E_{1/2}$ со строением молекулы были сформулированы еще в 1930-е гг.: 1) восстановление идет тем легче, чем длиннее система сопряженных связей (это прослеживается, например, для альдегидов общей формулы $\text{CH}_3(\text{CH}=\text{CH})_n\text{CHO}$, $n = 1 - 5$); 2) чем больше электрофильных групп содержит молекула органического соединения, тем легче оно восстанавливается. Эти правила для приблизительной оценки влияния заместителей используют и в настоящее время.

Потенциал $E_{1/2}$ дает ценную информацию при выборе условий проведения электрохимического синтеза органических соединений. Интерес к этому методу велик, так как во многих случаях удается, не используя дорогих химических реактивов, получать продукты высокого качества. По данным вольтамперометрического изучения процесса восстановления органического соединения выбирают оптимальный фон (а следовательно, и температуру проведения синтеза), потенциал катода (следовательно, и материал для его изготовления). Если $E_{1/2} < -1$ В, для изготовления катода пригодны металлы со средним перенапряжением водорода (платина, никель, вольфрам), и органическое вещество будет в основном восстанавливаться адсорбированным на электроде атомарным водородом. Если потенциал $E_{1/2}$ лежит в интервале от $-1,0$ до $+1,7$ В, катод нужно делать из металла с высоким перенапряжением водорода (ртуть, таллий, свинец); в этом случае наблюдается замедленный разряд ионов водорода, и восстановление органического вещества атомарным водородом маловероятно.

В электрохимическом синтезе используют и реакции электроокисления. Например, малеиновую кислоту можно получить при окислении бензола на аноде:



9.6. Кондуктометрия

Кондуктометрия основана на измерении удельной электропроводности раствора. *Электропроводностью* называют величину, обратную электрическому сопротивлению R ; единица измерения электропроводности — Ом^{-1} или сименс (См). Растворы электролитов, являясь проводниками второго рода, подчиняются закону Ома. По аналогии с сопротивлением проводников первого рода сопротивление раствора прямо пропорционально расстоянию между электродами d и обратно пропорционально площади их поверхности A :

$$R = \rho \frac{d}{A},$$

где ρ — удельное сопротивление, $\text{Ом} \cdot \text{см}$.

При $d = 1 \text{ см}$ и $A = 1 \text{ см}^2$ имеем $R = \rho$; следовательно, удельное сопротивление равно сопротивлению 1 см^3 раствора.

Величину, обратную удельному сопротивлению ρ , называют *удельной электропроводностью* χ :

$$\chi = 1/\rho.$$

Удельная электропроводность ($\text{См}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) численно равна току (A), проходящему через слой раствора с поперечным сечением, равным 1 см^2 , под действием градиента потенциала 1 В на единицу длины.

Электропроводность разбавленных растворов электролитов зависит от числа ионов в растворе (т. е. от их концентрации), числа элементарных зарядов, переносимых каждым ионом (т. е. от заряда ионов), и скорости движения одинаково заряженных ионов к катоду или аноду под действием электрического поля. С учетом всех этих факторов электропроводящие свойства ионов характеризуют *эквивалентной электропроводностью* λ (*подвижностью*). Она равна произведению абсолютной скорости движения иона на константу Фарадея и имеет размерность $\text{См} \cdot \text{см}^2/(\text{моль} \cdot \text{экв})$. Под *эквивалентом* здесь понимают частицу с единичным зарядом, например K^+ , Cl^- , $1/2 \text{Mg}^{2+}$, $1/3 \text{Al}^{3+}$.

Эквивалентная электропроводность (подвижность) уменьшается с повышением концентрации электролита, поскольку увеличивается ионная сила, а скорость движения ионов уменьшается за счет межионных взаимодействий. При нулевой концентрации (бесконечное разбавление) подвижности ионов становятся постоянными и максимальными, и эквивалентная электропроводность раствора электролита λ^0 при бесконечном разбавлении равна сумме подвижностей положительно λ_+^0 и отрицательно λ_-^0 заряженных ионов:

$$\lambda^0 = \lambda_+^0 + \lambda_-^0,$$

отнесенных к единичному заряду.

Поскольку при концентрации электролита C (моль · экв/л) в 1 см³ раствора содержится ионов $1 \cdot 10^{-3} C$ моль · экв, то удельная χ и эквивалентная λ^0 электропроводности электролита связаны соотношением

$$\chi = 1 \cdot 10^{-3} \lambda^0 C$$

и, следовательно, удельная электропроводность, определяемая суммой вкладов всех ионов, равна

$$\chi = 1 \cdot 10^{-3} \frac{A}{d} \sum_i \lambda_i^0 C_i,$$

где A — площадь поверхности электродов, см²; d — расстояние между электродами, см; C_i — концентрация i -х ионов, моль · экв/л; λ_i^0 — эквивалентная электропроводность i -х ионов, См · см²/(моль · экв).

Значения λ_i^0 , полученные экстраполяцией при бесконечном разбавлении и отнесенные к одному заряду, приводят в справочниках. В табл. 9.10 даны значения λ_i^0 для ряда ионов при температуре 25 °С.

Ячейка для измерения электропроводности состоит из двух платиновых электродов Э₁ и Э₂, впаянных в стеклянный сосуд, в который помещают анализируемый раствор (рис. 9.56). Электрический эквивалент этой ячейки (см. рис. 9.2) состоит из активного сопротивления раствора между электродами R_p , сопротивлений проводников R_1 и R_2 , а также параллельно включенных емкостей двойного слоя на электродах C_1 и C_2 и межэлектродной емкости C_p . Ячейку подключают к источнику переменного тока частотой порядка 1 000 Гц. При достаточно большой площади поверхности электродов (для этого их платинируют — покрывают платиновой чернью) заметного изменения концентрации не происходит, поэтому сопротивлениями R_1 и R_2 можно пренебречь. Поскольку площадь поверхности A электродов велика, а расстояние l между обкладками молекулярного конденсатора мало (порядка радиуса иона), из соотношений

$$C \sim A/l, R_C = 1/(\omega C),$$

(C — емкость; ω — частота переменного тока) следует, что емкость C большая, а сопротивление R_C мало, поэтому можно пренебречь и емкостями C_1 и C_2 . Если

Таблица 9.10

Эквивалентная электропроводность ионов при бесконечном разбавлении при температуре 25 °С, См · см²/(моль · экв)

Катион	λ_+^0	Катион	λ_+^0	Анион	λ_-^0	Анион	λ_-^0
H ⁺	349,8	$\frac{1}{2}\text{Ba}^{2+}$	63,9	ОН ⁻	199,0	NO ₃ ⁻	71,4
K ⁺	73,5	Ag ⁺	61,9	$\frac{1}{2}\text{SO}_4^{2-}$	80,0	$\frac{1}{2}\text{CO}_3^{2-}$	69,8
NH ₄ ⁺	73,5	$\frac{1}{2}\text{Ca}^{2+}$	59,5	Br ⁻	78,1	ClO ₄ ⁻	67,3
$\frac{1}{2}\text{Pb}^{2+}$	69,5	Na ⁺	50,1	I ⁻	76,8	HCO ₃ ⁻	44,5
$\frac{1}{3}\text{Fe}^{3+}$	68,0			Cl ⁻	76,4		

сопротивление раствора не очень велико, электроды можно расположить на значительном расстоянии друг от друга. В этом случае емкость C_p будет мала, а сопротивление этого конденсатора R_C будет велико по сравнению с сопротивлением раствора R_p . Поэтому ток будет проходить только через R_p , и при таких условиях ячейка пригодна для измерения активного сопротивления раствора, следовательно, и его удельной электропроводности.

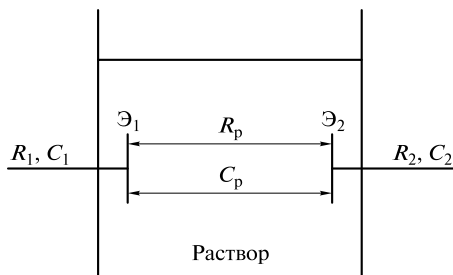


Рис. 9.56. Ячейка для кондуктометрических измерений

Активное сопротивление R_p можно измерить с помощью моста Уитстона (рис. 9.57), состоящего из четырех сопротивлений: измеряемого сопротивления R_p , калиброванного магазина сопротивления R и двух сопротивлений на концах проволочного реохорда r_1 и r_2 . Сопротивления R , r_1 , r_2 подбирают такими, чтобы индикатор тока показал отсутствие тока в диагонали моста. При этом условии име-

$$\frac{R}{r_1} = \frac{R_p}{r_2}, R_p = \frac{Rr_2}{r_1}, \chi = \frac{r_1}{Rr_2}.$$

Сопротивления r_1 , r_2 берут постоянными, а сопротивление R подбирают в процессе измерения.

В качестве индикатора тока можно использовать гальванометр переменного тока, или (после выпрямления) гальванометр постоянного тока, или осциллограф. Для компенсации реактивного сопротивления параллельно сопротивлению R включают емкость C . Звуковой генератор служит для питания моста переменным током с частотой порядка 1 000 Гц.

Электропроводность растворов зависит от температуры и увеличивается на 1 — 2 % при повышении температуры на 1 °С, поэтому рекомендуется термостатировать ячейку.

Удельная электропроводность и измеренное активное сопротивление связаны соотношением

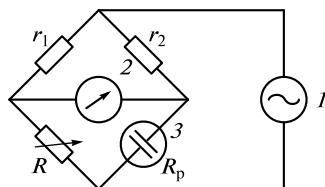
$$\chi = \frac{\theta}{R_p},$$

поэтому нужно знать константу ячейки θ . Ее можно определить, измерив сопротивление раствора известной удельной электропроводности, например 1 М КСl, для которого при температуре 18 °С имеем $\chi = 0,09827 \text{ См} \cdot \text{см}^{-1}$.

Различают прямую и косвенную кондуктометрию.

Рис. 9.57. Мост Уитстона:

I — источник переменного тока; 2 — индикатор тока;
3 — ячейка



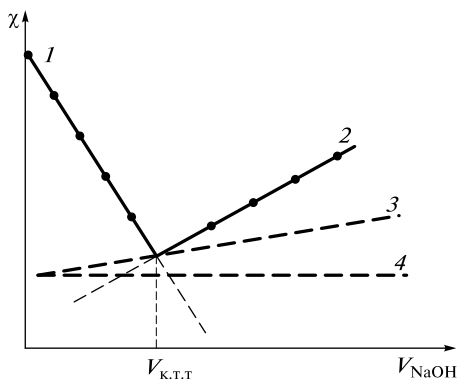


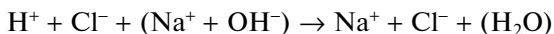
Рис. 9.58. Кривая кондуктометрического титрования раствора HCl раствором NaOH (сплошная линия) и вклад ионов H^+ (1), OH^- (2), Na^+ (3), Cl^- (4) в электропроводность раствора

Прямая кондуктометрия мало применяется в аналитической химии, поскольку электропроводность является величиной аддитивной и определяется присутствием всех ионов в растворе. Прямые кондуктометрические измерения используют для контроля качества воды, применяемой в химической лаборатории. Современные установки для перегонки или деминерализации воды снабжают кондуктометрическими датчиками — кондуктометрами — для измерения удельной электропроводности растворов. Детекторы по электропроводности используют в ионной хроматографии.

Для косвенной кондуктометрии (кондуктометрического титрования) пригодны кислотно-основные реакции или

процессы осаждения, сопровождающиеся заметным изменением электропроводности вследствие образования малодиссоциирующих или малорастворимых соединений.

Рассмотрим кондуктометрическое титрование сильной кислоты сильным основанием. По мере добавления титранта NaOH к анализируемому раствору HCl:



удельная электропроводность резко снижается, так как протоны замещаются менее подвижными ионами Na^+ (см. табл. 9.10). Когда вся кислота будет оттитрована, удельная электропроводность начнет повышаться за счет появления избытка ионов OH^- . Восходящая ветвь кривой титрования (рис. 9.58) обусловлена суммарной электропроводностью ионов Na^+ и OH^- . Точка пересечения ветвей соответствует конечной точке титрования. Несимметричность ветвей обусловлена различием подвижностей ионов H^+ и OH^- (см. табл. 9.10).

К достоинствам кондуктометрического титрования относится возможность высокоточных измерений даже в очень разбавленных растворах. В термостатированной ячейке погрешность для $1 \cdot 10^{-4}$ М растворов не превышает 2 %. В отличие от титриметрии с визуальными индикаторами кондуктометрическое титрование пригодно для анализа окрашенных или мутных растворов. Графический способ нахождения конечной точки титрования позволяет избежать трудностей, возникающих из-за замедления реакции вблизи конца титрования и снижающих точность фиксирования конечной точки.

9.7. Электрогравиметрия

Электрогравиметрия — это старейший электрохимический метод анализа, известный с 1864 г. В настоящее время его применяют только для определения меди и таких компонентов медных сплавов, как олово, свинец, кадмий, цинк. Будучи безэталоным методом электрогравиметрия по правильности и воспроизво-

димости результатов превосходит все другие методы определения этих элементов. Однако на проведение анализа требуется много времени, и сейчас метод используют редко.

Метод основан на измерении массы вещества, выделившегося в процессе электролиза на предварительно взвешенном электроде, обычно платиновой сетке. Электролиз проводят либо при постоянной силе тока, либо при постоянном потенциале.

Если заданный потенциал электрода контролировать с помощью потенциостата, то можно отдельно определять компоненты смеси. Высокая селективность метода очевидна из уравнения Нернста: для 10-кратного изменения концентрации определяемого компонента потенциал электрода нужно изменить всего лишь на $0,059/n$ В. Если условием количественного разделения компонентов смеси считать снижение исходной концентрации в 10^5 раз, то при равенстве исходных концентраций разделение однозарядных ионов возможно при разности формальных потенциалов порядка 0,3 В, а двухзарядных ионов — 0,1 В. Так, последовательное определение компонентов медного сплава можно проводить при электролизе нейтрального щавелевокислого раствора: при –0,2 В на катоде выделяется только медь; если после взвешивания электрода повысить потенциал до –0,4 В, то будет осаждаться висмут, а при –0,6 В — свинец. Если раствор после выделения меди, висмута и свинца подкислить, то оксалатный комплекс олова разрушится, и при –0,65 В можно электролизом выделять олово.

Существует интересный вариант электрогравиметрии, называемый *методом самопроизвольного (внутреннего) электролиза*. Электролиз проводят без использования внешнего источника напряжения, т. е. электролиз осуществляется за счет самопроизвольной химической реакции в гальваническом элементе. Метод трудоемок, но прост и при правильном выборе анода позволяет проводить ряд селективных определений. Так, на платиновом катоде в паре с медным анодом в растворе сульфата меди(II) можно определять серебро в присутствии меди, железа, никеля и цинка.

Контрольные задания

1. Какой параметр может служить аналитическим сигналом в электрохимических методах анализа?
2. Каковы различия между равновесными и неравновесными электрохимическими системами?
3. Перечислите основные требования к индикаторному электроду и электроду сравнения. В каких случаях в вольтамперометрии необходима трехэлектродная ячейка? Какова роль вспомогательного электрода?
4. В каких случаях целесообразно работать с ячейкой без жидкостного соединения, а в каких случаях нужна ячейка с жидкостным соединением?
5. Каким образом омическое падение напряжения влияет на электродвижущую силу гальванического элемента и на наложенное внешнее напряжение электролитической ячейки?
6. Охарактеризуйте понятие «равновесный потенциал». Каким образом следует измерять потенциал индикаторного электрода, чтобы его можно было приравнять равновесному?
7. Дайте определение понятия «ионселективный электрод». Назовите основные виды ионселективных электродов.

8. Какими свойствами должна обладать мембрана, пригодная для изготовления ион-селективного электрода?

9. Дайте определение понятий: электродная функция, время отклика ионселективного электрода.

10. Что характеризует потенциометрический коэффициент селективности? Опишите способы его оценки.

11. Чем обусловлена высокая селективность электродов с кристаллическими мембранами?

12. Назовите основные источники погрешностей при измерении pH стеклянным электродом и причины их возникновения. Как снизить влияние потенциала асимметрии?

13. Охарактеризуйте понятие «выход по току». Как обеспечить 100%-й выход по току в прямой и косвенной кулонометрии?

14. Дайте определение понятия «электрогенерированный титрант». Назовите три способа получения электрогенерированного титранта. Приведите примеры.

15. Почему возможности метода прямой кулонометрии ограничены по сравнению с кулонометрическим титрованием?

16. Назовите общее достоинство и преимущество кулонометрии и гравиметрии перед другими методами анализа.

17. Почему кулонометрию используют не только как метод анализа, но и как метод исследования?

18. Каковы характерные особенности ячейки для вольтамперометрии?

19. Назовите две причины, обуславливающие необходимость использования индифферентного электролита при регистрации вольтамперограммы. Что означает термин «индифферентный»?

20. Почему потенциал полуволны $E_{1/2}$ характеризует природу электрохимически активного вещества?

21. При каких условиях предельный ток является диффузионным? Почему он зависит от концентрации определяемого компонента в растворе?

22. Чем обусловлены полярографические максимумы первого рода и почему они исчезают в присутствии поверхностно-активных веществ?

23. Почему для классической полярографии недостижимы пределы обнаружения ниже 10^{-5} моль/л?

24. Как улучшить соотношение аналитический сигнал : шум (I_F/I_C) в вольтамперометрии?

25. В чем суть способов временной и фазовой селекции фарадеевского и емкостного токов? В каких методах вольтамперометрии и в каких целях их используют? Какой способ и почему дает лучшие результаты?

26. В чем заключается метод циклической вольтамперометрии? Какие характеристики электродного процесса можно изучить этим методом?

27. В чем суть инверсионной вольтамперометрии? Чем обусловлена очень высокая чувствительность метода? Назовите возможные способы предварительного концентрирования определяемого компонента и соответствующие разновидности инверсионной вольтамперометрии.

28. Как подбирают условия проведения амперометрического титрования? Какие индикаторные электроды используют в амперометрическом титровании?

29. От каких факторов зависит вид кривой амперометрического титрования?

30. В чем различие прямой и косвенной кондуктометрии? Какой метод более селективен? Почему?

31. Что представляет собой кондуктометрический детектор? В каком современном методе анализа его используют?

32. Чем обусловлена принципиально высокая разрешающая способность электрогравиметрии?

33. Какие факторы влияют на воспроизводимость результатов в электрогравиметрии?

Список литературы

Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто, Г.М. Видмара. — М. : Мир, 2004.

Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа / под ред. О.М. Петрухина. — М. : Химия, 2001.

Бонд А.М. Полярографические методы в аналитической химии / А.М. Бонд. — М. : Химия, 1983.

Будников Г.К. Основы современного электрохимического анализа / Г.К. Будников, В.Н. Майстренко, М.Р. Вяселев. — М. : Мир, 2003.

Корыта И. Ионы, электроды, мембраны / И. Корыта. — М. : Мир, 1983.

Майрановский С.Г. Полярография в органической химии / С.Г. Майрановский, Я.П. Страдынь, В.Д. Безуглый. — М. : Химия, 1975.

Никольский Б.П. Ионоселективные электроды / Б.П. Никольский, Е.А. Матерова. — Л. : Химия, 1980.

Отто М. Современные методы аналитической химии : в 2 т. / М. Отто. — М. : Техносфера, 2003.

Плэмбек Д. Электрохимические методы анализа. Основы теории и применение / Дж. Плэмбек. — М. : Мир, 1985.

Справочное руководство по применению ионселективных электродов. — М. : Мир, 1986.

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

10.1. Общие сведения

10.1.1. Классификация спектроскопических методов

Спектроскопические методы анализа основаны на способности атомов и молекул вещества испускать, поглощать или рассеивать электромагнитное излучение. С помощью спектроскопических методов решают задачи атомного, изотопного, молекулярного, функционального (структурно-группового) и фазового анализа.

Методы спектроскопии можно классифицировать по ряду признаков:

- *по типу взаимодействия излучения с веществом* различают спектроскопию испускания, спектроскопию поглощения и спектроскопию рассеяния; спектроскопию испускания в свою очередь подразделяют на эмиссионную и люминесцентную;

- *в соответствии с диапазонами энергии электромагнитного излучения* спектроскопию подразделяют на γ -спектроскопию, рентгеновскую спектроскопию, оптическую спектроскопию (сюда включают спектроскопию в ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях), колебательную спектроскопию (инфракрасную (ИК) спектроскопию и спектроскопию комбинационного рассеяния (КР)), микроволновую и радиочастотную спектроскопию;

- *по изучаемым объектам* спектроскопию подразделяют на ядерную, атомную и молекулярную; к ядерной спектроскопии (включающей α -, β - и γ -спектроскопию) относится аналитическая мессбауэровская спектроскопия; к атомной — атомно-эмиссионная, атомно-флуоресцентная, атомно-абсорбционная, рентгенофлуоресцентная, спектроскопия электронного парамагнитного резонанса и спектроскопия ядерного магнитного резонанса; к молекулярной спектроскопии — молекулярная абсорбционная спектроскопия (в УФ и видимой областях спектра), спектроскопия ИК и КР, микроволновая и люминесцентная спектроскопия.

10.1.2. Спектры испускания и спектры поглощения

Современная спектроскопия базируется на квантовой теории, согласно которой частица (атом, молекула) вещества может находиться только в определенных стационарных состояниях, характеризующихся совокупностью различных физических признаков: распределением электронной плотности, длинами связей и др. Этим состояниям отвечает некоторая дискретная последовательность энергий E — энергетических уровней. Если данному значению энергии E соответствует одно стационарное состояние, то такой энергетический уровень называют *невыврожденным*. Если же указанному значению энергии E отвечает два (или более) стационарных состояния, то такой уровень называют *вырожденным*. Вырождение

может сниматься в магнитном и электрическом полях. В результате снятия вырождения энергетические уровни расщепляются. Состояние с минимальной энергией называют *основным*, а все остальные состояния — *возбужденными*.

Спектры испускания и спектры поглощения. Переходы частицы из одних стационарных состояний в другие сопровождаются отдачей или получением ею энергии. Такие переходы могут быть двух видов: *излучательные*, когда частица испускает или поглощает квант электромагнитного излучения — фотон, и *безызлучательные*, при которых происходит непосредственный обмен энергией данной частицы с другими частицами за счет столкновений, химических реакций и т. д. В спектроскопии изучают преимущественно излучательные переходы.

На рис. 10.1 представлена схема переходов между различными состояниями частицы, сопровождающихся испусканием или поглощением квантов электромагнитного излучения. Горизонтальные линии соответствуют уровням энергии различных состояний: E_0 — уровень энергии основного состояния; E_1, E_2, E_3 — уровни возбужденных состояний в порядке возрастания их энергии. Стрелки, направленные вниз, соответствуют испусканию фотона; стрелки, направленные вверх, — поглощению фотона.

Каждому такому переходу отвечает спектральная линия с излучением определенной энергии; ее частота и длина волны определяются выражением

$$\Delta E_{ij} = |E_i - E_j| = h\nu_{ij} = hc/\lambda_{ij}, \quad (10.1)$$

где ΔE_{ij} — энергия перехода, равная разности энергий исходного (E_i) и конечного (E_j) состояний частицы; h — постоянная Планка; ν_{ij} — частота; c — скорость света; λ_{ij} — длина волны.

Частота измеряется в герцах ($1 \text{ Гц} = 1 \text{ с}^{-1}$). Единицами измерения длины волны служат: сантиметр, микрометр ($1 \text{ мкм} = 10^{-6} \text{ м}$), нанометр ($1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м}$). Кроме этих единиц используют внесистемную единицу — ангстрем ($1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ м}$).

В спектроскопии используют также волновое число $\tilde{\nu} = 1/\lambda$, которое принято измерять в обратных сантиметрах (см^{-1}).

Линии, возникающие в результате переходов в основное состояние или из основного состояния, и соответствующие переходы называют *резонансными*.

Не все переходы между уровнями энергии частицы осуществляются (разрешены). Часть их запрещена так называемыми правилами отбора.

Совокупность спектральных линий, принадлежащих данной частице, составляет ее *спектр*. Если спектр обусловлен переходами с верхних уровней на нижние, то его называют *спектром испускания*. Если же спектр обусловлен переходами с нижних уровней на верхние, то его называют *спектром поглощения*, или *абсорбционным спектром*. На рис. 10.1 помимо энергетических уровней и переходов между ними представлен вид спектров испускания и поглощения, отвечающих указанным переходам.

Спектры, испускаемые термически возбужденными частицами, называют *эмиссионными*. Спектры испус-

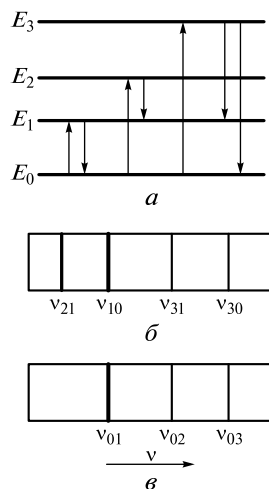


Рис. 10.1. Переходы между энергетическими уровнями частицы (а) и спектры ее испускания (б) и поглощения (в)

кания частиц, возбужденных нетермически, например квантами электромагнитного излучения, α - и β -частицами, принято называть *спектрами люминесценции*. Последние разделяют на спектры флуоресценции и фосфоресценции. Быстрое испускание фотонов возбужденной частицей вызывает появление *спектра флуоресценции*, а замедленное — *спектра фосфоресценции*. Спектры люминесценции наблюдаются как у атомов, так и у молекул.

В зависимости от расстояния между уровнями E_i и E_j (энергии перехода ΔE_{ij}), спектральная линия может попасть в любую область шкалы электромагнитных волн (табл. 10.1). Спектры, наблюдаемые в оптическом диапазоне электромагнитных волн, называют *оптическими*. Оптический диапазон подразделяют на ультрафиолетовую, видимую и инфракрасную спектральные области. В свою очередь УФ область делится на дальнюю (вакуумную) и ближнюю, а ИК область — на ближнюю, среднюю (фундаментальную) и дальнюю зоны. Спектры, наблюдаемые в радиочастотном диапазоне электромагнитных волн, называют *радиочастотными*. Радиочастотный диапазон включает микроволновую и собственно радиочастотную области. Границы областей и зон являются условными, и строго разграничить их невозможно. В каждой области шкалы электромагнитных волн пользуются своими единицами измерения: в рентгеновской — длинами волн λ (Å); УФ и видимой — длинами волн λ (нм), иногда волновыми числами $\tilde{\nu}$ (см⁻¹); ИК — волновыми числами $\tilde{\nu}$ (см⁻¹); микроволновой и радиочастотной — частотами ν (Гц).

Для характеристики энергии фотонов (и других элементарных частиц) широко используют внесистемную единицу электрон-вольт (эВ): $1 \text{ эВ} = 1,6022 \cdot 10^{-19} \text{ Дж}$.

Типы энергетических уровней и переходов. Положение спектральной линии на шкале электромагнитных волн зависит от энергии перехода ΔE_{ij} , определяемой типом энергетических уровней, участвующих в переходе. Последние отличаются друг от друга характером внутреннего движения в данной частице. У рассматриваемых частиц — атомов и молекул — имеются определенные типы энергетических уровней и соответствующих им переходов.

1. Уровни энергии ядер, связанные с движением протонов и нейтронов в ядре. Эти уровни располагаются на расстояниях $\Delta E_{ij} \approx 10^5 - 10^6 \text{ эВ}$. Переходы между ними наблюдают в области, соответствующей проникающему γ -излучению, и изучают методом мёсбауэровской (γ -резонансной) спектроскопии.

2. Электронные уровни энергии, связанные с движением электронов относительно ядер. Различают энергетические уровни внутренних и внешних электронных оболочек.

Уровни энергии внутренних электронных оболочек отличаются на $\Delta E_{ij} \approx 10^1 - 10^4 \text{ эВ}$. Переходы между ними вызывают появление спектров в рентгеновской области и изучаются методами рентгеновской спектроскопии.

Разность энергий уровней внешних (валентных) электронов значительно меньше: $\Delta E_{ij} \approx 10^{-1} - 10^1 \text{ эВ}$. Переходы между этими уровнями вызывают появление спектров в УФ, видимой и ближней зонах ИК области, которые являются основным источником сведений об этих уровнях.

3. Колебательные уровни энергии, обусловленные колебаниями ядер атомов в молекуле относительно положения равновесия. Расстояния между этими уровнями достигают значений $\Delta E_{ij} \approx 0,025 - 0,5 \text{ эВ}$. Переходы между колебательными уровнями изучают методами спектроскопии ИК и КР. Их можно также изучать, исследуя электронно-колебательные спектры в УФ и видимой областях.

Области электромагнитных волн

Область	Частота ν , Гц	Длина волны λ		Волновое число $\bar{\nu}$, см ⁻¹
		в используемых единицах	в метрах	
Область γ -излучения	$> 3 \cdot 10^{19}$	$< 0,1 \text{ \AA}$	$< 10^{-11}$	—
Рентгеновская	$3 \cdot 10^{19} - 10^{16}$	$10^{-1} - 10^2 \text{ \AA}$	$10^{-11} - 10^{-8}$	—
Области оптического диапазона				
Ультрафиолетовая				
• дальняя зона (вакуумная)	$10^{16} - 10^{15}$	10 — 200 нм	$10^{-8} - 2 \cdot 10^{-7}$	—
• ближняя зона	$10^{15} - 7,5 \cdot 10^{14}$	200 — 400 нм	$2 \cdot 10^{-7} - 4 \cdot 10^{-7}$	50 000 — 25 000
Видимая	$7,5 \cdot 10^{14} - 4,0 \cdot 10^{14}$	400 — 750 нм	$4,0 \cdot 10^{-7} - 7,5 \cdot 10^{-7}$	25 000 — 13 000
Инфракрасная				
• ближняя зона	$4,0 \cdot 10^{14} - 1,2 \cdot 10^{14}$	0,75 — 2,5 мкм	$7,5 \cdot 10^{-7} - 2,5 \cdot 10^{-6}$	13 000 — 4 000
• средняя зона	$1,2 \cdot 10^{14} - 6,0 \cdot 10^{12}$	2,5 — 50 мкм	$2,5 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-5}$	4 000 — 200
• дальняя зона	$6,0 \cdot 10^{12} - 10^{11}$	50 — 10^3 мкм	$5,0 \cdot 10^{-5} - 10^{-3}$	200 — 10
Области радиочастотного диапазона				
Микроволновая	$10^{11} - 10^9$	$10^{-1} - 10^1$ см	$10^{-3} - 10^{-1}$	$10^1 - 10^{-1}$
Радиочастотная	$10^9 - 10^5$	$10^{-1} - 10^3$ м	$10^{-1} - 10^3$	—

4. Вращательные уровни энергии, обусловленные вращением молекулы как целого. Разность энергий соседних вращательных уровней может составлять от 10^{-5} эВ для наиболее тяжелых молекул до 10^{-2} эВ для самых легких. Переходы между вращательными уровнями изучают методами ИК спектроскопии (дальняя зона ИК области), микроволновой спектроскопии и спектроскопии КР. Эти переходы можно также изучать, исследуя колебательно-вращательные спектры в ближней зоне ИК области и электронно-колебательно-вращательные спектры в УФ и видимой областях.

5. Уровни энергии атомов и молекул, обусловленные наличием у электрона собственного магнитного момента (спина), или уровни тонкой структуры. Разности энергий этих уровней меняются от 10^{-5} эВ для атома водорода до 10^{-2} эВ для тяжелых атомов и молекул, содержащих такие атомы. Соответствующие переходы для легких атомов и молекул изучают радиоспектроскопическим методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) в микроволновой области.

6. Уровни энергии атомов и молекул, обусловленные существованием у ядер собственных моментов (ядерных спинов), или уровни сверхтонкой структуры. Разности энергий этих уровней очень малы: $\Delta E_{ij} \approx 10^{-7} - 10^{-5}$ эВ. Переходы между ними изучают радиоспектроскопическими методами ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и ядерного квадрупольного резонанса (ЯКР).

В последнее время появились методы оптической спектроскопии высокого разрешения, позволяющие исследовать переходы тонкой и сверхтонкой структур.

10.1.3. Интенсивность спектральных линий

Если энергия фотона определяет положение спектральной линии на шкале электромагнитных волн, то число фотонов — ее интенсивность. В спектроскопии под *интенсивностью линии* обычно понимают энергию, испускаемую, поглощаемую или рассеиваемую в единицу времени. Интенсивность линий в спектрах испускания и спектрах поглощения зависит от вероятностей соответствующих переходов и заселенностей уровней, исходных для этих переходов.

Интенсивность линии в спектре испускания I_e определяется выражением

$$I_e = h\nu_{ji}A_{ji}N_j, \quad (10.2)$$

где ν_{ji} — частота излучения, соответствующего переходу $i \rightarrow j$ с испусканием; A_{ji} — коэффициент Эйнштейна, определяющий вероятность перехода с испусканием; N_j — заселенность возбужденного уровня E_j (концентрация частиц в состоянии j).

Для интенсивности линии в спектре поглощения I_a справедливо выражение

$$I_a = h\nu_{ij}\rho(\nu_{ij})B_{ij}N_i, \quad (10.3)$$

где ν_{ij} — частота излучения, соответствующего переходу $i \rightarrow j$ с поглощением; $\rho(\nu_{ij}) = nh\nu_{ij}$ — плотность поглощаемого излучения или энергия поглощаемых фотонов в единице объема (n — число фотонов в единице объема); B_{ij} — коэффициент Эйнштейна, определяющий вероятность поглощения в расчете на единицу плотности поглощаемого излучения $\rho(\nu_{ij})$; N_i — заселенность исходного уровня E_i (концентрация частиц в состоянии i).

Коэффициенты Эйнштейна являются постоянными величинами, не зависящими от внешних условий. Они определяются природой частиц и уровней, между

которыми совершается переход. Для запрещенных переходов коэффициенты Эйнштейна A_{ij} и B_{ij} равны нулю. Однако запреты не являются строгими, поэтому запрещенные линии довольно часто обнаруживают в спектрах, хотя интенсивность их обычно весьма низкая. Для разрешенных переходов коэффициенты A_{ij} , B_{ij} могут меняться в широких пределах. Соответственно в широких пределах может меняться и интенсивность спектральных линий.

Интенсивность линий, отвечающих одному и тому же переходу $i \rightleftharpoons j$ в спектре испускания I_e и в спектре поглощения I_a , различна и зависит от частоты перехода ν_{ij} :

$$I_e/I_a \sim \nu_{ij}^3, \quad (10.4)$$

т.е. в области высоких частот интенсивность линии испускания во много раз превосходит интенсивность линии поглощения. Поэтому спектры испускания исследуют в рентгеновской, УФ и видимой областях. В ИК, микроволновой и радиочастотной областях удобнее исследовать спектры поглощения.

10.1.4. Ширина спектральных линий

Естественная ширина линии. До сих пор мы считали, что энергетические уровни частицы соответствуют строго определенным значениям энергии. В действительности же каждый энергетический уровень характеризуется некоторой шириной δE , а каждый переход — некоторым интервалом разностей энергий δE_{ij} . Это приводит к тому, что спектральная линия не является строго монохроматической, а занимает некоторый интервал частот $\delta \nu_{ij}$ (длин волн) (рис. 10.2):

$$\delta \nu_{ij} = \delta E_{ij}/h. \quad (10.5)$$

Ширину уровней и спектральных линий покоящейся свободной частицы называют *естественной шириной*. Причина естественного уширения энергетических уровней — в соотношении неопределенностей Гейзенберга, в силу которого невозможно абсолютно точно измерить и время, и энергию какого-либо процесса; каждая из этих величин может быть измерена лишь с некоторой неопределенностью (δt и δE соответственно), причем

$$\delta t \delta E \geq h/(2\pi).$$

Очевидно, что величина δt для квантовомеханического перехода не может превышать время жизни τ частицы в возбужденном состоянии. Поэтому естественная ширина соответствующего энергетического уровня составляет величину порядка

$$\delta E \sim h/(2\pi\delta t). \quad (10.6)$$

Для спектральных линий, наблюдаемых в ближней зоне УФ и видимой областях, при типичных временах жизни возбужденных состояний $\tau \sim 10^{-8}$ с теория предсказывает естественную

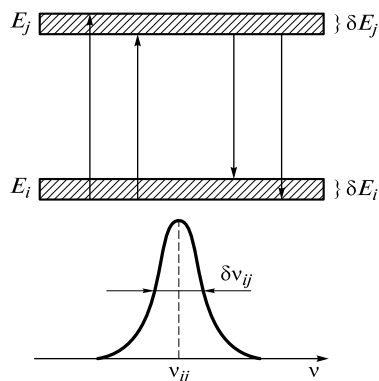


Рис. 10.2. Ширина энергетических уровней и спектральной линии

ширину линий порядка 10^{-5} нм. В то же время наблюдаемые на практике спектральные линии обладают гораздо большей шириной: $10^{-3} — 10^{-2}$ нм. Основными причинами дополнительного уширения спектральных линий являются тепловое движение частиц (доплеровское уширение) и столкновения частиц между собой или с другими посторонними частицами (ударное уширение).

Доплеровское уширение. При движении излучающей частицы к наблюдателю частота излучения увеличивается, а при движении от него — уменьшается. Этот эффект получил название *эффекта Доплера*. В отсутствие направленного движения доплеровский сдвиг происходит как в сторону высоких, так и в сторону низких частот. В результате возникает уширение спектральной линии. Величина доплеровского уширения $\delta\nu_{\text{доп}}$ определяется уравнением

$$\delta\nu_{\text{доп}} = 0,71 \cdot 10^{-6} \nu_0 \sqrt{T/M}, \quad (10.7)$$

где ν_0 — частота излучения покоящейся частицы; T — абсолютная температура, К; M — масса частицы, Да.

Доплеровское уширение превышает естественную ширину линии примерно на два порядка и играет основную роль в случае разреженных газов, когда столкновениями частиц можно пренебречь.

Ударное (лоренцевское) уширение. Частица может переходить из возбужденного состояния в основное, и наоборот, не только излучательным путем, но и безызлучательно, при соударениях с другой частицей. В этом случае время жизни возбужденных состояний ограничено временем между столкновениями частиц. Поскольку последнее может быть очень малым, уширение оказывается весьма значительным. Например, при времени между столкновениями $t = \tau = 10^{-10}$ с получим $\delta\nu_{\text{уд}} \sim 1/2\pi\tau \approx 1 \text{ см}^{-1}$, что для видимой области спектра дает уширение порядка сотых долей нанометра. Ударное уширение проявляется обычно при высоких давлениях.

Наблюдаемая ширина спектральных линий определяется суммарным действием отмеченных эффектов. В различных экспериментальных условиях ширина линий может определяться преимущественным действием доплеровского или ударного уширения.

10.1.5. Структура атомных и молекулярных спектров

Для атомов характерны дискретные спектры, состоящие из отдельных спектральных линий, — *линейчатые спектры*. Оптические спектры атомов значительно богаче линиями, чем рентгеновские. Число спектральных линий в них растет по мере увеличения числа электронов на внешних электронных оболочках.

Спектры молекул в радиочастотном диапазоне и дальней зоне ИК области имеют линейчатый характер, а в средней и ближней зонах ИК области и в УФ и видимой областях наблюдаются *полосчатые спектры*. Для свободных молекул характерны дискретные полосчатые спектры, состоящие из относительно узких полос со сложной линейчатой структурой, а для молекул в конденсированных средах (в первую очередь в растворах) наблюдаются широкие сплошные полосы, не обладающие линейчатой структурой.

Появление полос в молекулярных спектрах обусловлено переходами трех типов, связанными с изменением электронной E_e , колебательной E_v и вращатель-

ной E_r энергии молекулы. Энергию молекулы E приближенно можно представить в виде суммы:

$$E = E_e + E_v + E_r \quad (10.8)$$

Эти виды энергии различаются весьма существенно: $E_e \gg E_v \gg E_r$. Каждая из входящих в выражение (10.8) энергий квантуется, т.е. ей соответствует определенный набор дискретных энергетических уровней. Схема энергетических уровней двухатомной молекулы приведена на рис. 10.3. Для простоты на ней изображены лишь два электронных уровня E_e . Каждому электронному уровню отвечает свой набор сходящихся колебательных уровней E_v , а каждому колебательному уровню — свой набор расходящихся вращательных уровней E_r .

При изменении энергии электронов одновременно изменяются колебательная и вращательная энергии молекулы и вместо электронных наблюдаются электронно-колебательно-вращательные переходы. Частоты спектральных линий, отвечающие этим переходам, определяются выражением

$$\nu_{e,v,r} = \nu_e + \nu_v + \nu_r$$

Поскольку число таких линий весьма велико, электронно-колебательно-вращательный спектр, обычно называемый *электронным*, принимает вид широких перекрывающихся полос. Электронные спектры испускания и поглощения наблюдают в интервале 50 — 2500 нм (УФ, видимая области и ближняя зона ИК области). По этой же причине полосчатую структуру имеют и колебательные спектры ($30 - 4 \cdot 10^3 \text{ см}^{-1}$, средняя и дальняя зоны ИК области).

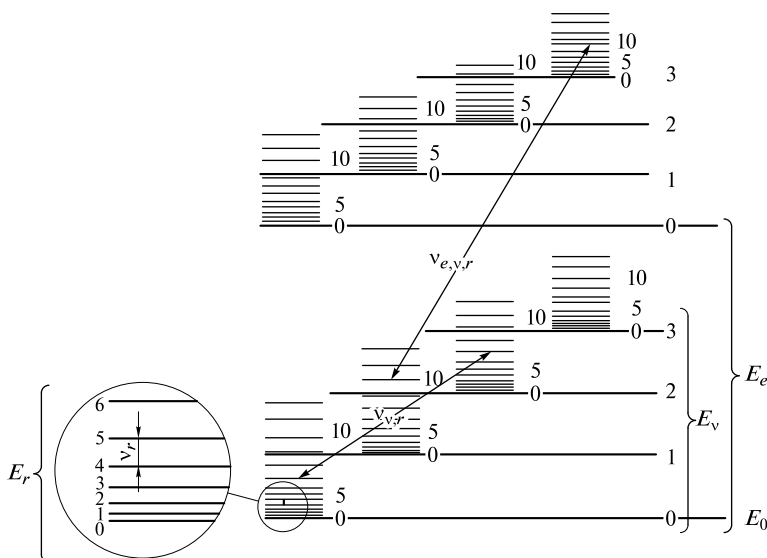


Рис. 10.3. Схема энергетических уровней двухатомной молекулы: E_e — уровни электронной энергии; E_v — уровни колебательной энергии; E_r — уровни вращательной энергии; $\nu_{e,v,r}$ — переходы, соответствующие электронно-колебательному спектру; $\nu_{v,r}$ — переходы, соответствующие колебательно-вращательному спектру; ν_r — переходы, соответствующие вращательному спектру

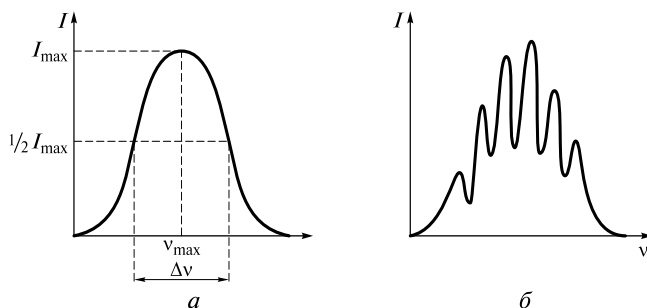


Рис. 10.4. Форма полос в молекулярных спектрах:

a — гладкая колоколообразная полоса; *б* — полоса с выраженной тонкой структурой

Контур спектральной полосы может быть гладким колоколообразным или обнаруживать тонкую структуру (рис. 10.4). Полосу без разрешенной тонкой структуры принято характеризовать, как и спектральную линию, тремя параметрами: частотой ν_{\max} (длиной волны λ_{\max}); максимальной интенсивностью (интенсивностью пика) I_{\max} ; шириной на половине высоты $\Delta\nu$ ($\Delta\lambda$). Ширина полос в колебательно-вращательном спектре может достигать нескольких десятков обратных сантиметров, а в электронном — нескольких тысяч обратных сантиметров.

10.1.6. Регистрация и графическое представление спектров

Регистрация спектров испускания основана на непосредственном измерении энергии излучения, испускаемого возбужденными частицами, как функции длины волны или частоты. Спектры испускания изображают в виде графиков $I=f(\nu)$ или $I=f(\lambda)$. Значения испускаемой лучистой энергии обычно выражают в условных единицах почернения фотоэмульсии (при фотографической регистрации спектров) или напряжения (при фотоэлектрической регистрации спектров; см. подразд. 10.2).

Спектры поглощения получают при пропускании пучка лучей через слой исследуемого вещества. В этом случае регистрация спектра поглощения сводится к измерению интенсивностей падающих на слой вещества и выходящих из него лучистых потоков. Рассмотрим поглощение монохроматического лучистого потока слоем вещества толщиной l (рис. 10.5). Уменьшение интенсивности лучистого потока в результате поглощения ($-dI$) пропорционально интенсивности этого потока I , концентрации вещества C и толщине слоя dl :

$$-dI = k'ICdl, \quad (10.9)$$

где k' — коэффициент пропорциональности, зависящий от частоты (длины волны) и природы вещества.

Обозначим интенсивность света, падающего на слой вещества, т. е. при $l = 0$, символом I_0 , а интенсивность света, прошедшего через поглощающий слой вещества

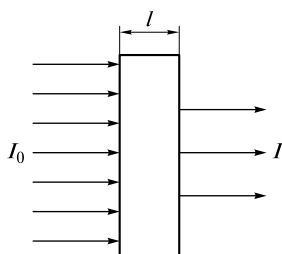


Рис. 10.5. Поглощение монохроматического лучистого потока слоем вещества

толщиной l , — символом I . Тогда после разделения переменных и интегрирования уравнения (10.9) получим

$$I = I_0 e^{-k'lC} \quad (10.10)$$

или

$$I = I_0 \cdot 10^{-klC}, \quad (10.11)$$

где $k = 0,434k'$.

Уравнение (10.10) является математическим выражением основного закона поглощения электромагнитного излучения — *закона Бугера — Ламберта — Бера*. Коэффициент k называют *коэффициентом поглощения*. Он непосредственно связан с коэффициентом Эйнштейна для поглощения B_{ij} и используется для оценки вероятности перехода и интенсивности спектральной линии.

При регистрации спектров поглощения измеряют *пропускание* T (обычно выражаемое в процентах):

$$T = I/I_0 = 10^{-klC} \quad (10.12)$$

или *оптическую плотность* A :

$$A = \lg(I_0/I) = klC. \quad (10.13)$$

Измерив значение T или A и зная концентрацию вещества, нетрудно рассчитать коэффициент поглощения k . Если концентрация вещества выражена в молях на литр (моль/л), а толщина поглощающего слоя в сантиметрах (см), то коэффициент поглощения называют *молярным коэффициентом поглощения* (ϵ). Значения T , A , ϵ служат мерой поглощательной способности вещества; их обычно откладывают на оси ординат при построении спектров поглощения. В различных областях спектры поглощения представляют разными способами. При представлении спектров в УФ и видимой областях на оси ординат обычно откладывают значения A , k , ϵ , а при представлении ИК спектров на оси ординат откладывают значения T (%) или $100 - T$ (%).

10.2. Спектральные приборы

10.2.1. Общая характеристика

Под *спектральным прибором* понимают устройство, обеспечивающее регистрацию спектра, а также измерение частот (длин волн) и интенсивностей отдельных монохроматических составляющих спектра. Конструктивно спектральные приборы различаются в зависимости от вида регистрируемого спектра (эмиссионные, абсорбционные, люминесцентные, комбинационного рассеяния, магнитного резонанса и т.д.), используемой области электромагнитного излучения и в ряде случаев физического состояния пробы. Особенности конструкции приборов будут рассмотрены в подразделах, посвященных соответствующим методам. Здесь обсудим лишь некоторые наиболее общие принципы устройства спектральных приборов и их основные характеристики.

В спектроскопических методах регистрируют либо излучение самой пробы (эмиссионная спектроскопия), либо излучение внешнего источника, прошедшее через исследуемую пробу (абсорбционная спектроскопия).

Основными узлами *эмиссионных приборов* являются отделение для пробы (выступающее одновременно и как источник излучения), анализатор спектра, приемник (детектор) излучения и система обработки (регистрирующее устройство). Отметим, что все эти узлы входят в состав любого спектрального прибора. Таким образом, принципиальная схема эмиссионного прибора является наиболее простой.

В *абсорбционных приборах* по сравнению с эмиссионными появляется дополнительный узел — источник внешнего излучения. Анализатор спектра может располагаться как непосредственно после него, перед отделением для пробы (*прямая конфигурация*), так и после отделения для пробы (*обращенная конфигурация*). В абсорбционных методах аналитическим сигналом служит одна из относительных характеристик светопоглощения (обычно оптическая плотность). Поэтому для регистрации абсорбционного спектра интенсивности потоков излучения необходимо измерить дважды. Первый раз измеряют интенсивность потока источника (I_0), второй раз — интенсивность потока на выходе из образца (I). Для компенсации эффектов, не связанных с поглощением электромагнитной энергии образцом, вместо интенсивности потока источника измеряют интенсивность светового потока на выходе из образца сравнения. Эти измерения можно осуществлять по однолучевой или двухлучевой схеме. Согласно *однолучевой схеме* измерения выполняют попеременно, вводя в световой поток по очереди образец сравнения и исследуемый образец. Согласно *двухлучевой схеме* поток излучения от источника делят на два потока равной интенсивности, которые поочередно пропускают соответственно через образец сравнения и исследуемый образец.

Люминесцентный спектральный прибор представляет собой комбинацию абсорбционного и эмиссионного приборов, в которой отделение для пробы является общим элементом. Первичный анализатор спектра, расположенный между источником внешнего излучения и отделением для пробы, выделяет из излучения внешнего источника монохроматический световой поток, обеспечивающий возбуждение люминесценции пробы. Вторичный анализатор спектра, расположенный между отделением для пробы и детектором, разлагает испускаемое возбужденной пробой излучение в спектр люминесценции. Чтобы исключить попадание первичного излучения на детектор, абсорбционную и эмиссионную части люминесцентного прибора располагают под прямым углом друг к другу.

Спектрометры комбинационного рассеяния построены по той же схеме, что и люминесцентные приборы. Однако поскольку возбуждение спектров КР осуществляется источниками монохроматического излучения (в современных приборах — лазерами), то в спектрометрах КР в отличие от люминесцентных имеется лишь один анализатор спектра — вторичный. Последний обеспечивает разложение рассеянного пробой излучения в спектр КР.

Радиоспектрометры ЭПР и ЯМР включают те же узлы, что и рассмотренные выше спектральные приборы. При этом функцию анализатора спектра выполняет магнит. Конструктивные особенности радиоспектрометров подробно рассмотрены в подразд. 10.5.

10.2.2. Основные узлы спектральных приборов

Кратко рассмотрим назначение и основные характеристики отдельных узлов спектральных приборов.

Отделение для пробы

Конструкции отделения для пробы в разных спектральных приборах отличаются. Они определяются условиями, необходимыми для реализации того или иного метода анализа.

При анализе твердых образцов (например, в атомно-эмиссионной или рентгеновской спектроскопии) отделение для пробы включает держатель образца, а при анализе растворов (молекулярная оптическая спектроскопия, спектроскопия магнитного резонанса) — держатель для специального сосуда (кюветы или ампулы), в который помещают анализируемый раствор. В последнем случае отделение для пробы называют кюветным отделением.

В ряде случаев (рентгеноэмиссионная, иногда рентгенофлуоресцентная спектроскопия) отделение для пробы необходимо вакуумировать, в других случаях (молекулярная абсорбционная и люминесцентная спектроскопия, спектроскопия комбинационного рассеяния) — изолировать от окружающего света.

В оптической атомной спектроскопии (эмиссионной, абсорбционной, люминесцентной) температура пробы должна быть достаточной для ее испарения и атомизации, а в атомно-эмиссионной спектроскопии, кроме того, и для возбуждения образовавшихся свободных атомов. Поэтому в приборах для оптической атомной спектроскопии отделение для пробы представляет собой источник высокой температуры (как правило, выше 1 000 °С), называемый в этом случае атомизатором.

В различных методах анализа к конструкции отделения для пробы могут предъявляться и другие специфические требования.

Источники внешнего излучения

Источники внешнего излучения используют в приборах для абсорбционной и люминесцентной спектроскопии, спектроскопии КР и ЯМР. Общими требованиями, предъявляемыми к излучению, испускаемому внешним источником, являются достаточно высокая интенсивность и стабильность.

В каждой области электромагнитного излучения используют свои источники, отличающиеся принципом работы и конструкцией: в рентгеновской — рентгеновские трубки, УФ — дейтериевые и ксеноновые лампы, видимой — лампы накаливания и лазеры, ИК — глобары и штифты Нернста, микроволновой — клистроны, радиочастотной — радиочастотные генераторы.

Испускаемый источником спектр может быть как линейчатым, так и сплошным. Источниками линейчатого спектра являются лазеры, лампы с полым катодом, источниками сплошного спектра — рентгеновские трубки, дуговые ксеноновые лампы, лампы накаливания и др.

Анализаторы спектра

Анализатор спектра — важнейший узел любого спектрального прибора. Его назначение — разложение потока электромагнитного излучения по частотам (длинам волн) или выделение из него узкого участка частот. С точки зрения принци-

па действия анализаторы спектра подразделяют на оптические фильтры, анализаторы диспергирующего типа (диспергирующие системы) и анализаторы модуляционного типа.

Оптические фильтры (светофильтры). Простейшим типом анализаторов спектра являются оптические фильтры (светофильтры). Это устройства, которые пропускают оптическое излучение только в определенном диапазоне длин волн. В рентгеновском диапазоне иногда используют аналоги светофильтров — так называемые поглотители (абсорберы), изготовленные из материала, поглощающего рентгеновское излучение в широком диапазоне.

Основными характеристиками светофильтров являются длина волны максимального пропускания λ_{\max} , ширина спектральной полосы пропускания $\Delta\lambda$ и максимальное значение пропускания T_{\max} . Спектральная полоса пропускания для светофильтров составляет от 1—5 до нескольких десятков нанометров.

Очевидный недостаток любого светофильтра состоит в том, что его длина волны максимального пропускания λ_{\max} фиксирована. Таким образом, каждый светофильтр пригоден для работы лишь при определенной длине волны. Этого недостатка лишены анализаторы спектра диспергирующего типа (диспергирующие системы), позволяющие плавно перестраивать рабочую длину волны.

Анализаторы диспергирующего типа (диспергирующие системы). Действие диспергирующих систем состоит в пространственном разделении потоков излучения с разными частотами. Первоначально для этой цели использовали оптические призмы, принцип действия которых основан на явлении оптической дисперсии. Сейчас для пространственного разделения потоков излучения чаще всего используют дифракционные решетки.

Принципиальная оптическая схема диспергирующей системы изображена на рис. 10.6. Поток излучения, проходя сквозь входную щель 1 и коллиматорный объектив 2, превращается в параллельный пучок лучей и падает на диспергирующий элемент II. Из диспергирующего элемента лучи разных длин волн выходят под разными углами. При этом излучение каждой длины волны выходит в виде

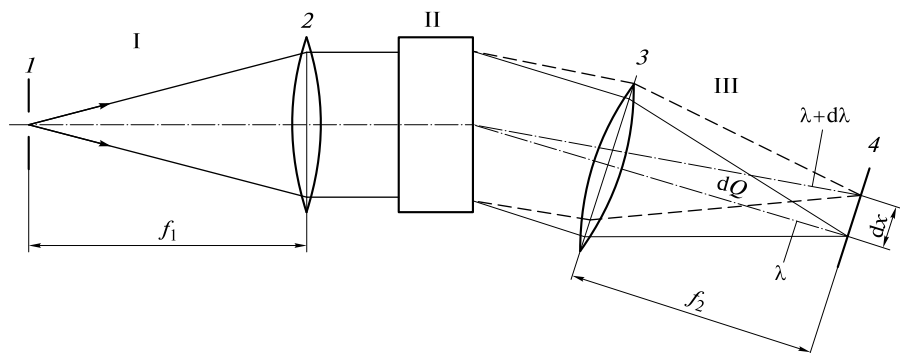


Рис. 10.6. Принципиальная оптическая схема спектрального прибора с пространственным разделением длин волн с помощью угловой дисперсии:

I — коллиматор с входной щелью 1 и объективом 2 с фокусным расстоянием f_1 ; II — диспергирующий элемент, обладающий угловой дисперсией $d\phi/d\lambda$; III — фокусирующая система (камера) с объективом 3, создающим в фокальной плоскости 4 изображения входной щели в излучении разных длин волн с линейной дисперсией $dx/d\lambda$.

параллельного пучка. Камерный объектив 3 фокусирует параллельные монохроматические пучки и создает в фокальной плоскости спектр излучения. Этот спектр можно регистрировать либо целиком (визуально — соответствующие приборы называют *спектроскопами* — или фотографически, такие приборы называют *спектрографами*), либо выделяя из него узкие спектральные участки при помощи выходной щели. Диспергирующую систему, снабженную выходной щелью, называют *монохроматором*. Изменяя угол поворота диспергирующего элемента (призмы или решетки), можно последовательно варьировать спектральный состав выходящего из монохроматора излучения. Этот процесс называют *сканированием* спектра. На выходе из диспергирующей системы можно разместить несколько щелей, что позволяет регистрировать излучение на нескольких участках одновременно. Такие диспергирующие системы называются *полихроматорами*.

Призмённые анализаторы применяют в оптическом диапазоне спектра. Призмы изготавливают из материалов, прозрачных в соответствующей области излучения и обладающих большой оптической дисперсией — величиной $dn/d\lambda$, характеризующей зависимость показателя преломления n от длины волны λ . Сложные призмы изготавливают из нескольких материалов с различными показателями преломления. Принцип действия призмённых анализаторов показан на рис. 10.7. Два луча с разными длинами волн, падающие на боковую поверхность призмы под одним и тем же углом i_1 , ввиду зависимости показателя преломления от длины волны, преломляются под разными углами i'_1 . Таким образом, лучи с разными длинами волн разделяются в пространстве.

Дифракционная решетка представляет собой пластину (плоскую или вогнутую) с нанесенными на нее параллельными штрихами-канавками с постоянным шагом d (50 — 3 600 штрихов на 1 мм). Каждый штрих представляет собой миниатюрный отражающий элемент. Лучи, отраженные от различных штрихов решетки, интерферируют. Пусть угол падения луча на решетку равен ψ , а угол наблюдения отраженного луча — φ (рис. 10.8). Легко показать, что два луча, отраженные от соседних штрихов, имеют разность хода, равную $d(\sin\psi + \sin\varphi)$. В соответствии с законами интерференции света при наблюдении отраженных лучей под такими углами φ , для которых выполняется равенство

$$d(\sin\psi + \sin\varphi) = m\lambda \quad (10.14)$$

(m — целое число, называемое *порядком отражения*), имеет место максимум интенсивности. Таким образом, световые потоки с разными длинами волн будут наблюдаться под разными углами.

Дифракционные решетки, как и призмы, используют в оптическом диапазоне спектра. В рентгеновской области спектра используют аналоги дифракционных решеток — кристаллы-анализаторы. Отражение волн рентгеновского диапазона от решетки кристалла происходит по тем же законам, что и отражение волн оптического диапазона от нарезной решетки.

Основными характеристиками диспергирующих систем являются спектральный диа-

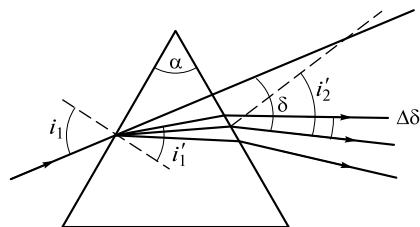


Рис. 10.7. Принцип действия призмённого диспергирующего элемента

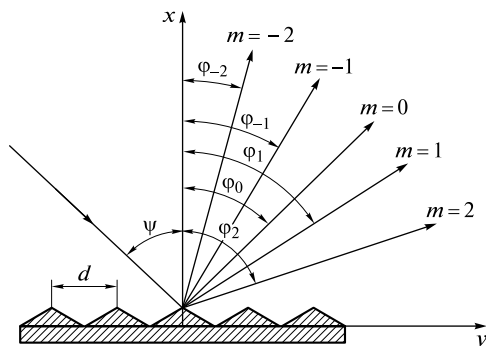


Рис. 10.8. Направления на спектры различных порядков

пазон, дисперсия (угловая и линейная), спектральная полоса пропускания, разрешающая способность и светосила.

Спектральный диапазон определяется областью прозрачности материалов призм (для призмменных анализаторов) и других оптических деталей. Так, стекло позволяет работать в области 350 — 2 500 нм, кристаллический кварц — 175 — 3 500 нм, бромид калия — 200 — 30 000 нм. Для дифракционных решеток рабочий диапазон зависит от ее шага d , т.е. частоты нанесения штрихов (числа штрихов на 1 мм): в более коротковолновой области частота штрихов должна быть больше (см. уравнение (10.14)). Так, в средней зоне ИК области используют решетки с 50 — 300 штрихов на 1 мм, в видимой — 600 — 1 200 штрихов на 1 мм, в УФ — 1 200 — 3 600 штрихов на 1 мм. Современные технологии позволяют изготавливать дифракционные решетки для работы в областях от мягкого рентгеновского излучения (~ 1 нм) до далекой ИК области (~ 1 мм).

Угловая дисперсия D_ϕ определяется углом $d\phi$, на который расходятся монохроматические пучки с длинами волн λ и $\lambda + d\lambda$ (см. рис. 10.6):

$$D_\phi = d\phi/d\lambda. \quad (10.15)$$

Для призмменных анализаторов эта величина зависит от оптической дисперсии материала призмы $dn/d\lambda$, а также от геометрии призмы. Для материалов, используемых для изготовления призм, оптическая дисперсия зависит от длины волны. Так, для кварца в УФ области она на порядок больше, чем в ближней ИК области. Поэтому и угловая дисперсия призмменных анализаторов в рабочем спектральном диапазоне непостоянна. Для дифракционных решеток величина D_ϕ равна

$$D_\phi = m/(d \cos \phi) \quad (10.16)$$

(см. формулу (10.14)) и мало зависит от длины волны. Постоянство угловой дисперсии дифракционных решеток является одним из важных их достоинств.

Линейная дисперсия D_l характеризует расстояние dl в спектре (т.е. в фокальной плоскости анализатора) между монохроматическими линиями с длинами волн λ и $\lambda + d\lambda$:

$$D_l = dl/d\lambda. \quad (10.17)$$

Линейная и угловая дисперсии связаны между собой. Если оптическая ось прибора перпендикулярна фокальной плоскости, то

$$D_l = fD_\phi, \quad (10.18)$$

где f — фокусное расстояние камерного объектива 3 (см. рис. 10.6).

По традиции чаще используют величину *обратной линейной дисперсии*:

$$D_l^{-1} = 1/D_l = d\lambda/dl;$$

ее выражают в нанометрах на 1 мм (нм/мм); она показывает, какой спектральный диапазон размещается на 1 мм фокальной плоскости камерного объектива. Выпускают большой набор спектральных приборов разного класса и стоимости, отличающихся обратной линейной дисперсией от 10^{-2} до 10^1 нм/мм.

Спектральная полоса пропускания $\Delta\lambda_s$ характеризует интервал длин волн, выделяемых выходной щелью монохроматора при падении на его входную щель немонахроматического излучения. Спектральная полоса пропускания зависит от обратной линейной дисперсии D_l^{-1} и ширины ω входной и выходной щелей анализатора:

$$\Delta\lambda_s = D_l^{-1}\omega. \quad (10.19)$$

Разрешающая способность характеризует наименьшую разность длин волн $\Delta\lambda$ двух близких спектральных линий равной интенсивности, которая позволяет наблюдать их раздельно. Обычно для характеристики разрешающей способности используют относительную безразмерную величину

$$R = \lambda/\Delta\lambda, \quad (10.20)$$

где λ — средняя длина волны наблюдаемых линий.

Чем больше разрешающая способность, тем более подробной выглядит картина спектра. Значения R для спектральных приборов оптического диапазона достигают 10^3 — 10^5 , рентгеновского диапазона — 10^2 — 10^3 .

Светосила — характеристика способности спектрального прибора собирать и пропускать излучение. Она зависит от относительного отверстия камерного объектива d/f (d — диаметр объектива, f — его фокусное расстояние). Для оптического излучения значения относительного отверстия достигают 0,04—0,2.

Между основными параметрами существует соотношение

$$R = D_l(d/f), \quad (10.21)$$

показывающее, что при постоянном разрешении R нельзя выиграть в светосиле, не ухудшая дисперсию, и наоборот.

Анализаторы модуляционного типа. С точки зрения принципа действия анализаторы спектра модуляционного типа имеют существенные особенности. В отличие от анализаторов спектра других типов они не проводят физического разделения световых потоков. Оптическая часть анализатора служит лишь преобразователем излучения, а разложение на монохроматические составляющие осуществляют при помощи компьютера. Иными словами, на составляющие разлагают не само излучение, а его математический образ.

Чаще всего основным оптическим узлом анализатора спектра модуляционного типа служит интерферометр Майкельсона (рис. 10.9). Поток излучения проходит через входную диафрагму 1, коллиматорный объектив 2 и попадает на полупрозрачное зеркало 3, которым делится на два пучка. Один из них затем отражается от неподвижного зеркала 4, а другой — от подвижного зеркала 5, совершающего возвратно-поступательные движения. После отражения от зеркал пучки вновь

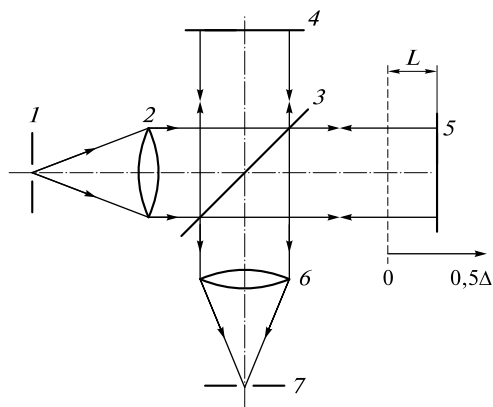


Рис. 10.9. Интерферометр Майкельсона:

1 — входная диафрагма; 2 — коллиматорный объектив; 3 — полупрозрачное зеркало; 4 — неподвижное зеркало; 5 — подвижное зеркало; 6 — выходной объектив; 7 — выходная диафрагма (L — смещение подвижного зеркала; $\Delta = 2L$ — разность хода интерферирующих пучков)

соединяются и интерферируют. Структура интерференционной картины, образующейся после камерного объектива 6, зависит от разности хода интерферирующих лучей и длины волны излучения.

Сначала рассмотрим случай, когда входная диафрагма облучается потоком монохроматического излучения частотой ν и постоянной интенсивностью I . Пусть зеркало 5 движется с постоянной скоростью, равной v . В этом случае разность хода лучей Δ изменяется во времени: $\Delta = 2vt$. Соответственно будет изменяться во времени и интерференционная картина, т.е. интенсивность выходящего излучения I . Можно показать, что зависимость суммарной интенсивности выходящего излучения I' от времени имеет вид

$$I'(t) \sim I \cos(4\pi\nu vt). \quad (10.22)$$

Если входящее излучение полихроматично, то его интенсивность I представляет собой функцию от ν . Тогда зависимость суммарной интенсивности выходящего излучения от времени будет иметь вид

$$I'(t) \sim \int_0^{\infty} I(\nu) \cos(4\pi\nu vt) d\nu. \quad (10.23)$$

Приборы, оснащенные анализаторами спектра модуляционного типа, регистрируют зависимость суммарной интенсивности от времени, называемую *интерферограммой*, а затем математически преобразовывают ее в зависимость $I=f(\nu)$, т.е. собственно в спектр. Используемое для этого преобразование называют *преобразованием Фурье*, поэтому спектральные приборы описанного типа называют *фурье-спектрометрами*.

По сравнению с традиционными спектральными приборами фурье-спектрометры имеют ряд преимуществ. Главное из них состоит в том, что фурье-спектрометр регистрирует весь спектр сразу, поэтому в оптическую систему попадает значительно больше излучения. Соответственно этому резко возрастают и свето-

сила, и чувствительность, и точность определения частот, и разрешающая способность. Фурье-спектрометрия особенно эффективна при работе в низкочастотной (ИК) и радиочастотной (спектроскопия ЯМР) областях электромагнитного спектра.

Приемники (детекторы) излучения

Для измерения интенсивности электромагнитного излучения его необходимо предварительно преобразовать в какой-либо иной вид энергии. Эту роль выполняют устройства, называемые *приемниками*, или *детекторами излучения*.

Приемники излучения подразделяют на одноэлементные и многоэлементные. *Одноэлементный приемник* содержит только один чувствительный элемент. Такой приемник располагают за выходной щелью монохроматора (при использовании полихроматоров — по приемнику за каждой щелью). *Многоэлементные приемники* содержат большое число миниатюрных дискретных или непрерывно распределенных чувствительных элементов. Они позволяют за одно наблюдение зарегистрировать весь спектр. Такие приемники размещают непосредственно в фокальной плоскости камерного объектива.

В настоящее время наиболее распространен способ детектирования, основанный на непосредственном преобразовании энергии излучения в электрическую и называемый *фотоэлектрическим*. В качестве фотоэлектрических детекторов используют устройства, основанные на явлении внешнего фотоэффекта — фотоэлементы, фотоэлектронные умножители, и различные полупроводниковые устройства — фоторезисторы, фотодиоды, приборы с зарядовой связью.

Фотоэлемент представляет собой вакуумированную колбу, в центре которой находится анод, а фотокатод нанесен на внутреннюю поверхность колбы. Фотокатод может быть выполнен из различных материалов (Cs—Sb , Ag—O—Cs , Na—K—Sb—Cs) в зависимости от рабочей области спектра. При облучении фотокатода с его поверхности вылетают электроны, которые ускоряются под действием электрического поля, попадают на анод и создают в цепи фототок.

Фотоэлектронный умножитель (ФЭУ) — это фотоэлемент, в котором между анодом и фотокатодом расположена система дополнительных электродов (динодов), являющихся вторичными эмиттерами электронов. На диноды подается последовательно нарастающий потенциал. При ударе каждого электрона о поверхность динода с нее испускается несколько вторичных электронов. Каждый из них в свою очередь ускоряется под действием поля следующего динода, ударяется о его поверхность, и процесс повторяется. Таким образом, ФЭУ играет роль не только приемника излучения, но и усилителя сигнала — один-единственный первичный фотоэлектрон может вызвать целую электронную лавину. В современных ФЭУ с 12 динодами коэффициент усиления может достигать 10^7 .

Фоторезисторы и фотодиоды — это полупроводниковые приборы, электрическое сопротивление которых резко уменьшается при облучении. Фоторезистор представляет собой тонкую пластинку из полупроводникового материала, а фотодиод — структуру из контактирующих друг с другом полупроводников *p*- и *n*-типа. При включении такого устройства в электрическую цепь в отсутствие облучения через него течет лишь слабый ток, называемый *темновым* (фотодиод в этом случае необходимо включать с соблюдением полярности, чтобы напряжение

было запирающим). При облучении сила тока возрастает. Особый тип полупроводниковых приборов представляют собой приборы с зарядовой связью (см. далее).

Детекторы описанных типов применяют главным образом при работе в УФ, видимой и ближней (некоторые из них — иногда и в средней) ИК областях спектра. В рентгеновской области спектра используют полупроводниковые детекторы, аналогичные фотодиодам, и, кроме того, особые типы детекторов — газоразрядные (пропорциональные) и сцинтилляционные счетчики (подробнее см. подразд. 10.3.5).

В ИК области основным способом детектирования является *термоэлектрический* (этот способ применяют и в микроволновой области). В его основе лежит преобразование энергии ИК излучения в тепловую (т.е. нагревание чувствительного элемента детектора), которая в свою очередь преобразуется детектором в электрический сигнал. Термоэлектрическими детекторами могут служить терморезисторы (болометры), термоэлементы (термопары) или пироэлектрики. *Терморезистор* — это резистор, изготовленный из материала (металлического или полупроводникового), сопротивление которого значительно изменяется в зависимости от температуры. *Термоэлемент* представляет собой датчик температуры, включающий два контакта (спая) из разнородных электропроводящих материалов (обычно металлов или сплавов, реже — полупроводников). Температура одного из контактов поддерживается постоянной. При изменении температуры другого контакта в электрической цепи возникает электродвижущая сила. Особый тип термоэлектрических детекторов представляют *пироэлектрические детекторы*, чувствительными элементами которых служат кристаллы сегнетоэлектриков. Деформируясь при нагревании, такой кристалл генерирует на своей поверхности электрические заряды. Пироэлектрики можно использовать в широком спектральном диапазоне — от рентгеновского до микроволнового.

Еще один тип детекторов излучения — *фотохимические*, основанные на преобразовании энергии излучения в химическую. Для этой цели служит фотоэмульсия (нанесенная на фотопластинку или фотопленку) — тонкий слой желатина, в котором распределена взвесь микрокристаллов галогенида серебра(I). Под действием излучения они частично восстанавливаются до металлического серебра, в результате чего формируется скрытое изображение. Чтобы оно стало видимым, эмульсию следует химически обработать — проявить, а затем зафиксировать. Чем выше интенсивность излучения, попавшего на тот или иной участок эмульсии, тем темнее этот участок после химической обработки. Таким образом, интенсивность излучения можно оценить, измеряя оптическую плотность соответствующего участка эмульсии, называемую почернением.

Фотохимические детекторы — наиболее ранний тип детекторов электромагнитного излучения. Сейчас они в основном вышли из употребления ввиду того, что работа с ними длительна и трудоемка. В то же время по сравнению с детекторами рассмотренных выше типов эти детекторы обладают и рядом преимуществ, главное из которых — возможность одновременной регистрации всего спектра. Фотоэмульсия послужила прообразом современных многоэлементных приемников излучения — электронных аналогов фотопластинки.

Самыми точными аналогами являются передающие телевизионные трубки с накоплением зарядов — *видиконы*. Роль фотоэмульсии в них играет фоточувствительный слой полупроводникового или сегнетоэлектрического материала, нанесенный на пластинку-мишень. По принципу действия фоточувствительный слой

может быть подобен фотодиоду, фоторезистору или пироэлектрику. При облучении мишени в ее фоточувствительном слое создается распределение электрических зарядов, подобное изображению на фотопластинке. Это «изображение» считывают при помощи электронного луча, с высокой скоростью пробегающего (сканирующего) мишень.

Видиконы, как и фотопластинки, являются примером многоэлементных детекторов с непрерывным распределением чувствительных элементов. В современных спектральных приборах широко применяют и многоэлементные приемники излучения с дискретно распределенными элементами. Они представляют собой массив из множества миниатюрных твердотельных чувствительных элементов (фотодиодов или конденсаторов металл — оксид — полупроводник — МОП), расположенных в виде ряда (*линейные детекторы*) или матрицы (*матричные детекторы*). Размеры таких детекторов обычно составляют 1,0 — 1,5 см для линейных и порядка 1×1 см для матричных детекторов, а число чувствительных элементов может достигать 10^3 и 10^4 — 10^5 соответственно. Чем больше чувствительных элементов содержит детектор, тем точнее воспроизводится спектр.

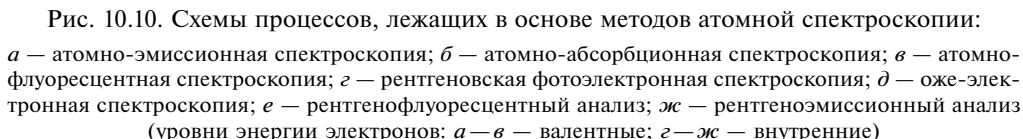
Детекторы на основе массива МОП-конденсаторов называют *приборами с зарядовой связью* (ПЗС). Включая определенным образом ПЗС в электрическую схему, можно обеспечить условия, когда накопленный конденсатором заряд будет пропорционален интенсивности и времени облучения. Регистрация сигналов отдельных элементов в таких детекторах осуществляется последовательно путем сканирования.

10.3. Атомная спектроскопия

10.3.1. Общие положения

Методы атомной спектроскопии — основные методы определения элементного состава веществ. Для массовых, быстрых, селективных и достаточно точных определений малых содержаний элементов широкое применение нашел метод атомно-абсорбционной спектроскопии. Этим методом можно определять до 60 — 70 элементов, главным образом металлов, при их концентрациях порядка 10^{-12} — 10^{-6} г/мл. Однако атомно-абсорбционную спектроскопию целесообразно применять лишь для одноэлементных анализов. Для одновременного определения нескольких элементов, а также для качественного (обзорного) анализа наилучшими являются методы атомно-эмиссионной и рентгенофлуоресцентной спектроскопии. Использование различных источников атомизации позволяет определять методом атомно-эмиссионной спектроскопии как основные, так и примесные компоненты пробы, анализировать как растворы, так и твердые образцы. Эти же задачи позволяет решать и метод рентгенофлуоресцентной спектроскопии. Он применяется главным образом для анализа твердых образцов. Важнейшим достоинством рентгенофлуоресцентной спектроскопии является то, что это — неразрушающий метод анализа. Последнее исключительно важно, например, при анализе произведений искусства, археологических объектов или вещественных доказательств в криминалистике. Методы рентгеноэмиссионной, рентгенофотоэлектронной и оже-электронной спектроскопии — это прежде всего методы локального анализа и анализа поверхности твердых тел.

Методы атомной спектроскопии основаны на переходах валентных (рис. 10.10, $a-\theta$) или внутренних (рис. 10.10, $z-\kappa$) электронов атомов из одного состояния



в другое. Эти процессы в ряде случаев могут быть сопряжены с отрывом от атома одного или нескольких электронов (ионизацией). Поэтому в методах атомной спектроскопии возможна регистрация как электромагнитных, так и электронных спектров — распределений соответственно фотонов и испускаемых электронов по их энергиям.

Одна из самых замечательных особенностей атомных спектров — их линейчатая структура. Поэтому атомные спектры весьма информативны. Положения линий индивидуальны для каждого элемента и могут быть использованы для качественного анализа. На зависимости интенсивности спектральной линии от содержания элемента в пробе основан количественный анализ. Поскольку ширина атомных спектральных линий весьма мала, относительно мала и вероятность наложения линий различных элементов. Поэтому многие методы атомной спектроскопии можно использовать для обнаружения и определения одновременно нескольких элементов, т. е. для многоэлементного анализа.

В зависимости от используемого диапазона длин волн электромагнитного излучения и природы соответствующих электронных переходов методы атомной спектроскопии делятся на оптические и рентгеновские.

В методах *оптической спектроскопии* используют излучение УФ и видимой областей оптического диапазона, соответствующее изменению энергии валентных электронов (а также излучение ИК диапазона). Строение уровней валентных электронов для свободных атомов и молекул различно, поэтому для получения оптических атомных спектров необходима предварительная атомизация пробы — перевод ее в газообразное атомарное состояние. Для этой цели служат атомизаторы — источники высокой температуры различной конструкции.

Переходы валентных электронов осуществляются с участием вакантных электронных орбиталей. Взаимодействие вещества с излучением традиционных малоинтенсивных источников света оптического диапазона не сопровождается ионизацией атомов. Поэтому в данном диапазоне используются только методы спектроскопии электромагнитного излучения — атомно-эмиссионная, атомно-флуоресцентная и атомно-абсорбционная спектроскопия.

В методах *рентгеновской спектроскопии* используют излучение рентгеновского диапазона, соответствующее изменению энергии внутренних электронов. Структуры энергетических уровней внутренних электронов в атомарном и молекулярном состояниях очень близки. Поэтому в рентгеновских методах атомизация пробы не требуется.

Поскольку все внутренние орбитали в атомах заполнены, переходы внутренних электронов возможны только при условии предварительного образования вакансии вследствие ионизации атома. Такая ионизация происходит под действием внешнего источника рентгеновского излучения (рис. 10.10, *г, е*) или пучка высокоэнергетических электронов (рис. 10.10, *д, ж*). Электрон, испускаемый атомом вследствие ионизации, называют *фотоэлектроном*, или *вторичным электроном*. В результате внутриатомных электронных переходов возможна эмиссия еще одного электрона, называемого *оже-электроном* (рис. 10.10, *д*). Таким образом, взаимодействие вещества с излучением рентгеновского диапазона всегда сопровождается ионизацией атомов. Поэтому при использовании рентгеновского излучения возможна регистрация как электромагнитных, так и электронных спектров. К рентгеновским методам спектроскопии электромагнитного излучения относят рентгеноэмиссионный, рентгенофлуоресцентный и рентгеноабсор-

Классификация методов атомной спектроскопии

Метод	Диапазон электромагнитного излучения	Процесс	Способ		
			атомизации	возбуждения	регистрации
Атомно-эмиссионный	Оптический	Эмиссия фотонов	Высокотемпературный	Высокотемпературный	Электромагнитный
Атомно-флуоресцентный	»	»	»	Электромагнитное излучение (УФ и видимая области)	»
Атомно-абсорбционный	»	Абсорбция фотонов	»	Не требуется	»
Рентгеноэмиссионный	Рентгеновский	Эмиссия фотонов	Не требуется	Поток электронов	»
Рентгенофлуоресцентный	»	»	»	Электромагнитное излучение (рентгеновская область)	»
Рентгеноабсорбционный	»	Абсорбция фотонов	»	Не требуется	»
Рентгеновский фотоэлектронный	Регистрация электронного спектра с кинетической энергией электронов до 1 500 эВ	Эмиссия электронов	»	Электромагнитное излучение (рентгеновская область)	Электронная
Оже-электронный	То же	»	»	Поток электронов	»

бционный анализ, а к методам электронной спектроскопии — рентгеновскую фотоэлектронную и оже-электронную спектроскопию.

В зависимости от физической природы взаимодействия излучения с веществом методы атомной спектроскопии электромагнитного излучения (как оптического, так и рентгеновского диапазона) делят на эмиссионные и абсорбционные.

В оптических эмиссионных методах для получения спектра испускания необходим предварительный перевод атомов в возбужденное состояние. Для этой цели служат устройства, называемые источниками возбуждения, источники высокой температуры (для оптических методов), потоки высокоэнергетических частиц (для рентгеновских методов), электромагнитное излучение.

Эмиссионные оптические методы, в которых возбуждение атомов происходит под действием высокой температуры, называют *методами атомно-эмиссионной спектроскопии*. В этих методах атомизатор и источник возбуждения — одно и то же устройство, совмещающее обе функции. Если источником возбуждения служит электромагнитное излучение, методы называют *флуоресцентными* — атомно-флуоресцентная спектроскопия, рентгенофлуоресцентный анализ.

В абсорбционных методах возбуждение атомов не требуется, источники возбуждения отсутствуют.

Классификация основных методов атомной спектроскопии представлена в табл. 10.2.

10.3.2. Атомно-эмиссионная спектроскопия

10.3.2.1. Основы метода

Атомно-эмиссионная спектроскопия (АЭС) основана на термическом возбуждении свободных атомов или одноатомных ионов и регистрации оптического спектра испускания возбужденных атомов (см. рис. 10.10, *а*). Иногда регистрируют и спектры испускания возбужденных многоатомных частиц (например, молекул СаОН или оксидов редкоземельных элементов состава МО, существующих в газовой фазе при температуре 1 500 — 2 000 °С).

Аналитическим сигналом в АЭС служит интенсивность I испускаемого излучения. Поскольку возбуждение атомов имеет термическую природу, возбужденные и невозбужденные атомы находятся между собой в термодинамическом равновесии, положение которого описывается *законом распределения Больцмана*:

$$\frac{N^*}{N_0} = \frac{g^*}{g_0} e^{-\frac{E}{kT}}, \quad (10.24)$$

где N^* — число возбужденных атомов; N_0 — число невозбужденных атомов; g^* , g_0 — статистический вес соответственно возбужденного и невозбужденного состояния; E — энергия возбуждения; k — постоянная Больцмана; T — абсолютная температура.

Таким образом, при постоянной температуре число возбужденных частиц N^* прямо пропорционально числу невозбужденных частиц N_0 , т.е. фактически общему числу N данных атомов в атомизаторе (поскольку в реальных условиях атомно-эмиссионного анализа доля возбужденных частиц очень мала: $N^* \ll N_0$).

В свою очередь при заданных условиях атомизации, определяемых конструкцией, режимом работы прибора и рядом других факторов, число атомов N в атомизаторе пропорционально концентрации C определяемого элемента в пробе. Таким образом, можно было бы ожидать, что между интенсивностью I испускаемого излучения и концентрацией C определяемого элемента наблюдается прямо пропорциональная зависимость. Однако на практике условия, обеспечивающие эту зависимость, выполняются далеко не всегда.

В общем случае зависимость интенсивности излучения от концентрации нелинейная и может быть описана эмпирическим уравнением

$$I = aC^b. \quad (10.25)$$

Уравнение (10.25) называют *уравнением Ломакина — Шайбе*. Оно является основным количественным соотношением атомно-эмиссионного анализа.

Коэффициент a в уравнении (10.25) является сугубо эмпирической величиной, зависящей от условий процесса. Поэтому в АЭС решающее значение имеет правильный выбор условий атомизации и измерения аналитического сигнала, включая градуировку по образцам сравнения.

10.3.2.2. Атомизаторы

Основные типы источников атомизации и возбуждения, применяемых в АЭС, приведены в табл. 10.3.

Важнейшей характеристикой любого атомизатора является его температура. От температуры атомизации в решающей мере зависит физико-химическое состояние анализируемого вещества и в конечном счете аналитический сигнал и метрологические характеристики методики. Как видно из табл. 10.3, атомизаторы, используемые в АЭС, значительно различаются по температуре.

Пламя. Вариант АЭС с атомизацией в пламени называют *методом эмиссионной фотометрии пламени*.

Конструктивно пламенный атомизатор для АЭС представляет собой горелку (рис. 10.11). Анализируемую пробу (раствор) подают в пламя, распыляя с помощью форсунки.

Таблица 10.3

Основные типы атомизаторов в атомно-эмиссионной спектроскопии

Тип источника атомизации	$T, ^\circ\text{C}$	Состояние пробы	$C_{\min}, \text{мас. \%}$	s_r
Пламя	1 500 — 3 000	Раствор	$10^{-7} — 10^{-2}$	0,01 — 0,05
Электрическая дуга	3 000 — 7 000	Твердое	$10^{-4} — 10^{-2}$	0,1 — 0,2
Электрическая искра	~ 10 000 — 12 000	Твердое	$10^{-3} — 10^{-1}$	0,05 — 0,10
Индуктивно связанная плазма	5 000 — 12 000	Раствор	$10^{-8} — 10^{-2}$	0,01 — 0,05
Тлеющий разряд	1 000 — 2 000	Твердое	$10^{-4} — 10^{-3}$	0,05 — 0,10

Пламя состоит из двух основных зон (рис. 10.12) — восстановительной 1 и окислительной 3. В *восстановительной зоне* протекают первичные реакции термической диссоциации и сгорания (неполного) компонентов горючей смеси. Эта зона, а также внутренний конус 2, отделяющий восстановительную зону от окислительной, содержат много возбужденных молекул и свободных радикалов (C_2 , CN, CO и др.), интенсивно излучающих свет практически во всем УФ и видимом диапазонах (в частности, характерная голубая окраска внутреннего конуса пламени обусловлена излучением возбужденных радикалов CN). Это излучение накладывается на линии испускания возбужденных атомов. Поэтому восстановительную зону пламени для аналитических целей не используют. В *окислительной зоне* пламени происходят реакции полного сгорания компонентов смеси с образованием воды и углекислого газа. Эта зона мало излучает в УФ и видимой областях, поэтому именно ее используют для аналитических целей. Температуру, состав и окислительно-восстановительные свойства пламени можно в определенных пределах регулировать, варьируя соотношение горючего газа и окислителя в смеси. Данный прием часто используют для выбора оптимальных условий атомизации и устранения физико-химических помех.

Пламя — самый низкотемпературный источник атомизации и возбуждения, используемый в АЭС. В зависимости от состава горючей смеси температура пламени может составлять от 1500 (светильный газ — воздух) до 3000 °C (C_2H_2 — N_2O). Такие температуры оптимальны для определения лишь наиболее легко атомизируемых и возбудимых элементов, в первую очередь щелочных и щелочноземельных (Ca, Sr, Ba) металлов. Для них метод фотометрии пламени является одним

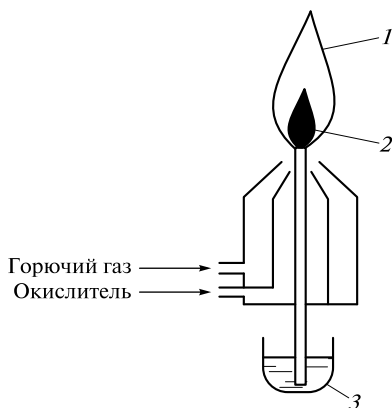


Рис. 10.11. Схема пламенного атомизатора для атомно-эмиссионной спектроскопии:

1 — пламя; 2 — распыленная проба; 3 — пробирка

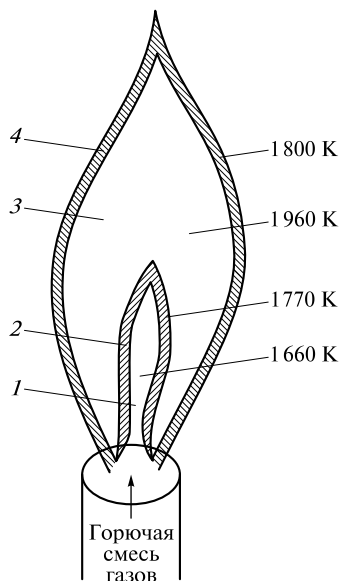


Рис. 10.12. Распределение температуры по зонам пламени смеси светильного газа с воздухом:

1 — восстановительная зона; 2 — внутренний конус; 3 — окислительная зона; 4 — внешний конус

из самых чувствительных (предел обнаружения $C_{\min} \sim 10^{-7}$ мас. %). Для большинства других элементов предел обнаружения на несколько порядков выше.

Важное достоинство пламени как источника атомизации — высокая стабильность и связанная с ней хорошая воспроизводимость результатов измерений ($s_r \sim 0,01 - 0,05$).

Электрическая дуга. В атомно-эмиссионной спектроскопии используют дуговые разряды постоянного и переменного тока. Дуговой атомизатор представляет собой пару электродов (чаще всего угольных), между которыми пропускают электрический разряд (рис. 10.13). Нижний электрод имеет углубление, в которое помещают пробу. Таким образом, дуговой разряд наиболее удобен для анализа твердых проб. Для анализа растворов пробу, как правило, предварительно выпаривают вместе с инертным порошкообразным материалом (коллектором), а затем помещают в углубление электрода. Если анализируемая проба — металл (сплав), то она непосредственно служит нижним электродом.

Температура дугового разряда ($3\,000 - 7\,000\text{ }^{\circ}\text{C}$) существенно выше, чем температура пламени. Таких температур вполне достаточно для эффективной атомизации и возбуждения большинства элементов (кроме наиболее трудно возбудимых неметаллов, таких как галогены). Поэтому для большинства элементов предел обнаружения в дуговом разряде на один-два порядка ниже, чем в пламени, и в среднем составляет $10^{-4} - 10^{-2}$ мас. %. Для дуги переменного тока температура несколько выше, чем для дуги постоянного тока.

Дуговые атомизаторы (особенно постоянного тока) в отличие от пламенных не характеризуются высокой стабильностью режима работы. Поэтому воспроизводимость результатов невелика: $s_r \sim 0,1 - 0,2$. Однако для полуколичественных определений такой воспроизводимости вполне достаточно. Одна из наиболее важных областей применения дуговых атомизаторов — это качественный анализ на основе обзорного спектра. Для этой цели дуговые атомизаторы обладают наилучшими характеристиками.

Электрическая искра. Искровой атомизатор устроен точно так же, как и дуговой. Как правило, в спектральных приборах для генерации дугового и искрового разрядов используют одно и то же устройство, а выбор типа разряда осуществляют простым переключением электрической схемы. Как и дуговой, искровой атомизатор предназначен в первую очередь для анализа твердых образцов (иногда вводят жидкие пробы в виде аэрозоля непосредственно в разрядный промежуток между электродами).

Особенность искрового атомизатора — отсутствие термодинамического равновесия между находящимися в нем частицами. Поэтому говорить в целом о температуре искрового разряда достаточно сложно. Его эффективная температура атомизации достигает почти $10\,000\text{ }^{\circ}\text{C}$. Этого достаточно для возбуждения даже наиболее трудно-возбудимых элементов (галогенов).

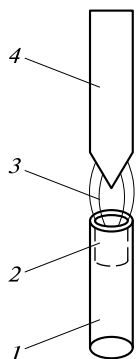


Рис. 10.13. Схема дугового (искрового) атомизатора для атомно-эмиссионной спектроскопии:

1 — нижний электрод; 2 — углубление для пробы; 3 — зона электрического разряда; 4 — верхний электрод

Искровой разряд существенно стабильнее дугового, и воспроизводимость результатов выше ($s_r \sim 0,05—0,1$). В современных прецизионных приборах для анализа сталей и сплавов значение s_r может достигать $0,005—0,01$.

Индуктивно связанная плазма (ИСП). Это — самый современный источник атомизации, обладающий по целому ряду показателей наилучшими аналитическими возможностями. Атомизатор с ИСП представляет собой плазменную горелку особой конструкции (рис. 10.14), состоящую из нескольких концентрических кварцевых трубок. В них с большой скоростью подают потоки особо чистого аргона. Самый внутренний поток $Ar(пр.)$ (аналитический контур) служит для впрыскивания раствора пробы, средний $Ar(пл.)$ является плазмообразующим, а внешний $Ar(охл.)$ служит для охлаждения ИСП-горелки; расход аргона в этом потоке особенно велик ($10—20$ л/мин). Искровой разряд инициирует в плазмообразующем контуре первичные положительные ионы аргона и электроны. В сильном магнитном поле, которое создается высокочастотной индуктивной катушкой,

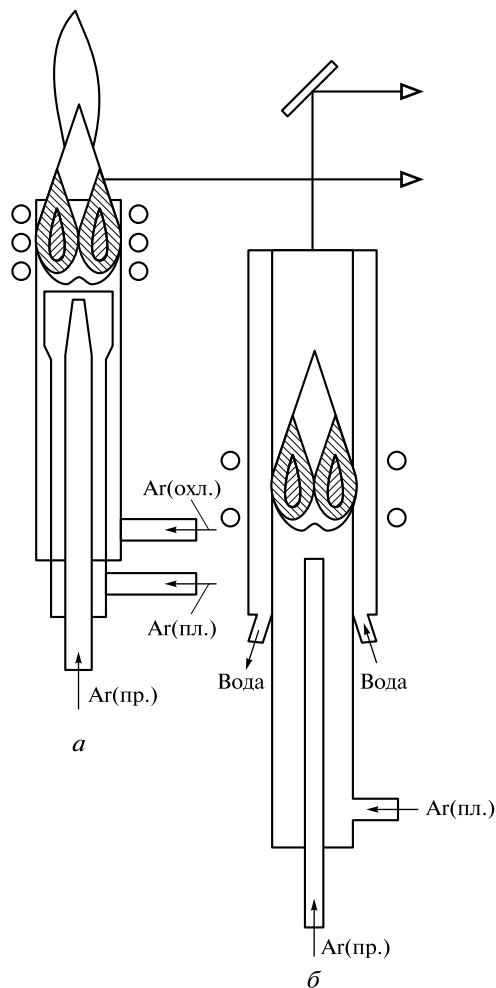


Рис. 10.14. Схема атомизатора с индуктивно связанной плазмой:

а — горелка, охлаждаемая потоком газа; *б* — водоохлаждаемая горелка

окружающей верхнюю часть горелки, в аргоне возникает сильный кольцевой ток, приводящий к нагреву до 5 000 — 12 000 °С.

Метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) характеризуется универсальностью (при столь высоких температурах возбуждается большинство элементов), высокой чувствительностью ($C_{\min} = 10^{-8} - 10^{-2}$ мас. % для различных элементов), хорошей воспроизводимостью ($s_r \sim 0,01 - 0,05$) и широким диапазоном определяемых концентраций. Это единственный из атомно-эмиссионных методов, где диапазон линейности градуировочной зависимости составляет до четырех порядков и выше, что обусловлено особым характером пространственного распределения температуры в атомизаторе с ИСП (в периферийной части она выше, чем в центральной) и, как следствие, очень малым самопоглощением (см. далее).

Основной фактор, сдерживающий применение ИСП в аналитической практике, — высокая стоимость оборудования и расходуемых материалов (аргона высокой чистоты). В последнее время для снижения расхода аргона (основная доля которого идет на охлаждение плазмы) получили распространение водоохлаждаемые горелки (рис. 10.14, б). В этом случае излучение наблюдают по оси плазменного факела при помощи зеркала.

Тлеющий разряд Гримма. В атомизаторах такого типа используют свечение, которое возникает в прикатодной области тлеющего газового разряда при низком давлении газа и малых токах (это же явление используют в лампах с полым катодом, применяемых в атомно-абсорбционной спектроскопии). Катодом служит непосредственно анализируемый образец. Вследствие электронного удара инертный газ (обычно аргон), заполняющий атомизатор, ионизируется. В результате этого образуются положительно заряженные ионы аргона и свободные электроны. Ионы аргона выбивают атомы материала катода в газовую фазу. В области вблизи катода атомы возбуждаются за счет столкновения с электронами высокой кинетической энергии. В результате возникает свечение, называемое *свечением отрицательного промежутка*. Его спектр содержит линии элементов, составляющих пробу, а также линии ионов инертного газа, заполняющего атомизатор. Достоинствами тлеющего разряда являются слабые спектральные помехи и малое самопоглощение (см. далее).

Воспроизводимость АЭС с тлеющим разрядом такая же, как и у искрового варианта АЭС ($s_r \sim 0,05 - 0,1$). Основным ограничением является необходимость хорошей проводимости материала, чтобы можно было использовать его в качестве катода. Поэтому метод применяют главным образом для анализа металлических материалов. Поскольку в тлеющем разряде происходит послойное распыление (ионное травление) материала катода, этот вариант метода можно применять для послойного анализа (глубина испарения катода прямо пропорциональна времени анализа). Послойное разрешение тлеющего разряда составляет 0,1 — 0,2 мкм, что сопоставимо с разрешением гораздо более дорогостоящих методов рентгеновской и оже-электронной спектроскопии.

10.3.2.3. Спектральные помехи

Зависимость между интенсивностью испускаемого элемента и концентрацией определяемого элемента в пробе в общем случае является нелинейной (см. уравнение

(10.25)). Это обусловлено различными факторами. Одни из них связаны с взаимодействием вещества с излучением (*спектральные помехи*), другие — с взаимодействием веществ между собой, низкой эффективностью распыления, неполным испарением пробы и другими физическими и химическими причинами (*физико-химические помехи*).

Самопоглощение. Типичным примером спектральных помех в АЭС может служить *самопоглощение* — явление, которое в той или иной мере наблюдается в любых эмиссионных методах анализа. Сущность его состоит в том, что часть излучения возбужденных атомов может поглотиться невозбужденными атомами того же элемента, находящимися в периферийной части атомизатора. В результате регистрируемая интенсивность уменьшится. Поскольку в периферийной части атомизатора температура обычно ниже, чем в центральной, в силу меньшего доплеровского уширения ширина атомной линии поглощения меньше, чем ширина линии испускания. Поэтому наиболее интенсивно будет поглощаться часть излучения вблизи максимума линии. Это может привести к самообращению линии испускания — ее кажущемуся расщеплению на две линии (рис. 10.15).

Степень самопоглощения, очевидно, возрастает с увеличением концентрации атомного пара. Это приводит к нарушению линейной зависимости $I = f(C)$ в области высоких концентраций (рис. 10.16, а). Самопоглощение — главная причина, обуславливающая нелинейный характер зависимости интенсивности излучения от концентрации элемента, описываемой уравнением (10.25).

Параметр b в уравнении (10.25) характеризует степень самопоглощения. Параметр b зависит от концентрации элемента. В области малых концентраций самопоглощение мало ($b \approx 1$) и уравнение (10.25) становится в линейным:

$$I = aC. \quad (10.26)$$

С ростом концентрации параметр b непрерывно изменяется от 1 до 0. Однако при работе в достаточно узком концентрационном диапазоне значение b можно считать практически постоянным. В этом случае зависимость интенсивности от концентрации в билогарифмических координатах:

$$\lg I = \lg a + b \lg C \quad (10.27)$$

близка к прямолинейной даже в том случае, если $b < 1$ (рис. 10.16, б). Переход к билогарифмическим координатам позволяет использовать для аналитических целей и нелинейный участок зависимости $I = f(C)$.

Степень самопоглощения во многом определяется геометрией атомизатора. Для источников ИСП самопоглощение значительно меньше, чем для любых других атомизаторов.

Излучение и поглощение фона. Наряду со свободными атомами в атомизаторе присутствуют и многоатомные частицы — молекулы, свободные радикалы. При высокой температуре они, как и атомы, могут возбуждаться и испускать излучение в оптическом диапазоне. Это излучение (а также излучение раскаленных

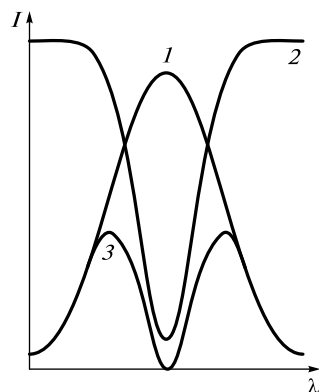


Рис. 10.15. Схема самообращения спектральной линии:

1 — исходный профиль линии испускания; 2 — профиль линии поглощения; 3 — самообращенная линия

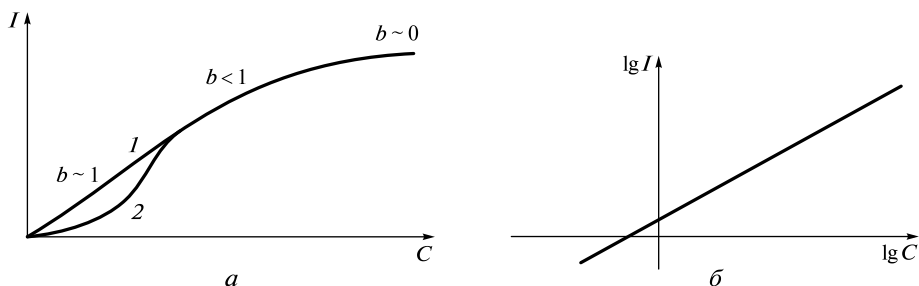


Рис. 10.16. Зависимость интенсивности эмиссионной спектральной линии от концентрации определяемого элемента:

$a - I = f(C)$ (I — без учета ионизации; 2 — с учетом ионизации); $b - \lg I = f(\lg C)$

макроскопических частиц, которые тоже могут присутствовать в атомизаторе) называют *фоновым*. В частности, при использовании дуговой или искровой атомизации с угольными электродами возникает интенсивное фоновое излучение молекул CN в области 360—460 нм.

При возникновении интенсивных фоновых помех использовать соответствующую область спектра в аналитических целях невозможно. Если же излучение фона не очень велико, его влияние можно скомпенсировать. Для этого измеряют интенсивность фонового излучения при длине волны в непосредственной близости от изучаемой спектральной линии и вычитают ее из интенсивности спектральной линии.

Мешающее влияние оказывает и поглощение фоном части излучения, испускаемого возбужденными атомами (сравните с явлением самопоглощения).

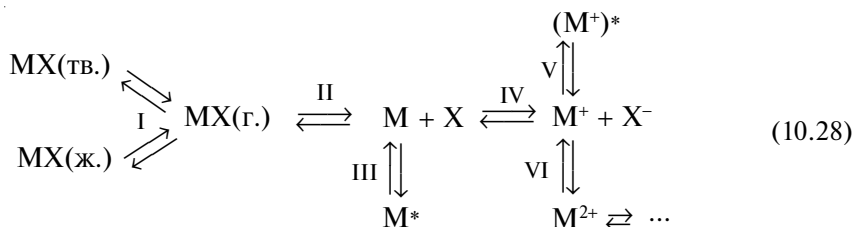
Наложение атомных спектральных линий. Спектр испускания каждого элемента состоит из большого числа линий, отвечающих различным переходам из возбужденных состояний в состояния с меньшей энергией. Число таких линий может измеряться тысячами (например, для железа, урана). Поэтому в АЭС достаточно высока вероятность наложения спектральных линий разных элементов друг на друга. В этих случаях для анализа необходимо использовать линии спектра, свободные от наложений.

При повышении температуры атомные эмиссионные спектры усложняются, поскольку в них проявляются новые линии, связанные с переходами из высших возбужденных состояний, а также линии возбужденных ионов. Расшифровку спектров, полученных при высоких температурах (ИСП, искровая атомизация), часто необходимо проводить компьютерными методами.

С метрологической точки зрения спектральные помехи многих типов (например, наложение спектральных линий) имеют аддитивный характер, т. е. вклады в общий аналитический сигнал, вносимые определяемым и посторонним компонентами, суммируются. Это обстоятельство необходимо учитывать при выборе способа градуировки в количественном анализе.

10.3.2.4. Физико-химические помехи

Общую схему процессов, происходящих с веществом в атомизаторе при высокой температуре, можно представить следующим образом:



где M — атом определяемого элемента; M^* — возбужденное состояние.

В атомизаторе проба, исходно находящаяся в твердом $MX(тв.)$ или жидком $MX(ж.)$ состоянии, испаряется — переходит в состояние $MX(г.)$ (стадия I)¹, затем атомизируется (стадия II). Свободные атомы M участвуют далее в двух независимых параллельных процессах: возбуждение (стадия III) и ионизация (стадия IV); образующиеся в последнем случае ионы M^+ также могут возбуждаться (стадия V) или ионизироваться далее (стадия VI). Таким образом, вещество в атомизаторе находится в разных формах, из которых аналитический сигнал формируют лишь возбужденные одноатомные частицы. Любой фактор, снижающий их концентрацию, приводит к уменьшению аналитического сигнала.

Рассмотрим основные физические и химические факторы, влияющие на концентрацию возбужденных частиц в атомизаторе.

Температура атомизатора непосредственно влияет на аналитический сигнал в АЭС, поскольку от температуры в соответствии с уравнением Больцмана (10.24) зависит доля возбужденных частиц. Эта зависимость выражена достаточно резко (рис. 10.17). Помимо этого температура влияет на аналитический сигнал и опосредованно, поскольку от нее зависят полнота атомизации пробы и степень ионизации определяемого элемента.

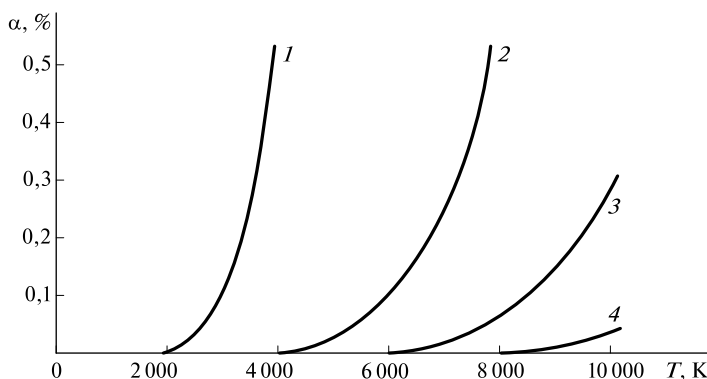


Рис. 10.17. Зависимость доли α возбужденных атомов от температуры:

1 — Li (670,5); 2 — Cu (324,8); 3 — Fe (248,3); 4 — P (177,5) (в скобках указана длина волны спектральной линии, нм)

Полнота испарения и атомизации пробы. Как испарение (см. схему (10.28), стадия I), так и атомизация (стадия II) являются эндотермическими процессами,

¹ Если анализируемое вещество находится в растворе, то его испарению предшествует стадия испарения растворителя (на схеме не показана).

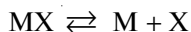
поэтому их протеканию благоприятствует повышение температуры. Неполное испарение и неполная атомизация могут серьезно повлиять на результаты анализа при использовании пламенных атомизаторов. Температура в них относительно невысока, а проба подается в виде раствора с большой скоростью и, следовательно, находится в атомизаторе незначительное время. Степень атомизации вещества в пламени зависит от конструкции атомизатора (в первую очередь — от конструкции распыляющей форсунки) и режима его работы, но, как правило, никогда не превышает нескольких процентов от общего содержания определяемого компонента. Атомизацию можно увеличить введением в распыляемый раствор специальных добавок (например, поверхностно-активных веществ), уменьшающих вязкость и поверхностное натяжение раствора и тем самым способствующих его диспергированию. При использовании электроразрядных атомизаторов (дуга, искра), предназначенных для анализа твердых образцов, степень атомизации сильно зависит от физического состояния пробы. Например, при анализе образцов сплава и минерала с одинаковым содержанием меди в одинаковых условиях интенсивность испускания линий меди может быть различной.

Неполнота испарения и атомизации представляет собой серьезную проблему, если определяемый элемент склонен к образованию труднолетучих или труднодиссоциирующих (термически устойчивых) соединений. В этих случаях степень атомизации и, следовательно, интенсивность испускания могут сильно зависеть от валового состава пробы (*матричные эффекты*) — как катионного, так и анионного (*катионный* и *анионный эффекты*). Например, при прочих равных условиях интенсивность линий испускания кальция для хлоридных растворов выше, чем для фосфатных, поскольку в последних ионы кальция образуют термически устойчивые фосфаты. Если в растворе, содержащем ионы кальция, присутствуют ионы алюминия, интенсивность испускания атомов кальция также снижается из-за образования смешанных оксидов кальция и алюминия.

Ионизация. Процесс ионизации (см. схему (10.28), стадия IV) конкурирует с процессом возбуждения (стадия III) и, таким образом, также снижает аналитический сигнал. Этот эффект выражен особенно сильно для легкоионизирующихся элементов — натрия, калия, кальция и др.

Ионизация — тоже эндотермический процесс, поэтому степень ионизации возрастает при увеличении температуры.

Физико-химические помехи в АЭС могут вызвать снижение чувствительности определения, ухудшение правильности и воспроизводимости результатов, а также нарушение линейности градуировочной зависимости. Действительно, равновесия атомизации



и ионизации



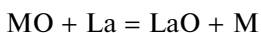
представляют собой равновесия ассоциации-диссоциации, положение которых зависит от общей концентрации вещества. При увеличении концентрации возрастает доля недиссоциированных частиц, при уменьшении — доля ионов. Из-за высокой степени ионизации в области малых концентраций градуировочные графики в АЭС могут иметь S-образную форму (см. рис. 10.16, а, кривая 2).

Основными приемами подавления физико-химических помех служат изменение температуры атомизатора и использование спектроскопических буферов. При анализе твердых образцов с использованием электроразрядных атомизаторов, кроме того, применяют специфические приемы предварительного удаления мешающих компонентов, называемые обжигом или обыскриванием.

Температура атомизатора. Увеличение температуры благоприятствует атомизации и возбуждению атомов, но в то же время увеличивает степень их ионизации. Поэтому для каждого элемента существует своя оптимальная температура атомизации в АЭС (рис. 10.18). Чем легче атомизируется, возбуждается и ионизируется определяемый элемент, тем ниже должна быть температура атомизатора. Так, для определения кальция оптимальная температура атомизации существенно ниже, чем для определения бора (см. рис. 10.18, кривые 1, 3). При использовании линий испускания возбужденных ионов требуется значительно более высокая температура, чем в случае нейтральных атомов (см. рис. 10.18, кривые 1, 2). В ряде случаев подобные температуры для атомизатора данного типа могут быть технически недостижимы, и определение элемента по линиям ионов становится невозможным. Например, пламенно-фотометрическое определение элементов проводят, как правило, только с использованием линий нейтральных атомов.

Модификаторы матрицы. Это — вещества, специально добавляемые к пробе для смещения физико-химических равновесий в газовой фазе, изменения состава или физических свойств образца либо среды атомизатора, стабилизации ее параметров с целью увеличения концентрации свободных атомов в атомизаторе и соответственно усиления аналитического сигнала. В зависимости от механизма действия модификаторов матрицы (которые очень разнообразны) различают: буферы, носители, плавни, освобождающие добавки и т.д. (общепринятой классификации и терминологии не существует). Вот лишь некоторые примеры, демонстрирующие различные функции модификаторов матрицы.

Для увеличения степени атомизации труднодиссоциирующих оксидов, например оксидов кремния, алюминия, бария, титана, к пробе часто добавляют соединения лантана, образующего в газовой фазе весьма прочные оксиды:



и тем самым способствующего атомизации элемента М. Добавление летучих солей аммония, например NH_4Cl , также часто улучшает атомизацию, но уже по совершенно другой причине: соли аммония, превращаясь при нагревании в газообразные продукты, способствуют более тонкому диспергированию вещества пробы и тем самым облегчают ее испарение. Для уменьшения степени ионизации легкоионизирующихся элементов добавляют соединение элемента (например, калия),

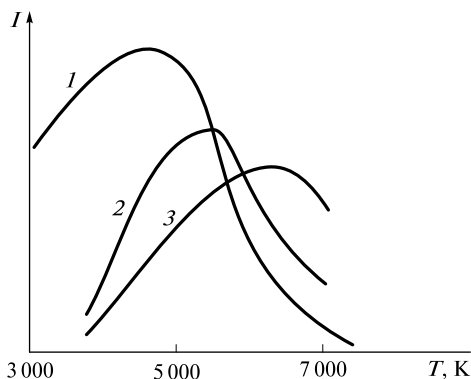
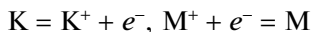


Рис. 10.18. Зависимость интенсивности спектральных линий от температуры атомизатора:

1, 2 — Ca; 3 — В (1, 3 — линии нейтральных атомов; 2 — линия однократно ионизированного атома)

ионизирующегося еще легче, чем определяемый. За счет его ионизации возрастает концентрация электронов в газовой фазе, и ионизация определяемого элемента М подавляется:



Вещества, стабилизирующие физические параметры (температуру, вязкость и др.) среды атомизатора, называют *спектроскопическими буферами*. Например, соли щелочных металлов играют роль спектроскопического буфера, поддерживая на постоянном уровне температуру дугового или искрового разряда. Дополнительная энергия, подводимая к атомизатору, в этом случае расходуется не на повышение его температуры, а на испарение, диссоциацию и ионизацию вещества буфера.

Приведенные примеры не исчерпывают всех возможных механизмов действия модификаторов матрицы в атомно-эмиссионном анализе. Очень часто одно и то же вещество действует одновременно по нескольким механизмам, многие из которых окончательно не выяснены.

Обжиг, обыскривание. Это — специальные приемы подавления матричных эффектов, широко применяемые при анализе твердых образцов с использованием электродразрядных атомизаторов. В случае дугового разряда этот прием называется *обжигом*, в случае искрового — *обыскриванием*.

Сущность обжига и обыскривания состоит в предварительном (до регистрации спектра) кратковременном пропуски соответствующего электрического разряда через анализируемый образец. При этом из пробы удаляются мешающие компоненты, более летучие, чем определяемый (например, углерод, фосфор, сера при анализе сталей). В итоге матричные эффекты существенно уменьшаются, а точность результатов повышается. Кроме того, в ходе обжига или обыскривания стабилизируется режим электрического разряда (параметры которого обычно изменяются наиболее сильно в самом начальном периоде после поджига), поэтому улучшается и воспроизводимость.

Таким образом, уровень физико-химических помех в АЭС сильно зависит от способа и условий атомизации, а также от физического состояния и валового состава пробы. Источником, наиболее свободным от физико-химических помех, является ИСП, в которой проба изолирована от окружающей среды инертным газом — аргоном. Межэлементные влияния компонентов пробы в ИСП также малы ввиду высокой температуры, благоприятствующей распаду любых многоатомных частиц. С метрологической точки зрения физико-химические помехи являются, как правило, мультипликативными (пропорциональными). Это означает, что мешающие факторы не вносят собственного вклада в аналитический сигнал, однако пропорционально изменяют (как правило, уменьшают) его, т.е. влияют на коэффициент чувствительности a (см. уравнение (10.26)). Эффективным приемом подавления такого рода помех служит метод добавок.

10.3.2.5. Метрологические характеристики и аналитические возможности метода

Чувствительность. Пределы обнаружения в АЭС зависят от способа атомизации и природы определяемого элемента и могут изменяться в широких преде-

лах (см. табл. 10.3). Для легковозбудимых и легкоионизирующихся элементов (щелочных и большинства щелочноземельных металлов) наилучшим источником атомизации является пламя ($C_{\min} < 10^{-7}$ мас. %). Для большинства других элементов наивысшая чувствительность достигается при использовании ИСП ($C_{\min} < 10^{-8}$ мас. %). Традиционные источники атомизации (дуга и искра) наименее чувствительны. Высокие пределы обнаружения в искровом разряде (на 1—2 порядка выше, чем в дуговом) обусловлены тем, что он происходит в весьма малой области пространства (значительно меньшей, чем при дуговом разряде). Соответственно, мало и количество испаряемой пробы.

Диапазон определяемых содержаний. Верхние границы определяемых содержаний в АЭС лимитируются главным образом самопоглощением и связанным с ним нарушением линейности градуировочной характеристики. В зависимости от содержания элемента для его определения можно использовать линии разной интенсивности. При наличии самопоглощения можно в достаточно узком интервале концентраций линеаризовать градуировочную характеристику путем перехода к билогарифмическим координатам (см. рис. 10.16, б). Таким образом, диапазон определяемых концентраций в АЭС состоит обычно из нескольких отдельных поддиапазонов, каждый из которых перекрывает не более одного порядка, а все вместе — 2—3 порядка. Разительный контраст и здесь являет метод с использованием ИСП, для которого самопоглощение крайне незначительно, а «единый» диапазон линейности может достигать 4—5 порядков значений концентрации.

Воспроизводимость. Аналитический сигнал в АЭС пропорционален заселенности возбужденного состояния атомов и поэтому весьма чувствителен к флуктуациям температуры. Для наиболее стабильных источников атомизации (пламя, ИСП) значения s_r составляют 0,01—0,05, что указывает на хорошую воспроизводимость для инструментальных методов анализа. Однако для искрового и особенно дугового разрядов воспроизводимость гораздо хуже (значения s_r составляют 0,05—0,1 и 0,1—0,2 соответственно).

Для улучшения воспроизводимости в АЭС широко применяют *метод внутреннего стандарта*. Внутренний стандарт в АЭС представляет собой компонент, содержание которого во всех образцах, применяемых для градуировки, а также в анализируемом образце одинаково. Чаще всего это — компонент основы, содержание которого во всех образцах можно приближенно считать равным 100 %; например, при анализе сталей внутренний стандарт — железо. При отсутствии подходящего компонента внутренний стандарт во все образцы вводят специально.

Сущность метода внутреннего стандарта состоит в том, что в качестве аналитического сигнала вместо абсолютной интенсивности линии определяемого элемента используют отношение I/I_0 двух одновременно измеряемых интенсивностей линий определяемого элемента (I) и внутреннего стандарта (I_0). Такую пару линий называют *гомологической*. Если колебания температуры (а также других условий анализа) влияют на величины I , I_0 в равной степени, то при вычислении отношения I/I_0 эти влияния взаимно компенсируются (так называемая релятивизация), и воспроизводимость результатов значительно улучшается.

При выборе гомологической пары линий важно, чтобы они были достаточно близки как по энергиям (длинам волн: $\Delta\lambda \leq 10$ нм), так и по интенсивностям (различались не более чем в 10 раз). Близость по энергиям необходима, чтобы колебания температуры сказывались на интенсивностях обеих линий в равной мере (т. е. чтобы отношение I/I_0 как можно меньше зависело от температуры). Действи-

тельно, из уравнения Больцмана (10.24) следует, что отношение I/I_0 пропорционально $\exp[-(E - E_0)/(kT)]$. Эта величина тем меньше зависит от температуры, чем меньше разность $(E - E_0)$.

10.3.2.6. Способы монохроматизации и регистрации спектров

Способы регистрации спектров в АЭС тесно связаны со способами разложения излучения в спектр.

Основной способ регистрации спектров в АЭС — фотоэлектрический. Для массовых полуколичественных анализов используют приборы с визуальной регистрацией спектров (стилоскопы). Детекторами для фотоэлектрической регистрации служат фотоэлектрические преобразователи (фотоэлементы, фотоэлектронные умножители, фотодиоды, матрицы на основе приборов с зарядовой связью). Достоинством матриц на основе приборов с зарядовой связью является возможность учета фонового поглощения и записи спектра (аналогично фотографии) в режиме реального времени. Приборы с зарядовой связью являются аналогами фотоматериалов, которые они практически вытеснили, однако не позволили добиться высокой чувствительности регистрации. Напротив, фотоэлектронные умножители обеспечивают очень широкий линейный динамический диапазон сигнала и чувствительность регистрации, но не позволяют охватить широкий спектральный диапазон.

Для регистрации спектров эмиссии в АЭС используют моно- и полихроматоры. Как правило, атомно-эмиссионные спектры весьма богаты линиями, поэтому необходимы моно- и полихроматоры достаточно высокого разрешения. При пламенной атомизации ввиду малого числа наблюдаемых в этих условиях эмиссионных линий можно использовать и светофильтры.

10.3.2.7. Применение атомно-эмиссионной спектроскопии

Качественный анализ. Атомно-эмиссионный метод позволяет одновременно регистрировать множество линий испускания. Поэтому АЭС является многоэлементным методом анализа. Это важнейшее достоинство метода позволяет успешно использовать его для идентификации элементов, содержащихся в пробе, — для качественного анализа.

Из традиционных источников атомизации наиболее подходящим для качественного анализа является дуговой разряд. С одной стороны, температура дуги достаточна для атомизации и возбуждения большинства элементов. С другой стороны, поскольку температура дуги ниже, чем, например, искры или ИСП, то дуговые спектры существенно беднее линиями, что облегчает идентификацию. Основным недостатком дугового разряда — низкая стабильность — применительно к качественному анализу не играет существенной роли, поскольку для идентификации используют положение (длину волны) линии в спектре, а не ее интенсивность.

Для идентификации элементов используют в первую очередь наиболее интенсивные, так называемые «последние линии» (название связано с тем, что при уменьшении концентрации элемента эти линии исчезают в последнюю очередь). Чтобы идентификация была надежной, в спектре необходимо обнаружить несколько линий одного и того же элемента.

Количественный анализ. При количественном анализе методом АЭС можно использовать все основные способы градуировки — метод внешних стандартов (метод градуировочного графика), метод внутреннего стандарта и метод добавок. Целесообразность применения каждого способа зависит от характера возможных помех и природы анализируемого объекта. Так, метод добавок позволяет эффективно устранить косвенные мультипликативные погрешности, вызываемые главным образом физико-химическими помехами, однако против аддитивных спектральных помех, таких как наложение спектральных линий, он бессилен. Следует в то же время иметь в виду, что метод добавок легко реализуем технически только при анализе растворов (атомизаторы — главным образом пламя, ИСП), но не твердых проб (дуговой, искровой разряды). В любом случае при построении градуировочной зависимости следует стремиться к тому, чтобы все образцы, используемые для градуировки, были максимально адекватны анализируемому — как по валовому химическому составу, так и по физическому состоянию (последнее особенно важно при анализе твердых проб).

Области применения. Начиная с 1930-х гг. АЭС служит важным методом анализа металлов и сплавов. В СССР широкому распространению метода на металлургических предприятиях и в исследовательских институтах металлургического профиля во многом способствовала Комиссия по спектроскопии Академии наук СССР, которую возглавлял академик Г. С. Ландсберг. Другая область массового применения АЭС — анализ геологических объектов, в том числе полуколичественный анализ порошкообразных проб (так называемым методом просыпки, разработанным В. В. Недлером и особенно А. К. Русановым). В 1940-е гг. АЭС стала одним из основных методов анализа веществ высокой чистоты, особенно в сочетании с предварительным концентрированием определяемых микропримесей. Большой объем работ был выполнен также в области элементного анализа объектов окружающей среды, особенно вод.

Широкому распространению метода способствовало его постоянное совершенствование (разработка способов количественного анализа, появление новых источников спектра, переход от фотографической регистрации, долгие годы бывшей единственным методом регистрации спектров, к фотоэлектрическому, массовый выпуск приборов разного типа — стилоскопов, стилометров, спектрографов, ИСП-спектрометров).

В настоящее время с помощью АЭС выполняют большой объем аналитических исследований во всех названных выше и других областях, несмотря на конкуренцию со стороны других методов. Так, в металлургии, металлообработке, цементной промышленности теперь наряду с АЭС в больших масштабах применяют рентгенофлуоресцентный анализ; большое число анализов проводят с использованием масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

10.3.3. Атомно-абсорбционная спектроскопия

10.3.3.1. Основы метода

Атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС) основана на явлении атомной абсорбции, т. е. на поглощении излучения оптического диапазона невозбужденными свободными атомами (см. рис. 10.10, б). Таким образом, в ААС, как и в

АЭС, необходима предварительная атомизация пробы. Однако если в АЭС аналитический сигнал формируют возбужденные атомы, то в ААС — невозбужденные. Оптическая плотность (A) атомного пара в соответствии с основным законом светопоглощения (см. подразд. 10.1.6) пропорциональна концентрации поглощающих частиц ($C_{\text{ат}}$) — атомов определяемого элемента в атомизаторе:

$$A = k_{\text{ат}} l C_{\text{ат}}, \quad (10.29)$$

где $k_{\text{ат}}$ — коэффициент поглощения света свободными атомами; l — длина оптического пути (толщина слоя атомного пара).

При постоянных условиях атомизации и заданном режиме работы прибора концентрация атомов $C_{\text{ат}}$ в атомизаторе прямо пропорциональна концентрации определяемого элемента (C) в пробе: $C_{\text{ат}} = \alpha C$. Таким образом, можно записать:

$$A = k_{\text{ат}} \alpha l C = k l C, \quad (10.30)$$

где $k = k_{\text{ат}} \alpha$.

Как и в АЭС, коэффициент пропорциональности k является сугубо эмпирической величиной, которая зависит от условий анализа и прибора; ее находят опытным путем (градуировкой). Это отличает ААС от молекулярной абсорбционной спектроскопии (спектрофотометрии; см. подразд. 10.4), где коэффициент пропорциональности k (или ϵ) определяется в основном природой вещества.

10.3.3.2. Атомизаторы

Роль атомизатора в ААС в отличие от АЭС состоит только в переводе пробы в атомарное состояние, но не в возбуждении атомов. Поэтому рабочий диапазон температуры в ААС (около 800—3 000 °С) существенно ниже, чем в АЭС (с ИСП и искровыми атомизаторами). Основные типы источников атомизации, применяемые в АЭС, — это пламена и электротермические (непламенные) атомизаторы.

Пламя. Пламенный атомизатор для ААС, как и для АЭС, представляет собой горелку. Однако конструкции горелок в АЭС и ААС различаются. При проведении ААС используют, как правило, различные варианты щелевых горелок (рис. 10.19), в которых пламя имеет форму вытянутой узкой щели. Тем самым обеспечивается большая длина оптического пути и в соответствии с уравнением (10.30) увеличение аналитического сигнала.

При проведении ААС наиболее часто используют следующие составы горючих смесей: светильный газ — воздух (1 500—1 800 °С); ацетилен — воздух (2 200—2 300 °С); ацетилен — оксид азота(I) (2 700—2 950 °С).

Важнейшее достоинство пламенных атомизаторов — высокая стабильность режима работы. Основной недостаток — низкая эффективность атомизации, связанная с тем, что проба подается в атомизатор в виде раствора с большой скоростью и, таким образом, находится в условиях высокой температуры весьма малое время.

Электротермические атомизаторы. Способ электротермической атомизации для ААС изобретен Б.В. Львовым в 1959—1960-е гг. и в дальнейшем неоднократно совершенствовался. В настоящее время наиболее распространенной конструкцией электротермических атомизаторов является небольшая трубка (длиной не-

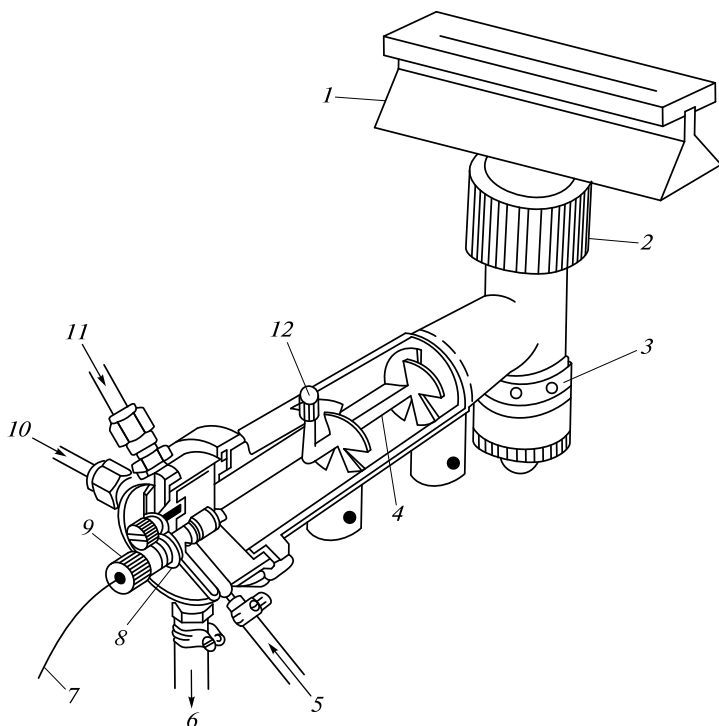


Рис. 10.19. Горелка камерного типа со щелевой насадкой:

1 — насадка горелки; 2 — запорное кольцо насадки горелки; 3 — отверстие для уравнивания давления; 4 — крыльчатка; 5 — окислитель (распыляющий газ); 6 — сток; 7 — капилляр для ввода пробы; 8 — распылитель; 9 — регулировка распылителя; 10 — топливо; 11 — дополнительный окислитель; 12 — стопорный винт крыльчатки

сколько сантиметров, внутренним диаметром менее 1 см), обычно графитовая, нагреваемая электрическим током большой силы (рис. 10.20). В верхней части трубки имеется небольшое отверстие для ввода пробы. Жидкие пробы вводят микропипеткой, возможен анализ и твердых проб. Для предотвращения быстрого выгорания графита атомизатор помещают в атмосферу инертного газа — обычно аргона высокой чистоты.

Электротермическая атомизация имеет много преимуществ перед пламенной. Главное из них — значительное повышение чувствительности определения вследствие увеличения эффективности атомизации. Оно связано, во-первых, с тем, что атомы определяемого элемента дольше находятся в атомизаторе, во-вторых, с восстановительными свойствами материала атомизатора — графита, что благоприятствует диссоциации устойчивых оксидов многих элементов. Ввиду малого объема печи и большого времени атомизации объем пробы, необходимый для анализа, резко уменьшается (для пла-

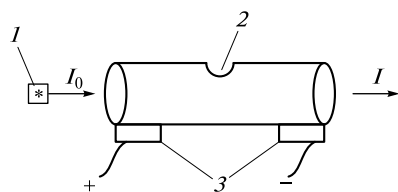


Рис. 10.20. Схема электротермического атомизатора для атомно-абсорбционной спектроскопии:

1 — источник излучения; 2 — отверстие для ввода пробы; 3 — электрические контакты

менной атомизации это — несколько миллилитров, а для электротермической — одна капля раствора — 5—50 мкл) и, как следствие, чувствительность дополнительно повышается. Распространенным приемом повышения чувствительности при электротермической атомизации служит использование специальных добавок — модификаторов матрицы. Модификаторы позволяют уменьшить потери определяемого элемента на предварительных этапах испарения и озоления пробы. Наконец, в случае электротермической атомизации можно непрерывно изменять температуру атомизатора в пределах 20—2700 °С, варьируя силу тока нагрева, при этом на каждой стадии температуру устанавливают и контролируют с высокой точностью.

10.3.3.3. Источники излучения

Принципиально новым моментом в ААС по сравнению с АЭС является наличие в приборе источников внешнего излучения. Главное требование, предъявляемое к ним, — высокая степень монохроматичности излучения, обусловленная малой шириной (порядка 10^{-3} — 10^{-2} нм) линий поглощения свободных атомов.

В настоящее время в ААС в качестве источников излучения наибольшее распространение получили разрядные лампы — лампы с полым катодом (лампы Уолша) и безэлектродные разрядные лампы. Они являются источниками линейчатых спектров.

Лампа с полым катодом (рис. 10.21) представляет собой стеклянный или кварцевый баллон, заполненный инертным газом под низким давлением, внутри которого находятся два электрода — катод и анод. Катод имеет форму чаши и изготавливается из чистого металла. При подаче напряжения на электроды возникает тлеющий разряд с образованием положительно заряженных ионов газа-наполнителя. Последние бомбардируют катод, выбивая атомы металла в газовую фазу, где эти атомы возбуждаются и испускают излучение, характерное для свободных атомов соответствующего элемента. Таким образом, спектр излучения лампы с полым катодом — это атомный спектр материала катода (включая линии, испускаемые возбужденными ионами газа-наполнителя). Важно отметить, что лампы с полым катодом обеспечивают очень узкие линии источника, поскольку тлеющий разряд происходит при невысокой температуре (в силу этого мало доплеровское уширение) и низком давлении инертного газа (поэтому и ударное уширение тоже мало). Из получающегося спектра с помощью обычного дифракционного монохроматора можно выделить одну (обычно наиболее интенсивную) линию и использовать ее для атомно-абсорбционного определения соответствующего элемента.

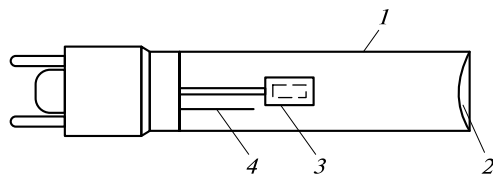


Рис. 10.21. Лампа с полым катодом:

1 — корпус; 2 — оптическое окошко; 3 — катод; 4 — анод

Безэлектродные разрядные лампы также представляют собой газоразрядные источники излучения. В такой лампе содержится небольшое количество чистого вещества (или его летучего легкодиссоциирующего соединения), которое переводится в атомный пар и возбуждается под действием микроволнового поля.

Безэлектродные разрядные лампы изготавливают главным образом для определения неметаллов (As, Se, Te, P) и летучих металлов (Hg, Rb, Cs).

Бурное развитие ААС как аналитического метода началось именно с момента разработки А. Уолшем узкополосных источников излучения, таких как лампы с полым катодом. А. Уолш сформулировал два правила, которые необходимо соблюдать для обеспечения высокой чувствительности и селективности атомно-абсорбционного анализа:

1) длина волны линии испускания (источника излучения) должна совпадать с длиной волны линии поглощения (аналитической линии определяемого элемента);

2) ширина линии испускания должна быть как минимум в два раза меньше ширины линии поглощения (рис. 10.22).

При несоблюдении первого правила можно вообще не обнаружить определяемый элемент. При несоблюдении второго правила только часть энергии испускания будет поглощена атомами определяемого элемента, и до детектора дойдет значительная доля исходного излучения (профиль линии на детекторе будет аналогичен кривой 3 на рис. 10.15). При этом регистрируемая оптическая плотность, а следовательно, и чувствительность определения снижаются. Кроме того, будут наблюдаться существенные отклонения от основного закона светопоглощения, т.е. зависимость оптической плотности от концентрации атомного пара станет нелинейной.

Существенный недостаток разрядных ламп — обратная сторона их достоинств, т.е. их «узкая специализация»: каждая лампа пригодна для определения только одного элемента. Существуют, правда, и многоэлементные лампы, катод которых изготовлен из смеси (сплава) нескольких элементов, но их эксплуатационные характеристики, как правило, хуже, чем одноэлементных. Поэтому предпринимаются интенсивные усилия по созданию источников излучения для ААС с перестраиваемой частотой. Примеры таких источников — особо мощные (ксеноновые) лампы, дающие непрерывный спектр, в сочетании с монохроматорами с высокой разрешающей способностью, а также лазеры с перестраиваемой частотой: на красителях и в последнее время на полупроводниковых диодах. Излучение последних отличается столь высокой монохроматичностью, что позволяет определять даже изотопы элементов, используя очень малые различия в положении их спектральных линий. Тем не менее лампы с полым катодом и безэлектродные разрядные лампы до сих пор используются в ААС наиболее широко.

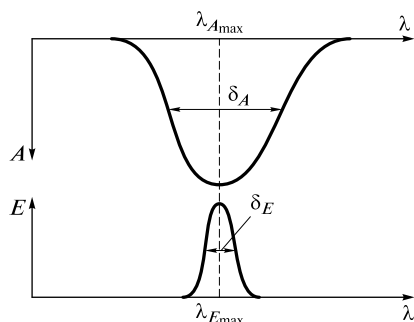


Рис. 10.22 Условия Уолша: $\lambda_{A\max} = \lambda_{E\max}$; $\delta_A > 3\delta_E$ ($\lambda_{A\max}$, δ_A — соответственно длина волны и ширина линии поглощения атомного пара элемента; $\lambda_{E\max}$, δ_E — соответственно длина волны и ширина линии источника излучения)

10.3.3.4. Спектральные помехи

В методе ААС, как и АЭС, наблюдаются различные эффекты, искажающие результаты анализа. Основными оптическими (спектральными) помехами в ААС являются излучение и поглощение фона.

Излучение фона. Фоновое излучение атомизатора можно эффективно скомпенсировать, используя модуляцию (периодическое изменение интенсивности) светового потока источника. С помощью специального механического или электрического устройства — модулятора — поток излучения направляют на пробу периодическими импульсами. На рис. 10.23 показана временная диаграмма светового потока на выходе из атомизатора. В момент времени t_1 , когда источник освещает пробу, регистрируется суммарная интенсивность ($I + I_0$). В момент времени t_2 регистрируется только фоновое излучение I_0 . Исправленное значение I находят по разности.

Поглощение фона. Молекулы, присутствующие в атомизаторе, имеют широкополосные спектры поглощения, накладывающиеся на узкие линии поглощения атомов. Кроме того, микроскопические частицы вызывают значительное светорассеяние излучения источника. Резкое различие в ширине линий поглощения атомов и полос фонового поглощения, обусловленных присутствующими в атомизаторе молекулами, можно использовать для компенсации фонового поглощения. Для этого атомизатор, наряду с источником линейчатого спектра, одновременно освещают источником непрерывного спектра — обычно дейтериевой лампой, отчего этот способ получил название *дейтериевой коррекции фона*. Излучение дейтериевой лампы не будучи монохроматическим практически не поглощается свободными атомами, однако поглощается молекулами. Электронная система прибора разделяет сигналы от обоих источников света (для этого, например, можно использовать их модуляцию с разными частотами) и автоматически делает поправку на измеренное поглощение фона. Этим способом удастся скомпенсировать поглощение фона до 0,2 единицы оптической плотности.

Более современный способ коррекции фонового поглощения основан на *обратном эффекте Зеемана* — расщеплении атомных линий в магнитном поле на компоненты с различной поляризацией. Источник излучения или атомизатор помещают между полюсами сильного электромагнита. В постоянном магнитном поле атомная линия поглощения вследствие эффекта Зеемана расщепляется на три компонента (иногда больше). Полосы неселективного (фонового) поглощения, вызванные молекулярной абсорбцией, эффекту Зеемана не подвержены, поэтому они не расщепляются и не поляризуются.

Положение одной из образовавшихся компонент атомной линии, называемой *π -компонентой*, совпадает с положением линии в отсутствие поля, а две другие — *σ -компоненты* — симметрично смещены относительно нее в стороны больших и меньших частот (рис. 10.24). При этом наблюдается также поляризация света: *π -компонен-*

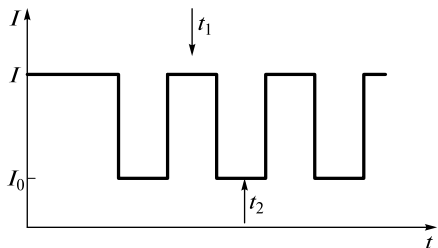


Рис. 10.23. Схема модуляции светового потока в атомно-абсорбционной спектроскопии

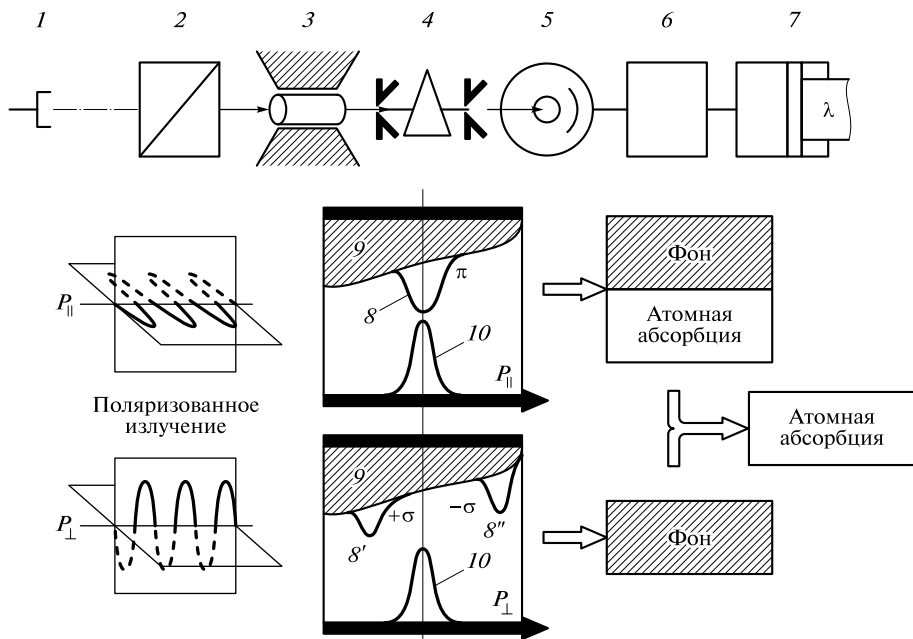


Рис. 10.24. Схема коррекции неселективного поглощения на основе эффекта Зеемана: 1 — лампа с полым катодом; 2 — вращающийся поляризатор; 3 — атомизатор между полюсами магнита (5–15 кГс); 4 — монохроматор; 5 — фотоумножитель; 6 — усилитель; 7 — регистрирующее устройство; 8 — контур π -компоненты линии поглощения; 8', 8'' — контуры $\pm\sigma$ -компоненты линии поглощения; 9 — неселективное поглощение; 10 — контур эмиссионной линии

та поляризована в направлении, параллельном направлению магнитного поля, σ -компоненты — в направлении, перпендикулярном ему.

При использовании зеемановской коррекции оптическую плотность измеряют при наложении магнитного поля в поляризованном свете, применяя вращающийся поляризационный светофильтр. В моменты времени, когда направление плоскости поляризации светофильтра совпадает с направлением магнитного поля, регистрируется суммарное атомное (π -компонента) и неселективное поглощение. При перпендикулярном расположении плоскости поляризации светофильтра и направления поля регистрируется только неселективное поглощение. Чистое значение оптической плотности атомного пара находят по разности. Зеемановская коррекция позволяет скомпенсировать поглощение фона до 1—2 единиц оптической плотности.

Отметим, что такие спектральные помехи, как наложение атомных спектральных линий в ААС в отличие от АЭС встречаются довольно редко, поскольку атомные спектры поглощения несравнимо беднее линиями, чем спектры испускания.

10.3.3.5. Физико-химические помехи

Физико-химические помехи в ААС имеют ту же природу, что и в АЭС. Основными мешающими эффектами здесь также являются неполнота атомизации и ионизация. Сходны и способы борьбы с этими помехами — регулирование тем-

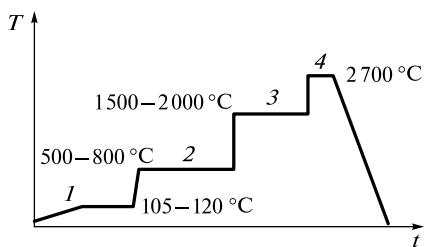


Рис. 10.25. Температурная программа электротермического атомизатора:

1 — высушивание; 2 — озоление; 3 — атомизация; 4 — отжиг

пературного режима атомизации и применение спектроскопических буферов или модификаторов матрицы (особенно часто в варианте с электротермической атомизацией). Кроме того, в ААС с электротермической атомизацией очень эффективным способом борьбы с физико-химическими помехами (межэлементными влияниями) и тем самым повышения селективности определений служит термическая подготовка пробы (программирование температуры атомизатора). На рис. 10.25 приведен типичный вид такой программы. Как правило, она включает минимум четыре ста-

дии. На каждой из них условия (температура) подобраны так, чтобы доминировал только один процесс. На стадии высушивания медленно испаряется растворитель. На стадии озоления из пробы удаляются все компоненты более летучие, чем определяемый элемент (например, органическая матрица — при анализе органических соединений). Стадия озоления в ААС во многом аналогична обжигу (обызквиванию) в АЭС. Озоление проводят при возможно более высокой температуре. На стадии атомизации измеряют аналитический сигнал. Заключительный кратковременный отжиг при максимально возможной температуре необходим для регенерации поверхности атомизатора, очистки его от труднолетучих компонентов.

10.3.3.6. Метрологические характеристики и аналитические возможности метода

Чувствительность. Пределы обнаружения в ААС для большинства элементов составляют $10^{-6}—10^{-4}$ мас. % в пламенном и $10^{-9}—10^{-7}$ мас. % в электротермическом варианте. Таким образом, в целом ААС чувствительнее, чем АЭС. Это связано с тем, что аналитический сигнал в ААС формируют атомы, находящиеся в основном состоянии, т. е. основная доля атомов определяемого элемента, а в АЭС — атомы в возбужденном состоянии, доля которых весьма мала.

Диапазон определяемых содержаний. Этот диапазон в ААС лимитируется аналитическим сигналом (оптической плотностью A), который можно измерить с необходимой точностью. Диапазон значений оптической плотности обычно составляет от нескольких сотых до 0,6—1,2 единиц. Таким образом, диапазон содержаний, определяемых методом ААС, не превышает 1—2 порядка. Проблемы с определением малых значений оптической плотности связаны со способом измерения оптической плотности — по разности между интенсивностями падающего и прошедшего излучений. При малых оптических плотностях эта разность мала и погрешность, соответственно, велика. В области высоких оптических плотностей погрешности связаны, главным образом, с существенными отклонениями от основного закона светопоглощения, вызванными недостаточной монохроматичностью излучения источника и влиянием рассеянного света, а также с неоднородностью поглощающей среды (атомного пара, имеющего разную кон-

центрацию в разных областях пространства атомизатора). Малый диапазон определяемых содержаний является существенным недостатком метода ААС.

Воспроизводимость. В случае ААС (особенно в пламенном варианте) воспроизводимость, как правило, несколько выше, чем в случае АЭС. Значения s_r составляют 0,005 — 0,05 для пламенного и 0,02 — 0,10 для электротермического способа атомизации. Более высокая воспроизводимость для ААС по сравнению с АЭС обусловлена в первую очередь тем, что флуктуации температуры атомизатора почти не изменяют долю невозбужденных атомов, формирующих сигнал в ААС (она всегда близка к 100 %), однако сильно влияют (в соответствии с уравнением Больцмана; см. рис. 10.17) на долю возбужденных атомов, формирующих сигнал в АЭС.

Селективность. В случае ААС селективность часто бывает выше, чем в случае АЭС. Это объясняется тем, что в ААС практически никакой роли не играет наложение спектральных линий. Селективность ААС лимитируется, главным образом, не спектральными, а физико-химическими помехами, способы подавления которых рассмотрены выше.

Главный недостаток метода ААС — трудность осуществления многоэлементного анализа, поскольку для каждого элемента нужен свой источник излучения. По этой же причине метод ААС непригоден для качественного анализа.

Количественный анализ. Метод ААС — один из наиболее чувствительных и удобных методов массовых одноэлементных определений большинства металлов. Для количественного анализа методом ААС применяют метод внешних стандартов (метод градуировочного графика) и метод добавок. Метод внутреннего стандарта в отличие от АЭС неприменим, поскольку ААС — одноэлементный метод анализа, не позволяющий одновременно измерять аналитические сигналы двух элементов — определяемого и внутреннего стандартов. Особенно широко в ААС используют метод добавок. Это связано с тем, что помехи в ААС имеют главным образом физико-химическую природу, т.е. являются с метрологической точки зрения мультипликативными. Кроме того, ААС — это главным образом метод анализа растворов. Для растворов в отличие от твердых проб метод добавок легко реализуем технически. При проведении ААС широко используют предварительное концентрирование, прежде всего сорбционное, что позволяет устранить многие матричные эффекты и снизить пределы обнаружения на 1 — 2 порядка.

В аналитической практике получили распространение и несколько специфических методов атомно-абсорбционного анализа, среди них — определение ряда элементов (олова, сурьмы, мышьяка и др.) после перевода их в летучие гидриды (для этого многие атомно-абсорбционные спектрометры снабжают так называемой «гидридной приставкой»). Другой специфический метод — определение ртути с использованием «холодного пара». Ртуть сначала связывают в амальгаму золота, а затем нагреванием извлекают из амальгамы в газовую фазу. Это один из самых распространенных методов определения паров ртути в воздухе.

10.3.4. Атомно-флуоресцентная спектроскопия

Атомно-флуоресцентная спектроскопия (АФС) относится к числу люминесцентных методов. Подробнее явление люминесценции и его основные законы описаны в подразд. 10.4.4. Как и в методе АЭС, в методе АФС аналитическим сиг-

налом служит интенсивность излучения, принадлежащего оптическому диапазону и испускаемого возбужденными атомами. Однако механизмы возникновения излучения в АЭС и АФС различны. В случае АЭС атомы возбуждаются под действием тепловой энергии и электронного удара. Возбужденные и невозбужденные атомы находятся в термодинамическом равновесии, положение которого зависит от температуры и определяется уравнением Больцмана. В случае АФС атомы возбуждаются под действием внешнего источника излучения (простейший из возможных при этом процессов схематически изображен на рис. 10.10, в).

Доля возбужденных атомов ϕ , следовательно, интенсивность люминесценции I определяются не температурой атомизатора, а в первую очередь интенсивностью этого источника I_0 в соответствии с приближенным соотношением

$$I = 2,3 I_0 \phi k l C, \quad (10.31)$$

где ϕ — квантовый выход флуоресценции; k — коэффициент поглощения; l — длина оптического пути; C — концентрация люминесцирующих частиц (атомов определяемого элемента).

С точки зрения атомизации, АФС аналогична ААС, так как для анализа необходимо получить атомный пар. Для атомизации используют как пламена, аналогичные описанным выше для ААС и АЭС, так и электротермическую атомизацию. Кроме того, ввиду универсальности и стабильности все чаще используют ИСП.

Как правило, квантовые выходы сильно уменьшаются с ростом температуры. Ввиду того что атомно-флуоресцентный анализ, как и другие методы оптической атомной спектроскопии, требует высокой температуры, для свободных атомов значения ϕ , как правило, крайне невелики. Поэтому в АФС решающее значение имеет использование как можно более мощных источников излучения. В качестве таковых применяют высокоинтенсивные разрядные лампы (с полым катодом или безэлектродные), конструктивно аналогичные тем, которые используют в ААС, а также лазеры с перестраиваемой частотой.

В последнее время лазеры практически вытеснили все остальные источники возбуждения. Сейчас метод АФС развивается в основном в лазерном варианте (лазерная атомно-флуоресцентная спектроскопия — ЛАФС). Использование лазеров позволило резко увеличить чувствительность метода. В настоящее время для многих элементов пределы обнаружения методом ЛАФС (до 1 пг/л) ниже таковых для ААС. Однако ограниченный набор определяемых элементов, более дорогое оборудование и более высокие требования к квалификации операторов сдерживают широкое практическое применение ЛАФС.

Главное достоинство метода АФС — высокая селективность (наивысшая среди методов оптической атомной спектроскопии), обусловленная исключительной простотой спектров атомной флуоресценции и в связи с этим отсутствием наложения спектральных линий различных элементов.

10.3.5. Рентгеновская спектроскопия

10.3.5.1. Основы метода

Основными методами аналитической *рентгеновской спектроскопии* являются рентгенофлуоресцентный анализ (РФА), рентгеноспектральный микроанализ (РСМА) и рентгеноабсорбционный анализ (РАА).

Рентгеновский спектр. Распределение интенсивности рентгеновского излучения, испущенного образцом при его облучении первичным рентгеновским излучением (РФА), электронами (РСМА), или излучения, прошедшего через образец (РАА), по энергиям (или длинам волн) называют *рентгеновским спектром*. Как правило, спектр содержит небольшое число спектральных линий (флуоресцентный и эмиссионный спектры) или «скачков» поглощения (абсорбционный спектр). Пример рентгенофлуоресцентного спектра металлического сплава приведен на рис. 10.26. Характеристические линии рентгеновской флуоресценции возникают при электронных переходах между внутренними уровнями атомов. Относительная «простота» рентгеновского спектра обусловлена ограниченным числом возможных электронных переходов. Фоновый сигнал формируют кванты рентгеновского излучения, неупруго рассеянные на электронах атомов твердого тела.

Обозначение рентгеновских линий. В рентгеновской спектроскопии спектральные линии обозначают с помощью символов, указывающих на механизм образования рентгеновского кванта, например: $MgK_{\alpha 1}$, где Mg — символ элемента; K — индекс главного квантового числа (n) электронного уровня, ионизированного при возбуждении атома, на который в результате релаксации атома переходят электроны с более высокого уровня. Индексы α , β , γ используют для обозначения изменения n при электронном переходе, индексы 1, 2, 3 — для обозначения номера электронного подуровня. Интенсивность α -линий в рентгеновском спектре максимальна, что обусловлено наибольшей вероятностью электронных переходов при $\Delta l = 1$.

На рис. 10.27 показаны основные линии K -, L -, M -серий рентгеновского спектра. В настоящее время наряду с наиболее часто используемой классификацией рентгеновских линий, предложенной еще в 1920-е гг. одним из основоположников рентгеновской спектроскопии К. Зигбаном, существует также более строгая и обоснованная с физической точки зрения классификация IUPAC.

Поглощение рентгеновского излучения веществом. При прохождении рентгеновского излучения через образец оно ослабляется вследствие поглощения, а также в результате упругого и неупругого (комптоновского) рассеяния на электронах атомов твердого тела. Основной вклад в ослабление рентгеновско-

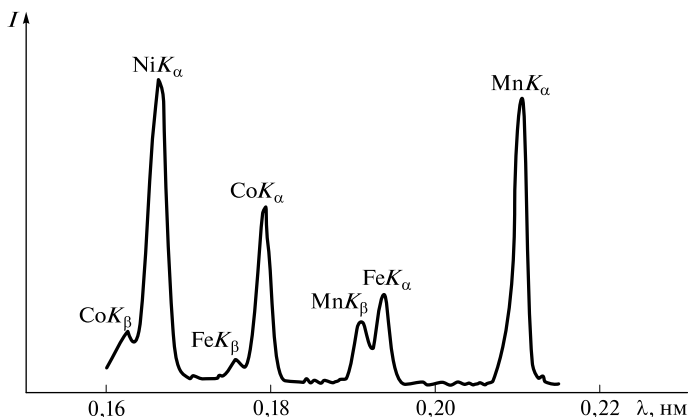


Рис. 10.26. Рентгенофлуоресцентный спектр металлического сплава

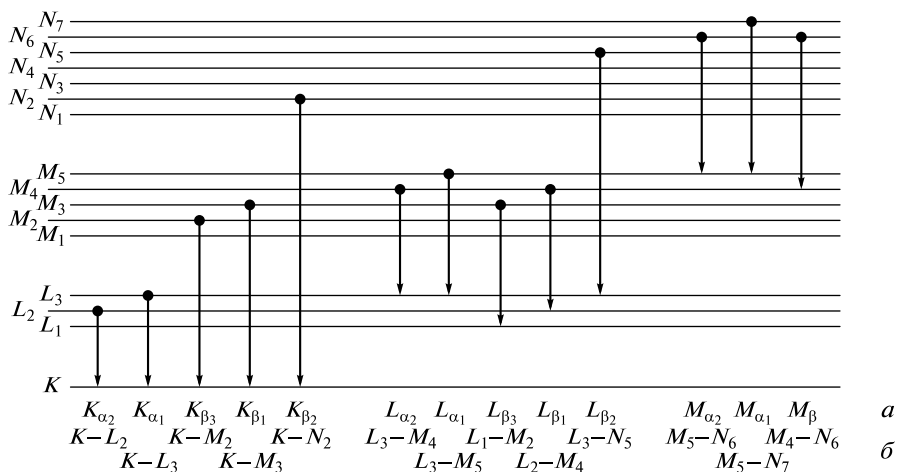


Рис. 10.27. Основные линии K -, L -, M -серии рентгеновского спектра согласно классификации Зигбана (а) и IUPAC (б)

го излучения вносит его поглощение, которое происходит по экспоненциальному закону:

$$I = I_0 e^{-\mu \rho l}, \quad (10.32)$$

где I — интенсивность прошедшего пучка; I_0 — интенсивность исходного пучка; μ — массовый коэффициент поглощения; ρ — плотность материала; l — толщина поглощающего слоя.

С ростом длины волны (уменьшением энергии) рентгеновского кванта массовый коэффициент поглощения постепенно увеличивается:

$$\mu = C_\lambda Z^4 \lambda^3, \quad (10.33)$$

где C_λ — коэффициент, постоянный для любого материала в определенном диапазоне длин волн; Z — атомный номер элемента; λ — длина волны.

При достижении определенной длины волны края поглощения массовый коэффициент поглощения резко уменьшается. Такой процесс повторяется многократно во всем диапазоне длин волн (вплоть до вакуумного ультрафиолета). На рис. 10.28 приведен общий вид зависимости массового коэффициента поглощения от длины волны рентгеновского излучения для произвольного материала. Очевидно, что энергии краев поглощения соответствуют энергиям ионизации электронных уровней атома. Чем ближе энергия возбуждающего рентгеновского кванта к энергии края поглощения, тем выше вероятность поглощения первичного кванта и соответственно эмиссии электрона с этого уровня. Если же энергия первичного кванта несколько ниже энергии края поглощения и ее уже недостаточно для возбуждения электронной эмиссии с определенно-

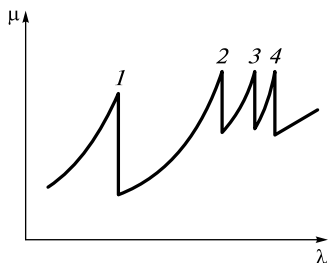


Рис. 10.28. Зависимость массового коэффициента поглощения от длины волны рентгеновского излучения:

1 — K -край; 2 — L_1 -край; 3 — L_2 -край; 4 — L_3 -край

го электронного уровня, то значение массового коэффициента поглощения первичного рентгеновского пучка резко падает.

10.3.5.2. Рентгеновский спектрометр

Основными узлами рентгеновского спектрометра являются источник возбуждения, устройство крепления и ввода образца, диспергирующее устройство и детектор рентгеновского излучения.

Источник возбуждения. Для возбуждения спектра в РФА и РАА используют рентгеновскую трубку. Рабочим элементом трубки является пара вакуумированных электродов — термоэмиссионный катод и охлаждаемый анод, выполненный из металла (Mo, W, Cu, Rh и др.). Термоэлектроны, ускоряемые напряжением 20 — 60 кВ, попадают на поверхность анода-мишени. При прохождении электронов через материал анода происходит их упругое и неупругое рассеяние на связанных электронах атома. Процесс неупругого рассеяния первичного электрона приводит к постепенному уменьшению его энергии и, следовательно, к торможению. При движении с ускорением в электромагнитном поле атома заряженная частица (электрон) генерирует непрерывный спектр электромагнитного (рентгеновского) излучения (*тормозное излучение*). Если энергия, которую первичный электрон передал связанному электрону в процессе неупругого рассеяния, больше энергии ионизации соответствующего электронного уровня атома, то с этого уровня происходит эмиссия вторичного электрона (*ионизация электронным ударом*). Экспериментально установлено, что вероятность этого процесса максимальна, если энергия первичного электрона в 3 — 4 раза больше энергии ионизации. Данное обстоятельство используют при выборе рабочих параметров рентгеновской трубки. Таким образом, рентгеновский эмиссионный спектр состоит из непрерывного тормозного и характеристического излучения. Обычно рентгеновские трубки комплектуют металлическим фильтром, позволяющим вырезать из спектра эмиссии трубки ту или иную составляющую.

Для решения специальных задач в качестве источника возбуждения спектра применяют *синхротронное излучение*, возникающее при движении электрона с релятивистскими скоростями и угловым ускорением в сильном магнитном поле. Синхротрон генерирует непрерывный спектр поляризованного электромагнитного излучения в диапазоне энергий 10^1 — 10^4 эВ. Интенсивность синхротронного излучения на 3 — 4 порядка выше интенсивности излучения рентгеновской трубки. Перед использованием его монохроматизируют, в результате чего ширина линии возбуждения составляет всего 0,2 — 0,3 эВ.

В методе РСМА для возбуждения рентгеновского спектра используют моноэнергетический пучок электронов энергией 10 — 30 кэВ и диаметром 1 — 2 мкм (анализ в «точке») или сканирующий электронный пучок (растр) размером от 10×10 до 500×500 мкм (анализ участка поверхности). Таким образом, РСМА является методом локального анализа. Источником возбуждения служит электронная пушка, которая состоит из авто- или термоэмиссионного катода и ускоряющих и фокусирующих электростатических или магнитных линз, работающих в условиях высокого (10^{-4} — 10^{-3} Па) вакуума.

Диспергирующее устройство. Для разложения рентгеновского излучения в спектр применяют волновую или энергетическую дисперсию. В спектрометрах с

волновой дисперсией для диспергирования рентгеновских лучей используют кристалл-анализатор, а для их регистрации — пропорциональный или сцинтилляционный счетчик. В основе работы кристалла-анализатора лежит явление дифракции рентгеновских лучей, описываемое *законом Вульфа—Брэгга*:

$$n\lambda = 2d\sin\theta, \quad (10.34)$$

где n — порядок отражения (целое положительное число); λ — длина волны излучения; d — расстояние между кристаллографическими плоскостями (постоянная решетки); θ — угол между лучом и отражающей плоскостью.

На рис. 10.29 представлена схема дифракции рентгеновских лучей на последовательных слоях атомов поверхности кристалла-анализатора. Таким образом, кристалл-анализатор работает как дифракционная решетка. В зависимости от того, какой элемент необходимо определить и, соответственно, какова длина волны аналитической линии, выбирают кристалл-анализатор с подходящим расстоянием между кристаллографическими плоскостями. Для его изготовления обычно используют фторид лития, пентаэритрит, кварц, топаз и др.

Детектор рентгеновского излучения. *Пропорциональный счетчик* — это газоразрядный детектор, создающий сигнал, амплитуда которого пропорциональна энергии рентгеновского кванта. Детектор представляет собой цилиндрический конденсатор с нитью в качестве анода, заполненный инертным газом (обычно аргон-метановой смесью). Работа *сцинтилляционного счетчика* основана на возбуждении рентгеновскими квантами в люминофорах кратковременных световых вспышек (сцинтилляций), которые регистрируются фотоэлектронными умножителями.

В спектрометрах с энергетической дисперсией функции анализатора и детектора совмещает охлаждаемый полупроводниковый детектор — p — n -переход на основе кристалла кремния с примесью лития. Его работа основана на возникновении электронно-дырочных пар в результате поглощения твердым телом падающих рентгеновских квантов и сборе образовавшихся носителей заряда в электрическом поле. Созданный заряд пропорционален поглощенной энергии конкретного кванта, что и является основой рентгеновских спектрометров с энергетической дисперсией. Для современных полупроводниковых детекторов характер-

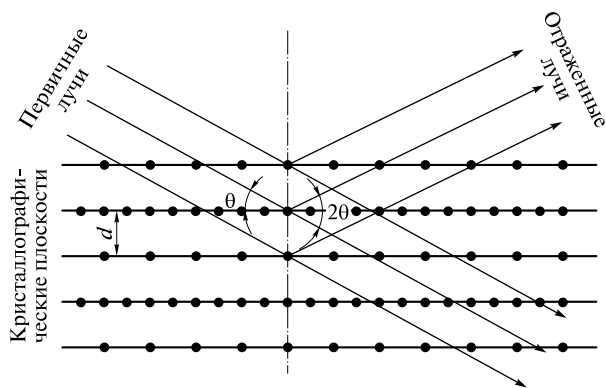


Рис. 10.29. Дифракция рентгеновских лучей на последовательных атомных слоях поверхности кристалла-анализатора

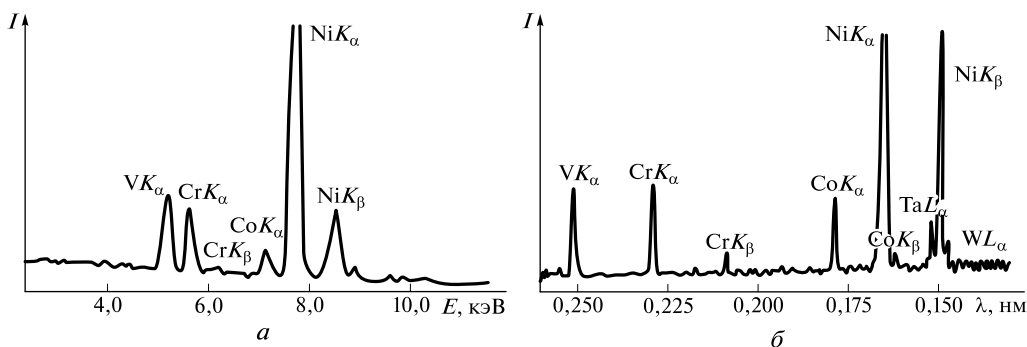


Рис. 10.30. Рентгеновские эмиссионные спектры никелевого сплава, полученные методом рентгеноспектрального микроанализа на спектрометре с энергетической (*а*) и волновой (*б*) дисперсией

но более высокое энергетическое разрешение, чем для детекторов остальных типов. Поэтому, в принципе, в спектрометрах с энергетической дисперсией наличие дополнительных диспергирующих устройств необязательно. К достоинствам полупроводниковых детекторов относятся также большая величина и меньшая продолжительность сигнала по сравнению с пропорциональным счетчиком.

На рис. 10.30 представлены рентгеновские эмиссионные спектры никелевого сплава, полученные на рентгеноспектральном микроанализаторе. Спектр на рис. 10.30, *а* получен с помощью полупроводникового детектора Si(Li) на спектрометре с энергетической дисперсией, спектр на рис. 10.30, *б* — с помощью дифракции рентгеновских лучей на кристалле-анализаторе LiF и пропорционального счетчика на спектрометре с волновой дисперсией. Анализ этих спектров свидетельствует о том, что спектрометр с волновой дисперсией обладает более высоким спектральным разрешением. Это позволяет уверенно различать в спектре линии с близкими значениями длин волн. В свою очередь спектрометр с энергетической дисперсией обладает более высокой светосилой. Это приводит к повышению интенсивности измеряемых спектральных линий.

10.3.5.3. Аналитические возможности метода

Подготовка проб. Точность количественного РФА и РСМА в значительной степени определяется правильностью и надежностью подготовки исследуемого материала к анализу.

С помощью РФА могут быть исследованы растворы, порошки, металлы и сплавы. Основное требование к анализируемой пробе заключается в том, чтобы интенсивность аналитической линии определяемого элемента зависела только от его концентрации. Влияние всех остальных факторов должно быть исключено или стабилизировано.

Наиболее прост РФА растворов, поскольку они всегда однородны и представительны. Если по какой-либо причине произошло расслоение жидкости, то его можно устранить простым встряхиванием. При проведении РФА растворов можно анализировать непосредственно жидкую пробу или приготовленный из нее сухой остаток.

При проведении РФА порошков, в том числе почв, на интенсивность аналитических линий наибольшее влияние оказывает размер частиц анализируемой пробы. Для получения корректных результатов необходимо учесть влияние микронеоднородности. Существует несколько способов приготовления проб из измельченного порошка. Иногда порошок просто засыпают в кюветы шпателем и выравнивают стеклянной пластиной. Часто измельченный порошок прессуют в таблетки. Интенсивность рентгенофлуоресцентных линий хорошо измельченного (40—50 мкм) материала практически не зависит от давления прессования.

Подготовку металлов и сплавов к РФА осуществляют двумя способами. В первом случае из анализируемого металла готовят плоскую цилиндрическую пластину, которую помещают в держатель образца. Во втором случае исследуемый материал переводят химическим путем в жидкий или твердый раствор, чтобы устранить влияние размеров кристаллов. Твердые растворы получают сплавлением анализируемого материала с флюсом (тетраборатом лития или натрия, карбонатом лития). Сплавление проводят в муфельной печи при температуре 600—1300 °С в зависимости от используемого флюса и состава материала. Из расплава пробу готовят двумя способами. Согласно первому способу полученный расплав дробят, измельчают и из порошка готовят таблетки. Согласно второму способу пробой служит непосредственно застывший расплав.

При проведении РСМА пробу подвергают шлифовке и полировке для получения плоской твердой поверхности и устранения шероховатости. Пробы, анализируемые методом РСМА, должны обладать хорошей теплопроводностью, чтобы избежать термического разрушения, и хорошей электропроводностью, чтобы не происходила зарядка поверхности под действием электронного пучка.

Качественный анализ. Поскольку разность энергий электронных уровней атома индивидуальна для каждого элемента, элементы можно идентифицировать по положению линии в рентгеновском флуоресцентном и эмиссионном спектре. Это положение определяется *законом Мозли*:

$$\frac{1}{\lambda} = R(Z - \sigma)^2 \left(\frac{1}{n_1^2} - \frac{1}{n_2^2} \right), \quad (10.35)$$

где λ — длина волны рентгеновской линии; R — постоянная Ридберга; Z — атомный номер элемента; σ — постоянная экранирования; n_1, n_2 — главное квантовое число соответственно начального и конечного состояния.

Из закона Мозли следует, что в первом приближении длины волн рентгеновских линий обратно пропорциональны квадрату атомного номера элемента Z .

Положение края поглощения рентгеновского излучения (РАА) также характерно для каждого элемента. Поэтому двух измерений интенсивности прошедшего излучения при длинах волн, ограничивающих край поглощения, оказывается достаточно для идентификации элемента в РАА.

Количественный анализ. Зависимость интенсивности рентгенофлуоресцентной линии i -го элемента ($I_{f,i}$) от его содержания (C_i) можно описать следующим образом:

$$I_{f,i} = k \mu_i P_i I_p C_i, \quad (10.36)$$

где k — коэффициент, учитывающий скачок поглощения, влияние атомов других элементов (избирательное поглощение и возбуждение флуоресцентной линии

i -го элемента), геометрические факторы; μ_i — массовый коэффициент поглощения первичного излучения атомами i -го элемента; P_i — вероятность флуоресцентной релаксации возбужденного атома i -го элемента; I_p — интенсивность первичного рентгеновского излучения.

На основании выражения (10.36) и рис. 10.28 можно сделать ряд выводов. Во-первых, метод РФА относится к силовым, т. е. интенсивность флуоресцентной линии растёт с увеличением интенсивности первичного возбуждающего рентгеновского излучения. Во-вторых, интенсивность флуоресцентной линии пропорциональна вероятности флуоресцентной релаксации возбужденного атома, которая увеличивается с ростом атомного номера элемента; поэтому нижняя граница определяемых содержаний для тяжелых элементов, как правило, ниже. В-третьих, для достижения максимальной интенсивности флуоресцентной линии длина волны первичного рентгеновского излучения должна быть лишь немного меньше длины волны флуоресцентного излучения, чтобы массовый коэффициент поглощения первичного излучения атомами данного элемента был наибольшим.

Количественный РФА обычно проводят методом градуировочного графика. Однако далеко не всегда можно приготовить необходимый образец сравнения (например, из-за сложности его состава и структуры). Поэтому активно развивается способ безэталонного РФА. Он основан на определении элементов с использованием теоретически рассчитанных фундаментальных параметров (вероятность флуоресценции, массовые коэффициенты поглощения рентгеновского излучения и т. д.). Успех анализа во многом зависит от того, насколько правильно подобраны условия его проведения. Предел обнаружения составляет 10^{-5} мас. %. Динамический диапазон определяемых содержаний $10^{-4} — 10^2$ мас. %. Относительное стандартное отклонение результатов РФА — менее 0,05.

Количественный РСМА проводят методом внешнего стандарта. При этом достаточно лишь одного образца сравнения. Используя априорную информацию о качественном и количественном составе образца, вводят *ZAF*-поправки. Они позволяют учесть вероятность рентгеновской эмиссии с определенного электронного уровня при определенной энергии возбуждающих электронов (Z), поглощения рентгеновского излучения атомами других элементов (A) и избирательного возбуждения рентгеновской эмиссии излучением атомов других элементов (F). Предел обнаружения составляет 10^{-3} мас. %. Динамический диапазон определяемых содержаний $10^{-2} — 10^2$ мас. %. Относительное стандартное отклонение результатов РСМА составляет 0,1 — 0,2.

Количественный РАА проводят также методом внешнего стандарта. При этом используют пропорциональность разности интенсивностей прошедшего излучения при длинах волн, ограничивающих край поглощения, содержанию соответствующего элемента в анализируемом образце. Относительное стандартное отклонение результатов РАА составляет 0,01 — 0,05.

Применение методов рентгеновской спектроскопии. Метод РФА позволяет проводить неразрушающий одновременный многоэлементный качественный и количественный анализ твердых и жидких образцов. С помощью спектрометров с волновой дисперсией определяют любые элементы от бора до урана, а с помощью спектрометров с энергетической дисперсией — от натрия до урана. Самые низкие значения определяемых содержаний достигаются в случае тяжелых элементов в легких матрицах. Вакуумные рентгенофлуоресцентные спектрометры позволяют работать с длинноволновым рентгеновским излучением и опреде-

лять легкие элементы. Для локального анализа поверхностных слоев твердого тела применяют современные рентгенофлуоресцентные спектрометры на основе капиллярной рентгеновской оптики. Метод РФА находит широкое применение в анализе металлов, сплавов, горных пород, руд, экологического мониторинга почв и донных отложений. Метод РСМА используют для локального анализа поверхностных слоев образцов, содержащих микроскопические фазы, в том числе для анализа наноматериалов и материалов высоких технологий. Метод РАА применяют в тех случаях, когда в легкой матрице содержится только один определяемый элемент большой атомной массы. Так, метод РАА используют при серийных определениях тяжелых элементов в образцах постоянного состава, например свинца в бензине, урана в растворах его солей или серы в различных топливных маслах.

10.3.6. Электронная спектроскопия

10.3.6.1. Основы метода

Основными методами аналитической электронной спектроскопии являются рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (РФЭС) и оже-электронная спектроскопия (ОЭС).

Электронный спектр. В результате облучения поверхности твердого тела рентгеновским излучением (РФЭС) или электронами (ОЭС) происходит электронная эмиссия. Распределение эмитируемых электронов по кинетическим энергиям называют *электронным спектром*. Поскольку энергия источника возбуждения составляет $\sim 10^3$ эВ, эмиссия электронов происходит с внутренних электронных уровней атома. Обычно в электронном спектре присутствует небольшое число характеристических линий, а его фоновый сигнал формируется неупруго рассеянными электронами. Пример обзорного рентгеновского фотоэлектронного спектра поверхности серебра приведен на рис. 10.31, а. Интенсивность оже-электронных линий крайне мала. Однако с помощью оже-электронного спектрометра можно измерять не только спектр вторичных электронов, но и его первую производную по кинетической энергии электронов. Данный прием позволяет не только значительно повысить интенсивность линий, но и линейаризовать фоновый сигнал. На рис. 10.31, б представлен обзорный оже-электронный спектр поверхности серебра в интегральном и дифференциальном вариантах.

Обозначение электронных линий. Для обозначения фотоэлектронных линий используют набор символов, характеризующих энергетическое состояние электрона в атоме, например: $Au4f_{7/2}$, где Au — символ элемента; 4 — главное квантовое число уровня, с которого произошла эмиссия фотоэлектрона; f — буквенное обозначение орбитального квантового числа; $7/2$ — мультиплетность.

Для обозначения оже-электронных линий используют набор символов, последовательно описывающих механизм оже-процесса. Сначала записывают уровень, ионизированный при возбуждении атома, затем следует уровень, с которого электрон перешел на образовавшуюся вакансию, и, наконец, уровень, с которого произошла эмиссия оже-электрона; например: $NaKL_1L_{23}$, где K , L — главные квантовые числа соответствующих электронных уровней атома: $n = 1$ (K -уровень), $n = 2$ (L -уровень) и т.д.; индексы при буквенных символах обозначают номера электронных подуровней.

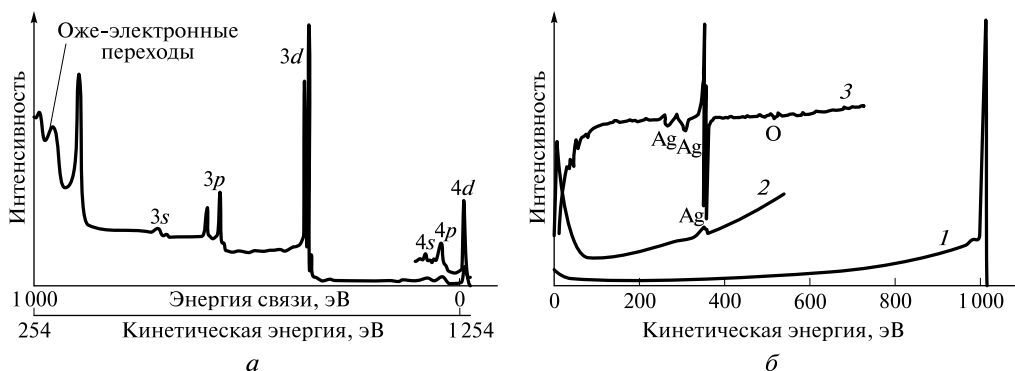


Рис. 10.31. Электронные спектры поверхности серебра:

a — рентгеновский фотоэлектронный спектр при возбуждении излучением MgK_{α} (линии 4s-, 4p-, 4d-электронов даны в четырехкратном увеличении); *б* — оже-электронный спектр в интегральном (1, 2) и дифференциальном (3) виде (линия 2 отвечает десятикратному увеличению линии 1)

Поверхность твердого тела. Границу раздела двух фаз (например, твердое тело — газ) или двух материалов, обладающих различными физико-химическими свойствами (например, металл — оксид или полупроводник — диэлектрик), называют *поверхностью твердого тела*. В первом случае речь идет о внешней поверхности, во втором — о внутренней. Характерный размер поверхности составляет всего лишь несколько атомных слоев или несколько нанометров. Кроме того, имеется большое число важных в технологическом аспекте объектов, обладающих как внешней, так и внутренней поверхностью. Это — тонкие пленки, покрытия и многослойные структуры.

С физической точки зрения поверхность твердого тела — это трехмерная область, в которой атомные потенциалы отличаются от потенциалов атомов, расположенных в глубине твердого тела. Она включает в себя адсорбированные чужеродные атомы и молекулы, а также совокупность атомов поверхности, имеющую иную кристаллическую структуру, нежели объемные. Процесс образования поверхности приводит к появлению новых электронных состояний, имеющих энергетические уровни, отличные от тех, которые присущи объему твердого тела. Физические и химические свойства поверхности определяются пространственным распределением заряда и энергетическим спектром валентных электронов атомов поверхности. Таким образом, поверхность твердого тела — это область резкой неоднородности элементного и химического состава и структуры, обладающая присущими лишь ей физико-химическими свойствами. Очевидно, что для анализа поверхности необходимы специальные методы, обладающие очень малой глубиной отбора аналитической информации.

Глубина отбора аналитической информации. Важной характеристикой методов электронной спектроскопии является *глубина отбора аналитической информации*. Поскольку глубина проникновения рентгеновского излучения в методе РФЭС и электронного пучка в ОЭС много больше глубины выхода эмитированных электронов, эффективная глубина отбора аналитической информации определяется последним фактором. Критерием в данном случае служит *средняя длина свободного пробега* (СДСП) фото- или оже-электрона (λ_e) — расстояние, при прохождении которого пучком электронов в твердом теле число электронов

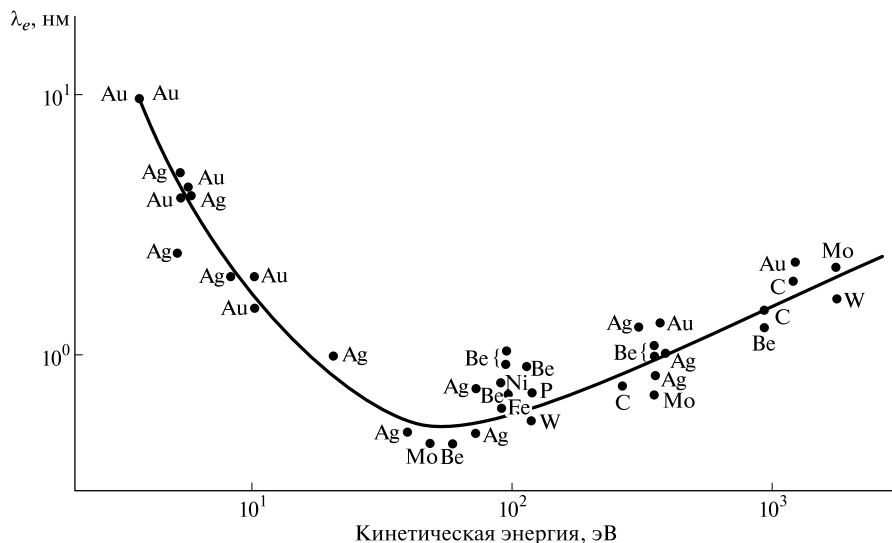


Рис. 10.32. Универсальная эмпирическая зависимость средней длины свободного пробега электрона от его кинетической энергии

с данной энергией в этом пучке уменьшается в e раз. Средняя длина свободного пробега электрона в твердом теле является сложной функцией природы вещества, его химического состава и структуры. Для большинства материалов в диапазоне кинетических энергий $E_{\text{кин}} = 200 - 1500$ эВ, т. е. в рабочем диапазоне энергий для РФЭС и ОЭС, значения λ_e пропорциональны $\sqrt{E_{\text{кин}}}$.

Универсальная эмпирическая зависимость СДСП электрона от его кинетической энергии приведена на рис. 10.32. До 99 % электронов выходит из поверхностного слоя толщиной $3\lambda_e$. Для металлов и сплавов глубина отбора аналитической информации составляет 2—3 нм, для оксидов и полимеров — 5—10 нм. Столь малое значение этой величины обуславливает высокую чувствительность методов электронной спектроскопии к состоянию поверхности образца: распределению элементов по глубине, наличию загрязнений, шероховатости поверхности (особенно в случае ОЭС). Интенсивность электронной линии в спектре растет с увеличением значения СДСП электрона.

10.3.6.2. Электронный спектрометр

Основными узлами электронного спектрометра являются источник возбуждения, устройство крепления и ввода образца, энергоанализатор и детектор электронов. Все они помещены в камеру анализа, в которой поддерживается сверхвысокий вакуум ($10^{-8} - 10^{-6}$ Па). Условия сверхвысокого вакуума необходимы по двум причинам. Во-первых, вероятность рассеяния вторичных электронов, эмитируемых поверхностью образца, на молекулах остаточного газа в камере анализа должна быть ничтожно мала. Во-вторых, при исследовании образцов с чистой поверхностью скорость ее загрязнения при адсорбции молекул остаточного газа должна быть невелика (обычно один монослой за 30 мин).

Для возбуждения фотоэлектронного спектра в РФЭС используют «мягкое» характеристическое рентгеновское излучение (1 — 3 кэВ). В качестве его источника применяют рентгеновскую трубку с двойным анодом, генерирующую характеристическое излучение MgK_{α} (1 253,6 эВ) или AlK_{α} (1 486,6 эВ), что обусловлено относительно малой спектральной шириной этих линий (0,7 и 0,85 эВ соответственно).

Оже-электронный спектр обычно возбуждают сфокусированным моноэнергетическим электронным пучком диаметром до 10 нм (на практике несколько микрометров). Источником возбуждения служит электронная пушка с перестраиваемой в широком диапазоне энергией электронов. Для изучения распределения элементов по поверхности анализируемого образца применяют оже-электронную микроскопию. Для изучения тонкой структуры оже-электронных линий в качестве источника возбуждения используют рентгеновское излучение — ОЭС с рентгеновским возбуждением.

Главным узлом электронного спектрометра является энергоанализатор, который последовательно направляет на детектор электроны с разными кинетическими энергиями. В основе работы энергоанализатора лежит зависимость кривизны траектории движения электрона в электромагнитном поле от его кинетической энергии. В методе РФЭС обычно используют электростатический полусферический энергоанализатор, обладающий достаточно высоким спектральным разрешением. Поскольку ширина оже-электронных линий составляет десятки электрон-Вольт, спектральное разрешение энергоанализатора не является для ОЭС (в отличие от РФЭС) определяющим фактором. Поэтому в методе ОЭС используют анализатор типа «цилиндрическое зеркало», обладающий высоким пропусканием.

Поскольку в методе ОЭС для возбуждения спектра используют электронную пушку, необходимо дополнительно экранировать камеру анализа спектрометра от внешних электромагнитных полей. В современных оже-электронных спектрометрах, характеризующихся сверхвысоким разрешением по поверхности (~10 нм), принимают меры по защите образца от внешних вибраций.

В качестве детектора в электронной спектроскопии используют *электронный умножитель* — пропорциональный счетчик электронов, усиливающий сигнал в 10^6 раз.

Важной рабочей характеристикой электронного спектрометра является *аппаратная функция* $A(E_{\text{кин}})$ — произведение функции пропускания электронооптической системы спектрометра, энергоанализатора и эффективности детектирования электронов. Интенсивность электронной линии в спектре растет с увеличением значения аппаратной функции.

10.3.6.3. Анализ поверхности твердого тела

Получение чистой поверхности в сверхвысоком вакууме. *Чистой поверхностью* называют такую поверхность, на которой с помощью метода РФЭС или ОЭС на пределе чувствительности обнаружения регистрируют спектральные линии только тех элементов, из которых состоит исследуемый образец. Существует несколько эффективных способов получения чистой поверхности в условиях сверхвысокого вакуума. К ним относятся ионное травление, нагрев, механичес-

кое скобление и вакуумный скол. Каждый из них имеет свои преимущества и недостатки. Выбор способа определяется прежде всего типом исследуемой поверхности и должен сопровождаться ее минимальной деструкцией.

Наиболее эффективным и часто используемым способом является ионное травление поверхности с помощью бомбардировки ионами инертных газов энергией 1—5 кэВ. Однако следует иметь в виду, что при его использовании может происходить преимущественное распыление поверхности многокомпонентных материалов и, соответственно, обеднение поверхности легколетучим компонентом, восстановление поверхности химических соединений (оксидов, сульфидов и др.) или вбивание примесей (углерода, кислорода) в поверхностные слои. Нагрев может приводить к нежелательной поверхностной сегрегации примесей (в первую очередь серы, кислорода и углерода) из объема образца. В особых случаях применяют другие способы получения чистой поверхности. Например, пластичные металлы (свинец, индий и олово) можно очистить с помощью механического скобления поверхности в сверхвысоком вакууме. Для получения чистой поверхности кристаллов галогенидов щелочных металлов, кристаллов кремния и германия применяют вакуумный скол. В ряде случаев весьма эффективны комбинированные способы получения чистой поверхности, например циклическая очистка с помощью ионного травления и нагрева.

Качественный анализ поверхности твердого тела. Основой качественного анализа методом РФЭС является закон *фотоэффекта*, установленный А. Эйнштейном:

$$E_{\text{кин}} = h\nu - E_{\text{св}} + \varphi, \quad (10.37)$$

где $E_{\text{кин}}$ — кинетическая энергия фотоэлектрона; $h\nu$ — энергия кванта рентгеновского излучения; $E_{\text{св}}$ — энергия связи электрона в атоме; φ — работа выхода электрона материала спектрометра (значение этого параметра в эксперименте сводят к нулю).

Энергии электронов в атоме индивидуальны для каждого элемента. Поэтому если для возбуждения фотоэмиссии использовать монохроматическое рентгеновское излучение, то кинетические энергии фотоэлектронов окажутся характеристичными.

В методе ОЭС кинетическую энергию оже-электрона, возникающего в результате трехэлектронного перехода WXY , можно вычислить, зная энергии соответствующих электронных уровней, по эмпирической формуле

$$E_{WXY} = E_W(Z) - E_X(Z) - E_Y(Z + \Delta),$$

где Z — атомный номер определяемого элемента.

Энергия конечного дважды ионизированного состояния несколько больше суммы энергий ионизации каждого из уровней в отдельности. Для учета этого обстоятельства вводят параметр Δ , экспериментальное значение которого лежит в пределах 0,50—0,75.

Разность энергий электронных уровней атома индивидуальна для каждого элемента. Поэтому кинетическая энергия оже-электронов характеристична. Она определяется исключительно разностью энергий соответствующих электронных уровней атома. Отсюда следует важный критерий отличия фотоэлектронных и оже-электронных линий: положение фотоэлектронной линии в спектре зависит от энергии возбуждения, а положение оже-электронной линии от нее не зависит.

Количественный анализ поверхности твердого тела. Интенсивность (I) фотоэлектронной линии элемента пропорциональна потоку (F) возбуждающего рентгеновского излучения, значению аппаратной функции (A) электронного спектрометра, СДСП фотоэлектрона (λ_e), сечению (вероятности) фотоионизации (σ_{ph}) соответствующего электронного уровня атома и атомной плотности (n) определяемого элемента (n — среднее число атомов определяемого элемента, приходящихся на единицу площади поверхности образца):

$$I = FA\lambda_e\sigma_{ph}n.$$

Вычислить абсолютное содержание элемента на поверхности произвольного материала с использованием данного уравнения нельзя, поскольку отдельные его фундаментальные параметры очень трудно, а иногда и невозможно, рассчитать теоретически или определить экспериментально с достаточной точностью. Поэтому в методе РФЭС обычно проводят относительный анализ, позволяющий оценить долю атомов n_i (ат. %) каждого i -го элемента, присутствующего на поверхности образца. В этом случае исключают из расчетной формулы параметры и коэффициенты, значения которых неизвестны и не зависят от положения линии в электронном спектре. Для выполнения рутинного анализа используют формулу

$$n_i = \left(\frac{I_i \sqrt{E_i}}{\sigma_{ph,i}} \right) / \left(\sum_{i=1}^m \frac{I_i \sqrt{E_i}}{\sigma_{ph,i}} \right) 100 \%,$$

где E_i — кинетическая энергия фотоэлектрона i -го элемента; i — определяемый элемент; m — общее число элементов.

Для близких по энергиям фотоэлектронных линий используют упрощенную формулу:

$$n_i = \left(\frac{I_i}{\sigma_{ph,i}} \right) / \left(\sum_{i=1}^m \frac{I_i}{\sigma_{ph,i}} \right) 100 \%.$$

Основным параметром, который определяет относительные интенсивности линий в рентгеновском фотоэлектронном спектре, является сечение фотоионизации электронного уровня. Сечение фотоионизации наиболее часто используемых в методе РФЭС электронных уровней $1s$, $2p$, $3d$, $4f$ имеет периодический характер и заметно возрастает с увеличением Z .

Интенсивность оже-электронной линии элемента (I_{WXY}) определяется следующим выражением:

$$I_{WXY} = I_p A \lambda_e \sigma_e \gamma_{WXY} (R_B + 1) n,$$

где I_p — плотность потока первичных электронов; A — аппаратная функция электронного спектрометра; λ_e — СДСП оже-электрона; σ_e — сечение ионизации уровня W электронным ударом; γ_{WXY} — вероятность оже-электронного перехода WXY ; R_B — коэффициент обратного рассеяния первичных электронов; n — атомная плотность определяемого элемента.

Так же как и в зависимости $I(n)$ для фотоэлектронной линии, в данном уравнении присутствуют фундаментальные параметры, точное значение которых по тем или иным причинам получить невозможно. Для проведения анализа обычно используют метод внешнего стандарта:

$$\frac{n_X}{n_{\text{ст}}} = \frac{I_X \lambda_{\text{ст}}}{I_{\text{ст}} \lambda_X} \left(\frac{1 + R_{B,\text{ст}}}{1 + R_{B,X}} \right).$$

При использовании этого метода не нужно знать сечение ионизации и выход оже-электрона. Менее точен метод коэффициентов элементной чувствительности:

$$n_i / \sum_{i=1}^m n_i = \frac{I_i}{S_i} / \sum_{i=1}^m \frac{I_i}{S_i},$$

где m — число элементов на поверхности образца; S_i — относительная чувствительность к i -му элементу.

Данный метод не требует стандартов и не чувствителен к шероховатости поверхности образца.

Для методов РФЭС и ОЭС нижняя граница определяемых содержаний — 0,01—0,1 ат. % (в абсолютных единицах — 1—10 нг или 0,01—0,05 монослоя). Относительное стандартное отклонение результатов анализа методами РФЭС и ОЭС, как правило, не превышает 0,1—0,2.

Химический анализ поверхности твердого тела. Известно, что при образовании химической связи между атомами происходит перераспределение электронной плотности в соответствии с относительными значениями их электроотрицательностей. Это приводит к характеристическому изменению энергий связи электронов в атоме и химическому сдвигу фотоэлектронных линий в спектре РФЭС. По этому сдвигу можно судить о химическом окружении атомов определяемого элемента. На рис. 10.33 изображены спектры уровней O1s и C1s поверхности полиэтилентерефталата. Видно, что изучение тонкой структуры этих спектров позволяет однозначно судить о химическом окружении атомов, характере связи, степени окисления и структуре молекулы. Достоинством метода РФЭС является возможность определения магнитных свойств поверхности твердого тела, что

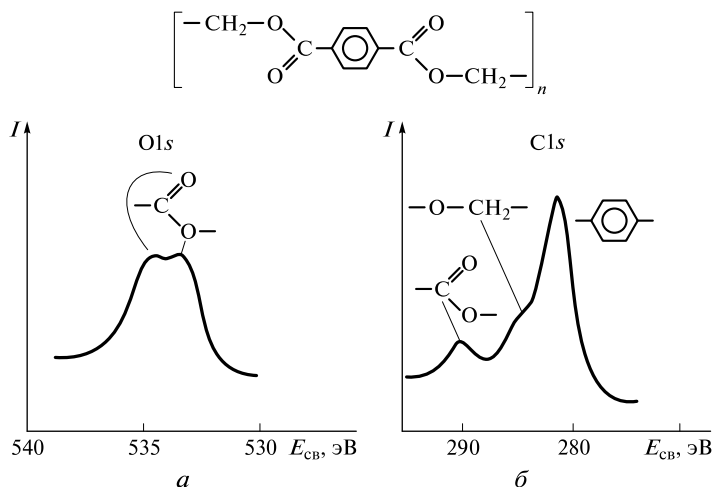


Рис. 10.33. «Тонкая структура» рентгеновских фотоэлектронных спектров уровней O1s (а) и C1s (б) поверхности полиэтилентерефталата

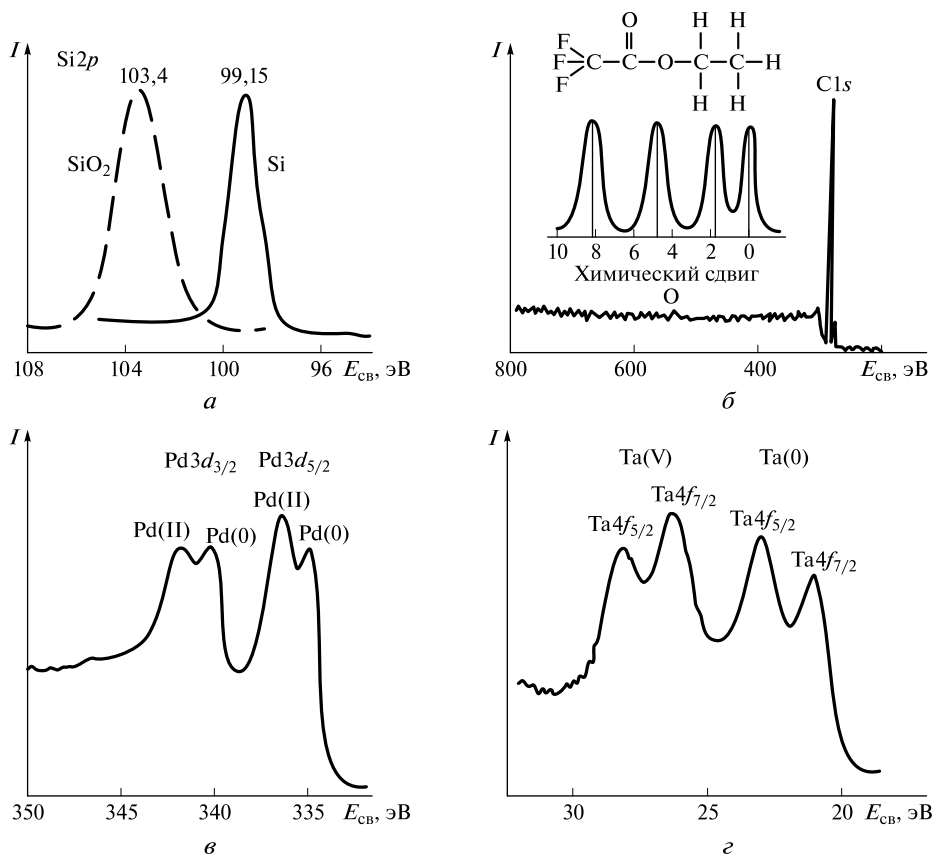


Рис. 10.34. Рентгеновские фотоэлектронные спектры поверхности различных материалов: *a* — кремний и диоксид кремния; *б* — этилтрифторацетат; *в* — окисленный палладий; *г* — окисленный тантал

очень важно для решения ряда задач материаловедения (например, при исследовании сверхпроводимости).

На рис. 10.34 представлены характерные примеры исследования поверхности различных материалов путем измерения химического сдвига фотоэлектронных линий внутренних уровней. Так, при переходе от кремния к диоксиду кремния наблюдается химический сдвиг уровня Si2*p* на 4,2 эВ в сторону большей энергии связи (см. рис. 10.34, *a*). Каждый атом углерода молекулы этилтрифторацетата находится в различном химическом окружении и ему соответствует своя спектральная линия C1*s*, причем химический сдвиг находится в пределах 8 эВ (см. рис. 10.34, *б*). Рисунок 10.34, *в*, *г* иллюстрирует высокую эффективность метода РФЭС при определении степени окисления металла на окисленной поверхности.

«Тонкая структура» оже-электронной линии также в ряде случаев чувствительна к химическому окружению атомов и структуре поверхности. Так, по форме линии СК*LL* можно различать не только химическое окружение атома углерода, но и его аллотропные модификации, о чем свидетельствуют спектры на рис. 10.35.

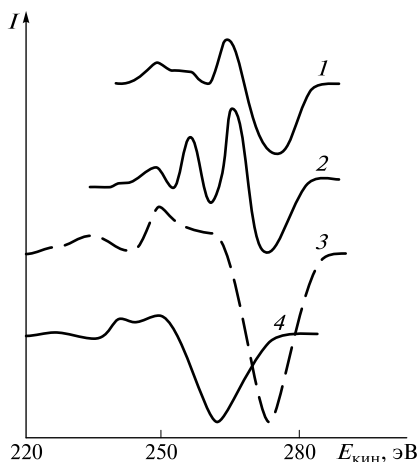


Рис. 10.35. Спектры оже-электронов, соответствующие переходу *SKLL* для СО на поверхности вольфрама (1), карбида вольфрама W_2C (2), графита (3) и алмаза (4)

Применение методов электронной спектроскопии. Методы РФЭС и ОЭС позволяют проводить одновременный многоэлементный качественный и количественный анализ поверхности твердого тела. Определяют любые элементы от лития до урана. По положению линий в электронном спектре проводят идентификацию элементов, а по интенсивностям линий — определяют их содержание. Метод РФЭС является основным методом неразрушающего химического анализа поверхности. Метод ОЭС — эффективный метод локального анализа поверхности.

Методами РФЭС и ОЭС можно проводить послойный анализ, т. е. изучать распределение элементов по глубине образца с шагом 0,5 — 1,0 нм. Для этого используют спектрометры с угловым разрешением. Они позволяют регистрировать электроны, выходящие с поверхности образца под разными углами и, соответственно, с разных глубин. Другой способ ос-

нован на применении ионного распыления поверхности. Поверхностные слои образца стравливают с постоянной скоростью низкоэнергетическим пучком ионов инертного газа (обычно аргона) в вакууме и таким образом устанавливают распределение содержания элементов по глубине образца.

Методами РФЭС и ОЭС исследуют поверхности самых разных неорганических и органических материалов: металлов, сплавов, керамики, полимеров. Методы электронной спектроскопии широко применяют для решения актуальных задач микро- и нанoeлектроники, гетерогенного катализа, контроля качества материалов высоких технологий.

Особенности анализа поверхности твердого тела. Методы РФЭС и ОЭС занимают особое место в современной аналитической химии. Это обусловлено рядом причин и прежде всего спецификой объекта анализа, его уникальностью и сложностью.

Как известно, поверхность твердого тела является границей раздела фаз, а процессы на границе раздела и в объеме фаз протекают по-разному. Кроме того, характерный размер поверхности составляет всего несколько нанометров. Это означает, что, с одной стороны, метод анализа должен обладать малой глубиной отбора аналитической информации, а, с другой стороны, в формировании аналитического сигнала будет принимать участие лишь незначительная доля определяемого компонента.

Количественный анализ поверхности твердого тела проводят без ее разрушения (или при незначительном разрушении), предварительного разделения и концентрирования компонентов. При этом влияние матричных эффектов приводит к заметному искажению результатов анализа. Аналитический сигнал определяется большим числом факторов. Приготовление образцов сравнения сопряжено со значительными трудностями, а в ряде случаев просто невозможно. Поэтому при количественном анализе поверхности и поверхностных слоев твер-

дого тела обычно проводят математические расчеты с использованием специальных уравнений.

Большинство методов анализа поверхности составляют спектроскопические, дифракционные методы, а также методы, основанные на рассеянии электромагнитного излучения, электронов и ионов. Совместное использование 3—4 методов анализа поверхности позволяет провести комплексное изучение объекта и определить элементный и химический состав, геометрическую и электронную структуру, электрические и магнитные свойства поверхности.

Методы РФЭС и ОЭС представляют собой классические методы анализа поверхности твердого тела. С каждым годом возрастает число новых методов, расширяющих возможности РФЭС и ОЭС. Анализ поверхности твердого тела является одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений современной аналитической химии.

10.4. Молекулярная спектроскопия

10.4.1. Общие положения

Методы молекулярной спектроскопии чрезвычайно разнообразны. Разнообразны и решаемые с их помощью задачи — от исследования структуры молекул до анализа сложных многокомпонентных смесей. В отличие от методов атомной спектроскопии методы молекулярной спектроскопии позволяют определять вещественный и функциональный состав образца, содержание в нем отдельных химических форм компонента. В то же время при помощи молекулярной спектроскопии возможен и элементный анализ, если предварительно перевести элемент в определенную химическую форму.

Молекулярная абсорбционная спектроскопия — один из старейших методов химического анализа. Визуальную оценку интенсивности окраски растворов издавна использовали для определения концентрации окрашенных веществ. Современный инструментальный вариант молекулярной абсорбционной спектроскопии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра — спектрофотометрия — один из важных методов определения как неорганических, так и органических веществ. В середине XX в. этот метод анализа был едва ли не самым распространенным. В настоящее время с развитием методов атомной спектроскопии, зачастую обладающих более высокой чувствительностью, селективностью, экспрессностью и более простых в плане пробоподготовки, роль спектрофотометрии в неорганическом элементном анализе заметно упала. Однако она до сих пор применяется достаточно широко (особенно для одноэлементных определений), в первую очередь благодаря простоте, дешевизне и доступности оборудования.

Молекулярная абсорбционная спектроскопия в инфракрасной области (ИК-спектроскопия) применяется в первую очередь для идентификации и определения органических веществ и их структурных фрагментов (структурно-групповой, или функциональный, анализ).

Молекулярная люминесцентная спектроскопия применяется для решения тех же задач, что и спектрофотометрия, выгодно отличаясь от нее очень высокой чувствительностью и часто более высокой селективностью. Однако поскольку веществ, способных к люминесценции, значительно меньше, чем окрашенных,

люминесцентную спектроскопию применяют не столь широко, как спектрофотометрию, — главным образом для решения специальных задач. Одна из таких задач — определение опасных экотоксикантов, полициклических ароматических углеводородов, для которых люминесцентный метод является одним из лучших.

Упомянутые методы молекулярной спектроскопии используют, главным образом, для анализа растворов. В последнее время развиваются новые методы молекулярной спектроскопии, применимые непосредственно для анализа твердых тел. Они также кратко рассмотрены в этом подразделе.

Две другие важные сферы применения методов молекулярной спектроскопии — использование их для детектирования аналитического сигнала в хроматографии, кинетических и проточных методах анализа, а также для исследования химических равновесий и кинетики химических реакций в растворах.

10.4.2. Молекулярная абсорбционная спектроскопия в ультрафиолетовой и видимой областях

10.4.2.1. Основы метода

Метод молекулярной абсорбционной спектроскопии в УФ и видимой областях спектра традиционно называют *спектрофотометрией*. Напомним, что границы видимой области спектра составляют 400—750 нм, УФ области ~10—400 нм (см. табл. 10.1). В спектрофотометрии обычно используют лишь длинноволновую ($\lambda > 200$ нм) часть УФ области. Коротковолновую ($\lambda < 200$ нм) часть УФ области используют редко, поскольку при этих длинах волн интенсивно поглощает атмосферный кислород, создавая тем самым помехи в анализе. Работу при $\lambda < 200$ нм необходимо проводить в атмосфере азота или в вакууме, вследствие чего эту зону УФ области часто называют *вакуумной*.

В основе метода спектрофотометрии лежит процесс поглощения молекулами вещества фотонов УФ или видимого спектрального диапазона, сопровождающийся увеличением энергии (возбуждением) их валентных электронов. При поглощении молекулой кванта УФ или видимого излучения валентный электрон переходит с одной из заселенных на одну из вакантных орбиталей. Разность энергий этих орбиталей определяет положение (частоту, длину волны) полосы поглощения, а вероятность перехода — ее интенсивность, т. е. поглощательную способность вещества. Характеристикой последней может служить молярный коэффициент поглощения ϵ (см. подразд. 10.1.5). Аналитическим сигналом в спектрофотометрии, как и во всех абсорбционных методах анализа, служит оптическая плотность A , связанная с концентрацией светопоглощающих частиц в соответствии с основным законом светопоглощения — законом Бугера — Ламберта — Бера (см. подразд. 10.1.5).

Наименьшей энергией обладают молекулярные орбитали, называемые связывающими. В зависимости от симметрии их обозначают σ или π . Более высокой энергией обладают несвязывающие орбитали (n). Их можно рассматривать как орбитали, принадлежащие отдельным атомам. Наибольшей энергией обладают разрыхляющие орбитали (σ^* , π^*). Типичная схема взаимного расположения уровней энергии различных орбиталей, а также возможные переходы между ними изображены на рис. 10.36. Как видно из рис. 10.36, не все переходы между моле-

кулярными орбиталями возможны. Правилами отбора (см. подразд. 10.1) запрещены переходы с возбуждением более одного электрона, а также между состояниями различной мультиплетности (т. е. с различным суммарным электронным спином). Кроме того, существуют правила отбора, основанные на симметрии орбиталей. По этой причине, в частности, запрещены $d \rightarrow d$ - и $f \rightarrow f$ -переходы в комплексах переходных металлов. Однако в силу различных квантово-механических эффектов запреты могут частично сниматься, и соответствующие переходы все же происходят, хотя и с малой вероятностью. Таким образом, интенсивность полос в электронных спектрах поглощения может меняться в широких пределах.

Положение полос поглощения также может меняться в широких пределах. Как следует из рис. 10.36, наибольшей энергией характеризуются полосы поглощения $\sigma \rightarrow \sigma^*$ -переходов. Такие полосы в спектрофотометрии используют редко. Одна из причин состоит в том, что полосы $\sigma \rightarrow \sigma^*$ -переходов лежат, как правило, в вакуумной УФ области (например, метан имеет полосу поглощения при 125 нм, октан — при 170 нм). Другой причиной является то, что полосами $\sigma \rightarrow \sigma^*$ -переходов обладают любые молекулы с одинарными связями, в частности все органические молекулы. Поэтому полосы поглощения различных веществ в вакуумной УФ области сильно перекрываются, что серьезно затрудняет селективное определение. Сказанное относится и к полосам $n \rightarrow \sigma^*$ -переходов, которыми обладают все органические вещества, содержащие гетероатомы (азота, кислорода, хлора и др.).

Меньшими энергиями и, соответственно, большими длинами волн обладают полосы $\pi \rightarrow \pi^*$ - и $n \rightarrow \pi^*$ -переходов, наблюдающиеся в спектрах органических молекул с кратными связями. Однако для молекул с изолированными кратными связями соответствующие полосы также часто оказываются в вакуумной УФ области (например, для этилена при 180 нм). Гораздо большее значение в спектрофотометрии имеют полосы поглощения, обусловленные сопряженными системами с участием кратных связей, а также неподеленных электронных пар гетероатомов.

Сопряжение кратных связей приводит к увеличению как длины волны поглощения, так и молярного коэффициента поглощения. Для многих сопряженных систем длины волн поглощения настолько велики, что соответствующие полосы находятся в видимой области. Такие системы называют хромофорными. Значения ϵ для полос разрешенных $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходов могут составлять 10^4 и выше; $n \rightarrow \pi^*$ -переходы запрещены по симметрии, для них значения ϵ обычно составляют не более нескольких сотен.

Отмеченные закономерности характеризуют светопоглощение не только органических молекул, но и их комплексов с ионами металлов.

Характерной особенностью молекулярных электронных спектров поглощения, резко отличающей их от оптических атомных спектров, является широкополосная структура, обусловленная наложением множества очень близко расположенных линий электронно-колебательно-вращательных переходов (см. подразд. 10.1).

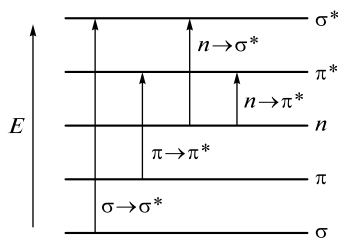


Рис. 10.36. Относительное расположение энергетических уровней молекулярных орбиталей и типы электронных переходов

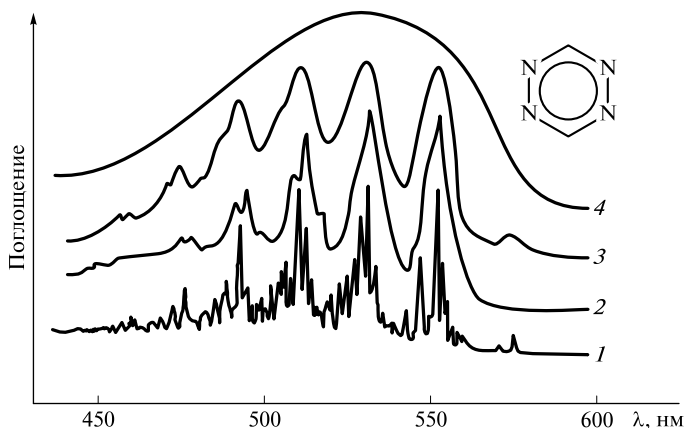


Рис. 10.37. Спектр симметричного тетразина:

1 — в газовой фазе; 2 — в смеси изопентана и метилциклогексана (по объему 5 : 1) при температуре 77 К; 3 — в циклогексана; 4 — в воде (шкала длин волн относится к спектру в газовой фазе; кривые 2, 3 смещены в сторону меньших длин волн на 4 и 7 нм соответственно; кривая 4 смещена в сторону больших длин волн на 21 нм)

Лишь в некоторых случаях, например для простых молекул в газовой фазе, а также иногда в растворах в малополярных растворителях, спектры поглощения сохраняют относительно узкополосную структуру отдельных электронно-колебательных переходов (рис. 10.37). Узкополосная (с шириной полос порядка нескольких нанометров и даже меньше) структура характерна также для спектров ионов f -элементов (полосы $f \rightarrow f^*$ -переходов) в растворах. В подавляющем большинстве случаев типичная ширина полос спектров поглощения в УФ и видимой областях составляет десятки нанометров. Такие спектры со слабо выраженной структурой мало информативны с точки зрения качественного анализа. Поэтому идентификация веществ по их УФ видимым спектрам поглощения имеет довольно ограниченное применение. Для этого целесообразнее использовать спектроскопию в ИК области (см. подразд. 10.4.3) и особенно спектроскопию ЯМР (см. подразд. 10.5). Основная сфера применения спектрофотометрии — количественный анализ. Однако и здесь большая ширина полос является неблагоприятным обстоятельством, поскольку в этом случае велика вероятность перекрывания спектров различных веществ.

Для обеспечения селективности в спектрофотометрии используют ряд средств. Важнейшее из них — пробоподготовка. Она часто играет в спектрофотометрии ключевую роль, поскольку измерению оптической плотности, как правило, предшествует проведение так называемой фотометрической (цветной) реакции — перевод определяемого компонента в химическую форму, интенсивно поглощающую свет.

Использование для цветной реакции селективных реагентов, надлежащий выбор условий реакции, а в необходимых случаях и отделение мешающих компонентов позволяют разрабатывать высокоселективные спектрофотометрические методики. Кроме того, для повышения селективности, а также для одновременного определения нескольких компонентов применяют специальные способы обработки спектров.

10.4.2.2. Аппаратура для спектрофотометрии

Устройство приборов для спектрофотометрического анализа соответствует общей принципиальной схеме аппаратуры для абсорбционной спектроскопии. Как правило, используют прямую конфигурацию спектрометров.

Источниками излучения обычно служат источники непрерывного спектра. Требуемую длину волны выделяют при помощи анализатора спектра. Таким образом, один источник излучения позволяет работать в широком диапазоне длин волн. Чаще всего для работы в УФ диапазоне (185 — 370 нм) используют водородные или дейтериевые газоразрядные лампы (интенсивность излучения дейтериевых ламп выше, чем водородных), а в видимой (> 350 нм) области — вольфрамовые лампы накаливания.

В качестве *анализаторов спектра* используют светофильтры, призмы или дифракционные решетки. Приборы, снабженные набором светофильтров, называют фотометрами (фотоколориметрами); приборы, снабженные призмами или дифракционными решетками, — *спектрофотометрами*. Очевидное преимущество спектрофотометров перед фотометрами — возможность варьирования длины волны и регистрации всего спектра (посредством сканирования или использования многоканальной системы регистрации; см. подразд. 10.2). Кроме того, спектрофотометры позволяют получить излучение значительно более высокой степени монохроматичности. Как будет показано далее, это приводит к увеличению точности измерений и расширению диапазона измеряемых значений оптической плотности.

Отделение для пробы в спектрофотометрах и фотометрах называют кюветным отделением. Оно представляет собой камеру, изолированную от окружающего света. В ней находятся держатели для кювет — сосудов, в которые помещают анализируемый образец и образец (раствор) сравнения. Чаще всего объектом спектрофотометрического анализа служат растворы. Кюветы для растворов представляют собой сосуды с прозрачными плоскопараллельными гранями, изготовленные из материала, прозрачного в используемой области длин волн (при $\lambda > 350$ нм можно применять стеклянные кюветы, при меньших длинах волн необходимо использовать кварцевые кюветы). Существуют специальные конструкции кювет для анализа растворов в потоке, а также газов.

При прохождении светового потока через анализируемый раствор интенсивность излучения уменьшается не только за счет поглощения света определяемым веществом, но и за счет других явлений, в частности поглощения излучения материалом кюветы, растворителем, другими компонентами раствора, частичного отражения света на границах раздела фаз. Для компенсации этих эффектов в спектрофотометрии используют раствор сравнения. В простейшем случае им служит растворитель или раствор контрольного опыта, содержащий все компоненты анализируемого раствора, кроме самого определяемого вещества. Анализируемый раствор и раствор сравнения помещают в идентичные кюветы и измеряют оптическую плотность анализируемого раствора относительно оптической плотности раствора сравнения. В зависимости от конструкции прибора это измерение проводят по однолучевой или двухлучевой схеме.

В качестве *приемников излучения* в спектрофотометрах и фотометрах обычно используют фотоэлементы, фотоэлектронные умножители или фотодиодные матрицы.

10.4.2.3. Законы светопоглощения в спектрофотометрии

Количественный спектрофотометрический анализ основан на двух законах — основном законе светопоглощения (см. выражение (10.10)) и законе аддитивности оптических плотностей.

Основной закон светопоглощения описывает ослабление интенсивности потока монохроматического излучения при прохождении через слой вещества. В спектрофотометрии его обычно записывают как

$$A = \epsilon l C. \quad (10.38)$$

При этом предполагают, что длина оптического пути l (толщина поглощающего слоя) выражена в сантиметрах, а концентрация C поглощающих частиц — в молях на литр (моль/л). В этом случае коэффициент поглощения ϵ называют *молярным коэффициентом поглощения*, и он имеет размерность — $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Поэтому, приводя значения ϵ , их размерность часто не указывают. При использовании других способов выражения и единиц измерения величин l и C для обозначения коэффициента поглощения используют другие символы, а его размерность указывают в явном виде.

Уравнение (10.38) позволяет рассчитать молярные коэффициенты поглощения из экспериментальных данных. Однако уравнение (10.38) соблюдается строго, а экспериментальные значения молярных коэффициентов поглощения (называемые *средними молярными коэффициентами поглощения* и обозначаемые $\bar{\epsilon}$) совпадают с теоретическими только при выполнении ряда условий:

- поглощаемое излучение должно быть строго монохроматично, поток его лучей — плоскопараллелен;
- поглощающая среда должна быть однородной;
- при данной длине волны должны поглощать только частицы одного типа, а их концентрация должна быть точно известна;
- должны отсутствовать любые оптические явления (рассеяние, люминесценция, отражение), кроме светопоглощения;
- не должны протекать побочные химические реакции, изменяющие концентрацию поглощающих частиц.

На практике эти условия выполняются не всегда. Это может привести к отличиям экспериментальных значений $\bar{\epsilon}$ от истинных, а также к нарушениям линейной зависимости $A = f(C)$.

При наличии в растворе светопоглощающих частиц нескольких типов, не взаимодействующих между собой, оптическая плотность описывается *законом аддитивности оптических плотностей Фирордта*:

$$A = \epsilon_1 l C_1 + \epsilon_2 l C_2 + \dots + \epsilon_n l C_n = l \sum_i \epsilon_i C_i, \quad (10.39)$$

где C_i — концентрация частиц i -го типа; ϵ_i — молярный коэффициент поглощения частиц i -го типа.

На законе аддитивности оптических плотностей основаны практически все способы спектрофотометрического анализа многокомпонентных смесей. Для строгого соблюдения этого закона необходимо выполнение тех же условий, что и для соблюдения основного закона светопоглощения, и, кроме того, отсутствие физико-химических взаимодействий между поглощающими частицами.

Согласно основному закону светопоглощения зависимость $A = f(C)$ линейная. Несоблюдение предпосылок, лежащих в основе этого закона, может привести к нарушению линейности этой зависимости.

Среди причин отклонения от основного закона светопоглощения можно выделить инструментальные и химические.

Основными инструментальными причинами в спектрофотометрии являются недостаточная монохроматичность излучения и влияние рассеянного света.

Для иллюстрации влияния немонохроматичности излучения на характер зависимости $A = f(C)$ рассмотрим следующую ситуацию. Пусть оптическую плотность измеряют при длине волны λ , а в спектре источника присутствует также излучение с длиной волны λ' . Интенсивности соответствующих световых потоков источника обозначим I_0 , I'_0 , молярные коэффициенты поглощения — ϵ , ϵ' . Суммарная интенсивность падающего света равна $(I_0 + I'_0)$, прошедшего света — $(I_0 \cdot 10^{-\epsilon l C} + I'_0 \cdot 10^{-\epsilon' l C})$ (см. формулу (10.10)). Наблюдаемую оптическую плотность можно найти по уравнению

$$A = \lg \frac{I_0 + I'_0}{I_0 \cdot 10^{-\epsilon l C} + I'_0 \cdot 10^{-\epsilon' l C}}.$$

Зависимость $A = f(C)$, выраженная этим соотношением, является нелинейной (при $\epsilon \neq \epsilon'$). Можно показать, что с ростом значения C средний молярный коэффициент поглощения $\epsilon = A/(lC)$ закономерно уменьшается. Таким образом, немонохроматичность излучения приводит к отрицательным отклонениям от основного закона светопоглощения, особенно при высоких значениях A (рис. 10.38).

В абсорбционных методах анализа требуемая степень монохроматичности источника определяется шириной линии (полосы) поглощения. Для измерения не слишком высоких оптических плотностей обычно считается достаточным, чтобы спектральная полоса пропускания монохроматора была меньше ширины спектральной полосы в 2—5 раз. Ввиду того что полосы поглощения молекул в УФ и видимой областях широкие, это условие, как правило, выполняется даже для фотометров. Однако в области высоких оптических плотностей этого условия

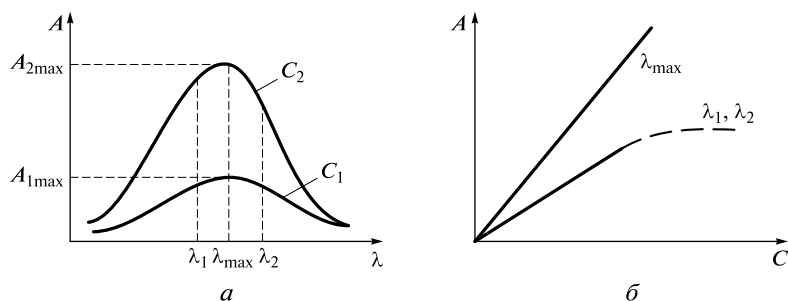


Рис. 10.38. Влияние монохроматичности излучения на соблюдение основного закона поглощения:

a — спектры поглощения при концентрациях поглощающих частиц C_1 и C_2 ; b — зависимость оптической плотности от концентрации, измеренная для монохроматического излучения с длиной волны λ_{\max} и немонохроматического излучения с длинами волн в диапазоне от λ_1 до λ_2

может оказаться недостаточно, и экспериментальная зависимость $A = f(C)$ отличается от теоретической.

Другая инструментальная причина отклонений от основного закона светопоглощения — влияние рассеянного света. Под *рассеянным светом* понимают излучение, попадающее непосредственно на детектор (минуя кювету с исследуемым образцом) вследствие отражения и рассеяния от поверхностей линз, зеркал и других оптических деталей, а также из внешней среды. Если интенсивность рассеянного излучения составляет $I_{\text{рас}}$, то наблюдаемое значение оптической плотности можно рассчитать по формуле

$$A = \lg \frac{I_0 + I_{\text{рас}}}{I + I_{\text{рас}}}. \quad (10.40)$$

Эта величина меньше истинного значения $\lg(I_0/I)$, причем занижение тем больше, чем меньше I , т. е. чем выше концентрация поглощающего вещества.

Таким образом, вследствие инструментальных причин наблюдаются систематические отрицательные погрешности при исследовании сильно поглощающих растворов. Как правило, для фотометров верхняя граница значений оптической плотности, которые можно измерить с приемлемой точностью, составляет 1,0—1,4. Для спектрофотометров вследствие более высокой монохроматичности света эта граница выше и может достигать 2,0—4,0. При исследовании веществ с узкополосными спектрами поглощения (например, растворов солей лантаноидов) существенные занижения оптической плотности могут наблюдаться и при меньших ее значениях, особенно при использовании фотометров. Для повышения точности спектрофотометрических измерений, в первую очередь в области высоких оптических плотностей, применяют специальный вариант метода, называемый дифференциальной (прецизионной) спектрофотометрией.

Химические причины отклонений от основного закона светопоглощения обусловлены химическими процессами (полимеризация, протолиз, комплексообразование, окисление-восстановление) с участием светопоглощающих частиц. Степень протекания этих процессов зависит от концентрации светопоглощающих частиц. Примером могут служить процессы димеризации, протекающие в растворах красителя родамина 6Ж (рис. 10.39). Мономеры имеют максимум поглощения при 535 нм, а димеры — при 510 нм. При повышении концентрации красителя доля мономеров уменьшается, димеров — возрастает. Поэтому зависимость оптической плотности от общей концентрации родамина 6Ж в растворе при 535 нм имеет вид выпуклой кривой (отрицательные отклонения от основного закона поглощения), при 510 нм — вогнутой (положительные отклонения).

В отличие от инструментальных причин, которые всегда проявляются в области вы-

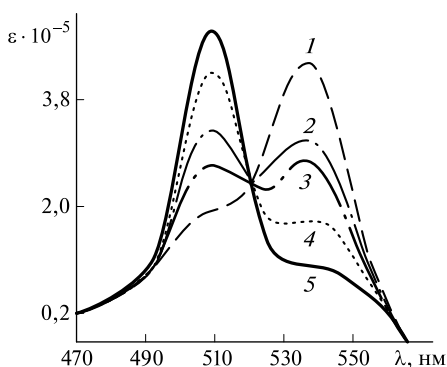


Рис. 10.39. Спектры поглощения растворов родамина 6Ж различной концентрации: $C = 2 \cdot 10^{-6}$ (1), $1 \cdot 10^{-5}$ (2), $5 \cdot 10^{-5}$ (3), $1 \cdot 10^{-4}$ (4), $5 \cdot 10^{-4}$ (5) г/мл в смеси пропиловый спирт—тетрахлорметан

соких концентраций и приводят к занижению измеряемых значений оптических плотностей, химические причины могут проявляться в любом концентрационном диапазоне и приводить к отклонениям концентрационной зависимости оптической плотности от линейной как в ту, так и в другую сторону.

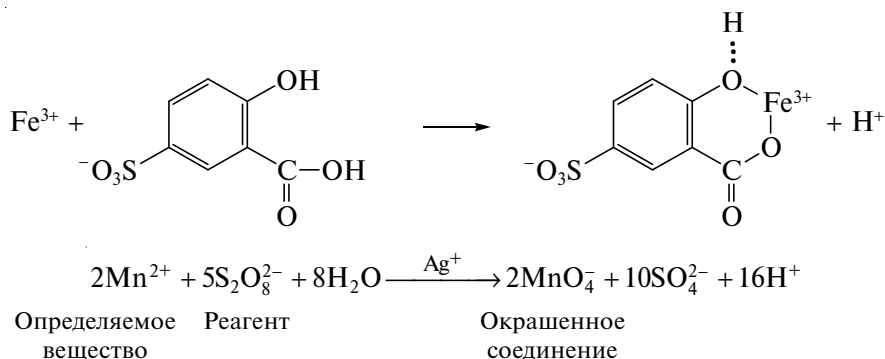
10.4.2.4. Фотометрические реакции

Часто спектрофотометрическому определению предшествует проведение химической реакции, сопровождающейся образованием или (реже) разрушением окрашенного вещества. Такую реакцию называют *фотометрической* (цветной). К фотометрическим реакциям прибегают в случаях, если:

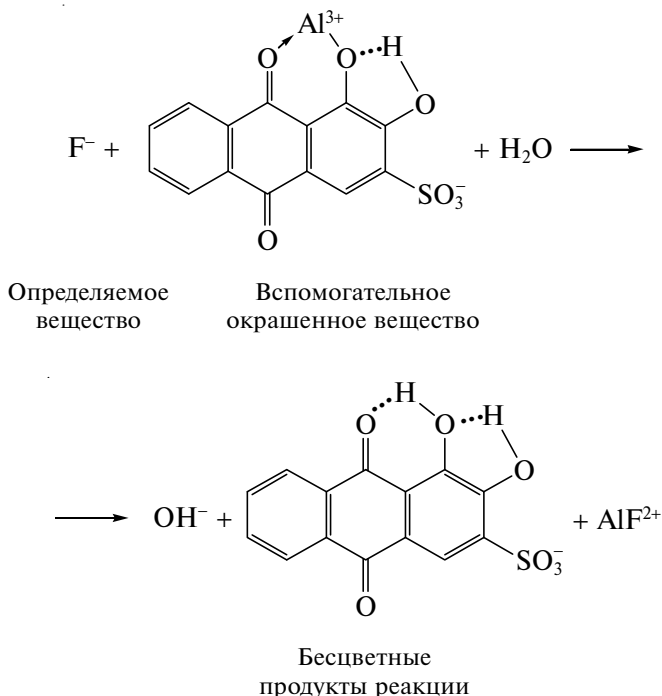
- определяемый компонент не окрашен или интенсивность его светопоглощения мала;
- полосы поглощения определяемого и посторонних компонентов перекрываются;
- определяемый компонент присутствует в виде множества различных химических форм.

Почти всегда фотометрические реакции проводят при спектрофотометрическом определении элементов, в первую очередь металлов. В этом случае продуктом реакции обычно является комплексное соединение определяемого элемента с неорганическим или, значительно чаще, органическим лигандом. При определении органических веществ обычно прибегают к реакциям синтеза окрашенных соединений (азосоединений, полиметиновых и хинониминовых красителей и т. д.). Как и любые другие реакции, применяемые в аналитической химии, фотометрические реакции, несмотря на различия в их типе и механизме, должны протекать быстро, количественно и избирательно. Кроме того, поглощение продуктов фотометрической реакции должно быть хорошо воспроизводимым и постоянным во времени. Важно, чтобы основной закон поглощения выполнялся в широком интервале концентраций определяемого вещества. Если реагент окрашен, добавляется еще одно требование: фотометрическая реакция должна обладать высокой контрастностью, т. е. спектры поглощения реагента и продукта реакции должны как можно меньше перекрываться.

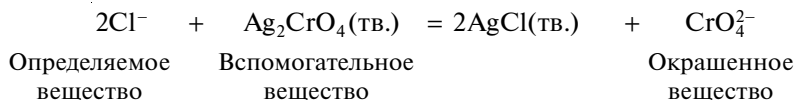
Определение веществ при помощи фотометрических реакций может быть прямым и косвенным. *Прямое спектрофотометрическое определение* осуществляют путем перевода определяемого вещества в окрашенное соединение и последующего измерения его поглощения:



Для *косвенного определения* используют вспомогательные окрашенные вещества, которые при взаимодействии с определяемым веществом либо разрушаются (в этом случае содержание определяемого вещества находят по уменьшению поглощения вспомогательного вещества):



либо образуют новые окрашенные соединения:



Как видно, в косвенных методах окрашенная форма не содержит определяемого вещества.

Фотометрические реакции проводят в условиях, обеспечивающих полноту превращения определяемого вещества. Важнейшими из них являются: рН раствора, концентрация реагентов, время реакции, температура. Описано большое число фотометрических реакций, предназначенных для определения неорганических и органических веществ. При выборе фотометрической реакции основное внимание уделяют таким характеристикам, как чувствительность и селективность определения.

Измеряемые растворы должны быть истинными во всем диапазоне определяемых концентраций. В тех случаях, если это условие не выполняется, переходят в область более низких концентраций либо используют защитные коллоиды, препятствующие образованию твердой фазы. Малорастворимые соединения часто удается экстрагировать органическими растворителями. Метод, основанный на экстракции окрашенного соединения и измерении поглощения экстракта,

называемый *экстракционно-фотометрическим*, получил широкое распространение. Его часто применяют при анализе сложных смесей, когда необходимо определять малые количества одних веществ в присутствии больших количеств других, например при определении примесей в веществах высокой чистоты. В ряде случаев применение экстракции позволяет снизить предел обнаружения, а также повысить селективность определения.

10.4.2.5. Метрологические характеристики метода

Нижняя граница определяемых содержаний. Квантово-механическими расчетами показано, что для молекул в растворах максимальное значение ϵ составляет порядка 10^5 (на практике обычно $10^3 - 10^4$). Минимальное значение оптической плотности, которое можно измерить с необходимой точностью ($s_r < 0,33$), составляет порядка 0,01; значения l , используемые в аналитической практике, — 1 см. Отсюда минимальные концентрации, определяемые спектрофотометрическим методом, составляют 10^{-7} моль/л (в большинстве случаев измеряют концентрации $10^{-6} - 10^{-4}$ моль/л или $10^{-1} - 10^1$ мкг/мл). Таким образом, спектрофотометрия относится к среднечувствительным методам анализа.

Воспроизводимость. Погрешность результатов спектрофотометрического анализа складывается из погрешностей собственно измерения оптической плотности, погрешностей, вносимых на стадии пробоподготовки (в том числе фотометрической реакции), и погрешностей, обусловленных другими факторами, например невоспроизводимостью положения кювет в кюветном отделении. Рассмотрим подробнее одну из составляющих погрешности — воспроизводимость результатов измерения оптической плотности.

В первом приближении абсолютное стандартное отклонение пропускания $s(T)$ можно принять постоянным и не зависящим от температуры T . Тогда относительное стандартное отклонение оптической плотности равно

$$s_r(A) = \frac{s(A)}{A} = \frac{s(\lg T)}{A} = 0,434 \frac{s(T)}{AT} = 0,434 \frac{s(T)}{A \cdot 10^{-4}}. \quad (10.41)$$

Зависимость $s_r(A)$, выраженная формулой (10.41), графически представлена на рис. 10.40. Таким образом, величина $s_r(A)$, а следовательно, и относительная погрешность определения концентрации непостоянны и зависят от значения оптической плотности. Продифференцировав выражение (10.41) по A и приравняв производную нулю, легко показать, что минимальное значение $s_r(A)$ (обозначаемое далее $s_{r,\min}(A)$) достигается при $A = 0,434$. Примем в качестве оптимального диапазона оптических плотностей такой диапазон, для которого $s_r(A) \leq 2s_{r,\min}(A)$. Из выражения (10.41) легко найти, что границы этого диапазона составляют 0,1 — 1,2 единиц оптической плотности. При более низких или более высоких значениях оптической плотности точность измерений резко уменьшается.

На практике диапазон оптимальных значений A может несколько отличаться от указанного, ввиду того что для многих приборов величина $s(T)$ зависит от T . Кроме того, точность измерения высоких значений оптической плотности дополнительно уменьшается из-за недостаточной монохроматичности излучения. Для прецизионных спектрофотометров оптимальный диапазон оптических плотностей шире указанного, его верхняя граница может достигать 2 — 3 единиц. Для

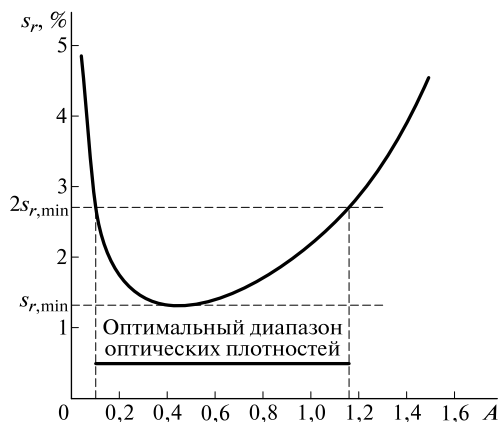


Рис. 10.40. Зависимость относительной погрешности оптической плотности от оптической плотности при $s(T) = 0,005$

фотометров он, наоборот, сужается, верхняя граница диапазона может не превышать 0,7 — 1,0 единиц оптической плотности.

Значение $s(T)$ обычно составляет порядка 0,005. В этом случае в оптимальном диапазоне оптических плотностей $s_r(A) \leq 0,025$. В действительности относительное стандартное отклонение результатов спектрофотометрического анализа, как правило, несколько выше (0,03 — 0,05) ввиду наличия других источников погрешностей помимо погрешности измерения оптической плотности.

Селективность. При спектрофотометрическом определении селективность обеспечивается главным образом на стадии пробоподготовки (в первую очередь — фотометрической реакции), поскольку ширина полос поглощения молекул в УФ и видимой областях большая, а вероятность их перекрывания велика. Применение высокоселективных фотометрических реагентов, надлежащий выбор условий реакции (рН, природа и концентрация маскирующих реагентов, температура, время и др.), а в необходимых случаях — и разделение определяемого и мешающих компонентов (посредством экстракции, сорбции, отгонки) позволяют создавать высокоселективные методики спектрофотометрического анализа. Например, методики определения меди(II) с купроином или висмута(III) с диэтилдитиокарбаминатом натрия при определенных условиях их проведения могут считаться специфичными для этих элементов.

10.4.2.6. Дифференциальный способ спектрофотометрических измерений

В спектрофотометрическом анализе оптимальный диапазон измеряемых оптических плотностей, а следовательно, и определяемых концентраций невелик, а точность результатов ниже, чем в классических химических методах анализа (см. подразд. 10.4.2.5). Для расширения диапазона определяемых концентраций и увеличения точности в спектрофотометрии применяют специальный способ измерений, называемый *дифференциальным*.

Особенности дифференциального способа состоят в выборе раствора сравнения и градуировке шкалы измерительного прибора. Градуировку шкалы прибора проводят до выполнения каких-либо измерений по двум точкам, в одной из которых значение пропускания T условно принимают за 0 %, а в другой — за 100 %.

При обычном способе измерения, называемом *абсолютным*, для установки условного значения 0 % пропускания на пути светового потока помещают непрозрачную перегородку (шторку). Это соответствует бесконечно большому значению оптической плотности и бесконечно большой концентрации фотометрируемого соединения ($C_1 = \infty$). Условные 100 % пропускания устанавливают по раствору сравнения, представляющему собой растворитель или раствор контрольного опыта, который не содержит фотометрируемого соединения ($C_2 = 0$).

При дифференциальном способе по крайней мере одну из этих точек устанавливают при помощи раствора, содержащего фотометрируемое соединение в известной концентрации. Выбор этих концентраций обусловлен диапазоном значений оптических плотностей, в котором предполагается проводить измерения.

Чаще всего дифференциальный способ используют для измерений высоких значений оптической плотности, поскольку именно в этом диапазоне погрешности при абсолютном способе измерений особенно велики. В этом случае 0 % пропускания по-прежнему устанавливают при закрытой шторке ($C_1 = \infty$), а 100 % пропускания — по раствору сравнения с известной и достаточно большой концентрацией C_2 фотометрируемого соединения. Таким образом, вся шкала измерительного прибора оказывается настроенной на измерение концентраций C в диапазоне от C_2 до ∞ (рис. 10.41, *а*).

При измерении низких значений оптической плотности условные 0 % пропускания устанавливают по раствору с известной малой концентрацией фотометрируемого вещества C_1 , а 100 % — по раствору сравнения с $C_2 = 0$ (как в абсолют-

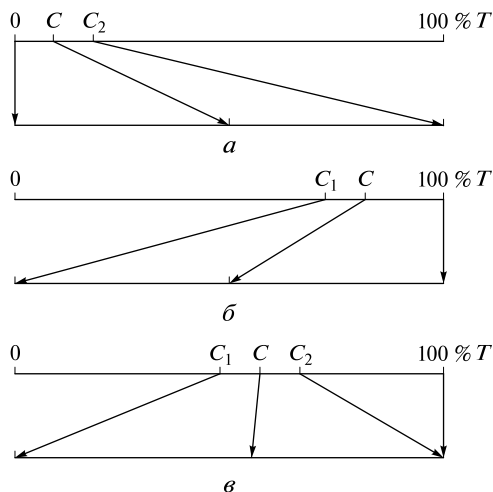


Рис. 10.41. Методы расширения шкалы в дифференциальной спектрофотометрии:

а — высокая оптическая плотность; *б* — низкая оптическая плотность; *в* — предельная точность (верхние шкалы — истинные значения пропускания, нижние шкалы — условные значения)

ном способе). Теперь шкала прибора настроена на измерение концентраций от 0 до C_1 (рис. 10.41, б).

Наконец, можно использовать комбинацию двух предыдущих способов, устанавливая 0 % пропускания по раствору концентрацией C_1 , а 100 % — по раствору концентрацией C_2 , используемому при последующих измерениях в качестве раствора сравнения ($C_2 < C_1$). В этом случае шкала настроена на измерение концентраций в диапазоне от C_2 до C_1 (рис. 10.41, в). Этот способ градуировки шкалы называют *способом предельной точности*.

Как видно из рис. 10.41, в любом варианте дифференциального способа шкала измерительного прибора оказывается настроенной на более узкий диапазон определяемых концентраций, чем при абсолютном способе измерений. Таким образом, шкала оказывается как бы растянутой. В этом случае разность интенсивностей световых потоков, прошедших через раствор сравнения и анализируемый раствор, больше, чем при абсолютном способе измерений, поэтому точность результатов возрастает. Применение дифференциального способа при определении высоких концентраций во многих случаях позволяет достичь точности спектрофотометрического анализа, сравнимой с точностью химических методов.

Наиболее ответственным этапом при проведении дифференциальных спектрофотометрических измерений является выбор концентрации раствора сравнения. При определении высоких концентраций желательно выбирать концентрацию C_2 так, чтобы она была меньше и как можно ближе к предполагаемой концентрации анализируемого раствора C (при определении низких концентраций значение C_1 должно быть больше и как можно ближе к C). Если концентрация анализируемого раствора даже ориентировочно неизвестна, то для выбора раствора сравнения сначала готовят серию стандартных растворов с концентрациями C_i , изменяющимися с постоянным шагом $\Delta C = C_{i+1} - C_i$. Затем измеряют оптические плотности ΔA_i каждого последующего раствора (C_{i+1}) по отношению к предыдущему (C_i) и выбирают в качестве раствора сравнения такой i -й раствор, для которого произведение $C_i \Delta A_i$ максимально.

10.4.2.7. Производная спектрофотометрия

Если дифференциальная спектрофотометрия позволяет повысить точность результатов спектрофотометрического анализа, то производная спектрофотометрия — селективность и во многих случаях чувствительность. В производной спектрофотометрии аналитическим сигналом служит не оптическая плотность A , а ее производная $d^n A / d\lambda^n$. В настоящее время используют производные первого-пятого порядков. Для производных спектров поглощения, построенных в координатах $\lambda - d^n A / d\lambda^n$, точно так же как для исходных (в координатах $\lambda - A$), выполняется и линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации поглощающего вещества, и аддитивность аналитических сигналов при наличии в системе нескольких поглощающих компонентов. Однако производные спектры обладают значительно более четко выраженной структурой, чем исходные, поскольку ширина спектральной полосы при дифференцировании уменьшается.

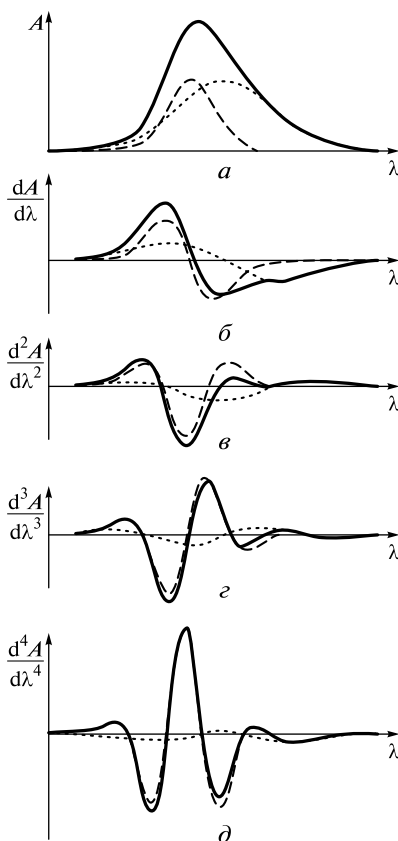
Выбор подходящего порядка дифференцирования часто позволяет добиться полного разделения спектральных полос компонентов. Кроме того, при дифференцировании для острых узкополосных пиков высота возрастает, а для пологих

Рис. 10.42. Исходный (а) и производные (б—д) спектры растворов чистых веществ 1 и 2 (соответственно штриховые и пунктирные линии) и их смеси (сплошные линии)

широких полос — уменьшается по сравнению с исходным спектром. В качестве примера на рис. 10.42 представлены исходный и производные спектры поглощения двух компонентов, различающиеся шириной полос, и спектры их смеси. В исходном спектре полосы поглощения компонентов сильно перекрываются, и непосредственное определение одного компонента на фоне другого невозможно. В спектре производной четвертого порядка сигнал компонента 2 при всех длинах волн практически отсутствует, а спектр смеси почти совпадает со спектром чистого компонента 1.

Дифференцирование спектров осуществляют как аппаратными средствами (аналоговые дифференцирующие устройства), так и математическими методами (в спектрофотометрах, снабженных микропроцессорами).

Производная спектрофотометрия — современный вариант спектрофотометрического метода анализа, имеющий все большее применение, особенно при анализе сложных многокомпонентных систем. Метод позволяет одновременно определять несколько компонентов в одной пробе без использования специальных математических приемов обработки спектров (см. далее), а также идентифицировать вещества по спектрам их производных. Однако при использовании производной спектрофотометрии необходимо учитывать, что форма и характеристики производных спектров сильно зависят от инструментальных параметров их регистрации (скорости сканирования спектра, частоты регистрации оптических плотностей, ширины щели монохроматора и др.). Хорошо воспроизводимые результаты можно получить только при использовании прибора одного и того же типа в идентичных условиях регистрации спектра. При переходе к прибору другого типа методику необходимо специально адаптировать. Кроме того, при многократном дифференцировании погрешности результатов существенно возрастают. Поэтому на практике чаще всего используют производные спектры 1 — 2 порядков.



10.4.2.8. Спектрофотометрический анализ многокомпонентных систем

Как неоднократно отмечалось, перекрывание спектров поглощения отдельных компонентов представляет собой одну из наиболее серьезных проблем спектрофотометрического метода анализа. Однако можно определять индивидуальные

компоненты и в условиях перекрытия их спектров, если использовать специальные математические методы обработки спектрофотометрических данных.

В основе спектрофотометрического анализа многокомпонентных систем лежит закон аддитивности оптических плотностей (см. уравнение (10.39)). Пусть в системе присутствует n поглощающих компонентов с концентрациями C_1, C_2, \dots, C_n . Выберем n различных длин волн и для каждой из них запишем уравнение Фирордта (10.39):

$$\begin{aligned} A_1 &= \varepsilon_{1,1} I C_1 + \varepsilon_{1,2} I C_2 + \dots + \varepsilon_{1,k} I C_k, \\ A_2 &= \varepsilon_{2,1} I C_1 + \varepsilon_{2,2} I C_2 + \dots + \varepsilon_{2,k} I C_k, \\ &\dots \\ A_n &= \varepsilon_{n,1} I C_1 + \varepsilon_{n,2} I C_2 + \dots + \varepsilon_{n,k} I C_k, \end{aligned} \quad (10.42)$$

где A_i — оптическая плотность смеси при i -й длине волны; C_j — концентрация j -го компонента; $\varepsilon_{i,j}$ — молярный коэффициент поглощения j -го компонента при i -й длине волны.

Система уравнений (10.42) представляет собой систему n линейных уравнений с m неизвестными концентрациями. Если все молярные коэффициенты поглощения $\varepsilon_{i,j}$ известны (их можно определить экспериментально, используя стандартные растворы чистых компонентов), то такая система легко решается методами линейной алгебры.

При анализе многокомпонентных систем, особенно при большом числе компонентов или малых различиях в их спектрах, необходимо иметь в виду, что даже небольшие погрешности экспериментальных данных могут привести к очень большим погрешностям рассчитанных концентраций. Для повышения точности результатов используют специальные математические методы, позволяющие оптимальным образом выбирать рабочие длины волн, обрабатывать спектры, измеренные при $m > n$ длинах волн и отделять полезную информацию от погрешностей (шумов). Разработкой, исследованием и использованием таких методов занимается специальная отрасль аналитической химии — *хеометрика*, прогрессирующая в последние годы.

Методы спектрофотометрического анализа многокомпонентных систем находят применение не только при решении прикладных задач. Возможность одновременного определения равновесных концентраций отдельных химических форм в их смеси позволяет использовать спектрофотометрию для изучения химических равновесий в растворах.

Спектрофотометрия — один из самых распространенных методов определения числа индивидуальных компонентов в их смесях, стехиометрического состава соединений и расчета констант химических равновесий (кислотной и основной диссоциации, устойчивости комплексов и др.).

10.4.3. Инфракрасная спектроскопия и спектроскопия комбинационного рассеяния

10.4.3.1. Основы методов

Колебания молекул. Рассмотрим двухатомную молекулу. Ядра ее совершают малые колебания около положения равновесия (рис. 10.43). Этим колебаниям от-

вечает дискретный набор состояний и соответствующих им энергетических уровней. Для решения задачи о происхождении колебательного спектра двухатомной молекулы необходимо знать зависимость ее потенциальной энергии от межъядерного расстояния.

В приближении гармонического осциллятора, когда сила F , возвращающая ядра в положение равновесия r_0 , пропорциональна смещению их из положения равновесия ($r - r_0$) и направлена в сторону, противоположную смещению:

$$F = -K(r - r_0), \quad (10.43)$$

потенциальная энергия двухатомной молекулы U описывается уравнением параболы:

$$U = K \frac{(r - r_0)^2}{2}, \quad (10.44)$$

где K — силовая постоянная, или константа упругости связи.

Функции (10.44) отвечает набор эквидистантных (равноотстоящих) колебательных уровней:

$$E_v = h\nu_0 \left(v + \frac{1}{2} \right), \quad (10.45)$$

где E_v — энергия колебательного уровня; ν_0 — частота колебания гармонического осциллятора; $v = 0, 1, 2, \dots$ — колебательное квантовое число.

Для гармонического осциллятора разрешены лишь переходы между соседними колебательными уровнями: $\Delta v = \pm 1$. Поэтому его спектр состоит всего из одной полосы с частотой ν_0 , которая зависит от силовой постоянной связи K и приведенной массы μ :

$$\nu_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K}{\mu}}, \quad (10.46)$$

где $\mu = m_1 m_2 / (m_1 + m_2)$; m_1, m_2 — массы ядер.

Силовая постоянная является важнейшей характеристикой химической связи. В табл. 10.4 приведены значения силовых постоянных и энергии диссоциации некоторых двухатомных молекул. Из данных табл. 10.4 видно, что с увеличением энергии химической связи ее силовая постоянная возрастает.

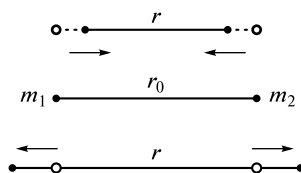


Рис. 10.43. Различные фазы колебания двухатомной молекулы

Таблица 10.4

Силовые постоянные K и энергии диссоциации D некоторых двухатомных молекул

Молекула	$K \cdot 10^{-2}$, Н/м	D , кДж/моль	Молекула	$K \cdot 10^{-2}$, Н/м	D , кДж/моль
HF	8,8	568,6	HI	2,9	294,7
HCl	4,8	427,9	CO	18,7	1 070,9
HBr	3,8	362,9	NO	15,5	637,6

В многоатомной молекуле все ядра совершают сложные колебательные движения. Потенциальную энергию такой молекулы приближенно можно представить в виде суммы потенциальных энергий связей и валентных углов и в гармоническом приближении описать набором силовых постоянных, характеризующих жесткость связей, валентных углов и учитывающих их взаимодействие. Например, нелинейную трехатомную молекулу ABC (рис. 10.44) можно описать набором из шести силовых постоянных: связей 1 и 2, валентного угла α (или деформационной силовой постоянной), взаимодействия связей 1 и 2, взаимодействия связей 1 и 2 с валентным углом α . Это позволяет представить сложное колебательное движение многоатомной молекулы в виде суперпозиции так называемых *нормальных колебаний*, при которых все ядра молекулы колеблются с одинаковой частотой и фазой, а ее центр масс остается неизменным. Число нормальных колебаний соответствует числу колебательных степеней свободы в молекуле. У N -атомной нелинейной молекулы имеется $(3N - 6)$ колебательных степеней свободы, у линейной — $(3N - 5)$. Энергия каждого нормального колебания квантована и выражается формулой (10.45), отвечающей энергии гармонического осциллятора, а полная колебательная энергия многоатомной молекулы равна сумме энергий ее нормальных колебаний:

$$E = \sum_{i=1}^p E_i = h \sum_{i=1}^p \nu_{0i} \left(\nu_i + \frac{1}{2} \right), \quad (10.47)$$

где E_i , ν_{0i} — соответственно энергия и частота i -го нормального колебания; p — число нормальных колебаний.

Согласно правилу отбора в колебательном спектре многоатомной молекулы должны проявляться лишь частоты нормальных колебаний ν_{0i} , отвечающие переходам $\Delta \nu_i = \pm 1$.

Рассматривая колебания молекул, мы ограничились гармоническим приближением. Реальные колебания в большей или меньшей степени ангармоничны, т.е. не отвечают уравнению (10.43). Вследствие ангармоничности в колебательном спектре двухатомной молекулы помимо полосы с частотой ν_0 , называемой *основной*, или *фундаментальной*, появляются полосы *обертонов*: $\sim 2\nu_0$ (первый оберто́н), $\sim 3\nu_0$ (второй оберто́н), ..., а в спектре многоатомной молекулы в месте с полосами нормальных колебаний ν_{0i} и их обертонов ($\sim 2\nu_{0i}$, $\sim 3\nu_{0i}$, ...) присутствуют полосы составных частот ($\nu_{0i} \pm \nu_{0j}$).

Нормальные колебания принято подразделять на *валентные* (ν), характеризующиеся движением атомов по осям связей, и *деформационные* (σ , π , r , τ), при которых изменяются валентные углы, в то время как длины связей практически не меняются (рис. 10.45). Частоты валентных колебаний значительно выше (более чем на порядок) частот деформационных колебаний. Это объясняется тем, что силовые постоянные связей в несколько раз больше деформационных силовых постоянных. У известных в настоящее время молекул частоты нормальных колебаний располагаются в инфракрасной области спектра от 4000 до 100 см^{-1} .

При нормальном колебании все ядра молекулы колеблются с одинаковой частотой и фазой, однако амплитуды их

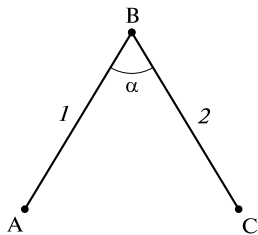


Рис. 10.44. Нелинейная трехатомная молекула ABC

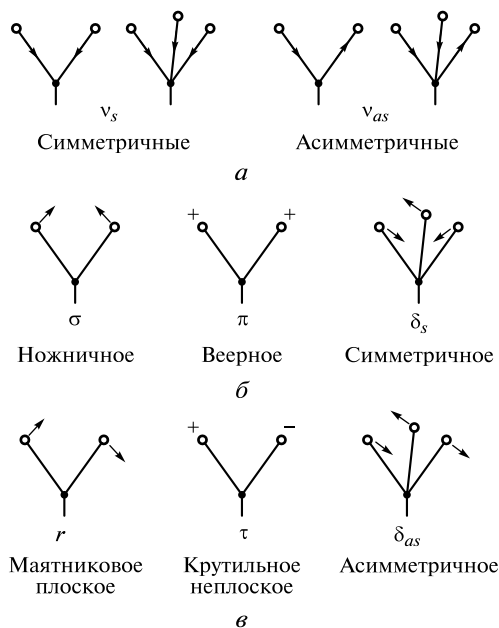


Рис. 10.45. Валентные (*а*) и деформационные (*б*) колебания (стрелками показано направление смещения ядер; знаки «+» и «-» обозначают колебания в направлении, перпендикулярном плоскости рисунка: «+» — к читателю, «-» — от читателя)

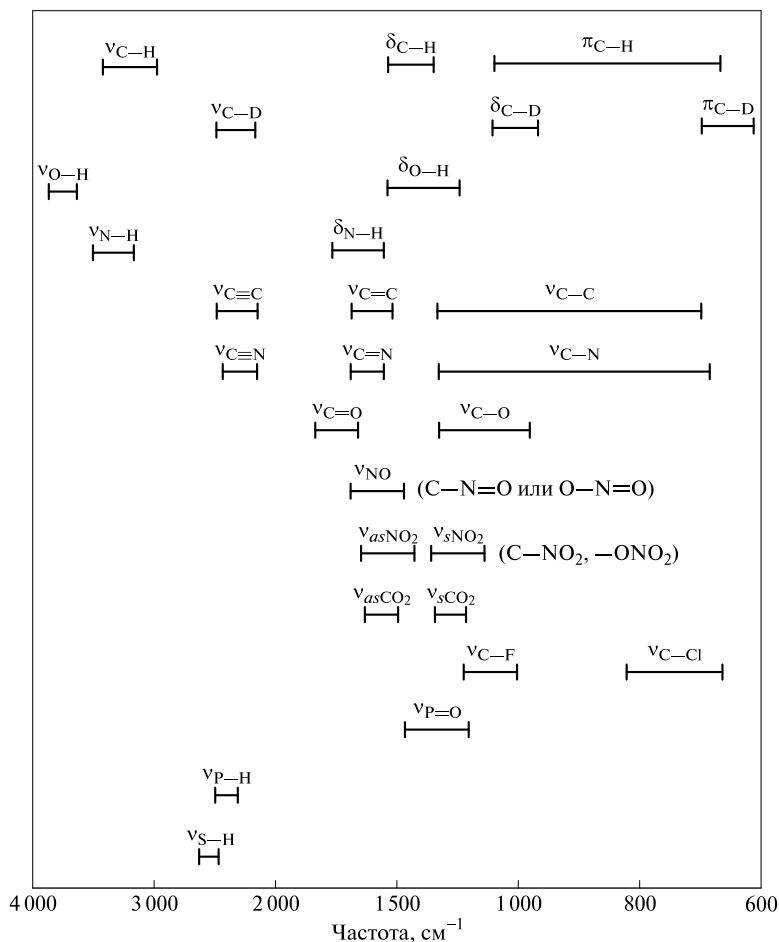
колебаний могут существенно различаться. Возможен случай, когда при данном нормальном колебании амплитуда колебаний ядер одной из связей значительно превосходит амплитуды колебаний всех остальных ядер молекулы. Тогда частоту данного нормального колебания условно приписывают (относят) колебанию именно этой связи. Если частота, соответствующая колебанию определенной связи, мало меняется при переходе от одной молекулы, содержащей эту связь, к другой, то такую частоту называют *характеристической*. Наличие в колебательном спектре характеристических частот (полос) однозначно указывает на присутствие в молекуле вещества соответствующих связей. Концепция характеристических частот широко используется для проведения структурно-группового анализа веществ по их колебательным спектрам. Для подобного рода анализа неорганических и органических веществ существуют специальные корреляционные таблицы (табл. 10.5).

Инфракрасные спектры и спектры комбинационного рассеяния. Колебательные спектры регистрируют в форме инфракрасных спектров (ИК спектров) или спектров комбинационного рассеяния (спектров КР, рамановских спектров).

Инфракрасный спектр представляет собой спектр поглощения в инфракрасной области. Спектр КР возникает при облучении вещества монохроматическим светом УФ или видимого диапазона. Под воздействием монохроматического светового потока с частотой $h\nu$ молекулы вещества поляризуются и рассеивают свет с частотой ν (*рэлеевское рассеяние*), а также с частотами $\nu \pm \nu_0$ (*комбинационное рассеяние*), где ν_0 — частота нормальных колебаний молекулы. Частоты $\nu - \nu_0$ называют *стоксовыми*, частоты $\nu + \nu_0$ — *антистоксовыми*.

Комбинационное рассеяние света открыто в 1928 г. Л. И. Мандельштамом и Г. С. Ландсбергом на кристаллах и одновременно индийскими физиками Ч. Рама-

Характеристические частоты некоторых функциональных групп в органических соединениях



ном и К. Кришнаном на жидкостях. Советские ученые опубликовали свои результаты после продолжительных экспериментов, тогда как Ч. Раман сразу же послал краткое сообщение в английский журнал «Nature», что и обеспечило ему приоритет и присуждение в 1930 г. Нобелевской премии по физике. За рубежом спектроскопию комбинационного рассеяния называют рамановской спектроскопией.

Возникновение спектра КР можно представить следующим образом. Квант падающего излучения $h\nu$ взаимодействует с молекулой, находящейся в основном или возбужденном колебательном состоянии. Если взаимодействие является упругим, то энергетическое состояние молекулы не меняется и частота рассеянного излучения будет такая же, как и падающего — ν . В спектре КР появляется рэлеевская полоса. В случае неупругого взаимодействия происходит обмен энергией между квантом излучения $h\nu$ и молекулой:

$$h\nu + E'_v = h\nu_r + E''_v, \quad (10.48)$$

где ν_r — частота рассеянного фотона; E'_v , E''_v — соответственно начальная и конечная колебательная энергия молекулы.

При этом возможны два варианта.

В а р и а н т 1. Молекула, находящаяся в основном колебательном состоянии, заимствует часть энергии падающего света и переходит на более высокий колебательный уровень ($E'_v < E''_v$). В результате падающий свет рассеивается при пониженной частоте ($\nu_r < \nu$) и в спектре КР появляется стоксова линия.

В а р и а н т 2. Обладающая более высокой колебательной энергией молекула при взаимодействии с фотоном $h\nu$ переходит на основной колебательный уровень ($E'_v > E''_v$), отдавая часть своей энергии. В этом случае падающий свет рассеивается при повышенной частоте ($\nu_r > \nu$) и в спектре КР возникает антистоксова линия.

Энергия фотонов возбуждающего света $h\nu$ должна быть меньше энергии электронного возбуждения молекулы. В противном случае может возникнуть флуоресценция, перекрывающая спектр КР.

Помимо линий с частотами $\nu \pm \nu_{0i}$, называемых *линиями первого порядка*, в спектрах КР веществ вследствие ангармоничности колебаний молекул могут появляться линии второго ($\nu \pm 2\nu_{0i}$), третьего ($\nu \pm 3\nu_{0i}$) и более высоких порядков, а также линии, отвечающие составным колебательным частотам $\nu \pm (\nu_{0i} + \nu_{0j})$.

Не все колебательные переходы будут активны (будут наблюдаться) в ИК спектре или спектре КР. В ИК спектре активны те нормальные колебания, которые вызывают изменение дипольного момента молекулы. Интенсивность линии в ИК спектре тем больше, чем сильнее меняется дипольный момент молекулы при данном нормальном колебании. У молекул с ионными связями интенсивность линий поглощения будет максимальной. Обертоны и составные частоты, как правило, малоинтенсивны и не всегда наблюдаются в ИК спектре.

В спектре КР активны те нормальные колебания, при которых изменяется поляризуемость молекулы. Наиболее интенсивные линии в спектре КР присущи неполярным молекулам с ковалентными связями (например, H_2 , O_2 , Cl_2). Поскольку при обычных температурах возбужденные колебательные состояния заселены существенно меньше основного, то интенсивность антистоксовых линий оказывается заметно ниже, чем стоксовых (рис. 10.46). Линии второго, третьего и более высоких порядков, а также линии, отвечающие составным частотам, обычно ма-

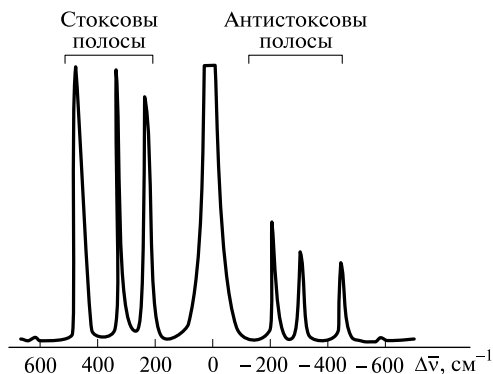


Рис. 10.46. Спектр КР жидкого тетрахлорметана, полученный при возбуждении системы Не — Не лазером при 632,8 нм (сильный сигнал $\Delta\nu = 0$ связан с рэлеевским рассеянием)

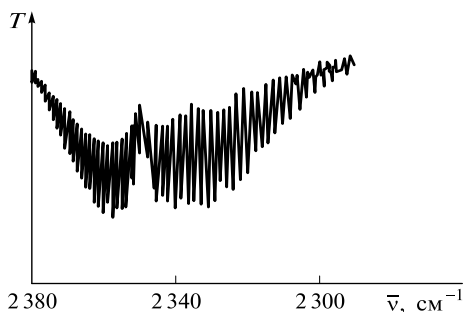


Рис. 10.47. Вращательная структура полосы асимметричных валентных колебаний молекулы CO_2

лоинтенсивны и в спектре КР наблюдают­ся редко. С повышением интенсивности возбуждающего монохроматического света интенсивность линий КР возрастает. Интенсивность некоторых линий в спектре КР может возрастать в тысячи и даже десятки тысяч раз, если частота возбуждающего света ν приближается к частоте разрешенного электронного перехода молекулы. Это явление получило название *резонансного комбинационного рассеяния света*.

Для молекул, имеющих центр симметрии, справедливо *правило альтернативного запрета*: колебания, симметричные

относительно центра симметрии, активны в спектре КР и неактивны (не наблюдаются) в ИК спектре; колебания, асимметричные относительно центра симметрии, активны в ИК спектре и неактивны в спектре КР.

Полный набор колебательных частот молекулы может быть получен лишь на основе совместного анализа ИК спектров и спектров КР и, таким образом, ИК-спектроскопия и спектроскопия КР являются взаимно дополняющими методами. Однако использование обоих методов не всегда оправдано, иногда следует отдать предпочтение одному из них. В частности, затруднительно использовать ИК-спектроскопию для изучения водных растворов, поскольку вода интенсивно поглощает инфракрасное излучение. Напротив, комбинационное рассеяние воды является весьма слабым. Именно поэтому для изучения водных растворов следует применять спектроскопию КР.

Полосы, наблюдаемые в ИК спектрах и спектрах КР, часто имеют сложную структуру. Ее появление у веществ в газообразном состоянии связано с тем, что изолированные молекулы могут достаточно свободно вращаться. Каждый колебательный переход в молекуле, обладающий запасом вращательной энергии, сопровождается большим числом вращательных переходов. Поэтому в спектрах наряду с колебательными полосами по обе стороны от них присутствуют и полосы, отвечающие колебательно-вращательным переходам (рис. 10.47). По мере усложнения молекул веществ разрешение спектров уменьшается и наблюдаются широкие колебательно-вращательные полосы.

У кристаллических веществ вращательная структура не наблюдается. Однако вследствие взаимодействия молекул в кристалле в ряде случаев может наблюдаться расщепление полос, появление вместо одной нескольких полос (мультиплетов). Наблюдаемые эффекты объясняют снятием вырождения и запретов на переходы.

Сильное уширение полос в спектрах твердых и жидких веществ, а также их концентрированных растворов может быть связано с образованием водородных связей между полярными группами соседних молекул.

10.4.3.2. Приборы и методика регистрации спектров

Инфракрасные спектры веществ регистрируют ИК-спектрометрами в виде кривых пропускания $T(\%)$ — ν и оптической плотности A — ν . По принципу устройства ИК-спектрометры можно разделить на диспергирующие (снабженные

анализаторами спектра диспергирующего типа) и недиспергирующие (с анализаторами спектра модуляционного типа). К приборам первого типа относятся сканирующие спектрометры, второго типа — фурье-спектрометры. Сканирующие спектрометры построены на базе монохроматора и подробно рассмотрены в подразд. 10.2. В фурье-спектрометрах вместо монохроматоров применяют интерферометры (см. подразд. 10.2).

Принципиальная блок-схема фурье-спектрометра, построенного на базе интерферометра Майкельсона, приведена на рис. 10.48. Регистрация всего спектра фурье-спектрометром занимает несколько секунд, в то время как для записи спектра сканирующими ИК-спектрометрами требуется несколько минут. По сравнению со сканирующими ИК-спектрометрами фурье-спектрометры обладают большей разрешающей способностью. С их помощью можно регистрировать ИК спектры разбавленных растворов и сорбированных монослоев веществ. Кроме того, у фурье-спектрометров фильтрация рассеянного излучения осуществляется значительно проще. В настоящее время фурье-спектрометры вытеснили сканирующие ИК-спектрометры при регистрации спектров в далекой инфракрасной области: $400 - 10 \text{ см}^{-1}$.

Для регистрации ИК спектров образцов применяют разнообразные методики. Газообразные образцы исследуют в специальных газовых кюветах. Газовая кювета представляет собой цилиндр длиной около 10 см с прозрачными в инфракрасной области спектра окнами из бромида калия или фторида кальция на торцах и вакуумными кранами для наполнения исследуемым газом и его откачки. Существуют многоходовые газовые кюветы, в которых с помощью зеркал обеспечивается

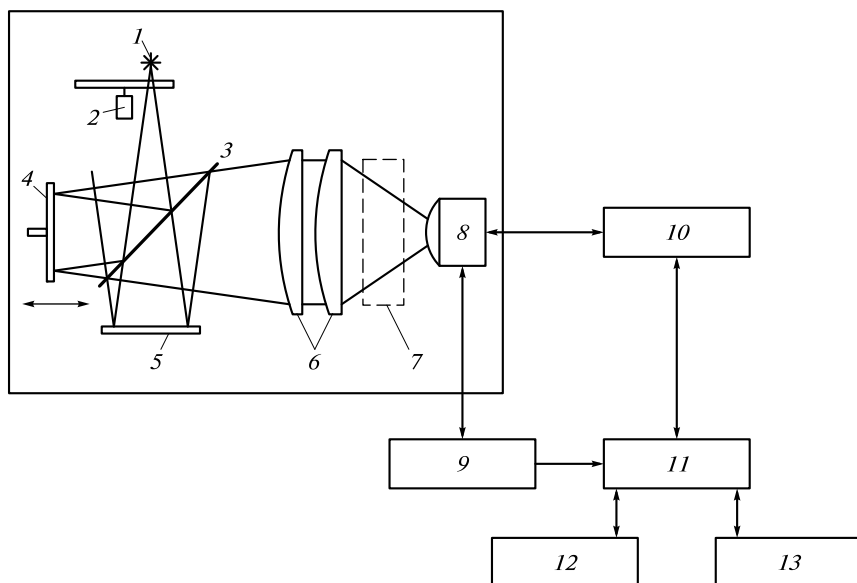


Рис. 10.48. Блок-схема фурье-спектрометра:

1 — источник излучения; 2 — прерыватель; 3 — светоделитель; 4 — подвижное зеркало; 5 — неподвижное зеркало; 6 — система линз; 7 — кюветное отделение; 8 — детектор; 9 — аналого-цифровой преобразователь; 10 — контроллер; 11 — компьютер; 12 — цифровая печать; 13 — дисковая память

многократное прохождение пучка лучей через слой газа. В таких кюветах общая длина пути пучка лучей через исследуемый газ может составлять 1 — 10 м.

Чистые жидкости исследуют в виде тонких пленок, получаемых сдавливанием капли жидкости между двумя пластинками, изготовленными из галогенидов щелочных или щелочноземельных металлов (LiF, CaF₂, KBr).

Исследуемый раствор помещают в кюветы. Обычно кювета состоит из двух пластинок (или окон из галогенидов LiF, CaF₂, KBr) с тефлоновой прокладкой между ними, задающей толщину поглощающего слоя. Толщина прокладки 0,01 — 1 мм. Растворы вводят и извлекают из кюветы через специальные отверстия. Существуют также кюветы регулируемой толщины. В таких кюветах прокладка отсутствует. Одно окно кюветы закреплено, а другое в поршневом уплотнении перемещается с помощью тщательно отградуированного микрометрического винта, позволяющего плавно менять толщину поглощающего слоя от 0,01 до 1 мм (и более).

Концентрация образца в растворе варьирует в пределах 0,01 — 1 моль/л. В качестве растворителей применяют свободные от влаги жидкости, прозрачные в тех областях спектра, где ожидается появление спектральных полос. Наиболее часто используют бензол, трихлорметан, тетрахлорметан, тетрахлорэтилен, ацетонитрил, диоксан.

Подготовку твердых образцов для регистрации их ИК спектров осуществляют двумя способами: 1) готовят мелкодисперсную суспензию образца в вазелиновом масле или других иммерсионных жидкостях, например перфторкеросине; 2) прессуют таблетки из бромида калия, содержащие тонкодисперсный образец.

Для регистрации спектров КР используют спектрометры КР. Как отмечалось выше, интенсивность линий КР зависит от интенсивности возбуждающего света. Поэтому в современных спектрометрах КР применяют исключительно высокоинтенсивные монохроматические источники — лазеры: гелий-неоновый ($\lambda = 632,8$ нм), аргоновый ($\lambda = 488,0$ нм) и криптоновый ($\lambda = 530,8, 647,1$ нм). Спектры КР представляют в виде зависимости интенсивности рассеянного излучения от сдвига частоты возбуждающего света.

Лазерные спектрометры КР позволяют получать спектры веществ в любых агрегатных состояниях. Для регистрации спектров газов используют многоходовые газовые кюветы объемом 1 — 5 см³. Внутри такой кюветы лазерный луч совершает до 100 ходов, в результате чего общая длина пути луча через исследуемый газ может достигать ~1,5 м.

Жидкие образцы или растворы помещают в пробирки (ампулы) или капилляры. Концентрация исследуемого раствора обычно составляет 0,1 — 1 моль/л. Использование метода резонансного комбинационного рассеяния света позволяет снизить концентрацию исследуемого раствора до 10^{-4} — 10^{-3} моль/л.

Монокристаллы, полимеры и волокна исследуют непосредственно. Порошкообразные вещества прессуют в виде таблеток с бромидом калия.

10.4.3.3. Аналитические возможности методов

Идентификация и структурно-групповой анализ. Колебательные спектры обладают высокой специфичностью и широко используются для идентификации веществ. Каждому веществу отвечает свойственный только ему набор полос и не

существует двух веществ, которые имели бы одинаковые колебательные спектры. В настоящее время имеются атласы и базы данных ИК спектров и спектров КР для разных классов органических, элементоорганических и неорганических веществ, в которых указаны условия подготовки образцов и регистрации спектров, а также модели спектрометров.

Идентификация неизвестного вещества по ИК спектру или спектру КР заключается в сопоставлении его спектра с эталонным. Учитывая, что колебательные спектры, зарегистрированные на различных спектрометрах или в различных условиях, могут отличаться, важнейшим условием сравнения спектров является стандартизация условий их регистрации. Информационно-поисковые системы, созданные на базе современной электронно-вычислительной техники, помогают отыскать нужный спектр.

Совпадение спектральной кривой исследуемого вещества со спектральной кривой эталона свидетельствует об идентичности двух веществ. Отсутствие в спектре исследуемого вещества полос, наблюдаемых в спектре образца сравнения, однозначно указывает на то, что эти вещества различны. Присутствие в спектре исследуемого вещества большего числа полос по сравнению со спектром эталона может быть вызвано как загрязнением исследуемого вещества, так и различием веществ.

При идентификации молекул органических веществ особое внимание уделяют области спектра $1\,300 - 600\text{ см}^{-1}$. В эту область попадают полосы, отвечающие колебаниям одинарных связей $\text{C}-\text{C}$, $\text{C}-\text{N}$, $\text{C}-\text{O}$, а также многие деформационные колебания. В результате сильного взаимодействия этих колебаний отнесение полос к отдельным связям невозможно, однако весь набор полос в этой области спектра является характеристикой ядерного остова (скелета) молекулы в целом. Эту область называют *областью отпечатков пальцев*. По колебательным спектрам в этой области можно идентифицировать даже изомеры (рис. 10.49).

С помощью колебательных спектров можно проводить качественный анализ смесей веществ неизвестного или частично известного состава. Если требуется определить примесь в каком-либо веществе, то можно в канал сравнения ИК-спектрометра поместить кювету регулируемой толщины с основным веществом и, плавно меняя толщину кюветы, полностью скомпенсировать поглощение основного вещества. В результате ИК-спектрометр будет регистрировать лишь спектр примеси. Ее идентифицируют, пользуясь атласом ИК спектров. Качественный анализ смесей веществ неизвестного состава проводят после разделения компонентов смеси методом экстракции, хроматографии, фракционной перегонки, осаждения и т. д.

Методы колебательной спектроскопии позволяют получить информацию о наличии или отсутствии тех или иных групп атомов в молекуле вещества. Используя данные о характеристичности частот в совокупности с результатами элементного анализа и другими физико-химическими исследованиями (электронные спектры поглощения, спектры ЯМР), можно установить структуру вещества.

Например, если в спектре вещества, состоящего из углерода, водорода и кислорода, наблюдаются полосы в области $1\,300 - 700\text{ см}^{-1}$ (колебания углеродного скелета), полосы поглощения в области $3\,000\text{ см}^{-1}$ (валентные колебания $\text{C}-\text{H}$) и полоса при $3\,700\text{ см}^{-1}$ (валентное колебание $\text{O}-\text{H}$), то согласно корреляционной таблице (см. табл. 10.5) указанное вещество можно отождествить с алифатическим спиртом.

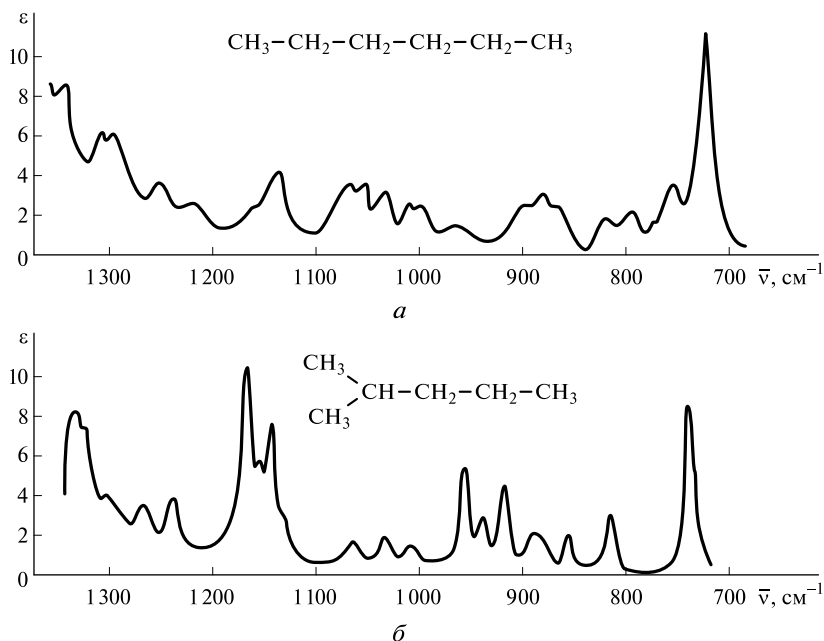


Рис. 10.49. ИК спектры *n*-гексана (а) и 2-метилпентана (б)

Методы колебательной спектроскопии могут применяться для обнаружения и идентификации промежуточных продуктов в химических реакциях и установления их структуры. Так, методом ИК-спектроскопии было установлено, что при реакции гидрирования олефинов молекулярным водородом в присутствии трифенилфосфинового комплекса родия $\text{Rh}[\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3]_3\text{Cl}$ сначала образуется гидридное соединение родия: в спектре появляется полоса $\sim 2000 \text{ см}^{-1}$, относящаяся к валентному колебанию $\text{Rh}-\text{H}$. Полученное промежуточное соединение взаимодействует с молекулой олефина с образованием насыщенного углеводорода.

Колебательные спектры многоатомных молекул весьма сложны, и отнесение полос в этих спектрах к колебаниям отдельных связей (групп) при проведении структурно-группового анализа — непростая задача. В этом случае полезно исследовать колебательные спектры изотопозамещенных молекул. При изотопном замещении потенциальная энергия молекул, а следовательно, и силовые постоянные не меняются, различие в частотах изотопозамещенных молекул обусловлено лишь эффектом масс. У двухатомной молекулы относительное смещение частот будет определяться в соответствии с уравнением (10.46) соотношением

$$\frac{\nu}{\nu'} = \sqrt{\frac{\mu'}{\mu}}, \quad (10.49)$$

где μ , μ' — приведенные массы изотопных молекул.

Изотопный эффект сильнее всего проявляется при замещении легких атомов. Наиболее распространено замещение водорода на дейтерий с целью отнесения полос валентных и деформационных колебаний связей $\text{C}-\text{H}$, $\text{N}-\text{H}$, $\text{O}-\text{H}$ и др. Замена водорода на дейтерий вызывает понижение частот валентных и деформационных колебаний указанных связей примерно в $\sqrt{2}$ раз.

Количественный анализ. Колебательную спектроскопию используют преимущественно для количественного определения органических веществ. Определение одного вещества методом ИК-спектроскопии базируется на основном законе светопоглощения. Для внесения поправок на частичное рассеяние инфракрасного излучения и перекрывание соседних полос поглощения посторонних веществ необходимо провести базовую линию и найти I_0 и I (рис. 10.50). Хотя выбор точек для проведения базовой линии в известной степени произволен, это не имеет существенного значения, если в спектрах образцов сравнения, применяемых для построения градуировочного графика, эти точки выбирают таким же способом и не наблюдается наложения новых посторонних полос.

Анализ смесей веществ методом ИК-спектроскопии базируется на основном законе светопоглощения и законе аддитивности оптических плотностей (см. подразд. 10.4.2.3).

Поскольку молярные коэффициенты поглощения в этом случае невелики ($\epsilon \sim 10^0 - 10^3$), пределы обнаружения веществ методом ИК-спектроскопии достаточно высоки (табл. 10.6).

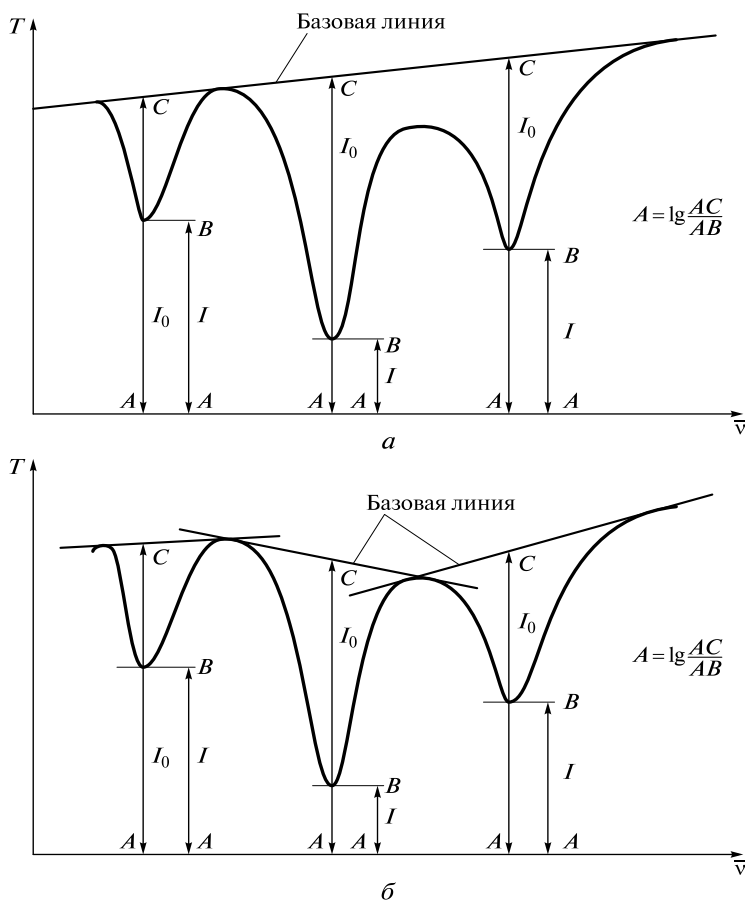


Рис. 10.50. Два способа (а, б) построения базовой линии

Пределы обнаружения, относительное стандартное отклонение s_r и области применения методов колебательной спектроскопии

Метод	Предел обнаружения, мас. %	s_r	Область применения
ИК-спектроскопия	$10^{-1} — 10^1$	0,05 — 0,20	Анализ газов, жидкостей и твердых веществ
Спектроскопия комбинационного рассеяния	$10^{-1} — 10^1$	0,05 — 0,20	То же
Спектроскопия резонансного комбинационного рассеяния	$10^{-4} — 10^{-1}$	0,05 — 0,20	Анализ газов, жидкостей, определение загрязнений в воздухе



Рис. 10.51. Блок-схема установки дистанционного детектирования загрязняющих веществ в атмосфере:

1 — мощный импульсный лазер; 2 — детектор; 3 — монохроматор; 4 — регистрирующее устройство; 5 — фокусирующая оптика; 6 — молекулы загрязняющих веществ в атмосфере

Количественный анализ по спектрам КР основывается на прямо пропорциональной зависимости между интенсивностью рассеянного света I и числом молекул N в единице объема:

$$I = k_r i N, \quad (10.50)$$

где k_r — коэффициент пропорциональности, зависящий от условий эксперимента (оптических характеристик спектрометра, мощности источника возбуждающего света); i — интенсивность рассеянного излучения, приходящегося на одну молекулу.

Еще одно направление практического использования спектроскопии резонансного комбинационного рассеяния — дистанционное определение загрязнений в атмосфере. Схема такой установки приведена на рис. 10.51. В качестве источника излучения используют мощные импульсные лазеры.

10.4.4. Молекулярная люминесценция

10.4.4.1. Основы метода

Все вещества при сильном нагревании начинают излучать электромагнитную энергию. Излучение нагретых веществ называют *тепловым равновесным излу-*

чением. Однако некоторые вещества излучают электромагнитную энергию без нагревания — при комнатной температуре. Такое излучение называют *люминесценцией*, а люминесцентные вещества — *люминофорами*. В отличие от теплового излучения люминесценция является неравновесным излучением.

Существует достаточно много определений люминесценции. По общему определению С. И. Вавилова и В. Л. Лёвшина, люминесценцией атомов, молекул, ионов и других более сложных частиц называют излучение, возникающее в результате электронного перехода в этих частицах при возвращении из возбужденного состояния в основное, представляющее собой избыток над тепловым излучением при данной температуре и имеющее большую продолжительность, значительно превышающую период световых колебаний.

Отсюда следует, что для возбуждения люминесценции необходимо подводить энергию извне, поскольку она теряется при излучении. Поэтому виды люминесценции вполне естественно классифицировать по внешнему источнику возбуждения энергии (табл. 10.7).

Наиболее часто в аналитической практике используют фотолюминесценцию и хемилюминесценцию.

Чем привлекает аналитиков метод молекулярной люминесцентной спектроскопии по сравнению с молекулярной абсорбционной спектроскопией? Прежде всего большей чувствительностью. Это обусловлено тем, что люминесцентный метод относится к силовым: выходной сигнал увеличивается с ростом интенсивности источника излучения. Для большинства определяемых этим методом соединений пределы обнаружения не превышают 10^{-3} мкг/мл. Напомним, что в абсорбционной спектроскопии этот показатель на один-два порядка больше.

В идеальных условиях (высокие значения квантовых выходов люминесценции, молярных коэффициентов поглощения, отсутствие поправки на контрольный опыт и др.), даже применяя в качестве источника возбуждения лампы, удастся

Таблица 10.7

Классификация методов люминесценции по способам возбуждения

Источник возбуждения	Вид люминесценции
Электромагнитное излучение УФ и видимого спектрального диапазона	Фотолюминесценция
Поток электронов (катодные лучи)	Катодолюминесценция
Поток ионов щелочных металлов в вакууме	Ионолюминесценция
Рентгеновское излучение	Рентгенолюминесценция
Радиоактивное излучение	Радиолюминесценция
Тепловая энергия	Термолюминесценция, или кандоллюминесценция
Ультразвук	Сонолюминесценция
Механическое воздействие	Триболюминесценция
Энергия химических реакций	Хемилюминесценция

достичь пределов обнаружения на уровне $\sim 10^{-12}$ г/мл. В модельных экспериментах с родамином 6Ж, сорбированным на отдельных частицах кремнезема диаметром 10 мкм, при использовании флуоресцентного микроскопа с лазером в качестве источника возбуждения излучения удалось определить $\approx 8\,000$ молекул красителя ($\approx 6 \cdot 10^{-18}$ г), сорбированных на индивидуальной частице.

Высокая чувствительность определения, в ряде случаев большой диапазон определяемых содержаний — иногда до четырех порядков значений концентраций — при той же воспроизводимости результатов анализа, что и в молекулярной абсорбционной спектроскопии, и предопределили развитие люминесцентного метода анализа.

Основные характеристики молекулярной люминесценции

Важнейшими характеристиками фотолюминесценции молекул являются спектры люминесценции и спектры возбуждения люминесценции. *Спектром люминесценции* называют зависимость интенсивности люминесцентного излучения от длины его волны (при постоянной длине волны и постоянной интенсивности возбуждающего излучения), а *спектром возбуждения люминесценции* — зависимость интенсивности люминесценции от длины волны возбуждающего излучения. Спектры возбуждения люминесценции по форме совпадают со спектрами поглощения (различия возможны только вследствие инструментальных искажений).

Люминесценция вещества возникает за счет поглощения им энергии возбуждения. Однако в энергию люминесценции превращается не вся поглощенная энергия возбуждения. Эффективность преобразования энергии возбуждения в энергию люминесценции характеризуют выходом люминесценции. *Энергетический выход* люминесценции φ_E определяется отношением излучаемой молекулами вещества энергии E_e к поглощенной ими энергии возбуждения E_a :

$$\varphi_E = E_e / E_a. \quad (10.51)$$

Для фотолюминесценции вводится также понятие *квантового выхода* φ_k , представляющего собой отношение числа квантов люминесценции N_e к числу поглощенных квантов возбуждающего излучения N_a :

$$\varphi_k = N_e / N_a. \quad (10.52)$$

Поскольку энергия кванта равна $h\nu$, между квантовым и энергетическим выходами существует соотношение

$$\varphi_k = \varphi_E (\lambda_e / \lambda_a) \text{ или } \varphi_k = \varphi_E (\nu_e / \nu_a), \quad (10.53)$$

где λ_e , ν_e — соответственно длина волны и частота испускаемого кванта; λ_a , ν_a — соответственно длина волны и частота поглощенного кванта.

Выход люминесценции является характеристическим параметром вещества при фиксированных условиях и значениях внешних параметров. Уменьшение выхода люминесценции называют *тушением люминесценции*. Используемые в анализе люминофоры имеют квантовый выход более 0,01.

Важной характеристикой люминесценции является ее продолжительность — средний промежуток времени, в течение которого молекулы люминофора оста-

ются в возбужденном состоянии. Именно поэтому указанную характеристику также называют *средним временем жизни возбужденного состояния*. Обычно время пребывания молекул люминофора в возбужденном состоянии невелико и составляет $10^{-10} - 10^{-7}$ с. Однако иногда они могут пребывать в возбужденном состоянии гораздо больший промежуток времени — $10^{-4} - 10^2$ с.

Электронные переходы в возбужденной молекуле. Типы люминесценции

По продолжительности и спектральному составу молекулярную люминесценцию можно разделить на кратковременную и замедленную флуоресценцию и фосфоресценцию. Чтобы понять происхождение различных видов люминесценции, необходимо рассмотреть, какие переходы осуществляются в молекуле при поглощении ею квантов возбуждающего излучения.

Обратимся к диаграмме энергетических уровней молекулы, представленной на рис. 10.52. Основное состояние молекулы с четным числом электронов является

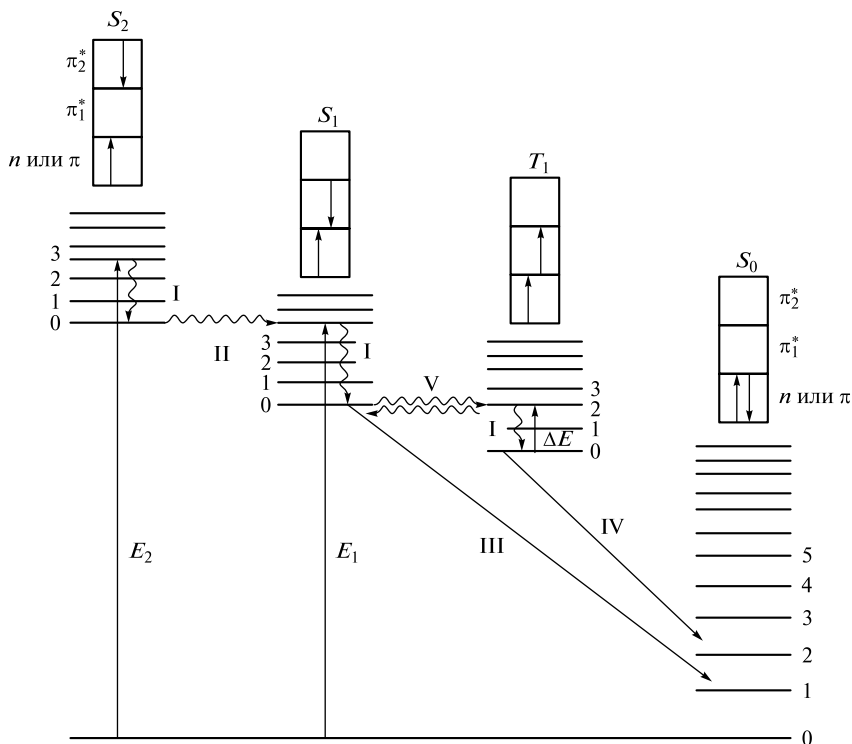


Рис. 10.52. Диаграмма энергетических уровней и электронных переходов в молекуле: S_0 — основное синглетное состояние; S_1 , S_2 — первое и второе возбужденные синглетные состояния; T_1 — триплетное состояние; $\uparrow\downarrow$ — излучательные переходы; \ddagger — безызлучательные переходы; E_1 , E_2 — энергии поглощенных фотонов; I — колебательная релаксация; II — внутренняя конверсия; III — флуоресценция; IV — фосфоресценция; V — интеркомбинационная конверсия

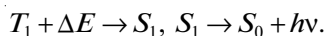
синглетным и обозначается S_0 . В этом состоянии энергия молекулы минимальна, все электроны спарены, а их спины антипараллельны. Поглощение фотона энергией E_1 сопровождается возбуждением молекулы и переходом электрона за время $\sim 10^{-15}$ с на более высокий синглетный уровень S_1 без изменения спина. Возбужденная молекула обладает некоторым избытком колебательной энергии. Этот избыток вследствие колебательной релаксации (I) молекулой теряется в виде тепловой энергии, а сама молекула за время 10^{-12} с оказывается на нижнем колебательном уровне первого возбужденного состояния S_1 . Энергия поглощенного фотона E_2 может оказаться достаточной для перевода молекулы на более высокий уровень — S_2 . Вследствие внутренней конверсии (II), обусловленной перекрыванием колебательных уровней, и колебательной релаксации (I) молекула за время $\sim 10^{-11}$ с оказывается, как и в первом случае, на нижнем колебательном уровне состояния S_1 . Поскольку состояние S_1 отделено от основного состояния S_0 значительным энергетическим интервалом, безызлучательная дезактивация энергии за счет внутренней конверсии (II) и колебательной релаксации (I) затруднена и становится возможной прямая излучательная дезактивация с флуоресценцией (III). Испускание фотонов флуоресценции происходит при переходе электрона с нулевого колебательного уровня состояния S_1 на любой колебательный уровень основного состояния S_0 . Флуоресценция является кратковременным излучением продолжительностью $10^{-10} — 10^{-7}$ с и наблюдается при комнатной температуре. Энергия фотонов флуоресценции меньше энергии фотонов поглощения.

С очень малой вероятностью электрон возбужденной молекулы может изменить свой спин. Такое состояние называют триплетным и обозначают T_1 . Его энергия ниже энергии соответствующего синглетного состояния S_1 . Безызлучательный переход между синглетным S_1 и триплетным T_1 состояниями называют *интеркомбинационной конверсией* (V). Этот переход происходит за время $10^{-9} — 10^{-7}$ с и может конкурировать с флуоресценцией, полностью подавляя последнюю. Молекула, перешедшая в результате интеркомбинационной конверсии на возбужденный колебательный уровень триплетного состояния, быстро релаксирует (I) до самого низшего колебательного состояния T_1 . При определенных условиях (обычно при температуре -196°C в отсутствие парамагнитных молекул) для триплетных молекул оказывается возможным запрещенный переход с уровня T_1 на уровень S_0 с излучением фотонов фосфоресценции (IV). Это излучение имеет значительно большую продолжительность $10^{-4} — 10^2$ с. Энергия фотонов фосфоресценции меньше энергии фотонов кратковременной флуоресценции.

Помимо флуоресценции и фосфоресценции существует еще один вид люминесценции, который идентичен по спектральному составу флуоресценции, но характеризуется продолжительностью, свойственной фосфоресценции. Этот вид люминесценции называют *замедленной флуоресценцией*, поскольку перед излучением фотонов молекула некоторое время находится в триплетном состоянии.

Один из механизмов возбуждения молекул можно представить следующим образом (см. рис. 10.52). Молекулы, находящиеся на нулевом колебательном уровне триплетного состояния T_1 , за счет внутренней колебательной энергии, а также тепловой энергии (ΔE), сообщенной извне, переходят на более высокие колебательные уровни этого состояния, а затем вследствие интеркомбинационной конверсии — в первое возбужденное синглетное состояние S_1 . Из возбужденного синглетного состояния S_1 молекулы возвращаются в основное состояние S_0 , ис-

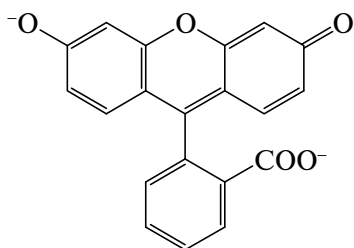
пуская фотоны. Процессы, вызывающие появление замедленной флуоресценции *E*-типа, можно описать схемой:



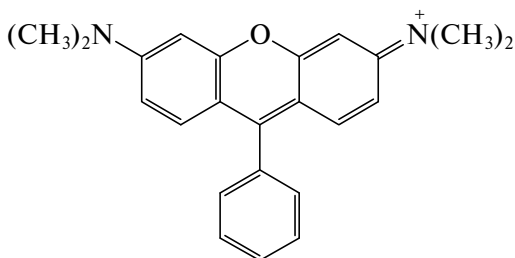
Условия проявления замедленной флуоресценции довольно специфичны. Этот тип молекулярной люминесценции наблюдается в весьма ограниченных диапазонах температур, вязкостей и концентраций растворов. По сравнению с флуоресценцией и фосфоресценцией ее интенсивность невелика и достигает максимальных значений при комнатной и более высоких температурах, заметно ослабевая с понижением температуры.

Относительное расположение спектров поглощения, флуоресценции, замедленной флуоресценции и фосфоресценции показано на рис. 10.53.

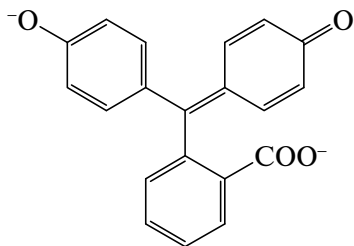
Способность веществ к люминесценции, как и к поглощению излучения, связана с их электронным строением. Важным фактором, обуславливающим флуоресценцию органических молекул, является наличие плоской жесткой структуры. Множество молекул имеет неплоскую нежесткую структуру. Отсутствие у них флуоресценции связывают с потерей энергии возбуждения за счет внутренней конверсии $S_1 \rightarrow S_0$, вызывающей релаксацию энергии возбуждения путем вращения отдельных частей молекулы друг относительно друга. У плоских жестких молекул вероятность безызлучательных процессов мала, а вероятность флуоресценции, напротив, велика. Так, фенолфталеин и малахитовый зеленый не флуоресцируют, а флуоресцеин и родамин С, напротив, обладают интенсивной флуоресценцией:



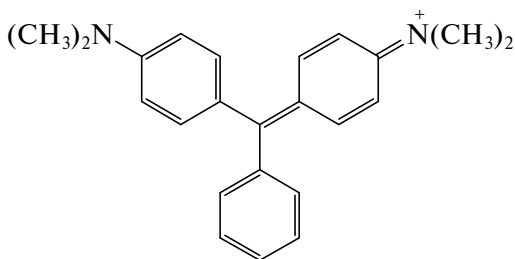
Флуоресцеин



Родамин С



Фенолфталеин



Малахитовый зеленый

Люминесценция комплексов металлов связана с природой и относительным расположением электронных уровней атома металла и органического лиганда, а

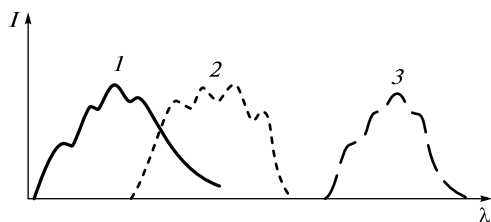


Рис. 10.53. Относительное расположение спектров поглощения и люминесценции молекул:

1 — спектр поглощения; 2 — спектр флуоресценции (быстрой и замедленной); 3 — спектр фосфоресценции

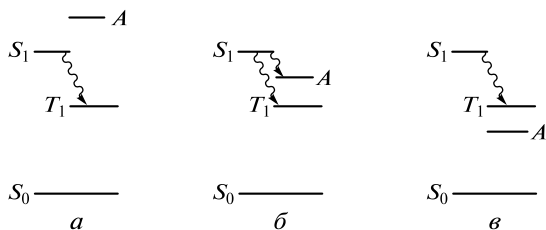


Рис. 10.54. Относительное расположение ($a—в$) синглетных (S_0, S_1), триплетных (T_1) и атомных электронных (A) уровней в хелатах металлов

также переходами между ними. Если в комплексе уровень атома металла A расположен выше синглетного S_1 и триплетного T_1 уровней органического лиганда (рис. 10.54, a), то люминесцентные свойства такого комплекса зависят от электронной структуры лиганда, а спектры люминесценции определяются низшими возбужденными состояниями лиганда, возникающими в результате $\pi \rightarrow \pi^*$ -перехода. Спектры таких комплексов представляют собой широкие размытые полосы. Подобные спектры наблюдаются обычно у комплексов непереходных металлов с заполненными электронными оболочками.

Если в комплексах уровень атома металла A расположен ниже уровня S_1 (рис. 10.54, $б$), то такие комплексы не флуоресцируют в результате безызлучательных переходов $S_1 \rightarrow A$, $S_1 \rightarrow T_1$. Однако при низкой температуре они могут обладать интенсивной фосфоресценцией, которая является следствием повышенной интеркомбинационной конверсии в триплетное состояние T_1 .

В тех случаях, если атомные уровни комплексов A располагаются ниже уровней лигандов S_1 и T_1 (рис. 10.54, $в$), происходит интеркомбинационная конверсия на уровень A . В этом случае может наблюдаться атомное испускание $A \rightarrow S_0$. Это характерно для комплексов лантаноидов. Атомные уровни A в комплексах переходных металлов расположены довольно низко. Поскольку d -электроны (в отличие от f -электронов) плохо экранированы от внешних воздействий, возможно сильное тушение флуоресценции. Поэтому многие комплексы переходных металлов обладают слабой флуоресценцией или не флуоресцируют совсем.

Основные закономерности молекулярной люминесценции

Правило Кáши касается формы спектров люминесценции (флуоресценции, фосфоресценции) при возбуждении их излучением разных длин волн. Посколь-

ку испускание квантов люминесценции всегда происходит с низшего электронно-возбужденного уровня молекулы, спектр люминесценции будет всегда одним и тем же, независимо от того, на какой энергетический уровень попал электрон в результате поглощения фотона. Это означает, что форма спектра люминесценции не зависит от длины волны возбуждающего излучения.

Закон Стокса — Ломмеля обуславливает взаимное расположение спектров люминесценции и поглощения и формулируется следующим образом: спектр люминесценции в целом и его максимум сдвинут по сравнению со спектром поглощения и его максимумом в длинноволновую область. Это означает, что средняя энергия квантов люминесценции меньше средней энергии поглощенных квантов. Причина этого явления заключается в превращении части энергии поглощенных квантов в тепловую энергию:

$$h\nu_a = h\nu_l + Q, \quad (10.54)$$

где $h\nu_a$ — энергия поглощенного фотона возбуждающего света; $h\nu_l$ — энергия фотона люминесценции; Q — энергия теплового движения молекулы.

Правило Лёвшина, называемое также **правилом зеркальной симметрии**, утверждает, что нормированные спектры поглощения и флуоресценции, представленные в виде графиков $\epsilon = f(\nu)$ и $I/\nu = f(\nu)$, зеркально симметричны относительно прямой, перпендикулярной оси частот и проходящей через точку пересечения спектров ν_0 (рис. 10.55), причем для ν_0 можно записать:

$$\nu_a + \nu_f = 2\nu_0, \quad (10.55)$$

где ν_a , ν_f — симметричные частоты поглощения и флуоресценции.

Частота ν_0 в выражении (10.55) может быть интерпретирована как частота чисто электронного перехода, т.е. перехода между нулевыми колебательными уровнями основного S_0 и первого возбужденного S_1 синглетных состояний. Соотношение (10.55) является математическим выражением правила Лёвшина и легко преобразуется к виду:

$$\Delta\nu = \nu_a - \nu_f = 2(\nu_a - \nu_0). \quad (10.56)$$

Если на оси абсцисс откладывать значения ν_a , на оси ординат — значения $\Delta\nu$, то при зеркальной симметрии спектров поглощения и флуоресценции должна получиться прямая с тангенсом угла наклона, равным 2.

Зеркальная симметрия спектров поглощения и флуоресценции характерна для сложных молекул и не наблюдается в случае простых молекул. Ее можно объяснить тем, что геометрия молекул мало меняется при электронном возбуждении, а расстояния между колебательными уровнями и вероятности переходов на них у молекул в основном и электронно-возбужденном состояниях близки.

Более строгое квантово-механическое обоснование правила Лёвшина было дано

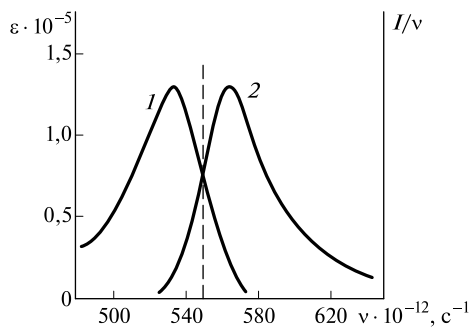


Рис. 10.55. Зеркальная симметрия спектров флуоресценции $I/\nu = f(\nu)$ (2) и поглощения $\epsilon = f(\nu)$ (1) родамина 6Ж в ацетоне

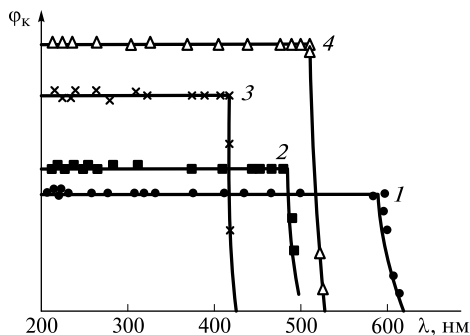


Рис. 10.56. Зависимость относительного квантового выхода флуоресценции некоторых веществ от длины волны возбуждающего излучения:

1 — родамин 6Ж; 2 — урановое стекло; 3 — гидросульфат хинина; 4 — флуоресцеин

Д. И. Блохинцевым. Он показал, что спектры поглощения и флуоресценции необходимо нормировать и строить в координатах $\epsilon/\nu = f(\nu)$ и $I/\nu^4 = f(\nu)$ соответственно.

Закон Вавилова устанавливает зависимость квантового выхода люминесценции от длины волны возбуждающего излучения. Согласно этому закону фотолюминесценция может сохранять постоянный квантовый выход, если возбуждающая волна преобразуется, в среднем, в более длинную, чем она сама. Напротив, выход фотолюминесценции резко уменьшается при обратном превращении длинных волн в короткие. На рис. 10.56 представлена зависимость квантового выхода флуоресценции некоторых веществ от длины волны возбуждающего излучения.

Закон Вавилова уточняет закон Стокса — Ломмеля и предусматривает возможность возникновения люминесценции при возбуждении ее излучением с большей длиной волны, чем излучение люминесценции (антистоксова область возбуждения). Такая возможность реализуется вследствие того, что молекулы до поглощения квантов возбуждения могут обладать значительным запасом колебательной энергии, которая, суммируясь с энергией поглощенных квантов, может приводить к излучению квантов с большей энергией, чем энергия поглощенных квантов:

$$h\nu_l = h\nu_a + E_v, \quad (10.57)$$

где $h\nu_l$ — энергия фотона люминесценции; $h\nu_a$ — энергия поглощенного фотона; E_v — энергия колебательного движения молекулы.

Закон затухания является одним из основных законов молекулярной люминесценции. Согласно этому закону интенсивность люминесценции после прекращения возбуждения падает со временем по экспоненциальному закону:

$$I_t = I_0 \exp(-t/\tau), \quad (10.58)$$

где I_t — интенсивность люминесценции в момент времени t ; I_0 — интенсивность люминесценции в момент прекращения возбуждения; τ — продолжительность люминесценции (среднее время жизни возбужденного состояния).

При $t = \tau$ имеем

$$I_\tau = I_0/e = I_0/2,72 \sim 0,37 I_0. \quad (10.59)$$

Таким образом, при экспоненциальном затухании люминесценции весь ход процесса свечения определяется продолжительностью люминесценции.

Интенсивность люминесценции и концентрация люминофора

Если интенсивность люминесценции характеризовать числом квантов, испускаемых люминофором в единице объема в единицу времени, то в соответствии с основным законом поглощения и определением квантового выхода люминесценции зависимость интенсивности люминесценции I от концентрации люминофора C в растворе выражается уравнением

$$I = \varphi_k I_0 (1 - T) = \varphi_k I_0 (1 - 10^{-kIC}), \quad (10.60)$$

где φ_k — квантовый выход; I_0 — мощность возбуждающего излучения (число возбуждающих квантов, действующих на единицу объема раствора люминофора в единицу времени); T — пропускание люминофора при длине волны возбуждающего излучения; k — коэффициент поглощения люминофора при длине возбуждающего излучения; l — толщина слоя раствора.

Если доля поглощенного люминофором возбуждающего излучения мала ($kIC < 0,05$), формула (10.60) упрощается:

$$I = 2,303 \varphi_k I_0 kIC. \quad (10.61)$$

Таким образом, интенсивность люминесценции пропорциональна квантовому выходу люминесценции, мощности возбуждающего излучения, коэффициенту поглощения и концентрации люминофора. Формула (10.61) лежит в основе количественного люминесцентного анализа. Зависимость интенсивности люминесценции от концентрации люминофора часто сохраняет линейный характер в пределах трех-четырех порядков концентрации. Отклонения от линейности вызваны рядом причин: невыполнением соотношения $kIC < 0,05$; явлением концентрационного тушения, ограничивающим верхний диапазон линейности концентрация на уровне $\sim 10^{-4}$ моль/л; эффектом внутреннего фильтра; эффектом самопоглощения (реабсорбции).

Эффект внутреннего фильтра связан с поглощением части возбуждающего излучения при прохождении через слой люминофора. Это вызывает снижение интенсивности люминесценции. Под *самопоглощением* понимают поглощение люминофором части люминесцентного излучения. Это явление характерно для любых методов анализа, основанных на испускании фотонов. С ним мы уже сталкивались при рассмотрении атомно-эмиссионной спектроскопии (см. подразд. 10.3.2). Самопоглощение минимально для слабопоглощающих растворов, а также если возбуждение люминесценции проводят при длине волны, соответствующей максимуму поглощения люминофора.

Тушение люминесценции

Выход люминесценции зависит от концентрации люминофора в растворе, температуры, наличия посторонних веществ. Уменьшение выхода люминесценции под влиянием этих факторов называют *тушением люминесценции*.

Концентрационное тушение. В практике люминесцентного анализа прежде всего следует учитывать влияние концентрации люминофора, так как при больших концентрациях наблюдается эффект концентрационного тушения. Указан-

ный эффект начинает проявляться с некоторой «пороговой» концентрации C_0 , при этом имеет место экспоненциальная зависимость выхода люминесценции от концентрации:

$$\varphi = \varphi_0 \exp[-\vartheta(C - C_0)], \quad (10.62)$$

где φ_0 — выход люминесценции при бесконечном разбавлении; ϑ — константа.

«Пороговая» концентрация C_0 и константа ϑ специфичны для различных веществ. При $C = C_0$ имеем $\varphi = \varphi_0 = \text{const}$. Эффект концентрационного тушения обратим: при разбавлении концентрированных растворов выход люминесценции вновь достигает максимального значения, указывая на отсутствие сложных физико-химических превращений молекул люминофоров.

Уменьшение выхода люминесценции с увеличением концентрации люминофора вызвано, с одной стороны, ассоциацией молекул люминофора с образованием нелюминесцирующих агрегатов различного состава (механизм молекулярной ассоциации), а с другой — миграцией энергии от возбужденных молекул к невозбужденным (механизм миграции энергии).

Температурное тушение. Повышение температуры вызывает уменьшение выхода флуоресценции и фосфоресценции. Это связано с тем, что безызлучательная дезактивация электронно-возбужденных состояний осуществляется преимущественно при соударениях излучающих молекул, а частота таких соударений в растворах прямо пропорциональна температуре. Охлаждение, наоборот, увеличивает выход флуоресценции и фосфоресценции. В области температуры 20°C выход флуоресценции обычно возрастает на несколько процентов при уменьшении температуры на 1°C . Увеличение выхода флуоресценции по мере охлаждения раствора наблюдается до того момента, когда температура и вязкость раствора становятся благоприятными для испускания квантов фосфоресценции. При дальнейшем охлаждении раствора выход флуоресценции остается постоянным, а выход фосфоресценции возрастает до тех пор, пока сумма выходов не приблизится к единице.

Тушение посторонними веществами. Выход люминесценции может уменьшаться в присутствии посторонних веществ, называемых *тушителями*. К наиболее активным тушителям люминесценции относятся: тяжелые анионы и катионы (Γ^- , Br^- , Cs^+ , Cu^{2+} и др.); парамагнитные ионы и молекулы (Mn^{2+} , O_2 и др.); молекулы растворителя. Взаимодействие тушителя с люминофором по своей природе может иметь либо химический (статическое тушение), либо физический (динамическое тушение) характер.

Статическое тушение обусловлено образованием нелюминесцирующего продукта взаимодействия люминофора с тушителем. В качестве примера можно привести тушение флуоресценции 2-(*o*-оксифенил)-бензоксазола ионами Cu^{2+} , вызванное образованием нефлуоресцирующего *бис*-комплекса.

Частным случаем статического тушения является концентрационное тушение, связанное с образованием нелюминесцирующих димеров и более крупных агрегатов молекул люминофора.

Динамическое тушение происходит, когда взаимодействие люминофора и тушителя имеет физический характер, а тушение люминесценции осуществляется за счет передачи энергии от электронно-возбужденных молекул люминофора к частицам тушителя.

Как для статического, так и для динамического тушения степень тушения люминесценции выражается уравнением

$$\Phi/\Phi_Q = 1 + K[Q], \quad (10.63)$$

где Φ , Φ_Q — выход люминесценции в отсутствие и в присутствии тушителя соответственно; K — константа тушения; $[Q]$ — концентрация тушителя.

В случае статического тушения константа K равна константе устойчивости β нелюминесцирующего комплекса, а в случае динамического тушения она определяется константами скоростей различных процессов дезактивации электронно-возбужденного состояния молекул люминофора. Если в присутствии тушителя поглощение люминофора не изменяется или изменяется незначительно, формулу (10.63) можно представить в виде

$$I/I_Q = 1 + K[Q], \quad (10.64)$$

где I , I_Q — интенсивность люминесценции соответственно в отсутствие и в присутствии тушителя.

10.4.4.2. Аппаратура и техника молекулярного люминесцентного анализа

Отличительной особенностью люминесцентного спектрометра является то, что в нем могут присутствовать два анализатора спектра: входной (первичный), выделяющий излучение определенного спектрального диапазона из потока света внешнего источника, и выходной (вторичный), выделяющий некоторый диапазон люминесцентного излучения образца. Изменяя длину волны входного анализатора, регистрируют спектры возбуждения люминесценции, а изменяя длину волны выходного анализатора — спектры люминесценции. Существуют и специальные методы анализа (синхронная и трехмерная люминесцентная спектроскопия), основанные на одновременном изменении длин волн как возбуждающего, так и люминесцентного излучения.

Отметим, что в отличие от спектрофотометрии в люминесцентном анализе степень монохроматичности внешнего источника излучения (в соответствии с правилом Кáши и законом Вавилова) не влияет на форму зависимости аналитического сигнала от концентрации. Поэтому входной анализатор спектра может и отсутствовать.

К источникам излучения в люминесцентном анализе предъявляют два основных требования. Во-первых, они должны давать излучение того спектрального диапазона, который поглощается образцом. Во-вторых, интенсивность этого излучения должна быть достаточно велика, поскольку аналитический сигнал — интенсивность люминесцентного излучения I — прямо пропорционален интенсивности источника излучения I_0 (см. уравнение (10.61)). Последнее обстоятельство составляет принципиальное отличие люминесцентных методов анализа от абсорбционных, для которых аналитический сигнал — оптическая плотность — представляет собой относительную величину и не зависит от интенсивности источника излучения.

Как правило, люминофоры поглощают излучение в УФ или коротковолновой (синей) области видимого света. Поэтому в качестве источников излучения обычно применяют источники (непрерывного или линейчатого спектра), дающие

интенсивное излучение в этих областях: вольфрамовые лампы накаливания, дуговые ксенонные лампы, ртутные газоразрядные лампы. Анализаторы спектра используют те же, что и в спектрофотометрии: светофильтры, дифракционные решетки или (редко) призмы.

Объектами люминесцентного анализа чаще всего служат растворы. Их помещают в кюветы, по конструкции аналогичные используемым в спектрофотометрии. Люминесцентное излучение обычно регистрируют под прямым углом к направлению излучения источника, чтобы исключить попадание последнего на детектор (фотоэлемент, фотодиод, фотоэлектронный усилитель).

С точки зрения общей методологии люминесцентный анализ весьма схож со спектрофотометрическим. Здесь также, как правило, проводят предварительную химическую реакцию определяемого вещества с целью селективного образования люминесцирующего (в спектрофотометрии — окрашенного) продукта. Очень часто применяемые для этого реагенты обладают собственной люминесценцией. Если спектры люминесценции реагента и продукта реакции различаются значительно, можно проводить определение без отделения избытка реагента. В противном случае такое отделение необходимо.

Существуют и косвенные методики люминесцентного анализа, основанные на тушении люминесценции определяемым веществом (аналоги косвенных спектрофотометрических методик).

Количественный люминесцентный анализ базируется на уравнении (10.61). Линейность этой зависимости достигается лишь в том случае, если содержание определяемого компонента в образце не превышает некоторого порогового значения: $10^{-4} - 10^{-3}$ моль/л (для жидких образцов) и $10^{-4} - 10^{-3} \%$ (для твердых образцов).

Проведение количественного люминесцентного анализа осложняется тем, что интенсивность люминесценции зависит не только от содержания определяемого вещества в образце, но и от других факторов: тушения люминесценции, эффекта внутреннего фильтра, pH среды и др. В связи с этим следует строго соблюдать рекомендации, касающиеся подготовки образцов, а также условия возбуждения и регистрации спектров люминесценции.

По сравнению со спектрофотометрией люминесцентный метод имеет существенные преимущества. Прежде всего, чувствительность люминесцентного метода гораздо выше фотометрического. Это связано с тем, что в люминесцентном методе определяют абсолютное значение потока излучения, испускаемого возбужденной молекулой, и, таким образом, отношение полезного сигнала к шуму очень велико. В противоположность фотометрическому методу (где измеряют отношение двух потоков излучения) в люминесцентном методе регистрируемая сила фототока, пропорциональная интенсивности люминесценции, может быть многократно усилена электронным усилителем. Последнее обстоятельство позволяет определять количества вещества на один-два порядка меньше, чем в фотометрическом методе анализа.

Другое преимущество заключается в относительно высокой селективности люминесцентного метода анализа, поскольку сравнительно небольшое число веществ способно люминесцировать.

Процедуру люминесцентного анализа многокомпонентных проб удастся значительно упростить, применяя специальные методы — метод синхронной люминесценции, а также метод матричной изоляции, основанный на использовании

квазилинейчатых спектров люминесценции (эффект Шпольского). Эти методы обладают высокой селективностью и позволяют избежать длительной и трудоемкой стадии разделения компонентов.

Люминесценцию применяют для обнаружения и определения следовых количеств веществ. С люминесцентным методом могут конкурировать лишь более селективные методы анализа — эмиссионная спектроскопия или масс-спектропия.

10.4.4.3. Применение люминесцентной спектроскопии

В неорганическом люминесцентном анализе наиболее распространены методы с использованием органических реагентов. Здесь есть свои особенности, отличные от молекулярной абсорбционной спектроскопии. Основная из них — более резко выраженная зависимость спектрально-люминесцентных свойств комплекса металла от природы и взаимного расположения электронных уровней лиганда и иона металла-комплексобразователя.

Требуемая селективность обеспечивается изменением кислотности раствора, введением маскирующих агентов, отделением определяемого элемента от мешающих компонентов экстракцией и т. п. Наиболее распространенными люминесцентными реагентами являются 8-гидроксихинолин и его производные, оксиазосоединения и оксиазометиновые соединения, полиоксифлавоны, родаминовые красители.

Люминесценцию, в формировании спектра излучения которой принимают участие электронные уровни иона металла-комплексобразователя, называют *собственной*. Таким свечением обладают соединения уранил-иона (рис. 10.57). Независимо от природы лигандов (неорганические, органические) в спектре излучения их комплексов (450 — 650 нм) наблюдается несколько характерных полос. Лиганд оказывает влияние только на соотношение их интенсивностей. Подобра

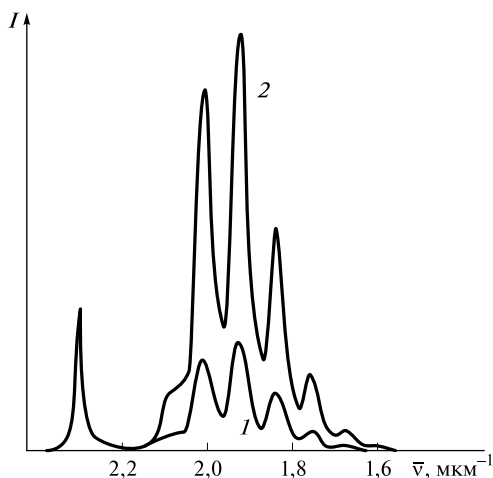


Рис. 10.57. Спектры люминесценции раствора уранил-ионов в 0,05 (1), 2,5 (2) М серной кислоте

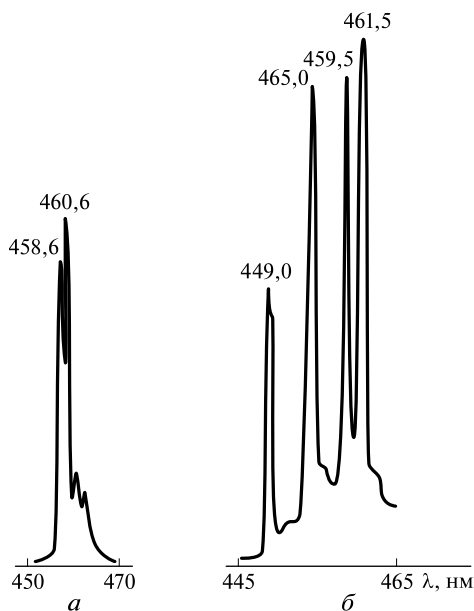


Рис. 10.58. Спектры люминесценции кристаллофосфоров, содержащих ионы Tm^{3+} в матрицах LaOCl (а) и YOF (б), в области 445—470 нм

подходящую длину волны регистрации излучения, можно добиться высокой селективности. Большие значения квантовых выходов люминесценции соединений уранил-ионов (часто Φ_k) и достаточно интенсивное поглощение в области 200—300 нм позволяяют определять до 10^{-4} мкг/мл урана. Для определения урана применяют люминесценцию растворов UO_2^{2+} в $\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$, HF , H_3PO_4 , H_2SO_4 .

В аналитической практике применяют люминесценцию кристаллофосфоров, основой которых служат оксиды, сульфиды, фториды, силикаты, фосфаты металлов II, III, IV групп Периодической системы (определение лантаноидов с числом $4f$ -электронов от 1 до 13 — от церия до иттербия) и фосфаты, карбонаты, фториды щелочных и щелочноземельных металлов, чаще всего фторид урана (определение урана). Спектры излучения кристаллофосфоров также характерны (рис. 10.58); методики высокоселективны и чувствительны, но обладают

меньшей воспроизводимостью по сравнению с методиками определения лантаноидов и урана в жидких растворах.

Люминесценция соединений уранил-ионов и лантаноидов обусловлена внутренними электронами, которые не принимают участия в комплексообразовании. Напротив, s -, p -, d -орбитали ионов взаимодействуют с орбиталями лигандов, что приводит к значительному температурному тушению люминесценции соединений этих элементов, и их излучение наблюдается лишь при глубоком охлаждении. В аналитической практике для этой цели чаще всего используют жидкий азот (77 К). Классическим примером низкотемпературной собственной люминесценции является люминесценция галогенидных комплексов так называемых ртутеподобных ионов (Tl(I) , Sn(II) , Pb(II) , As(III) , Sb(III) , Bi(III) , Se(IV) , Te(IV)), электронная структура которых подобна электронной структуре атома ртути. С использованием различий в условиях возбуждения и регистрации люминесценции (рис. 10.59), а также зависимости излучения от природы галогенид-ионов и температуры разработаны высокоэффективные методы определения этих элементов в полупроводниковых материалах и веществах особой чистоты.

Существуют и другие примеры применения собственной люминесценции в анализе, основанные, например, на излучении комплексов Cu(I) и Au(I) с пиридином и его производными, тиоцианатов хрома(III), соединений платиновых металлов в низших степенях окисления с 1,10-фенантролином, 2,2'-бипиридилом.

По чувствительности фотолюминесцентные методы определения неорганических соединений сравнимы, а иногда и превосходят оптические атомно-спектроскопические, выгодно отличаясь от них меньшей стоимостью аппаратуры. Однако не всегда удается достичь требуемой селективности. Высокой селективностью

обладают методы, основанные на собственной люминесценции, но число элементов, для которых характерен такой вид свечения, ограничено.

Люминесцентное определение органических соединений основано главным образом: 1) на прямых методах анализа по флуоресценции или фосфоресценции с использованием различий в условиях возбуждения и излучения определяемого соединения и сопутствующих компонентов; 2) эффекте Шпольского; 3) измерении фосфоресценции при комнатной температуре. Два последних способа мы рассмотрим подробно.

Эффект Шпольского — возникновение квазилинейчатых спектров люминесценции и поглощения сложных органических молекул в специально подобранных растворителях, размеры молекул которых приблизительно совпадают с размерами молекул люминофора (чаще всего это *n*-парафины) при низких температурах (жидкий азот — 77 К, или жидкий гелий — 4,2 К). В таких условиях исследуемые молекулы изолированы друг от друга и жестко закреплены в растворителе. Вследствие этого их электронно-колебательные спектры испускания и поглощения состоят не из широких полос, а из серий узких спектральных линий, напоминающих атомные спектры (их называют квазилинейчатыми спектрами), и обладают ярко выраженной индивидуальностью. Такие спектры наиболее характерны для полициклических ароматических углеводородов (рис. 10.60).

Методы анализа, основанные на эффекте Шпольского, позволяют определять одновременно несколько индивидуальных соединений (главным образом полициклических ароматических углеводородов) в их смеси с абсолютным пределом обнаружения до 10^{-11} г.

Квазилинейчатые спектры удается получить для ограниченного числа органических соединений. Для большинства соединений спектры излучения обладают слабо выраженной структурой. Получить более характеристичные спектры мож-

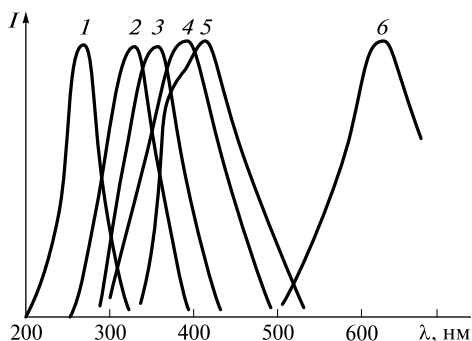


Рис. 10.59. Нормированные спектры возбуждения люминесценции (1—3), спектры люминесценции (4—6) хлоридных комплексов Pb(II) (1, 4), Bi(III) (2, 5), Te(IV) (3, 6) при температуре 77 К и $C_{\text{HCl}} = 2$ моль/л

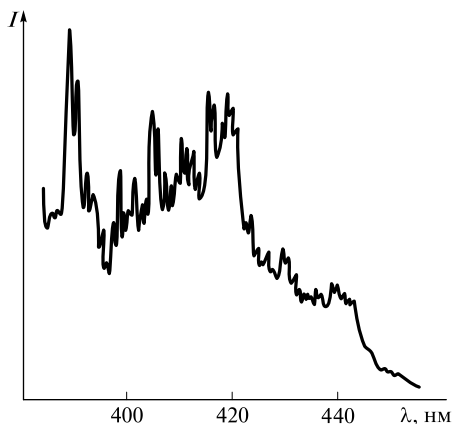


Рис. 10.60. Спектр флуоресценции 10^{-4} М раствора пирена в *n*-гексане, содержащем 10 об. % циклогексана, при температуре 77 К (возбуждение при 313 нм; вторичный монохроматор со стеклянной призмой: полуширина пропускания 0,17 нм при 400 нм)

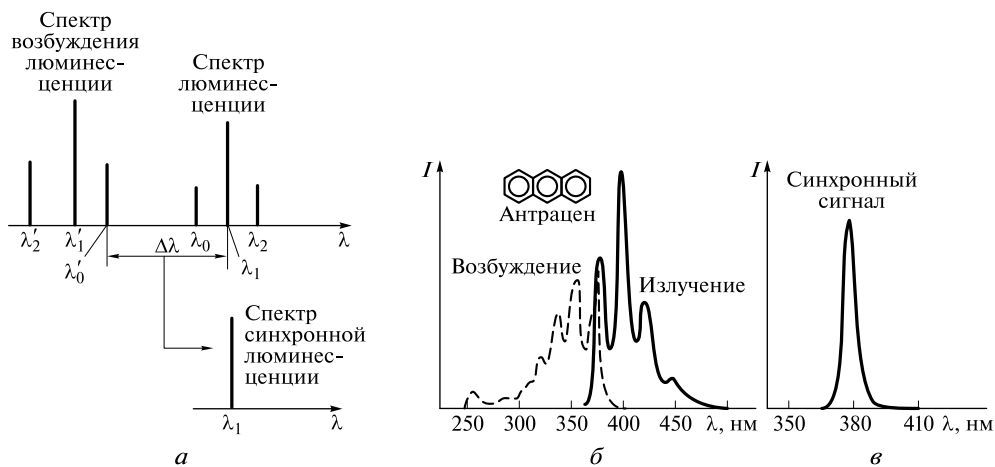


Рис. 10.61. Схема возникновения спектров синхронной люминесценции (а); спектры возбуждения флуоресценции, спектры флуоресценции (б) и спектры синхронной флуоресценции (в) антрацена

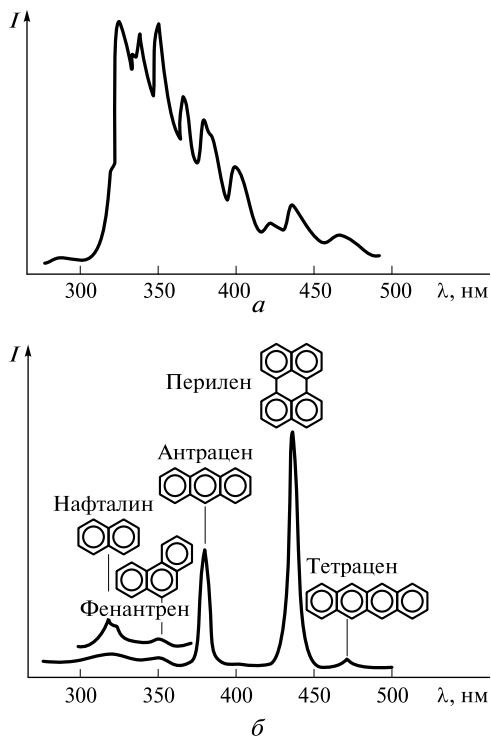


Рис. 10.62. Обычный (а) и синхронный (б) спектры флуоресценции смеси нафталина, фенантрена, антрацена, перилена и тетрацена

но, используя синхронное сканирование. Это — специфическая особенность метода молекулярной люминесцентной спектроскопии. При одновременном сканировании монохроматоров возбуждения излучения и излучения с некоторым постоянным сдвигом $\Delta\lambda$ в спектре синхронной люминесценции гипотетического соединения сигнал появится только при одновременном совпадении положения по длинам волн монохроматора возбуждения излучения с максимумом полосы спектра возбуждения и положения монохроматора люминесценции с максимумом полосы спектра люминесценции. Соответствующие спектры антрацена приведены на рис. 10.61.

Применение синхронной люминесценции позволяет анализировать достаточно сложные по составу смеси (рис. 10.62).

Современная техника обработки информации позволяет получать трехмерные спектры (рис. 10.63). С использованием фотоприемников-видиконов можно измерить один такой спектр за время меньше 20 мс. Трехмерный спектр люминесценции легко может быть преобразован в двухмерный. Двухмерный спектр возбуждения люминесценции представляет собой набор горизонтальных сечений соответствующего трехмерного спектра (рис. 10.64). Двухмерные спектры напоминают отпечатки пальцев (их так часто и называют), они индивидуальны для каждого соединения, их используют для быстрой идентификации органических соединений.

Еще одно интенсивно развивающееся направление в люминесцентном органическом анализе — фосфоресценция при комнатной температуре. Появление фосфоресценции при комнатной температуре связано с уменьшением скорости тушения кислородом триплетных состояний молекул сорбированных органических соединений. Это уменьшение обусловлено снижением подвижности молекул вследствие образования водородных или более прочных связей сорбат — сорбент. Для увеличения эффективности фосфоресценции сорбент обрабатывают солями серебра(I), таллия(I), ртути(I), бромидами, иодидами, перхлоратами щелочных металлов (эффект тяжелого атома). В качестве сорбентов обычно применяют фильтровальную бумагу, а также оксиды SiO_2 и Al_2O_3 . Измерение фосфоресцен-

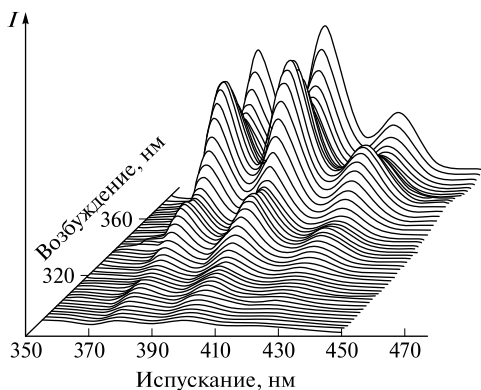


Рис. 10.63. Трехмерный спектр люминесценции антрацена в изометрической проекции

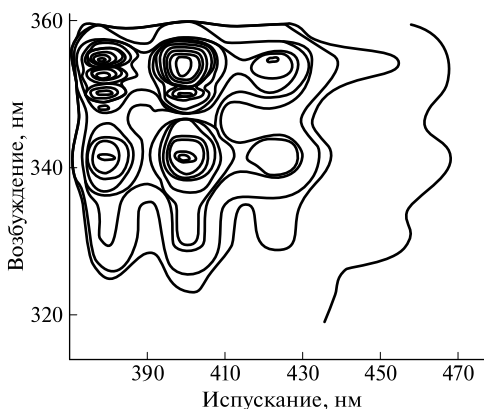


Рис. 10.64. Двухмерный спектр люминесценции антрацена в виде контурной карты

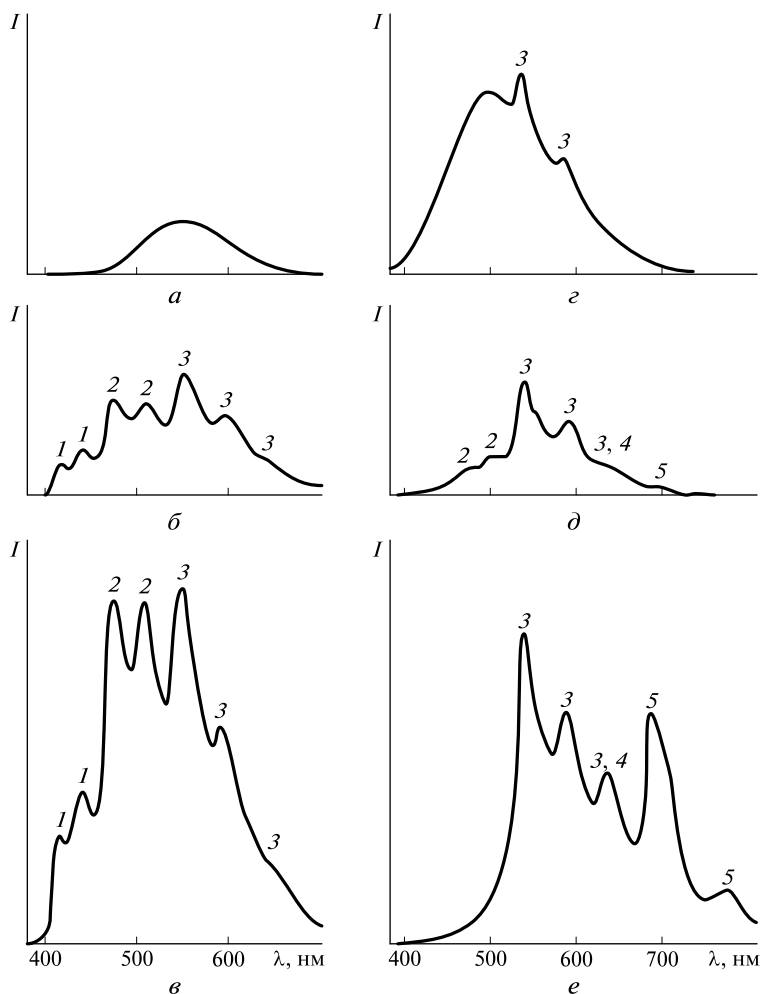


Рис. 10.65. Спектры флуоресценции при комнатной температуре ароматических углеводородов, сорбированных на фильтровальной бумаге: карбазола (1), дибензокарбазола (2), флуорантена (3), акридина (4), бенз[а]пирена (5) — в отсутствие тяжелых атомов (а) и в присутствии тяжелых атомов: NaBr (б), NaI (в), LiClO₄ (г), Pb(CH₃COO)₂ (д, е) при длине волны возбуждения флуоресценции $\lambda = 330$ (а—д), 390 (е) нм

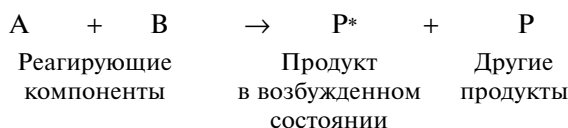
ции при комнатной температуре расширяет круг определяемых с высокой чувствительностью N-, O-, S-содержащих ароматических соединений за счет тех, которые плохо или совсем не флуоресцируют, и — что самое главное — позволяет повысить селективность люминесцентного анализа, поскольку эффект тяжелого атома достаточно специфичен.

На рис. 10.65 приведены спектры флуоресценции при комнатной температуре полициклических ароматических углеводородов, сорбированных на фильтровальной бумаге с последующей ее обработкой некоторыми солями, в состав которых входят тяжелые атомы.

10.4.4.4. Хемилюминесцентный анализ

В ходе химического процесса возможно превращение части химической энергии в энергию возбуждения продуктов реакции. Излучательная дезактивация образовавшихся возбужденных частиц называется *хемилюминесценцией*. Хемилюминесценция может возникать и непосредственно в элементарных актах химического процесса без промежуточного образования возбужденных частиц. Общим для всех хемилюминесцентных реакций является наличие экзотермических элементарных актов, в которых выделяется количество энергии, достаточное для возбуждения свечения в области спектральной чувствительности применяемого приемника излучения. Для возбуждения хемилюминесценции в видимой области спектра требуется энергия ≥ 160 кДж/моль. Экзотермические акты со столь большой энергией наблюдаются главным образом в радикальных, цепных, а также в окислительно-восстановительных реакциях, протекающих по свободно-радикальному механизму.

Хемилюминесценцию можно рассматривать как двухстадийный процесс, включающий возбуждение



и излучение



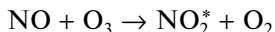
Интенсивность хемилюминесценции I_{cl} равна

$$I_{cl} = \Phi_{ex}\Phi_{fl}v,$$

где Φ_{ex} , Φ_{fl} — квантовый выход соответственно возбуждения хемилюминесценции и люминесценции продукта реакции P^* ; v — скорость реакции.

Неорганический хемилюминесцентный анализ основан на способности элементов с незаполненной d -оболочкой тушить флуоресценцию (уменьшать Φ_{fl}), катализировать (реже — ингибировать) хемилюминесцентную реакцию (увеличивать или уменьшать ее скорость v). Изменение интенсивности при этом пропорционально концентрации элементов. На практике чаще используют реакции окисления люминола или люцигенина (реже лофина и силоксена) пероксидом водорода в щелочной среде.

Для регистрации хемилюминесценции не нужен монохроматор (спектр хемилюминесценции в соответствии с реакциями не зависит от природы металла) и, что самое главное, не требуется внешний источник возбуждения излучения. Современные фотоэлектронные умножители позволяют регистрировать излучение с квантовым выходом до 10^{-15} . Нулевой характер измерения (отсутствие сигнала в контрольном опыте) делает хемилюминесцентный анализ очень чувствительным. Разработаны методики определения платиновых металлов, Fe, Co, Ni, Cu, Cr и других d -металлов с пределами обнаружения до 10^{-5} мкг/мл. Но эти методики, как правило, не обладают высокой селективностью. Бóльшей селективностью при высокой чувствительности (пределы обнаружения до 10^{-4} мг/м³) обладают хемилюминесцентные методики газового анализа: определение озона, оксидов азота и аммиака после их перевода в оксид NO.



в газовой фазе сопровождаются достаточно интенсивной хемилюминесценцией (квантовый выход $\sim 0,1$) с максимумом при 800 нм.

10.4.5. Нефелометрия и турбидиметрия

Термин «рассеяние» применительно к взаимодействию излучательной энергии с веществом описывает разнообразные явления. При этом всегда имеется в виду более или менее случайное изменение направления распространения падающего света. Рассеяние зависит от длины волны излучения, размера и формы рассеивающих частиц, а иногда от их расположения в пространстве.

Электромагнитная теория рассеяния детально разработана, но она слишком сложна для использования. В ограниченных областях можно допустить упрощения: различают *рэлеевское рассеяние* (при котором частицы малы по сравнению с длиной волны) и *рассеяние Тиндаля* (для крупных частиц). В обоих случаях длина волны падающего на образец света не изменяется (в отличие от комбинационного рассеяния; см. подразд. 10.4.3).

Согласно теории Рэля — Ми рассеяние малыми частицами обратно пропорционально длине волны в четвертой степени; вследствие рассеяния в основном частицами молекулярных размеров мы видим голубой цвет неба и красный цвет заката. Для химических систем показатель степени может меняться от -4 до -2 главным образом из-за наличия более крупных частиц, что указывает на постепенный переход от рэлеевского рассеяния к рассеянию Тиндаля.

Почти все аналитические измерения рассеяния связаны с видимым излучением. Пробу освещают интенсивным потоком I_0 (рис. 10.66), а затем, так же как в молекулярной абсорбционной спектроскопии, измеряют интенсивность прошедшего излучения I_t или определяют интенсивность излучения, рассеянного под определенным углом (например, под углом 90° — I_{90}). С ростом числа частиц в суспензии отношение I_t/I_0 уменьшается, а отношения вида I_{90}/I_0 увеличиваются, во всяком случае до умеренных концентраций. Для очень разбавленных суспензий измерение под углом гораздо чувствительнее, чем измерения, когда источник и приемник излучения находятся на одной линии, поскольку при этом можно наблюдать слабый рассеянный свет на темном фоне.

Метод, в котором используют линейное измерение, называют *турбидиметрией*, а метод с измерением под углом 90° (или под каким-либо другим углом) — *нефелометрией*.

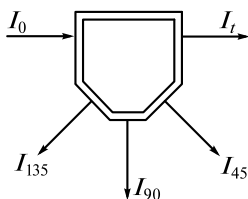


Рис. 10.66. Картина рассеяния (I_0 — интенсивность падающего потока; I_t — интенсивность прошедшего потока; I_{45} , I_{90} , I_{135} — интенсивности излучения, рассеянного под углами 45, 90, 135° соответственно)

Строгое математическое обоснование этих методов — довольно сложная задача, но в практической аналитической работе в нем нет необходимости. При турбидиметрических измерениях величина, называемая *мутностью*, соответствует оптической плотности и может быть определена из соотношения, аналогичного основному закону светопоглощения:

$$S = \lg(I_0/I) = k l N, \quad (10.65)$$

где S — мутность; k — коэффициент пропорциональности, называемый *коэффициентом мутности*; l — длина пути; N — число рассеивающих частиц в 1 мл.

Для турбидиметрических измерений можно использовать любой фотометр или спектрофотометр. Если растворитель и рассеивающие частицы бесцветны, максимальная чувствительность достигается при использовании излучения голубой или ближней ультрафиолетовой области. Для окрашенных систем оптимальную длину волны лучше всего подбирать экспериментально.

Используемое в нефелометрии уравнение должно связывать излучение, рассеиваемое под определенным углом наблюдения, концентрацию и другие переменные. В качестве рабочего соотношения лучше всего принять следующее:

$$I = K_\alpha C I_0, \quad (10.66)$$

где K_α — эмпирическая константа системы (α — угол, под которым проводят измерения); C — концентрация.

Конструкции приборов для нефелометрических и люминесцентных измерений идентичны, поэтому любой флуориметр можно использовать в качестве нефелометра. Поскольку длина волны при рассеянии не изменяется, необходимо во втором монохроматоре или светофильтре отпадает; однако если они имеются в приборе, то их следует настроить на длину волны падающего света. Многие серийные флуориметры снабжены специальными приспособлениями для нефелометрических измерений. Применение методов, основанных на измерении рассеяния света, ограничено прежде всего потому, что на измеряемый сигнал сильно влияет размер частиц. Поэтому необходимо строгое соблюдение идентичности условий построения градуировочного графика и анализа исследуемого раствора. Можно сказать, что и нефелометрия, и турбидиметрия могут быть полезными для селективных аналитических реакций, в результате которых образуется твердое соединение. Описаны методики определения аммиака иодидом ртути (реактив Несслера), фосфатов в виде малорастворимого соединения с молибденом и стрихнином, сульфата бария с пределами обнаружения 10^{-5} — 10^{-4} г/мл.

Более интересно применение методов, основанных на рассеянии света, для определения средней молекулярной массы полимеров в растворах. Для расчетов необходимо знать мутность, концентрацию, показатель преломления, длину волны, производную показателя по концентрации и так называемый второй вириальный коэффициент, являющийся мерой неидеальности раствора. Использование метода светорассеяния ограничено размерами молекул: они должны быть меньше длины волны. Фотометры для измерения светорассеяния высокомолекулярных соединений выполняют разнообразные функции, позволяют проводить наблюдения под несколькими углами и снабжены набором кювет и поляризаторами, которые дают возможность получить информацию о форме частиц.

Еще одно направление практического использования таких методов — это применение лазеров для дистанционного определения. Степень уменьшения ин-

тенсивности лазерного потока (см. рис. 10.51) пропорциональна числу частиц, содержащихся в воздухе. Из небольшого лазера и фотоэлемента можно собрать чувствительный детектор, с помощью которого легко уловить несколько микрограммов частиц дыма диаметром $0,1 - 1,0$ мкм в 1 м^3 воздуха.

10.4.6. Спектроскопия диффузного отражения

Основы метода. О поглощении излучения непрозрачным дисперсным образцом можно судить по диффузному отражению излучения от этого образца. Теория диффузного отражения была развита в работах М. М. Гуревича, Б. Кубелки и Ф. Мунка. Авторами теории рассмотрен случай отражения излучения от плоской поверхности бесконечно толстого слоя дисперсного образца, рассеивающего и поглощающего излучение, и получено уравнение, связывающее относительный коэффициент диффузного отражения R_r с коэффициентом поглощения при отражении K_r и коэффициентом рассеяния S :

$$F = \frac{(1 - R_r)^2}{2R_r} = \frac{K_r}{S}, \quad (10.67)$$

где F — функция Гуревича — Кубелки — Мунка; $R_r = I_{\text{об}}/I_{\text{ст}}$ ($I_{\text{об}}$, $I_{\text{ст}}$ — поток излучения, отраженный исследуемым образцом и непоглощающим стандартом (MgO , NaCl) соответственно).

В соответствии с положениями теории диффузного отражения

$$K_r \sim kC, \quad (10.68)$$

где k — коэффициент поглощения этого вещества; C — концентрация поглощающего вещества в образце.

Из выражений (10.67), (10.68) следует, что функция F связана линейно с концентрацией вещества в образце, а зависимость $F = f(\lambda)$ подобна спектру поглощения этого вещества. На диффузное отражение оказывает влияние ряд факторов, основными из которых являются зеркальное отражение, размер частиц дисперсного образца, его влажность.

Отраженное излучение включает две компоненты: зеркальное отражение (подчиняющееся соответствующему закону оптики) и диффузное отражение. Для устранения зеркальной составляющей отражение измеряют, используя скрещенные поляризаторы или разбавляя исследуемый образец не поглощающим излучением стандартом, например оксидом магния.

Полосы спектра диффузного отражения обычно уширяются с увеличением размера частиц дисперсного образца. При уменьшении их размера функция F увеличивается, что связано с уменьшением коэффициента рассеяния S . По этой же причине увеличивается диффузное отражение сухих образцов по сравнению с влажными.

Выше отмечалось, что уравнение (10.67) получено в предположении бесконечно толстого слоя дисперсного образца. Для мелких порошков, диаметр частиц которых составляет $\sim 10^{-6}$ м, уравнение (10.67) выполняется уже при толщине слоя порошка несколько миллиметров (обычно 4 мм и более). В тех случаях, когда толщина слоя дисперсного образца мала, а также малы концентрация поглоща-

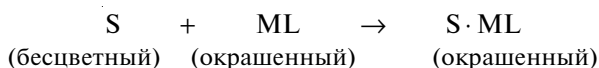
ющего вещества в образце или коэффициент поглощения этого вещества, излучение проходит через образец и в формировании выходного сигнала (относительного коэффициента диффузного отражения R_r) принимает участие дно кюветы. Поэтому в случае регистрации спектров диффузного отражения бумажных хроматограмм рекомендуется стандартизовать условия измерения, применяя одну и ту же непоглощающую излучение подложку (фторопласт, полиэтилен).

Измерение спектров диффузного отражения осуществляют с помощью приставок, выпускаемых к спектрофотометрам.

Применение спектроскопии диффузного отражения. Впервые спектры диффузного отражения использовали для количественного определения адсорбированных веществ после их хроматографического или электрофоретического разделения на бумаге.

В последние годы широкое распространение получил сорбционно-фотометрический метод анализа. Он основан на сорбционном концентрировании определяемого компонента в виде окрашенного соединения и последующем измерении диффузного отражения сорбента. Для получения окрашенных соединений в матрице применяют разные способы:

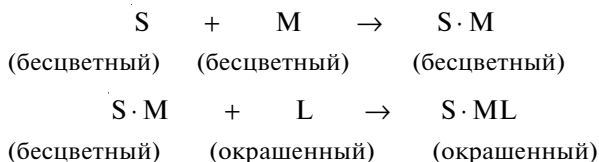
- сорбция окрашенного продукта реакции ML определяемого компонента с подходящим аналитическим реагентом (S — сорбент):



- сорбция определяемого компонента M аналитическим реагентом S · L, иммобилизованным на сорбенте, сопровождающаяся образованием окрашенного соединения:



- сорбция бесцветного определяемого компонента M и последующая обработка сорбента подходящим аналитическим реагентом L для получения окрашенного соединения:



Первые два способа применяют в тех случаях, если реакции образования окрашенных соединений достаточно селективны. Третий способ позволяет повысить селективность определения за счет предварительного отделения определяемого компонента.

В качестве сорбентов применяют неокрашенные кремнеземы, целлюлозы, пенополиуретаны и органополимерные сорбенты. Аналитические реагенты и требования к ним такие же, как и в традиционном методе молекулярной абсорбционной электронной спектроскопии (см. подразд. 10.4.2). Есть и специфическое требование — высокая селективность сорбционных процессов.

Разработаны многочисленные методики сорбционно-фотометрического определения в воде тяжелых металлов, органических загрязнителей (фенолов, поверх-

ностно-активных веществ и др.), окислителей (свободного активного хлора, нитрит- и нитрат-ионов и др.).

Предел обнаружения веществ методом диффузного отражения составляет 10^{-10} моль/г. С учетом массы сорбента, необходимого для измерения диффузного отражения: сыпучие пористые сорбенты типа пенополиуретана — 0,5 г, бумажные фильтры — 0,02 г, абсолютные пределы обнаружения веществ молярной массой ~ 100 г/моль достигают значений порядка 10^{-2} и 10^{-3} мкг соответственно.

10.4.7. Оптико-акустическая спектроскопия

Если доля поглощенной образцом лучистой энергии мала, более удобным оказывается не измерение отношения интенсивностей падающего и прошедшего излучения (как в спектрофотометрии), а непосредственная регистрация поглощенной энергии оптико-акустическим методом. Этот метод основан на использовании оптико-акустического эффекта, проявляющегося в пульсациях давления газа в замкнутом объеме при поглощении лучистого потока, модулированного на звуковой частоте (рис. 10.67, а). Возникновение колебаний температуры, а следовательно, и давления объясняется периодической (с частотой модуляции) трансформацией энергии возбужденных электромагнитным излучением молекул газа в тепловую энергию газовой среды за счет столкновений возбужденных молекул с невозбужденными. Регистрация оптико-акустических колебаний (оптико-акустического сигнала) в газах осуществляют микрофоном, преобразующим звуковые колебания в электрические. Измерение энергии, поглощенной конденсированными системами, чаще всего осуществляют путем регистрации оптико-акустических сигналов в соприкасающемся с исследуемым образцом газе (обычно воздухе). Такой способ измерения поглощенной энергии конденсированными системами называют косвенным¹. Формирование оптико-акустического сигнала в газовой среде, окружающей образец, происходит за счет теплопередачи от поверхности образца молекулам газа. Оптические схемы, применяемые для регистрации оптико-акустического сигнала прозрачных и непрозрачных образцов, приведены на рис. 10.67, б, в.

Регистрируя значения оптико-акустического сигнала при различных длинах волн, получают оптико-акустический спектр образца. Блок-схема оптико-акустического спектрометра представлена на рис. 10.68.

Мощность поглощенной образцом лучистой энергии I_a определяется основным законом поглощения (10.10) и равна

$$I_a = I_0 - I = I_0(1 - 10^{-k l C}) = 2,303 k l C I_0 \quad (10.69)$$

при условии, что $2,303 k l C \ll 1$. В уравнении (10.69) величина l — длина пути, пройденного лучистым потоком в исследуемом образце. Из уравнения (10.69) следует, что интенсивность поглощенной энергии, а следовательно, и оптико-акустический сигнал зависят от мощности падающего на исследуемый образец излучения. Оптико-акустический спектрометр, изображенный на рис. 10.68, является однолучевым прибором, и, чтобы скомпенсировать колебания мощности из-

¹ Оптико-акустическую спектроскопию с косвенной регистрацией поглощенной энергии конденсированными системами часто называют *фотоакустической спектроскопией*.

лучения ксеноновой лампы, усилительно-регистрирующая система спектрометра измеряет отношение сигналов от микрофона и детектора.

Опико-акустический метод по существу является методом абсорбционной спектроскопии, поскольку основан на измерении поглощенной лучистой энергии, и поэтому опико-акустические спектры подобны абсорбционным спектрам. Уравнение (10.69) лежит в основе количественного анализа по опико-акустическим спектрам. Градуировочные графики в опико-акустическом методе сохраняют линейность в пределах 3—4 порядков концентраций.

Характерной особенностью опико-акустического метода по сравнению с традиционной абсорбционной спектроскопией является зависимость опико-акустического спектра как от абсорбционных свойств, так и от термодинамических параметров вещества. Это обстоятельство в определенной степени затрудняет интерпретацию опико-акустических измерений. Для обеспечения строгого соответствия между опико-акустическим спектром и абсорбционным спектром необходимо выполнение специальных требований, в частности, к частоте модуляции. При исследовании сильно поглощающих образцов при малых частотах модуляции существует опасность попадания в режим теплового насыщения, когда опико-акустический сигнал перестает зависеть от концентрации поглощающего вещества. Причиной теплового насыщения является ограниченная скорость передачи теплоты в образце от места поглощения кванта лучистой энергии до поверхности образца, где теплота передается окружающему образцу газу.

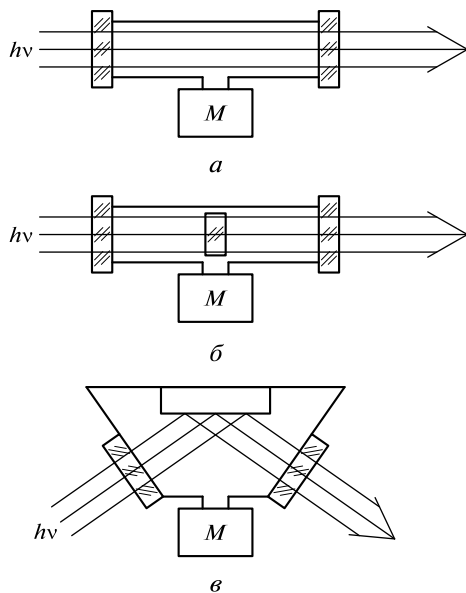


Рис. 10.67. Ячейки, используемые для регистрации опико-акустических спектров газов (а), прозрачных образцов (б), непрозрачных образцов (в) (М — микрофон)

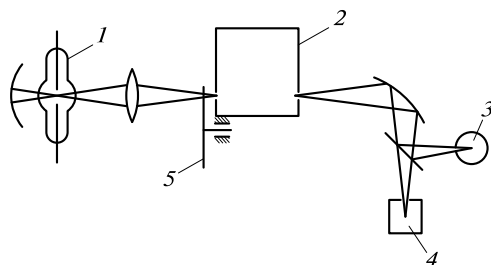


Рис. 10.68. Однолучевой опико-акустический спектрометр:

1 — ксеноновая лампа; 2 — монохроматор; 3 — детектор сравнения; 4 — опико-акустическая ячейка; 5 — модулятор

Если выполняется неравенство

$$2,303kC < \sqrt{\pi\omega/\alpha_s}, \quad (10.70)$$

(ω — частота модуляции, Гц; α_s — коэффициент термодиффузии, см²/с), то оптико-акустический сигнал пропорционален концентрации вещества.

Если же

$$2,303kC \geq \sqrt{\pi\omega/\alpha_s}, \quad (10.71)$$

то сигнал становится постоянным, т.е. имеет место насыщение. В оптико-акустических спектрометрах частота модуляции потока излучения обычно варьирует в пределах от нескольких десятков до нескольких тысяч герц.

В отсутствие теплового насыщения оптико-акустический сигнал пропорционален мощности падающего излучения. Это позволяет для повышения чувствительности оптико-акустического метода применять более мощные источники излучения — лазеры. Так, с помощью лазеров мощностью 1 Вт удалось обеспечить следующие пределы обнаружения веществ: в газовой фазе при атмосферном давлении на уровне 10^{-9} об. %; в растворах — 10^{-11} г/мл; в твердой фазе — 10^{-9} мас. %.

Применение лазеров позволило получать оптико-акустические сигналы в ИК области спектра. Оптико-акустический метод в ИК области оказался весьма эффективным при определении ультрамалых количеств веществ в воздухе.

По сравнению с традиционной абсорбционной спектроскопией оптико-акустический метод имеет ряд преимуществ:

- позволяет регистрировать спектры непрозрачных твердых образцов; особенно эффективным оказалось использование оптико-акустического детектирования в тонкослойной хроматографии;
- поскольку оптико-акустический сигнал обусловлен поглощением квантов лучистой энергии, он не подвержен влиянию рассеянного излучения; это обстоятельство обусловило широкое применение оптико-акустического метода при исследовании биологических и биохимических систем, обладающих склонностью к рассеянию излучения;
- высокая чувствительность позволяет регистрировать спектры образцов, обладающих весьма низким поглощением;

- меняя частоту модуляции потока излучения, можно проводить послойный анализ образцов по глубине с разрешением от 10^{-7} до 10^{-4} м и обнаруживать всевозможные включения на глубине.

На рис. 10.69 приведены оптико-акустические спектры листьев кабачка, имеющих слоистую структуру, при двух частотах модуляции. При $\omega = 10$ Гц спектр соответствует слою хлорофилла. Повышая частоту модуляции до $\omega = 240$ Гц, получают спектр расположенного ниже воскообразного слоя, обладающего характерным поглощением в УФ области.

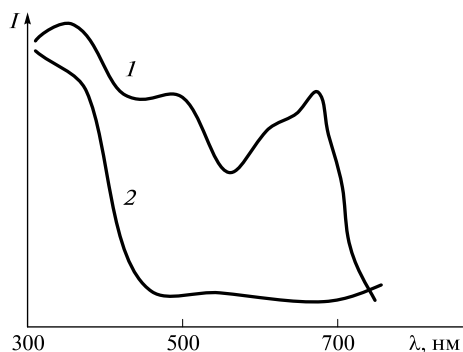


Рис. 10.69. Оптико-акустические спектры листьев кабачка при $\omega = 10$ (1), 240 (2) Гц

10.4.8. Термолинзовая спектроскопия

Выделение поглощенной энергии в виде теплоты в области взаимодействия излучения со средой может привести к локальным изменениям показателя преломления среды. По аналогии с оптико-акустическим эффектом это явление можно назвать *оптико-рефракционным эффектом*. Методы, основанные на регистрации изменений показателя преломления среды, вызванных поглощением ею электромагнитного излучения, принято называть *оптико-рефракционными*.

Из всех оптико-рефракционных методов наибольшее распространение в аналитической практике получил *метод термолинзы*. Сущность его заключается в следующем. При воздействии на поглощающую среду лазерного пучка (с гауссовским распределением мощности в поперечном сечении) в ней в результате локального нагрева устанавливается профиль температуры, при этом максимальный нагрев наблюдается в центре лазерного пучка, а при удалении от центра температура постепенно понижается до комнатной. Изменение температуры в поглощающей среде вызывает изменение показателя преломления среды в соответствии с распределением мощности в лазерном пучке. Из-за градиента показателя преломления в среде возникает оптический элемент, аналогичный по своему действию рассеивающей линзе и называемый *термолинзой*, или *тепловой линзой*. Результат действия термолинзы, как и любой оптической рассеивающей линзы, — изменение расходимости лазерного пучка лучей, т. е. при образовании термолинзы диаметр лазерного пучка увеличивается. Лазерный пучок как бы «расплывается», а плотность мощности в его сечении снижается.

Метод термолинзы может быть реализован на практике как с однолучевой, так и с двухлучевой схемой измерения. В однолучевой схеме (рис. 10.70) пучок лучей от лазера 1 фокусируется собирающим линзовым объективом 2 и направляется на образец 3. Измерение расходимости лазерного пучка, вызванной образовавшейся в образце термолинзой, регистрируют с помощью детектора излучения 5 — обычно фотодиода, перед которым размещают диафрагму 4, выделяющую центральную часть лазерного пучка. Измеряя в различные моменты времени потоки излучения, вырезаемого диафрагмой, можно получить информацию о поглощении среды:

$$\frac{I_0 - I_\infty}{I_\infty} = \frac{I(dn/dT)}{\lambda K} A, \quad (10.72)$$

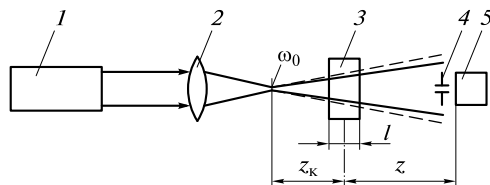


Рис. 10.70. Однолучевая схема для реализации метода термолинзы:

1 — лазер; 2 — линза; 3 — образец; 4 — диафрагма; 5 — детектор излучения (пунктирными линиями обозначены границы лазерного пучка после образования термолинзы)

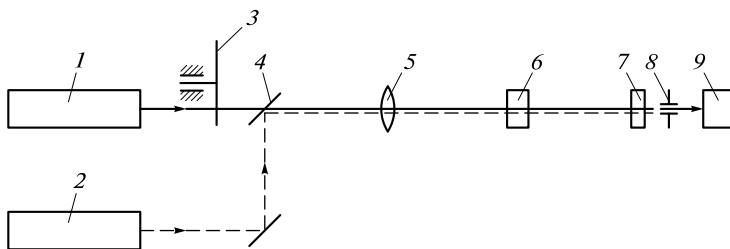


Рис. 10.71. Двухлучевая схема измерения по методу термолинзы:

1 — возбуждающий лазер; 2 — пробный лазер; 3 — модулятор; 4 — полупрозрачная пластинка; 5 — линза; 6 — образец; 7 — фильтр, пропускающий излучение пробного лазера; 8 — диафрагма; 9 — приемник излучения

где I_0 , I_∞ — регистрируемая детектором интенсивность потока лазерного излучения соответственно в начале облучения и в момент достижения стационарного значения, вызванного сформировавшейся термолинзой; Φ — мощность потока лазерного излучения, падающего на образец; dn/dT — температурный градиент показателя преломления; λ — длина волны лазерного излучения; K — коэффициент теплопроводности среды; A — оптическая плотность образца.

Выражение (10.72) справедливо, если исследуемый образец располагается на расстоянии $z_k = \pi\omega_0/\lambda$ от положения минимальной перетяжки ω_0 (рис. 10.70). Показатель z_k называют *конфокальным расстоянием*. Детектор излучения располагается на удалении $z = 0,5 - 1,0$ м от образца (см. рис. 10.70).

Как следует из выражения (10.72), термолинзовый эффект зависит от термооптических характеристик исследуемой среды — температурного градиента показателя преломления и теплопроводности. Наибольший термолинзовый эффект наблюдается в неполярных и малополярных органических жидкостях.

Приведенная на рис. 10.70 однолучевая схема довольно проста, но требует подбора определенного детектора излучения под каждый лазер и в ней трудно реализовать импульсный режим работы. Более универсальной, хотя и несколько сложной, является двухлучевая схема (рис. 10.71), в которой наведенная с помощью возбуждающего (индуцирующего) лазера термолинза регистрируется по расфокусировке пучка лучей пробного (зондирующего) лазера малой мощности. Первый лазер может работать как в импульсном, так и в непрерывном режиме (в этом случае используют модуляцию лазерного пучка). Излучение пробного лазера должно быть стабильным во времени. С точки зрения удобства регистрации в качестве пробного лазера обычно выбирают гелий-неоновый лазер.

Метод термолинзовой спектроскопии позволяет регистрировать значения оптических плотностей на уровне $10^{-8} - 10^{-7}$ и определять концентрации веществ до 10^{-11} моль/л. С помощью термолинзовой спектроскопии удалось снизить пределы обнаружения многих веществ на 3—4 порядка по сравнению с традиционной абсорбционной спектроскопией в УФ и видимой областях. В частности, разработаны методики определения редкоземельных элементов в почвах, природной воде, урановом топливе на уровне $10^{-7} - 10^{-6}$ моль/л. Концентрацию веществ в термолинзовой спектроскопии обычно определяют методом градуировочного графика. Его линейность сохраняется в пределах 3—4 порядков концентрации.

10.5. Радиоспектроскопические методы

10.5.1. Основы методов

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) является одним из наиболее эффективных методов исследования структуры химических соединений. Особенно привлекательны такие особенности спектроскопии ЯМР, как простота пробоподготовки, неинвазивность (измерения спектров не вносят никаких серьезных возмущений в структуру и состав исследуемых образцов) и огромная информационная емкость спектров ЯМР. Спектры ЯМР, обычно на ядрах ^1H и ^{13}C , дают первоначальную информацию о принадлежности соединения тому или иному классу, а часто и более полную информацию о структуре. Спектроскопию ЯМР можно рассматривать как метод качественного и количественного анализа, в том числе и многокомпонентных систем.

Спектроскопия ЯМР основана на явлении резонансного поглощения энергии высокочастотного электромагнитного поля ядрами атомов, магнитный момент которых не равен нулю. При этом частоты поглощения зависят от изотопной разновидности атома, а для данного изотопа — от положения атома в молекуле, т. е. от пространственного и электронного окружения.

Ядра — не только заряженные частицы, они также крошечные магниты. Ядра элементов характеризуются массой и зарядом. Кроме того, ядра некоторых изотопов могут иметь небольшие магнитные моменты μ . Приблизительно эти магнитные моменты могут быть представлены как квадратные рамки размером $0,1 \times 0,1$ нм, по которым движется ядерный заряд. Единицей магнитного момента служит *ядерный магнетон* ($\mu_{\text{я}}$):

$$\mu_{\text{я}} = eh/(4\pi Mc),$$

где e , h , c — фундаментальные постоянные (e — заряд электрона; h — постоянная Планка; c — скорость света); M — масса ядра.

Упрощенно возникновение ядерного магнитного момента иногда связывают с вращением заряда ядра под влиянием магнитного поля (рис. 10.72).

Магнитный момент ядра (ядерный магнетон) можно сравнить с магнитным моментом электрона (магнетоном Бора). Магнетон Бора определяется как величина, равная $eh/(4\pi mc)$, где m — масса электрона. Поскольку масса электрона более чем в 1 000 раз меньше массы ядра, магнитный момент электрона более чем в 1 000 раз превышает магнитный момент любого ядра.

Ориентации ядерных магнитных моментов дискретны (квантованы). Ядерные магнитные моменты взаимодействуют с внешним магнитным полем \mathbf{B}_0 так, что возможны только некоторые (дискретные) ориентации. Число ориентаций определяется квантовой характеристикой — спином. Спин может иметь целое или полуцелое значение — $1/2$, 1 , $3/2$ и т. д. Так, если ядро (например, протон) имеет спин $1/2$, то возникают две возможные ориентации магнитного момента относительно направления магнитного поля («по полю» и «против поля») (рис. 10.73). Этим двум ориентациям соответ-

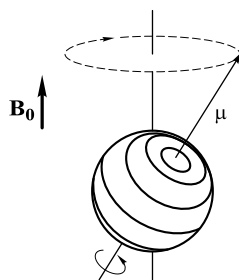


Рис 10.72. Модель вращающегося заряда, объясняющая наличие у ядра магнитного момента

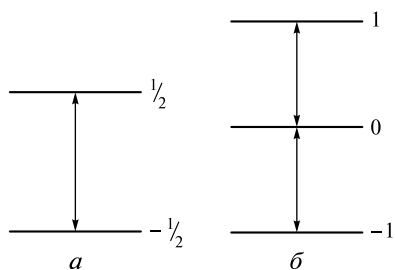


Рис 10.73. Проекция спина I на ось поляризующего поля z для ядер со спином $1/2$ (a) и 1 (б)

ствуют энергии $(-\mu/2)B_0$ и $(+\mu/2)B_0$. Таким образом, два уровня энергии разделены промежутком ΔE , равным μB_0 . С увеличением напряженности магнитного поля разность энергий уровней возрастает. Для ядра со спином 1 (например, ядер 2D , ^{14}N) возможны три ориентации: -1 , 0 , $+1$.

Магнитный резонанс возбуждается с помощью осциллирующего поля \mathbf{B}_1 с частотой ν , совпадающей с величиной $\mu B_0/h$. Для спина $1/2$ возникают два уровня и происходят переходы между этими двумя уровнями. Для спина 1 возникают три уровня. Обычные (одноквантовые)

переходы при этом происходят только между соседними уровнями.

Явление ЯМР заключается в переходах между уровнями, вызываемых наложением радиочастотных полей. Если на систему магнитных уровней перпендикулярно внешнему поляризирующему полю \mathbf{B}_0 наложить еще одно поле \mathbf{B}_1 , но не постоянное, а осциллирующее с частотой ν (Гц), так чтобы выполнялось условие резонанса

$$\Delta E = \mu B_0 = h\nu,$$

то между уровнями возникают резонансные переходы или обмен ориентациями. Резонансную частоту можно определить, зная фундаментальную характеристику ядра γ , которая называется *гиромагнитным отношением*:

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0.$$

Заслуга открытия явления ядерного магнитного резонанса принадлежит Е. К. Завойскому, Э. Перселлу и Ф. Блоху. Сначала удалось зарегистрировать существенно более сильное поглощение, связанное с наличием магнитного момента у электрона, — явление *электронного парамагнитного резонанса* (ЭПР). Это явление впервые в 1943 г. наблюдал казанский физик Е. К. Завойский. Он также делал попытки наблюдать явление ЯМР, однако слабость сигналов и плохая воспроизводимость результатов не позволили строго доказать наличие ЯМР. Несколько позднее (в 1944—1945 гг.) явление ЯМР удалось наблюдать двум американским физикам Э. Перселлу и Ф. Блоху. За это открытие они были удостоены в 1952 г. Нобелевской премии по физике.

Частоты ЯМР соответствуют диапазону радиоволн. Для создания большей поляризации нужны большие магнитные поля. Такие поля создают с помощью больших постоянных магнитов или электромагнитов. Однако железные магниты имеют ограниченную намагниченность, поэтому с их помощью можно достичь магнитных полей не более $2,0$ — $2,2$ Тл. В поле $2,2$ Тл резонансные частоты ядер составляют (МГц): 1H — 100 ; ^{13}C — $25,1$; ^{19}F — $94,1$; ^{29}Si — $19,86$; 2H — $15,35$; ^{14}N — $7,22$; ^{17}O — $10,13$. Такие частоты лежат в радиодиапазоне (1 — $1\,000$ МГц), поэтому метод ЯМР относят к радиоспектроскопическим методам. С помощью специальных магнитов — суперконов, использующих явление сверхпроводимости (т. е. явление достижения некоторыми материалами почти нулевого электрического сопротивления), можно достичь существенно больших полей. Так, для протонов

разработаны суперконы на частоты 200—800 МГц. В настоящее время проходят испытания суперконы для диапазона частот до 1 000 МГц.

По магнитным характеристикам ядра можно разделить на три группы — немагнитные, магнитные и квадрупольные. Некоторые ядра не имеют спина, поэтому они не проявляют магнитных свойств. К таким ядрам относятся ядра углерода ^{12}C , кислорода ^{16}O , кремния ^{28}Si и др. К магнитным ядрам относятся ядра со спином $1/2$, такие как протон (стабильный изотоп водорода ^1H), ядро углерода ^{13}C , фтора ^{19}F , кремния ^{29}Si и др. Ядра со спином 1 и больше называют квадрупольными. Эти ядра имеют не только дипольный момент, но и моменты более высоких порядков. Для них возможно наблюдение так называемых квадрупольных эффектов и ядерного квадрупольного резонанса. К числу квадрупольных ядер относят такие ядра, как дейтерий ^2H (или ^2D , $S = 1$), изотопы азота ^{14}N ($S = 1$), кислорода ^{17}O ($S = 5/2$), бора ^{10}B ($S = 3$) и ^{11}B ($S = 3/2$) и др.

10.5.2. Спектрометры ЯМР

Простейший спектрометр ЯМР использует непрерывную развертку. Схема простейшего спектрометра ЯМР с непрерывной генерацией радиочастот приведена на рис. 10.74. Спектрометр содержит магнит 1, катушку 2 приемопередающей радиочастотной системы (она является частью высокочастотного моста). Кроме того, необходим генератор высокой частоты 4, генератор низкой частоты 5, используемый для плавной развертки частоты, детектор сигналов ЯМР (высокочастотный мост 6 и усилитель 7), устройство для записи сигналов 8. Вещество по-

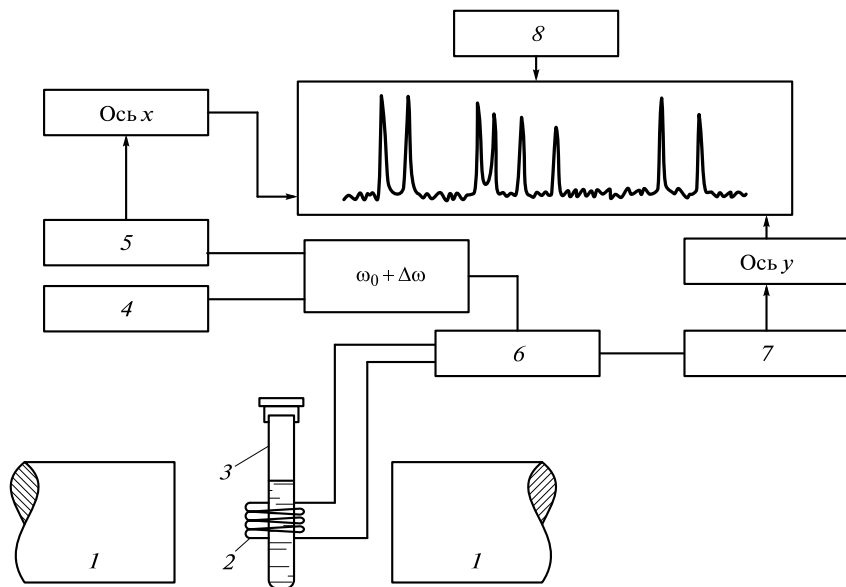


Рис. 10.74. Спектрометр ЯМР непрерывного типа:

1 — магнит; 2 — катушка; 3 — ампула с веществом; 4 — генератор высокой частоты ω_0 ; 5 — генератор низкой частоты $\Delta\omega = a\Delta t$; 6 — высокочастотный мост; 7 — усилитель; 8 — самопишущий потенциометр

мещают в ампулу 3. Стандартная ампула имеет диаметр 5 мм; в нее помещается около 0,5 мл исследуемого вещества. Резонансное поглощение образца приводит к нарушению баланса моста и регистрируется с помощью детектора. Развертка частоты используется для поиска резонансных условий. Через резонанс необходимо проходить достаточно медленно, так как при быстром прохождении ядра не успевают перераспределить энергию в спиновой системе, что вызывает искажения формы резонанса. Для прохождения достаточно большого спектрального диапазона требуется значительное время (иногда нескольких часов).

Современные спектрометры ЯМР используют импульсное возбуждение и фурье-анализ затухающих сигналов ЯМР. При облучении спиновой системы коротким радиочастотным импульсом продолжительностью τ (обычно несколько микросекунд) возбуждается не только несущая частота ν_0 , но и диапазон частот в пределах от $\nu_0 - 1/\tau$ до $\nu_0 + 1/\tau$. Все переходы, попадающие в этот диапазон, генерируют сигналы ЯМР. Эти сигналы представляют собой гармонические колебания. Однако такой сигнал (называемый индукцией ЯМР) живет недолго. Процессы перераспределения энергии внутри спиновой системы приводят к постепенному спаду этого сигнала. Постоянную T_2 времени этого процесса называют *временем спин-спиновой релаксации*. Дальнейшая задача состоит в том, чтобы зарегистрировать сигнал спада (т. е. провести выборку сигнала), затем преобразовать такой временной спад в частотную шкалу. Эту операцию в математике называют преобразованием Фурье. Соответственно спектрометры ЯМР с импульсным возбуждением получили название фурье-спектрометров (рис. 10.75). Образец помещают в сильное поляризующее магнитное поле. Однако в отличие от спектрометров непрерывного типа возбуждение в данном случае достигается с помощью мощного высокочастотного импульса. Этот импульс формируется с помощью генератора, управляемого компьютером. Компьютер также принимает сигнал после аналого-цифрового преобразователя, проводит фурье-преобразование сигналов из временного представления в частотное. Регистрацию сигналов можно проводить в форме обычного спектра с помощью цифроаналогового преобразователя.

Принципиальным элементом для фурье-спектрометра является компьютер. Поэтому ЯМР-фурье-спектроскопия возникла в начале 1970-х гг. сразу после по-

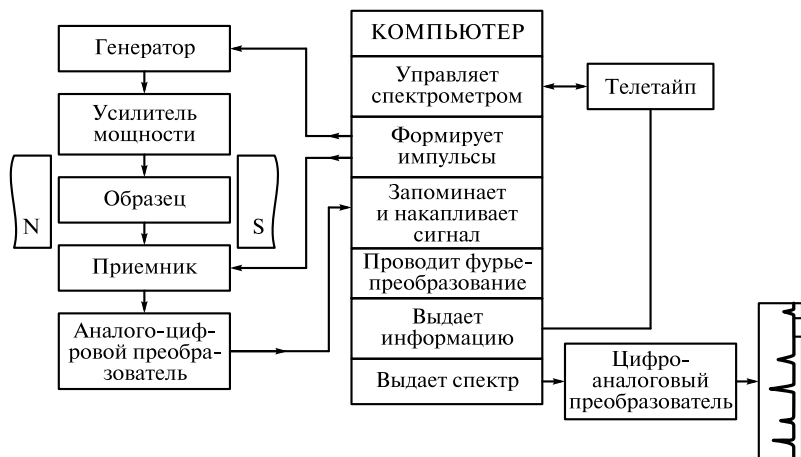


Рис. 10.75. Схема фурье-спектрометра ЯМР



Рис. 10.76. Общий вид спектрометра ЯМР фирмы «Bruker Avance III-600» с рабочей частотой 600 МГц

явления персональных компьютеров вслед за разработкой американским ученым Дж. Тьюки идеологии быстрого фурье-преобразования.

Современный спектрометр ЯМР стоит сотни тысяч долларов. Первый спектрометр ЯМР обошелся одному из создателей в сумму не более 100 долларов (по воспоминаниям лауреата Нобелевской премии по физике профессора Стенфордского университета Ф. Блоха). Современные спектрометры ЯМР разрабатываются крупными приборостроительными фирмами. Они представляют собой чудо технического прогресса. В качестве сложнейших составляющих спектрометра следует назвать магнит со сверхпроводящим соленоидом, требующим системы охлаждения (жидким азотом и жидким гелем), блок настройки магнитного поля и радиотехническую систему генераторов и усилителей, компьютер, который используется для приема и обработки сигналов. На рис. 10.76 представлен современный спектрометр ЯМР фирмы «Bruker» с рабочей частотой 900 МГц. Показаны только магнит на сверхпроводящем соленоиде и системный блок. Высота магнитного блока около 2,5 м. Отдельно (на некотором расстоянии) находятся операторский пульт, компьютер, дисплей, принтер. Спектрометр может быть снабжен устройством для автоматической подачи образцов. Спектрометр позволяет проводить измерения различных типов ЯМР, в том числе и регистрировать спектры большого числа образцов.

Несмотря на очень высокую стоимость, спектрометрами ЯМР в настоящее время обеспечены все крупные университеты, химические институты и центры, а в последние годы спектрометры ЯМР стали появляться и в заводских лабораториях.

10.5.3. Спектр ЯМР

10.5.3.1. Сигнал ЯМР

Сигнал ЯМР представляет собой колоколообразную линию, имеющую максимум при частоте резонанса. Ширина сигнала связана с процессами затухания

возбужденного сигнала ЯМР, иначе говоря — с процессами релаксации. Существует два типа релаксационных явлений: продольная релаксация (вдоль поля \mathbf{B}_0), называемая также *спин-решеточной релаксацией*, и поперечная (перпендикулярно оси \mathbf{B}_0), называемая также *спин-спиновой релаксацией*. Чем быстрее спин-спиновая релаксация, тем шире сигнал ЯМР. Чем медленнее спин-решеточная релаксация, тем проще достигается насыщение сигнала ЯМР. Оказалось, что в жидкостях времена протонной релаксации составляют 0,1 — 10 с, что соответствует сигналам с линией шириной 0,1 — 10 Гц. Такие линии рассматривают как узкие, при этом необходима хорошая настройка однородности магнитного поля, чтобы инструментальная ширина не перекрыла бы полностью естественную линию. Для твердых тел времена спин-спиновой релаксации резко уменьшаются и линии уширяются (до 1 000 — 10 000 Гц). Сигнал ЯМР обычно наблюдается на фоне шумов, и до сих пор получение интенсивных сигналов ЯМР остается серьезной технической проблемой. Типичный сигнал ЯМР показан на рис. 10.77.

Простейший одиночный сигнал ЯМР представляет собой колоколообразную линию с максимумом при частоте ν_0 , называемой частотой резонанса, и шириной $\Delta\nu$, измеряемой, как правило, на половине высоты сигнала. Сигнал характеризуется амплитудной и интегральной интенсивностями.

Линии ЯМР могут быть уширены из-за наличия внутренних магнитных полей, создаваемых соседними ядрами. В реальных системах концентрация изучаемых ядер довольно высока (это необходимо для получения достаточно сильного сигнала ЯМР), поэтому около данного ядра всегда существуют соседние ядра. Это могут быть, например, два протона метиленовой группы CH_2 или молекулы воды H_2O . Само ядро может быть источником внутренних дипольных магнитных полей (рис. 10.78). Если расположить первый диполь в начале системы координат и ориентировать его вдоль оси z , направленной вдоль оси внешнего магнитного поля, то на соседнем диполе будет возникать магнитное поле. Это поле быстро убывает по мере удаления от первого диполя (пропорционально кубу расстояния r_{12}). Кроме того, поле диполя зависит от его направления (угла θ между осью z и вектором \mathbf{r}_{12}). При угле θ , составляющем около 54° , называемом «магическим», поле равно нулю.

Соседних диполей много, и каждый из них создает свое поле. Реально это многообразие приводит к разбросу значений магнитного поля на данном ядре, и сле-

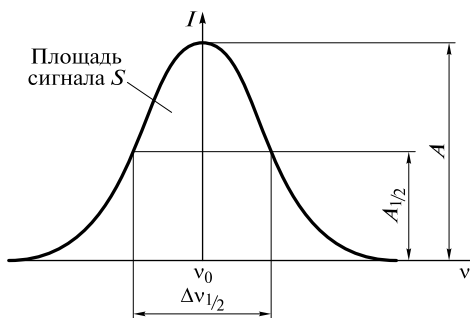


Рис. 10.77. Сигнал ЯМР

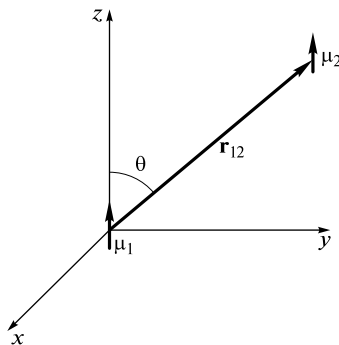


Рис. 10.78. Магнитное поле ядерного диполя

довательно, к разбросу резонансных частот. Разброс резонансных частот вызывает уширение сигналов ЯМР. Такие уширения характерны для твердых тел. В жидкостях происходит быстрое изменение относительных ориентаций диполей. Оказывается, что при этом дипольные магнитные поля усредняются до нуля. Поэтому сигналы ЯМР невязких жидкостей (где реориентация происходит очень быстро) не содержат дипольных уширений и представляют собой очень узкие линии — 0,1—0,3 Гц. Если учесть, что резонансные частоты составляют 10^8 Гц, то весь резонанс прослеживается в очень узком диапазоне, составляющем лишь 10^{-8} часть резонансной частоты.

10.5.3.2. Химический сдвиг

Электроны в атомах и молекулах защищают (экранируют) ядро от воздействия внешних магнитных полей. Было обнаружено, что в молекулярных системах возможно появление внутренних (локальных) полей от электронов,двигающихся по своим орбитам. За счет этого движения возникают небольшие магнитные локальные поля H_l . Как правило, эти поля направлены против внешнего поля, и поэтому они получили название *экранирующих полей*. Их нужно учитывать при определении суммарного магнитного поля, действующего на данное ядро (рис. 10.79). Смещение частоты резонанса за счет эффектов химической связи получило название *химического сдвига*.

Химические сдвиги ядер характеризуют электронную структуру молекул. При более детальном изучении эффекты экранирования были обнаружены у всех ядер — ^1H , ^{19}F , ^{31}P и т.д. Было показано, что поправки за счет эффектов экранирования в целом невелики, и их стали измерять в миллионных долях (м. д.) приложенного поля. Так, в случае протонов оказалось, что в реальных молекулах химические сдвиги изменяются в определенных пределах (рис. 10.80).

Для «голового» протона (катиона H^+) экранирование равно нулю, поскольку электроны отсутствуют. Для атомарного водорода H экранирование было найдено расчетным путем, оно составляет около 18 м. д. Для аниона H^- экранирование осуществляется двумя электронами, оно близко к удвоенному значению — около 36 м. д.

Для простейшей молекулы H_2 экранирование составляет около 26 м. д., и, таким образом, по характеру электронного окружения протон в молекуле H_2 находится где-то посередине между H^- и H . В реальных молекулах экранирование протонов занимает диапазон 20—30 м. д.

В качестве общедоступного репера — нуля химических сдвигов — используют химический сдвиг протонов в тетраметилсилане $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$, веществе, имеющем 12 эквивалентных протонов и показывающем предельно большие константы экранирования как в ЯМР ^1H , так и в ЯМР ^{13}C . Тетраметилсилан (ТМС) относительно химически инертен, дает сильный сигнал в спектрах ЯМР ^1H и, что очень важно, этот сиг-

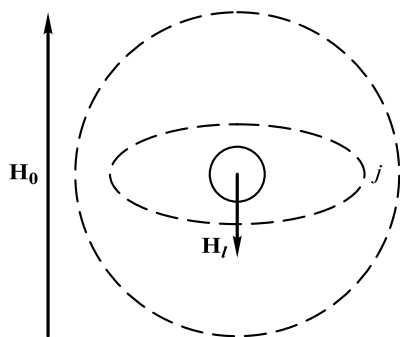


Рис. 10.79. Внешние H_0 и локальные H_l магнитные поля, действующие на ядра в атомах и молекулах

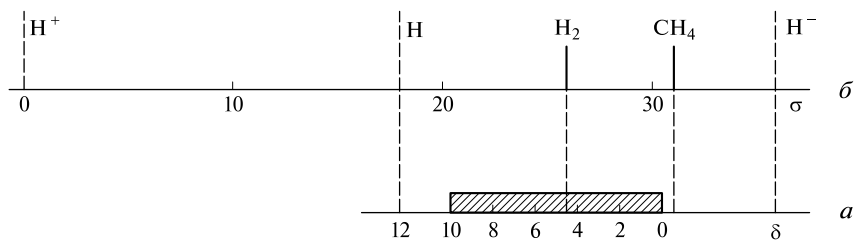


Рис 10.80. Абсолютная σ -шкала (а) и относительная δ -шкала (б) химических сдвигов протонов

нал расположен в очень сильных полях (правая часть спектра ЯМР ^1H), там, где, как правило, нет других сигналов. Принято говорить, что правая часть спектра соответствует *сильнопольным* эффектам (большим полям экранирования), левая — *слабопольным*.

Многочисленные исследования показали, что разные ядра обладают разными диапазонами экранирования. С увеличением числа электронов около ядра диапазон экранирования растет. Так, для протонов он составляет около 10 м.д., для ^{13}C — около 200 м.д., для ^{19}F — около 900 м.д. Более того, выяснилось, что химически близкие структурные фрагменты (например, метильные группы или протоны ароматических ядер, протоны водородных связей и т.д.) дают близкие значения химических сдвигов. Это позволило использовать спектроскопию ЯМР для распознавания химической структуры соединений.

10.5.3.3. Константы спин-спиновой связи

Спины ядер «чувствуют» ориентацию соседних ядерных спинов. При более тщательном изучении спектров были обнаружены проявления еще одного вида внутренних магнитных полей, связанных с соседними спинами (рис. 10.81). В данном случае первый протон μ_1 , создающий на электроне S_1 поле $\mathbf{H}(\mu_1, S_1)$, поляризует этот электрон. Соответственно поляризуется и второй электрон S_2 связи. Поляризация второго электрона сводится к возникновению магнитного поля $\mathbf{H}(\mu_2, S_2)$ на втором ядерном магнитном моменте μ_2 . Таким образом, второй ядерный спин как бы «чувствует» ориентацию первого спина, и двум ориентациям первого спина будет соответствовать дублет (пара) линий второго спина. Это рас-

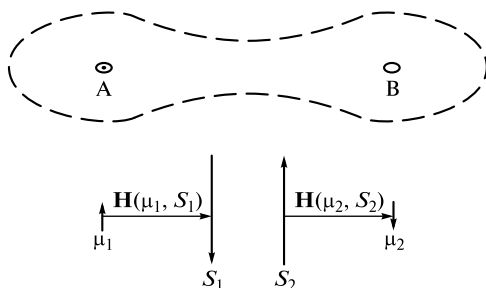


Рис. 10.81. Косвенная спин-спиновая связь

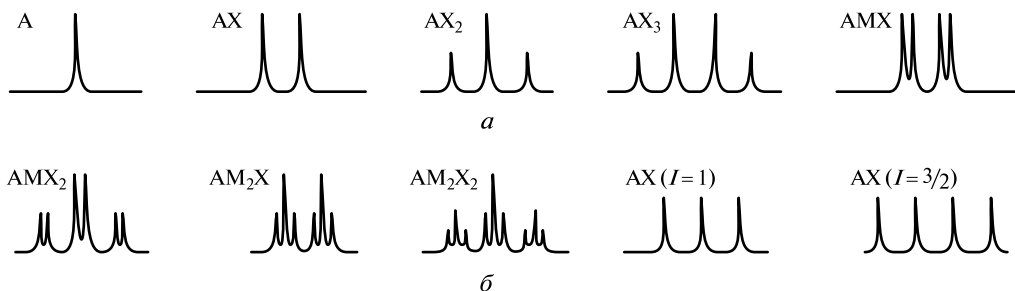


Рис. 10.82. Типы (а, б) спиновых мультиплетов

щепление не зависит от внешнего магнитного поля и называется *косвенным спин-спиновым взаимодействием*.

Так, оказалось, что пара протонов с двумя различными химическими сдвигами, дающая два сигнала в спектрах ЯМР ^1H , может также обнаруживать дополнительное расщепление на обоих сигналах, вызванное эффектами взаимного спинового связывания. Расстояние между компонентами спектра, называемое *константой спин-спинового взаимодействия* (КССВ), не зависит от внешнего магнитного поля, а определяется только относительным расположением двух ядер. Константы спин-спинового взаимодействия измеряют в единицах частоты (Гц). Например, протон-протонные константы составляют несколько герц.

Константы спин-спинового взаимодействия характеризуют взаимное расположение пары ядерных спинов. По характеру расщеплений, вызванных спин-спиновым взаимодействием, можно легко определить, какое число эквивалентных протонов находится по соседству с данным протоном (рис. 10.82)¹. Спектры при отсутствии взаимодействия с соседними протонами (система А), а также при взаимодействии с одним, двумя и тремя протонами (системы AX, AX₂, AX₃ соответственно) приведены на рис. 10.82, а; также показан спектр ядра для системы AMX. Кроме того, представлены спектры ядра А для системы AX, когда соседнее ядро имеет спин 1 (например, дейтерий) или $3/2$ (например, ядро ^{11}B). Важную химическую информацию несут сами значения КССВ. В целом более близко расположенные ядра характеризуются большей КССВ. Передаче спин-спинового взаимодействия способствуют делокализованные электроны, поэтому в сопряженных и ароматических системах можно наблюдать спин-спиновое взаимодействие между довольно далеко находящимися друг от друга протонами (например, через четыре или пять сигма-связей).

Экспериментальные данные по константам спин-спинового взаимодействия разного типа ($^1\text{H} - ^1\text{H}$, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ и т.д.) позволяют идентифицировать определенные структурные фрагменты.

10.5.4. Методы расшифровки спектров ЯМР

Оказалось, что спектры ЯМР (в частности, спектры протонного магнитного резонанса — ПМР) несут много информации о химической структуре соедине-

* См.: Hore P.J. Nuclear Magnetic Resonance. — Oxford: Oxford University Press, 1995.

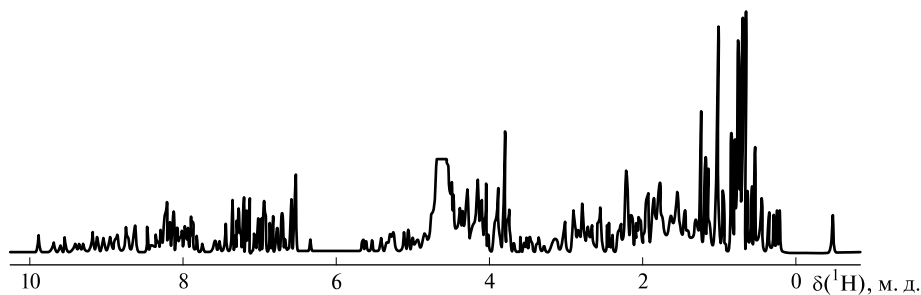


Рис. 10.83. Спектр ПМР, зарегистрированный на частоте 750 МГц для SH3-части белка тирозинкиназы (водный раствор; данный фрагмент белка содержит 69 аминокислотных остатков; молекулярная масса 7 688; резонанс протонов молекулы воды при 4,7 м.д. искусственно подавлен)

ния. Сложные органические соединения (например, природные соединения, полимеры, белки) могут содержать сотни, а то и тысячи неэквивалентных протонов (рис. 10.83). Причем каждая неэквивалентная группа должна дать свой сигнал в спектре ЯМР. Кроме того, многие группы протонов связаны между собой константами спин-спинового взаимодействия. Все это приводит к серьезному усложнению спектра, когда могут наблюдаться сотни и даже тысячи линий. Однако несмотря на сложность спектры ЯМР могут быть расшифрованы полностью, т.е. все линии спектра, в том числе и самые слабые, могут быть интерпретированы. Этим метод ЯМР существенно отличается, например, от метода ИК-спектроскопии, где, как правило, можно выявить только несколько характерных линий.

Для расшифровки сложных спектров ЯМР разработано множество приемов. Например, можно использовать спектрометры с более высокими рабочими частотами. При этом отдельные неэквивалентные группы будут разделены большими частотными интервалами, а поскольку константы спин-спинового взаимодействия не зависят от силы рабочего поля, отдельные мультиплеты более четко выделяются. Впрочем, нужно учитывать, что переход к более высоким частотам требует использования более дорогостоящей аппаратуры. Кроме того, возможно использование различных растворителей, что позволяет «открыть» линии, скрытые другими растворителями. Существуют специальные добавки — так называемые *сдвигающие реагенты*, в качестве которых используют соединения некоторых редкоземельных элементов, что приводит к искусственному увеличению относительных химических сдвигов и, следовательно, к упрощению вида спектра.

Для упрощения сложных спектров применяют различные виды двойного и тройного резонанса. Широкое применение нашли методы двойного резонанса. Оказывается, что если при регистрации спектра одновременно возбуждать другие частоты, то могут происходить различные эффекты, связанные с изменением заселенностей определенных спиновых уровней (рис. 10.84)¹. На рис. 10.84 приведен обычный спектр монорезонанса (линия 1). Хорошо видны сигналы, относящиеся к этоксигруппе (триплет метильной группы при 1,2 м.д., квартет метиленовой группы при 4,0 м.д.), сигнал метильной группы при двойной связи (1,9 м.д.), а также пара сигналов, относящихся к протонам двойной связи (5,7

¹ См.: Гюнтер М. Введение в спектроскопию ЯМР. — М.: Мир, 1985.

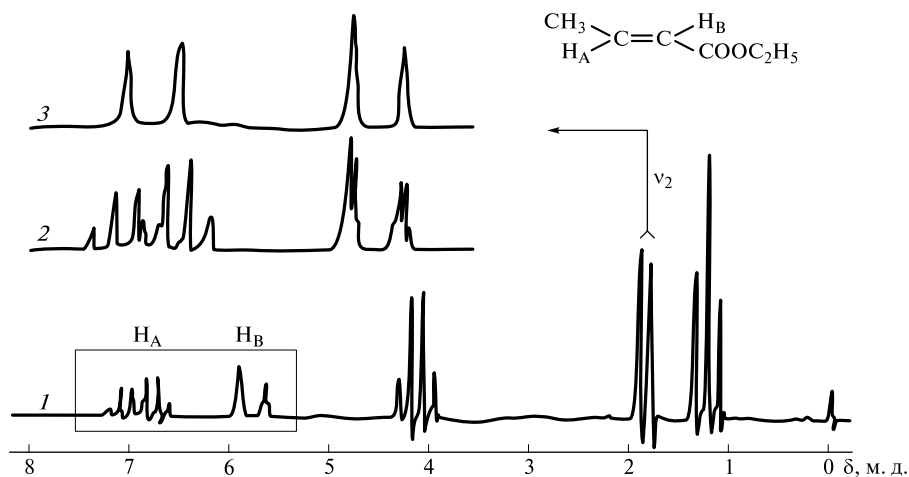


Рис. 10.84. Спектры монорезонанса (1) и двойного резонанса (2, 3)

и 6,8 м.д.). В спектре 2 присутствуют сильнорасщепленные сигналы олефиновых протонов. Если облучать сигнал метильной группы при 1,9 м.д., то все расщепления, связанные с метильной группой, исчезают, и остающиеся сигналы превращаются в пару дублетов с константой спин-спинового взаимодействия 16 Гц, что доказывает *транс*-строение этого олефина.

Одним из наиболее эффективных является метод спиновой развязки. Так, если при регистрации спектров ядер ^{13}C (например, на рабочей частоте 25 МГц) одновременно облучать все переходы для протонов (на частоте 100 МГц), то в спектре ЯМР ^{13}C все мультиплеты, связанные с протонами, превратятся в синглеты, что существенно упростит вид спектра. На рис. 10.85 представлен спектр ЯМР ^{13}C соединения, являющегося одним из изомеров ацетилпиридина. В этом спектре легко обнаруживается сигнал ТМС ($\delta = 0$ м.д.), а также сигнал растворителя при 77 м.д. Этот сигнал имеет форму триплета 1 : 1 : 1; такая структура объясняется тем, что ядро дейтерия имеет спин 1, и, следовательно, спин-спиновое взаимо-

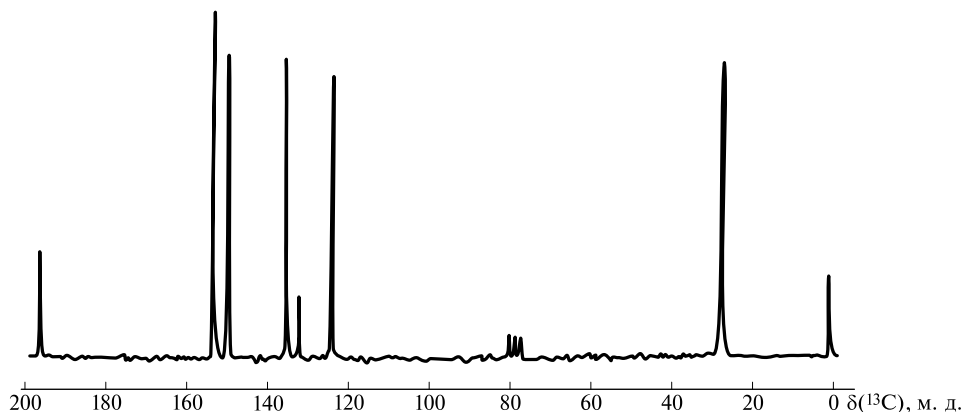


Рис. 10.85. Спектр ЯМР ^{13}C изомера ацетилпиридина в растворе CDCl_3

действие $^{13}\text{C} - \text{D}$ должно приводить к расщеплению сигнала ^{13}C в CDCl_3 в триплет по правилу ($N = 2I + 1$). Кроме этих сигналов в спектре видны пять сигналов в области ароматических или гетероароматических атомов углерода (123 — 153 м.д.), сигнал в слабых полях (при 196 м.д.), а также сигнал в сильных полях (при 26 м.д.). Все эти семь сигналов, вероятно, относятся к исследуемому соединению. Обратим внимание на то, что два сигнала (при 196 и 135 м.д.) имеют пониженную интенсивность и, по-видимому, относятся к четвертичным атомам углерода. На основании значений химических сдвигов сигнал при 26 м.д. можно отнести к атому углерода метильной группы, а сигнал при 196 м.д. — к карбонилу ацетильной группы. Оставшиеся пять сигналов в области 123 — 153 м.д. относятся к атомам углерода пиридинового кольца. Следовательно, можно исключить симметричную структуру 4-ацетилпиридина. Поскольку в спектре хорошо видны два сигнала в области 150 м.д., можно предположить, что атомы C_2 и C_6 пиридина незамещены (их химические сдвиги близки к значениям химических сдвигов пиридина 150,6 м.д.). Таким образом, можно сделать вывод, что данное соединение представляет собой 3-ацетилпиридин.

Из-за эффекта выравнивания населенностей изменяются интенсивности переходов. Этот эффект был впервые предположен и доказан американским физиком А. Оверхаузером. Ядерный эффект Оверхаузера $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$ в случае регистрации спектров ЯМР ^{13}C приводит к существенному (в 3 раза) увеличению интенсивностей линий спектра, что оказалось очень важным для решения проблемы регистрации спектров ЯМР ^{13}C при невысоком природном содержании изотопа ^{13}C (1,1 %).

10.5.5. Качественный анализ

Спектроскопия ЯМР является важнейшим структурным методом в химии. Сразу после обнаружения химического сдвига и констант спин-спинового взаимодействия стало ясно, что метод ЯМР позволяет очень быстро и эффективно идентифицировать новые синтезированные вещества. Хотя метод несколько менее чувствителен, чем другие методы физико-химического анализа, он имеет важное преимущество, связанное с полнотой анализа. В самом деле, спектры ЯМР даже очень сложных смесей (в частности, смесей, в которых целевой продукт содержится в сравнительно небольшом количестве) могут быть расшифрованы до конца, т.е. вплоть до отнесения самых слабых линий спектра. В распоряжении химиков многочисленные каталоги спектров, подробные таблицы химических сдвигов и значений констант спин-спинового взаимодействия, позволяющие быстро «читать» спектры ЯМР. Кроме того, разработаны автоматические программы для персональных компьютеров. Опираясь на заложенные в них банки данных и различные эмпирические правила, эти программы могут предложить для полученного спектра наиболее подходящую структуру.

В спектроскопии ЯМР удобно использовать «сильные» ядра. Для получения стандартного сигнала по протонам требуется довольно много ($\sim 10^{-3}$ г) вещества, в то время как для осуществления других методов бывает достаточно $\sim 10^{-6}$ г вещества. Кроме того, следует учитывать, что ЯМР-анализ возможен для многих десятков ядер, причем эти ядра будут различаться по относительной чувствительности. Можно убедиться, что чувствительность тем выше, чем больше гиромаг-

нитная постоянная ядра. Очень важно, каково природное содержание изотопа. Наиболее чувствительными оказываются ядра ^1H , ^{19}F , ^{31}P , природное содержание которых близко к 100 %. Из двух стабильных изотопов углерода (^{12}C и ^{13}C) изотоп ^{12}C магнитно инертен и не дает сигнала ЯМР, а, как указывалось, природное содержание изотопа ^{13}C (спин 1/2) около 1 %. В целом оказывается, что сигнал ЯМР ^{13}C в 6 000 раз слабее протонного. Из трех изотопов кислорода (^{16}O , ^{17}O , ^{18}O) два изотопа ^{16}O и ^{18}O немагнитны. Изотоп ^{17}O отличается ничтожно малым (0,04 %) природным содержанием, поэтому его сигнал в десятки тысяч раз слабее протонного. Слабая чувствительность многих ядер существенно ограничивала возможности ЯМР-спектроскопии, особенно на первых порах, когда применяли спектрометры с непрерывной разверткой. Внедрение фурье-спектроскопии позволило существенно ускорить эксперимент даже при использовании многократного накопления. В результате арсенал ядер сильно расширился.

Стандартная задача для химика-органика — это установление структуры полученного соединения, поэтому наиболее важную информацию можно получить из спектров ЯМР на ядрах ^1H и ^{13}C . Может оказаться, что искомое соединение в пробе вообще отсутствует. Возможно также, что оно присутствует в виде одного из нескольких продуктов синтеза (допустим, одного из нескольких возможных изомеров), как небольшая часть исследуемой смеси (иногда на уровне следов). Когда же структура соединения считается доказанной, иногда требуется решить обратную задачу — отнести все сигналы спектра или (в другой формулировке) приписать каждому протону предлагаемой структуры какой-либо определенный химический сдвиг.

Все эти задачи весьма эффективно решают на практике. Как правило, исследование начинают с простейших (обзорных) спектров ЯМР ^1H . В некоторых случаях очень полезно провести анализ спектров ЯМР ^{13}C — $\{^1\text{H}\}$, иногда необходимо измерить спектры ЯМР азота или кислорода. Для ядер азота можно использовать оба стабильных изотопа (^{14}N и ^{15}N). Спектры ^{15}N могли бы быть очень удобными, поскольку ядро ^{15}N имеет спин 1/2. Однако этот изотоп характеризуется очень низким природным содержанием, и для получения соответствующих спектров нужно много времени. Изотоп ^{14}N при высоком природном содержании (почти 100 %) неудобен, поскольку ядро ^{14}N — квадрупольное, и в спектрах наблюдаются большие уширения.

Если в системе происходит реакция, затрагивающая положение ядер, то спектры ЯМР будут зависеть от скорости этой реакции. Очень важным и уникальным свойством спектров ЯМР является зависимость их формы от скорости реакций химического обмена с участием анализируемых ядер. Такие реакции могут быть необратимыми, и тогда можно выявить постепенные изменения интенсивностей отдельных линий. В случае обратимых реакций (к которым относятся, например, разнообразные внутримолекулярные перегруппировки — конформационные переходы, внутренние вращения, изомеризации, инверсии циклов и т. п.) протоны обмениваются значениями химических сдвигов. Если процесс обмена медленный (иными словами, если время жизни продукта больше времени релаксации), то наблюдаются отдельные линии, соответствующие неэквивалентным ядрам. Если обмен очень быстрый (если время жизни реагента меньше разности резонансных частот обменивающихся ядер), то наблюдается одна линия со сдвигом, соответствующим среднеарифметическому значению химического сдвига. В случае промежуточных скоростей обмена наблюдаются линии сложной формы с характер-

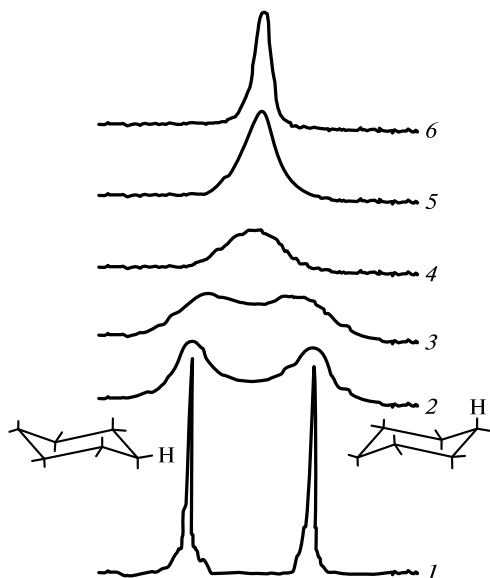


Рис. 10.86. Спектры ПМР циклогексана d_{11} , измеренные при температуре $T = -89$ (1), -68 (2), -63 (3), -60 (4), -57 (5), -49 (6) °C

ными уширениями. Из анализа этих уширений можно извлечь информацию о скорости протекающих обратимых процессов.

На рис. 10.86 приведены спектры ПМР циклогексана d_{11} , измеренные при разных температурах. Единственный протон в циклогексане d_{11} может занимать одну из двух позиций — аксиальную (вдоль оси симметрии) или экваториальную. При низких температурах (ниже -80 °C) видны оба типа протонов в виде двух сигналов со сдвигами, отличающимися на 0,5 м.д. (аксиальный протон в более сильном поле). При повышении температуры происходит постепенное уширение обоих сигналов, затем их слияние (коллапс) при -60 °C. При дальнейшем увеличении температуры (т.е. с увеличением скорости инверсии цикла) сигналы сливаются в один. Приближенные оценки показывают, что скорость инверсии составляет около 10^2 с $^{-1}$ при температуре порядка -60 °C.

Метод ЯМР имеет удобную временную шкалу и позволяет изучать процессы с временем жизни в диапазоне 10^{-4} — 10^{-1} с. Этот диапазон недоступен другим методам.

Двумерная спектроскопия ЯМР. В начале 1980-х гг. швейцарский физико-химик Р. Эрнст, используя идею бельгийского физика Дж. Дженнера, при участии американского инженера В. Андерсона разработал основы так называемой двумерной импульсной фурье-спектроскопии. Особенность двумерных спектров состоит в том, что в них видны все возможные парные связи ядер. В качестве примера приведем двумерный спектр гомо-(^1H , ^1H)-корреляции для молекулы бруцина (рис. 10.87). На диагонали такого спектра возникают сигналы, даже если они не содержат спиновой мультиплетности. Эти сигналы соответствуют химическим сдвигам отдельных ядер. В спектре также наблюдаются недиагональные пики (или так называемые кросс-пики) для протонов, связанных спин-спиновыми взаимодействиями. Например, олефиновый протон при 5,8 м.д. дает

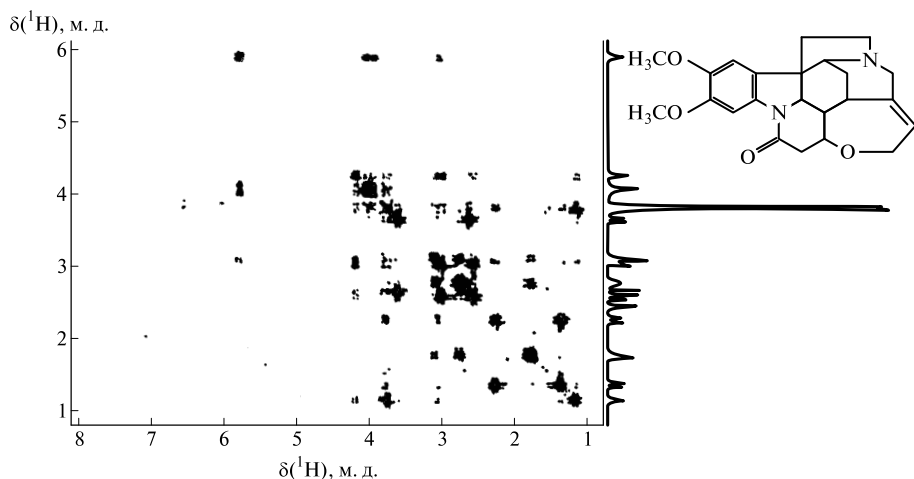


Рис. 10.87. Двумерный спектр гомо-(H, H)-корреляции бруцина

кросс-пик в области 4 м. д. Именно там следует искать пару метиленовых протонов при соседнем к олефиновому протону CH_2 -фрагменте. По существу двумерный спектр полностью эквивалентен всем возможным спектрам двойного резонанса. То обстоятельство, что двумерный спектр автоматически содержит всю нужную информацию, помогает упростить эксперимент. Однако следует считаться с тем фактом, что регистрация двумерного спектра занимает существенно больше времени.

Двумерная фурье-спектроскопия была в дальнейшем разработана во множестве различных полезных модификаций, что позволило довести почти до автоматизма анализ спектров гигантских молекул (например, белков) и буквально революционизировало область биохимических приложений ЯМР. Основоположник импульсной двумерной фурье-спектроскопии Р. Эрнст был удостоен в 1991 г. Нобелевской премии по химии.

Кросс-поляризационная спектроскопия ЯМР. Для исследования структуры твердых тел используют специальный вид спектроскопии ЯМР — кросс-поляризационную с вращением под «магическим» углом. Исследование структуры твердых тел (кристаллов, поликристаллов, порошков, жидких кристаллов, твердых полимеров) многие годы было ограничено вследствие дипольных уширений, которые «смазывали» всю тонкую структуру спектров, вызванную химическими сдвигами и спин-спиновым взаимодействием. Эти проблемы (по крайней мере, частично) удалось преодолеть в результате использования нескольких специальных приемов. Одним из них является вращение образца под определенным углом к поляризующему полю. Если этот угол близок к «магическому» (около 54°), то оказывается, что внутренние дипольные поля могут быть существенно уменьшены. Отметим, что для технической реализации этой идеи нужны специальные образцы и специальные датчики. Другое важное соображение состоит в том, что спектры ЯМР твердых тел легко насыщаются, поэтому многоимпульсные методы становятся малоэффективными. Для преодоления этих трудностей используют прием, известный как кросс-поляризация. При этом применяют особую подготовку протонных спинов, приводящую к существенному увеличению намаг-

ниченности ядер ^{13}C . В результате интенсивность сигнала ЯМР ^{13}C сильно возрастает, и становится возможной регистрация спектров твердых образцов. Однако даже при использовании данной методики не удастся получить линии с шириной менее 20—30 Гц, что существенно ограничивает структурные возможности метода.

10.5.6. Количественный анализ

Интенсивность сигнала ЯМР прямо пропорциональна количеству ядер, дающих вклад в этот сигнал. Это утверждение приводится во всех руководствах по спектроскопии ЯМР. Однако оно справедливо лишь в первом, грубом приближении, а при более детальном анализе возникают разного рода отклонения или поправки. Как правило, в данном случае формулируют задачи двух типов:

1) можно ли по интенсивности сигнала ЯМР определить, какому количеству ядер (в граммах или молях) соответствует данный сигнал;

2) если в спектре видны два сигнала, то в какой степени отношение интенсивностей этих сигналов соответствует отношению концентраций (количеств) веществ, соответствующих этим сигналам.

Задачи первого типа относятся к задачам *абсолютного количественного анализа*, задачи второго типа — к задачам *относительного количественного анализа*. Таким образом, по площади сигнала можно определять относительные концентрации, а при соответствующей градуировке — абсолютные концентрации.

Преимуществом спектроскопии ЯМР является то, что этот метод является многокомпонентным. При этом отсутствует необходимость в отнесении всех резонансных линий, следует лишь установить принадлежность хотя бы одной резонансной линии соответствующей молекуле при условии, что в спектре отсутствует перекрывание спектральных линий. Впрочем, нужно учитывать, что реальные возможности количественного анализа часто связаны с возможностями разрешения линий спектра, и задача иногда формулируется следующим образом: при наличии в смеси n компонентов определить, какие компоненты наблюдаются, и оценить содержание каждого компонента. Таким образом, фактически сюда добавляется задача разрешения n компонентов (т. е. определения индивидуальных характеристик или спектральных параметров каждого компонента). Несмотря на относительную простоту такого подхода, существует, однако, ряд факторов, ограничивающих точность метода. Правда, большинство источников ошибок можно достаточно просто исключить.

В специальной литературе по количественному анализу с помощью ЯМР детально обсуждаются некоторые вопросы техники регистрации спектра и обработки полученного сигнала свободной индукции.

Что касается перекрывания сигналов, то если число сигналов невелико, для их разделения используют специальные процедуры. Известно, что перекрывание сигналов может быть уменьшено благодаря использованию таких приемов, как увеличение частоты спектрометра, применение специальных сдвигающих реагентов («шифт-реагентов») и т. д.

При использовании корректной экспериментальной методики регистрации спектров сравнительно легко достижима погрешность 5—10 %, что позволяет распознавать различные по количеству ядер сигналы, соответствующие 9 или 10

протонам. Погрешность 1—2 % уже требует соблюдения всех условий регистрации и обработки спектра.

В основном количественный анализ используют в спектроскопии ЯМР ^1H . В спектрах ЯМР ^{13}C при развязке от протонов интегральные площади обычно не измеряют, поскольку могут возникать существенные искажения интегральных характеристик сигналов.

Применение ЯМР в неорганическом анализе основано на том, что в присутствии парамагнитных веществ уменьшаются времена ядерной релаксации. Для измерения скорости релаксации используют специальные методики. Наиболее надежным и универсальным является метод «спинового эха». Для проведения обычных аналитических определений нет необходимости находить абсолютные значения скоростей релаксации. В этих случаях можно ограничиться измерением какой-либо пропорциональной им величины, например амплитуды сигнала резонансного поглощения. С помощью методики «спинового эха» можно определять времена релаксации 10^{-5} — 10^2 с с погрешностью 3—5 %.

Основное достоинство метода ЯМР — возможность одновременного определения концентраций десятков веществ в растворе в очень широком интервале от 10^{-7} — 10^{-5} до 1—2 моль/л и выше, используя для анализа небольшие объемы (0,1—0,5 мл) растворов. Наиболее часто используемыми являются метод градуировочного графика и метод добавок.

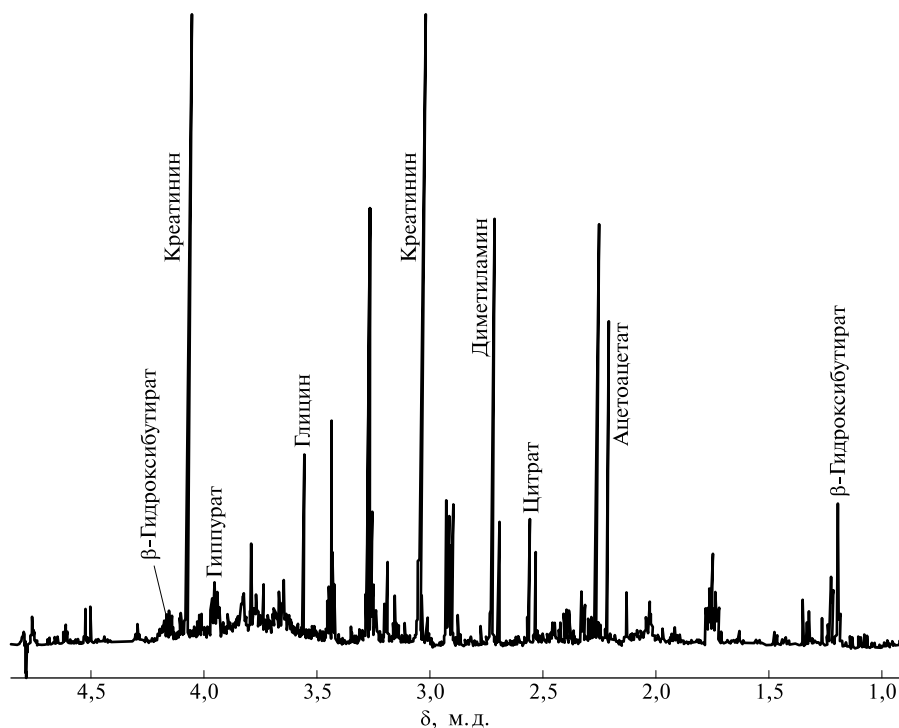


Рис. 10.88. Спектр ЯМР ^1H мочи здорового человека (мощный сигнал протонов воды в области около 4,8 м.д. подавлен; отнесены сигналы некоторых метаболитов)

Метод ЯМР неdestructивный, позволяет многократно использовать пробу, в том числе и для анализа другими методами. Ценным достоинством метода является возможность анализа интенсивно окрашенных и мутных растворов, а также анализа при наличии кислот, щелочей, поверхностно-активных веществ и т.д. Особенности агрегатного состояния, дисперсности, элементный состав, молекулярно-фазовое распределение и другие характеристики системы не препятствуют получению спектров ЯМР.

Особенно широкие возможности появляются у метода ЯМР при исследовании сложных смесей. В частности, широко используется спектроскопия ЯМР в области метабономики (исследование биологических жидкостей, таких как кровь, моча, спинномозговая жидкость и т.д.) с целью обнаружения различных метаболитов. На рис. 10.88 приведен типичный спектр ЯМР ^1H мочи здорового человека. В спектре легко распознаются сигналы нескольких десятков метаболитов, что позволяет проводить диагностику заболеваний, обнаруживать эффекты токсичных препаратов.

Процедура регистрации спектров ЯМР, сбора и обработки информации по различным ядрам больших серий объектов легко может быть осуществлена в автоматическом режиме. Метод ЯМР можно комбинировать с другими методами анализа. Так, например, недавно появился прибор фирмы «Bruker», укомплектованный устройством для автоматической смены образцов (автосемплером) и совмещающий методы высокоэффективной жидкостной хроматографии, масс-спектрометрии и спектроскопии ядерного магнитного резонанса, что позволяет значительно упростить работу по определению метаболитов в биологических жидкостях человека. В этом случае сочетаются высокая разделяющая способность высокоэффективной жидкостной хроматографии, высокая чувствительность масс-спектрометрии и большие возможности ЯМР в определении молекулярной структуры.

Сочетание всех указанных достоинств метода, наличие достаточного количества мультиядерных фурье-спектрометров ЯМР со сверхпроводящими магнитами в исследовательских лабораториях, снижение стоимости серийной аппаратуры позволяют считать применение метода ЯМР полностью экономически оправданным, особенно при изучении многокомпонентных систем. Та невероятная скорость, с которой развивалась и продолжает развиваться спектроскопия ЯМР, делает этот метод чрезвычайно привлекательным для специалистов и расширяет его и без того впечатляющие возможности для химии.

Ограничением спектроскопии ЯМР как аналитического метода является его низкая чувствительность. Поэтому трудно определять малые количества примесей, если только они не дают хорошо разрешенных сигналов.

Контрольные задания

1. Дайте общую характеристику спектроскопических методов анализа.
2. Перечислите наиболее важные параметры электромагнитного излучения.
3. Укажите, по каким признакам можно классифицировать спектры.
4. Рассчитайте частоту (Гц) и волновое число (см^{-1}): а) для рентгеновского излучения с длиной волны 0,7 нм; б) линии натрия при 589 нм; в) максимума поглощения в инфракрасном спектре при 10 мкм; г) микроволнового поглощения с длиной волны 150 см.

5. Определите физический смысл коэффициентов Эйнштейна для спонтанного испускания A_{ij} и вынужденного поглощения B_{ij} .

6. Почему любая атомная спектральная линия имеет конечную ширину? Укажите по крайней мере три фактора, обуславливающих уширение спектральных линий.

7. Оцените порядок величины естественной ширины линии неона, а также доплеровской и лоренцевской ширины линии неона при 582,2 нм, $T = 1000$ К и $p = 1$ атм.

8. Укажите три основные характеристики спектральной линии.

9. Определите физический смысл времени жизни возбужденного состояния. Каков порядок величины времени жизни для «обычных» электронных состояний атомов и молекул?

10. По каким принципам можно классифицировать спектроскопические методы?

11. Что представляет собой электромагнитный спектр? Как его изображают графически?

12. Укажите причины уширения спектров поглощения и спектров флуоресценции молекул.

13. Какие спектроскопические методы используют и в атомном, и в молекулярном анализе? Какие — только в атомном и только в молекулярном анализе? Почему?

14. На каких признаках базируется классификация методов спектрометрии?

15. В чем преимущества дифракционных решеток перед призмами при разложении света по длинам волн?

16. Перечислите основные характеристики спектральных приборов. В чем смысл их применения для описания эксплуатационных характеристик таких приборов?

17. Нарисуйте блок-схемы абсорбционного, эмиссионного и люминесцентного спектрометров.

18. В чем преимущества спектрометров с модуляцией излучения по сравнению с традиционными спектрометрами?

19. В каких спектроскопических методах чаще всего применяют фурье-спектрометры?

20. Какие физические процессы лежат в основе оптических и рентгеновских методов атомной спектроскопии?

21. Перечислите основные оптические и рентгеновские методы атомной спектроскопии.

22. Что такое атомизатор? Для каких целей он служит? В каких методах анализа используют атомизаторы?

23. На чем основан метод атомно-эмиссионной спектроскопии?

24. Что является источником возбуждения атомов в атомно-эмиссионной спектроскопии?

25. Перечислите основные типы атомизаторов в атомно-эмиссионной спектроскопии. Какие из них пригодны для анализа растворов, какие — для анализа твердых проб?

26. В чем состоят основные причины отклонения от линейной зависимости градуировочных графиков в атомно-эмиссионной спектроскопии?

27. Охарактеризуйте, в чем заключается процесс самопоглощения, самообращения спектральной линии?

28. Приведите зависимость интенсивности атомно-эмиссионной линии от концентрации (уравнение Ломакина — Шайбе) и укажите смысл входящих в эту зависимость параметров.

29. В чем заключаются матричные эффекты? Как с ними бороться?

30. Что представляют собой спектроскопические буферы (модификаторы матрицы)? Приведите примеры модификаторов матрицы: а) для подавления ионизации атомов; б) облегчения диссоциации термически устойчивых оксидов.

31. Для определения каких элементов целесообразно использовать пламенный способ атомизации, для каких — искровой?

32. В чем сущность метода внутреннего стандарта? С какой целью его применяют? Какие требования предъявляют к внутреннему стандарту в атомно-эмиссионной спектроскопии?

33. В каком варианте атомно-эмиссионной спектроскопии (и почему) достигается самый широкий диапазон определяемых концентраций?

34. Охарактеризуйте понятие «последние спектральные линии».

35. Какой источник атомизации целесообразно использовать для атомно-эмиссионного определения: а) кальция в природной воде; б) никеля в стали?

36. В чем роль атомизатора: а) в атомно-эмиссионном методе анализа; б) атомно-абсорбционном методе анализа?

37. Что является аналитическим сигналом в атомно-абсорбционной спектроскопии? Как он связан с концентрацией определяемого соединения?

38. Перечислите основные типы атомизаторов, применяемых в атомно-абсорбционной спектроскопии.

39. В чем преимущества электротермического способа атомизации перед пламенным в атомно-абсорбционной спектроскопии?

40. Почему в атомно-абсорбционной спектроскопии необходимо использовать достаточно монохроматичные источники излучения?

41. Какие основные типы источников излучения в атомно-абсорбционной спектроскопии вам известны?

42. В чем сущность явлений фонового излучения и поглощения в атомно-абсорбционной спектроскопии?

43. Какой метод — атомно-эмиссионной или атомно-абсорбционной спектроскопии — целесообразно использовать для качественного анализа? Почему?

44. В чем сходство методов: а) атомно-флуоресцентной и атомно-эмиссионной спектроскопии; б) атомно-флуоресцентной и атомно-абсорбционной спектроскопии?

45. Почему в атомно-флуоресцентной спектроскопии в качестве источника излучения используют главным образом лазеры?

46. Дайте определение понятий «характеристическое рентгеновское излучение», «тормозное излучение».

47. Можно ли использовать немонохроматизированное первичное излучение в рентгенофлуоресцентном методе и почему?

48. При прочих равных условиях атомы какого элемента будут сильнее поглощать рентгеновское излучение: бария или кальция?

49. Почему в рентгеновских спектрометрах с энергетической дисперсией, как правило, не используют кристаллы-анализаторы?

50. Перечислите факторы, влияющие на величину аналитического сигнала, в методах рентгенофлуоресцентного и рентгеноабсорбционного анализа.

51. Можно ли обнаружить оже-электронные линии в рентгеновском фотоэлектронном спектре, а фотоэлектронные линии в оже-электронном спектре? Почему?

52. Каким образом можно отличить фотоэлектронную линию от оже-электронной линии в спектре?

53. На чем основан принцип работы энергоанализатора?

54. Можно ли методами РФЭС и ОЭС анализировать жидкие образцы? Объясните, почему?

55. Почему методы электронной спектроскопии чувствительны к состоянию поверхности анализируемого образца? Предложите способ варьирования глубины отбора аналитической информации.

56. Сформулируйте основной закон светопоглощения.

57. Перечислите причины отклонений от основного закона светопоглощения в спектрофотометрии. Приведите конкретные примеры.

58. Перечислите основные причины погрешностей в спектрофотометрии.

59. В чем суть дифференциальных методов спектрофотометрии?

60. Сформулируйте требования, предъявляемые к фотометрическим реагентам.

61. К каким преимуществам и недостаткам приводит преобразование спектров поглощения их дифференцированием?

62. Имеется набор следующих светофильтров:

Номер светофильтра	Область сплошного пропускания, нм	Интервал длин волн с максимумом пропускания, нм	Область сплошного поглощения, нм
1	< 440	440 — 500	> 500
2	< 550	500 — 560	> 560
3	< 580	580 — 640	> 640
4	—	580 — 670	< 580; > 670
5	> 590	540 — 590	< 540
6	> 560	480 — 560	< 480
7	> 490	430 — 490	< 430

На основании этих данных:

- а) определите цвет светофильтров 1 и 4;
- б) выберите светофильтр (или комбинацию светофильтров) для анализа синего раствора;
- в) выберите светофильтр (или комбинацию светофильтров) для анализа раствора с сильным поглощением при 520 нм;

г) определите цвет раствора, для которого подходит комбинация светофильтров 3 и 4.

63. Перечислите типичные источники излучения в спектрофотометрии. В какой области спектра они излучают?

64. В каких единицах выражают коэффициент поглощения, если концентрация выражена в микрограммах на миллилитр (мгк/мл)?

65. Пропускание раствора концентрацией 10,0 мкг/мл вещества, измеренное в кювете длиной 1,3 см, равно 22,0 %. Рассчитайте коэффициент поглощения вещества.

66. Какие типы колебаний наблюдаются у многоатомных молекул?

67. В каких областях спектра проявляются характеристические частоты колебаний «тяжелых» и «легких» молекулярных групп?

68. Перечислите основные особенности анализа вещества по ИК спектрам.

69. От каких параметров зависит рассеяние света?

70. Назовите типы рассеяния. Укажите главный признак комбинационного рассеяния.

71. Почему в спектре комбинационного рассеяния стоксовы линии всегда более интенсивны, чем антистоксовы?

72. Какие возможности открывает применение лазеров для возбуждения спектров комбинационного рассеяния?

73. Найдено, что используя гелий-неоновый лазер, можно наблюдать линию комбинационного рассеяния, смещенную всего на 2 см^{-1} от длины волны источника возбуждения. Какова длина волны и частота соответствующего перехода в ИК спектре поглощения анализируемого вещества?

74. Спектр комбинационного рассеяния анализируемого вещества получен с использованием излучения аргонового ионного лазера с длиной волны 488,0 нм. Линии комбинационного рассеяния были найдены при длинах волн 496,6, 498,5, 506,5 и 522,0 нм. Рассчитайте волновые числа этих линий. Какова длина волны антистоксовой линии, соответствующей стоксовой линии при 498,5 нм?

75. Дайте классификацию методов люминесцентной спектроскопии.

76. В чем заключаются преимущества люминесцентной спектроскопии перед абсорбционной в химическом анализе?

77. Перечислите физические пути потери энергии возбуждения люминесценции.

78. Сформулируйте правило Стокса — Ломмеля. В чем причины появления антистоксовой области в спектрах?

79. В чем заключается правило зеркальной симметрии (правило Лёвшина)?

80. Какие методы освещения и регистрации используют для измерения люминесценции и почему?

81. Каковы особенности требований, предъявляемых к люминесцентным реагентам по сравнению с фотометрическими в неорганическом анализе?

82. Приведите примеры применения собственной люминесценции в неорганическом анализе. В чем достоинства такого типа излучения?

83. Какие процессы лежат в основе хемилюминесценции? Перечислите достоинства и недостатки хемилюминесцентного метода анализа по сравнению с фотолюминесцентными.

84. В чем заключается эффект Шпольского? Перечислите достоинства методов анализа, основанных на этом эффекте.

85. На чем основано измерение спектров синхронной люминесценции? Перечислите достоинства методов анализа, основанных на измерении спектров синхронной люминесценции.

86. В чем суть и отличия методов нефелометрии и турбидиметрии?

87. Приведите примеры применения методов нефелометрии и турбидиметрии в химическом анализе. Перечислите недостатки и достоинства этих методов.

88. Напишите уравнение Гуревича — Кубелки — Мунка и перечислите следствия, вытекающие из него при измерении спектров, связанных с поглощением света.

89. Перечислите факторы, влияющие на диффузное отражение, погрешности в спектроскопии диффузного отражения. Как измеряют спектры диффузного отражения слабо окрашенных образцов?

90. На чем основаны калориметрические спектроскопические методы?

91. На каких процессах основано появление оптико-акустического эффекта в газах и конденсированных средах? Каким образом измеряют оптико-акустический сигнал в этих средах?

92. Перечислите основные достоинства и недостатки метода оптико-акустической спектроскопии в химическом анализе.

93. В чем причина схожести оптико-акустических и абсорбционных спектров? Существуют ли специфические особенности при измерении оптико-акустических спектров жидких и твердых образцов?

94. Изменение какого физического параметра регистрируют в методе термолинзовой спектроскопии? В чем отличие данного метода от оптико-акустической спектроскопии? Что в них общего?

95. Какое свойство лазерного излучения лежит в основе аналитической термолинзовой спектроскопии? Почему? Какие другие характеристики лазерного излучения также важны в термолинзовой спектроскопии?

96. Перечислите основные элементы оптической схемы в термолинзовом эксперименте. Перечислите основные аналитические методы термолинзовой спектроскопии.

97. В чем преимущество термолинзовой спектроскопии перед традиционной спектрофотометрией?

98. Отличаются ли релаксационные процессы в спин-резонансных методах от процессов, используемых в остальных спектроскопических методах?

99. Чем обусловлена ширина линии в спектрах ЭПР?

100. Какие классы веществ, обладающих парамагнитным поглощением, наиболее перспективны для использования в аналитической химии?

101. Чем обусловлена сложность спектров ЭПР?

102. В каких областях аналитической химии целесообразно использовать метод ЭПР? Какую информацию можно получить?
103. Для решения каких вопросов аналитической химии перспективно применение метода ЯМР?
104. Назовите стандарты, используемые в методе ЯМР.
105. Почему метод ЯМР перспективен для идентификации смеси органических соединений?

Список литературы

- Анализ поверхности методами оже- и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии / под ред. Д. Бриггса, М. П. Сиха. — М. : Мир, 1987.
- Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто, Г. М. Видмара. — М. : Мир, 2004.
- Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа / под ред. О. М. Петрухина. — М. : Химия, 2001.
- Бенуэлл К. Основы молекулярной спектроскопии / К. Бенуэлл. — М. : Мир, 1985.
- Брицке М. Э. Атомно-абсорбционный спектрохимический анализ / М. Э. Брицке. — М. : Химия, 1982.
- Демтрёдер В. Лазерная спектроскопия / В. Демтрёдер. — М. : Наука, 1985.
- Жаров В. П. Лазерная оптико-акустическая спектроскопия / В. П. Жаров, В. С. Летохов. — М. : Наука, 1984.
- Зайдель А. Н. Атомно-флуоресцентный анализ. Физические основы метода / А. Н. Зайдель. — М. : Наука, 1980.
- Ионин Б. И. ЯМР-спектроскопия в органической химии / Б. И. Ионин, Б. А. Ершов, А. И. Кольцов. — Л. : Химия, 1983.
- Кузяков Ю. Я. Методы спектрального анализа / Ю. Я. Кузяков, К. А. Семененко, Н. Б. Зоров. — М. : Изд-во МГУ, 1990.
- Лосев Н. Ф. Основы рентгеноспектрального флуоресцентного анализа / Н. Ф. Лосев, А. Н. Смагунова. — М. : Химия, 1982.
- Отто М. Современные методы аналитической химии : в 2 т. / М. Отто. — М. : Техносфера, 2003.
- Пентин Ю. А. Физические методы исследования в химии / Ю. А. Пентин, Л. В. Вилков. — М. : Мир, 2003.
- Сверхчувствительная лазерная спектроскопия / под ред. Д. Клайджера. — М. : Мир, 1986.
- Тёрёк Т. Эмиссионный спектральный анализ : в 2 т. / Т. Тёрёк, Й. Мика, Э. Гегуш. — М. : Мир, 1982.
- Томпсон М. Руководство по спектрометрическому анализу с индуктивно связанной плазмой / М. Томпсон, Д. Н. Уолш. — М. : Недра, 1988.
- Хавезов И. Атомно-абсорбционный анализ / И. Хавезов, Д. Цалев. — Л. : Химия, 1983.
- Фелдман Л. Основы анализа поверхности и тонких пленок / Л. Фелдман, Д. Майер. — М. : Мир, 1989.
- Юинг Д. Инструментальные методы химического анализа / Д. Юинг. — М. : Мир, 1989.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

11.1. Общие положения

Масс-спектрометрические методы анализа получили широкое распространение в аналитической практике. Они основаны на ионизации атомов и молекул анализируемой пробы, разделении образовавшихся ионов в пространстве или во времени и последующем определении их массы (точнее — отношения массы иона m к его заряду z — m/z). Часто эти методы объединяют общим названием *масс-спектрометрия* (иногда *масс-спектроскопия*). Масс-спектрометрия — научная дисциплина, разрабатывающая теорию и методы регистрации спектров масс ионов. По аналогии с оптической спектроскопией такие спектры получили название *масс-спектров*, поскольку их фоторегистрация на первых приборах давала изображения, похожие на линии оптических спектров.

Процессы образования ионов весьма сложны. Подтверждением этому может служить разнообразие получающихся ионов: положительно и отрицательно заряженные; одно- и многозарядные; атомарные, молекулярные и кластерные; первичные, диссоциированные, перезарядные и т. д. Большое влияние на эти процессы оказывает химический и изотопный состав ионизируемого вещества. Теоретический базис масс-спектрометрии опирается на современные представления в области ядерной, атомной, молекулярной физики, физики твердого тела и жидкостей, физики плазмы и радиационных процессов.

Информация, получаемая в процессе исследования вещества масс-спектрометрическими методами, весьма обширна. Кроме получения данных об элементном и изотопном составе можно оценить энергию связи внешних электронов и структуру орбиталей, энергию ионизации и сродство к электрону, время жизни возбужденных состояний, структурные особенности молекул, их фрагментов и др.

Аналитические приложения масс-спектрометрии, ориентированные прежде всего на установление химического состава вещества, широко используются в различных областях науки и техники. Масс-спектрометрические методы в настоящее время являются одними из наиболее чувствительных, информативных и надежных методов анализа.

В современной масс-спектрометрии можно выделить три основных направления, связанных с аналитической химией. Прежде всего это — *элементная масс-спектрометрия*. Из названия следует, что главным приложением масс-спектрометрических методов в рамках этого направления является элементный анализ веществ и материалов. Исторически это направление берет свое начало с работ английского физика Дж. Томсона по определению заряда электрона и положительных ионов на рубеже XIX—XX вв. Первые приборы, явившиеся прототипами современных масс-спектрометров, были созданы А. Демпстером и Ф. Астоном в 1918—1919 гг. С момента создания и по настоящее время методы элементной масс-спектрометрии являются основными методами получения данных о массах

ядер и атомных массах элементов с погрешностью не хуже 10^{-5} — 10^{-4} %. Интенсивное применение масс-спектрометрических методов для определения элементного состава началось в середине 1950-х гг. В настоящее время они занимают лидирующее положение в области элементного анализа.

Изотопная масс-спектрометрия применяется для определения изотопного состава вещества. Уже на начальном этапе развития масс-спектрометрии Ф. Астеном было открыто более 200 стабильных изотопов. К настоящему времени установлен изотопный состав всех элементов Периодической системы, изучено влияние на него природных процессов, выявлена тождественность изотопного состава элемента в земных и космических веществах. В рамках этого направления решают задачи контроля технологических процессов производства ядерного топлива, изотопного анализа продуктов его переработки, определения периодов полураспада, сечений поглощения нейтронов стабильными изотопами и др. Изотопный анализ широко используют в геологии, геохимии и археологии для определения возраста различных объектов.

Молекулярная (органическая, структурная) масс-спектрометрия используется для анализа сложных органических соединений и их смесей. Очевидно, что наряду с информацией о количестве и соотношении элементов, входящих в состав органической молекулы, принципиально важно знать структуру молекулы. Молекулярный структурный масс-спектрометрический анализ базируется на том, что при ионизации вещества некоторая часть молекул превращается в ионы не разрушаясь, а некоторая часть при этом распадается на осколки — фрагменты (диссоциативная ионизация, фрагментация). Измерение масс и относительного содержания молекулярных и осколочных ионов (молекулярного масс-спектра) позволяет определить не только молекулярную массу, но и структуру ионизируемых молекул. Бурное развитие этого направления началось в 1950-е гг., чему способствовала разработка новых, так называемых «мягких» способов ионизации и создание более совершенных способов регистрации масс-спектров. В настоящее время молекулярная масс-спектрометрия завоевала прочные лидирующие позиции среди методов анализа органических и биоорганических соединений. Этот метод незаменим при решении целого ряда важных задач в экологии, фармацевтике, медицине, криминалистике.

Ключевым понятием в масс-спектрометрии является масс-спектр. В гл. 10 упоминалось, что совокупность значений измеряемой величины называют спектром (правильнее говорить о функции распределения этой величины по какому-либо параметру). В масс-спектрометрии таким характеристическим параметром является масса иона (точнее — отношение массы иона к его заряду m/z). В качестве единицы размерности массы используют атомные единицы массы (а. е. м.) или дальтоны (Да), которые определяют как $1/12$ массы атома ^{12}C . Атомные массы изотопов элементов не являются целыми числами (при учете точных значений масс протона, нейтрона, электрона, а также влияния дефекта масс), поэтому часто используют значения *массового числа* M (масса иона в атомных единицах массы, округленная до целого числа).

Упрощенно процесс получения аналитической информации сводится к сортировке ионов, полученных при ионизации анализируемой пробы, по значениям m/z и подсчета их числа. При оптимизации условий подвода вещества в аналитическую зону, где происходит его ионизация, можно добиться прямо пропорциональной зависимости между числом ионов и концентрацией определяемого ком-

понента в анализируемой пробе. В этом случае значение m/z в масс-спектре позволяет идентифицировать компонент, а по интенсивности соответствующей линии можно судить о его концентрации.

Прибор для проведения масс-спектрометрических измерений называют *масс-спектрометром* (*масс-спектрографом* при фотографической регистрации спектра). Он включает: систему подготовки и ввода пробы; блок ионизации (конструктивно их объединяют в общий модуль, называемый источником ионов); масс-анализатор, осуществляющий пространственное или временное разделение ионов в зависимости от значения m/z ; детектор ионов; систему обработки информации и управления прибором. Масс-анализатор и детектор ионов обязательно вакуумируют. Качество вакуума определяет длину свободного пробега ионов и существенно влияет на измеряемый сигнал. Как правило, давление остаточных газов в этих узлах прибора не превышает $\sim 10^{-9} - 10^{-7}$ Па. Требования к вакууму в источнике ионов менее жесткие. В некоторых случаях он может работать и при атмосферном давлении, но с использованием специальных систем для ввода образовавшихся ионов в область глубокого вакуума в масс-анализаторе и детекторе.

11.2. Методы ионизации

В *источнике ионов* происходит ионизация анализируемой пробы и формирование ионного пучка для последующего разделения. Существует много типов источников, каждый из которых фактически определяет ту или иную разновидность масс-спектрометрического метода. Выбор источника зависит от решаемой задачи и определяется многими факторами (агрегатным состоянием и количеством анализируемой пробы, ее физическими свойствами и т. д.). Мы ограничим рассмотрение лишь основными типами источников ионов.

Проще всего осуществить ионизацию вещества, находящегося в газообразном состоянии. Одним из первых и наиболее распространенных вплоть до настоящего времени способов ионизации является *ионизация электронным ударом*. В камере источника пары анализируемого вещества (их парциальное давление обычно $\sim 10^{-7} - 10^{-5}$ Па) подвергаются действию пучка электронов, испускаемых нагретым катодом. Если энергия электронов достаточно велика ($\sim 50 - 100$ эВ) происходит ионизация. Выход ионов зависит от потенциала и сечения ионизации атомов или молекул и обычно не превышает 0,01 %. Основными достоинствами такого источника являются простота, хорошая воспроизводимость и высокая чувствительность. При взаимодействии молекул с электронами образуются молекулярные ионы (нечетно-электронные ион-радикалы), которые могут иметь как положительный, так и отрицательный заряд. Избыточная энергия, сообщаемая электронами молекулярному иону в процессе его образования, затем равномерно перераспределяется по межатомным связям. Если избыток энергии достаточен для разрыва связи, то происходит распад — фрагментация — молекулярного иона с образованием осколочных ионов и нейтральных частиц. Значительное число органических соединений характеризуется низкой стабильностью молекулярного иона в условиях электронного удара. В масс-спектрах таких соединений пик, соответствующий значению m/z молекулярного иона (его обозначают $[M^+]$), имеет низкую интенсивность или вообще отсутствует. Это один из существенных

недостатков данного метода ионизации (рис. 11.1, *а*). Для его устранения был предложен способ, получивший название *химической ионизации*. Процесс ионизации осуществляется в результате ионно-молекулярных реакций между молекулами определяемого вещества и ионами газа-реагента (метана, бутана, гелия, аммиака и др.). Для этого пробу смешивают с большим количеством газа-реагента (в отношении 1 : $10^3 - 10^4$) и направляют в источник ионизации электронным ударом. В этом случае под действие электронного пучка попадают в основном молекулы газа-реагента, образуя в источнике плазму из ионов-реагентов. Вступая в ионно-молекулярные реакции различного типа, ионы-реагенты осуществляют «мягкую» ионизацию молекул определяемого вещества. Как следствие, фрагментация оказывается весьма незначительной, а пик молекулярного иона достаточно интенсивным (рис. 11.1, *б*).

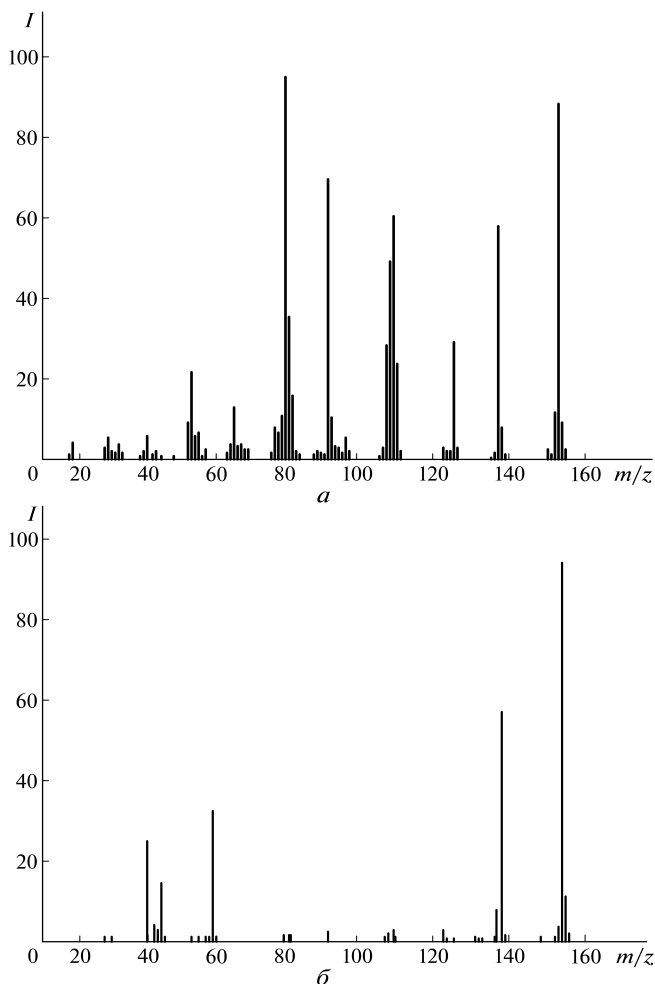


Рис. 11.1. Масс-спектр 3-нитробензилового спирта, полученный при ионизации электронным ударом (*а*) и при химической ионизации (*б*)

При ионизации вещества, находящегося в жидком или твердом состоянии, возникает необходимость подвода дополнительной энергии на преодоление сил коллективного взаимодействия между атомами и молекулами вещества. В этих условиях проведение молекулярного анализа осложняется и требует использования особых приемов. Перевод вещества в газовую фазу может приводить к термическому распаду труднолетучих или термически нестабильных соединений, что сильно сказывается на правильности анализа. Методы ионизации таких соединений базируются на двух подходах: 1) очень быстрое испарение перед ионизацией; 2) образование ионов в веществе перед его испарением и их извлечение (десорбция).

Десорбционная (прямая) химическая ионизация основана на том, что скорости испарения и деструкции многих органических веществ имеют разные температурные зависимости. Испарение труднолетучего вещества осуществляют с поверхности металлического эмиттера, нагреваемого электрическим током. Быстрый нагрев позволяет достичь температур, при которых скорость испарения существенно превышает скорость деструкции. Эмиттер вместе с пробой помещают в источник химической ионизации. Спектр представляет собой интенсивный пик молекулярного иона и небольшое число пиков фрагментных ионов, часть из которых обусловлена термодеструкцией исходной молекулы. Пробу наносят на эмиттер в виде раствора с последующим высушиванием.

Отметим, что если эмиттер не помещают в источник химической ионизации, то ионизация происходит при соударении атомов или молекул пара с нагретой металлической поверхностью. Такой тип источника ионов называют *термоионным*. Он характеризуется высокой стабильностью и широко применяется в изотопной масс-спектрометрии. Степень ионизации зависит от потенциала ионизации вещества, работы выхода электрона и температуры металлического эмиттера, на который наносят пробу.

Процесс *полевой ионизации* основан на явлении автоионизации атома или молекулы в сильном электрическом поле путем туннелирования электрона. Это возможно, если напряженность поля достигает 10^7 — 10^8 В/см. Такие поля создают, подавая высокое напряжение на иглообразные электроды (эмиттеры) с очень малым радиусом кривизны острия. По способу подачи анализируемой пробы различают полевую ионизацию и полевую десорбцию.

В источник полевой ионизации проба поступает в газообразном состоянии через отдельную систему ввода. В случае полевой десорбции труднолетучее вещество наносят на эмиттер, и ионы образуются непосредственно в конденсированной фазе. При полевой ионизации избыточная энергия молекулярного иона значительно ниже, чем в условиях химической ионизации. Очень часто это приводит к тому, что спектр представляет собой единственный пик, принадлежащий молекулярному иону.

Весьма перспективным методом прямого молекулярного анализа жидкостей оказался метод *электрораспылительной ионизации* (или *электроспрей*), разработанный в начале 1980-х гг. Идею метода отражает его первоначальное название — экстракция растворенных ионов при атмосферном давлении. Если анализируемое вещество находится в жидкой фазе в ионной форме (благодаря диссоциации, катионизации и т. п.), то процесс получения ионов сводится к их извлечению из конденсированной фазы. Это достигается распылением жидкости в вакуум через капилляр, к которому приложен высокий потенциал. В процессе распыления за-

ряженные капли уменьшаются в размере за счет испарения растворителя, при этом плотность заряда на поверхности капли увеличивается. Достигая некоторого критического размера, капля распадается на более мелкие. Этот процесс неоднократно повторяется, причем нейтральные молекулы растворителя удаляются из источника системой откачки. В конечном итоге после испарения и удаления остаточных молекул растворителя полученные ионы выталкиваются полем из источника. Уникальные особенности источника электрораспылительной ионизации заключаются в том, что он позволяет получать ионы соединений, молекулярная масса которых достигает сотен тысяч дальтон. Молекулярный ион практически не подвергается фрагментации, а в спектре наблюдается ряд пиков молекулярного иона с различной кратностью заряда и степенью протонированности ($[M \cdot nH]^m$).

Для веществ, которые не склонны образовывать ионы в жидкой фазе, применяют *химическую ионизацию при атмосферном давлении*. В этом методе жидкость смешивают с потоком нагретого газа (азота или воздуха) и распыляют в виде мелкодисперсного аэрозоля в испарительной камере. После быстрого испарения растворителя проводят ионизацию с использованием либо пучка электронов от β -излучателя, либо коронного разряда. Поскольку число молекул растворителя в газовой фазе существенно превышает число молекул определяемого вещества, ионизация осуществляется за счет ионно-молекулярных реакций (обычно в результате процесса переноса протона). Данный метод хорошо подходит для анализов с небольшой (менее 5 000 Да) массой и средней (или хорошей) летучестью. В источник можно вводить газы-реагенты, повышающие эффективность ионизации. Очень часто источники электрораспылительной ионизации и химической ионизации при атмосферном давлении совмещают в одном приборе, что значительно повышает универсальность метода в целом.

Разработка этих методов ионизации открыла перспективу развития отдельного направления — биоорганической масс-спектрометрии.

Еще один шаг на этом пути был сделан с появлением метода *матрично-активированной лазерной десорбционной ионизации* (МАЛДИ). Метод заключается в облучении лазерными импульсами анализируемого вещества, помещенного в специальную органическую матрицу. Матрицу выбирают таким образом, чтобы ее молекулы активно поглощали лазерное излучение, образуя над поверхностью образца плотную высокотемпературную плазму. Ионизация молекул анализируемого вещества происходит путем поглощения лазерного излучения или в результате ионно-молекулярных реакций с ионами матрицы. Как и в случае химической ионизации, соотношение аналит : матрица может достигать 10^0 — 10^4 . Метод характеризуется интенсивными пиками молекулярных ионов и низкой фрагментацией. С использованием МАЛДИ были зарегистрированы рекордные для масс-спектрометрии массы однозарядных ионов в несколько миллионов дальтон. В настоящее время метод используют для анализа полипептидов, белков, нуклеотидов, гуминовых кислот и других биоорганических соединений.

В элементной масс-спектрометрии используют источники с «жестким» режимом ионизации. В источнике одновременно протекают процессы испарения, атомизации и ионизации твердых и жидких веществ.

Для анализа растворов используют ионизацию в *индуктивно связанной плазме*. Высокая температура аргоновой плазмы позволяет эффективно ионизировать растворенное вещество. Отметим, что большинство линий в оптических спек-

рах, регистрируемых в методе атомно-эмиссионной спектроскопии с возбуждением спектров в индуктивно связанной плазме, относятся к ионным компонентам. Разработка способа извлечения ионов из плазмы и их дальнейшая регистрация стали основой нового метода — масс-спектрометрии с ионизацией в индуктивно связанной плазме. В настоящее время этот метод занимает в элементном анализе лидирующую позицию. С его помощью можно одновременно определять следовые количества нескольких десятков элементов вплоть до содержания $\sim 10^{-10}\%$ в водных растворах.

Для прямого масс-спектрометрического анализа твердых проб используют искровой и лазерный источники, а также источник с ионной бомбардировкой. В *искровом источнике* ионы образуются в результате электрического пробоя промежутка между электродами, одним из которых является анализируемая проба. Поскольку источник ионов вакуумирован, к электродам прикладывают более высокое (25—50 кВ) напряжение, чем в методе АЭС с искровым возбуждением спектров. К основным достоинствам метода следует отнести относительную простоту пробоподготовки, высокую относительную и абсолютную чувствительность. Однако образующиеся при такой ионизации атомарные ионы имеют большой разброс по значениям кинетической энергии, что требует применения масс-анализаторов с высокой разрешающей способностью.

Принцип работы *лазерного источника* ионов при прямом анализе твердых проб заключается в воздействии сфокусированного лазерного излучения с высокой плотностью мощности на поверхность твердого тела. При высокой плотности потока ($Q \sim 10^9 - 10^{12}$ Вт/см²) лазерного излучения поглощенная энергия превышает энергию связи атомов в веществе и энергию ионизации, в результате чего слой облучаемого вещества превращается в плазму. Степень ионизации близка к единице. Размеры пятна фокусировки лазерного излучения на поверхности могут достигать нескольких единиц квадратных микрометров, что делает такой способ ионизации удобным для осуществления локального распределительного анализа.

В основе работы источника с *ионной бомбардировкой* лежит эффект ионно-ионной эмиссии. Первичные ионы (Cs^+ , Ar^+ , O_2^+ , Ga^+), ускоренные до энергии 5—30 кэВ, в процессе бомбардировки поверхности анализируемой пробы передают часть своей энергии атомам решетки твердого тела. В результате последние могут покинуть поверхность твердого тела в виде ионов (вторичные ионы). Регистрируя их, можно получить информацию об элементном и изотопном составе распыляемой поверхности. Такой способ ионизации используют в методе масс-спектрометрии вторичных ионов. Метод очень удобен для проведения как локального, так и послыйного анализа.

11.3. Разделение и регистрация ионов

Масс-анализаторы предназначены для пространственного или временного разделения ионов с различными значениями m/z . Для этих целей используют магнитные или электрические поля, а также их комбинации. Основной величиной, характеризующей способность масс-анализатора разделять ионы с незначительно отличающимися массами, является его разрешающая способность. Регистрируемая в масс-спектре линия иона с массовым числом M не является беско-

нечно узкой, а имеет форму пика с некоторой шириной ΔM (а.е.м.). Под *разрешающей способностью* R понимают отношение $M/\Delta M$, где ΔM измеряют на определенной высоте пика (например, на высоте, составляющей a процентов высоты пика). Во многих типах масс-анализаторов разрешение зависит от значения m/z . В этом случае разрешающей способностью называют значение той наибольшей массы, при которой два пика одинаковой интенсивности, отличающиеся по массе на единицу, разрешаются на заданном уровне a . Если значение R не зависит от отношения m/z , оба определения эквивалентны. На рис. 11.2 показаны возможные изобарные наложения в спектре для $m/z = 28$ и приведены значения R , необходимые для разрешения линий в спектре.

Различают статические и динамические анализаторы. Как следует из названия, в *статических масс-анализаторах* ионы разделяются в электрическом и магнитном полях, напряженность которых не меняется за время пролета иона через прибор ($E = \text{const}$, $H = \text{const}$). В электростатическом поле ($E = \text{const}$, $H = 0$) траектории движущихся ионов определяются отношением их полной энергии к заряду и в общем случае не зависят от массы ионов. Такие поля можно применять только для разделения ионов по энергиям. Напротив, в однородном магнитном поле ($E = 0$, $H = \text{const}$) ионы двигаются под действием силы Лоренца по круговым орбитам, радиус r_i которых определяется напряженностью магнитного поля H , ускоряющим напряжением U_0 и отношением m_i/z_i :

$$r_i = \frac{1}{H} \sqrt{2U_0 \frac{m_i}{z_i}}.$$

Меняя значения H или U_0 , можно заставить двигаться по окружности с фиксированным радиусом ионы с разными отношениями m/z . Отметим, что если для детектирования ионов используют координатно-чувствительный детектор (например, фотопластинку), то возможна одновременная регистрация всего масс-спектра (или его части в определенном диапазоне масс). В этом случае положение линии на детекторе относительно входной щели масс-анализатора при фиксированных значениях H и U_0 однозначно будет определять отношение m/z .

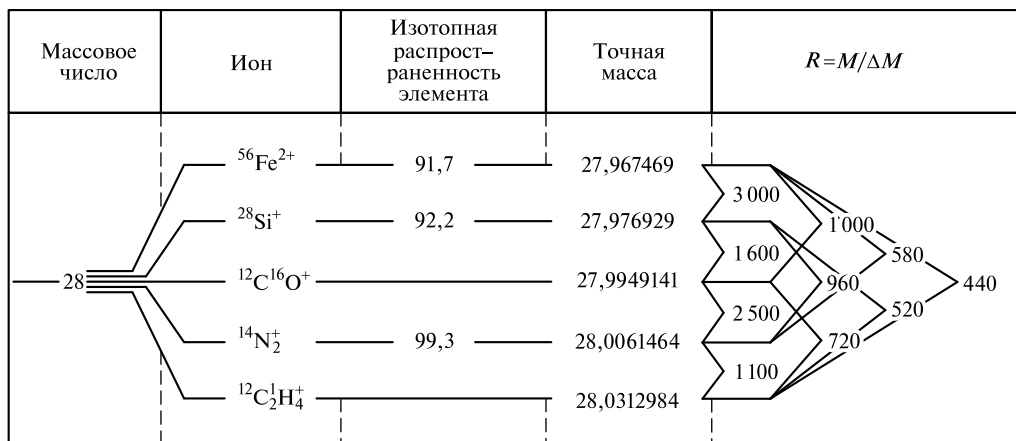


Рис. 11.2. Изобарные наложения в масс-спектре для $m/z = 28$

Следует отметить, что даже небольшое различие в кинетической энергии ионов с одинаковым значением m/z , попадающих в магнитный масс-анализатор, резко ухудшает качество разделения. Для устранения этого влияния применяют комбинации электрического и магнитного полей (как правило, используют последовательно расположенные электрическое и магнитное поля). Такие приборы, называемые масс-анализаторами с двойной фокусировкой (рис. 11.3), имеют высокую разрешающую способность (часто $R \sim 10^4 - 10^5$) и диапазон измеряемых масс, превышающий 10 000 а.е.м.

В *динамических масс-анализаторах* разделение ионов происходит в переменных полях. Для этих целей используют, как правило, либо переменное электрическое поле, либо его сочетание с постоянным магнитным полем. Кроме того, к динамическим относят и беспольные, или времяпролетные масс-анализаторы, в которых разделение ионов осуществляется на основе разного времени пролета определенного расстояния.

Предложено более десятка разновидностей динамических масс-анализаторов. Рассмотрим принципы работы некоторых из них, наиболее широко применяемых в аналитической практике.

Квадрупольный масс-анализатор состоит из четырех параллельно расположенных электродов (рис. 11.4) с гиперболическим профилем рабочей поверхности (часто для упрощения конструкции используют стержни круглого сечения). На электроды попарно подают напряжение, меняющееся по гармоническому закону $U(t) = U_0 + U_1 \cos(\omega t)$. В пространстве между электродами формируется переменное электрическое поле с гиперболическим распределением потенциала. При движении в этом поле вдоль оси устройства ионы совершают колебания с частотой ω . Можно подобрать такой режим работы анализатора (варьируя значения U_0 , U_1 и ω), что часть ионов в узком диапазоне масс будет иметь ограниченную амплитуду колебаний, в то время как для остальной части она будет неогра-

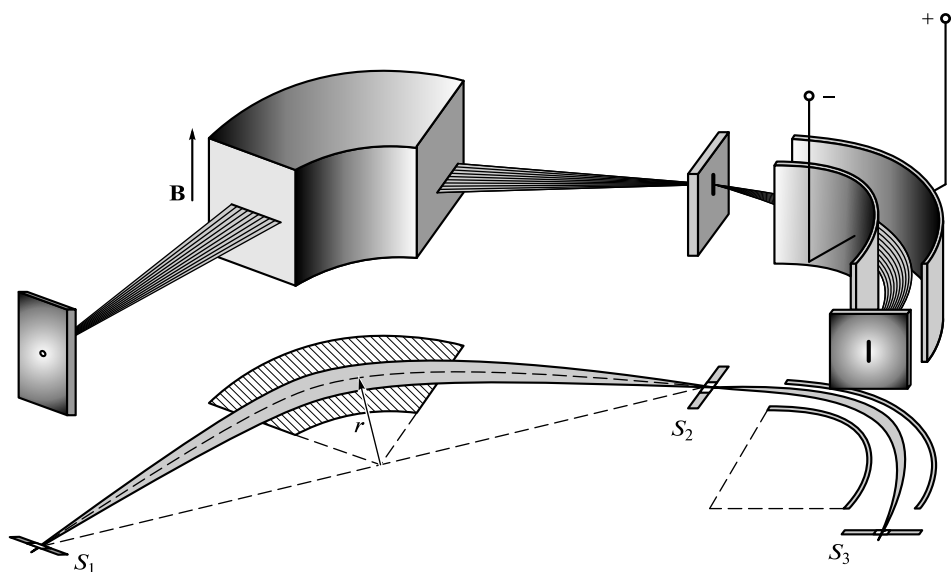


Рис. 11.3. Схема масс-анализатора с двойной фокусировкой

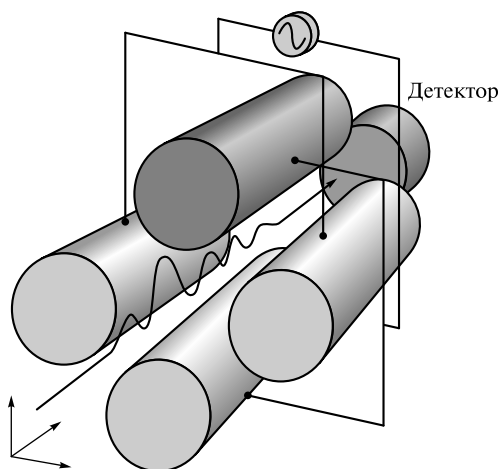


Рис. 11.4. Схема квадрупольного масс-анализатора

ниченно возрастать. Ионы, амплитуда колебаний которых неограниченно возрастает, достигают поверхности электродов и нейтрализуются. Ионы с ограниченной амплитудой колебаний проходят через анализатор и регистрируются детектирующей системой. Таким образом, квадрупольный масс-анализатор работает как своеобразный фильтр масс. Изменяя частоту переменного напряжения на электродах, можно быстро сканировать спектр в широком диапазоне значений m/z . Высокая скорость сканирования, большая (до 100 %) пропускающая способность, относительная простота и компактность являются основными преимуществами таких анализаторов. Появившись на рынке в 1950-е гг., квадрупольные масс-анализаторы дали толчок к развитию методов органической масс-спектрометрии прежде всего потому, что позволили относительно просто реализовать сочетание хроматографических методов разделения с масс-спектрометрическим детектированием. Анализаторы этого типа являются одними из наиболее распространенных и в настоящее время. К недостаткам следует отнести небольшой диапазон определяемых масс (не более нескольких тысяч дальтон) и разрешающую способность, не превышающую нескольких сотен единиц.

Одним из путей улучшения разрешающей способности квадрупольных масс-анализаторов является увеличение времени пребывания разделяемых ионов в полях с гиперболическим распределением потенциала. Увеличить время пребывания иона в таких полях можно с помощью специальной системы электродов, обеспечивающей гиперболическое распределение потенциала в трех взаимно перпендикулярных направлениях. Такая система получила название «ионная ловушка». Она состоит из кольцеобразного электрода, имеющего гиперболическое сечение внутренней поверхности, и двух электродов — колпаков с гиперболической поверхностью (рис. 11.5). Если напряжение, прикладываемое между двумя колпаками и кольцом, меняется по закону $U(t) = U_0 + U_1 \cos(\omega t)$, то ионы с фиксированным значением m/z , которое определяется значениями U_0 , U_1 , ω , двигаются в межэлектродном промежутке по замкнутой траектории сколь угодно долго. Ионы с иными значениями m/z через некоторое время нейтрализуются на электродах вследствие неограниченного возрастания амплитуды их колебаний.

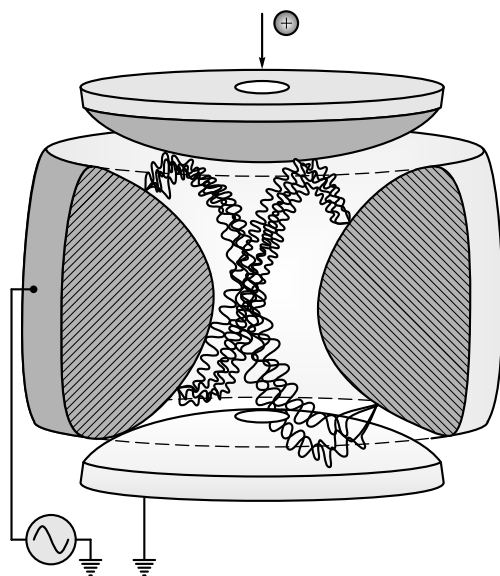


Рис. 11.5. Схема ионной ловушки

Изменяя напряжение на электродах, можно осуществлять транспортировку удерживаемых ионов к детектору. Для этого в электродах-колпаках формируют специальные каналы либо изготавливают их из металлических сеток. Анализаторы типа «ионная ловушка» имеют лучшую разрешающую способность по сравнению с традиционными квадрупольными. Кроме того, захватив ионы с определенным значением m/z в ловушку и сообщив им дополнительную энергию, можно осуществить их взаимодействие с нейтральными атомами и молекулами, добываясь последовательной фрагментации материнского иона. Таким образом, реализуется режим тандемных масс-спектрометрических измерений. Современные ионные ловушки характеризуются разрешающей способностью до 10^4 , диапазоном определяемых масс в несколько десятков тысяч дальтон в зависимости от режима работы и возможностью регистрации до 10 поколений фрагментных ионов.

Использование постоянного магнитного поля в сочетании с переменным электрическим позволяет существенно улучшить характеристики масс-анализатора. На этом принципе основана работа приборов, использующих явление ионно-циклотронного резонанса. Суть его заключается в следующем. В однородном магнитном поле ионы двигаются по круговым орбитам с циклической частотой ω_m (циклотронная частота), зависящей от напряженности магнитного поля H и отношения m/z .

Если перпендикулярно магнитному полю сформировать переменное электрическое поле, частота которого ω_z совпадет с циклотронной, то наступает резонанс, проявляющийся в поглощении энергии электрического поля. Ионы при этом начинают двигаться по спирали. Варьирование значения ω_z позволяет реализовать резонансное поглощение для ионов с различным отношением m/z . Детектирование таких ионов может осуществляться различными способами.

Современные системы, использующие ион-циклотронный резонанс с фурье-преобразованием сигнала, представляют собой ячейку, образованную тремя парами электродов (рис. 11.6). Одна пара электродов (1, 2) используется для создания потенциальной ямы, «запирающей» ионы в ячейке. Потенциальные барьеры не позволяют ионам покинуть ячейку в направлении оси OX . Ионы движутся с циклотронной частотой по окружностям, центры которых расположены на силовых линиях магнитного поля, вектор напряженности которого также направлен вдоль оси OX . Таким образом, однородное магнитное поле не позволяет ионам покинуть ячейку в направлении вдоль оси OY . Процедура измерения масс-спектра состоит из нескольких этапов. Первоначально ячейку заполняют ионами. Отметим, что ионы могут создаваться непосредственно в ячейке либо транспортироваться в нее с использованием систем ионной оптики. Иногда после заполнения ячейки выдерживают некоторую паузу с целью проведения различных ион-молекулярных реакций. Затем на электроды 3, 4 накладывают широкополосный импульс переменного напряжения. Интервал изменения частоты в импульсе продолжительностью 1 мс может составлять от 10 кГц до 1 МГц. Это приводит к тому, что ионы в широком диапазоне значений m/z начинают резонансно поглощать энергию электрического поля и двигаться по окружностям с большим радиусом. Движение ионов наводит переменный ток между электродами 5, 6. После окончания действия импульса наведенный ток затухает по экспоненциальному закону. Применение преобразования Фурье к измеренному суммарному сигналу позволяет определить циклотронную частоту и, следовательно, значения m/z ионов, присутствующих в ячейке. Амплитудный анализ Фурье спектра дает информацию о числе ионов с определенным значением m/z .

Ион-циклотронные анализаторы с фурье-преобразованием имеют очень высокое разрешение ($R \sim 10^5 - 10^6$), диапазон измеряемых масс достигает несколь-

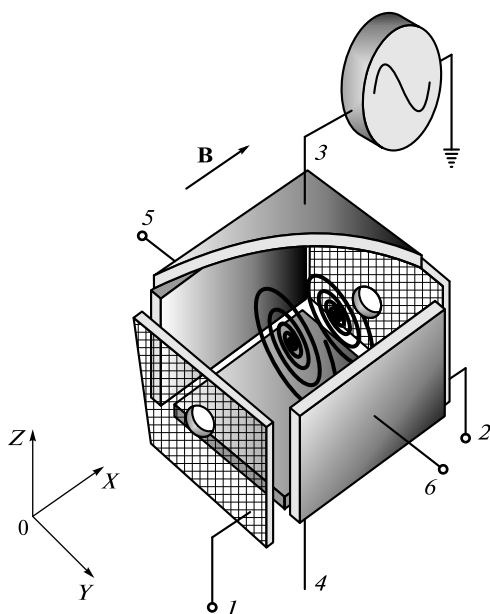


Рис. 11.6. Схема масс-анализатора, использующего явление ион-циклотронного резонанса

ких десятков тысяч дальтон. Однако цена приборов, использующих этот принцип разделения ионов, весьма высока.

Принцип работы *времяпролетного масс-анализатора* основан на различном времени пролета фиксированного пути (в поле или без поля) ионами с разными значениями m/z и имеющими одинаковую энергию (рис. 11.7, *а*). Важно, чтобы все разделяемые ионы начали двигаться в дрейфовой трубе анализатора одновременно. Для этого используют специальную систему электродов, выталкивающих ионный пакет из источника импульсом тока. Время пролета t_i i -го иона составит

$$t_i = L\sqrt{m_i/(2z_iU_0)},$$

где L — длина бесполевого промежутка; m_i , z_i — соответственно масса и заряд i -го иона; U_0 — ускоряющее напряжение.

Основной недостаток таких анализаторов — низкая разрешающая способность, обусловленная разбросом кинетических энергий ионов на входе в анализатор. Применение ионных зеркал (рис. 11.7, *б*), изменяющих траекторию движения ионов за счет отражения электростатическим полем рефлектора с потенциалом U_r (в том числе и многократного), позволило существенно повысить разрешающую способность. В современных многоотражательных времяпролетных масс-анализаторах — *масс-рефлектронах* разрешающая способность составляет $\sim 10^4$ — 10^6 . Кроме того, эти анализаторы характеризуются очень высокой скоростью записи спектра и практически неограниченным диапазоном определяемых масс.

Для регистрации ионов используют детекторы различных типов: коллектор ионов, фотопластинки и вторично-электронный умножитель.

Фотографический способ регистрации используют только в сочетании с ионным источником ионов и магнитным масс-анализатором. Основным достоинством детектирования этого типа является возможность одновременной регистрации всего спектра в широком диапазоне значений m/z . К недостаткам можно отнести малый динамический диапазон (не более двух порядков) и зависимость чувствительности фотоэмульсии от энергии иона.

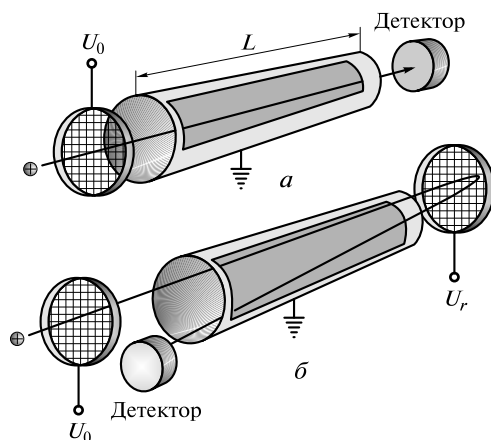


Рис. 11.7. Схема времяпролетного масс-анализатора (*а*) и масс-рефлектрона (*б*)

Коллектор ионов — заземленная пластинка или цилиндр (цилиндр Фарадея) — позволяет реализовать прямое измерение ионного тока (следовательно, и числа ионов) порядка до 10^{-14} А. Мультиколлекторные системы, расположенные в фокальной плоскости статического масс-анализатора, позволяют регистрировать ионы с разными значениями m/z одновременно.

Вторично-электронный умножитель — электронное устройство, в котором поток электронов, выбиваемый регистрируемым ионом из электрода на входе в прибор, усиливается в умножительной системе в результате вторичной электронной эмиссии. Прибор имеет открытый вход, поскольку расположен в вакуумной части масс-спектрометра. В остальном принцип работы и конструкция аналогичны фотоэлектронным умножителям.

11.4. Определение органических веществ

Масс-спектры, регистрируемые методами молекулярной масс-спектрометрии, дают информацию о молекулярной массе и структуре исходной молекулы. Молекулярную массу определяют по значению m/z молекулярного иона $[M^+]$. Масс-спектры высокого разрешения значительно упрощают задачу установления структуры соединения, поскольку позволяют на основании значений точных масс ионов рассчитывать единственно возможную брутто-формулу фрагментов. При использовании приборов с низкой разрешающей способностью элементный состав молекулярных ионов можно с определенной степенью надежности установить с помощью данных по природной распространенности изотопов важнейших (для органических соединений) элементов. Соотношение интенсивностей пиков с массовыми числами M , $M + 1$ и $M + 2$ дает информацию о качественном и количественном элементном составе молекулы органического вещества. Относительная интенсивность пика $[M^+]$ позволяет сделать предположение о принадлежности определенному классу соединений. Она зависит от устойчивости молекулярного иона, которая возрастает в следующем ряду: спирты < разветвленные углеводороды < n -алканы < амины < эфиры < карбоновые кислоты < алкены < циклоалканы < ароматические соединения.

Как отмечалось, многие соединения не дают в спектре пиков молекулярного иона при ионизации электронным ударом. В таких случаях прибегают к методам «мягкой» ионизации. При этом, как правило, в спектрах наблюдаются пики квазимолекулярных ионов $[M + H]^+$. В спектрах, полученных химической ионизацией, регистрируют только такие пики. В спектрах, полученных полевой ионизацией и полевой десорбцией, присутствуют и пики $[M^+]$.

Определение структуры проводят на основе анализа спектральной информации, касающейся фрагментных ионов. Состояние теории пока не позволяет однозначно количественно предсказать масс-спектр молекулы. Однако фрагментация образующегося молекулярного иона не является стохастическим процессом. Имеются выявленные эмпирические закономерности, отражающие связь структуры ионизируемой молекулы с возможными путями фрагментации молекулярного иона. На их основе возможна идентификация важнейших пиков фрагментных ионов и решение обратной задачи — определение структуры молекул исследуемого вещества. Кроме того, мощным средством решения подобной задачи служат библиотеки масс-спектров, которые являются непре-

менной составной частью программного обеспечения современных масс-спектрометров.

Для количественных определений необходимо знать коэффициент относительной чувствительности по данному веществу, который учитывает эффективность ионизации, потери ионов в ионном тракте, масс-анализаторе и детекторе и т. д. Анализ предшествует съемка масс-спектра индивидуального соединения. В масс-спектрометрических методах имеется уникальная возможность использования в качестве внутреннего стандарта аналога определяемого соединения, меченного изотопной меткой. Такой прием существенно улучшает метрологические характеристики анализа в целом.

Помимо изучения индивидуальных соединений очень важны задачи качественного и количественного анализа сложных смесей органических соединений. В этом случае весьма продуктивным оказалось сочетание масс-спектрометрии с хроматографическими методами разделения — газовой и жидкостной хроматографией. *Хромато-масс-спектрометрия* является наиболее широко используемым методом органической масс-спектрометрии. Сущность этого комбинированного метода заключается в предварительном хроматографическом разделении смесей органических соединений и последовательном вводе разделенных компонентов в ионный источник масс-спектрометра. Важной характеристикой в таком сочетании оказывается скорость записи масс-спектра. Необходимо, чтобы за время выхода компонента из колонки (порядка нескольких секунд) можно было зарегистрировать 5—10 спектров в достаточно широком диапазоне масс. Очень подходящими для этих целей оказались динамические масс-анализаторы.

Добавление к масс-спектрометрической информации еще одного характеристического параметра — времени хроматографического удерживания — существенно упрощает процедуру идентификации компонентов сложных смесей. Кроме того, появляется возможность проводить качественный и количественный анализ смеси изомеров, масс-спектры которых практически неразличимы. Метод характеризуется высокой абсолютной чувствительностью, которая в зависимости от режима детектирования может составлять 10^{-12} — 10^{-9} г. В настоящее время хромато-масс-спектрометрия является, по-видимому, единственным аналитическим методом достоверного определения на необходимом уровне содержания таких опасных экотоксикантов, как диоксины и родственные соединения.

Использование методов «мягкой» ионизации для определения элементного состава по значению m/z молекулярного иона в ряде случаев затрудняет установление его структуры ввиду отсутствия пиков фрагментных ионов. Кроме того, при анализе сложных смесей применение хромато-масс-спектрометрии не всегда целесообразно (длительность анализа, невозможность прохождения через колонку некоторых компонентов и т. п.). Решение этих проблем возможно с использованием *тандемной масс-спектрометрии*. Суть метода сводится к тому, что первоначально проводится масс-спектрометрическое разделение смеси, а затем устанавливают структуру компонентов. Для этого смесь ионизируют «мягким» методом и образовавшиеся молекулярные ионы разделяют в первом анализаторе. Затем их активируют с целью дальнейшей фрагментации, последовательно вводя в специальную ячейку. Для инициирования фрагментации используют активацию путем столкновений с нейтральными молекулами газа, фотодиссоциацию и активацию электронами. Во втором масс-анализаторе фрагментные ионы разделяются, и регистрируется спектр индивидуального соединения.

Возможности тандемной масс-спектрометрии и ее многостадийного варианта оказались особенно востребованы при решении аналитических задач в биотехнологии и фармакологии. В этих отраслях часто приходится проводить анализ смесей в широком диапазоне содержаний компонентов и идентифицировать примеси в сложных биологических матрицах. В настоящее время методы тандемной масс-спектрометрии и хромато-масс-спектрометрии являются основным рабочим инструментом для контроля синтеза и чистоты лекарственных препаратов, анализа метаболизма лекарств, в различных биохимических исследованиях.

11.5. Определение биоорганических и высокомолекулярных веществ

Одним из современных направлений развития органической масс-спектрометрии, безусловно, является *биоорганическая масс-спектрометрия*. С развитием методов «мягкой» ионизации, хромато-масс-спектрометрии и особенно методов тандемной масс-спектрометрии появилась возможность проводить анализ сложных высокомолекулярных биоорганических веществ (белков и пептидов, нуклеиновых кислот и нуклеотидов, липидов, полисахаридов и т. д.). Превращения этих веществ составляют химическую сущность биологических процессов, и знание механизмов этих превращений необходимо в фармацевтике, биотехнологии, молекулярной биологии, биохимических и клинических исследованиях, объединяемых в настоящее время термином «наука о жизни» (life science). На рубеже XX — XXI вв. возникла новая наука *протеомика*, основная задача которой — установление и характеристика полного набора белков конкретного организма (протеома). Протеомика возникла как естественное развитие геномики — науки о геноме: полной генетической системе, ответственной за происхождение, развитие, воспроизводство и наследование всех структурных и функциональных особенностей организма. Фактически гены определяют возможный набор белков, которые в свою очередь ответственны за все биохимические процессы в организме на клеточном уровне.

Исследования в области протеомики в настоящее время находятся на начальной стадии и направлены на определение структуры и установление функциональных свойств белков, выяснение механизмов регуляции их активности и межбелковых взаимодействий. Можно отметить важность этих исследований в медицинском отношении. В частности, выявление специфичных для каждого конкретного заболевания изменений в протеоме позволяет своевременно диагностировать и предотвращать развитие многих заболеваний. Кроме того, открывается перспектива создания индивидуальных лекарственных средств, избирательно влияющих на целевые белки — мишени — и функционирование протеома в целом.

К числу основных методов, используемых при установлении состава биоорганических молекул, относятся масс-спектрометрия высокого разрешения и двумерный электрофорез. При этом двумерный гель-электрофорез белков в полиакриламидном геле используют для предварительного разделения белков и их первичной идентификации. Масс-спектрометрические методы оказываются более предпочтительными для точной идентификации белков, чем традиционные биохимические процедуры (различные варианты электрофореза и гель-проникающей хроматографии).

Развитие методов «мягкой» ионизации (особенно МАЛДИ и метода электроспрея) в органической масс-спектрометрии позволило существенно расширить круг определяемых соединений, резко снизить пределы обнаружения ($\leq 10^{-15}$ моль) и уменьшить спектральные интерференции. Высокая чувствительность масс-спектрометрических методов позволила уменьшить количество вещества, необходимое для проведения анализа (на 3 — 4 порядка по сравнению с методами секвенирования и ЯМР). Наиболее востребованными при анализе белков и пептидов являются методы МАЛДИ и электроспрея. Оба метода позволяют определять молекулярную массу пептида или белка в сотни тысяч дальтон. Метод МАЛДИ не требует сложной пробоподготовки и позволяет анализировать гетерогенные образцы. Метод электроспрея легко сочетается с методами хроматографического разделения, что существенно упрощает процедуру идентификации компонентов. Перед анализом обычно проводят ферментативное расщепление белка, после чего можно определить массу большинства пептидных фрагментов. Таким образом, составляется пептидная карта масс, которая фактически является «отпечатком пальцев» конкретного белка. Использование пептидных карт позволяет установить конформационные изменения после ковалентного связывания модификаторов белка, место связывания и природу заместителей. Сравнение таких карт дает возможность изучать модификацию и мутацию различных белков.

Наряду с составлением пептидных карт масс представляет интерес установление последовательности аминокислотных звеньев (первичной структуры белка). Для этих целей используют, как правило, современные разновидности тандемной масс-спектрометрии. Компьютерные базы данных, создаваемые на основе этих исследований, позволяют значительно упростить процедуру установления структуры белка или его фрагмента по молекулярной массе.

11.6. Элементный анализ

Достоинства масс-спектрометрических методов элементного анализа хорошо известны. К ним можно отнести простоту пробоподготовки, отсутствие ограничений на агрегатное состояние образца (компактные или порошкообразные пробы металлов, полупроводников или диэлектриков, жидкости, газы), универсальность, высокую чувствительность и др. При элементном анализе к пробе подводят достаточное количество энергии, чтобы разорвать все связи между атомами и осуществить их 100%-ю ионизацию независимо от физико-химических свойств определяемых элементов. В процессе анализа в чистых веществах можно определить до 70 примесей на уровне 10^{-7} — 10^{-5} %. В пробах сложного состава (породы, минералы) без предварительной обработки можно определить 35 — 40 элементов на уровне 10^{-7} — 10^{-5} %. В масс-спектрометрии спектральные наложения гораздо менее интенсивны, чем в других методах, например в атомно-эмиссионной спектроскопии или активационном анализе. Однако при анализе многокомпонентных природных объектов некоторые аналитические линии перекрываются линиями сложных ионов. Основные затруднения при интерпретации масс-спектров, полученных методами элементной масс-спектрометрии, вызваны следующими причинами: 1) сложным изотопным составом определяемых элементов (например, титан, цинк имеют 5 изотопов, барий, молибден — 7, олово — 12); 2) образованием элементом Э и его изотопами химических соединений в процессе ионизации

(ЭХ, где $X = C, N, O, Ar$); 3) образованием многозарядных ионов; 4) образованием кластеров Э_n с различной кратностью заряда. Применение масс-анализаторов с двойной фокусировкой позволяет в значительной мере облегчить процедуру качественного анализа.

Сложная природа процессов, протекающих в высокоэнергетических источниках ионов, ощутимо влияет на правильность прямого количественного анализа твердых тел. Одним из путей решения этой проблемы является использование внутреннего стандарта. Наиболее эффективно такой способ работает в варианте изотопного разбавления пробы.

В настоящее время информация об элементном составе широко используется для решения вопросов о происхождении материалов. Качественный состав и содержание различных элементов (особенно находящихся в микро- и следовых количествах) дают уникальную информацию об объекте и позволяют дифференцировать образцы различных материалов по месту их происхождения. Масс-спектрометры высокого разрешения с ионизацией в индуктивно связанной плазме позволяют решать подобные задачи применительно к широкому кругу материалов, в том числе органических и биоорганических (например, нефть и нефтепродукты, пищевые продукты и фармацевтические препараты).

11.7. Изотопный анализ

Исторически с начала своего развития изотопная масс-спектрометрия была тесно связана с ядерной физикой, позднее с геохронологией и атомной промышленностью. Возможность определения изотопного состава, обзорность и низкие пределы обнаружения обусловили широкое распространение масс-спектрометрических методов для решения исследовательских и технологических задач в этих областях.

Основными особенностями количественного анализа изотопного состава являются широкий диапазон отношений концентраций разных изотопов одного элемента и очень высокие требования к погрешности измерений. В ряде случаев требуется измерять концентрации изотопов с относительной погрешностью не ниже тысячных долей процента. Такие метрологические характеристики анализа до недавнего времени удавалось получить лишь при использовании приборов с термоионизационным источником ионов, статическим масс-анализатором с двойной фокусировкой и мультиколлекторным детектором. В ряде случаев при изотопном анализе газообразных веществ или элементов, образующих газообразные химические соединения, а также легколетучих твердых веществ применяли источник с ионизацией электронным ударом. В настоящее время для изотопного анализа все шире применяют приборы с ионизацией в индуктивно связанной плазме. Возрастание роли масс-спектрометрии с ионизацией в индуктивно связанной плазме в изотопном анализе можно объяснить явными преимуществами метода, среди которых — возможность быстрого прямого ввода пробы при атмосферном давлении, анализ очень малых количеств вещества (до уровня концентраций 10^{-9} г/мл), отсутствие ограничений на значения первого потенциала ионизации элемента и существование термически устойчивых форм. Использование мультиколлекторных детекторов в масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией в индуктивно связанной плазме позволяет существенно упростить

пробоподготовку и ускорить анализ, точностные характеристики которого сопоставимы с масс-спектрометрическими методами, использующими термоионный источник ионов и ионизацию электронным ударом.

Традиционные задачи, решаемые методами изотопной масс-спектрометрии в атомной промышленности, связаны с определением примесного и изотопного состава расщепляющихся материалов в процессе их производства и переработки. Масс-спектрометрические измерения положены в основу определения периодов полураспада и сечений поглощения при делении радиоактивных веществ.

Знание изотопного состава открывает перспективу установления источников происхождения ядерных материалов. Как и в случае элементного анализа, основные компоненты материалов (например, уран или плутоний), как правило, не несут информации об источнике происхождения. Однако изотопный состав компонентов-микропримесей наглядно отражает особенности технологических процессов или характеристику месторождений.

Изотопная масс-спектрометрия широко применяется при исследовании атмосферы, гидросферы и литосферы, планет и космических объектов. С ее помощью решают задачи определения возраста пород и минералов (по изотопному соотношению $U - Pb$, $K - Ar$, $Rb - Sr$, $K - Ca$), изучения процессов эволюции Земли и планет Солнечной системы, процессов образования месторождений. Часто масс-спектрометрические измерения позволяют получить уникальную информацию. Например, данные по изотопному составу кислорода в биогенных апатитах могут быть использованы для оценки температурных изменений земной поверхности на протяжении миллионов лет. Анализ изотопного состава атмосферного углекислого газа дает основания полагать, что увеличение его количества связано с сжиганием горючих ископаемых.

К одному из относительно новых направлений следует отнести применение гибридных методов хромато-масс-спектрометрии в изотопной масс-спектрометрии. Такой подход позволяет охарактеризовать многие органические материалы (в плане места происхождения и технологии получения) на основе точного измерения малых вариаций изотопного состава легких элементов (C , O , N , S , H , Cl , Si). Например, идентификация географического происхождения наркотических веществ, получаемых из природных источников, может основываться на измерении для них изотопных отношений $^{15}N/^{14}N$ и $^{13}C/^{12}C$. При создании соответствующего банка данных и применении методов многомерного статистического анализа достоверность идентификации оказывается достаточно высокой. Аналогичный подход используют для анализа широкого круга веществ различных классов (аминокислот, углеводов, пищевых продуктов, лекарственных препаратов, нефти и нефтепродуктов). Ключевым моментом для развития этого направления является разработка способов перевода хроматографически разделенных компонентов в газовую фазу с последующим вводом их в изотопный масс-спектрометр.

Контрольные задания

1. Дайте определение понятия «масс-спектрометрия».
2. Охарактеризуйте понятие «масс-спектр».
3. В каких областях аналитической химии целесообразно использовать масс-спектрометрические методы анализа?

4. Перечислите основные узлы масс-спектрометра.
5. Какие существуют способы ионизации атомов и молекул?
6. Объясните разницу между методами «жесткой» и «мягкой» ионизации.
7. Какие принципы лежат в основе разделения ионов в масс-спектрометре?
8. В чем разница между статическими и динамическими масс-анализаторами?
9. Почему масс-спектрометрический метод анализа органических соединений получил широкое распространение?
10. Каким образом можно определить молекулярную массу и структуру органических соединений масс-спектрометрическим методом?

Список литературы

Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто, Г. М. Видмара. — М. : Мир, 2004.

Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа / под ред. О. М. Петрухина. — М. : Химия, 2001.

Лебедев А. Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А. Т. Лебедев. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003.

Отто М. Современные методы аналитической химии : в 2 т. / М. Отто. — М. : Техносфера, 2003.

Полякова А. А. Молекулярный масс-спектральный анализ органических соединений / А. А. Полякова. — М. : Химия, 1983.

Рамендик Г. И. Элементный масс-спектрометрический анализ твердых тел / Г. И. Рамендик. — М. : Химия, 1993.

Спектроскопические методы определения следов элементов / под ред. Дж. Вайнфордера. — М. : Мир, 1979.

Сысоев А. А. Введение в масс-спектрометрию / А. А. Сысоев, М. С. Чупахин. — М. : Атомиздат, 1977.

Сысоев А. А. Изотопная масс-спектрометрия / А. А. Сысоев, В. Б. Артаев, В. В. Кашев. — М. : Энергоатомиздат, 1993.

Карасек Ф. Введение в хромато-масс-спектрометрию / Ф. Карасек, Р. Клемент. — М. : Мир, 1993.

Чепмен Дж. Практическая органическая масс-спектрометрия / Дж. Чепмен. — М. : Мир, 1988.

Глава 12

МЕТОДЫ АНАЛИЗА, ОСНОВАННЫЕ НА ЯВЛЕНИИ РАДИОАКТИВНОСТИ

Методы анализа, основанные на явлении радиоактивности, возникли в период развития ядерной физики, радиохимии, атомной техники и с успехом применяются в промышленности и геологической службе. Эти методы весьма многочисленны и разнообразны. Можно выделить четыре основные группы: 1) радиоактивационный анализ; 2) методы изотопного разбавления и другие радиоиндикаторные методы; 3) методы, основанные на поглощении и рассеянии излучений; 4) радиометрические методы. Наибольшее распространение получил радиоактивационный анализ.

Радиоактивационный анализ

Радиоактивационный анализ появился после открытия искусственной радиоактивности и основан на образовании радиоактивных изотопов определяемого элемента при облучении пробы ядерными или γ -частицами и регистрации полученной при активации искусственной радиоактивности. Тип распада и энергия излучения образовавшегося радиоизотопа характеризуют природу искомого элемента, а радиоактивность дочернего радионуклида — количество этого элемента. Интенсивность радиоактивности A радиоизотопа сразу после облучения пробы равна

$$A = F\sigma N(1 - e^{-\lambda t}),$$

где F — плотность потока облучающих частиц (число частиц в 1 см^2); σ — сечение ядерной реакции, см^2 (вероятность перехода атомов определяемого элемента в радиоактивный изотоп); N — число атомов определяемого химического элемента ($N = mN_A k / \bar{A}$, где m — масса определяемого элемента, N_A — число Авогадро, k — относительное содержание активируемого изотопа элемента, \bar{A} — относительная атомная масса элемента, из которого образуется радиоизотоп); λ — постоянная распада, равная $0,693/T_{1/2}$ ($T_{1/2}$ — период полураспада); t — время облучения.

Через некоторое время T после облучения радиоактивность образовавшегося изотопа составляет

$$A_T = A e^{-\lambda T},$$

тогда

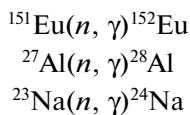
$$m = \frac{A_T \bar{A}}{N_A k F \sigma (1 - e^{-\lambda T})(1 - e^{-\lambda t})}.$$

Это — абсолютный метод определения массы элемента. Однако его практически не применяют из-за большой погрешности определения параметров σ и F , а используют метод сравнения с близким по составу образцом с известным содержанием определяемого элемента, который облучают одновременно с исследуемой пробой. Тогда получим

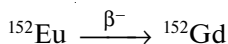
$$\frac{m_x}{m_{\text{ст}}} = \frac{I_x}{I_{\text{ст}}},$$

где m_x , $m_{\text{ст}}$ — масса пробы и стандартного образца соответственно; I_x , $I_{\text{ст}}$ — радиоактивность пробы и стандартного образца соответственно.

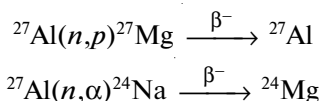
В зависимости от характера облучающих частиц различают несколько типов радиоактивационного анализа. Наиболее распространен *нейтронно-активационный анализ*. В этом методе для облучения чаще всего используют тепловые (медленные) нейтроны энергией 0,025 эВ, способные активировать почти все химические элементы начиная с натрия. Основное преимущество нейтронов низких энергий связано с тем, что они вызывают только одну ядерную реакцию, сечение которой, как правило, очень велико (рис. 12.1). Нейтрон захватывается ядром определяемого элемента, причем в основном происходят (n, γ) -реакции, в результате которых образуется изотоп того же элемента с атомной массой на единицу большей, например:



Образующийся изотоп обычно радиоактивен, и по его радиоактивности определяют нужный элемент; например:



При использовании быстрых нейтронов энергией порядка 14 МэВ возможно протекание реакций с выделением протонов или α -частиц, например:



Быстрые нейтроны используют в основном для активации легких (O, N, F и др.) элементов.

Существуют различные источники нейтронов. Их действие основано на ядерных реакциях, сопровождающихся выделением нейтронов, мощность потока которых может быть различной. Наиболее мощный поток нейтронов (до $10^{15} \text{ см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) дает ядерный реактор. Нейтронные генераторы, являющиеся источниками быстрых нейтронов по реакции

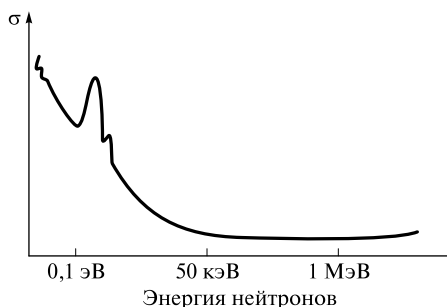
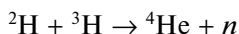
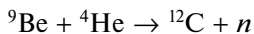


Рис. 12.1. Зависимость эффективного сечения захвата σ ядерной реакции от энергии нейтронов

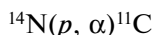
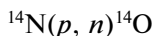
обеспечивают поток до $10^{11} \text{ см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Простейшие нейтронные источники (ампульные) содержат либо спонтанно делящийся радионуклид калифорний-252, либо однородную смесь порошков бериллия и α -активного нуклида (^{210}Po , ^{226}Ra , ^{239}Pu , ^{244}Am). Наиболее часто используют радий-бериллиевые и полоний-бериллиевые источники, в основе которых лежит реакция



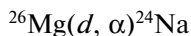
Поток нейтронов достигает в этом случае $10^5 - 10^6 \text{ см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

Одновременно с основной первичной (n, γ)-реакцией с определяемым элементом могут протекать и реакции иного типа, мешающие основной. Например, наряду с реакцией $^{35}\text{Cl}(n, \gamma)^{36}\text{Cl}$ идет реакция $^{35}\text{Cl}(n, \alpha)^{32}\text{P}$. Мешающее влияние могут оказывать и побочные (так называемые интерферирующие) реакции с элементом-основой или реакции с уже образовавшимися изотопами.

Активацию заряженными частицами (протонами, дейтронами, ядрами гелия) применяют прежде всего для определения легких элементов (азота, углерода и др.) в поверхностных слоях образца (из-за ограниченного пробега заряженных частиц), включая исследование распределения элементов. Например, облучение протонами используют при определении азота по реакциям:



Применяют также облучение дейтронами, например при определении магния:



При *гамма-активационном анализе* используют ускорители электронов. Тормозное гамма-излучение возникает при взаимодействии пучка электронов (20 — 30 МэВ) с атомами ряда тяжелых металлов. Аналитической обычно является реакция (γ, n). Определяют в основном легкие элементы (кислород, азот, углерод) по позитронному излучению (до $10^{-6}\%$), а также другие элементы с использованием гамма-спектрометрии.

Для определения бериллия и дейтерия разработан *фотонно-нейтронный метод*, основанный на измерении интенсивности нейтронного излучения, возникающего в результате ядерной реакции (γ, n) с высокоэнергетичными гамма-квантами радионуклидов ^{124}Sb или ^{24}Na . Использование изотопного источника гамма-излучения в данном случае возможно, поскольку энергия связи нуклонов в ядрах этих элементов относительно невелика.

Радиоактивационный анализ осуществляют в двух вариантах: с химической подготовкой образца (*радиохимический вариант*) и без нее (*инструментальный вариант*). Химическая подготовка проводится либо после облучения для отделения нужных радионуклидов от мешающих, либо перед облучением с целью удаления сильно активирующихся элементов или матрицы. Инструментальный вариант, в котором облученные образцы исследуют без разрушения, пригоден особенно тогда, когда образующийся радионуклид характеризуется малым временем полураспада. Возможности инструментального варианта определяются уровнем развития измерительной (счетной) техники, использованием полупроводниковых детекторов и многоканальных анализаторов импульсов.

Достоинствами активационного анализа как аналитического метода являются: высокая, иногда рекордная, чувствительность (предел обнаружения некоторых

элементов составляет 10^{-11} %); высокая специфичность, возможность определения большого числа (до 20—30) элементов из одной навески образца; малая масса требуемой навески; часто неразрушаемость пробы; отсутствие поправки на контрольный опыт, так как в большинстве случаев химическая обработка проводится (если вообще проводится) после облучения образца.

К недостаткам метода можно отнести: малую доступность источников активирующих частиц (в ряде случаев требуется ядерный реактор); необходимость защиты от радиоизлучений; сложности, возникающие при анализе образцов с сильно активирующейся матрицей.

Активационный метод получил широкое распространение при анализе веществ высокой чистоты, биологических и геологических объектов, в экологических и криминалистических исследованиях.

Интересное приложение нашел активационный анализ в космохимии. При исследовании слоев торфа в районе падения Тунгусского метеорита методом нейтронно-активационного анализа обнаружено повышенное содержание иридия, что указывает на космический и, возможно, кометный состав тела.

Методы изотопного разбавления

В основе методов изотопного разбавления лежит допущение, что разные нуклиды одного и того же элемента химически эквивалентны. Методы целесообразно использовать для определения близких по свойствам компонентов трудно разделяемых смесей. Методы изотопного разбавления сочетают достоинства метода внутреннего стандарта и метода добавок.

К анализируемому раствору, содержащему m_x граммов определяемого компонента, добавляют m_0 граммов того же компонента, содержащего радионуклид радиоактивностью I_0 , т.е. обладающий удельной радиоактивностью $S_0 = I_0/m_0$. После смешения и установления равновесия из системы выделяют m_1 граммов компонента в чистом виде и измеряют его активность I_1 . Удельная активность выделенной части равна

$$S_1 = \frac{I_1}{m_1} = \frac{I_0}{m_x + m_0},$$

откуда

$$m_x = \frac{I_0}{I_1} m_1 - m_0.$$

Важно, что для метода изотопного разбавления нет необходимости отделять изучаемый компонент количественно, однако массу выделенной части определяют, используя любой из методов количественного анализа, например гравиметрию. Предел обнаружения ограничен необходимостью определения массы выделенной доли вещества.

Метод изотопного разбавления усовершенствовали Я. Ружичка и И. Стары, введя понятие субстехиометрического выделения. В анализируемый и стандартный растворы, содержащие соответственно m_x и $m_{ст}$ граммов определяемого элемента, вводят одинаковое количество радионуклида определяемого элемента и

реагента, образующего с ним комплексное соединение, причем количество реагента должно быть меньше, чем требуется по стехиометрии для взаимодействия со всем определяемым веществом. После достижения равновесия изотопного обмена из обоих растворов продукты реакции выделяют подходящим способом и измеряют их радиоактивность $I_{\text{ст}}$, I_x . Значения m_x рассчитывают по формуле

$$m_x = m_{\text{ст}} \left(\frac{I_{\text{ст}}}{I_x} - 1 \right).$$

Введение субстехиометрического выделения позволяет избежать процедуры измерения массы и снизить предел обнаружения до 10^{-11} — 10^{-8} г.

Методы, основанные на поглощении и рассеянии излучений.

Радиометрические методы

Когда радиоактивное излучение попадает в вещество, излучение взаимодействует с электронами атомных оболочек. При этом возможно частичное поглощение излучения, его рассеяние и отражение. Методы анализа, основанные на измерении или изменении направления ядерного излучения в результате взаимодействия с веществом, хотя и не универсальны, но в ряде случаев могут быть полезны, особенно при определении одного из компонентов бинарной смеси. В зависимости от типа излучения различают γ -абсорбционный, β -абсорбционный и нейтронно-абсорбционный методы. Кроме того, следует упомянуть методы, основанные на отражении β -частиц и на замедлении нейтронов. Существуют и другие методы.

Поглощение β -частиц пропорционально числу электронов, приходящихся на единицу поперечного сечения определяемого элемента, т. е. приблизительно пропорционально отношению Z/A , где Z — заряд ядра атома элемента; A — атомная масса элемента. Отношение Z/A для большинства элементов постоянно и близко к $1/2$. Только для водорода оно равно 1. На этом основании разработан метод определения водорода в различных углеводородах. Погрешность определения низкая (менее 0,02 мас. %).

γ -Абсорбционный метод для аналитических целей удобно использовать, когда энергия применяемых для облучения γ -квантов практически полностью расходуется на возбуждение одного из внешних электронов (фотоэффект) и наблюдается сильная зависимость эффективного сечения поглощения от заряда ядра атома Z . γ -Абсорбционный метод успешно применяют для определения водорода в слоях толщиной до 1 м с малой погрешностью.

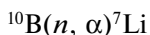
Нейтронно-абсорбционный метод служит для определения элементов с большими сечениями захвата (например, Li, Cd, B, Gd). Используют в основном тепловые нейтроны, поглощение которых подчиняется экспоненциальной зависимости

$$I = I_0 e^{-\sigma n l},$$

где I — поток нейтронов, прошедших через слой поглощающего вещества; I_0 — поток нейтронов, падающих на образец; σ — сечение захвата нейтронов; n — число атомов поглощающего вещества в 1 см^3 ; l — длина слоя поглощающего вещества.

Зная значения σ , I_0 и определив экспериментально поток I , можно рассчитать число атомов определяемого вещества в образце.

Легкие элементы, особенно водород, эффективно замедляют нейтроны, что может быть использовано для его определения. Число замедленных нейтронов пропорционально активности α -частиц, образующихся по реакции



По числу регистрируемых α -частиц определяют содержание водорода. Метод применяют для определения влаги в почвах, водорода в углеводородах.

Методы анализа, основанные на отражении β -частиц, целесообразно использовать, когда определяемые элементы сильно различаются по атомному номеру, поскольку отражение β -частиц возрастает с увеличением Z . Интенсивность отраженного β -излучения $I_{\text{отр}} \sim \sqrt{Z}$ зависит также от толщины отражающего слоя. Метод применяют для определения толщины металлических покрытий и анализа бинарных сплавов.

В последние годы активно развиваются ядерно-физические методы микроанализа. Это метод микро-PIXE (возбуждение характеристического рентгеновского излучения при облучении пробы пучком протонов) и метод RBS (спектрометрия обратного резерфордского рассеяния). Часто эти методы объединяют под общим названием — *ядерный микрозонд*. Методы основаны на использовании тонкофокусированных (доли микрона) пучков ускоренных протонов или ядер гелия (с энергией 1 — 5 МэВ). Часто установки включают устройства для сканирования поверхности образца на площади 1 — 3 мм². Предел обнаружения метода микро-PIXE при высокой локальности анализа довольно низок (10^{-6} — 10^{-4} %), погрешность анализа — менее 10 %. К тому же метод обеспечивает и анализ на контролируемую глубину (до 100 мкм) образца.

Метод спектрометрии обратного резерфордского рассеяния достаточно прост: ускоренные (более 2 МэВ) ионы гелия претерпевают на ядрах анализируемого вещества упругое рассеяние. Рассеянные ионы детектируют твердотельным детектором, расположенным под углом 150 — 170° к пучку, получая спектр. Компьютерный анализ характеристик спектра позволяет определить как химический состав пробы, так и профиль концентрации элементов по глубине с высоким (до 10 нм) пространственным разрешением. Метод обеспечивает прямой анализ без использования образцов сравнения и работает для элементов, присутствующих в пробе в сравнительно высоких (до долей процента) концентрациях. Таким образом, метод микро-PIXE отличается высокой локальностью и низким пределом обнаружения, а метод RBS обеспечивает высокое разрешение при определении профиля концентраций по глубине образца. Эти методы предполагают использование уникальных дорогостоящих установок, однако и получаемые результаты в определенной мере уникальны и весьма востребованы.

Радиометрические методы основаны на измерении радиоактивности естественных или искусственных радионуклидов. Многие природные элементы содержат радиоактивные изотопы: K, Rb, Re, Sm, W, Pb, Th, U и др. Кроме того, искусственные элементы, такие как Fr, Pm, Tc, At, Ac, Po, и все элементы, расположенные в Периодической системе после урана, вообще не имеют стабильных изотопов. Концентрацию этих элементов можно определить по их радиоактивности. В первую очередь это касается трансурановых элементов: плутония, америция, нептуния, содержание которых определяют по числу испускаемых α -частиц.

По γ -излучению часто отыскивают месторождения урана и тория и решают другие геологические задачи. Датирование в археологии и геологии во многих случаях осуществляют, определяя содержание в объекте радионуклида ^{40}K .

Мёссбауэровская спектроскопия

Мёссбауэровская спектроскопия напоминает оптическую резонансную флуоресценцию с той разницей, что вызвана она переходами между ядерными, а не между атомными энергетическими уровнями.

При радиоактивном распаде тяжелых элементов большая часть образующихся атомов возникает вначале в возбужденном ядерном состоянии. Через несколько микросекунд возбужденное ядро возвращается в исходное (основное) состояние, испуская излучение очень высокой ($10^{18} - 10^{20}$ Гц) частоты, лежащей в области γ -спектра.

С помощью мёссбауэровской спектроскопии наиболее часто определяют железо или олово, поскольку в их изотопах взаимное расположение ядерных энергетических уровней оптимально. Так, изотоп ^{57}Fe образуется при радиоактивном распаде изотопа ^{57}Co (период полураспада около 270 сут). Из упрощенной схемы энергетических уровней этого процесса видно, что в результате захвата электрона ядро кобальта образует возбужденное ядро железа $^{57}\text{Fe}^*$ (звездочка справа от символа элемента обозначает возбужденное состояние), метастабильный уровень которого лежит на 14,4 кэВ выше основного (рис. 12.2). Переход между этими уровнями дает γ -излучение с частотой $\nu = \Delta E/h = 3,47 \cdot 10^{18}$ Гц, которое легко поглощается ядрами железа, находящимися в основном состоянии. Поскольку время жизни возбужденного ядерного состояния $^{57}\text{Fe}^*$ (около $1,5 \cdot 10^{-7}$ с) значительно меньше, чем 270 сут, фактически при каждом распаде ядер ^{57}Co испускается γ -квант. Поглотителем (образцом) может быть обычное железо в любом химическом состоянии, поскольку распространенность изотопа ^{57}Fe в природе составляет $\sim 2\%$, что оказывается достаточным для получения приемлемой чувствительности.

Таким образом, сам принцип мёссбауэровской спектроскопии кажется весьма простым. Источник возбужденных ядер должен быть достаточно стабильным (период полураспада, по крайней мере, несколько недель), скорость распада и интенсивность γ -излучения должны быть постоянными во время эксперимента, т. е. в течение нескольких часов. Возбужденные ядра должны достаточно быстро пе-

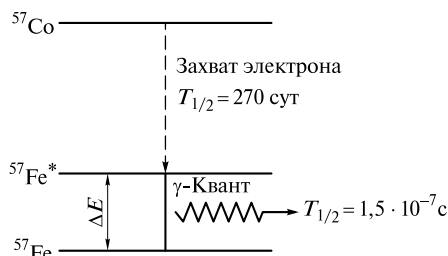


Рис. 12.2. Схема мёссбауэровского процесса

реходить в основное состояние, излучая γ -кванты в области частот $10^{18} - 10^{20}$ Гц. Однако на практике оказалось, что регистрация поглощения γ -излучения становится возможной лишь в том случае, если источник излучения движется относительно поглощающего образца.

Мёссбауэровская спектроскопия не реализовалась на практике до тех пор, пока не было получено простое и очень изящное решение. Р. Мёссбауэр предложил использовать в качестве излучателя кристалл, в ко-

тором излучающие ядра прочно связаны с другими ядрами в кристаллическую решетку и, следовательно, имеют достаточно большую эффективную массу, по которой «размазывается» энергия отдачи. И источник излучения, и образец охлаждают до низких температур, что сводит к минимуму тепловое движение атомов решетки. При этом γ -излучение радиоактивного кобальта (т.е. ядер Fe^* в металлической решетке) поглощается металлическим железом. Однако если железо находится в каком-либо другом химическом состоянии, то химическое окружение ядер железа приводит к химическому сдвигу, достаточному для того, чтобы поглощение больше не происходило.

Для превращения γ -резонансной мёссбауэровской спектроскопии в метод анализа необходимо иметь сканирующее устройство, позволяющее разворачивать спектр по частоте с возможностью точного определения частоты поглощения образцом. Была использована идея взаимного перемещения источника излучения и поглощающего образца, с тем чтобы доплеровское смещение точно компенсировало химический сдвиг. Требуемая скорость составляет несколько миллиметров в секунду и легко реализуется на практике. В принципе, можно перемещать как источник, так и образец, но на практике образец очень часто приходится охлаждать для «вымораживания» колебаний решетки и поэтому удобнее перемещать источник. Для этого используют двигатель, управляемый программируемым генератором сигналов так, чтобы ускорение (сначала в одном направлении, потом в другом) было постоянным (рис. 12.3). Выходной сигнал от детектора (счетчик Гейгера) поступает в одноканальный анализатор (чтобы ограничить отклик резонансом только γ -излучения), а оттуда — в многоканальный анализатор, синхронизированный с генератором управляющих двигателем команд. В результате многоканальный анализатор фиксирует сигналы в каждой точке возвратно-поступательного движения и суммирует их в каждом канале по многим циклам движения источника. Результирующий спектр представляет собой зависимость скорости счета (числа импульсов в секунду) от скорости относительного движения (с^{-1}): падение скорости счета отвечает поглощению γ -излучения образцом.

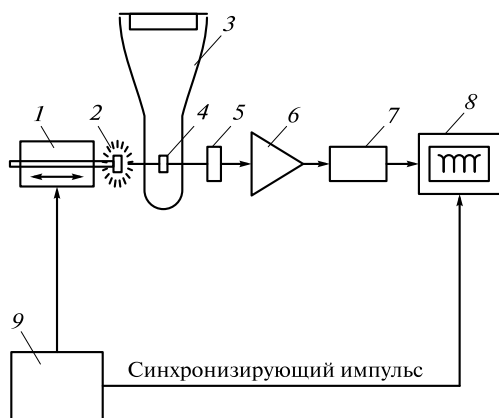


Рис. 12.3. Мёссбауэровский спектрометр (блок-схема):

1 — возвратно-поступательный двигатель; 2 — источник; 3 — сосуд Дьюара для жидкого азота или гелия; 4 — образец (поглотитель); 5 — детектор; 6 — предусилитель; 7 — одноканальный анализатор; 8 — многоканальный анализатор; 9 — генератор сигналов

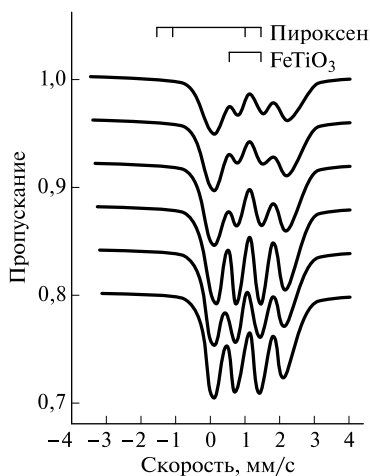


Рис. 12.4. Мёссбауэровские спектры шести образцов лунной породы с различным соотношением содержания титаната железа(II) FeTiO_3 и пироксена (железосодержащего силикатного минерала)

На рис. 12.4 представлены мёссбауэровские спектры нескольких образцов лунных пород. Путем сравнения со спектрами известных пород идентифицированы два минерала железа.

Существует более 30 элементов в различных соединениях или сплавах, для которых мёссбауэровская спектроскопия может дать не только количественную информацию об их соединениях, но и информацию о валентном состоянии, кристаллической структуре и т.д.

Наибольшее число исследований выполнено с изотопами ^{57}Fe , ^{61}Ni , ^{119}Sn .

Контрольные задания

1. Какие элементарные частицы используют для облучения в радиоактивационном анализе?
2. Каковы преимущества использования тепловых (медленных) нейтронов для облучения?
3. В каких случаях используют активацию быстрыми нейтронами?
4. Какие источники нейтронов используют в нейтронно-активационном анализе?
5. В каких случаях используют активацию заряженными частицами? Для каких элементов это целесообразно?
6. Каковы достоинства активационного анализа как аналитического метода?
7. В чем сущность метода изотопного разбавления?
8. В чем заключается субстехиометрическое выделение? Каковы его преимущества?
9. Для каких целей используют радиометрические методы?
10. При каких условиях наблюдается эффект Мёссбауэра?
11. Какие элементы чаще всего определяют (исследуют) методом мёссбауэровской спектроскопии?

Список литературы

- Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто, Г.М. Видмара. — М. : Мир, 2004.
- Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа / под ред. О.М. Петрухина. — М. : Химия, 2001.
- Кузнецов Р.А. Активационный анализ / Р.А. Кузнецов. — М. : Атомиздат, 1974.
- Новые методы радиоаналитической химии / под ред. Г.Н. Билимович, М. Кирша. — М. : Энергия, 1982.
- Отто М. Современные методы аналитической химии : в 2 т. / М. Отто. — М. : Техносфера, 2003.
- Пентин Ю.А. Физические методы исследования в химии / Ю.А. Пентин, Л.В. Вилков. — М. : Мир, 2003.

ТЕРМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Термические методы анализа основаны на взаимодействии вещества с тепловой энергией. Наибольшее применение в аналитической химии находят термические эффекты, которые являются причиной или следствием химических реакций. В меньшей степени применяют методы, основанные на выделении или поглощении теплоты в результате физических процессов; это процессы, связанные с переходом вещества из одной модификации в другую, изменением агрегатного состояния и другими изменениями межмолекулярного взаимодействия, например, происходящими при растворении или разбавлении. В табл. 13.1 приведены наиболее распространенные методы термического анализа.

Таблица 13.1

Термические методы анализа

Название метода	Регистрируемый параметр	Измерительный прибор
Термогравиметрия	Изменение массы	Термовесы
Термический и дифференциальный термический анализ	Выделяемая или поглощаемая теплота	Аппаратура дифференциального термического анализа, дифференциальный сканирующий калориметр
Термометрическое титрование	Изменение температуры	Адиабатический калориметр
Энтальпиметрия	Выделяемая или поглощаемая теплота	Адиабатический калориметр
Дилатометрия	Изменение температуры	Дилатометры
Катарометрия	Изменение температуры	Катарометры

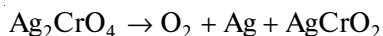
Термические методы успешно используют для анализа металлургических материалов, минералов, полимеров, для фазового анализа почв, определения содержания влаги в пробах.

Термогравиметрия

Термогравиметрия (ТГ) заключается в измерении потери массы Δm пробы в зависимости от температуры. Кривые зависимости потери массы от температуры называют *термогравиграммами* (рис. 13.1). Часто изменение массы не очень

ярко выражено. Тогда целесообразно провести дифференциальную термогравиметрию (ДТГ) — построить дифференциальную кривую потери массы в координатах $\Delta m/\Delta T = f(T)$ (рис. 13.2). Термогравиграммы позволяют проследить за ходом превращения вещества в процессе нагревания. При этом происходят разные химические реакции: разложение, окисление и восстановление, дегидратация, замещение и др. Термогравиграммы можно использовать для решения ряда задач:

- 1) по потере массы можно судить о содержании определяемого компонента;
- 2) можно установить интервал температуры устойчивости разных форм вещества, в том числе гравиметрической формы, что очень важно при определении веществ гравиметрически; например, потеря массы до температуры 92 °С (см. рис. 13.1, кривая 1) означает удаление промывной и адсорбированной воды; в интервале температуры 812—945 °С протекает реакция



Таким образом, при определении хрома в виде хромата серебра(I) осадок следует прокалывать в интервале температуры 100—800 °С;

3) термогравиграммы дают информацию о составе соединений на разных стадиях разложения;

4) метод термогравиметрии позволяет провести одновременное определение компонентов, не осуществимое другими методами (например, определение кальция и магния в виде совместно осажденных оксалатов); метод часто применяют для определения влаги в пробах, причем по площадкам на термогравиграммах удается различать адсорбированную и кристаллизационную воду.

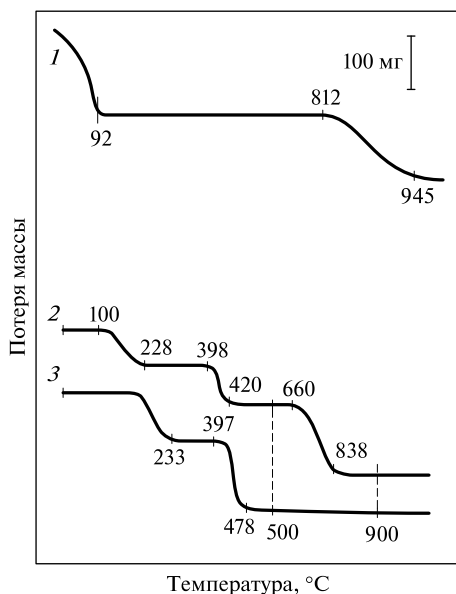


Рис. 13.1. Термогравиметрические кривые:

1 — хромат серебра(I); 2 — оксалат кальция; 3 — оксалат магния (указаны значения температуры, °С)

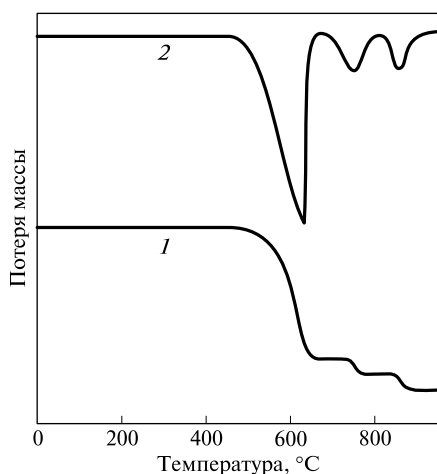
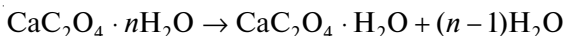


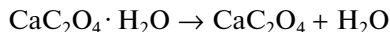
Рис. 13.2. Термогравиметрическая кривая (1) и соответствующая ей дифференциальная термогравиметрическая кривая (2) (минимумы на кривой 2 соответствуют скачкам на кривой 1)

В качестве примера рассмотрим кривые разложения оксалатов кальция и магния (см. рис. 13.1). Кривая 2 состоит из четырех площадок и трех резких скачков. Скачки соответствуют следующим процессам:

1) потеря молекул воды (100—115 °C):



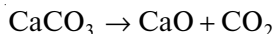
2) потеря молекулы воды моногидратом оксалата кальция (115—200 °C):



3) разложение оксалата до карбоната (400—420 °C):

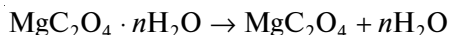


4) разложение карбоната кальция (660—840 °C):



Разложение оксалата магния (кривая 3) протекает в две стадии:

1) потеря молекул воды (< 230 °C):



2) разложение оксалата магния (400—800 °C):



Если прокалить оксалаты CaC_2O_4 и MgC_2O_4 при температуре 500 °C, а затем при 900 °C, можно рассчитать содержание кальция и магния в исходной смеси. При температуре 500 °C осадок содержит $\text{CaCO}_3 + \text{MgO}$, при 900 °C — $\text{CaO} + \text{MgO}$.

Для непрерывной регистрации потери массы служат одноступенчатые аналитические весы с автоматическим регулированием температуры — *термовесы*.

Интервал потери массы зависит от массы осадка и ряда внешних факторов: скорости нагревания, скорости химической реакции при нагревании, наличия посторонних веществ. Например, показанная на рис. 13.3 система имеет два устойчивых равновесных состояния: при температуре ниже T_1 и при температуре выше T_1 . Тогда если по мере нагревания до значения T_1 выждать время, необходимое для достижения равновесия, то изменение массы при изменении температуры T_1 должно выглядеть так, как это показано сплошной линией (резкая ступенька).

При повышении скорости v изменения температуры протяженность участка до T_1 будет возрастать, а при $v \rightarrow \infty$ ступенька совсем исчезнет. Все это следует учитывать при проведении термогравиметрического анализа.

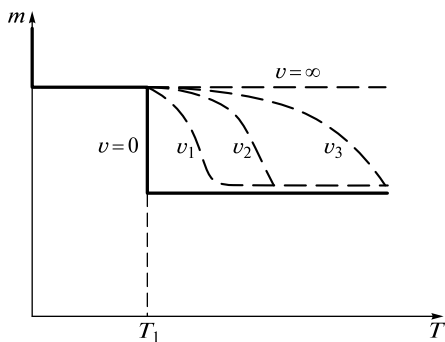


Рис. 13.3. Термогравиметрические кривые при разной скорости нагревания ($v_1 < v_2 < v_3$)

Термический анализ (ТА) и дифференциальный термический анализ (ДТА) заключаются в измерении температуры (или ее разности) в зависимости от количества подводимой или отводимой теплоты.

При постоянном нагревании любое превращение или реакция, вызываемая повышением температуры, приводит к появлению пиков на кривых зависимости температуры от времени нагревания. Если превращения вещества при нагревании не происходит, то наблюдается линейная зависимость температуры от времени нагревания t . Линейные участки на кривой 1 (рис. 13.4) указывают на отсутствие каких-либо превращений, поступающая теплота тратится только на нагревание. Если же в пробе происходит реакция, то поглощение (эндотермическая реакция) или выделение (экзотермическая реакция) теплоты вызывает значительное отклонение от линейной зависимости. Другими словами, температура пробы изменяется в первом случае медленнее, во втором — быстрее, чем наблюдалось бы при такой же скорости нагревания в отсутствие реакции. В случае эндотермической реакции кривая изгибается вниз, в случае экзотермической реакции картина обратная. Если перепад температур при химическом превращении велик, приходится пользоваться малочувствительными приборами и при этом небольшие термические эффекты могут не найти отражения на кривой 1. Более чувствительной будет регистрация температуры через определенные небольшие интервалы времени, в пределах которых температура меняется не более чем на 1—2 °С (кривая 2). Этот метод называют *деривационным анализом*. Экспериментально легче осуществим дифференциальный термический анализ, когда регистрируют изменение температуры ΔT как функцию температуры (кривая 3) или времени.

В методе ДТА температуру образца сравнивают с температурой некоторого инертного материала (эталоны) в процессе линейного повышения температуры. Эталон должен быть термически устойчивое вещество, для которого в интервале изучаемых температур не наблюдается фазовых переходов или разложения. Для этих целей часто используют оксид алюминия ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$).

При эндотермических процессах температура исследуемого образца падает ниже температуры эталона; для экзотермического процесса температура повышается (рис. 13.5).

Большинство превращений сопровождается эндотермическими эффектами; исключение со-

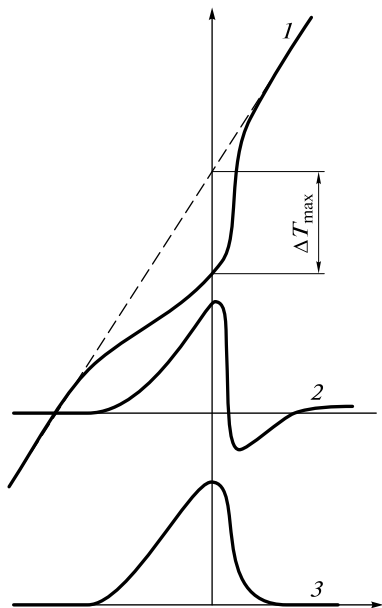


Рис. 13.4. Кривые термического анализа:

1 — кривая термического анализа в координатах $T-t$ ($\Delta H > 0$); 2 — кривая деривационного анализа в координатах $dT/dt-t$; 3 — кривая дифференциального термического анализа в координатах $\Delta T-T$ ($\Delta H < 0$)

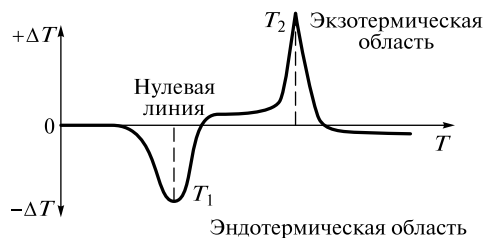


Рис. 13.5. Кривая дифференциального термического анализа с эндотермическим пиком при T_1 и экзотермическим пиком при T_2

ставляют процессы окисления и некоторые структурные изменения; довольно часто они возникают в результате вторичных процессов. В качестве примера рассмотрим разложение моногидрата оксалата кальция $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (рис. 13.6). Кривая 1 описывает разложение оксалата $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ в атмосфере углекислого газа. Три точки потери массы соответствуют трем эндотермическим процессам — последовательному отщеплению молекул H_2O , CO и CO_2 . На кривой 2 наблюдается явно экзотермический пик, обусловленный сгоранием оксида CO на воздухе при температуре печи.

Температура пиков качественно характеризует соответствующие процессы. В количественном методе ДТА принято одно основное допущение: площадь, ограниченная пиком на кривой, пропорциональна теплоте реакции, а также количеству вступающего в реакцию вещества. Это допущение обычно не является достаточно строгим, поскольку вид и положение пиков плохо воспроизводятся. Поэтому основная область применения ДТА — качественная оценка образцов. Сначала этот метод применяли для идентификации металлов, сплавов, минералов, глин, керамических материалов. В настоящее время его используют и для идентификации аминокислот, белков, углеводов, полимеров, пищевых продуктов.

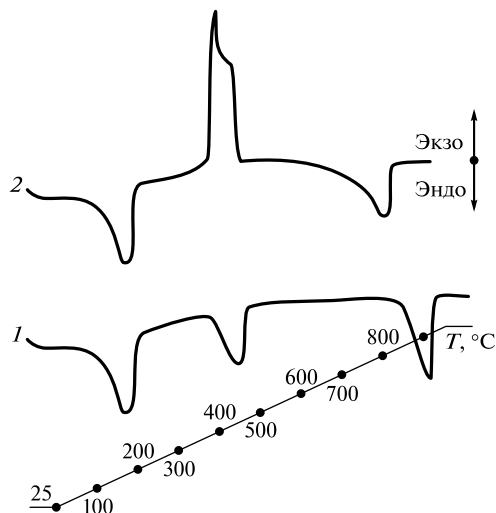


Рис. 13.6. Диаграммы дифференциального термического анализа при разложении моногидрата оксалата кальция в атмосфере углекислого газа (1) и на воздухе (2)

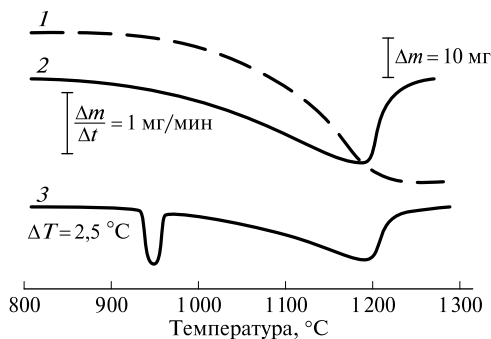


Рис. 13.7. Разложение карбоната стронция на воздухе, сопровождающееся переходом кристаллической решетки из ромбической в гексагональную:

1 — термогравиметрическая кривая; 2 — дифференциальная термогравиметрическая кривая; 3 — кривая дифференциального термического анализа

Количественную информацию в ДТА можно получить с помощью дифференциально-калориметрических измерений, используя для этого *дифференциальный сканирующий калориметр* (ДСК). Обычно в ДСК входит калориметр изотермического типа. При таком способе измерения различия в теплопроводности, теплоемкости исследуемого образца и эталона и другие отклонения не имеют значения. На кривой ДСК пики имеют правильную форму, тогда как на кривой ДТА линейный участок кривой несколько искажается тепловыми явлениями, происходящими в образце. Сканирующий калориметр удобен для определения следов примесей в высокочистых органических соединениях по результатам наблюдения за понижением точки плавления. На положение узловых точек чистых веществ на $T-H$ -диаграммах влияет ничтожно малое количество примесей. Изменение таких параметров твердых и жидких веществ, как температура замерзания и температура кипения, давление пара растворов положено в основу методов определения молекулярных масс и концентраций.

Существует некоторое сходство между методами ДТА и ДТГ, но они дают разную информацию. Термограмма ДТГ показывает только изменение массы, а термограмма ДТА — изменение энергии независимо от того, меняется масса или нет. В качестве примера рассмотрим три типа термограмм карбоната стронция (рис.

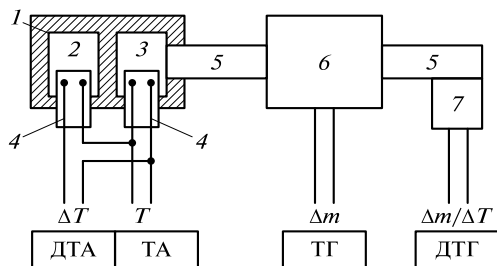


Рис. 13.8. Схема дериватографа:

1 — печь; 2 — инертное вещество; 3 — проба; 4 — термоэлементы; 5 — плечи коромысла; 6 — весы; 7 — магнитная катушка

13.7). Явно выраженный эндотермический эффект при температуре 950°C на термограмме ДТА (3) не обнаруживается на термограмме ДТГ (2). Появление минимума, очевидно, связано с переходом кристаллической решетки карбоната SrCO_3 из ромбической в гексагональную модификацию, что не сопровождается какими-либо изменениями массы образца.

Результаты, полученные методами термогравиметрии, ДТГ и ДТА, сравнивают при помощи дериватографа (рис. 13.8).

Термотитриметрия

Методом *термометрического титрования* изучают зависимость температуры анализируемой системы (обычно это — раствор исследуемого вещества) от объема добавляемого титранта.

Для титрования используют автоматические бюретки, для измерения температуры — чувствительные термодпары и термисторы, показания регистрируют с помощью самописца. В настоящее время используют автоматические термотитраторы. Температуру измеряют с точностью до $\pm 0,0002^{\circ}\text{C}$; погрешность обычно составляет $\pm 1\%$.

Термометрическое титрование следует, по возможности, проводить в адиабатических условиях, т.е. когда выделение теплоты происходит значительно быстрее, чем обмен с внешней средой за счет теплопередачи и излучения.

Термометрические кривые в координатах температура — объем похожи на кривые титрования в других титриметрических методах анализа. На рис. 13.9 приведена кривая термометрического титрования для экзотермического процесса. Искривление на участке $B''C$ связано с неполнотой протекания реакции. Участок AB может быть либо горизонтальным, либо наклонным. Несмотря на применение сосуда Дьюара, практически нельзя полностью устранить изменение хода кривой на этом участке: кривая поднимается, если температура окружающей среды выше температуры анализируемого раствора, или немного опускается вследствие охлаждения за счет испарения. Испарение имеет значение прежде всего при работе с органическими растворителями. Наклон участка CD обусловлен отчасти той же причиной, что участка AB , а также разностью температур титруемого раствора и титранта. Кривые термометрического титрования обрабатывают методом экстраполяции.

Для уменьшения погрешности титрования следует соблюдать ряд условий. Реакции должны протекать быстро. Концентрация анализируемого раствора должна быть не менее 10^{-3} моль/л, поскольку при работе с разбавленными растворами выделяющейся теплоты недостаточно, чтобы вызвать заметные изменения температуры. Изменения объема при титровании должны быть небольшими, для этого применяют концентрированные растворы титранта.

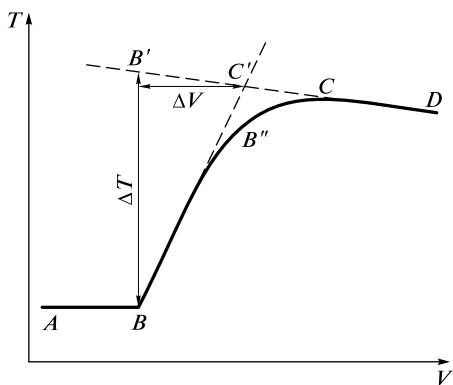


Рис. 13.9. Кривая термометрического титрования

Важно, чтобы оба реагирующих раствора существенно не отличались по составу, так как посторонние вещества могут вызвать заметный тепловой эффект либо при взаимодействии друг с другом, либо при взаимодействии с растворителем (теплота разбавления). Например, при титровании железа(II) раствором дихромата калия или перманганата калия концентрация серной кислоты должна быть одинаковой и в пробе, и в титранте.

Поскольку все химические реакции происходят с эндотермическим или экзотермическим изменением энтальпии, метод термометрического титрования может быть использован при проведении различных реакций титрования. Можно титровать как в водных, так и в неводных растворах, в расплавах, эмульсиях и суспензиях, например в уксусной кислоте, тетрахлорметане, бензоле, расплаве смеси нитратов лития и натрия.

Термотитриметрия — единственный метод титрования, в котором измеряемой величиной является изменение энтальпии ΔH , а не свободной энергии ΔG .

Энтальпию реакции ΔH_i° взаимодействия кислоты с сильным основанием можно разложить на две составляющие: на энтальпию диссоциации ΔH_j° и энтальпию нейтрализации полностью диссоциированных кислот (56,5 кДж/моль):

$$-\Delta H_i^\circ = -\Delta H_j^\circ + 56,5.$$

С другой стороны, связь между энтальпией диссоциации ΔH_j° , свободной энергией ΔG_j° и энтропийным фактором $T\Delta S_j^\circ$ выражается следующим уравнением:

$$\Delta H_j^\circ = \Delta G_j^\circ + T\Delta S_j^\circ,$$

кроме того:

$$\Delta H_j^\circ = -RT \ln K_j.$$

Например, в случае борной и соляной кислот значения ΔG_j° существенно различаются (–27,2 и –80,4 кДж/моль^{–1} соответственно), следовательно существенно различаются и константы кислотности (диссоциации): в водном растворе $K_{\text{дис}}(\text{H}_3\text{BO}_3) = 5,8 \cdot 10^{-10}$, в то время как HCl — сильная кислота.

Однако энтропийные факторы этих кислот $T\Delta S_j^\circ$ различаются также значительно (–15,5 кДж/моль для H_3BO_3 и +23,8 кДж/моль для HCl). Отсюда видно, что значения ΔH_j° обеих кислот близки: –42,7 кДж/моль для H_3BO_3 и –56,6 кДж/моль для HCl. Поэтому кривые термометрического титрования обеих кислот сходны (рис. 13.10), тогда как на кривой рН-метрического титрования борной кислоты скачок титрования отсутствует.

Различие энтальпий ΔH реакций титрования можно использовать для отдельного определения веществ в смеси; например, комплексонометрически с использованием металлоиндикаторов можно определить только суммарное содержание

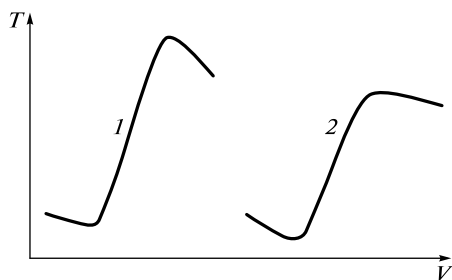


Рис. 13.10. Кривые термометрического титрования раствора HCl (1) и H_3BO_3 (2) раствором NaOH ($C(\text{HCl}) = C(\text{H}_3\text{BO}_3) = 0,004$ моль/л)

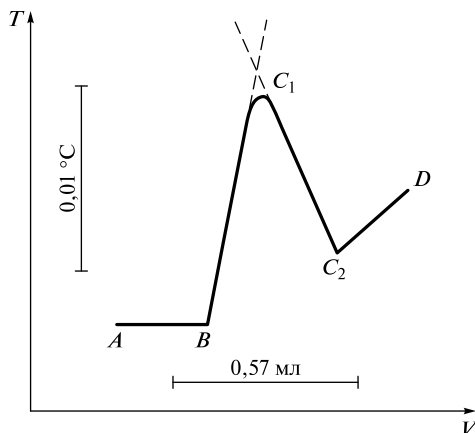


Рис. 13.11. Термометрическое титрование смеси 0,25 ммоль ионов Ca^{2+} и 0,25 ммоль ионов Mg^{2+} раствором ЭДТА (титрование начинают в точке B ; экстраполяцией до точки C_1 находят конечную точку титрования ионов кальция; C_2 — конечная точка титрования ионов Mg^{2+})

ионов кальция и магния, поскольку константы устойчивости их комплексов с ЭДТА близки. Однако различие в значениях ΔH реакций ЭДТА с ионами кальция ($-23,8$ кДж/моль $^{-1}$) и ионами магния ($23,0$ кДж/моль) столь велико, что позволяет провести раздельное термометрическое титрование ионов кальция и магния в смеси (рис. 13.11).

Другие термические методы

Энтальпиметрия основана на определении количества вещества по разностям температур, соответствующим изменениям энтальпии ΔH . Избыток концентрированного раствора реагента сразу вводят в раствор пробы, находящейся в адиабатическом калориметре. Такую методику называют *прямой инжекционной энтальпиметрией*. На рис. 13.12 представлен общий вид кривой, которую можно получить таким способом. Изменение энтальпии в ходе реакции одного моля вещества составляет ΔH , поэтому при реакции n молей будет выделяться $n\Delta H$ теплоты. Величина ΔT пропорциональна количеству выделившейся теплоты:

$$\Delta T = -\frac{n\Delta H}{K},$$

где K — теплоемкость сосуда и его содержимого, кДж/К.

Значение K можно определить графически. Если известна теплоемкость системы, то

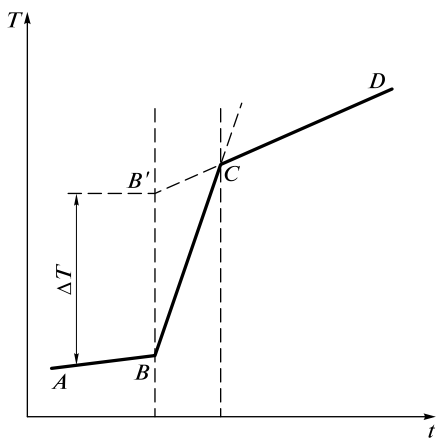


Рис. 13.12. Идеальная энтальпиметрическая кривая (реагент вводят в момент времени B)

по изменению температуры и стандартной энтальпии ΔH° можно найти значение n или, наоборот, если известно значение n , можно найти энтальпию ΔH при условии, что значения ΔH и ΔH° существенно не отличаются. Этот метод обладает высокой чувствительностью. Например, можно определить содержание нитрит-ионов $3 \cdot 10^{-9}$ моль/л с погрешностью 5 % по реакции с сульфаминовой кислотой.

Метод, в основе которого лежит изменение линейных или объемных размеров в зависимости от температуры, называют *дилатометрией*. Это термический метод анализа, с помощью которого можно определять преимущественно структурные изменения. При фазовых переходах меняется коэффициент линейного расширения α и вследствие этого происходит относительное увеличение объема или длины:

$$\Delta l = \alpha \Delta T.$$

Дилатометрия применяется главным образом для исследования полимеров и дает информацию о тепловом расширении, степени полимеризации и степени кристалличности полимеров. Дилатометрически определяют также изменение объема растворов и конечную точку титрования (дилатометрическое титрование). В ходе титрования регистрируют изменение объема ΔV анализируемого раствора или пропорционального ему изменения длины Δl в зависимости от объема титранта.

В заключение стоит упомянуть *катарометрию*, которая основана на измерении теплопроводности газовых смесей как функции их состава. В присутствии различных газообразных веществ в потоке газа теплопроводность смеси отличается от теплопроводности чистого газа-носителя. Если на пути потока газа поместить нагретую нить, то степень ее охлаждения будет зависеть от состава газовой смеси. Измерения проводят в специальных ячейках, в которых теплота проволоочного сопротивления в зависимости от теплопроводности омывающей газовой смеси отводится по-разному, что вызывает соответствующие изменения сопротивления. Вместо металлических сопротивлений чаще используют чувствительные термисторы. Катарометрия широко применяется для анализа технических газовых смесей, например газов, выбрасываемых трубами предприятий. Кроме того, катарометры являются наиболее часто используемыми детекторами в газовой хроматографии.

Контрольные задания

1. Как определить содержание кальция и магния в доломите, используя термогравиметрическую кривую?
2. Какие преимущества дает использование производных при записи термогравиметрических кривых и дифференциальных термогравиметрических кривых?
3. Какую информацию можно получить с помощью термогравиметрии?
4. Какие термические эффекты наблюдаются при взаимодействии вещества с тепловой энергией?
5. Как влияет скорость изменения температуры на форму термограмм?
6. О чем свидетельствует линейная зависимость температуры от времени нагревания при термическом анализе?
7. Как изменяется температура образца относительно эталона при экзотермических и эндотермических процессах?

8. Приведите примеры использования дифференциального термического анализа. На чем основано количественное определение содержания веществ?
9. Отметьте сходство и различие в методах дифференциального термического анализа и дифференциальной термогравиметрии.
10. Охарактеризуйте принцип работы дериватографа.
11. В каких координатах изображают термотитриметрические кривые?
12. Какие приборы используют для измерения температуры?
13. На чем основано раздельное термометрическое титрование двух и более веществ?
14. В чем заключается прямая инъекционная энтальпиметрия?
15. Изменение какого параметра в зависимости от температуры регистрируют в дилатометрии?
16. В чем заключается метод катарометрии?

Список литературы

Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто, Г. М. Видмара. — М. : Мир, 2004.

Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа / под ред. О. М. Петрухина. — М. : Химия, 2001.

Павлова С. А. Термический анализ органических и высокомолекулярных соединений / С. А. Павлова, И. В. Журавлева, Ю. И. Толчинский. — М. : Химия, 1983.

Отто М. Современные методы аналитической химии : в 2 т. / М. Отто. — М. : Техносфера, 2003.

Топор Н. Д. Термический анализ минералов и неорганических соединений / Н. Д. Топор, Л. П. Огородова, Л. В. Мельчакова. — М. : Изд-во МГУ, 1987.

Уэндландт У. Термические методы анализа / У. Уэндландт. — М. : Мир, 1978.

Шестак Я. Теория термического анализа. Физико-химические свойства твердых неорганических веществ / Я. Шестак. — М. : Мир, 1987.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД АНАЛИЗА

Биологический метод анализа основан на том, что для жизнедеятельности — роста, размножения и вообще нормального функционирования живых существ необходима среда строго определенного химического состава. При изменении этого состава, например при введении дополнительного (определяемого) соединения, организм через какое-то время, иногда практически сразу, подает соответствующий ответный сигнал. Установление характера связи интенсивности ответного сигнала организма с количеством введенного в среду компонента служит для его обнаружения и определения. *Аналитическими индикаторами* в биологическом методе являются различные живые организмы, их органы, ткани, физиологические функции и т.д. Роль индикаторного организма могут играть микроорганизмы, беспозвоночные, позвоночные, а также растения.

Все вещества по отношению к живым организмам можно условно разделить: 1) на жизненно необходимые; 2) токсичные; 3) физиологически неактивные. Очевидно, только в двух первых случаях можно ожидать сравнительно быструю ответную реакцию организма (аналитический сигнал). Физиологически неактивные вещества могут дать отдаленный результат либо их можно перевести в активное состояние в результате реакций взаимодействия с ингибиторами или стимуляторами процессов жизнедеятельности организмов.

Ответный сигнал индикаторного организма на изменение химического состава среды может быть разнообразным:

- изменение характера поведения, интенсивности роста, скорости метаморфоза, состава крови, биоэлектрической активности органов и тканей;
- нарушение функций органов пищеварения, дыхания, размножения;
- выживаемость либо летальный исход.

Выбор индикаторного организма зависит от характера определяемого вещества. Механизм взаимодействия определяемого химического соединения и биологического организма сложен; это взаимодействие можно представить следующим образом:



Выбор способа регистрации ответного сигнала на заключительной стадии анализа зависит как от целей анализа, так и от механизма и степени взаимодействия определяемого вещества и индикаторного организма. Чем сложнее организм, тем большее число его жизненных функций можно использовать в качестве аналитических индикаторов, тем выше информативность биологического метода анализа.

Ответный сигнал индикаторного организма на одно и то же вещество зависит от концентрации вещества: малые концентрации обычно стимулируют процессы жизнедеятельности организма, высокие — угнетают. Существенное повышение концентрации биологически активного вещества приводит к летальному исходу.

Диапазон определяемых содержаний, предел обнаружения соединений зависят от направленности и продолжительности воздействия вещества на организм, температуры и pH среды, уровня организации индикаторного организма, его индивидуальных, возрастных, половых особенностей.

Микроорганизмы как аналитические индикаторы. При использовании в качестве индикаторов микроорганизмов (бактерий, дрожжей, водорослей, плесневых грибов) наблюдают, сравнивая с контрольным опытом, как с изменением химического состава питательной среды изменяется динамика роста отдельной клетки и популяции в целом. Интенсивность роста (размножения, угнетения) популяций оценивают чаще всего оптическими или электрохимическими методами. К используемым в неорганическом анализе микроорганизмам относятся плесневые грибы. Наибольшим угнетающим действием на эти культуры обладают нитраты ртути(II), кадмия, таллия, токсическое действие которых объясняется блокированием SH-групп молекул белка микроорганизмов (табл. 14.1). Грибы используют при анализе почв на содержание цинка, меди, марганца, железа, молибдена, фосфора, углерода, азота, серы.

Ростовые реакции микроорганизмов применяют в анализе природных и сточных вод. Разработан метод обнаружения в сточных водах фенолов, нефтепродуктов, фосфорорганических соединений с использованием бактерий и дрожжей.

Микроорганизмы применяют при контроле технологических процессов производства антибиотиков, витаминов и аминокислот. Следует отметить еще один важный аспект применения микроорганизмов в химическом анализе — концентрирование и выделение микроэлементов из разбавленных растворов. Потребляя и усваивая микроэлементы в процессе жизнедеятельности, микроорганизмы могут селективно накапливать некоторые из них в своих клетках, очищая при этом питательные растворы от примесей. Например, плесневые грибы применяют для избирательного осаждения золота из хлоридных растворов.

Использование беспозвоночных в качестве индикаторных организмов. Ответным сигналом беспозвоночных — простейших — на изменение химического состава среды является раздражение, приводящее к изменениям двигательных реакций, скорости размножения, характера питания, другим биохимическим и физиологическим изменениям организма. Наиболее изученными с точки зрения использования в аналитических целях являются инфузории. С их помощью возможно определение ионов тяжелых металлов (см. табл. 14.1). В то же время эти организмы непригодны для обнаружения и определения анионов. Скорость движения инфузорий повышается при введении в среду их обитания микроколичеств этанола, сахарозы, уксусной кислоты, хлоридов кальция и аммония; добавление хлорида бария замедляет движение клеток. Некоторые элементоорганические соединения при определенных концентрациях могут действовать как стимуляторы их размножения. Поведенческие реакции, скорость размножения инфузорий используют для определения указанных выше соединений.

Водных беспозвоночных — ракообразных (чаще всего рачков, дафний) — широко применяют для оценки санитарно-гигиенического состояния вод. В качестве аналитического сигнала в этом случае используют некоторые физио-

Примеры использования биологического метода для определения различных соединений

Индикаторный организм	Определяемое вещество	Предел обнаружения*, мкг/мл
<i>Микроорганизмы</i>		
Плесневые грибы	Ионы Hg(II)	0,02
	Ионы Cd(II)	0,5
	Ионы Tl(I)	5
	Ионы Zn(II)	0,01
	Ионы Cu(II)	0,001
	Ионы Mn(II)	0,0002
	Ионы Fe(II), Fe(III)	0,002
	Ионы As(III)	100
	Ионы Cr(VI)	10
Дрожжи	Эфиры тиосульфокислот	1 нг
	Элементоорганические соединения Pb(II), Sn(II)	3 нг/мл — 4 мкг/мл
<i>Беспозвоночные</i>		
Инфузории	Ионы Ag(I)	0,01
	Ионы Hg(II)	0,05
	Ионы Cu(II)	0,1
	Фурфурол, формальдегид	0,05
Личинки комаров	Пестициды	0,006 — 5
<i>Позвоночные</i>		
Амфибии	Ионы Cu(II)	0,06 нг/мл

* При доверительной вероятности $P = 0,95$.

логические показатели: выживаемость, частота движения ножек, период сокращения сердца (у дафний), окраска тел погибших организмов и т. д. Наиболее исследованными и используемыми в качестве индикаторных организмов являются дафнии. Изменение частоты движения их грудных ножек, а также изменение периода сокращения сердца, фиксируемые с помощью специальной аппаратуры, являются критерием оценки чистоты вод.

Регистрацию изменения скорости и траектории движения насекомых, например личинок комаров, выживаемость организмов используют для определения остаточных количеств пестицидов в воде, экстрактах из почв, растительных и животных тканях (см. табл. 14.1). Наблюдения под микроскопом за формой и скоростью движения червей, фиксирование продолжительности их жизни позволяют определять микроколичества ионов металлов.

Использование позвоночных для определения микроколичеств элементов.

Классическими индикаторными организмами, используемыми для решения многих медико-биологических проблем, являются амфибии. На изолированных органах и тканях лягушки либо на всем организме проверяют физиологическую активность многих фармацевтических препаратов. Биопотенциал нервной ткани можно использовать в качестве индикатора для определения концентрации кислот и щелочей, некоторых тяжелых металлов (см. табл. 14.1). По повышению либо угнетению биоэлектрической активности седалищного нерва лягушки можно оценить содержание хлорида марганца на уровне $1 \cdot 10^{-9}$ моль/л либо $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л соответственно. Растворы меди концентрацией $10^{-9} - 10^{-8}$ моль/л снижают возбудимость нерва вплоть до полного блокирования.

Таким образом, биологический метод анализа, основанный на использовании в качестве аналитического сигнала специфических отклонений индикаторных организмов от нормы, позволяет с высокой чувствительностью определять широкий круг как неорганических, так и органических физиологически активных соединений, что особенно важно при анализе объектов окружающей среды. Он отличается высокой избирательностью, которую можно еще более увеличить, используя обычные способы: разделение, маскирование, изменение физико-химических параметров среды (например, pH). С помощью биологического метода можно значительно упростить анализ и сократить время его проведения, оценивая степень загрязнения объекта и целесообразность его дальнейшего детального химического анализа. Биологический метод позволяет решить ряд задач, не решаемых химическими или физическими методами. Например, можно оценить общую токсичность анализируемого объекта (в частности, природной или сточной воды), что практически нельзя сделать даже при определении очень большого количества токсичных компонентов инструментальными методами. Биологические методы позволяют определять токсичные метаболиты нетоксичных веществ (например, пестицидов).

Контрольные задания

1. Какие явления и процессы лежат в основе биологического метода?
2. Что является аналитическим сигналом в биологическом методе?
3. Какие индикаторные организмы используют в биологическом методе?
4. Какие задачи можно решать с помощью биологического метода? Каковы области его применения?

Список литературы

Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж. -М. Мерме, М. Отто, Г.М. Видмара. — М. : Мир, 2004.

Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа / под ред. О.М. Петрухина. — М. : Химия, 2001.

Отто М. Современные методы аналитической химии : в 2 т. / М. Отто. — М. : Техносфера, 2003.

15.1. Общие сведения

Развитие и распространение инструментальных методов анализа, например хроматографии и хромато-масс-спектрометрии, делает аналитические приборы все более универсальными с точки зрения широты охвата обнаруживаемых и определяемых веществ. Так, использование масс-спектрометрических детекторов позволяет определять сверхмалые концентрации самых различных веществ. На этом фоне развитие прочих методов химического анализа может показаться бесперспективным.

Однако существуют задачи, при решении которых сложнейшие инструментальные методы оказываются не только чрезмерно громоздкими и дорогими, но и вообще неприменимыми. К ним относится, например, непрерывный контроль (мониторинг) содержания отдельного ключевого вещества в газовой фазе (воздухе) или в растворе.

В ряде случаев, например при мониторинге объектов окружающей среды, применение сложных инструментальных методов обычно требует периодического отбора проб. Но как отбирать пробы из действующих энергетических установок (двигателей внутреннего сгорания, турбин и т. д.)? Труднодоступные для пробоотбора участки присутствуют также на ряде химических и биохимических производств, требующих химического анализа (часто непрерывного) для контроля за ходом технологического процесса или за качеством продуктов. Характерным примером химического анализа в труднодоступных местах является клиническая диагностика. Некоторые важные метаболиты, например, для оценки окислительного стресса (пероксид водорода, супероксидные радикалы) ввиду нестабильности в биологических жидкостях подлежат определению непосредственно в органе (ткани). Более того, доступ в последний должен осуществляться с минимальной травматичностью для пациента.

Решение указанных задач возможно посредством химических и биологических сенсоров.

15.2. Химические сенсоры

15.2.1. Основные понятия

Согласно формулировке IUPAC химическим сенсором считается устройство, осуществляющее преобразование химической информации в форму аналитического сигнала. Согласно формулировке, предложенной В. Гёпелем (W. Göpel), химический сенсор трансформирует химическую субстанцию в электрический сигнал. Однако этим определениям отвечает чрезмерно широкий круг аналитических систем.

Химическим сенсором будем считать устройство, которое позволяет:

- определять вещество непосредственно в анализируемом объекте без какой-либо предварительной обработки последнего;
- проводить непрерывное определение в режиме реального времени;
- проводить миниатюризацию;
- снизить стоимость анализа в условиях массового производства;
- осуществлять анализ в труднодоступных местах (в реакторах, энергетических установках, внутри живых организмов и пр.);
- создавать комбинации с подобными устройствами другого типа и назначения.

В дополнение к указанному следует отметить, что сенсоры не включают систем разделения и концентрирования веществ, а также устройства обработки сигнала. Резюмируя сказанное, химический сенсор можно определить как устройство для обратимого и, как правило, непрерывного определения концентрации вещества в той среде, где оно находится, без предварительного отбора проб. Требования возможности миниатюризации и низкой стоимости в условиях массового производства сохраняются.

Под химическим сенсором принято понимать комбинацию *рецептора*, который с той или иной специфичностью присоединяет определяемое вещество, и *преобразователя*, или *трансдюсера*, который собственно и отвечает за преобразование химической информации в электрический сигнал. Однако пространственное разделение рецептора и преобразователя более чем условно. Например, в электрохимических сенсорах металлический электрод может совмещать обе функции. Таким образом, подразделение на рецептор и преобразователь возможно лишь в отношении стадий действия химического сенсора, т. е. в отношении процессов рецепции и преобразования.

Рецепция подразумевает специфическое взаимодействие конкретной части сенсора с определяемым веществом. При этом взаимодействие не обязательно должно быть абсолютно селективным. Рецепция может быть *физической*, если при взаимодействии не протекает химическая реакция (как, например, при физической адсорбции), или *химической*. Взаимодействие биомолекул, часто называемое биологическим узнаванием, является прерогативой биосенсоров и будет рассмотрено далее.

Принято классифицировать химические сенсоры по способу преобразования химического сигнала. Различают электрохимические, акустические (сенсоры массы), оптические, калориметрические сенсоры.

15.2.2. Электрохимические сенсоры

К области электрохимии относятся процессы, сопряженные с переносом заряда на границах раздела фаз. Последние не ограничиваются системой металл — раствор, а включают любые комбинации границ раздела электронных и ионных проводников, а также диэлектриков и газов за исключением, пожалуй, только металлических контактов. Таким образом, к *электрохимическим сенсорам* следует отнести не только потенциометрические, амперометрические и вольтамперометрические сенсоры, но и газовые сенсоры на основе полупроводников.

Электрохимические сенсоры обладают бесспорным преимуществом среди химических сенсоров, поскольку они преобразуют химическую информацию непо-

средственно в электрический сигнал. Электрохимические системы наименее чувствительны к состоянию анализируемого объекта (мутность, окраска, примеси и др.). Наконец, электрохимические сенсоры наиболее дешевы, что обуславливает их наибольшее распространение.

Потенциометрические сенсоры. В потенциометрии информацию о содержании тех или иных соединений получают из анализа разности потенциалов между двумя электродами, одним из которых является ионселективный электрод, другим — электрод с постоянным электрохимическим потенциалом. Комбинация обоих электродов в одном устройстве приводит к созданию *потенциометрического сенсора*.

Ионселективные электроды подробно рассмотрены в гл. 9. Потенциометрические сенсоры на основе ионселективных электродов широко применяют в электрохимическом анализе. В настоящее время коммерчески доступны сенсоры для определения катионов K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Ag^+ , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , а также анионов F^- , Cl^- , Br^- , I^- , CN^- , NO_2^- , NO_3^- , S^{2-} .

Предел чувствительности ионселективных электродов определяется коэффициентом в уравнении Нернста, который составляет 59 мВ при десятикратном изменении активности определяемого иона. Динамический диапазон действия потенциометрических сенсоров на основе ионселективных электродов обычно составляет $10^{-6} — 10^{-1}$ моль/л. В последние годы определенные усилия были направлены на снижение предела обнаружения. Оказалось, что кроме константы комплексообразования иона и ионофора предел обнаружения определяют также подвижность ионофора в мембране и активность определяемого иона во внутреннем растворе. С учетом всех факторов удалось довести предел обнаружения, например, ионов свинца(II) и серебра(I) до 10^{-12} моль/л.

Потенциометрические системы оказываются чувствительными к внешним наводкам статического электричества, создающим шумы и понижающим разрешающую способность сенсоров. Попытки совмещения химического сенсора и устройства, преобразующего электрический сигнал, привели к созданию так называемых ионселективных полевых транзисторов (Ion Selective Field Effect Transistors — ISFET).

Схема включения pH-чувствительного полевого транзистора показана на рис. 15.1. Как известно, после возникновения постоянной разности потенциалов между стоком и истоком протекающий ток будет зависеть от потенциала затвора. Однако задать его можно не только при помощи дополнительного электрического контакта, но и электрохимически, погрузив в раствор. Далее часть электрической схемы, погруженной в раствор, достаточно присоединить к основной цепи электродом с фиксированным электрохимическим потенциалом, т.е. электродом сравнения. Для запуска полевого транзистора необходимо дополнительное постоянное напряжение U_{cp} , которое зависит от выбора электрода сравнения. В результате сила тока, протекающего между истоком и стоком, будет определяться электрохимическим потенциалом затвора полевого транзистора. Для pH-чувствительного полевого транзистора затвор изготавливают из нитрида кремния.

Амперометрические сенсоры. Амперометрия предполагает измерение тока, протекающего через систему электродов при постоянном электрохимическом потенциале рабочего (индикаторного) электрода. Различают два типа амперометрических сенсоров: двухэлектродные и трехэлектродные. Двухэлектродные систе-

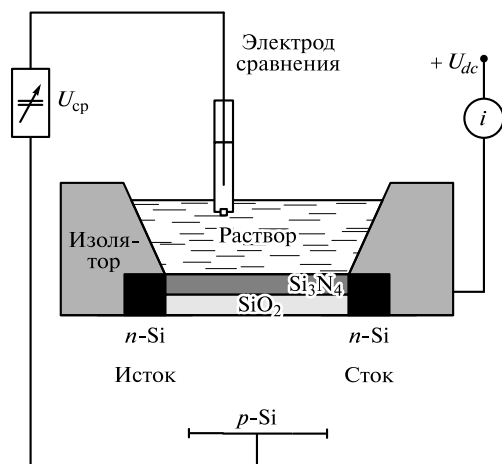


Рис. 15.1. Схема включения ионселективного полевого транзистора

мы состоят из рабочего электрода и электрода сравнения. Поскольку, однако, электрохимический потенциал последнего может изменяться при протекании тока, в схему обычно вводят третий — вспомогательный электрод, который служит для снятия тока с рабочего электрода. Электрод сравнения в этом случае работает в «безтоковом» режиме, и его потенциал остается неизменным в течение измерений.

Традиционными амперометрическими методами можно определять вещества, способные окисляться-восстанавливаться на электродах. Для достижения высокой чувствительности амперометрических сенсоров электродная реакция должна протекать насколько возможно быстро. Поэтому материалы индикаторных электродов должны являться электрокатализаторами соответствующих электродных реакций. Так, в кислородном электроде Кларка для электровосстановления кислорода O_2 используется платина. Электрокатализаторы могут быть также нанесены на инертный (обычно графитовый) материал электрода.

Избирательность электрокатализа определяет селективность сенсора. Повышения селективности в отношении определенной группы веществ можно добиться выбором электрохимического потенциала, при котором проводятся измерения.

Рассмотрим устройство кислородного электрода Кларка (рис. 15.2). Это двухэлектродный сенсор с платиновым рабочим электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения. Внутреннее пространство сенсора заполнено раствором хлорида калия для поддержания постоянного электрохимического потенциала электрода сравнения; оно отделено от анализируемого раствора газопроницаемой мембраной. Кислород, диффундируя к поверхности платинового электрода, восстанавливается при потенциа-

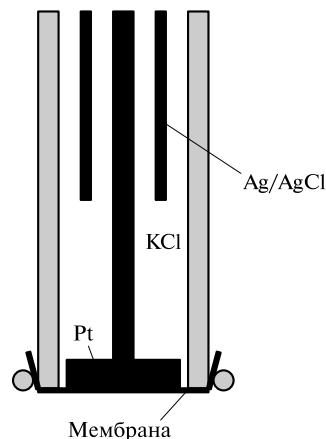


Рис. 15.2. Схема кислородного электрода Кларка

ле $-0,6$ В и генерирует ток, сила которого пропорциональна концентрации кислорода.

Чувствительность амперометрических сенсоров определяется как электрохимической константой (размерность константы — см/с), так и скоростью массопереноса определяемого вещества к поверхности сенсора. Скорость массопереноса зависит от гидродинамических условий, в которых функционирует сенсор (стационарный или перемешиваемый раствор, постоянный или непостоянный поток жидкости к поверхности сенсора и т.д.).

В случае если электродная реакция протекает настолько быстро, что диффузия определяемого вещества к поверхности оказывает определяющее влияние на ее скорость, улучшить аналитические характеристики амперометрических сенсоров можно за счет использования микроэлектродов и их систем. Если профиль диффузии аналита к плоскому (дисковому) электроду размером 10^{-3} м преимущественно планарный, то для структур с линейными размерами менее 10^{-4} м уже характерна полусферическая диффузия. Преобладание последней приводит к тому, что ток становится пропорциональным не площади электрода, а его радиусу. Таким образом, соотношение сигнал : шум растет пропорционально уменьшению радиуса электрода. В результате как для индивидуальных микроэлектродов, так и для их систем понижается предел обнаружения и повышается чувствительность.

Принято считать, что при помощи амперометрических сенсоров можно определять вещества в концентрациях 10^{-6} — 10^{-1} моль/л. С использованием наиболее активных электрокатализаторов можно определять вещества в концентрациях и на один-два порядка ниже.

Круг веществ, определяемых амперометрически, не ограничивается соединениями, способными окисляться либо восстанавливаться. Действительно, для генерации постоянного тока в присутствии химического соединения необходимо осуществить перенос заряда через границу раздела фаз. Так, на металлических электродах электрохимически активные соединения способны генерировать фарадеевский ток: их окисление-восстановление приводит к переносу электрона через границу раздела металл — раствор. Существует, однако, система с поляризацией границы раздела несмешивающихся жидкостей. Перенос через нее электрохимически неактивных ионов (например, ионов K^+ , Na^+ , Cl^- , ClO_4^-) также приводит к появлению постоянного тока во внешней цепи. Иными словами, на границе раздела несмешивающихся жидкостей электрохимически неактивные ионы ведут себя как электрохимически активные на традиционных металлических электродах. Таким образом, использование границы раздела несмешивающихся жидкостей позволило создать амперометрические сенсоры на ионы различной природы.

Селективность амперометрических систем с границей раздела несмешивающихся жидкостей оказывается намного выше по сравнению с селективностью традиционной потенциометрии. Например, в отношении определения ионов K^+ и NH_4^+ коэффициенты селективности ионселективных электродов на порядок ниже коэффициентов селективности амперометрических сенсоров.

Вольтамперометрические сенсоры. Под вольтамперометрией понимают нестационарные электрохимические измерения. Как правило, на систему накладываются меняющийся во времени потенциал и измеряют силу протекающего тока. Потенциал во времени может изменяться линейно в случае полярографии, линейно

ной, циклической и инверсионной вольтамперометрии. Ступенчатое изменение потенциала применяется в дифференциальной импульсной и квадратно-волновой полярографии. Синусоидальное изменение потенциала во времени с изменяющейся частотой используют в импедансной спектроскопии.

Нестационарные электрохимические измерения ускоряют транспорт электрохимически активных веществ к поверхности электрода, что приводит к повышению чувствительности и понижению пределов обнаружения. Так, по сравнению с амперометрией при постоянном потенциале пределы обнаружения вольтамперометрических сенсоров ниже на 1—2 порядка. Тем не менее нестационарные электроаналитические методы обладают рядом существенных недостатков. В частности, вольтамперометрия практически исключает использование электродов, модифицированных электрохимически активными веществами, поскольку перезарядка электрохимически активных компонентов вызывает протекание больших паразитных токов, делающих невозможным химический анализ.

Наиболее распространенными в этой группе являются сенсоры на основе ртутных пленочных электродов, служащие для определения тяжелых металлов.

Газовые сенсоры. Механизм действия газовых сенсоров сводится либо к изменению проводимости полупроводников в результате растворения газов, либо к перезарядке границы раздела фаз газ—полупроводник. Оба указанных процесса относятся к области электрохимии, так что, как указывалось, газовые сенсоры можно отнести к электрохимическим.

Сенсоры проводимости. Основой для создания сенсоров данного типа послужило открытие в 1953 г. изменения проводимости некоторых оксидов металлов после адсорбции газов на их поверхности. Менее чем через 10 лет после этого события был сконструирован первый газовый сенсор.

Из полупроводниковых оксидов металлов для разработки газовых сенсоров наиболее часто используют диоксид олова SnO_2 . Материал диоксида олова является полупроводником *n*-типа ввиду дефектов по атомам кислорода. Электронейтральность поддерживается наличием ионов Sn^{2+} вместо Sn^{4+} , кроме того, ионы олова(II) могут выступать в качестве доноров электронов. Таким образом, в присутствии газа-окислителя электроны «вырываются» из проводящей зоны. Наоборот, газы-восстановители способны донировать электроны в материал.

Принцип действия сенсора на основе диоксида олова можно представить следующим образом. В отсутствие газа-восстановителя кислород воздуха забирает электроны из зоны проводимости полупроводника, приводя к увеличению сопротивления сенсора. Появление газа-восстановителя (H_2 , CO , CH_4 , H_2S) сопровождается донированием электронов, и число последних в зоне проводимости увеличивается. Таким образом, сопротивление сенсора падает.

В связи с тем, что отклик на присутствие определяемого газа развивается на поверхности оксида, коммерческие сенсоры изготавливают на основе пористых матриц с наибольшей поверхностью. В коммерческих сенсорах также присутствует система нагрева для понижения времени отклика и снижения влияния влажности на аналитические характеристики.

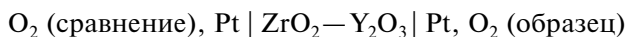
Газовые сенсоры на основе диоксида олова характеризуются высокой чувствительностью, дешевизной, быстрым откликом. К их недостаткам можно отнести низкую селективность.

Сенсоры на основе твердых электролитов. Способность некоторых твердых оксидов к ионной проводимости была известна еще в конце XIX в. Во второй

половине XX в. эта способность была использована для разработки газовых сенсоров.

Наиболее распространенными твердыми электролитами являются материалы на основе диоксида циркония ZrO_2 . После допирования оксидом иттрия Y_2O_3 и нагрева выше $450^\circ C$ полученный материал приобретает высокую проводимость по ионам кислорода O^{2-} . Эта проводимость появляется в результате образования кислородных вакансий из-за разницы зарядов ионов Zr^{4+} и Y^{3+} . Эти вакансии при повышенной температуре способны мигрировать в структуре допированного диоксида циркония.

Схему действия кислородного сенсора на основе твердого электролита можно представить следующим образом. Два электрода на основе высокоактивного электрокатализатора восстановления молекулярного кислорода (обычно используют металлическую платину) разделены пространством твердого электролита. Поскольку твердый электролит проницаем только для ионов O^{2-} , разность потенциалов между электродами будет зависеть исключительно от разности парциальных давлений кислорода вблизи них. Схематически электрическую цепь можно представить следующим образом:



Таким образом, зная концентрацию кислорода в образце сравнения (например, в воздухе), можно определить содержание кислорода O_2 в исследуемом образце.

Используя другие электрокатализаторы, а также дополнительные активные покрытия твердых электролитов, удалось разработать сенсоры для определения ряда важных газов, таких как CO_2 , CO , NO_x , SO_x , H_2 , Cl_2 , NH_3 , являющихся отходами промышленных производств.

15.2.3. Акустические сенсоры

Один из видов акустических сенсоров — *сенсоры массы* основаны на пьезоэлектрическом эффекте, который заключается в появлении заряда на поверхности твердых тел в результате давления на них. Возможен, однако, и обратный процесс: деформация под действием электрического напряжения. Очевидно, что, прикладывая переменное напряжение, можно заставить твердые тела вибрировать, конвертируя, таким образом, электрическую энергию в механическую или акустическую.

В качестве материала, наделенного пьезоэлектрическими свойствами, наиболее часто используют альфа-кварц. Этот материал обладает высокой термостабильностью, практически не теряет пьезоэлектрических свойств при изменении температуры. Свойства кристалла кварца сложным образом зависят от угла среза по отношению к кристаллографической плоскости, что обуславливает определенные сложности при изготовлении сенсоров.

Принцип действия кварцевых микровесов основан на особенностях вибрации так называемых *АТ-срезов* кристаллов кварца (*АТ-срезы* кристаллов получают путем среза под углом $+35^\circ 15'$ к кристаллографической плоскости; они обладают стабильным пьезоэффектом в интервале температуры $10 - 50^\circ C$ и характеризуются различными видами вибраций; доминирует сдвиговая вибрация по толщине, когда одна плоскость кристалла смещается параллельно другой).

Схематически конструкция резонатора для кварцевых микровесов представлена на рис. 15.3, *а*. Ее основу составляет тонкий цилиндрический диск кристалла кварца диаметром приблизительно 10 мм и толщиной 0,1 — 0,7 мм. Резонансные частоты таких срезов лежат в области 2 — 30 МГц. Более тонкие срезы обладают более высокой резонансной частотой, что позволяет добиваться большей разрешающей способности анализа, но с ними тяжелее работать из-за их хрупкости. На плоскости цилиндра напыляют плоские золотые электроды. При наложении переменного напряжения такие структуры характеризуются сдвиговыми вибрациями по толщине, как показано на рис. 15.3, *б*.

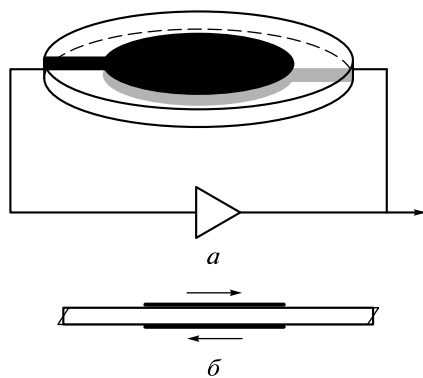


Рис. 15.3. Конструкция резонатора для кварцевых микровесов (*а*) и сдвиговые вибрации микровесов по толщине (*б*)

Метод кварцевых микровесов заключается в определении резонансной частоты колебаний сенсора. Изменение резонансной частоты сенсора связано с изменением массы вещества на его поверхности. Отсюда название «сенсоры массы».

Изменения резонансной частоты и массы связаны через *уравнение Саурбрей*, которое для газов имеет вид:

$$\Delta f = -\frac{2f_0^2 \Delta m}{A(\rho_q \mu_q)^{1/2}},$$

где Δf , f_0 — соответственно резонансная частота после изменения массы Δm и собственная резонансная частота осциллятора; A — площадь поверхности резонатора; ρ_q , μ_q — соответственно плотность и сдвиговый модуль кварца.

При собственной резонансной частоте 5 — 10 МГц разрешающая способность современных приборов составляет 0,01 — 0,1 Гц, что позволяет фиксировать изменение массы на поверхности резонатора $\sim 10^{-11} - 10^{-10}$ г/см².

В случае если одна сторона резонатора погружена в жидкость, уравнение приобретает более сложный вид. Появляется зависимость изменения резонансной частоты от вязкости и эластичных свойств приповерхностного слоя жидкости. Это создает проблемы при определении полимеров, особенно биологической природы. Известны случаи, когда гибридизация дезоксирибонуклеиновой кислоты на поверхности кварцевого резонатора приводила не к уменьшению, а к увеличению резонансной частоты, что должно было соответствовать уменьшению массы, которая на самом деле увеличивалась более чем вдвое.

Тот факт, что для возбуждения вибраций кварца используют золотые электроды, позволил скомбинировать кварцевые микровесы с электрохимией. Метод, получивший название *электрохимических кварцевых микровесов*, применяют как для электрохимического контроля процессов осаждения веществ (обычно полимеров) на поверхность резонатора, так и для понижения пределов обнаружения в аналитике.

Кроме кварцевых микровесов существуют и другие типы акустических сенсоров, например *сенсоры на основе поверхностных акустических волн*.

15.2.4. Оптические сенсоры

Действие оптических сенсоров основано на изменении оптических свойств либо самого объекта, как в спектральных методах анализа, либо границы раздела оптический проводник — объект при появлении определяемого вещества.

Оптоволоконные сенсоры. Сенсоры на основе оптоволоконных световодов являются наиболее типичными представителями оптических сенсоров. Оптоволоконная техника основывается на эффекте полного внутреннего отражения. Полное внутреннее отражение возможно, если угол падения луча света (рис. 15.4) больше критического значения $\varphi_{кр}$, определяемого уравнением:

$$\varphi_{кр} = \arcsin \frac{n_2}{n_1},$$

где n_1, n_2 — показатель преломления световода и окружающей среды соответственно.

Если диаметр оптического проводника достаточно мал, как в случае оптоволокну, то при направлении света в его торец угол падения луча всегда будет достаточно большим для обеспечения полного внутреннего отражения. Это позволяет передавать световой сигнал на большие расстояния даже по искривленной траектории.

Световоды в оптических сенсорах подразделяют на внешние и внутренние. Внешние световоды служат исключительно для передачи излучения от источника к анализируемому объекту и далее к детектору. По принципу действия такие сенсоры практически не отличаются от устройств для реализации спектральных методов анализа.

Внутренние световоды контактируют с анализируемым объектом. Их изготавливают таким образом, чтобы определяемое вещество в результате взаимодействия с боковой поверхностью световода изменяло интенсивность или спектр проходящего излучения. Для этого боковую поверхность световода модифицируют соответствующим ионофором. Так, для создания рН-сенсора в качестве модифицирующего материала применяют индикаторы, меняющие спектральные характеристики в зависимости от рН, например фенолфталеин. Таким образом, после появления определяемого вещества или изменения рН среды параметры проходящего светового излучения меняются, что фиксирует фотоприемник.

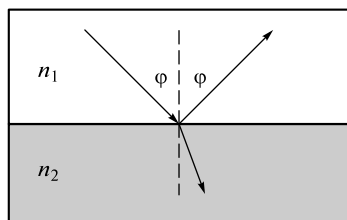


Рис. 15.4. Схема отражения-преломления света

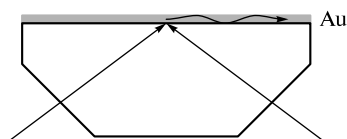


Рис. 15.5. Поверхностный плазмонный резонанс

Наибольшее распространение получили оптоволоконные сенсоры газов. Из жидкостных сенсоров наиболее известными являются сенсоры на изменение pH и содержание ионов металлов.

Поверхностный плазмонный резонанс. Несмотря на то что устройства на основе поверхностного плазмонного резонанса сложно отнести к сенсорам ввиду как невозможности их миниатюризации, так и высокой цены, целесообразно упомянуть о них, поскольку фирмы-производители зачастую именуют соответствующие приборы химическими или биологическими сенсорами.

Основу устройства составляет призма с напыленным на одну грань слоем золота (рис. 15.5). Плазмонный резонанс возникает на поверхности металла при условии полного внутреннего отражения при падении плоскополяризованного света и характеризуется специфическим углом отражения. Определить этот угол удается по падению интенсивности отраженного света за счет того, что при возникновении резонанса часть падающей световой энергии тратится на генерацию плазмонов.

Распространяясь вдоль границы металлической пленки с окружающей средой, поверхностные электромагнитные волны оказываются чувствительными к состоянию поверхности, в частности к адсорбции органических молекул на ней. Специфический угол отражения поверхностного плазмонного резонанса при этом также меняется. Это делает метод привлекательным, например, для регистрации взаимодействий биомолекул (см. далее).

15.3. Биологические сенсоры

15.3.1. Основные понятия

К *биосенсорам* относят аналитические устройства, чувствительность и селективность которых определяется действием биологического объекта, в качестве которого выступают, как правило, биомолекулы, но в некоторых случаях не исключено использование целых клеток и даже органелл. Этот объект носит название *элемента биоузнавания*.

В отечественной литературе встречается подразделение биосенсоров на биологические и биохимические. Это подразделение, однако, не имеет аналогии в мировой литературе, поэтому мы будем отождествлять биосенсоры с биологическими сенсорами.

По определению, данному IUPAC, *биосенсором* является устройство, состоящее из трансдьюсера (преобразователя) и тесно связанного с ним (иммобилизованного на нем) элемента биоузнавания. Однако, как и при определении химических сенсоров (см. выше), необходимо указать дополнительные требования для ограничения круга аналитических устройств, относящихся к биосенсорам. Это — требования возможности миниатюризации, анализа объекта без предварительной обработки, возможности непрерывного анализа, способности к функционированию в труднодоступных местах, низкой стоимости в условиях массового производства.

Принцип действия биосенсора демонстрирует рис. 15.6. Как было сказано, биосенсор состоит из элемента биоузнавания и трансдьюсера. На первой стадии происходит распознавание элементом биоузнавания специфического для него ве-

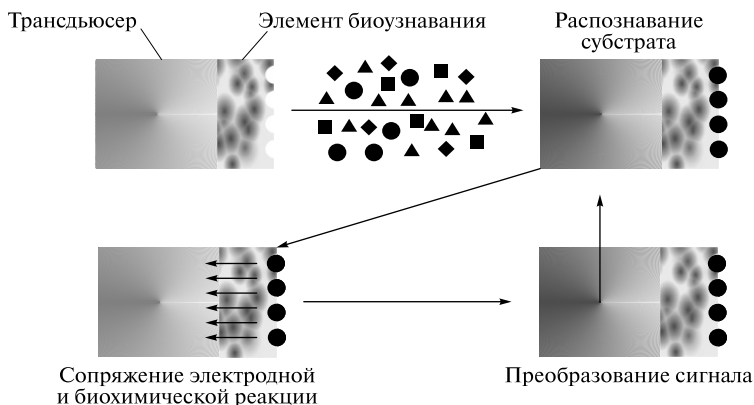


Рис. 15.6. Принцип действия электрохимического биосенсора

щества из сложной многокомпонентной смеси. На второй стадии информация о протекании специфической биохимической реакции превращается в форму сигнала, присущего для трансдьюсера. Третья стадия является стадией работы собственно преобразователя. В то время как первая и третья стадии определяются работой составных частей биосенсора, вторая стадия является определяющей для функционирования всей системы. Передачу информации о протекании биохимической реакции в форму электрического, оптического или прочего сигнала иногда называют сопряжением соответствующих реакций (биохимической и электрохимической, биохимической и оптической и пр.).

Начало эры биосенсоров относится к 1960-м гг. Первым биосенсором считается амперометрический датчик для определения глюкозы. В 1962 г. было предложено поместить фермент глюкозооксидазу вблизи мембраны амперометрического кислородного датчика. Фермент глюкозооксидаза катализирует специфическое окисление свободной *D*-глюкозы молекулярным кислородом. Таким образом, при появлении глюкозы локальная концентрация кислорода за счет ферментативной реакции уменьшается. Это уменьшение и фиксирует кислородный датчик как отклик на глюкозу.

Следует, однако, отметить, что в конструкции 1962 г. фермент глюкозооксидаза не был иммобилизован на поверхности трансдьюсера. Поэтому начало эры биосенсоров иногда отсчитывают от глюкозного датчика, созданного в 1967 г. с глюкозооксидазой, иммобилизованной на поверхности мембраны кислородного сенсора.

15.3.2. Классификация биосенсоров

Биосенсоры можно классифицировать по типу биоузнавания, по типу используемого трансдьюсера (преобразователя) и по принципу сопряжения биохимической и физико-химической (трансдьюсерной) реакций.

Классификация по типу биоузнавания. В отношении биосенсоров биологическое узнавание можно разделить на продуктивное и непродуктивное. Под *продуктивным биоузнаванием* следует понимать класс биохимических реакций, при

которых специфическое взаимодействие биомолекулы и соответствующего (комплементарного) вещества сопровождается трансформацией последнего с образованием одного или нескольких продуктов. Наиболее типичными представителями этой группы биомолекул являются биологические катализаторы — ферменты.

Взаимодействие фермента (Е) и специфического ему субстрата (S) с образованием продуктов (Р) представляется *схемой Михаэлиса — Ментен*:



Очевидно, продуктивное узнавание наиболее удобно для создания биосенсоров. Кроме образования легко фиксируемых побочных продуктов ферментативные реакции могут сопровождаться изменением pH, переносом электронов, которые можно перехватить искусственными медиаторами, и даже выделением квантов света. Элементами продуктивного биоузнавания могут служить не только отдельные ферменты, но и целые клетки микроорганизмов и даже отдельные органеллы.

Помимо ферментативных реакций существуют и другие биохимические процессы, при которых биомолекулы распознают строго определенные соединения. К таким процессам относится иммунный ответ, при котором вырабатываемые антитела прочно связывают чужеродное организму вещество (антиген). Клеточные рецепторы получают информацию об изменении окружающей среды, связывая соответствующие лиганды. Наконец, это механизмы передачи генетического кода через гибридизацию комплементарных молекул олигонуклеотидов. Все это — биохимические процессы, при которых исходные вещества не претерпевают превращений. Образующиеся комплексы могут лишь распасться на исходные соединения. Такие комплексы можно классифицировать как *непродуктивные*, а соответствующие процессы биоузнавания как непродуктивные. Помимо природных процессов непродуктивного биоузнавания в последнее время появляются еще и искусственные. Следует упомянуть о синтетических антителах на основе 30—40-звенных олигонуклеотидов, называемых *аптамерами*.

Вернемся к ферментам. Основанные на них биосенсоры могут быть субстратными и эффекторными. Субстратные сенсоры настроены на определение субстрата фермента. Эффекторные системы служат для определения эффекторов — веществ, влияющих на скорость ферментативной реакции. Эффекторы бывают активаторами и ингибиторами: первые ускоряют, а последние замедляют биокаталитические процессы.

Селективность биосенсоров на основе ферментов зависит от природы биокатализатора. Существуют ферменты как с абсолютной селективностью на индивидуальное вещество, так и с широкой специфичностью к целой группе соединений. Примером фермента с абсолютной селективностью может служить упомянутая выше глюкозооксидаза, катализирующая окисление только свободной глюкозы (т.е. только моносахарида) и только в ее оптической *D*-конформации. В то же время похожий фермент — алкогольоксидаза катализирует окисление целого ряда алифатических спиртов и некоторых альдегидов. Таким образом, субстратные биосенсоры на основе ферментов могут быть селективны как к индивидуальному веществу, так и к группе похожих соединений в зависимости от специфичности конкретного фермента.

Субстратные биосенсоры на основе целых клеток не могут быть селективными ни к индивидуальному веществу, ни даже к группе гомологов ввиду наличия

ряда метаболических путей, каждый из которых способен снабдить клетку необходимой энергией.

Ингибиторные биосенсоры следует считать неселективными. Всегда можно найти вещество (помимо того, на которое разработан биосенсор), которое будет оказывать на фермент ингибирующее действие. Простейший пример — продукты диссоциации молекулы воды.

Все ферменты имеют строго определенный рН-профиль активности, и изменение рН приведет к изменению скорости катализируемой реакции. Активаторные биосенсоры встречаются крайне редко.

Селективность биосенсоров на основе непродуктивного биоузнавания, как правило, высокая. В принципе, можно получить антитела практически на любое органическое соединение с высокой специфичностью даже по отношению к оптическим изомерам. Что касается гибридизации олигонуклеотидов, то она, как известно, требует строгой комплементарности, и несоответствие даже одной пары нуклеотидов может быть выявлено.

Классификация по типу трансдюсера. Подобно химическим сенсорам трансдюсеры для биосенсоров бывают электрохимическими, оптическими, акустическими и калориметрическими. Последние, основанные на так называемых термисторах, встречаются достаточно редко, да и то в научной практике. Основная их проблема — длительное время отклика.

Акустические и оптические трансдюсеры достаточно широко используют с биомолекулами с непродуктивным узнаванием, т.е. в системах антиген — антитело и в так называемых ДНК-зондах. Среди оптических преобразователей получил распространение метод поверхностного плазмонного резонанса. Высокая стоимость устройств на основе поверхностного плазмонного резонанса определяется чувствительностью оптического метода к различным факторам, в частности температуре, и необходимостью поддержания их на постоянном уровне с высокой точностью.

Сенсоры, основанные на пьезоэффекте, были рассмотрены при обсуждении химических сенсоров. Еще раз отметим, что кварцевые микровесы чувствительны к вязкости на поверхности датчика и в случае биомолекул часто могут давать некорректные отклики.

Электрохимические трансдюсеры получили наибольшее распространение при продуктивном биоузнавании, т.е. при использовании ферментов и целых клеток. Электрохимические преобразователи с непродуктивными биомолекулами в основном сопряжены с использованием электрохимических или ферментативных меток.

Классификация электрохимических биосенсоров по способу сопряжения с биохимической реакцией. По способу сопряжения электродной и ферментативной реакций биосенсоры принято разделять на три поколения. *Биосенсоры первого поколения* основаны на комбинации фермента(ов) с химическим сенсором, способным определять сопряженные субстраты или побочные продукты ферментативной реакции. Например, для глюкозооксидазы, представителя группы ферментов-оксидаз, на которых основано более 90 % всех коммерчески значимых биосенсоров, схему реакции можно представить следующим образом:

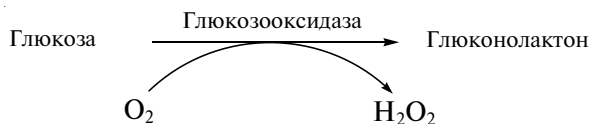




Рис. 15.7. Схема биосенсора второго поколения

Таким образом, биосенсоры первого поколения на основе глюкозооксидазы могут быть созданы путем комбинации фермента с датчиком кислорода или пероксида водорода. Так, первый биосенсор (см. выше) был разработан с использованием кислородного датчика Кларка.

К *биосенсорам второго поколения* относят биосенсоры, основанные исключительно на ферментах, катализирующих окислительно-восстановительные реакции, — так называемых оксидоредуктазах. Для сопряжения электродной и ферментативной реакций используют диффузионно подвижные переносчики электронов, или медиаторы. Например, в случае глюкозооксидазы (рис. 15.7) медиаторы успешно конкурируют с кислородом (природным акцептором электронов) и окисляют активный центр фермента в комплексе с глюкозой. Восстановленный медиатор диффундирует к поверхности электрода, где подвергается окислению и, таким образом, регенерируется. Можно сказать, что медиаторы используют для переноса электронов между электродом и активным центром фермента.

В основу *биосенсоров третьего поколения* легло открытие прямого биоэлектродокатализа ферментами. Оказалось, что некоторые оксидоредуктазы способны напрямую обмениваться электронами с материалом электрода без использования каких-либо диффузионно подвижных медиаторов. Как известно, любая окислительно-восстановительная реакция состоит из полуреакций окисления и восстановления. В случае прямого биоэлектродокатализа фермент катализирует протекание только одной полуреакции: окисления либо восстановления своего специфического субстрата. Вторая полуреакция заменяется на электрохимическую, заключающуюся в переносе электронов между активным центром фермента и электродом.

15.3.3. Коммерциализация биосенсоров

В конце XX в. глюкозные тесты на основе биосенсоров совершили революцию на фармакологическом рынке. В начале 1980-х гг. был открыт ферроцен как медиатор фермента глюкозооксидазы. С использованием этого медиатора были разработаны биосенсоры второго поколения для определения глюкозы. Поскольку фермент глюкозооксидаза обладает, как указывалось, абсолютной специфичностью к свободной D-глюкозе, биосенсор оказался пригодным для определения глюкозы непосредственно в крови. Чтобы дешево и воспроизводимо изготавливать большие партии сенсоров, был применен метод трафаретной печати (screen printing).

Далее на основе биосенсора был разработан глюкозный тест, пригодный для персонального использования. Другими словами, пациент, страдающий сахарным диабетом, может самостоятельно контролировать уровень глюкозы в крови, корректируя таким образом прием лекарственных препаратов. Известно, что сильные колебания содержания глюкозы в крови могут привести к коматозному состоянию.

Рынок таких устройств определяется тем, что несколько процентов населения Земли страдают сахарным диабетом в той или иной форме. Не удивительно, что всего через несколько лет после коммерциализации («Exatech», 1987) глюкозные тесты завоевали рынок в 0,5 млрд долл.

Другим примером коммерческого успеха на рынке биосенсоров может служить пример фирмы «Therasensse». Создателям глюкометра удалось разработать воспроизводимый капилляр и уменьшить объем отбираемой крови до 0,3 мкл. Это позволило уменьшить травматичность отбора крови, не проводя прокалывания подушечек пальцев. Созданная в конце 1990-х гг. компания «Therasensse» была продана в 2004 г. корпорации «Abbot» за астрономическую сумму 1,2 млрд долл. (1 млрд евро).

Сегодня глюкозные тесты (подавляющее большинство из них электрохимические), выпускаемые более чем 15 компаниями, можно купить в любой аптеке.

15.4. Сенсорные системы: электронный нос

Существуют аналитические задачи, которые сложно решать при помощи высокоселективных сенсоров. Рассмотрим, например, производство кофе. Каждая торговая марка обладает определенными вкусовыми характеристиками и запахом. Эти свойства приобретаются в процессе переработки сырья, характеристики которого сильно зависят от погодных условий. Поэтому процесс производства должен быть оснащен средствами химического анализа.

Запах кофе определяется многими десятками химических соединений. Очевидно, разработка индивидуальных сенсоров для их контроля неэкономична. Поэтому для решения подобных аналитических задач разработан специальный подход — электронный нос.

Электронный нос — это набор широкоспецифичных сенсоров, обладающих различной селективностью. Эти сенсоры одновременно анализируют интересующий потребителя объект. Далее сигналы сенсоров обрабатывают математически с применением метода искусственных нейронных сетей и трансформируют в некий «образ» объекта. Представляется возможным подобрать сенсоры так, чтобы «образы» объектов, обладающих разными свойствами, существенно отличались друг от друга, или, как говорят, оказались распознаваемыми. Сенсоры для электронного носа выбирают, как правило, электрохимические. В качестве чувствительного элемента в них используют проводящие полимеры (полипиррол, политиофен и их производные), фталоцианины.

Из областей применения электронного носа, кроме упомянутого контроля качества продуктов питания, следует отметить возможность клинической диагностики. Древняя медицина уделяла огромное внимание запаху пациента для постановки диагноза. Сегодня электронный нос может оказаться полезным инструментом для стандартизации этого подхода.

Для анализа жидкостей появилась концепция *электронного языка*, основанного на тех же принципах, но с использованием набора ионселективных электродов в качестве сенсоров.

15.5. Особенности аналитической метрологии в приложении к сенсорам

В приложении к сенсорам принятая в аналитической химии метрология часто оказывается неприменимой. Причина заключается в особенностях генерации аналитического сигнала. В случае сенсоров физико-химическая реакция происходит с участием границы раздела фаз и включает, таким образом, диффузию определяемого вещества к поверхности датчика, адсорбцию или химическое превращение и в последнем случае удаление продуктов реакции. Все это приводит к ряду особенностей.

При понижении концентрации C определяемого вещества отклик сенсора зачастую либо исчезает, либо становится независимым от концентрации (область I на рис. 15.8). Таким образом, традиционная нижняя граница определяемых содержаний оказывается недостижимой. Поэтому за нижнюю границу определяемых содержаний целесообразно принять минимальную концентрацию определяемого вещества, отклик на которую достоверно отличается от такового в области I (см. рис. 15.8). В случае исчезновения отклика в области низких концентраций нижней границей определяемых содержаний будет минимальная концентрация определяемого вещества, на которую можно получить аналитический сигнал.

Понятно, что предел обнаружения, установленный при помощи экстраполяции градуировочного графика в область низких концентраций на основании лишь

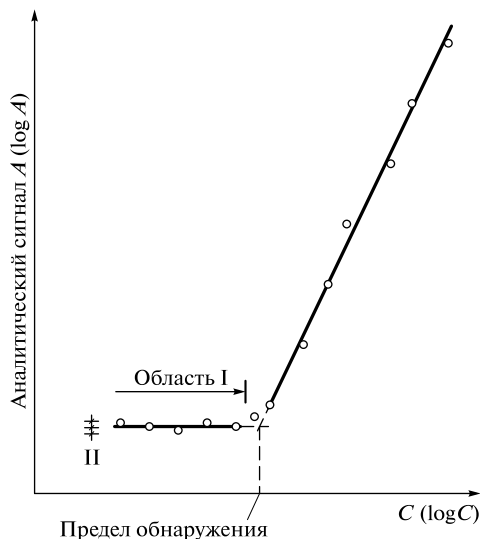


Рис. 15.8. Графическое определение предела обнаружения (область I — область концентраций, где отклик сенсора не зависит от концентрации или совсем исчезает; II — среднее значение и стандартное отклонение)

статистических данных, не имеет никакого смысла. Строго говоря, *пределом обнаружения* следует считать минимальную концентрацию определяемого вещества, способную генерировать аналитический сигнал, статистически достоверно отличающийся либо от такового в области I либо от фона. Кроме того, предел обнаружения как в потенциометрии, так и в пьезокварцевых сенсорах принято определять из градуировочного графика как точку пересечения при экстраполяции области линейности и области I (см. рис. 15.8). Подобные зависимости, как на рис. 15.8, наблюдаются и для амперометрических сенсоров, а также для многих биосенсоров, особенно тех, которые основаны на непродуктивном биоузнавании. Таким образом, данный подход для определения предела обнаружения можно считать универсальным.

В случае амперометрических биосенсоров чувствительность зачастую можно повысить путем иммобилизации большего количества фермента на поверхности электрода. Это, однако, может негативно сказаться на пределе обнаружения. Поэтому для характеристики амперометрических биосенсоров целесообразно введение нового аналитического параметра: отношения чувствительности к пределу обнаружения. Этот параметр наиболее достоверно сможет продемонстрировать преимущества или недостатки биологических сенсоров.

Контрольные задания

1. Каково место сенсоров в аналитической химии?
2. Какие аналитические устройства можно отнести к сенсорам?
3. Каковы основные типы электрохимических сенсоров?
4. На каком физическом принципе основано действие кварцевых микровесов?
5. На чем основано действие оптических сенсоров?
6. Что представляют собой биосенсоры?
7. Перечислите принципы классификации биосенсоров.
8. Охарактеризуйте классификацию электрохимических биосенсоров.
9. На чем основано действие сенсорных систем?

Список литературы

Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж. -М. Мерме, М. Отто, Г.М. Видмара. — М. : Мир, 2004.

Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа / под ред. О.М. Петрухина. — М. : Химия, 2001.

Отто М. Современные методы аналитической химии : в 2 т. / М. Отто. — М. : Техносфера, 2003.

АВТОМАТИЗАЦИЯ И КОМПЬЮТЕРИЗАЦИЯ ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА¹

16.1. Общие сведения

К *автоматизации* аналитических процедур относят оснащение аналитических приборов управляющими механизмами и электронными схемами, создание автоматизированных систем анализа для промышленности, разработку и оптимизацию схем непрерывного анализа и др. (последняя задача особенно важна — часто массовый автоматизированный анализ диктует совсем не ту логику, которая лежит в основе единичных анализов).

Не менее актуальна *компьютеризация* как аналитических приборов, так и всего аналитического цикла, включая интерпретацию результатов. На компьютер возлагают функции управления приборами (многие из которых оснащены собственным компьютером) и обработки данных: сглаживание, аппроксимация, интегрирование (дифференцирование) и другие операции с аналитическими сигналами. В массовый анализ внедряют компьютерные системы сбора и хранения данных (Laboratory Information Management Systems — LIMS), ведение электронных лабораторных журналов, что особенно важно в автоматизированной лаборатории. Межлабораторный обмен данными ускоряется и упрощается благодаря наличию компьютерных сетей связи. Формируют банки аналитических методик; на их основе в будущем должны возникнуть автоматические системы поиска и выбора методик анализа конкретных объектов. К этой области относятся уже существующие системы библиографического поиска и хранения литературных сведений.

Некоторые методы анализа (хромато-масс-спектрометрия, жидкостная хроматография с многоканальным детектированием, фурье-спектрометрия) вообще невозможно представить без компьютера. Успешно развиваются методы идентификации органических соединений, прежде всего по данным ИК-, ЯМР- и масс-спектроскопии. В этом случае компьютер реализует некоторые функции «искусственного интеллекта», сопоставляя экспериментальную картину с имеющимися теоретическими представлениями и делая выводы.

В многообразии методов и средств автоматизации можно выделить три главных направления: механизация анализа, его автоматизация и, наконец, автоматический анализ. Между ними существуют различия.

Под *механизацией анализа* понимают лишь замену ручного труда машинным (рис. 16.1, а). В сферу механизации анализа попадает задача более широкого ис-

¹ Данная глава — лишь введение в обширную область автоматизации и компьютеризации химического анализа. Для углубленного знакомства с предметом полезно обратиться к журнальной периодике (см., например: «Журнал аналитической химии», «Analytical Chemistry», «Analytical and Bioanalytical Chemistry», «Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems», «Journal of Chemometrics», «Journal of Chemical Information and Modeling», «Journal of Flow Injection Analysis»), другим учебникам и монографиям.

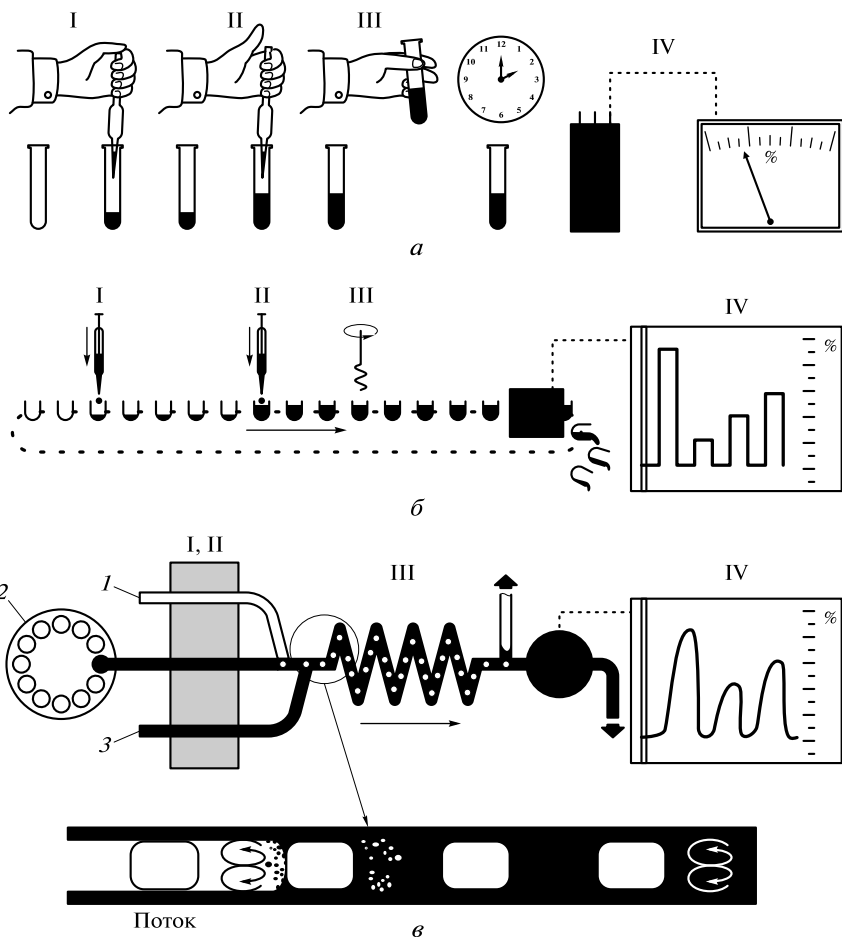


Рис. 16.1. Способы фотометрического определения:

a — «ручной»; *б* — механизированная конвейерная схема; *в* — непрерывный проточный анализ в сегментированном потоке; I — отбор пробы; II — добавление реагента; III — перемешивание и достижение равновесия; IV — измерение оптической плотности; 1 — ввод воздуха; 2 — пробоотборник; 3 — ввод реагента

пользования механических и электронных устройств на всех этапах анализа. Говоря об *автоматизации анализа*, имеют в виду передачу машине (компьютеру) функций контроля и управления (например, микропроцессорное управление сканированием спектра в современном спектрофотометре). Пример автоматизации — лабораторные роботы и лабораторные компьютерные системы, интегрирующие в единое целое разнородное оборудование.

Автоматический анализ базируется на несколько ином подходе. Если автоматизация и механизация относятся главным образом к отдельным стадиям аналитического цикла (пробоотбор, пробоподготовка, определение), то автоматический анализ подразумевает «вытеснение» человека из всего цикла (рис. 16.1, *б*, *в*). Для химика естественно отдельно разлагать образец, проводить необходимые реакции и выполнять определение (все это может происходить в разных помещениях и в разной посуде). Такой подход ограничивает рост производительности в

массовом анализе однотипных объектов. При серийном анализе образцу было бы естественнее проходить все стадии сразу, с минимальными задержками и по возможности в минимальном рабочем пространстве. Этому требованию удовлетворяют схемы автоматического анализа.

Приведенная классификация достаточно условна и не является единственной. Так, учитывая различие в целях автоматизации, можно выделить автоматизацию лабораторного анализа и промышленного, заводского. В последнем случае часто говорят об автоматизированном технологическом контроле.

16.2. Лабораторные роботы

Примером последовательной автоматизации лабораторного анализа являются лабораторные роботы. Это — относительно новое направление, развивающееся с начала 1980-х гг. *Робот* — машина с человекоподобным поведением, которая частично или полностью выполняет функции человека при взаимодействии с внешним миром. В этом смысле почти любой современный аналитический прибор — робот. Однако под *лабораторными роботами* обычно понимают устройства иного типа, так называемые роботы-манипуляторы. Главная их особенность — наличие подвижной «механической руки», на конце которой находится «кисть», предназначенная для удерживания набора рабочих инструментов. Инструментом может быть микрошприц для ввода пробы в хроматограф, дозатор для отмеривания растворов в реакционный сосуд, приспособление для захвата химической посуды и т. п. Таким образом, основное отличие лабораторного робота от другого автоматизированного оборудования состоит в том, что он почти буквально воспроизводит операции, движения человека-аналитика.

Обычно сам робот неподвижен, его располагают в центре рабочего пространства, а вокруг группируют все прочее оборудование. Робот, как правило, управляется командами (куда и насколько переместить «руку», что сделать), записанными на специальном языке программирования. Встроенный блок запоминает команды или непосредственно управляет работой при помощи компьютера. Последнее более перспективно — создается возможность «осмысленно» реагировать на изменение обстановки.

Преимущества, связанные с использованием лабораторных роботов, очевидны. Робот не ошибается или ошибается гораздо реже, чем человек. Качество его работы не снижается от утомления, у него не бывает «посторонних интересов». Робот может работать без присмотра человека в вечернее и ночное время, когда оборудование обычно простаивает. Он всегда (при надлежащем программировании) выполняет правила техники безопасности и облегчает работу с вредными или дурно пахнущими веществами и т. д. Возможность замены рабочих инструментов, в том числе на нестандартные и самодельные, позволяет приспособить робот почти к любой аналитической методике, будь то пробоотбор, пробоподготовка или определение. Стыковка же с внешним компьютером обеспечивает обработку, хранение и даже интерпретацию результатов. Перспективы развивающейся лабораторной робототехники, конечно, связаны с интегрированными системами, в которых робот играет роль лаборанта, а компьютер моделирует рассуждения аналитика. Описано применение системы лабораторный робот — персональный компьютер для оптимизации аналитических методик.

Один из примеров — фотометрическое определение фосфат-ионов по реакции образования молибденовой сини. В ходе работы компьютер исполняет программу симплекс-оптимизации и периодически отдает роботу команды на проведение анализа в новых условиях — меняются пропорции дозирования реагентов. Получив от робота зарегистрированное значение аналитического сигнала, компьютер находит следующую точку оптимизации, и весь цикл повторяется до тех пор, пока не будет достигнут искомым максимум чувствительности определения.

Каковы функции робота в этом приборе? Робот: 1) готовит раствор сравнения и измеряет оптическую плотность; 2) дозирует растворы хромогенного реагента (молибдата аммония), восстановителя (гидразина) и серной кислоты (необходимой для создания среды) в реакционный сосуд — пробирку; 3) перемешивает, а иногда и нагревает смесь в пробирке; 4) переносит пробирку в кюветное отделение спектрофотометра, преобразовывает выходной аналоговый сигнал прибора в цифровое значение оптической плотности и передает значение компьютеру.

В настоящее время роботов применяют в основном при массовом анализе. Весьма перспективны системы, интегрирующие робототехнику с лабораторными информационными системами LIMS. Еще один существенный момент состоит в том, что роботы очень эффективны при автоматизации процедур пробоотбора и пробоподготовки, разделения, выделения и концентрирования, которые трудно автоматизировать в проточном анализе, ориентированном на работу с растворами.

Так, в корпорации «Parke-Davis Pharmaceutical Research» (Анн Арбор, Мичиган, США) используется автоматическая система анализа биологических жидкостей на содержание лекарственных препаратов с применением твердофазной экстракции. Эта система включает робот Zymate XP и специально изготовленную установку для автоматической экстракции. В этой корпорации для фармацевтического анализа применяют автоматизированную систему пробоподготовки для спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии. Робот получает образцы (пробирки, снабженные идентификационным штрих-кодом) и обрабатывает их на основе указаний LIMS. В систему входит считыватель штрих-кода, устройство для перемещения, станция дозирования/пипетирования, станция измерения мутности и фильтрации. Растворы дозируют в пробирки для ЯМР- или масс-спектрометра и помещают в пробоотборник (autosampler) соответствующего прибора. Сами приборы также автоматизированы и работают по расписанию, задаваемому LIMS. Сбор и первичная обработка результатов проходят без вмешательства человека. Файлы данных хранят на сервере информационной системы и индексируют, формируя базу данных. В любой момент можно обратиться к этой базе и, например, просмотреть соответствующий спектр. Вся система построена на основе компьютерной сети, потребитель аналитической информации получает результаты по электронной почте; можно также проверить состояние приборов или конкретных образцов при помощи стандартного браузера.

16.3. Автоматический анализ

16.3.1. Основные понятия

Дискретный автоматический анализ. При серийном анализе незаменимы «конвейерные» схемы. «Конвейер» можно организовать по-разному. Это может

быть прямой аналог промышленного конвейера — ленточный транспортер с несколькими остановочными пунктами, в которых пробы подвергаются нагреванию, химическим реакциям, концентрированию; «путешествие» пробы заканчивается остановкой в детектирующем блоке. Такие системы, или дискретные автоматические анализаторы, например фирмы «Дюпон», были распространены в клиническом анализе и характеризовались достаточно высокой производительностью. К их недостаткам следует отнести сложность и громоздкость используемых механических конструкций и ограниченный срок работоспособности. Кроме того, такие приборы предназначены для анализа образцов сходного состава и не являются универсальными. К настоящему времени такие системы полностью вытеснены более современными, которые и будут рассмотрены далее.

Проточный анализ. Более распространенная альтернатива дискретному автоматическому анализу — проточный анализ. В этом случае пробы включают в поток жидкости-носителя (индифферентного или реагирующего с определяемыми компонентами). По ходу потока, без остановок, выполняют все необходимые операции (см. рис. 16.1, в). Это приводит к очень высокой производительности — до сотен проб в час. Закрытая проточная система также снижает риск потерь или вероятность загрязнения пробы. По способам ввода пробы и реагентов, скоростям потоков жидкостей проточные методы можно разделить на непрерывный проточный анализ с сегментированным потоком, группу проточно-инжекционных методов и электроинжекционный анализ (табл. 16.1).

Включение серии проб в один поток требует определенных предосторожностей: пробы не должны смешиваться, их сигналы не должны перекрываться. Су-

Таблица 16.1

Классификация и особенности проточных методов анализа

Метод	Способ ввода проб	Способ уменьшения дисперсии
Непрерывный проточный анализ с сегментированным потоком	Непрерывное прокачивание анализируемого раствора и растворов реагентов	Сегментирование потока воздухом (реже другой жидкостью)
Инжекционные методы анализа:		
Проточно-инжекционный анализ	Непрерывное прокачивание раствора реагента (реже анализируемого раствора), инъекция пробы (или раствора реагента)	Достаточно быстрое движение по узким трубкам
Последовательный инъекционный анализ и последовательный анализ с инъекцией частиц	Инъекция анализируемого раствора, растворов реагентов (суспензии сорбента)	Достаточно быстрое движение по узким трубкам
Электроинжекционный анализ	Электрокинетическая инъекция анализируемого раствора и раствора реагента	Однородность электроосмотического потока

существует два варианта решения этой проблемы: 1) деление зон пробы воздухом или несмешивающейся с носителем жидкостью на отдельные сегменты; 2) впрыскивание (инжекция) малых порций пробы в поток быстро движущейся жидкости. Первый вариант является основой непрерывного проточного анализа с сегментированным потоком, второй — группы инъекционных методов.

16.3.2. Непрерывный проточный анализ с сегментированным потоком

В непрерывном проточном анализе, предложенном А. Скеггсом, пробы и реагенты с постоянной скоростью непрерывно прокачивают с помощью насоса по трубкам. Кроме того, через одну из трубок в систему подают воздух, который делит каждую пробу на ряд небольших, одинаковых по объему сегментов. Сегментированный поток сливается с потоками растворов нужных реагентов, смешивается с ними и после удаления пузырьков воздуха попадает в детектор (рис. 16.2). Достоинства такого подхода заключаются в высокой степени автоматизации, скорости и производительности. Изготовленные по этому принципу автоанализаторы «Техникон» и «Контифло» широко использовались в практике лабораторного химического анализа, в том числе и в нашей стране.

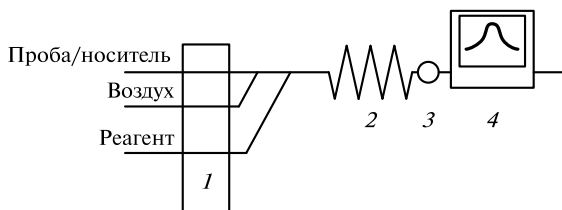


Рис. 16.2. Схема потокораспределительной системы для непрерывного проточного анализа с сегментированным потоком:

1 — перистальтический насос; 2 — смесительная спираль; 3 — устройство для удаления пузырьков; 4 — проточный детектор

В описанной схеме возможны изменения. Так, для сегментации потока иногда используют не газ, а несмешивающуюся с носителем жидкость; однако деление потока пузырьками воздуха остается наиболее распространенным. В середине 1980-х гг. американской фирмой «Alpkem» был создан фотометрический детектор, позволяющий измерять оптическую плотность в сегментированном потоке жидкости без удаления пузырьков. Это послужило основой быстрого распространения данного метода благодаря резкому увеличению производительности анализа.

16.3.3. Инжекционные методы анализа

В 1975 г. появилась первая публикация, авторы которой (Я. Ружичка, И. Хансен) обратили внимание на возможность проведения проточного анализа без сегментации (отдельные работы появлялись и раньше, но им не придавали суще-

ственного значения); это — так называемый *проточно-инжекционный анализ*. Создатели метода определили предложенный ими прием химического анализа следующим образом: метод основан на введении (инъекции) пробы жидкого анализируемого образца в движущийся непрерывный поток подходящей жидкости; зона инжেকтированной пробы транспортируется по направлению к детектору, который непрерывно регистрирует оптическую плотность, электродный потенциал или любой другой физический параметр, непрерывно изменяющийся при пропуске пробы через его проточную ячейку»; кроме того, это — прием, основанный на сочетании инъекции пробы, поддержания контролируемой дисперсии (размывания зоны пробы) и строго постоянного времени пребывания.

Впоследствии авторы, по-видимому, уже лучше понимая огромные возможности предложенного подхода, дали другое, более точное определение: *проточно-инжекционный анализ* — это метод, основанный на получении информации по градиенту концентрации определяемого вещества, возникшему в результате инжектирования вещества в виде хорошо воспроизводимой зоны в несегментированный поток носителя. Ж. Фан так определил проточно-инжекционный анализ: это — прием хроматографического проточного анализа, основанный на получении в термодинамически неравновесных условиях хорошо воспроизводимых зон пробы и реагента в непрерывном потоке.

Инжекционные методы в настоящее время активно развиваются: кроме проточно-инжекционного анализа предложены последовательный инжекционный анализ, последовательный анализ с инъекцией частиц, электроинжекционный анализ (см. табл. 16.1).

Все инжекционные методы основаны на следующих принципах: введение микропробы образца в ламинарный поток носителя; стабильное движение зоны образца в системе, сопровождающееся протеканием различных процессов (смешивание, химическое взаимодействие, сорбция, экстракция и т. д.); строгий контроль дисперсии (размывания и разбавления) введенного образца в процессе его движения; постоянство времени пребывания образца в системе; непрерывное в неравновесных условиях измерение аналитического сигнала.

Рассмотрим различные варианты инжекционных методов (см. табл. 16.1).

Проточно-инжекционный анализ. Основные компоненты двухканальной потокораспределительной системы для проточно-инжекционного анализа могут быть проиллюстрированы схемой, приведенной на рис. 16.3. Растворы носителя и реагента по узким пластиковым трубкам непрерывно подают с помощью насоса. Периодически в ламинарный поток носителя вводят строго воспроизводимые микрообъемы анализируемой пробы. После ввода каждая микропроба, образующая сегмент в потоке носителя, движется по направлению к непрерывно работающему детектору. При движении анализируемого раствора, заключенного в виде жидкой зоны (сегмента) в потоке носителя, образец частично разбавляется носителем, в потоке создается градиент концентрации образца. В некоторый момент поток носителя сливается с потоком раствора

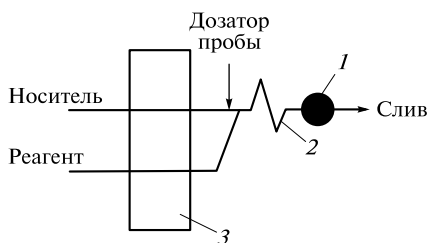


Рис. 16.3. Схема двухканальной потокораспределительной системы для проточно-инжекционного анализа:

1 — детектор; 2 — смесительная спираль;
3 — насос

реагента, смешивается с ним в реакционной спирали, при этом компоненты пробы вступают в химическую реакцию. Объединенный поток проходит через ячейку детектора, непрерывно регистрирующего аналитический сигнал.

Преимущества проточно-инжекционного анализа по сравнению с его новыми вариантами, которые будут рассмотрены далее, состоят в хорошей проработке основ метода, доступности оборудования и простоте эксплуатации (определение может быть реализовано с помощью оборудования для высокоэффективной жидкостной хроматографии), легкости реализации различных приемов концентрирования и разделения веществ. К недостаткам следует отнести, в первую очередь, необходимость конструирования и отладки новой потокораспределительной системы для решения каждой аналитической задачи. При необходимости использования большого числа реагентов системы для проточно-инжекционного анализа весьма громоздки, кроме того, в таких случаях наблюдается значительное разбавление зоны пробы, что приводит к снижению чувствительности. Весьма существенным недостатком является также необходимость постоянного прокачивания растворов реагентов, что приводит к их значительному расходу.

Последовательный инжекционный анализ. Этот метод был предложен Я. Ружичкой и Г. Маршалом (1990). Это простой и удобный вариант проточного анализа. Гибкость подхода обеспечивается использованием многоходового крана, каждый порт которого обеспечивает выполнение различных операций: введение пробы, реагентов, растворов сравнения, подключение различных детекторов и других устройств (рис. 16.4).

Метод основан на последовательной инъекции с помощью шприцевого насоса зон пробы анализируемого образца и реагентов в потокораспределительную систему. Последовательность хорошо разделенных зон движется и попадает в удерживающую спираль. Затем многоходовой кран переключается на порт детектора, а шприцевой насос изменяет движение потока на противоположное. Зоны реагентов проходят друг сквозь друга и попадают в детектор, в котором регистрируется аналитический сигнал продукта химической реакции (рис. 16.5).

Последовательный инжекционный анализ с инъекцией частиц (с возобновляемыми колонками). Метод предложен Я. Ружичкой (1994). Были разработаны специальные проточные ячейки, позволяющие проводить детектирование

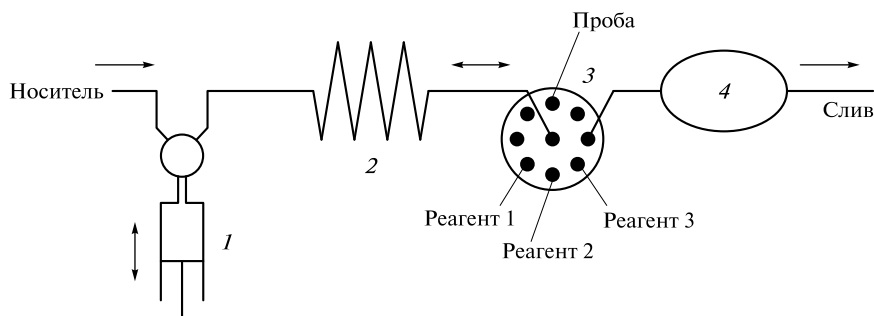


Рис. 16.4. Схема потокораспределительной системы для последовательного инжекционного анализа:

1 — шприцевой насос; 2 — удерживающая спираль; 3 — многоходовой кран; 4 — проточный детектор

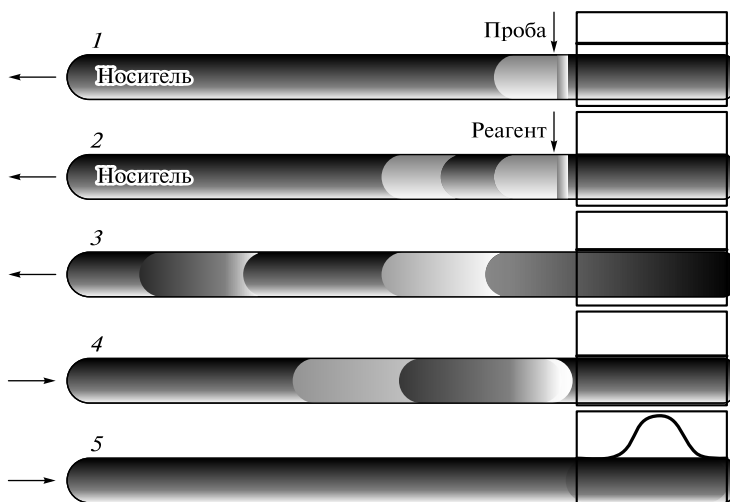


Рис. 16.5. Процессы, происходящие при последовательном инъекционном анализе: 1 — инъекция пробы; 2 — инъекция реагента(ов); 3 — движение к удерживающей спирали; 4 — изменение направления движения; 5 — детектирование

в гетерогенных системах. Перед каждым определением в автоматизированном режиме ячейку заполняют частицами сорбента размером 50 — 130 мкм, закачивая с помощью шприцевого насоса в потокораспределительную систему суспензию частиц (рис. 16.6). Затем, так же как в последовательном инъекционном анализе, в систему инжектируют пробу и необходимые реагенты. После смешивания

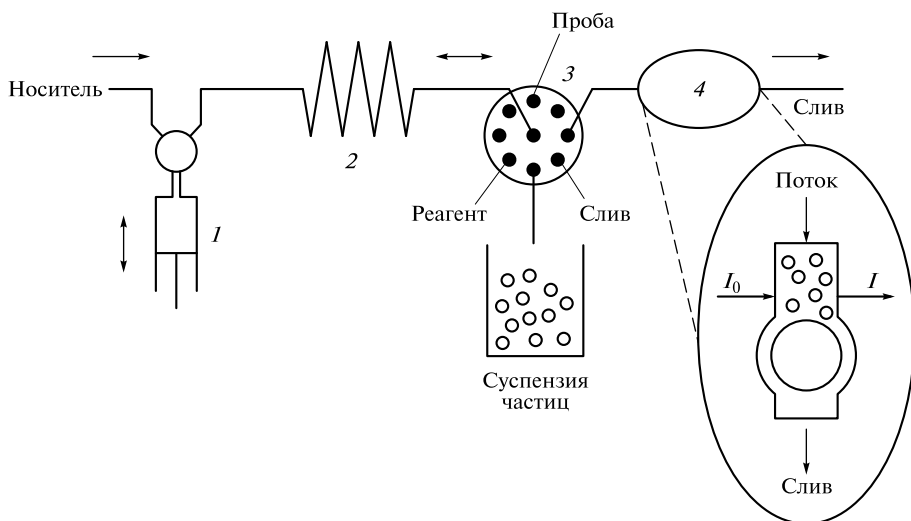


Рис. 16.6. Схема потокораспределительной схемы для последовательного инъекционного анализа с инъекцией частиц (с возобновляемой колонкой):

1 — шприцевой насос; 2 — удерживающая спираль; 3 — многоходовой кран; 4 — проточный детектор с ячейкой специальной конструкции

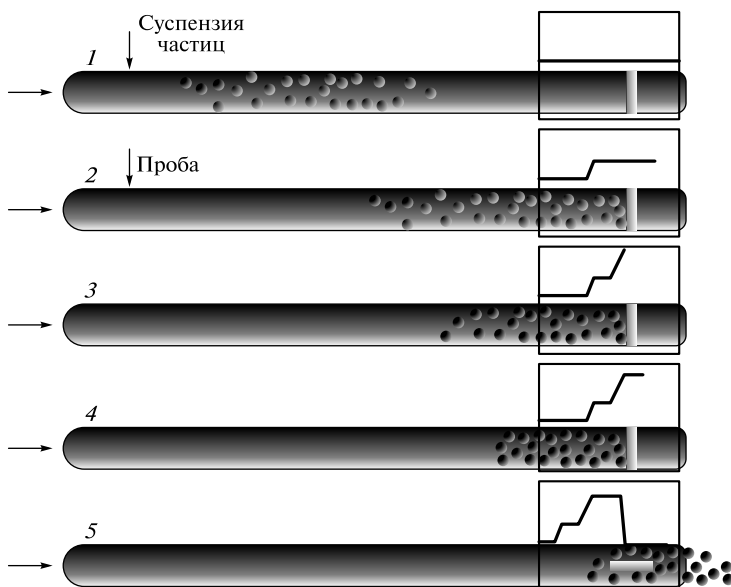


Рис. 16.7. Процессы, происходящие при последовательном инъекционном анализе с инъекцией частиц (с возобновляемой колонкой):

1 — инъекция суспензии частиц; 2 — инъекция пробы (и, если необходимо, инъекция реагента); 3, 4 — взаимодействие по пути к детектору; 5 — детектирование, очистка измерительной ячейки

подготовленную пробу или продукт ее химической реакции с реагентом направляют в проточную ячейку детектора, где происходит взаимодействие с частицами сорбента, при этом детектор регистрирует аналитический сигнал. Отработанные частицы сорбента удаляются из потокораспределительной системы. Таким образом удастся в неравновесных условиях потока организовать сорбционное концентрирование и твердофазное детектирование, что приводит к значительному повышению чувствительности определения (рис. 16.7).

Преимущества инъекционных методов анализа. При реализации этих подходов сохраняются достоинства проточно-инъекционного анализа, такие как низкий расход пробы, высокая производительность, возможность осуществления различных химических реакций и процессов в неравновесных условиях потока. Однако есть и более существенные достоинства. Главные из них — это универсальность и гибкость подхода и простота оборудования: одна и та же система (по сути, пластиковая трубка) может быть использована для определения различных компонентов, реализации различных химических реакций, в том числе с участием большого числа необходимых реагентов. Для этого следует изменить лишь программу, управляющую работой прибора, и подключить с помощью многоходового крана дополнительные реагенты или узлы. Расход реагентов и сорбентов в последовательном инъекционном анализе и его варианте с инъекцией частиц минимален. Практическая реализация этих методов предполагает использование достаточно дорогого оборудования и специального программного обеспечения.

В рассмотренных методах, когда микрообъемы пробы вводят в ламинарный поток носителя, предполагается, что химические реакции и физические процессы должны протекать достаточно быстро. Методы «остановленного потока» и

«замкнутой спирали» позволяют увеличить время пребывания пробы в проточной системе. В методе «остановленного потока», выбирая определенные момент и интервал остановки потока, можно задавать определенную скорость и время протекания химической реакции в течение этой остановки. Обычно поток останавливают, когда зона образца или ее часть находятся в смесительной спирали, в реакторе или в проточной ячейке детектора. В последнем случае детектор регистрирует приращение сигнала во времени, что позволяет не только повысить степень протекания реакции, но и оценить ее скорость. В методе «замкнутой спирали» поток циркулирует по замкнутому трубопроводу через детектор до полного равновесного смешивания пробы с реагентом, при этом детектор регистрирует серию аналитических сигналов, соответствующих изменению измеряемого параметра во времени.

Разработано большое число полностью автоматизированных систем для определения разнообразных неорганических и органических соединений в различных объектах. Такие системы стабильно работают в автономном режиме под управлением компьютера. Системы пригодны для рутинного мониторинга, в том числе контроля за содержанием токсичных и радиоактивных компонентов.

Размывание (дисперсия) зон в инъекционных методах. Аналитический сигнал в инъекционных методах измеряют в неравновесных условиях, когда ни физические процессы разбавления пробы носителем, ни тем более химические реакции не завершаются. Получать хорошо воспроизводимые результаты позволяет строгий контроль времени пребывания пробы в системе и степени ее разбавления в потоке.

Наиболее важным физическим явлением при получении зон пробы и реагента в несегментированном потоке жидкости является их размывание в потоке носителя. Степень размывания вдоль зоны неодинакова. В двух крайних частях зоны на границах раздела с носителем размывание является результатом молекулярной диффузии и конвекции, а в центральной части — только конвекции. При этом размывание может происходить как в радиальном, так и в аксиальном направлениях. Это приводит к изменению концентрационных профилей зоны по мере ее продвижения в ламинарном потоке носителя (рис. 16.8).

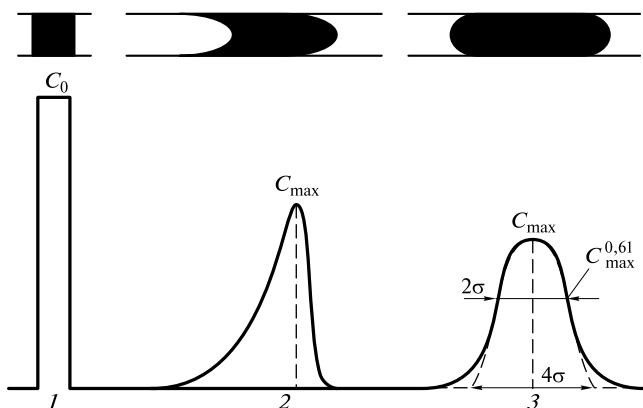


Рис. 16.8. Изменение концентрационного профиля зоны (1—3) пробы в процессе ее движения

Общая дисперсия (размывание) пика ($\sigma_{\text{пик}}$), определяющая форму пика, складывается из дисперсии образца в процессе его движения по трубкам ($\sigma_{\text{тр}}$), дисперсии при вводе пробы ($\sigma_{\text{инж}}$) и дисперсии в детекторе ($\sigma_{\text{дет}}$):

$$\sigma_{\text{пик}}^2 = \sigma_{\text{тр}}^2 + \sigma_{\text{инж}}^2 + \sigma_{\text{дет}}^2.$$

Обычно вклад дисперсии при вводе пробы и дисперсии в детекторе невелик, и основной причиной размывания пика является размывание зоны пробы в процессе ее движения в трубопроводе:

$$\sigma_{\text{пик}}^2 = \sigma_{\text{тр}}^2.$$

Для количественной оценки степени дисперсии предложено использовать *коэффициент дисперсии* (D), равный отношению начальной концентрации пробы (C_0) к концентрации, соответствующей какой-либо точке концентрационного профиля, чаще всего в точке максимума ($C_{\text{мах}}$):

$$D = C_0 / C_{\text{мах}}.$$

Таблица 16.2

Различная дисперсия зоны: особенности потокораспределительных систем и области их применения

Дисперсия зоны	Коэффициент дисперсии	Особенности потокораспределительной системы	Область применения
Ограниченная	1 — 2	Минимальное расстояние между точкой инъекции и детектором	Кондуктометрические и потенциометрические измерения. Автоматическая инъекция и спектрометрические анализаторы (атомно-абсорбционная спектрометрия и атомно-эмиссионная спектрометрия с ионизацией индуктивно связанной плазмой). Исследование биохимических систем, включая живые клетки
Средняя	2 — 10	Минимальное расстояние между точкой инъекции и детектором. Включены смесительные спирали и точки ввода реагентов	Химическая дериватизация определяемого вещества для детектирования продуктов реакции
Большая	$10^1 — 10^4$	Включены смесительные спирали. Инжектируется минимальный объем проб образца	Анализ концентрированных растворов

Коэффициент дисперсии может быть больше или равен 1. Коэффициент дисперсии зависит от объема инжектированной пробы, скорости движения потока носителя и соотношения скоростей потоков носителя и реагента, конструктивных особенностей потокораспределительной системы (длины и диаметра трубки, длины смесительных спиралей, наличия и конструкции твердофазных реакторов, например сорбционных колонок), вязкости жидкости и температуры.

Коэффициент дисперсии уменьшается с увеличением объема инжектированной пробы. Для большинства проточно-инжекционных систем объем инжектируемой пробы составляет 100—200 мкл. Длина и диаметр трубок, используемых для прокачивания растворов, существенно влияют на размывание зон. Обычно используют трубки с внутренним диаметром 0,35—0,9 мм, при этом их длина должна быть как можно меньше.

Различают потокораспределительные системы с ограниченной, средней и большой дисперсией зон (табл. 16.2, рис. 16.9).

Для обеспечения *ограниченной дисперсии* расстояние от инжектора до детектора должно быть минимальным. В таких системах дополнительные устройства, как правило, не используют, и зона образца попадает в детектор практически не разбавленной. В потокораспределительных системах, предназначенных для осуществления различных химических реакций и процессов, как правило, наблюдается *средняя дисперсия*. В таких системах с увеличением объема инжектируемой пробы высота пика увеличивается до тех пор, пока не будет достигнуто стационарное состояние. Увеличение длины коммуникаций приводит к росту дисперсии; так, при скорости 15 мкл/мин увеличение длины трубки от 20 до 250 см приводит к росту коэффициента дисперсии от 2 до 8 и, следовательно, существенной потере чувствительности. Потокораспределительные системы с *большой дис-*

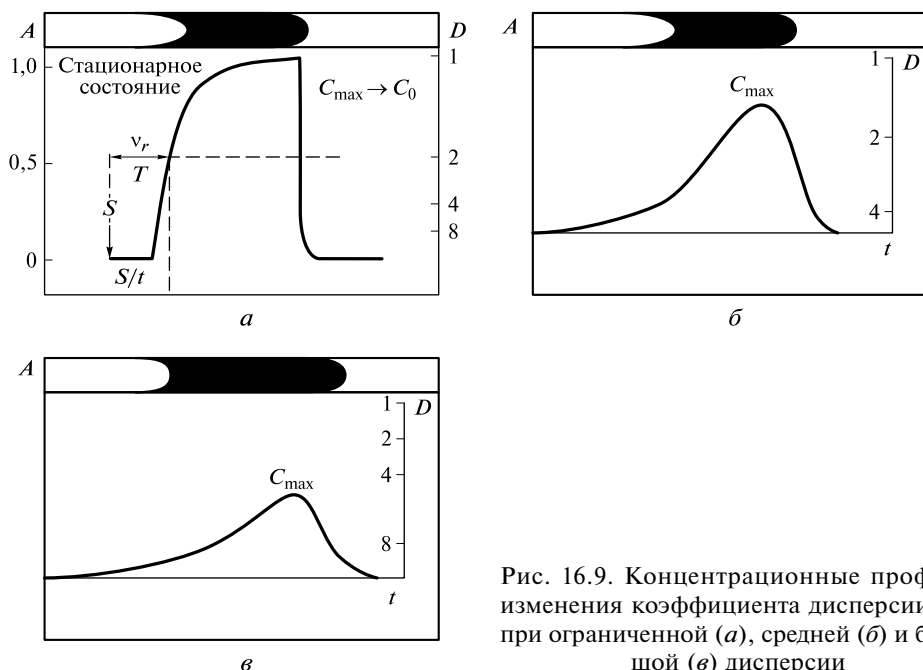


Рис. 16.9. Концентрационные профили изменения коэффициента дисперсии (D) при ограниченной (a), средней ($б$) и большой ($в$) дисперсии

персией используют для анализа концентрированных растворов. Для обеспечения большой дисперсии инжестируют минимально возможный объем пробы.

Таким образом, если скорость потока достаточно велика, объем вводимой пробы достаточно мал и трубка очень тонкая, можно выбрать условия, при которых пробы не будут смешиваться друг с другом, а будут перемешиваться только с той жидкостью, которая непрерывно течет по трубке. Возможность (нежелательная) смешивания проб зависит от интервала времени между вводом последовательных проб и размывания зон этих проб на пути от входа до детектора. Частота ввода проб обычно лежит в некотором диапазоне, обеспечивающем желаемую производительность анализа. Дисперсия (размывание) пробы определяется в первую очередь гидродинамическими свойствами проточной системы, а эти свойства прямо связаны с геометрическими параметрами (длиной, диаметром, формой) трубопроводов, реакторов и прочих элементов конструкции; существенны также скорости потоков, объемы проб и реагентов и некоторые другие характеристики. Варьируя эти параметры, можно добиться приемлемого размывания зон. Воспроизводимость сигнала обеспечивается и без достижения стационарного, равновесного состояния в результате строгого постоянства условий анализа.

Подходы, лежащие в основе проточных методов анализа, позволяют автоматизировать практически все методы лабораторного, а иногда и «полевого», и цехового анализа, связанные с «мокрой» химией. Реализация этих методов обеспечивает высокую производительность анализов (до 200 проб в час), при этом расходы пробы и реагентов на одно определение составляют 10—50 мкл. Работа в закрытой системе в автоматизированном режиме практически исключает контакт оператора с опасными (токсичными или радиоактивными) веществами и позволяет использовать реакции с неустойчивыми химическими соединениями. Строгое постоянство всех физических параметров систем дает возможность контролировать условия реакций. Минимизация ручного труда позволяет достичь высокой воспроизводимости результатов: относительное стандартное отклонение составляет 0,01—0,05.

Успех использования этих методов существенно зависит от выбора методики анализа и конструкции потокораспределительной системы. Благодаря универсальности проточные методы охватывают многие сферы приложения — от массового лабораторного анализа до создания систем автоматизированного контроля технологических процессов.

16.3.4. Приборы для проточного анализа

Развитие проточного анализа базируется как на успехах собственно аналитической химии, так и в значительной мере на достижениях аналитического приборостроения. Приборы для проточного анализа позволяют осуществлять в потоке в автоматическом режиме многие операции химического анализа: отбор пробы, введение ее в поток носителя (реагента), физическую и химическую подготовку пробы, детектирование и запись сигнала, математическую обработку данных. Проточные системы обычно включают: один или несколько насосов; устройство для отбора пробы и ее инъекции в движущийся поток жидкости; аналитический модуль, основу которого составляет потокораспределительная система — совокупность трубок, определенным образом соединенных между собой, с узлом

ввода пробы и детектором, содержащая смесительные спирали, реакторы и другие устройства; детектор с проточной ячейкой. Функционирование проточных систем и сбор данных обеспечивает компьютер.

Наибольшее распространение получили многоканальные перистальтические насосы с рабочим давлением не более 0,1 МПа. Они могут обеспечить разную скорость в различных каналах системы за счет использования трубок с разным внутренним диаметром, они недороги и удобны в эксплуатации. Успех развития новых вариантов проточных методов анализа в значительной степени связан с созданием надежных шприцевых насосов и многоходовых кранов. Для выполнения операций подготовки пробы непосредственно в потоке в потокораспределительной системе включают смесительные (реакционные) спирали, химические реакторы различных типов (колонки с восстановителями или окислителями, иммобилизованными реагентами, в том числе ферментами), устройства для осуществления диализа, жидкостной экстракции, сорбционного разделения и концентрирования и прочих методов. Для интенсификации процессов и химических реакций используют водяные бани, устройства для УФ облучения и микроволновые печи.

Для детектирования в проточном анализе используют разнообразные методы анализа: оптические (спектрофотометрия, флуоресценция, пламенная атомно-абсорбционная спектроскопия, атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно

Таблица 16.3

Способы детектирования в проточных метода анализа

Метод	Способы детектирования
Непрерывный проточный анализ с сегментированным потоком	Спектрофотометрический, люминесцентный
Проточно-инжекционный анализ	Спектроскопические (спектрофотометрический, в том числе с использованием диодной линейки, люминесцентный, атомно-абсорбционный с пламенной и электротермической атомизацией, атомно-эмиссионный, в том числе и с индуктивно связанной плазмой). Электрохимические (ионометрический, кондуктометрический, вольтамперометрический)
Последовательный инъекционный анализ	Спектроскопические (спектрофотометрический, в том числе с использованием диодной линейки, ИК-спектроскопия, люминесцентный, атомно-абсорбционный с пламенной и электротермической атомизацией, атомно-эмиссионный, в том числе с индуктивно связанной плазмой). Электрохимические (ионометрический, кондуктометрический, вольтамперометрический). Радиохимический
Последовательный анализ с инъекцией частиц	Спектрофотометрический. Люминесцентный. Вольтамперометрический. Радиохимический

связанной плазмой), электрохимические (амперометрия, ионометрия и инверсионная вольтамперометрия) и др. (табл. 16.3).

На выбор метода детектирования проточный анализ не накладывает каких-либо принципиальных ограничений. К идеальному детектору в проточном анализе предъявляют следующие требования: быстроедействие (время отклика не более 5 с); низкий шум и высокая чувствительность; воспроизводимость и стабильность отклика; линейная зависимость сигнала от концентрации образца; селективность; миниатюрность и простота конструкции.

Полностью всем этим требованиям не отвечает ни один из известных детекторов, и выбор метода детектирования зависит главным образом от аналитического назначения системы.

Оптические детекторы. Для селективного определения веществ можно применять фотометрические детекторы. Обычно перед детектированием в потоке проводят реакцию определяемого компонента с одним или несколькими реагентами, приводящую к образованию окрашенных соединений. Типичная проточная кювета имеет объем 8—40 мкл и длину оптического пути 10 мм. При этом луч света может проходить через кювету как в аксиальном, так и в радиальном направлении. Первый вариант предпочтительнее и используется чаще (рис. 16.10, *а*). Описано применение одно- и двухлучевых фотометров, но наибольший интерес представляют детекторы на основе фотодиодной линейки. Для высокочувствительного определения органических веществ, в том числе биологически активных, часто используют флуоресцентные детекторы. Интенсивность люминесценции измеряют под прямым углом к направлению движения потока (рис. 16.10, *б*). Для определения неорганических соединений часто используют проточный анализ в сочетании с пламенной атомно-абсорбционной спектроскопией (рис. 16.10, *в*) и атомно-эмиссионной спектроскопией с индуктивно связанной плазмой. Такое сочетание позволяет расширить область применения и улучшить метрологические характеристики (воспроизводимость и правильность) таких спектрометрических определений. Разработаны специальные проточные ячейки для твердофазно-спектрографического детектирования в варианте последовательного анализа с инъекцией частиц.

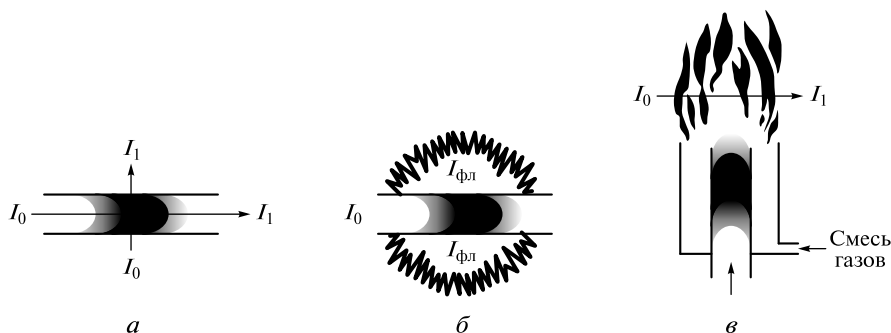


Рис. 16.10. Схема оптического детектирования в потоке:

а — спектрофотометрическое детектирование; *б* — флуориметрическое детектирование; *в* — пламенное атомно-абсорбционное детектирование (I_0 — падающее излучение; I_1 — прошедшее излучение; $I_{фл}$ — излучение флуоресценции)

Электрохимические детекторы. Доля электрохимических методов детектирования в проточном анализе возрастает благодаря достаточной простоте и надежности конструкции электрохимических детекторов, их быстродействию и широкому диапазону определяемых содержаний.

Наибольшее распространение получили проточно-инжекционная вольтамперометрия, амперометрия и особенно ионометрия. Используют электрохимические ячейки различных конструкций: сенсорный слой является частью трубопровода (рис. 16.11, *а*); ячейки каскадного типа с чувствительной «отражающей стенкой» (рис. 16.11, *б*); ячейки с проволочным электродом (рис. 16.11, *в*). Возможность проведения операций пробоподготовки в процессе непрерывного движения зоны образца к детектору — одно из важнейших достоинств таких ячеек.

Для повышения чувствительности и селективности определения веществ в потоке реализованы различные методы концентрирования и разделения. Их клас-

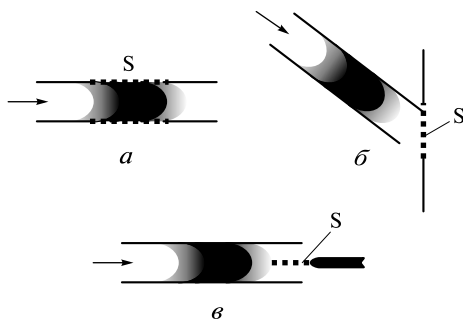


Рис. 16.11. Схема электрохимического детектирования в потоке:

а — чувствительный слой S является частью трубопровода; *б* — ячейка каскадного типа; *в* — ячейка с проволочным сенсором

Таблица 16.4

Классификация методов (приемов) разделения и концентрирования, используемых в проточных методах анализа

Фазы, между которыми происходит массоперенос	Метод (прием) концентрирования/разделения	Проточный метод анализа
Жидкость — газ	Газовая диффузия, генерация гидридов, генерация «холодного» пара	Непрерывный проточный анализ с сегментированным потоком. Проточно-инжекционный анализ, последовательный инжекционный анализ
Жидкость — жидкость	Жидкостная экстракция, диализ	Непрерывный проточный анализ с сегментированным потоком. Проточно-инжекционный анализ, последовательный инжекционный анализ
Жидкость — твердое тело	Осаждение — соосаждение — растворение, сорбция, твердофазная экстракция, осуществление гетерогенных реакций (окисления-восстановления, комплексообразования, ферментных и иммунологических)	Непрерывный проточный анализ с сегментированным потоком. Проточно-инжекционный анализ, последовательный инжекционный анализ, последовательный анализ с инъекцией частиц

сификация по природе фаз, между которыми происходит массообмен, приведена в табл. 16.4.

В целом приборы для проточного анализа не отличаются особой сложностью. Системы для проточно-инжекционного анализа монтируют на базе имеющегося в лаборатории серийного оборудования. Роль компьютерной техники в проточных методах анализа чрезвычайно важна в связи с необходимостью строго контролировать все параметры системы, координировать работу отдельных блоков.

Реализация современных вариантов проточных методов — последовательно-инжекционного анализа и последовательного анализа с инъекцией частиц — требует специального фирменного оборудования и программного обеспечения.

В настоящее время лидером в производстве приборов для проточных методов анализа, включая современные варианты, является FIALab Instr. Inc. (США); оборудование для проточно-инжекционного анализа выпускается и в России.

16.4. Автоматизация лабораторного анализа

В настоящее время проточно-инжекционный анализ и последовательный инжекционный анализ широко используют для автоматизации лабораторного анализа объектов окружающей среды, пищевых продуктов, фармацевтических препаратов, биохимических и медицинских объектов. Разработаны потокораспределительные системы для определения неорганических (ионов металлов, включая радиоактивные, анионов) и органических соединений в речных, морских и сточных водах, атмосферных осадках, почвах и донных отложениях. Большое внимание уделяется автоматизации анализа питьевой воды, пищевых продуктов и напитков. В этих объектах определяют органические соединения (аминокислоты, органические кислоты, сахара), а также ионы металлов и неорганические анионы. Значительный интерес представляет автоматизация анализа фармацевтических препаратов и биохимических образцов. Предложены потокораспределительные системы для контроля качества фармацевтических препаратов различных классов — сульфаниламидов, анальгетиков, витаминов и др. Известны примеры проведения стереоспецифического анализа. Разнообразие способов определения неорганических и органических соединений определяется разнообразием возможных способов детектирования, разделения и концентрирования. Приведенные далее примеры потокораспределительных систем это демонстрируют. Сравнение потокораспределительных систем для проточно-инжекционного и последовательного инжекционного анализа доказывает большую универсальность последних.

Для определения растворенных газов и газообразующих веществ в проточно-инжекционных методах часто используют газовую диффузию. Для этого в потокораспределительные системы включают проточные ячейки различных конструкций, содержащие газопроницаемые мембраны. Анализ в таких системах основан на том, что газ, присутствующий в анализируемой пробе (O_2 , Cl_2) или образующийся в результате химической реакции непосредственно в потоке (SO_2 , CO_2 , HCN , NH_3 , SbH_3 , BiH_3 , TeH_4), диффундирует из донорного потока через газопроницаемую мембрану в поток-приемник с последующим детектированием методами атомно-абсорбционной спектроскопии, спектрофотометрии, потенциометрии, амперометрии, кондуктометрии и хемилюминесценции. На рис. 16.12 приведена схема потокораспределительной системы для фотометрического опре-

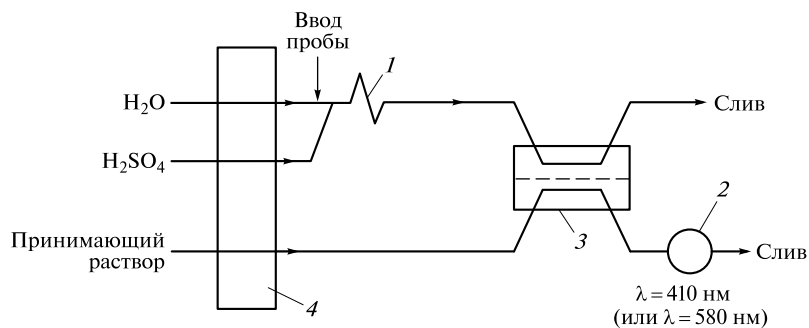


Рис. 16.12. Схема потокораспределительной системы для фотометрического определения диоксида углерода в крови, включающая газодиффузионное разделение:

1 — смесительная спираль; 2 — фотометрический детектор; 3 — мембранный сепаратор; 4 — насос

деления диоксида углерода в крови. Проба крови инжектируется в поток носителя, встречается с потоком 0,2 М раствора серной кислоты и после прохождения смесительной спирали попадает в газодиффузионный сепаратор. По мере движения в последнем диоксид углерода диффундирует в поток-приемник — буферный раствор, содержащий кислотно-основный индикатор. Изменение окраски индикатора регистрируют фотометрически с помощью проточного фотометра. Содержание диоксида углерода определяют по высоте пика по заранее построенному градуировочному графику. Производительность составляет 90 проб в час.

Автоматизированное последовательно-инжекционное определение ионов аммония в объектах окружающей среды основано на сочетании газодиффузионного разделения со спектрофотометрическим детектированием: 75 мкл пробы и 100 мкл 0,01 М раствора гидроксида натрия последовательно впрыскивают в поток носителя — воды — и транспортируют в удерживающую спираль. Затем направление потока меняют на противоположное, при этом зона образца смешивается с гидроксидом натрия, в результате чего генерируется газообразный аммиак. Поток проходит через газодиффузионный сепаратор-ячейку, в котором газообразный аммиак диффундирует через гидрофобную пористую мембрану из потока-донора в поток-приемник, представляющий собой раствор кислотно-основного индикатора — бромтимолового синего. Непрерывно работающий спектрофотометрический детектор регистрирует оптическую плотность выходящего из газодиффузионного сепаратора потока. Содержание ионов аммония определяют по высоте пика по заранее построенному градуировочному графику (рис. 16.13).

Для определения мышьяка, сурьмы, висмута, теллура и германия в потоке часто используют химическую генерацию их гидридов, например, в результате взаимодействия с тетрагидроборатом натрия. Образовавшиеся гидриды после газодиффузионного отделения от потока детектируют атомно-абсорбционным методом.

Автоматизированное последовательно-инжекционное определение ионов ртути(II) в морепродуктах и морских донных отложениях основано на on-line генерации «холодного» пара ртути и атомно-абсорбционном детектировании. Использована off-line пробоподготовка в микроволновой печи. После заполнения

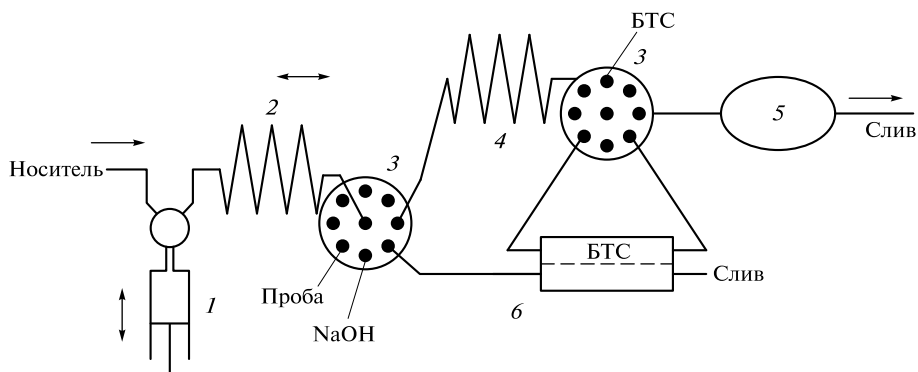


Рис. 16.13. Схема потокораспределительной системы для последовательного инъекционного определения ионов аммония, включающая газодиффузионное разделение и спектрофотометрическое детектирование:

1 — шприцевой насос; 2 — удерживающая спираль; 3 — многоходовой кран; 4 — реакционная спираль; 5 — спектрофотометрический детектор; 6 — газодиффузионный сепаратор (БТС — бромтимоловый синий)

потокораспределительной системы носителем в нее последовательно инжестируют образец и раствор хлорида олова(II) в соляной кислоте и направляют в удерживающую спираль. После этого направление движения изменяют на противоположное, зоны движутся по направлению к детектору, проходят газодиффузионный сепаратор, в котором пары ртути вымываются потоком газообразного азота для детектирования в атомно-абсорбционном детекторе.

При проточно-инжекционном определении различных веществ достаточно часто в потоке осуществляют жидкостную экстракцию в сочетании с фотометрическим, флуориметрическим и хемилюминесцентным детектированием. В потокораспределительные системы включают сегменторы для введения органической фазы, экстракционные спирали и фазовые сепараторы. В качестве примера рассмотрим потокораспределительную систему для экстракционно-фотометрического определения анионных ПАВ в варианте проточно-инжекционного анализа (рис. 16.14). Пробу инжестируют в водный поток носителя, она встречается с

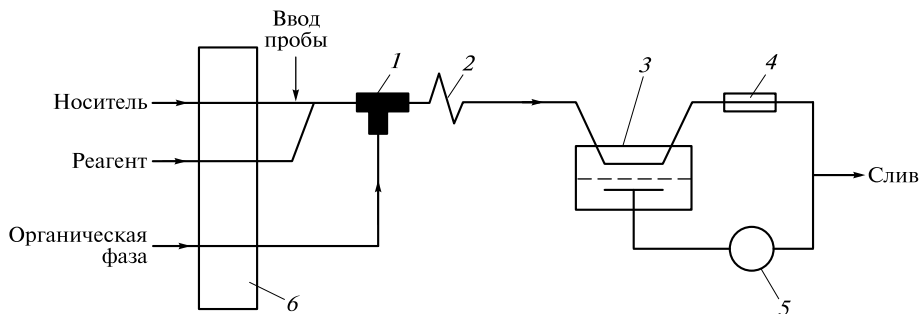


Рис. 16.14. Схема потокораспределительной системы для проточно-инжекционного определения ПАВ, включающая экстракционное выделение:

1 — сегментор; 2 — экстракционная спираль; 3 — сепаратор; 4 — резистор; 5 — фотометрический детектор; 6 — насос

потоком метиленового голубого и сегментируется потоком органической фазы — 1,2-дихлорбензола. Экстракция ионного ассоциата анионного ПАВ с метиленовым голубым в органическую фазу происходит во время движения потока в экстракционной спирали. Оптическую плотность органической фазы измеряют после ее отделения от водной фазы в мембранном сепараторе. Содержание ПАВ определяют по высоте пика по заранее построенному градуировочному графику. Производительность — 20 проб в час.

Описаны системы, включающие жидкостную экстракцию в потоке, для определения тяжелых металлов, анионов, аминов, кофеина и кодеина.

Для повышения чувствительности и селективности определения многих компонентов в потоке часто применяют гетерогенные реакции, в том числе сорбционное концентрирование и разделение. Для этого в потокораспределительные системы включают один или несколько твердофазных реакторов, например сорбционных колонок. Реактор обычно располагают сразу после инжектора для введения пробы (рис. 16.15). В варианте последовательного инъекционного анализа сорбционное распределение и концентрирование проводят не только на стационарных сорбционных колонках, но и с помощью «возобновляемых» колонок в варианте инъекции частиц. Для детектирования определяемых компонентов в таких потокораспределительных системах применяют атомно-абсорбционную спектроскопию с пламенной и электротермической атомизацией, атомно-эмиссионную спектроскопию с индуктивно связанной плазмой, спектрофотометрию, люминесценцию в различных вариантах, электрохимическое детектирование. При осуществлении сорбционного разделения и концентрирования в качестве сорбентов используют ионообменники, хелатообразующие сорбенты и силикагели, содержащие группы C_{18} .

Для решения многих проблем, связанных с определением следов ионов металлов в различных объектах, идеальным оказалось сочетание твердофазной экстракции и атомно-абсорбционного определения с электротермической атомизацией. Для этого в потокораспределительную систему включают сорбционные микроколонки (часто конической формы), заполненные силикагелем, содержащим группы C_{18} . К анализируемой пробе добавляют комплексообразующий реагент, например диэтилдитиокарбаминат натрия, после чего образовавшиеся диэтилдитиокарбаминаты определяемых ионов металлов удерживаются на колонке, заполненной силикагелем. Этот процесс часто называют твердофазной экстракцией. Затем сорбированные комплексы элюируют малым количеством (40 — 70 мкл) этанола, далее они поступают в графитовую кювету атомно-абсорбционного спектрометра и регистрируются. Содержание металлов определяют по высоте пиков по заранее построенным градуировочным графикам.

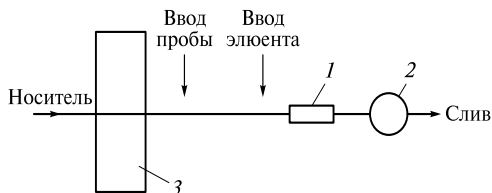


Рис. 16.15. Схема потокораспределительной системы для проточно-инжекционного определения, включающая сорбционное концентрирование:

1 — колонка; 2 — атомно-абсорбционный спектрометр; 3 — насос

Включение сорбционных колонок в потокораспределительные системы позволяет устранить мешающие компоненты. Так, для устранения мешающего влияния ионов меди(II) при атомно-абсорбционном определении селена и мышьяка после генерации их гидридов в потоке в систему включена колонка, заполненная ионообменником (рис. 16.16).

Для on-line сорбционного разделения органических кислот и сахаров используют анионообменные сорбционные диски (диаметр 16 мм, толщина 3 мм), содержащие четвертичные аминогруппы. После инъекции образец, содержащий лимонную, малеиновую и винную кислоты, а также глюкозу, фруктозу и сахарозу, проходит через сорбционный картридж. Органические кислоты сорбируют, а сахара детектируют. Затем в систему инжектируют элюент — буферный раствор pH 8,5, органические кислоты элюируют и детектируют. Коэффициент концентрирования органических кислот в зависимости от объема инжектируемой пробы составляет 6—20. Специальное программное обеспечение позволяет проводить анализ сложных смесей. Воспроизводимость определений составляет 0,04—0,05 (рис. 16.17).

Для определения анионов, органических соединений и солей металлов атомно-абсорбционное детектирование используют в сочетании с проведением в потоке реакций осаждения (соосаждения). В качестве примера рассмотрим потоко-распределительную систему для определения хлорид- и иодид-ионов. Галогенид-ионы осаждают путем добавления ионов серебра(I). Осадки собирают на фильтре, при этом регистрирует отрицательный пик, образовавшийся в результате уменьшения концентрации ионов серебра(I), отвечающий общему содержанию галогенидов. Затем хлорид серебра(I) селективно растворяют в растворе аммиака. Детектор при этом регистрирует положительный пик, высота которого пропорциональна содержанию хлорид-ионов. Концентрацию анионов определяют по высоте пиков по заранее построенным градуировочным графикам. Рассмотренная потоко-распределительная система демонстрирует возможность одновременного определения двух компонентов в одной пробе.

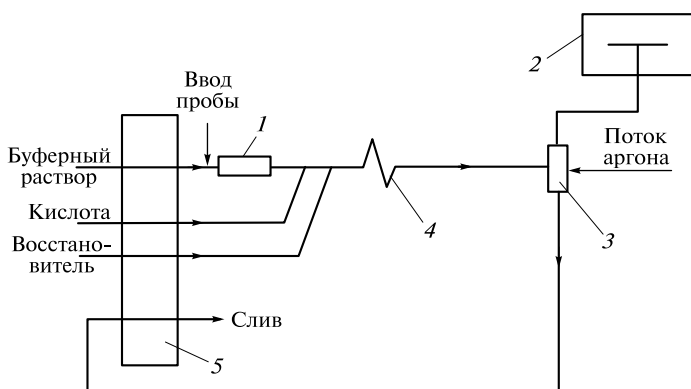


Рис. 16.16. Схема потоко-распределительной системы для проточно-инжекционного определения селена и мышьяка, включающая генерацию гидридов и сорбционное отделение мешающих ионов металлов:

1 — колонка; 2 — атомно-абсорбционный спектрометр; 3 — мембранный сепаратор; 4 — смесительная спираль; 5 — насос

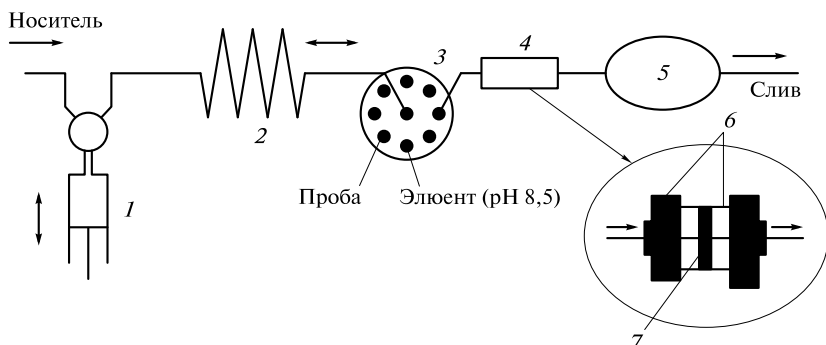
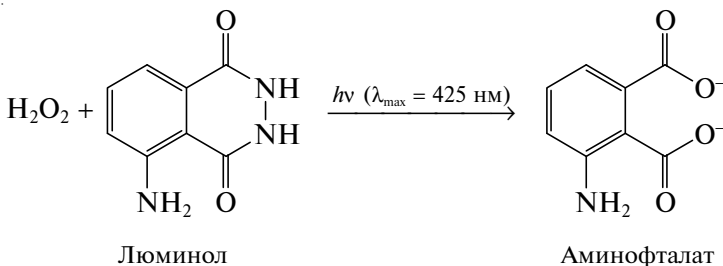
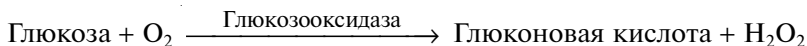


Рис. 16.17. Схема потокораспределительной системы для последовательного инъекционного определения органических кислот (лимонной, малеиновой, винной) и сахаров (глюкозы, фруктозы и сахарозы) в сухих соках, включающей on-line сорбционное концентрирование и ИК-спектроскопическое детектирование с преобразованием Фурье:

1 — шприцевой насос; 2 — удерживающая спираль; 3 — многоходовой кран; 4 — сорбционный картридж; 5 — ИК- спектрометр с преобразованием Фурье; 6 — уплотняющие прокладки; 7 — сорбционный диск

При анализе биологических объектов и фармацевтических препаратов в потокораспределительные системы часто включают ферментные и иммунологические реакторы. Ферментные реакторы содержат иммобилизованные ферменты. Иммунологические реакторы предназначены для детектирования реакций, основанных на взаимодействии антиген — антитело. Ферментные и иммунологические реакторы с успехом применяют при решении задач в сочетании с различными оптическими и электрохимическими детекторами. Рассмотрим схему потокораспределительной системы для проточно-инжекционного определения глюкозы (рис. 16.18). Система включает ферментный реактор, содержащий иммобилизованную глюкозооксидазу. Заметим, что применение в потоке оксидаз обуславливает возможность использования хемилюминесцентного детектирования. Дело в том, что при использовании этих ферментов продуктом реакции является пероксид водорода H_2O_2 , вступающий в реакцию с люминолом, сопровождающуюся возникновением люминесцентного излучения:



Для анализа биологических образцов предложены потокораспределительные системы, включающие несколько ферментных реакторов. На рис. 16.19 приведена схема системы для амперометрического определения галактозы в биологичес-

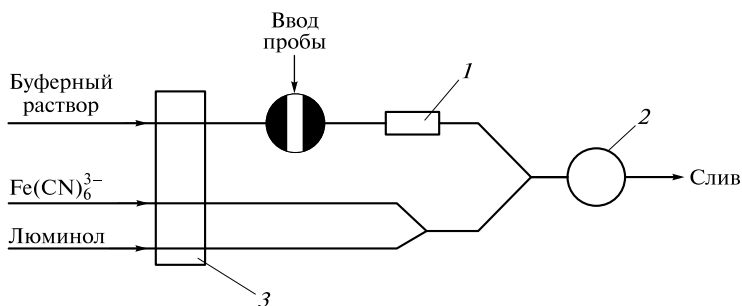


Рис. 16.18. Схема потокораспределительной системы для проточно-инжекционного определения глюкозы:

1 — ферментный реактор; 2 — флуоресцентный детектор; 3 — насос

ких жидкостях. Система включает диализатор, окислительно-восстановительный реактор для устранения мешающего влияния аскорбиновой кислоты и два ферментных реактора (первый содержит иммобилизованную галактозооксидазу, второй — иммобилизованную пероксидазу).

В проточных методах для амперометрического детектирования глюкозы, этанола, аминокислот и других соединений используют модифицированные ферментами электроды, в том числе угольно-пастовые. Предложена система для последовательного инъекционного стереоспецифичного определения биохимически активного соединения 5-каптоприла в фармацевтических препаратах. После заполнения потокораспределительной системы носителем в нее последовательно инжестируют фосфатный буферный раствор и анализируемый образец. Зоны проходят удерживающую спираль. После этого направление потока меняют на противоположное, зоны реагентов смешивают в реакционной спирали и направляют в амперометрический детектор, где регистрируют сигнал. Индикаторным электродом служит угольный пастовый электрод, модифицированный ферментом — *L*-аминокислотной оксидазой. Производительность 80 проб в час.

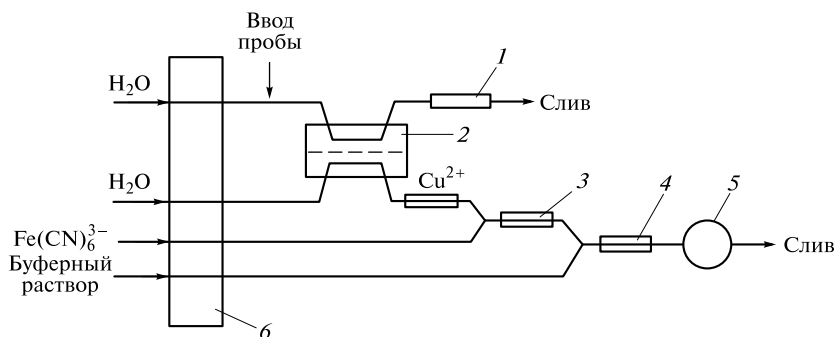


Рис. 16.19. Схема потокораспределительной системы для амперометрического определения галактозы в биологических жидкостях:

1 — резистор; 2 — диализатор; 3 — ферментный реактор, содержащий иммобилизованную галактозооксидазу; 4 — ферментный реактор, содержащий иммобилизованную пероксидазу; 5 — амперометрический детектор; 6 — насос

16.5. Автоматизация контроля технологических процессов

Преимущества автоматизации контроля технологических процессов особенно очевидны. Автоматизация не только повышает производительность труда, но и влияет на качество готовой продукции. Высокая экспрессность автоматизированного анализа позволяет оперативно реагировать на изменение состава сырья или промежуточных продуктов, точнее выдерживать технологический режим, что положительно сказывается и на повышении точности анализа.

В промышленности необходимо следить за параметрами процессов (температурой реакционной смеси, давлением в реакторе, вязкостью и плотностью раствора), а также за изменением химического состава сред в ходе технологического процесса. Организация технологического контроля в первую очередь определяется спецификой и масштабами производства, агрегатным состоянием исходного сырья и технологического продукта.

Обобщая способы организации и выполнения анализов при контроле технологических процессов выделяют анализы «в лаборатории», «на месте», «на линии», «в потоке», а также безконтактный анализ.

При *анализе в лаборатории* из технологического потока периодически отбирают дискретные пробы, которые затем анализируют в лаборатории. Так обычно поступают при запуске нового производства, отладке технологических процессов и проведении испытаний оборудования. Для ускорения проведения анализов часто используют пневматическую почту.

В варианте *анализа на месте* пробу исследуемого образца анализируют непосредственно в производственном помещении, как правило, с использованием достаточно простого оборудования. При этом достигается значительное сокращение времени анализа и повышение оперативности принятия решений.

При проведении *анализа на линии* отбор, подготовка и транспортировка проб к анализатору осуществляются автоматически. Анализ «на линии» проводят в дискретном или непрерывном режиме. В *дискретном режиме* с заданной частотой отбирают и анализируют образцы из технологического потока, в *непрерывном режиме* — часть технологического потока автоматически анализируют. Чаще всего используют хроматографические и проточные методы анализа.

Осуществление *анализа в потоке* предполагает введение специального зонда непосредственно в технологический поток; этот зонд непрерывно измеряет тот или иной параметр в автоматическом режиме. Как правило, в качестве зондов используют химические сенсоры. Главное требование к химическим сенсорам состоит в стабильности их работы во времени. Классические примеры практической реализации этого подхода — определение pH, содержания растворенного кислорода, биомассы.

При *безконтактном контроле* отсутствует соприкосновение измерительного прибора с технологическим потоком. Для этого используют различные варианты ИК-спектроскопии и рентгенофлуоресцентной спектроскопии, ультразвуковые воздействия, токи высокой частоты.

Разнообразные схемы технологического контроля базируются на использовании различных методов и подходов химического анализа. При выборе методов контроля и соответствующего оборудования учитывают экспрессность, просто-

ту, надежность в эксплуатации, возможность осуществления анализа силами производственного персонала.

Приведенным выше требованиям вполне удовлетворяют различные варианты спектроскопических, электрохимических и хроматографических методов анализа, что и определяет их широкое практическое использование. Бесспорны преимущества использования автоматизированных проточных методов анализа. Приведем краткий обзор вариантов использования различных методов химического анализа в технологическом контроле.

Спектроскопические методы используют очень широко. Это — спектрофотометрия в УФ и видимой области, ИК-спектроскопия, рефрактометрия, рентгенофлуоресцентный анализ, различные эмиссионные методы. В качестве примера рассмотрим применение многоканальных оптических и рентгеновских квантометров как основу функционирования *автоматизированной системы аналитического контроля* (АСАК) в черной и цветной металлургии. Качество металлургической продукции в значительной степени зависит от состава шихты, который при необходимости следует очень быстро корректировать в процессе плавки. В варианте анализа «в лаборатории» поступают следующим образом: в цехе отбирают представительную пробу, высверливая или выпиливая частицы образца в разных участках слитка; пневматической почтой образцы отправляют в лабораторию, где их анализируют с помощью рентгенофлуоресцентного или атомно-эмиссионного спектрального анализа; полученные результаты обрабатывают с помощью компьютера; полученная информация поступает в цех, где при необходимости и корректируют состав шихты.

Электрохимические методы в технологическом контроле представлены, главным образом, электрохимическими сенсорами: ионселективными электродами, амперометрическими и кулонометрическими датчиками. Так, состав воздуха в шахтах контролируют с помощью газоанализаторов (наиболее важно определять содержание метана, которое служит индикатором взрывоопасности). Существуют газоанализаторы для определения O_2 , H_2 , CO и др.

Хроматографические методы широко используют в технологическом контроле. Среди всех аналитических приборов, применяемых в технологическом контроле, доля хроматографов составляет около 20 %. В промышленности хроматографы служат анализаторами, автоматически получающими и интерпретирующими данные. Обычно анализаторы включают и в общую управляющую систему производства; при этом автоматизируют уже не только анализ, но и принятие решений. Головной компьютер, получив данные анализа и отметив выход того или иного параметра состава за регламентированные границы, способен предпринять корректирующие действия. Такого рода системы, базирующиеся в значительной мере именно на использовании газовых хроматографов, широко применяют на предприятиях нефтепереработки, синтеза полимеров и т.п. Известны примеры использования в технологическом контроле высокоэффективной жидкостной и ионной хроматографии.

Интересно заметить, что специфика задач промышленного анализа часто отражается и в нестандартных с точки зрения «лабораторного» химика принципах устройства анализаторов. Вряд ли в лабораторных условиях кто-либо определяет концентрацию кислорода в газовых смесях по магнитной восприимчивости или содержание воды в нефтяной суспензии по диэлектрической проницаемости. В промышленности же эти методы успешно используют.

Для контроля производственных процессов все чаще применяют методы автоматизированного проточного анализа. Преимущества такого подхода следующие: высокая производительность, возможность легко переходить от одного типа анализа к другому, автоматизация операций пробоподготовки и измерения аналитического сигнала. Проточные методы анализа оказались очень эффективными и экономичными приемами автоматизации разнообразных химических процессов и могут быть использованы в вариантах контроля «в лаборатории», «на линии» и отчасти «в потоке» для биотехнологических процессов и процессов химического синтеза, при переработке отработанного ядерного топлива, для оценки качества очистки вод, при изготовлении продуктов питания и фармацевтических препаратов. Приведем лишь два примера. На водопроводных станциях в резервуарах питьевой воды устанавливают системы для регистрации в режиме «на линии» температуры воды, ее мутности, pH и остаточной концентрации алюминия (соединения алюминия являются традиционными реагентами водоподготовки). В современных паровых котельных используют системы для определения в режиме «на линии» следующих показателей: pH, жесткости и растворенного кислорода. В котельных установках предусмотрена встроенная защита, автоматически срабатывающая при выходе значений указанных компонентов за допустимые пределы.

16.6. Компьютеризация анализа

16.6.1. Общие замечания

Первоначально компьютеры рассматривали как «большие арифмометры». В соответствии с этим представлением их использовали прежде всего для автоматизации научно-технических расчетов. Очевидная выгода заключалась в повышении надежности вычислений и снижении затрат времени. В аналитической химии это означало перенесение на компьютер многочисленных «ручных» алгоритмов, связанных в первую очередь с различными графическими приемами и статистической обработкой результатов, а также с традиционно важным для неорганического анализа расчетом равновесий. Соответствующие программы составлялись нередко в машинных кодах. Характерной их чертой было отсутствие универсальности — преобладала ориентация на конкретный тип техники и конкретную задачу исследователя.

В настоящее время ситуация существенно изменилась. Создание алгоритмических языков высокого уровня стимулировало появление универсальных программ, пригодных для компьютеров разных типов. Математические задачи аналитической химии стали осмысливать в общем контексте прикладной математики. Алгоритмы и даже программы, разработанные для нужд других отраслей науки и техники, активно переносят на химико-аналитическую проблематику. Так, хорошо известный симплекс-алгоритм поиска экстремума сложной функции ныне широко применяют для оптимизации аналитических методик.

Кардинальным образом изменились и представления о возможностях компьютера, причем не только в связи с успехами микроэлектроники. Стало ясно, что компьютеры пригодны для переработки и хранения информации в самом широком смысле этих слов, а не только для арифметических операций с действитель-

ными числами. Особую роль сыграло распространение Интернета, по существу превратившегося в распределенную среду хранения/поиска данных, а в последнее время — и их обработки.

Устоялось представление о *хеометрике* — химической дисциплине, использующей математические и статистические методы для разработки или выбора оптимальных схем эксперимента и аналитического измерения, а также для получения максимального количества информации из химических данных. Под это определение (конечно, намеренно широкое) подпадают и многие классические вопросы аналитической химии, например метрология и расчеты равновесий.

16.6.2. Управление аналитическим прибором и сбор данных

Любая аналитическая методика — это, по существу, программа действий. Частично эти действия должен выполнить человек, частично — аналитический прибор. По мере развития инструментального анализа все больше и больше человеческих функций передается прибору.

Так, раньше для записи спектра поглощения на нерегистрирующем спектрофотометре оператор должен был вручную изменять длину волны, вращая барабан, механически связанный с системой движения призмы или дифракционной решетки монохроматора. Ту же операцию развертки спектра быстрее и надежнее выполняет простейший сервомеханизм. Необходимую для работы сервомеханизма программу — последовательность команд включения и выключения — помещают в память компьютера. Если аналитический прибор не очень сложен, бывает выгоднее использовать микропроцессор с «защитой» программой. В общем же случае для управления аналитическим прибором применяют универсальные (т. е. привычные нам) компьютеры. Тот же компьютер служит и для проведения операций с данными аналитического измерения (масштабирование, логарифмирование, дифференцирование и т. п.).

Стыковка с компьютером, конечно, осуществима, даже если она не предусмотрена конструкцией прибора. Непрерывный выходной сигнал измерительного блока (аналоговый сигнал) следует для этого преобразовать в дискретный цифровой код, отображающий значения сигнала через заданные промежутки времени. Реализующее эту процедуру устройство называют аналого-цифровым преобразователем (АЦП); обратное действие выполняет цифроаналоговый преобразователь (ЦАП). Полученный с помощью АЦП код уже можно передать компьютеру. Разумеется, необходимо согласовать число значащих цифр, генерируемых АЦП, с числом разрядов в машинном слове, синхронизировать передачу и прием данных, предусмотреть контроль ошибок и т. п. Существует несколько стандартизованных соглашений о правилах обмена данными, протоколов (из них до сих пор наиболее распространен интерфейс связи через последовательный порт RS-232).

Компьютер можно связать с несколькими приборами, что дает возможность сбора и хранения всех аналитических результатов данной лаборатории, а при необходимости — их совместной интерпретации. Для этого служат так называемые лабораторные информационные системы LIMS. При наличии соответствующих устройств (пробоотборников, коллекторов фракций, систем транспортировки) возможно и автоматическое управление аналитическим циклом, включающим различные инструментальные методы.

16.6.3. Первичная обработка данных

Представленную в цифровом виде аналитическую информацию, как правило, подвергают предварительной обработке и преобразованиям. Цель заключается в том, чтобы снизить влияние помех и перевести данные в наиболее удобную для последующей интерпретации форму. Под *помехами* в широком смысле понимают как аппаратные погрешности, обусловленные ограниченной точностью прибора (например, разрешением спектрометра), возможными сбоями механических частей, электронных схем и линий связи, так и погрешности, связанные с природой исследуемого объекта, прежде всего с присутствием мешающих определению веществ. Конечно, в каждом методе анализа существуют специфические источники погрешностей и специально разработанные способы преобразования информации. Тем не менее имеются и общие подходы, которые мы кратко рассмотрим.

Прежде всего следует упомянуть многочисленные алгоритмы статистического анализа, предназначенные для усреднения результата анализа, оценки дисперсии, устранения выбросов и т.д. Они хорошо известны и часто входят в стандартное математическое обеспечение.

Более ощутимы преимущества использования компьютера в том случае, если первичной аналитической информацией является зависимость сигнала от некоторой переменной; например, зависимость поглощения или испускания от энергии поглощаемого или возбуждающего излучения в различных видах спектрометрии, интенсивности сигнала от времени в хроматографии и проточно-инжекционном анализе и т.п.

Общая задача состоит в *сглаживании* криволинейного контура, устранении случайного шума. Простейший подход к ее решению заключается в накоплении и усреднении сигнала по всем точкам зависимости. Ценность компьютера в этом случае связана с возможностью хранения большого объема информации. При некоторых предположениях относительно характера распределения шума накопление и усреднение увеличивают отношение сигнал : шум в \sqrt{N} раз, где N — число повторных сканирований. Наиболее широко этот подход используют в ЯМР-спектроскопии. Заметим, что хранение спектров или временных зависимостей в памяти ЭВМ позволяет также легко проводить сравнение и вычитание зависимостей; это широко применяют, например, для устранения сигнала компонента, заведомо «загрязняющего» анализируемый образец.

Часто, однако, накопление кривых изменения сигнала требует слишком большого времени. Эффективными оказываются специальные методы цифрового сглаживания, оперирующие с кривой, зарегистрированной несколько раз или однократно. Наиболее известным среди них является метод наименьших квадратов (МНК), предложенный еще на рубеже XVIII — XIX вв. К. Гауссом и А. Лежандром.

Метод позволяет построить по экспериментальным точкам кривую заданного вида так, чтобы расчетные точки были максимально близки к экспериментальным. Мерой близости служит нормированная сумма квадратов поточечных отклонений, а сама процедура МНК сводится к подбору значений коэффициентов заданной функции, минимизирующих эту сумму. Если коэффициенты (параметры) входят в аппроксимирующую функцию линейно (прямая линия, сумма полиномов и т.п.), говорят о линейном МНК, иначе — о нелинейном (гауссов или ло-

ренцев контур, гамма-функция и др.). Последний в вычислительном отношении сложнее.

Часто ошибочно полагают, что линейный МНК означает линейность по переменным и подразумевает аппроксимацию прямой (одна переменная) или гиперплоскостью (несколько переменных). Еще раз подчеркнем, что имеется в виду линейность по параметрам и, например, полиномиальная аппроксимация

$$y_1 = b_0 + b_1x + b_2x^2 + b_3x^3 + \dots + b_mx^m$$

относится к линейному варианту метода.

Сглаживание с помощью МНК нередко используют в аналитических задачах, но применение этого метода связано с существенными ограничениями. Одно из них — нужно знать аналитический вид функции, описывающей изменение сигнала. Далеко не всегда он известен. Кроме того, нелинейный МНК может требовать значительных временных затрат и осложняться корреляцией параметров, приводящей к неоднозначности решения и вычислительным проблемам. Эти трудности особенно существенны при обработке кривой сложной формы. В этом случае можно прибегнуть к цифровой фильтрации шума.

Часто используют сглаживающий полиномиальный фильтр Савицкого—Голея. Идея метода такова. Выбирают несколько соседних экспериментальных точек («окно»), и в пределах «окна» аппроксимируют данные полиномом заданной степени при помощи МНК. После этого центральную точку в «окне» заменяют соответствующей точкой аппроксимирующего полинома, а остальные оставляют без изменения. Затем «окно» сдвигают на одну точку и процедуру повторяют. Такая «скользящая» локальная аппроксимация продолжается, пока не будет пройдена вся кривая (рис. 16.20). Метод хорошо разработан и многократно проверен. В случае равноотстоящих точек даже не требуется обычных в полиномиальном МНК вычислений; решение доведено до простых формул с табулированными коэффициентами.



Рис. 16.20. Сглаживание спектральных линий при помощи фильтра Савицкого—Голея:

a — исходные данные; *б* — сглаживание при числе точек в «окне» $L = 5$; *в* — при $L = 9$; *г* — тройное сглаживание при $L = 9$

Еще одна типичная задача, примыкающая к сглаживанию, — *интерполяция* — проведение кривой через точки, зарегистрированные при недостаточном разрешении. Экспериментальные значения при этом (в отличие от МНК) считают измеренными точно, и проблема состоит в разумном восстановлении вида зависимости между заданными точками. В последнее время ее обычно решают при помощи кусочно-непрерывной *сплайн-интерполяции*.

Для сплайн-интерполяции экспериментальную зависимость разбивают на интервалы и описывают внутри каждого из них кубической параболой. Набор коэффициентов кубической параболы для каждого интервала подбирают так, чтобы была достигнута наибольшая суммарная «гладкость» (наименьшая суммарная кривизна) всей кривой, а в точках соединения интервалов отсутствовали скачки.

Среди приемов первичной обработки данных следует также отметить *фурье-преобразование*. В ряде методов анализа (импульсная ЯМР- и ИК-спектроскопия) фурье-преобразование имеет самостоятельное важнейшее значение, обеспечивая преобразование временной зависимости сигнала, возбужденного импульсом полихроматического излучения, в частотную, т.е. получение спектра. Эта процедура реализуется на ЭВМ, без которой функционирование фурье-спектрометра невозможно, обычно при помощи так называемого алгоритма быстрого фурье-преобразования Кули — Тьюки. (Пример использования фурье-преобразования дан при изложении метода ИК-спектроскопии.) В то же время фурье-преобразование можно рассматривать и как общий математический прием аппроксимации сложной кривой тригонометрическим рядом, суммой функций (гармоник) с различным периодом (частотой).

Еще одна важная операция первичного преобразования данных — *цифровое дифференцирование*. Особенно часто к ней прибегают в спектроскопии для улучшения разрешения. Известно, что интенсивность производной n -го порядка полосы шириной σ пропорциональна $1/\sigma^n$, т.е. при дифференцировании узкие контуры обостряются, а широкие подавляются. В результате проявляется скрытая структура спектра, и становится возможной идентификация компонентов, контур которых был замаскирован из-за присутствия мешающих веществ. Поскольку дифференцирование сохраняет линейную связь сигнала с концентрацией, производные различного порядка можно использовать и для количественного анализа. Такие примеры многочисленны в спектрофотометрии.

Для цифрового дифференцирования, как правило, прибегают к аппроксимации исходной экспериментальной кривой: значение производных обычно легко найти по аппроксимирующему профилю с помощью аналитических формул. Кроме того, положительно сказывается сглаживание при аппроксимации. Те же алгоритмы, что используют в аппроксимации (фильтр Савицкого — Голея, фурье-преобразование и сплайн-интерполяция), являются основными и при дифференцировании.

Практикуется и иной подход к задаче идентификации и количественного определения компонента, контур (спектральный, хроматографический или какой-либо другой) которого искажен или замаскирован вследствие перекрывания соседними полосами. Он заключается в разложении составного пика на компоненты, обычно при помощи МНК. В данном случае важно не столько устранение шума, сколько выделение индивидуальных составляющих. Разумеется, должен быть известен математический вид соответствующих аппроксимирующих функций; обычно он таков (например, гауссов), что приходится обращаться к нели-

нейному МНК. Связанные с этим проблемы отмечались ранее. Они препятствуют массовому применению данного подхода в практике анализа, хотя имеется множество превосходных теоретических работ и удачных примеров (зачастую проще и надежнее химическим путем удалить мешающие вещества, чем разложить сложную полосу на составляющие).

16.6.4. Интерпретация данных

16.6.4.1. Математическое моделирование аналитического процесса

Освобожденные от помех и переведенные в удобную форму аналитические данные нужно интерпретировать, т. е. сделать выводы о качественном и количественном составе пробы и, возможно, принять решения о характеристиках исходного объекта анализа. Эти действия подразумевают наличие информации, с одной стороны, о существе и особенностях использованного метода (и методики) анализа, а с другой — о природе анализируемого объекта. Иными словами, речь идет о построении и исследовании моделей процесса и объекта анализа. Поскольку эти модели сформулированы на языке математики, для обращения с ними широко применяют компьютеры. Математические приемы и вычислительные алгоритмы при этом во многом одинаковы, но мы рассмотрим две названные области по отдельности.

Наиболее привычный тип моделей аналитического процесса — это математическая зависимость концентрации вещества от аналитического сигнала (или сигнала от концентрации). Обычно это довольно простые формулы эмпирического происхождения, а в «устоявшихся» аналитических методах и теоретически обоснованные; например, закон Бугера — Ламберта — Бера в спектрофотометрии, уравнение Ильковича в полярографии и т. п. Применение их для интерпретации данных количественного анализа не вызывает затруднений и сводится просто к параметризации модели, т. е. построению градуировочных графиков (если не говорить об абсолютных методах анализа).

Поскольку измерения осложнены случайным шумом, параметризацию обычно проводят с помощью МНК. Соответствующие выкладки для случая линейного графика весьма просты, и на большинстве ЭВМ, а также на некоторых микрокалькуляторах реализуются посредством стандартных программ. Отметим важный модифицированный вариант, так называемый взвешенный МНК. Каждой экспериментальной точке в этом случае приписывают некоторый статистический вес, обычно обратно пропорциональный дисперсии измерения. При проведении искомой линии регрессии вес данной точки используется как мера ее надежности.

Рассмотрим подробнее общий случай множественной линейной регрессии. Пусть имеется m независимых и p зависимых переменных (откликов); обычно $p = 1$, но мы рассмотрим общий случай, который вполне поддается анализу с помощью МНК. Переменные связаны p уравнениями:

$$\begin{aligned} y_1 &= b_{11}x_1 + b_{21}x_2 + \dots + b_{m1}x_m, \\ &\dots \\ y_p &= b_{1p}x_1 + b_{2p}x_2 + \dots + b_{mp}x_m. \end{aligned}$$

Пусть измерения проведены в n точках, т.е. в каждой точке i ($i = 1, \dots, n$) зарегистрированы значения y_{1i}, \dots, y_{pi} и x_{1i}, \dots, x_{mi} (векторы-строки). Составим из этих строк матрицы \mathbf{Y} ($n \times p$ — n строк, p столбцов) и \mathbf{X} ($n \times m$). В матричном виде уравнения связи выглядят следующим образом:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{XB},$$

где \mathbf{B} ($m \times p$) — матрица искомых коэффициентов линейной зависимости.

Поскольку точек обычно больше, чем переменных ($n > m$), система линейных уравнений переопределена. Запишем ее в виде

$$\mathbf{Y} = \mathbf{XB} + \mathbf{e},$$

где \mathbf{e} — представляющая случайный шум матрица размером $n \times p$ (матрица остатков).

Задача метода наименьших квадратов сводится к минимизации нормы матрицы \mathbf{e} . Ее решение дает формула

$$\mathbf{B} = (\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}'\mathbf{Y},$$

где штрих обозначает транспонирование.

Таким образом, с вычислительной точки зрения это — стандартная задача обращения матрицы.

Важный частный случай — применение МНК при наличии (линейной) связи между переменными. Очевидно, бессмысленно искать коэффициенты линейной зависимости при двух переменных, если важна только одна. С вычислительной точки зрения это выражается в том, что задача определения избыточного числа параметров становится неустойчивой, причем тем сильнее, чем выраженнее корреляция переменных (термин «неустойчивость» означает, что малое изменение входных данных может вызвать большое изменение в результатах расчета). Как говорят, обращаемая матрица становится плохо обусловленной, или квазивырожденной.

В связи с этим возникает важная (отнюдь не только в контексте применения МНК) задача выделения среди переменных действительно значимых, отбрасывания лишних (производных от основных либо вообще связанных с шумом) переменных. Для этого служат так называемые методы снижения размерности (dimensionality reduction) или методы проектирования (имеется в виду проектирование из пространства большей размерности в пространство меньшей размерности).

Особенно актуальна задача снижения размерности стала в последнее время, с развитием мощных инструментальных методов анализа, выдающих огромное количество данных (достаточно упомянуть хромато-масс-спектрометрию), и в частности, с появлением целых направлений, требующих накопления огромных массивов многомерной аналитической информации (геномика, протеомика, метабомика и т.п.).

Наиболее распространен *анализ главных компонент* (Principal Component Analysis — PCA). Идея метода заключается в переходе от исходных факторов (переменных) к их линейным комбинациям — новым координатным осям. Вся процедура проводится так, чтобы изменчивость, дисперсия данных в новых координатах была не меньше (или почти не меньше), чем в исходных. При этом добиваются минимальной коррелированности новых координат (их ортогонализируют).

ют): все повторяющиеся («тавтологические») исходные факторы «впитываются» той или иной новой координатной осью.

Рассмотрим основы анализа главных компонент.

Имеется матрица \mathbf{X} ($n \times m$), m столбцов которой отвечают переменным, n строк — данным. Требуется преобразовать переменные к сокращенному набору независимых r переменных ($r < m$).

Заметим, что «независимость» можно определить по-разному. Существует три основных варианта, и все они используются в анализе главных компонент.

Первый вариант — «независимость» в смысле линейной алгебры: векторы-столбцы k, j матрицы \mathbf{X} (переменные) $\mathbf{v}_k, \mathbf{v}_j$ считаются независимыми, если выполняется условие ортогональности:

$$\mathbf{v}_k^T \mathbf{v}_j = 0.$$

Второй и третий варианты используют статистические определения. Можно, в частности, считать переменные независимыми, если ковариация соответствующих векторов равна нулю: $\text{cov}(\mathbf{v}_k, \mathbf{v}_j) = 0$; или если равна нулю их корреляция по Пирсону: $\mathbf{r}(\mathbf{v}_k, \mathbf{v}_j) = 0$. По определению ковариации и корреляции второй и третий подходы эквивалентны первому, примененному к преобразованной матрице данных. Нулевая ковариация эквивалентна ортогональности центрированных (для каждого столбца вычли среднее) столбцов данных. Нулевая корреляция эквивалентна ортогональности столбцов, подвергнутых автомасштабированию (вычли среднее и данные нормировали на дисперсию).

Матрицу данных \mathbf{X} преобразуют к ортогональному базису посредством известного в линейной алгебре сингулярного разложения (Singular Value Decomposition — SVD). Математически преобразование записывают так:

$$\mathbf{X} = \mathbf{U} \mathbf{\Lambda} \mathbf{V}^T,$$

где $\mathbf{U}^T \mathbf{U} = \mathbf{V}^T \mathbf{V} = \mathbf{I}_n$ (\mathbf{U} ($n \times m$), \mathbf{V} ($m \times m$) — ортогональные вещественные матрицы); $\mathbf{\Lambda} = \text{diag}(\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_m)$ — диагональная матрица сингулярных чисел.

Без потери общности можно считать, что сингулярные числа отсортированы по убыванию (а столбцы \mathbf{V} , \mathbf{U} соответствующим образом переупорядочены). Столбцы матрицы \mathbf{V} — правые сингулярные вектора \mathbf{v}_k — образуют искомый ортогональный базис *главных компонент*. Каждый k -й столбец матрицы \mathbf{V} называют *вектором нагрузок* (loading); его элементы — коэффициенты линейного разложения k -го нового базисного вектора по m старым переменным. Саму матрицу \mathbf{V} называют *матрицей нагрузок*. Квадрат каждого k -го сингулярного числа λ_k численно равен вкладу k -го главного компонента $s_k^2 = \mathbf{v}_k^T \mathbf{v}_k$ в общую дисперсию исходных данных ($s^2 = \mathbf{X}'\mathbf{X}$). Иными словами:

$$s^2 = \sum_k \lambda_k^2 = \sum_k s_k^2 = \sum_k \mathbf{v}_k^T \mathbf{v}_k = \mathbf{V}^T \mathbf{V}.$$

Заметим, что математически сингулярное разложение матрицы \mathbf{X} эквивалентно спектральному разложению (разложению по собственным векторам) матричного квадрата $\mathbf{X}'\mathbf{X}$. Собственные вектора $\mathbf{X}'\mathbf{X}$ эквивалентны правым сингулярным векторам \mathbf{X} , а собственные числа $\mathbf{X}'\mathbf{X}$ — квадратам сингулярных чисел \mathbf{X} .

Исторически анализ главных компонент формулировался при помощи спектрального разложения, так что соответствующие термины по-прежнему используются. Однако технически сингулярное разложение используют чаще.

В соответствии с тремя упомянутыми вариантами определения независимости переменных возникает три варианта анализа главных компонент. Первый вариант сводится к сингулярному разложению непреобразованной матрицы исходных данных \mathbf{X} (т.е. к диагонализации $\mathbf{X}'\mathbf{X}$); второй вариант — диагонализация ковариационной матрицы (т.е. сингулярное разложение \mathbf{X} после предварительного преобразования центрирования столбцов); третий — нулевая диагонализация корреляционной матрицы или сингулярное разложение \mathbf{X} после предварительного преобразования автомасштабирования столбцов.

Каким же образом описанные преобразования приводят к сокращению размерности? Дело в том, что в новом базисном наборе некоторые векторы (переменные) могут оказаться незначимыми, т.е. отвечающими нулевым собственным числам.

Действительно, *нулевое собственное число* означает нулевой вклад переменной в общую изменчивость данных, а такие переменные можно отбросить. Разумеется, на практике вместо «нулевой» следует говорить «практически нулевой» и использовать тот или иной эвристический критерий отбрасывания векторов, соответствующих наименьшим собственным числам. Распространенный вариант, например, — сохранять только те компоненты, которые в сумме объясняют 95 % (или 90 %, или 99 %) изменчивости исходных данных. Другой вариант — построить график зависимости суммарной, накопленной дисперсии от числа компонентов и отбросить те, добавление которых дает малый вклад в объяснение изменчивости (на графике наблюдается излом).

После того как анализ главных компонент выполнен, можно рассчитать значения новых факторов-переменных для каждой точки данных (scores; устоявшегося русского перевода нет, иногда говорят «счета»). В соответствующей матрице данных \mathbf{T} ($n \times r$) уже меньше столбцов, чем в исходной, и эти столбцы взаимно независимы.

Отметим, что с анализом главных компонент тесно связан факторный анализ. Его цель — также выделение сокращенного набора признаков, линейно связанного с исходным. Иногда термины вообще не различают. Имеется, однако, некоторая разница в постановке задачи и технике расчетов, в частности факторный анализ как метод менее строг, чем анализ главных компонент. Так, в нем сокращенный набор признаков может не быть ортогональным: считают, что более важно выявить скрытые, «латентные» переменные, не обязательно полностью независимые.

Вернемся к методу наименьших квадратов. После применения анализа главных компонент нетрудно применить стандартный аппарат МНК. Такой подход составляет суть так называемых *метода регрессии на главных компонентах* (Principal Component Regression — PCR) и *блочного метода наименьших квадратов* (его также называют *методом проекции на латентные структуры*; Partial Least Square/Projection to Latent Structures — PLS). В первом случае исходную систему записывают с новыми переменными:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{T}\mathbf{B} + \mathbf{e},$$

решение которой

$$\mathbf{B} = (\mathbf{T}'\mathbf{T}^{-1})\mathbf{T}'\mathbf{Y}$$

уже не представляет трудностей, поскольку столбцы матрицы \mathbf{T} ортогональны.

Очень популярный метод PLS отличается от регрессии на главных компонентах тем, что преобразование координат проводят не только для переменных X , но и для откликов Y , причем два процесса проводят «вперемешку». В результате осуществляется переход к таким переменным, которые не только некоррелированы между собой, но и максимально коррелированы с откликами.

Метод PCR математически более строг, чем метод PLS (последний вообще сначала возник как алгоритм, а не как математическая схема). В хемометрике, однако, метод PLS сейчас применяют чаще. Заметим, что известен так называемый *метод непрерывной регрессии* (continuous regression), частными случаями которого являются и метод PCR, и метод PLS. К этой же группе методов принадлежит хорошо известная в статистике *гребневая регрессия* (ridge regression). Все эти методы отличаются от классического МНК большей устойчивостью, но при этом в отличие от него не гарантируют статистически несмещенную оценку параметров.

Аналитики по традиции избегают нелинейных градуировочных графиков, но при использовании компьютера они не столь нежелательны. Часто применяют аппроксимацию полиномом невысокой степени; с вычислительной точки зрения это задача линейного МНК, решаемая быстро и надежно. Из различных методов анализа такие градуировочные характеристики относительно более распространены в атомно-абсорбционной спектроскопии.

Несколько другая ситуация с построением нелинейных (по параметрам) моделей. Здесь в общем случае также можно полагаться на метод наименьших квадратов, однако вычисления становятся заметно сложнее, получить статистические оценки качества аппроксимации труднее. В ряде случаев не ясно, какими базисными функциями следует воспользоваться. Иногда выбор подсказывает задача, но зачастую следуют и совершенно формальным путем, выбирая из ограниченного набора более или менее подходящих функций (гауссова функция, тригонометрические функции и т. п.).

Довольно популярный вариант — использование так называемых нейронных сетей. По существу, это — вариант нелинейного МНК с аппроксимирующими функциями специального вида (обычно сигмоидными, S-образными; иногда гауссовыми). Ряд специалистов считают, что нейронные сети подходят для аппроксимации самых разнообразных кривых сложной формы. В этой области своя, очень своеобразная терминология — «нейроны», «передаточные функции», «тренировка сети», «обучение с обратным распространением ошибки» и т. п. Однако анализ математических формул и алгоритмов показывает, что в большинстве случаев речь идет о варианте нелинейного МНК.

Основная проблема применения нейронных сетей — и вообще формального подхода — состоит в том, что нередко удается получить хорошую аппроксимацию исходных данных, но утрачивается способность к экстраполяции, предсказанию сигнала за пределами «обучающего» градуировочного набора данных (говорят, что имеет место чрезмерная подгонка — overfitting). Для построения градуировочных зависимостей это не так страшно: они и не предназначены для использования за пределами исходного набора данных. Однако часто ту же формальную технику применяют для построения моделей, ориентированных на предсказания (см. ниже), что меняет дело. Существуют приемы контроля качества модели, ее способности к прогнозу, но общая проблема остается.

Рассмотрим теперь модели анализа, связывающие качество, природу вещества с характеристиками сигнала (проблема относительно проста лишь для неоргани-

ческого анализа). Как правило, состав и строение вещества очень сложным образом связаны с его инфракрасными, ультрафиолетовыми, магнитно-резонансными или масс-спектрами; непроста эта связь и в хроматографии. А именно эти методы наиболее широко применяют для идентификации органических, в том числе природных, соединений. Соответствующие модели делят на два класса — детерминистские и эмпирические.

Основу *детерминистских моделей* составляет физическое описание процессов, лежащих в основе метода анализа. Обычно такие теоретические разделы хорошо развиты (хотя по традиции их не относят к аналитической химии) и позволяют расчетным путем решать так называемую *прямую задачу* — предсказывать вид аналитического сигнала для вещества заданного состава и строения. Таковы нормально-координатный анализ, позволяющий рассчитывать инфракрасные спектры, квантово-химические расчеты с учетом конфигурационного взаимодействия для предсказания электронных спектров поглощения, вычисления, основанные на интегрировании систем дифференциальных уравнений для предсказания профилей элюирования в различных видах хроматографии.

К сожалению, для таких расчетов даже на современных ЭВМ нередко требуется длительное время. Самое же важное — для интерпретации аналитических данных требуется решать *обратные задачи*, т.е. по спектру или хроматограмме судить о составе и строении вещества. Эти задачи гораздо сложнее прямых, почти всегда относятся к классу некорректных (т.е. не имеющих устойчивого однозначного решения) и часто сводятся к опробованию большого числа вариантов, каждый из которых в свою очередь требует решения прямой задачи.

Эмпирические модели базируются на установленных опытным путем связях между природой вещества и идентифицирующими его признаками. Связи могут быть сформулированы однозначно или с некоторой мерой неопределенности. В качестве примера приведем спектроструктурные корреляции «функциональная группа — полоса в спектре», известные в ИК-спектроскопии; аналогичные по сути связи между типами атомов и их химическим окружением, с одной стороны, и химическим сдвигом и мультиплетностью сигнала в спектре ЯМР — с другой; правила фрагментации различных структурных единиц в масс-спектроскопии.

Простейшим примером служит набор однозначно установленных соответствий «вещество — спектр», являющийся основой компьютерных *информационно-поисковых систем* (ИПС). При такой модели задача идентификации индивидуального соединения сводится к просмотру, точнее — к поиску спектра в банке данных; последний обычно содержится во внешней памяти ЭВМ на магнитных дисках. Такие банки данных емкостью в десятки и сотни тысяч веществ хорошо известны в ИК- и масс-спектрометрии. Еще в 1980-е гг. мощная информационно-поисковая система для ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии была разработана в Сибирском отделении Академии наук СССР (г. Новосибирск). Специалисты по масс-спектрометрии хорошо знают базу данных Национального института стандартов США (NIST Mass Spectral Library). Заметим, что алгоритмы поиска информации в базах данных составляют самостоятельный раздел компьютерной науки и довольно непросты; однако сегодня они хорошо развиты, а мощные ИПС входят в качестве составной части в программное обеспечение современных аналитических приборов (например, хромато-масс-спектрометров).

Применение ИПС, однако, ограничивается рядом факторов. Во-первых, оно имеет смысл лишь по отношению к уже известным веществам, да и то не ко всем.

Во-вторых, создание и пополнение банка данных — нелегкое дело, осложняющееся необходимостью использования стандартных условий аналитического измерения. Наконец, в-третьих, в большом банке данных поиск может продолжаться довольно долго или давать неоднозначный ответ.

Поэтому нередко прибегают к соотношениям «элемент структуры — аналитические признаки», типа уже упомянутых спектроструктурных корреляций. Так называемые компьютерные *системы искусственного интеллекта* способны, используя соответствующий математический аппарат (булева алгебра, нечеткая логика и т. д.), по наличию в спектре характеристических признаков делать выводы о присутствии в молекулах вещества соответствующих фрагментов и, в конечном счете, о структуре, т. е. идентифицировать вещество. Первыми системами такого рода были система ДЕНДРАЛ, ориентированная на масс-спектрометрию (США, Стенфордский университет), и отечественная система искусственного интеллекта РАСТР, предназначенная для идентификации молекул по данным ИК- и ЯМР-спектроскопии. В настоящее время ряд систем производится и доступен коммерчески. Так, фирма «ACD/Labs» выпускает программное обеспечение для идентификации молекул по спектрам ЯМР — «Structure Elucidator».

Упомянутые системы представляют собой весьма сложные программы, имитирующие образ действий специалиста-химика. Определение строения химического соединения включает, как минимум, три этапа: 1) структурно-групповой анализ, т. е. логическую процедуру поиска молекулярных фрагментов, проявляющихся в спектре; 2) построение возможных структур из отобранных фрагментов при помощи математической теории графов; 3) предсказание спектров найденных кандидатов и выбор наиболее вероятной структуры посредством сравнения предсказания с экспериментом.

Нередко пользуются термином *экспертные системы*, имея в виду системы, обладающие расширенной базой знаний. Такие базы включают наряду с формализованными соотношениями «фрагмент — признак» многочисленные эмпирические правила, касающиеся и спектроскопии, и вообще химической теории (представления о валентности и т. п.). Предполагается, что со временем экспертные системы, оснащенные общехимическими знаниями и правилами рассуждения, принятыми в конкретных методах анализа, существенно потеснят химика-аналитика.

Для построения эмпирической модели связи «структура — сигнал (аналитический признак)» нередко используют упомянутые выше общие методы нелинейной аппроксимации, например, основанные на нейронных сетях. При этом, конечно, нужно охарактеризовать строение молекулы некоторыми числовыми дескрипторами, например, связанными с топологией молекулярного графа или расчетными электронными характеристиками атомов. Далее по широкому набору экспериментальных данных строят общую модель, аппроксимирующую связь «дескрипторы — сигнал» (например, химический сдвиг в спектре ЯМР), которая и используется в дальнейшем.

Естественно, при этом имеет место попытка заменить содержательную физико-химическую теорию формальной процедурой. Такой подход часто вызывает нарекания, но у него есть своя ниша. Шансы на успех тем выше, чем больше данных использовано при построении модели (и чем ближе реальные данные, для которых нужно делать прогноз, к «обучающим») и чем лучше угаданы отражающие специфику задачи дескрипторы.

Задачей идентификации является также отнесение вещества к тому или иному классу. Под *классом* можно понимать совокупность соединений, имеющих некоторую функциональную группу или определенное сочетание фрагментов структуры и т.д. Эта по существу приблизительная, грубая идентификация не столь проста в случае сложных органических соединений, когда используют такие информативные методы, как, например, масс-спектрометрия.

Если разбиение на классы заранее неизвестно, его обычно проводят при помощи *кластерного анализа*. Набор веществ, представленный точками в многомерном пространстве аналитических признаков (признаком может быть, например, поглощение при определенной длине волны или ионный ток при некотором отношении m/z), разбивают путем специального итерационного процесса на кластеры. *Кластеры* объединяют вещества, сходные по аналитическим проявлениям.

Существуют две разновидности кластерного анализа — иерархический и не-иерархический. В случае *неиерархического анализа* число кластеров известно (например, из химических соображений или по постановке задачи), так что требуется лишь оптимальным образом «разбросать» точки между кластерами. Если (в более практически важном случае) число кластеров заранее неизвестно, проводят *иерархический анализ*: точки либо последовательно объединяют во все возрастающие в размере кластеры (агломеративный анализ), либо, начав с одного кластера, поглощающего все точки, последовательно дробят его на меньшие. Первый подход более распространен. Иерархический (итерационный) процесс можно остановить в любой момент, пользуясь тем или иным критерием.

Заметим, что существует множество версий кластерного анализа, отличающихся способом определения расстояния между точками (*метрикой*) и способом выбора кластеров — кандидатов на слияние на очередном шаге процедуры (*правил слияния*).

Выбор метрики означает задание правила определения схожести объектов (веществ); выбор правила слияния отражает наши представления о разнице между кластерами. Ясно, что в общем смысле желательно, чтобы все объекты внутри каждого кластера были максимально сходны, а все кластеры — максимально непохожи друг на друга.

Наиболее распространенными метриками являются обычная *евклидова* (d_{ij} — искоемое расстояние между точками i и j ; x_k , $k = 1, \dots, N$ — переменные-признаки):

$$d_{ij} = \sqrt{\sum (x_k^i - x_k^j)^2}$$

и так называемая *манхэттенская* (city block) метрика:

$$d_{ij} = \sum |x_k^i - x_k^j|$$

(метафора связана с прямоугольной формой кварталов Нью-Йорка, в котором для пешехода расстояние между двумя точками оказывается выраженным как раз данной метрикой). Имеется также обобщенная *метрика Минковского*:

$$d_{ij} = \left[\sum (x_k^i - x_k^j)^q \right]^{1/q}$$

($q = 2$ соответствует евклидовой, $q = 1$ — манхэттенской метрике) и др.

Правил слияния (linkage rules) также много, укажем только на популярный *метод Варда*, в котором для объединения кластеры выбирают так, чтобы после слияния дисперсия расстояний между точками кластера возрастала как можно меньше (т.е. чтобы объекты внутри возросшего в размере кластера оставались как можно более похожими друг на друга).

Если принадлежность к классам для некоторой обучающей выборки данных определена, отнесение нового объекта (идентификация с тем или иным классом) проводится при помощи методов классификации; их существует множество. Так, ряд методов основан на том, чтобы смоделировать распределение в многомерном пространстве точек, относящихся к тому или иному классу. Отнесение нового объекта проводится по степени близости к соответствующим сгущениям точек. В последнее время распространен так называемый *метод опорных векторов* (Support Vector Machines — SVM). Идея его состоит в том, чтобы попытаться передать — и использовать для отнесения — не расположение самих сгущений точек, а положение и форму границ между этими сгущениями.

При идентификации (классификации) широко используют уже упоминавшиеся выше анализ главных компонент и факторный анализ. Переход от исходных факторов к их линейным комбинациям, не коррелированным между собой, позволяет выделить в данных главное и избавиться от шумов, что существенно упрощает последующий анализ. Поэтому и кластерный анализ, и классификацию при идентификации обычно применяют к сжато, например, посредством анализа главных компонент пространству признаков.

Наконец, говоря о математическом моделировании аналитического процесса, следует упомянуть и о методах, не предназначенных для интерпретации данных. Ряд приемов используют с целью *оптимизации* анализа, т.е. для поиска условий, обеспечивающих максимальный аналитический сигнал, минимальное мешающее влияние, наилучшее разрешение хроматографических пиков и т.п.

Конечно, чаще всего оптимальные условия определяют исходя из физико-химических закономерностей того или иного метода анализа и возможного состава объекта анализа. Однако существует и другой путь, основанный на представлении (моделировании) аналитического процесса в виде кибернетического «черного ящика», о способе функционирования которого ничего не известно. Известны лишь его входные параметры — условия проведения анализа (в хроматографии это могут быть, например, скорость потока, pH и концентрация элюента), изменение которых влияет на выходной сигнал. Под последним понимают произвольно сконструированную функцию «качества», критерий оптимальности, который пытаются максимизировать.

Задаче поиска экстремума вычисляемой функции посвящен целый раздел прикладной математики. В аналитической же химии распространены два подхода.

Первый из них составляют методы типа «крутого восхождения» по Боксу — Уилсону, тесно связанные со статистическим планированием эксперимента. В сущности, этот подход сводится к последовательному движению в сторону максимума по поверхности отклика (критерия), которую для простоты аппроксимируют полиномом второго порядка. Статистический план эксперимента служит для выбора такого варианта движения по точкам (отображающим различные наборы значений факторов-условий), чтобы при минимальных затратах труда качество аппроксимации было высоким. Второй подход — это симплекс-оптимизация. В ее рамках поиск оптимума сводится к математической процедуре дви-

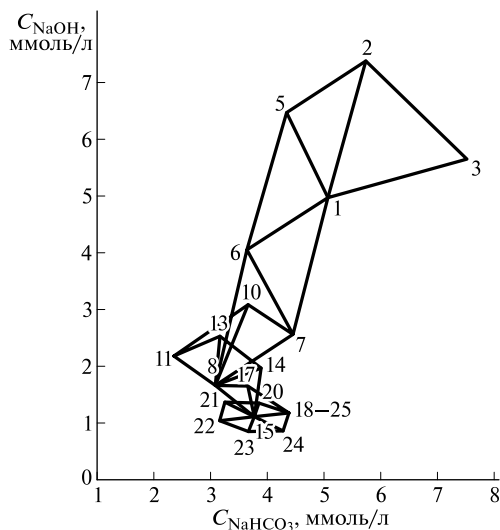


Рис. 16.21. Движение симплекса при оптимизации состава элюента для ионохроматического разделения хлорид- и сульфат-ионов в присутствии ионов аммония

жения некоторого деформируемого многогранника по поверхности отклика. Наиболее распространена симплекс-оптимизация в хроматографии.

Симплекс — это геометрическая фигура, содержащая $N + 1$ вершин, «погруженная» в N -мерное пространство, где N — число переменных. Наглядный пример дает случай двух переменных; здесь симплекс — треугольник. Для оптимизации сначала выбирают три начальные точки, для которых измеряют отклик. Далее треугольник, построенный на этих точках, отражают относительно одной из сторон, чтобы «уйти» от вершины с наименьшим значением отклика. В точке с новыми координатами снова измеряют отклик, и процесс повторяют. Таким образом треугольник движется до достижения сходимости — она наступает, когда очередное движение не дает значимого улучшения отклика. Реальный алгоритм несколько сложнее, например, в ходе оптимизации фигура может растягиваться или сжиматься. На рис. 16.21 показано движение симплекса, отражающее ход оптимизации состава карбонатно-щелочного элюента для ионохроматографического разделения хлорид- и сульфат-ионов в присутствии ионов аммония¹.

С точки зрения пользователя оба подхода сходны: компьютер (точнее — соответствующая программа) периодически предлагает провести анализ в тех или иных условиях и ввести получающееся значение критерия, после чего сообщает условия следующего эксперимента и так далее, вплоть до достижения оптимума. Нетрудно видеть, что на долю человека при этом остаются чисто механические операции типа приготовления растворов и установления pH. Очевидная перспектива заключается в автоматизации таких действий. Действительно, в 1985 — 1986-е гг. появились первые сообщения об использовании лабораторного робота, соединен-

¹ Balconi M. L., Sigon F. // Anal. Chim. Acta. — 1986. — V. 191. — P. 299.

ного с микро-ЭВМ, для полностью автоматической оптимизации аналитических методик.

16.6.4.2. Математические модели объектов анализа

В результате анализа можно найти содержание в объекте некоторых компонентов. Бывает так, что при этом интерес представляют другие компоненты, концентрации которых зависят от концентраций определяемых, а непосредственное определение целевых компонентов почему-либо затруднено. Простой пример: с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии и ионселективного электрода устанавливают содержание в объекте ионов меди и хлорид-ионов; потребителю же аналитической информации требуются данные о концентрации хлоридных комплексов меди. Такая задача в практике анализа очень распространена, особенно в медицинских приложениях. Наиболее важный случай — определение некоторых компонентов по их метаболитам. Решение задачи и требует наличия модели, определяющей связь между концентрациями определяемых и целевых компонентов.

Соответствующие модели также делятся на детерминистские и эмпирические. Простейший вид первых — *равновесные*: предполагается, что химический объект находится во внутреннем равновесии, и все возможные реакции между интересующими аналитика компонентами известны. В таком случае математической моделью служит совокупность уравнений закона действующих масс для каждой реакции и система уравнений материального баланса. (В неорганическом анализе речь чаще всего идет о реакциях комплексообразования.) Известны (измерены), как правило, общие аналитические концентрации ряда компонентов, требуется же найти их равновесные концентрации, а также равновесные концентрации продуктов всевозможных реакций. С математической точки зрения эта, так называемая прямая задача расчета равновесия сводится к решению системы нелинейных уравнений (материального баланса), стандартной в вычислительном отношении процедуре. Отметим лишь два распространенных алгоритма: метод Ньютона — Рафсона и метод Гинзбурга. Заметим также, что вычисления требуют данных о константах равновесия возможных реакций. Нередко они отсутствуют в литературе; тогда аналитикам приходится определять их по экспериментальным данным. Это — обратная задача расчета равновесий, основу математического аппарата здесь составляет нелинейный МНК.

В более сложных случаях модель объекта не столь определена. Характерные для объектов данного вида соотношения между содержанием разных компонентов приходится устанавливать по множеству экспериментальных значений. Естественно, этот «тренировочный», используемый для построения эмпирической модели набор данных должен включать и данные о содержании тех компонентов, которые впоследствии не будут определяться непосредственно.

В этой области снова прибегают к математическим приемам и компьютерным алгоритмам распознавания образов, прежде всего к кластерному и факторному анализу. Заметим, что эти же подходы часто применяют и к построению такой математической модели объекта, которая определяет связь состава и свойств последнего. Данная задача лежит уже вне рамок аналитической химии, но тесно к ней примыкает и нередко обсуждается в литературе по химии.

Контрольные задания

1. Перечислите основные направления автоматизации химического анализа. Чем они различаются?
2. Дайте определение понятия «робот». Приведите примеры использования роботов для автоматизации лабораторного анализа.
3. Назовите два направления автоматического анализа жидкостей?
4. Какие существуют способы предотвращения взаимного влияния проб в проточных методах анализа?
5. Изобразите схему потокораспределительной системы для непрерывного проточного анализа с сегментированным потоком. В чем его сущность?
6. Как осуществляют проточно-инжекционный анализ? Каковы его достоинства и недостатки?
7. Изобразите схему потокораспределительной системы для проточно-инжекционного анализа. В чем его сущность?
8. Изобразите схему потокораспределительной системы для последовательного инжекционного анализа. В чем его сущность?
9. Изобразите схему потокораспределительной системы для последовательного инжекционного анализа с возобновляемыми колонками. В чем его сущность?
10. Перечислите достоинства и недостатки последовательного инжекционного анализа.
11. Перечислите достоинства и недостатки последовательного инжекционного анализа с возобновляемыми колонками.
12. В чем сущность электроинжекционного анализа? Каковы его потенциальные достоинства и недостатки?
13. Какие факторы определяют дисперсию зоны? Какие количественные характеристики используют для ее описания?
14. Дайте классификацию проточных систем по коэффициенту дисперсии.
15. Каковы особенности потокораспределительных систем с ограниченной дисперсией зоны? Каковы области их применения?
16. Каковы особенности потокораспределительных систем с средней дисперсией зоны? Каковы области их применения?
17. Каковы особенности потокораспределительных систем с большой дисперсией зоны? Каковы области их применения?
18. Какие спектроскопические методы используют для детектирования в проточных методах анализа?
19. Какие электрохимические методы используют для детектирования в проточных методах анализа?
20. Какие методы разделения и концентрирования используют в проточных методах анализа?
21. Необходимо построить градуировочный график для широкого диапазона определяемых концентраций. По расположению экспериментальных точек видно, что график должен быть криволинейным. В вашем распоряжении имеются две стандартные программы, пригодные в такой ситуации. Одна проводит кривую, пользуясь МНК с аппроксимацией полиномом, в другой применяется сплайн-интерполяция. Какой программой вы воспользуетесь?
22. Почему при цифровом дифференцировании обычно сначала аппроксимируют исходную кривую каким-либо гладким контуром?
23. Для компьютерной идентификации органических соединений при помощи ИК- и масс-спектропии можно использовать информационно-поисковую систему либо систему искусственного интеллекта (экспертную систему). Какой вариант вы выберете, если речь идет: а) о контроле загрязнений окружающей среды; б) обслуживании нужд химиков-синтетиков, разрабатывающих новые фармакологические препараты?

Список литературы

- Баркер Ф.* Компьютеры в аналитической химии / Ф. Баркер. — М. : Мир, 1987.
- Джонсон К.Д.* Численные методы в химии / К.Д. Джонсон. — М. : Мир, 1983.
- Джурс П.* Распознавание образов в химии / П. Джурс, Т. Айзенауэр. — М. : Мир, 1977.
- Математические методы и ЭВМ в аналитической химии / под ред. Л.А. Грибова. — М. : Наука, 1989.
- Учи Г.* Персональные компьютеры для научных работников / Г. Учи. — М. : Мир, 1990.
- Формен Дж.* Автоматический химический анализ / Дж. Формен, П. Стокуэл. — М. : Мир, 1978.
- Форсайт Д.* Машинные методы математических вычислений / Д. Форсайт, М. Малькольм, К. Моулер. — М. : Мир, 1980.
- Шараф М.А.* Хемометрика / М.А. Шараф, Д.Л. Иллмэн, Б.Р. Ковальски. — Л. : Химия, 1989.
- Шпигун Л.К.* Проточно-инжекционный анализ / Л.К. Шпигун, Ю.А. Золотов. — М. : Знание, 1990.

МИНИАТЮРИЗАЦИЯ ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

17.1. Общие сведения

Одно из основных направлений аналитической химии заключается в *миниатюризации* анализа — уменьшении аналитических проб, используемых объемов, расхода реактивов и, конечно, размеров приборов и других устройств. Другая важная тенденция заключается в объединении — *интегрировании* — как можно большего числа стадий анализа (пробоотбор, пробоподготовка, разделение, концентрирование, проведение аналитической реакции и измерение аналитического сигнала, обработка результатов) в одном устройстве, желательно малого размера. Эта тенденция проявляется, например, в быстром развитии тест-средств (индикаторных бумаг, индикаторных трубок и т. п.).

Когда говорят о миниатюризации анализа, речь идет, прежде всего, об уменьшении размера приборов, что, в частности, позволяет их использовать как мобильные устройства. При этом управление таким прибором обычно упрощается, а ценность аналитической информации (достоверность качественного анализа, селективность и чувствительность количественного анализа) часто остается высокой. Миниатюризация измерений характерна для различных наук в последние 50—60 лет, а сама концепция миниатюризации сформулирована выдающимся американским физиком Р. Фейнманом в начале 1950-х гг.

Наблюдается практически непрерывное снижение объемов и масс анализируемых проб (рис. 17.1), при этом менее чем за 80 лет оба параметра снизились на два-три порядка. Задачи миниатюризации весьма разнообразны (при этом часто они пересекаются).

1. Проведение анализа проб малого объема или малой массы, особенно при невозможности или ограниченных возможностях пробоподготовки, в частности

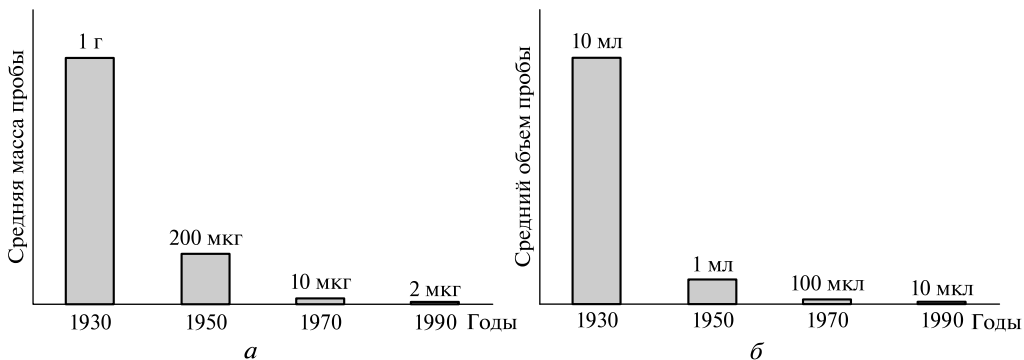


Рис. 17.1. Снижение средней массы (а) и среднего объема (б) пробы в химическом анализе в XX в.

концентрирования; особенно эта задача актуальна для сложных гибридных методов, таких как хромато-масс-спектрометрия.

2. Удешевление приборного парка аналитических служб.

3. Проведение локального анализа объектов и получение их изображений.

4. Проведение анализа вне стационарных лабораторий путем использования компактных приборов. Сюда входит обеспечение полевого анализа карманными анализаторами.

5. Разработка химических сенсоров для анализа и мониторинга веществ.

6. Разработка тест-методов и тест-средств.

Задача миниатюризации довольно сложна и требует различных решений, в том числе и технологических. Однако в отличие от многих физических и биологических исследований, где чаще всего важно миниатюризировать только процесс измерений, в химическом анализе почти всегда две составляющие: химическая пробоподготовка и измерение аналитического сигнала. Задача миниатюризации включает не только миниатюризацию собственно измерительного устройства. В 1950—1970-е гг. главной задачей считали миниатюризацию стадии измерений и повышение локальности анализа, что привело к развитию методов аналитической микроскопии. Затем набрало силу направление, связанное с возможностью упрощения и даже отказа от пробоподготовки, что нашло свое решение в сенсорах и тест-средствах анализа. И, наконец, в 1990-е гг. набрало силу новое направление — миниатюризация и объединение всех стадий химического анализа в одном очень компактном устройстве — микрофлюидных системах.

17.2. Микрофлюидные системы

Многие портативные приборы не расширяют возможности аналитического метода, а лишь придают ему мобильность. Все, что справедливо для крупных приборов, справедливо, в общем, и для компактных, однако до определенного размера; в случае микросистем положение может измениться. Здесь вступает в свои права интерес к химическим реакциям и процессам в микропространстве, а эти реакции и процессы начинают протекать иначе.

Данная область аналитической химии достаточно нова, и хотя ее развитие началось в конце 1970-х — начале 1980-х гг., на зрелый уровень она вышла только в конце 1990-х гг., когда поднялся общий уровень технологической оснащенности¹. Подобные микросистемы появляются и в синтетической химии, биохимии и биотехнологии.

В этой области пока нет устоявшейся терминологии. Для микроустройств, объединяющих несколько стадий химического анализа, часто выполненных в виде тонких пластин из разных материалов, имеющих размер, близкий к размерам электронных микросхем (микрочипов), по аналогии с последними используют термины «микрофлюидный чип» (microfluidic chip)² или «химический микрочип» (chemical microchip). Для наиболее сложных устройств, в которых объединены

¹ Сравните с тенденциями интеграции, автоматизации и миниатюризации средств связи и компьютерной и офисной техники за тот же период.

² Микрочипы, в которых используют потоки газов, также достаточно распространены (газовая хроматография), но жидкости используют гораздо чаще, так что термин распространяется на любые системы, использующие микропотоки.

практически все стадии химического анализа, а также для приборов, в которые включены эти чипы, используют термины «микросистема полного химического анализа» (micro-Total Analysis System — μ -TAS) и «лаборатория-на-микрочипе» (Lab-on-a-Chip). Подчеркнем, что в ряде изданий можно встретить и иные термины или несколько иное понимание приведенных терминов. Использование таких систем привнесло в аналитическую химию много нового.

1. Миниатюризация анализа и включение всех стадий анализа в одно малое устройство приводит к снижению объема пробы до 10^{-12} — 10^{-9} л. Это позволяет определять очень малые количества веществ, вплоть до единичных молекул. Снижаются расходы реагентов, растворителей и объемы отходов (до 10^{-12} — 10^{-6} л), что делает анализ существенно дешевле.

2. Многие процессы протекают с другими скоростями, при этом часто наблюдается ускорение химических реакций и интенсификация многих процессов.

3. Существенно снижается время анализа за счет уменьшения времени диффузии, смешивания, миграции, нагрева и т. п. Практически можно считать, что снижение времени анализа пропорционально снижению рабочего объема системы.

4. Микрометровые размеры сечения каналов и скорости потоков 0,01 — 100 мкл/мин обуславливают протекание исключительно ламинарных потоков, в результате зоны веществ не размываются (например, при хроматографическом разделении), воспроизводимость измерений возрастает.

5. При использовании электромиграционных методов эффект электротермического нагрева ниже вследствие более эффективного рассеяния теплоты. Это позволяет использовать большие разности потенциалов, т. е. более высокие скорости разделения веществ без потери эффективности разделения.

6. Малые размеры всех блоков микрофлюидных систем позволяют одновременно использовать несколько детекторов, т. е. получать существенно больший объем информации.

7. Поскольку микрофлюидные технологии позволяют в ряде случаев улучшать аналитические параметры многих методов, это дало толчок развитию ряда мало используемых методов — изотохофореза, электрофореза в свободном потоке и др.

8. Новые условия массопереноса, теплопереноса, экстракционного и сорбционного разделения в микроканалах позволяют разрабатывать оригинальные и даже уникальные аналитические приборы и методики.

Основными направлениями использования микрофлюидных систем в аналитической химии (рис. 17.2) являются иммунологические (особенно иммуноферментные) методы анализа, капиллярный электрофорез, проточно-инжекционный анализ (в этом случае его называют микропроточно-инжекционным анализом), проточная экстракция, ферментативные каталитические методы анализа, а также биохимические исследования (полимеразная цепная реакция). Кроме этого микрофлюидные системы используют в синтетической химии и в микрохимической технологии для особо тонкого химического синтеза и исследований в области биохимии клетки.

Поскольку миниатюризация (и по размерам, и по массе) предъявляет особые требования к системам детектирования, относительное распространение аналитических методов существенно отличается от их распространения в «обычных» приборах. В частности, доля масс-спектрометрических детекторов (из-за сложности создания миниатюрных приборов) пока существенно меньше, чем в обыч-

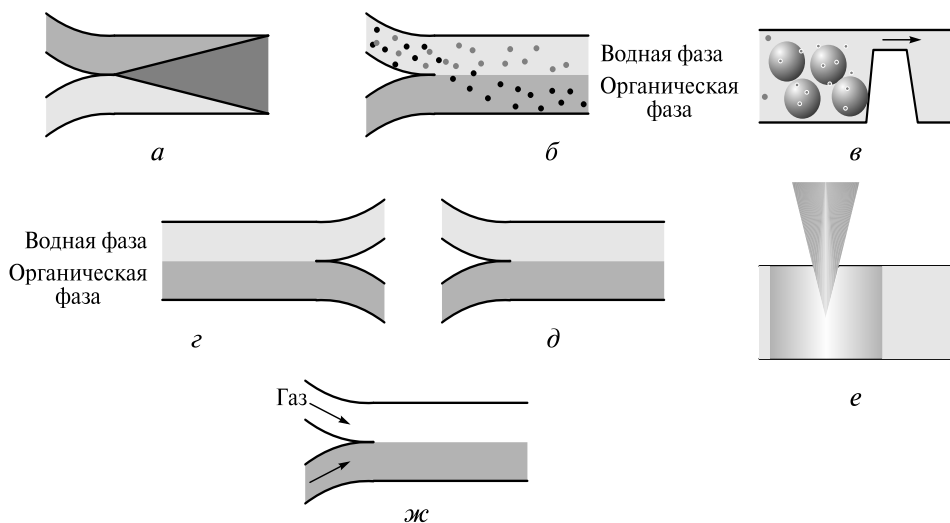


Рис. 17.2. Операции, выполняемые на микрофлюидных микрочипах:

а — смешивание и реакция; *б* — молекулярный транспорт и жидкостная экстракция; *в* — молекулярный захват и твердофазная экстракция; *г* — фазовое разделение; *д* — фазовый контакт; *е* — нагревание; *ж* — концентрирование

ной масс-спектрометрии, но гораздо большее значение имеют лазерные оптические методы. Так, лазерно-индуцированная флуоресценция практически доминирует среди всех методов детектирования и является единственным методом, который используют в серийных микроприборах. Основные достижения высокочувствительного детектирования связаны с детектированием единичных молекул, исследованиями свойств нанопространства и достижениями в области исследования поверхностей раздела жидкость — жидкость и жидкость — твердое тело. Все распространенные методы детектирования изложены далее и суммированы в табл. 17.1.

Материалы и техника. Материалы, используемые для создания микрофлюидных чипов, можно разделить на три группы.

К первой группе относятся кремний и пластмассы. Кремний является наиболее распространенным материалом для создания микрофлюидных систем. Он широко используется в микроэлектронике, которая является технологическим прародителем микроаналитической химии. Свойства и методы обработки кремния хорошо изучены. Кроме того, кремний обладает высокой теплопроводностью, что принципиально при создании микрореакторов, особенно если необходимо быстро нагревать или охлаждать анализируемый раствор (например, при проведении полимеразной цепной реакции). При изготовлении микрочипов чаще всего используют монокристаллический кремний с определенной ориентацией кристалла $\langle 100 \rangle$. Это дает возможность создавать разнообразные системы каналов, реакторов в горизонтальной плоскости, но все они в соответствии с этой ориентацией имеют трапециевидное сечение по глубине с углом $54,7^\circ$.

Пластмассы широко используют благодаря их технологичности. Огромное число различных по свойствам полимеров может быть использовано в зависимости от решаемой задачи (дешевые для одноразовых микрочипов, химически

Методы детектирования в микрофлюидных аналитических системах

Метод	Особенности	Пределы обнаружения	Определяемые вещества	Объекты анализа и области применения
<i>Спектроскопические методы</i>				
Лазерно-индуцированная флуоресценция	Высокая чувствительность	10^{-12} моль/л, единичные молекулы	Многие вещества	Биохимический анализ: клеточный анализ, определение малых молекул и одиночных молекул
Хемилюминесценция и электрохемилюминесценция	Не требует источника света	10^{-12} — 10^{-7} моль/л	Катионы, глюкоза, кодеин, ДНК	Объекты окружающей среды
Калориметрическая микроскопия	Чувствительность и универсальность применения	10^{-12} моль/л, единичные молекулы	Многие вещества	Биохимические исследования; неструктурный метод изучения жизнедеятельности клеток; для диагностических целей в медицине; объекты окружающей среды
<i>Электрохимические методы</i>				
Амперометрия	Возможность интегрирования электродов и детекторов в микрочип	10^{-9} моль/л	Допамины	Нейрохимия; иммунный и ферментативный каталитический анализ; клиническая диагностика; анализ объектов окружающей среды
Кондуктометрия	То же	—	Неорганические и органические ионы, белки, пептиды, аминокислоты, сахара	—
Потенциометрия	»	—	Неорганические ионы	—
<i>Масс-спектрометрия</i>				
Масс-спектрометрия с мягкой ионизацией	Экспрессность анализа	1 — 50 Да	Белки и др.	—

инертные для реактивных сред, прозрачные для оптического детектирования и т. п.). Однако полимеры — гораздо более реакционноспособные соединения, чем кремний, и их применение ограничено. Тем не менее здесь появились свои лидеры: полиметилметакрилат (ПММА) и полидиметилсульфоксан (ПДМС).

Ко второй группе материалов, применяемых при изготовлении микрочипов, относят стекло и кварц благодаря оптической прозрачности последнего. Особенно важен кварц, поскольку он оптически прозрачен не только в видимой, но и в УФ области спектра (что требуется для детектирования органических соединений). Кварц и стекло, как и полимеры, являются диэлектриками, что используют в электрофоретическом разделении. Наиболее часто используют кварцевое стекло (плавленый кварц), пирекс (боросиликатное стекло) и литиево-алюминиевые кварцевые стекла. Боросиликатные стекла с коэффициентом термического расширения как у кремния используют в комбинированных кварцево-стеклянных чипах для электрофоретического разделения с флуориметрическим детектированием.

К третьей группе относят металлические и керамические микрофлюидные чипы, наиболее сложные в изготовлении, но обладающие рядом важных преимуществ. Металлы легко поддаются обработке, особенно для сложных систем, а также как формы для последующей штамповки пластмассовых копий. Керамические микрофлюидные системы применяют чаще всего для создания микрореакторов с большим временем жизни.

Самые распространенные методы обработки при получении микрочипов из кремния, кварца и стекла: химическое, глубокое реактивно-ионное и электрохимическое травление, а также лазерная абляция и микромеханическая обработка.

Наиболее широко распространено *химическое травление* благодаря его надежности и простоте. Оно заключается в обработке незащищенных частей будущего чипа реагентами, обычно водными растворами, часто в сочетании с нагревом. В случае кремния используют обработку горячими растворами щелочей, при этом монокристалл кремния сохраняет свою кристаллическую решетку $\langle 100 \rangle$, что приводит к совершенным параметрам углов и профиля каналов (рис. 17.3, а). Поскольку травление осуществляют в соответствии с анизотропией кристаллической решетки, такой тип травления называют *анизотропным*. В отличие от этого травление аморфных материалов смесью концентрированных кислот (чаще все-

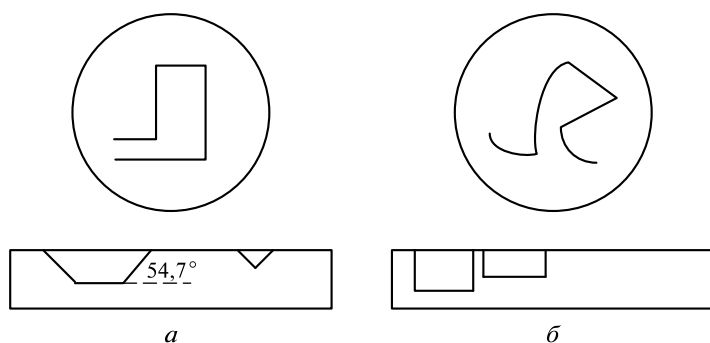


Рис. 17.3. Форма каналов в микрочипе из кремния $\langle 100 \rangle$, полученном при помощи жидкого анизотропного травления (а) и глубокого травления ионами (б)

го серной и фтороводородной) приводит к равномерному вытравливанию материала пластины, что дает в общем случае закругленные углы и полуэллиптические профили каналов, и называется *изотропным*. Естественно, что перед травлением необходимо нанести маску (фоторезист), соответствующую будущим каналам, и защитить поверхность, которая не должна подвергнуться травлению. При анизотропном травлении окисляют поверхность кремния до оксида SiO_2 , а при изотропном наносят слои металлов.

В случае *ионного травления* поверхность бомбардируют ионами, которые уносят материал пластины, при этом формируются каналы любой структуры (в горизонтальной плоскости и с прямоугольным сечением по глубине; рис. 17.3, б). Это важно для создания, например, капиллярных колонок для газовой хроматографии, где «угловатость» недопустима.

Для пластмасс применяют формовку (с использованием металлических или других форм), литье, фотополимеризацию под действием УФ источников света, а также лазерную абляцию (для наиболее тонких элементов схем). Все эти процессы существенно дешевле, чем используемые для изготовления кремниевых и стеклянных чипов, что позволяет делать одноразовые микрочипы.

Блоки микроаналитических систем. Рассмотрим наиболее важные и характерные блоки микрофлюидных систем. Взаимное расположение элементов и соединительных каналов, а также их размеры и другие геометрические и проточные параметры носит в совокупности название *топологии (архитектуры) микрочипа*. Помимо собственно аналитической задачи топология микрофлюидных чипов определяется свойствами растворителя, необходимостью связывать микрочип с внешними устройствами ввода/вывода и детекторами.

Микроканалы соединяют все основные блоки системы и сами служат функциональными элементами. Ширина и глубина канала в большинстве случаев взаимосвязаны, их стараются делать как можно малого размера для уменьшения времени диффузии и снижения объемов жидкости. Однако излишнее снижение размеров каналов может привести к нежелательным последствиям, например ухудшению параметров разделения или чувствительности детектирования. В результате наиболее характерные значения ширины и глубины каналов лежат в области 20 — 100 мкм.

Прямые каналы (длиной 0,1 — 5 см) служат для разделения в капиллярном электрофорезе или как проточные реакторы в проточно-инжекционном анализе. Заполнение каналов сорбентами приводит к созданию хроматографических колонок или микроадсорбционных патронов. Модифицирование поверхности канала позволяет проводить газохроматографический или электрохроматографический анализ. При необходимости разделительные каналы делают в виде плоских спиралей, зигзагов, при этом форма углов играет большую роль в зависимости от того, должны ли они способствовать смешиванию (реакторы), или наоборот (электрофоретическое разделение). Большие участки каналов оставляют пригодными для оптического детектирования — в микрофлюидных системах распространено детектирование по всему разделительному каналу, реактору или колонке.

Реакторы часто сочетают с нагревателями, поскольку температура проведения аналитической реакции нередко имеет важное (проточно-инжекционный анализ) или попросту ключевое (полимеразная цепная реакция) значение. Чаще всего используют электротермические нагреватели, в них имеет место разогрев проводников при пропускании электрического тока — джоулев нагрев. Достоинствами

таких нагревателей является легкость изготовления и высокие температуры и скорости нагревания. Для обеспечения еще более высоких скоростей нагревания используют микропечи, микроволновой и ИК лазерный нагрев. Если нужны высокие (более 200 °С) температуры, используют источники микроплазмы. Для охлаждения применяют элементы Пельтье, а также микровентиляторы и радиаторы (те же, что и для охлаждения электронных микросхем). Часто нагрев и охлаждение микрочипов осуществляют при помощи дополнительного газового или жидкостного контура.

В связи с большой распространенностью электромиграционных методов и благодаря удобству электрохимических методов детектирования характерным элементом микрофлюидных систем являются встроенные электроды. Чаще всего они представляют собой микропластины или нити из инертных металлов (платины, золота) или графита.

До сих пор речь шла о *пассивных элементах*, т.е. элементах, не управляющих потоком. К *активным элементам* микрофлюидных чипов относятся клапаны и насосы. Последние делят на механические и немеханические. Механические микронасосы — пьезоэлектрические, плунжерные и клапанные — подобны тем, что используют в хроматографии. Они обеспечивают скорости потоков в широком диапазоне, но вызывают пульсации жидкостей. Немеханические устройства обеспечивают потоки жидкости за счет капиллярных сил, магнитогидродинамики или химических реакций.

Одним из самых распространенных режимов работы в микрофлюидных чипах является так называемый режим остановленного потока. Это связано с тем, что многие датчики с большей чувствительностью и воспроизводимостью работают в статических условиях, а не в потоке. Кроме того, в этих условиях возможно накопление аналитического сигнала или можно следить за динамикой или кинетикой процессов. В результате работа микрофлюидного чипа часто состоит из циклов включенного потока, при котором осуществляется пробоподготовка и разделение, и остановки потока, когда измеряется аналитический сигнал.

Оптические элементы микрофлюидных систем делят на *активную оптику*, т.е. встроенные источники излучения и микродетекторы, и *пассивную*, представленную волноводами, микролинзами и светофильтрами. В качестве встроенных источников излучения используют светодиоды высокой мощности с малыми длинами волн для обеспечения высокой интенсивности флуоресценции большого числа веществ. В качестве встроенных источников света используют также лазеры и микрозарядные источники света. В качестве микродетекторов выступают в основном полупроводниковые фотодетекторы, а также многоканальные (матричные) детекторы на основе приборов с зарядовой связью.

17.3. Методы разделения и концентрирования в микрофлюидных системах

Когда мы говорим об интеграции нескольких стадий анализа в одной микросистеме, то в той или иной степени подразумеваем разделение исходных смесей при помощи адсорбции, экстракции, хроматографических или электромиграционных методов. Не случайно, что именно по основному методу разделения, реализованному в микроаналитической системе, и классифицируют эти системы.

Кратко охарактеризуем основные методы разделения, уже нашедшие применение в микрофлюидных системах, и рассмотрим основные отличия от их реализации в «макромасштабе».

Капиллярный электрофорез. Данный метод одним из первых был реализован на микрочипах и до сих пор остается самой распространенной областью микрофлюидного анализа. Под капиллярным электрофорезом понимают электрофоретическое разделение веществ в капиллярах, в то время как в микроаналитических системах проводят электрофоретическое разделение в каналах различной формы, для которых понятие капилляра не всегда приемлемо. Поэтому термин «капиллярный электрофорез» применительно к микрофлюидным системам вытесняется термином «микрочиповый электрофорез», однако мы будем пользоваться традиционным термином, так как, по сути, речь идет об одном и том же методе разделения. Тем более что в отличие от ряда других методов электрофоретического разделения в обычных капиллярах и микрофлюидных системах осуществляется на одинаковом уровне количеств и объемов, и важна прежде всего интеграция разделения и других операций.

Основными достоинствами электрофоретического разделения на микрофлюидном чипе являются:

1) высокая эффективность разделения веществ за счет создания плоского профиля потока жидкости в микроканале;

2) возможность регулирования потоков без насосов, что удешевляет разделение;

3) эффективный отвод джоулевой теплоты благодаря высокому отношению площади сечения канала разделения к массе микрочипа, что позволяет использовать высокие (более $1 - 2$ кВ/см) напряжения;

4) экспрессная, точная и воспроизводимая дозировка объемов ($\sim 10^{-12}$ л) анализируемых проб, использование высокого напряжения и малой длины ($1 - 5$ см) зоны разделения обеспечивают время разделения до нескольких секунд.

Большинство микрочипов для электрофореза (размером $(4 - 5) \times (1 - 2)$ см) представляют собой систему каналов в виде так называемого инъекционного креста. На микрочипе располагают четыре жидкостных порта (если в схему включены внешние емкости с реагентами) или резервуара (если емкости интегрированы в сам чип): порт пробы, порт сброса пробы и два порта (резервуара) для разделительного буферного раствора (рис. 17.4). В эти порты помещают внешние микроэлектроды (чаще всего платиновые) или встраивают их в микрочип на этапе его изготовления. Управление направлением и скоростью потоков, как и в традиционном капиллярном электрофорезе, осуществляют приложением разности потенциалов между соответствующими резервуарами микроканалов.

Еще одним отличием от капиллярного электрофореза является то, что в микрофлюидных системах часто используют многоканальные системы оптического детектирования (фотодиодные матрицы). Это дает возможность непрерывно измерять аналитический сигнал по всей длине разделительного канала (через окна детектирования) в течение всего процесса разделения и, таким образом, видеть развитие электрофореграммы. Это существенно, поскольку время разделения очень мало. В результате вместо обычной временной шкалы в электрофореграммах ось абсцисс часто имеет размерность длины, и ее масштаб неизменен и равен полной длине разделительного канала. Как следствие, электрофореграммы должны быть преобразованы в привычный вид «сигнал — время», при этом для

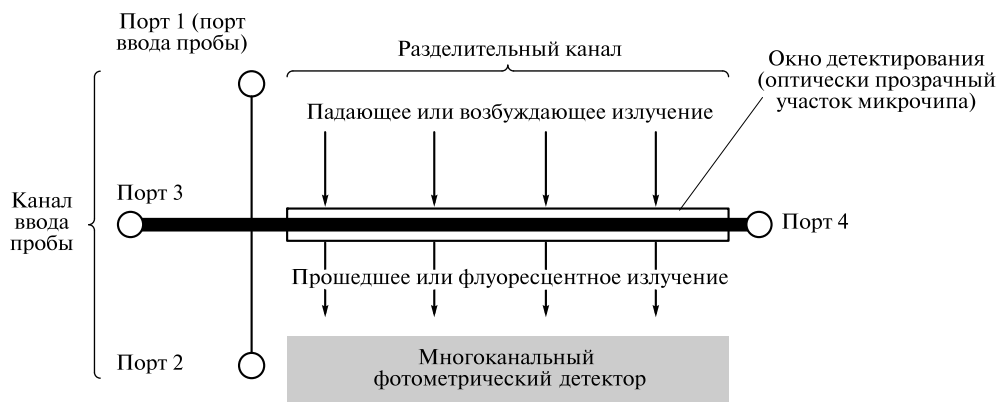


Рис. 17.4. Схема микрочипа для проведения электрофореза и общая схема оптического, фотометрического и флуоресцентного (на просвет) детектирования

улучшения аналитических параметров используют математические преобразования Фурье или Адамара.

В отличие от капиллярного электрофореза, в котором возможны как гидродинамический, так и электрокинетический ввод пробы, в микрочипах доминирует электрокинетическая инжекция. Это связано с тем, что обычный капилляр представляет собой одномерную систему (вход/выход), поэтому любой способ инжекции всегда приводит к заполнению начального участка капилляра. В микрочипе же есть целая система связанных каналов, и гидродинамический ввод пробы способствует неконтролируемому проникновению раствора пробы во все каналы, что приводит к потере воспроизводимости разделения. Электрокинетический ввод пробы защищает нежелательные каналы от проникновения пробы во время инжекции за счет правильного подбора геометрии каналов и напряжений на электродах.

Эффективность микрочипового электрофоретического разделения с уменьшением глубины канала повышается. При этом, однако, снижается чувствительность определения. Оптимальная глубина микроканалов составляет 10—100 мкм, что позволяет достичь высот, эквивалентных теоретической тарелке менее 1 мкм, т. е. порядка 10^5 теоретических тарелок на 1 м и выше.

Другой фактор, определяющий эффективность разделения — топология микроканалов. Для улучшения разделения длину канала разделения увеличивают.

В микрочиповом варианте реализованы практически все разновидности капиллярного электрофореза: капиллярный зонный электрофорез, мицеллярная электрокинетическая хроматография, изотохофорез. В микрофлюидных системах можно использовать приемы концентрирования определяемых веществ (ионов или нейтральных компонентов), используемые в капиллярном электрофорезе (стекинг и свипинг).

Время ввода пробы занимает 3—7 с, разделения и определения — 20—50 с, накопления окончательной электрофореграммы — 10 с. Таким образом, суммарное время анализа составляет 40—60 с в зависимости от типа определяемого вещества (низкомолекулярного соединения или ДНК), что в 7—10 раз меньше, чем для традиционного капиллярного электрофореза этих соединений.

Электрофорез в свободном потоке. Капиллярный и микроchipовый электрофорез имеют большое число достоинств, но не свободны от недостатков. Один из них заключается в том, что электрофоретическое разделение не является непрерывным, и многократный анализ представляет собой повторение цикла «ввод пробы — разделение». Электрофорез по сути дела является методом одномерным, и единственным источником движения веществ является электрическое поле, приложенное вдоль капилляра или разделительного канала микрочипа. Естественно, желательно преодолеть этот недостаток, и одним из решений является так называемый непрерывный электрофорез в свободном потоке.

В этом случае электрическое поле направлено перпендикулярно гидродинамическому потоку, который течет через так называемую разделительную камеру. Таким образом, мы имеем два фактора, влияющих на суммарную скорость потока, при этом векторы скоростей потока, вызванных этими факторами (т.е. скорость потока и электрофоретическая подвижность) взаимно ортогональны (рис. 17.5). Это означает, что вещества, имеющие разные электрофоретические подвижности, движутся под разными углами к гидродинамическому потоку, что позволяет непрерывно их регистрировать в определенных точках разделительной камеры.

Если капиллярный электрофорез можно сравнить с времяпролетным масс-спектрометром (все ионы оказываются в одной точке детектора, но в разное время), то электрофорез в свободном потоке можно уподобить секторному масс-спектрометру, где под действием двух факторов разные ионы оказываются в разных точках детектора, но в одно время.

Электрофорез в свободном потоке в своем макроварианте (объемы порядка 10 мл и более) — хорошо отработанный метод, но его чаще применяют как препаративный метод разделения белков. Основными недостатками традиционной реализации электрофореза в свободном потоке являются уширение потоков разделенных веществ в больших камерах вследствие диффузии, что приводит к снижению выхода чистых веществ при синтезе или очистке, и существенный нагрев

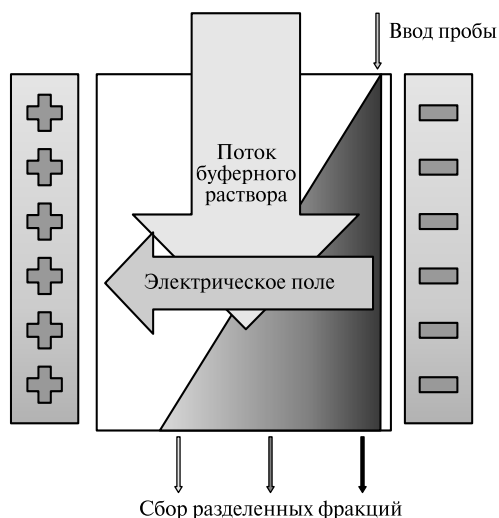


Рис. 17.5. Схема проведения электрофореза в свободном потоке

при разделении, что приводит к сильной конвекции жидкости. В микроаналитических системах (объем разделительной камеры около 1 — 5 мкл и менее) обе эти проблемы решают, можно сказать, автоматически. Диффузионное уширение потоков снижается в десятки раз, а аналогичный тепловой эффект достигается при вчетверо больших (до 600 В/см) напряженностях поля.

Микрофлюидный электрофорез в свободном потоке зарекомендовал себя как один из самых надежных методов предварительного разделения проб. Дело в том, что при необходимости разделительная камера может быть снабжена несколькими выходами, расположенными на участках, соответствующих выходу определяемых компонентов. Эти выходы могут быть подключены к входам других микрофлюидных чипов или внешних приборов, причем можно не ограничиваться одним детектором. Так, заряженные частицы можно определять при помощи масс-спектрометрии, тогда как другие вещества — флуоресцентным детектором. Такая система для непрерывного контроля качества пищевых продуктов включает микрофлюидный чип с простейшим зигзагообразным реактором, в котором проходит флуоресцентная реакция с определяемыми соединениями (метаболитами, токсинами), и разделительную камеру для электрофореза в свободном потоке. В конце камеры на определенных местах стоят флуоресцентные микро-сенсоры.

Изотахорофорез. Еще одним достоинством микроварианта электрофореза в свободном потоке является возможность реализовать изотахофорез — метод, родственный электрофорезу, но не нашедший широкого применения в традиционном химическом анализе. Для реализации этого метода образец (обычно большого объема) помещают в капилляр или трубку между двумя зонами с различными электролитами. Перед зоной исследуемой пробы находится зона, содержащая электролит с подвижностью большей, чем подвижности всех ионов пробы. А в зоне, следующей за зоной пробы, электролит имеет подвижность меньшую, чем подвижности всех ионов пробы. В результате при разделении образуется градиент электрического поля, при этом ионы исследуемой пробы выстраиваются по своим подвижностям в виде последовательных зон. В качестве вещества с максимальной подвижностью чаще всего используют маленькие неорганические ионы (чаще всего хлорид-ионы), а в качестве ионов с минимальной подвижностью — крупные органические однозарядные анионы.

В результате получается изотахофореграмма (рис. 17.6), имеющая вид лестницы. Первая и последняя ступень «лестницы» соответствуют двум ограничивающим электролитам, а каждая ступень между ними — одному из определяемых компонентов. При этом относительная высота этой ступени определяется подвижностью иона, т.е. его природой, и, следовательно, служит для качественного анализа, а длина ступени определяется числом ионов данного типа и служит для количественного анализа. Таким образом, несмотря на такие же координаты кривой, что и в электрофорезе, параметры ее, используемые для анализа, противоположны: по оси ординат — качественный анализ, по оси абсцисс — количественный. Важным свойством изотахофореза является и то, что при движении вдоль электрического поля зона пробы не только разделяется на зоны индивидуальных веществ, но и концентрируется, что отличает его от других электромиграционных методов.

В качестве методов детектирования в изотахофорезе можно использовать те же методы, что и в капиллярном электрофорезе. Самым распространенным и уни-

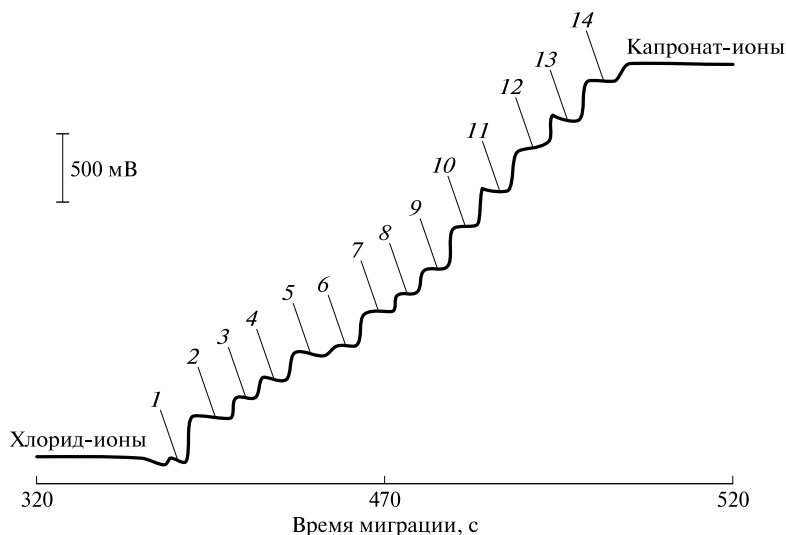


Рис. 17.6. Типичная кривая при изотахофореze (изотахофореграмма):

1 — хлорат-ионы; 2 — метилсульфонат-ионы; 3 — дихлорацетат-ионы; 4 — фосфат-ионы; 5 — цитрат-ионы; 6 — изоцитрат-ионы; 7 — глюконат-ионы; 8 — β -бромпропионат-ионы; 9 — сукцинат-ионы; 10 — глутарат-ионы; 11 — ацетат-ионы; 12 — суберат-ионы; 13 — пропионат-ионы; 14 — валерат-ионы

версальным является кондуктометрия, поскольку ионная подвижность подавляющего числа веществ пропорциональна их электропроводности.

Определяемые вещества — это неорганические катионы и анионы, анионы органических кислот, а также многие природные или пищевые красители, которые, как известно, легко перевести в ионную форму. Ограничивающим фактором использования изотахофореze для многих объектов был большой объем анализируемой пробы. Переход к микроварианту позволил достичь низких пределов обнаружения — до 10^{-6} моль/л.

Режим изотахофореze можно реализовать на любых микрочипах, для капиллярного электрофореze или электрофореze в свободном потоке, что дает возможность широкого варьирования задач. Они могут включать предварительное концентрирование в режиме изотахофореze с последующим разделением при помощи капиллярного электрофореze или предварительное разделение и концентрирование в режиме изотахофореze в свободном потоке с последующим масс-спектрометрическим определением.

Разделение и концентрирование в двухфазных системах. В микрофлюидном чипе может быть реализована система многофазных микропотоков. Массоперенос веществ через поверхность раздела фаз в таких потоках может быть использован: 1) для экстракции в потоке; 2) для выделения веществ из одного потока в другой через слой несмешивающейся жидкости; 3) для очистки раствора пробы от мешающих примесей. Обеспечить продолжительное время контакта фаз в микроканале, необходимое для проведения таких процессов, т. е. в диапазоне от десятков секунд до нескольких минут, можно путем увеличения длины канала микрочипа до нескольких десятков сантиметров либо путем реализации низких скоростей потоков фаз. Как правило, на практике используют второй способ, а

длина двухфазных потоков составляет при этом несколько сантиметров, что соответствует типичным габаритам микрочипа.

Для реализации экстракционных процессов в микроканалах необходимо создать стабильную двухфазную систему с устойчивой поверхностью раздела фаз, для чего углы между микроканалами однофазового и двухфазового потоков делают равными 90° — 150° .

Поверхность раздела фаз в микроканале находится обычно в вертикальном положении. Это связано с преобладанием сил поверхностного натяжения и сил трения над силой тяжести в микропространстве. После остановки потока поверхность раздела фаз, образующаяся в микроканале, устойчива около 10 мин. Однако при использовании обычного профиля микроканала (в виде желоба) диапазон скоростей подачи водной и органической фаз ограничен, и, как правило, они равны. Для стабилизации раздела фаз в водно-органическом потоке применяют многослойную экстракционную систему — вводят две водные фазы и одну органическую. В результате создается трехслойный поток с жидкой органической мембраной в центре.

Двухфазные системы в микрофлюидных чипах используют для определения коэффициентов распределения, констант экстракции, коэффициентов концентрирования и т. п. Применяют и химическое модифицирование поверхности гидрофобными октадецилсиланольными группами. В данном случае поверхность раздела фаз формируется в горизонтальной плоскости, а не в вертикальной. Горизонтальное положение поверхности в сочетании с поверхностно-селективными методами детектирования позволяет изучать движение молекул на границе раздела, а также структурные и динамические свойства самой поверхности. Такое расположение каналов приводит к увеличению площади раздела фаз (рис. 17.7), а применение поверхностно-селективных методов детектирования, например квазиупругого лазерного рассеяния, позволяет изучать массоперенос через границу раздела фаз. В микроканалах проводят также гетерогенные реакции на поверхности раздела фаз.

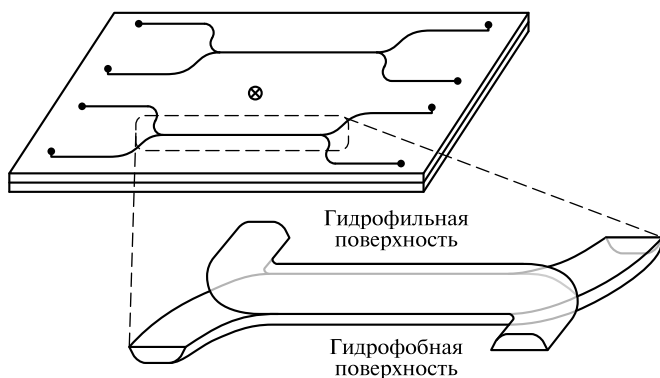


Рис. 17.7. Схема микрофлюидного чипа с параллельными каналами для проведения экстракции с формированием границы раздела фаз жидкость—жидкость в горизонтальной плоскости (поверхность нижней пластины модифицирована гидрофобными октадецилсиланольными группами)

17.4. Хроматография в микрофлюидных системах

Хроматографический анализ был фактически первым аналитическим методом, реализованным на микрочипе: газовый микрохроматограф предложен в 1979 г. Поэтому в этой области существует большое число разных решений. Как и в макроварианте хроматографии, газовая и жидкостная микрохроматография отличаются принципиально, поэтому имеет смысл рассмотреть их отдельно.

Газовая микрохроматография. Долгое время основной проблемой газовой микрохроматографии была невозможность создавать на микрочипе колонки с хорошими параметрами неподвижной фазы. Ситуация изменилась после появления технологий микросублимирования монослоев или плазменного нанесения тонких слоев на микроповерхности. Такие капиллярные колонки делают на кремниевых пластинах методом глубокого реактивного ионного травления (необходима форма колонки в виде спирали, что достижимо только этим способом обработки кремния), они имеют длину 300—800 мкм при диаметре 5—10 мкм (мертвый объем всего 100—200 мкл!). Процесс разделения на такой колонке проходит всего за 0,5—1,0 с (рис. 17.8)¹. При реализации газовой хроматографии на микрочипе существенно увеличивается эффективность разделения (за счет снижения вихревой и продольной диффузии; см. уравнение Ван-Деемтера) и на несколько порядков снижается время анализа.

Широко распространенные детекторы для газовой хроматографии, прежде всего детектор по теплопроводности и пламенно-ионизационный детектор, легко интегрировать на микрочипе. Более того, микроразмер таких детекторов позволяет реализовать мультidetекторные системы, а при необходимости присоединять выход микроаналитической хроматографической системы к масс-спектрометру.

Наиболее сложной задачей является создание микродозаторов газовых проб на микрочипах: для этого используют микромембранные клапаны или импульсный генератор плазмы. В последнем случае при включении источника ионизации генератор плазмы работает как детектор, давая информацию об интегральном составе пробы, а при его выключении газовый образец попадает в газохроматографическую систему. Таким образом, микрочиповый газовый хроматограф является примером систем полного микроанализа, которые рассмотрены далее.

Жидкостная микрохроматография. В отличие от газовой микрохроматографии, где создать капиллярную колонку относительно просто, а главной проблемой является создание микроблока ввода пробы, жидкостная микрохроматография предъявляет серьезные требования именно к плотности и воспроизводимости наполнения набивной колонки. В результате «классический» вариант жидкостной хроматографии на микрочипах не получил широкого развития из-за низкой эффективности разделения. Наиболее распространенное решение — жидкостная хроматография в открытых колонках. Такие колонки (длиной от нескольких миллиметров до 1—2 см) используют как для разделения, чаще всего в режиме обращенно-фазовой хроматографии, так и в варианте микропрепаративной хроматографии.

¹ См.: Terry S. C., Jerman J. H., Angell J. B. // IEEE Trans. Electron Devices. — 1979. — V. ED-26. — P. 1880.

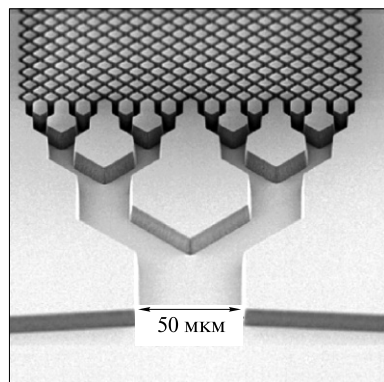
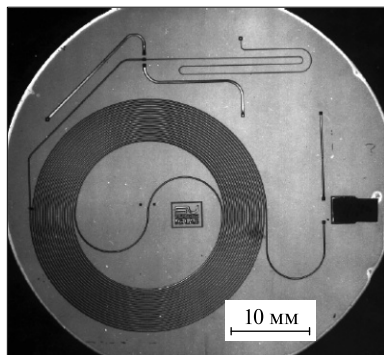


Рис. 17.8. Газовый хроматограф с детектором по теплопроводности, реализованный на кварцевом микрочипе

Рис. 17.9. Электронная микрофотография монолитной разделительной колонки (размер параллелепипедов неподвижной фазы $5 \times 5 \times 10$ мкм; ширина канала 1,5 мкм)

Другой вариант жидкостного хроматографического разделения на микрофлюидных чипах — использование монолитных колонок, т.е. колонок, в которых неподвижная фаза является частью самой колонки. На рис. 17.9 изображена монолитная колонка, полученная микрообработкой кварцевой подложки¹. В этом случае достигается как равномерность и одинаковость «элементов» неподвижной фазы, так и равномерность и одинаковость каналов между ними, по которым протекает подвижная фаза. Методами микрообработки или направленной полимеризации можно создать гораздо более сложные (но тем не менее регулярные) монолитные колонки. Они обеспечивают разделение аминокислот, пептидов, белков с высокой экспрессностью (время анализа от нескольких секунд до 1 мин) и высокой эффективностью (до 10^6 теоретических тарелок на 1 м).

Еще один путь — использование электромиграционных хроматографических методов — электрохроматографии, мицеллярной электрокинетической хроматографии и др. Эти методы сочетают удобство и многообразие реализации электромиграционных методов на микрофлюидных чипах (отсутствие пульсаций системы подачи элюента и низкая стоимость) и аналитические возможности хроматографического разделения. В качестве материала для микрочипа в этом случае используют алмаз, поскольку он имеет контролируемую электропроводность, высокую теплопроводность и оптически прозрачен в широком диапазоне длин волн.

17.5. Проточный анализ в микрофлюидных системах

На микрофлюидных чипах можно реализовать проточный анализ, прежде всего проточно-инжекционный анализ. Если характеризовать проточный анализ в целом, то можно говорить о любом разделении, концентрировании или определении в потоке, специально организуемом для целей анализа. Хроматографические и электромиграционные методы, тоже являющиеся проточными, условно в

¹ He B., Tait N., Regnier F. // Anal. Chem. — 1998. — V. 70. — P. 3790.

эту группу не включают. Обычно к проточному анализу относят непрерывный проточный анализ, проточно-инжекционный анализ, последовательный инжекционный анализ и некоторые другие варианты (см. гл. 16).

Принципы проточно-инжекционного анализа, включающие автоматизацию стадий аналитического цикла, четкость проведения этого цикла, время которого определяется скоростью потока, и сочетание аналитической реакции с детектированием, практически совпадают с принципами микроаналитических систем. Поэтому при появлении микроаналитических систем в 1990-е гг. проточно-инжекционный анализ занял одно из главных мест при их разработке. Практически все технические элементы, необходимые для проточного анализа, легко создать на микрофлюидном чипе. Ускорение же всех процессов в малых объемах позволяет улучшить аналитические параметры по сравнению с макровариантом проточно-инжекционного анализа. За время осуществления микропроточно-инжекционного анализа реакция проходит более полно, т.е. образуется больше продуктов и чувствительность определения возрастает. Обычная для проточно-инжекционного анализа степень завершенности реакции, равная 95 %, достигается в микрофлюидных системах за 10—20 мс.

Едва ли не все методики проточно-инжекционного анализа, разработанные для определения ионов металлов, органических соединений (особенно лекарственных веществ), простых смесей (фенолов, синтетических красителей и т.п.), осуществлены в микрочиповом варианте. В микрофлюидных системах с проточно-инжекционным анализом применяют не только реакции комплексообразования или каталитические методы, но и ферментативные. Их используют для микрофлюидного определения глюкозы и других сахаров, белков, пептидов.

Микропроточно-инжекционный анализ характеризуется и принципиально новыми решениями, которые по разным причинам невозможно реализовать в традиционном варианте анализа. Прежде всего речь идет об иммуноферментном анализе, который используют для прямого анализа крови с определением ее микрокомпонентов, вплоть до уровня 10^{-10} моль/л. Микропроточно-инжекционный анализ используют для биофотометрии. Этот метод представляет собой аналог фотометрии, но основой является селективная реакция не молекулы определяемого соединения с фотометрическим реагентом, а микроорганизма или высокомолекулярного биосоединения, продукта его распада или жизнедеятельности со специальным агентом, дающим характеристическую окраску. В традиционном варианте этот анализ очень дорог. Но он существенно чувствительнее традиционных методов визуального подсчета клеток или выращивания культур, поэтому развитие микрофлюидных систем дало резкий толчок этой области биоаналитической химии.

Проточный анализ в микрофлюидных системах применяется и при реализации других методов. Например, специальные микрочипы используют для проведения послеклоночных реакций в жидкостной хроматографии и реакций на стадии пробоподготовки в потоке, а также при концентрировании на специальных патронах.

17.6. Электрохимические методы в микрофлюидных системах

Практически все электроаналитические методы могут быть применены в микрофлюидных системах. Кратко рассмотрим их особенности и области применения.

Потенциометрия. В случае потенциометрического определения рабочие электроды обычно встраивают в микрочип на этапе его производства. Чаще всего применяют инертные электроды в качестве как индикаторных, так и электродов сравнения. Реже используют поверхностно-модифицированные и ионселективные электроды (в основном с твердыми мембранами). Поскольку часто речь идет о детектировании веществ в смесях, для ионселективных электродов используют мембраны, селективные не на индивидуальный ион, а на группу ионов, чтобы расширить круг определяемых веществ. Основные определяемые вещества — биологически активные соединения; чувствительность определения совпадает с чувствительностью при традиционном использовании потенциометрии.

Амперометрия и вольтамперометрия. Амперометрия широко распространена как очень чувствительный и надежный метод детектирования в хроматографии и капиллярном электрофорезе. Такая же картина наблюдается при использовании микроаналитических систем. Как способ детектирования при разделении на микрочипах амперометрия уступает по распространенности только лазерно-индуцированной флуоресценции. Наиболее часто используют встроенные золотые или платиновые электроды. С их помощью детектируют биологически активные соединения. Распространение получили графитовые электроды, которые позволяют реализовать большое число реакций в широком диапазоне анодных потенциалов.

Вольтамперометрия предоставляет существенно больший объем информации и позволяет решать большее число аналитических задач. Вольтамперометрическое детектирование не так часто используют для детектирования в микрофлюидных системах, но реализуют в системах полного химического анализа, где оправдано существенное усложнение эксперимента за счет миниатюризированной вольтамперометрической ячейки. В микроаналитических системах существенно изменяются условия диффузионного массопереноса, что принципиально для вольтамперометрического определения. Пределы обнаружения органических соединений лежат в области $10^{-8} — 10^{-7}$ моль/л, что совпадает с чувствительностью вольтамперометрических методов.

Кондуктометрия. Кондуктометрическое детектирование очень распространено в микрофлюидных системах благодаря простоте, высокой чувствительности и пригодности по отношению к большому кругу определяемых соединений и разным методам разделения. Кроме того, включение электродов в систему химической микрофлюидной системы — одна из самых технологически простых задач, что делает такой тип детектирования привлекательным для массового анализа. Недостатками являются ограничения по чувствительности и возможность протекания процессов на электродах. Второй недостаток устраняется при помощи бесконтактного кондуктометрического детектирования. На рис. 17.10 приведена схема размещения бесконтактного кондуктометрического детектора на стандартном микрочипе для капиллярного электрофореза. Такой детектор можно перемещать вдоль разделительного канала в любую его точку. Это дает возможность для каждой смеси оптимизировать условия разделения, наблюдая за ними в каждой точке канала. Быстрое перемещение детектора в начало канала (разделения нет) позволяет определять суммарное количество веществ в смеси, а размещение детектора в конце разделительного канала дает электрофореграмму (хроматограмму) с максимальным разрешением. То обстоятельство, что детектор может перемещаться вдоль микрочипа автоматически, позволяет существенно сократить общее

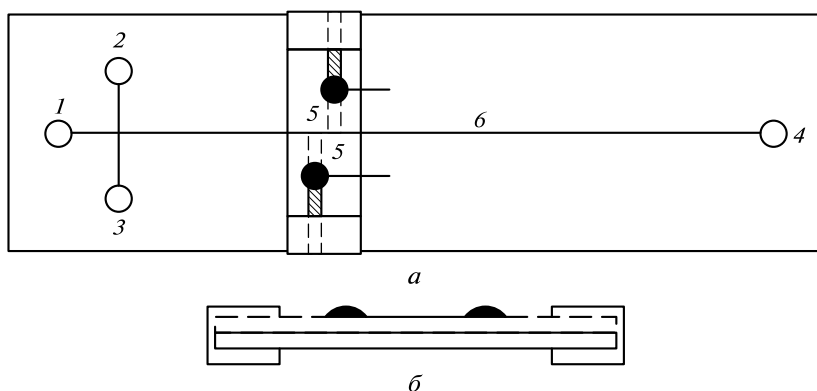


Рис. 17.10. Схема микрочипа типа «инжекционный крест» с размещенным на нем движущимся держателем электродов для бесконтактного кондуктометрического детектирования: *а* — вид сверху; *б* — вид с торца микрочипа; 1–4 — порты микрочипа; 5 — электроды; 6 — разделительный канал

время анализа: вначале детектор ставят в дальней части и детектируют быстро элюируемые вещества с высоким разрешением, затем перемещают его ближе к началу канала, где детектируют медленно элюируемые ионы.

17.7. Спектроскопические методы в микрофлюидных системах

Благодаря своей универсальности и, как правило, неdestructивности спектроскопические методы являются одними из самых востребованных и распространенных методов в микрофлюидных системах. Микрофлюидные системы гораздо чаще служат целям молекулярного, а не атомного анализа, поэтому доля методов молекулярной спектроскопии, особенно обеспечивающих селективность органического анализа (флуориметрия и ИК-спектроскопия), существенно выше. Тем не менее все достоинства и недостатки спектроскопических методов анализа и систем детектирования на их основе проявляются и в микрофлюидных системах.

Люминесцентная спектроскопия. Это — один из лучших методов детектирования в микрофлюидных системах. Несмотря на некоторые очевидные ограничения (применима только к образцам, обладающим природной флуоресценцией, требует подбора подходящей реакции для получения флуоресцирующих продуктов), люминесцентная спектроскопия — стандартный метод детектирования для любых методов разделения, осуществляемых в микрофлюидных системах: проточного анализа, хроматографического и электрофоретического. Это обусловлено рядом факторов.

1. Люминесцентный сигнал может быть вызван различными процессами: оптическим поглощением, ростом температуры, химической реакцией, т.е. метод применим для большого числа разнообразных задач.

2. Люминесцентная спектроскопия — силовой метод, т.е. интенсивность источника напрямую определяет чувствительность анализа. В микрочипах, когда

абсолютные количества (и концентрации) веществ резко снижаются, этот фактор становится одним из главных.

3. В микрофлюидных системах проводят детектирование в очень малых объемах ($\sim 10^{-15} - 10^{-9}$ л). Люминесцентная спектроскопия гораздо проще других методов может быть реализована на таком уровне.

4. Из законов люминесценции следует, что один высокоэнергетический (коротковолновый) и высокоинтенсивный источник обеспечивает высокие квантовые выходы большого числа веществ.

5. Микрофлюидные чипы часто используют при работе со сложными органическими и биологическими системами, а среди биологически активных веществ высока доля природных люминофоров.

Оптимальным источником излучения являются лазеры, поэтому самым чувствительным и наиболее часто используемым методом детектирования в микросистемах является *лазерно-индуцируемая флуоресценция*. Однако и нелазерные источники обладают важными достоинствами. Прежде всего, это — дешевые светодиоды.

Детектирование осуществляют путем освещения разделительного канала или реактора и измерения флуоресценции либо при помощи оптического микроскопа, расположенного над микрочипом (*флуоресцентная микроскопия*), либо при помощи многоканального детектора, аналогичного спектрофотометрическому. Микроскопия, особенно конфокальная, позволяет проводить детектирование на уровне $10^{-13} - 10^{-12}$ моль/л. С другой стороны, многоканальное детектирование, особенно с использованием видеодетекторов, позволяет получить большой объем информации при хроматографическом или электрофоретическом разделении, и при любой реакции в потоке, сопровождающейся образованием люминофоров.

Лазерно-индуцируемая флуоресценция — наиболее распространенный метод при биохимических исследованиях в микроаналитических системах. Метод хорошо зарекомендовал себя при детектировании биологически активных соединений, обладающих собственной флуоресценцией, например флавинов, а также соединений, которые могут быть легко превращены в производные с высокими выходами флуоресценции, например ДНК или катехоламины. Определение ДНК, как правило, сопровождается селективной реакцией с флуоресцирующим красителем — вставочным агентом. Благодаря наличию широкого выбора вставочных агентов идентификация ДНК не вызывает трудностей как в растворах, так и непосредственно в клеточных препаратах. В отличие от ДНК для белков не существует вставочных агентов, и флуоресцентное детектирование обычно требует маркирования подходящим флуорофором. Часто используют динамическое маркирование комплекса белка с додецилсульфатом натрия.

Благодаря тому что флуоресцентная спектроскопия является силовым методом, флуоресцентная лазерно-индуцируемая микроскопия в случае высоких квантовых выходов может привести к чувствительности на уровне единичных молекул, что пока недостижимо для других спектроскопических методов. Это определяется тем, что в спектроскопии поглощения измеряют потери энергии, и измерением непоглощенной энергии невозможно доказать, что потери вызваны именно поглощением (а не светорассеянием). Наличие же люминесценции однозначно свидетельствует об определенном взаимодействии электромагнитного излучения с веществом (причем весьма селективном). В этом случае, конечно, речь идет не о некотором интегральном сигнале флуоресценции (интенсивности), а о

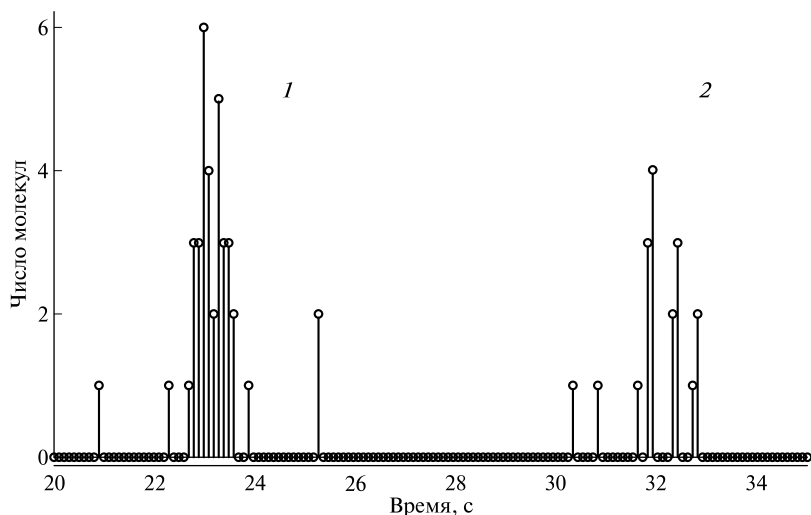


Рис. 17.11. Электрофоретическое разделение родамина 6Ж (1) и родамина С (2) в канале длиной 13,5 мм (10×40 мкм) с детектированием единичных молекул при помощи счетчика фотонов (концентрация родамина 6Ж — $1,5 \cdot 10^{-11}$ моль/л, родамина С — $3,0 \cdot 10^{-11}$ моль/л)

наблюдении отдельных фотонов (т. е. в качестве детектора необходимы счетчики фотонов, а единицей измерения становится число отсчетов в единицу времени, т. е. их частота). И хотя полностью эта задача еще не решена, но уже в настоящее время аналитическое применение детектирования отдельных молекул возможно (рис. 17.11)¹. Помимо многочисленных модельных систем детектирование единичных молекул достигнуто для ДНК и некоторых других биологических макромолекул. Это — ключевой момент при использовании лазерно-индуцируемой флуоресценции при электрофоретическом разделении биологических образцов в микрочипах.

Хемилюминесцентная спектроскопия. Среди спектроскопических методов анализа, используемых для детектирования, после электрофоретического разделения в микрочипах по распространенности после лазерно-индуцируемой флуоресценции следует хемилюминесцентная спектроскопия. Этот метод, как и лазерно-флуоресцентная спектроскопия, позволяет достичь очень высокой чувствительности определения (до уровня единичных молекул), а также имеет широкий диапазон линейности сигнала. Наиболее выгодной характеристикой, отличающей хемилюминесцентное детектирование, является простота прибора: нет необходимости включать источник света с определенными параметрами. Помимо электрофореза хемилюминесцентную спектроскопию используют в микрофлюидных ферментных биосенсорах, чаще всего на основе пероксидаз, катализирующих хемилюминесцентное окисление люминола.

Родственный хемилюминесценции метод — *электрохемилюминесценция*. На поверхности электрода осуществляют электрохимическую (или электрохимически индуцированную) реакцию, которая сопровождается хемилюминесценцией. В качестве электродов используют системы, применяемые для амперометрического

¹ Fister J. C., Jacobson S. C., Davis L. M., Ramsey J. M. // Anal. Chem. — 1998. — V. 70. — P. 431.

или вольтамперометрического определения. Как и при хемилюминесцентном детектировании, стараются использовать небольшое число высокочувствительных и хорошо изученных реакций. В электрохемилюминесценции — это реакция окисления комплекса *трис*-(бипиридилата) рубидия люминолом. Используют специальный реактор, который может работать в микрочипах, реализующих микропроточно-инжекционный анализ и электрофоретические определения.

Достоинством электрохемилюминесценции является высокая чувствительность и воспроизводимость, поскольку протекание реакции и, следовательно, выход хемилюминесценции определяются параметрами на электродах. Фактически этот метод сочетает достоинства хемилюминесцентного и электрохимического детектирования. Электрохемилюминесцентное детектирование не требует больших затрат, что позволяет добиться достаточно низкой себестоимости анализа. Распространено сочетание электрохемилюминесценции с амперометрическим детектированием на одном детекторе, что существенно расширяет круг определяемых веществ.

В качестве примера можно указать определение микроколичеств лекарственных препаратов и белков в варианте микропроточно-инжекционного анализа, а также определение сахаров и аминокислот, включающее предварительное концентрирование и проведение ферментативной реакции в микрореакторе, заполненном сорбентом, поверхностно-модифицированным глюкозооксидазой.

Спектрофотометрия. Спектрофотометрическое детектирование в микрофлюидных системах наименее отличается от своего макроаналога, и все достоинства (дешевизна, простота аппаратного оформления) и недостатки (спектральная неселективность как метода определения, относительно низкая чувствительность) метода справедливы и для микрофлюидных систем. Чаще всего используют спектрофотометрическое детектирование в УФ области в капиллярном электрофорезе органических смесей, особенно с использованием светодиодов (низкая стоимость), либо многоканальное детектирование. Предложено много решений для реальных образцов на основе проточно-инжекционного анализа. Среди них методы определения неорганических ионов (натрия, калия, кальция, железа) и органических соединений (мочевины, глюкозы, общего белка, дофамина и его аналогов, катехоламинов, других лекарственных веществ) в моче и крови. Пределы обнаружения 10^{-5} — 10^{-4} моль/л, диапазоны определяемых содержаний от $(2,5 - 20) \cdot 10^{-5}$ до $(2,5 - 20) \cdot 10^{-2}$ моль/л, т. е. три порядка. Однако во многих случаях флуориметрическое детектирование благодаря более высокой чувствительности ощущимо выгоднее.

ИК-спектроскопия и спектроскопия КР. В микроаналитической химии используют те же материалы, что и в обычной ИК-спектроскопии, чаще всего фторид кальция, который имеет высокие коэффициенты пропускания в широком диапазоне длин волн (170 — 7 800 нм) и может быть обработан при помощи описанных выше технологий. ИК-спектроскопия позволяет исследовать вторичную структуру белка, что невозможно при помощи флуоресцентных детекторов. Часто используют ИК-микроскопы, поскольку миниатюризация системы не снижает точности идентификации белков. Как и флуоресцентную спектроскопию, ИК-детектирование используют для слежения за ходом реакций.

Основные недостатки ИК-спектроскопии — малая чувствительность количественного анализа и трудность работы в водных растворах — естественно присущи и детектированию в микрофлюидных системах. Поэтому главной задачей

ИК-детектирования остается качественный анализ. Поскольку фторид кальция прозрачен и в видимой области, микрочип, изготовленный из этого материала, используют для одновременного детектирования аминокислот при помощи флуориметрии и ИК-спектроскопии. ИК-спектроскопия позволяет определить качественный состав смеси, а флуориметрия обеспечивает количественный анализ.

Что касается спектроскопии КР, то ее основные приложения можно использовать и в микрофлюидных системах. Так, показана возможность использования микрофлюидной системы для наблюдения за процессами в живых клетках. Топология микрочипа позволяет использовать для детектирования и другие колебательные спектроскопические методы. Намечается, в частности, тенденция использования комбинационного рассеяния, усиленного поверхностью.

Калориметрическая спектроскопия. Калориметрическая (термооптическая и фотоакустическая) спектроскопия не является широко распространенной областью аналитической спектроскопии, однако ее достоинства как лазерной спектроскопии (высокая чувствительность и локальность) делают этот метод весьма привлекательным для микроаналитических систем. Калориметрические методы, подобно флуориметрии, являются силовыми, т.е. потенциально обеспечивают чувствительность измерения, сравнимую с чувствительностью лазерно-индуцированной флуоресценции (на уровне отдельных молекул!), но для нефлуоресцирующих молекул.

Наиболее распространено сочетание калориметрического детектирования с микропроточно-инжекционным анализом и электрофоретическим детектированием. Используют в основном стеклянные и пластмассовые чипы.

Калориметрическую спектроскопию в варианте микропроточно-инжекционного анализа применяют для определения биологически активных веществ (витаминов, каротиноидов, катехоламинов и др.) в моче, крови и фармацевтических препаратах на уровне 10^{-7} моль/л, что превосходит по чувствительности фармакопейные методы.

Поскольку калориметрическая спектроскопия предполагает нагрев образца, появляется возможность управлять температурой анализируемого образца, что можно в свою очередь использовать для контроля химических реакций (прежде всего ферментативных). При лазерном нагреве потока жидкости в канале микрочипа (5 нл) можно добиться скоростей нагрева и охлаждения 50—60 К/с, что в десятки раз превосходит возможности традиционно используемых нагревателей и в 3—6 раз выше скорости нагрева при помощи электротермических микронагревателей. Пределы обнаружения веществ составляют 10^{-13} моля.

Среди других биологических приложений калориметрической спектроскопии в интегрированных микросистемах можно выделить разработку микросистемы, включающей сканирующий микроскоп, для исследования поглощения клеточных структур. Этот вариант исследований процессов в клетке *in vivo* может быть применен к нефлуоресцирующим препаратам и не требует маркеров. Пространственное разрешение прибора — до 1 мкм, минимальное абсолютное количество определяемого соединения составляет 10^{-22} моля.

Спектроскопия ЯМР. Этот метод не является массовым аналитическим методом; одна из причин этого — сложность и дороговизна оборудования. В результате одним из главных направлений развития спектроскопии ЯМР является миниатюризация приборов, что уже привело к созданию компактных ЯМР-зондов.

Многие ЯМР-спектрометры сами по себе представляют микроаналитические системы, хотя и не включают микрофлюидные чипы.

ЯМР-зонды с микрофлюидными чипами могут быть использованы для экспрессного и чувствительного определения. При создании таких микрофлюидных ЯМР-зондов чаще всего используют технологии микрообработки для создания плоских катушек-соленоидов на подложке из стекла или полупроводниковых материалов. Такие ЯМР-детекторы имеют щель шириной, намного меньшей, чем рабочая длина волны. Здесь наводится магнитное поле с высокой гомогенностью, которое практически не создает электрического поля вблизи анализируемого образца. Это обеспечивает высококачественную магнитную индукцию с минимальными краевыми эффектами, т.е. значительное спектральное разрешение. Такой блок обладает существенно меньшими размерами, чем длины волн, обычно используемые в спектроскопии ЯМР, его рабочие размеры могут составлять не миллиметры, как в традиционных ЯМР-зондах, а микрометры. Такой ЯМР-зонд позволяет проводить анализ в объемах порядка 1 — 10 нл.

Атомная спектроскопия. На первый взгляд, атомно-спектроскопические методы не слишком подходят для рассматриваемой цели, но созданы микродетекторы на основе атомно-эмиссионного анализа. Атомизация осуществляется индуктивно связанной плазмой (в микрофлюидных системах чаще используют гелиевую, а не аргоновую плазму), тлеющим разрядом и микроволновым нагревом. Такие детекторы используют даже для определения органических соединений (по испусканию молекул CN и CO) после обычного газохроматографического разделения, т.е. можно говорить о создании новых типов детекторов для хроматографии. Для газовой хроматографии разработан микропламенно-ионизационный детектор, основанный на достижениях в области создания микрогорелок и обеспечивающий пределы обнаружения $10^{-7}\%$.

17.8. Масс-спектрометрия для микрофлюидных систем

В случае масс-спектрометрии миниатюризация и интеграция наиболее сложны. Метод востребован, но весьма дорог и сложен с инструментальной точки зрения. Одной из задач является миниатюризация и удешевление приборов, чтобы метод стал массовым.

Миниатюрные масс-спектрометры можно, в принципе, создавать методами, используемыми в микроэлектронике. Например, основные узлы секторного масс-спектрометра с двойной фокусировкой имеют размеры $4 \times 4 \times 2$ см. Размеры и масса такого спектрометра на несколько порядков меньше, чем обычного стационарного прибора. Такие миниатюрные приборы потребляют всего 2,5 Вт энергии и обеспечивают разрешение 10^3 , пределы обнаружения до $10^{-3}\%$ и динамический диапазон 5 порядков. Микромасс-спектрометры нужны для анализа в полевых условиях, на космических кораблях и т.д. Например, созданы миниатюрный лазерный времяпролетный масс-спектрометр для элементного, изотопного и органического анализа образцов почвы без пробоподготовки, миниатюрный квадрупольный масс-спектрометр (и газовый хроматограф) для космических исследований. В последнем случае масс-спектрометр имеет размеры около 5 см и массу около 2 кг (рис. 17.12). Прибор предназначен для определения азота, кис-

лорода, гидразина и аммиака в атмосферах планет при помощи автоматических спускаемых аппаратов.

Однако эта задача исключительно трудна. Существенного прогресса в удешевлении масс-спектрометрии можно достичь при миниатюризации даже одного из блоков масс-спектрометра, в том числе и с использованием микрофлюидных технологий. Аналогично газовой и жидкостной хроматографии и капиллярному электрофорезу, которые при сочетании с масс-спектрометром создают фактически самостоятельные гибридные методы с уникальными аналитическими характеристиками, сочетание разделения в микрофлюидных системах с масс-спектрометрическим детектированием приводит к значительному расширению возможностей методов и их гибридизации.

Чаще всего речь идет о миниатюризации узлов ввода пробы. Например, предложен способ введения пробы в MALDI-спектрометр — электросмачивание на диэлектрике. Локальной смачиваемостью поверхности диэлектриков можно управлять приложением потенциала между электродами, расположенными в глубине их слоя. Последовательно прикладывая определенные потенциалы к нужным электродам, можно заставить микрокапли анализируемой жидкости двигаться по поверхности к нужным местам на планшете.

Используя специальные микрореакторы на микрофлюидных чипах, помещенные в масс-спектрометры, можно изучать простые реакции типа $A + B = C$ в режиме on-line. Микрореактор состоит из двух входов для ввода реагентов и выхода продукта (по 1 — 5 мкл). Такого рода системы находят применение при определении последовательности аминокислот в белках с времяпролетным масс-спектрометрическим анализом отщепленных пептидов. После образования продукт реакции покидает микрочип и сразу ионизируется лазером. Такие системы можно использовать и для изучения кинетики реакций.

Микрофлюидные чипы используют и для масс-спектрометрии с электрораспылением. После движения по каналу проба попадает к нанораспылительной игле (рис. 17.13) и далее к масс-спектрометру. Жидкость может быть введена непрерывным потоком или импульсно. Можно проводить автоматизированный анализ множества проб. В этом случае большую важность приобретает малое время анализа, обеспечиваемое микрочипами. Описан масс-спектр всего $3,4 \cdot 10^{-19}$ моля грамицидина S из 10^{-7} М раствора, полученный за 10 мс.

Распространено сочетание масс-спектрометрии с электрофоретическим или хроматографическим разделением на микрочипах. На одном микрочипе можно создать множество независимых систем каналов и добиться высокоэффективного разделения за небольшое время (порядка 1 мин). Например, для неорганиче-



Рис. 17.12. Миниатюрный квадрупольный масс-спектрометр (размеры $5 \times 5 \times 5$ см; масса 2 кг)

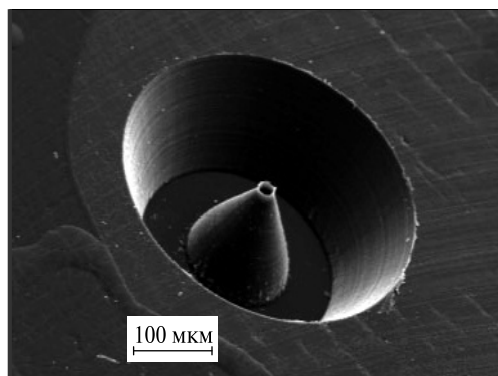


Рис. 17.13. Электронная микрофотография распылительной иглы в ПММА-микрочипе для масс-спектрометрического анализа с электрораспылением (внутренний диаметр сопла 30 мкм)

ского анализа методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой применяют стеклянные микрофлюидные чипы, которые позволяют определять неорганические ионы всего за 30 с.

При сочетании с хроматографическим разделением распространение получила так называемая высокоэффективная микрофлюидная обработка пептидных смесей на специально подготовленном компакт-диске. Проба и реагенты автоматически наносятся на центр диска в специальные входные отверстия. Диск враща-

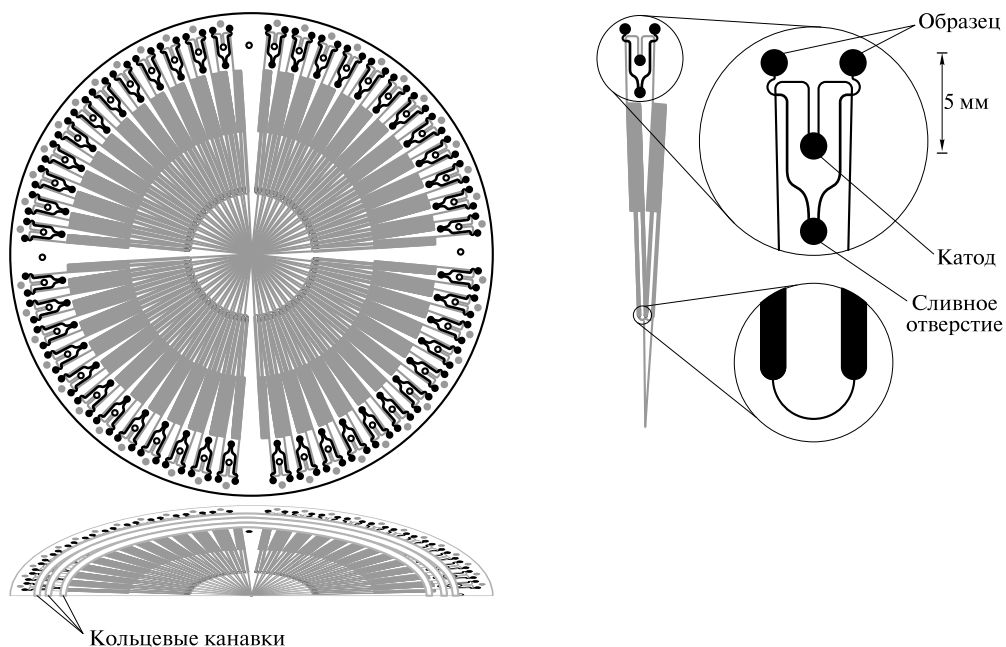


Рис. 17.14. Внешний вид компакт-диска с 96 параллельными каналами для одновременного анализа ДНК методом полимеразной цепной реакции

ется, и центробежные силы перемещают жидкость через множество микроструктур, каждая из которых представляет собой колонку для обращенно-фазовой хроматографии рабочим объемом 10 нл (рис. 17.14). При прохождении через такие колонки пептиды концентрируются, разделяются и элюируют из колонок прямо на места последующего масс-спектрометрического анализа (площадью 200 — 400 мкм). Элюент содержит MALDI-матрицу, поэтому после его испарения пептиды сразу оказываются закристаллизованными в нее. Далее диск помещают в масс-спектрометр для анализа. Такое устройство обеспечивает параллельное приготовление 96 образцов объемом до нескольких микролитров каждый. Предел обнаружения $5 \cdot 10^{-17}$ моля белков.

Пробоподготовка для масс-спектрометров может заключаться в предварительном концентрировании на микроканалах, например, при помощи сорбирующих патронов или жидкостной проточной экстракции, а также в выделении определенных соединений из исходных смесей.

17.9. Микросистемы полного химического анализа

Микросистемы полного химического анализа, или «лаборатории на микрочипах», представляют собой наиболее полную реализацию принципов миниатюризации и интеграции (а также подчас и автоматизации). Проведение полного цикла химического анализа в микрочиповых аналитических системах рассматривалось как одно из основных достоинств с самого начала возникновения этого направления. Фактически устройства рассматриваемого типа представляют собой аналитические устройства размером несколько сантиметров (или менее) либо микрофлюидную систему, на которой реализованы все стадии химического анализа. Такое устройство, естественно, дополняют компактным или карманным прибором для его использования. Хороший и близкий аналог этому: компакт-диск как источник информации и компактный проигрыватель для ее использования. Системы полного химического анализа должны быть дешевыми и легко сменяемыми, а соответствующие им приборы — компактными, относительно дешевыми и по возможности универсальными.

В устройствах чтения компакт-дисков необходимы мотор для вращения диска и средство чтения информации (лазер). В аналитических приборах, по аналогии, имеются либо насос (для реализации систем полного химического анализа на основе проточно-инжекционного анализа, проточной экстракции или хроматографии), либо блок питания для реализации электромиграционных методов. Другим базовым элементом является детектор (лампа, или лазер + фотодиод, или фотоэлектронный умножитель для оптических методов, или электрохимический детектор). В связи с многообразием задач анализа существует большое число систем полного анализа. Такие системы служат для решения трех основных задач:

- 1) проведение экспресс-анализов, особенно в мобильном варианте, при скрининге проб и т. п.;

- 2) обеспечение как можно более простых решений для неквалифицированных пользователей; аналог такой задачи для обычных химических методов — разработка тест-методов в виде индикаторных бумаг, тест-трубок;

- 3) автоматизация многостадийных и сложных методик анализа.

Одно устройство может решать не одну, а две или даже три задачи, например при анализе биологических жидкостей на наркотические или лекарственные вещества.

Первая задача обычно решается за счет хроматографического или электрофоретического разделения с простым детектором (катарометром, кондуктометром или флуориметром), поскольку часто задача экспрессного определения сопровождается необходимостью скрининга большого числа проб. Достоинство систем полного химического анализа в том, что к выходу такой системы можно присоединить более мощный прибор, например ЯМР- или масс-спектрометр для более детального анализа пробы. Помимо систем на основе методов разделения часто используют и биоаналитические методы. В частности, иммуноферментный анализ в сочетании с оптическим детектированием для определения иммуноглобулина человека и гамма-интерферона характеризуется простыми методиками, а время анализа снижается от 24 до 1 ч.

Решение второй задачи — упрощение сложных методик для неподготовленных пользователей и массовых анализов — в основном требуется в клинических и криминалистических лабораториях. Основная задача часто связана с проведением сложных реакций типа реакции гибридизации ДНК, взаимодействия белков с рецепторами и особенно полимеразной цепной реакции.

Метод полимеразной цепной реакции является прямым методом идентификации ДНК (РНК), лежащим в основе генодиагностики. В основе полимеразной цепной реакции лежит достраивание ДНК исходной матрицы, осуществляемое с помощью фермента термостабильной ДНК-полимеразы с возможностью многократного повторения такого процесса. Эта реакция включает несколько стадий:

- 1) денатурацию ДНК (т.е. распад двойной спирали);
- 2) образование коротких двухцепочечных стартовых блоков ДНК на специфических участках денатурированных ДНК при помощи специально подобранных олигонуклеотидов; так называемое присоединение праймеров;
- 3) синтез новой цепи ДНК (комплементарное достраивание обеих нитей денатурировавшей ДНК при помощи ДНК-полимеразы).

Главная задача второй стадии — обеспечение селективности. Праймеры создают участки двухцепочечной ДНК, что направляет процесс синтеза новой цепи на третьей стадии только внутри этого участка, а не по всей длине цепи ДНК. Праймеры представляют собой две олигонуклеотидные затравки (по 20 — 30 нуклеотидных пар), комплементарные последовательностям ДНК на левой и правой границах специфического фрагмента, и ориентированные таким образом, что достраивание новой цепи ДНК протекает только между ними. Продуманный подбор участков ДНК (т.е. праймеров) позволяет направленно синтезировать участки ДНК, специфичные для конкретных микроорганизмов, например селективно выявлять геном возбудителей инфекционных заболеваний в исследуемом объекте. Другие методы, нацеленные на ту же задачу, позволяют определять только белки-маркеры, являющиеся продуктами жизнедеятельности микроорганизмов, т.е. являются косвенными. Выявление же специфического участка ДНК методом полимеразной цепной реакции дает прямое свидетельство.

Первую и третью стадии осуществляют при различных температурах, при этом ДНК-полимераза в процессе работы не разрушается. Таким образом, циклическое изменение температуры реакционной смеси по определенному протоколу (термоциклирование) приводит к экспоненциальному накоплению (амплификации)

ДНК. Другими словами, чувствительность определения в методе полимеразной цепной реакции фактически составляет одну молекулу полинуклеотида и определяется временем амплификации (числом циклов термоциклирования). Реальная чувствительность анализа методом полимеразной цепной реакции составляет 10—1 000 клеток с искомым геномом в пробе (что примерно в 100 раз чувствительнее методов микроскопического анализа).

Для определения специфических участков генома (РНК-вирусы, которые ДНК не имеют) перед собственно анализом методом полимеразной цепной реакции получают ДНК-копию исходной РНК, используя так называемую реакцию обратной транскрипции, катализируемую ферментом ревертазой (обратной транскриптазой).

Полный цикл биохимического анализа методом полимеразной цепной реакции помимо собственно полимеразной цепной реакции включает также пробоподготовку образцов (лизис клеток, удаление белков, липополисахаридов и т. п.), а после амплификации проводят собственно разделение и определение получившихся фрагментов при помощи капиллярного электрофореза. В целом даже при унификации обработки исходных проб и автоматизации процесса амплификации полный анализ требует длительного (3—5 ч) времени. Проведение же полимеразной цепной реакции в системе полного химического анализа позволяет существенно снизить время анализа (до нескольких минут), обеспечить непрерывное предварительное разделение исходных проб, термоциклирование и последующее электрофоретическое разделение. Для этого разработаны системы на основе микропипетов для капиллярного электрофореза.

Собственно полимеразную цепную реакцию проводят в проточном микрореакторе (рис. 17.15), представляющем собой спираль, расположенную в планарном микрофлюидном чипе. Для термоциклирования в микрочипе по ходу движения жидкости создаются локальные зоны поддержания заданной температуры смеси для проведения первой и третьей стадий.

Третья задача использования систем полного химического анализа — быстрое получение большого объема сложной аналитической информации — тесно связана с предыдущей. В традиционном варианте анализа это неизбежно ведет к большим затратам времени и труда и использованию большого числа приборов. Использование же систем полного химического анализа позволяет интегрировать аналитические методики практически любой сложности в компактный прибор, позволяющий к тому же одновременно анализировать большое число образцов. Попутно решают и две предыдущие задачи: снижают требования к персоналу (и затраты на реагенты) и резко сокращают время анализа.

Помимо этого системы полного химического анализа используют для микросинтеза с детектированием on-line результатов этого синтеза. В основном эти методы основаны на использовании двухфазных систем с образованием продуктов синтеза на границе

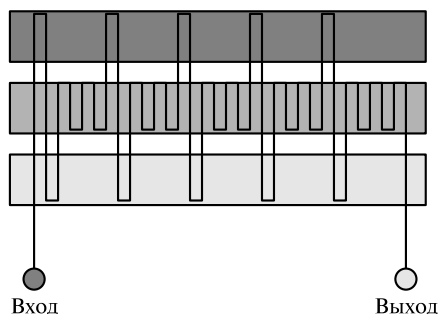


Рис. 17.15. Схема проточного реактора для микрофлюидного анализа методом полимеразной цепной реакции (участки с разной температурой окрашены с различной интенсивностью)

раздела фаз и оптическим детектированием образовавшихся соединений в фазе-приемнике. Эти микрофлюидные системы сочетают избирательность реакций на границе раздела фаз с высокой чувствительностью детектирования в потоке. Микровариант синтеза, как и в случае анализа, позволяет резко сократить количество дорогостоящих реагентов и повысить выход реакции.

Безусловно, рассмотренное направление находится в стадии развития, но принципы, по которым оно прогрессирует, уже ясны, и мы в дальнейшем увидим ряд принципиально новых решений и подходов, которые могут изменить как области использования, так и сам облик химико-аналитической лаборатории.

Контрольные задания

1. Какие достоинства микропотоков вызвали развитие микроаналитических систем?
2. Назовите основные элементы микроаналитических систем.
3. Оцените, во сколько раз снизится время анализа, если оно определяется диффузионными процессами, при уменьшении линейных размеров от 10 мм до 100 мкм.
4. Почему капиллярный электрофорез является самым распространенным методом разделения в микрофлюидных системах?
5. Почему именно развитие микрофлюидных технологий вызвало возрождение электрофореза в свободном потоке и изотахофореза как аналитических методов?
6. Назовите основные методы детектирования в микрофлюидных системах и их достоинства.
7. Какие основные задачи решают при миниатюризации масс-спектрометрического анализа?
8. Какие новые детекторы разработаны специально для микроаналитической химии?
9. Кратко опишите основные задачи, решаемые при помощи систем полного химического анализа.
10. Какие объекты анализа наиболее часто анализируют средствами микроаналитической химии и почему?

Список литературы

Зими́на Т. М. От сенсоров к микроаналитическим системам / Т. М. Зими́на, В. В. Лу́чинин. — М. : Техносфера, 2005.

Эггинс Б. Химические и биологические сенсоры / Б. Эггинс. — М. : Техносфера, 2005.

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБЫ К АНАЛИЗУ

18.1. Отбор пробы

Химический анализ начинают с отбора и подготовки пробы к анализу. Следует отметить, что все стадии анализа связаны между собой. Так, тщательно измеренный аналитический сигнал не дает правильной информации о содержании определяемого компонента, если неправильно проведены отбор или подготовка пробы к анализу. В большинстве случаев именно отбор и подготовка пробы к химическому анализу лимитируют надежность и в целом качество получаемых результатов, а также трудоемкость и продолжительность аналитического цикла.

Погрешность при отборе и подготовке пробы часто определяет общую погрешность определения компонента и делает бессмысленным использование высокоточных методов и методик. Отбор и подготовка пробы зависят от природы анализируемого объекта, поставленной задачи и выбранного способа измерения аналитического сигнала. Приемы и порядок отбора пробы и ее подготовки настолько важны при проведении массового химического анализа, что обычно предписываются государственными стандартами (ГОСТ).

Для проведения анализа, как правило, берут так называемую *представительную (среднюю)* пробу. Это небольшая часть анализируемого объекта, средний состав и свойства которой должны быть идентичны во всех отношениях среднему составу и свойствам исследуемого объекта.

Различают генеральную, лабораторную и анализируемую пробы.

Генеральная проба (называемая иногда первичной, большой или грубой) отбирается непосредственно из анализируемого объекта, часто через ряд промежуточных проб. Она достаточно большая — обычно 1 — 50 кг, для некоторых объектов (например руды) составляет иногда 0,5 — 5 т.

Из генеральной пробы путем ее сокращения отбирают *лабораторную пробу* (обычно от 25 г до 1 кг). Одну часть лабораторной пробы используют для предварительных исследований, другую — сохраняют для возможных в будущем арбитражных анализов, третью — используют непосредственно для анализа (анализируемая проба). В случае необходимости пробу измельчают и усредняют.

В *анализируемой пробе* проводят несколько определений компонента из отдельных навесок 10 — 1 000 мг (если анализируемый объект — твердое вещество) или аликвот (если анализируемый объект — жидкость или газ). Содержание определяемого компонента в анализируемой пробе должно отражать среднее содержание этого компонента во всем исследуемом объекте, т. е. анализируемая проба должна быть представительной. Насколько это важно, можно показать на ряде примеров. Так, при массе анализируемой пробы 1 — 10 г оценивают среднее содержание определяемого компонента в генеральной пробе массой несколько тонн и, в конечном счете, например, запас компонента в месторождении. Определение содержания физиологически активного компонента в анализируемой пробе

из одной или нескольких таблеток дает основание для оценки эффективности всей партии лекарственного препарата. Эти примеры показывают необходимость правильного отбора пробы. Напомним, что погрешность в отборе пробы часто определяет общую погрешность химического анализа и, не оценив погрешности на этой стадии, нельзя говорить о правильности определения компонента в анализируемом объекте.

Чем больше материала отобрано для пробы, тем она представительнее. Однако с очень большой пробой трудно работать, это увеличивает время анализа и расходы на него. Таким образом, отбирать пробу нужно так, чтобы она была представительной и не очень большой.

Способы отбора пробы

Способы отбора пробы и размер пробы определяются прежде всего физическими и химическими свойствами анализируемого объекта. При отборе пробы следует учитывать:

1) агрегатное состояние анализируемого объекта (способы отбора пробы различны для газов, жидкостей и твердых веществ);

2) неоднородность анализируемого материала и размер частиц, с которых начинается неоднородность (чем однороднее вещество, тем проще отобрать пробу);

3) требуемую точность оценки содержания компонента во всей массе анализируемого объекта в зависимости от задачи анализа и природы исследуемого объекта (так, при определении физиологически активного компонента в лекарстве требуется большая точность, чем при определении содержания металла в руде для оценки рентабельности месторождения).

Один из факторов, который нужно учитывать при выборе способа отбора пробы, — возможность изменения состава объекта и содержания определяемого компонента во времени; например, переменный состав воды в реке, колебания состава дымовых газов промышленного предприятия, изменение концентрации компонентов в пищевых продуктах и т. д.

Рассмотрим подробнее отбор пробы газов, жидкостей и твердых веществ.

Отбор пробы газов. Степень однородности газов и смесей газов велика: неоднородность наблюдается лишь на молекулярном уровне. Поэтому генеральная проба может быть относительно небольшой и отбор пробы обычно не представляет трудностей. Пробу газа отбирают, измеряя его объем при помощи вакуумной мерной колбы или бюретки с соответствующей запорной жидкостью, используют адсорбирующие газ патроны, часто конденсируют газ в ловушках разного типа при низких температурах. По-разному отбирают пробу газа из замкнутой емкости и из потока. В замкнутой емкости (например, цех предприятия, рабочая комната и т. д.) пробу газа отбирают в разных точках, в зависимости от задачи объема газа смешивают или анализируют отдельно каждую пробу. При отборе пробы из потока газа обычно используют *метод продольных струй* или *метод поперечных сечений*. Метод продольных струй применяют, если состав газа вдоль потока не меняется. В этом случае поток делят на ряд струй вдоль потока, и пробы газа отбирают в струях через одну (рис. 18.1, а). Если состав газа вдоль потока меняется, то пробы берут на определенных расстояниях (часто через специальные отверстия в трубах) вдоль потока (рис. 18.1, б).

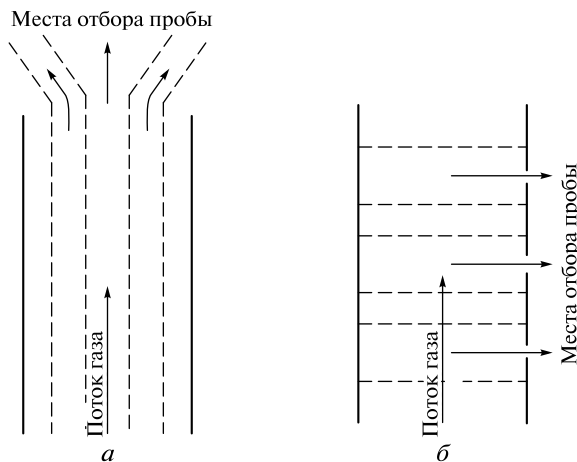


Рис. 18.1. Отбор пробы газа в потоке:

а — метод продольных струй; *б* — метод поперечных сечений (стрелками показаны места отбора проб)

Поскольку состав анализируемых газов часто меняется во времени (например, в зависимости от графика работы предприятий, состояния атмосферы, температуры в помещениях и т.д.), то в зависимости от требуемой информации пробы усредняют или анализируют отдельно объемы газов, отобранные в разное время.

Отбор пробы жидкостей. Способы отбора пробы гомогенных и гетерогенных жидкостей различны.

Гомогенные жидкости, как и газы, отличаются высокой степенью однородности, поэтому способы отбора пробы относительно просты. Смеси таких жидкостей, как правило, хорошо перемешиваются и также гомогенны. Пробу гомогенной жидкости отбирают при помощи пипеток, бюреток и мерных колб. Отбор пробы из общей емкости проводят после тщательного перемешивания. Это важно, так как в поверхностном слое жидкости могут проходить различные химические реакции, меняющие состав образца. Если по какой-либо причине (например, из-за большого объема) жидкость нельзя хорошо перемешать, то отбор пробы проводят на разной глубине и в разных местах емкости и в зависимости от решаемой задачи пробы анализируют отдельно или перемешивают.

Отбор гомогенной жидкости из потока проводят через определенные интервалы времени и в разных местах (рис. 18.2, *а*).

Для отбора проб на разной глубине используют специальные пробоотборные устройства — батометры различной конструкции. Основная часть батометра — цилиндрический сосуд вместимостью 1—3 л, закрывающийся сверху и снизу крышками. После погружения в жидкость на заданную глубину крышки цилиндра закрывают и сосуд с пробой поднимают на поверхность. Место и время отбора жидкости выбирают в зависимости от решаемой задачи. Например, при анализе сточных вод необходимо: согласовать время и место отбора пробы с технологическим процессом; учитывать прохождение сточной воды через очистные сооружения; анализировать не только воду самих стоков, но и воду водоема ниже и выше впадения в него стока, что покажет, насколько водоем загрязняется сточ-

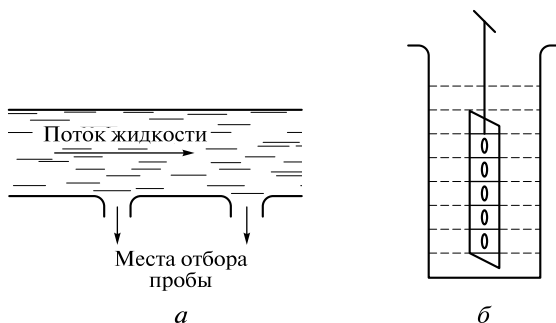


Рис. 18.2. Отбор пробы:

а — однородной жидкости в потоке; *б* — гетерогенной жидкости пробоотборником с изолированными ячейками

ными водами. Существуют также правила, регламентирующие место и время отбора природных вод в реках, озерах и других водоемах.

Пробы *гетерогенных жидкостей* отбирают не только по объему, но и по массе. Чтобы отобрать пробу, поступают по-разному: в одних случаях жидкость гомогенизируют, в других, наоборот, добиваются полного ее расслоения. Гомогенизацию проводят, изменяя температуру, перемешивая жидкость или подвергая ее вибрации. Если гомогенизировать жидкость невозможно, то ее расслаивают и отбирают пробу каждой фазы, используя при этом специальные пробоотборники с большим числом забирающих камер (рис. 18.2, *б*). Так отбирают на анализ различные фракции продуктов и полупродуктов нефтеперерабатывающей промышленности. Обычно пробу берут после отстаивания смеси жидкостей в чанах или цистернах.

Таким образом, в зависимости от природы жидкости и решаемой задачи при анализе может меняться способ и время отбора пробы, ее размер. Заметим, что размер генеральной пробы жидкости, хотя и меняется в известных пределах, но все же обычно невелик и не превышает нескольких литров или килограммов:

Вещество	H ₂ SO ₄	HCl	HNO ₃	H ₂ O	Моторный бензин
Генеральная проба	1,0 кг	1,0 кг	0,1 кг	2—5 л	2 л

Отбор пробы твердых веществ. При отборе генеральной, лабораторной и анализируемой проб твердых веществ прежде всего возникает вопрос о размере пробы, который должен обеспечивать ее представительность. Оптимальная масса пробы обусловлена неоднородностью анализируемого объекта, размером частиц, с которого начинается неоднородность, и требованиями к точности анализа. Зависимость массы Q представительной пробы от размера (диаметра d) неоднородных частиц показана ниже:

d , мм	40—50	25	10	5	3	2	1
Q , кг	50—3 · 10 ³	10—700	2—100	0,5—25	0,2—10	0,1—5	0,02—1

Для расчета оптимальной массы представительной пробы существует несколько приемов. Часто используют приближенную *формулу Ричердса — Чечкота*:

$$Q = Kd^2,$$

где Q — масса пробы, обеспечивающая ее представительность, кг; K — эмпирический коэффициент пропорциональности, характеризующий степень неоднородности распределения определяемого компонента в материале, он меняется в пределах 0,02 — 1,0; d — наибольший диаметр неоднородных частиц, мм.

В более точных расчетах используют *формулу Бенедетти — Пихлер*:

$$s_r = \sqrt{\frac{1}{P_A} \frac{\rho_A}{\rho} \frac{1}{N} \frac{1}{\omega}}, \quad (18.1)$$

где s_r — относительное стандартное отклонение, характеризующее погрешность отбора пробы; P_A — доля фазы, содержащей определяемый компонент А во всей массе анализируемого объекта; ρ , ρ_A — плотность материала анализируемого объекта и фазы, содержащей определяемый компонент А, г/см³; N — число частиц в 1 г материала пробы с наибольшим диаметром частиц d (мм) и плотностью ρ (значение N в этом случае оценивают по номограмме, рассчитанной для частиц сферической формы; рис. 18.3); ω — оптимальная масса пробы, г.

Способы отбора генеральной пробы твердого вещества различны для веществ, находящихся в виде целого (слиток, стержни, прутья и т.д.) или сыпучего продукта. При пробоотборе от целого твердого объекта необходимо учитывать, что он может быть неоднороден. Например, состав массы отливки отличается от состава ее поверхности вследствие постепенного остывания металла. Так, при затвердевании чугуна его примеси вытесняются внутрь; неравномерно распределяются в слитках стали углерод, сера, фосфор. Процесс расслаивания в слитках металлов и сплавов называют *ликвацией*. Учитывая возможную неоднородность целого анализируемого объекта, при отборе пробы его либо дробят, если вещества хрупкие, либо распиливают через равные промежутки, либо высверливают в разных местах слитка (рис. 18.4).

Отбор пробы сыпучих продуктов тем труднее, чем неоднороднее анализируемый объект: в пробе должны быть представлены куски разного размера, полно отражающие состав образца. При отборе пробы сыпучих продуктов массу иссле-

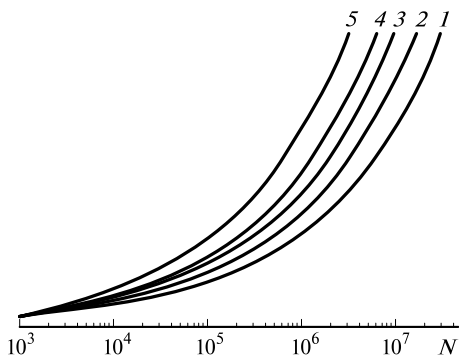


Рис. 18.3. Приближительное соотношение между числом частиц N в 1 г материала пробы и максимальным диаметром частиц d при плотности анализируемого вещества $\rho = 1$ (1), 2 (2), 3 (3), 5 (4), 10 (5) г/см³

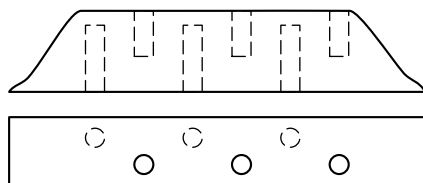


Рис. 18.4. Отбор средней пробы металла или сплава высверливанием

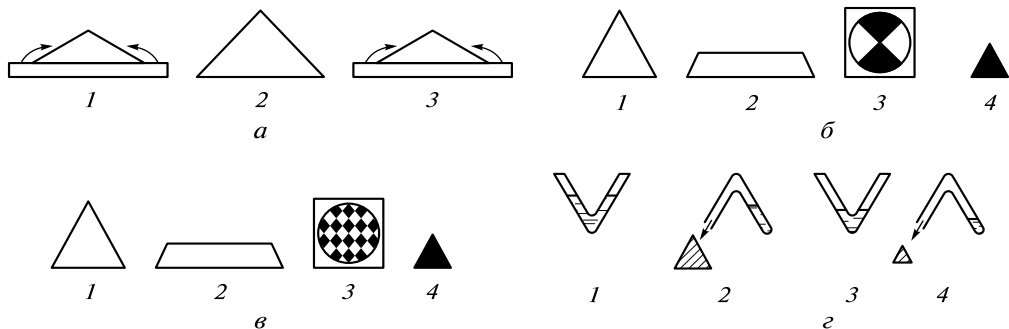


Рис. 18.5. Перемешивание и сокращение пробы:

а — метод конуса и кольца; *б* — квартование; *в* — шахматный способ отбора; *г* — механический делитель; 1–4 — последовательность действий

двумя объектами перемешивают и пробу отбирают в разных местах емкости и на разной глубине, используя при этом специальные шупы-пробоотборники. Если материал объекта транспортируют, то пробу отбирают с транспортера или желоба через равные промежутки времени, при другом способе транспортировки берут на анализ, например, каждую десятую лопату, тачку и т.д.

После отбора представительной пробы твердого вещества проба (генеральная, лабораторная или анализируемая) проходит ряд этапов подготовки. Прежде всего, осуществляют процесс *гомогенизации*, включающий операции измельчения (дробления) и просеивания. Пробы, содержащие крупные куски, разбивают в дробильных машинах и мельницах разного типа; пробы, содержащие меньшие куски, измельчают в шаровых мельницах и специальных ступках из закаленной инструментальной стали, состоящих из плиты-основания, закрепляющего кольца и пестика (ступки Абиха или Платтнера). Для тонкого измельчения используют фарфоровые, агатовые, яшмовые и кварцевые ступки с пестиками из такого же материала.

Поскольку в процессе дробления куски разного размера растираются по-разному (мягкие материалы измельчаются гораздо быстрее, чем твердые), возможны потери в виде пыли, приводящие к изменению состава пробы. Чтобы избежать этого, в процессе измельчения периодически делят крупные и мелкие частицы просеиванием, и крупные частицы растирают отдельно. Операции измельчения и просеивания чередуют до тех пор, пока не получают достаточно растертую однородную пробу.

Следующий этап отбора пробы — *усреднение*, включающее операции перемешивания и сокращения пробы. Перемешивание проводят механически в емкостях (ящики, коробки и т.д.), перекачиванием из угла в угол на различных плоскостях (брезентовые полотнища, листы бумаги и т.д.), перемешиванием методом конуса и кольца (рис. 18.5, *а*). Малые по объему пробы хорошо перемешиваются при растирании в шаровых мельницах.

Сокращение пробы проводят различными способами (рис. 18.5, *б–г*). Этот процесс, как правило, многостадийный, включающий повторное перемешивание и деление. Степень сокращения может быть определена заранее на основании расчета размера генеральной и анализируемой проб, которые получают в результате последовательного уменьшения объема анализируемого объекта.

Потери и загрязнения при пробоотборе. Хранение пробы

В процессе отбора и хранения пробы возможны потери определяемых компонентов, внесение загрязнений, изменение химического состава. Все это приводит к увеличению общей погрешности анализа.

Так, *потери в виде пыли* при измельчении твердых образцов горных пород могут составлять до 3 % массы объекта. Если состав пылевой фракции отличается от состава образца, то это приводит к неправильному определению содержания компонентов. Потери в виде пыли можно в заметной степени уменьшить просеиванием пробы при измельчении.

Другой возможный источник ошибок при отборе и хранении пробы — *потери летучих продуктов* вследствие изменения температурного режима при хранении или разогрева при измельчении твердых образцов. Так, при измельчении горных пород, руд и минералов наблюдаются заметные потери таких летучих компонентов, как вода, ртуть, сера, таллий. При изменении температуры особенно велики потери летучих органических соединений, определяемых в различных природных и промышленных объектах.

Большими могут быть также *потери вследствие адсорбции* определяемого компонента на поверхностях емкостей для отбора и хранения пробы.

В процессе отбора (особенно измельчения) и хранения пробы в образце (прежде всего на поверхности) могут проходить *химические реакции*, меняющие состав анализируемого объекта. Обычно это — взаимодействие с компонентами атмосферы, окислительно-восстановительные реакции и др. Так, известно, что концентрация пестицидов в растениях, почве со временем значительно понижается, что обусловлено прежде всего химическими превращениями пестицидов. При анализе геологических образцов в процессе пробоотбора наблюдаются заметные потери определяемых компонентов вследствие окисления (сера, рений, железо(II)) или восстановления (ртуть). Потери ртути в пробе, если не принять особых мер предосторожности, могут достигать 60 %.

В процессе отбора и хранения пробы возможно изменение ее состава из-за загрязнения компонентами, поступающими из материала пробоотборников, приспособлений для измельчения, емкостей для хранения пробы, воздуха лабораторных помещений и т. д. Погрешности, обусловленные *внешними загрязнениями*, особенно велики при определении следовых количеств компонентов. Вот почему при растирании образцов используют ступки из особо твердых материалов (агат или кварц) и хранят пробы в посуде из особых сортов стекла или полиэтилена. Например, пробы воды для определения кремния отбирают только в полиэтиленовые бутылки; при определении органических соединений, наоборот, предпочтительнее посуда из стекла.

Таким образом, учитывая источники возможных потерь и загрязнений при отборе пробы, следует строго регламентировать методику пробоотбора: число и последовательность операций измельчения и просеивания, температурный режим, время растирания и контакта с атмосферой, материал пробоотборников и измельчающих устройств и т. д.

Особо рассматривают вопрос о *хранении и консервации пробы*. Допустимый промежуток времени между отбором и анализом зависит от состава пробы, природы определяемых компонентов и условий хранения пробы. Некоторые определяемые вещества устойчивы длительное время и не требуют особых условий хра-

нения. Чем больше вероятность изменения содержания определяемых компонентов, тем скорее должен быть проведен анализ; если невозможно провести анализ сразу после отбора, то пробу консервируют (резко охлаждают, изменяют pH среды, добавляют стабилизирующие вещества). В отдельных случаях для сохранения определяемого компонента его экстрагируют органическими растворителями или сорбируют на различных твердых веществах. Например, для получения достоверных результатов пробы природной воды анализируют обычно в течение 1—2 ч после отбора. Пробы можно стабилизировать на несколько часов охлаждением до 0 °С и на несколько месяцев резким охлаждением до –20 °С. Для консервирования определяемых компонентов добавляют разные консерванты, чаще всего это кислоты и вещества, образующие комплексные соединения.

Хранят пробы в условиях, гарантирующих постоянство их состава в отношении тех компонентов, которые предполагается определять, при этом учитывают комплекс условий (температура, освещенность, материал посуды и т.д.); однако в ряде случаев до сих пор не найдено удовлетворительного способа хранения пробы.

Если нет необходимости проводить химический анализ в стационарной лаборатории (не требуется сложная пробоподготовка или уникальное оборудование), то его проводят «на месте». При этом используют передвижные лаборатории (на автомобилях, катерах и т.п.), переносные анализаторы, тест-устройства и химические сенсоры. Все это позволяет избежать транспортировки и необходимости хранения и консервации проб.

В зависимости от природы газообразных, жидких или твердых веществ операции пробоотбора учитывают особенности конкретных объектов и строго регламентируются ГОСТами. Так, необходимо учитывать разные факторы при отборе проб атмосферного воздуха и воздуха промышленных помещений; природных (речных, озерных, морских и т.д.) и сточных вод; таких твердых веществ, как металлы, шлаки, руды, почвы, пищевые продукты, зерно и т.п.

18.2. Подготовка пробы к анализу

Подготовка пробы — важный этап проведения химического анализа. При подготовке пробы к анализу можно выделить следующие основные стадии:

- 1) высушивание пробы;
- 2) разложение пробы (чаще с переводом пробы в раствор);
- 3) устранение влияния мешающих компонентов;
- 4) перевод пробы в форму, требуемую для метода определения.

В зависимости от цели анализа, природы объекта и выбранного метода могут быть использованы различные модификации и комбинации этих стадий. Для правильного проведения химического анализа роль подготовки пробы настолько велика, что аналитик должен каждый раз оценивать необходимость включения указанных стадий в схему анализа, устанавливать условия проведения этих стадий и оценивать возможные погрешности на каждой из них.

В данном подразделе будут рассмотрены первая и вторая стадии пробоподготовки; третья стадия описана в гл. 5, 6. О форме пробы, наиболее удобной для того или иного метода определения, сказано при описании этих методов (см. гл. 7—16).

Высушивание пробы

Анализируемый образец содержит, как правило, переменное количество воды. Это может быть *химически несвязанная вода*, например, адсорбированная на поверхности пробы твердого вещества, сорбированная щелями и капиллярами аморфных веществ (цеолит, крахмал, белок), окклюдированная полостями минералов, руд, горных пород. Такая вода присутствует в пробе как загрязнение из атмосферы или раствора, в котором формировалось анализируемое вещество. Количество воды может меняться в зависимости от температуры и влажности окружающей среды, способа отбора, приемов и степени измельчения твердого вещества, времени и способа его хранения и т. п. Например, при измельчении и хранении базальта содержание в нем адсорбированной воды может увеличиваться от 0,2 до 2 %. Количество же сорбированной воды в таких аморфных веществах, как силикагель, уголь растительного и животного происхождения, может составлять 20 % массы образца.

Анализируемый объект может также содержать *химически связанную воду*, т. е. являющуюся неотъемлемой частью молекулярной или кристаллической структуры твердого вещества. Это может быть кристаллизационная вода (например, в соединениях $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) или конституционная вода, выделяющаяся в результате разложения вещества при нагревании ($\text{Ca}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{CaO} + \text{H}_2\text{O}$; $2\text{KHSO}_4 \rightarrow \text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$). Часть химически связанной воды может теряться в процессе отбора и хранения пробы. Например, при измельчении кристаллогидрата $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ вследствие разогрева пробы при растирании содержание воды может уменьшиться от 20 до 5 %.

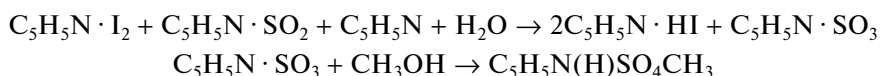
Для правильного установления состава объекта и получения воспроизводимых результатов необходимо удалить влагу из образца, высушить его до постоянной массы или определить содержание воды, так как результат анализа следует пересчитать на постоянную массу. Чаще всего анализируемый образец высушивают на воздухе или в сушильных шкафах при относительно высокой (105—120 °C) температуре. Получить воздушно-сухую массу образца можно лишь для таких негигроскопичных веществ, как металлы, сплавы, некоторые виды стекол и минералов. В отдельных случаях пробы высушивают в эксикаторах над влагопоглощающими веществами (хлоридом кальция, оксидом фосфора(V), перхлоратом магния, драйеритом $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$). Продолжительность и температуру высушивания образца в зависимости от его природы устанавливают заранее экспериментально (например, методом термогравиметрии). Если какие-либо особые указания на этот счет в методике отсутствуют, образцы сушат в сушильных шкафах при температуре 110 °C в течение 1—2 ч. Иногда, особенно при сушке сложных объектов (пищевые продукты, растения, ряд геологических образцов и т. п.), используют вакуумную сушку или микроволновое излучение, что часто сокращает время сушки от нескольких часов до нескольких минут.

Содержание определяемого компонента рассчитывают обычно исходя из навески высушенного при определенных условиях образца. Если нужно установить состав первоначально отобранного материала, то следует определить массу, потерянную при высушивании.

Если полностью удалить воду из пробы или высушить пробу до постоянной массы не удастся, то в нескольких пробах, отобранных для анализа на другие компоненты, определяют воду.

Известно большое число методов определения воды. Так, воду определяют гравиметрически косвенным или прямым методом (см. гл. 7). В косвенном методе о содержании воды судят по потере массы анализируемой пробы при ее высушивании или прокаливании. Этот метод часто не дает правильных результатов, что связано с трудностью определения температуры, необходимой для полного выделения воды, и потерей с водой летучих компонентов образца. Прямой гравиметрический метод основан на поглощении выделившейся из образца воды подходящим поглотителем, чаще всего безводным перхлоратом магния. О содержании воды судят по увеличению массы предварительно взвешенного поглотителя. Часто для определения воды применяют титриметрический метод с использованием реагента Фишера.

Компоненты, входящие в состав реагента Фишера (иод, диоксид серы, пиридин и метанол), обуславливают протекание реакций:



Избыток метанола необходим для подавления побочной реакции пиридинового комплекса триоксида серы с водой. Конечную точку титрования устанавливают по появлению коричневой окраски, обусловленной избытком пиридинового комплекса иода, входящего в состав титранта. Описанный метод применим для определения воды во многих органических веществах. Если образец полностью растворим в метаноле, то возможно быстрое прямое титрование. В отдельных случаях применяют предварительную экстракцию воды безводным метанолом или другим органическим растворителем. Метод имеет ограничения: реагент Фишера неустойчив во времени; многие вещества, взаимодействующие с компонентами реагента, мешают определению и т. п.

Для определения воды часто используют газожидкостную хроматографию и ИК-спектроскопию.

Разложение пробы. Перевод пробы в раствор

Существуют методы анализа (например, некоторые спектроскопические или ядерно-физические), в которых для измерения аналитического сигнала используют анализируемые пробы, в том числе и пробы твердых веществ, без предварительного разложения: в виде гомогенных образцов, порошков, таблеток, полученных прессованием, и т. п. Для многих других методов анализа требуется предварительное переведение определяемого компонента в раствор.

В основе современных методов подготовки пробы лежит использование высокоактивных реагентов, повышенного давления и повышенной температуры (как в открытых системах, так и в закрытых с применением ампул, капсул и автоклавов), катализа, излучений разного типа (ультразвукового, лазерного, микроволнового). Заметим, что микроволновое излучение — электромагнитное излучение микроволнового диапазона. Указанные виды интенсификации пробоподготовки применяют во всех способах разложения пробы.

Выбор способа разложения пробы и переведения ее компонентов в раствор зависит от нескольких факторов, которые необходимо учитывать при обосновании схемы химического анализа. Прежде всего обращают внимание на неоргани-

ческую или органическую природу основы (матрицы) объекта, химический состав образца, химические свойства определяемых компонентов.

Так, при определении одного и того же элемента (например, кобальта, цинка, железа) в крови, пищевых продуктах или сплавах и минералах способ разложения образцов определяется соответственно органической или неорганической природой объекта. Разложение и перевод в раствор проб силикатов проводят в зависимости от определяющего их состав соотношения $[MO] : [SiO_2]$. Если в составе силиката преобладают оксиды металлов, то пробу растворяют в кислотах, если — оксид кремния, то проводят сплавление или спекание. При определении в силикате содержания железа, титана, алюминия пробу сплавляют с щелочными плавнями; при определении суммы щелочных металлов спекают с оксидом и карбонатом кальция.

Способ разложения пробы и перевода ее в раствор определяется также целью анализа. Так, по-разному проводят пробоподготовку при элементном и функциональном анализе органических соединений, при определении общего содержания какого-либо элемента (железа, хрома) и его форм в различных степенях окисления (железо(II) и железо(III), хром(III) и хром(VI)), а также основных компонентов образца и примесей в нем и т.д.

Способ разложения и перевода пробы в раствор во многом определяется выбранным аналитическим методом. Например, различается пробоподготовка при определении одних и тех же органических соединений в биологических объектах хроматографическими и спектрофотометрическими методами.

Выбрав способ разложения пробы, необходимо оценить источники всех возможных погрешностей на этой стадии анализа. Наиболее типичные ошибки обусловлены: потерей летучих компонентов при использовании высоких температур; загрязнением материалом посуды и приспособлений для разложения проб; наличием мешающих проведению анализа примесей в реактивах и растворителях, используемых при разложении образцов.

Способы разложения проб издавна делят на сухие и мокрые: к сухим относят термическое разложение, сплавление и спекание с различными веществами (солями, оксидами, щелочами и их смесями); к мокрым — растворение анализируемой пробы в различных растворителях, преимущественно в кислотах и их смесях.

Мокрые способы разложения проб. В идеальном случае растворитель должен растворять пробу быстро, в достаточно мягких условиях и не мешать на последующих стадиях анализа.

Лучший растворитель — вода. Многие неорганические соли (особенно соли щелочных металлов, аммония и магния) и некоторые органические соединения (низшие и многоатомные спирты, аминокислоты, гидрохлориды аминов, соли щелочных металлов органических кислот, мочевины и т.п.) легко растворяются в воде. Иногда в воду добавляют немного кислоты для предотвращения гидролиза и частичного осаждения некоторых катионов металлов. В отдельных случаях для растворения органических веществ используют смесь воды и смешивающегося с ней органического растворителя (например, смесь воды и этанола).

Для растворения органических соединений применяют органические растворители. Как правило, это — спирты, хлорированные углеводороды, кетоны, амиды кислот. Так, для растворения полимерных материалов разного типа используют

диметилформамид, диметилацетамид, метилизобутилкетон, циклогексанон, метанол.

Часто применяют различные кислоты и их смеси при нагревании. При этом в пробу не вводят посторонние катионы, а сами кислоты сравнительно легко удаляют из сферы реакции при нагревании. Кислоты в зависимости от их природы и концентрации могут проявлять окислительные (концентрированные HNO_3 и H_2SO_4) или комплексообразующие (HF и H_3PO_4) свойства. Иногда к кислотам добавляют пероксид водорода, комплексообразующие вещества (ЭДТА, щавелевую, винную, лимонную кислоты и т.п.). При растворении в кислотах и их смесях следует учитывать возможность образования малорастворимых соединений. Наиболее часто используемые для растворения кислоты и их смеси представлены в табл. 18.1.

Источниками загрязнений при растворении в кислотах могут быть примеси в используемых реагентах или частичное растворение материала посуды. Поэтому для растворения применяют кислоты высокой степени очистки и подбирают сосуды из соответствующего материала. Например, растворение в фтороводородной кислоте ведут в чашках и стаканчиках из платины, фторопласта (политетрафторэтилена), стеклоуглерода. При растворении в кислотах возможны также механические потери при вскипании и разбрызгивании, потери летучих (H_2S , SO_2 , CO_2 , GeCl_4 , SbCl_3 , SnCl_4 и т.п.) или малорастворимых (CaF_2 , SrF_2 , BaF_2 и т.п.) веществ.

Растворы гидроксидов, карбонатов щелочных металлов или аммиака применяют гораздо реже, чем кислоты. Эти соединения используют для перевода в раствор анионов; при этом многие неорганические катионы и органические соединения, входящие в состав образца, остаются в осадке. Гидроксид натрия (или калия) растворяет некоторые металлы (алюминий) и оксиды кислотного характера (WO_3 , MoO_3 , GeO_2 , V_2O_5).

Отметим, что иногда стоит задача последовательного растворения пробы в разных растворителях и химического анализа фракций.

Растворение проб часто проводят в автоклавах с чашками из металлических и — особенно часто — полимерных материалов (рис. 18.6), что имеет определенные преимущества: обеспечивается разложение веществ, не взаимодействующих с реагентами при обычных значениях температуры и давления; уменьшается количество расходуемых реагентов; увеличивается скорость разложения; удается избежать потерь летучих продуктов реакции, за исключением газов, после охлаждения автоклава и его разгерметизации. Существуют автоклавы, работающие при давлении вплоть до 130 атм и температуре 200—220 °С.

Для ускорения разложения кислотами иногда используют катализаторы. Так, окисление органических материалов концентрированной серной кислотой ускоряется в присутствии соединений CuSO_4 , HgSO_4 и H_2SeO_3 .

В отдельных случаях для растворения используют ферменты. Один из способов растворения высокомолекулярных соединений, например белков, — гидролиз в присутствии трипсина, папаина и других протеаз.

Для ускорения растворения в кислотах часто используют ультразвуковое излучение. Так, применение ультразвука при определении мышьяка в пищевых продуктах позволяет сократить стадию пробоподготовки (в открытой системе) в 20 раз, а количество растворяющей смеси (HNO_3 и H_2O_2) — в 2 раза.

При растворении в кислотах в результате взаимодействия микроволнового излучения с веществом сокращается продолжительность пробоподготовки, умень-

Кислоты и их смеси, используемые при растворении проб

Кислота	Растворяемый объект	Примечание
HCl	Металлы, оксиды металлов, железные руды, карбонаты, органические амины	1. Аналогичные свойства проявляют разбавленные H_2SO_4 , H_3PO_4 и $HClO_4$. 2. Кислота улетучивается при нагревании
HF	Силикатные горные породы и минералы, стекла, керамика	1. Кислота удаляется при нагревании с H_2SO_4 . 2. Кремний устраняется в виде SiF_4 . 3. Образуются малорастворимые соединения с некоторыми металлами
HNO_3 (конц.)	Металлы (кроме Au, Pt, Cr, Al), сплавы, сульфиды, арсениды, органические соединения	Окислитель
H_2SO_4 (конц.)	Металлы (сурьма, олово), оксиды металлов, арсениды, ферротитан, органические соединения	Окислитель, возможно разрушение стекла посуды. Применяют катализаторы (Cu, Hg, Se)
$HClO_4$ (конц.)	Сплавы железа, нержавеющая сталь	Сильный окислитель. Взрывоопасна!
$HCl + HNO_3$ (3 : 1) царская водка	Металлы (Au, Pt, Pd), сплавы, сульфидные руды, органические соединения	Сильный окислитель
$HNO_3 + H_2SO_4$	Большинство неорганических веществ, органические соединения	Используют смесь HNO_3 и H_2SO_4 переменного соотношения
$HF + HNO_3$	Сплавы вольфрама, молибдена, тантала, циркония, силикаты, ферромолибден	Образуются фторидные комплексные соединения
$HF + H_3BO_3$	Сплавы многих редких металлов, природные фосфаты, керамические материалы	1. В присутствии H_3BO_3 заметно ускоряются многие процессы растворения. 2. Смесь кислот часто используют в автоклавах
$H_2SO_4 + HClO_4 + H_3PO_4$	Ферросплавы, железные руды	Связывание Fe(III) в фосфатные комплексы
$HCl + H_2SO_4 + Br_2$	Металлы (индий, сурьма), некоторые органические соединения	Окислитель

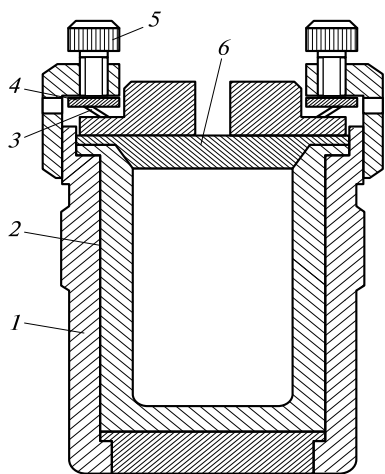


Рис. 18.6. Схема автоклава для разложения веществ кислотами:

1 — корпус; 2 — политетрафторэтиленовая чашка; 3 — пружина; 4 — кольцо; 5 — винт для регулирования давления; 6 — крышка

шается количество используемых реагентов, улучшаются метрологические характеристики разложения проб.

Приведем примеры ускорения растворения различных проб в условиях микроволнового нагрева (одинаковые условия и реагенты): геологические объекты — от 6 ч до 4 мин; особо чистые вещества — от 8—24 ч до 12—15 мин; стали — от 1 ч до 1,5—30 мин; сточные воды — от 6 ч до 10 мин. Особенно эффективно использование микроволнового излучения при разложении органических матриц (биологических и клинических объектов, фармацевтических препаратов, продуктов питания, кормов и т.д.). Время растворения сокращается от 8—10 ч до 1,5—30 мин.

Ускорение растворения проб объясняется теми тепловыми и нетепловыми эффектами, которые появляются под воздействием микроволнового излучения и проявляются, например, в диффузионных процессах и взаимодействиях разного типа на границе твердый образец — раствор. Улучшение метрологических характеристик

прежде всего воспроизводимости, объясняется тем, что при действии микроволнового излучения из различных проб получают растворы идентичного состава и снижают значения поправки контрольного опыта.

К растворению в кислотах и их смесях часто прибегают и тогда, когда при разложении переходит в раствор лишь часть пробы. В дальнейшем в зависимости от поставленной задачи анализируют только раствор или проводят разложение твердого остатка сухим способом.

Сухие способы разложения проб. Выбор сухого способа разложения (сплавление, спекание и термическое разложение) определяется задачей анализа и природой объекта. Сухой способ используют тогда, когда мокрый способ не дает удовлетворительных результатов. Сухой способ менее предпочтителен, чем растворение в кислотах, поскольку возрастает вероятность и величина погрешностей, особенно при сплавлении. Это связано, во-первых, с высокой температурой обработки образца и, как следствие, с большими потерями летучих веществ и разрушением материала посуды, а следовательно, загрязнением пробы. Во-вторых, источником ошибок может быть большой (по сравнению с массой пробы) избыток разлагающих агентов. При этом происходит загрязнение анализируемого материала, а растворы после обработки сплава или спека содержат много солей, которые могут мешать определению компонентов на последующих стадиях анализа.

Термическое разложение. Это — разложение пробы при нагревании, сопровождающееся образованием одного или нескольких компонентов газообразной фазы.

При разложении анализируемого вещества образуются продукты, которые характеризуют состав и часто структуру исходного соединения и могут быть использованы для определения его количества.

Химическая природа и количество продуктов термического разложения зависят не только от состава и строения исходного соединения, температуры и скорости нагревания, но и от химического состава газообразной фазы, находящейся в контакте с разлагаемым веществом.

Термическое разложение можно проводить как в отсутствие (пиролиз), так и в присутствии (сухое озоление) веществ, реагирующих с разлагаемым соединением.

При *пиролизе* органических веществ характеристические фрагменты органических соединений появляются главным образом в интервале 300—700 °С. При более высоких температурах увеличивается степень образования простых веществ, таких как CH_4 , CO , CO_2 , H_2O . Неорганические вещества разлагаются, как правило, при более высоких (1 000—1 500 °С) температурах. Скорость нагрева должна быть большой: при медленном повышении температуры образовавшиеся продукты разложения могут вступать в реакции.

Пиролиз проводят в атмосфере инертного газа (азота, гелия) или в вакууме. Осуществляют пиролиз различными способами: прокаливают пробу в тигле или небольшой лодочке в печи; наносят образец на металлическую проволоку (или спираль) и нагревают ее до нужной температуры; помещают вещество в вакуумированную или заполненную инертным газом стеклянную или кварцевую трубку и также нагревают ее до необходимой температуры. Помимо указанных часто используемых способов применяют термическое разложение при облучении лазером или потоком электронов высокой энергии и нагревание смеси пробы с ферромагнитным материалом (например, порошком железа) в высокочастотном электрическом поле.

Пиролиз чаще используют при анализе органических веществ, особенно полимеров. Впервые термическое разложение этого типа было применено при анализе каучуков. Для разложения неорганических соединений пиролиз используют реже; например, при разложении сульфатов с выделением O_2 и SO_2 (1 350 °С), стекла (1 650 °С), оксидов алюминия и редкоземельных элементов (1 000 °С) и т.д.

Газообразные продукты пиролиза поглощают твердыми сорбентами или соответствующими химическими реагентами и затем определяют различными аналитическими методами, обычно методами газовой хроматографии, УФ- и ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии.

При термическом разложении с окислением — *сухое озоление* — в качестве окислителя часто используют кислород. Сожжение в кислороде применяют в основном при анализе органических соединений, а также некоторых неорганических веществ, например металлов и сульфидов. Выбор условий проведения окисления (в открытых или закрытых сосудах, в потоке кислорода или воздуха и т.д.) зависит от химической природы анализируемого вещества и применяемых в дальнейшем методов определения.

Простейший метод разложения проб с окислением — прокаливание на воздухе в открытых чашках или тиглях при 500—600 °С. Такой способ используют при определении неорганических компонентов в органических материалах, например примесей металлов в биомассах и пищевых продуктах. При определении элементов в виде летучих продуктов окисления, особенно при элементном анализе органических соединений, сжигают пробу в токе кислорода или воздуха. Очищенный сухой кислород смешивают при этом с инертным газом-носителем (азот, гелий и т.д.).

При озолении в пробу иногда вводят вещества, которые ускоряют окисление, предотвращают улетучивание некоторых компонентов пробы, препятствуют взаимодействию компонентов анализируемого образца с материалом тигля, чашки или лодочки, в которых пробу сжигают. Так, в качестве катализаторов при сухом озолении используют платину, палладий, никель или оксид ванадия(V). Для уменьшения потерь летучих компонентов к пробе добавляют серную кислоту, иногда карбонаты или оксиды щелочных металлов.

Окисление анализируемых веществ можно проводить в закрытых стеклянных или кварцевых сосудах как при нормальном, так и при высоком (кислородные бомбы) давлении. При таком способе сухого озоления окисление проходит быстрее и полнее. Важно также, что продукты реакции поглощаются находящимся в сосуде подходящим сорбентом или раствором прежде чем открывают реакционный сосуд. Это дает возможность избежать потерь летучих компонентов, более точно провести определение. В отдельных случаях при окислении пробы вместо кислорода или одновременно с ним используют другие окисляющие соединения. Так, при определении азота сжигают органическое вещество в присутствии оксида меди(II) в токе углекислого газа (метод Дюма).

Таблица 18.2

Термическое разложение некоторых материалов

Материал	Способ разложения	Температура, °C	Определяемый компонент
Сульфаты	Пиролиз с выделением O_2 и SO_2	1 350	Сера
Фенолоформальдегидные смолы	Пиролиз	300 — 800	Фенолы
Поливинилхлорид	Пиролиз	220 — 550	Хлороводород
Мука	Сухое озоление в открытом сосуде	550	Металлы
Ткани животных	Сухое озоление в открытом сосуде с добавкой карбоната лития	650	Бор
Животные жиры	Сухое озоление в открытом сосуде с добавкой оксида магния	800	Фосфор
Стекла	Окисление в токе кислорода	1 300	Сера
Органические соединения	Сухое озоление в токе воздуха в присутствии диоксида кремния	600 — 700	Галогены
Органические соединения	Сухое озоление в запаянной трубке, заполненной кислородом и содержащей медь	700	Элементный анализ, определение CO_2 , H_2O , N_2

Реже проводят термическое разложение проб с использованием восстановления водородом или аммиаком. На реакции восстановления очищенным водородом в смеси водорода с инертным газом основано определение кислорода в металлах. Этот метод разложения используют и в органическом анализе при определении галогенов, серы и азота.

Способы нагрева сосудов, в которых проводят разложение пробы, техника эксперимента, методы определения продуктов сухого озоления в этом способе термического разложения практически те же, что и при пиролизе. В последние годы для термического разложения проб используют микроволновые печи, что приводит чаще всего к значительному ускорению процесса разложения. Примеры термического разложения проб приведены в табл. 18.2.

Таким образом, выбор способа термического разложения определяется задачей анализа, природой разлагаемого вещества, выбранным методом определения компонентов, наличием необходимой аппаратуры.

Сплавление. Как метод разложения пробы сухим способом сплавление чаще используют при анализе неорганических веществ. При сплавлении тонко измельченный образец перемешивают с 8 — 10-кратным количеством реагента (плавня) и нагревают (300 — 1 000 °С) до получения прозрачного плава. Время плавления определяют опытным путем. В зависимости от природы разлагаемой пробы оно

Таблица 18.3

Плавни, наиболее часто используемые при разложении проб

Плавень	Температура плава, °С	Разлагаемые вещества	Материал тигля
Na_2CO_3	853	Силикаты, сульфаты, фосфаты	Платина
K_2CO_3	903	Силикаты, сульфаты, фосфаты	Платина
$\text{K}_2\text{CO}_3 + \text{Na}_2\text{CO}_3$	712	Силикаты, сульфаты, фосфаты	Платина
$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$	1 000 — 1 100	Алюмосиликаты, кислородные соединения алюминия, цинка, олова, тантала, ниобия, минералы редкоземельных элементов	Платина
$\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$	917	Силикаты, базальты, глины, оксиды металлов	Платина, стекло-углерод, кварц
LiBO_2	849	Силикаты, базальты, глины, оксиды металлов	Платина, стекло-углерод, кварц
NaOH	321	Природные силикаты, стекла, бокситы, фториды	Никель, железо, циркон
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$	419	Оксиды металлов	Платина, кварц, фарфор
B_2O_3	577	Силикаты, оксиды металлов	Платина
Na_2O_2	495	Полиметаллические руды (хромовые, ниобиевые, вольфрамовые и т.д.), металлы, сплавы	Никель, железо, циркон

может изменяться от нескольких минут до нескольких часов. После охлаждения застывшую массу растворяют в воде или кислотах.

При сплавлении используют щелочные, кислые, окислительные плавни (табл. 18.3). В качестве щелочных плавней часто применяют карбонаты, гидроксиды, бораты щелочных металлов и их смеси. При обработке щелочным плавнем металлические компоненты превращаются в растворимые в кислотах оксиды и соли, неметаллические — в растворимые соли щелочных металлов. Из плавней, обладающих кислотными свойствами, чаще используют пиросульфат калия, гидросульфат калия и оксид бора. При этом в плаве образуются сульфаты и бораты соответствующих металлов.

В качестве окислительных плавней используют щелочные плавни (Na_2CO_3 , $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, NaOH и др.) с добавкой окисляющих веществ (KNO_3 , NaNO_3 , KClO_3 и др.). Наиболее активный окислительный пламень — пероксид натрия Na_2O_2 , сплавление с которым проводят только тогда, когда сплавление с другими плавнями не дает результатов. При этом для предотвращения разрушения тиглей сплавление часто проводят в присутствии гидроксидов или карбонатов щелочных металлов.

Спекание. Нагревание пробы при высоких температурах с подходящим твердым реагентом не всегда сопровождается образованием расплава; в отдельных случаях смесь не расплавляется, а только спекается. Спекание — сложный, до конца не изученный процесс. Предполагается, что спекание основано на высоком химическом сродстве компонентов пробы к введенным реагентам, диффузии и реакциях обмена.

В отдельных случаях спекание позволяет провести разложение пробы быстрее и проще, способствует уменьшению загрязнений, поскольку при этом часто используют меньшие (двух- или четырехкратный избыток) количества реагентов и менее высокие температуры.

Спекание проводят обычно со смесью карбонатов щелочных металлов и оксидов магния, кальция или цинка. Рекомендуется использовать спекание при разложении проб силикатов, сульфидов, оксидов металлов. Так, при разложении силикатов с целью определения в них щелочных металлов проводят спекание пробы со смесью CaCO_3 и NH_4Cl в соотношении 8 : 1 (метод Лоуренса — Смита). Сначала при слабом нагревании хлорид аммония сублимируется и диссоциирует с образованием аммиака и хлороводорода, последний взаимодействует с карбонатом кальция с образованием мелких частиц хлорида кальция. При повышении температуры до 1 000 — 1 100 °С медленно выделяется углекислый газ, а смесь CaO и CaCl_2 взаимодействует с пробой, образуя силикат кальция и хлориды щелочных металлов. Спек обрабатывают горячей водой.

После отбора и разложения пробы во многих случаях устраняют влияние мешающих компонентов.

Контрольные задания

1. Какие требования предъявляют к представительной пробе анализируемого вещества?
2. Чем определяются способ отбора и размер пробы?
3. Приведите примеры способов отбора пробы в потоке жидкости и газа.
4. Каковы особенности отбора пробы твердых веществ?

5. Назовите способы гомогенизации и усреднения пробы.
6. Укажите источники погрешностей при отборе пробы.
7. Каким образом можно учесть содержание воды в анализируемой пробе?
8. Какие факторы определяют способ перевода анализируемой пробы в раствор?
9. Какими свойствами должен обладать растворитель, используемый для растворения пробы?
10. Приведите примеры щелочных, кислых и окислительных плавней.
11. Какую роль играют химически активные добавки к растворителям и плавням? Приведите примеры.
12. Чем отличается пиролиз от сухого озоления?

Список литературы

- Байерман К.* Определение следовых количеств органических веществ / К. Байерман. — М. : Мир, 1987.
- Бок Р.* Методы разложения в аналитической химии / Р. Бок. — М. : Химия, 1984.
- Карпов Ю.А.* Методы пробоотбора и пробоподготовки / Ю.А. Карпов, А. П. Савостин. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003.

АНАЛИЗ КОНКРЕТНЫХ ОБЪЕКТОВ

19.1. Выбор метода анализа

Анализ конкретных объектов — задача сложная. Трудности анализа связаны с многими причинами, среди которых можно назвать неуклонный рост числа объектов. Сегодня сложно найти отрасль, где бы не использовалась аналитическая информация. Потребителями аналитической информации являются не только специалисты. Технический прогресс поставил перед каждым из нас актуальные вопросы: какие вещества присутствуют в воздухе, в воде, в пище. Расширяется перечень компонентов, которые необходимо определять. При этом очень широк диапазон концентраций (10^{-10} — 10^1 %), и необозримо велико число сочетаний определяемых компонентов с компонентами матрицы.

Цель химического анализа — получение достоверной информации о качественном и количественном составе анализируемого материала в виде результатов анализа, качество которых во многом зависит от правильного выбора и построения аналитического цикла.

Аналитический цикл включает четыре взаимосвязанных этапа: пробоотбор, пробоподготовку, собственно определение и обработку результатов измерений. Первым двум этапам посвящена гл. 18. В данной главе рассмотрены особенности пробоподготовки с учетом специфики объектов и современные методы их анализа.

Аналитические службы успешно решают многочисленные практические задачи по исследованию состава разнообразных природных объектов. Для этого современная аналитическая химия располагает широким арсеналом химических, физико-химических и физических методов, а накопленные в литературе материалы позволяют наметить пути решения конкретной задачи.

Сложившаяся методология анализа включает корректную постановку аналитической задачи и поиск путей ее решения. Для постановки задачи весьма желательно априорное знание качественного состава пробы, а в ряде случаев — и интервала концентраций компонентов. Поэтому на практике количественному анализу, как правило, предшествует качественный, на основании результатов которого выбирают метод и методику количественного анализа с учетом особенностей объекта. Для обнаружения компонентов анализируемого объекта неорганической природы используют преимущественно многоэлементные и неразрушающие методы атомно-эмиссионного, рентгенофлуоресцентного анализа и др. При анализе очень сложных по составу образцов названные методы комбинируют с химическими, позволяющими устранить влияние мешающих компонентов.

При идентификации компонентов органической природы надежную информацию дает структурно-групповой анализ, прежде всего функциональный анализ, целью которого является обнаружение различных функциональных групп (—ОН, —СООН, —NH₂ и др.), входящих в состав органических соединений. Идентифи-

кацию проводят методами ЯМР-, УФ- и ИК-спектроскопии, хроматографическими и электрохимическими методами. Если прямыми методами функциональную группу обнаружить невозможно, ее переводят в форму, удобную для аналитических определений. Например, фенолы, имеющие низкие значения молярных коэффициентов поглощения (ϵ), предварительно переводят солями диазония в азосоединения, характеризующиеся высокими значениями ϵ :



Однако главная роль принадлежит молекулярному анализу, позволяющему идентифицировать химические соединения. Для этой цели широко используют хроматографические методы. При необходимости обнаружения компонентов неизвестной природы применяют наиболее мощные методы, например хромато-масс-спектрометрию или ее сочетание с ИК-спектроскопией с фурье-преобразованием. Так, методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения решают невероятно трудную задачу распознавания около 400 веществ, объединенных в группу с общим названием «диоксины и родственные им соединения».

Большинство методов качественного анализа (идентификации) позволяет получить и полуколичественную информацию о содержании компонентов, по крайней мере оценить интервал, в котором лежат концентрации определяемых компонентов, что важно при выборе метода количественного анализа.

При выборе метода анализа кроме качественного состава образца должны быть учтены: 1) требуемая точность анализа; 2) ожидаемое содержание компонента в образце; 3) число компонентов, подлежащих определению; 4) возможное наличие мешающих компонентов; 5) вид анализа; 6) доступность оборудования; 7) экспрессность определения; 8) стоимость анализа.

Вопрос о точности является одним из самых главных. Поскольку результаты анализа используют для решения различных задач, требования к точности отличаются. Объективное обоснование требуемой точности анализа должно находиться в разумном соотношении с общей постановкой задачи. Например, при проведении аттестационных или маркировочных анализов необходимы правильность результатов и их высокая воспроизводимость; при массовом же оперативном контроле решающими факторами являются экспрессность и невысокая стоимость получения результатов. Поэтому в основу правильного выбора метода и методик должна быть положена объективная информация о метрологических характеристиках конкретного метода и методики.

Важным моментом при выборе метода анализа является предварительная информация о содержании компонентов в образце. Не стоит использовать чувствительные методы анализа при определении макрокомпонента, предпочтение следует отдать простым и доступным методам, в том числе классическим. И наоборот, определение микрокомпонентов следует проводить высокочувствительными методами. При одновременном определении нескольких компонентов целесообразно использовать многоэлементные методы (атомно-эмиссионную спектроскопию, рентгенофлуоресцентный анализ, хроматографию и др.), а в присутствии мешающих компонентов — селективные (атомно-абсорбционную спектроскопию, вольтамперометрию и др.).

Существенную роль при выборе метода играет вид анализа. Если анализ разовый, можно использовать практически любой подходящий метод. Другое дело — серийные (массовые) анализы; здесь предпочтительны высокопроизводительные

и низкозатратные методы, выполняемые по возможности в автоматическом режиме.

Часто в процессе анализа нежелательно разрушение материала, поэтому выбирают неdestructивные методы, например ядерно-физические для анализа ювелирных украшений.

С учетом конкретного метода выбирают вариант пробоподготовки: операции разложения, разделения и при необходимости концентрирования.

Следует заметить, что универсальных методов анализа даже для объектов одного типа не существует. Однако разумное сочетание различных аналитических приемов, основанное на четком представлении цели анализа и знании возможностей методов, позволяет успешно решать практические задачи.

19.2. Фазовый анализ. Локальный анализ

Особым разделом химического анализа твердых материалов является фазовый анализ, цель которого — идентификация отдельных фаз гетерогенной системы и оценка их содержания. Этот вид химического анализа широко используют при анализе минерального сырья и продуктов металлургического производства. Например, при изучении состава руд важно знать не только содержание элемента, но и определить минерал, в состав которого входит этот элемент; это необходимо для выбора эффективных способов обогащения и дальнейшей технической переработки сырья. Цель фазового анализа металлов — идентифицировать и проанализировать неметаллические включения (оксиды, нитриды, карбиды, сульфиды, гидриды), содержание которых обуславливает многие характеристики металлов и сплавов.

Фазовый состав материалов устанавливают различными химическими, в том числе электрохимическими, и физическими методами.

Химический фазовый анализ основан на растворении отдельных фаз в различных растворителях: органических и неорганических кислотах, щелочах, растворах солей и комплексообразующих реагентов, которые избирательно растворяют какую-либо одну фазу и не затрагивают другие. Степень извлечения и скорость процесса разделения фаз заметно возрастает при ультразвуковом перемешивании. В основе процессов разделения лежат различия в термодинамических характеристиках фаз. Выделенные в раствор фазы далее анализируют любым методом, используемым для анализа растворов.

Электрохимические методы разделения основаны на существовании фаз в активном или пассивном состоянии в ходе анодной поляризации. Изменяя состав электролита и потенциал электрода, можно выбирать условия, которые обеспечивают селективное растворение одной фазы и пассивацию другой.

Для фазового анализа используют также физические методы локального анализа, ИК-спектроскопию, термогравиметрический метод и др.

Распространенным методом исследования фазового состава является рентгенодифракционный метод, позволяющий проводить качественную диагностику фаз объекта.

В основу селективного разделения фаз может быть положено также различие физических характеристик: плотностей, магнитных свойств и физических констант.

При анализе многих твердых объектов (металлов и сплавов, полупроводниковых материалов, веществ высокой чистоты и др.) важной является информация о распределении примесей на поверхности и по глубине образца.

Для анализа поверхности используют высокочувствительные методы локального анализа. На поверхность твердого тела направляют, например, сфокусированный пучок электронов (электронный микрозонд), ионов (ионный микрозонд); возникающее при этом излучение регистрируют. Так, при бомбардировке ионным микрозондом возникает эмиссия вторичных ионов, которую регистрируют масс-спектрометром. Метод масс-спектрометрии вторичных ионов позволяет определить практически все элементы и изотопный состав в поверхностном слое с пространственным разрешением 1 мкм и абсолютной чувствительностью 10^{-16} г (предел обнаружения менее 10^{-6} %).

При необходимости оценить распределение компонента по глубине образца его поверхность после предварительной очистки обрабатывают минимальным объемом специально подобранного растворителя-травителя (летучей кислоты, пероксида водорода и др.). В травильном растворе далее определяют содержание примеси методами атомно-эмиссионной или атомно-абсорбционной спектроскопии, нейтронно-активационного анализа, искровой масс-спектрометрии или электрохимическим методом. Такой способ позволяет определять примеси по глубине образца от 0,01 до 1,0 мкм с разрешением менее 1,0.

Используют и физические методы послойного анализа.

19.3. Анализ минерального сырья

Объектами анализа являются руды цветных и черных металлов, отдельные минералы, горные породы, нерудные полезные ископаемые (силикаты, углеродистые материалы, соли и др.), продукты их обогащения и переработки. Сюда же можно отнести и некоторые объекты космического происхождения, например метеориты и лунный грунт.

Основные задачи анализа минерального сырья сводятся:

- 1) к определению пороодообразующих элементов (макрокомпонентов);
- 2) определению микрокомпонентов (содержание менее 10^{-2} %);
- 3) анализу микровключений, отдельных фаз;
- 4) определению органического вещества.

При этом особое влияние уделяют экспрессности и стоимости анализа массовых проб.

Мнообразие задач, сложность состава минерального сырья требуют применения практически всех имеющихся на сегодняшний день методов анализа.

В практике аналитических лабораторий геологических служб используют методы, приведенные в табл. 19.1. Наибольшее распространение получили атомно-эмиссионный и рентгенофлуоресцентный методы, а в экспедиционных условиях — рентгенорадиометрический метод, позволяющие проводить многоэлементный анализ без разложения образца. Эффективным способом анализа минерального сырья являются автоматизированные системы, включающие оптические и рентгеновские квантометры.

Правильность полученных результатов подтверждают анализом стандартных образцов состава, которые геологические службы готовят обычно сами.

Методы анализа минерального сырья

Вид анализа	Метод	Определяемые элементы	Диапазон определяемых концентраций, %
Оптическая спектроскопия	Атомно-эмиссионная (дуговая) спектроскопия	Более 50 элементов (Cu, Cr, Mo, Ni, редкоземельные элементы и др.)	$10^{-5} - 10^{-1}$
	Атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно связанной плазмой	То же	10^{-6}
	Эмиссионная фотометрия пламени	Щелочные и щелочноземельные металлы	$10^{-4} - 10^1$
	Атомно-абсорбционная спектроскопия с пламенной и электротермической ионизацией	Более 30 элементов (Hg, Co, Cu, Zn, Ag, платиновые металлы и др.)	$10^{-7} - 10^1$
Рентгено-спектральный	Рентгенофлуоресцентный	Pb, Mn, Ti, Zn, Cu, As, Si, Nb, Ta, P и др.	$10^{-4} - 10^1$
	Рентгенорадиометрический	Ti, V, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Zr, As, Mo, Sn и др.	$10^{-2} - 10^1$
Ядерно-физический	Нейтронно-активационный	75 элементов	$10^{-7} - 10^1$
Пробирная плавка	Пробирно-активационный. Пробирно-атомно-абсорбционный. Пробирно-атомно-эмиссионный	Платиновые металлы	10^{-6}
Химические	Гравиметрия	Более 50 элементов	$10^{-2} - 10^1$
	Титриметрия	То же	$10^{-2} - 10^1$
	Фотометрия	»	$10^{-6} - 10^1$
	Электрохимические методы	»	$10^{-6} - 10^1$

При использовании химических методов анализа, методов атомной абсорбции и эмиссионной фотометрии пламени образец разлагают мокрым или сухим способом. Универсального способа разложения минерального сырья не существует. В каждом случае способ разложения выбирают исходя из фазового состава образца и целей анализа.

Методы концентрирования и определения элементов в минеральном сырье

Определяемые компоненты	Объект анализа	Метод концентрирования	Метод определения	Пределы обнаружения, %
Ag	Известняк, гранит, пегматитовидная порода	Экстракция раствором дифенилтиомочевины в хлороформе	Атомно-абсорбционная спектроскопия с пламенной или электротермической атомизацией	$5 \cdot 10^{-5}$
Ir, Pd, Pt, Ru	Минералы, горные породы	Экстракция раствором N,N-гексаметилен-N-фенилтиомочевины в хлороформе	Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой	$2 \cdot 10^{-6}$
Hg, Cu, Zn	Горные породы	Сорбция на анионите	Нейтронно-активационный анализ	$5 \cdot 10^{-6}$
Bi, Cd, Cu, In, Pb, Tl	Минералы, цемент	Сорбция на активированном угле, модифицированном диэтилдитиофосфатом	Атомно-абсорбционная спектроскопия с пламенной атомизацией	—
Bi, Co, Ni	Минеральное сырье	Сорбция на комплексообразующем сорбенте с иминодиацетатной группой	Рентгенофлуоресцентный анализ	—
Sb, Sn	Полиметаллические руды	Соосаждение с полуторными оксидами	Атомно-абсорбционная спектроскопия с пламенной атомизацией	$2 \cdot 10^{-2}$
РЗЭ (14 элементов)	Горные породы, минералы, лунный грунт, метеориты	Соосаждение с гидроксидом Fe(III)	Нейтронно-активационный анализ	10^{-7}
Hg	Горные породы	Отгонка с последующим поглощением раствором I_2	Атомно-абсорбционная спектроскопия (холодный пар)	$3 \cdot 10^{-7}$
Ag, Au	Сульфидные руды и продукты их переработки	Пробирная плавка	Атомно-абсорбционная спектроскопия с пламенной атомизацией	0,1 — 0,2 г Ag, 0,005 г Au

Например, при анализе сульфидных полиметаллических руд на содержание основных компонентов (Cu, Zn, Fe, Pb, Cd) образец растворяют в соляной кислоте в присутствии окислителя ($\text{Br}_2 \cdot \text{aq}$) и отделяют кремний в виде SiO_2 и серу в виде H_2S . При необходимости определения серы образец спекают с Na_2CO_3 в присутствии ZnO , переводят серу в сульфат и определяют.

Общим требованием при выборе способа разложения является совмещение процесса разложения с разделением компонентов, переводом последних в разные фазы (твердую, жидкую, газовую).

В минеральном сырье определяют, как уже сказано, и макро-, и микрокомпоненты. Определение макрокомпонентов, как правило, не вызывает трудностей. В массовых анализах успешно используют титриметрические (визуальные, потенциометрические и кулонометрические) методы, которые по производительности конкурируют со многими физическими методами и позволяют проводить определение с погрешностью $\pm 0,1\%$. Эти методы легко автоматизировать, и существующие автоматические титраторы позволяют в экспресс-режиме определять содержание макрокомпонентов в ходе технологического процесса. Если надежные титриметрические методы отсутствуют, используют гравиметрию. Однако в последнее время для определения макрокомпонентов шире используют рентгенофлуоресцентный метод, несмотря на то что этим методом нельзя определять легкие элементы.

При определении микрокомпонентов (содержание $< 0,01\%$) иногда требуется их отделение от мешающих компонентов, а при содержании $< 10^{-4}\%$ — концентрирование. Для этого используют осаждение и соосаждение, экстракцию, сорбцию, дистилляцию и др.



Рис. 19.1. Схема анализа минерального сырья, построенная по блочно-модульному принципу

В табл. 19.2 приведены примеры использования этих методов для отделения и концентрирования примесей в различных материалах.

Следует отметить, что подготовка минерального сырья к анализу является самой критичной стадией аналитического цикла с точки зрения временных и трудовых затрат. Устранить этот недостаток позволяет использование интенсивных способов пробоподготовки: автоклавов, ультразвукового и микроволнового излучения. Так, анализ сульфидных медно-никелевых руд и продуктов их переработки, железомарганцевых конкреций, углеродистых материалов (сланцев, торфа, сажи и др.) на содержание благородных и платиновых металлов (Ag, Au, Ir, Rh, Ru, Pd и др.) проводили по схеме, построенной по блочно-модульному принципу (рис. 19.1).

Операции сушки, разложения и концентрирования осуществляли в микроволновом поле, что позволило сократить время анализа в зависимости от природы объекта в десятки и сотни раз. Кроме того, эта схема универсальна, поскольку позволяет анализировать материалы различной природы на содержание компонентов в широком интервале (10^{-4} — 10^1 %) концентраций.

19.4. Анализ металлов и сплавов

Продуктами переработки минерального сырья являются металлы и сплавы, необходимые для функционирования практически всех современных отраслей промышленности. Качество и свойства этих материалов в значительной степени определяются природой и содержанием примесей и легирующих добавок, которые либо сопутствуют металлам, либо специально вводятся для придания металлам заданных свойств (жаропрочности, ковкости, пластичности, электропроводности и др.). Металлы могут содержать и вредные примеси, ухудшающие качество материала (например, Bi, Cd, As, Sn, Sb в сплавах никеля).

В задачу аналитического контроля металлов и сплавов входит:

- 1) установление элементного состава: определение основных компонентов и примесей, в том числе газообразующих;
- 2) определение состава и содержания отдельных фаз (фазовый анализ);
- 3) в ряде случаев оценка распределения примесей на поверхности и по глубине образца (локальный анализ).

В чистых металлах основной компонент, как правило, не определяют, а находят его содержание по разности после определения полного примесного состава. В сплавах (например, ферросплавах, бронзе, нихроме и др.) определяют все; при этом основной компонент и примеси определяют из разных навесок.

Важным разделом анализа металлов и сплавов является определение газообразующих примесей O, H, N, C, S, которые могут находиться в свободном виде (пузырьки) или связанном состоянии (карбиды, оксиды, сульфиды, нитриды и т.д.). Знание содержания газообразующих примесей очень важно, поскольку при их содержании выше нормированного ухудшается качество материала настолько, что он становится непригодным к использованию. Обычно определяют валовое (общее) содержание газообразующих элементов. Предварительно поверхность образца очищают от сорбированных примесей, прежде всего воды, механическим, химическим или электрохимическим способом либо нагреванием образца в вакууме. Кислород, водород и азот выделяют методами восстановитель-

ного плавления в графитовом тигле или в токе водорода; углерод и серу выделяют сжиганием образца в токе кислорода в присутствии окислительного плавня CuO. Образующиеся летучие молекулярные продукты (O_2 , H_2 , H_2O , N_2 , NH_3 , CO ,

Таблица 19.3

Методы концентрирования и определения примесей в металлах и сплавах

Концентрируемые элементы	Объект анализа	Метод концентрирования	Метод определения	Пределы обнаружения, %
As, Bi, Cd, Cu, Pb, Sb, Sn, Zn	Нержавеющая сталь	Экстракция метилизобутилкетон	Искровая масс-спектрометрия	$10^{-7} - 10^{-5}$
Bi, Cd, Cu, Sb, Zn	Легированные стали	Экстракция три- <i>n</i> -октиламином в метилизобутилкетоне	Атомно-абсорбционная спектроскопия с пламенной атомизацией	$10^{-5} - 10^{-4}$
Ag, Cd, Co, Cu, Zn, Ni, Pb, Tl, In	Вольфрам	Сорбция в статических условиях на активированном угле в присутствии диэтилдитиокарбамината	Атомно-абсорбционная спектроскопия с электротермической атомизацией	$10^{-6} - 10^{-4}$
Ce, La, Pr	Углеродистая сталь	Сорбция на анионите	Рентгенофлуоресцентный анализ	$10^{-3} - 10^{-2}$
Ca, Co, Cr, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Ti, V	Платина	Электролитическое выделение платины	Атомно-эмиссионная спектроскопия	$10^{-5} - 10^{-4}$
Se	Сплавы на основе никеля	Электролитическое выделение селена	Атомно-абсорбционная спектроскопия с пламенной атомизацией	—
Bi, Fe, Pb, Sb, Se, Sn, Te, As	Анодная медь	Соосаждение на $La(OH)_3$	То же	$10^{-6} - 10^{-4}$
Bi, Sb, Sn	Свинец	Соосаждение на $Fe(OH)_3$	»	$10^{-5} - 10^{-4}$
Ag, Al, Au, Ba, Bi, Cr, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn	Селен	Отгонка селена в присутствии графитового порошка	»	—
Ag, Al, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn	Сурьма	Отгонка сурьмы в виде $SbCl_3$ в присутствии графитового порошка	Атомно-абсорбционная спектроскопия с электротермической атомизацией	$10^{-6} - 10^{-5}$

CO₂, SO₂, H₂S и др.) откачивают вакуумным насосом или транспортируют инертным газом и определяют методами газовой хроматографии, газообъемным методом (эвдиометры), методами ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии, кулонометрическим титрованием и др. Процесс часто полностью автоматизирован; нижняя граница определяемых содержаний — 10^{-5} — 10^{-3} %.

При необходимости определить форму нахождения газообразующих примесей (содержание неметаллических включений) используют методы фазового анализа.

Определение элементного состава металлов и сплавов проводят примерно теми же методами, что и при анализе минерального сырья (см. табл. 19.1), но чаще спектроскопическими. Поскольку при анализе металлов и сплавов требуется более высокая точность (особенно при проведении маркировочных и арбитражных анализов), чем при анализе минерального сырья, приоритет отдают методам атомно-абсорбционной и атомно-эмиссионной спектрометрии, масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, рентгенофлуоресцентному анализу, а при анализе легких сплавов — методу эмиссионной фотометрии пламени. Иногда применяют классические методы и фотометрию.

При контроле технологических процессов получения металлов и сплавов важна скорость получения результатов. Для достижения высокой экспрессности и производительности созданы автоматизированные системы аналитического контроля, включающие мощные оптические и рентгеновские квантометры, снабженные компьютерами, автоматические титраторы и другие, которые позволяют в экспресс-режиме проводить автоматизированный анализ, что особенно необходимо при контроле содержания элементов в ходе плавки.

При содержании примесей менее 10^{-5} % их предварительно концентрируют традиционными методами: сорбцией, экстракцией, соосаждением, дистилляцией, которые хорошо сочетаются с методами последующего определения. Примеры использования различных методов концентрирования и определения примесей даны в табл. 19.3.

При необходимости определения распределения примесей по площади и глубине используют методы локального анализа.

19.5. Анализ веществ высокой чистоты

Основой многих современных отраслей науки и техники — микроэлектроники, волоконной оптики, атомной промышленности и многих других являются неорганические вещества высокой чистоты.

Под *веществами высокой чистоты* понимают вещества, свободные от всех примесей на уровне, доступном современным методам очистки и анализа веществ. Основная задача анализа таких материалов — максимально полное определение примесного состава с пределами обнаружения до 10^{-12} — 10^{-9} % (такие пределы обнаружения достигнуты при анализе германия и кремния). Таким образом, требования, предъявляемые к пределу обнаружения примесей в веществах высокой чистоты, значительно превосходят уровни пределов обнаружения большинства прямых методов анализа. Работа со столь низкими концентрациями требует стерильности проведения всех операций аналитического цикла и относится к экстремальным видам аналитических работ. Особые требования предъявляются к чистоте реактивов, материалу посуды, используемому оборудованию и

воздуху рабочих помещений. Во избежание загрязнений из воздуха работу проводят в специализированных чистых помещениях, которые аэрируются ламинарными потоками профильтрованного воздуха. Важен и порядок проведения аналитических операций. Потерь при разложении, концентрировании помогает избежать проведение этих операций в замкнутой системе и совмещение их во времени и пространстве. Все это способствует устранению систематической погрешности и снижению поправки контрольного опыта, который и ограничивает обычно предел обнаружения.

Основную задачу — снижение предела обнаружения — решают по двум направлениям:

- 1) создание новых методов, обеспечивающих низкие пределы обнаружения и, по возможности, многоэлементность анализа;
- 2) комбинация доступных инструментальных методов с высокоэффективными методами концентрирования.

Для веществ высокой чистоты требуется определение практически всех элементов, трудность определения которых различна. Наиболее трудно определяемыми являются газообразующие элементы O, N, H, C, затем следуют Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, Si, составляющие 98,6 % массы земной коры и с большой вероятностью присутствующие в анализируемых объектах, а также в реактивах, используемой посуде и т. д.

Газообразующие примеси выделяют так же, как из металлов. Образовавшиеся летучие молекулярные соединения определяют методами масс-спектрометрии, нейтронно-активационного анализа и другими методами с пределами обнаружения до 10^{-6} %.

Для определения прочих примесей в веществах высокой чистоты используют прямые методы: масс-спектрометрию с различными источниками ионов, нейтронно-активационный анализ и др. Так, методом лазерной масс-спектрометрии можно определять примесь железа в высокочистом фториде алюминия с пределом обнаружения $8 \cdot 10^{-8}$ %. Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой позволяет определить до 50 примесей в высокочистых германии и кремнии с пределами обнаружения 10^{-12} — 10^{-7} %, а нейтронно-активационный анализ — порядка 30 элементов в кремнии, свинце, алюминии и германии с пределами обнаружения 10^{-13} — 10^{-7} %.

Успехи прямых методов определения примесей в веществах высокой чистоты очевидны. Однако в этом случае на первое место выдвигается проблема правильности полученных результатов, для оценки которой необходимы адекватные стандартные образцы состава, номенклатура которых исчисляется единицами. Предварительная операция концентрирования снимает эту проблему, позволяя применять унифицированные образцы сравнения на единой основе (например, водные растворы в атомно-абсорбционной спектрометрии, графитовый коллектор в атомно-эмиссионной спектрометрии).

Для концентрирования примесей в веществах высокой чистоты используют экстракцию, сорбцию, отгонку, реже — осаждение. Созданные гибридные методы — химико-атомно-эмиссионный, экстракционно- и сорбционно-атомно-абсорбционный, метод инверсионной вольтамперометрии — позволяют определять примеси с чувствительностью, в ряде случаев не уступающей чувствительности прямых физических методов. В табл. 19.4 приведены методы концентрирования и определения примесей в некоторых высокочистых материалах.

Методы концентрирования и определения примесей в веществах высокой чистоты

Определяемые элементы	Объект анализа	Способ концентрирования	Метод определения	Пределы обнаружения, %
Al, Au, Bi, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, In, Mn, Ni, Pb, Zn	Галогениды калия и натрия	Экстракция смесью CHCl_3 + изоамиловый спирт + 8-гидроксихинолин + диэтилдитиокарбаминат	Атомно-эмиссионная спектроскопия	$10^{-9} - 10^{-7}$
Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Fe, Hf, La, Mn, Mo, Nb, Ni, Pb, Sb, Sr, Ta, Ti, V	Nb_2O_5 , Ta_2O_5	Сорбция матрицы на волокнистом комплексообразующем сорбенте с амидодиоксимиными группами	Атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно связанной плазмой	$10^{-5} - 10^{-3}$
La, Pr, Sn, Eu, Gd, Dy, Tm, Yb, Lu, Y	Nd_2O_3	Экстракционная хроматография в системе трибутилфосфат — бромат калия	Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой	$5 \cdot 10^{-5} - 5 \cdot 10^{-3}$
Fe, Si, S, Cu, Mg, Zn	PCl_3	Отгонка основы в графитовой лодочке электротермического атомизатора	Атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно связанной плазмой	$10^{-8} - 10^{-6}$
Ag, Al, Be, Ca, Ni, Cd, Pb, Zn, Pt, Mn	Висмут металлический, Bi_2O_3	Отгонка основы (BiCl_3)	Атомно-эмиссионная спектроскопия	$10^{-9} - 10^{-6}$
CO_2	N_2 , He, Ar	Криогенное концентрирование на силихrome C-120	Газовая хроматография	10^{-6}

Существенным недостатком использования концентрирования является возможность потерь и загрязнений. В меньшей степени это относится к методу реакционной газовой экстракции, который позволяет выделить элементы основы или примеси в газовую фазу. Удобен перевод примесей в летучие гидриды. Генерацию гидридов проводят борогидридами щелочных металлов; образующиеся гидриды током инертного газа подают в атомизатор атомно-абсорбционного спектрометра или атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой. Определение существенно упрощается, если имеется атомно-абсорбционный или атомно-эмиссионный прибор, снабженный генератором гидридов. Однако в гидриды можно перевести ограниченное число элементов (мышьяк, сурьму, висмут, олово, теллур, свинец и др.).

Как отмечалось, систематическая ошибка снижается при совмещении процессов разложения и концентрирования во времени и пространстве. Это достигается при использовании автоклавов. Так, при определении примесей Ti, Zr, Mo, V, Be, Sb, Ag в высокочистом оксиде алюминия используют автоматизированный модуль, включающий многооперационный автоклав. Основу переводят в соответствующий хлорид тетрахлорметаном, который очищают в специальных тефлоновых емкостях, помещенных в автоклав. Примеси концентрируют в кратерах спектральных электродов для последующего определения методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии; в графитовых кюветах для последующего определения методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией; в тефлоновых или стеклоуглеродных емкостях для последующего определения методами атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, нейтронно-активационного анализа или спектрофотометрии. Такая техника позволяет определять примеси с пределами обнаружения $10^{-7} - 10^{-5} \%$.

19.6. Анализ объектов окружающей среды

Интенсивное развитие промышленности, транспорта, хозяйственная деятельность человека обуславливают увеличение выбросов вредных веществ в водные источники, атмосферу и загрязнение почвенного покрова. В биосфере насчитывают многие тысячи различных химических соединений антропогенного происхождения и число их неуклонно растет. Это приводит к неблагоприятным последствиям: ухудшению здоровья населения, снижению урожайности сельскохозяйственных культур, гибели представителей фауны, изменению климата и др. Поэтому защита окружающей среды от загрязнений — важнейшая проблема современности. Существенную роль в общей системе мероприятий по защите окружающей среды играет аналитический контроль, методы которого позволяют идентифицировать вещества-загрязнители, выявить их источники и оценить опасные уровни их содержания. Для оценки степени чистоты биосферы введены санитарно-гигиенические нормативы — предельно допустимые концентрации. В России установлены ПДК для 1 500 соединений в воде, около 500 соединений в воздухе и более 150 в почвах. Содержание нормируемых компонентов в воде лежит в интервале 100 — 1 000 мкг/л, а для суперэкотоксикантов — 1 — 2 мкг/л; в воздухе — 1 — 100 мкг/м³, т.е. возникает необходимость определения некоторых компонентов на уровне концентраций до $10^{-10} - 10^{-7} \%$. Это требует применения при анализе объектов окружающей среды высокочувствительных и селективных методов анализа.

Анализ вод. Объектами химического анализа и контроля являются воды различного происхождения: питьевые, водных бассейнов, подземные, сточные, морские и др. Вода является уникальным растворителем, поэтому в ней в растворенном состоянии находятся почти все газы, содержащиеся в атмосфере, неорганические и органические соединения различной природы в растворенном или суспензированном состоянии. При движении водных масс вещества могут переноситься, адсорбироваться взвешенными частицами, осаждаться на дно, вовлекаться в биологические циклы, взаимодействовать друг с другом и т.д. Все эти процессы необходимо учитывать для получения надежных результатов. Последнее существенно зависит от правильного отбора проб, их транспортировки и хранения.

Цель анализа диктует пункты отбора проб (со дна, с поверхности, с определенной глубины-горизонта), время отбора, тип пробы (разовая, серийная или регулярная), способы ее консервирования и хранения. Все эти параметры устанавливаются соответствующей нормативной документацией.

В результате антропогенного воздействия и, конечно, природных процессов в воду поступают сотни тысяч веществ различной природы, токсичности и устойчивости известного, а порой и неизвестного, состава. Поэтому идентификация и определение всех индивидуальных компонентов — задача довольно трудная. Найденное методическое решение — определение так называемых обобщенных показателей — значительно упрощает задачу и позволяет оценить состояние вод и их пригодность для использования. Такими показателями могут быть, например, общее содержание углерода, окисляемость и др.

Кроме обобщенных показателей система контроля вод предусматривает определение приоритетных загрязнителей: нефтепродуктов, фенолов, пестицидов, поверхностно-активных веществ, полихлорбифенилов, тяжелых металлов и некоторых других. Предварительно оценивают цветность, прозрачность, запах воды; выделяют фильтрованием взвешенные вещества и отгонкой матрицы сухой остаток, который определяют гравиметрически; титриметрически находят кислотность, щелочность и жесткость.

Степень загрязнения воды окисляющимися веществами оценивают с помощью обобщенного показателя, называемого *химическим потреблением кислорода*. Потребление кислорода находят по объему раствора дихромата калия или перманганата калия, пошедшего на титрование пробы. Наличие биохимически окисляющихся веществ — *биологическое потребление кислорода* — устанавливают биологическими методами. Информацию о суммарном содержании загрязнителей органической природы дают такие показатели, как общий органический углерод и общий органический азот. Определение проводят с помощью автоматического анализатора, включающего газовый хроматограф. Картину загрязненности дополняют определением растворимого органического углерода, адсорбируемых и экстрагируемых органических галогенсодержащих соединений. В случае положительных результатов при необходимости определяют индивидуальные соединения.

Поскольку содержание загрязнителей мало, их предварительно концентрируют методами газовой экстракции, сорбции, экстракции, сверхкритической флюидной экстракции или методом равновесной паровой фазы.

В некоторых случаях целесообразно разделить вещества на группы, включающие соединения нескольких классов. Так поступают при анализе нефтепродуктов: методом газовой экстракции или равновесной паровой фазы выделяют летучие органические соединения; оставшиеся делят методом тонкослойной хроматографии на фракции, включающие нелетучие углеводороды, полиароматические углеводороды (ПАУ), смолы и асфальтены, и анализируют. Эффективными методами определения выделенных веществ являются газовая хроматография (особенно капиллярная), высокоэффективная жидкостная хроматография и, конечно, хромато-масс-спектрометрия. Некоторые способы выделения приоритетных загрязнителей и методы их определения приведены в табл. 19.5. Кроме хроматографических методов для идентификации и определения используют ИК-спектроскопию.

К приоритетным загрязнителям отнесены тяжелые металлы, которые представляют серьезную опасность для окружающей среды. Только сточные воды гальва-

Выделение и определение приоритетных органических загрязнителей в воде

Определяемые вещества	Способ выделения	Подготовка концентрата к определению	Метод определения
Нефтепродукты: • летучие соединения • вещества средней летучести	Статическое парофазное выделение, газовая экстракция	Дополнительное концентрирование на активированном угле или криогенным способом с последующей термодесорбцией	ГХ-МС
	Экстракция <i>n</i> -гексаном	Отделение от полярных соединений сорбцией на Al_2O_3	ГХ-ПИД
	Сорбция на силикагеле C_{18}	Элюирование дихлорметаном	КГХ-МС
Фенолы (хлор-, нитропроизводные)	Экстракция дихлорметаном	Упаривание, прибавление фосфатного буфера в метаноле	ВЭЖХ-ДДМ
	Экстракция <i>n</i> -гексаном с одновременной дериватизацией	Отгонка растворителя, растворение остатка в гексане	ГХ-ПИД
	Сорбция на активированном угле	Элюирование щелочным раствором этанола	ВЭЖХ-УФ
	Сорбция на силикагеле C_{18}	Элюирование ацетоном	КГХ-МС
Ароматические углеводороды	Статическое парофазное выделение	—	ГХ-ЭЗД
	Газовая экстракция	Очистка экстракта на активированном угле, термосорбция	КГХ-МС
Нитроароматические соединения, анилин	Экстракция дихлорметаном	Упаривание экстракта	КГХ-ТИД
	Сорбция на силикагеле C_{18}	Элюирование дихлорметаном	КГХ-МС
Хлорорганические пестициды, полихлорбифенилы	Экстракция <i>n</i> -гексаном	Очистка экстракта H_2SO_4	ГХ-ЭЗД
	Сорбция на модифицированных силикагелях	Элюирование ацетоном	КГХ-ТИД
Гербициды (триазиновые)	Экстракция дихлорметаном	Отгонка растворителя, растворение остатка в ацетоне	ГЖХ-ТИД
	Сорбция на модифицированных силикагелях	Элюирование смесью <i>n</i> -гексана и ацетона	ГХ-ЭЗД ВЭЖХ-УФ

Определяемые вещества	Способ выделения	Подготовка концентрата к определению	Методы определения
Гербициды на основе феноксиуксусных кислот	Сорбция на силикагеле C_{18}	Элюирование ацетоном, высушивание, растворение в смеси ацетонитрила и воды	ВЭЖХ-ЭХД ВЭЖХ-ДДМ
ПАУ (бензпирен)	Экстракция дихлорметаном или бензолом Сорбция на силикагеле C_{18}	Упаривание экстракта, разбавление ацетонитрилом Элюирование смесью толуол — метанол	КГХ-МС ВЭЖХ-УФ ВЭЖХ-ФЛ ГХ-ПИД
ПАВ (аминоспирты, моноэтаноламин)	Экстракция метанолом	Упаривание экстракта (дериватизация)	ГХ-ПИД

Примечание. ГХ — газовая хроматография; КГХ — капиллярная газовая хроматография; ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография; ГЖХ — газожидкостная хроматография; МС — масс-спектрометрия; ПИД — пламенно-ионизационный детектор; ДДМ — детектор на диодной матрице; УФ — УФ-спектрофотометрический детектор; ЭЗД — электронно-захватный детектор; ТИД — термоионный детектор; ФЛ — флуориметрический детектор; ЭХД — электрохимический детектор.

нических производств ежегодно выбрасывают около 50 тыс. т тяжелых металлов, 100 тыс. т кислот и щелочей, 30 % которых попадает в водные бассейны; металлы мигрируют, аккумулируются в других объектах, вызывая вторичные загрязнения.

Сложности определения металлов в водах связаны с тем, что большинство из них образует прочные комплексы с органическими соединениями, в том числе с природными, в частности с гуминовыми веществами, образуют коллоидные частицы, которые перед определением необходимо разрушить. Обычно воду упаривают и минерализуют азотной или серной кислотой. Эффективность и скорость этого процесса существенно возрастают при облучении пробы УФ светом ксеноновых ламп, при воздействии ультразвукового или микроволнового излучения. В большинстве случаев металлы предварительно концентрируют. Предпочтение отдают групповым методам концентрирования и последующим многоэлементным методам анализа.

Например, примеси металлов сорбируют из воды на активированных углях, модифицированных комплексообразующими реагентами, либо на полимерных сорбентах с привитыми комплексообразующими группами. Так, микроколонка, заполненная сорбентом на основе полистирола с диэтилентриаминтетраацетатными группами использована в автоматизированном комплексе для проточно-сорбционно-атомно-абсорбционного определения ионов Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn в питьевых, природных и очищенных сточных водах. Экстракция и соосаждение для концентрирования металлов постепенно теряют значение, хотя благодаря простоте, экспрессности и доступности экстракционно-фотометрический метод активно используют для анализа сильнозагрязненных вод. Основными методами анализа концентрата являются атомно-абсорбционная спектроскопия и атомно-эмиссионная спектроскопия, особенно последняя в варианте с индук-

тивно связанной плазмой, а также масс-спектроскопия с индуктивно связанной плазмой — метод, позволяющий проводить многоэлементный анализ без дополнительного концентрирования.

В ряде случаев важно не только определить общее содержание металла, но и содержание отдельных его форм, которые могут существенно различаться по токсичности, т.е. провести вещественный анализ. Классическим примером является ртуть. В водной среде ртуть может существовать в виде катиона ртути(II), комплексов этого элемента с неорганическими и органическими лигандами, в виде очень токсичной метилртути. То же касается ионов хрома(III) и хрома(VI). В этом случае различные формы металлов разделяют экстракцией или сорбцией и определяют любым доступным методом. Перспективно использовать для этой цели инверсионную вольтамперометрию, позволяющую решать такие задачи без разделения.

Помимо веществ-загрязнителей в водах определяют и естественные компоненты — растворенный кислород, общее содержание солей (например, соленость морской воды), содержащиеся в воде катионы и анионы.

Анализ воздуха. В круг задач при анализе воздуха входит контроль степени загрязнения атмосферного воздуха, воздуха природных заповедников, рабочих помещений, промышленных зон и др. Определяют и естественные компоненты воздуха: важно следить за содержанием диоксида углерода (в связи с парниковым эффектом), определять содержание озона в высших слоях атмосферы (для обнаружения и оценки так называемых «озоновых дыр»), в ряде случаев наблюдать за содержанием кислорода.

Особенность анализа воздуха состоит в том, что он представляет собой нестационарную, многофазную и многокомпонентную систему. В воздухе помимо примесей газов естественного происхождения (до $0,25 \text{ мг/м}^3 \text{ CO}_2$, O_3 , NO_x и NH_3 , до $1,5 \text{ мг/м}^3$ водорода и метана) и газов антропогенного происхождения (оксидов серы, галогенов и галогеноводородов, летучих органических веществ и др.) находятся жидкие и твердые компоненты: аэрозоли металлов и органических веществ, твердые частицы (пыль, песок, сажа и т.д.). Состав и соотношение этих фаз под действием внешних факторов (ультрафиолетового излучения, солнечной радиации, метеоусловий, влаги и др.) постоянно изменяются. Первичные загрязнители взаимодействуют с присутствующими в воздухе веществами, давая вторичные загрязнители, нередко токсичнее первых, которые могут адсорбироваться твердыми частицами, переноситься на большие расстояния от источника загрязнений. Все эти явления должны обязательно учитываться при отборе проб.

Отбор проб осуществляют в непрерывном режиме и разовым способом. При разовом отборе можно использовать вакуумный способ: пробу отбирают в вакуумированные контейнеры из нержавеющей стали, стекла или полимерной пленки. Этот прием применяют при определении в воздухе газов и летучих органических загрязнителей, если не требуется их концентрирование; он удобен для последующей транспортировки отобранных проб. При необходимости концентрирования большие объемы воздуха (до 1000 м^3) прокачивают через пробоотборники — аспираторы, снабженные фильтрами и системой ловушек. Обычно используют простые и дешевые фильтры из ультратонких слоев полимерных волокон на основе поливинилхлорида, полистирола, керамики, стекла и других материалов. При скорости фильтрования $1 \text{ м}^3/\text{с}$ улавливается до 90 % частиц размером $> 0,3 \text{ мкм}$. Аналогично действуют мембраны, изготовленные из производных целлюлоз. Сконцентрированные на фильтре органические примеси выделяют термо-

десорбцией, экстракцией, сверхкритической флюидной экстракцией, способом равновесной паровой фазы; примеси неорганической природы растворяют в кислотах, щелочах и других растворителях и определяют. Иногда фильтры озоняют.

Хорошие результаты дает осаждение аэрозолей и твердых частиц на электродах. Воздух прокачивают через канал, внутри которого находятся угольный анод и вольфрамовый катод. При электрическом разряде частицы заряжаются и осаждаются на торце угольного электрода, который используют в качестве нижнего в дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии. Крупные (20 мкм и более) частицы можно выделить простым способом гравитационной седиментации.

Газообразные вещества и сублимированные частицы ($< 0,3$ мкм) проходят через фильтр. Их концентрируют в ловушках, заполненных поглотителями, селективно взаимодействующими с веществами-загрязнителями: жидкими реагентами или сорбентами. В качестве жидких поглотителей используют воду, растворы кислот, щелочей, солей, органические растворители, комплексообразующие вещества и др. Далее в аликвотной части раствора определяют поглощенные вещества.

Чаще примеси-загрязнители концентрируют в ловушках, заполненных твердыми сорбентами с развитой поверхностью. Последними служат органические пористые полимерные сорбенты (на основе стирола и дивинилбензола: поропак и хромосорбы и др.), графитированные сажи (углеродсодержащие полимеры: карбопак и др.), активированные угли, силикагели, пенополиуретаны, оксид алюминия, стеклянные шарики и др. Все они обладают различной сорбционной способностью, что дает возможность, изменяя комбинацию ловушек, достигать желаемых результатов. Из фазы сорбента загрязнители выделяют теми же методами, что и из фильтров.

Поскольку характер примесей-загрязнителей в воздухе и в воде практически одинаков, для определения выделенных примесей используют те же методы, что и при анализе вод: органические вещества определяют хроматографическими методами; неорганические — методами молекулярной, атомно-абсорбционной, атомно-эмиссионной спектроскопии или масс-спектрометрией с индуктивно связанной плазмой. Метод атомно-абсорбционной спектроскопии успешно используют для определения такого токсичного загрязнителя, как тетраэтилсвинец после поглощения его силикагелем и экстракции из фазы сорбента этанолом.

Металлы-загрязнители можно определить непосредственно в фазе сорбента рентгенофлуоресцентным или нейтронно-активационным методом.

Высокую степень концентрирования, особенно органических веществ, обеспечивает криогенный способ. Воздух аспирируют через систему ловушек, охлажденных до заданной температуры различными хладагентами: лед — вода (0°C), лед — NaCl (-16°C), твердый CO_2 — ацетон (-80°C), жидкий воздух (-147°C), жидкий кислород (-183°C), жидкий азот (-196°C) и др. Для повышения эффективности концентрирования вымораживанием ловушки заполняют инертными материалами: стеклянной ватой, стеклянными или металлическими шариками, металлической стружкой, полимерными сорбентами и др. После концентрирования ловушку нагревают и переносят примеси током газа-носителя в хроматографическую колонку.

Для оценки состояния воздуха промышленных зон широко используют различные автоматические газоанализаторы. Так, для определения токсичных газов: NH_3 , фосгена, H_2S , Cl_2 , NO_2 , SO_2 и O_3 — используют газоанализаторы, в кото-

рых предусматривается селективное поглощение газов различными реагентами и последующее фотометрирование растворов. Существуют полисенсорные анализаторы на водород, кислород, метан, диоксид углерода, основанные на предварительном разделении газов на микроколонке с последующим определением в твердоэлектrolитной ячейке с пределами обнаружения до $5 \cdot 10^{-6}$ об. %. Содержание паров ртути определяют, например, с помощью компактного сенсорного анализатора, в котором предусматривается сорбция ртути на электроде, покрытом тонким слоем золота (образуется амальгама), и измерение ее люминесценции после разложения амальгамы нагреванием и перехода ртути в «холодный пар». Анализатор позволяет определять $2 \cdot 10^{-8}$ г/л ртути в воздухе рабочих помещений.

При анализе выбросов токсичных веществ все большее значение приобретает дистанционное определение аэрозольно-газовых загрязнений. Определение проводят с помощью мощных лазерных систем (лидаров): лазерное излучение направляют на атмосферную трассу, где оно рассеивается на удаленном топографическом отражателе или отражается от специального рефлектора и селективно по частотам детектируется ИК-фотоприемным устройством.

Анализ почвы. Важнейшим и самым сложным с точки зрения анализа объектом окружающей среды является почва. Питательная ценность почвы определяется наличием в ней макро- и микрокомпонентов неорганической природы, гуминовых веществ и других органических соединений, ее структурой.

Негативное влияние на состояние почв оказывают вещества-загрязнители, поступающие с индустриальными выбросами, избытком средств для роста растений (удобрений) и их защиты (пестицидов), из воздуха и водных источников. Почва является высокоемким аккумулятором токсичных веществ, которые накапливаются в ней, мигрируют и переносятся на большие расстояния.

Все это определяет основные задачи анализа почв: 1) идентификацию почвенных фаз (фазовый анализ); 2) определение обменных (подвижных) катионов и анионов; 3) определение общего (валового) содержания минеральной составляющей почвы; 4) определение гуминовых веществ; 5) определение загрязнителей неорганической и органической природы.

Предварительно оценивают кислотно-основные и окислительно-восстановительные свойства почвы потенциометрическим методом со стеклянным и платиновым электродами соответственно. Полученные результаты позволяют предположить тип почвы и ее вероятный качественный состав.

Поскольку почва — многофазная система, устанавливают ее фазовый состав, используя методы фазового анализа, чаще всего избирательное растворение. Для агрохимиков важным является наличие в почве доступных растениям подвижных (обменных) катионов и анионов, которые влияют на урожайность сельскохозяйственных культур. Основным приемом анализа в данном случае является получение вытяжек из почв, которые имитируют почвенные растворы. По существу, это — способ фазового анализа. Образец не разлагают, а извлекают ионы различными по составу растворами кислот, аммиака, солей при соотношении сухая почва : растворитель, равном 1 : 5. В полученных вытяжках без дополнительных операций определяют подвижные ионы. Так, в водной вытяжке методом эмиссионной фотометрии пламени определяют ионы Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , методом ионной хроматографии — Cl^- , SO_4^{2-} , NO_2^- , NO_3^- . Для определения можно использовать и ионселективные электроды. Изменяя состав раствора, извлекают подвижные формы азота, фосфора, кремния, алюминия, железа и др.

Способ вытяжек не всегда дает удовлетворительные результаты при определении микрокомпонентов-металлов, поскольку они сорбируются, соосаждаются, часто образуют новые химические соединения или изоморфно замещают компоненты в решетках глинистых материалов почв. Использование ультразвукового излучения делает возможным реализацию этого способа. Так, при ультразвуковом перемешивании были выделены подвижные формы Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb и Zn из черноземов и определены методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Чаще же определяют валовое содержание микрокомпонентов. Для этого почву разлагают смесью кислот ($\text{HNO}_3 + \text{HF}$ или $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HF}$), предварительно окислив органическую составляющую почвы дихроматом калия.

Определению подлежат биологически активные элементы B, Cu, Mn, Mo, Zn, Cl, I, Cr, Ni, V и вносимые извне As, Be, Cd, Hg, Pb, Sb, Tl, F, Br. Содержание биологически активных элементов нормировано, однако содержание их в почве нередко в тысячи раз превосходит ПДК, и тогда биологически активные элементы превращаются в токсичные. В результате проблемы определения «полезных» и «вредных» микрокомпонентов тесно связаны: в обоих случаях используют одни и те же методы выделения и определения. Для выделения и концентрирования используют сорбцию, реже — экстракцию и соосаждение. Для определения металлов в концентратах (в том числе и в вытяжках) используют методы атомной и молекулярной спектроскопии. Часто используют атомно-эмиссионную спектроскопию, особенно с индуктивно связанной плазмой, позволяющую определять металлы на уровне ПДК. В основе многих стандартных методик лежит метод атомно-абсорбционной спектроскопии с пламенной и электротермической ионизацией, а для определения низких содержаний катионов Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и анионов S^{2-} , SCN^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- рекомендован метод инверсионной вольтамперометрии.

Важнейшими показателями плодородия почвы и ее структуры является наличие в ней гуминовых веществ: гуминовых кислот и фульвокислот. Гуминовые вещества — это сложная смесь полиэлектролитов с различными молекулярными массами, в структуру которых входят карбонильные, фенольные, карбоксильные и другие функциональные группы. Для оценки качества почв требуется определять общее содержание гуминовых веществ и фракционное содержание их составляющих.

В массовых анализах используют простые методики. Общее содержание гуминовых веществ оценивают по объему выделяющегося диоксида углерода после окисления навески почвы дихроматом калия. Объем диоксида углерода определяют хроматографическим или газообъемным методом. Для фракционного определения навеску почвы последовательно обрабатывают пирофосфатом натрия, серной кислотой и щелочью и выделяют гумат натрия, в котором определяют углерод по методике для общего содержания гуминовых веществ. Содержание фульвокислот находят по разности. Одновременно можно определить общий азот по методу Кьельдаля. Такой способ дает информацию только об элементном составе гуминовых веществ. Этого, однако, недостаточно, во многих случаях требуется молекулярный и структурно-групповой анализ. Эту задачу можно решить методом гель-хроматографии. Разделение проводят на полидекстрановом геле: молекулы диффундируют внутрь геля в соответствии со своим размером и элюируют в порядке уменьшения их размеров. По хроматографическим данным вычисляют молекулярную массу и идентифицируют вещества по УФ спектрам. Более

современными являются методы электронной спектроскопии, ЯМР- и масс-спектрометрии.

Кроме гуминовых кислот в почве присутствуют в свободном виде другие органические вещества естественного происхождения: белки, полипептиды, аминокислоты и нуклеиновые кислоты, флавоноиды, пигменты и др. Их выделяют экстракцией из почвы и анализируют хроматографическими методами.

Серьезную проблему представляет загрязнение почвы органическими токсикантами: фенолами, пестицидами, полиароматическими углеводородами и др. Эти загрязнители образуют с гуминовыми веществами межмолекулярные водородные связи и прочно удерживаются почвой. Выделяют их из почвы в основном экстракцией, подбирая состав растворителя эмпирически. Летучие органические вещества выделяют термодесорбцией или сверхкритической флюидной экстракцией. Концентраты анализируют хроматографическими методами.

19.7. Анализ других объектов

Анализ пищевых продуктов. Пищевые продукты — чаще всего сложные химические комплексы, они многокомпонентны и включают различные классы соединений органической и неорганической природы, содержание которых варьирует в очень широких пределах. Условно компоненты пищи делят на три группы: собственно компоненты пищи (белки, жиры, углеводы, витамины и др.), пищевые добавки (консерванты, красители, ароматизаторы и др.) и чужеродные вещества (пестициды, фенолы, тяжелые металлы и др.).

Довольно долго качество пищевых продуктов контролировали преимущественно органолептически. Дегустаторы-профессионалы оценивали внешний вид, вкусовые качества, аромат и другие параметры. Однако хорошо известно, что прекрасные органолептические свойства пище иногда придают вредные для здоровья добавки, а наличие, например, гормонов и антибиотиков таким способом оценить невозможно. Невозможно этим методом оценить и подлинность продукта. Вопросы пищевой ценности и безопасности продуктов можно решить только методами аналитической химии.

Одним из важнейших показателей пищевой ценности является наличие в продукте белков и их состав, определяемый природой аминокислот, образующих белок. При определении общего содержания белка и его фракционного состава используют, например, комбинированный метод, включающий ультрафильтрацию, гель-хроматографию и электрофорез. Такая комбинация позволяет отделить высокомолекулярные биополимеры от низкомолекулярных и разделить их на узкие фракции. Во фракциях белки определяют методом ИК-спектроскопии, прямым денситометрическим методом или используют фотометрию. Суммируя результаты, определяют общее содержание белка. Современным методом фракционирования белков является аффинная высокоэффективная жидкостная хроматография.

При определении аминокислотного состава белок предварительно разрушают; образующиеся аминокислоты определяют различными хроматографическими методами: ионообменной и газовой (после дериватизации) хроматографии. В массовых анализах используют фотометрический метод, ИК-спектроскопию, потенциометрическое титрование в неводных средах либо химические методы (например, метод Кьельдаля).

Показателем качества пищевых продуктов является содержание в них липидов (жиров и др.), углеводов, фенольных соединений, органических кислот, азотистых соединений и др. Летучие вещества (определяющие вкус и аромат пищи) предварительно выделяют газовой экстракцией, сверхкритической флюидной экстракцией, отгонкой с паром, прочие — экстракцией после выделения белка. При необходимости экстракт дополнительно очищают сорбцией. Поскольку каждый из выделенных классов содержит большое число веществ, их делят на группы методом тонкослойной хроматографии и анализируют методами газовой, газожидкостной или ионообменной хроматографии.

Так, липиды предварительно экстрагируют смесью $\text{CHCl}_3 + \text{CH}_3\text{OH}$, осаждают белок и делят липиды на группы методом тонкослойной хроматографии. Далее из каждого пятна элюируют липиды и определяют методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Углеводы выделяют водой, очищают от белков и после дериватизации анализируют методами газовой хроматографии. Выделенные белки можно перевести в боратные комплексы и разделить методом ионообменной хроматографии с селективным элюированием.

Хроматографические методы используют и для определения других органических компонентов. Однако результаты определений позволяют судить только о составе продукта, но не дают сведений о строении индивидуальных веществ, а именно со строением липидов связано развитие таких заболеваний, как атеросклероз и др. К тому же структура в большинстве случаев позволяет выявить подлинность и фальсификацию продуктов (масел, меда и др.). Поэтому методы газовой и ионообменной хроматографии постепенно вытесняет метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, например, с ультрафиолетовым детектированием, который позволяет решить эту задачу. Надежную информацию о структуре вещества дает также хромато-масс-спектрометрия.

Важной составляющей пищевых продуктов является минеральная часть. Минеральные компоненты, как правило, определяют в растворах, полученных после минерализации продуктов сухим либо мокрым способом. Разложение ускоряют, используя интенсивные способы (автоклавы, ультразвуковое, микроволновое излучение). Необходимые организму минеральные макрокомпоненты Na, K, Ca, P, Cl, S и некоторые другие определяют методами эмиссионной фотометрии пламени, фотометрии, с помощью ионселективных электродов.

Для обеспечения жизненных функций необходимы микрокомпоненты, содержание которых в пищевых продуктах строго нормируется. При содержаниях, превышающих ПДК, микрокомпоненты превращаются в загрязнители, причем граница между «полезным» и «вредным» часто очень условна, поэтому при определении используют высокочувствительные методы анализа. Международные организации включили в число микрокомпонентов, обязательных для контроля, восемь элементов: Fe, Zn, Cu, Sn, As, Pb, Cd, Hg — и рекомендовали в качестве арбитражного метода атомно-абсорбционную спектроскопию. В России этот список расширен, добавлены Sb, Ni, Cr, Al, Se, F, I. Для текущего контроля используют рентгенофлуоресцентный метод, атомно-эмиссионную спектроскопию и фотометрию, инверсионную вольтамперометрию.

При необходимости микрокомпоненты концентрируют методами сорбции или, реже, экстракции.

Опасными для здоровья являются чужеродные вещества-загрязнители, попадающие из окружающей среды в корма, сельскохозяйственные продукты расти-

тельного и животного происхождения. Чрезмерное использование удобрений приводит к накоплению в продуктах нитратов. Сами по себе нитраты не являются токсичными и полезны растениям, но опасны для человека: под действием микрофлоры кишечника они восстанавливаются до нитритов и переходят в нитрозосоединения, обладающие канцерогенными и мутагенными свойствами. Для определения нитратов и нитритов в массовых анализах используют ионселективные электроды; нитрозосоединения определяют методами газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Еще большую опасность представляет загрязнение пищевых продуктов остатками пестицидов, диоксинов, полиароматических углеводородов, полихлорбифенилов, фенолов и др. Их выделяют и определяют методами, рассмотренными выше.

В большинстве своем продукты питания — скоропортящиеся материалы, при нарушении правил транспортировки и хранения которых часто образуются особо токсичные вещества. К ним относятся биогенные амины, микотоксины и др. Так, при длительном хранении и порче рыбы в ней образуются гистамин, тирамин и др. Для их определения биогенные амины предварительно выделяют экстракцией *n*-бутанолом после осаждения белка и определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектором.

Большую опасность представляют микроскопические плесневые грибы, продуцирующие супертоксиканты — микотоксины (афлотоксины, зеараленон, патулин и др.). Ежегодный ущерб, наносимый этими токсинами в мире, превышает десятки миллиардов долларов.

Анализ на содержание микотоксинов включает два этапа. На начальном этапе проводится качественный анализ, основанный на интенсивной сине-зеленой флуоресценции зараженных продуктов, наблюдаемой в УФ области. При положительном результате микотоксины выделяют и концентрируют методами жидкостной или сверхкритической флюидной экстракции или сорбцией на модифицированных силикагелях. Определение и идентификацию проводят методами высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Анализ медико-биологических объектов. Среди объектов анализа особое место занимают объекты биологического происхождения. Основная задача при их анализе состоит в определении химического состава различных биопроб (клинический анализ) и контроле лекарственных средств (фармацевтический анализ).

Клинический анализ. Главная задача клинического анализа — получение диагностической информации, позволяющей выявить наличие и тенденции в развитии заболевания, провести лекарственную терапию, контролировать патологические процессы, связанные с воздействием неблагоприятных внешних факторов и др.

Чаще всего целью анализа является установление содержания конкретного компонента или отношения компонентов. Например, начальная стадия заболевания диабетом фиксируется по повышению уровня сахара в крови, анемия — по отклонению от нормы содержания в крови гемоглобина. Объектом анализа является биологический материал (биосубстрат), отобранный из внутренней среды организма или являющийся результатом разного рода выделений — мочи, пота, выдыхаемого воздуха и др. При работе с такими объектами необходимо учитывать многокомпонентность объекта и, главное, возможность быстрого изменения. Основательно осложняет анализ и то, что определяемое вещество в подавляющем

большинстве случаев присутствует в объекте анализа на фоне множества других веществ, в том числе его собственных метаболитов, нередко неизвестного состава. Свой вклад часто вносит и малая концентрация определяемых веществ. Поэтому проблемы отбора проб и их подготовки к анализу для различных биосубстратов имеют свою специфику: строго регламентируются точки отбора, объем или масса материала, условия стабилизации и хранения и другие параметры. Во многих случаях операции проводят в стерильных условиях.

Биосубстраты можно систематизировать по их типовому составу. Выделяют группу со сравнительно невысоким содержанием биогенных веществ (белка, липидов): мочу, пот, слезную жидкость и др. При их анализе нет необходимости в разложении пробы и редко возникает необходимость удаления сопутствующих веществ. Наиболее изученным и используемым биосубстратом является моча; в ней создаются достаточно высокие концентрации определяемых веществ ввиду естественного концентрирования при выводе, и вещество может быть обнаружено в течение некоторого промежутка времени даже после разового попадания в организм. Существенным недостатком мочи как объекта исследования является сильная метаболизированность выводимых веществ.

Другую группу составляют жидкости с высоким содержанием биоматериала: кровь, лимфа, желудочный сок, спинномозговая жидкость, слюна и др. При их анализе требуется очистка от биогенных веществ. В клиническом анализе используют ставшие классическими схемы депротеинизации проб: при извлечении веществ основного характера водными растворами кислот белок осаждают трихлоруксусной кислотой; при извлечении веществ кислотного характера водными растворами щелочей осаждение белка проводят вольфрамом натрия. Существуют и другие способы. Денатурированный белок отделяют центрифугированием.

Анализ крови наряду с анализом мочи является классическим методом клинических исследований и позволяет определять действующую концентрацию определяемого вещества. Недостатком крови как объекта исследования является ее быстрая коагуляция, а используемые для консервации антикоагулянты вносят в большинстве случаев погрешность при анализе. Погрешность могут вносить и форменные элементы крови: эритроциты, тромбоциты, лейкоциты. В этом случае важно, какая составляющая крови будет взята для анализа.

Например, лекарственный препарат фенотиазин на 90—95 % связывается белками крови, поэтому анализу подлежит цельная кровь. Кардиопрепараты накапливаются преимущественно в эритроцитах и при анализе цельной крови оценка связи концентрации препаратов с фармакологическим эффектом затруднена. В этом случае целесообразен анализ плазмы или сыворотки крови.

Наконец, самую большую группу составляют сложные, часто твердые объекты биогенного характера: все виды животных тканей, жиры, волосы и др. Наиболее перспективным биосубстратом являются волосы. Установлено, что содержание определяемых веществ в волосах коррелирует с их содержанием в организме. Кроме того, по изменению содержания компонента вдоль длины волоса можно получить информацию о динамике его поступления в организм.

В ряде случаев (например, при определении радионуклидов и тяжелых металлов) биосубстрат разлагают преимущественно мокрым способом в азотной кислоте. Для разложения используют разнообразные микроволновые установки и ультразвуковые ванны. Под действием физических полей ускоряется деструкция трудноразлагаемых материалов (например, костных тканей), а также денатурация белков.

Перспективным способом разложения являются ферментные методы с использованием неселективных протеаз и липаз.

Большинство определяемых веществ в биосубстратах содержится в низких концентрациях, поэтому необходимо концентрирование. В практике клинических лабораторий для этих целей используют методы испарения (вакуум-отгонку, отгонку с водяным паром, газовую экстракцию и примыкающую к ним сверхкритическую флюидную экстракцию), для разделения полимерных молекул, в частности для фракционирования белков, — мембранные методы (осмос, ультра- и микрофильтрацию, гель-фильтрацию). Лидирующее положение по частоте использования занимают экстракция и сорбция. Концентрат анализируют инструментальными методами. На современном этапе при определении веществ органической природы приоритет принадлежит методам хроматографии: газовой и высокоэффективной жидкостной. Для определения веществ, в молекулах которых содержатся электрохимически активные группы, эффективным является метод инверсионной вольтамперометрии. Неорганические компоненты биообъектов определяют методами атомно-эмиссионной и атомно-абсорбционной спектроскопии. Примеры концентрирования и определения некоторых веществ в различных биообъектах приведены в табл. 19.6.

Известны примеры использования методов локального анализа для определения состава зубной эмали.

Клиническим лабораториям приходится также иметь дело с определением в организме веществ-токсикантов антропогенного характера. В этом случае, соблюдая все требования к отбору и пробоподготовке биосубстрата, выделяют и определяют примеси методами, используемыми для анализа объектов окружающей среды.

Фармацевтический анализ. Терапевтическое действие лекарственных средств определяется концентрацией действующего вещества и степенью чистоты препарата. Это и определяет задачи аналитического контроля в этой области. Есть и другие задачи: проверка подлинности препаратов, оценка устойчивости лекарств при хранении.

При определении состава препарата и оценке его подлинности не потерял своего значения элементный анализ, широко используемый при анализе любых органических веществ. В лекарственных средствах определяют углерод, водород, азот, серу, галогены. Пиролизом (выше 1 000 °С) анализируемого препарата в присутствии катализаторов (композиционных материалов на основе оксидов серебра и других металлов или платины) элементы переводят в летучие соединения и определяют газохроматографическим или газообъемным методами, методом ИК-спектроскопии, электрохимическими методами. Процесс полностью автоматизирован: от отбора пробы до получения результата. Данные элементного анализа дополняют результатами функционального анализа.

Однако для полной характеристики препаратов этих данных часто недостаточно. Необходимо подтверждение строения соединений, что требует применения структурно-информативных методов. Таковыми являются газовая хроматография, в том числе реакционная газовая хроматография, капиллярная газожидкостная и высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрическими системами высокого и низкого разрешения. Достаточно полную информацию о строении вещества дает ИК-спектроскопия и спектроскопия ЯМР.

Терапевтическое действие препарата часто зависит не только от его состава, но и от изомерии. Примером может служить кетамин — препарат, используемый

Методы определения некоторых веществ в биологических объектах

Определяемое вещество	Объект исследования	Подготовка образца	Методы определения
Нейромедиаторные кислоты, биогенные амины (γ-аминомасляная кислота, таурин, аланин, гистидин, тирозин, аргинин и др.)	Спинномозговая жидкость	Пред- и послеклоночная дериватизация <i>орто</i> -фталевым ангидридом	Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография с УФ или электрохимическим детектором
Кардиопрепараты (кордонул, дигоксин и др.)	Сыворотка или плазма крови	Прямое определение	Инверсионная вольтамперометрия
Антидепрессанты (амитриптилин, мапротилин, хломипрамин и др.)	Плазма крови Кровь, моча	Экстракция <i>n</i> -гексаном Экстракция смесью <i>n</i> -гексана и изоамилового спирта	Высокоэффективная жидкостная хроматография Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография с УФ детектором
Анестезирующие препараты: • фентанил • дроперидол • кетамин	Плазма или сыворотка крови	Экстракция <i>n</i> -гексаном Экстракция <i>n</i> -бутилхлоридом Экстракция бензолом	Газовая хроматография с детектором по электронному захвату Высокоэффективная жидкостная хроматография с УФ детектором Газовая хроматография с детектором по электронному захвату
Цинк	Волосы	Мокрая минерализация в азотной кислоте	Рентгенофлуоресцентный анализ

Определяемое вещество	Объект исследования	Подготовка образца	Методы определения
Ba, Ca, K, Mg, Na, Zn, P, S	Кровь	Прямое определение	Автоматизированная система масс-спектрометрия вторичных ионов — проточно-инжекционный анализ — атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно связанной плазмой
As, Ba, Cr, Fe, Mn, Rb, Sr, Ti, Zn	Биологические ткани	Озоление в кислородной плазме при 100 °С	Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой
As, Cd, Cr, Pb, Se	Волосы, моча	Мокрая минерализация в азотной кислоте, автоклав	Атомно-абсорбционная спектроскопия с электротермической атомизацией
Hg	Кровь, твердые ткани	Мокрая минерализация в азотной и серной кислотах, экстракция раствором дитизона в хлороформе	Фотометрия
Cd, Co, Fe, Mo, V, Zn	Сыворотка крови, ткани животных	Мокрая минерализация в азотной кислоте, автоклав; сорбция на комплексообразующем сорбенте	Атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно связанной плазмой

для общего наркоза. В хирургической практике кетамин используют в виде раствора рацематов. Однако установлено, что анальгетические свойства и время действия энантиомеров кетамина различны, в связи с чем возникла необходимость их разделения и дифференцированного определения. Обычно для этих целей используют газовую хроматографию с масс-спектрометрическим детектором или высокоэффективную жидкостную хроматографию с электрохимическим детектором. Самым эффективным способом разделения энантиомеров является капиллярный электрофорез. Этим методом успешно разделяют энантиомеры кетамина, эфедрина и других лекарств.

Часто лекарственное средство представляет собой смесь веществ. При необходимости проводят их разделение, используя методы экстракции или тонкослойной хроматографии.

Контрольные задания

1. Какими основными критериями руководствуются при выборе метода анализа реального объекта?

2. В чем сущность фазового анализа? Какими методами устанавливают фазовый состав?

3. В концентрат полиметаллической руды входят сульфиды таллия(III), цинка, кадмия и свинца(II), содержание которых в пересчете на металл составляет: 0,2, 20, 5 и 30 % соответственно. Какие методы определения можно использовать при указанных содержаниях?

4. Перечислите способы выделения газообразующих примесей из металлов и сплавов. Какими методами определяют выделенные вещества?

5. Какие пути снижения пределов обнаружения примесей в веществах высокой чистоты используют в практике аналитических лабораторий? Приведите примеры.

6. Укажите основные методы выделения и концентрирования летучих органических веществ из воды, почвы и других объектов.

7. По каким основным характеристикам определяют качество воды? Перечислите методы их определения.

8. В сточных водах комбината стиральных и моющих средств проводят регулярный санитарно-токсикологический контроль содержания бора (от ПДК до 40 мг/л), калия и натрия (0,1 — 100 мг/л), а также тяжелых металлов Pb, Cu, Cd, Zn, Ni (от ПДК до 10^{-2} мг/л). Предложите методы идентификации, концентрирования и определения. Можно ли автоматизировать анализ?

9. Какой способ используют для выделения подвижных катионов и анионов из почв? Какими методами определяют выделенные вещества? Приведите примеры.

10. Какими методами выделяют и определяют белки в пищевых продуктах? Как устанавливают их аминокислотный состав?

11. Перечислите основные методы анализа лекарственных средств при установлении их чистоты и подлинности.

Список литературы

Джеффри П. Химические методы анализа горных пород / П. Джеффри. — М. : Мир, 1973.

Золотов Ю. А. Химические тест-методы анализа / Ю. А. Золотов, В. М. Иванов, В. Г. Амелин. — М. : Едиториал УРСС, 2002.

- Идентификация органических соединений / [Р. Шрайнер и др.]. — М. : Мир, 1983.
- Лурье Ю. Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод / Ю. Ю. Лурье. — М. : Химия, 1984.
- Мазор Л. Методы органического анализа / М. Мазор. — М. : Мир, 1986.
- Методы анализа пищевых продуктов / под ред. Ю. А. Клячко, С. М. Беленького. — М. : Наука, 1988.
- Методы анализа чистых химических реактивов / [М. С. Чупахин и др.]. — М. : Химия, 1984.
- Методы количественного органического элементного микроанализа / под ред. Н. Э. Гельман. — М. : Химия, 1987.
- Моросанова С. А. Методы анализа природных и промышленных объектов / С. А. Моросанова, Г. В. Прохорова, Е. Н. Семеновская — М. : Изд-во МГУ, 1988.
- Муравьева С. И. Справочник по контролю вредных веществ в воздухе / С. И. Муравьева, Н. И. Казнина, Е. К. Прохорова. — М. : Химия, 1988.
- Определение малых концентраций элементов / под ред. Ю. А. Золотова, В. А. Рябухина. — М. : Наука, 1986.
- Определение редких и радиоактивных элементов в минеральном сырье / под ред. Г. В. Остроумова. — М. : Недра, 1983.
- Определение рудных и рассеянных металлов в минеральном сырье / под ред. Г. В. Остроумова. — М. : Недра, 1982.
- Орлов Д. С. Химия почв / Д. С. Орлов. — М. : Изд-во МГУ, 1992.
- Сиггиа С. Количественный органический анализ по функциональным группам / С. Сиггиа, Дж. Ханна. — М. : Химия, 1983.
- Справочник по свойствам, методам анализа и очистке вод : в 2 ч. / [Л. А. Кульчинский и др.]. — Киев : Наукова думка, 1980.
- Уильямс У. Дж. Определение анионов / У. Дж. Уильямс. — М. : Химия, 1982.
- Филиппова Н. А. Анализ руд цветных металлов и продуктов их переработки / Н. А. Филиппова, Э. П. Шкробот, Л. Н. Васильева. — М. : Metallurgia, 1980.
- Хроматографический анализ окружающей среды / под ред. Р. Гроба. — М. : Химия, 1979.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Автоклав** 366
Автоматизация 279, 303
Амперометрия 340
Анализ
— автоматический 280
— веществ высокой чистоты 381
— вод природных и сточных 384
— воздуха 388
— гамма-активационный 240
— главных компонентов 312
— изотопный 235, 241
— инъекционный 284
— клинический 394
— локальный 374
— металлов и сплавов 379
— минерального сырья 375
— нейтронно-активационный 239
— непрерывный проточный 284
— объектов геологических 375
— объектов окружающей среды 384
— объектов органических 390
— пищевых продуктов 392
— послыйный 138
— почвы 390
— проточно-инъекционный 283
— радиоактивационный 238
— — инструментальный 240
— радиохимический 240
— рентгеноабсорбционный 122
— рентгенофлуоресцентный 122
— рентгеноэмиссионный 120
— термический дифференциальный 250
— фазовый 374
— фармацевтический 395
— фотонно-нейтронный 240
— хемилюминесцентный 185
— элементный 234
Анализаторы спектра 87
Атомизатор 114
Атомно-флуоресцентная спектроскопия 121

Биологический метод анализа 258
Буфер спектроскопический 110

Вольтамперометрия 40, 340
— адсорбционная 62
— анодная 61
— импульсная 54
— инверсионная 53, 60
— катодная 61
— переменноточковая 55
— циклическая 58
Воспроизводимость 111, 149
Время отклика 17
Время спин-спиновой релаксации 198

Гамма-активационный анализ 240
Генеральная проба 353

Дериватограф 252
Детекторы
— оптические 294
— фотоэлектрические 93
— электрохимические 295
Диапазон определяемых содержаний 111
Дисперсия
— линейная 90
— обратная линейной 90
— угловая 90
Дифракционная решетка 89
Диффузионный потенциал 5
Длина волны 79
Доплеровское уширение 82

Закон
— аддитивности 144
— Больцмана 98
— Бугера—Ламберта—Бера 85, 140
— Вульфа—Брэгга 126
— Вавилова 174
— затухания 174
— Мозли 128
— Стокса—Ломмеля 173
— Фарадея 33
— Фирордта 144
— фотоэффекта 134

Изотахорез 334
Интерполяция 309
Ионизация электронным ударом 220
Ионолюминесценция 167
Ионометрия 27

Капиллярный электрофорез 331

Катарометрия 256
Катодолюминесценция 167
Квантовый выход 168
Колебания 155
Коллектор ионов 231
Компьютеризация 279, 305
Кондуктометрия 69, 340
— косвенная 71
— прямая 71
Коэффициент
— дисперсии 291
— поглощения 144
— потенциометрический 16
— селективности 16
Кулонометр 34
— кислородно-водородный 35
— медный 35
— серебряный 34
Кулонометрия 32

Лазерно-индуцируемая флуоресценция 342
Ликвация 357
Линия
— интенсивности 80
— резонансная 6
Люминесценция 166, 341

Максимумы полярмографические 52
Масс-анализаторы 224
Масс-спектрометрия 218
— методы ионизации 220
Масс-спектрометры 220
— квадрупольные 226
— магнитные 228
Массовое число 219
Метод
— Варда 317
— изотопного разбавления 241
— радиометрический 242
Методы электрохимические 3
Механизация анализа 279
Мёсбауэровская спектроскопия 244
Микрофлюидная система 330
Микрохроматография
— газовая 337
— жидкостная 337
Молярный коэффициент поглощения 144
Монохроматор 89

Нефелометрия 186

Обертон 156
Обжиг 110
Обыскривание 110
Оптико-рефракционный эффект 193
Оптическая плотность 85
Отбор пробы 353

Перенапряжение 11

Пиролиз 366
Подготовка пробы 353
Поляризация
— кинетическая 11
— концентрационная 11
Полярмография 46
— дифференциальная импульсная 53
— импульсная 54
— квадратно-волновая 57
— классическая 47
— нормальная импульсная 54
— переменноточковая 55
— синусоидальная 55
Потенциал
— асимметрии 20
— диффузионный 5
— измерение 26
— равновесный 8
Потенциометрия 14, 340
Правило
— зеркальной симметрии Лёвшина 172
— Каши 172
Представительная проба 353
Преобразование Фурье 309
Проба 353

Радиоактивационный анализ 238
Радиолуминесценция 167
Радиометрические методы 242
Радиоспектроскопические методы 195
Разрешающая способность прибора 91
Рассеяние
— комбинационное 160
— рэлеевское 157
— Тиндала 186
Регрессия 314
Рентгеноабсорбционный анализ 122
Рентгенолюминесценция 167
Рентгеноспектральный микроанализ 122
Рентгенофлуоресцентный анализ 122
Рецептор 263
Робот лабораторный 281

Самопоглощение 105
Светосила 91
Светофильтры 88
Селективность 150
Сенсор 262
— химический 262
— электрохимический 263
Сонолюминесценция 167
Спекание 370
Спектр
— атомный 82
— испускания 77
— колебательный 83
— линейчатый 82
— люминесценции 78
— молекулярный 80

- поглощения 77
- полосчатый 82
- рентгеновский 123
- электронный 83
- эмиссионный 77
- ЯМР 199
- Спектрометр**
 - абсорбционный 86
 - люминесцентный 86
 - электронный 132
 - эмиссионный 85
- Спектроскопия**
 - атомно-абсорбционная 95, 121
 - атомно-флуоресцентная 96, 121
 - атомно-эмиссионная 96
 - диффузного отражения 188
 - инфракрасная 154, 344
 - колориметрическая 345
 - комбинационного рассеяния 154, 344
 - мёссбауэровская 244
 - молекулярная 139
 - оже-электронная 97
 - оптико-акустическая 190
 - рентгеновская 122
 - термолинзовая 193
 - фотоэлектронная 96
 - химический сдвиг 201
 - электронная 130
 - ЯМР 195, 345
- Спектрофотометрия** 140, 344
 - дифференциальная 150
 - производная 152
- Сплавление** 369
- Стоксовы линии** 159

- Термогравиграмма** 248
- Термогравиметрия** 247
- Термолюминесценция** 167
- Термотитриметрия** 253
- Титрование**
 - амперометрическое 63
 - кулонометрическое 38
 - потенциометрическое 28
 - термометрическое 253
- Ток**
 - анодный 4
 - диффузионный 48
 - заряжения (емкостный) 47
 - катодный 4
 - фарадеевский 4
- Трансдюсер** 263
- Триболюминесценция** 167
- Турбидиметрия** 186
- Тушение люминесценции** 168
 - динамическое 176
 - концентрационное 175
 - посторонними веществами 176
 - статическое 176
 - температурное 176

- Умножитель вторично-электронный** 231
- Уравнение**
 - Ильковича 49
 - Ломакина—Шайбе 100
 - Нернста 9, 50
 - Никольского 15
 - обратимой полярографической волны 50
 - Саурбрей 269
- Усреднение пробы** 358
- Уширение**
 - доплеровское 82
 - лоренцевское 82

- Фильтр Савицкого—Голея** 308
- Флуоресценция** 342
 - замедленная 170
- Фон** 105
- Формула**
 - Бенедетти—Пихлер 357
 - Ричердса—Чеччота 356
- Фосфоресценция** 169
- Фотодиод** 93
- Фотолюминесценция** 167
- Фоторезистор** 93
- Фотоэлемент** 93
- Функция Гуревича—Кубелки—Мунка** 188
- Фурье-спектрометр** 161, 309

- Хемилюминесценция** 167, 343
- Хеометрика** 306
- Химический сдвиг** 201
- Хромато-масс-спектрометрия** 232

- Число Фарадея** 33

- Электрическая дуга** 102
- Электрическая искра** 102
- Электрический эквивалент** 4
- Электрогравиметрия** 72
- Электрод**
 - водородный 6, 31
 - газочувствительный 24
 - индикаторный 6, 41
 - ионселективный 14
 - каломельный 7
 - мембранный 6
 - металлический 26
 - насыщенный каломельный 7
 - неполяризуемый 10
 - поляризуемый 10
 - ртутный капающий 44
 - сравнения 6, 45
 - стеклянный 21
 - сурьмяный 31
 - ферментный 24
 - фторидселективный 19
 - хингидронный 31
 - хлоридсеребряный 7

Электронный нос 276
Электронный спектр 130
Электропроводность удельная 69
Электрофорез капиллярный 331
Электрохемилюминесценция 343
Электрохимические методы 3
Элемент гальванический 7
Энергетический выход 168
Энтальпиметрия 255

Эффект
— Доплера 82
— Зеемана 118
— Мёссбауэра 244
— Шпольского 181

Ячейка
— электролитическая 7
— электрохимическая 4

ОГЛАВЛЕНИЕ

Глава 9. Электрохимические методы	3
9.1. Общие сведения	3
9.2. Теоретические основы электрохимических методов	4
9.2.1. Электрохимическая ячейка и ее электрический эквивалент	4
9.2.2. Ячейки без жидкостного соединения и с жидкостным соединением. Диффузионный потенциал	5
9.2.3. Индикаторный электрод и электрод сравнения	6
9.2.4. Гальванический элемент и электролитическая ячейка	7
9.2.5. Равновесные электрохимические системы	8
9.2.6. Неравновесные электрохимические системы	9
9.2.7. Классификация электрохимических методов	13
9.3. Потенциометрия	14
9.3.1. Ионселективные электроды	14
9.3.2. Классификация ионселективных электродов	17
9.3.3. Измерение потенциала ионселективного электрода	26
9.3.4. Ионометрия	27
9.3.5. Потенциометрическое титрование	28
9.4. Кулонометрия	32
9.4.1. Основы метода	32
9.4.2. Измерение количества электричества	33
9.4.3. Прямая кулонометрия	36
9.4.4. Кулонометрическое титрование	38
9.5. Вольтамперометрия	40
9.5.1. Основы метода	40
9.5.2. Полярография	46
9.5.3. Современные вольтамперометрические методы	53
9.5.4. Амперометрическое титрование	63
9.5.5. Вольтамперометрическое определение органических соединений	65
9.6. Кондуктометрия	69
9.7. Электрогравиметрия	72
Глава 10. Спектроскопические методы	76
10.1. Общие сведения	76
10.1.1. Классификация спектроскопических методов	76
10.1.2. Спектры испускания и спектры поглощения	76
10.1.3. Интенсивность спектральных линий	80
10.1.4. Ширина спектральных линий	81
10.1.5. Структура атомных и молекулярных спектров	82
10.1.6. Регистрация и графическое представление спектров	84
10.2. Спектральные приборы	85
10.2.1. Общая характеристика	85

10.2.2. Основные узлы спектральных приборов	86
10.3. Атомная спектроскопия	95
10.3.1. Общие положения	95
10.3.2. Атомно-эмиссионная спектроскопия	99
10.3.2.1. Основы метода	99
10.3.2.2. Атомизаторы	100
10.3.2.3. Спектральные помехи	104
10.3.2.4. Физико-химические помехи	106
10.3.2.5. Метрологические характеристики и аналитические возможности метода	110
10.3.2.6. Способы монохроматизации и регистрации спектров	112
10.3.2.7. Применение атомно-эмиссионной спектроскопии	112
10.3.3. Атомно-абсорбционная спектроскопия	113
10.3.3.1. Основы метода	113
10.3.3.2. Атомизаторы	114
10.3.3.3. Источники излучения	116
10.3.3.4. Спектральные помехи	118
10.3.3.5. Физико-химические помехи	119
10.3.3.6. Метрологические характеристики и аналитические возможности метода	120
10.3.4. Атомно-флуоресцентная спектроскопия	121
10.3.5. Рентгеновская спектроскопия	122
10.3.5.1. Основы метода	122
10.3.5.2. Рентгеновский спектрометр	125
10.3.5.3. Аналитические возможности метода	127
10.3.6. Электронная спектроскопия	130
10.3.6.1. Основы метода	130
10.3.6.2. Электронный спектрометр	132
10.3.6.3. Анализ поверхности твердого тела	133
10.4. Молекулярная спектроскопия	139
10.4.1. Общие положения	139
10.4.2. Молекулярная абсорбционная спектроскопия в ультрафиолетовой и видимой областях	140
10.4.2.1. Основы метода	140
10.4.2.2. Аппаратура для спектрофотометрии	143
10.4.2.3. Законы светопоглощения в спектрофотометрии	144
10.4.2.4. Фотометрические реакции	147
10.4.2.5. Метрологические характеристики метода	149
10.4.2.6. Дифференциальный способ спектрофотометрических измерений	150
10.4.2.7. Производная спектрофотометрия	152
10.4.2.8. Спектрофотометрический анализ многокомпонентных систем	153
10.4.3. Инфракрасная спектроскопия и спектроскопия комбинационного рассеяния	154
10.4.3.1. Основы методов	154
10.4.3.2. Приборы и методика регистрации спектров	160
10.4.3.3. Аналитические возможности методов	162
10.4.4. Молекулярная люминесценция	166
10.4.4.1. Основы метода	166
10.4.4.2. Аппаратура и техника молекулярного люминесцентного анализа	177
10.4.4.3. Применение люминесцентной спектроскопии	179
10.4.4.4. Хемилюминесцентный анализ	185
10.4.5. Нефелометрия и турбидиметрия	186

10.4.6. Спектроскопия диффузного отражения	188
10.4.7. Оптико-акустическая спектроскопия	190
10.4.8. Термолинзовая спектроскопия	193
10.5. Радиоспектроскопические методы	195
10.5.1. Основы методов	195
10.5.2. Спектрометры ЯМР	197
10.5.3. Спектр ЯМР	199
10.5.3.1. Сигнал ЯМР	199
10.5.3.2. Химический сдвиг	201
10.5.3.3. Константы спин-спинового взаимодействия	202
10.5.4. Методы расшифровки спектров ЯМР	203
10.5.5. Качественный анализ	206
10.5.6. Количественный анализ	210
Глава 11. Масс-спектрометрические методы	218
11.1. Общие положения	218
11.2. Методы ионизации	220
11.3. Разделение и регистрация ионов	224
11.4. Определение органических веществ	231
11.5. Определение биоорганических и высокомолекулярных веществ	233
11.6. Элементный анализ	234
11.7. Изотопный анализ	235
Глава 12. Методы анализа, основанные на явлении радиоактивности	238
Глава 13. Термические методы анализа	247
Глава 14. Биологический метод анализа	258
Глава 15. Сенсоры	262
15.1. Общие сведения	262
15.2. Химические сенсоры	262
15.2.1. Основные понятия	262
15.2.2. Электрохимические сенсоры	263
15.2.3. Акустические сенсоры	268
15.2.4. Оптические сенсоры	270
15.3. Биологические сенсоры	271
15.3.1. Основные понятия	271
15.3.2. Классификация биосенсоров	272
15.3.3. Коммерциализация биосенсоров	275
15.4. Сенсорные системы: электронный нос	276
15.5. Особенности аналитической метрологии в приложении к сенсорам	277
Глава 16. Автоматизация и компьютеризация химического анализа	279
16.1. Общие сведения	279
16.2. Лабораторные роботы	281
16.3. Автоматический анализ	282
16.3.1. Основные понятия	282
16.3.2. Непрерывный проточный анализ с сегментированным потоком	284
16.3.3. Инжекционные методы анализа	284
16.3.4. Приборы для проточного анализа	292
16.4. Автоматизация лабораторного анализа	296
16.5. Автоматизация контроля технологических процессов	303
16.6. Компьютеризация анализа	305

16.6.1. Общие замечания .	305
16.6.2. Управление аналитическим прибором и сбор данных .	306
16.6.3. Первичная обработка данных .	307
16.6.4. Интерпретация данных .	310
16.6.4.1. Математическое моделирование аналитического процесса .	310
16.6.4.2. Математические модели объектов анализа .	320
Глава 17. Миниатюризация химического анализа .	323
17.1. Общие сведения .	323
17.2. Микрофлюидные системы .	324
17.3. Методы разделения и концентрирования в микрофлюидных системах .	330
17.4. Хроматография в микрофлюидных системах .	337
17.5. Проточный анализ в микрофлюидных системах .	338
17.6. Электрохимические методы в микрофлюидных системах .	339
17.7. Спектроскопические методы в микрофлюидных системах .	341
17.8. Масс-спектрометрия для микрофлюидных систем .	346
17.9. Микросистемы полного химического анализа .	349
Глава 18. Отбор и подготовка пробы к анализу .	353
18.1. Отбор пробы .	353
18.2. Подготовка пробы к анализу .	360
Глава 19. Анализ конкретных объектов .	372
19.1. Выбор метода анализа .	372
19.2. Фазовый анализ. Локальный анализ .	374
19.3. Анализ минерального сырья .	375
19.4. Анализ металлов и сплавов .	379
19.5. Анализ веществ высокой чистоты .	381
19.6. Анализ объектов окружающей среды .	384
19.7. Анализ других объектов .	392
Предметный указатель .	401

Учебное издание

**Алов Николай Викторович,
Барбалат Юрий Александрович,
Борзенко Андрей Геннадьевич и др.**

Основы аналитической химии

Том 2

Под редакцией Ю.А. Золотова

Учебник

**Редактор *И. Б. Ковалева*
Технический редактор *О. Н. Крайнова*
Компьютерная верстка: *Л. М. Беляева*
Корректоры *Л. В. Гаврилина, Н. В. Савельева***

Изд. № 105112552. Подписано в печать 10.04.2012. Формат 70×100/16.

Гарнитура «Ньютон». Печать офсетная. Бумага офс. № 1. Усл. печ. л. 33,8.

Тираж 1000 экз. Заказ №

ООО «Издательский центр «Академия». www.academia-moscow.ru

125252, Москва, ул. Зорге, д. 15, корп. 1, пом. 266.

Адрес для корреспонденции: 129085, Москва, пр-т Мира, 101В, стр. 1, а/я 48.

Тел./факс: (495) 648-0507, 616-00-29.

Санитарно-эпидемиологическое заключение № РОСС RU. AE51. Н 16067 от 06.03.2012.

Отпечатано в Идел-Пресс.

Высшее профессиональное образование

ОСНОВЫ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

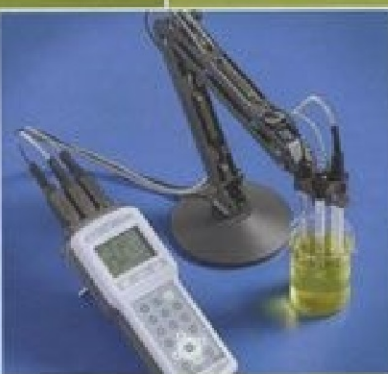
В двух томах

Под редакцией академика Ю. А. Золотова

Том 2

5-е издание

Учебник



Естественные
науки