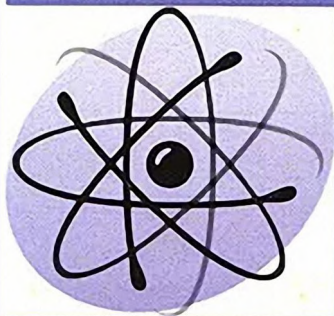




Н.Г. Ярышев, Д.А. Панкратов, М.И. Токарев,  
Н.Н. Камкин, С.Н. Родякина

# Физические методы исследования и их практическое применение в химическом анализе



ИЗДАТЕЛЬСТВО  
**ПРОМЕТЕЙ**

Москва 2012

Н. Г. Ярышев, Д. А. Панкратов, М. И. Токарев, Н. Н. Камкин, С. Н. Родякина

# Физические методы исследования и их практическое применение в химическом анализе

Учебное пособие



Москва  
2012

УДК 543/545  
ББК 20.1

**Рецензенты:**

**Г. З. Казиев**, доктор химических наук, профессор  
**Ю. Н. Медведев**, кандидат химических наук,

**Я798**

**Ярышев Н. Г., Панкратов Д. А., Токарев М. И., Камкин Н. Н., Родякина С. Н.**  
Физические методы исследования и их практическое применение в  
химическом анализе: Учебное пособие. – М.: МПГУ, 2012. – 160 с.

Учебное пособие Ярышева Н.Г. и др. адресовано студентам, аспирантам и др. специалистам химических и биологических факультетов педагогических вузов. Содержание пособия соответствует Государственному образовательному стандарту высшего профессионального образования и учебно-методическим комплексам по дисциплинам: современные физико-химические методы исследования неорганических и органических веществ и химия окружающей среды. Пособие содержит введение, 6 глав и приложение, в котором приведены методики анализа, применяемые в настоящее время в аналитической химии, в том числе в лабораториях экологического мониторинга, испытательных лабораториях и в центрах государственного санитарно-эпидемиологического контроля.

Рекомендовано УМО по специальностям педагогического образования в  
качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений,  
обучающихся по специальности 032300 (050101) – химия

В авторской редакции

ISBN 978-5-4263-0122-1

© Авторский коллектив, 2012

© МПГУ, 2012

© Издательство “Прометей”, 2012

## Введение

Вторая половина двадцатого века характеризовалась мощным проникновением инструментальных методов исследования в аналитическую химию. В результате этого процесса традиционные методы «мокрой» химии постепенно вытеснялись такими методами, как молекулярная абсорбционная спектроскопия, электрохимические методы анализа, газовая и жидкостная хроматография, масс-спектрометрия и др.

В настоящее время невозможно представить себе химическую лабораторию без приборов, которые обеспечивают быстрые и надежные методы проведения качественного и количественного анализа исследуемых соединений и смесей, как природного, так и синтетического происхождения. Все более широкое применение физических и физико-химических методов анализа позволило снизить пределы обнаружения компонентов в смесях с микрограммового уровня до уровня менее пикограммов.

Параллельное развитие компьютерной техники значительно упростило применение физико-химических методов в научных исследованиях, что, с одной стороны облегчает их использование, а с другой делает менее доступным понимание принципов их работы.

В настоящем пособии рассматриваются основы некоторых наиболее распространенных физико-химических методов исследования, рассмотрены принципы работы абсорбционной спектрофотометрии в видимой УФ- и ИК-областях спектра, электроаналитических методов анализа, масс-спектрометрии, термического анализа, а также газовой и жидкостной хроматографии.

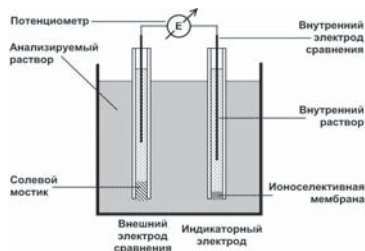
В пособии также содержатся методики анализа, которые применяются в настоящее время в аналитической химии, в том числе в лабораториях экологического мониторинга, испытательных лабораториях и в центрах государственного санитарно-эпидемиологического контроля с целью сертификации промышленной продукции.

## 1. Электрохимические методы анализа

Среди современных методов и средств анализа растворов веществ, которыми располагает современная аналитическая химия, заметное место по широте и частоте использования занимают электрохимические методы. Эти методы основаны на изучении процессов, протекающих на поверхности электрода или в приэлектродном пространстве, и, как правило, сводятся к измерению таких (связанных законом Ома) параметров электроаналитической системы, как ее потенциал, сила, протекающего через нее тока, сопротивление, а также продолжительность электродного процесса. В соответствии с этим электрохимические методы анализа разделяют на потенциометрические, кулонометрические, вольтамперометрические и другие.

### 1.1. Потенциометрический анализ

Потенциометрические методы анализа отличаются простотой, селективностью, универсальностью, экспрессностью и низкой себестоимостью. Аналитическим сигналом потенциометрических методов анализа служит разность потенциалов между *электродом сравнения*, потенциал которого в условиях анализа неизменен, и, специально подобранного для изучаемой системы, *индикаторного электрода*, потенциал которого пропорционален, как правило, логарифму активности (концентрации) определяемого вещества (иона) (рис. 1-1). При этом, измерение потенциала должно быть организовано таким образом, чтобы исключить возможность протекания на электродах электрохимических реакций с участием определяемых веществ, т.е. собственно измерение не должно вывести электроаналитическую систему из состояния термодинамического равновесия, либо минимально воздействовать на нее. Первому условию отвечает компенсационный метод определения потенциала (наиболее точный, но и наиболее трудоемкий), второму - некомпенсационные методы (менее точные, но более практичные) с использованием усилителей с огромным входным сопротивлением ( $10^{12}$  Ом).



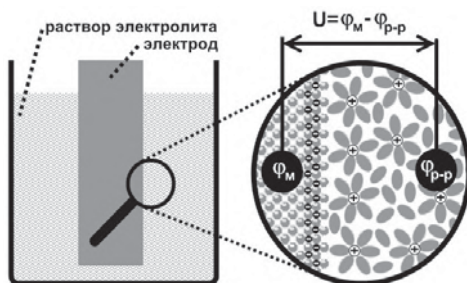
**Рис. 1-1.** Схема ячейки для потенциометрических измерений.

По технике применения потенциометрического анализа различают косвенную и прямую потенциометрию. Косвенная потенциометрия, или потенциометрическое титрование (когда конечная точка титрования определяется по скачку измеряемого потенциала), является наиболее надежным методом определения концентраций определяемого вещества (иона) и позволяет избежать значительного числа систематических ошибок анализа. Прямая же потенциометрия (концентрация определяется по результатам однократного измерения потенциала) требует предварительной калибровки прибора по стандартным растворам, учета температуры измерения, учета влияния примесей других веществ в анализируемом растворе и, строго говоря, определяет не концентрацию, а активность анализируемого вещества (иона). Кроме того, сама методика предполагает существование относительной ошибки от 1% до 10% определения потенциала электрохимической ячейки.

### 1.1.1. Образование электродного потенциала

При погружении металлической пластины (электрода) в воду или раствор низкой концентрации соответствующего электролита, поверхностные атомы электрода под действием полярных молекул воды могут покинуть поверхность металла и в форме гидратированных ионов перейти в раствор. При этом металл приобретает отрицательный заряд, а раствор обогащается положительно-заряженными ионами - катионами. Отрицательно заряженная поверхность металла, посредством кулоновского взаимодействия, притягивает часть гидратированных катионов электролита непо-

средственно к себе, образуя тем самым в поверхностном слое т.н. *двойной электрический слой* зарядов, подобный конденсатору с заряженными обкладками (рис. 1-2).



**Рис. 1-2.** Схема образования электродного потенциала.

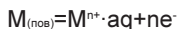
Упрощенно внешнюю обкладку двойного электрического слоя (внутреннюю обкладку составляет заряженная поверхность металла) можно представить состоящей из двух частей: плотной (гемгольцевской), образованной катионами в непосредственной близости от поверхности металла (толщиной около  $10^{-8}$  см); и диффузной, где концентрация сольватированных катионов под действием теплового движения постепенно уменьшается до концентрации в объеме раствора (толщина  $10^{-7}$ - $10^{-3}$  см).

Таким образом, внутренняя и внешняя обкладка двойного электрического слоя приобретают некоторый потенциал. Переход из объема металла в объем раствора, на границе раздела фаз, будет сопровождаться скачком потенциала, а между точками в объеме металла и в объеме раствора электролита образуется некоторая разность потенциалов.

Разность электрических потенциалов между двумя точками определяется как электрическая работа, затраченная на перемещение бесконечно малого положительного заряда из одной точки в другую. Электрическим потенциалом данной точки называют разность потенциалов между бесконечно удаленной точкой с нулевым потенциалом и данной точкой. Если заряд выра-

*жать в кулонах, а электрическую работу в джоулях, то разность потенциалов и потенциал выражаются в вольтах.*

Описанный процесс перехода ионов металла в раствор является обратимым, т.е. часть катионов из раствора под действием электростатических сил может вновь осаждаться (адсорбироваться) на поверхности металла, и может быть описан соответствующим окислительно-восстановительным уравнением:



Подобного рода электроды называются *электродами первого рода* и схематически могут быть записаны как  $M|M^{n+} \cdot aq$ , где вертикальная черта обозначает поверхность раздела фаз.

*В случае меньшей химической активности материала электрода или большой концентрации электролита в растворе на поверхности раздела протекают аналогичные описанным процессы, с той лишь разницей, что равновесие смещено в сторону адсорбции катионов на поверхности металла, и внутренняя обкладка двойного электрического слоя приобретает положительный заряд, а внешняя отрицательный.*

Условием установления термодинамического равновесия (в изобарно-изотермических условиях) для данного процесса (поверхностная диссоциация - адсорбция) является выравнивание электрохимических потенциалов вещества на поверхности электрода и вещества в растворе:

$$\mu_{(M)} = \mu_{(p-p)}$$

Электрохимический потенциал, в свою очередь, складывается из химического потенциала вещества в соответствующей фазе –  $\mu$ :

$$\mu = \mu_0 + RT \ln a$$



и энергии, затрачиваемой при разделении зарядов -  $zF\varphi$ , где  $z$  - заряд иона (включая знак),  $F=N_A \cdot q_e$  - число Фарадея,  $\varphi$  - потенциал. Следовательно, указанное выше условие равновесия примет вид:

$$\mu_{(M)} + zF\varphi_{(M)} = \mu_{(p-p)} + zF\varphi_{(p-p)}$$

из которого можно определить скачок потенциала в двойном электрическом слое равновесной системы электрод-раствор электролита, называемый электродным потенциалом.

$$\varphi_{(M)} - \varphi_{(p-p)} = - \frac{\mu_{(M)} - \mu_{(p-p)}}{zF}$$

Из полученного выражения следует, что значение электродного потенциала зависит от природы вещества (его химической активности), температуры системы и термодинамической активности электролита в растворе, что и используется в количественном анализе.

### 1.1.2. Стандартный водородный электрод

Так как описанный выше процесс является общим для всех металлов, полупроводников и диэлектриков, определение абсолютного значения разности потенциалов между электродом и раствором электролита представляется невозможным вследствие того, что материал любого проводника, находящийся в контакте с раствором, также будет участвовать в описанных выше процессах и приобретет собственный электродный потенциал. Поэтому на практике определяют потенциал электрода относительно потенциала какого-либо специально подобранного электрода сравнения, потенциал которого считают (или поддерживают) неизменным в данных условиях и определяют равным определенной величине. По соглашению IUPAC, в настоящее время значения всех потенциалов электродных систем определяют (или пересчитывают) относительно т.н. *стандартного водородного электрода*, потенциал которого

в стандартных условиях при любой температуре принят равным 0.00 В.

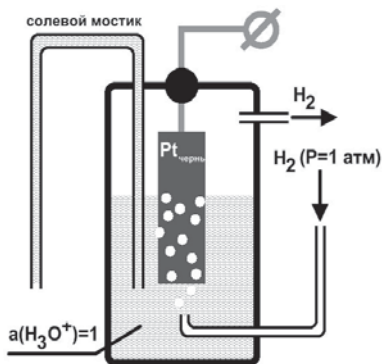
Стандартный водородный электрод представляет собой платиновую пластину, покрытую «платиновой чернью» (высокодисперсная платина с огромной удельной поверхностью), частично погруженную в раствор кислоты с активностью ионов гидроксония, равной единице (условие стандартизации) (рис. 1-3). Через раствор, обдувая электрод, пропускают постоянный ток водорода под давлением 1 атм (условие стандартизации). В водородном электроде устанавливаются равновесия:



или опуская промежуточную стадию адсорбции:



т.е. схему данного электрода можно записать как



**Рис. 1-3.** Схема стандартного водородного электрода.

Учитывая, что электродный потенциал стандартного водородного электрода равен 0.00 В по определению, теоретически с его помощью можно определить потенциал любого другого электрода, собрав из них электрохимическую ячейку. Например, для электрода, описанного выше:



где двойная черта означает солевой мостик (в простейшем случае – трубка, соединяющая катодное и анодное пространство гальванического элемента, наполненная раствором соли, который компенсирует убыль и прирост ионов, участвующих в окислительно-восстановительной реакции) или полупроницаемую мембрану между растворами электролитов. Расположение электродов в данной схематической записи электрохимической ячейки отвечает рекомендациям IUPAC, т.е., если электродная реакция, записанная в сторону восстановления, является самопроизвольной, то потенциал электрода будет положительным. Если же с помощью указанной ячейки определить потенциал электрода в стандартных условиях (т.е. поместить электрод в раствор соответствующего электролита с активностью равной единице), то полученный потенциал будет стандартным электродным потенциалом данного вещества при данной температуре и является термодинамическим параметром данной сопряженной окислительно-восстановительной пары в стандартных условиях:



*Записав символы различных металлов в ряд в соответствии с увеличением их стандартных окислительно-восстановительных потенциалов, мы получим т.н. электрохимический ряд напряжений металлов (Li, Rb, K, Ba, Sr, Ca, Na, Mg, Al, Mn, Zn, Cr, Fe, Cd, Co, Ni, Sn, Pb, H, Sb, Bi, Cu, Hg, Ag, Pd, Pt, Au), характеризующий относительное изменение восстановительных свойств металлов.*

Зная значение относительного стандартного потенциала вещества (они приводятся в термодинамических справочниках), с помощью уравнения Нернста –

$$E_{M^{n+}/M} = E_{M^{n+}/M}^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln a_{M^{n+}}$$

можно определить зависимость относительного потенциала электрода первого рода от активности электролита. Таким образом, собрав выше описанную электрохимическую ячейку, можно использовать данный электрод в качестве индикаторного для определения активности ионов  $M^{n+}$ .

Так как материал данного индикаторного электрода участвует в исследуемом обратимом окислительно-восстановительном процессе, то он относится к *активным металлическим электродам*. В случае же если электрод непосредственно не участвует в окислительно-восстановительном процессе, а служит только переносчиком электронов от восстановленной формы к окисленной (например, как у описанного выше водородного электрода), он относится к *инертным металлическим электродам* (редокс-электрод). Потенциалы инертных электродов являются функцией соотношения активностей окисленной и восстановленной форм вещества:



$$E_{\text{Ox/Red}} = E_{\text{Ox/Red}}^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{Ox}}}{a_{\text{Red}}}$$

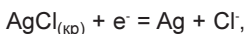
Подобного рода электроды изготавливают из благородных металлов (Au, Pt) и применяют в потенциометрическом окислительно-восстановительном титровании.

### 1.1.3. Хлоридсеребряный и каломельный электроды сравнения

Очевидно, что работа со стандартным водородным электродом предполагает строгое соблюдение ряда предосторожностей и при проведении рутинных ис-

следований он неудобен. Поэтому на практике часто используют другие, более простые в изготовлении и надежные в работе электроды сравнения, относительные потенциалы которых хорошо известны, обратимы и воспроизводимы в достаточно широком диапазоне внешних условий и во времени. Обратимость электрода означает, что направление электродной реакции можно изменить, изменив полярность электрода. Воспроизводимость определяется стандартным отклонением потенциала ячейки при последовательных измерениях.

Хлоридсеребряный электрод (рис. 1-4, а) состоит из серебряной проволоки, электролитически покрытой слоем хлорида серебра и погруженной в раствор хлорида калия известной концентрации. При этом потенциалопределяющей полуреакцией является:

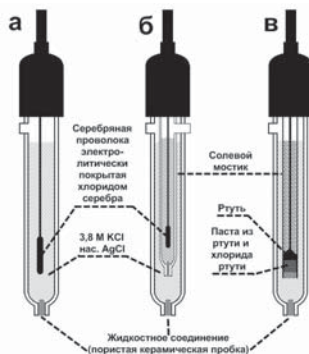


а потенциал данного электрода в итоге определяется активностью хлорид-анионов:

$$E_{\text{AgCl/Ag}} = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^\circ + \frac{RT}{nF} \ln a_{\text{Ag}^+} = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{\text{ПР}_{(\text{AgCl})}}{a_{\text{Cl}^-}} = E_{\text{AgCl/Ag}}^\circ - \frac{RT}{nF} \ln a_{\text{Cl}^-}.$$

где

$$E_{\text{AgCl/Ag}} = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \text{ПР}_{(\text{AgCl})}$$



**Рис. 1-4.** Электроды сравнения. а – хлоридсеребряный электрод, б - хлоридсеребряный электрод с двойным жидкостным соединением, в – каломельный электрод.

Подобного рода электроды называют электродами второго рода. Если в качестве раствора используется насыщенный раствор хлорида калия, то электрод называют насыщенным хлоридсеребряным. Его потенциал при 25°C равен +0.222 В (±0.2 мВ) и существенно зависит от температуры (т.к. изменяется растворимость KCl).

Каломельный электрод (также электрод второго рода) представляет собой ртутный электрод, помещенный в насыщенный раствор  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  - каломель и раствор KCl определенной концентрации (рис.1-4, в). В основе работы электрода лежит окислительно-восстановительная реакция:



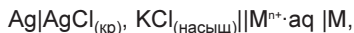
а потенциал так же определяется активностью хлорид-анионов:

$$E_{\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{Hg}} = E_{\text{Hg}^+/\text{Hg}}^\circ + \frac{RT}{nF} \ln a_{\text{Hg}^+} = E_{\text{Hg}^+/\text{Hg}}^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{P_{\text{Hg}_2\text{Cl}_2}}{a_{\text{Cl}^-}} = E_{\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{Hg}}^\circ + \frac{RT}{nF} \ln a_{\text{Cl}^-}$$

Потенциал насыщенного каломельного электрода при 25°C равен +0.242 В (±0.1 мВ). Нормальный каломельный электрод и децинормальный (имеются ввиду концентрации хлорида калия), имеющие потенциалы +0.280 В и +0.334 В, соответственно, менее восприимчивы к изменению температуры, но при длительном использовании изменяют свои показания вследствие испарения воды.

Промышленно изготовленные хлоридсеребряные и каломельные электроды выпускаются в виде компактных датчиков, непосредственно пригодных для погружения в анализируемый раствор, т.к. они уже содержат солевой мостик, а иногда и двойной солевой мостик (один из которых предотвращает загрязнение внутреннего раствора анализируемым веществом) (рис. 1-4, б).

Определяемая потенциометром разность потенциалов между индикаторным электродом и одним из описанных электродом сравнения (рис.1-1) есть не что иное, как ЭДС образованной электрохимической ячейки. Например, для насыщенного хлоридсеребряного электрода при 25°C (298K):



ЭДС равно:

$$\Delta E = E_{Mn^{++}/M} - E_{AgCl/Ag} = E_{Mn^{++}/M}^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln a_{Mn^{++}} - (+0.222B) = \text{const} + \frac{0.059}{n} \lg a_{Mn^{++}}$$

т.е. разность потенциалов между электродами остается функцией активности определяемого иона.

#### 1.1.4. Образование мембранного потенциала

Рассмотрим так называемую концентрационную электрохимическую ячейку, образованную на основе двух идентичных полужеек, описанных в первом разделе, связанных солевым мостиком и отличающихся только активностями потенциалопределяющих катионов:



Разность потенциалов между крайними электродами (ЭДС ячейки) будет равна:

$$\Delta E = E_{M^{n+}/M}^1 - E_{M^{n+}/M}^2 = E_{M^{n+}/M}^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln a_2 - E_{M^{n+}/M}^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln a_1 = \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_2}{a_1}$$

Таким образом, заранее задавая активность определяемого иона в одной части ячейки - раствор сравнения (например, в левой -  $a_1$ ), исследователь может по изменению ЭДС ячейки судить об изменении активности иона в изучаемом растворе (справа -  $a_2$ ). Для исключения влияния на ЭДС системы посторонних ионов, т.е. для повышения избирательности и селективности определения, а также обеспечения обратимости, можно заменить солевой мостик полупроницаемой мембраной. Как правило, материал мембраны является проницаемым для определяемых ионов и содержит эти ионы в свободном или связанном виде.

*Известны, тем не менее, успешные примеры использования мембран, несодержащих и непроницаемых для определяемых ионов вообще, но способные*

*к адсорбции их на своей поверхности. Но это изменяет только механизмы образования соответствующих потенциалов, не влияя на конечный результат.*

В отличие от концентрационной ячейки, на мембране возникает разность потенциалов, которая является алгебраической суммой трех скачков потенциалов:

- граничного потенциала между раствором сравнения и мембраной,
- диффузионного потенциала,
- граничного потенциала между мембраной и изучаемым раствором.

Граничные потенциалы образуются в результате обмена ионами между растворами и материалом мембраны (в случае, если мембрана непроницаема для определяемого иона, то граничный потенциал возникает в результате адсорбции/десорбции ионов на ее поверхности). Диффузионный потенциал возникает вследствие кинетических затруднений выравнивания концентрации зарядпереносящих ионов внутри мембраны. Несмотря на усложнение электрохимической системы, можно показать, что в простейшем случае (пренебрегая осмотическими явлениями) мембранная разность потенциалов равна ЭДС соответствующей концентрационной цепи.

#### **1.1.5. Мембранные (ионоселективные) индикаторные электроды**

На практике, мембранная разность потенциалов может быть определена с помощью электродов сравнения. Собственно, мембранные (ионоселективные) электроды представляют собой электрод сравнения, помещенный в раствор с известной постоянной активностью определяемого иона (вещества), отделенный, в свою очередь, от внешнего анализируемого раствора полупроницаемой мембраной (рис. 1-5).

Во внешний раствор также помещается электрод сравнения, относительно которого и определяется мембранный потенциал. Значение определяемого потенциала будет связано с активностью определяемого вещества (иона) выражением:

$$\Delta E = \text{const} + 0.059 \lg a_M$$





**Рис. 1-5.** Ионоселективные электроды. а – микроэлектрод с жидкой мембраной, б – мембранный макроэлектрод.

В зависимости от состояния применяемой мембраны, различают ионоселективные электроды с твердыми, жидкими и пленочными мембранами (рис. 1-5, 1-6). По механизму образования мембранного потенциала различают первичные ионоселективные электроды, электроды с подвижными носителями и сенсibilизированные (активированные) электроды. К первичным электродам относятся электроды с твердыми мембранами: кристаллические гомогенные (мембраны из монокристаллов  $\text{LaF}_3$ ,  $\text{Ag}_2\text{S}$ , а также поликристаллические спрессованные смеси  $\text{Ag}_2\text{S}+\text{AgCl}$ ,  $\text{Ag}_2\text{S}+\text{CuS}$ ); кристаллические гетерогенные (прессованные смеси электродноактивного вещества с инертной матрицей - графит, силиконовая смола); некристаллические (ионообменные смолы); электроды с жесткой матрицей (стеклянные электроды). Электроды с подвижными носителями, как правило, содержат жидкие мембраны на основе органического растворителя, удерживаемого пористым стеклом или полимером. Данные мембраны содержат положительно ( $\text{R}_4\text{N}^+$ ), отрицательно ( $(\text{RO})_2\text{PO}_2^-$ ) заряженные или незаряженные (валиномицин) вещества, способные образовывать соединения (комплексы) с определяемым ионом. К сенсibilизированным электродам относятся ферментные электроды, представляющие собой ионоселективные электроды, покрытые ферментсодержащей пленкой, избирательно взаимодействующей с определяемым веществом с образованием определяемого электродом иона.

К этой же группе относятся газочувствительные электроды, объединяющие в едином корпусе с газопроницаемой мембраной и индикаторный электрод, и электрод сравнения. Газ взаимодействует с раствором электролита внутри электрода, который вызывает изменение потенциала индикаторного электрода (например,  $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{стеклянный электрод}$ ).



**Рис.1-6.** Конструкция ионоселективных электродов.

*а – стеклянный электрод, б – электрод с кристаллической мембраной, в – твердотельный электрод с кристаллической мембраной.*

### 1.1.6. Стеклянный электрод

Стеклянный электрод является первым мембранным электродом, широко используемым для измерения pH растворов и по настоящее время. Его достоинствами являются независимость показаний от присутствия окислителей в анализируемом растворе, отсутствие травления электрода деполяризаторами (т.е. ионами, разряжающимися на поверхности электрода) как у водородного электрода, низкая стоимость, простота обслуживания. Стеклянный электрод (рис. 1-6, а) представляет собой стеклянную трубку, заканчивающуюся с одной стороны шарообразной мембраной, изготовленной из специального стекла (содержащего, например, 22%  $\text{Na}_2\text{O}$ , 6%  $\text{CaO}$  и 72%  $\text{SiO}_2$ ), достаточно тонкого, чтобы обладать незначительной ионной электропроводностью (толщина “сухого” стекла  $\sim 10^{-1}$  мм).

Внутри трубки располагается 0.1 М раствор соляной кислоты, насыщенный хлоридом серебра. Рабочим электродом выступает серебряная проволока. Внешняя и внутренняя поверхность длительно выдержанной в воде стеклянной мембраны покрыта тонким (около  $10^{-4}$  мм) слоем гидратированного геля,

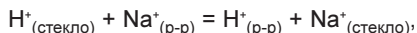
образовавшегося в результате гидролиза стекла и вымывания ионов натрия (и других катионов) с его поверхности. Образовавшиеся пустоты в Si-O каркасе на поверхности заняты ионами  $H^+$ . При движении внутрь мембраны число пустот, заполненных ионами водорода, уменьшается, а число пустот, заполненных ионами натрия, увеличивается. В объеме сухого стекла заряд переносится ионами натрия, способными перемещаться внутри пустот на расстояния, равные нескольким радиусам, и передавать энергию соседним ионам натрия. В результате описанного процесса обратимой адсорбции водородных ионов поверхностью стекла:

$$H^+_{(\text{стекло})} = H^+_{(p-p)},$$

между внутренним и внешним раствором образуется мембранный потенциал, значение которого является функцией активности ионов водорода во внутреннем и внешнем растворе. Полагая активность ионов во внутреннем растворе неизменной, потенциал стеклянного электрода можно описать зависимостью:

$$E = \text{const} + 0.059 \lg a_{H^+}.$$

Так как процесс десорбции катионов натрия с поверхности стеклянной мембраны является обратимым:



то, очевидно, влияние активности ионов натрия на скачок потенциала в стеклянной мембране. Влияние примесного иона на значение потенциала стеклянного электрода удовлетворительно описывается уравнением:

$$E = \text{const} + 0.059 \lg(a_{H^+} + K \cdot a_{Na^+})$$

где

$$K = \frac{a_{H^+} C_{Na^+}}{a_{Na^+} C_{H^+}}$$

- константа равновесия вышеуказанной реакции обмена, которая зависит лишь от температуры и природы электродного стекла и определяется непосредственно из эксперимента ( $a_{H^+}$ ,  $a_{Na^+}$  - активности ионов в растворе,  $C_{H^+}$ ,  $C_{Na^+}$  - концентрации ионов в стекле). Из выражения видно, что стеклянный электрод проявляет водородную функцию при  $a_{H^+} \gg K \cdot a_{Na^+}$ , а в обратном случае ( $a_{H^+} \ll K \cdot a_{Na^+}$ ) проявляет металлическую функцию и может использоваться как натрий-селективный электрод. При промежуточных соотношениях указанных величин электрод обладает смешанной функцией (т.е. низкой селективностью).

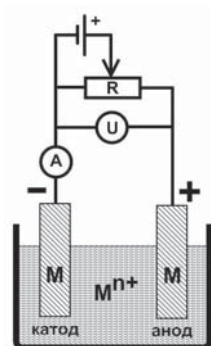
Для исследованных стекол значение (для различных пар ионов) колеблется от  $10^{-1}$  до  $10^{-15}$ . Уменьшение значения константы равновесия расширяет границы сохранения электродом водородной функции. Так, для  $K=10^{-12}$  влияние натрия проявляется только при  $pH=11-12$ . С другой стороны, варьируя состав стекла, можно создавать электроды, обладающие определенной селективностью и избирательностью по отношению к заданным ионам. Например, стекло состава 15%  $Li_2O$ , 25%  $Al_2O_3$  и 60%  $SiO_2$  пригодно для измерения активности ионов лития; 11%  $Na_2O$ , 18%  $Al_2O_3$  и 71%  $SiO_2$  - для измерения активности ионов натрия и т.д.

## 1.2. Неравновесные электрохимические методы

В отличие от потенциометрии, другие электрохимические методы анализа предполагают протекание через электрохимическую ячейку электрического тока конечной величины. Это выводит электрохимическую систему из равновесного состояния, что в свою очередь, вынуждает учитывать процессы массопереноса вещества в приэлектродном пространстве.

### 1.2.1. Протекание тока через электрохимическую ячейку

Рассмотрим электрохимическую ячейку (рис. 1-7) в виде сосуда с раствором электролита (водный раствор соли металла), в которую погружены два электрода из одного и того же металла (соответствующего катионам электролита).



**Рис.1-7.** Схема электрохимической ячейки.

Электроды подключены к внешнему источнику постоянного напряжения. В этом случае на поверхностях обоих электродов будут протекать соответствующие электрохимические реакции: на отрицательно заряженном электроде (*катод*) будет происходить восстановление (присоединение электронов) катионов электролита,



а на положительно заряженном электроде (*анод*) – окисление (отдача электронов) атомов электрода:



При этом число электронов, принимаемых на катоде, равно числу электронов, принимаемых на аноде.

В общем случае, катодный процесс сопровождается переносом вещества из раствора электролита на поверхность электрода, а анодный процесс – переносом вещества с поверхности электрода в раствор электролита в виде соответствующих катионов, т.е. растворением анода. Количество же превратившегося вещества пропорционально количеству электричества (току), проходящего через ячейку, в соответствии с законами Фарадея (см. ниже).

Представленную схему можно условно рассматривать как аналог электриче-

ской цепи с неким сопротивлением, через которое при приложении определенного напряжения протекает электрический ток определенной силы.

*Строго говоря, схема цепи должна быть сложнее и включать как минимум три последовательно соединенных сопротивления (два соответствуют поляризационным сопротивлениям каждого электрода, а одно сопротивлению раствора), параллельно каждому из которых подключены емкости, образующиеся вследствие образования двойного электрического слоя на поверхностях электродов и образованию конденсатора, собственно электродами.*

В отличие от цепей, составленных из проводников первого рода, для электрохимической ячейки связь между напряжением, силой тока и сопротивлением будет отличаться от зависимости, выражаемой законом Ома –  $U = I \cdot R$  из-за появления в ячейке так называемой «обратной ЭДС», пропорциональной силе тока.

Действительно, приложим к электродам выше указанной ячейки (рис. 1-7) постепенно увеличивающееся напряжение. Напряжение  $\varepsilon_{\text{катод}}$ , необходимое для выделения металла на катоде, определяется уравнением Нернста:

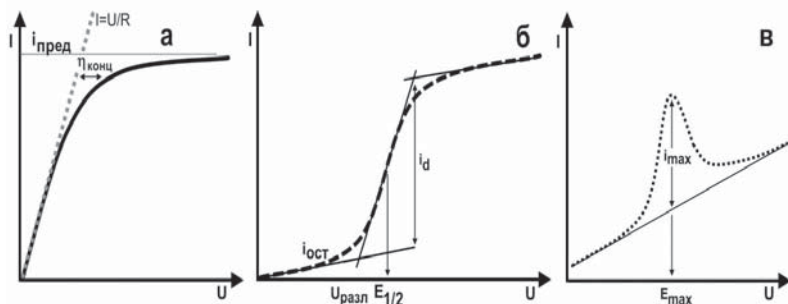
$$\varepsilon_{\text{катод}} = E_{\text{M}^{n+}/\text{M}}^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln a_{\text{катод}}(\text{M}^{n+}) + \eta_{\text{M}}$$

где  $\eta_{\text{M}}$  – перенапряжение. Для растворения металла на аноде требуется напряжение, равное:

$$\varepsilon_{\text{анод}} = E_{\text{M}^{n+}/\text{M}}^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln a_{\text{анод}}(\text{M}^{n+}) + \eta_{\text{M}}$$

В идеальном случае активность ионов в приэлектродных пространствах равны –  $a_{\text{катод}}(\text{M}^{n+}) = a_{\text{анод}}(\text{M}^{n+})$ , а, следовательно,  $\varepsilon_{\text{катод}}$  и  $\varepsilon_{\text{анод}}$  равны и противоположны по знаку и взаимно компенсируют друг друга. В этом идеализированном случае ток протекает через ячейку при приложении к электродам сколь угодно малого напряжения, а электрическая работа затрачивается только на нагрев цепи.

Кривая зависимости силы тока от напряжения в соответствии с законом Ома линейно возрастает (рис.1-8, а).



**Рис.1-8.** Вольтамперные кривые для неравновесных процессов.

Однако, из-за электролиза концентрация ионов вблизи электродов постоянно изменяется. В прикатодном пространстве, вследствие осаждения металла, она уменьшается, а в прианодном пространстве, вследствие растворения электрода, – увеличивается. Степень обеднения прикатодного (обогащения прианодного) пространства электроактивным веществом, расходующимся (образующимся) в электрохимической реакции, определяется соотношением скорости его осаждения (растворения) к скорости диффузии (а скорость диффузии при постоянной температуре и отсутствии конвекции зависит только от разности концентраций) его из объема (в объем) раствора, где концентрация электролита практически неизменна. Устранить возникающий градиент концентраций вблизи поверхности электродов в процессе протекания тока полностью не возможно, даже при интенсивном перемешивании раствора. Разность концентраций тем больше, чем больше сила тока и чем меньше площадь электрода, т.е. возрастает с увеличением плотности тока.

Поэтому в действительности, при протекании тока через раствор электролита  $a_{катод}(M^{n+}) < a_{анод}(M^{n+})$ , из-за чего  $\epsilon_{анод}$  возрастает, а  $\epsilon_{катод}$  уменьшается. Разность этих потенциалов противоположна приложенному напряжению и называется **концентрационным перенапряжением** ( $\eta_{конц}$ ) или **концентрационной поляризацией**. Тогда зависимость тока ( $i$ ) от прилагаемого к элект-

тодам напряжения (U) будет выражаться уравнением:

$$i = \frac{U - \eta_{\text{срнц}}}{R}$$

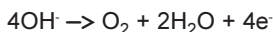
где R – сопротивление цепи. Таким образом, сила тока, протекающего через электрохимическую ячейку, будет всегда меньше, чем можно было бы ожидать в соответствии с законом Ома. Причем, т.к. перенапряжение само является функцией от тока -  $\eta_{\text{конц}} = f(i)$ , то, чем больше ток, тем больше концентрационное перенапряжение, и тем больше описываемое отклонение (рис.1-8, а). При некотором прилагаемом напряжении, ток, протекающий через электроды, достигает своего предельного значения ( $i_{\text{пред}}$ ), и вольтамперная кривая становится параллельна оси напряжений (рис.1-8, а). В этом случае концентрация ионов у поверхности электрода становится ничтожно малой (обсуждается катодный процесс) по сравнению с концентрацией в растворе, и величина предельного тока определяется скоростью диффузии ионов из раствора к электроду, т.е. пропорциональна концентрации разряжающихся ионов в растворе.

Рассмотренный выше случай соответствует электролитическому рафинированию металлов. В случае аналитического применения описанных процессов стараются создать такую ячейку, чтобы анализируемый процесс протекал только на одном *индикаторном электроде*. При этом его материал не должен участвовать в электрохимическом процессе, реагировать с раствором и должен быть устойчив к агрессивным средам.

Аналогичные требования предъявляются ко второму *вспомогательному электроду*. В качестве таких электродов, как правило, используют платиновые, ртутные или электроды из токопроводящих углеродных материалов (графит, стеклоуглерод). Потенциал на индикаторном электроде определяют относительно третьего *электрода сравнения*, основное требование к которому – отсутствие поляризации. Подобные ячейки для проведения вольтамперметрических измерений называют трех-электродными. В случае двухэлектродной схемы – электрод сравнения одновременно выполняет роль и вспомогательного электрода. В качестве электродов сравнения чаще применяют насыщенный каломельный или хлоридсеребряный электроды.



Рассмотрим, как изменится поляризационная кривая при электролизе водного раствора  $\text{CuSO}_4$  в ячейке с платиновыми электродами. Ток через ячейку сможет протекать при условии, что напряжение на электродах будет достаточно велико, чтобы на катоде происходил процесс восстановления ионов  $\text{Cu}^{2+}$  до металла –  $\text{Cu}$ , а на аноде - окисления, в данном случае ионов  $\text{OH}^-$  до  $\text{O}_2$  согласно уравнению:



Катодный потенциал при 298K будет равен:

$$\varepsilon_{\text{катод}} = E_{\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}}^{\circ} + \frac{0.059}{2} \lg a(\text{Cu}^{2+}) + \eta_{\text{Cu}}$$

а анодный:

$$\varepsilon_{\text{анод}} = E_{\text{O}_2/\text{OH}^-}^{\circ} + \frac{0.059}{4} \lg \frac{p_{\text{O}_2}}{a_{(\text{OH}^-)}^4} + \eta_{\text{O}_2}$$

Для последнего выражения, учитывая выражение для ионного произведения воды и значение стандартного потенциала для кислорода -  $E_{\text{O}_2/\text{OH}^-}^{\circ} = 0.402 \text{ В}$ , получим:

$$\varepsilon_{\text{анод}} = 1.23 - \text{pH} \cdot 0.059 + \frac{0.059}{4} \lg p_{\text{O}_2} + \eta_{\text{O}_2}$$

т.е. анодный потенциал зависит от содержания кислорода в растворе.

На начальном участке поляризационной кривой при низких потенциалах наблюдается незначительный *остаточный ток* (рис. 1-8, б), соответствующий неравновесному окислению гидроксид-ионов с образованием кислорода, который не выделяется в виде газа (так как при данных потенциалах равновесное давление кислорода значительно меньше атмосферного), а диффундирует от электрода в раствор. При достижении некоторого минимального *напряжения разложения* наблюдается резкое возрастание тока вплоть до предельного значения (рис. 1-8, б). Далее зависимость тока от напряжения вновь выходит на плато, пока напряжение не достигнет такого значения, что становится возможным другой катодный процесс, например, восстановление водорода.

При вольтамперометрических методах анализа, когда скорость развертки потенциала достаточно высока, на вольтамперограммах после достижения некоторого предельного значения может наблюдаться резкое падение тока (до значения отвечающего, разряду фонового электролита), соответствующее полной выработке деполяризатора в приэлектродном пространстве. В этом случае вывод из приэлектродного пространства деполяризатора осуществляется настолько быстро, что не успевает компенсироваться диффузией из объема раствора, и полярограмма приобретает форму пика (рис.1-8, в).

Получаемая полярограмма характеризуется тремя параметрами (рис.1-8, б, в): высота волны -  $i_{\text{пред}}$  – предельный ток пропорционален концентрации деполяризатора; потенциал в точке максимального наклона –  $E_{1/2}$  – определяется природой вещества-деполяризатора; и наклон волны – характеризует обратимость окислительно-восстановительного процесса.

*Чем меньше наклон поляризационной кривой, тем менее обратимым считается электродный процесс. Другим критерием обратимости служит разность  $E_{3/4}-E_{1/4}$ : если она меньше (56,5/n) мВ – процесс можно считать обратимым, иначе – необратимым.*

Упомянутое выше напряжение разложения, как правило, отличается от рассчитанного теоретически значения вследствие возникновения на электродах дополнительного перенапряжения ( $\eta_M$ ) или кинетической поляризации, характеризующей величину дополнительной энергии, которую необходимо затратить на перенос электронов между объемом металлического электрода и объемом раствора.

Величина перенапряжения зависит от условий анализа (плотность тока, температура раствора), природы окислительно-восстановительного процесса, протекающего на электроде, а также свойств материала электродов. Так, для водорода, минимальное перенапряжение  $\eta_{H_2}$  наблюдается на платиновом электроде, тогда как на ртутном электроде оно особенно большое. Это, в частности, позволяет использовать ртутный электрод для электролитического выделения таких металлов, как Cd, Zn и др. как из водных растворов, так и из растворов кислот.

### 1.2.2. Кулонометрия

С помощью электролиза возможно осуществлять реакции окисления и восстановления с выходами и селективностью, недостижимыми для обычных химических процессов. Благодаря этому, электролиз с успехом используется для кулонометрических измерений, электрогравиметрических определений и избирательного выделения составляющих раствор электролита веществ. При этом кулонометрические методы абсолютны, т.е. не нуждаются в калибровочных кривых.

В основе всех кулонометрических методов анализа лежат законы Фарадея об эквивалентности количества вещества, превратившегося на электродах в результате электрохимических реакций, количеству электричества, прошедшего через электрохимическую ячейку. Законы Фарадея имеют простое аналитическое представление:

$$m = \frac{QM}{Fn}$$

где  $Q$  – количество электричества, необходимое для выделения на электроде  $m$  граммов вещества с молярной массой  $M$ ,  $n$  – число электронов, вовлеченных в электрохимическое превращение одной частицы вещества, участвующего в электродной реакции,  $F = eN_A = 96490$  Кл/моль – постоянная Фарадея. Для количественных кулонометрических измерений законы Фарадея могут быть применены только в условиях, когда при электрохимическом превращении образуются вещества с точно известной степенью окисления, и реакция протекает с выходом 100% по току (т.е. должны отсутствовать конкурирующие реакции).

Различают потенциостатическую и гальваностатическую кулонометрию. Последняя включает прямой и инверсионный методы, электроанализ и кулонометрическое титрование.

Непременным условием проведения кулонометрического определения является наличие надежного метода измерения количества электричества, прошедшего через электролитическую ячейку и метода установления окончания электрохимической (в прямых методах) или химической (в косвенных методах) реакции. При кулоногравиметрии количество вещества, подвергшегося электролизу, определяют взвешиванием электрода до и после эксперимента. В случае галь-

ваностатической кулонометрии, погрешность измерения количества электричества определяется точностью измерения времени:

$$Q = I \cdot \tau$$

В потенциостатической кулонометрии для определения количества электричества требуется интегрирование –

$$Q = \int I d\tau$$

На практике используют химические интеграторы - кулонометры или электронные интеграторы, устанавливаемые последовательно с электрохимической ячейкой.

### 1.2.3. Вольтамперометрия

Вольтамперометрия позволяет идентифицировать растворенные вещества в электролите, определять их концентрацию, а в некоторых случаях находить термодинамические и кинетические параметры для электродных реакций.

Метод вольтамперометрического анализа основан на расшифровке вольтамперограмм, полученных в электрохимической ячейке с поляризующимся индикаторным (рабочим) электродом и неполяризующимся электродом сравнения. Поляризационная кривая (вольтамперограмма) представляет собой зависимость тока, протекающего через ячейку от приложенного к электродам напряжения, при этом приложенное напряжение непрерывно изменяется.

Вольтамперометрические методы с использованием в качестве рабочего либо ртутного капаящего, либо статического ртутного капельного электрода, традиционно называют *полярографией*. В других вольтамперометрических методах в качестве рабочего электрода могут использоваться висящий ртутный капельный электрод, тонкопленочный ртутный электрод, стеклоуглеродный электрод, угольный пастовый электрод или электроды из благородных металлов – платины или золота. В последнее время широкое применение находят модифицированные электроды и микроэлектроды.

Сейчас, в качестве электрода сравнения, вместо ранее применявшейся ртути, чаще используют электроды второго рода – каломельный или хлоридсеребряный.

В случае двухэлектродных схем, когда электрод сравнения выполняет еще и роль вспомогательного электрода (т.е. регистрируемый ток протекает через него), возможно значительное омическое падение напряжения в растворе, даже несмотря на высокую концентрацию фонового электролита и незначительное сопротивление внешней цепи. Это может привести к изменению крутизны полярографической волны, а в некоторых случаях и потенциала полуволны. Избежать этого можно, применяя трехэлектродную схему вольтамперометрической ячейки с отдельным вспомогательным электродом (платина, ртуть), служащим токоотводом от индикаторного электрода.

Определяемые вещества (вещество) находятся в растворе электролита и участвуют в электрохимических реакциях, протекающих на поверхности рабочего электрода. Для уменьшения сопротивления раствора в него добавляют индифферентный (т.е. электрохимически неактивный в данном диапазоне напряжений) фоновый электролит. При этом концентрация фонового электролита должна превышать концентрацию исследуемого вещества не менее, чем в 100 раз. Кроме того, фоновый электролит дополнительно может выполнять и другие функции, например, предотвращать гидролиз многовалентных ионов, являться буфером для стабилизации pH раствора, образовывать комплексные соединения как с определяемыми, так и с мешающими ионами.

В вольтамперометрии аналитическим сигналом является максимальный анодный или катодный ток электропревращения определяемого элемента, регистрируемый на вольтамперограмме в виде пика (или нескольких пиков для различных веществ). Потенциал максимума сигнала тока характеризует природу вещества (или элемента), а величина максимума сигнала тока (или площадь под кривой) прямо пропорционально зависит от концентрации определяемого вещества (рис. 1-8, в). Таким образом, вольтамперограмма позволяет одновременно получить качественную и количественную информацию о веществах, присутствующих в анализируемом растворе и участвующих в электрохимических процессах на индикаторном электроде.

Помимо классической полярографии, различают также вольтамперометрию с линейной разверткой (с монотонным изменением) потенциала и циклическую

(с быстрой треугольной разверткой потенциала) вольтамперометрию. Широкое распространение в последнее время находит метод инверсионной вольтамперометрии, к преимуществам которой относятся низкие пределы обнаружения (до  $10^{-11}$  М), высокие чувствительность, селективность и разрешающая способность, правильность и воспроизводимость.

В основе метода инверсионной вольтамперометрии лежит способность определяемых элементов концентрироваться из анализируемого раствора на индикаторном электроде электрохимически (или путем адсорбции), а затем электрохимически же окисляться при определенном потенциале, характерном для каждого элемента. Таким образом, инверсионный вольтамперометрический анализ состоит из двух последовательных стадий – электроконцентрирования определяемого вещества на поверхности рабочего электрода и регистрации тока электрорастворения концентрата с поверхности электрода. Процесс концентрирования элементов на рабочем электроде проводят при заданных для определяемых веществ значениях потенциала и времени электролиза. Электроокисление определяемых элементов с поверхности электрода проводят в режиме меняющегося потенциала (как правило, линейно) при заданных параметрах. Поскольку содержание определяемого вещества в концентрате на несколько порядков выше, чем в растворе, величина аналитического сигнала резко возрастает.

## 2. Хроматографические методы исследования

Хроматография — это способ разделения веществ, основанный на различии в их коэффициентах распределения между двумя фазами, одна из которых неподвижна, а другая направленно движется относительно первой. Характерными признаками хроматографии являются: наличие достаточно большой поверхности раздела между фазами и динамический способ выполнения разделения (направленное движение одной фазы относительно другой). Сочетание этих двух признаков делает хроматографию высокоэффективным методом разделения, позволяющим отделять друг от друга очень близкие по своим свойствам вещества, даже такие, как изотопы элементов или оптически активные изомеры. Если отсутствует хотя бы один из этих признаков, нет и хроматографии как эффективного метода разделения.

Говоря об истории развития хроматографии, следует отметить работы немецкого химика Рунге (1850 г.), который описал процесс разделения красителей методом фронтального проявления на бумаге. Найдены и другие работы аналогичного характера. Однако, опыты Рунге и других исследователей не были систематизированы и не составили научной дисциплины.

Создателем хроматографического метода анализа является русский ученый М. С. Цвет, который в 1903 г. разработал хроматографический метод разделения компонентов красящего вещества зеленых листьев растений (хлорофилла).

*В докладе “О новой категории адсорбционных явлений и о применении их к биохимическому анализу”, прочитанном 8 (21) марта 1903 г. на заседании отделения биологии Варшавского общества естествоиспытателей, М.С. Цвет отмечал: “...Если петролейно-эфирный раствор хлорофилла профильтровать через столбик адсорбента (я применяю для этого, главным образом, углекислый кальций, плотно набитый в стеклянные трубки), то пигменты по расположению их в адсорбционном ряду отличаются отдельными окрашенными зонами по столбику сверху вниз, благодаря тому, что пигмен-*

ты с более сильно выраженной адсорбцией вытесняют книзу слабее удерживаемые. Это разделение становится практически совершенным, если, после пропускания вытяжки пигментов сквозь столбик адсорбента его промывать струей чистого растворителя. Как лучи света в спектре, в столбике углекислого кальция закономерно располагаются различные компоненты смеси пигментов, давая возможность своего качественного и количественного определения. Получаемый таким образом препарат я называю хроматограммой, а предлагаемую методику - хроматографической" (рис.2-1).

Так впервые прозвучало слово "хроматография", произведенное ученым от греч. хромос - цвет, окраска и графо - пишу, описываю.



**Рис.2-1.** Схематичное представление хроматографических экспериментов, выполненных М.С. Цветом.

Хроматографию сначала использовали очень редко. В течение 20 лет с момента публикации Цветом книги «Хромофилы в растительном и животном мире», в которой были подведены итоги по развитию созданного варианта хроматографии, появилось незначительное количество сообщений о различных применениях хроматографии.

Возрождение метода относится к 1931 г., когда Кун, Винтерштейн и Ледедер выделили  $\alpha$ - и  $\beta$ -каротин из сырого каротина, используя для этого метод Цвета. Широкое применение хроматография получила в начале 40-х гг. XX в. после ра-



боты Мартина и Синга, создавших распределительный вариант хроматографии.

В 1950-е гг. появились первые газовые хроматографы, в которых для повышения эффективности разделения газообразных веществ применяли длинные колонки, заполненные мелкозернистым сорбентом. С тех пор хроматография широко используется во всем мире в различных областях исследования. Техника хроматографического разделения постоянно развивается и совершенствуется.

В настоящее время, хроматография это самостоятельный раздел науки, в котором изучаются:

- 1) процессы межмолекулярных взаимодействий и перенос молекул или частиц в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз;
- 2) процессы многократного перераспределения веществ или частиц между несмешивающимися и движущимися относительно друг друга фазами;
- 3) методы разделения смесей веществ или частиц, основанные на различии в скоростях их перемещения в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз.

При описании и изучении хроматографических процессов используются следующие термины и понятия:

**Подвижная фаза** – поток жидкости или газа, перемещающий компоненты разделяемой смеси относительно неподвижной фазы.

**Неподвижная фаза** – твердый сорбент или несмешивающаяся с подвижной фазой жидкость, с которыми по разному взаимодействуют компоненты смеси и осуществляется их разделение.

**Сорбент** – твердое вещество, жидкость или их смеси, способные поглощать или удерживать газы, пары или растворенные вещества и используемые в хроматографии в качестве неподвижной фазы.

**Адсорбент** – твердый сорбент, концентрирующий на своей поверхности газы, пары или растворенные вещества.

**Абсорбент** – твердый или жидкий сорбент, растворяющий в своем объеме газы, пары или компоненты жидких смесей.

**Сорбат** – вещество, удерживаемое сорбентом (в хроматографии – компонент разделяемой смеси).

**Элюент** – жидкость или газ, используемые в качестве подвижной фазы.

**Элюат** – выходящий из колонки поток подвижной фазы с компонентами разделяемой смеси.

Благодаря возможности объединения процесса высокоселективного разделения с последующим высокочувствительным детектированием, хроматография стала самым распространенным методом анализа сложных смесей, позволяющим определять большое количество веществ в одной пробе с пределом обнаружения на нанограммовом ( $10^{-9}$ ) и фемтограммовом ( $10^{-15}$ ) уровнях. В современной аналитической химии 75–80% всех выполняемых анализов связаны с использованием хроматографических методов. В зависимости от агрегатного состояния подвижной фазы хроматографию подразделяют на газовую, жидкостную и сверхкритическую.

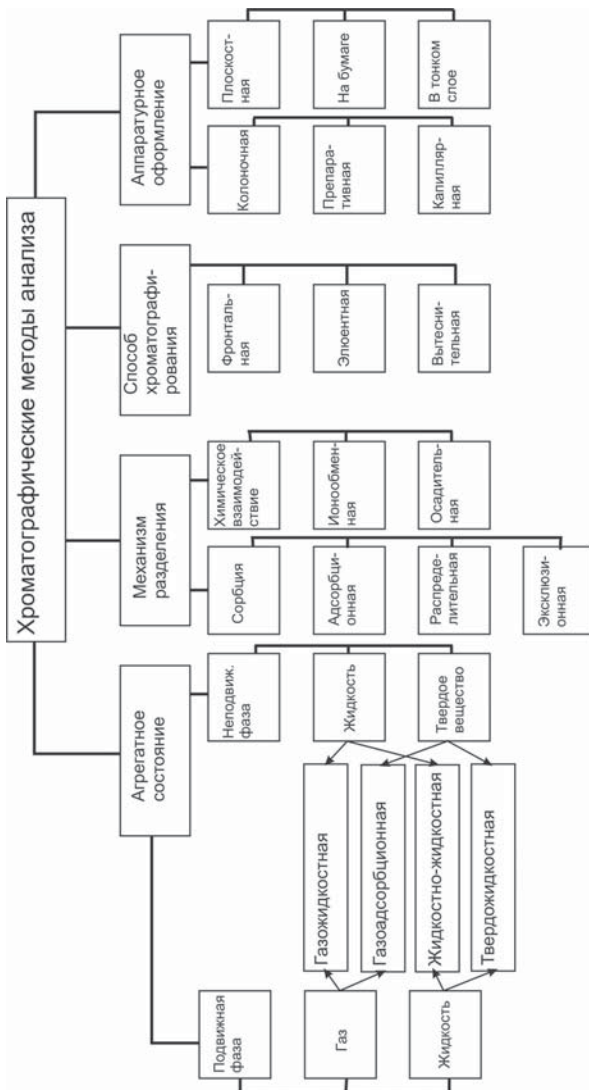
## 2.1. Классификация хроматографических методов

Существуют различные способы классификации хроматографических методов – по физической природе неподвижной и подвижной фаз, в зависимости от способа перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента, в зависимости от природы процесса, обуславливающего распределение сорбатов между подвижной и неподвижной фазами, в зависимости от цели проведения хроматографического анализа, по технике выполнения. Все разнообразие применяемых в научных исследованиях хроматографических методов представлено на схеме (рис.2-2).

Наиболее распространенными методами хроматографии являются жидкостная (если подвижная фаза жидкая) и газовая (если подвижная фаза газообразная).

Жидкостную хроматографию, в свою очередь, можно разделить в зависимости от агрегатного состояния неподвижной фазы на твердо-жидкофазную (ТЖХ) твердая и жидко-жидкофазную хроматографию (ЖЖХ) — неподвижная фаза жидкая. ЖЖХ часто называют распределительной хроматографией.

Требования к материалу колонок для ЖХ более жесткие, чем для ГХ, так как используемые элюенты часто весьма агрессивные жидкости. Обычно используют нержавеющую сталь, стекло, тефлон, полиэтилен. Колонки для ЖХ всегда заполнены адсорбентом, поэтому протекание элюента через нее затруднено.



**Рис.2-2.** Классификация хроматографических методов.

К тому же, для многократного повышения эффективности разделения, размер частиц адсорбентов уменьшают до 3–10 мкм. В результате, если элюент поступает в колонку самотеком, время анализа становится неприемлемо большим (например можно сравнить соотношение скоростей протекания воды через слой гравия и песка). Для сокращения времени анализа элюент подают в колонку под давлением порядка нескольких десятков, а в отдельных случаях и свыше сотни атмосфер, создаваемым шестеренчатым или поршневым микронасосом. Эта методика ЖХ называется высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ).

Современные системы ВЭЖХ могут состоять из нескольких насосов, которые позволяют готовить многокомпонентные смеси для элюирования.

Если на протяжении всего хроматографического анализа состав подвижной фазы сохраняется, такой режим называется изократическим, если же нет, такой вариант анализа называется градиентным. Градиентный режим позволяет более эффективно осуществить разделение веществ различной полярности.

ЖХ позволяет разделять химические молекулы, ионы, радикалы, в широком диапазоне молекулярных масс – от 50 до  $10^6$  у.е. Среди объектов анализа ЖХ – белки, нуклеиновые кислоты, аминокислоты, красители, полисахариды, взрывчатые вещества, лекарственные препараты, метаболиты растений и животных. Это оптимальный метод анализа химически и термически нестойких молекул, высокомолекулярных веществ с пониженной летучестью. Следует отметить особую роль элюента в ЖХ, который выполняет не только транспортную функцию, но и способен влиять на анализируемые вещества (подавлять или усиливать электролитическую диссоциацию, влиять на коэффициент распределения между фазами и т.д.), меняя хроматографическое поведение разделяемых веществ.

Газовую хроматографию в зависимости от агрегатного состояния неподвижной фазы делят на газоадсорбционную (ГАХ) и газожидкостную (ГЖХ).

Газо-адсорбционная хроматография (ГАХ), включает все варианты газовой хроматографии, в которых неподвижной фазой является твердое тело с сильно развитой поверхностью (адсорбент): древесный уголь, силикагель, цеолиты, пористые полимерные сорбенты и др. Разделение соединений происходит за счет их различной способности адсорбироваться поверхностью адсорбента и десорбироваться с нее.

К газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) относятся все варианты газовой хроматографии, в которых в качестве неподвижной фазы используется слой жидкости, нанесенный на поверхность твердого носителя (зернистый мелко-дисперсный материал или внутренние стенки хроматографической колонки). Разделение компонентов анализируемых смесей осуществляется за счет их различной растворимости в неподвижной фазе, а так же за счет различия в температурах кипения.

Колонки для ГХ представляют собой трубки из инертного материала (стекло, нержавеющая сталь и др.) диаметром 0.1–10 мм, длиной от нескольких см до десятков м. Узкие колонки с жидкостью на стенках, особенно эффективные для скоростного анализа малых проб, называются капиллярными. Для анализа больших количеств пробы такие колонки соединяют параллельно в одну поликапиллярную колонку.

Элюентами в ГХ служат газы, химически инертные по отношению к анализируемым веществам (азот, водород, аргон, гелий и др.)

С помощью ГХ можно выполнять качественное и количественное определение компонентов смесей любых органических и неорганических газов, жидкостей, твердых тел, не разлагающихся и не взаимодействующих между собой в области температур до 400–500°C и имеющих давление насыщенного пара в диапазоне 0.133–133 Па (0.001–1 мм рт. ст.).

Методом газовой хроматографии могут анализироваться и такие соединения, которые, хотя и не попадают в указанные пределы, но могут быть превращены в летучие производные, например гидриды. Интересным является метод идентификации веществ (в том числе труднолетучих) по продуктам их термического разложения, качественный и количественный состав которых устанавливается методами ГХ (см.Главу 3).

При выборе условий разделения (природы подвижной и неподвижной фаз) необходимо учитывать молекулярную массу компонентов образца, их полярность и природу сопутствующих соединений, от которых необходимо отделить исследуемое вещество.

Если молекулярная масса компонентов образца превышает 2000 у.е., то следует обратиться к эксклюзионной хроматографии (эксклюзионная хрома-

тография – ситовая, гель-проникающая, гель-фильтрационная), в которой молекулы веществ разделяются по размеру за счет их разной способности проникать в поры носителя. При этом первыми выходят из колонки наиболее крупные молекулы (молекулярной массы), способные проникать в минимальное число пор носителя. Последними выходят вещества с малыми размерами молекул, свободно проникающие в поры сорбента.

Для разделения смесей органических веществ в ионизированной форме и, в первую очередь, смесей неорганических анионов и катионов, целесообразно применение ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием.

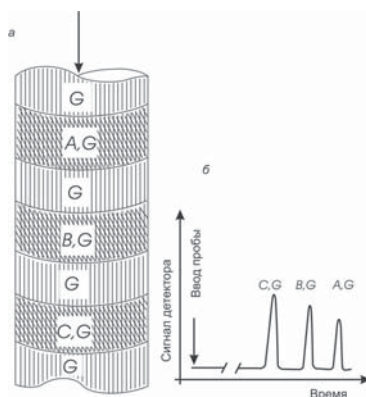
Во всех остальных случаях решение задачи разделения многокомпонентной смеси возможно, либо в нормально-фазном, либо в обращенно-фазном варианте. Нормально-фазный вариант предпочтителен, если анализируемые вещества содержат функциональные группы. При этом имеют значение количество функциональных групп, способность анализируемых соединений к образованию водородных связей, строение (например, цис-, транс- изомерия) и т.д. Если вещества обладают слабым сродством к неподвижной фазе, то используют активные слои сорбента и слабополярные растворители.

К обращенно-фазовой хроматографии прибегают для хроматографического разделения гомологов, имеющих одну и ту же функциональную группу, а также неполярных соединений, сродство которых к полярной неподвижной фазе незначительно. В самых сложных случаях прибегают к комплексному использованию газовой и жидкостной хроматографии в едином аппаратном оформлении. Этот подход позволяет исследовать состав сложных смесей как высоко-, так и низкомолекулярных соединений, проводить групповое и покомпонентное разделение (при этом колонка жидкостного хроматографа, размещаемая перед газохроматографической, может выполнять функции своеобразной системы пробоподготовки). Гибридные приборы подобного назначения, еще несколько лет назад собираемые в лабораториях из имеющихся разрозненных блоков, в настоящее время стали выпускаться серийно.

Наиболее распространенная методика выполнения анализов смеси веществ с использованием колоночной газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии сводится к следующему.

Перед началом анализа хроматографическую колонку, содержащую неподвижную фазу, непрерывно промывают подвижной фазой (в газовой хроматографии подвижную фазу часто называют газом-носителем, в жидкостной – элюентом) и в этот поток подвижной фазы на входе в колонку вводят небольшую порцию анализируемой смеси компонентов, например, А, В и С (при выполнении газохроматографических анализов жидкие и твердые вещества должны быть предварительно переведены в парообразное состояние; в жидкостной хроматографии анализируемые образцы предварительно растворяют в элюенте или в другом подходящем, смешивающемся с ним растворителе).

Вследствие специфических различий в сорбции или растворимости при движении через слой неподвижной фазы компоненты группируются в зоны, отделенные друг от друга подвижной фазой (рис.2-3, а).



**Рис.2-3.** Проявительная хроматография. а – участок колонки со сложившимся распределением хроматографических зон; б – хроматограмма.

Практически, формирование зон проявляемых компонентов наблюдается на всем пути их следования, т. е. на протяжении всей длины колонки. Из-за диффузионных процессов в подвижной и неподвижной фазах границы зон размываются, так что максимальная концентрация компонента оказывается сосредоточенной в центре зоны.

Если на выходе из колонки регистрировать изменение во времени какого-либо свойства потока подвижной фазы (так называемое дифференциальное детектирование), то выходная хроматографическая кривая – хроматограмма – запишется в виде более или менее острых пиков, возвышающихся над нулевой (базовой) линией, уровень которой по окончании анализа, как правило, соответствует исходному ее положению до начала анализа (рис.2-3, б). Таким образом, сразу же по окончании одного анализа колонка автоматически оказывается подготовленной к выполнению следующего.

Времена выхода компонентов, отсчитываемые от момента ввода пробы до момента регистрации вершины пика, или, иначе, объемы подвижной фазы, затраченные на перенос через колонку каждого компонента, дают качественную характеристику анализируемых веществ. Сопоставление площадей (или высот) хроматографических пиков позволяет с высокой точностью выполнять количественные определения.

Кроме качественных и количественных определений, рассмотренная методика позволяет проводить препаративное выделение и очистку любого содержащегося в анализируемом образце вещества, так как имеется принципиальная возможность осуществить полное разделение всех компонентов смеси.

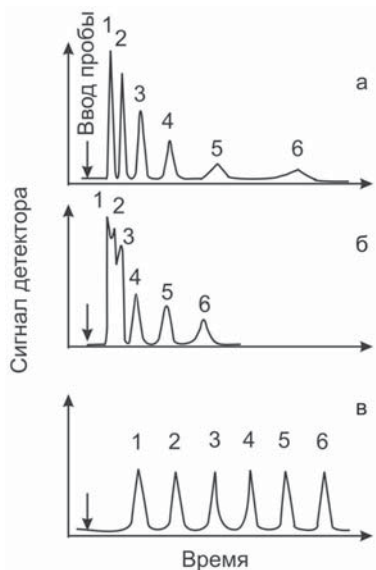
Одним из недостатков хроматографического анализа при постоянных температуре, составе и скорости подвижной фазы является то, что если компоненты, сильно различаются по характеристикам удерживания, трудно выбрать оптимальные температуру колонки и скорость газа-носителя или элюента.

В ГХ, при невысокой температуре колонки или небольшой скорости газа-носителя, лишь пики первых (наиболее летучих и слабо удерживаемых) компонентов пробы будут резко очерчены на хроматограмме. Хроматографические зоны последующих компонентов будут все более и более размываться потоком газа-носителя, что приведет к регистрации на хроматограмме уширяющихся по оси времени пиков, возможному их перекрыванию и снижению чувствительности. Общая продолжительность анализа при этом составит довольно значительно время (рис.2-4, а).

При повышенной температуре колонки или достаточно большой скорости газа-носителя, удобную для качественных и количественных измерений форму



приобретут на хроматограмме пики последних выходящих из колонки веществ. Общее время анализа будет небольшим, однако наиболее летучие (наименее удерживаемые) компоненты выйдут из колонки частично или полностью неразделенными. Вид подобных хроматограмм представлен на рис.2-4, б.



**Рис.2-4.** Возможные профили хроматограммы одной и той же смеси из шести компонентов. При относительно низких (а) или относительно высоких (б) температуре или скорости газа-носителя и при линейном повышении температуры или скорости газа-носителя в ходе анализа (в).

В ГХ рассмотренные проблемы решаются как правило, с использованием программированного режима хроматографирования, т. е. изменением по заданной программе (во времени) температуры или скорости газа-носителя. В жидкостной хроматографии аналогичные проблемы решаются изменением полярности подвижной фазы, путем смешения двух или более растворителей различной полярности, называемый градиентным режимом.

В настоящее время программированный и градиентный режимы технически реализованы во многих моделях хроматографов, что намного расширяет границы практического использования газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В заключение назовем основные причины, которые объясняют высокие темпы развития и совершенствования методов ГХ и ЖХ.

1. Сравнительная простота аппаратного оформления.

2. Весьма широкие границы применения, непрерывно расширяющиеся из-за появления новых разновидностей первоначальных вариантов.

3. Возможность разделения и количественного анализа с высокой точностью микрограммовых (миллионных долей грамма) количеств смесей компонентов, не поддающихся исследованию никакими другими методами.

4. Быстрота выполнения анализа. В большинстве применяемых на практике аналитических методик длительность цикла разделения не превышает 10–20 мин.

5. Широкий выбор неподвижных фаз и адсорбентов, а также типов рабочих колонок и условий хроматографирования, позволяющий добиваться разделения соединений с весьма близкими физико-химическими характеристиками.

6. Хроматография получила заслуженное признание не только как мощное средство аналитического контроля, но и как способ очистки химических препаратов от примесей или выделения отдельных компонентов из смесей (препаративный вариант метода).

7. Осуществление химических реакций в самой хроматографической колонке или в реакторах, составляющих с ней единую коммуникационную систему (реакционная газовая и жидкостная хроматография), открывает дополнительные возможности качественного анализа смесей неизвестного состава.

8. Для химиков-органиков особый интерес представляет препаративная реакционная газовая хроматография, совмещающая в одностадийном процессе синтез (с выходами, близкими к количественным) разнообразных соединений и выделение их в индивидуальном виде. В последние годы все более расширяются неаналитическое применение колоночной хроматографии, связанное с ис-

следованием физико-химических характеристик хроматографируемого вещества и неподвижной фазы, а также кинетики каталитических реакций.

9. Совмещение газовой и жидкостной хроматографии с другими современными инструментальными методами анализа (некоторыми видами спектроскопии, рефрактометрией, кулонометрией) в едином аппаратном оформлении открывает неограниченные перспективы качественного и количественного исследования весьма сложных по составу соединений. Из таких комбинированных методов, являющихся в настоящее время наиболее информативными при качественном анализе сложнейших смесей неизвестного состава, следует выделить два – хромато-масс-спектрометрию и хромато-ИК-Фурье-спектроскопию.

10. Методы газовой и жидкостной хроматографии хорошо поддаются автоматизации. В этом их неоспоримое преимущество перед другими современными приемами физико-химического анализа для химической промышленности. В настоящее время цеха крупных химических заводов-комбинатов оборудованы десятками газовых и жидкостных хроматографов, связанных со специализированными ЭВМ для оперативного контроля и управления производственными процессами.

В наши дни хроматография оказывает неоценимую помощь не только химии, но также медицине, биологии, геологии, охране окружающей среды и многим другим направлениям науки и техники, включая такие разные по сути области применения, как криминалистика и освоение космического пространства.

## **2.2. Газовая хроматография**

Газовая хроматография впервые описанная в 1952 г., быстро завоевала популярность благодаря: скорости и легкости, с которой могут быть проанализированы сложные смеси; малого количества пробы, требуемой для анализа; гибкости и надежности используемого оборудования.

В газовой хроматографии, как было сказано выше, используется принцип распределения вещества между подвижной и неподвижной фазами.

Неподвижная фаза состоит из твердых частиц, предпочтительно с узким интервалом по размерам. Их средний размер обычно 0.1-0.3 мм, хотя в некото-

рых случаях для достижения очень высокой эффективности газохроматографических колонок используются частицы меньшего размера. С точки зрения химического состава и свойств используемые неподвижные фазы могут быть подразделены на группы.

1) адсорбенты, обычно с очень большой удельной поверхностью (50-1000 м<sup>2</sup>/г): силикагель, оксид алюминия, молекулярные сита, активный уголь и графитированная сажа. Газоадсорбционная хроматография — не очень распространенный метод, за исключением анализа газов или решения особых задач;

2) нейтральные, или так называемые инертные носители, обычно получают из диатомитовых материалов, иногда из полимеров. Наиболее часто используются следующие инертные носители: карбопак, хромосорб, молекулярные сита, графитированная сажа, цеолиты и др. На них наносится жидкость с очень низким давлением пара и высокой термической стабильностью в условиях использования колонки. В настоящее время газожидкостная хроматография является самым распространенным методом.

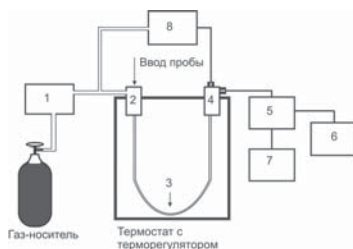
*В качестве жидкой неподвижной фазы в газожидкостной хроматографии широкое применение находят: апиезон М, карбовакс 20М, карбовакс 1500, дексил 300, дексил 400, дибутилфталат, диэтиленгликольадипат, динонилфталат, полифениловый эфир, полипропиленгликоль, поливинилпирролидон, силикон GESF 96, силикон GEXE 60, силикон SE 30, фенилсиликон SE 52 и др.*

Для проведения очень трудных разделений успешно используются также адсорбенты с нанесенным на них малым количеством жидкости с низким давлением пара. Этот метод обычно называется газовой хроматографией на адсорбционных слоях или газоадсорбционной хроматографией на модифицированных адсорбентах.

Подвижной фазой служит инертный газ (гелий, азот, аргон) или водород, который в условиях газовой хроматографии проявляет себя как инертный. В некоторых случаях используют водяной пар или безводный аммиак. Химический состав газа-носителя оказывает весьма незначительное влияние на удерживание веществ и на их разделение.

### 2.2.1. Принципиальная схема и узлы газового хроматографа

Газовый аналитический хроматограф представляет собой совокупность взаимодействующих систем, предназначенных для проведения анализа в оптимальном режиме хроматографического разделения исследуемой смеси с целью определения ее состава. Принципиальная (функциональная) схема аналитического газового хроматографа представлена на рис.2-5.



**Рис.2-5.** Блок-схема газового хроматографа. 1 – система подготовки газов; 2 – устройство для ввода и дозирования пробы; 3 – колонка; 4 – детектор; 5 – усилитель; 6 – регистратор; 7 – интегратор или компьютеризированная система обработки сигнала детектора; 8 – измерители параметров режима анализа (расход газа, температур, электрического питания). Газовые функциональные линии показаны двойной линией, электрические – одинарной.

Основными системами газового хроматографа являются следующие:

- Система подготовки газа-носителя – подает стационарный поток выбранного газа-носителя. В самых распространенных системах используется регулятор скорости потока. Массовая скорость потока газа-носителя через этот регулятор поддерживается постоянной. Другими словами, число молей газа, проходящего через колонку в единицу времени, является постоянным. В систему подготовки входят газовые фильтры, необходимые для удаления из газа-носителя примесей воды и кислорода, присутствие которых может существенно повлиять на результаты анализа и негативно сказаться на работе колонки.

- Система ввода проб – обеспечивает ввод пробы в поток газа точно в начало колонки. Эта проба должна испаряться за достаточно короткое время и вводиться в колонку в виде цилиндрической пробки пара, разбавленного газом-носителем.

- Колонка – основной элемент, на котором происходит разделение компонентов смеси - установлена в термостате с регулированием температуры. Выбираемая температура обычно заключается в диапазоне от комнатной температуры до 350°C, хотя были описаны анализы в более широком диапазоне (от -180°C до +1000°C). Требуемые температурные режимы колонки, детектора и дозирующих устройств достигаются помещением их в термостаты, управляемые терморегулятором. Если необходимо повышать температуру колонки в процессе анализа, используют программатор температуры термостата. Терморегулятор с программатором составляют систему термостатирования, в которую входит устройство для измерения температуры.

- Детектор – формирует электрические сигналы в зависимости от состава проходящей газовой фазы. Желательно, чтобы этот сигнал был нулевым, когда из колонки выходит чистый газ-носитель, и пропорциональным концентрации любого вещества, отличающегося от газа-носителя. Такой детектор называется линейным. Если коэффициент пропорциональности одинаков для всех веществ, детектор называется идеальным. На практике идеального детектора не существует.

Компоненты смеси переносятся по колонке газом-носителем. Они движутся со скоростью, которая пропорциональна линейной скорости газа-носителя, но меньше ее и зависит от силы взаимодействия каждого из этих компонентов с неподвижной фазой.

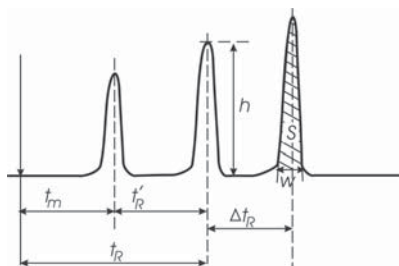
Соответственно, если неподвижная фаза была выбрана правильно, каждый компонент элюируется в разное время и отделяется от других компонентов. Сигнал детектора позволяет проводить идентификацию каждого компонента по времени элюирования его зоны (также называемым его временем удерживания) и его количественное определение по величине сигнала детектора (его высоте или площади).

Сигнал детектора, преобразованный усилителем, записывается в виде хроматограммы аналоговым пишущим устройством или регистрируется ЭВМ. Количественную обработку хроматограмм выполняют вручную или с помощью

компьютерных программ, рассчитывающих параметры хроматографических пиков и результаты анализа.

Все системы хроматографа взаимосвязаны, поэтому функционирование прибора может быть удовлетворительным лишь при условии четкой и правильной работы каждой системы в отдельности.

График зависимости сигнала детектора от времени называется хроматограммой. Анализ хроматограммы позволяет выделить пять основных характеристических параметров для каждого пика, допуская, что он довольно хорошо отделен от соседних пиков (рис.2-6).



**Рис.2-6.** Идеализированная хроматограмма, показывающая пик «воздуха» и пики двух веществ.

Этими пятью основными экспериментальными данными являются: время удерживания, время задержки газа, ширина пика, высота пика, площадь пика.

1. Время удерживания  $t_R$ .

Это время между вводом пробы и появлением на выходе из колонки максимальной концентрации зоны соответствующего вещества. По времени удерживания проводится идентификация разделяемых веществ.

2. Время задержки газа  $t_m$  («мертвое» время колонки). Это время удержания инертного вещества, которое не удерживается на колонке, т. е. вещества, неадсорбируемого или нерастворяемого неподвижной фазой.

3. Ширина пика  $w$ . Ширина пика обычно определяется как длина сегмента нулевой линии, измеряемая между точками пересечения с нулевой линией двух каса-

тельных в точках перегиба пика. Используется также ширина пика на половине его высоты или на некоторой другой промежуточной высоте.

4. Высота пика  $h$ . Это расстояние между нулевой линией и максимумом пика.

5. Площадь пика  $A$ , которая в настоящее время измеряется интегрированием сигнала. По площади пиков проводится количественный анализ.

Перечисленные выше параметры являются характеристическими только в том случае, когда условия хроматографирования остаются неизменными. Так по времени удерживания можно проводить качественный анализ компонентов смеси. Данные о высоте или площади пика используются для количественного анализа компонентов смеси.

### 2.2.2. Техника и аппаратура, используемые в газовой хроматографии

**Колонки.** Насадочные: используются U - образные колонки, спиральные трубки из стекла, нержавеющей стали и меди, наполненные сорбентом с нанесением или без нанесения жидкой фазы. Капиллярные: изготавливаются из кварцевого стекла. В капиллярных колонках жидкая фаза обычно наносится на внутреннюю поверхность капилляра, которая может быть модифицирована. Неподвижная фаза может наноситься на внутреннюю стенку капилляра в виде пленки (полый капилляр с покрытыми стенками), либо на пористую подложку (полый капилляр с покрытым носителем) рис.2-7.

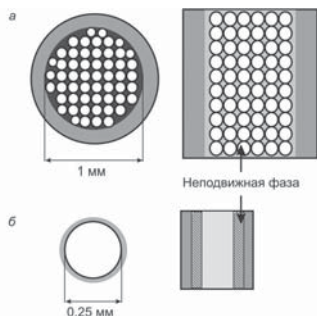
**Термостат.** В газовой хроматографии широко используются воздушные термостаты с принудительной циркуляцией воздуха, температуру которых поддерживают с точностью до 0.05-0.5°C.

**Детектор.** Представляет собой прибор, позволяющий фиксировать какое-либо физико-химическое свойство бинарной смеси, определяемое ее составом. Наиболее широко в газовой хроматографии используется пламенно-ионизационный детектор, термоионный детектор и ионизационный детектор.

Как известно, газы при обычных условиях не проводят ток. Если же под действием пламени или радиоактивного излучения в газе образуются ионы, радикалы или свободные электроны, то даже при очень небольшой концентрации этих частиц газы становятся проводниками электрического тока. Принцип



работы пламенно-ионизационного детектора основан на ионизации, происходящей при сгорании за счет энергии окисления углерода.



**Рис.2-7.** Поперечные и продольные сечения колонок различных типов, используемых в газовой хроматографии. а – обычная насадочная колонка; б – капиллярная колонка со стенками, покрытыми жидкой фазой.

Термоионный детектор - модификация пламенно-ионизационного детектора, - характеризуется повышенной чувствительностью к соединениям, содержащим фосфор, азот, мышьяк, олово, серу. Принцип действия этого детектора основан на повышении ионизации солей щелочных металлов в пламени при попадании в него элементоорганических соединений. Обычно, на конце горелки располагают наконечник из соли с минеральным связующим.

Ионизационные детекторы отличаются от пламенно-ионизационных тем, что ионы в них образуются не в результате сжигания смеси, а под воздействием радиоактивного излучения, источниками которого служат  $^3\text{H}$  и  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{147}\text{Pr}$ ,  $^{85}\text{Kr}$ , ( $\beta$ -излучение) и  $^{226}\text{Ra}$  ( $\alpha$ -излучение). Для безопасности источники помещают в специальные контейнеры.

## 2.3. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Жидкостная хроматография — это хроматография, в которой подвижной фазой является жидкость. Классическая жидкостная хроматография имеет несколько

модификаций, например, хроматографические методы по видам тех вспомогательных средств, которые в них используются, по технике выполнения классифицируются на колоночную (неподвижная фаза находится в колонке, см. выше) и плоскостную — бумажную и тонкослойную. Все виды жидкостной хроматографии могут применяться не только для качественного и количественного анализа, но и для препаративного выделения компонентов смеси.

В настоящее время бурно развивается высокоэффективная ЖХ (ВЭЖХ), которая существенно отличается от классической ЖХ (табл.2-1), в первую очередь за счет применения:

- 1) сорбентов с высокой степенью однородности по размеру и форме зерен;
  - 2) мелкозернистых материалов диаметром 1-80 мкм;
  - 3) усовершенствованных методик заполнения колонок;
  - 4) высокочувствительных детекторов с измерительными ячейками очень малого объема;
  - 5) высоких давлений на входе в колонку (до 120 атм);
- а также уменьшением до минимума мертвых объемов в разделительной системе хроматографа.

### **2.3.1. Принципиальная схема и узлы высокоэффективного жидкостного хроматографа**

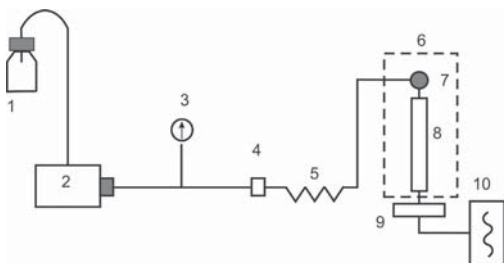
Как и газовый, жидкостный аналитический хроматограф представляет собой совокупность взаимодействующих систем, предназначенных для проведения анализа в оптимальном режиме хроматографического разделения. Блок-схема прибора для анализа методом ВЭЖХ представлена на рис.2-8.

Резервуар с подвижной фазой и система подачи элюента, а также насос, который должен обеспечивать поток подвижной фазы со скоростями от нескольких мкл/мин до 10 мл/мин обычно объединены в один блок. Насос подает элюент в колонку через кран-дозатор с объемом сменных дозирующих петель, от 0.1 до 100 мкл и более. Разработаны модели с автоматизированной системой ввода пробы. На входе в колонку, как правило, устанавливается

Характеристика	Классическая ЖХ	Высокоэффективная ЖХ (ВЭЖХ)
Давление	От долей атм. до 2 атм.	10 - 100 атм. и выше
Скорость потока	5 - 50 мм/мин	600 мм/мин
Продолжительность разделения	От нескольких часов до нескольких суток	От нескольких минут до нескольких часов
Оборудование	Колонка и вспомогательное	Хроматограф
Тип разделения	В основном препаративное разделение	В основном аналитическое разделение
Детектирование	Детектирование отдельных фракций аналитическими методами	С помощью детектора
Количество исследуемого вещества	От нескольких мкг до нескольких кг	От нескольких нанограммов до нескольких мкг

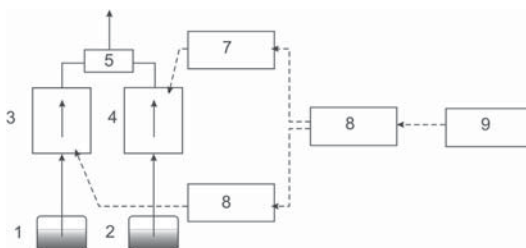
**Табл.2-1.** Экспериментальные различия между классической и высокоэффективной жидкостной.

дополнительный узел ввода пробы для дозирования порции анализируемого образца микрошприцем. В состав многих моделей жидкостных хроматографов последних лет выпуска входят системы термостатирования колонок. Сигнал детектора передается на компьютер (в цифровой форме). В современных приборах компьютер играет не только регистрирующую роль, но и управляет всем процессом хроматографирования.



**Рис.2-8.** Блок-схема жидкостного хроматографа. 1 – резервуар с элюентом; 2 – насос; 3 – манометр; 4 – фильтр; 5 – демпфер; 6 – термостат; 7 – устройство для ввода пробы; 8 – колонка; 9 – детектор; 10 – регистратор.

Блок-схема жидкостного хроматографа может также включать устройство для градиентного элюирования как с одним, так и с двумя насосами (рис.2-9).



**Рис.2-9.** Схема устройства для градиентного элюирования. 1, 2 – резервуар с первым и со вторым элюентом соответственно; 3, 4 – насосы для подачи первого и второго элюентов; 5 – смеситель; 6, 7 – контроллеры скорости подачи элюентов 1 и 2 соответственно; 8 – контроллер состава; 9 – программатор градиента.

### 2.3.2. Техника и аппаратура, используемые в высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Насос** – обеспечивает постоянный поток подвижной фазы в хроматографической системе (через колонку и детектор) при заданных рабочих условиях: тем-

пературе, скорости потока и давлении. Насосы, применяемые в жидкостной хроматографии, классифицируются на насосы высокого (около 300 атм.) и среднего (75-100 атм.) давления. По конструкции насосы делятся на поршневые (или плунжерные) и мембранные (диафрагмовые).

**Хроматографические колонки.** Для изготовления колонки чаще всего применяют трубки из нержавеющей стали, стекла, алюминия, меди или тефлона. Материал колонки не оказывает значительного влияния на ее эффективность. Не обнаружено значительных различий в эффективности колонок, изготовленных из нержавеющей стали, алюминия, меди. В настоящее время наиболее распространены колонки с внутренним диаметром 2 мм. При этом диаметр колонки также не оказывает значительного влияния на эффективность. Наиболее распространены колонки длиной от нескольких сантиметров до нескольких метров. Эффективность колонки зависит от ее формы. Наиболее важным фактором, влияющим на эффективность колонки, остается методика заполнения колонки сорбентом.

**Термостаты.** Жидкостный хроматограф обычно оборудован двумя независимыми термостатами. Для детекторов важно не само значение температуры, а высокая степень ее стабильности, в связи с чем для термостатирования детекторов очень эффективны жидкостные термостаты, обладающие высокой теплоемкостью. Для термостатирования колонок обычно применяются воздушные термостаты, которые вполне удовлетворительны с точки зрения поддержания заданной постоянной температуры колонки.

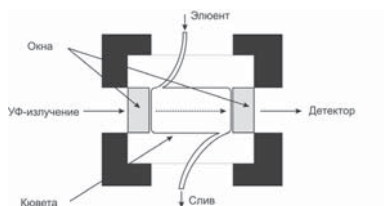
**Детекторы.** Основные требования к детектору — высокая чувствительность, позволяющая работать с малыми концентрациями анализируемых веществ, и малый объем чувствительной ячейки, обеспечивающий меньшую вероятность расширения концентрационной зоны в подвижной фазе.

Работа детекторов основана на физических или физико-химических свойствах подвижной фазы и анализируемого вещества, которые вполне определенным образом связаны с количеством и природой этого вещества.

В ЖХ используются УФ-детекторы (рис.2-10), рефрактометрические, по диэлектрической проницаемости, по электропроводности, флуориметрические; ИК-детекторы, полярографические, по теплоте сорбции, и другие, которые час-

то принципиально отличаются друг от друга по своим возможностям.

Широкое применение в ВЭЖХ находят матричные детекторы (см. Главу 4) из-за высокой скорости регистрации сигнала, которая дает возможность записать полные спектры элюированных компонентов, а не только хроматографические пики веществ, измеренные на одной длине волны.



**Рис.2-10.** Схема проточной ячейки для УФ-детектирования в ВЭЖХ.

В последнее время все большее распространение получают масс-спектральные детекторы различных типов (см. Главу 6).

### 2.3.3. Сорбенты для ВЭЖХ.

По химической природе сорбенты для ВЭЖХ можно разделить на три группы: неорганические (силикагель, оксид алюминия); органические (на основе полимеров гелевой и макропористой структуры); смешанные (неорганические, капсулированные полимерным слоем с привитыми ионогенными группами и неорганические с привитыми органическими функциональными группами).

Силикагель с общей формулой  $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  — один из наиболее распространенных абсорбентов в хроматографии. Его относят к полярным абсорбентам, причем эта полярность обусловлена, в основном, наличием поверхностных гидроксильных групп. Элементарными пространственными ячейками (частицами) этого сорбента являются тетраэдры, образованные атомами кремния и кислорода ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ); полимеры этих ячеек образуют пористую структуру, для которой характерна развитая внутренняя поверхность. Изменяя pH раствора, из которого приготавливается этот гель, можно регулировать удельную

площадь его поверхности примерно в пределах 200-800 м<sup>2</sup> /г. Наиболее широко применяются силикагели со значительно меньшей удельной площадью поверхности (1-200 м<sup>2</sup>/г). Величина удельной площади поверхности силикагеля зависит от диаметра пор адсорбента.

Адсорбенты с удельной площадью поверхности более 500 м<sup>2</sup>/г обычно характеризуются средним диаметром пор менее 10 нм. Удельной площади поверхности, равной 30 м<sup>2</sup>/г, соответствует средний диаметр пор, примерно равный 40 нм, а для силикагеля с удельной площадью 5 м<sup>2</sup>/г средний диаметр пор примерно равен 250 нм.

Оксид алюминия — второй по популярности адсорбент, причем из всех кристаллических форм окиси алюминия в хроматографии наиболее часто используется  $\gamma$ -форма. Удельная площадь поверхности этого адсорбента около 200 м<sup>2</sup>/г.

Реже в ВЭЖХ применяются такие адсорбенты, как активированный древесный уголь, графитированный древесный уголь, углеродные молекулярные сита, силикат магния и окись магния.

Для ситовой жидкостной хроматографии используют сорбенты трех групп: полужесткие гели, силикагели и пористые стекла. Основным адсорбентом для молекулярной ВЭЖХ является силикагель, а оксид алюминия применяется достаточно редко.

### 3. Методы термического анализа.

Влияние тепла на превращение веществ представляет собой отдельную, и весьма важную область аналитической и физической химии. Сегодня эта область, изучающая процессы, протекающие с веществом при нагревании, выделилась в отдельное направление, называемое термическим анализом.

Исходной точкой появления самого принципа термического анализа считают работы известного французского ученого Анри Луи Ле Шателье. Несмотря на то, что Ле Шателье больше известен как автор принципа динамического равновесия, ныне носящего его имя, ученый проводил фундаментальное изучение металлургических и химико-технологических процессов. Именно в ходе этих исследований Ле Шателье были предложены идеи того, что сегодня мы называем термическим анализом. Опыт, описанный Ле Шателье был достаточно прост, небольшое количество белой глины (вернее минерала каолинита из которого она состоит) ученый с равномерной скоростью нагревал до температуры 1300K, в пробу была вложена термопара, подключенная к клеммам гальванометра. Ле Шателье наблюдал за тем, в какой степени температура пробы следует темпу нагревания. Для регистрации результатов измерения он использовал фотопластинку.

Известно, что каолинит теряет структурную воду при температуре около 900K. Данный процесс является эндотермическим. Полученные при разложении аморфные продукты кристаллизуются с выделением тепла при температуре около 1200K. В случае, когда ничто не оказывало влияния на равномерное повышение температуры пробы, на фотопластинке были получены линии, расположенные на одинаковом расстоянии друг от друга. Однако при потере каолинитом структурной воды (поглощение тепла) линии сгущались, а при кристаллизации продукта, происходящей с выделением тепла, они проявлялись на больших расстояниях друг от друга. По густоте линий Ле-Шателье смог сделать приближенный вывод об относительном содержании каолинита в глине. Позже Ле-Шателье предложил другой способ записи термических эффектов - в виде непрерывных кривых нагревания.



Термический анализ, в том виде, в котором он используется в настоящее время, обязан своему появлению работам Г. Галилея, Г. Фаренгейта, Дж. П. Джоуля, У. Томпсона (лорд Кельвин), Н. С. Курнакова и многим другим исследователям. К началу 20 века термоанализ имел ограниченное применение. Однако внедрение микропроцессорной электроники в научное приборостроение в конце 20 века послужило мощным импульсом к развитию современной аналитической химии, в том числе и термоанализа. Применение этого метода открывает большие возможности для получения ценной информации о строении, составе и свойствах исследуемого вещества.

### **3.1. Классификация методов термического анализа**

В настоящее время термический анализ является мощным методом, имеет сложное аппаратное оформление и используется в самых различных областях.

Под термическим анализом принято подразумевать методы, в которых исследуется какой-либо физический параметр системы в зависимости от температуры, причем этот физический параметр регистрируется как динамическая функция температуры. Заметим, что данное определение не является строгим. Однако, наиболее информативным как правило, является именно анализ при динамическом изменении температуры. Основными методами термического анализа являются термогравиметрия (ТГА) и дифференциальный термический анализ (ДТА). К менее распространенным методам относятся термомеханический анализ, анализ выделенного газа и некоторые другие методы.

Развитие метода ДТА в направлении повышения точности количественного определения тепловых эффектов привело к созданию нового метода исследования – дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).

Современные тенденции развития физико-химических методов, в том числе и термоаналитических, можно разделить на два направления. Во-первых, увеличение точности, а во-вторых, объединение нескольких методов в единую систему, основной характеристикой которой является повышенная

информативность в сравнении с индивидуальным методом. Комбинирование нескольких аналитических методов, например ДТ и ТГ, привело к созданию дериватографа – прибора, позволяющего в одном эксперименте проводить изучение различных процессов, протекающих как с потерей массы, так и без. Сочетание ТГ анализатора с ГХ-МС дает возможность получать данные не только о зависимости массы образца от температуры, но и выяснять состав газообразных продуктов, выделившихся в конкретном температурном интервале. Такой комплекс объединяет в себе уже два совершенно разных метода. В табл.3-1 приведены основные характеристики перечисленных термоаналитических методов и их комбинаций.

Упомянутые выше методы, как по отдельности, так и составе сложной аналитической системы требуют отдельного подробного рассмотрения. Ниже мы подробно остановимся на методе ТГА, а также его комбинации с ДСК и ГХ-МС.


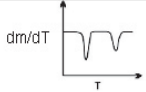
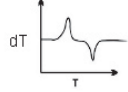
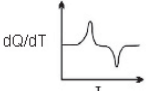
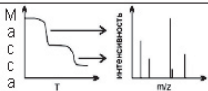


### **3.2. Термогравиметрический анализ**

ТГА – метод термического анализа, при котором регистрируется изменение массы образца в зависимости от температуры. По способу нагрева образца принято выделять следующие виды ТГ:

1. Изотермическая ТГ, когда масса образца измеряется на протяжении некоторого времени при постоянной температуре.
2. Квазистатическая ТГ, в этом случае образец нагревается при каждой из ряда возрастающих температур до достижения постоянной массы.
3. Динамическая ТГ, когда температура среды, окружающей нагреваемый образец изменяется по заданной температурной программе. Как было сказано выше, наибольшее распространение получила динамическая ТГ в связи с чем, основное рассмотрение будет касаться именно этого метода ТГ.

#### **3.2.1. Устройство термогравиметрических анализаторов**

Основными узлами ТГА являются прецизионные весы и электропечь. Вместе с устройством управления и соответствующим программным обеспечением термогравиметрический анализатор образует систему для термического

Индивидуальные методы термоанализа			
Метод	Регистрируемый параметр	Измерительный прибор	Типичный вид кривой
ТГ	Масса	Термогравиметрический анализатор	
ТГП	$dm/dt$		
ДТА	$T_{образца} - T_{эталона}$ ( $dT$ )	Дифференциальный термический анализатор	
ДСК	Тепловой поток $dH/dT$	Дифференциальный сканирующий калориметр	
Комбинированные методы термоанализа			
Метод	Регистрируемый параметр	Измерительный прибор	Типичный вид кривой
ТГ/ ГХ-МС	Масса/ Состав отходящих газов	Термогравиметрический анализатор/ГХ-МС	
ТГ/ДСК	Масса/ Тепловой поток	Термогравиметрический анализатор/ Дифференциальный сканирующий калориметр	
ТГ/ДТА	Масса/ $dT$	Дериватограф	

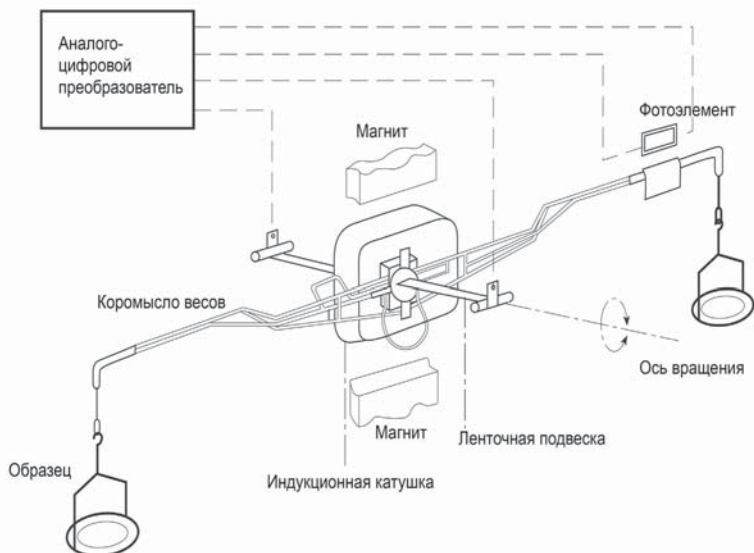
**Табл.3-1.** Основные характеристические особенности термоаналитических методов и их комбинаций.

анализа. Рассмотрим устройство ТГА на примере современного серийного термогравиметрического анализатора.

В большинстве серийных приборов используется та или иная разновидность электромагнитных весов Канна (рис.3-1). По сути, они представляют собой преобразователь силы, с которой исследуемый образец давит на чашу весов, в электрический ток. Применение электронных устройств удобнее механических, т.к. существует большое количество датчиков, позволяющих фиксировать электрический сигнал пропорциональный изменению массы. Аналоговые данные записываются непрерывно и могут быть одновременно преобразованы в цифровые.

В чашу на одном конце коромысла весов помещается образец. Изменение массы образца вызывает отклонение коромысла, что регистрируется фотоэлементом. Ток с фотоэлемента усиливается и подается на катушку. Катушка размещена в постоянном магнитном поле. При прохождении тока через катушку возникает момент силы, действующий на коромысло весов и возвращающий его в исходное (нулевое) положение, поэтому в названии весов можно также встретить термин компенсационные весы. Ток катушки является точной мерой массы образца. При такой схеме можно добиться разрешения порядка 0.1 мкг, при этом ошибка измерения составляет не более 0.1%. Обычно для анализа выбираются образцы в интервале масс от 1г до 1мкг.

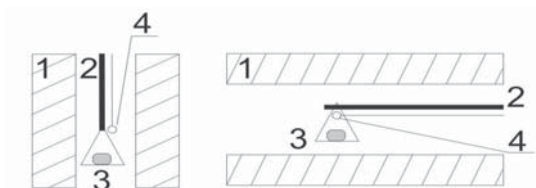
Вторым конструктивным элементов термовесов является электропечь сопротивления, которая представляет собой омический нагреватель, намотанный на огнеупорную керамику, чаще всего изготовленную из оксида алюминия. В зависимости от типа нагревательного элемента и огнеупорного материала верхний предел температуры варьируется в интервале 1000-2400°C, при этом максимальная скорость нагревания составляет ~50град/мин. Заметим, что нагревательные элементы расположены внутри кожуха таким образом, чтобы внутренний объем печи разогревался равномерно, т.е. градиент температуры в разных частях печи должен быть минимальным. Для регистрации температуры образца обычно используют различные типы термопар в зависимости от исследуемого температурного интервала.



**Рис.3-1.** Схема электромагнитных весов Канна.

Термопара – термоэлектрический преобразователь температуры в основе работы которого используется термоэлектрический эффект или эффект Зеебека. Термопара обеспечивает надежное измерение температуры с точностью до  $\pm 0.01$  град.

Учитывая необходимость высокоточного измерения температуры образца, а также возможность возникновения градиента температуры внутри печи, размещение термопары представляет собой серьезную проблему. Необходимо помнить, что термопара должна быть расположена таким образом, чтобы не оказывать влияния на процесс измерения массы. На рис.3-2 приведены наиболее типичные варианты взаимного расположения образца и термопары внутри печи. Они обеспечивают необходимую точность измерения и, при этом, не требуют сложного аппаратного оформления. Управление изменением температуры и ее контроль осуществляется специальным блоком-контроллером, снабженным цифровым преобразователем.

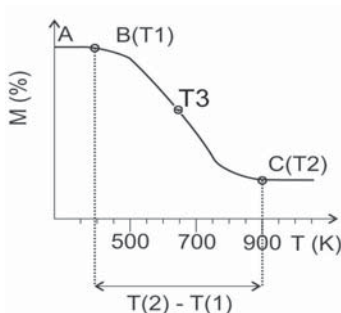


**Рис.3-2.** Варианты расположения образца в печи. 1 – электропечь; 2 – подвес; 3 – чаша весов с образцом; 4 – термопара.

Информация с датчиков температуры и массы образца, преобразованная в цифровые данные, обрабатывается центральным микропроцессорным устройством компьютера. Еще раз отметим важность применения микроэлектроники в термоанализе, благодаря которой можно установить однозначное соответствие массы и температуры образца в конкретный момент времени.

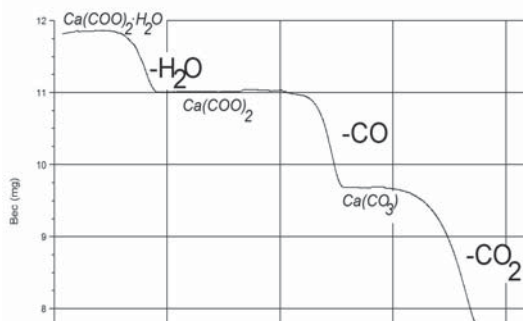
Современные термоанализаторы укомплектованы набором компьютерных программ для управления, сбора данных и обработки. С их помощью в единицу времени на координатной плоскости, по оси абсцисс которой отложена температура, а по оси ординат масса образца откладывается точка. Множество точек на плоскости образует зависимость массы от времени/температуры, в результате на графике возникает ТГ-кривая (рис.3-3). Данная зависимость позволяет судить о термической стабильности и составе образца при различных температурах, а также о составе остатка, в случае его образования. Безусловно, что этот метод будет информативным в том случае, если в процессе нагревания образца будет изменяться его масса.

На рис.3-3 приведена идеализированная ТГ-кривая для реакции одностадийного разложения твердого тела. Участок АВ – плато, где еще не наблюдается изменения массы, т.е. термической реакции нет. Точка В соответствует температуре  $T_1$ , при которой начинается процесс разложения. Конечная температура  $T_2$  в точке С соответствует максимальному значению изменения массы и окончанию реакции.



**Рис.3-3.** Вид идеализированной ТГ-кривой.

Точка  $T_3$  является точкой перегиба кривой BC и имеет большое значение при изучении кинетики реакции разложения. Температурный интервал реакции определяется как разность конечной  $T_2$  и начальной  $T_1$  температур. Если процесс разложения образца сопровождается выделением нескольких газообразных продуктов – протекает многостадийно, вид ТГ-кривой усложняется (рис.3-4)



**Рис.3-4.** Вид ТГ-кривой разложения моногидрата оксалата кальция  $Ca(COO)_2 \cdot H_2O$ .

Однако, на практике данные ТГ-кривой не всегда можно интерпретировать однозначно. Например, если в процессе термического разложения образуется промежуточное соединение, взаимодействующие с атмосферой печи, то вид ТГ-кривой может существенно искажаться. Для эндотермических

реакций (например окисления) при увеличении скорости нагревания наблюдается рост  $T_1$  и  $T_2$ , причем  $T_2$  растёт быстрее, чем  $T_1$ .

### 3.2.2. Факторы, влияющие на характер ТГ-кривых

На характер ТГ-кривых влияет множество различных факторов, связанных с характеристиками, как прибора, так и самого образца (табл.3-2).

Характеристики термоанализатора	Характеристики образца
Скорость нагрева	Масса
Скорость регистрации	Растворимость в образце выделяющихся газов
Атмосфера печи	размер частиц образца
Форма тигля и печи	Теплота реакции
Чувствительность регистратора	Плотность упаковки частиц образца
Материал тигля	Состав
	Теплопроводность

**Табл.3-2.** Классификация основных факторов, влияющих на характер ТГ-кривых.

Атмосфера печи может оказывать серьезное влияние на вид ТГ-кривой, поскольку исследуемый образец при нагревании может взаимодействовать, например, с кислородом воздуха. Данный фактор исследован подробно, достаточно сказать, что ТГ анализатор используют для изучения взаимодействия образца с различными газами-реагентами, которые вводятся в печь непосредственно в процессе нагревания.

Материал, из которого изготовлен тигель, должен сохранять термическую и устойчивость во всем интервале измеряемых температур и не



взаимодействовать с образцом. Типичные материалы тигля: оксид алюминия (электрокорунд), золото, платина. Форма тигля также важна, поскольку от нее зависит диффузия выделяющихся из образца газов.

Размер частиц образца и плотность их упаковки имеют большое значение при исследовании кинетики термохимических реакций, однако, их влияние изучено недостаточно.

В тех случаях, когда вид ТГ-кривой не позволяет точно интерпретировать полученную зависимость, проводят дифференциальный анализ ТГ-кривой, этот вид термоанализа называют дифференциальной термогравиметрией (ДТГ).

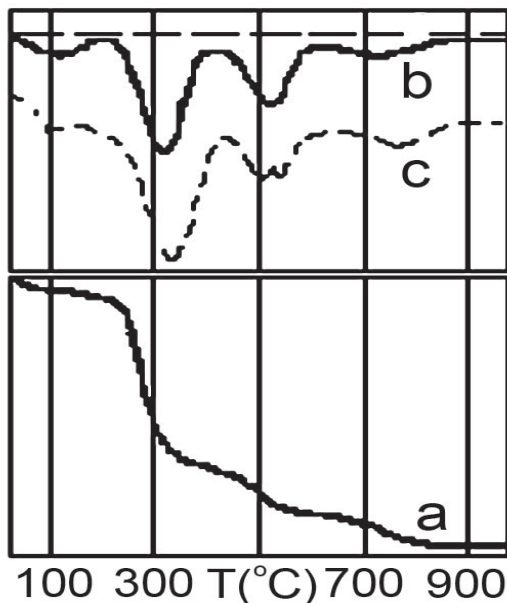
### **3.3. Методы дифференциальной термогравиметрии (ДТГ) и дифференциального термического анализа (ДТА)**

ДТГ это вид математической обработки данных, получаемых из ТГ эксперимента. ДТГ-кривая это зависимость скорости изменения массы, как функции от температуры. Ранее построение ДТГ кривых проводилось путем расчета. Однако графическое построение ДТГ кривой на основании полученной ТГ кривой трудоемко и не дает точных результатов. Поэтому, в настоящее время, запись ДТГ кривых ведется автоматически, путем электронного дифференцирования сигнала ТГ-кривой.

По внешнему виду кривые ДТА и ДТГ очень похожи между собой (рис.3-5, b и c). ДТГ кривые лучше воспроизводимы, чем ДТА кривые. Однако ДТА кривые регистрируют термические эффекты, которые не сопровождаются потерей массы.

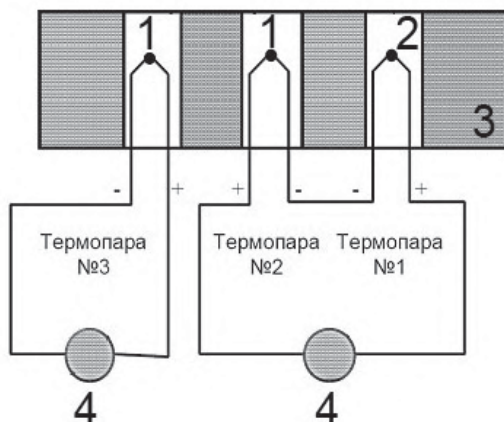
Метод ДТА основан на сравнении термических свойств исследуемого образца и инертного вещества, принятого в качестве эталона, а регистрируемым параметром служит разность их температур.

Измерительная часть приборов для термического анализа по методу ДТА состоит обычно из трех термопар (рис.3-6). Одной из них измеряется температура эталонного, термически стабильного образца. Две другие термопары включены навстречу друг другу и соединены с высокочувствительным регистрирующим устройством.



**Рис. 3-5.** ТГ кривая потери веса боксита (а), построенная по ТГ кривой ДТГ кривая потери веса (b) и автоматически построенная кривая ДТА нагревания боксита (с).

При такой схеме, если температуру печи равномерно увеличивать, температура, как пробы, так и инертного вещества равномерно повышается до тех пор, пока в исследуемом веществе не начнется химическая реакция или другое превращение, сопровождающееся тепловым эффектом. С этого момента, в зависимости от того, является ли реакция экзотермической или эндотермической, начинается, соответственно, повышение или понижение температуры пробы. Разность потенциалов между полюсами первой термопары останется неизменной или же начнет повышаться быстрыми темпами. Поскольку эта разность компенсироваться равномерно увеличивающимся напряжением второй термопары не будет, регистрирующее устройство даст показания, по знаку и величине соответствующие разности температур.



**Рис.3-6.** Дифференциальная схема термического анализа. 1 - термически стабильный образец (эталон) с термопарой; 2 - исследуемый образец с термопарой; 3 - печь; 4 - регистрирующее устройство.

На графике зависимости (рис.3-5, с) по оси ординат откладывают наблюдаемую разность температур (пропорциональную показаниям регистрирующего устройства) между пробой и инертным веществом. По оси абсцисс отложено время, которое пропорционально температуре в печи в том случае, если температура последней увеличивалась равномерно во времени. Кривые ДТА условно строят так, что эндотермический максимум откладывают от основной линии вниз, а экзотермический максимум – вверх.

### 3.4. Комбинация метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрии (ТГА)

Данные методов ТГА и ДТА, при их совместном использовании, хорошо дополняют друг друга, поскольку позволяют регистрировать процессы, как с потерей массы, так и без таковой.

В 1958 г был разработан и сконструирован прибор – дериватограф, который позволяет одновременно записывать ТГ, ДТГ и ДТА кривые. Запись

ДТА кривой совместно с ТГ и ДТГ имеет ряд преимуществ перед записью только одной ТГ кривой:

1. По кривым ДТГ более точно определяются температуры начала и конца реакции, а по пику ДТГ кривой - температура максимальной скорости реакции.

2. ДТГ кривая по максимуму пиков позволяет лучше различать перекрывающиеся стадии реакции.

3. При одновременной записи обеих кривых ДТА и ДТГ для одного и того же образца легче судить о характере и механизме превращения в изучаемом веществе.

ДТГ кривая, так же как и ТГ, не отражает всех термических эффектов, которые имеют место при нагревании исследуемого твердого вещества. Например, полиморфные превращения на ТГ и ДТГ кривых не регистрируются, так как они не сопровождаются изменением массы. Поэтому для всестороннего исследования необходимо наряду с кривыми потери массы получать также кривые ДТА, причем запись всех кривых следует производить в одном опыте при работе с одной и той же навеской.

### **3.5. Комбинация метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрии (ТГА)**

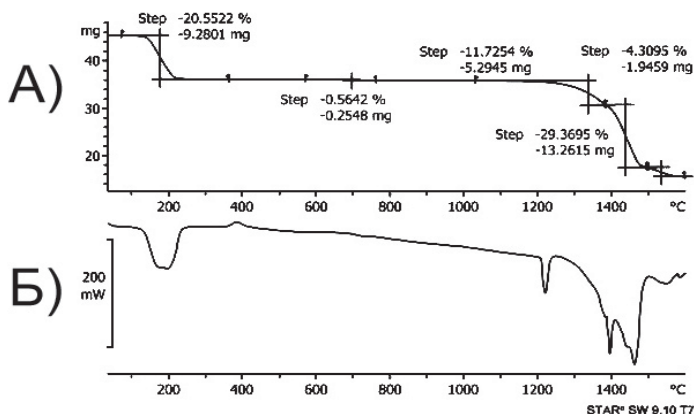
В 60-х годах 20 века метод ДТА получил широкое распространение, благодаря его использованию в химии полимеров. Дальнейшее развитие метода привело к созданию в 1963 г. дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).

Калориметрией называют совокупность методов и средств измерения тепловых эффектов, сопровождающих различные физические, химические и биологические процессы.

ДСК – калориметрический метод, основанный на измерении теплового потока  $dQ$  между исследуемым образцом и эталоном в строго контролируемых условиях. В ДСК измерения проводятся в условиях непрерывного изменения температуры, т.е. при заведомом отсутствии температурного равновесия.

В приборах ДСК, как и в ДТА образец и эталон находятся в идентичных условиях и нагреваются или охлаждаются с одинаковой скоростью.

Температуры образца и эталона поддерживаются равными путем подвода энергии, которая регистрируется тем или иным способом. Экспериментальные кривые ДСК представляют собой зависимости дифференциального теплового потока  $dQ/dT$  от температуры (или времени  $dQ/dt$ ). Вид ДСК-зависимости представлен на рис.3-7, б. Как и в случае ДТА пик, направленный вверх, соответствует эндотермическому эффекту, направленный вниз — экзотермическому. Отличительной особенностью ДСК в сравнении с ДТА является возможность количественного определения теплового эффекта, отвечающего исследуемому процессу. Площадь пика, ограниченная кривой ДСК и базовой линией, прямо пропорциональна тепловому эффекту. Поэтому важной составляющей ДСК измерения является нахождение калибровочного коэффициента.



**Рис.3-7.** Данные ТГ/ДСК анализа гипса.

Для калибровки используют стандарт с надежно определенными параметрами. Обычно, в качестве калибровочного стандарта применяют индий, температура и теплота плавления которого точно измерены.

ДСК может быть использован как самостоятельный прибор для термоанализа, однако наибольшую информативность можно получить при сочетании его с ТГ.

Приборы ТГА/ДСК получили широкое распространение и используются для изучения различных физических и химических процессов, поскольку в рамках одного измерения можно установить температурный интервал, количество теплоты (выделенной или поглощенной), измерить изменение массы, рассчитать  $dH$  и теплоемкость исследуемого процесса. Графически результаты ТГ/ДСК анализа представляют собой две зависимости: изменение массы с температурой и количество теплоты (выделившейся или поглощенной) пропорционально времени или температуре (рис.3-7).

Описание всех возможных способов применения в рамках данной работы сделать затруднительно, поэтому ограничимся перечислением основных возможностей этого метода (табл.3-3).

Физические изменения	Химические изменения
Возгонка	Разложение
Испарение	Кинетика реакций
Адсорбция	Реакции десольватации (дегидротации)
Десорбция	Катализ
Абсорбция	Твердофазные реакции
Плавление	Хемосорбция
Кристаллизация	Термическая стабильность
Переход в Точке Кюри	Полимеризация
Стеклование	Горение
Жидкокристаллический переход	Отверждение смол
Немонотонное изменение теплоемкости	Гетерофазные реакции

**Табл.3-3.** Основные возможности метода ТГА/ДСК.

### **3.6. Совместное использование метода термического анализа и масс-спектрометрии**

Несмотря на высокую точность термоаналитических методов, не всегда возможно установить точный состав выделившихся газообразных продуктов. Сравнительно недавно появился метод сочетающий в себе достоинства термоаналитических и масс-спектральных (МС) методов. Ответить на вопрос о его классификации затруднительно, поскольку правомерно название как масс-спектрометрия с пиролитической приставкой, так и термогравиметрия с масс-спектральным анализом газовой фазы.

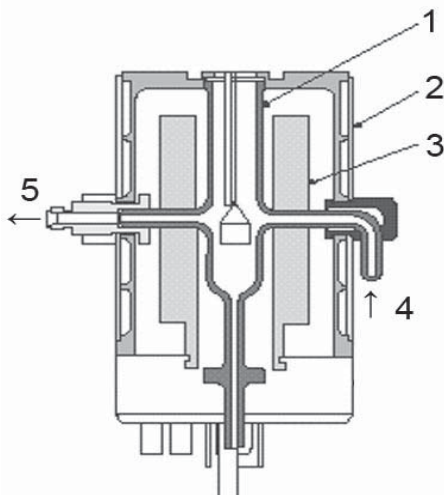
Использование комбинации ТГА – МС позволяет определять изменение массы исследуемого образца с температурой и одновременно дает информацию о составе выделяющихся газообразных продуктах. Такая комбинация выводит термогравиметрический анализ на качественно новый уровень.

Основная задача, которая всегда возникает при соединении абсолютно разных аналитических приборов – это обеспечение взаимодействия между ними, т.е. внесение конструкционных изменений позволяющих проводить совместный анализ. В данном случае, одной из основных проблем такой комбинации является сбор отходящих газов, поэтому для анализа применяют специальные печи, которые имеют обозначение EGA (Evolved Gas Analysis с англ. - анализ выделившихся газов).

На рис.3-8 представлена схема печи для анализа продуктов разложения (EGA) – это дополнительное устройство, которое позволяет подсоединить к термоанализатору масс-спектрометр, предназначенный для анализа газов, выделяющихся при разложении образца.

Печь EGA состоит из трубки, изготовленной из кварцевого стекла, и нагревателя. Указанные компоненты находятся внутри кожуха печи с водяным охлаждением.

Кварцевая трубка, размещенная внутри печи, снабжена отверстием для продувочного газа. На противоположной стороне печи размещено соединительное устройство, предназначенное для передачи выделяющихся при разложении газов на масс-спектрометр. Так как нагреватель находится



**Рис.3-8.** Схема EGA-печи. 1 – кварцевая трубка; 2 – рубашка водяного охлаждения; 3 – нагреватели печи; 4 – подача инертного газа (обычно азот); 5 – выходное отверстие печи EGA, соединенное с системой ввода масс-спектрометра.

снаружи трубки, выделяемые образцом при разложении, газы не контактируют с электроникой или огнеупорной керамической изоляцией. Необходимым требованием для обеспечения работы системы термоанализатор - масс-спектрометр является то, что соединительная линия, по которой передаются газообразные продукты разложения, должна быть обогреваемой. В противном случае разогретые газообразные продукты могут сконденсироваться на внутренних стенках газовой линии.

Из печи EGA газы поступают в систему ввода масс-спектрометра либо инжектор газового хроматографа хромато-масс-спектрометра. По масс-спектрам, полученным в результате эксперимента, можно с высокой степенью точности установить состав выделяющихся газов (см. Главу 6).



## 4. Оптическая спектроскопия

### 4.1. Виды электромагнитного излучения

Электромагнитное излучение, примером которого является видимый свет, имеет двойственную природу: корпускулярную и волновую. Частицы (корпускулы) называют фотонами, каждый из них обладает определенным количеством энергии. В 1900 г. немецкий физик Макс Планк предположил, что энергия фотона ( $E$ ) прямо пропорциональна его частоте ( $\nu$ ):

$$E=h \cdot \nu$$

Коэффициент пропорциональности  $h$  получил название «постоянная Планка», ее численное значение  $h=6,62 \cdot 10^{-27}$  эрг·с. В уравнении Планка энергия фотона измеряется в эргах; энергия в 1 эрг эквивалентна  $6.0 \cdot 10^{13}$  кДж/моль ( $1.44 \cdot 10^{13}$  ккал/моль).

Волновой параметр излучения выражается длиной волны  $\lambda$  (мкм, см, м). Величины  $\lambda$  и  $\nu$  связаны соотношением:

$$\lambda=c/\nu$$

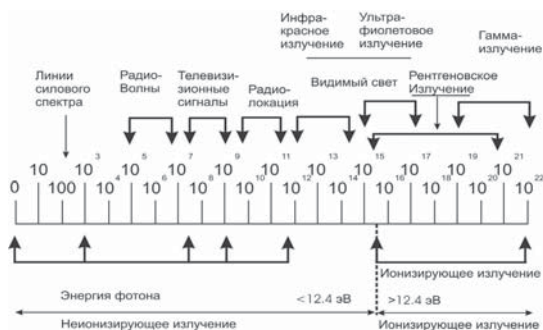
где  $c$  – скорость света. Часто употребляют волновое число (также называемое частотой), имеющее размерность  $\text{см}^{-1}$ :

$$n=1/\lambda$$

В зависимости от источника излучения фотоны различаются по энергии. Так, космические и рентгеновские лучи представляют собой потоки фотонов очень высокой энергии. У радиолучей относительно низкая энергия. Ультрафиолетовое излучение по энергии превосходит фиолетовый и видимый свет, а инфракрасное излучение обладает меньшей энергией, чем красный и видимый свет.

При облучении электромагнитным излучением молекула может поглощать фотон и увеличивать свою энергию на величину энергии фотона. Молекулы высокоизбирательны по отношению к частоте поглощаемого ими излучения. Молекула захватывает фотоны только определенной частоты. Характер поглощения (фотоны какой энергии захватываются веществом) зависит от строения молекулы и может быть измерен с помощью приборов, называемых спектрометрами. Получаемые данные говорят о молекулярном строении вещества.

В соответствии с длинами волн весь спектр электромагнитного излучения условно делится на ряд частично перекрывающихся областей – от радиоволн на его длинноволновой границе до гамма-лучей на границе коротких волн (рис.4-1). Однако, такое деление отражает зависимость только от способов генерации и обнаружения соответствующего электромагнитного излучения. Например, нет никакого принципиального различия между микроволновым и инфракрасным излучением одинаковых длин волн, но, если излучение генерируется электронным прибором, его называют микроволновым, а если оно испускается инфракрасным источником – инфракрасным.



**Рис.4-1.** Условный спектр электромагнитного излучения.

**Радиоволновое излучение.** Электромагнитное излучение с длинами волн примерно от 30 000 м до 1 см составляет радиоволновую часть спектра. Поскольку скорость любого электромагнитного излучения в вакууме составляет 300 000 000 м/с и равна произведению длины волны на частоту ( $c = \lambda \nu$ ), то ра-

диоволновому интервалу соответствуют частоты примерно от 10 000 герц (Гц,  $1\text{ Гц} = 1\text{ с}^{-1}$ ) до 30 000 мегагерц (МГц,  $1\text{ МГц} = 10^6\text{ Гц}$ ). Излучение таких частот получают с помощью ламповых или полупроводниковых генераторов, а для регистрации применяют резонансные радиосхемы.

Радиоволны используются в основном в системах связи и навигации. В 1932 г. было открыто радиоволновое излучение нашей Галактики, что в значительной мере стимулировало рождение новой науки – радиоастрономии. Крупного успеха радиоастрономия добилась в 1951 г., когда были обнаружены радиоволны, испускаемые облаками межзвездного водорода на единственной частоте, отвечающей длине волны около 21 см. В лабораториях радиоспектроскопии широко применяется для исследования атомов и молекул.

**Микроволновое излучение.** Излучение с длинами волн примерно от 30 см до 0.5 мм (частотный интервал от 600 000 до 1000 МГц) относится к микроволновому диапазону спектра. Бурное развитие микроволновая техника получила в период Второй мировой войны в связи с резко возросшими требованиями к эффективности средств связи и радиолокации. Микроволновое излучение естественных источников обусловлено главным образом вращением молекул, хотя известны и спектры атомов. Исследование микроволновых вращательных спектров молекул является одним из самых точных методов определения структуры молекул газа.

**Инфракрасное излучение.** Инфракрасное (ИК) излучение было открыто английским астрономом В. Гершелем в 1800 г. Пользуясь простым термометром, он установил, что тепловое излучение имеет наибольшую интенсивность за пределами видимой области вблизи его красной границы. Инфракрасная область спектра начинается примерно от 1 мм и простирается примерно до 0.8 мкм. Ранее лабораторными источниками инфракрасного излучения служили исключительно раскаленные тела либо электрические разряды в газах. Сейчас на основе твердотельных и молекулярных газовых лазеров созданы современные источники инфракрасного излучения с регулируемой или фиксированной частотой. Для регистрации излучения в ближней ИК-области (до ~1.3 мкм) используются специальные фотопластинки. Более широким диапазоном чувствительности (примерно до 25 мкм) обладают фотоэлектрические детекторы и фо-

терезисторы. Излучение в дальней ИК-области регистрируется болометрами – детекторами, чувствительными к нагреву инфракрасным излучением.

**Видимая область.** Видимой области соответствует диапазон длин волн от 400 нм (фиолетовая граница) до 760 нм (красная граница), что составляет ничтожную часть полного электромагнитного спектра. Источниками видимого света в лаборатории обычно служат раскаленные твердые тела, электрический разряд и лазеры (обычно лазеры на красителях). Перестраиваемые лазеры на красителях (точнее, на растворах молекул органических красителей в органических растворителях или воде) позволяют перекрывать большие участки видимого спектра. Например, лазер с использованием родамина 6G излучает в интервале 570–660 нм. Наиболее распространенными детекторами видимого излучения являются глаз человека, фотопластинки, фотоэлементы, фотоумножители. Видимые спектры связаны с квантовыми переходами внешних электронов атомов и молекул и содержат важнейшую информацию об их электронной структуре.

**Ультрафиолетовое излучение.** Ультрафиолетовая (УФ) спектральная область была открыта в 1801 г., когда И. Риттер и У. Волластон, наблюдая солнечный спектр, обнаружили, что наибольшее почернение хлорида серебра вызывается излучением, более коротковолновым, нежели фиолетовое. К УФ-области относится излучение с длинами волн от 400 до 10 нм. УФ-излучение с длинами волн короче 185 нм поглощается воздухом, поэтому в приборах для этого диапазона воздух должен быть откачан. Для регистрации ультрафиолетового излучения используются специальные фотопластинки и фотоэлектрические детекторы.

**Рентгеновское излучение.** В 1895 г. было сделано одно из самых важных открытий физики: В. Рентген, изучая электрические разряды в газах, заметил, что бумажный экран, подвергнутый специальной обработке, начинает светиться, если его поднести к работающей газоразрядной трубке, и сделал вывод, что свечение возникает под действием нового, неизвестного проникающего излучения, названного им X-лучами. Из дальнейших экспериментов выяснилось, что X-лучи – это электромагнитное излучение, длинноволновая граница которого перекрывается с вакуумным ультрафиолетом (примерно 10 нм), а коротковолновая составляет доли нанометра (0.1 – 0.05 нм), однако, общепризнанного определения нижней границы диапазона рентгеновских лучей в шкале длин волн не существует.

**Гамма-излучение.** Гамма-излучение отличается от рентгеновского меньшей длиной волны ( $0.1\text{--}10^{-6}\text{нм}$ ) и своим происхождением. Ядро, получив в результате ядерной реакции избыточную энергию, может оказаться в возбужденном состоянии. Возвращаясь в состояние с более низкой энергией, оно отдает избыточную энергию, испуская гамма-квант. Изучение спектров гамма-излучения позволяет получить важную информацию о строении ядер и ядерных взаимодействиях, подобно тому, как оптические спектры помогают понять строение атомов и молекул и действующие в них силы.

#### 4.2. Основные закономерности поглощения электромагнитного излучения в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях спектра

После прохождения светового луча через твердое вещество или кювету с жидким или газообразным веществом или раствором этого вещества (рис.4-2), интенсивность излучения уменьшается:

- а) за счет отражения от поверхности образца или стенок кюветы,
- б) за счет рассеяния на взвешенных частицах в растворе,
- в) за счет поглощения самим веществом и растворителем (если он присутствует).



**Рис.4-2.** Потеря интенсивности излучения при прохождении через образец.

Поскольку нас интересует только поглощение исследуемого вещества, обычно применяют различные приемы для вычитания потерь интенсивности излучения, связанных с отражением, рассеянием и поглощением раствори-

теля (если он применяется). Для учета перечисленных факторов опыт повторяют с кюветой сравнения, аналогичной кювете для образца, но пустой или содержащей только растворитель.

*Стеклянные кюветы толщиной 1 см, обычно применяемые для определения микроколичеств соединений, достаточно прозрачны в видимой области. Более дорогие кварцевые кюветы работают во всем диапазоне УФ- и видимого излучения. Во всех случаях для количественного анализа требуются кюветы с плоскопараллельными стенками и точно известной толщиной.*

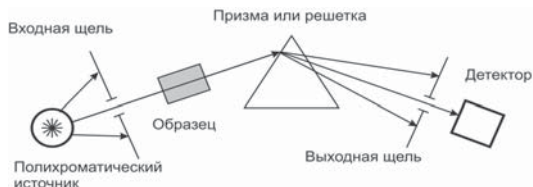
Спектры в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях получают, измеряя интенсивность поглощенного монохроматического излучения, прошедшего через образец, при различных значениях длины волны. Зависимость поглощения от длины волны называют спектром поглощения данного вещества.

При нормальных условиях (температура 298K) большинство молекул определяемого вещества находится в основном энергетическом состоянии. Только малая часть их присутствует во вращательно-возбужденном состоянии и ничтожно малая в колебательно- и электронно-возбужденном.

Взаимодействие вещества с электромагнитным излучением приводит к увеличению числа возбужденных молекул за счет характеристических электронных, колебательных и вращательных переходов, в результате чего происходит поглощение энергии.

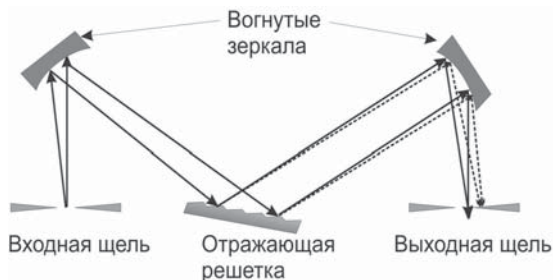
Для получения полных спектров в ультрафиолетовом видимом и инфракрасном диапазонах применяют сканирующие системы, в состав которых входят полихроматический широкополосный источник спектра, монохроматор, исследуемый образец, детектор, электронные устройства, а также компьютер для обработки и хранения данных. Образец может располагаться либо перед монохроматором, либо после него (рис.4-3).

В современных спектрометрах в качестве источника сплошного спектра в УФ- и видимой областях используются дейтериевые и вольфрамогалогенные лампы, а в ИК – области в качестве источника излучения обычно применяют штифт Нернста.



**Рис.4-3.** Принципиальная схема спектрометра.

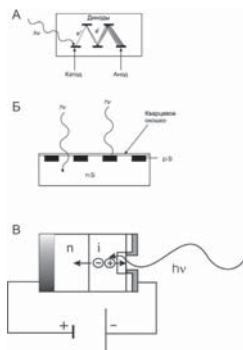
Для выделения монохроматического излучения служит специальное устройство, называемое монохроматором (рис.4-4).



**Рис.4-4.** Разложение светового потока монохроматором.

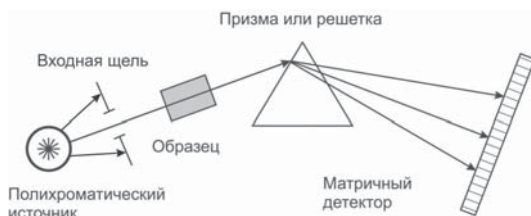
Оно состоит из входной и выходной щелей, оптической системы и диспергирующего элемента, которым служит призма, дифракционная решетка или светофильтры (последние применяются в спектрофотокolorиметрах). Все элементы монохроматора изготавливаются из материалов слабо поглощающих в рабочих областях, для УФ- и видимой области – кварца или стекла, а в ИК – из галогенидов щелочных металлов (KBr, NaCl и т.д.).

В качестве детекторов монохроматического излучения в УФ- и видимой области применяются фотоэлементы, фотоэлектронные умножители (рис.4-5, а). В последнее время, в связи с бурным развитием микроэлектроники, все большее применение находят матричные детекторы (рис.4-5, б), состоящие, как правило, из последовательности 316 кремниевых диодов (диодная матрица).



**Рис. 4-5.** а - схема фотоумножителя, б - схема диодной матрицы, в - схема диода.

Их применение позволяет достичь высокого разрешения (до 2 нм) во всем спектральном диапазоне от 200 до 820 нм. Поскольку интенсивность излучения во всем диапазоне измеряется одновременно, время измерения уменьшается в 316 раз. Так как при этом не требуется узких щелей, для полного УФ-, видимого диапазона от 200 до 780 нм достаточно одного источника излучения – дейтериевой лампы (рис.4-6).



**Рис.4-6.** Принципиальная схема спектрометра с матричным детектором.

Молекулярные спектры испускания или поглощения можно получить для веществ в твердом, жидком и газообразном состоянии. Они отражают все указанные выше взаимодействия и являются источниками аналитической информации об объекте исследования, т.е. позволяют идентифицировать вещество и определить его концентрацию или количество.



При снятии спектров растворов в УФ– и видимой областях необходимо учитывать, что сами растворители могут обладать интенсивным поглощением в интересующей спектральной области и либо искажать, либо полностью перекрывать поглощение исследуемого соединения.

В табл.4-1 представлены некоторые растворители, пригодные для работы в УФ– и видимой области спектра.

Растворитель	Нижняя граница длин волн, $\lambda_{\min}$
Ацетонитрил	190
Вода	191
Циклогексан	195
Гексан	201
Метанол	203
Этанол	204
Диэтиловый эфир	215
Дихлорметан	220
Хлороформ	237
Тетрахлорметан	257

**Табл.4-1.** Растворители для работы в УФ/видимой области спектра и нижняя граница рабочего диапазона длин волн для кюветы толщиной 1 см.

При прохождении через слой вещества (или раствора вещества) потока монохроматического излучения с интенсивностью  $I_0$  его интенсивность, вследствие поглощения в слое, уменьшается до значения  $I$ . Интенсивность падающего светового потока  $I_0$  и светового потока  $I$ , прошедшего через раствор, можно определить экспериментально.

Зависимость монохроматического светового потока, прошедшего через слой раствора от интенсивности падающего потока света, концентрации вещества ( $c$ ) и толщины раствора ( $l$ ) определяется объединенным законом Бугера-Лам-

берта-Бера, который является основным законом светопоглощения и лежит в основе большинства фотометрических методов анализа.

$$I = I_0 \cdot 10^{-kcl}$$

где  $k$  — коэффициент светопоглощения, зависящий от природы растворенного вещества, температуры, растворителя и длины волны света.

Если концентрация выражена в молях на литр, а  $l$  — в сантиметрах, то  $k$  представляет собой молярный коэффициент погашения или коэффициент экстинкции и обозначается  $\varepsilon$ . Основной закон светопоглощения в этом случае будет иметь следующий вид:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon c l}$$

При соблюдении основного закона светопоглощения оптическая плотность раствора ( $D$ ) прямо пропорциональна молярному коэффициенту светопоглощения, концентрации поглощающего вещества и толщине слоя раствора:

$$D = \varepsilon c l$$

При графическом изображении зависимости оптической плотности от концентрации получается прямая линия. Эта прямая проходит через начало координат при отсутствии поглощения излучения растворителем и систематических погрешностей (рис.4-7).



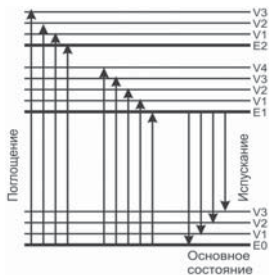
**Рис.4-7.** Зависимость оптической плотности от концентрации раствора

Строгое выполнение закона Бугера-Ламберта-Бера обусловлено рядом требований:

- Концентрации вещества не должны превышать  $\sim 0.1$  моль/л, поскольку при более высоких концентрациях возможно взаимодействие молекул определяемого вещества, приводящее к нарушению линейной зависимости  $D$  от  $c$ .
- Для анализа образца должно быть использовано как можно более монохроматическое излучение. Именно поэтому, точность измерения на УФ-спектрофотометрах (где в качестве диспергирующего элемента применяются призмы или дифракционные решетки) гораздо выше, чем на фотоколориметрах (в которых используются светофильтры).
- Измерение следует проводить в максимуме поглощения определяемого вещества или вблизи от него.

### 4.3. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра

Под действием электромагнитного излучения молекулы вещества переходят на более высокие энергетические уровни. На рис.4-8 схематически представлены эти уровни (горизонтальные линии) и некоторые переходы между ними (вертикальные стрелки). Энергия поглощается и испускается дискретными порциями (квантами). Чтобы поглощение произошло, энергия кванта падающего излучения должна в точности соответствовать энергии перехода в одно из возбужденных состояний поглощающей молекулы.



**Рис.4-8.** Энергетические уровни гипотетической молекулы.  $E$  – электронные уровни,  $V$  – колебательные уровни.

Когда молекула из возбужденного состояния переходит на более низкий энергетический уровень, излучение испускается, при этом энергия излучения равна разности энергий двух уровней. Положение пиков дает информацию о природе вещества, а их величина – о числе молекул, участвующих в переходе (т.е. о концентрации вещества).

#### 4.3.1. Качественный анализ с помощью спектров в УФ- и видимом диапазоне

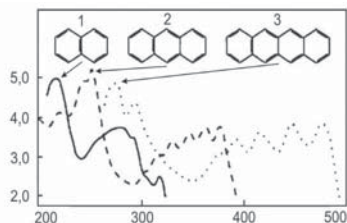
В УФ- и видимом диапазонах можно наблюдать поглощение типичных хромофоров (групп, поглощающих световое излучение) за счет  $n \rightarrow \pi^*$  и  $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходов между молекулярными уровнями, d-d\*-переходами металлов, находящихся в поле лигандов или в комплексах с переносом заряда.

Всегда присутствующие в органических соединениях C - связи, а также несопряженные (изолированные) двойные связи, которым отвечают  $n \rightarrow \sigma^*$ -переходы, в обычном УФ и видимом диапазонах не возбуждаются и, таким образом, не мешают наблюдению (табл.4-2).

Хромофор	Переход	$\lambda_{max}$ , нм
- C - C -	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	150
- O -	$n \rightarrow \sigma^*$	185
- N <	$n \rightarrow \sigma^*$	195
- S -	$n \rightarrow \sigma^*$	195
> C = O	$\pi \rightarrow \pi^*$	190
	$n \rightarrow \pi^*$	300 (слабый)
> C = C <	$\pi \rightarrow \pi^*$	190

**Табл.4-2.** Максимумы поглощения несопряженных хромофоров.

При сопряжении простых хромофоров максимумы поглощения сдвигаются в длинноволновую область спектра (батохромный сдвиг) (табл. 4–3, рис.4–9).



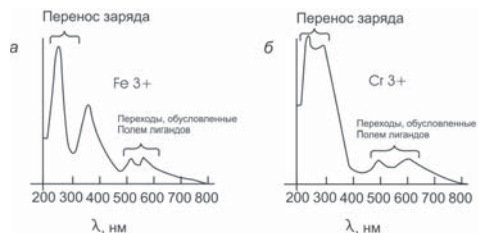
**Рис.4-9.** Спектры в УФ/видимой области. 1 - Нафталин; 2 - антрацен; 3 - 2,3-бензантрацен.

Вещество	$\lambda_{\text{max}}$ , нм
$\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{CH} = \text{CH}_2$	225
$\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CH} = \text{CH}_2$	217
$\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_3 - \text{CH}_3$	274
$\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_5 - \text{CH}_3$	342
$\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_7 - \text{CH}_3$	401
$\text{C}_6\text{H}_6$ (бензол)	203
$\text{C}_6\text{H}_5 - \text{CH} = \text{CH}_2$	248

**Табл.4-3.** Максимумы поглощения некоторых сопряженных хромофоров.

Для определения микроколичеств металлов можно использовать колориметрические методы, так как их комплексы часто окрашены. Окраска возникает из-за расщепления d-орбиталей ионов металлов под действием октаэдрического, тетраэдрического или плоского электрического поля, создаваемого окружающими его лигандами. При усилении поля лигандов максимум поглощения сдвигается в коротковолновую область (гипсохромный эффект). Эти слабые полосы поглощения обычно сопровождаются очень интенсивными полосами, связанными с внутримолекулярным переносом заряда, в области длин волн менее 400 нм.

Механизм поглощения, в простейшем случае, трактуется как переход электрона с орбитального уровня донора на орбитальный уровень акцептора комплекса (рис.4-10).



**Рис.4-10.** Спектры, обусловленные переносом заряда и полем лигандов в тетраметилдентиокарбаматных комплексах.

Почти для каждого иона металла известны органические хелатообразующие реагенты (табл.4-4.). Они образуют окрашенные комплексы и/или комплексы с переносом заряда, которые можно экстрагировать из водной фазы в органическую, провести концентрирование и количественное определение.

№ п/п	Комплексообразующий реагент	Определяемые элементы
1	Ализарин S	Al, F, PЗЭ, Mo, Sc, Th, Y, Zr
2	Ацетилацетон	Be, Cr, Fe, Mo, Ru
3	Диметилглиоксим	Fe, Ni, Pd
4	Дитизон	Pd, Cd, Au, In, Co
5	Диэтилдителиокарбаминат	Sb, As, Pb, Cd, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Hg, Se, Ag, Te, Ti, U, Bi, Zn
6	Метиленовый голубой	B
7	Метилтимоловый голубой	Fe, Ca, Th, Zr
8	Мурексид	Ca, PЗЭ
9	8-Оксихинолин	Al, Ca, Cr, Ga, Au, In, Cu, PЗЭ, Mg, Mo, Sc, Th, Ti, U, V, Y, Zn, Zr
10	Пиридин	Ag
11	Хромотропова кислота	B, Ti, U
12	Сульфосалициловая кислота	Fe, F, Ti

**Табл.4-4.** Некоторые органические реагенты для фотометрического определения металлов.

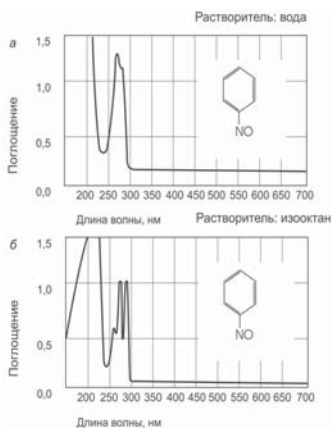
### 4.3.2. Влияние растворителя

Растворители могут активно взаимодействовать с некоторыми растворенными веществами и, таким образом, влиять на вид спектров, наблюдаемых в УФ- и видимой областях. При этом может происходить – либо по отдельности, либо одновременно – сдвиг максимума поглощения и исчезновение тонкой колебательной структуры. Если сравнить УФ-спектры фенола в воде и изооктане (рис.4-11), то для водного раствора наблюдается как сдвиг максимума поглощения в коротковолновую область спектра (гипсохромный сдвиг), так и исчезновение тонкой структуры спектра. Сдвиг в коротковолновую область типичен для стабилизации основного состояния молекулами растворителей, образующих водородные связи, таких, как, например, вода.

Расщепление линий (тонкая структура) наблюдается только в безводных растворителях, молекулы которых не образуют водородных связей.

Сдвиги полос поглощения в красную область (батохромный сдвиг) можно наблюдать в полярных растворителях, когда возбужденные состояния более полярны, чем основные состояния.

Типичные величины батохромных и гипсохромных сдвигов – порядка 20–30 нм.



**Рис.4-11.** Спектры в УФ/видимой области фенола. а - водородные связи с молекулами фенола; б - нет взаимодействия растворителя с фенолом.

#### 4.3.3. Количественный анализ с помощью абсорбционной спектроскопии в УФ и видимой области спектра.

Благодаря чувствительности, воспроизводимости и простоте, спектроскопия в УФ и видимой области применяется для количественного определения микроколичеств металлов, в анализе лекарственных препаратов, биологических жидкостей и пищевых продуктов. Пределы обнаружения обычно лежат в диапазоне  $10^{-5} - 10^{-6}$  моль/л (при использовании экстракционного концентрирования), погрешность воспроизводимости метода в обычных случаях не превышает нескольких десятых процента.

##### **Метод сравнения оптических плотностей стандартного и исследуемого растворов.**

Для определения концентрации вещества берут часть исследуемого раствора, приготавливают из нее раствор и измеряют его оптическую плотность. Затем аналогично приготавливают два-три стандартных раствора определяемого вещества известной концентрации и измеряют их оптические плотности при той же толщине слоя (в тех же кюветках).

Значения оптических плотностей сравниваемых растворов будут равны:  
для исследуемого раствора

$$D_x = \varepsilon_{\lambda} c_x l_x$$

для стандартного раствора

$$D_{ст} = \varepsilon_{\lambda} c_{ст} l_{ст}$$

Разделив одно выражение на другое, получаем:

$$\frac{D_x}{D_{ст}} = \frac{\varepsilon_{\lambda} c_x l_x}{\varepsilon_{\lambda} c_{ст} l_{ст}}$$



Так как  $I_x = I_{CT}$ ,  $\varepsilon_\lambda = \text{const}$ , то

$$c_x = c_{CT} \frac{D_x}{D_{CT}}$$

Метод сравнения применяют при однократных определениях.

### Метод градуировочного графика.

Для определения содержания вещества методом градуировочного графика готовят серию из 5-8 стандартных растворов разных концентраций.

При выборе интервала концентраций стандартных растворов руководствуются следующими положениями:

- он должен охватывать область возможных изменений концентраций исследуемого раствора. Оптическая плотность должна соответствовать примерно середине градуировочной кривой;
- желательно, чтобы в этом интервале концентраций при выбранных толщинах кюветы и аналитической длины волны соблюдался основной закон светопоглощения, т.е. график был линейным;
- интервал рабочих значений, соответствующий интервалу стандартных растворов, должен обеспечивать максимальную воспроизводимость результатов измерений.

Измеряют оптические плотности стандартных растворов относительно растворителя и строят график зависимости  $D$  от  $c$ .

Полученная кривая называется градуировочным графиком.

Определив оптическую плотность раствора, находят ее значения на оси ординат, а затем на оси абсцисс — соответствующее ей значение концентрации. Этот метод применяют при выполнении серийных фотометрических анализов.

### Метод добавок.

Метод добавок представляет собой разновидность метода сравнения. Определение концентрации раствора этим методом основано на сравнении оптической плотности исследуемого раствора и того же раствора с добавкой из-

вестного количества определяемого вещества. Метод добавок обычно применяют для упрощения работы, для устранения мешающего влияния посторонних примесей, в ряде случаев для оценки правильности методики фотометрического определения. Неизвестную концентрацию находят расчетным или графическим способами.

#### 4.4.Спектрофотометрия в инфракрасной области

Взаимодействие излучения в инфракрасном диапазоне с веществом приводит к тому, что атомы, связанные друг с другом в молекуле, начинают более интенсивно колебаться относительно некоторых исходных положений. Если рассматривать молекулу как систему из атомов-шариков, сцепленных между собой пружинками, то пружинки могут сжиматься, растягиваться и изгибаться. Поглощение ИК-излучения ( $\nu=3 \cdot 10^{13} - 3 \cdot 10^{12}$  Гц,  $\lambda=10^{-5} - 10^4$  м) вызывает изменение, колебательных состояний молекулы. При этом изменяются также и вращательные уровни энергии. ИК-спектры являются вращательно-колебательными.

*Необходимо отметить, что в ИК-спектре проявляются только те колебания, которые происходят с изменением дипольного момента молекулы.*

ИК-излучение в интервале  $5000-200 \text{ см}^{-1}$  при поглощении преобразуется молекулой в энергию колебаний. Колебательный спектр состоит не из линий, а из полос, поскольку в них содержится большое количество вращательных переходов.

С помощью ИК-спектроскопии можно проводить как качественный, так и количественный анализ, однако наиболее широкое распространение получило исследование структуры органических соединений. При исследовании органических соединений обычно используют поглощение ИК-излучения в области  $\lambda=2-50 \text{ мкм}$ , что соответствует волновым числам  $\nu=5000 - 200 \text{ см}^{-1}$ .

Хотя ИК-спектр является характеристикой всей молекулы, оказывается, что некоторые группы атомов имеют полосы поглощения при определенной частоте независимо от структуры остальной части молекулы. Эти полосы, которые называют характеристическими, несут информацию о структурных элементах молекулы.

Составлены таблицы характеристических частот, в которых полосы ИК-спектра связаны с определенными функциональными группами, входящими в состав молекулы (табл.4-5). Характеристическими будут колебания групп, содержащих легкий атом водорода (C–H, O–H, N–H), колебания групп с кратными связями (C=C, C≡C, C=N, C=O, C≡N) и т. д. Такие функциональные группы проявляются в диапазоне спектра от 4000 до 1600 см<sup>-1</sup>.

В ряде случаев можно выделить такие колебания, при которых изменяются преимущественно длины связей или углы между связями. Тогда первое колебание называют валентным, а второе – деформационным (рис.4-12).

Область спектра от 1300 до 625 см<sup>-1</sup> известна как область «отпечатков пальцев». Сюда попадают полосы поглощения, отвечающие валентным колебаниям групп C–C, C–O, C–N, а также деформационные колебания. В результате сильного взаимодействия этих колебаний отнесение полос поглощения к отдельным связям невозможно. Однако весь набор полос поглощения в этой области является индивидуальной характеристикой соединения. Совпадение всех полос неизвестного (исследуемого) вещества со спектром заведомо известного эталона является прекрасным доказательством их идентичности. ИК-спектры измеряют для газообразных, жидких и твердых соединений, а также их растворов в различных растворителях.



**Рис.4-12.** Валентные и деформационные колебания метиленовой группы.

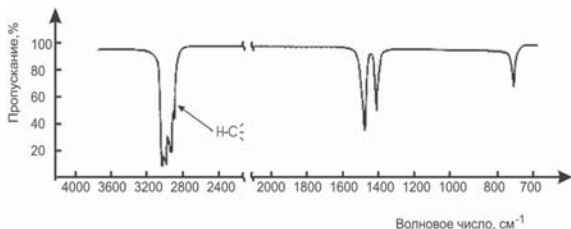
Структурная единица	Частота, см <sup>-1</sup>	Структурная единица	Частота, см <sup>-1</sup>
<i>Валентные колебания</i>			
Одинарные связи		Кратные связи	
O – H (спирты)	3600 – 3200	>C=C< (алкены)	1680 – 1620
O – H (карбоновые кислоты)	3600 – 2500	–C≡C– (алкины)	2200 – 2100
>N – H	3500 – 3350	–C≡N (нитрилы)	2280 – 2240
sp C – H	3320 – 3310	Карбонильные соединения:	
sp <sup>2</sup> C – H	3100 – 3000	RCHO (альдегиды) RCOR' (кетоны)	1750 – 1710
sp <sup>3</sup> C – H	2950 – 2850	Карбоновые кислоты:	
sp <sup>2</sup> C – O	1200	RCOOH	1725 – 1700
sp <sup>3</sup> C – O	1200 – 1025	Ангидриды кислот:	
		[RCO–] <sub>2</sub> O	1850 – 1800 и 1790 – 1740
		RCOHal (галогенангидриды)	1815 – 1770
		Сложные эфиры:	
		RCOOR'	1750 – 1730
		Амиды:	
		RCONH <sub>2</sub>	1700 – 1680
<i>Деформационные колебания с определенным положением в спектре</i>			
Алкены		Производные бензола	
–CH=CH <sub>2</sub>	990, 910	Монозамещенные	770 – 730 и 710 – 690
>C=CH <sub>2</sub>	890	о-дизамещенные	770 – 735
Цис- RCH=CHR'	730 – 665	м-дизамещенные	810 – 750 и 730 – 680
Транс- RCH=CHR'	980 – 960	п-дизамещенные	840 – 790

**Табл.4-5.** Характеристические частоты поглощения некоторых групп атомов.

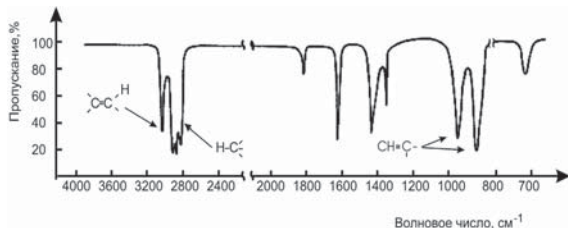
В наиболее высокочастотной области располагаются колебания групп Х–Н. Увеличение массы присоединенного к углероду атома приводит к появлению полос поглощения в более низкочастотной области. Так, частоты колебаний С–Н-группы находятся около  $3000\text{ см}^{-1}$ , колебания С–С в области  $1100\text{--}900\text{ см}^{-1}$ , а С–Br – около  $600\text{ см}^{-1}$ . Увеличение кратности связи вызывает повышение частот.

Типичный ИК-спектр, например, спектр н-гексана  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$  (рис.4-13), проявляется в виде серии полос поглощения различной формы и интенсивности. Почти все органические соединения обнаруживают пик или группу пиков в области  $3000\text{ см}^{-1}$ . Это поглощение обусловлено валентными колебаниями С–Н. Поглощение в областях  $1460$ ,  $1380$  и  $725\text{ см}^{-1}$  обусловлено различными деформационными колебаниями С–Н-связей.

Для иллюстрации влияния строения молекулы на ИК-спектр, сравним спектры н-гексана и гексена-1 (рис.4-14). Они весьма отличаются один от другого.



**Рис.4-13.** ИК-спектр н-гексана  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ .

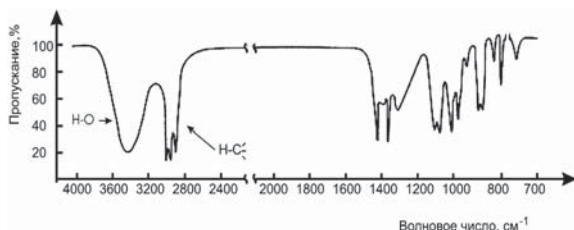


**Рис.4-14.** ИК-спектр гексена-1  $\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ .

В районе валентных колебаний С–Н гексена-1 наблюдается пик при  $3095\text{ см}^{-1}$ , тогда как все колебания С–Н гексана проявляются ниже  $3000\text{ см}^{-1}$ . Пик

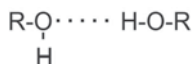
поглощения выше  $3000\text{ см}^{-1}$  обусловлен атомами водорода при  $sp^2$ -гибризованном атоме углерода. ИК-спектр гексена-1 содержит также полосу поглощения при  $1640\text{ см}^{-1}$ , связанную с валентными колебаниями кратной связи  $C=C$ . Пики около  $1000$  и  $900\text{ см}^{-1}$  в спектре гексена-1, отсутствующие в спектре гексана, относятся к деформационным колебаниям атомов водорода при двойной связи  $C=C$ .

Кроме валентных колебаний  $sp^2\text{ C-H}$ -групп известны другие группировки, проявляющиеся при частотах выше  $3000\text{ см}^{-1}$ . Наиболее важная из них это  $O-H$ -группа спиртов. На рис.4-15 представлен ИК-спектр гексанола-2.



**Рис.4-15.** ИК-спектр гексанола-2  $CH_3(CH_2)_3CH(OH)CH_3$ .

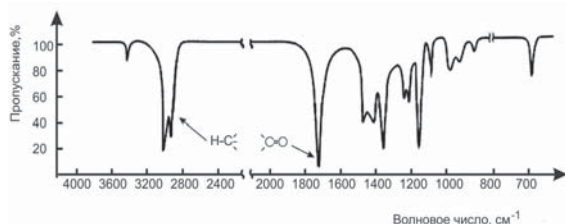
Спектр содержит широкий сигнал при  $3300\text{ см}^{-1}$ , соответствующий валентным колебаниям  $O-H$ -групп спиртов, связанных межмолекулярной водородной связью. В разбавленных растворах спиртов в инертном растворителе (хлороформе  $CHCl_3$ , четыреххлористом углероде  $CCl_4$ ), где водородное связывание типа:



уменьшается, наряду с полимолекулярными ассоциатами  $(ROH)_n$  присутствуют индивидуальные спиртовые молекулы  $ROH$ . В этом случае проявляется дополнительный пик приблизительно при  $3600\text{ см}^{-1}$ .

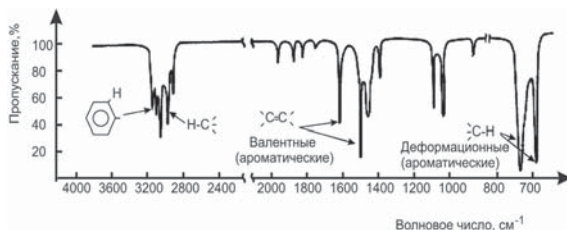
Карбонильная группа принадлежит к наиболее легко различимым структур-

ным фрагментам молекул, обнаруживаемым методом ИК-спектроскопии. Валентные колебания двойной связи  $C=O$  проявляются интенсивным сигналом в интервале  $1800\text{--}1650\text{ см}^{-1}$ . Этот пик ярко выражен в спектре гексано-2, приведенном на рис.4-16.



**Рис.4-16.** ИК-спектр гексано-2  $CH_3(CH_2)_3C(O)CH_3$ .

Ароматическое кольцо проявляется в ИК-спектре умеренным пиком валентных колебаний  $C-H$  в районе  $3030\text{ см}^{-1}$ . Другая характерная особенность – валентные колебания ароматических углерод-углеродных связей наблюдаются обычно при  $1600$  и  $1475\text{ см}^{-1}$ . Наконец, ароматическое кольцо обнаруживает интенсивное поглощение в диапазоне  $800\text{--}690\text{ см}^{-1}$ , обусловленное деформационными колебаниями  $C-H$ . Все эти особенности ароматического кольца наблюдаются в ИК-спектре толуола (рис.4-17).



**Рис.4-17.** ИК-спектр толуола.

## 5. Атомно-абсорбционная спектрометрия

Метод атомно-абсорбционного анализа основан на резонансном поглощении света свободными атомами, возникающем при пропускании пучка света через слой атомного пара. При поглощении кванта излучения  $h\nu$  свободный атом переходит в возбужденное состояние:



где  $h$  – постоянная Планка,  $\nu$  – частота, определяемая условиями Бора,

$$\nu = \frac{E_{A^*} - E_A}{h}$$

где  $E_{A^*}$  и  $E_A$  – энергия атома в возбужденном и основном состояниях соответственно.

Наиболее вероятным изменением энергетического состояния атома при возбуждении является его переход на уровень, ближайший к основному энергетическому состоянию, т.е. резонансный переход.

Если на невозбужденный атом направить излучение с частотой, равной частоте резонансного перехода, кванты света будут поглощаться атомами, и интенсивность излучения будет уменьшаться. Аналитический сигнал (уменьшение интенсивности излучения) связан с числом невозбужденных атомов.

Термин свободные атомы является существенным, поскольку в оптическом диапазоне свободные атомы и многоатомные частицы дают совершенно разные спектры. Поэтому для атомно-абсорбционных измерений важнейшим условием является перевод определяемого вещества в состояние атомного пара. Для этого и применяется атомизатор. Атомно-абсорбционный метод мало отличается от спектрофотометрического, а иногда рассматривается в качестве одного из его разновидностей – высокотемпературной газовой спектрофотометрии. Селективно поглощая излучение на частоте резонансного перехода, атомы пе-

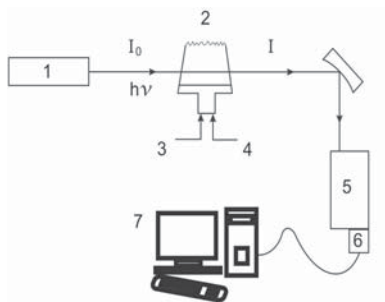


реходят из основного состояния в возбужденное, а интенсивность проходящего пучка света на этой частоте убывает по закону Бугера-Ламберта-Бэра.

Аналитический метод атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) был описан Уолшем в 1955 г. Техническое совершенствование метода касалось, в основном, источника атомов элементов. Так, в 1960-е гг., в качестве атолизатора служило пламя газовой горелки, а в 70-е гг. для этих целей начали использовать и графитовые печи.

## 5.1. Основы метода ААС

Атомно-абсорбционный спектрометр состоит из источника первичного излучения, спектр которого включает длины волн поглощения атомов, источника свободных атомов с соответствующей системой ввода пробы, оптической диспергирующей системы, детектора и электронных устройств для сбора, обработки и редактирования получаемых данных (рис.5-1). Область нахождения свободных атомов должна располагаться на пути между источником первичного излучения и детектором.

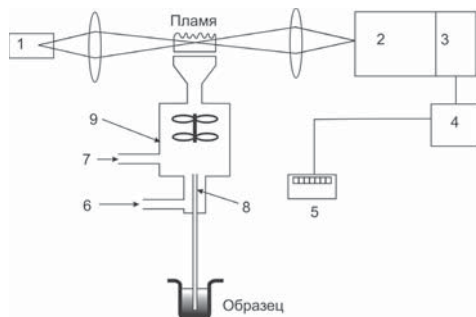


**Рис.5-1.** Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра. 1 - первичный источник излучения; 2 - атолизатор; 3 - проба; 4 - горючий газ и окислитель; 5 - оптическая диспергирующая система; 6 - детектор; 7 – сбор, редактирование и обработка данных.

Оптические переходы, используемые в ААС, обычно осуществляются между основным состоянием (или состоянием близким к основному) и первым возбужденным уровнем (резонансные уровни). Так как поглощение излучения пропорционально числу атомов в основном состоянии, становится понятно, почему ААС является эффективным методом количественного анализа.

## 5.2. Устройство прибора ААС

Для измерения атомной абсорбции применяют однолучевые и двухлучевые атомно-абсорбционные спектрофотометры (анализаторы). Схема однолучевого атомно-абсорбционного спектрофотометра показана на рис.5-2.



**Рис.5-2.** Схема атомно-абсорбционного спектрофотометра. 1 – линейчатый источник резонансного излучения; 2 – монохроматор; 3 – детектор; 4 – усилитель; 5 – стрелочный прибор, самописец, цифровое устройство или компьютер; 6, 7 – ввод окислителя и топлива соответственно; 8 – распылитель; 9 – распылительная камера.

Излучение от источника (1) длиной волны, соответствующей линии поглощения исследуемого элемента, пропускают через пламя, в которое впрыскивается мелкодисперсный аэрозоль раствора пробы (8, 9). В пламени проба образует атомные пары, которые поглощают падающее излучение в отношении, прямо

пропорциональном его концентрации. Излучение резонансной линии выделяют из спектра с помощью монохроматора (2) и направляют на фотоэлектрический детектор (3) (обычно — фотоумножитель). Выходной сигнал детектора после усиления (4) регистрируют гальванометром - цифровым вольтметром, записывают в аналоговой форме на ленте пишущего потенциометра или при помощи компьютера (5). Интенсивность резонансного излучения измеряют дважды: до распыления анализируемого образца в пламя и в момент его распыления. Разность этих двух отсчетов и определяет значение аналитического сигнала.

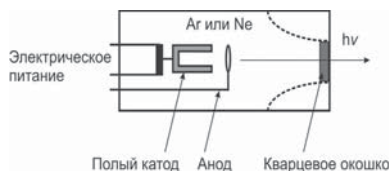
Из-за малой интенсивности измеряемых световых потоков (маломощные источники излучения, узкие щели источника и монохроматора) в методе ААС для детектирования применяются фотоэлектронные умножители (см. Главу 4), способные регистрировать отдельные фотоны. Это приводит к необходимости интегрировать сигнал в течение нескольких секунд.

Определение оптической плотности проводят как по высоте, так и по площади пика. Измерение высоты пика, соответствующей максимальной оптической плотности, дает более высокую чувствительность, но может привести к занижению содержания определяемого элемента из-за расширения пика поглощения, связанного с влиянием условий атомизации и присутствием мешающих примесей. Измерение площади пика учитывает общее число поглощающих атомов и, следовательно, более надежно.

### **5.2.1. Источники первичного излучения**

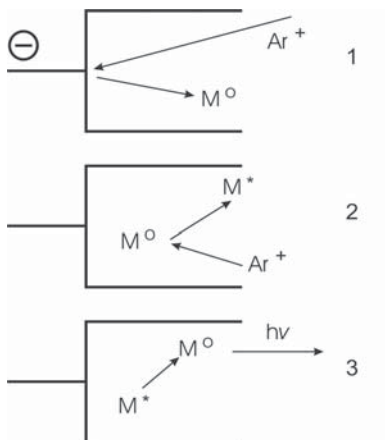
В качестве источников первичного излучения, обычно, используют электрический разряд в газе при низком давлении, который происходит в лампах с полым катодом (ЛПК). Лампа с полым катодом состоит из цилиндрического катода с внутренним диаметром 2–5 мм (рис.5-3), изготовленного из высокочистого металла, который необходимо определить, и испускает спектр в виде интенсивных узких линий, характерных для этого элемента.

Катод и анод размещены в стеклянном цилиндре, наполненном инертным газом – Аг или Не под давлением 1–5 мм рт.ст. Высокое напряжение и ток до 30мА используют для формирования положительно заряженных ионов газа-буфера. Эти ионы бомбардируют поверхность катода, выбивая из него



**Рис.5-3.** Схема лампы с полым катодом (ЛПК).

атомы металла в газовую фазу. За счет столкновений с другими атомами они переходят в возбужденное состояние. При релаксации происходит процесс излучения света с длиной волны, характерной для соответствующего перехода электронов атома металла (рис.5-4).



**Рис.5-4.** Принципиальная схема процессов в лампе с полым катодом (ЛПК). 1 – распыление атомов; 2 – возбуждение атомов металла ионами окружающего газа; 3 – излучательная дезактивация возбужденных атомов.

Таким образом, спектр излучения лампы с полым катодом — это атомный спектр материала катода, включающий также линии, испускаемые возбужденными атомами газа-наполнителя. Из такого спектра с помощью обычного дифракционного монохроматора выделяется одна наиболее интенсивная линия, кото-

рая и используется для атомно-абсорбционного определения элемента. Для пропускания света используют прозрачное кварцевое окно.

### 5.2.2. Источники свободных атомов. Способы атоанизации

В современной технике атомно-абсорбционного анализа широко используются два способа атоанизации исследуемого вещества—в пламени и электрических атоизаторах.

#### Атоанизация в пламени

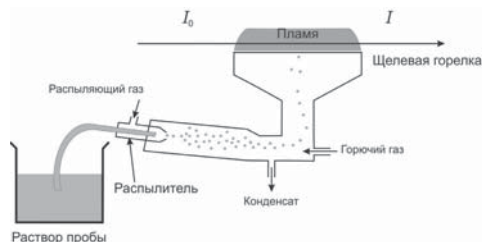
Для получения пламени используют различные комбинации горючих газов с окислителями, например водорода, пропана или ацетилена с воздухом или оксидом азота. Кислород в чистом виде почти не применяют как окислитель, так как смеси горючих газов с ним обладают очень высокой скоростью горения, с трудом поддаются контролю.

Газовая смесь (горючий газ - окислитель)	Температура, К	Определяемые элементы
Ацетилен - воздух	до 2500	Большинство
Ацетилен - закись азота	до 3100	B, Al, Si, Be, элементы 3 - 5 побочных подгрупп
Водород - воздух	до 2300	As, Se
Метан - воздух	до 2000	Щелочные металлы

**Табл.5-1.** Составы газовых смесей для пламенной ААС.

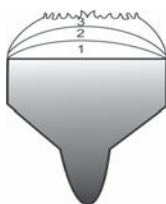
В практике атомно-абсорбционного анализа наибольшее применение получили два пламени: воздушно-ацетиленовое и пламя оксида азота с аце-

тиленом. Эти две газовые смеси взаимно дополняют друг друга и совместно позволяют определять примерно 70 элементов. Воздушно-пропановое пламя пригодно в основном для определения щелочных металлов; кадмия, меди, свинца, серебра и цинка. Схема атолизатора для пламенной ААС приведена на рис.5-5.



**Рис.5-5.** Схема атолизатора для пламенной ААС.  $I_0$ – интенсивность падающего света;  $I$ – интенсивность прошедшего света. В качестве распыляющего газа применяется воздух или другой окислитель.

Первичная реакционная (рис.5-6, 1) зона для анализа не используется, так как температура в ней менее  $1000^{\circ}\text{C}$ .



**Рис.5-6.** Зоны ламинарного пламени. 1 – первичная реакционная зона; 2 – зона внутреннего конуса; 3 – вторичная реакционная зона.

Зона внутреннего конуса (рис.5-6, 2) благоприятна для измерения атомной абсорбции элементов, образующих термостойкие оксиды и гидроксиды (алюминия, молибдена и т. п.). Вторичная реакционная зона (рис.5-6, 3) предпочтительна для измерения атомной абсорбции элементов, не образующих термостойких

оксидов (медь, серебро, цинк, марганец и т. п.). Измерение в этой зоне характеризуется наибольшей стабильностью и наименьшими шумами.

Образование свободных атомов в пламени является следствием многих процессов:

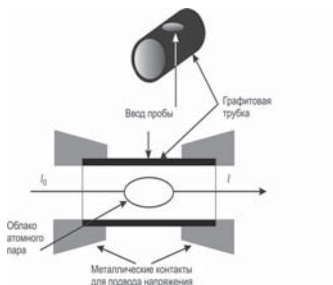
- получение аэрозоля из раствора анализируемой пробы;
- испарение растворителя из капелек аэрозоля;
- испарение твердых частичек аэрозоля и диссоциацию молекул на атомы;
- процессы возбуждения и ионизации атомов, а также образования новых соединений в результате реакций с радикалами, анионами, атомами кислорода и углерода, имеющимися в пламени.

Несмотря на простоту этого способа атомизации, он имеет ряд серьезных ограничений, обусловленных реакциями в пламени и малой продолжительностью пребывания частиц в нем ( $10^{-3}$  с). Кроме того, пламена не безопасны в работе и требуют расходов довольно больших объемов газообразных горючего и окислителя.

Более дешевыми, безопасными и эффективными во многих отношениях оказались электротермические атомизаторы.

### Атомизация в электротермических атомизаторах

Очень простой в эксплуатации является тонкостенная графитовая печь, схема которой приведена на рис.5-7.



**Рис.5-7.** Графитовая печь Массмана.  $I_0$  – интенсивность падающего света;  $I$  – интенсивность прошедшего света.

[illegible]

**Рис.5-8.** Пределы обнаружения элементов методом ААС.



Анализируемую пробу в виде раствора дозируют микропипеткой в количестве 5-100 мкл через центральное отверстие на стенку холодной печи, концы которой закреплены внутри массивных графитовых контактов. Печь постоянно обдувается потоком аргона, что предохраняет ее от обгорания и способствует удалению испаренной пробы из атоизатора. После высушивания проба атомизируется, и атомный пар заполняет всю трубку. Температура графитовой печи регулируется специальным электронным устройством с программным управлением.

Обычно температурную программу по времени можно разделить на 3 этапа: высушивание пробы (испарение растворителя), озоление (пиролиз органических компонентов и удаление некоторых других компонентов матрицы), атомизация, т. е. собственно испарение и переход определяемого элемента в состояние атомного пара.

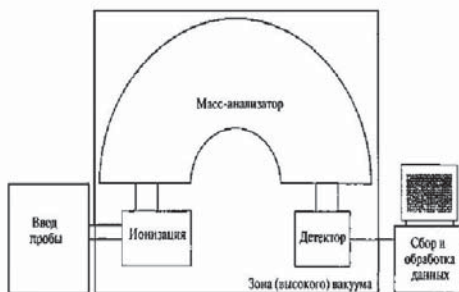
Каждому этапу соответствует своя оптимальная температура. Необходимость в такой ступенчатой температурной программе связана с тем, что на стадиях высушивания и озоления часто наблюдается другой сигнал абсорбции, обусловленный рассеянием зондирующего излучения дымом, частицами золы и т. д.

Метод атомной абсорбции с применением электротермического атоизатора обеспечивает рекордно низкие пределы обнаружения по многим элементам. Их численные значения колеблются для разных элементов от десятых до десяти-тысячных долей нанограмма в одном миллилитре раствора пробы, достигая иногда в абсолютном выражении значения  $10^{-12}$  -  $10^{-14}$  г (рис.5-8).

## 6. Масс-спектрометрия и ее аналитические применения.

Масс-спектрометрия (МС) основана на ионизации молекул изучаемого вещества (аналита) с последующим разделением ионов по величине отношения массы к заряду ( $m/z$ ) и детектированием (рис.6-1.).

Существенное отличие масс-спектрометрии от других аналитических физико-химических методов состоит в том, что оптические, рентгеновские и некоторые другие методы детектируют излучение или поглощение энергии молекулами или атомами, а масс-спектрометрия имеет дело с самими частицами вещества. Масс-спектрометрия измеряет их массы, вернее соотношение массы к заряду. Для этого используются законы движения заряженных частиц материи в магнитном или электрическом поле. Масс-спектр – это просто сортировка заряженных частиц по их массам (точнее отношениям массы к заряду).



**Рис.6-1.** Принципиальная схема масс-спектрометра.

Результирующий масс-спектр является графиком зависимости (относительного) количества полученных ионов от отношения  $m/z$ . Современный масс-спектрометр – чрезвычайно сложный компьютеризованный прибор. Он состоит из пяти узлов, отражающих пять важных разделов аналитической масс-спектрометрии: системы ввода пробы, системы ионизации аналита, системы разделения

ионов по массам (зарядам), системы детектирования ионов и обработки данных (см. рис.6-1). Масс-спектрометрия сочетает разделение и определение.

## 6.1. Способы ионизации

### 6.1.1. Электронный удар

Первый и наиболее широко применяемый в современной масс-спектрометрии метод ионизации молекул органических соединений – так называемый электронный удар (ЭУ, EI – Electron Impact) или электронная ионизация. Для того чтобы ионизовать органическое вещество, его нужно сначала из конденсированной фазы (жидкость, твердое тело) перевести каким-нибудь образом в газовую фазу, например, нагреть.

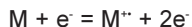
Затем пары вещества нужно ввести в так называемый источник ионов (рис.6-2) для ионизации. Ионизирующий пучок электронов получают, нагревая, например, металлическую ленточку (катод).



**Рис.6-2.** Принципиальная схема источника электронного удара.

Можно поместить вещество в конденсированной фазе в источник ионов и там его испарить. Электроны, легкие по сравнению с молекулами отрицательно заряженные частицы, сталкиваясь с молекулами, вырывают из электронных оболочек электроны и превращают молекулы в ионы.

Формально можно представить процесс ионизации уравнением:



В результате образуется молекулярный ион ( $M^{+\bullet}$ ). Это нечетноэлектронный ион – катионрадикал. Эффективность ионизации чрезвычайно низка. Фактиче-

ски ионизируется примерно одна из десяти тысяч молекул образца. Более 99,99% неионизованных молекул вещества откачивается из источника вакуумными насосами. Этот факт, тем не менее, позволяет еще раз подчеркнуть высочайшую чувствительность масс-спектрометрии, когда для получения спектра нужны нано- и пикограммовые количества вещества. Вероятность ионизации меняется от вещества к веществу и имеет количественный показатель, называемый сечением ионизации.

Важным параметром является энергия ионизирующих электронов. Ионный ток достигает максимума при энергиях электронов около 50 эВ. Стандартные масс-спектры ЭУ принято регистрировать, используя ионизирующие электроны с энергией около 70 эВ.

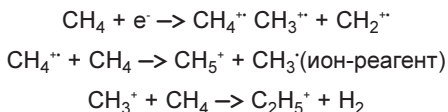
При этом молекулы часто распадаются на заряженные фрагменты по определенному для каждого соединения механизму. Именно в результате этого процесса в конечном итоге получается масс-спектр – набор рассортированных по массам ионов, несущий информацию о структуре молекулы. Этот спектр часто настолько характерен для определенного органического соединения, что его называют "отпечатком пальцев".

Все эти процессы должно происходить в вакууме, иначе электроны слишком быстро зарядят молекулы, составляющие компоненты воздуха, а ионы, образовавшиеся из того соединения, которое нас интересует, слишком быстро вновь превратятся в нейтральные молекулы.

### **6.1.2. Химическая ионизация**

Еще один способ ионизации – это ионизация в ионно-молекулярных реакциях, называемая химической ионизацией (ХИ, CI – Chemical Ionization). При этом способе источник ионов при повышенном давлении заполняется каким-либо газом (обычно используется метан или изобутан, очень редко аммиак и другие газы), который ионизуется все тем же электронным ударом, а в результате большой концентрации молекул в источнике начинают происходить ионно-молекулярные реакции, ведущие к образованию ионов-реагентов, которые в свою очередь взаимодействуют с молекулами интересующего нас вещества, ведя к их

ионизации. При этом происходит протонирование, т.е. образование положительно заряженных ионов.



Основная реакция протонирования образца



Вводимые в источник ионов соединения также могут реагировать с медленными (термическими) электронами, которые легко образуются и блуждают в плазме источника, работающего в режиме химической ионизации. При этом взаимодействии происходит так называемый диссоциативный резонансный захват электронов, ведущий к тому, что образуется ион с лишним электроном, т.е. отрицательно заряженный.

Такая ионизация в газовой фазе является "мягкой", то есть образовавшиеся ионы не распадаются на мелкие фрагменты, а скорее остаются крупными кусками либо чуть меньше, чем исходная молекула, либо даже больше нее за счет присоединения других ионов. Этот метод дает меньше информации о структуре молекулы, зато с его помощью легче определить ее молекулярную массу. Это касается, в основном, положительно заряженных ионов.

Большим преимуществом химической ионизации с образованием отрицательных ионов является значительное улучшение чувствительности и селективности в отношении избранных соединений (соединений с большим сродством к электрону, например, содержащих атомы галогенов). Предел обнаружения таких соединений может быть снижен до трех порядков.

Для ряда применений очень удобным может оказаться метод PPNICl (Pulsed Positive Negative Ion Chemical Ionization – импульсная попеременная регистрация положительных ионов и отрицательных ионов при химической ионизации). В этом методе в процессе одной съемки образца получают две хроматограм-

мы и, соответственно, две совокупности масс-спектров. Одна по положительно заряженным ионам, другая – по отрицательно.

Тандемная масс-спектрометрия (или многостадийная, или многомерная) весьма полезна для того, чтобы использовать информационно значимые ионы, образовавшиеся при химической ионизации, и подвергнуть дополнительной фрагментации, позволяющей выявить структуры фрагментов молекулы (см. ниже).

К сожалению, очень многие органические вещества невозможно испарить без разложения. Это значит, что их нельзя ионизовать электронным ударом. Но именно такие вещества составляют живую ткань – белки, ДНК, физиологически активные вещества, полимеры и т.д., то есть все то, что сегодня представляет особый интерес.

### 6.1.3. Электроспрей

Масс-спектрометрия не стояла на месте, и в последние годы были разработаны специальные методы ионизации таких органических соединений. В настоящее время используются в основном методы ионизации при атмосферном давлении – ионизация в электроспрее (ESI – Electrospray Ionization) или химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI – Atmospheric Pressure Chemical Ionization) и ее подвид с дополнительной фотоионизацией (APPI – Atmospheric Pressure Photo-Ionization), а также ионизация лазерной десорбцией при содействии матрицы (MALDI – Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization).

В методе ESI жидкость (интересующие нас соединения с растворителем) вырывается под давлением вместе с коаксиально подаваемым разогретым газом (азотом) из узкого капилляра (на самом деле иглы, которая находится под повышенным потенциалом – 5 – 10 кВ) с огромной скоростью. Прямо в этой струе мелкодисперсного тумана с оболочек молекул срываются электроны, превращая их в ионы. Большая часть растворителя при движении этой струи переходит в газовую фазу и не попадает в отверстие входного конуса источника ионов.

В режиме химической ионизации CI при атмосферном давлении потенциал прикладывается не к игле, через которую поступает жидкость, а к электроду в области распыления, что приводит к образованию коронного разряда. В этом случае фрагментация значительно меньше, чем в предыдущем.

В методе MALDI лазерный луч вырывает ионы с поверхности мишени, на которую нанесен образец со специально подобранной матрицей.

До сих пор мы описывали методы, применяемые для ионизации относительно мягких соединений, составляющих органическую материю. Термин "мягких" означает, что для того, чтобы перевести молекулы органического вещества в ионы, нужны относительно небольшие энергии. Для ионизации неорганических материалов (металлы, сплавы, горные породы и т.д.) требуется использование других методов. В твердом теле энергии связи атомов гораздо больше, и необходимо использовать значительно более жесткие методы для того, чтобы разорвать эти связи и получить ионы. Многие способы ионизации были опробованы, и на сегодняшний день лишь несколько из них применяются в аналитической масс-спектральной практике.

#### **6.1.4. Ионизация в индуктивно-связанной плазме**

Первый метод, наиболее распространенный, – ионизация в так называемой индуктивно-связанной плазме ИСП. Индуктивно-связанная плазма (ICP – Inductively Coupled Plasma) образуется внутри горелки, в которой горит обычно аргон. Аргон, вообще говоря, инертный негорючий газ, поэтому, чтобы заставить его гореть, в него закачивают энергию, помещая горелку в индукционную катушку. Когда в плазму аргоновой горелки попадают атомы и молекулы, они моментально превращаются в ионы. Для того чтобы ввести атомы и молекулы интересующего материала в плазму, их обычно растворяют в воде и распыляют в плазму в виде мельчайшей взвеси. Другой метод состоит в том, чтобы превратить вещество в газ. Например, это делают с помощью мощного лазерного луча, который "взрывает" кратер в подставленном под него кусочке материала, переводя небольшую его часть в газообразное состояние (лазерная абляция).

Еще один способ – это так называемая термоионизация или поверхностная ионизация. Анализируемое вещество наносится на проволочку из тугоплавкого металла, по которой пропускается ток, разогревающий ее до высокой температуры. За счет высокой температуры нанесенное вещество испаряется и ионизируется. Этот метод обычно используется в изотопной масс-спектрометрии.

Два других метода могут применяться для ионизации проводящих ток материалов. Это искровая ионизация и ионизация в тлеющем разряде. Не останавливаясь на подробностях этих методов, скажем только, что в первом за счет разницы потенциалов между кусочком исследуемого материала и другим электродом пробивается искра, вырывающая с поверхности мишени ионы. Во втором – происходит тоже самое, но за счет так называемого тлеющего разряда, поджигаемого между кусочком проводящего материала и электродом в атмосфере инертного газа, находящегося под очень низким давлением (в большинстве случаев аргона).

Надо отметить, что, начиная от ионного источника и до детектора, масс-спектрометр представляет собой вакуумный прибор. Довольно глубокий вакуум обеспечивает беспрепятственное движение ионов внутри масс-спектрометра, а при его отсутствии ионы просто рассеются и рекомбинируют (превратятся опять в незаряженные частицы).

## **6.2. Масс-анализаторы**

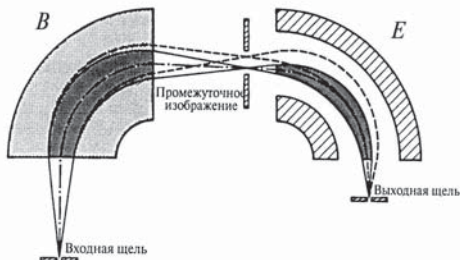
Итак, мы получили ионы. Поскольку это заряженные частицы, мы можем с помощью электрического поля вытянуть их из той области, где они образовались. Теперь начинается второй этап масс-спектрометрического анализа – сортировка ионов по массам (точнее по отношению массы к заряду, или  $m/z$ ), собственно то, что дало имя этому методу. Это происходит в той части масс-спектрометра, которая называется "масс-анализатором".

### **6.2.1. Двойная фокусировка**

Все масс-анализаторы используют физические законы движения заряженных частиц. Исторически первым масс-анализатором, остающимся и сегодня непревзойденным по своим характеристикам, был магнит. Согласно физическим законам траектория заряженных частиц в магнитном поле искривляется, а радиус кривизны зависит от массы частиц. Именно это используется для анализа ионов по массам (рис.6-3). Для того чтобы увели-



чить разрешение, на пути ионов устанавливается еще и электростатический анализатор. Магнитные масс-спектрометры имеют высокое разрешение и могут использоваться со всеми видами ионизации.

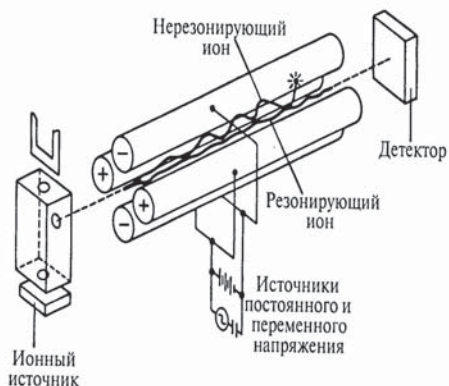


**Рис.6-3.** Масс-анализатор с двойной фокусировкой.

Несмотря на значительные преимущества современных магнитных масс-анализаторов перед остальными (рекордная чувствительность, однозначность идентификации, большой рабочий диапазон масс, широкий линейный диапазон), они обладают двумя основными недостатками – эти приборы большие как по размерам, так и по стоимости. Там, где нельзя без них обойтись, им нет альтернативы. Это органический анализ с высоким разрешением, анализ изотопных соотношений, элементный анализ на предельной чувствительности и др. Но в современном мире существует множество аналитических применений масс-спектрометрии, для которых годятся приборы другого класса.

### 6.2.2. Квадруполь

Ученые в течение долгого времени искали альтернативу магниту в качестве масс-анализатора. Первым добился успеха профессор Стэндфордского университета Robert Finnigan, построивший в 1967 году первый хромато-масс-спектрометр с квадрупольным анализатором. Квадруполь представляет собой четыре стержня, к которым попарно в противоположной полярности подается определенная комбинация постоянного и радиочастотного переменного напряжений.



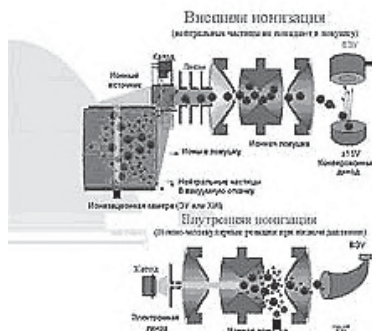
**Рис.6-4.** Квадрупольный масс-анализатор.

Ионы, влетающие параллельно оси этих стержней, попадают в гиперболическое поле и, в зависимости от соотношения их массы (как всегда,  $m/z$ ) и частоты, пропускаются этим полем или не пропускаются дальше. Создание квадрупольных масс-анализаторов стало революцией в масс-спектрометрии (рис.6-4). Магнитные масс-спектрометры требуют использования высоких напряжений (тысячи вольт), а квадрупольные нет, и это упрощает их конструкцию, а меньшие размеры вакуумной части упрощают систему создания вакуума. Таким образом, масс-спектрометры уменьшились в размерах, стали проще в эксплуатации и, что самое главное, стали намного дешевле, что открыло возможность использовать этот аналитический метод многим тысячам пользователей.

### 6.2.3. Квадрупольная ионная ловушка

Дальнейшее развитие квадрупольных анализаторов привело к созданию "ионной ловушки" (рис.6-5). Одна пара стержней была закручена в кольцо, а вторая пара превратилась в шарообразные чашки. Теперь комбинация радиочастотных и постоянных напряжений, прикладываемых к электродам ионной ловушки, стала позволять удерживать ионы внутри нее или выбрасывать из нее. Первые ионные ловушки потеряли даже ионный источник. Ионизация мо-

лекул стала проводиться прямо внутри ловушки. Впоследствии, правда, от этого отказались, вновь вынеся место, где создаются ионы, за пределы ионной ловушки. что оказалось более выигрышным.



**Рис.6-5.** Квадрупольная ионная ловушка.

Существенным моментом работы ионных ловушек является подбор времени, в течение которого ионы остаются захваченными в ловушке. С одной стороны, это время должно быть достаточно "большим" (речь идет о миллисекундах) для того, чтобы можно было провести фрагментацию ионов, выбросить из ловушки ненужные, провести следующую фрагментацию ионов, которые уже один раз претерпели ее и другие манипуляции с ионами.

С другой стороны, слишком длительное время, проведенное в ловушке, может приводить к ионно-ионным и ионно-молекулярным реакциям, которые могут привести к нежелательным изменениям масс-спектра, а также к образованию объемного заряда, препятствующего полному детектированию ионов умножителем.

Для того чтобы избежать всего этого, была разработана система, которая "следит" за количеством ионов в ловушке. Система делает очень короткий пре-скан, в течение которого она определяет количество ионов, а затем уже под-страивает время, в течение которого ионы остаются в ловушке, и делает аналитическое сканирование. Если ионов мало, время, которое они проводят в ловушке, увеличивается, если много, наоборот уменьшается.

Это ни в коей мере не уменьшает скорость сканирования, но значительно увеличивает информационную ценность анализа, позволяет избавляться от нежелательных реакций между ионами или молекулами и за счет увеличения времени получения полезного сигнала добиваться максимальной чувствительности.

Появление квадрупольных ловушек на базе линейных квадруполов также явилось существенным прорывом в технологии масс-спектрометрического анализа. Прежде всего, линейная квадрупольная ловушка характеризуется большей емкостью ионов, кроме того, в ней можно проводить больше манипуляций с ионами путем контролируемой фрагментации или отбора ионов и за меньшее время.

Использование ионных ловушек дало импульс к развитию систем тандемной масс-спектрометрии или MS/MS. MS/MS – это когда масс-анализаторы выстраивают последовательно друг за другом. Зачем это понадобилось? Предположим, мы имеем дело со сложной органической молекулой (например, биохимики почти всегда имеют дело с такими) и, разбив ее на фрагменты, мы все равно не имеем достаточной информации о ее структуре. Из разделенных в первом масс-анализаторе ионов можно выбрать те, которые представляют для нас интерес, каким-нибудь образом заставить их распасться на более мелкие фрагменты и снова рассортировать то, что получилось, по массам. Это и делается во втором масс-анализаторе.

В случае использования магнитных и квадрупольных масс-анализаторов это означает, что нам нужно выстроить их друг за другом в линию. Однако те, кто занимается анализом сложных молекул, сталкиваются с тем, что и двух и трех последовательных масс-анализаторов иногда недостаточно для того, чтобы расшифровать их структуру. Вот здесь-то ионная ловушка оказывается как нельзя кстати. Как мы уже говорили, в ионной ловушке можно удерживать ионы, которые представляют интерес, а остальные "выбросить" из нее. Оставшиеся в ловушке ионы можно подвергнуть распаду (управляемой фрагментации), зарегистрировать их, оставить в ловушке те, которые представляют интерес, а остальные выбросить, вновь подвергнуть фрагментации, зарегистрировать и т.д. В некоторых приборах так можно поступить 10 – 15 раз.

Важнейшим преимуществом тандемной масс-спектрометрии в ГХ/МС является возможность осуществлять так называемый целевой анализ. Много-

численные задачи, стоящие перед аналитикой, подразумевают определение конкретных органических соединений, причем, чем ниже уровень их определения, тем лучше (например, допинговый контроль, определение пестицидов и других загрязнителей пищевой продукции и окружающей среды, анализ диоксинов). При этом концентрации и, соответственно, сигналы этих целевых соединений намного меньше, чем других многочисленных соединений, находящихся в этом же образце. Эти сигналы не видны за "химическим шумом" или сигналом матрицы.

Чтобы добиться селективности, можно использовать высокое разрешение, но это и сложнее и дороже, можно использовать метод селективной регистрации ионов (SIM – Single Ion Monitoring). Селективная регистрация ионов приводит к огромному выигрышу в чувствительности (все время, которое тратилось раньше на запись полного масс-спектра, теперь тратиться на запись одного или нескольких ионов) и селективности (регистрируется только один или несколько ионов, а остальные не видны), но при этом приносится в жертву достоверность получаемых результатов.

Если по полному спектру в сочетании с хроматографическим временем удерживания можно было практически однозначно подтвердить целевое соединение, то теперь остается только время удерживания и один сигнал в масс-спектре. Это довольно зыбкие доказательства, явно недостаточные для "вынесения приговора" (например, в допинговом контроле, контроле диоксинов и ксенбиотиков). А вот если использовать тандемную масс-спектрометрию и регистрировать один родительский и один (или несколько) дочерних ионов, то при их появлении можно однозначно говорить о детектировании целевого компонента, достигая практически такой же чувствительности и еще лучшей селективности.

На самом деле, сегодняшний прогресс в протеомике во многом обязан тандемным системам, а теперь и линейным квадрупольным ловушкам. Вместе с тем огромная потребность этой быстро развивающейся отрасли науки стимулирует быстрые разработки новых приборов и методов анализа биомолекул. На сегодняшний день в этой области самым передовым и распространенным методом анализа стала двумерная микроколоночная высокоэффективная жидкостная хроматография – ионизация в электроспрее – тандемная масс-спектрометрия.

#### 6.2.4. Ионно-циклотронный резонанс

Вернемся, однако, к другим типам масс-анализаторов. Благодаря прежде всего потребностям протеомики, метаболомики, липидомики и анализа биополимеров, все более широкое распространение получил масс-анализатор на основе ионно-циклотронного резонанса. Именно этот тип масс-анализатора обладает очень высоким разрешением и позволяет наиболее точно измерить массу иона.

Высокое разрешение позволяет работать с полипротонированными ионами, образующимися при ионизации белков и пептидов в электроспрее, а высокая точность определения массы позволяет получать брутто-формулу ионов, делая возможным определять структуру последовательностей аминокислотных остатков в пептидах и белках, а также детектировать посттрансляционные модификации белков. Это сделало возможным секвенировать белки без их предварительного гидролиза на пептиды. Такой способ получил название "Top-down" протеомики.

Получение уникальной информации стало возможным благодаря применению масс-анализатора ионно-циклотронного резонанса с Фурье преобразованием. В этом анализаторе ионы влетают в сильное магнитное поле и вращаются там по циклическим орбитам (как в циклотроне, ускорителе элементарных частиц). Такой масс-анализатор обладает определенными преимуществами: высоким разрешением, широким диапазоном измеряемых масс, может анализировать ионы, получаемые всеми способами. Однако для своей работы он требует сильного магнитного поля, а значит, использования сильного магнита со сверхпроводящим соленоидом, поддерживаемым при очень низкой температуре жидкого гелия (приблизительно  $-270^{\circ}\text{C}$ ).

Масс-спектрометрия ионно-циклотронного резонанса с Фурье преобразованием сигнала существенно отличается от других масс-спектрометрических методов. Сердцем такой системы является цилиндрическая ячейка, которая способна захватывать и хранить ионы в газовой фазе в очень сильном магнитном поле.

При возбуждении захваченные в ловушку ионы начинают радиальное движение от центральной оси цилиндрической ячейки и закручиваются в круговое движение. Возбуждение ионов осуществляется за счет приложения радиочастотного напряжения к возбуждающим электродам ячейки. Результирующая час-

тота ионно-циклотронного движения зависит от отношения массы иона к его заряду и силы магнитного поля.

При этом на электродах возникает изображение тока всех ионов (наведенный ток или образ тока), циркулирующих в ячейке, которое может быть записано. Каждый ион вращается в ячейке с индивидуальной частотой, и различные частоты анализируются и извлекаются из общего сигнала с помощью преобразования Фурье, а результирующий частотный спектр конвертируется в масс-спектр с использованием известного соотношения частоты и массы.

Детектирование ионов, использующее наведенный ток, является неdestructивным. Это означает, что ион может быть сохранен и проанализирован за практически любое разумное время. Частота – это одна из тех физических величин, которые могут быть измерены с огромной точностью и воспроизводимостью в течение времени наличия сигнала. Это является основой очень высокого разрешения по массам масс-спектрометрических систем ионно-циклотронного резонанса с Фурье преобразованием сигнала. Высокое разрешение в данном случае не является компромиссным для чувствительности и одновременно может быть достигнуто во всем записываемом диапазоне масс, а не только в узком диапазоне в несколько массовых единиц.

Дополнительные возможности открывает использование линейной квадрупольной ионной ловушки. В отличие от тороидальной ионной ловушки, ионы "ловятся" внутри квадруполья за счет запирающих потенциалов на входном и выходном концах. Затем, за счет резонансной радиочастоты они выбрасываются в направлении, перпендикулярном стержням квадруполья, и регистрируются двумя электронными умножителями. Такой механизм позволяет значительно увеличить популяцию захваченных ловушкой ионов, что ведет и к расширению динамического диапазона, и к улучшению чувствительности.

#### **6.2.5. Времяпролетный анализатор**

При исследовании соединений, непереводимых в газовую фазу, также популярны времяпролетные (TOF – Time Of Flight) масс-анализаторы. Мы ранее говорили, что ионы сортируются по массам за счет закономерностей движения за-

ряженных частиц в поле (магнитном или электростатическом). И это не совсем относится к времяпролетным анализаторам, поскольку в них, как раз, ионы движутся в бесполовом пространстве.

Ионы из источника разгоняются электрическим полем, приобретая достаточно большую кинетическую энергию, и вылетают в бесполовое пространство. На входе в это пространство все ионы имеют одинаковую кинетическую энергию, а если вспомнить всем известную формулу, выражающую величину кинетической энергии через массу и скорость ( $E=mv^2/2$ ), то, очевидно, что в зависимости от массы ионы будут двигаться с разными скоростями и, соответственно, в разное время достигнут детектора. Зарегистрировав их и измерив время, можно посчитать и их массу. Все процессы, о которых мы здесь говорим, происходят за миллионные доли секунды. На основе такого масс-анализатора можно построить очень быстрый (и чувствительный) масс-спектрометр, что может оказаться весьма выигрышным, особенно при анализе органических веществ, представляющих собой смесь огромного количества индивидуальных соединений (например, нефть).

Однако раньше аналитики использовали другое преимущество этого метода. С этим анализатором гораздо проще получить очень широкий диапазон масс, т.е. с его помощью легко измерять массы очень больших молекул. На базе квадрупольных анализаторов это сделать невозможно, т.к. недостаточно энергии для разгона больших молекул. Кроме того, магнитные анализаторы такого масштаба окажутся слишком большими (рабочий диапазон масс магнитного анализатора пропорционален магнитному полю).

Времяпролетные анализаторы оказались очень удачными для измерений масс огромных молекул (с массами в десятки и сотни тысяч атомных единиц). А наиболее подходящим методом ионизации оказался описанный выше MALDI.

#### **6.2.6. Орбитальная ловушка ионов**

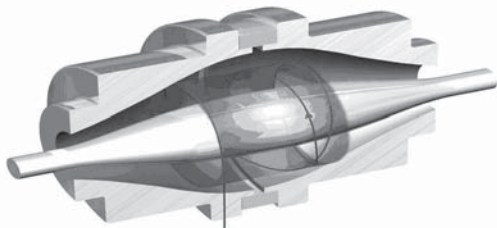
В июне 2005 года был представлен серийный масс-спектрометр, использующий новый масс-анализатор – орбитальную ловушку ионов (рис.6-6). Этот масс-



анализатор изобретен российским физиком Александром Макаровым, работающим в Thermo Fisher Scientific в Бремене (Германия).

Орбитальная ловушка ионов, или Orbitrap, не использует ни магнитных полей, как масс-спектрометр с двойной фокусировкой или ионно-циклотронным резонансом, ни радиочастот, как квадруполь или квадрупольные ионные ловушки. Новый масс-анализатор базируется на электростатической аксиально-гармонической орбитальной ловушке ионов. Орбитальная

ионная ловушка использует симметричное статическое электрическое поле между внешним и внутренним электродами специальной формы.



**Рис.6-6.** Орбитальная ловушка ионов.

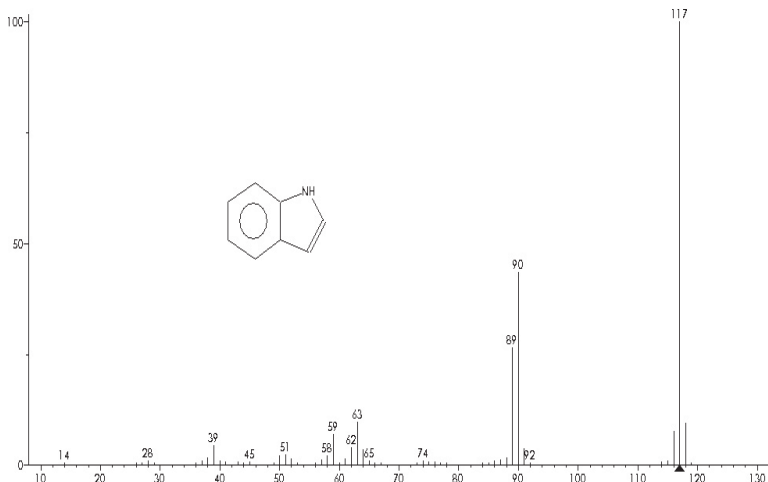
Попадающие в поле ионы начинают двигаться по стабильным циклическим траекториям вокруг центрального электрода и одновременно осциллировать вдоль оси центрального электрода. Это происходит благодаря тому, что введенные перпендикулярно центральной оси в ловушку ионы обладают потенциальной энергией из-за отклонения точки ввода от точки симметрии ловушки. Хотя радиальная и угловая частоты также зависят от  $m/z$  иона, гармоническая осцилляция ионов вдоль оси  $z$  не зависит от этих частот. По аналогии с ионно-циклотронным резонансом ион детектируется по наведенному изображению тока на внешних электродах. Частоты, соответствующие различным  $m/z$ , выделяются с помощью алгоритма Фурье преобразования, а затем конвертируются в масс-спектр.

Благодаря тому, что аксиальная осцилляция не зависит от энергии ионов, а электрическое поле устанавливается с высокой точностью и стабильностью, может быть достигнуто высокое разрешение, и масса анализируемого соединения

может быть измерена с высокой точностью. Орбитальная ловушка также характеризуется большей емкостью ионов. Большая емкость пространственного заряда по сравнению с ионно-циклотронной и квадрупольной ловушками позволяет достигать большей точности измерения массы, более широкого динамического диапазона и диапазона отношений величин массы к заряду. В течение первых же двух лет после появления этого масс-спектрометра он стал пользоваться большой популярностью во всем мире.

Повышенный интерес к этому прибору обусловлен возможностью рутинного достижения разрешения порядка 100000 на половине высоты пика, измерением точной массы иона, высокой чувствительностью, быстротой и легкостью работы, что востребовано в наиболее ответственных областях применения масс-спектрометрии, таких как протеомика, метаболомика, разработка и анализ лекарственных средств, допинговый анализ у спортсменов и многих других.

Мы описали процессы получения ионов, сортировки их по массам (анализа по массам), теперь нам осталось их чем-нибудь измерить. Измеряя массу ионов ( $m/z$ ) и их количество для каждой массы (интенсивность), мы и получим масс-спектр, который может, например, выглядеть, как это показано на рис.6-7.



**Рис.6-7.** Масс-спектр индола.

### 6.3. Система ввода пробы

Системы ввода образца представляют собой контролируемые натекатели для ввода пара анализата из резервуара, различные штоки для прямого ввода малолетучих жидкостей и твердых образцов и устройства для сопряжения хроматографического ввода вещества с масс-спектрометром, в основном после разделения методом газовой и жидкостной хроматографии. Образцы вводят в область высокого вакуума, где располагаются ионный источник, масс-анализатор и детектор ионов.

#### 6.3.1. Системы напуска

В масс-спектрометрии используют обычно три типа систем напуска пробы:

- холодные или обогреваемые стеклянные резервуары с натекателями,
- различные штоки для ввода через вакуумный шлюз
- системы, соединяющие масс-спектрометр с хроматографом в режиме on-line.

Учитывая необходимость поддержания высокого вакуума, в масс-спектрометрии используют такой достаточно простой способ ввода вещества, как контролируемые вязкостные или молекулярные натекатели. Однако их можно использовать только для веществ с достаточно высокой упругостью пара.

Более широкое распространение получили системы прямого ввода образцов с помощью штоков через вакуумный шлюз. Твердый или жидкий образец помещают в металлический тигель, который устанавливают в держатель нагреваемого штока. Шток через вакуумный шлюз вводят в ионизационную камеру и устанавливают напротив ионного источника. Температурно-программируемый нагрев штока обеспечивает поступление образца в источник. Использование подобных систем ограничено веществами с достаточным давлением пара при повышенной температуре (около 400°C). Выпускаются разнообразные модифицированные системы ввода пробы для работы в режиме мягкой ионизации.

При подготовке образцов для анализа нужно особенно тщательно избегать присутствия большого количества нелетучих солей. Следует также избегать загрязнения примесями (например, фталатами), часто присутствующими в растворителях.

### 6.3.2. Хромато-масс-спектрометрия

Наиболее важный и универсальный способ ввода вещества осуществляется посредством сочетания масс-спектрометра с хроматографом. Особенно широко используется сочетание газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ/МС) в режиме on-line. Этот метод используют для рутинного анализа во многих областях аналитической химии. За последние десять лет в массовом масштабе стал доступен метод, сочетающий в режиме on-line жидкостную хроматографию и масс-спектрометрию (ЖХ/МС). Разработка ЖХ/МС и способов ионизации в этом методе произвели революцию в масс-спектрометрии и областях ее применения. Учитывая важность методов ГХ/МС и ЖХ/МС, разберем более подробно экспериментальные и инструментальные аспекты этих методов.

#### Газовая хроматография – масс-спектрометрия

Стыковку капиллярного хроматографа и масс-спектрометра в режиме on-line можно осуществить двумя способами – напрямую или посредством открытого ввода с делителем потока.

Поток газа, проходящий через капиллярную хроматографическую колонку диаметром 0.25 мм, соответствует допустимой нагрузке на вакуумную систему масс-спектрометра. Поскольку компоненты, элюирующиеся из колонки, уже находятся в парообразном состоянии, возможен непосредственный ввод элюата в ионный источник масс-спектрометра, работающий в режиме электронного удара. Хотя такое прямое сочетание ис

пользуется довольно часто, этот подход обладает рядом недостатков. Выход колонки находится в условиях высокого вакуума, и это изменяет времена удерживания относительно данных, полученных при использовании других ГХ-детекторов, таких как пламенно-ионизационный.

Более того, скорость потока газа к ионному источнику изменяется в ходе температурной программы ГХ-анализа, что может влиять на параметры ионного источника. И наконец, попадание в масс-спектрометр всего количества вещества, введенного в колонку, приводит к резкому скачку давления в системе. При этом возможны негативные эффекты разъюстировки параметров,

особенно когда из колонки выходит пик растворителя. Проблемы, связанные с нагрузкой на нить источника, вызванные растворителем, легко преодолеваются выключением нити в процессе анализа.

Альтернативой прямому сочетанию хроматографа с масс-спектрометром является открытый ввод с делителем потока. Колонка соединена с ионным источником посредством неподвижного ограничителя. Дополнительный поток газа-носителя предназначен для компенсации любых отклонений в потоке, выходящем из колонки. В результате выход колонки находится при атмосферном давлении, как и в случае обычного ГХ-детектора. Увеличивая поток газа-носителя, можно эффективно отвести растворитель от масс-спектрометра.

### **Жидкостная хроматография-масс-спектрометрия**

Сочетание ЖХ/МС осуществить по ряду причин гораздо труднее, чем ГХ/МС:

- слишком велика газовая нагрузка на вакуумную систему вследствие испарения подвижной фазы;

- состав подвижной фазы (содержащей нелетучие добавки, такие, как фосфатные буферные растворы) часто несовместим с МС детектированием;

- затруднен перенос полярных или ионных веществ из жидкой в газовую фазу.

Для решения первой проблемы разработаны разнообразные интерфейсные системы. Вторую проблему нужно решать со стороны хроматографии, т. е. выбором летучих буферов или использованием переключения колонок. Третья проблема в основном решается использованием новых методов ионизации, в частности термо- и электрораспылительной, разработанных для сочетания ЖХ/МС.

Множество широко применяемых интерфейсных систем (систем сопряжения) для ЖХ/МС позволяет работать в широком диапазоне полярности исследуемых веществ и использовать потоки частиц для ионизации неполярных и слабополярных веществ. При анализе сильнополярных, полярных, ионных и высокомолекулярных веществ обычно применяют термораспылительную и химическую ионизацию при атмосферном давлении, проточную бомбардировку быстрыми атомами (ББА) и электрораспылительную ионизацию. За исключением проточного варианта ББА, все эти устройства работают при скоростях потока от 0.2 до 1 мл/мин со всеми растворителями,

обычно используемыми в обращенно-фазовой хроматографии, и летучими буферными растворами, такими, как ацетат аммония.

## **6.4. Характеристики масс-спектрометров и масс-спектрометрических детекторов**

Первые масс-спектрографы использовали в качестве детектора фотопластинку. В настоящее время используются диодные вторично-электронные умножители, в которых ион, попадая на первый диод, выбивает из него пучок электронов, которые в свою очередь, попадая на следующий диод, выбивают из него еще большее количество электронов и т.д.

Важнейшими техническими характеристиками масс-спектрометров являются чувствительность, динамический диапазон, разрешение и скорость сканирования.

### **6.4.1. Скорость сканирования**

Масс-анализатор, как мы показывали выше, пропускает ионы с определенным соотношением массы и заряда в определенное время (кроме многоколлекторных приборов и ионно-циклотронного резонанса, орбитальной ловушки ионов). Масс-спектрометр должен успеть измерить сигнал за короткое время, например за время выхода хроматографического пика, которое может составлять несколько секунд. При этом, чем больше масс-спектров за время выхода хроматографического пика будет измерено, тем точнее будет описан хроматографический пик, тем менее вероятно будет проскочить мимо его максимального значения, а с помощью математической обработки определить, является ли он индивидуальным, и "доразделить" его с помощью масс-спектрометрии.

Чтобы проанализировать все ионы по отношению их массы к заряду, масс-спектрометр должен проводить сканирование (развертку по всем массам в заданное время). Иными словами, параметры его поля должны за заданный промежуток времени проходить все значения, нужные для пропуска к детектору всех интересующих ионов. Эта скорость развертки поля называется

скоростью сканирования и должна быть как можно больше (соответственно, время сканирования – как можно меньше).

Самым медленным масс-анализатором является магнит, минимальное время его сканирования без особой потери чувствительности составляет доли секунды. Квадрупольный масс-анализатор может разворачивать спектр за десятые доли секунды, а ионная ловушка еще быстрее. Линейная ионная ловушка – еще быстрее, и чуть медленнее масс-спектрометр ионно-циклотронного резонанса.

Современный инновационный квадрупольный хромато-масс-спектрометр способен сканировать со скоростью около 11000 а.е.м. в секунду. Это открывает новые возможности, например, можно практически одновременно получать полный масс-спектр соединения для его однозначной идентификации и вести селективный мониторинг ионов (SIM), на несколько порядков понижающий предел обнаружения.

Любое сканирование всеми вышеперечисленными масс-анализаторами является компромиссным – чем больше скорость сканирования, тем меньше времени тратится на запись сигнала на каждое массовое число, тем хуже чувствительность. Однако, для обычного анализа скорости квадрупольного анализатора или ионной ловушки достаточно. Другой вопрос, когда речь идет о высокопроизводительном анализе сложных матриц. Для такой задачи лучше всего подойдет времяпролетный масс-спектрометр, который, способен записывать масс-спектры со скоростью 40000 а.е.м. в секунду!

#### **6.4.2. Разрешение**

Упрощенно, разрешение (разрешающую способность) можно определить как возможность анализатора разделять ионы с соседними массами. Очень важно иметь возможность точно определять массу ионов, это позволяет вычислить атомную композицию иона или идентифицировать пептид путем сравнения с базой данных, сократив число кандидатов с тысяч и сотен до единиц или одного единственного. Для магнитных масс-анализаторов, для которых расстояние между пиками масс-спектра не зависит от масс ионов, разрешение представляет собой величину равную  $M/DM$ . Эта величина, как правило,

определяется по 10 % высоте пика. Так, например, разрешение 1000 означает, что пики с массами 100.0 а.е.м. и 100.1 а.е.м. отделяются друг от друга, то есть не накладываются вплоть до 10 % высоты.

Для анализаторов, у которых расстояние между пиками меняется в рабочем диапазоне масс (чем больше масса, тем меньше расстояние), таких как квадрупольные анализаторы, ионные ловушки, времяпролетные анализаторы, строго говоря, разрешение имеет другой смысл. Разрешение, определяемое как  $M/DM$  в данном случае характеризует конкретную массу. Имеет смысл характеризовать эти масс-анализаторы по ширине пиков, величине, остающейся постоянной во всем диапазоне масс. Эта ширина пиков, обычно, измеряется на полувысоте. Для таких приборов ширина пика, на полувысоте равная 1, является неплохим показателем и означает, что такой масс-анализатор способен различить номинальные массы, отличающиеся на атомную единицу массы практически во всем его рабочем диапазоне. Номинальной массой или массовым числом называют ближайшее к точной массе иона целое число в шкале атомных единиц массы. Например, масса иона водорода  $H^+$  равна 1.00787 а.е.м., а его массовое число равно 1. Масс-анализаторы, которые в основном измеряют номинальные массы, называют анализаторами низкого разрешения. Мы написали "в основном", потому что сейчас есть и такие масс-анализаторы, которые формально относятся к низкоразрешающим, а на деле таковыми уже не являются. Высокая технология уже сегодня предложила на рынок аналитического оборудования высокоразрешающие квадрупольные приборы.

Ионные ловушки в узком диапазоне масс также могут работать как масс-спектрометры высокого разрешения, обеспечивая, как минимум, разделение пиков, отстоящих на 1/4 а.е.м. друг от друга. Масс-спектрометры с двойной фокусировкой (магнитной и электростатической), ионно-циклотронного резонанса – приборы среднего или высокого разрешения. Типичное разрешение магнитного масс-спектрометра – 60000, а работа на уровне разрешения 10000-20000 является рутинной. На масс-спектрометре ионно-циклотронного резонанса, на массе около 500 а.е.м., можно легко достигнуть разрешения 500000, что позволяет проводить измерения массы ионов с точностью до 4-5 знака после запятой. Разрешения в несколько тысяч также можно до-



биться при использовании времяпролетных масс-анализаторов. Однако на высоких массах, в области которых, собственно этот прибор имеет преимущество перед другими, и этого разрешения хватает лишь для того, чтобы измерить массу иона с точностью  $\pm$  десятков а.е.м.

Как видно из вышесказанного, разрешение тесно связано с другой важной характеристикой – точностью измерения массы. Проиллюстрировать значение этой характеристики можно на простом примере. Массы молекулярных ионов азота ( $N_2^+$ ) и монооксида углерода ( $CO^+$ ) составляют 28.00615 а.е.м. и 27.99491 а.е.м., (оба характеризуются одним массовым числом 28). Эти ионы будут регистрироваться масс-спектрометром порознь при разрешении 2500, а точное значение массы даст ответ – какой из газов регистрируется. Измерение точной массы доступно на приборах с двойной фокусировкой, на некоторых тандемных квадрупольных масс-спектрометрах и на масс-спектрометрах ионно-циклотронного резонанса.

#### **6.4.3. Динамический диапазон**

Если мы анализируем смесь, содержащую 99.99 % одного соединения или какого-либо элемента и 0.01% какой-либо примеси, мы должны быть уверены, что правильно определяем и то, и другое. Для того, чтобы быть уверенным в определении компонентов в этом примере, нужно иметь диапазон линейности в 4 порядка. Современные масс-спектрометры для органического анализа характеризуются динамическим диапазоном в 5-6 порядков, а масс-спектрометры для элементного анализа 9-12 порядков. Динамический диапазон в 10 порядков означает, что примесь в пробе будет видна даже тогда, когда она составляет 10 миллиграмм на 10 тонн.

#### **6.4.4. Чувствительность**

Это одна из важнейших характеристик масс-спектрометров. Чувствительность – это величина, показывающая, какое количество вещества нужно ввести в масс-спектрометр для того, чтобы его можно было детектировать. Для просто-

ты будем рассматривать связанный с чувствительностью параметр – минимальное определяемое количество вещества, или порог обнаружения. Типичная величина порога обнаружения хорошего хромато-масс-спектрометра, используемого для анализа органических соединений, составляет 1 пикограмм при вводе 1 микролитра жидкости.

Давайте представим себе, что это такое. Если мы наберем специальным шприцом 1 микролитр жидкости (одна миллионная доля литра) и выпустим ее на листок чистой белой бумаги, то при ее рассмотрении в лупу мы увидим пятнышко, равное по размерам следу от укола тонкой иглой. Теперь представим себе, что мы бросили 1 грамм вещества (например, одну таблетку аспирина) в 1000 тонн воды (например, бассейн длиной 50 метров, шириной 10 метров и глубиной 2 метра). Тщательно перемешаем воду в бассейне, наберем шприцом 1 микролитр этой воды и заколем в хромато-масс-спектрометр. В результате анализа мы получим масс-спектр, который мы сможем сравнить с библиотечным спектром, и методом отпечатков пальцев убедиться в том, что это действительно ацетилсалициловая кислота, иначе называемая аспирином.

Пределы обнаружения неорганических веществ, например, методом ICP/MS (FINNIGAN ELEMENT2) еще более впечатляющие. Здесь бассейн уже будет маловат для приготовления раствора с концентрацией, соответствующей пределу обнаружения. Предел обнаружения для FINNIGAN ELEMENT2 по ряду металлов составляет 1 ppq (одна доля на квадриллион). Это значит, что чувствительность прибора достаточна, чтобы детектировать 1 килограмм металла (например, ртути, свинца и т.д.), растворенного в озере Байкал (при условии его перемешивания и полного растворения)!

В масс-спектрометрии изотопов, например, достаточно 800-1000 молекул диоксида углерода, чтобы получить сигнал углерода. Чтобы продемонстрировать, с какими точностями и изотопными чувствительностями имеет дело изотопная масс-спектрометрия, прибегнем к следующей аллории. Предположим на одну тысячу совершенно одинаковых яблок, каждое из которых весит 100 грамм, приходится 11 яблок, весящих на 8 % больше, то есть 108 грамм. Все эти яблоки собраны в одном мешке. Этот пример соответствует соотношению изотопов углерода в природе – на 1000 атомов  $^{12}\text{C}$  приходится 11 атомов  $^{13}\text{C}$ .

Изотопная масс-спектрометрия измеряет соотношения, то есть она способна различить не просто эти 11 яблок, а найти среди многих мешков те, в которых из 1000 стограммовых яблок не 11 стовосьмиграммовых, а 10 или 12. Этот пример очень легкий для изотопной масс-спектрометрии, на самом деле есть такие приборы, которые способны определить разницу в один изотоп (одно стовосьмиграммовое яблоко) среди десяти миллионов атомов (десяти миллионов яблок).

Чувствительность является важнейшей характеристикой и при анализе органических соединений.

Для того, чтобы достигнуть как можно большей чувствительности при улучшении отношения сигнала к шуму, прибегают к детектированию по отдельным выбранным ионам. Выигрыш в чувствительности и селективности при этом колоссальный, но при использовании приборов низкого разрешения приходится приносить в жертву другой важный параметр – достоверность. Ведь если Вы записывали только один пик из всего характеристического масс-спектра, Вам понадобится еще много поработать, чтобы доказать, что этот пик соответствует именно тому компоненту, который Вас интересует. Как же разрешить эту проблему? Использовать высокое разрешение на приборах с двойной фокусировкой, где можно добиться высокого уровня достоверности, не жертвуя чувствительностью. Или использовать тандемную масс-спектрометрию, когда каждый пик, соответствующий одиночному иону, можно подтвердить масс-спектром дочерних ионов. Итак, абсолютным рекордсменом по чувствительности является органический хромато-масс-спектрометр высокого разрешения с двойной фокусировкой.

По характеристике сочетания чувствительности с достоверностью определения компонентов следом за приборами высокого разрешения идут ионные ловушки. Классические квадрупольные приборы нового поколения имеют улучшенные характеристики благодаря ряду инноваций, примененных в них, например, использованию искривленного квадрупольного префильтра, предотвращающего попадание нейтральных частиц на детектор и, следовательно, снижающего уровень шума.

Другой вариант – фотоумножители, регистрирующие свечение, возникающее при бомбардировке ионами люминофора. Кроме того, используются микроканальные умножители, системы типа диодных матриц и коллекторы, собираю-

щие все ионы, попавшие в данную точку пространства (коллекторы Фарадея). Подробности детектирования ионов можно найти в специальной литературе.

## 6.5. Аналитический эксперимент

### 6.5.1. Качественный анализ

Одна из важнейших частей информации о веществе, которую можно получить методом масс-спектрометрии, – это относительная молекулярная масса  $M$ . Обычно исходной точкой анализа является спектр ЭУ при условии, что вещество чистое и достаточно летучее. Задача осложняется тем, что не все соединения дают в масс-спектре пик молекулярного иона.

Можно провести другие эксперименты. Например, получить спектр ЭУ при более низких энергиях электронов или использовать мягкую ионизацию. Однако методы мягкой ионизации нужно выбирать с осторожностью, поскольку они достаточно избирательны. Многие неполярные соединения, которые не могут легко присоединять протоны (например, полиароматические соединения), практически нечувствительны к методам мягкой ионизации. Когда использование методов мягкой ионизации успешно, наличие других пиков, кроме протонированных, например, при  $m/z = M + 17$ ,  $+22$  и/или  $+38$ , образующихся при присоединении молекул аммиака, натрия или калия, бывает полезно для правильного определения молекулярной массы. В некоторых случаях используют специальные добавки к реагентному газу в ХИ, например дейтерированные соединения.

Хотя установление молекулярной массы является непростой задачей, на практике информация о природе вещества, его физико-химических свойствах и опыт, накопленный в МС, в большинстве случаев приводят к уверенному определению молекулярной массы.

#### Определение элементного состава

Для определения элементного состава неизвестного соединения из масс-спектральных данных применяются обычно два метода: 1) точное измерение масс и/или 2) расчеты интенсивностей пиков в изотопных кластерах.

С использованием масс-спектрометра высокого разрешения можно измерить молекулярные массы с точностью до  $10^{-3}$  а.е.м. и ниже при помощи внутреннего стандарта известной массы. Однако даже с этой точностью редко получают четкое совпадение с одним элементным составом. Число возможных составов возрастает с увеличением числа элементов, которые, как предполагается, присутствуют в молекуле, и с увеличением молекулярной массы, но число возможных комбинаций в этом списке обычно относительно невелико.

### **Определение структуры**

Следующий этап качественного анализа после определения молекулярной массы и состава – интерпретация пиков в масс-спектре для оценки структуры соединения. Интерпретация пиков требует большого практического опыта.

Фрагментация молекулярного иона представляет собой сложную сеть конкурирующих и последовательных реакций, выход которых определяется устойчивостью как исходных, так и образующихся ионов. Масс-спектр отражает результаты этих процессов. Устойчивость и интенсивность пиков молекулярного иона уменьшается в рядах:

***ароматические соединения>сопряженные алкены>  
циклические соединения>***

***органические сульфиды>короткие алканы>меркаптаны***

***кетоны > амины>сложные эфиры>простые эфиры>  
>карбоновые кислоты, альдегиды и амиды***

Существует ряд факторов, определяющих устойчивость иона:

- а) наличие октета электронов, например, ион  $R_4N^+$  более устойчив, чем  $R_3C^+$ ;
- б) обобществление электрона с участием несвязывающих электронных орбиталей гетероатома;
- в) резонансная стабилизация или делокализация;

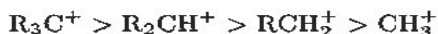
г) локализация заряда в благоприятном положении, например, определяемом электроотрицательностью.

Осколочные ионы можно использовать для определения структуры, поскольку они образовались в результате структурно-специфического расщепления. При фрагментации нечетно-электронного ион-радикала  $AB^{\bullet+}$  возможны два конкурирующих процесса: принятие заряда частицей А или В. Правило Стивенсона гласит, что в случае простого расщепления связи заряд перейдет на фрагмент с меньшей энергией ионизации. Отсюда следует несколько правил фрагментации, относящихся к случаю простого расщепления связи:

- интенсивность молекулярного иона уменьшается с увеличением разветвления в молекуле;

- интенсивность молекулярного иона в гомологическом ряду уменьшается с увеличением массы, исключением являются жирные кислоты;

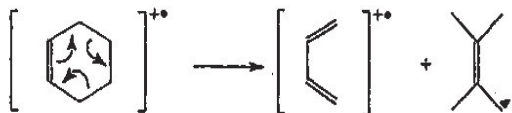
- отщепление по связи с алкильным заместителем весьма вероятно вследствие устойчивости образующегося карбониевого иона:



Наиболее объемный заместитель легче всего удаляется в виде радикала.

Двойные связи и ароматические кольца имеют тенденцию стабилизировать молекулярный ион.

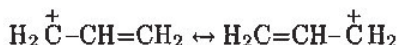
Насыщенные циклы теряют боковые цепи расщеплением по  $\alpha$ -положению, при этом заряд сохраняется в кольце. Ненасыщенные циклы подвергаются ретро-реакции Дильса-Альдера:



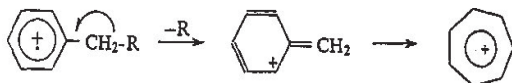
Молекулы, содержащие гетероатомы, двойные связи и ароматические кольца, подвергаются реакциям расщепления двух типов – гомолитическому и гетеролитическому расщеплению.

1. Гомолитическое расщепление – фрагментация осуществляется по связи, находящейся через одну от радикала. В результате образуется карбониевый ион с делокализованным зарядом. В соединениях с двойной связью происходят

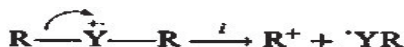
реакции аллильного расщепления, приводящие к резонансно-стабилизированному аллильному карбониевому иону:



В алкилзамещенных ароматических соединениях имеет место расщепление в  $\alpha$ -положении к бензольному кольцу, в результате чего образуется резонансно-стабилизированный бензильный ион или тропилиевый ион ( $\text{C}_7\text{H}_7^+$ , семичленный цикл):



2. Гетеролитическое расщепление – расщепляется связь, соседняя с зарядом, локализованным на гетероатоме, например, С-С связь, соседняя с гетероатомом (N, O и др.). Заряд остается на фрагменте, содержащем гетероатом, вследствие резонансной стабилизации под влиянием несвязывающих электронов.

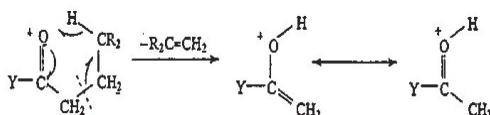


Y может быть атомом кислорода, азота, серы или галогена. Разрыв связи с атомом в  $\alpha$ -положении по отношению к карбонильной группе является другим примером этого типа расщепления. В результате образуется стабильный катион ацилия.



3. Расщепление часто сопровождается элиминированием небольших, устойчивых нейтральных молекул, таких, как  $\text{CCl}_4$ , алкены, вода, аммиак и др.

группировки играют важную роль в тех случаях, когда внутренняя энергия ионов понижается. Происходят медленные и низкоэнергетические реакции. При ЭУ (70 эВ) имеет смысл обсуждать только простые перегруппировки, включающие элиминирование устойчивой молекулы через циклическое переходное состояние. Примером является перегруппировка Мак-Лафферти:



- где Y может обозначать -H, -R, -OH, -OR или -NR<sub>2</sub>. Особенностью этой реакции является образование осколочного иона с четной массой из молекулярного иона с четной массой в противоположность простому расщеплению, при котором образуется нечетномассовый осколочный ион из четномассового молекулярного иона.

При интерпретации масс-спектров сначала следует обратить внимание на наиболее важные пики, т. е. пики с большой интенсивностью и большими величинами m/z; в табл.6-1 приведены основные характеристические ионы, а в табл. 6-2 – наиболее характерные потери массы, наблюдаемые в спектрах ЭУ.

Научиться интерпретировать масс-спектры можно только на практике, используя многочисленные подходы в зависимости от требуемой информации.

<i>m/z</i>	<i>Ион</i>	<i>Возможные предшественники осколочных ионов</i>
15	CH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	Метил, алкан
29	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> или HCO <sup>+</sup>	Алкан, альдегид
30	CH <sub>2</sub> =NH <sub>2</sub> <sup>+</sup>	Амин
31	CH <sub>2</sub> =OH <sup>+</sup>	Простой эфир или спирт
43	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> или CH <sub>3</sub> CO <sup>+</sup>	Алкан, кетон
45	CO <sub>2</sub> H <sup>+</sup> или CHS <sup>+</sup>	Карбоновая кислота, тиофен
50, 51	C <sub>4</sub> H <sub>2</sub> <sup>+</sup> ; C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> <sup>+</sup>	Арильная группа
77	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>	Фенил
83	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> <sup>+</sup>	Циклогексан
91	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup>	Бензил (ион тропилия)
105	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Замещенный бензол
	CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> <sup>+</sup>	Дизамещенный бензол
	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO <sup>+</sup>	Бензоил

**Табл.6-1.** Характеристические осколочные ионы в масс-спектрах ЭУ.



<i>m/z</i>	<i>Состав</i>	<i>Возможные предшественники осколочных ионов</i>
15	CH <sub>3</sub>	Метильные производные
16	CH <sub>4</sub>	Метильные производные
	NH <sub>2</sub>	Амиды
	O	Оксиды азота
17	ОН	Кислоты, третичные спирты
18	H <sub>2</sub> O	Спирты, альдегиды
19	F	Фториды
20	HF	Фториды
26	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	Ароматическисоединения
27	HCN	Нитрилы, гетероароматические соединения
28	CO	Фенолы
29	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	Простые эфиры
	N <sub>2</sub>	Азосоединения
	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Алкилпроизводные
30	CH <sub>2</sub> O	Метоксипроизводные
	NO	Ароматические нитросоединения
31	CH <sub>3</sub> O	Метоксипроизводные
32	CH <sub>3</sub> OH	Метилловые сложные эфиры
33	H <sub>2</sub> O + CH <sub>3</sub>	Спирты
	HS	Меркаптаны
35	Cl	Хлорпроизводные
36	HCl	Хлорпроизводные
42	CH <sub>2</sub> CO	Ацетаты
43	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	Пропильные производные
44	CO <sub>2</sub>	Ангидриды
46	NO <sub>2</sub>	Ароматические нитросоединения
50	CF <sub>2</sub>	Фториды

**Табл.6-2.** Характеристические потери массы в масс-спектрах ЭУ.

## Библиотеки масс-спектров

Для идентификации вещества масс-спектры электронного удара можно сравнивать с результатами поиска в библиотеках спектров.

Библиотеки масс-спектров являются мощным средством, позволяющим выявить структуры масс-спектров ЭУ. В большинстве из них поиск возможен в режиме on-line. Из информации об измеренном спектре выбирают только небольшой объем данных о наиболее важных пиках, и эти данные сравнивают с библиотечными спектрами. Согласие между измеренным спектром и библиотечным образцом выражается некоторым численным фактором, обычно лежащим в диапазоне 0 и 1000, где значение 1000 соответствует идеальному совпадению. Десять наилучших библиотечных спектров выводятся на экран для последующей визуальной обработки пользователем.

Компьютеризованный поиск в библиотеках спектров оказывается весьма полезным, так как он дает направления поиска в случае анализа совершенно неизвестных образцов или предоставляет надежные данные для подтверждения того, что исследуемое вещество действительно присутствует в образце. Однако следует отметить, что наиболее часто используемые библиотеки содержат всего лишь от 20 000 до 150 000 масс-спектров, а число известных соединений на сегодняшний день составляет 12 000 000. Таким образом, результаты поиска в компьютерных базах данных нельзя воспринимать как истину в последней инстанции.

При использовании такого поиска следует твердо придерживаться следующего правила: в то время как компьютер позволяет быстро сравнить измеренный масс-спектр с библиотечным, окончательное решение об идентификации исследуемого соединения делает пользователь после тщательного изучения данных и результатов компьютерной обработки.

Поиск в компьютерных базах данных в случае масс спектрометрии с ионизацией электронным ударом является достаточно мощным средством благодаря как экономии времени, так и межлабораторной воспроизводимости спектров электронного удара. В случае методов мягкой ионизации и десорбционной химической ионизации ситуация совершенно противоположна.

В этих случаях масс-спектры настолько сильно зависят от экспериментальных условий, что накопление универсальных библиотек становится невоз-

можным. Однако в некоторых случаях использование библиотек внутри одной лаборатории может быть оправданным.

### 6.5.2. Количественный анализ

В количественном анализе в большинстве случаев масс-спектрометрию используют в сочетании с хроматографическими методами. В этом случае масс-спектрометр работает в режиме полного сканирования или, гораздо чаще, в режиме селективного сканирования ионов. Очевидно, что преимущество селективного сканирования ионов заключается в увеличении отношения сигнал/шум из-за большего времени накопления данных для интересующих ионов. Однако селективное сканирование ионов также означает и уменьшение объема информации, получаемой из масс-спектра.

Хорошим компромиссом является определение нескольких специфических ионов для каждого компонента при использовании селективного сканирования ионов. В этом случае интересующее нас соединение считается найденным только тогда, когда относительные интенсивности выбранных пиков находятся в заданных пределах, а выбранные пики имеют максимальную интенсивность в заданном окне времени. Если в количественном анализе применяют методы мягкой ионизации – например, в случае сочетания масс-спектрометрии и жидкостной хроматографии, – необходимо использовать тандемную МС, так как из-за отсутствия фрагментации только сам специфический ион присутствует в спектре. Селективный мониторинг реакции при помощи тандемной масс-спектрометрии обеспечивает более высокую надежность определения.

Как и в других методах количественного анализа, крайне желательно использовать внутренние стандарты, чтобы учесть не только погрешности на стадии пробоподготовки, но и погрешности за счет выхода ионизации. В масс-спектрометрии можно выбрать почти идеальный внутренний стандарт сравнения. Так как такой образец должен отсутствовать в исследуемом веществе и иметь физико-химические свойства, близкие к интересующему нас соединению, чаще всего выбирают вещества с изотопной меткой, как наиболее удовлетворяющие данным требованиям. Масс-спектрометрия позволяет различить естественные

и меченые соединения. В ГХ/МС анализе меченый внутренний стандарт обычно имеет несколько меньшее время удерживания.

Важной характеристикой значимости количественного метода является предел обнаружения определяемых веществ. Для ГХ/МС, в зависимости от типа используемого оборудования, достигнуты величины порядка  $10^{-12}$  -  $10^{-15}$  г.

## 7. Приложение

### 7.1. Определение ментола в сигаретах колориметрическим методом

#### 7.1.1. Реагенты и оборудование

1. Аппарат для перегонки.
2. Спектрофотометр.
3. Стандартный раствор ментола – 1 мг/мл. Взвешивают 10 мг ментола и растворяют в 10 мл спирта.
4. DMAВ индикатор. Растворяют 0.5 г раствора диметиламинобензальдегида в 100 мл 10%-ной  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

#### 7.1.2. Приготовление стандартных растворов

Отбирают из стандартного раствора ментола аликвоты, соответствующие 0, 3, 4, 6, 8 и 10 мг ментола и доводят до 100 мл спиртом в мерных колбах. К 1 мл каждого стандарта в пробирке добавляют 5 мл раствора индикатора, перемешивают и помещают в кипящую водяную баню на 2 минуты, затем охлаждают водой до комнатной температуры. Через 15 минут измеряют оптическую плотность  $D$  при 550 нм, используя в качестве сравнения 0 стандартный раствор. Строят калибровочный график (концентрация ментола, мг/100 мл –  $D$ ).

#### 7.1.3. Ход определения

Взвешивают 2.00–2.15 г табака и переносят его в перегонную колбу. Добавляют 80 мл  $\text{H}_2\text{O}$  и опускают в перегонную колбу несколько капилляров для равномерного кипения. В качестве приемника используют мерную колбу объемом 100 мл с небольшим количеством (20 мл) спирта.

Медленно начинают перегонку и опускают приемник так, чтобы кончик холодильника не был погружен в спирт. Отбирают 20 – 25 мл отгона (всего 40 – 45 мл). Отсоединяют приемник и промывают его небольшим количеством спир-

та. Доводят раствор до метки и перемешивают. Отобирают 1 мл дистиллята в 10 мл пробирку, добавляют 5 мл индикатора, перемешивают и помещают в кипящую водяную баню на 2 минуты, после чего охлаждают до комнатной температуры. Через 15 минут измеряют оптическую плотность ( $D$ ) при 550 нм, используя в качестве сравнения 0 стандартный раствор. Определяют содержание ментола по калибровочному графику.

## **7.2. Анализ содержания углеводов и их производных в атмосфере методом ГЖХ**

### **7.2.1. Реагенты и оборудование**

1. Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с пламенно-ионизационным детектором.
2. Весы аналитические.
3. Электроаспиратор.
4. Термометр: пределы измерения от минус 35 до 40°C.
5. Колбы мерные.
6. Микродозатор.
7. Колонка хроматографическая капиллярная.
8. Микрошприц.
9. Термодесорбер.
10. Шприц медицинский вместимостью 1 - 2 мл.
11. Сорбционная трубка.
12. Пробирки.
13. Бензол (х. ч.), вода дистиллированная, гексан (ч.), кислота уксусная ледяная (х. ч.), *m*-ксилол (х. ч.), *o*-ксилол (х. ч.), *p*-ксилол (х. ч.), нитрилотрипропионитрил для хроматографии (ч.), полисорб-10, толуол (х.ч.), этилбензол (х. ч.)

Методика предназначена для определения концентрации бензола, толуола, этилбензола и ксилолов в атмосферном воздухе населенных пунктов. Диапазон измеряемых концентраций ароматических углеводов, а также значения

максимальной разовой и среднесуточной предельно допустимых концентраций в атмосферном воздухе (ПДК) представлены в таблице.

Определяемое вещество	ПДК (мг/м <sup>3</sup> )	Диапазон измеряемых концентраций (мг/м <sup>3</sup> )
Бензол	1.5	0.02 - 5
Толуол	0.6	0.02 - 5
Этилбензол	0.02	0.02 - 5
Ксилолы (смесь изомеров)	0.2	0.02 - 5

**Табл. 7-1.** ПДК и диапазон измеряемых концентраций ароматических углеводородов в атмосферном воздухе.

Определяемые вещества улавливают в трубке, заполненной полисорбом-10, и выполняют газохроматографический анализ с применением термодесорбера.

### 7.2.2. Приготовление стандартных растворов

Раствор нитрилотрипропионитрила. 1 г нитрилотрипропионитрила растворяют в 100 мл ацетона. Градуировочный раствор А. В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> наливают 20–30 мл уксусной кислоты и отвешивают в нее по 250–300 мг бензола, толуола, этилбензола, *орто*-, *мета*- или *пара*-ксилола, после чего добавляют до метки уксусной кислоты. Введение углеводородов в колбу производят микродозатором (1 см<sup>3</sup>) таким образом, чтобы капли попадали прямо в раствор. После приготовления градуировочный раствор А используют для установления градуировочной характеристики, а его остатки хранят в запаянных стеклянных ампулах. Срок хранения – 6 мес. в защищенном от света месте.

### 7.2.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты хроматографического пика определяемого вещества от его массы, устанавливают по

четырем сериям градуировочных растворов. Каждую серию, состоящую из восьми градуировочных растворов, готовят последовательным разбавлением градуировочного раствора А.

В восемь пронумерованных пробирок вместимостью 10 мл наливают по 5 мл уксусной кислоты. Отбирают пипеткой 5 мл градуировочного раствора А и переносят его в пробирку 1. Закрывают пробирку пробкой, перемешивают ее содержимое, после чего 5 мл полученного раствора 1 переносят в пробирку 2 и снова перемешивают. Аналогично готовят градуировочные растворы 2–8. Для хранения градуировочные растворы 1–8 наливают в стеклянные ампулы по 0.5 см<sup>3</sup> и запаивают. Срок хранения растворов 3 месяца в защищенном от света месте.

Концентрацию каждого определяемого вещества в градуировочном растворе рассчитывают с помощью программы Хроматек – Аналитик. Градуировку проверяют один раз в неделю. Результат измерения не должен отличаться более чем на 5 % от полученного при градуировке. В противном случае градуировку повторяют.

#### **7.2.4. Подготовка сорбционных трубок**

Сорбционные трубки, содержат в качестве сорбента полисорб-10. Перед отбором проб каждую трубку продувают азотом в термодесорбере при температуре 300°C. Подготовленные трубки должны быть использованы для отбора проб и анализа в течение 1 месяца.

#### **7.2.5. Ход определения**

Отвинчивают накидные гайки на концах сорбционной трубки, присоединяют трубки к аспиратору в соответствии с обозначенным направлением потока воздуха и пропускают через сорбент 10 л анализируемого воздуха с расходом 0.5 л/мин. После отбора пробы вновь герметизируют концы трубки. Сорбционную трубку помещают в термодесорбер и проводят анализ, согласно инструкции к термодесорберу и хроматографу.

Условия проведения анализа подбираются экспериментально, исходя из паспортных данных колонки и результатов хроматографирования. Вычисление результатов измерения проводят с помощью программы Хроматек – Аналитик.



### **7.3. Определение железа фотоколориметрическим методом**

#### **7.3.1. Реагенты и оборудование.**

1. Фотоэлектрический колориметр.
2. Мерные колбы 100 мл.
3. Микродозатор.
4. Стеклянные стаканчики на 50 мл.
5. Воронки стеклянные.
6. Сульфосалициловая кислота. Готовят 10%-ный раствор сульфосалициловой кислоты (объем 30мл).
7. Аммиак, разбавленный раствор. Смешивают 20 мл концентрированного раствора аммиака с 30 мл воды.

#### **7.3.2. Приготовление стандартных растворов**

Приготовление стандартного раствора сульфата железа. Растворяют около 80 мг сульфата железа в 50 мл дистиллированной воды, к раствору добавляют 1 мл серной кислоты пл. 1.84 г/см<sup>3</sup> и разбавляют в мерной колбе водой до 100 мл. Отбирают 10 мл полученного раствора, разбавляют водой в мерной колбе снова до 100 мл и рассчитывают содержание железа в 1 мл раствора.

#### **7.3.3. Установление градуировочной характеристики**

Для построения калибровочной кривой наливают 0.5, 1, 1.5, 2 мл стандартного раствора железа, затем приливают 0.5, 1, 1.5, 2 мл дистиллированной воды ( $V_1$  (H<sub>2</sub>O)), 0.5 мл раствора сульфосалициловой кислоты, 0.5 мл раствора аммиака, разбавляют до 5 мл дистиллированной водой ( $V_2$  (H<sub>2</sub>O)), значения вносят в таблицу.

Для каждого из приготовленных растворов 0.5, 1, 1.5, 2 мл стандартного раствора железа (соответственно) рассчитывают концентрацию ионов Fe<sup>3+</sup> (мг/л) и вносят данные в таблицу.

Затем измеряют оптическую плотность ( $D$ ) 3 раза для каждого из полученных растворов при длине волны, равной 420 – 430 нм по отношению к холостому раствору. В таблицу вносят среднее арифметическое значение.

Строят калибровочный график, откладывают по оси ординат оптическую плотность, а по оси абсцисс концентрацию ионов железа

№ колбы	$C(Fe^{3+})$ (мг/л)	$V_1$ ( $H_2O$ ) мл	$NH_3$ водный	Сульфосалицил овая кислота	$V_2$ ( $H_2O$ )	Оптическая плотность ( $D$ )
1						
2						
3						
4						

**Табл.7-2.** Градуировочная таблица.

#### 7.3.4. Ход определения

В мерную колбу вместимостью 50 мл наливают 10 мл анализируемой воды. В этом объеме должно содержаться от 1 до 10 мкг железа, что соответствует концентрациям от 0.1 до 1 мг/л. Более концентрированные по содержанию железа сточные воды предварительно разбавляют в мерной колбе так, чтобы содержание железа в 10 мл полученного раствора было в указанных пределах. Затем в пробирку приливают 5 мл раствора сульфосалициловой кислоты, 5 мл раствора аммиака и перемешивают.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 420 – 430 нм по отношению к холостому раствору. Содержание ионов железа в пробе определяют по калибровочному графику.

## **7.4. Определение Fe, Cd, Cu, Pb методом инверсионной вольтамперометрии (ИВА)**

### **7.4.1. Реагенты и оборудование**

1. Полярограф ТА-4 с программным обеспечением VaLabTX,
2. Микродозаторы объемом до 1000 мкл,
3. Дистиллированная вода, муравьиная кислота (конц.) (о.с.ч.), азотная кислота (конц.) (х.ч.), раствор соли одновалентной ртути  $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$  (о.с.ч.), стандартные растворы ГСО

Выполнение измерений проводят в три этапа: отмывка электрохимической ячейки; проверка стаканчиков, фонового раствора и электродов на чистоту; измерение концентраций определяемых элементов в анализируемой пробе воды. При необходимости проводят проверку работоспособности электродов методом “введено-найдено”. Все операции выполняют в соответствии с инструкцией к анализатору ТА-4.

### **7.4.2. Подготовка РПЭ и отмывка электрохимической ячейки**

Ртутно-пленочный электрод (РПЭ) опускают в концентрированную азотную кислоту на 2-3 секунды, затем ополаскивают дистиллированной водой. Вставляют хлор-серебряный электрод (ХСЭ) сравнения и РПЭ в ячейку А. Наливают полстаканчика дистиллированной воды, устанавливают его в ячейку. Производят отмывку в течение 10 сек. Заменяют стаканчик на бюкс с нитратом ртути. Снова заменяют бюкс на стаканчик с дистиллированной водой и проводят отмывку повторно. Вынимают электрод, ополаскивают и помещают в защитный колпачок. То же самое проделывают с оставшимися двумя электродами.

Устанавливают электроды в ячейку анализатора. 3 стаканчика заполняют дистиллированной воды наполовину и помещают в анализатор. Процедуру отмывки повторяют 2 раза по 1 мин. Проверяют ячейки на чистоту, для этого снимают

фон. Стаканчики можно считать чистыми, если ток по элементам не превышает значений (см. таблицу).

Элемент	Zn	Cd	Pb	Cu
I, mA	40	10	15	15

**Табл. 7-3.** Максимальные значения остаточного тока определяемых элементов.

### 7.4.3. Ход определения

Одновременное определение Zn, Cd, Pb, Cu проводят при соразмерных концентрациях элементов.

В проверенные на чистоту стаканчики наливают 10 мл пробы. В стаканчик с пробой добавляют 0.2 мл концентрированной муравьиной кислоты. Стаканчики помещают в анализатор.

Загружают методику “Определение ТМ”. Изменяют время накопления на 60 сек. Устанавливают параметры пробы: объем аликвоты - 10.0 мл; без минерализации.

Проводят регистрацию вольтамперограмм пробы. Если пики элементов не проявляются, увеличивают время накопления до 120 - 200 сек. Каждая проба облучается 300 сек. один раз. При повторной регистрации вольтамперограмм пробы уменьшают время подготовки до 30 сек.. Регистрируют 2-3 воспроизводимые вольтамперограммы.

Устанавливают время подготовки 30 сек. выводят на экран таблицу с рекомендуемыми добавками аттестованных смесей. Вносят рекомендуемые добавки аттестованных смесей Zn, Cd, Pb, и Cu в каждую ячейку.

Проводят регистрацию вольтамперограмм пробы с добавкой. Если добавка оказалась мала (высоты пиков увеличились менее чем на 50%), делают еще одну добавку, чтобы пики выросли на 50-150%, при этом исправляют в таблице па-

раметров добавки объем (концентрацию) добавки на большую с учетом уже сделанной и повторяют регистрацию вольтамперограмм пробы с добавкой.

Обрабатывают полученные вольтамперограммы. Выполняют команду “Расчет”. В результате получают по три значения концентраций определяемых элементов в исходной пробе.

После проведения анализа стаканчики и электроды промывают бидистиллированной водой.

## **7.5. Анализ железа, меди и свинца атомно-абсорбционным методом**

### **7.5.1. Реагенты и оборудование**

1. Спектрофотометр AAS,
2. Весы аналитические,
3. Автоматический дозатор,
4. Стаканы,
5. Вода дистиллированная,
6. Водорода перекись (ч.).

Метод основан на измерении селективного поглощения в пламени атомами свинца, меди и железа излучения резонансных линий атомов этих элементов от внешнего источника света (метод атомно-абсорбционной спектrophотометрии).

### **7.5.2. Установление градуировочной характеристики**

Рабочие растворы с массовой концентрацией металлов 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 и 5.0 мг/л готовят в соответствии с инструкцией по применению стандартных образцов. Градуировочную характеристику устанавливают в день анализа проб.

Атомно-абсорбционный спектрофотометр AAS настраивают в соответствии с инструкцией к прибору. Устанавливают необходимую длину волны источника излучения в зависимости от определяемого элемента.

Условия	AAS-IN				
	Cu	Cr	Cd	Mn	Ni
Длина волны, нм	324,8	357,9	228,8	279,5	232,1
Ширина щели, мм	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Тип источника света	ТСПК	«Narva»	«Narva»	«Narva»	«Narva»
Сила тока через источник света, мА	12	8	12	8	8
Напряжение на ФЭУ, В	1000	1000	1000	1000	1000
Расход ацетилен, дм <sup>3</sup> /ч	60	120	60	60	60
Расход воздуха, дм <sup>3</sup> /ч	530	530	530	530	530
Условия	AAS-IN		«Сатурн»		
	Pb	Zn	Mg	Co	Fe
Длина волны, нм	283,3	213,8	285,2	240,7	248,3
Ширина щели, мм	0,05	0,07	0,2	0,1	0,1
Тип источника света	«Narva»	«Narva»	ЛСП-1	ЛСП-1	ЛСП-1
Сила тока через источник света, мА	8	8	25	30	30
Напряжение на ФЭУ, В	1000	1000	800	900	900
Расход ацетилен, дм <sup>3</sup> /ч	60	60	140	130	130
Расход воздуха, дм <sup>3</sup> /ч	530	530	680	680	800

**Табл. 7-4.** Условия работы спектрофотометров.

В пламя спектрофотометра вводят последовательно эталонные растворы и снимают показания. Измерения осуществляют не менее трех раз и по средним значениям строят градуировочный график отдельно для каждого элемента в координатах: концентрация металла в эталонном растворе (мг/л) – показания измерительного прибора.

### 7.5.3. Ход определения

Анализ проб проводят аналогично процедурам по установлению градуировочной характеристики. При высокой концентрации определяемых металлов в пробе, пробу разбавляют бидистиллированной водой так, чтобы значения оптической плотности ( $D$ ) попадали в границы градуировочного графика. Расчет концентрации металлов (мг/м<sup>3</sup>) производят с помощью специальной компьютерной программы.

## **7.6. Определение стадий термического разложения моногидрата оксалата кальция.**

### **7.6.1. Реагенты и оборудование**

1. Термогравиметрический анализатор TGA Q50
2. Весы аналитические
3. Никель металлический (о.с.ч.), оксалат кальция моногидрат (о.с.ч.)

### **7.6.2. Подготовка термогравиметрического анализатора**

Перед началом работы проверяют все соединения между анализатором и устройством управления. Включают прибор и прогревают его в течение 30 минут. Включают блок охлаждения (необходимо убедиться, что хладагент циркулирует в контуре).

### **7.6.3. Ход определения**

Запускают программу TA Instruments Explorer, в панели инструментов выбирают пункт Experimental. В выпадающем меню выбирают опцию Wizard. Опция Wizard позволяет провести настройку и запуск эксперимента заданием необходимых значений в последовательно сменяющихся вкладках. Переход между вкладками осуществляется кнопками Next(Вперед) и Back(Назад).

1. Выбирают TGA Ramp >Next;
2. Устанавливают скорость нагрева (10°C/мин) и конечную температуру, до которой следует нагреть образец (1000°C) >Next;
3. Необходимо убедиться в правильности внесенных параметров >Next;
4. Вносят название образца и добавляют комментарии при необходимости, а также указывают путь и папку для сохранения результатов эксперимента >Next;
5. Указывают имя оператора, тип используемого тигля (alumina) и вносят комментарии, при необходимости >Next
6. Пустой тигель размещают в углублении подвижной платформы термоанализатора. Для перемещения тигля используют специальный пинцет.

Проводят тарирование нажатием кнопки Tare. На аналитических весах берут навеску образца оксалата кальция (10 – 15 мг) и количественно переносят в тигель. Следует избегать попадание образца на внешние стенки тигля. Нажимают кнопку Start Run. Начнется запись эксперимента.

Обработка полученных экспериментальных данных проводится после окончания эксперимента программой Universal Analysis 2000.

## 7.7. Правила эксплуатации автоматического дозатора

Дозаторы предназначены для забора и дозирования точных объемов жидкостей. Работа дозатора основана на принципе воздушного вытеснения (т.е. между плунжером и жидкостью имеется объем воздуха) в одноразовом сменном наконечнике. Дозаторы бывают одноканальные и многоканальные, а также постоянного и переменного объема (рис.7-1).



**Рис.7-1.** Внешний вид автоматического дозатора.



Управление дозатором осуществляется с помощью плунжера. Все дозаторы оборудованы автоматическим сбрасывателем наконечника.

### **7.7.1. Порядок работы**

Устанавливают требуемый объем дозы вращением головки плунжера. На цифровом индикаторе, расположенном на ручке дозатора, отображается выбранный объем. Для увеличения объема головку плунжера следует повернуть по часовой стрелке, а для уменьшения – против часовой. Не допускается установка значений объема дозы, выходящих за нормативный диапазон дозатора. Для предотвращения загрязнения дозируемыми жидкостями необходимо использовать одноразовый наконечник. Для снятия или замены наконечника необходимо нажать на кнопку сбрасывателя до упора, после чего наконечник сам отсоединится от штуцера дозатора.

Для максимального удобства и эффективности в работе держать дозатор так, чтобы указательный палец опирался на упор дозатора. При всасывании жидкости в наконечник держать дозатор в вертикальном положении (максимальное допустимое отклонение по вертикали -  $10^\circ$ ).

Отбор и дозировку осуществлять, непосредственно, оперируя головкой плунжера. Для точной и аккуратной работы с дозатором необходимо нажимать и отпускать головку медленно, особенно при работе с вязкими жидкостями. До начала работы с новым наконечником смочить его той жидкостью, которая подлежит дозировке. Для этого набрать и выпустить жидкость несколько раз.

Для предотвращения загрязнения дозируемыми жидкостями дозатор во время работы следует держать вертикально наконечником вниз.

### **7.7.2. Прямой способ дозирования (полное вытеснение жидкости из наконечника)**

а) нажать на головку плунжера дозатора большим пальцем до первой остановки,  
б) осторожно погрузить наконечник дозатора в раствор на глубину около 1 см и медленно освободить плунжер. Нужный объем жидкости перемещается в наконечник,

в) вынуть дозатор из раствора. Вылить набранную жидкость в приемный сосуд, плавно нажимая на головку плунжера до упора, так чтобы капли не разбрызгивались на стенки. Если в приемном сосуде уже находится жидкость, не опускать в нее наконечник,

г) вынуть дозатор из приемного сосуда и плавно отпустить головку плунжера для возвращения его в стартовую позицию.

### **7.7.3. Обратный способ дозирования (частичное вытеснение жидкости из наконечника)**

Следует применять при работе с ЛВЖ, растворами большой вязкости, пенящимися растворами, а также для дозирования малых объемов (до 25 мкл)

а) нажать на головку плунжера до упора,

б) погрузить наконечник в раствор на глубину около 1 см и медленно освободить плунжер. Это приведет к набору в наконечник большего объема жидкости, чем заданный,

в) вынуть дозатор из раствора. Дозировать набранную жидкость в приемный сосуд, плавно нажимая на головку плунжера до первой остановки, так чтобы капли не разбрызгивались на стенки. Если в приемном сосуде уже находится жидкость, наконечник в нее не опускать,

Дозированный таким образом объем жидкости будет в точности соответствовать заданному на дозаторе объему,

г) удерживая головку плунжера, вынуть дозатор из приемного сосуда. Оставшуюся в наконечнике жидкость вылить в емкость для отходов, нажав головку до упора.

### **Рекомендации**

- Набирать жидкость в дозатор только при закрепленном наконечнике.
- Дозируемая жидкость, наконечник и сам дозатор должны иметь одинаковую температуру.

- Во избежание переноса тепла внутрь дозатора не держать его в ладони, когда не работаете с ним.

- Использовать только соответствующий диапазону наконечник.

- Выбирать ту технику дозирования (прямую или обратную), которая соответствует характеру дозируемой жидкости.

- Не использовать избыточную силу и резкие движения при нажатии на плунжер.

- Протирать наконечника допустимо только в случаях, когда на внешней поверхности наконечника остались капельки набираемой жидкости. Избегать при этом касания отверстия наконечника.

- Всегда хранить дозатор в вертикальном положении (хранение дозатора в горизонтальном положении может способствовать протеканию оставшейся жидкости внутрь и вызывать коррозию).

## Список рекомендуемой литературы

1. Лопатин Б.А., Теоретические основы электрохимических методов анализа. Учеб. пособие для ун-тов. М., "Высшая школа", 1975г, 295С.
2. Выдра Ф., Штулик К., Юлакова Э., Инверсионная вольтамперометрия, Под. ред. д.х.н. Каплана Б.Я., М., "Мир", 1980г, 278С.
3. Шатц В.Д., Сахартова О.В., Высокоэффективная жидкостная хроматография, Рига, "Зинатне", 1988г, 390С.
4. Стыскин Е.Л., Ициксон Л.Б., Брауде Е.В., Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография, М., "Наука", 1986г,
5. Cazes J., Scott R.P.W., *Chromatograph Theory*, NY, Basel, 2002, 486P.
6. Уэндландт У., Термические методы анализа, под. ред. Степанова В.А., М., "Мир", 1978г, 527С.
7. Brown M.E., *Introduction to Thermal Analysis*, Acad.Press, 2001, 255P.
8. Наканиси К., Инфракрасные спектры и строение органических соединений, Под. ред. Мальцева А.А., М., "Мир", 1965г, 220С.
9. Отто М., Современные методы аналитической химии, 2 изд., М., "Техносфера", 2006г, 640С.
10. Лебедев А.Т., Масс-спектрометрия в органической химии, М., "Бином", 2005г, 493С.
11. Хмельницкий Р.А., Бродский Е.С., Хромато-масс-спектрометрия, М., "Химия", 1984г., 216С.

## Содержание

Введение.....	3
1. Электрохимические методы анализа.....	4
1.1. Потенциометрический анализ.....	4
1.1.1. Образование электродного потенциала.....	5
1.1.2. Стандартный водородный электрод.....	8
1.1.3. Хлоридсеребряный и каломельный электроды сравнения.....	11
1.1.4. Образование мембранного потенциала.....	14
1.1.5. Мембранные (ионоселективные) индикаторные электроды.....	15
1.1.6. Стеклоанный электрод.....	17
1.2. Неравновесные электрохимические методы.....	19
1.2.1. Протекание тока через электрохимическую ячейку.....	19
1.2.2. Кулонометрия.....	26
1.2.3. Вольтамперометрия.....	27
2. Хроматографические методы исследования.....	30
2.1. Классификация хроматографических методов.....	33
2.2. Газовая хроматография.....	42
2.2.1. Принципиальная схема и узлы газового хроматографа.....	44
2.2.2. Техника и аппаратура, используемые в газовой хроматографии.....	47
2.3. Высокоэффективная жидкостная хроматография.....	48
2.3.1. Принципиальная схема и узлы высокоэффективного жидкостного хроматографа.....	49
2.3.2. Техника и аппаратура, используемые в высокоэффективной жидкостной хроматографии.....	51
2.3.3. Сорбенты для ВЭЖХ.....	53
3. Методы термического анализа.....	55
3.1. Классификация методов термического анализа.....	56
3.2. Термогравиметрический анализ.....	57
3.2.1. Устройство термогравиметрических анализаторов.....	57

3.2.2. Факторы, влияющие на характер ТГ-кривых.....	63
3.3. Методы дифференциальной термогравиметрии (ДТГ) и дифференциального термического анализа (ДТА).....	64
3.4. Комбинация метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрии (ТГА).....	66
3.5. Комбинация метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрии (ТГА).....	67
3.6. Совместное использование метода термического анализа и масс-спектрометрии.....	70
4. Оптическая спектроскопия.....	72
4.1. Виды электромагнитного излучения.....	72
4.2. Основные закономерности поглощения электромагнитного излучения в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях спектра.....	76
4.3. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра.....	82
4.3.1. Качественный анализ с помощью спектров в УФ- и видимом диапазоне.....	83
4.3.2. Влияние растворителя.....	86
4.3.3. Количественный анализ с помощью абсорбционной спектроскопии в УФ и видимой области спектра.....	87
4.4. Спектрофотометрия в инфракрасной области.....	89
5. Атомно-абсорбционная спектрометрия.....	95
5.1. Основы метода ААС.....	96
5.2. Устройство прибора ААС.....	97
5.2.1. Источники первичного излучения.....	98
5.2.2. Источники свободных атомов. Способы атомизации.....	100
6. Масс-спектрометрия и ее аналитические применения.....	105
6.1. Способы ионизации.....	106
6.1.1. Электронный удар.....	106
6.1.2. Химическая ионизация.....	107
6.1.3. Электроспрей.....	109

6.1.4. Ионизация в индуктивно-связанной плазме.....	110
6.2. Масс-анализаторы.....	111
6.2.1 Двойная фокусировка.....	111
6.2.2 Квадруполь.....	112
6.2.3 Квадрупольная ионная ловушка.....	113
6.2.4 Ионно-циклотронный резонанс.....	117
6.2.5 Времяпролетный анализатор.....	118
6.2.6 Орбитальная ловушка ионов.....	119
6.3. Система ввода пробы.....	122
6.3.1 Системы напуска.....	122
6.3.2 Хромато-масс-спектрометрия.....	123
6.4. Характеристики масс-спектрометров и масс-спектрометрических детекторов.....	125
6.4.1 Скорость сканирования.....	125
6.4.2 Разрешение.....	126
6.4.3 Динамический диапазон.....	128
6.4.4 Чувствительность.....	128
6.5. Аналитический эксперимент.....	131
6.5.1 Качественный анализ.....	131
6.5.2 Количественный анализ.....	138
7. Приложение.....	140
7.1. Определение ментола в сигаретах колориметрическим методом.....	140
7.2. Анализ содержания углеводов и их производных в атмосфере методом ГЖХ.....	141
7.3. Определение железа фотоколориметрическим методом.....	144
7.4. Определение Fe, Cd, Cu, Pb методом инверсионной вольтамперометрии (ИВА).....	146
7.5. Анализ железа, меди и свинца атомно-абсорбционным методом.....	148
7.6. Определение стадий термического разложения моногидрата оксалата кальция.....	150
7.7. Правила эксплуатации автоматического дозатора.....	151
Список литературы.....	155

**Н. Г. Ярышев, Д. А. Панкратов, М. И. Токарев,**

**Н. Н. Камкин, С. Н. Родякина**

**Физические методы исследования и их  
практическое применение в химическом анализе**

**Учебное пособие**

Издательство «Прометей»

115035, Москва, ул. Садовническая, д.72, стр.1

Тел/факс: 8 (495) 799-54-29

E-mail: [info@prometej.su](mailto:info@prometej.su)

Подписано в печать 23.07.2012 г.

Формат 60х90/8. Объем 10 п.л.

Тираж 500 экз. Заказ 244

ISBN 978-5-4263-0122-1



9 785426 301221