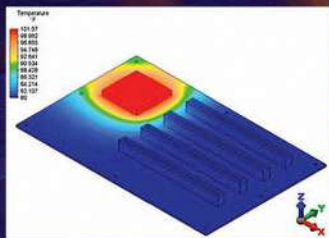


**Н. Г. Ярышев, Ю. Н. Медведев, М. И. Токарев,  
А. В. Бурихина, Н. Н. Камкин**

# **Физические методы исследования и их практическое применение в химическом анализе**

*Учебное пособие*



ИЗДАТЕЛЬСТВО  
**Прометей**

**Н. Г. Ярышев, Ю. Н. Медведев, М. И. Токарев,  
А. В. Бурихина, Н. Н. Камкин**

# **ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ В ХИМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ**

Издание второе, переработанное и дополненное

Учебное пособие

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



МОСКВА  
2015

УДК 543/545

ББК 20.1

Я 798

**Рецензент:** Г.З. Казиев, доктор химических наук, профессор

**Я 798 Н. Г. Ярышев, Ю. Н. Медведев, М. И. Токарев, А. В. Бурихина, Н. Н. Камкин. Физические методы исследования и их практическое применение в химическом анализе. Издание второе, переработанное и дополненное: Учебное пособие. — М.: Прометей, 2015 — 196 с.**

Учебное пособие предназначено для использования при изучении дисциплин: «Физические методы исследования», «Стандартизация и сертификация пищевых продуктов», «Химия окружающей среды», «Гигиена и токсикология» и т.д. В пособии приведена основная информация о физико-химических методах анализа, их современном аппаратном оформлении. В пособии расширен раздел, посвященный масс-спектрометрии как одного из наиболее интенсивно развивающегося физического метода анализа, добавлены главы, посвященные ЯМР-спектроскопии, биографии ученых, внесших весомый вклад в развитие физических методов анализа, примеры заданий для самостоятельной работы обучающихся, ссылки на современную специализированную литературу.

*Пособие предназначено для студентов, бакалавров, магистров, аспирантов и может быть рекомендовано в качестве дополнительной литературы в курсах аналитической химии и смежных дисциплин.*

В авторской редакции.

ISBN 978-5-9906134-6-1

© Коллектив авторов, 2015

© Издательство «Прометей», 2015

## **ВВЕДЕНИЕ**

Учебное пособие «Физические методы исследования и их практическое применение в химическом анализе» было издано в 2012 году. Пособие использовалось в качестве основной или дополнительной литературы в ряде дисциплин преподаваемых студентам, магистрантам и аспирантам: «Физические методы исследования», «Стандартизация и сертификация пищевых продуктов», «Химия окружающей среды», «Гигиена и токсикология» и т.д. В перечисленных курсах рассматриваются различные физические методы исследования, в основном, с позиции их практического применения в химическом анализе. С точки зрения авторов, пособие, в котором собрана основная информация о физическом явлении, на котором основан тот или иной метод, истории развития метода, современном аппаратном оформлении, удобно не только для обучающихся, но и преподавателей. В условиях интенсивного реформирования образовательного процесса в ВУЗах учебные планы постоянно дополняются различными узкоспециальными дисциплинами, поэтому необходимо своевременно обновлять имеющиеся пособия актуальными данными. В связи с этим, авторами было принято решение существенно расширить раздел, посвященный масс-спектрометрии как одного из наиболее интенсивно развивающегося физического метода анализа, добавить главы, посвященные ЯМР-спектроскопии, биографии ученых, внесших весомый вклад в развитие физических методов анализа, обновить примеры заданий для самостоятельной работы обучающихся, привести ссылки на современную специализированную литературу. Все это позволяет не только актуализировать содержание нового издания пособия, но и расширить круг потенциальных читателей.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
<b>Глава 1. Хроматография .....</b>	<b>9</b>
1.1. Классификация хроматографических методов.....	11
1.2. Газовая хроматография.....	21
1.2.1. Принципиальная схема и узлы газового хроматографа .....	22
1.2.2. Техника и аппаратура, используемые в газовой хроматографии .....	26
1.3. Жидкостная хроматография .....	28
1.3.1. Тонкослойная хроматография .....	28
1.3.2. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и ультра высокоэффективная жидкостная хроматография (УВЭЖХ) .....	30
<b>Глава 2. Масс-спектрометрия .....</b>	<b>37</b>
2.1. Устройство масс-спектрометра.....	39
2.1.1. Способы ионизации.....	40
2.1.2. Масс-анализаторы .....	46
2.1.3. Детекторы .....	57
2.1.4. Система ввода пробы .....	57
2.2. Характеристики масс-спектрометров .....	59
2.2.1. Скорость сканирования.....	59
2.2.2. Разрешение .....	60
2.2.3. Динамический диапазон .....	62
2.2.4. Чувствительность .....	62
2.3. Аналитический эксперимент .....	65
2.3.1. Качественный анализ .....	65
2.3.2. Количественный анализ .....	69

<b>Глава 3. Оптическая спектроскопия</b>	<b>75</b>
3.1. Виды электромагнитного излучения	76
3.1.1. Радиоволны	76
3.1.2. Микроволновое излучение	77
3.1.3. Инфракрасное излучение	78
3.1.4. Видимая область	78
3.1.5. Ультрафиолетовое излучение	79
3.1.6. Рентгеновское излучение	79
3.1.7. Гамма-излучение	80
3.2. Основные закономерности поглощения электромагнитного излучения в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях спектра	80
3.2.1. Аппаратура метода	82
3.2.2. Закон Бугера-Ламберта-Бера	85
3.3. Спектрфотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра	87
3.3.1. Качественный анализ с помощью спектров в УФ- и видимом диапазоне	88
3.3.2. Влияние растворителя	91
3.3.3. Количественный анализ с помощью абсорбционной спектроскопии в УФ и видимой области спектра	93
3.4. Спектрофотометрия в инфракрасной области	95
<b>Глава 4. Атомно-абсорбционная спектрометрия</b>	<b>102</b>
4.1. Основы метода ААС	103
4.2. Устройство прибора ААС	103
4.2.1. Источники первичного излучения	106
4.2.2. Источники свободных атомов	107
<b>Глава 5. Методы термического анализа</b>	<b>113</b>
5.1. Классификация методов термического анализа	114
5.2. Термогравиметрический анализ	115
5.2.1. Устройство термогравиметрических анализаторов	116
5.2.2. Факторы, влияющие на характер ТГ-кривых	121
5.3. Методы дифференциальной термогравиметрии (ДТГ) и дифференциального термического анализа (ДТА)	123
5.4. Комбинация метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и дифференциального термического анализа (ДТА)	125

5.5. Комбинация метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрии (ТГА) . . . . .	126
<b>Глава 6. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса . .</b>	<b>129</b>
6.1. Основы метода . . . . .	129
6.1.1. Магнитные ядра . . . . .	131
6.1.2. Магнитные взаимодействия в веществе . . . . .	132
6.2. Устройство ЯМР-спектрометра . . . . .	133
6.2.1. Магниты для ЯМР-спектрометров. . . . .	134
6.2.2. ЯМР-спектрометры с Фурье преобразованием . .	136
6.2.3. Чувствительность ЯМР-спектрометра . . . . .	136
6.2.4. Томография . . . . .	137
6.3. Интерпретация ЯМР-спектров . . . . .	138
6.3.1. Химический сдвиг. . . . .	139
6.3.2. Спин-спиновое взаимодействие. . . . .	139
6.3.3. Пример интерпретации спектра . . . . .	143
<b>Глава 7. Комбинированные методы и автоматизация анализа . . . . .</b>	<b>145</b>
7.1. Хромато-масс-спектрометрия. . . . .	146
7.1.1. Газовая хроматография – масс-спектрометрия . .	147
7.1.2. Жидкостная хроматография – масс-спектрометрия . . . . .	148
7.2. Совместное использование метода термического анализа и масс-спектрометрии . . . . .	149
7.3. Поиск в библиотеках спектров . . . . .	152
<b>Приложение 1. Задачи для самостоятельного решения . .</b>	<b>154</b>
<b>Приложение 2. Краткие биографии ученых. . . . .</b>	<b>167</b>
<b>Приложение 3. Справочные данные . . . . .</b>	<b>179</b>
<b>Рекомендуемая литература . . . . .</b>	<b>194</b>

## **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время невозможно себе представить научно-исследовательскую или аналитическую лабораторию, которая не применяла бы в своей работе физические методы.

Следствием применения этих методов, в конечном счете, является изучение результатов взаимодействия вещества с тем или иным видом энергии на молекулярном или субмолекулярном уровне. Обработка и интерпретация полученной информации дает возможность делать обоснованные выводы о строении молекул вещества и, в случае количественного анализа, о его точном содержании в анализируемом образце.

Зарождение и развитие физических методов исследования уходит корнями к концу XVIII – началу XX веков и связано, в первую очередь, с именами таких выдающихся ученых, как Ньютон, Фарадей, Планк, Паули, Кирхгофф, Менделеев, Цвет и многих других. Необходимо заметить, что в начале, практическое применение того или иного метода было связано с огромными экспериментальными трудностями. И только параллельное развитие инженерной мысли позволило создать приборы, которые выгодно отличались от своих родоначальников надежностью, простотой, высокой точностью, чувствительностью и воспроизводимостью результатов.

В настоящее время невозможно перечислить все физические методы, применяемые в каждодневной практике современной лаборатории. Вот только некоторые: спектрометрии (фотометрия, атомноабсорбционная спектрометрия, флуорометрия и пр.), хроматография, масс спектрометрия, эмиссионная спектрометрия и т.д.

Развитие, начиная с середины XX века, вычислительной техники и информационных технологий вызвало буквально взрыв в совершенствовании этих методов. Дело в том, что внедре-

ние компьютеров сначала дало возможность легко и быстро получать и обрабатывать получаемую в ходе анализа информацию, а затем и автоматизировать процесс ее получения.

Сейчас многие научные приборы представляют собой как бы «черные ящики» – для получения результата необходимо просто поместить в прибор пробу, произвести запуск программы и... получить результат исследования в готовом виде на экране монитора. Работать на таком приборе способен человек ничего общего не имеющий со знанием принципов работы прибора или предмета исследования.

Как сказал кто-то из великих, любой новый метод проходит в своем развитии три стадии. Сначала он рассматривается как универсальный, способный решить чуть ли не все проблемы, стоящие перед исследователем. Затем наступает всеобщий пессимизм и метод подвергается суровой критике и высказываются мнения о его бесперспективности и бесполезности применения. И только потом приходит понимание того, что данный метод (как, впрочем, любой другой) имеет свою область применения, в которой он является не только применимым, но и наиболее эффективным.

Авторы настоящего пособия поставили перед собой задачу познакомить читателей с основами некоторых физических методов исследования и устройством соответствующих приборов и установок, для того чтобы в своей дальнейшей работе они смогли правильно выбрать необходимые методы для исследований.

В настоящем пособии будут рассмотрены те методы, практическое применение которых возможно на нашем факультете благодаря наличию соответствующего современного оборудования. Пособие состоит из трех частей: теоретической, практической и приложений, в которых приведены биографические данные естествоиспытателей, чей вклад в науку обусловил зарождение и развитие физических методов исследования вещества.

## ГЛАВА 1

### Хроматография

*Хроматография* – метод разделения, анализа и физико-химического исследования веществ, основанный на распределении компонентов смеси 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.

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 отделении 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 пигменты 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».

Так впервые прозвучало слово «хроматография», произведенное ученым от греч. хромос – цвет, окраска и графо – пишу, описываю.

Хроматографию сначала использовали очень редко. В течение 20 лет с момента публикации Цветом книги «Хромофиллы 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 работы Мартина и Синга, создавших распределительный вариант хроматографии.

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 не смешивающаяся с подвижной фазой жидкость, с которыми 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.

## 1.1. Классификация хроматографических методов

Благодаря возможности объединения процесса высокоселективного разделения с последующим высокочувствительным детектированием, хроматография стала самым распространенным методом анализа сложных смесей, позволяющим определять до 1000 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.

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.

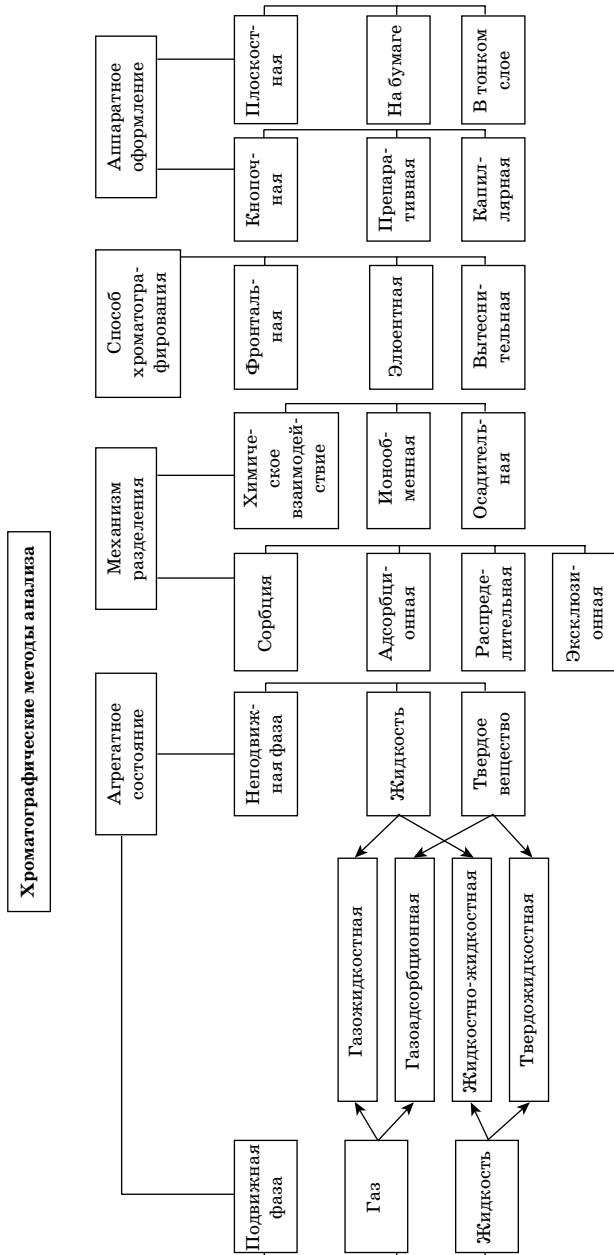
Наиболее распространенными видами хроматографии являются жидкостная (если подвижная фаза жидкая) и газовая (если подвижная фаза газообразная).

Жидкостную хроматографию в свою очередь можно разделить в зависимости от агрегатного состояния неподвижной фазы на твердо-жидкофазную (ТЖХ) – неподвижная фаза 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. 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 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) или газораспределительную.

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 газожидкостной хроматографии (ГЖХ) относятся все варианты газовой хроматографии, в которых в качестве неподвижной фазы используется слой жидкости, нанесенный на поверхность твердого носителя (зернистый мелкодисперсный 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 разлага-

ющихся и не взаимодействующих между собой в области температур до 400–500 °С 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.

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 хроматография – 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, в принципе, 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.

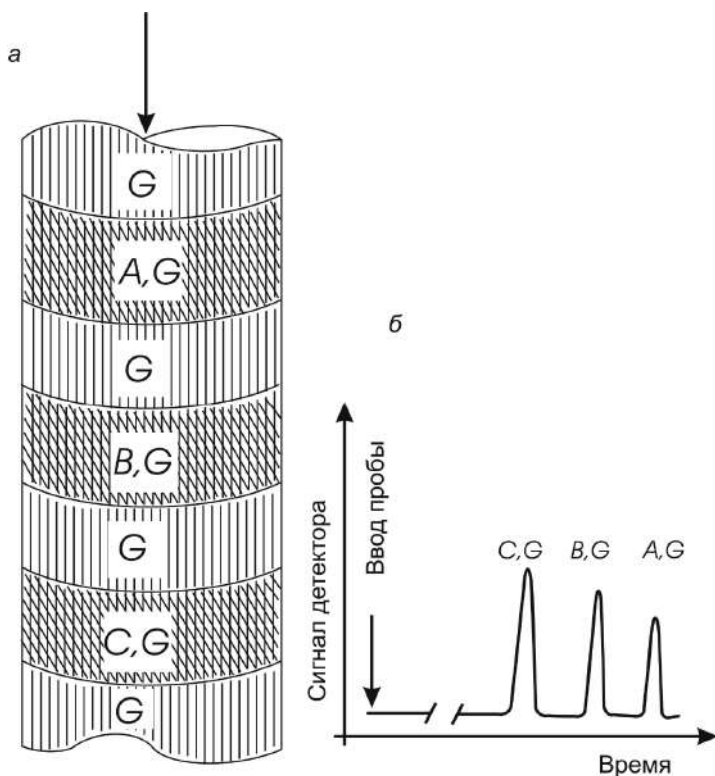
Наиболее распространенная методика выполнения анализов смеси веществ с использованием колоночной газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии сводится к следующему.

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.1-2а).

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.1-2б). Таким образом, сразу же по окончании одного анализа колонка автоматически оказывается подготовленной к выполнению следующего.



**Рис.1-2.** Проявительная хроматография. а – участок колонки со сложившимся распределением хроматографических зон; б – хроматограмма.

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.

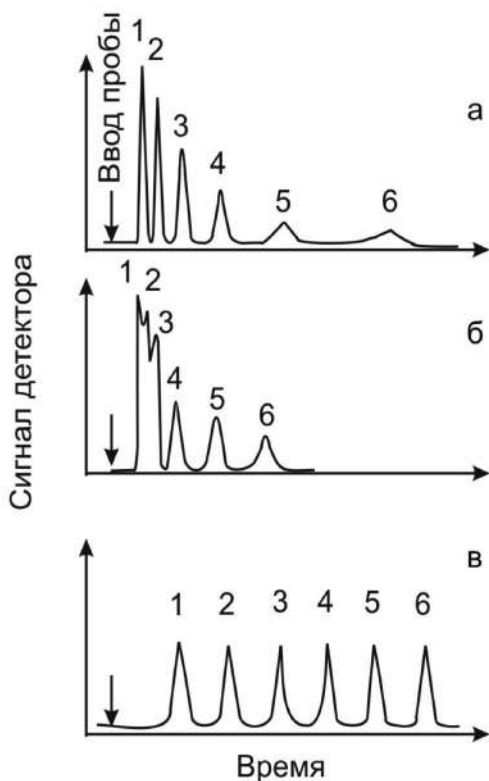
При повышенной температуре колонки или достаточно большой скорости газа-носителя, удобную для качественных и количественных измерений форму приобретут на хроматограмме пики последних выходящих из колонки веществ. Общее время анализа будет небольшим, однако наиболее летучие (наименее удерживаемые) компоненты выйдут из колонки частично или полностью неразделенными. Вид подобных хроматограмм представлен на рис.1-3. Аналогичные трудности возникают и в ЖХ.

Рассмотренные проблемы решаются как правило, с использованием градиентного режима хроматографирования, т. е. изменением по заданной программе (во времени) температуры или скорости газа-носителя в ГХ и расхода, качественного и количественного состава элюента посредством смешения в изменя-

ющихся пропорциях двух или более растворителей различной полярности в ЖХ.

В настоящее время градиентный режим технически реализован во многих моделях хроматографов, что намного расширило границы практического использования газовой хроматографии.

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



**Рис.1-3.** 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).

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 неаналитические применения колоночной хроматографии, связанные с исследованием 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.

## 1.2. Газовая хроматография

Газовая хроматография впервые описанная в 1952 г., завоевала популярность благодаря скорости и легкости, с которой могут быть проанализированы сложные смеси малого количества пробы требуемой для анализа, а также 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 некоторых 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 три группы.

1) адсорбенты, обычно с очень большой удельной поверхностью (50–1000 м<sup>2</sup>/г): силикагель, оксид алюминия, молекуляр-

ные 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 неподвижной фазы в газожидкостной хроматографии широкое применение находят: апиезон М, карбовакс 20М, карбовакс 1500, дексил 300, дексил 400, дибутилфталат, диэтилглицольадипат, динонилфталат, полифениловый эфир, полипропиленгликоль, поливинилпирроли-дон, силикон GEF 96, силикон GEHE 60, силикон SE 30, фенилсиликон SE 52 и др.

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.

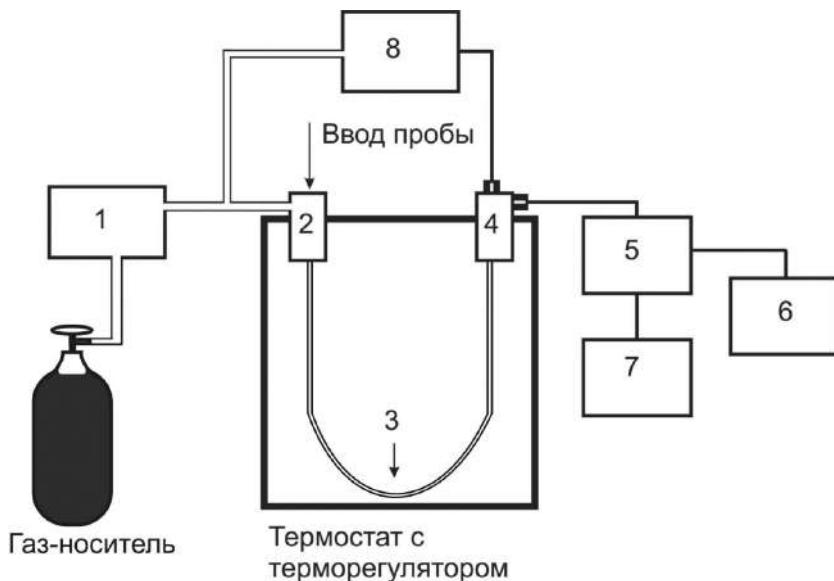
### 1.2.1. Принципиальная схема и узлы газового хроматографа

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.1-4.

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.



**Рис.1-4.** 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.

• Система ввода проб – обеспечивает ввод точного количества пробы в этот 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 °С, хотя были описаны анализы в более широком диапазоне (от –180 °С до +1000 °С). 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 может также входить 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 идеальный детектор 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 находится в колонке или элюируется 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.1-5).

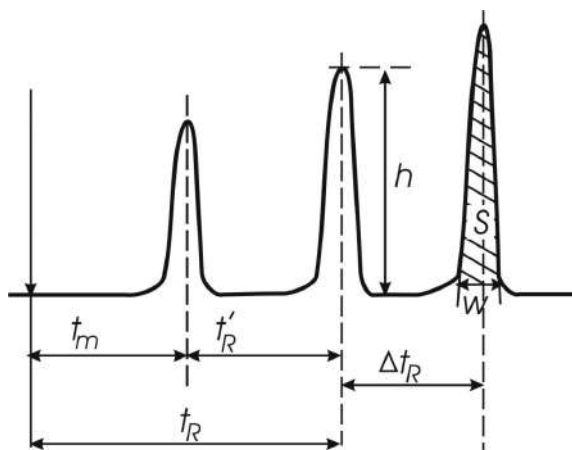


Рис.1-5. Идеализированная хроматограмма, показывающая пик «воздуха» и пики двух веществ.

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  $t_m$ .* Это время удержания инертного вещества, которое не удерживается на колонке, т. е. вещества, не адсорбируемого или не растворяемого неподвижной фазой.

3. *Ширина пика  $w$ .* Ширина пика обычно определяется как длина сегмента нулевой линии, измеряемая между точками пе-

ресечения с нулевой линией двух касательных 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  $S$* , 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.

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

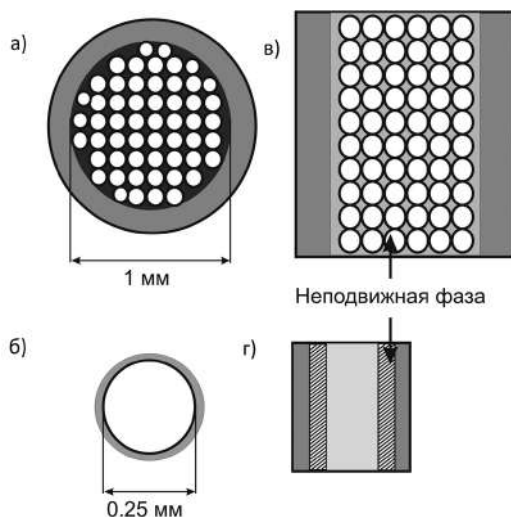
**Колонки.** Используются U-образные колонки, спиральные трубки из стекла, нержавеющей стали и меди. Особенно эффективны капилляры из кварцевого стекла. На рис. показаны поперечные сечения самых распространенных в ГХ типов колонок.

**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.

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.



**Рис.1-6.** Поперечные сечения колонок различных типов, используемых в газовой хроматографии. а – обычная насадочная колонка, внутренний диаметр 4 мм; б – насадочная колонка, внутренний диаметр 1 мм; в – капиллярная колонка со стенками, покрытыми носителем (SCOT) или пористым адсорбентом (PLOT), внутренний диаметр 0,5 мм; г – капиллярная колонка со стенками, покрытыми жидкой фазой (WCOT), или полая капиллярная колонка, внутренний диаметр 0,25 мм.

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  $H^3$  и  $Nr^{63}$ ,  $Sr^{90}$ ,  $Pr^{147}$ ,  $Kr^{85}$ , ( $\beta$ -излучение) и  $Ra^{226}$  ( $\alpha$ -излучение). Для безопасности источники помещают в специальные контейнеры.

### 1.3. 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 качестве примера рассмотрим тонкослойную хроматографию (ТСХ), поскольку она получила широкое распространение в лабораториях из-за простоты, экспрессности и низкой себестоимости.

#### 1.3.1. Тонкослойная хроматография

С точки зрения методических особенностей эксперимента, ТСХ является наиболее простым методом хроматографии, сочетающим такие качества, как универсальность, высокая чувствительность, быстрота и простота выполнения анализа. Благодаря этим качествам, а также несложности оборудования, наглядности, четкому разделению ничтожно малых количеств разделяемых веществ (от 0,1 до 0,005 мкг) и надежности их идентификации метод ТСХ широко используется для анализа широкого спектра химических соединений.

Началом метода была работа советских исследователей Н.А. Измайловой и М. С. Шрайбера, которые еще в 1938 г. описали принцип ТСХ на стеклянных пластинках, покрытых тонким слоем оксида алюминия, впервые разделив алкалоиды лекарственных растений. Но систематическое внедрение этого аналитического метода является заслугой немецкого ученого Э. Штала, который заложил основу современной ТСХ и дал математическое обоснование этому методу.

В методе используют стеклянные пластинки, на которые тонким слоем наносят подходящий сорбент. На такой слой, на стартовую линию, наносят анализируемую смесь веществ, а край пластинки ниже стартовой линии погружают в систему

растворителей. По мере продвижения жидкости на пластинке происходит разделение смеси веществ благодаря действию сил адсорбции, распределения, ионообмена или совокупности действия всех перечисленных факторов.

Положение хроматографических зон на хроматограмме (см. рис.1-7) характеризует величина  $R_f$  – отношение пути  $L_i$ , пройденного центром зоны  $i$ -го компонента от линии старта, к пути  $L$ , пройденному элюентом:  $R_f = L_i/L$ ;  $R_f \leq 1$ . Величина  $R_f$  зависит от коэффициента распределения (адсорбции) и от соотношения объемов подвижной и неподвижной фаз. На разделение в ТСХ влияет ряд основных факторов – состав и свойства элюента, природа, дисперсность и пористость сорбента, температура, влажность, размеры сорбента. Поэтому для получения воспроизводимых результатов необходимо тщательно стандартизовать условия опыта. В стандартных условиях  $R_f$  постоянна для данного вещества и используется для идентификации последнего.

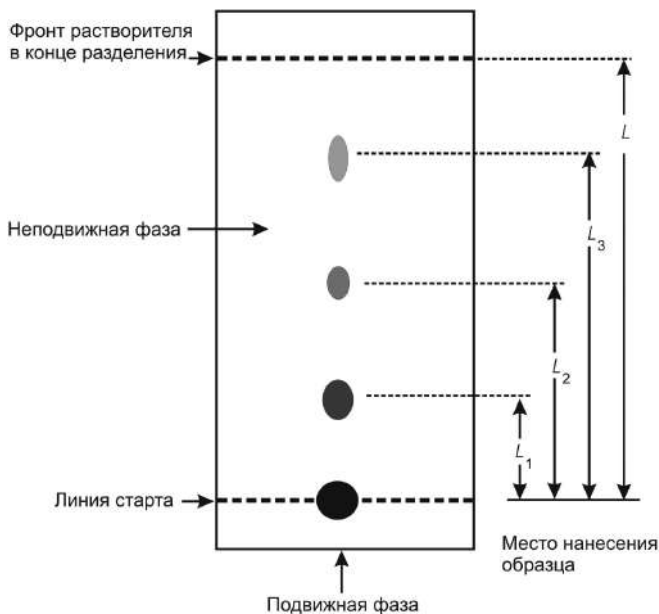


Рис.1-7. Схема тонкослойной хроматограммы.

В зависимости от того, в каком направлении поступает растворитель на пластинку, различают методы восходящей и горизонтальной хроматографии, а также нисходящей. В настоящее время в ТСХ применяют главным образом следующие сорбенты: силикагель, окись алюминия, ацетилованную целлюлозу, полиамиды, целлюлозу, целлюлозные ионообменники, кизельгур и др.

Некоторые производители изготавливают стандартные хроматографические пластинки со слоем сорбента различной, но строго постоянной толщины (силикагель, целлюлоза, ионообменная смола), на стекле и других подложках (из алюминиевой фольги, пластмассы, пропитанного стекловолокна). Удобны в работе пластины с силикагелем для ТСХ: силуфольные, приготовленные на алюминиевой фольге, укрепленной картоном, с крахмалом или гипсом в качестве связующего.

ТСХ прочно вошла в практику современных аналитических лабораторий. Этим методом исследуют липиды, аминокислоты, нуклеотиды, сахара, фенолы, витамины, алколоиды и другие соединения. Метод ТСХ широко используется при проведении сертификационных испытаний продовольственных товаров по показателям безопасности (содержание пестицидов, нитрозаминов, афлатоксинов).

### **1.3.2. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и ультра высокоэффективная жидкостная хроматография (УВЭЖХ)**

В настоящее время бурно развивается ВЭЖХ, которая существенно отличается от классической ЖХ, 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 ~500 атм), а также уменьшением до минимума мертвых объемов в разделительной системе хроматографа.

Дальнейшие усилия, направленные на повышение разделительной способности хроматографических колонок привели к созданию метода УВЭЖХ в котором, в отличие от ВЭЖХ, используются колонки с диаметром сорбента менее 2 мкм и, как следствие, специальные насосы, обеспечивающие давление на входе в колонку до 1000–1200 атм.

В таблице 1-1 приведены основные экспериментальные различия между классической жидкостной хроматографией и высоко- и ультравысокоэффективной жидкостной хроматографией.

Табл.1-1

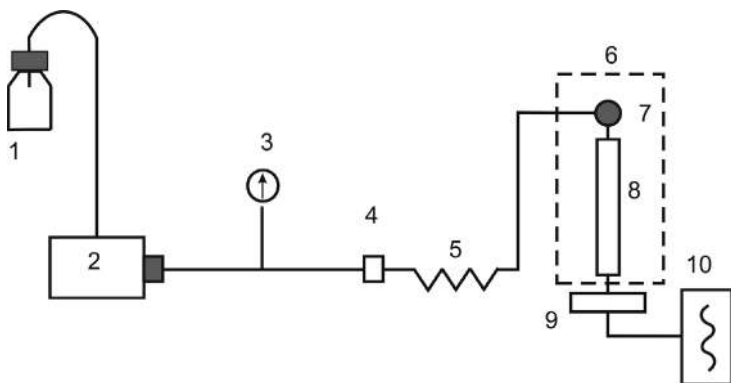
**Экспериментальные различия между классической ЖХ, ВЭЖХ и УВЭЖХ**

Характеристика	ЖХ	ВЭЖХ	УВЭЖХ
Давление	от долей атм. до ~2 атм.	10–100 атм. и выше	600–1200 атм.
Продолжительность разделения	от нескольких часов до нескольких суток	от нескольких десятков мин до нескольких часов	от нескольких мин до нескольких десятков мин
Оборудование	колонка и вспомогательное	хроматограф	хроматограф
Тип разделения	в основном препаративное	в основном аналитическое	аналитическое
Детектирование	детектирование отдельных фракций аналитическими методами	с помощью детектора	с помощью детектора
Количество исследуемого вещества	от мкг до кг	от нг до мкг	от фг до нг

### 1.3.2.1. Принципиальная схема и узлы 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.1-8.

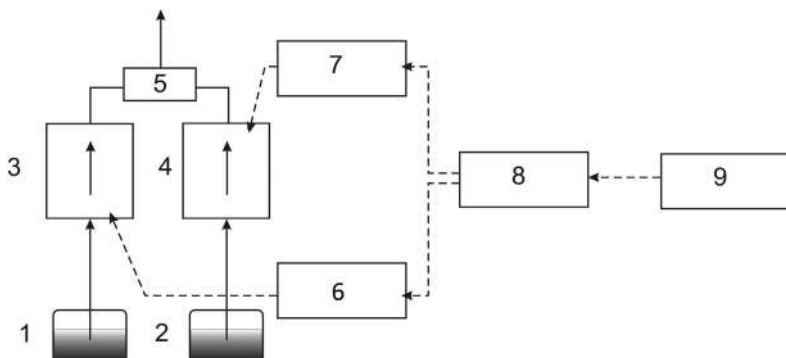
Резервуар с подвижной фазой и система подачи элюента, а также насос, который должен обеспечивать поток подвижной фазы со скоростями от нескольких мкл/мин, а в случае УВЭЖХ нл/мин, до 10 мл/мин обычно объединены в один блок. Насос подает элюент в колонку через кран-дозатор с объемом сменных дозирующих петель, от 0,1 до 100 мкл и более.



**Рис.1-8.** 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 с двумя насосами (рис.1-9).

Разработаны модели с автоматизированной системой ввода пробы. На входе в колонку, как правило, устанавливается дополнительный узел ввода пробы для дозирования порции анализируемого образца микрошприцем. В состав многих моделей



**Рис.1-9.** 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.

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.

### ***1.3.2.2. Техника и аппаратура, используемые в жидкостной хроматографии***

*Насос* обеспечивает постоянный поток подвижной фазы в хроматографической системе (через колонку и детектор) при заданных рабочих условиях: температуре, скорости потока и давлении.

Насосы, применяемые в жидкостной хроматографии, классифицируются на насосы ультра высокого (около 1000 атм), 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 оказыва-

ет 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, рефрактометрические, по диэлектрической проницаемости, по электропроводности, флуориметрические; ИК-детекторы, полярографические, по теплоте сорбции, проволочный пламенно-ионизационный и другие, которые часто принципиально отличаются друг от друга по свойствам и возможностям.

Широкое применение в ВЭЖХ находят матричные детекторы (рис. 1-10) 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. В последнее время все большее распространение получают ВЭЖ-хроматографы, в которых в качестве детектора применяется масс-спектрометр

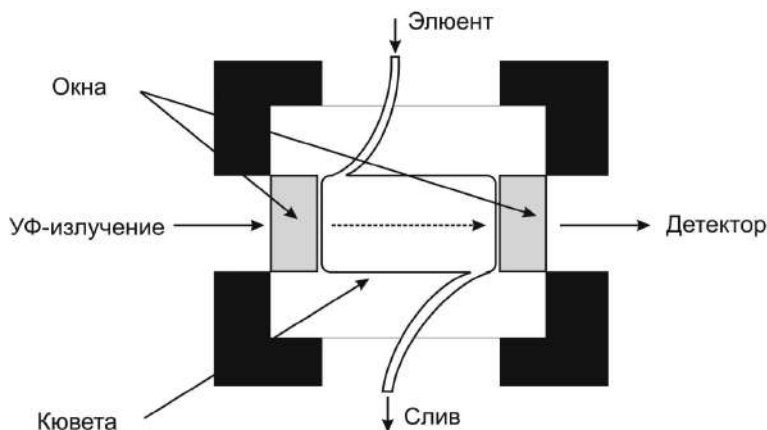
По химической природе сорбенты для ЖХ можно разделить на три группы: неорганические (силикагель, оксид алюминия); органические (на основе полимеров гелевой и макропористой структуры); смешанные (неорганические, капсулированные полимерным слоем с привитыми ионогенными группами и неорганические с привитыми 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 абсорбент, причем из всех кристаллических форм окиси алюминия в хроматографии наиболее часто используется γ-форма. Удельная площадь поверхности этого адсорбента около 200 м<sup>2</sup>/г.

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



**Рис.1-10.** Схема проточной ячейки для УФ-детектирования в ВЭЖХ.

Для силовой 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.

## ГЛАВА 2

### Масс-спектрометрия

Глубинные физические законы, передовые научные и инженерные разработки, высокотехнологичные вакуумные системы, высокие электрические напряжения, современные материалы, высочайшее качество их обработки, современнейшая быстродействующая цифровая и аналоговая электроника и компьютерная техника, изощренное программное обеспечение – вот из чего сложен современный масс-спектрометр. И для чего же все это? Для ответа на один из важнейших вопросов мироздания – из чего сложена материя. Но это вопрос не высокой науки, а повседневной жизни человека.

Например, разработка новых лекарственных средств для спасения человека от ранее неизлечимых болезней и контроль производства лекарств, геновая инженерия и биохимия, протеомика. Масс-спектрометрия дала в руки исследователей инструмент, позволяющий идентифицировать белки, определять какие изменения произошли с их структурой вследствие различных взаимодействий, при их воспроизводстве, определить пути метаболизма различных лекарственных средств и других соединений и идентифицировать метаболиты, разрабатывать новые целевые лекарственные средства. Масс-спектрометрия – единственный метод, решающий все эти и многие другие задачи аналитической биохимии. Без масс-спектрометрии немыслим контроль над незаконным распространением наркотических и психотропных средств, криминалистический и клинический анализ токсичных препаратов, анализ взрывчатых веществ.

Выяснение источника происхождения очень важно для решения целого ряда вопросов: например, определение проис-

хождения взрывчатых веществ помогает найти террористов, наркотиков – бороться с их распространением и перекрывать пути их трафика. Экономическая безопасность страны более надежна, если таможенные службы могут не только подтверждать анализами в сомнительных случаях страну происхождения товара, но и его соответствие заявленному виду и качеству. А анализ нефтей и нефтепродуктов нужен не только для оптимизации процессов переработки нефти или геологам для поиска новых нефтяных полей, но и для того, чтобы определить виновных в разливах нефтепродуктов в океане или на земле.

Важной задачей является также определение следовых количеств применяемых химических средств (например, пестицидов) в пищевых продуктах. Даже в мизерных количествах эти вещества могут нанести непоправимый вред здоровью человека.

Целый ряд техногенных (то есть не существующих в природе, а появившихся в результате индустриальной деятельности человека) веществ являются супертоксикантами (имеющими отравляющее, канцерогенное или вредное для здоровья человека действие в предельно низких концентрациях). Примером является хорошо известные диоксины.

Существование ядерной энергетики немыслимо без масс-спектрометрии. С ее помощью определяется степень обогащения расщепляющихся материалов и их чистота.

Конечно, и медицина не обходится без масс-спектрометрии. Изотопная масс-спектрометрия углеродных атомов применяется для прямой медицинской диагностики инфицированности человека *Helicobacter Pylori* и является самым надежным из всех методов диагностики. ВЭЖХ/МС системы являются основным аналитическим инструментом при разработке новых лекарственных средств. Без этого метода не может обходиться и контроль качества производимых лекарств и выявления такого распространенного явления как их фальсификация. Протеомика дала в руки медицины возможность сверххранней диагностики самых страшных заболеваний человечества – раковых опухолей и карилиологических дисфункций. Определение специфических белков, называемых биомаркерами, позволяет проводить раннюю диагностику в онкологии и кардиологии.

Трудно представить область человеческой деятельности, где не нашлось бы места масс-спектрометрии. Ограничимся просто перечислением: биохимия, клиническая химия, общая химия и органическая химия, фармацевтика, косметика, парфюмерия, пищевая промышленность, химический синтез, нефтехимия и нефтепереработка, контроль окружающей среды, производство полимеров и пластиков, медицина и токсикология, криминалистика, допинговый контроль, контроль наркотических средств, контроль алкогольных напитков, геохимия, геология, гидрология, петрография, минералогия, геохронология, археология, ядерная промышленность и энергетика, полупроводниковая промышленность, металлургия.

## 2.1. Устройство масс-спектрометра

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

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).

Результирующий масс-спектр является графиком зависимости (относительного) количества полученных ионов от отношения  $m/z$ . Современный масс-спектрометр — чрезвычайно сложный и компьютеризованный прибор. Он состоит из пяти узлов, отражающих пять важных разделов аналитической масс-спектрометрии: систем ввода пробы, ионизации аналита, разделения ионов по массам (зарядам), детектирования ионов и обработки данных (см. рис.2-1). Масс-спектрометрия сочетает разделение и определение.

### 2.1.1. Способы ионизации

В современной масс-спектрометрии применяются различные способы ионизации вещества, т.е. превращение нейтральных молекул вещества в заряженные ионы. Физические явления, использующиеся для реализации различных способов ионизации могут существенно различаться. Главным образом, применяемые в масс-спектрометрии способы ионизации, классифицируют на «мягкие» и «жесткие». «Мягкие» способы ионизации позволяют избежать глубокой фрагментации молекул аналита, а «жесткие», напротив приводит к глубокому распаду молекул. 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).



Рис.2-1. Принципиальная схема масс-спектрометра.

#### 2.1.1.1. Электронная и химическая ионизация

Наиболее старый и наиболее широко применяемый в современной масс-спектрометрии метод ионизации молекул органических соединений – это, так называемый, *электронный удар* (ЭУ, по-английски 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.

Свободные молекулы вводят в так называемый источник ионов, где они ионизируются. Одним из многочисленных способов ионизации является ионизация электронами.

При электронной ионизации молекулы анализируемого вещества попадают в поток электронов движущихся от эмиттирующего их катода (как правило рениевой ленты) к аноду.

Формально можно представить процесс ионизации уравнением:



В результате образуется молекулярный ион ( $M^{+\cdot}$ ). Это — нечетноэлектронный ион, т. е. катион-радикал. Эффективность ионизации очень низка. Фактически 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. Эта характеристика соединения имеет количественный показатель, называемый сечением ионизации.

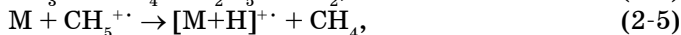
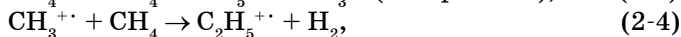
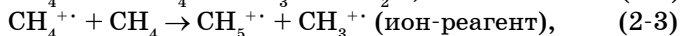
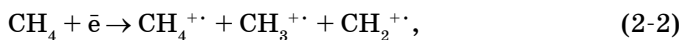
Важным параметром является энергия ионизирующих электронов. Ионный ток достигает максимума при энергиях электронов около 50 эВ. Стандартные масс-спектры ЭУ принято снимать, используя ионизирующие электроны с энергией около 70 эВ.

При этом молекулы часто распадаются на заряженные фрагменты по определенным закономерностям. Именно в результате этого процесса в конечном итоге получится масс-спектр — набор рассортированных по массам ионов — несущий информацию о структуре молекулы и, часто, настолько характерный для определенного органического соединения, что его называют «отпечатком пальцев», то есть настолько же индивидуальный как рисунок на пальцах человека.

Все это 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.

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



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 большее ее 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, напри-

мер, содержащих атомы галогенов). Предел обнаружения таких соединений может быть снижен до трех порядков.

Для ряда применений очень удобным может оказаться метод PPNICI (Импульсная попеременная регистрация положительных ионов и отрицательных ионов при химической ионизации). В этом методе от одной съемки образца получаются две хроматограммы (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.

### 2.1.1.2. ESI, APPI, MALDI

К сожалению, очень многие органические вещества невозможно испарить без разложения, то есть перевести в газовую фазу. А это значит, что их нельзя ионизовать электронным ударом. Но среди таких веществ почти все, что составляет живую ткань (белки, ДНК и т.д.), физиологически активные вещества, полимеры, то есть все то, что сегодня представляет особый интерес. Масс-спектрометрия не стояла на месте и последние годы были разработаны специальные методы ионизации таких органических соединений. Сегодня используются, в основном, методы ионизации при атмосферном давлении – *ионизация в электроспрее* (ESI) или – *химическая ионизация при атмосферном давлении* – APCI (и ее подвид с дополнительной фотоионизацией – APPI), а также *ионизация лазерной десорбцией при содействии матрицы* (MALDI).

В первом случае, 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 (рис.2-2.а).

В режиме химической ионизации 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 – электроспрее (ESI).

В методе MALDI лазерный луч вырывает ионы с поверхности мишени, на которую нанесен образец со специально подобранной матрицей (рис.2-2.б).

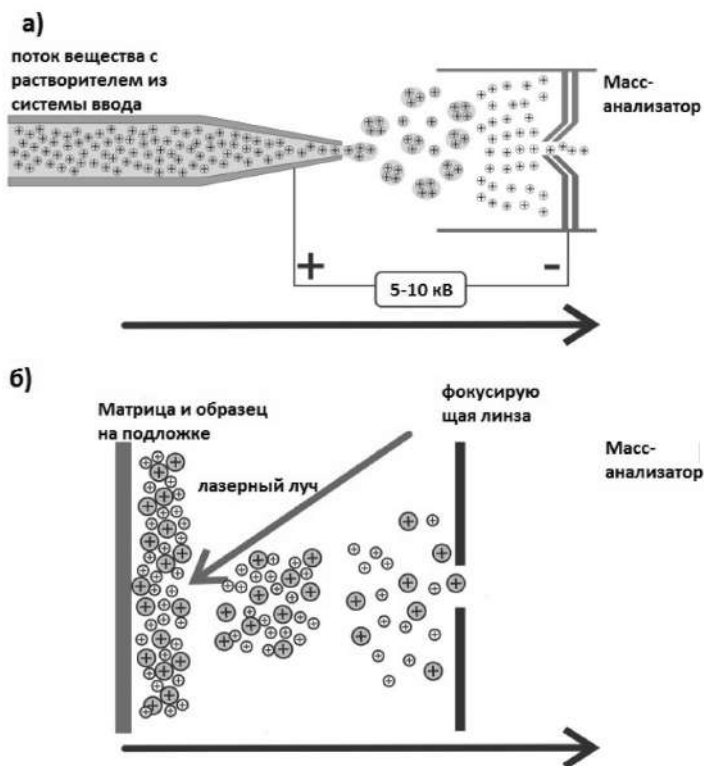


Рис.2-2. Схемы ионизации. а) – электроспрей (ESI), б) – метод MALDI.

До сих пор мы описывали методы, применяемые для ионизации относительно «мягких» соединений, составляющих органическую материю. «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. Энергии связи атомов в твердом теле гораздо больше и значительно более жесткие методы необходимо использовать 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.

### **2.1.1.3. Ионизация в индуктивно-связанной плазме. Термоионизация**

Первый метод, наиболее распространенный, ионизация в так называемой индуктивно-связанной плазме. *Индуктивно-связанная плазма* (ИСП, ICP) 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 (того же аргона в большинстве случаев).

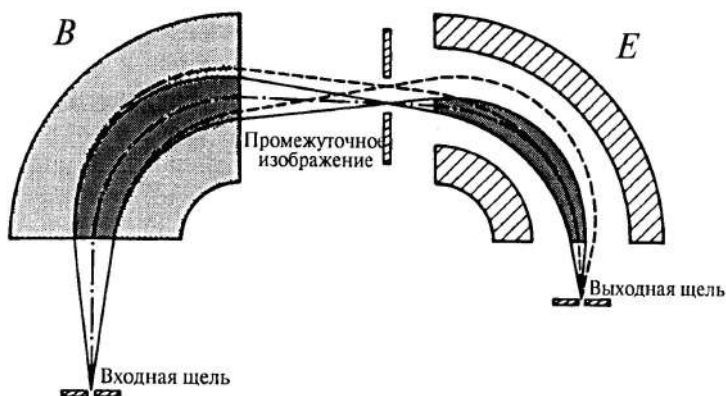
### **2.1.2. Масс-анализаторы**

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».

#### **2.1.2.1. Двойная фокусировка**

Все масс-анализаторы используют физические законы движения заряженных частиц. Исторически первым масс-анализатором, остающимся непревзойденным по своим характеристикам и сегодня, 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. Для того чтобы увеличить разрешение, на пути ионов устанавливается еще и электростатический анализатор (рис.2-3). Магнитные масс-спектрометры имеют высокое разрешение и могут использоваться со всеми видами ионизации.

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



**Рис.2-3.** Масс-анализатор с двойной фокусировкой. В – магнитное поле, создаваемое магнитным анализатором, Е – электрическое поле, создаваемое электростатическим анализатором.

обойтись, им нет альтернативы (органический анализ с высоким разрешением, анализ изотопных соотношений, элементный анализ на предельной чувствительности), но в современном мире существуют тысячи аналитических применений масс-спектрометрии, для многих из них годятся приборы и меньшего калибра.

### 2.1.2.2. Квадруполь

Ученые в течение долгого времени искали альтернативу магниту в качестве масс-анализатора. Первым успеха добился профессор Стэнфордского университета Роберт Финниган, 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.

Ионы, влетающие параллельно оси этих стержней, попадают в гиперболическое поле и оно, 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. Магнит-

ные масс-спектрометры требуют использования высоких напряжений (тысячи вольт), а квадрупольные нет, и это упрощает его конструкцию, меньшие размеры вакуумной части упрощают систему создания вакуума. Масс-спектрометры уменьшились в размерах, стали проще в эксплуатации и, что самое главное, намного дешевле, что открыло возможность использовать этот аналитический метод многим тысячам пользователей.

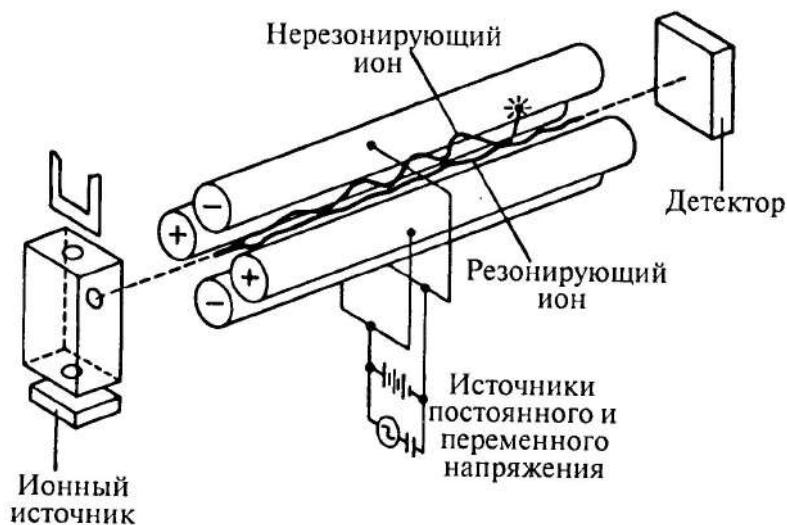


Рис.2-4. Квадрупольный масс-анализатор.

### 2.1.2.3. Квадрупольная ионная ловушка и ее применение в tandemной масс-спектрометрии

Дальнейшее развитие квадрупольных анализаторов привело к созданию «ионной ловушки». 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 молекул стала проводиться прямо внутри ловушки. Впоследствии, правда, от этого отказались, вновь вынеся

место, где создаются ионы, за пределы ионной ловушки, что оказалось более выигрышным.

Существенным моментом работы ионных ловушек является подбор времени, в течение которого ионы остаются захваченными в ловушке. С одной стороны, это время должно быть достаточно длительным (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 нежелательным ионно-ионным и ионно-молекулярным реакциям, которые могут привести к существенным изменениям масс-спектра, а также к образованию объемного заряда, препятствующего как можно более полному детектированию ионов детектором.

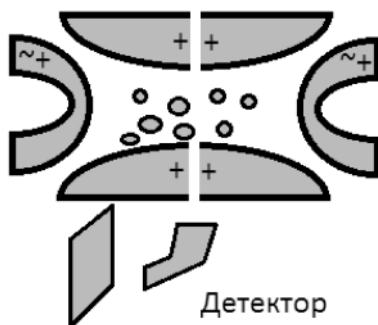


Рис.2-5. Схема квадрупольной ионной ловушки.

Для того, чтобы избежать всего этого, была разработана система, которая «следит» за количеством ионов в ловушке. Система делает очень короткий «прескан», в течение которого она определяет популяцию ионов, а затем уже подстраивает время, в течение которого ионы остаются в ловушке и делает аналитическое сканирование. То есть, если ионов мало – время, которое они проводят в ловушке – увеличивается, если много, соответственно, наоборот. Это ни в коей мере не уменьшает скорость сканирования, но значительно увеличивает информационную ценность анализа – позволяет избавляться от нежелательных ре-

акций между ионами или молекулами, за счет увеличения времени получения полезного сигнала добиваться максимальной чувствительности.

Появление квадрупольных ловушек на базе линейных квадруполей 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 МС/МС. МС/МС – 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 достаточно 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. А ведь те, кто занимается анализом сложных молекул, столкнулись с тем, что и двух и трех последовательных масс-анализаторов иногда не достаточно для того, чтобы расшифровать их структуру. Вот здесь-то ионная ловушка оказалась 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, остальные выбросить, подвергнуть фрагментации, зарегистрировать и т.д. В некоторых приборах так можно поступить 10 или 15 раз.

Важнейшим преимуществом тандемной масс-спектрометрии является так называемый целевой анализ. Многочисленные задачи, стоящие перед аналитикой, подразумевают

определение конкретных органических соединений в образцах, причем, чем меньше 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 много меньше чем других многочисленных соединений, находящихся в этом же образце. Эти сигналы не видны за «химическим шумом» или сигналом матрицы. Для того, чтобы добиться селективности, можно использовать высокое разрешение, но это и сложнее и дороже, можно использовать метод селективной регистрации ионов (SIM). 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. Если по полному спектру в сочетании с хроматографическим временем удерживания можно было практически однозначно подтвердить целевое соединение, то теперь у нас осталось только время удерживания и один сигнал в масс-спектре, 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, теперь и линейным квадрупольным ловушкам, а с другой стороны, огромная потребность этой быстро развивающейся отрасли науки стимулирует быстрые разработки новых приборов и методов анализа биомолекул. На сегодняшний день в этой области самым переломным и распространенным методом анализа стала двумерная микроколоночная высокоэффективная жидкостная хроматография – ионизация в электроспрее – тандемная масс-спектрометрия.

#### **2.1.2.4. 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 в последнее время масс-анализатор на основе ионно-циклотронного резонанса. Именно этот тип масс-анализатора позволяет наиболее точно измерить массу иона, обладает очень высоким разрешением. 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 возможно благодаря применению масс-анализатора ионно-циклотронного резонанса с Фурье преобразованием. В этом анализаторе ионы влетают в тороидальное сильное магнитное поле и вращаются там по циклическим орбитам (как в циклотроне, ускорителе элементарных частиц). Такой масс-анализатор обладает определенными преимуществами: имеет очень высокое разрешение, диапазон измеряемых масс весьма широк, 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 °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 частота 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, что 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 очень высокой 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 квадрупольных за счет запирающих потенциалов на входном и выходном концах. Затем, за счет резонансной радиочастоты выбрасываются в направлении перпендикулярном стержням квадрупольных и регистрируются двумя электронными умножителями. Такой механизм позволяет значительно увеличить популяцию захваченных ловушкой ионов, что ведет к расширению динамического диапазона и к улучшению чувствительности.

#### **2.1.2.5. Времяпролетный анализатор**

При исследовании соединений, непереводимых в газовую фазу, также популярны «времяпролетные» (*Time Of Flight*, TOF)

масс-анализаторы. Мы ранее говорили, что ионы сортируются по массам за счет закономерностей движения заряженных частиц в поле (магнитном или электростатическом). И это не совсем относится к времяпролетным анализаторам, поскольку в них, как раз, ионы движутся в бесполом пространстве. Ионы из источника разгоняются электрическим полем, приобретая достаточно большую кинетическую энергию, и вылетают в бесполое 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, то есть с его помощью легко измерять массы очень больших молекул. На базе квадрупольных анализаторов это сделать невозможно, недостаточно энергии для разгона больших молекул. Магнитные анализаторы такого масштаба окажутся слишком большими (рабочий диапазон масс магнитного анализатора пропорционален магнитному полю).

Времяпролетные анализаторы оказались очень выигрышными для такого применения и могут использоваться для измерений масс огромных молекул (с массами в десятки и сотни тысяч атомных единиц). А наиболее подходящим методом ионизации оказался описанный выше MALDI (ионизация лазерной десорбцией при содействии матрицы).

#### ***2.1.2.6. Орбитальная ловушка ионов***

В июне 2005 года представлен серийный масс-спектрометр, использующий новый масс-анализатор – орбитальную ловушку

ионов (рис.2-6). 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-циклотронного резонанса, 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.

Попадающие в поле ионы начинают двигаться по стабильным циклическим траекториям вокруг центрального электрода и одновременно осциллировать вдоль оси центрального электрода (благодаря тому, что введенные перпендикулярно центральной оси в ловушку ионы обладают потенциальной энергией вследствие отклонения точки ввода от точки симметрии ловушки). Хотя радиальная и угловая частоты также зависят от  $m/z$  иона, гармоническая осциляция 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.

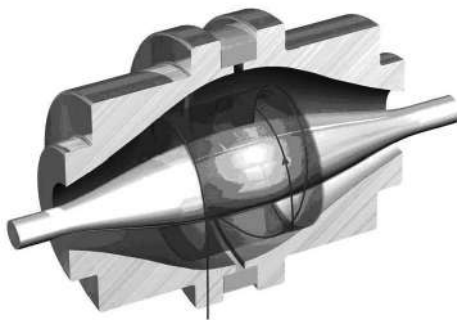


Рис.2-6. Орбитальная ловушка ионов.

Благодаря тому, что аксиальная осцилляция не зависит от энергии ионов и тому, что электрическое поле устанавливает-

ся с высокой точностью и стабильностью, может быть достигнуто высокое разрешение и масса 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 100 000 на половине высоты пика, измерения точной массы иона, высокой чувствительности, быстроты и легкости работы, что востребовано в наиболее ответственных применениях масс-спектрометрии, таких как протеомика, метаболомика, разработка и анализ лекарственных средств, допинговый анализ у спортсменов и многих других.

Мы описали процессы получения ионов, рассортировки их массам (анализа по массам), теперь нам осталось их чем-нибудь измерить. Измеряя массу ионов ( $m/z$ ) и их количество на каждой массе (интенсивность), мы и получим масс-спектр, который может, например, выглядеть, как это показано на рисунке 2-7.

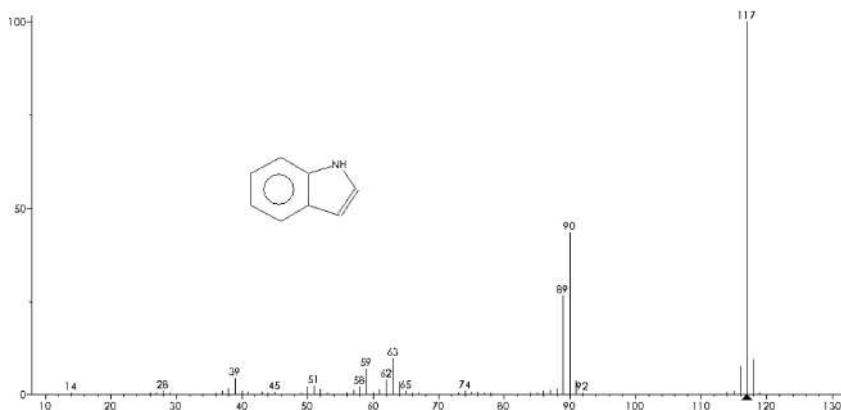


Рис.2-7. Масс-спектр индола (70 эВ).

### **2.1.3. Детекторы**

Итак, последним элементом описываемого нами упрощенного масс-спектрометра, является детектор заряженных частиц. Первые масс-спектрографы использовали в качестве детектора фотопластинку. Сейчас 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.

Другой вариант – фотоумножители, регистрирующие свечение, возникающее при бомбардировке ионами люминофора. Кроме того, используются микроканальные умножители, системы типа диодных матриц и коллекторы, собирающие все ионы, попавшие в данную точку пространства (коллекторы Фарадея). Подробности детектирования ионов можно найти в специальной литературе.

### **2.1.4. 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 сочетания хроматографического ввода вещества, в основном после разделения методом газовой и жидкостной хроматографии. Образцы вводят в область высокого вакуума, где располагаются ионный источник, масс-анализатор и детектор ионов.

#### **2.1.4.1. 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 и 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 моле-

кулярные натекатели. Однако их можно использовать только для веществ с достаточно высокой упругостью пара.

#### ***2.1.4.2. Системы прямого ввода образца***

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 в области высокого вакуума и устанавливают напротив ионного источника. Температурно-программируемый нагрев штока обеспечивает поступление образца в источник. И вновь использование подобных систем ограничено веществами с достаточным давлением пара при повышенной температуре (около 450 °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.

#### ***2.1.4.3. 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, более подробное их рассмотрение перенесено в отдельную главу (см. Глава 7. Автоматизация и комбинированные методы анализа.).

## 2.2. Характеристики масс-спектрометров

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

### 2.2.1. 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). Для того, чтобы проанализировать все ионы по отношению их массы к заряду он должен сканировать, то есть параметры его поля должны за заданный промежуток времени пройти все значения, нужные для пропускания к детектору всех интересующих ионов. Эта скорость разворачивания поля называется скоростью сканирования и должна быть как можно больше (соответственно, время сканирования должно быть как можно меньше), поскольку 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.

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 11 000 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 всех перечисленных выше масс-анализаторов 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. В этом случае было бы хорошо воспользоваться сверх-быстрой хроматографией (на тонких коротких быстро прогреваемых колонках). Для такой задачи лучше всего подойдет времяпролетный масс-спектрометр, который, способен записывать масс-спектры со скоростью 40 000 в секунду!

### *2.2.2. 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  $M/\Delta M$ . 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  $M/\Delta M$  в данном случае, характеризует конкретную массу. Имеет смысл характеризовать эти масс-анализаторы по ширине пиков, величине, остающейся постоянной во всем диапазоне масс. Эта ши-

рина пиков, обычно, измеряется на 50% их высоты. 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. А такие масс-анализаторы, которые, в основном, измеряют номинальные массы, называют анализаторами низкого разрешения. Мы написали «в основном», потому что сегодня 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. Типичным для магнитного прибора разрешением является  $>60\,000$ , а работа на уровне разрешения  $10\,000$ – $20\,000$  является рутинной. На масс-спектрометре ионно-циклотронного резонанса на массе около 500 а.е.м. можно легко достигнуть разрешения 500 000, что позволяет проводить измерения массы ионов с точностью до 4–5 знака после запятой. Разрешения в несколько тысяч также можно добиваться 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  $\pm$  десятки 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., соответственно (оба характеризуются одним

массовым числом 28). Эти ионы будут регистрироваться масс-спектрометром порознь при разрешении  $\geq 2500$ , а точное значение массы даст ответ – какой из газов регистрируется (рис.2-8).

Измерение точной массы доступно на приборах с двойной фокусировкой, на некоторых tandemных квадрупольных масс-спектрометрах и на масс-спектрометрах ионно-циклотронного резонанса.

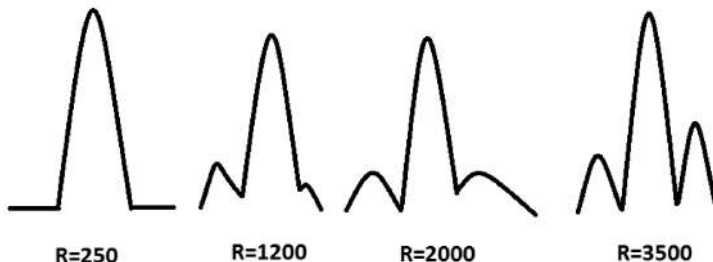


Рис.2-8. Изменение вида масс-спектра в зависимости от разрешения,  $m/z=28$  а.е.м.

### 2.2.3. 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.

### 2.2.4. 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 простоты 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 введем 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 чувствительности прибора достаточно, 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. Для того, чтобы продемонстрировать, с какими точностями и изотопными чувствительностями имеет дело изотопная масс-спектрометрия, прибегнем к следующему примеру. 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 стовосьми граммовых, а 10 или 12. Этот пример очень легок 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).

Важнейшая характеристика при анализе органических соединений – это чувствительность. 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, снижению шума.

## 2.3. Аналитический эксперимент

Масс-спектрометр является высокоселективным и высокочувствительным детектором. Он хорошо подходит как для качественного анализа, предполагающего определение структуры, элементного состава, молекулярной массы определяемого вещества, а также, для количественного и полуколичественного анализа.

### 2.3.1. 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 — 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.

### 2.3.1.1. 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.

### 2.3.1.2. 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 ряду:

*ароматические соединения > сопряженные алкены >  
> циклические соединения > органические сульфиды >  
> короткие n-алканы > меркаптаны и 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.

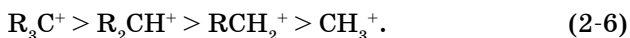
Осколочные ионы можно использовать для определения структуры, поскольку они образовались в результате структурно-специфического расщепления.

При фрагментации нечетно-электронного ион-радикала  $AB^{\cdot+}$  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.

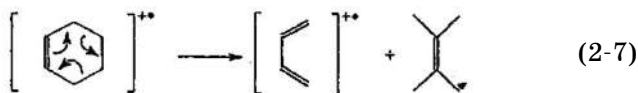
Отщепление по связи с алкильным заместителем весьма вероятно вследствие устойчивости образующегося карбониевого иона:



Наиболее объемный заместитель легче всего удаляется в виде радикала.

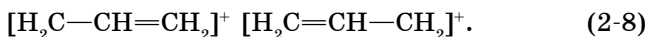
Двойные связи и ароматические кольца имеют тенденцию стабилизировать молекулярный ион.

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

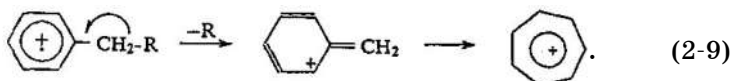


Молекулы, содержащие гетероатомы, двойные связи и ароматические кольца, подвергаются реакциям расщепления двух типов — гомолитическому и гетеролитическому расщеплению.

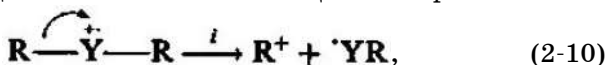
1. *Гомолитическое расщепление* — фрагментация осуществляется по связи, находящейся через одну от радикала. В результате образуется карбониевый ион с делокализованным зарядом. В соединениях с двойной связью происходят реакции аллильного расщепления, приводящие к резонансно-стабилизированному аллильному карбониевому иону:



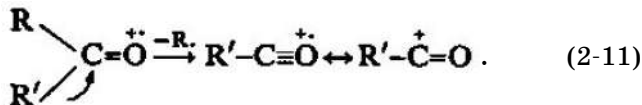
В алкилзамещенных ароматических соединениях имеет место расщепление в  $\alpha$ -положении к бензольному кольцу, в результате чего образуется резонансно-стабилизированный бензильный ион или тропиловый ион ( $\text{C}_7\text{H}_7^+$ , семичленный цикл):



2. *Гетеролитическое расщепление* — разрывается 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:

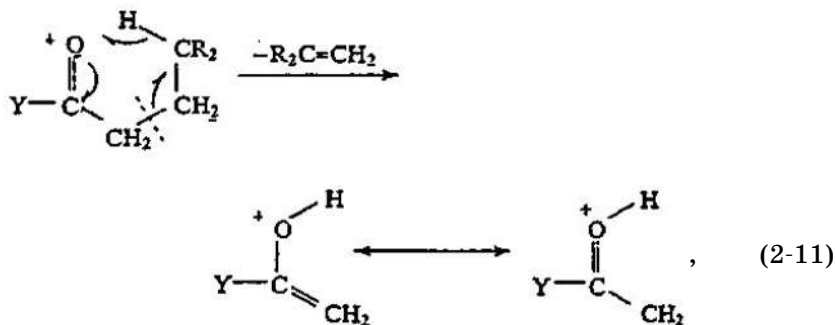


где Y может быть атомом кислорода, азота, серы или галогена. Разрыв связи с атомом в  $\alpha$ -положении по отношению к карбонильной группе является другим примером этого типа расщепления. В результате образуется стабильный катион ацилия:



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

Кроме простого расщепления, могут происходить перегруппировки. Перегруппировки 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 нечетно-массовый осколочный ион из четно-массового 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. 2-1 приведены основные характеристические ионы, а в табл. 2-2 — наиболее характерные потери массы, наблюдаемые в спектрах ЭУ. Научиться интерпретировать масс-спектры можно только на практике, используя многочисленные подходы в зависимости от требуемой информации.

### 2.3.2. Количественный анализ

Для выполнения количественного анализа необходимо оценить величину сигнала прибора при вводе известного количества

Табл.2-1

**Характеристические осколочные ионы  
в масс-спектрах ЭИ**

$m/z$	Ион	Возможные предшественники осколочных ионов
15	$\text{CH}_3^+$	Метил, алкан
29	$\text{C}_2\text{H}_5^+$ или $\text{HCO}^+$	Алкан, альдегид
30	$\text{CH}_2=\text{NH}_2^+$	Амин
31	$\text{CH}_2=\text{OH}^+$	Простой эфир или спирт
43	$\text{C}_3\text{H}_7^+$ или $\text{CH}_3\text{CO}^+$	Алкан, кетон
45	$\text{CO}_2\text{H}^+$ или $\text{CHS}^+$	Карбоновая кислота, тиофен
50, 51	$\text{C}_4\text{H}_2^+$ , $\text{C}_4\text{H}_3^+$	Арильная группа
77	$\text{C}_6\text{H}_5^+$	Фенил
83	$\text{C}_6\text{H}_{11}^+$	Циклогексан
91	$\text{C}_7\text{H}_7^+$	Бензил (ион тропилия)
105	$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_2\text{H}_4^+$	Замещенный бензол
	$\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$	Дизамещенный бензол
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}^+$	Бензоил

Табл.2-2

**Характеристические потери массы в масс-спектрах ЭИ**

$m$	Состав	Возможные предшественники осколочных ионов
15	$\text{CH}_3$	Метильные производные
16	$\text{CH}_4$	Метильные производные
	$\text{NH}_2$	Амиды
	O	Оксиды азота

<i>m</i>	Состав	Возможные предшественники осколочных ионов
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>	Ароматические соединения
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

целевого компонента. Сигнал основывается либо на высоте хроматографического пика, либо, как правило, на площади пика. В обоих случаях расчёты ведут от нулевой (базовой) линии детектируемого пика. Сигнал отклика прибора обычно измеряют по результатам анализа нескольких проб, называемых стандартами, или градуировочными стандартами. Они представляют широкий диапазон концентраций вещества. Значения величин сигналов-откликов на эти стандарты представляют в виде графика, называемого градуировочной кривой. Как правило, наблюдается линейная зависимость между количеством вещества и величиной отклика, хотя, возможны и более сложные зависимости.

При количественном расчёте методом внешнего стандарта в качестве отклика непосредственно используют абсолютную величину площади пика или его высоты, которые затем используют для уточнения градуировочной кривой (полученной по результатам анализа стандартных образцов), или для анализа количества вещества (в пробах неизвестного состава) с использованием градуировочной кривой.

### ***2.3.2.1. Метод внешнего стандарта***

Количественный расчёт методом внешнего стандарта эффективен по времени и стоимости расчётов, однако не позволяет достичь высокой точности и достоверности.

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 преимущества селективного сканирования ионов заключаются 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 специфичных 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. Когда в количественном анализе используют методы мягкой ионизации, как, например, в случае сочетания масс-спектрометрии и жидкостной хроматографии, то необходимо использовать tandemную МС, так как из-за отсутствия фрагментации только сам специфический ион присутствует в спектре. Селективный мониторинг реакции при помощи tandemной 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. Остановимся немного подробнее на описании метода внутреннего стандарта. В данном методе, компонент, добавляется в пробу, для формирования эталонного отклика для компонентов пробы, не являющихся стандартами. Концентрация или количество внутреннего стандарта в любой анализируемой пробе неизменно. Внутренний стандарт, как правило, добавляют на последнем этапе подготовки пробы перед её непосредственным использованием. Поскольку сам внутренний стандарт и другие соединения, являющиеся компонентами пробы, анализируются вместе, данный подход проведения количественных расчётов имеет преимущества, так как компенсируются ошибки связанные с дозированием и пробоподготовкой. Внутренний стандарт должен быть близок по физическим и химическим свойствам к определяемому компоненту. Хорошо подходят гомологи или изомеры целевого компонента. Идеальный внутренний стандарт – это структурный или изотопно-меченный аналог одного из целевых компонентов. Масс-спектрометрия позволяет различить естественные и меченые соединения. В ГХ-МС анализе меченый внутренний стандарт обычно имеет несколько меньшее время удерживания. В количественном расчёте методом внутреннего стандарта величина отклика основывается на отношении абсолютных площадей или высот пиков целевого компонента и внутреннего стандарта. Отношение площадей пиков затем используется для построения градуировочной кривой (при анализе стандартов), или для расчёта количества

вещества (в пробе неизвестного состава) с использованием градуировочной кривой. В пробе может быть любое количество компонентов внутреннего стандарта, но каждый целевой компонент (не являющийся внутренним стандартом) может быть проградуирован только по одному конкретному соединению – внутреннему стандарту.

Важной характеристикой значимости количественного метода является предел обнаружения определяемых веществ. Для ГХ-МС достигнуты величины порядка 1 фг/с (масс-спектрометр является детектором, чувствительным к потоку массы).

## ГЛАВА 3

### Оптическая спектроскопия

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

$$E = h \cdot \nu. \quad (3-1)$$

Коэффициент пропорциональности 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 на молекулу 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:

$$\lambda = c / \nu, \quad (3-2)$$

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

$$n = 1 / \lambda. \quad (3-3)$$

В зависимости от источника излучения фотоны различаются по энергии. Так, космические и рентгеновские лучи представляют собой потоки фотонов очень высокой энергии. У радиолучей отно-

сительно 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 света 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.

### 3.1. Виды электромагнитного излучения

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.3-1). Однако, такое деление отражает зависимость не 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.

#### 3.1.1. Радиоволны

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 ( $c = \lambda \cdot \nu$ ), то радиоволновому интервалу соответствуют частоты примерно от 10 000 герц (Гц, 1 Гц = 1 с<sup>-1</sup>) до 30 000 мегагерц (МГц, 1 МГц = 10<sup>6</sup> Гц). Излучение таких частот получают с помощью ламповых или полупроводниковых генераторов, а для регистрации применяют резонансные радиосхемы.

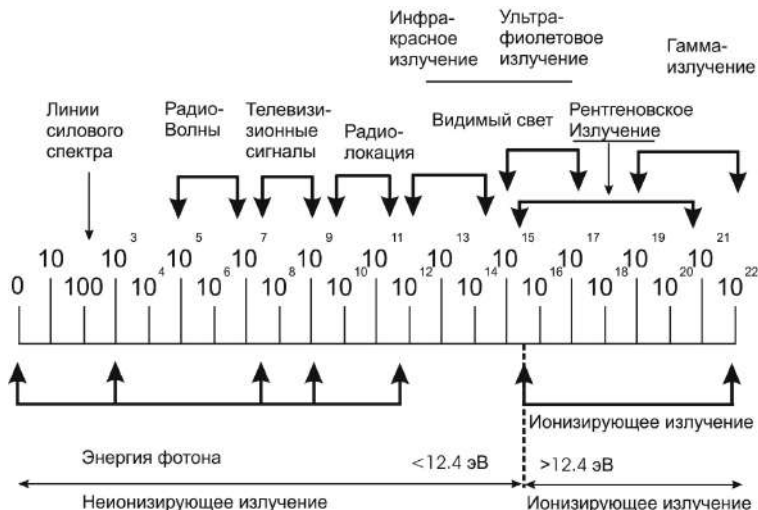


Рис.3-1. Условный спектр электромагнитного излучения.

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.

### 3.1.2. 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. Для генерации микроволнового излучения применяются специальные электронные лампы (клистроны). 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 обусловле-

но главным образом вращением молекул, хотя известны и СВЧ-спектры атомов. Исследование микроволновых вращательных спектров молекул является одним из самых точных методов определения структуры молекул газа.

### ***3.1.3. Инфракрасное излучение***

Инфракрасное (ИК) излучение было открыто английским астрономом В. Гершелем в 1800г. 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 фоторезисторы. Излучение в дальней ИК-области регистрируется болометрами – детекторами, чувствительными к нагреву инфракрасным излучением.

В качестве оптических элементов в ИК-спектрометрах используются либо линзы и призмы, либо дифракционные решетки и зеркала.

Поскольку инфракрасные спектры связаны с вращательными и колебательными движениями в молекуле, а также с электронными переходами в атомах и молекулах, ИК-спектроскопия позволяет получать важные сведения о строении атомов и молекул, а также о зонной структуре кристаллов.

### ***3.1.4. 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 обыч-

но 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.

### ***3.1.5. Ультрафиолетовое излучение***

Ультрафиолетовая (УФ) спектральная область была открыта в 1801, 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.

### ***3.1.6. Рентгеновское излучение***

В 1895 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 ниж-

ней границы диапазона рентгеновских лучей в шкале длин волн не существует.

### ***3.1.7. Гамма-излучение***

Гамма-излучение отличается от рентгеновского меньшей длиной волны ( $0,1-10^{-6}$  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.

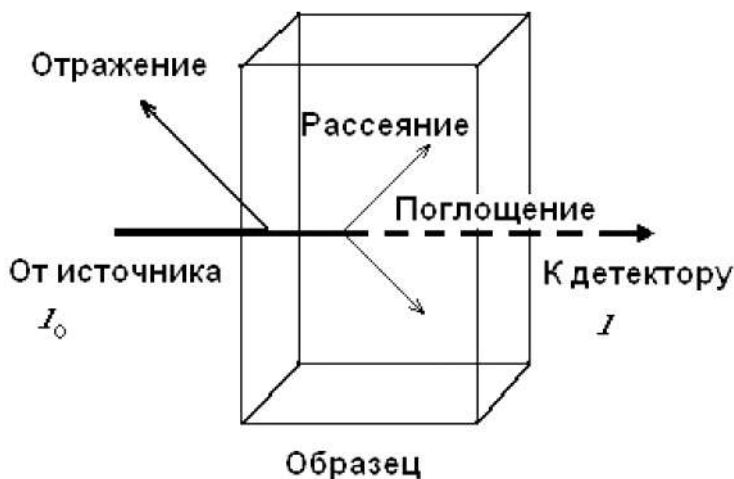
## **3.2. Основные закономерности поглощения электромагнитного излучения в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях спектра**

После прохождения светового луча через твердое вещество или кювету с жидким или газообразным веществом или его раствором интенсивность излучения уменьшается (рис.3-2):

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

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



**Рис.3-2.** Потеря интенсивности излучения при прохождении через образец.

зрачны 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 298 К) 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.

### 3.2.1. Аппаратура метода

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.3-3).

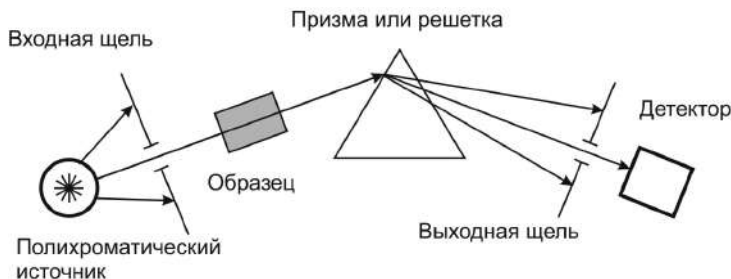


Рис.3-3. Принципиальная схема спектрометра.

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.

Для выделения монохроматического излучения служит специальное устройство, называемое монохроматором (рис.3-4).

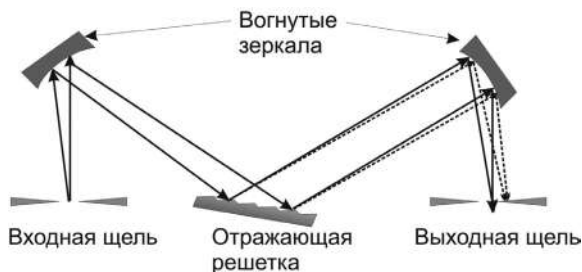


Рис.3-4. Разложение светового потока монохроматором.

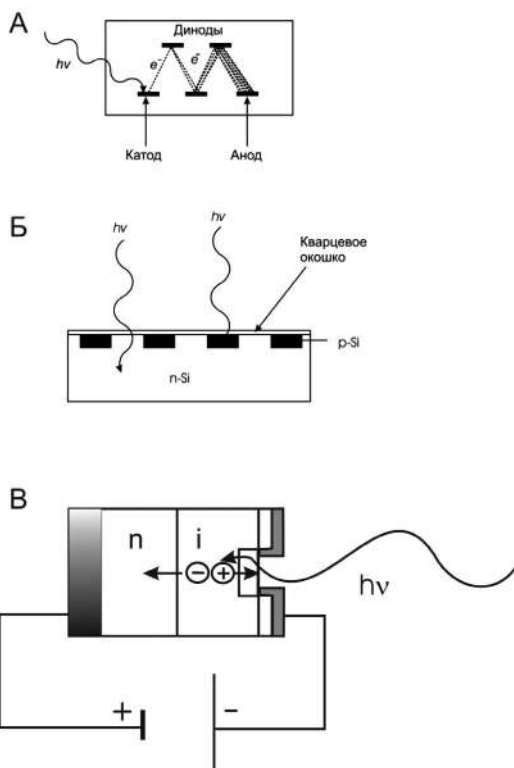
Оно состоит из входной и выходной щелей, оптической системы и диспергирующего элемента, которым служит призма, дифракционная решетка или светофильтры (последние применяются в спектрофотокориметрах). Все элементы монохроматора изготавливаются из материалов слабо поглощающих в рабочих областях, для УФ- 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. 3-5а). В последнее время, в связи с бурным развитием микроэлектроники, все большее применение находят, матричные детекторы (рис. 3-5б), состоящие, как правило, из последовательности 316 кремниевых диодов (диодная матрица). 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.3-6).

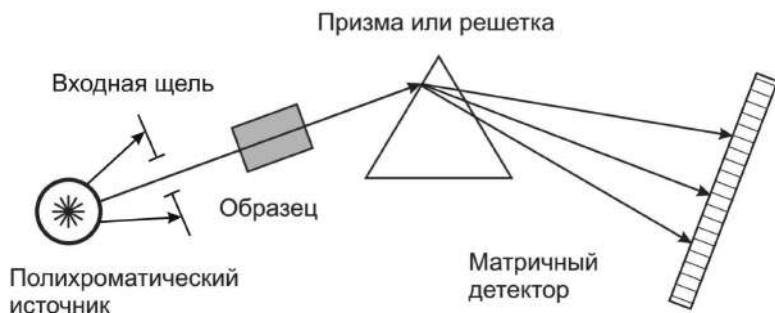
Молекулярные спектры испускания или поглощения можно получить для веществ в твердом, жидком и газообразном состоянии. Они отражают все указанные выше взаимодействия и являются источниками аналитической информации об объекте исследования, т.е. позволяют идентифицировать вещество и определить его концентрацию 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 (см. табл.3-1).

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.



**Рис.3-5.** Схемы: а – фотоумножителя, б – диодной матрицы, в – диода.



**Рис.3-6.** Принципиальная схема спектрометра с матричным детектором.

Табл.3-1

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

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

**3.2.2. Закон Бугера-Ламберта-Бера**

Зависимость монохроматического светового потока, прошедшего через слой раствора, от интенсивности падающего потока света, концентрации вещества и толщины раствора определяется объединенным законом Бугера–Ламберта–Бера, который является основным законом светопоглощения и лежит в основе большинства фотометрических методов анализа.

$$I=I_0 \cdot 10^{-kcl}, \quad (3-4)$$

где  $k$  – коэффициент светопоглощения, зависящий от природы растворенного вещества, температуры, растворителя и длины волны света. Если концентрация ( $c$ ) выражена в молях на литр, а  $l$  – в сантиметрах, то представляет собой молярный коэффициент погашения или коэффициент экстинкции и обозначается  $\epsilon_{\lambda}$ .

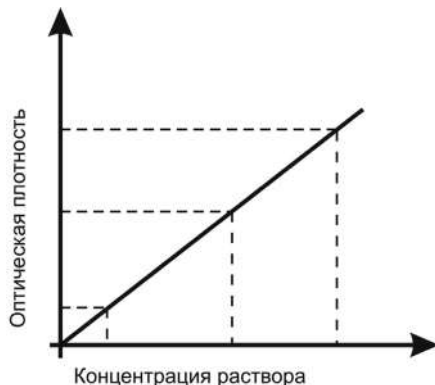
Основной закон светопоглощения в этом случае будет иметь следующий вид:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon c l}, \quad (3-5)$$

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

$$D = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot l. \quad (3-6)$$

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.3-7).



**Рис.3-7.** Зависимость оптической плотности от концентрации раствора.

Применения закона Бугера-Ламберта-Бера имеет ряд ограничений:

1. при концентрациях более 0,1 моль/л возможно заметное взаимодействие молекул определяемого вещества, приводящее к нарушению линейной зависимости  $D$  от  $c$ ;

2. другой причиной отклонений является случай, когда для анализа образца используется полихроматическое излучение, а градуировочные зависимости получены для монохроматического излучения. 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);

3. измерение следует проводить в максимуме поглощения определяемого вещества или вблизи от него.

### 3.3. Спектрфотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра

Под действием электромагнитного излучения молекулы вещества переходят на более высокие энергетические уровни. На рис.3-8 схематически представлены эти уровни (горизонтальные линии) и некоторые переходы между ними (вертикальные стрелки).

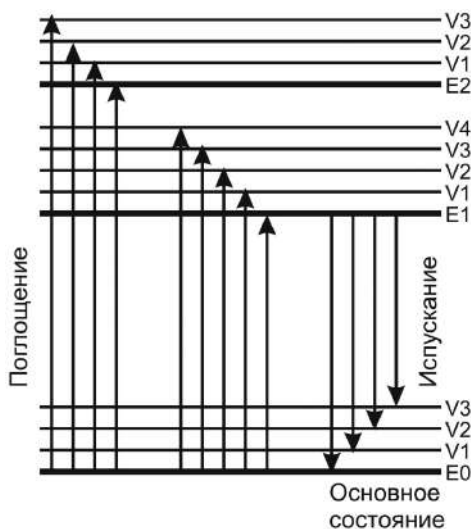


Рис.3-8. Энергетические уровни гипотетической молекулы.  
Е – электронные уровни, V – колебательные уровни.

Энергия поглощается и испускается дискретными порциями (квантами), и чтобы поглощение произошло, энергия кванта падающего излучения должна в точности соответствовать энергии перехода в одно из возбужденных состояний поглощающей молекулы. 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).

### 3.3.1. 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.

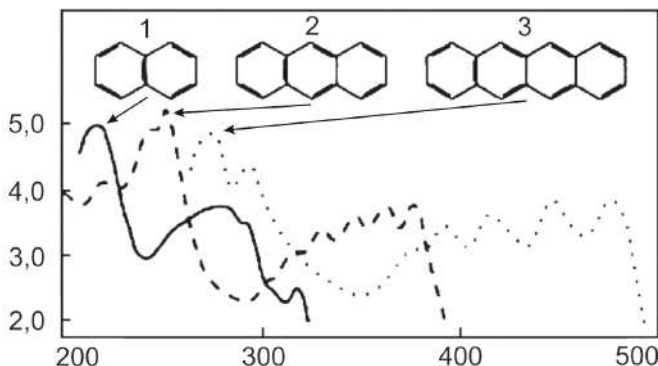
Всегда присутствующие в органических соединениях с-связи, а также несопряженные (изолированные) двойные связи, которым отвечают переходы  $n \rightarrow \sigma^*$ , в обычном УФ и видимом диапазонах не возбуждаются и, таким образом, не мешают наблюдению (табл.3-2).

Табл.3-2

#### Максимумы поглощения несопряженных хромофоров

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

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



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

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.

*Табл.3-3*

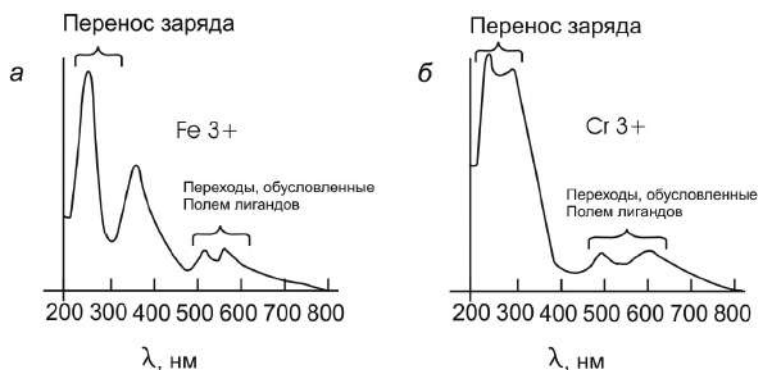
**Максимумы поглощения некоторых сопряженных хромофоров**

Вещество	$\lambda_{max}$ (нм)
$\text{CH}_3-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$	225
$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$	217

Окончание табл. 3-3

Вещество	$\lambda_{max}$ (нм)
$\text{CH}_3-(\text{CH}=\text{CH})_3-\text{CH}_3$	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

Механизм поглощения, в простейшем случае, трактуется как переход электрона с орбитального уровня донора на орбитальный уровень акцептора комплекса (рис.3-10).



**Рис.3-10.** Спектры, обусловленные переносом заряда и полем лигандов в тетраметилендитнокарбаматных комплексах.

Почти для каждого иона металла известны органические хелатообразующие реагенты (табл.3-4). Они образуют окрашенные комплексы и/или комплексы с переносом заряда, которые можно экстрагировать из водной фазы в органическую, провести концентрирование и количественное определение. Важной, по сравнению с другими методами, отличительной чертой спектральных измерений является селективность комплексообразования по отношению к различным степеням окисления.

Табл.3-4

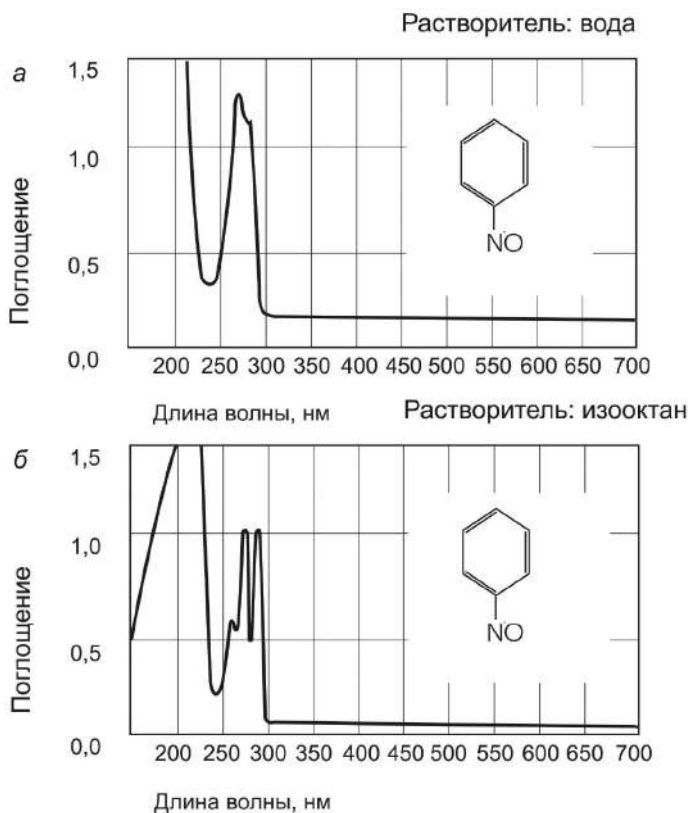
**Некоторые органические реагенты  
для фотометрического определения металлов**

№ п/п	Комплексообразующий реагент	Определяемые элементы
1	Ализарин S	Al, 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	Диэтилдитиокарбаминат	Sb, As, Pb, Cd, Co, Cu, 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	Хромотроповая кислота	B, Ti, U
12	Сульфосалициловая кислота	Fe, Ti

**3.3.2. 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.3-9), 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, например, воды.



**Рис.3-11.** Спектры в УФ/видимой области фенола.

а – водородные связи с молекулами фенола;

б – нет взаимодействия растворителя с фенолом.

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.

### ***3.3.3. 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.

#### ***3.3.3.1. 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 кюветах).

Значения оптических плотностей сравниваемых растворов будут равны:

для исследуемого раствора

$$D_x = \varepsilon_\lambda \cdot c_x \cdot l_x, \quad (3-7)$$

для стандартного раствора

$$D_{cm} = \varepsilon_\lambda \cdot c_{cm} \cdot l_{cm}. \quad (3-8)$$

Разделив выражение (3-7) на (3-8), получаем:

$$D_x / D_{cm} = (\epsilon_\lambda \cdot c_x \cdot l_x) / (\epsilon_\lambda \cdot c_{cm} \cdot l_{cm}). \quad (3-9)$$

Так как  $l_x = l_{cm}$ ,  $\epsilon_\lambda = const$ , то:

$$c_x = c_{cm} \cdot (D_x / D_{cm}). \quad (3-10)$$

Метод сравнения применяют при однократных определениях.

### 3.3.3.2. 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, желательно, чтобы оптическая плотность исследуемого раствора соответствовала примерно середине градуировочной кривой;
- желательно, чтобы в этом интервале концентраций при выбранных толщине кюветы и аналитической длины волны соблюдался основной закон светопоглощения, т.е. график был линейным;
- интервал рабочих значений  $c$ , соответствующий интервалу стандартных растворов, должен обеспечивать максимальную воспроизводимость результатов измерений.

Измеряют оптические плотности стандартных растворов относительно растворителя и строят график зависимости.

Полученная кривая называется градуировочным графиком.

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

### 3.3.3.3. 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 известного количества определяемого вещества. Метод добавок обычно применяют для упрощения работы, для устранения мешающего влияния постоянных примесей, в ряде случаев для оценки правильности методики фотометрического определения. Незвестную концентрацию находят расчетным или графическим способами.

### 3.4. 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  $5000$ – $200$  см<sup>-1</sup> 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  $\lambda=2$ – $50$  мкм, что соответствует волновым числам  $\nu=5000$ – $200$  см<sup>-1</sup>.

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, по которым многие полосы ИК-спектра могут быть связаны с определенными функциональными группами, входящими в состав молекулы (табл.3-5). 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>.

Табл.3-5

### Характеристические частоты поглощения некоторых групп атомов

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)	1750—1710
sp <sup>3</sup> C—H	2950—2850	RCOR' (кетоны)	
sp <sup>2</sup> C—O	1200	Карбоновые кислоты:	
sp <sup>3</sup> C—O	1200—1025	RCOOH	1725—1700
		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

Окончание табл. 3-5

Структурная	Частота, см <sup>-1</sup>	Структурная	Частота, см <sup>-1</sup>
<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

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. 3-12).

Область спектра от 1300 до 625 см<sup>-1</sup> известна как область «отпечатков пальцев». Сюда попадают полосы поглощения, отвечающие 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.

В наиболее высокочастотной области располагаются колебания групп X—H. Увеличение массы присоединенного к углероду атома приводит к появлению полос поглощения в более низкочастотной области. Так, частоты колебаний C—H-группы находятся около 3000 см<sup>-1</sup>, колебания C—C в области 1100–900 см<sup>-1</sup>, а C—Br – около 600 см<sup>-1</sup>. Увеличение кратности связи вызывает повышение частот.

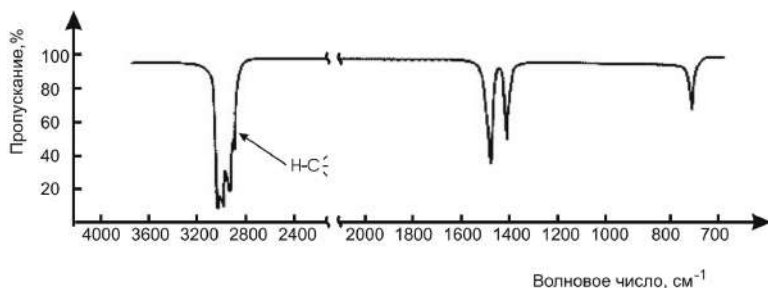
Типичный ИК-спектр, например, спектр н-гексана CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub> (рис.3-13), проявляется в виде серии полос поглощения различной формы и интенсивности. Почти все органические соединения обнаруживают пик или группу пиков близ 3000



**Рис.3-12.** Валентные и деформационные колебания метиленовой группы.

$\text{см}^{-1}$ . Поглощение в этой области обусловлено валентными колебаниями  $\text{C—H}$ . Поглощение в области  $1460$ ,  $1380$  и  $725 \text{ см}^{-1}$  обусловлено различными деформационными колебаниями  $\text{C—H}$  связей.

Для иллюстрации влияния строения молекулы на ИК-спектр сравним спектры н-гексана и гексена-1 (рис.3-14). Они весьма отличаются один от другого.



**Рис.3-13.** ИК-спектр н-гексана  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ .

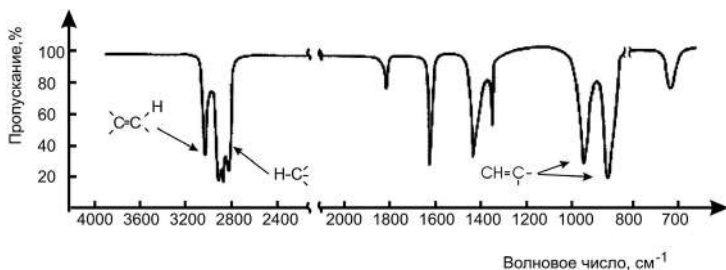


Рис.3-14. ИК-спектр гексен-1  $\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ .

В районе валентных колебаний С—Н гексен-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 гексен-1 содержит также полосу поглощения при  $1640\text{ см}^{-1}$ , связанную с валентными колебаниями кратной связи  $\text{C}=\text{C}$ . Пики около  $1000$  и  $900\text{ см}^{-1}$  в спектре гексен-1, отсутствующие в спектре гексана, относятся к деформационным колебаниям атомов водорода при двойной связи  $\text{C}=\text{C}$ .

Кроме валентных колебаний  $sp^2$  С—Н-групп известны другие группировки, проявляющиеся при частотах выше  $3000\text{ см}^{-1}$ . Наиболее важная из них это О—Н-группа спиртов. На рис.3-15 представлен ИК-спектр гексанола-2.

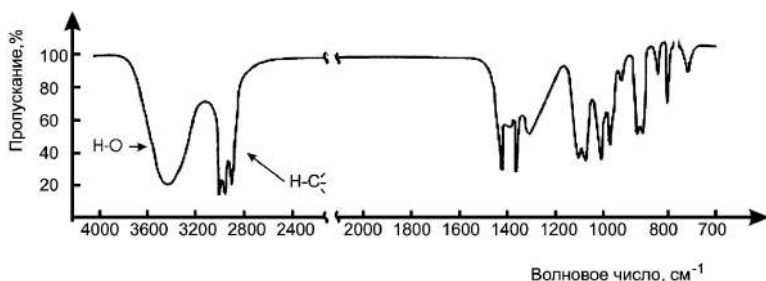
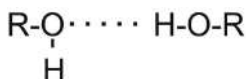


Рис.3-15. ИК-спектр гексанола-2  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ .

Спектр содержит широкий сигнал при  $3300\text{ см}^{-1}$ , соответствующий валентным колебаниям О—Н-групп спиртов, свя-

занных межмолекулярной водородной связью. В разбавленных растворах спиртов в инертном растворителе (хлороформе  $\text{CHCl}_3$ , четыреххлористом углероде  $\text{CCl}_4$ ), где водородное связывание типа:



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

Карбонильная группа принадлежит к наиболее легко различимым структурным фрагментам молекул, обнаруживаемым методом ИК-спектроскопии. Валентные колебания двойной связи  $\text{C}=\text{O}$  проявляются интенсивным сигналом в интервале  $1800\text{--}1650 \text{ см}^{-1}$ . Этот пик ярко выражен в спектре гексано-2, приведенном на рис.3-16.

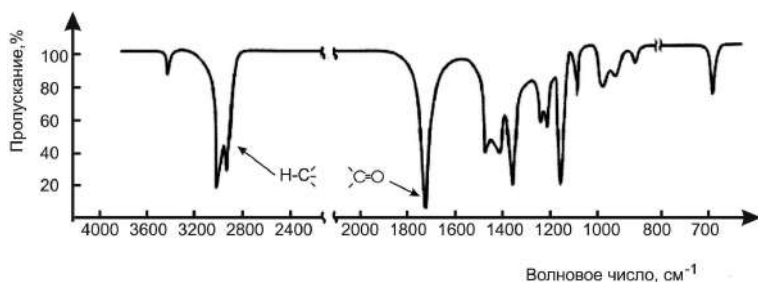


Рис.3-16. ИК-спектр гексано-2  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ .

Положение карбонильной полосы поглощения в спектре зависит от природы заместителей при карбонильной группе  $\text{C}=\text{O}$ . Характеристические частоты, свойственные альдегидам и кетонам, амидам, сложным эфирам и т.д., приведены в табл.3-5.

Ароматическое кольцо проявляется в ИК-спектре умеренным пиком валентных колебаний  $\text{C}-\text{H}$  в районе  $3030 \text{ см}^{-1}$ . Другая характерная особенность – валентные колебания арома-

тических углерод-углеродных связей наблюдаются обычно при 1600 и 1475  $\text{см}^{-1}$ . Наконец, ароматическое кольцо обнаруживает интенсивное поглощение в диапазоне 800–690  $\text{см}^{-1}$ , обусловленное деформационными колебаниями C—H. Все эти особенности ароматического кольца наблюдаются в ИК-спектре толуола (рис.3-17).

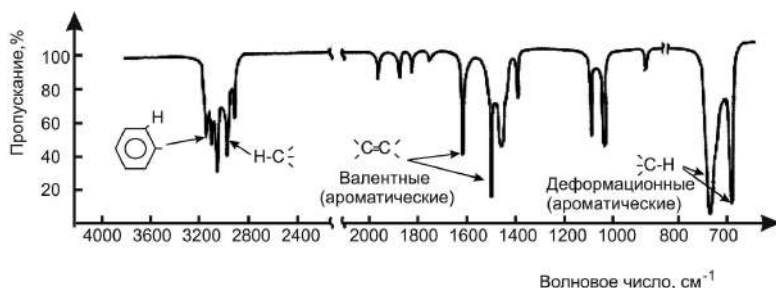


Рис.3-17. ИК-спектр толуола.

## ГЛАВА 4

### 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 свободный атом переходит в возбужденное состояние:

$$A + h \cdot \nu = A^*, \quad (4-1)$$

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

$$\nu = (E_{A^*} - E_A) / h, \quad (4-2)$$

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 пере-

вод 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 переходят 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 годы, в качестве атомизатора служило пламя газовой горелки, а в 70-е годы для этих целей начали использовать и графитовые печи

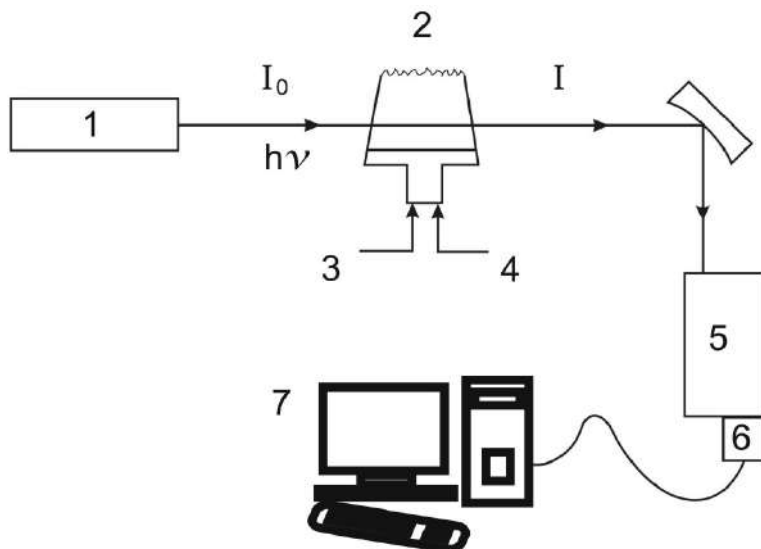
## 4.1. Основы метода ААС

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.4-1). Область нахождения свободных атомов должна располагаться на пути между источником первичного излучения и детектором.

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 понятным, почему ААС является эффективным методом количественного анализа.

## 4.2. Устройство прибора ААС

Для измерения атомной абсорбции применяют однолучевые и дуолучевые атомно-абсорбционные спектрофотометры (анализаторы).

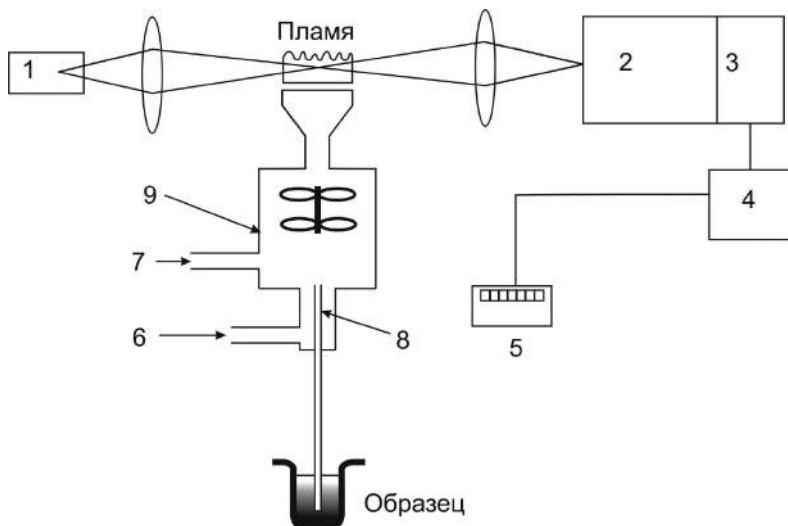


**Рис.4-1.** Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра.

1 – первичный источник излучения; 2 – атомизатор; 3 – проба;  
4 – горючий газ и окислитель; 5 – оптическая диспергирующая система; 6 – детектор; 7 – сбор, редактирование и обработка данных.

Схема однолучевого атомно-абсорбционного спектрофотометра показана на рис.4-2.

Свет от источника света (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.



**Рис.4-2.** Схема атомно-абсорбционного спектрофотометра.

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

Из-за малой интенсивности измеряемых световых потоков (маломощные источники излучения, узкие щели источника и монохроматора) в методе ААС для детектирования применяются фотоэлектронные умножители (рис.3-5а), 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.

### 4.2.1. 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.4-3), изготовленного из высокочистого металла, который необходимо определить, и испускает спектр в виде интенсивных узких линий, характерных для этого элемента.

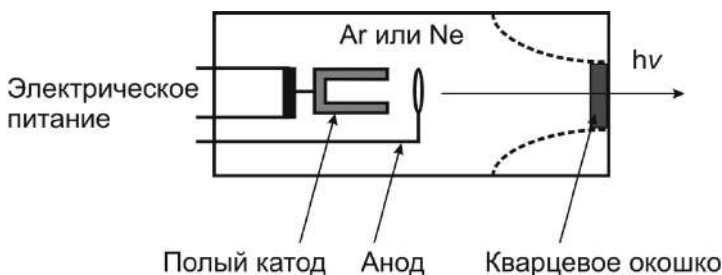
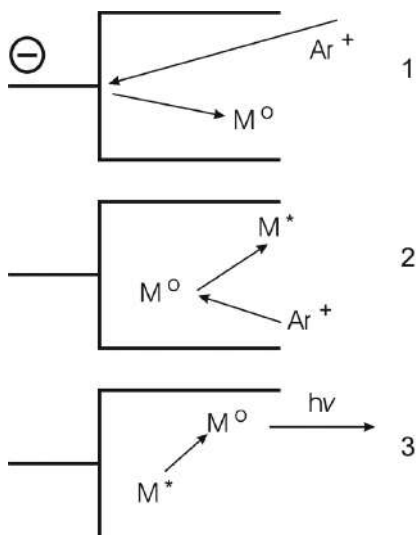


Рис.4-3. Схема лампы с полым катодом (ЛПК)

Катод и анод размещены в стеклянном цилиндре, наполненном инертным газом – Ag или Ne под давлением 1–5 мм рт.ст. Высокое напряжение и ток до 30 мА используют для формирования положительно заряженных ионов газа-буфера. Эти ионы бомбардируют поверхность катода, выбивая из него 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.4-4).

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



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

### 4.2.2. Источники свободных атомов

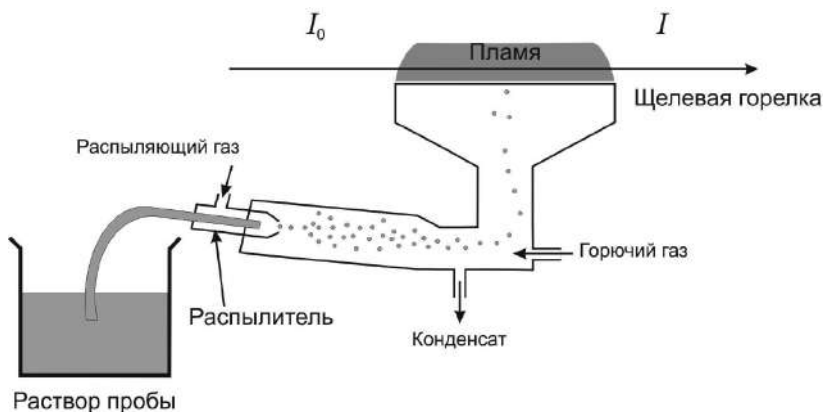
В современной технике атомно-абсорбционного анализа используются два способа атомизации – в пламени и электрических атомизаторах. Пределы обнаружения элементов методом ААС с использованием разных методов атомизации приведены на рис 4-5.

#### 4.2.2.1. Атомизация 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. Схема атомизатора для пламенной ААС приведена на рис. 4-6.

	I	II a	III h	IV h	V h	VI h	VII h	VIII h	I h	II h	III a	IV a	V a	VI a	VII a	VII a								
1	H								Пределы обнаружения, мкг/л  С использованием разных методов атомизации										He					
2	Li 0.1	Be 0.03																	B 70	C	N	O	F	Ne
3	Na 0.05	Mg 0.008																	Al 0.2	Si 0.2	P 200	S	Cl	Ar
4	K 0.02	Ca 0.4	Sc 20	Ti 4.0	V 1.3	Cr 0.06	Mn 0.02	Fe 0.15	Co 0.2	Ni 0.4	Cu 0.1	Zn 0.01	Ga 0.5	Ge 1.0	As 0.05	Se 0.1	Kr							
5	Rb 0.08	Sr 0.12	Y 5.0	Zr 400	Nb 2000	Mo 0.2	Tc	Ru 1.8	Rh 0.5	Pd 0.8	Ag 0.01	Cd 0.01	In 0.4	Sn 1.0	Sb 0.1	Te 0.1	Xe							
6	Cs 0.5	Ba 0.4	La 2000	Hf 2000	Ta 1000	W 1000	Re 400	Os 70	Ir 3.0	Pt 3.0	Au 0.1	Hg 0.005	Tl 0.3	Pb 0.1	Bi 0.3	Po 0.1	Rn							
7	Fr	Ra	Ac																					
				Ce 50000	Pr 3000	Nd 600	Pm	Sm 500	Eu 1.9	Gd 1500	Tb 700	Dy 2.8	Ho 30	Er 4.5	Tm 3.0	Yb 7.0	Lu 600							
				Th	Pa	U 7000	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr							

Рис.4-5. Пределы обнаружения элементов методом ААС.



**Рис.4-6.** Схема атолизатора для пламенной ААС  $I_0$  – интенсивность падающего света;  $I$  – интенсивность прошедшего света. В качестве распыляющего газа применяется воздух или другой окислитель.

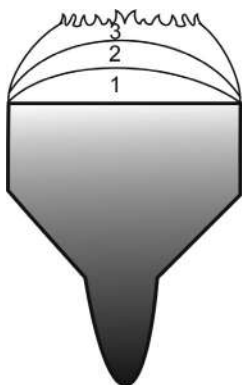
В практике атомно-абсорбционного анализа наибольшее применение получили два пламени: воздушно-ацетиленовое и пламя оксида азота с ацетиленом. Эти две газовые смеси взаимно дополняют друг друга и совместно позволяют определять примерно 70 элементов, см. табл.4-1. Воздушно-пропановое пламя пригодно в основном для определения щелочных металлов; кадмия, меди, свинца, серебра и цинка.

Табл. 4-1

### Составы газовых смесей для пламенной ААС

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

Пламя горелки можно разделить на несколько зон: первичная реакционная зона, зона внутреннего пламени, вторичная реакционная зона, см. рис.4-7.



**Рис.4-7.** Зоны ламинарного пламени. 1 – первичная реакционная зона; 2 – зона внутреннего конуса; 3 – вторичная реакционная зона.

Первичная реакционная (1) зона для анализа не используется, так как температура в ней менее  $1000^{\circ}\text{C}$ . Зона внутреннего конуса (2) благоприятна для измерения атомной абсорбции элементов, образующих термостойкие оксиды (алюминия, молибдена и т. п.). Вторичная реакционная зона (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 прочими 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.

#### 4.2.2.2. Атомизация в электротермических атомизаторах

Очень простой в эксплуатации является тонкостенная графитовая печь, схема которой показана на рис.4-8.

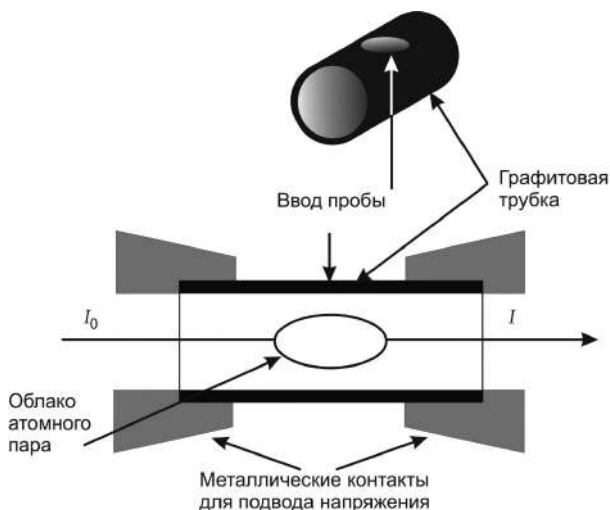


Рис.4-8. Графитовая печь Массмана.  $I_0$  – интенсивность падающего света;  $I$  – интенсивность прошедшего света.

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 атомизатора.

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), озольнение (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 озольнения часто наблюдается другой сигнал абсорбции, обусловленный рассеянием зондирующего излучения дымом, частицами золы и т. д.

Атомизация пробы в графитовой печи в зависимости от физико-химических особенностей определяемых элементов и матрицы пробы может происходить двумя путями:

- проба первоначально испаряется с нагретой поверхности атомизатора, а затем диссоциирует на элементы в газовой фазе;
- проба первоначально термически диссоциирует до соответствующих оксидов, которые затем восстанавливаются до металла на границе поверхностей, либо углеродом:



либо оксидом углерода:



Метод атомной абсорбции с применением электротермического атомизатора обеспечивает рекордно низкие пределы обнаружения по многим элементам. Их численные значения колеблются для разных элементов от десятых до десятитысячных долей нанограмма в одном миллиметре раствора пробы, достигая иногда в абсолютном выражении значения  $10^{-12}$ – $10^{-14}$  г.

## ГЛАВА 5

### Методы термического анализа

Влияние тепла на поведение различных материалов издавна интересовало человечество. Использование огня для приготовления пищи, а льда для ее сохранения, по-видимому, можно считать первыми химическими экспериментами. С развитием науки, область, изучающая процессы, протекающие с веществом при нагревании, выделилась в отдельное направление, называемое сегодня 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 автором 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 1300 К, 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 Ле Шателье использовал фотопластинку.

Известно, что каолинит теряет структурную воду при температуре около 900 К. Данный процесс является эндотермическим. Полученные при разложении аморфные продукты кристаллизуются с выделением тепла при температуре около 1200 К. В слу-

чае, 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 сгустились, а при кристаллизации продукта, происходящей с выделением тепла, они проявлялись на больших расстояниях друг от друга. По густоте линий Ле-Шателье мог 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. Галлилея, 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.

## 5.1. 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.5-1 приведены основные характеристики перечисленных термоаналитических методов и их комбинаций.

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

## 5.2. Термогравиметрический анализ

ТГА – метод термического анализа, при котором регистрируется изменение массы образца в зависимости от температуры. ДТА основан на сравнении термических свойств исследуемого образца и инертного вещества, принятого в качестве эталона, а регистрируемым параметром служит разность их температур.

По способу нагрева образца принято выделять следующие виды ТГ:

1 – Изотермическая ТГ, когда масса образца измеряется на протяжении некоторого времени при постоянной температуре.

2 – Квасистатическая 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.

### ***5.2.1. Устройство термогравиметрических анализаторов***

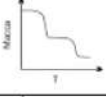
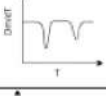
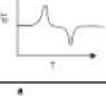
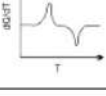
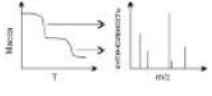
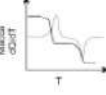
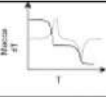
Основными узлами ТГА являются прецизионные весы и электропечь. Вместе с устройством управления и соответствующим программным обеспечением термогравиметрический анализатор образует систему для термического анализа. Рассмотрим устройство ТГА на примере современного серийного термогравиметрического анализатора.

В большинстве серийных приборов используется та или иная разновидность электромагнитных весов Канна (рис.5-1). 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 получить электрический сигнал пропорциональный изменению массы. Аналоговые данные записываются непрерывно и могут быть одновременно преобразованы в цифровые данные.

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, п.э. 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

Табл.5-1

**Основные характеристические особенности термоаналитических методов и их комбинаций**

Индивидуальные методы термоанализа			
Метод	Регистрируемый параметр	Измерительный прибор	Типичный вид кривой
ТГ	Масса	Термогравиметрический анализатор	
ТГП (ДТГ)	$dm/dT$		
ДТА	$T_{образца} - T_{эталоны}$ (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	

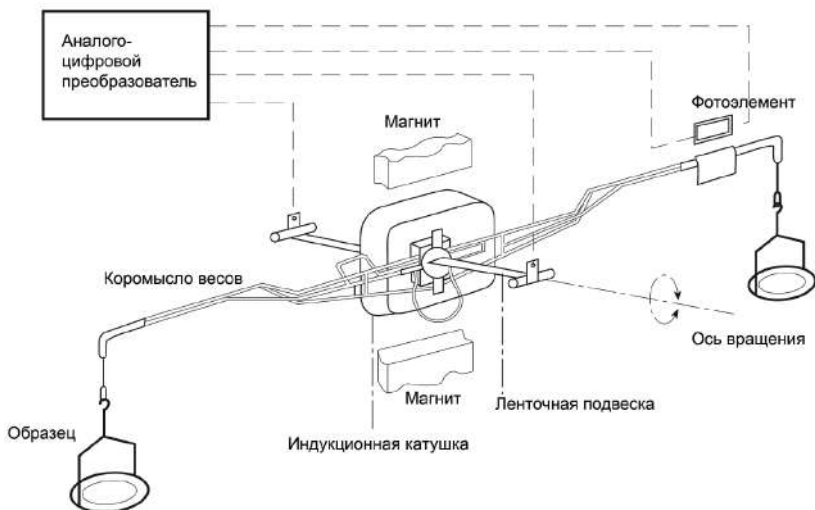


Рис.5-1. Схема электромагнитных весов Канна.

измерения составляет не более 0,1%. Обычно для анализа выбирают образцы в интервале масс от 1 г до 1 мкг.

Вторым конструктивным элементом 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 °С, при этом максимальная скорость нагревания составляет ~50 град/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. 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 также помнить, что термопара должна быть расположена таким образом, чтобы не оказывать влияния на процесс измерения массы. На рис.5-2 приведены различные варианты взаимного расположения образца и термопары внутри печи. Они обеспечивают необходимую точность измерения и, при этом, не требуют сложного аппаратного оформления.

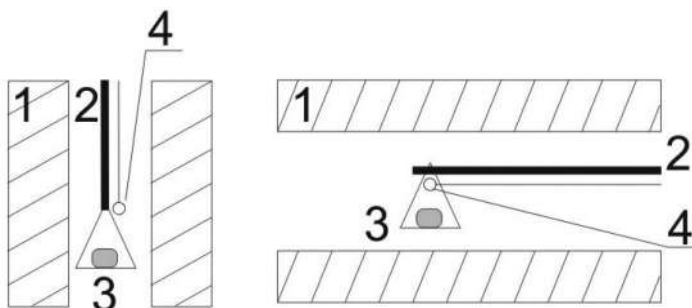


Рис.5-2. Варианты расположения образца в печи.

1 – электропечь; 2 – подвес; 3 – чаша весов с образцом; 4 – термопара

Управление изменением температуры и ее контроль осуществляется специальным блоком-контроллером, снабженным цифровым преобразователем.

Информация с датчиков температуры и массы образца, преобразованная в цифровые данные, обрабатываются 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 их 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 и от времени/темпе-

ратуры, в результате на графике возникает ТГ-кривая (рис.5-3). 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.

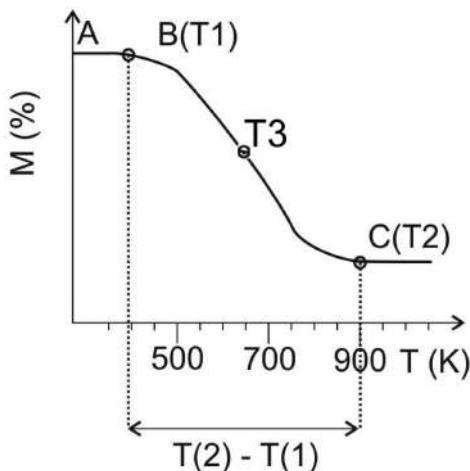
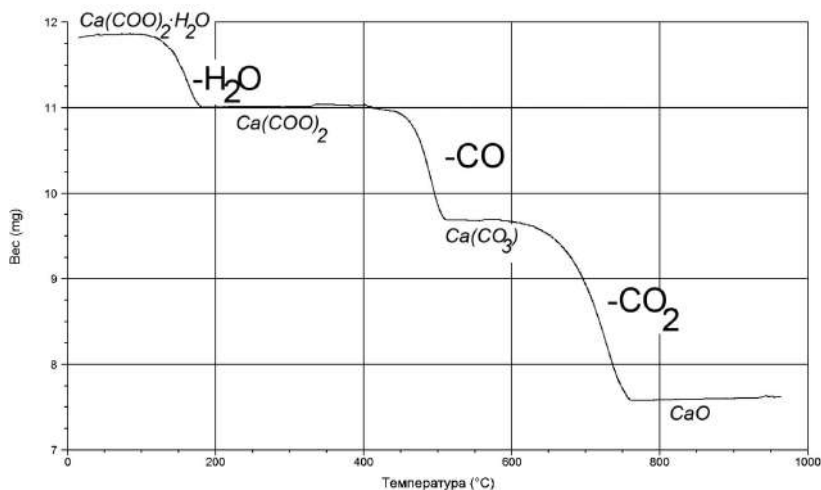


Рис.5-3. Вид идеализированной ТГ-кривой.

На рис.5-3. 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. Точка Т3 является точкой перегиба кривой ВС и имеет большое значение при изучении кинетики реакции разложения. Температурный интервал реакции определяется как разность конечной  $T(2)$  и начальной  $T(1)$  температур ( $T = T(2) - T(1)$ ). Если процесс разложения образца сопровождается выделением нескольких газообразных продуктов – протекает многостадийно, вид ТГ-кривой усложняется (рис.5-4)



**Рис.5-4.** Процесс разложения моногидрата оксалата кальция  $\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

Однако, на практике данные ТГ-кривой не всегда можно интерпретировать однозначно. Например, если в процессе термического разложения образуется промежуточное соединение, взаимодействующее с атмосферой печи, то вид ТГ-кривой может существенно искажаться. Для эндотермических реакций (например, окисления) при увеличении скорости нагрева наблюдается рост T1 и T2, причем T2 растет быстрее, чем T1.

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

На характер ТГ-кривых влияет множество различных факторов, связанных с характеристиками, как прибора, так и самого образца (табл.5-2).

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

Табл.5-2

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

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

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 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.

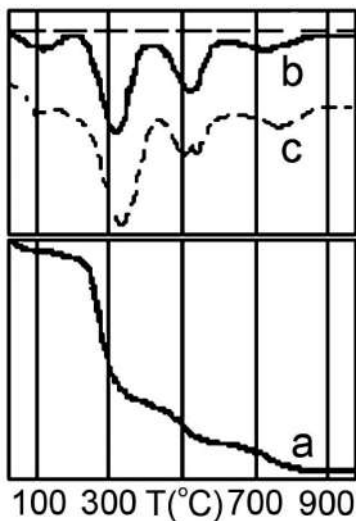
Размер частиц образца и плотность их упаковки имеют большое значение при исследовании кинетики термохимических реакций, однако, изучены недостаточно.

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).

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

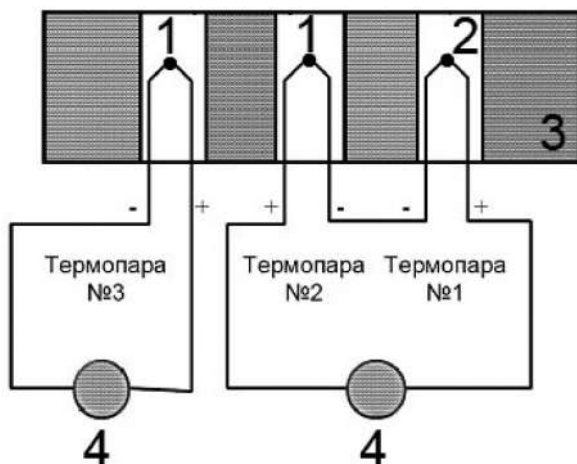
ДТГ это вид математической обработки данных, получаемых из ТГ эксперимента. Математически ДТГ-кривая это зависимость (скорость изменения массы, как функция от температуры). Ранее построение ДТГ кривых проводилось путем расчета. Однако графическое построение ДТГ кривой на основании полученной ТГ кривой 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.5-5.6 и в). ДТГ кривые лучше воспроизводимы, чем ДТА кривые. Однако ДТА кривые регистрируют термические эффекты, которые не сопровождаются потерей массы.



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

Измерительная часть приборов для термического анализа по методу ДТА состоит обычно из трех термопар (рис.5-6). Одной из них измеряется температура эталонного, термически стабильного образца. Две другие термопары включены навстречу друг другу и соединены с высокочувствительным гальванометром.



**Рис.5-6.** Дифференциальная схема термического анализа.

- 1 – термически стабильный образец (эталон) с термопарой;  
2 – исследуемый образец с термопарой; 3 – печь;  
4 – регистрирующее устройство.

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 с тепловым эффектом. С этого момента, в зависимости от того, является ли реакция экзотермической или эндотермической, начинается, соответственно, повышение или снижение 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, гальванометр даст показания, по знаку и величине соответствующие разности температур.

На графике зависимости по оси ординат откладываются наблюдаемую разность температур (пропорциональная отклонению гальванометра) 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.

#### **5.4. Комбинация метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и дифференциального термического анализа (ДТА)**

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 при исследовании вещества методом термического анализа 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.

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

В 60-х годах 20 века 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  $Q$  между исследуемым образцом и эталоном в строго контролируемых температурных 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 представлены на рис.5-7. 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.

Для калибровки используют стандарт с надежно определенными параметрами. Обычно, в качестве калибровочного стандарта используют 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.

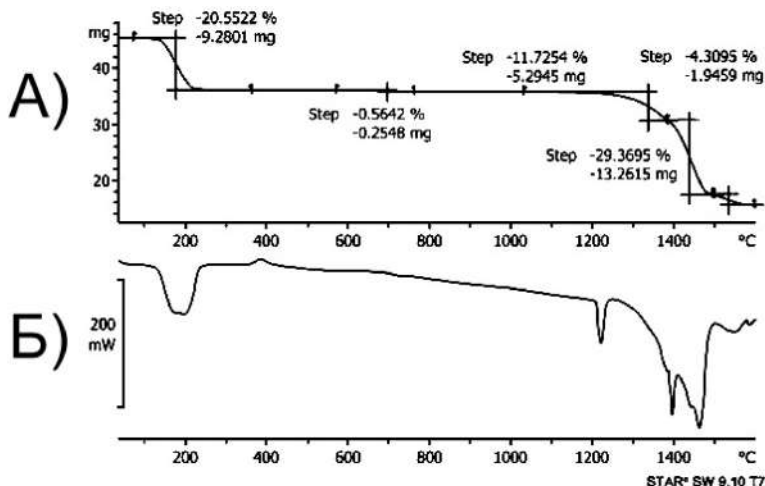


Рис.5-7. Данные совместного ТГ(А) и ДСК(В) анализа гипса.

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  $\Delta H$  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. Для удобства ТГ- и ДСК-кривые помещают на одну координатную плоскость.

Описание всех возможных способов применения в рамках данной работы сделать затруднительно, поэтому ограничимся перечислением возможностей этого метода (табл.5-3).

Табл.5-3

### Основные возможности метода ТГА/ДСК

Физические изменения	Химические изменения
Возгонка	Разложение
Испарение	Кинетика реакций

*Окончание табл. 5-3*

Физические изменения	Химические изменения
Адсорбция	Десольватация (дегидратация)
Десорбция	Катализ
Абсорбция	Твердофазные реакции
Плавление	Хемосорбция
Кристаллизация	Термическая стабильность
Переход в точку Кюри	Полимеризация
Стеклование	Горение
Жидкокристаллический переход	Отверждение смол
Немонотонное изменение теплоемкости	Гетерофазные реакции

## **ГЛАВА 6**

### **Спектроскопия ядерного магнитного резонанса**

История открытия спектроскопии ядерного магнитного резонанса связана с опытами Отто Штерна и Вальтера Герлаха, которые экспериментально подтвердили, что электрон и атомные ядра имеют собственные магнитные моменты, что, в свою очередь, было введено в физику нобелевским лауреатом В. Паули.

Работы Штерна и Герлаха были продолжены выдающимся физиком И. Раби, который впервые наблюдал явление ЯМР в молекулярных пучках и получил Нобелевскую премию по физике в 1944 году «за резонансный метод записи магнитных свойств атомных ядер». В 1952 году Нобелевская премия по физике была присуждена двум американским ученым: Феликсу Блоху и Эдварду Перселлу, которые наблюдали явление ядерного магнитного резонанса (ЯМР) в конденсированной фазе.

Однако, было бы неправильно говорить, что только иностранные ученые принимали участие в изучении явления ЯМР. Опубликованные в 2007 году архивные материалы выдающегося российского физика Е.К. Завойского показали, что в уже 1943 году, он также наблюдал сигналы ЯМР в конденсированной фазе, но не сумел добиться надежной воспроизводимости результатов и не опубликовал свои работы.

#### **6.1. Основы метода**

Физические основы ЯМР определяются магнитными свойствами атомных ядер. Энергия взаимодействия магнитного

ядра с внешним магнитным полем может принимать только несколько дискретных значений. Эти дискретные значения иначе называются собственными значениями. Если облучать магнитные ядра переменным магнитным полем, частота которого соответствует разнице между этими дискретными энергетическими уровнями, выраженной в частотных единицах, то магнитные ядра начинают переходить с одного уровня на другой, при этом поглощая энергию переменного поля. В этом и состоит явление магнитного резонанса. С помощью высокочастотного генератора можно вызвать переходы между собственными состояниями на диаграмме энергетических уровней. Поглощение энергии можно обнаружить, усилить и записать как спектральную линию, или так называемый резонансный сигнал.

Магнитное ядро можно представить как электрически заряженный шар (рис.6-1), вращающийся вокруг своей оси (хотя, строго говоря, это не так). Вращение заряда приводит к появлению магнитного поля, т.е. магнитного момента ядра, который направлен вдоль оси вращения. Если ядро с магнитным моментом  $\mu$  поместить в постоянное внешнее поле, то вектор этого момента начинает прецессировать, т.е. вращаться вокруг направления внешнего поля составляя с ним некоторый угол. При этом возможны два устойчивых состояния с разной энергией. Более низкой энергией будет обладать такое состояние, когда момент ядра «ориентирован по полю». Более высокой энергией обладает состояние, когда магнитный момент ядра «направлен против поля». Таким образом во внешнем магнитном поле происходит расщепление уровней энергии.

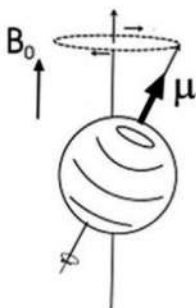


Рис.6-1. Магнитный момент ядра во внешнем магнитном поле.

Очевидно, что если в системе существует несколько дискретных состояний с различными энергиями, то между ними возможны переходы. Если кроме постоянного внешнего магнитного поля на ядро будет воздействовать переменное (радиочастотное) магнитное поле, то ядро начинает взаимодействовать с этим, амплитуда прецессии увеличивается, и ядро поглощает энергию, точнее квант энергии, переменного поля. Однако, это будет происходить только при условии резонанса, т.е. совпадения частоты прецессии и частоты внешнего переменного поля. В результате система перейдет из нижнего состояния на более высокое, и это поглощение может быть зарегистрировано. Основой ЯМР-спектроскопии, собственно, и является регистрация таких переходов. Экспериментально это явление проявляется в зависимости поглощения переменного поля от его частоты. В момент резонанса поглощение резко возрастает, а простейший спектр магнитного резонанса, т.е. зависимость поглощения от частоты выглядит как показано на рис.6-2.

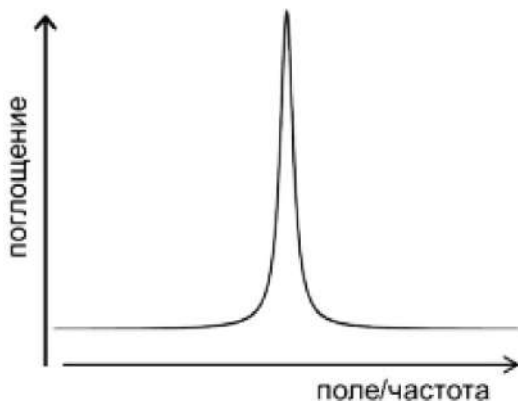


Рис.6-2. Зависимости поглощения переменного поля от его частоты.

### 6.1.1. Магнитные ядра

Кроме массового числа  $M$  и заряда  $Z$ , ядра атомов, как было сказано выше, имеют еще одну важную характеристику – магнитный момент  $\mu$ . Не имеют магнитных моментов ( $\mu = 0$ ) только такие ядра, у которых  $M$  и  $Z$  – четные. В их состав входит четное

число протонов и нейтронов ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{28}\text{Si}$ ,  $^{32}\text{S}$ , и другие). Эти ядра нельзя исследовать методом ЯМР. Все другие ядра (118 стабильных изотопов 104 известных химических элементов Периодической системы) имеют магнитные моменты, и для них можно наблюдать ЯМР. Эти магнитные ядра различаются по величине магнитных моментов и по значению ядерного спина. Для каждого ядра есть свое характерное соотношение магнитного поля и частоты прецессии, называемое гиромагнитным отношением. Для всех ядер эти отношения известны. По ним можно подобрать частоту, на которой при данном магнитном поле будет наблюдаться сигнал от нужных исследователю ядер.

Итак, ЯМР можно наблюдать на ядрах, в состав которых входит четное число протонов и нейтронов, но ядро углерода, столь важное для органической химии, а также многие другие ядра с четным массовым числом и четным атомным номером не имеют магнитных моментов. Однако, методом ЯМР можно исследовать изотоп углерода  $^{13}\text{C}$ . Сложность здесь заключается еще и в том, что природное содержание изотопа  $^{13}\text{C}$  составляет всего 1,1%. Именно низкая концентрация  $^{13}\text{C}$  и не менее важного для органической химии азота, точнее его изотопа  $^{15}\text{N}$  в молекулах сильно сдерживала, на первых парах, развитие ЯМР спектроскопии. Только после введения метода Фурье преобразования удалось преодолеть эту трудность. Часто в ЯМР-исследованиях прибегают к еще одному приему – готовят специальные изотопно-обогащенные образцы, в которых природный изотоп того или иного ядра замещен на тот, который нужен для экспериментов. В большинстве случаев эта процедура весьма непростая и недешевая, но иногда это единственная возможность получить необходимую информацию.

### ***6.1.2. Магнитные взаимодействия в веществе***

Сам по себе магнитный резонанс остался бы не более чем физическим явлением, если бы не магнитные взаимодействия ядер друг с другом и с электронной оболочкой молекулы. Эти взаимодействия влияют на параметры резонанса, и с их помощью методом ЯМР можно получать разнообразную информацию о свойствах молекул. Благодаря этому ЯМР стал мощным инструментом исследования веществ на молекулярном уровне, который широ-

ко применяется не только в физике, но главным образом в химии и молекулярной биологии. В качестве примера одного из таких взаимодействий можно привести так называемый химический сдвиг. Суть его в следующем: электронная оболочка молекулы откликается на внешнее магнитное поле, частичное экранирование магнитного поля происходит во всех диамагнитных веществах. Это означает, что магнитное поле в молекуле будет отличаться от внешнего магнитного поля на очень небольшую величину, которая и называется химическим сдвигом. Однако свойства электронной оболочки в разных частях молекулы разные, и химический сдвиг тоже разный. Соответственно, условия резонанса для ядер в разных частях молекулы тоже будут отличаться. Это позволяет различать в спектре химически неэквивалентные ядра.

## 6.2. Устройство ЯМР-спектрометра

Основная часть ЯМР-спектрометра – магнит, создающий высокооднородное постоянное поле. Внутри находится радиочастотная катушка, в которой расположена ампула с образцом. Катушка соединена с генератором радиочастотного поля и приемником, основу которого составляет радиочастотный мост, выделяющий сигнал поглощения. После усиления этот сигнал регистрируется самописцем. При включении генератора его частота медленно изменяется в ту или иную сторону по линейному закону. Такой эксперимент называют экспериментом «с частотной разверткой». В тот момент, когда достигается условие резонанса, самописец фиксирует сигнал поглощения (рис.6-3). При дальнейшем изменении частоты в том же направлении условие резонанса нарушается, и самописец снова регистрирует нулевую линию. Таким образом, спектр ЯМР представляет собой график в координатах «интенсивность сигнала поглощения – частота радиочастотного поля». Эксперименты с непрерывной разверткой можно осуществить, оставив частоту генератора постоянной, но при этом меняя напряженность поля. Очевидно, что результат будет тот же самый, поскольку резонансная частота и напряженность поля связаны линейно. При такой «развертке поля» увеличению резонансной частоты соответствует умень-

шение напряженности поля. ЯМР-спектры принято записывать так, чтобы напряженность поля увеличивалась слева направо. Это соответствует уменьшению частоты в том же направлении. Поэтому часто в литературе можно встретить такое выражение: «сигнал расположен в области слабого (или сильного) поля». Оно означает, что сигнал, о котором идет речь, находится слева (справа) от сигнала эталонного соединения, от которого проводят отсчет.

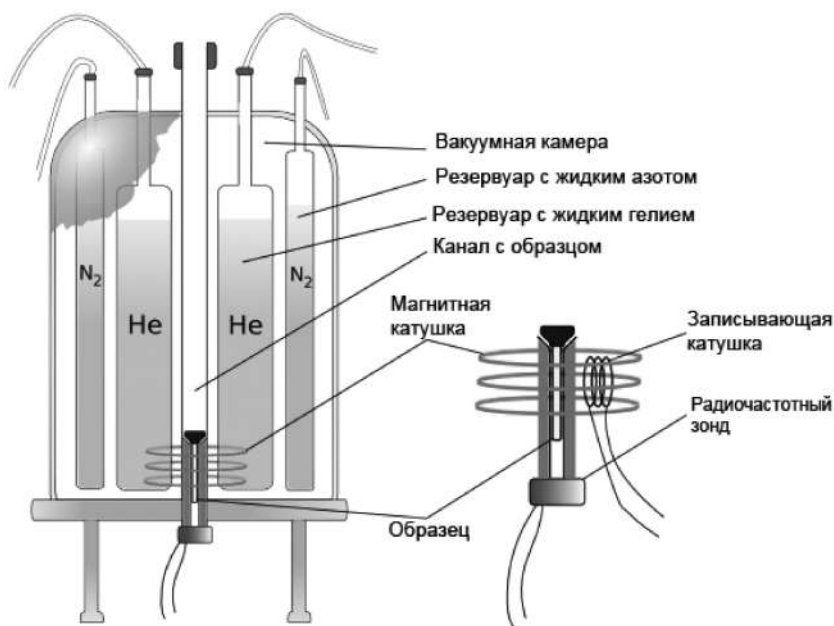


Рис.6-3. Блок-схема простейшего ЯМР-спектрометра.

### 6.2.1. Магниты для ЯМР-спектрометров

Как уже было сказано выше, магнит – одна из самых важных и дорогих частей спектрометра (рис.6-4). Чем сильнее магнитное поле, тем выше чувствительность и спектральное разрешение, поэтому ученые и инженеры постоянно пытаются получить как можно более сильные поля.



Рис.6-4. Магнит ЯМР-спектрометра.

Магнитное поле создается электрическим током в соленоиде — чем сильнее ток, тем больше поле. Однако бесконечно увеличивать силу тока нельзя, при очень большом токе провод соленоида просто начнет плавиться. Поэтому уже очень давно для ЯМР-спектрометров используются сверхпроводящие магниты, т.е. магниты, в которых провод соленоида находится в сверхпроводящем состоянии. В этом случае электрическое сопротивление провода стремится к нулю, и выделения энергии не происходит практически при любой величине тока. Сверхпроводящее состояние можно получить только при очень низких температурах, всего нескольких Кельвинов. Для этой цели для охлаждения применяют жидкий гелий ( $T_{\text{кип}} = 4,2 \text{ К}$ ). Именно с поддержанием такой низкой температуры и связаны все технические сложности конструирования и производства магнитов, которые обуславливают их дороговизну. Сверхпроводящий магнит помещен внутри специального «термоса». Соленоид находится в центре, в вакуумной камере. Его окружает оболочка, в которой находится жидкий гелий. Эта оболочка через вакуумную прослойку окружена оболочкой из жидкого азота ( $T_{\text{кип}} = 77,4 \text{ К}$ ). Азот нужен для того, чтобы гелий испарялся как можно медленнее. Наконец, азотная оболочка изолируется от комнатной температуры внешней ваку-

умной прослойкой. Такая система способна сохранять нужную температуру сверхпроводящего магнита достаточно долго, хотя для этого нужно регулярно подливать в магнит жидкие азот и гелий. Преимущество таких магнитов кроме возможности получать высокие магнитные поля также и в том, что они не потребляют энергии: после запуска магнита ток течет по сверхпроводящим проводам практически без каких-либо потерь.

### ***6.2.2. ЯМР-спектрометры с Фурье преобразованием***

В современных ЯМР-спектрометрах спектры записываются с помощью импульсов. Магнитные моменты ядер возбуждаются коротким мощным импульсом, после которого регистрируется сигнал, наводимый в РЧ-катушке свободно прецессирующими магнитными моментами. Этот сигнал постепенно спадает к нулю по мере возвращения магнитных моментов в состояние равновесия (этот процесс называется магнитной релаксацией). Спектр ЯМР получается из этого сигнала с помощью Фурье преобразования. Это стандартная математическая процедура, позволяющая раскладывать любой сигнал на частотные гармоники и таким образом получать частотный спектр этого сигнала. Этот способ записи спектра позволяет значительно понизить уровень шумов и проводить эксперименты намного быстрее. И снижает требование к минимальному количеству вещества, необходимого для анализа.

Один возбуждающий импульс для записи спектра — это самый простейший ЯМР-эксперимент. Однако таких импульсов, разной длительности, амплитуды, с разными задержками между ними и т.п., в эксперименте может быть много, в зависимости от того, какие именно манипуляции исследователю надо провести с системой ядерных магнитных моментов. Тем не менее, практически все эти импульсные последовательности оканчиваются одним и тем же — записью сигнала свободной прецессии с последующим Фурье преобразованием.

### ***6.2.3. Чувствительность ЯМР-спектрометра***

Неоспоримое преимущество ЯМР-спектроскопии заключается в том, что этот метод позволяет получать пространственно-селективные данные о свойствах молекулы, в отличие от многих

других физических методов, которые дают информацию либо усредненную по всей молекуле, либо только о какой-то одной ее части. Однако в сравнении с большинством других экспериментальных методов ЯМР обладает достаточно низкой чувствительностью.

Для того, чтобы повысить чувствительность необходимо увеличивать магнитное поле. Известно, что интенсивность сигнала пропорциональна квадрату напряженности магнитного поля.

Увеличение чувствительности также может быть достигнуто за счет увеличения времени наблюдения сигнала. Однако и в данном случае существуют ограничения, связанные с временными изменениями других параметров, например, однородности магнитного поля. В ЯМР обычно используется термин «накопление спектров». Накопление требует существенно больше времени, чем запись обычного спектра, поэтому очень важна стабильность настройки ЯМР-спектрометра.

#### ***6.2.4. Томография***

В обычных ЯМР-спектрометрах магнитное поле стараются сделать как можно более однородным, это нужно для улучшения спектрального разрешения. Но если магнитное поле внутри образца, наоборот, сделать очень неоднородным, это открывает принципиально новые возможности для использования ЯМР.

Неоднородность поля создается так называемыми градиентными катушками, которые работают в паре с основным магнитом. В этом случае величина магнитного поля в разных частях образца будет разная, а это значит, что сигнал ЯМР можно наблюдать не от всего образца, как в обычном спектрометре, а только от его узкого слоя, для которого соблюдаются резонансные условия, т.е. нужное соотношение магнитного поля и частоты. Меняя величину магнитного поля (или, что по сути то же самое, частоту наблюдения сигнала), можно менять слой, который будет давать сигнал. Таким образом можно «просканировать» образец по всему объему и «увидеть» его внутреннюю трехмерную структуру, не разрушая образец каким-либо способом.

К настоящему времени разработано большое число методик, позволяющих измерять различные параметры ЯМР (спектральные характеристики, времена магнитной релаксации, скорость

самодиффузии и некоторые другие) с пространственным разрешением внутри образца. Самое интересное и важное, с практической точки зрения, применение в медицине. В этом случае исследуемым «образцом» является человеческое тело. ЯМР-томография (томография, от греч. – сечение, получение послойного изображения внутренней структуры объекта.) является одним из самых эффективных и безопасных (но также и дорогих) диагностических средств в различных областях медицины. Схема томографа приведена на рис. 6-5.

### 6.3. Интерпретация ЯМР-спектров

Интерпретацию ЯМР-спектров проводят в соответствии с основными параметрами: химическим сдвигом, константами спин-спинового взаимодействия и мультиплетностью сигнала, которые коррелируют со структурой соединения и распределением электронной плотности в молекуле.

Наибольшее значение в органической химии имеют ЯМР-спектры на ядре протона  $^1\text{H}$ . В этом случае принято использовать термин протонный магнитный резонанс (ПМР). Ниже в качестве примеров будут рассмотрены спектры ПМР.

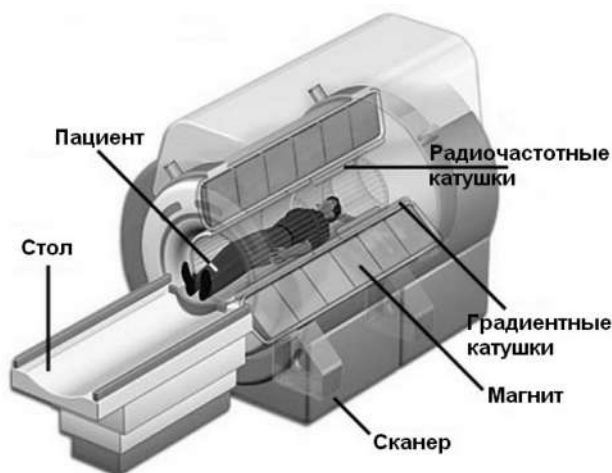


Рис. 6-5. Схема медицинского томографа.

### 6.3.1. Химический сдвиг

Химическим сдвигом называется расстояние между резонансными сигналами различных ядер. Абсолютный химический сдвиг (смещение сигнала по отношению к сигналу неэкранированного протона) экспериментально определить невозможно, поэтому химический сдвиг измеряется по отношению к сигналу эталонного вещества.

В качестве стандарта чаще всего используют тетраметилсилан (ТМС)  $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ . Запись ЯМР-спектра проводят таким образом, чтобы частота возрастало слева направо. При этом химический сдвиг сигнала ТМС принимают за ноль, и регистрируется в наиболее сильном поле (правая часть спектра). Для того, чтобы химические сдвиги не зависели от рабочей частоты спектрометра в практике ЯМР-анализа химический сдвиг выражают в миллионных долях (м.д. или ppm – *parts per millions*) и обозначают символом « $\delta$ » и рассчитывают по формуле:

$$\delta = (\nu_{\text{обр}} - \nu_{\text{эт}}) \cdot 10^6 / \nu_0 \quad (6-1),$$

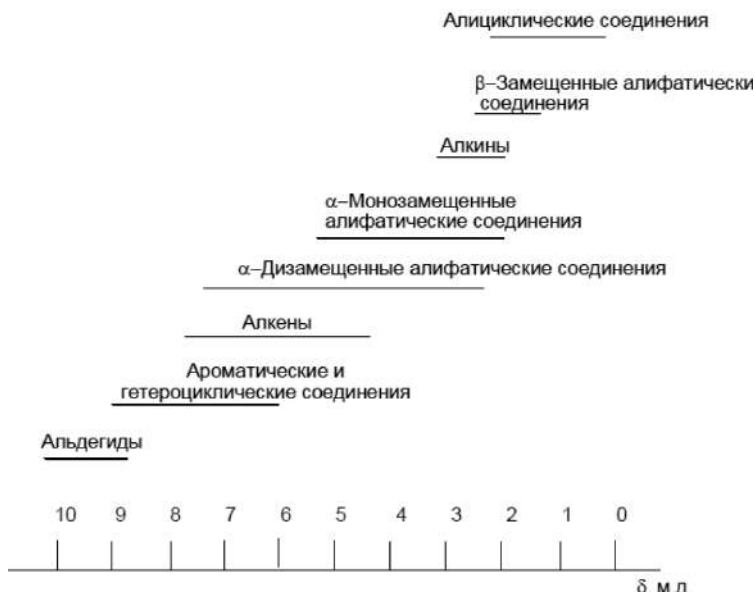
где  $(\nu_{\text{обр}} - \nu_{\text{эт}})$  – разность химических сдвигов образца и эталона (Гц),  $\nu_0$  – рабочая частота прибора.

На величину химического сдвига влияют, с одной стороны электронная плотность у протона, с другой – вторичные магнитные поля, возникающие в результате циркуляции электронов в соседних атомах и связях. Он также может изменяться от внешних факторов: растворителя, концентрации раствора и температуры.

Электронная плотность у протонов определяется характером химической связи и индукционными эффектами окружающих групп, в следствие чего экранирование протонов будет различным и их сигналы появятся в разных областях спектра. На рис.6-6 приведены обобщенные области химических сдвигов протонов.

### 6.3.2. Спин-спиновое взаимодействие

Ценную информацию о строении органического соединения можно получить не только на основании химических сдвигов, но и из знания характера спин-спинового расщепления, которое



**Рис.6-6.** Обобщенные области химических сдвигов протонов в спектрах ПМР.

происходит в результате взаимодействия спинов магнитно-неэквивалентных протонов.

Расщепление сигнала протона на компоненты происходит благодаря спин-спиновым взаимодействиям – взаимодействие спинов протонов через электронные связи.

Согласно принципу Паули, электроны, связывающие два ядра, спарены, т.е. их спины антипараллельны. В магнитном поле имеется определенная тенденция для каждого из ядер спаривать свой спин со спином одного из связывающих электронов таким образом, чтобы большинство из них было антипараллельными (соответствует устойчивому состоянию).

Согласно принципу Паули, электроны, связывающие два ядра, спарены, т.е. их спины антипараллельны. В магнитном поле имеется определенная тенденция для каждого из ядер спаривать свой спин со спином одного из связывающих электронов таким образом, чтобы большинство из них было антипараллельными (соответствует устойчивому состоянию).

В зависимости от количества магнитно-неэквивалентных ядер на расстоянии трех связей, сигналы протона в спектре могут быть представлены в виде одиночной линии – «синглет» (нет магнитно-неэквивалентных ядер) или в виде групп линий. Если сигнал представлен в виде двух линий определенной интенсивности (рис.6-7) – сигнал называется «дублет»; в виде трех линий – «триплет», в виде четырех линий – «квадруплет», или «квартет». Сигнал может быть представлен группой из шести и более линий, в этом случае говорят о мультиплете.

В общем случае мультиплетность сигнала можно определить по правилу:

$$\text{мультиплетность сигнала} = n + 1, \quad (6-2)$$

где  $n$  – число магнитных ядер на расстоянии 3-х связей  $\text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{H}$ .

Рассматривая мультиплетные сигналы в ЯМР-спектрах, возникает вопрос: «Как отличить, например, дублет от двух рядом стоящих синглетов?». Если интервал в герцах между двумя линиями не изменился, при записи спектра при различных радиочастотах, то сигнал представляет собой дублет. Расстояние между линиями дублета определяется константой спин-спинового взаимодействия, которую принято обозначать латинской буквой  $J$ . Константа спин-спинового взаимодействия – внутренняя характеристика каждой конкретной изучаемой структуры и не зависит от напряженности поляризирующего поля  $B_0$ . Она имеет размерность энергии и измеряется в Гц.

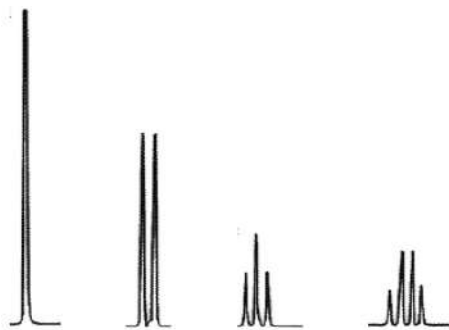


Рис. 6-7. Сигналы ЯМР. Слева направо: синглет, дублет, триплет, квадруплет или квартет.

Величина  $J$  зависит от нескольких факторов, основными из которых являются: относительное расположение взаимодействующих ядер, число разделяющих их связей. Обычно спин-спиновое взаимодействие распространяется не далее трех связей (за исключением, например, делокализованных ароматических систем). Спин-спиновое взаимодействие через две связи ( $\text{H}-\text{C}-\text{H}$ ) называется геминальным, а константа спин-спинового взаимодействия обозначается  $^2J$ . Взаимодействия через три связи ( $\text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{H}$ ) называется вицинальным, константа спин-спинового взаимодействия в этом случае имеет обозначение  $^3J$ . Константы спин-спинового взаимодействия быстро уменьшаются по модулю по мере увеличения числа связей, разделяющих взаимодействующие ядра. Для примера, в спектрах  $^1\text{H}$ -ЯМР алифатических систем константы спин-спинового взаимодействия через 5 и 6 связей становятся уже столь малыми (они составляют доли герца), что обычно проявляются в спектре в виде уширения резонансных линий. Для обозначения константы спин-спинового взаимодействия через более чем три связи используют термин дальняя ( $^nJ$ ). Диапазон изменения констант спин-спинового взаимодействия между тяжелыми ядрами существенно больше. В спектрах тяжелых ядер иногда удается наблюдать константы спин-спинового взаимодействия через 6, 7 и большее число связей. Для расчета константы спин-спинового взаимодействия необходимо знать рабочую частоту ЯМР-спектрометра и разницу химических сдвигов (в м.д.) между компонентами рассматриваемого мультиплета, эти значения перемножают между собой и находят величину константы, выраженную в Гц. Для примера рассчитаем константу спин-спинового взаимодействия дублета, имеющего сигналы в области  $\delta = 7,776$  и  $\delta = 7,768$  м.д. Предположим, что спектр снят на ЯМР-спектрометре с рабочей частотой 300 МГц, тогда:

$$J = (7,776 - 7,768) \times 300 = 0,008 \times 300 = 2,4 \text{ Гц.}$$

ЯМР  $^1\text{H}$  является одним из наиболее информативных методов для идентификации цис- и транс-изомерных алкенов: константы спин-спинового транс-взаимодействия, всегда больше, чем соответствующие цис-константы. Константы спин-спинового взаимодействия для различных протонов обычно приводятся в справочной литературе по ЯМР-спектроскопии.

### 6.3.3. Пример интерпретации спектра

В качестве примера рассмотрим ПМР-спектр 2-метил пропанола-1 (см.рис.6-8).

Различные группы протонов обозначены буквами А, В, С, D.

(D) Протоны метильных групп имеют одинаковое химическое и магнитное окружение, такие протоны называются химически эквивалентными и имеют общий сигнал. Протоны D являются наиболее экранированными электронной плотностью и следовательно их сигнал расположен ближе к 0. Сигнал представляет собой дублет, так как на расстоянии трех связей (H—C—C—H) находится только один протон (C).

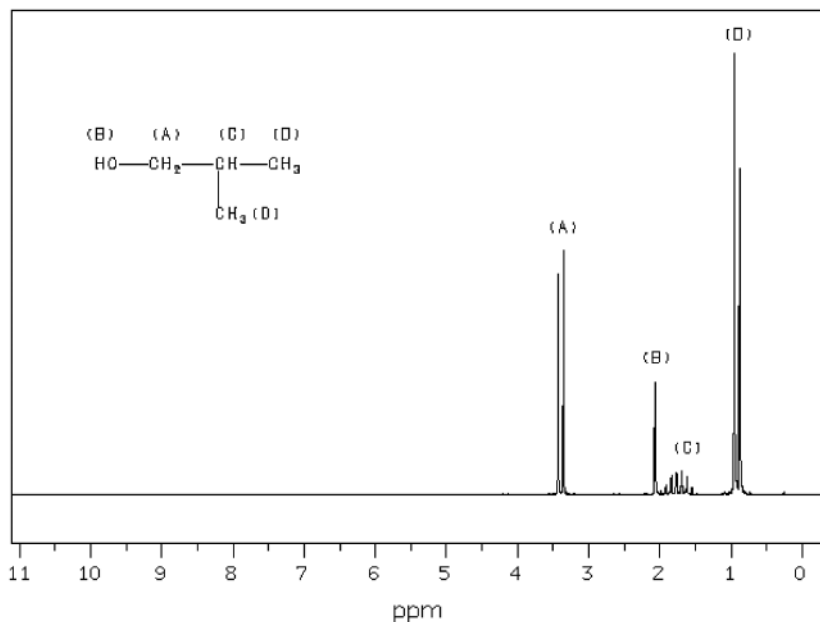


Рис.6-8. ПМР-спектр 2-метил пропанола-1.

(C) Метилиденовый протон (C) менее экранирован и взаимодействует с 2-мя протонами (A) и 6-ю протонами (D) (рис.6-8). Сигнал представляет собой мультиплет ((2+6)+1).

(А) Сигнал метиленовых протонов группы (А) представляет собой дублет из-за взаимодействия с одним протоном группы (С). Дублет (А) отдален от начала спектра, т.к. электронная плотность смещена с протонов (А) в сторону гидроксильной группы.

(В) Оставшийся синглет принадлежит гидроксильной группе (В). Химические сдвиги протонов в группах ОН, SH и NH могут варьироваться в широких пределах и сильно зависят от концентрации вещества, температуры, вида растворителя и от присутствия примесей, таких как вода. Кроме того, протоны этих групп могут участвовать в образовании меж- и внутримолекулярных водородных связей и обменных процессах, поэтому при отнесении сигналов групп ОН, SH и NH в спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  различных соединений табличные значения обобщенных областей химических сдвигов используются с большой осторожностью.

## ГЛАВА 7

### **Комбинированные методы и автоматизация анализа**

Благодаря развитию современной техники и, в частности, микроэлектроники современные приборы для проведения химического анализа представляют собой комбинацию нескольких физических методов, объединенных в одну аналитическую систему. За счет совмещения различных принципов разделения и детектирования вещества современные аналитические комплексы способны рутинно выполнять сложнейшие задачи на решение которых еще пару десятков лет назад могли потребоваться усилия целой лаборатории. Это напрямую связано с тем, что круг задач, с которыми приходится сталкиваться современному химику – аналитику постоянно расширяется. Сложно представить себе область современной человеческой деятельности в которой не нашлось бы места для применения современных физических методов анализа. Производства пищевых продуктов, лекарственных препаратов, экспертно-криминалистические и токсикологические испытания, биохимия, медицина, фундаментальные научные изыскания – это лишь незначительный перечень областей, в которых рутинно применяются физические методы анализа. Стоит добавить, что в подавляющем большинстве случаев объектами анализа выступают не индивидуальные вещества, а их сложные смеси, в которых анализируемое вещество содержится в малых количествах ( $10^{-9}$ – $10^{-12}$  г), а иногда и ультрамалых ( $<10^{-12}$  г). В этой связи на первое место выходят проблемы выделения, концентрирования и разделения образцов перед непосредственной идентификацией и/или их количественным анализом. К тому же, нельзя забывать, что в процессе выделения

и пробоподготовки количество исследуемого вещества, содержащегося в образце может существенно уменьшаться. Исходя из вышесказанного можно сформулировать основные требования к современному аналитическому оборудованию:

1. получение максимального объема информации при минимальном расходе анализируемого образца,
2. увеличение скорости анализа,
3. повышение чувствительности методов детектирования,
4. сведение к минимуму участия оператора в аналитическом эксперименте.

Одним из наиболее распространенных методов, применяемых в химическом анализе является хромато-масс-спектрометрия. На долю этого метода приходится более половины всех анализов. Хроматография как метод предварительного разделения успешно используется не только в сочетании с масс-спектральным детектором, но и другими физическими методами анализа, например, оптической спектроскопии, ЯМР-спектроскопии...

## 7.1. 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 методе произвели революцию в масс-спектрометрии и областях ее применения.

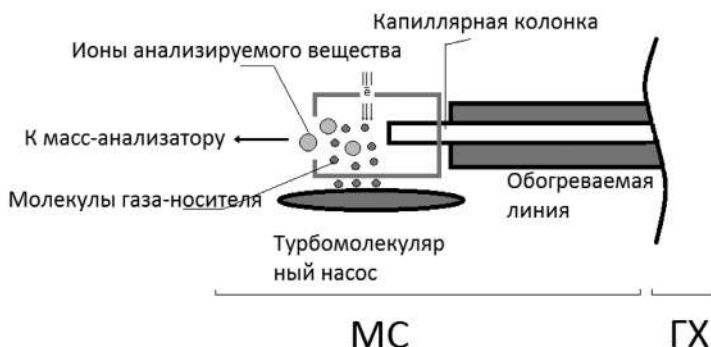
Результаты хромато-масс-спектрального анализа представляют собой хроматограмму, в каждой точке которой зарегистрирован отдельный масс-спектр. Хотя, не совсем правильным будет использовать термин точка, поскольку для регистрации одного масс-спектра необходимо некоторое время, которое зависит от скорости сканирования и выбранного интервала масс. Таким образом, хроматограмма представляет собой набор временных отрезков, в каждом из которых зарегистрирован отдельный

масс-спектр. А общий вид хроматограммы – это интегральная зависимость интенсивностей всех ионов каждого масс-спектра.

### **7.1.1. 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.

Рассмотрим сначала прямой способ соединения. Поток газа, проходящий через капиллярную хроматографическую колонку диаметром, как правило 0,25–0,32 мм, что 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 используется 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 (рис. 7-1).



**Рис. 7.1.** Схема соединения газового хроматографа и масс-спектрометра.

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 растворителя на нить источника, легко преодолеваются выключением нити в начале 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.

### ***7.1.2. 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 для ЖХ-МС позволяет работать в широком диапазоне поляр-

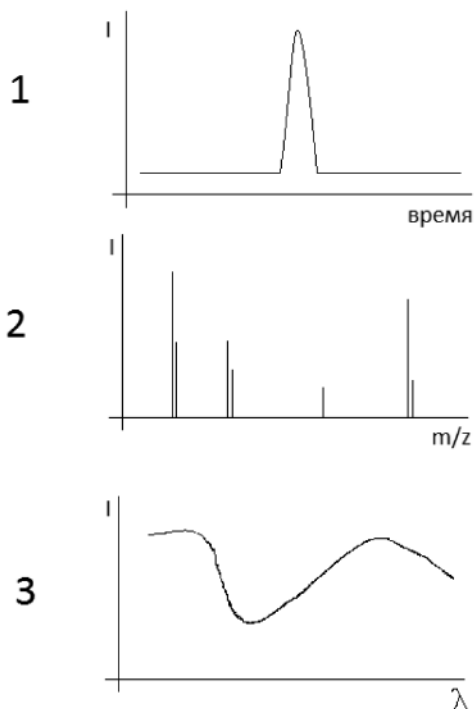
ности исследуемых веществ и использовать потоки частиц для ионизации неполярных и средней полярности веществ, термораспылительную и химическую ионизацию при атмосферном давлении для определения полярных соединений, проточную бомбардировку быстрыми атомами и электрораспылительную ионизацию для сильнополярных, ионных и высокомолекулярных веществ. За исключением проточного варианта БАА, 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.

Зачастую в ЖХ-МС добавляют еще один метод детектирования – оптическую спектроскопию. При такой комбинации помимо масс-спектра можно зарегистрировать спектр вещества в УФ- и видимой областях, поскольку данный вид спектроскопии не является деструктирующим по отношению к веществу. Спектрометр устанавливается между жидкостным хроматографом и масс-спектрометром, что позволяет получать дополнительную информацию о веществе в виде спектров в УФ- и видимом диапазоне (рис. 7-2).

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

Несмотря на высокую точность измерений, проводимых методами термоанализа, затруднительно судить о составе выделившихся газообразных продуктов. Сравнительно недавно появился новый метод сочетающий в себе достоинства термоаналитических и масс-спектральных методов. Вопрос о его классификации затруднителен, поскольку его правомерно называть как масс-спектрометрия с пиролитической приставкой, так и термогравиметрия с масс-спектральным анализом газовой фазы.

Гораздо более важно то, что 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.



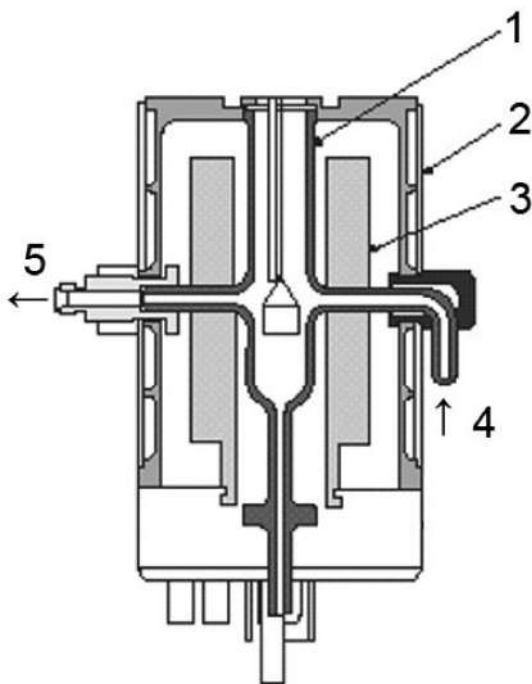
**Рис.7.2.** Гипотетические: 1 – хроматографический пик, 2 – масс-спектр в вершине хроматографического пика, 3 – оптический спектр в вершине хроматографического пика.

Основная задача, которая всегда возникает при соединении абсолютно разных аналитических приборов – это обеспечение взаимодействия между ними, т.е. внесение конструктивных изменений позволяющих проводить совместный анализ. 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 рисунке 7-3 печь для анализа продуктов разложения (EGA) – это дополнительное устройство, которое позволяет подсоединить к анализатору 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.

Трубка образца снабжена отверстием для продувочного газа, который проходит по правой стороне кожуха печи. Фитинг на левой стороне кожуха предназначен для подсоединения линии передачи выделяющихся при разложении газов на газоанализатор (масс-спектрометр). Так как нагреватель находится снаружи трубки, выделяемые образцом при разложении, газы не контактируют с электроникой или огнеупорной керамической изоляцией.



**Рис.7.3.** 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.

Из печи EGA газы, по обогреваемой линии, поступают в систему ввода масс-спектрометра либо инжектор газового хроматографа хромато-масс-спектрометра. По масс-спектрам, полученным в результате эксперимента, определяется их строение.

### 7.3. Поиск в библиотеках спектров

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.

В настоящее время доступно большое число баз данных, в которых содержатся библиотеки масс-спектров, ИК-, УФ-спектров, ЯМР-спектров. Одной из самых объемных по числу спектров баз данных является интернет-ресурс NIST – *National Institute of Standards and Technology*.

Наиболее широкое распространение получили масс-спектральные библиотеки ЭИ. Библиотеки масс-спектров являются мощным средством, позволяющим выяснить структуры масс-спектров. Следует отметить, что наиболее часто используемые библиотеки содержат всего лишь от 50 000 до 500 000 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.

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.

Современное программное обеспечение позволяет настраивать алгоритм поиска по масс-спектральным библиотекам, используя множество различных параметров, что позволяет проводить идентификацию соединений в полностью автоматическом режиме, когда для серии анализов оператору необходимо только правильно задать параметры алгоритма идентификации. Чем больше параметров идентификации будет исключено из алгоритма поиска, тем точнее будет конечный результат идентификации, например, оператор может исключить из рассмотрения соединения содержащие галогены, если надежно знает, что в анализируемом образце эти элементы отсутствуют. Но самым важным параметром, влияющим на правильность идентификации является качество масс-спектра для исследуемого образца. К примеру, наличие высокого химического шума в масс-спектре могут значительно исказить результаты сопоставления. Еще один важный аспект – это правильный выбор интервала регистрируемых масс.

В то время как поиск в компьютерных базах данных в случае масс-спектрометрии с ионизацией электронным ударом является достаточно мощным средством благодаря как временной, так и межлабораторной воспроизводимости спектров электронного удара, ситуация с методами мягкой ионизации и десорбционной химической ионизации совершенно противоположна.

В этих случаях масс-спектры настолько сильно зависят от экспериментальных условий, что накопление универсальных библиотек становится весьма затруднительным. Однако в некоторых случаях использование библиотек внутри одной лаборатории может быть оправданным.

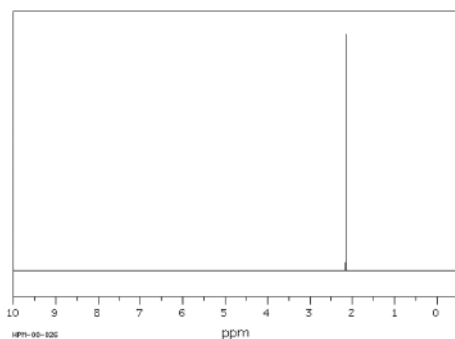
## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

### Задачи для самостоятельного решения

Пользуясь данными ЯМР-, ИК-, УФ/ВД- и масс-спектров, определите соответствующее вещество.

#### Задача 1

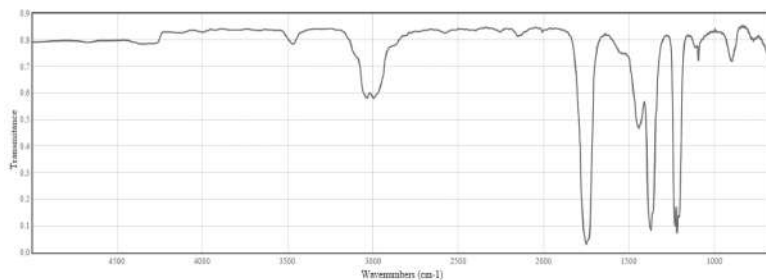
ЯМР-спектр



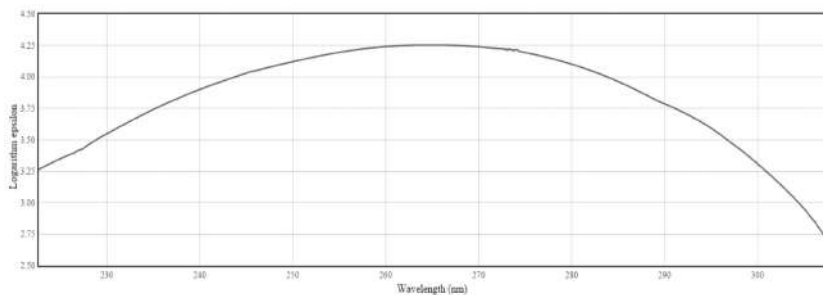
С,Н,N элементный состав

С	Н	N
62,1%	10,3%	—

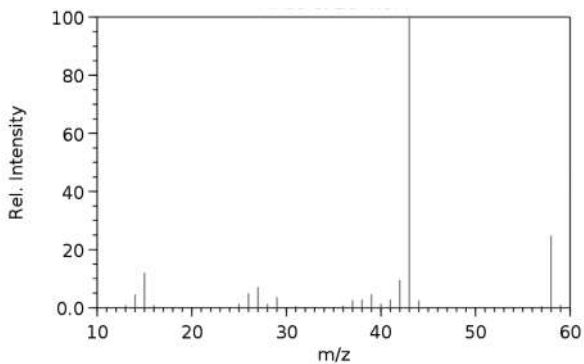
ИК-спектр



### УФ/ВД-спектр

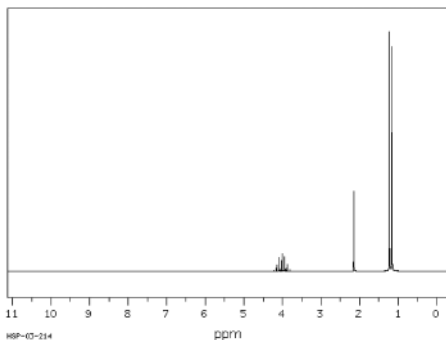


### Масс-спектр



## Задача 2

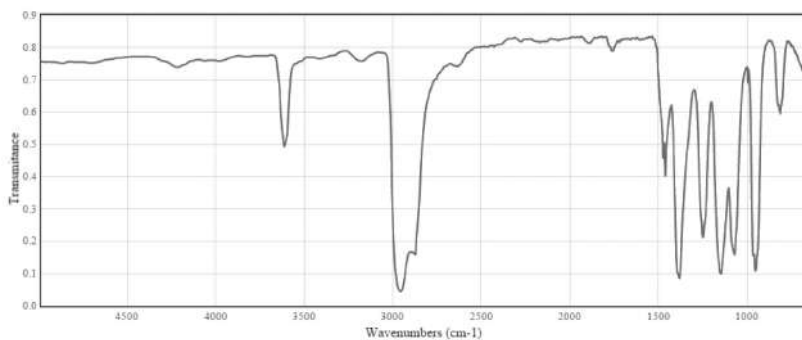
### ЯМР-спектр



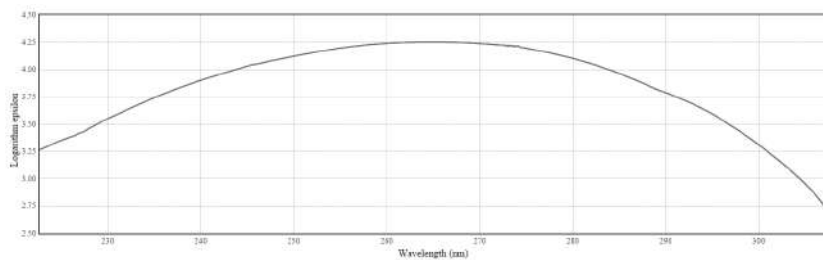
### C, H, N элементный состав

C	H	N
59,9%	13,3%	—

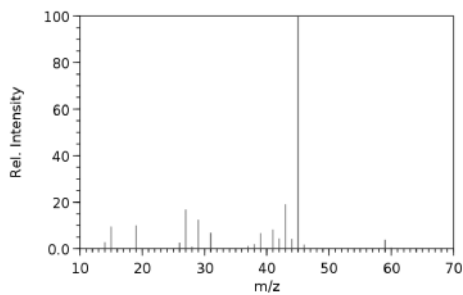
### ИК-спектр



### УФ/ВД-спектр

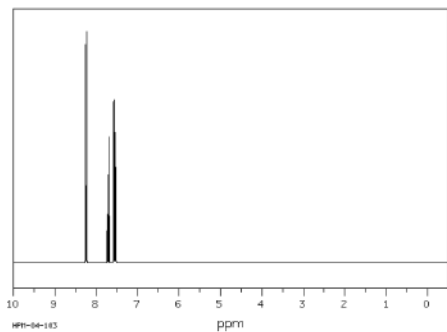


### Масс-спектр



### Задача 3

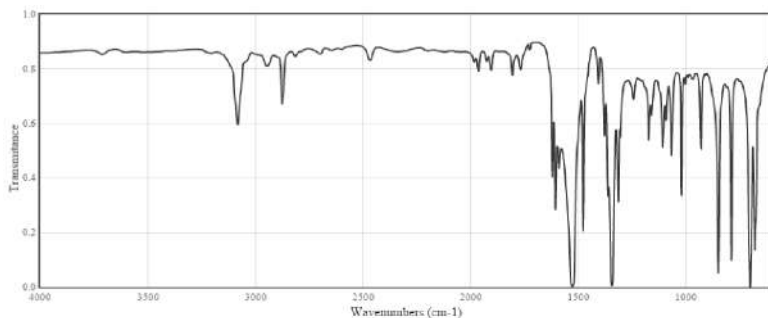
ЯМР-спектр



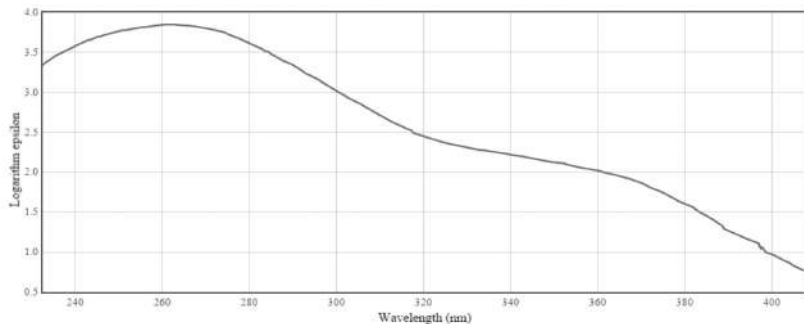
С,Н,N элементный состав

C	H	N
58,5%	4,1%	11,4%

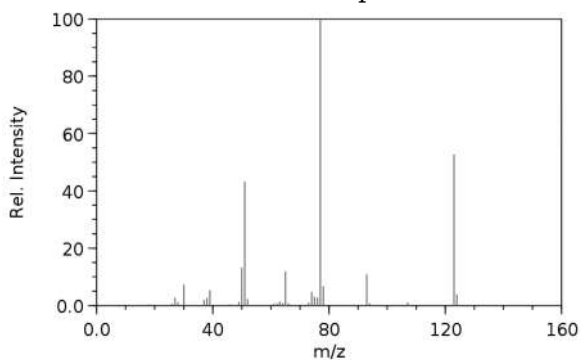
ИК-спектр



УФ/ВД-спектр

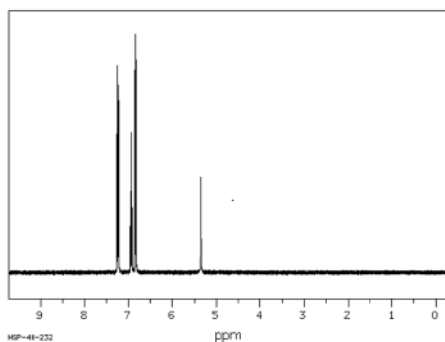


### Масс-спектр



### Задача 4

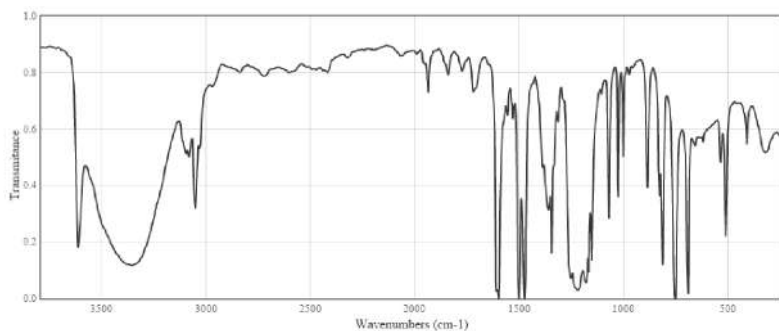
#### ЯМР-спектр



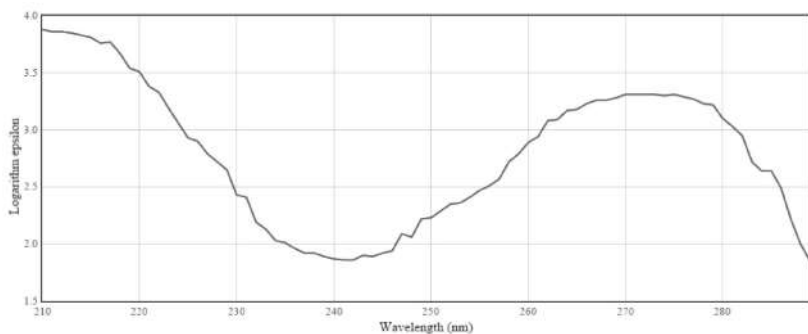
#### С,Н,N элементный состав

C	H	N
76,5%	6,4%	—

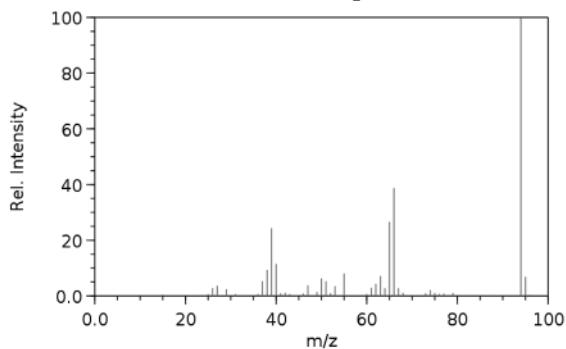
#### ИК-спектр



### УФ/ВД-спектр

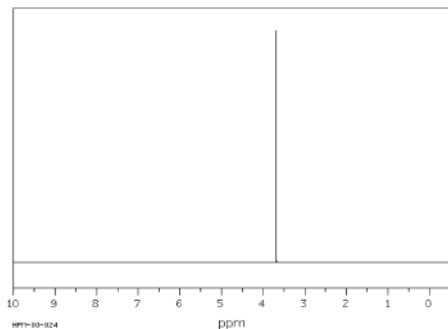


### Масс-спектр



## Задача 5

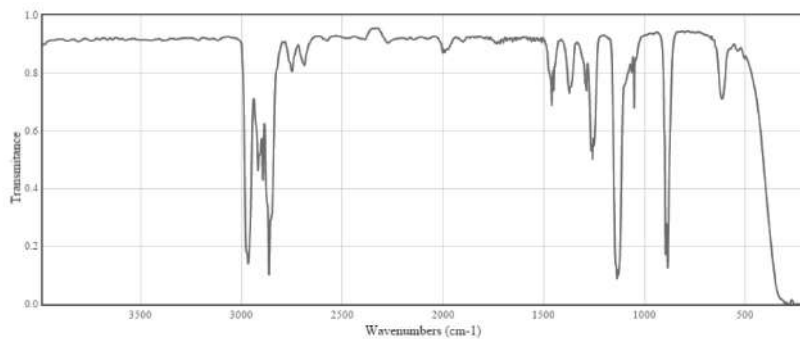
### ЯМР-спектр



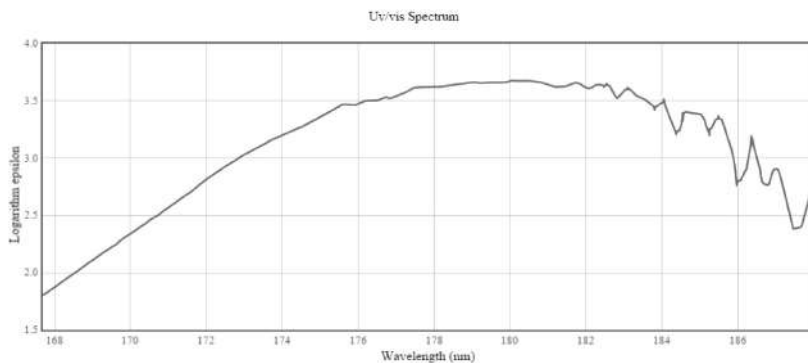
### C,H,N элементный состав

C	H	N
54,5%	9,1%	—

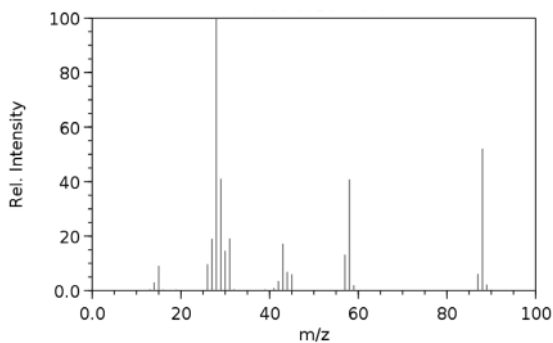
### ИК-спектр



### УФ/ВД-спектр

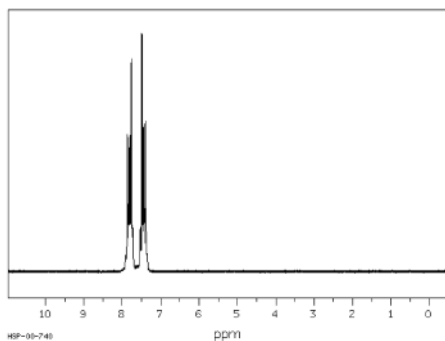


### Масс-спектр



## Задача 6

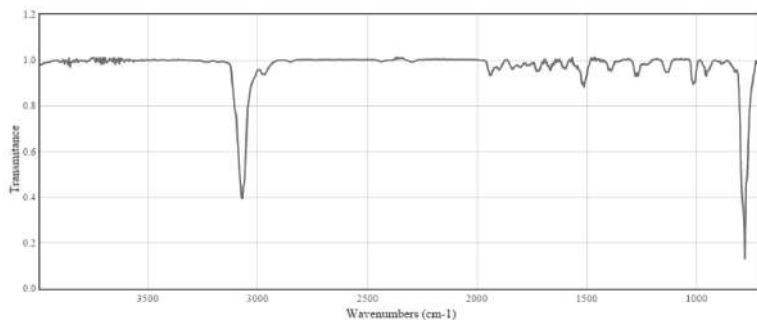
ЯМР-спектр



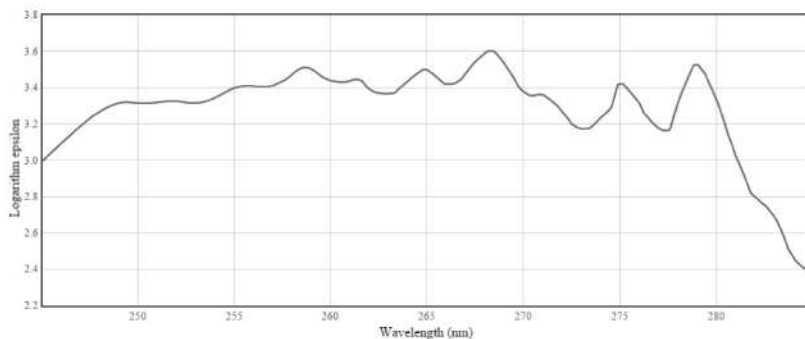
C, H, N элементный состав

C	H	N
93,6%	6,2%	—

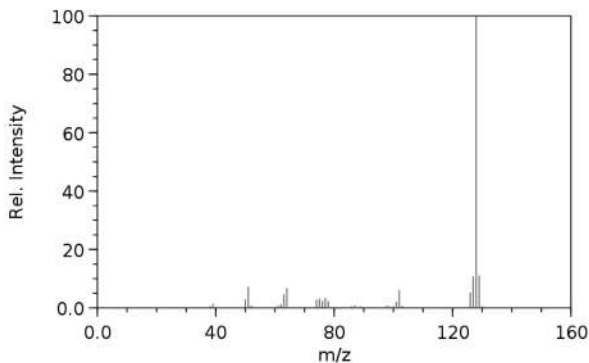
ИК-спектр



УФ/ВД-спектр

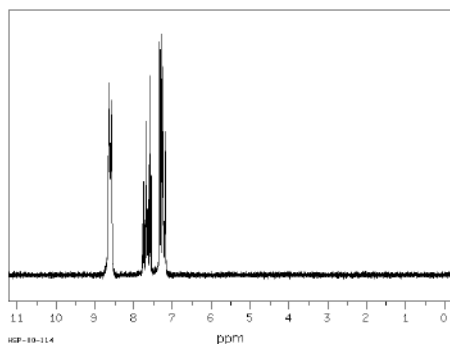


### Масс-спектр



### Задача 7

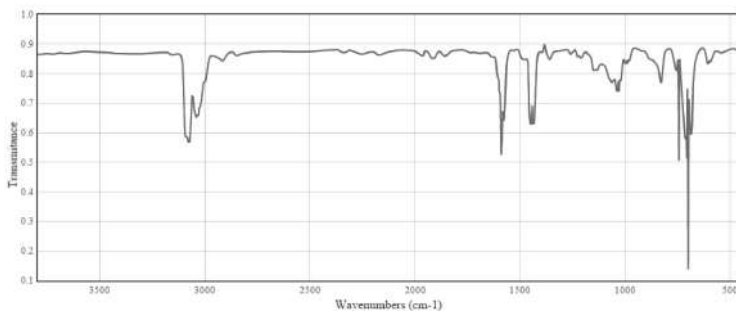
#### ЯМР-спектр



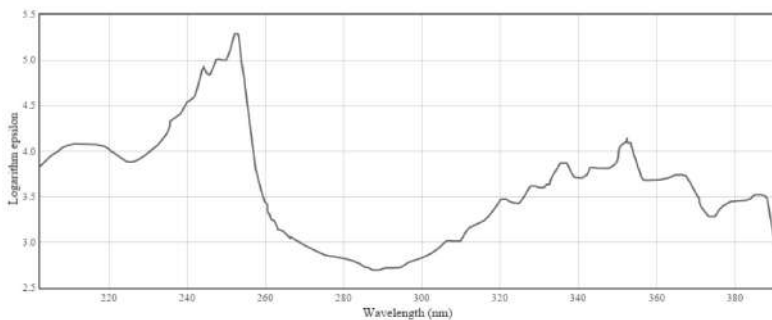
#### С,Н,N элементный состав

C	H	N
75,9%	6,3%	17,7%

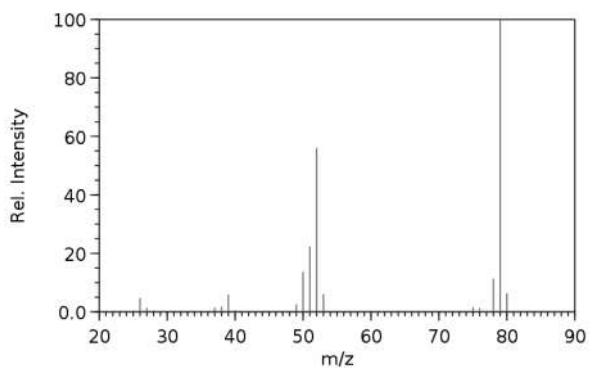
#### ИК-спектр



### УФ/ВД-спектр

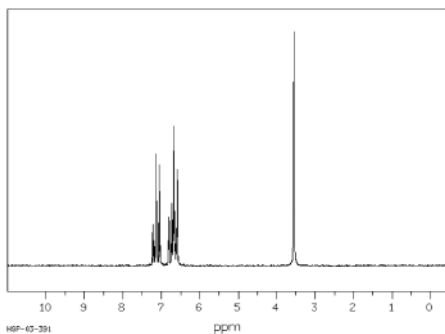


### Масс-спектр



## Задача 8

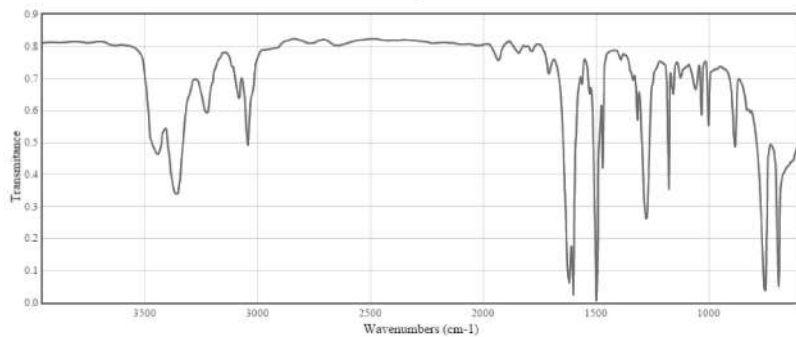
### ЯМР-спектр



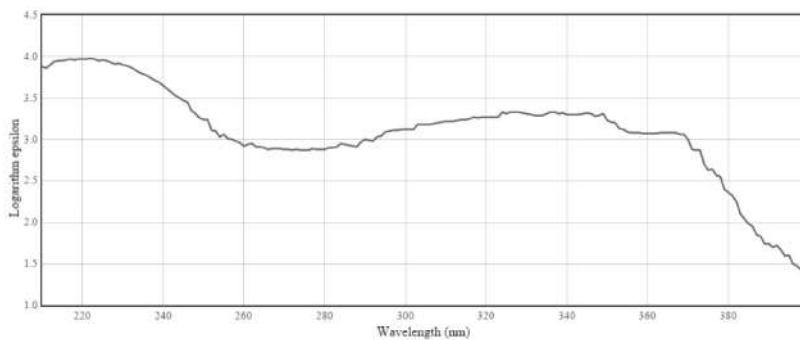
### C,H,N элементный состав

C	H	N
77,7%	7,5%	15,0%

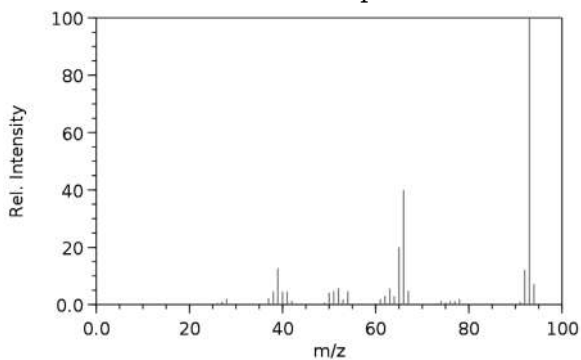
### ИК-спектр



### УФ/ВД-спектр

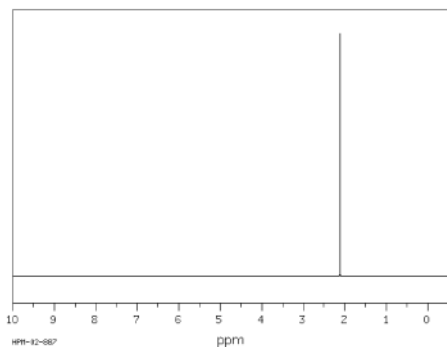


### Масс-спектр



## Задача 9

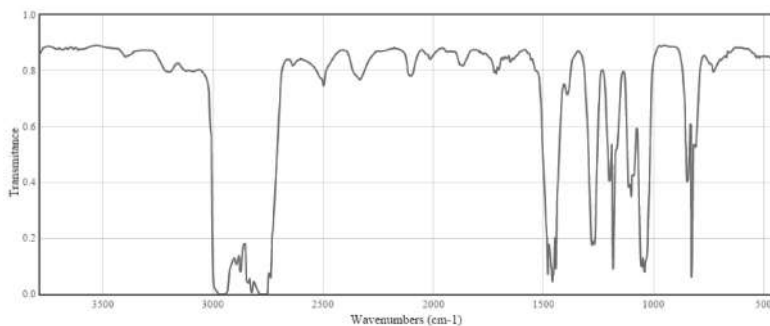
ЯМР-спектр



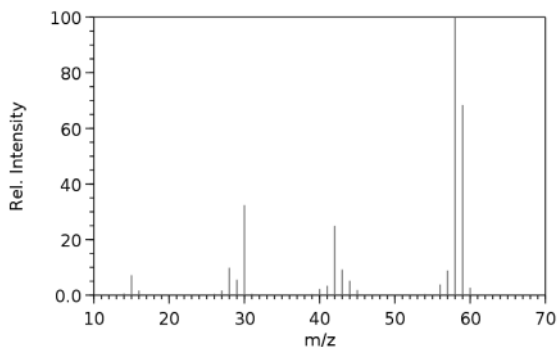
C,H,N элементный состав

C	H	N
60,9%	15,2%	23,7%

ИК-спектр



Масс-спектр



Ответы к задачам	
Задача 1	Ацетон
Задача 2	Изопропиловый спирт
Задача 3	Нитробензол
Задача 4	Фенол
Задача 5	Диоксан
Задача 6	Нафталин
Задача 7	Пиридин
Задача 8	Анилин
Задача 9	Триметиламин

В задачах использованы материалы открытых баз данных NIST Standard Reference Database Number 69<sup>1</sup>, Spectral Database for Organic Compounds (SDBS)<sup>2</sup>.

---

<sup>1</sup> <http://webbook.nist.gov/chemistry/>

<sup>2</sup> [http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre\\_result.cgi?STSI=142531021425357](http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_result.cgi?STSI=142531021425357)

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

### Краткие биографии ученых



**Андерс Йонас  
Ангстрем  
(1814–1874)**

Родился 13 августа 1814 г., шведский ученый-астрофизик, один из основателей спектрального анализа. В 1862 г. обнаружил наличие водорода на Солнце. Основным трудом учёного является «Исследование солнечного спектра» (1868 г.) – атлас, представивший измерения 1000 спектральных линий с разрешением в одну десяти-миллионную часть миллиметра (величину, которая впоследствии получила название «ангстрем»). Впервые исследовал спектр северного сияния. Также изучал теплопроводность и магнетизм. В честь Ангстрема назван кратер на Луне. В 1872 г. был награждён медалью Румфорда. Член Лондонского королевского общества (1870 г.), член-корреспондент Парижской академии наук.



**Фрэнсис Уильям  
Астон  
(1877–1945)**

Родился в 1877 г. в Кембридже – английский физик, член Лондонского королевского общества (1921 г.), член-корреспондент АН СССР (1924 г.), лауреат Нобелевской премии по химии за 1922 г. В 1913 г. Дж. Дж. Томсон и Астон впервые получили указания на существование стабильных изотопов Ne, а в 1919 г., сконструировав масс-спектрометр, Астон окончательно доказал существование двух изотопов неона –  $^{20}\text{Ne}$  и  $^{22}\text{Ne}$ . С помощью масс-спектрометра Астон открыл 213 устойчивых изотопов химических элементов, определил их относительную распространённость. В 1925 г. построил масс-спектрограф большой разрешающей силы, с его помощью произвёл точные измерения масс и определил дефекты масс ряда изотопов.



**Феликс Блох  
(1905–1983)**

Родился в 1905 г. в Цюрихе (Швейцария). Высшее образование получил в высшей технической школе Цюриха, продолжил обучение в Лейпцигском университете, получив докторскую степень 1928 г. Работал вместе с Гейзенбергом, Паули, Бором и Ферми. В 1933 г. эмигрировал в США, чтобы начать в 1934 г. работу в Стэнфордском университете. Во время второй мировой войны работал над атомным проектом в национальной лаборатории Лос-Аламоса, впоследствии перешел в радарный проект в Гарвардском университете. После войны занимался проблемами в области ядерной индукции и ядерного магнитного резонанса – основополагающими принципами ядерной магнитной томографии. В 1952 г. совместно с Э. М. Пёрселлом был удостоен Нобелевской премии по физике «за развитие новых методов для точных ядерных магнитных измерений и связанные с этим открытия». В 1954–1955 гг. он был первым генеральным директором ЦЕРНа. В 1961 г. стал профессором физики в Стэнфордском университете.



**Пьер Бугер  
(1698–1758)**

Родился 16 февраля 1698 г., французский физик и астроном, основатель фотометрии. Известен трудами по геодезии, гидрографии и другим отраслям знания. В 1729 г. Бугер опубликовал книгу «Опыт о градации света», продолжающую его работу 1726 г. Здесь он предложил способы измерения ослабления света при прохождении его через атмосферу и морскую воду. Он стал первым из известных учёных, написавшим об основополагающем законе фотометрии, который сейчас известен как закон Бугера – Ламберта – Бера. Имя Пьера Бугера внесено в список 72 величайших учёных Франции, помещённый на первом этаже Эйфелевой башни.



**Пьер Бугер  
(1698–1758)**

Родился 16 февраля 1698 г., французский физик и астроном, основатель фотометрии. Известен трудами по геодезии, гидрографии и другим отраслям знания. В 1729 г. Бугер опубликовал книгу «Опыт о градации света», продолжающую его работу 1726 г. Здесь он предложил способы измерения ослабления света при прохождении его через атмосферу и морскую воду. Он стал первым из известных учёных, написавшим об основополагающем законе фотометрии, который сейчас известен как закон Бугера – Ламберта – Бера. Имя Пьера Бугера внесено в список 72 величайших учёных Франции, помещённый на первом этаже Эйфелевой башни.



**Галль Лидия  
Николаевна  
(1934)**

Родилась в 1934 г. – советский/российский учёный в области физической электроники и масс-спектрометрии, одна из создателей метода ионизации электроспреев (первоначально ЭРИ АД – «Экстракция ионов из растворов при атмосферном давлении»), академик РАЕН, профессор, доктор физико-математических наук. Окончила Радиофизический факультет Ленинградского политехнического института. Заведующая лабораторией экологической масс-спектрометрии Института аналитического приборостроения РАН. Почетный член Всероссийского масс-спектрометрического общества (2005 г.), лауреат награды ВМСО «Почетная медаль «За выдающиеся заслуги в области масс-спектрометрии» (2007 г.).



**Артур Джеффри  
Демпстер  
(1886–1950)**

Родился 14 августа 1886 г. в Торонто, канадско-американский физик, член Национальной академии наук США (с 1937 г.), в 1944 г. избирался президентом Американского физического общества. Создатель первого современного масс-спектрометра (базирующегося на изобретении Ф. Астона), первооткрыватель нуклида урана  $^{235}\text{U}$  (1935 г.). Значительную часть карьеры посвятил поиску стабильных изотопов химических элементов и определению их распространённости. Обнаружил большое количество стабильных изотопов.



**Джеймс Прескотт  
Джоуль  
(1818–1889)**

Родился 24 декабря 1818 г., в Великобритании – английский физик, внесший значительный вклад в становление термодинамики. Обосновал на опытах закон сохранения энергии. Установил закон, определяющий тепловое действие электрического тока. Вычислил скорость движения молекул газа и установил ее зависимость от температуры. Экспериментально и теоретически изучал природу тепла и обнаружил её связь с механической работой, в результате практически одновременно с Майером пришёл к концепции всеобщего сохранения энергии, что, в свою очередь, обеспечило формулировку первого закона термодинамики. Работал с Томсоном над абсолютной шкалой температуры, описал явление магнитострикции, открыл связь между током, текущим через проводник с определённым сопротивлением и выделяющимся при этом количеством теплоты (закон Джоуля – Ленца). Внёс значительный вклад в технику физического эксперимента, усовершенствовал конструкции многих измерительных приборов. В честь Джоуля названа единица измерения энергии – джоуль.



**Пётр Леонидович  
Капица  
(1894–1984)**

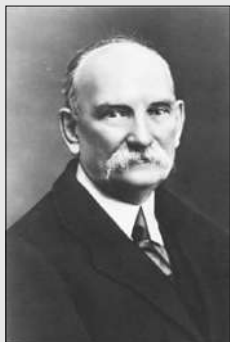
Родился в 1894 г. Советский физик. Академик АН СССР (1939 г.). Видный организатор науки. Основатель Института физических проблем (ИФП), директором которого оставался вплоть до последних дней жизни. Один из основателей Московского физико-технического института. Первый заведующий кафедрой физики низких температур физического факультета МГУ. Лауреат Нобелевской премии по физике (1978 г.) за открытие явления сверхтекучести жидкого гелия, ввёл в научный обиход термин «сверхтекучесть». Известен работами ➔

	<p>в области физики низких температур, изучении сверхсильных магнитных полей и удержания высокотемпературной плазмы. С 1921 по 1934 г. работал в Кембридже под руководством Резерфорда. В 1945 г. входил в состав Спецкомитета по советскому атомному проекту. С 1946 по 1955 годы был уволен из государственных советских учреждений, но ему была оставлена возможность до 1950 г. работать профессором в МГУ им. Ломоносова. Дважды лауреат Сталинской премии (1941, 1943 гг.). Награждён большой золотой медалью имени М. В. Ломоносова АН СССР (1959 г.). Дважды Герой Социалистического Труда (1945, 1974 гг.). Действительный член Лондонского Королевского общества (Fellow of the Royal Society). Умер в 1984 г.</p>
 <p><b>Уильям Томсон, лорд Кельвин (1824–1907)</b></p>	<p>Родился в 1824 г. – британский физик и механик. Известен своими работами в области термодинамики, механики, электродинамики. В 1846 г. Томсон занял кафедру теоретической физики в университете Глазго. С 1880 по 1882 г. президент Лондонского общества физиков. В 1866 г. Томсон возведён в дворянское достоинство, в 1892 г. королева Виктория пожаловала ему пэрство с титулом «барон Кельвин». Автор работы «Об абсолютной термометрической шкале» («On an Absolute Thermometric Scale»). Томсону принадлежит изобретение или улучшение многих инструментов, вошедших во всеобщее употребление в науке и технике. Особенно замечательны ампер-весы, применяемые для выверки электрических приборов.</p>



**Густав Роберт  
Кирхгоф  
(1824–1887)**

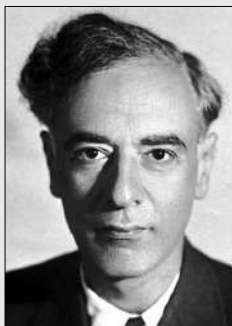
Родился 12 марта 1824 г. в Кёнигсберге. Изучал математику и физику в Кёнигсбергском университете (1842–1846 гг.). В 1847 г. выступил в качестве приват-доцента в Берлине. В 1850–1854 гг., в качестве экстраординарного профессора, читал лекции в Бреславле, затем до 1874 г. исполнял должность ординарного профессора в Гейдельберге. В 1875 г. избран членом Берлинской академии наук. С 1862 г. состоял членом-корреспондентом Санкт-Петербургской академии наук. Умер в Берлине 17 октября 1887 г. Наибольшей известностью пользуются работы Кирхгофа над излучением; ряд опытных (совместно со знаменитым химиком Бунзеном) и теоретических работ над этим вопросом (1858–1860 гг.) привели к блестящему открытию обращения линий спектра, к объяснению Фраунгоферовых линий и к созданию метода спектрального анализа. Ряд работ ученого посвящен термодинамике паров и растворов, оптике. Последние исследования Кирхгофа касались изменений формы тел под влиянием магнитных и электрических сил.



**Николай Семёнович  
Курнаков  
(1860–1941)**

Родился в 1860 г. Адъюнкт-профессор Горного института в Санкт-Петербурге по кафедре металлургии, галлургии и пробирного искусства с 1885 г. После защиты диссертации «О сложных металлических основаниях» получил звание профессора неорганической химии (1893 г.). Основатель и заведующий лабораторией физической химии, профессор Электротехнического университета. Изобрел «пирометр Курнакова» – наиболее совершенный в то время прибор для термического анализа. С 1902 г. по 1930 г. возглавлял кафедру общей химии в Политехническом институте в Санкт-Петербурге, где организовал и химическую лабораторию. Основатель и первый →

	<p>директор Института физико-химического анализа АН СССР (1918–1934 гг.). Один из организаторов Государственного института прикладной химии (ГИПХ) и его первый директор (1919–1927 гг.). Директор Государственного института научно-технических исследований (1921 г.). Возглавлял Институт по изучению платины и других благородных металлов АН СССР (1922–1924 гг.). Директор Химического института АН СССР (1924 г.). После переезда химических институтов Академии наук в Москву стал директором вновь организованного Института общей и неорганической химии АН СССР (1934–1941 гг.). Профессор (с 1936 г.), заведующий кафедрой неорганической химии (1937–1941 гг.) МГУ им. М. В. Ломоносова.</p>
 <p><b>Иоганн Генрих Ламберт</b> (1728–1777)</p>	<p>Родился в 1728 году, в Мюльхаузене (Эльзас). Немецкий ученый, физик, философ, математик; член Берлинской Академии наук (с 1765 г.). Занимался исследованиями в области фотометрии, теплопроводности и др. В 1760 г. вышел его фундаментальный труд «Фотометрия, или об изменениях и сравнениях света, цветов и теней», который имел большое значение для оптики. В нем Ламберт фактически установил основные понятия фотометрии (сила света, яркость и освещенность) и ряд фотометрических закономерностей, в частности, что освещенность обратно пропорциональна квадрату расстояния и прямо пропорциональна синусу угла, образованного лучами света с освещаемой поверхностью. Тут же помещен его логарифмический закон поглощения света средой (закон Бугера – Ламберта). Этот закон был установлен в 1729 г. П. Бугером. Изучал тепловое расширение воздуха, рефракцию света в атмосфере и др.</p>



**Лев Давидович  
Ландау  
(1908–1968)**

Родился 9 января 1908 г., выдающийся советский физик-теоретик, основатель научной школы, академик АН СССР (избран в 1946 г.). Лауреат Нобелевской премии по физике 1962 г. Герой Социалистического Труда (1954 г.). Лауреат медали имени Макса Планка (ФРГ, 1960 г.), премии Фрица Лондона (1960 г.), Ленинской (1962 г.) и трёх Сталинских (Государственных) премий (1946, 1949, 1953 гг.). Иностраннный член Лондонского королевского общества (1960 г.), Национальной академии наук США (1960 г.), Датской королевской академии наук (1951 г.), Королевской академии наук Нидерландов (1956 г.), Американской академии искусств и наук (1960 г.), Французского физического общества и Лондонского физического общества. Именем Ландау назван Институт теоретической физики РАН. Инициатор создания и автор фундаментального классического Курса теоретической физики, выдержавшего многократные издания и изданного на 20 языках.



**Вольфганг Пауль  
(1913–1993)**

Вольфганг Пауль родился в 1913 г., – немецкий физик, лауреат Нобелевской премии по физике в 1989 г. «за разработку метода удержания одиночных ионов». После защиты диссертации в 1939 г. в Берлине, Пауль защищает вторую диссертацию в Гёттингене и работает там профессором с 1944 по 1952 г. С 1952 до 1981 г. работает в Боннском университете профессором и директором физического института. С 1964 по 1967 г. был директором физического отделения в ЦЕРНЕ, в 1970–1973 гг. – председателем совета директоров ускорителя DESY в Гамбурге. В 1979 г. был избран президентом фонда имени Александра фон Гумбольдта и находился на этом посту в течение 10 лет. Именем Вольфганга Пауля названа премия Немецкого масс-спектроскопического общества.



**Эдвард Миллс  
Пёрселл  
(1912–1997)**

Родился в 1912 г. в США – американский физик, лауреат Нобелевской премии по физике. Получил степень магистра и доктора по физике в Гарвардском университете. Во время Второй мировой войны работал в Массачусетском технологическом институте, в лаборатории излучений над развитием СВЧ радара. После войны вернулся в Гарвард. В 1945 г. он, вместе со своими коллегами Паундом и Торри, открыл явление ядерного магнитного резонанса (ЯМР). За открытие ЯМР в 1952 г. Пёрселл и Блох были удостоены Нобелевской премии «за развитие новых методов для точных ядерных магнитных измерений и связанные с этим открытия».



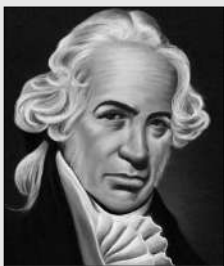
**Исидор Айзек Раби  
(1898–1988)**

Родился в 1898 г., в Австро-Венгрии – американский физик, лауреат Нобелевской премии по физике в 1944 г. «за резонансный метод измерений магнитных свойств атомных ядер». Получил степень доктора в Колумбийском университете (США). Работал два года в Европе с такими знаменитыми физиками, как Нильс Бор, Вернер Гейзенберг, Вольфганг Паули и Отто Штерн. После этого вернулся в Колумбийский университет и оставался в нём до конца жизни. В 1930 г. Раби провёл исследования природы сил, связывающих протоны в атомном ядре. По-видимому, это исследование привело к созданию метода магнитного резонансного детектирования на молекулярных пучках, за который он был награждён Нобелевской премией по физике.



**Джозеф Джон  
Томсон  
(1856–1940)**

Родился 18 декабря 1856 г. вблизи Манчестера. В октябре 1876 г., поступил в Тринити-колледж в Кембридже где в 1880 г. получил степень бакалавра. После выхода лорда Релея на пенсию с должности Кавендишского профессора в Кембридже в конце 1884 г., Томсон был выбран ему на замену. Следующие десятилетия работы в качестве руководителя Кавендишской лаборатории в Кембридже являлись наиболее результативными в его жизни. К этому периоду относятся все исследования Томсона по прохождению электричества через газы, за которые он был удостоен Нобелевской премии по физике в 1906 г. В 1914–1916 гг. являлся президентом Лондонского общества физиков. В 1915 г. он стал президентом Лондонского королевского общества и находился на этом посту до 1920 г. С 1921 по 1923 г. Дж. Дж. Томсон занимал пост президента Института физики.



**Даниель Габриель  
Фаренгейт  
(1686–1736)**

Родился в 1686 г., в Данциге (Гданьск, Польша) – немецкий физик. Сын купца из известной данцигской купеческой семьи. Его родители рано умерли, поэтому он был вынужден учиться у купца в Амстердаме, однако научные эксперименты интересовали его больше, и позже он стал изучать прикладные естественные науки. После путешествия по Англии и Германии поселился в Нидерландах. Здесь он впервые изготовил термометр и барометр. В 1724 г. стал членом Лондонского Королевского общества. Единица измерения температуры градус Фаренгейта ( $^{\circ}\text{F}$ ) была названа в его честь.



**Йозеф Фраунгофер**  
(1787–1826)

Родился 6 марта 1787 г., в Штраубинге. Сын бедного стекольщика, работал в мастерской отца. После его смерти в двенадцать лет поступил обучаться, затем работать в зеркальной и стекольной мастерской в Мюнхене. Фраунгофер чуть было не погиб под развалинами обрушившегося дома, в котором жил, но, будучи освобожден из-под развалин здоровым и невредимым, обратил на себя особое внимание баварского короля Максимилиана-Иосифа, который помог Фраунгоферу получить дальнейшее математическое образование. С 1806 г. ассистент математического и оптического института, где изготовлялись линзы и оптическая аппаратура. Усовершенствовал изготовление линз, дифракционных решеток. Подробно описал (1814 г.) линии поглощения в спектре Солнца, названные его именем. Изобрел гелиометр-рефрактор. Фраунгофера считают отцом астрофизики.



**Михаил Семенович**  
**Цвет**  
(1872–1919)

Родился 14 мая 1872 г. – русский ботаник-физиолог и биохимик. Образование получил в Швейцарии, в Женевском университете. В 1897 г. переехал на историческую родину отца, в Россию. С 1896 г. работал в Лаборатории анатомии и физиологии растений Петербургской Академии наук. С 1902 г. ассистент кафедры физиологии и анатомии растений Варшавского университета. Своим адсорбционным хроматографическим методом М. С. Цвет исследовал целый ряд веществ, но особенно плодотворно он работал по установлению состава хлорофилла, т.е. всей смеси пигментов, которые содержатся в зелёном листе. Цвет был первым, кому удалось установить, что существуют только две модификации хлорофилла: хлорофилл А и хлорофилл В (1903 г.).

## ПРИЛОЖЕНИЕ 3

### Справочные данные

#### Фундаментальные физико-химические константы

##### *Литература:*

[1]. P.J. Mohr, B.N. Taylor. CODATA Recommended Values of the Fundamental physical Constants, 2004. Web-версия <http://physics.nist.gov/constants>.

[2]. Волков А.И., Жарский И.М. Большой химический справочник. Минск: Современная школа, 2005.

Константа	Обозначение	Значение
Универсальная газовая постоянная	R	$8,314472 \text{ Дж} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{К}^{-1}$
Гравитационная постоянная	G	$6,6720 \cdot 10^{-11} \text{ Н} \cdot \text{м}^2 \cdot \text{кг}^{-2}$
Атомная единица массы	а.е.м.	$1,66053886 \cdot 10^{-27} \text{ кг}$
Элементарный заряд	$\bar{e}$	$1,60217653 \cdot 10^{-19} \text{ Кл}$
Масса покоя электрона	$m_e$	$9,1093826 \cdot 10^{-31} \text{ кг} =$ $= 5,48580 \cdot 10^{-4} \text{ а.е.м.}$
Масса покоя протона	$m_p$	$1,67262171 \cdot 10^{-27} \text{ кг} =$ $= 1,007276 \text{ а.е.м.}$

Константа	Обозначение	Значение
Масса покоя нейтрона	$m_n$	$1,67495 \cdot 10^{-27} \text{ кг} = 1,008665 \text{ а.е.м.}$
Масса покоя мюона	$m_\mu$	$1,883566 \cdot 10^{-28} \text{ кг}$
Масса атома изотопа $^1\text{H}$		$1,673559 \cdot 10^{-27} \text{ кг}$
Масса атома изотопа $^2\text{H}$		$3,344548 \cdot 10^{-27} \text{ кг}$
Масса атома изотопа $^4\text{He}$		$6,646585 \cdot 10^{-27} \text{ кг}$
Отношение $m_p / m_e$		1836,15267
Постоянная Планка	$h$	$6,6260693 \cdot 10^{-34} \text{ Дж} \cdot \text{с}$
Постоянная Авогадро	$N_A$	$6,02201415 \cdot 10^{23} \text{ моль}^{-1}$
Постоянная Больцмана	$k$	$1,3806505 \cdot 10^{-23} \text{ Дж} \cdot \text{К}^{-1}$
Скорость света в вакууме	$c$	$299792458 \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$
Постоянная Фарадея	$F$	$96485,3383 \text{ Кл} \cdot \text{моль}^{-1}$
Молярный объем идеального газа при н. у.	$V_m$	$22,414 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1}$
Нормальное давление	$p_o$	$101325 \text{ Па} = 760 \text{ мм рт. ст.}$
Нормальная температура	$T_o$	$273,15 \text{ К}$
Диэлектрическая константа	$\epsilon_o$	$8,854188 \cdot 10^{-12} \cdot \text{Ф/м}$

Константа	Обозначение	Значение
Магнитная постоянная	$\mu_0$	$1,256637061 \cdot 10^{-6} \text{ Гн} \cdot \text{м}^{-1}$
Магнитный момент электрона	$\mu_e$	$9,284832 \cdot 10^{-24} \text{ А} \cdot \text{м}^2$
Магнетон Бора	$\mu_B$	$9,274078 \cdot 10^{-24} \text{ Дж} \cdot \text{Т}^{-1}$
Постоянная тонкой структуры $\alpha = e^2 / 4\epsilon_0 \hbar c$	$\alpha$	$7,297352568 \cdot 10^{-3}$
Постоянная Ридберга	$R_\infty$	$10973731,568525 \text{ м}^{-1}$
Постоянная Стефана-Больцмана	$\sigma$	$5,670400 \cdot 10^{-8} \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{К}^{-4}$
Постоянная Вина	$b$	$2,987790 \cdot 10^{-3} \text{ К} \cdot \text{м}$
Первый Боровский радиус	$a_0$	$5,2917 \cdot 10^{-11} \text{ м}$
Классический радиус электрона	$r_e$	$2,8179 \cdot 10^{-15} \text{ м}$
Комптоновская длина волны электрона	$\lambda_C$	$2,4263 \cdot 10^{-12} \text{ м}$
Комптоновская длина волны протона	$\lambda_{C,p}$	$1,3214 \cdot 10^{-15} \text{ м}$
Комптоновская длина волны нейтрона	$\lambda_{C,n}$	$1,3195 \cdot 10^{-15} \text{ м}$

### Переводные коэффициенты

$$1 \text{ Дж} = 10^7 \text{ эрг} = 0,2388 \text{ кал} = 6,2510^{18} \text{ эВ}$$

$$1 \text{ эВ} = 3,82910^{-20} \text{ кал} = 1,60217710^{-19} \text{ Дж} = 96,485 \text{ кДж/моль}$$

$$1 \text{ кал} = 4,184 \text{ Дж} = 2,58310^{19} \text{ эВ}$$

$$1 \text{ м} = 10^2 \text{ см} = 10^{10} \text{ ангстрем}$$

$$1 \text{ л} = 10^{-3} \text{ м}^3 = 10^3 \text{ см}^3$$

$$1 \text{ кг} = 10^3 \text{ г}$$

$$1 \text{ кг} = 8,987552 \cdot 10^{16} \text{ Дж} = 5,609589 \cdot 10^{35} \text{ эВ}$$

$$1 \text{ а.е.м.} = 1,6605710^{-27} \text{ кг} = 1,4910^{-10} \text{ Дж} = 9,3110^8 \text{ эВ}$$

$$1 \text{ D} = 3,335641 \cdot 10^{-30} \text{ Кл} \cdot \text{м}$$

$$1 \text{ Вт} = 10^7 \text{ эрг/с} = 1 \text{ Дж/с}$$

$$1 \text{ л. с.} = 735 \text{ Вт}$$

$$1 \text{ Па} = 1 \text{ Н/м}^2 = 7,5010^{-3} \text{ мм рт. ст.} = 9,8710^{-6} \text{ атм}$$

$$1 \text{ мм рт.ст.} = 133,322 \text{ Па} = 1,315810^{-3} \text{ атм}$$

$$1 \text{ атм (физическая)} = 101325 \text{ Па} = 101325 \text{ Н/м}^2 = 760 \text{ мм рт. ст.} = 1,01325 \text{ бар.}$$

$$1 \text{ ангстрем} = 10^{-10} \text{ м} = 0,1 \text{ нм} = 100 \text{ пм}$$

$$R = 8,314472 \text{ Дж/моль} \cdot \text{К} = 0,082057 \text{ л} \cdot \text{атм/моль} \cdot \text{К} = 62363,67 \text{ мл} \cdot \text{мм.рт.ст./моль} \cdot \text{К} = 1,987207 \text{ кал/моль} \cdot \text{К}$$

### Русские неметрические единицы

Величина	Единица	Значение в единицах СИ	Величина	Единица	Значение в единицах СИ
<b>Длина</b>	верста	1,067 км	<b>Масса</b>	пуд	16,380 кг
	сажень	3,134 м		фунт	409,512 г
	аршин	711,2 мм		лот	12,797 г
	четверть	177,8 мм		золотник	4,226 г
	вершок	44,45 мм	<b>Сила, вес</b>	пуд	160,64 Н
	фут	304,8 мм		фунт	4,016 Н
	дюйм	25,4 мм		лот	0,1255 Н
<b>Площадь</b>	кв. верста	1,138 км <sup>2</sup>		золотник	41,833 мН
	десятина	10925 м <sup>2</sup>		ведро	12,3 дм <sup>3</sup>
	кв. сажень	4,552 м <sup>2</sup>		гарнец	3,28 дм <sup>3</sup>

**Приставки при образовании кратных  
и дольных единиц**

Наимено- вание	Русское обозначе- ние	Множи- тель	Наимено- вание	Русское обозначе- ние	Множи- тель
Гига	Г	$10^9$	деци	д	$10^{-1}$
Мега	М	$10^6$	санти	с	$10^{-2}$
Кило	к	$10^3$	милли	м	$10^{-3}$
Гекто	г	$10^2$	микро	мк	$10^{-6}$
Дека	да	$10^1$	нано	н	$10^{-9}$
			пико	п	$10^{-12}$

## Единицы измерения, применяемые в США и Великобритании, и пересчет их в единицы СИ

Величина	Единица		Метри- ческие единицы
	наименование	обозначение	
<b>Длина</b>	миля морская (США)	n. mile (US)	1,853 км
	кабельтов (межд.)	cab (Int)	185,2 м
	ярд	yd	914,4 мм
	фут	ft	304,8 мм
	дюйм	in	25,4 мм
<b>Площадь</b>	квадратная миля (США)	mi <sup>2</sup> (US)	2,590 км <sup>2</sup>
	акр	ac	4047 м <sup>2</sup>
	квадратный фут	ft <sup>2</sup>	929 см <sup>2</sup>
	квадратный дюйм	in <sup>2</sup>	642 см <sup>2</sup>
<b>Объем</b>	тонна регистровая	ton reg	2,832 м <sup>3</sup>
	баррель нефтяной (США)	bbl (US)	159 дм <sup>3</sup>
	галлон (Великобр.)	gal (UK)	4,546 дм <sup>3</sup>
<b>Масса</b>	тонна длинная (Великобр.)	ton (UK)	1,016 т
	тонна короткая (США)	ton (US)	0,907 т
	фунт (торговый)	lb	0,4536 кг
<b>Плотность</b>	фунт на кубический фут	lb/ft <sup>3</sup>	16 кг/м <sup>3</sup>
<b>Давление</b>	фунт-сила на квадратный дюйм	lbf/in <sup>2</sup>	6,895 кПа
	фунт-сила на квадратный фут	lbf/ft <sup>2</sup>	47,88 Па
	дюйм водяного столба	in H <sub>2</sub> O	249,1 Па
	дюйм ртутного столба	in Hg	3,386 кПа

### Энергия ионизации атомов

#### Литература:

[1]. Свойства элементов, т.1 /под ред Г.В. Самсонова. М.: Металлургия, 1976.

[2]. Эмсли Дж. Элементы. М.: Мир, 1993.

[3]. <http://physics.nist.gov/IonEnergy>.

Z	Эле- мент	Энергия ионизации, эВ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	H	13,60									
2	He	24,59	54,42								
3	Li	5,39	75,62	122,42							
4	Be	9,32	18,21	153,85	217,66						
5	B	8,30	25,16	37,93	259,49	340,2					
6	C	11,26	24,38	47,89	64,47	392,1	489,9				
7	N	14,53	29,60	47,45	77,41	97,86	552,1	667			
8	O	13,62	35,12	54,93	77,4	113,90	138,12	739,3	871,5		
9	F	17,44	34,99	62,71	87,14	114,24	157,16	185,18	953,9	1103,1	
10	Ne	21,56	41,08	63,45	97,11	126,21	157,93	207,26	239,1	1195,8	1352,2
11	Na	5,14	47,29	71,6	98,9	138,4	172,1	208,5	264,2	299,9	1465,1
12	Mg	7,65	15,04	80,1	109,2	141,3	186,5	224,9	265,9	327,9	367,5
13	Al	5,99	18,83	28,45	120	153,8	190,4	241,4	284,6	330,2	398,6
14	Si	8,15	16,34	33,49	45,13	166,8	205	246,5	303,2	351,1	401,4
15	P	10,49	19,73	30,18	51,42	65,02	220,4	263,2	278,3	371,7	424,5
16	S	10,36	23,35	34,83	47,30	72,68	88,05	280,9	328,5	379,1	447,1
17	Cl	12,97	23,86	39,61	53,46	67,87	97,03	114,19	348,3	400,1	455,6
18	Ar	15,76	27,63	40,74	59,8	75	91,3	124,6	143,5	422,4	478,7
19	K	4,34	31,81	45,7	60,9	82,6	100	117,6	154,9	175,8	503,4
20	Ca	6,11	11,87	50,9	67,1	84,4	108,8	127,7	147,2	188,5	211,3

Z	Элемент	Энергия ионизации, эВ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
21	Sc	6,56	12,80	24,76	73,5	91,7	111,1	138	158,7	180	225,3
22	Ti	6,82	13,58	27,49	43,26	99,2	119,3	140,8	168,5	193,2	215,9
23	V	6,77	14,65	29,31	46,71	65,23	128,1	150,2	173,7	205,8	230,5
24	Cr	6,77	16,56	30,96	49,10	69,46	90,64	161,2	184,8	209,6	244,4
25	Mn	7,44	15,64	33,67	51,2	72,4	95,3	119,27	196,5	221,8	248,3
26	Fe	7,87	16,19	30,65	54,8	75,0	99,1	124,98	151,1	235	262,1
27	Co	7,86	17,08	33,50	51,3	79,5	102	128,5	157,8	185,5	275,7
28	Ni	7,63	18,17	35,17	54,9	75,5	107,8	134	164	192,8	224,5
29	Cu	7,73	20,29	36,8	55,2	79,9	103	138,9	165,9	199	232,2
30	Zn	9,39	17,96	39,8	59,4	82,6	107,8	133,7	174,1	203,1	238,4
31	Ga	6,00	20,51	30,71	64,3	90,2	118,1	149,2	183,4	231,1	270,5
32	Ge	7,96	15,93	34,22	45,7	93,5	123,3	155,5	188,6	225,9	279,8
33	As	9,81	18,63	28,35	50,13	62,6	127,5	159,6	195,9	234,2	237,6
34	Se	9,75	21,19	30,82	42,94	68,3	81,7	155,4	202,1	241,5	281,9
35	Br	11,81	21,8	36,9	47,3	59,7	88,6	103,0	192,8	247,7	291,2
36	Kr	14,00	24,37	36,95	52,5	64,7	78,5	111,0	126,4	230,4	299,5
37	Rb	4,18	27,3	40,4	52,6	71	84,4	99,2	135,8	153,4	277,1
38	Sr	5,69	11,03	43,6	57	71,6	90,8	105,7	122,3	161,7	177,2
39	Y	6,38	12,24	20,52	61,8	77	93	116,1	128,5	146,5	190,7
40	Zr	6,61	13,13	22,99	34,34	81,5	98,5	116,1	143	162,7	181,4
41	Nb	6,73	14,32	25,04	38,3	50,55	102,6	125,4	141	165	186
42	Mo	7,22	16,16	27,16	46,4	61,2	68	126,7	153,4	174,1	204,2
43	Tc	7,28	15,26	29,54	46	55	80	94,3	161,7	184,5	206,2
44	Ru	7,27	16,76	28,47	50	60	92	99,5	119,2	193,8	216,6
45	Rh	7,54	18,08	31,06	48	65	97	104,7	126,4	147,2	228

Z	Эле- мент	Энергия ионизации, эВ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
46	Pd	8,37	19,43	32,92	53	62	90,0	110	130	155,5	178,3
47	Ag	7,58	21,5	34,8	51,8	69,4	89,1	116,1	138,9	161,7	186,6
48	Cd	8,99	16,91	37,5	54,9	72,5	94,3	115	146,1	170	194,8
49	In	5,78	18,87	28,03	53,9	76,7	98,5	121,3	144,1	178,3	204,2
50	Sn	7,34	14,63	30,50	40,73	72,3	102,6	126,4	151,3	176,2	213,5
51	Sb	8,64	16,53	25,3	44,12	56	107,8	131,6	157,5	184,5	211,4
52	Te	9,01	18,6	27,96	37,41	58,75	70,7	136,8	163,7	191,7	219,7
53	I	10,45	19,13	33,0	42,0	66	81	100	170	200	229
54	Xe	12,13	21,21	32,1	46	57	82	100	120	205,2	238,4
55	Cs	3,89	25,1	35,2	45,6	62,2	73,6	86	117,1	131,6	245,6
56	Ba	5,21	10,00	37,3	48,7	62,2	79,8	93,3	105,7	140	156,5
57	La	5,66	11,06	19,18	50	66,3	78,8	99,5	114	128,5	164,8
58	Ce	5,5	10,8	20,2	36,8	70,5	85	100,5	122,3	136,8	152,3
59	Pr	5,4	10,5	21,6	39	57,4	89	106	122	146	162
60	Nd	5,5	10,7	22,1	40,4			111	129	147	171
61	Pm	5,5	10,9	22,3	41,1				135	154	173
62	Sm	5,6	11,1	23,4	41,3					161	181
63	Eu	5,7	11,2	24,9	42,6						187
64	Gd	6,1	12,1	20,6	44						
65	Tb	5,8	11,5	21,9	39,8						
66	Dy	5,9	11,7	22,8	41,5						
67	Ho	6	11,8	22,8	42,5						
68	Er	6,1	11,9	22,7	42,6						
69	Tm	6,2	12	23,7	42,7						
70	Yb	6,2	12,2	25	43,7						

Z	Элемент	Энергия ионизации, эВ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
71	Lu	5,4	13,9	21	45,2						
72	Hf	6,83	14,9	23,3	33,33						
73	Ta	7,50	16,2	22	33	45					
74	W	7,82	17,7	24	35	48	61				
75	Re	7,76	16,6	26,0	38	51	64	79			
76	Os	8,28	17	25	40	54	68	83	100		
77	Ir	9,02	17,0	27	39	57	72	88	105	121,3	
78	Pt	8,89	18,56	28	41	55	75	92	110	127,5	146,1
79	Au	9,23	20,5	30,1	43,5	58	72,5	96,4	114	132,7	153,4
80	Hg	10,44	18,76	34,2	45,6	61,1	76,7	94,3	120,2	138,9	158,6
81	Tl	6,11	20,43	29,83	50,8	63,2	86	98,5	117,1	145,1	165,8
82	Pb	7,42	15,03	31,94	42,32	68,8	83,9	102,6	122,3	142	173,1
83	Bi	7,29	16,69	25,56	45,3	56	88,3	106,7	127,5	148,2	168,9
84	Po	8,43	19,4	27,3	38	61,0	73	111,9	131,6	154,4	176,2
85	At	9,2	20,1	29,3	41	51	78	91	137,8	159,6	183,4
86	Rn	10,75	21,4	29,4	44	55	67	97	100		
87	Fr	3,98	21,8	32,1	42,5	59,1	71,5	83,9	127,5	132,7	303,7
88	Ra	5,28	10,1	34,2	45,6	59,1	75,7	89,1	102,6	139,9	156,5
89	Ac	5,17	12,1	20	48,7	62,2	75,7	95,3	108,8	123,3	163,8
90	Th	6,08	11,5	20,0	28,7	65	80	94	115	130	145
91	Pa	5,89	11,3	20,5	36,4		84	100	115	138	154
92	U	6,05	14,7	20,5	36,89			104	121	137	162
93	Np	6,2	11,7	22,0	38,1						
94	Pu	6,1	11,2	23,5	39,5						
95	Am	6	10,9	23,9	41,0						

Приложение 3. Справочные данные

Z	Эле- мент	Энергия ионизации, эВ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
96	Cm	6	11,9	21,0							
97	Bk	6,2	12,4	20,8							
98	Cf	6,3	12,5	21,6							
99	Es	6,4	12,6	22,1							
100	Fm	6,5	12,5	22,5							
101	Md	6,6	12,0	23,1							
102	No	6,6	11,3	24,0							
103	Lr	6,0	11,7	23,1							

**Предельно допустимые концентрации  
вредных веществ  
в производственных помещениях**

Наименование	ПДК, мг/м <sup>3</sup>	Наименование	ПДК, мг/м <sup>3</sup>
азота диоксид	5	озон	0,1
амилацетат	100	ртуть	0,01
амиловый спирт	100	свинца соединения	0,01
аммиак	20	селен	2
арсин	0,1	сероводород	10
асбестовая пыль	2	серы диоксид	10
ацетон	200	серы триоксид	1
бензол	5	стекловолокно	3
бериллия соедине- ния	0,001	таллий	0,01
бром	0,5	талька пыль	4
бромоводород	2	углерода окись	20
ванадия пентоксид	0,1	углерода тетрахло- рид	20
гидразин	0,1	уксусная кислота	5
диоксан	10	фосфин	0,1
дихлорэтан	10	фосфора оксид	1
диэтиловый эфир	300	хлор	1
иод	1	хлороводород	5
кварцевая пыль	1	хрома оксиды	0,1
кадмия оксид	0,1	циановодород	0,1
мышьяка оксиды	0,3	этилацетат	200
муравьиная кислота	1	этанол	1000
никеля оксид	0,5		

## Относительные атомные массы элементов

Таблица содержит значения относительных атомных масс элементов с учётом изменений, утверждённых комиссией ИЮПАК по атомным весам и изотопам в 1999–2001 гг., а также в соответствии с последними данными, представленными на веб-сайте ИЮПАК: <http://www.webelements.com/>.

Z	Символ	Ar	Z	Символ	Ar	Z	Символ	Ar
1	H	1,00794	39	Y	88,90585	77	Ir	192,217
2	He	4,002602	40	Zr	91,224	78	Pt	195,078
3	Li	6,941	41	Nb	92,90638	79	Au	196,96655
4	Be	9,012182	42	Mo	95,94	80	Hg	200,59
5	B	10,811	43	Tc	[98]	81	Tl	204,3833
6	C	12,011707	44	Ru	101,07	82	Pb	207,2
7	N	14,00674	45	Rh	102,90550	83	Bi	208,98038
8	O	15,9994	46	Pd	106,42	84	Po	[209]
9	F	18,998403	47	Ag	107,8682	85	At	[210]
10	Ne	20,1797	48	Cd	112,411	86	Rn	[222]
11	Na	22,989770	49	In	114,818	87	Fr	[223]
12	Mg	24,3050	50	Sn	118,710	88	Ra	[226]
13	Al	26,981538	51	Sb	121,760	89	Ac	[227]
14	Si	28,0855	52	Te	127,60	90	Th	232,0381
15	P	30,973761	53	I	126,90447	91	Pa	231,03588
16	S	32,065	54	Xe	131,293	92	U	238,02891
17	Cl	35,453	55	Cs	132,90545	93	Np	[237]
18	Ar	39,948	56	Ba	137,327	94	Pu	[244]
19	K	39,0983	57	La	138,9055	95	Am	[243]
20	Ca	40,078	58	Ce	140,116	96	Cm	[247]
21	Sc	44,955910	59	Pr	140,90765	97	Bk	[247]

Z	Символ	Ar	Z	Символ	Ar	Z	Символ	Ar
22	Ti	47,867	60	Nd	144,24	98	Cf	[251]
23	V	50,9415	61	Pm	[145]	99	Es	[252]
24	Cr	51,9961	62	Sm	150,36	100	Fm	[257]
25	Mn	54,938049	63	Eu	151,964	101	Md	[258]
26	Fe	55,845	64	Gd	157,25	102	No	[259]
27	Co	58,933200	65	Tb	158,92534	103	Lr	[262]
28	Ni	58,6934	66	Dy	162,500	104	Rf	[261]
29	Cu	63,546	67	Ho	164,93032	105	Db	[262]
30	Zn	65,409	68	Er	167,259	106	Sg	[263]
31	Ga	69,723	69	Tm	168,93421	107	Bh	[264]
32	Ge	72,64	70	Yb	173,04	108	Hs	[265]
33	As	74,92160	71	Lu	174,967	109	Mt	[266]
34	Se	78,96	72	Hf	178,49	110	Ds	[271]
35	Br	79,904	73	Ta	180,9479	111	Rg	[272]
36	Kr	83,798	74	W	183,84	112		[277]
37	Rb	85,4678	75	Re	186,207	113		[284]
38	Sr	87,62	76	Os	190,23	114		[289]

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *А. Т. Лебедев*. Масс-спектрометрия в органической химии, М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 493 с.
2. *А. Т. Лебедев*. Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды, М.: Техносфера, 2013. – 632с.
3. *М. Отто*. Современные методы аналитической химии, 3-е издание, М.: Техносфера 2008. – 544 с.
4. *К. Наканиси*. Инфракрасные спектры и строение органических соединений, М.: «Мир», 1965. – 220 с.
5. *Р. Д. Хмельницкий, Е. С. Бродский*. Хромато-масс-спектрометрия, М.: Химия, 1984. – 216 с.
6. *Х. Гюнтер*. Введение в курс спектроскопии ЯМР, М.: «Мир», 1984. – 478 с.
7. *У. Уэндландт*. Термические методы анализа, М.: Мир, 1978. – 527 с.
8. *А. Л. Емелина*. Дифференциальная сканирующая калориметрия, М.: МГУ, 2009. – 42 с.
9. *Р. Баффингтон, М. Уилсон*. Детекторы для газовой хроматографии, М.: Мир, 1993. – 80 с.
10. *А. Г. Витенберг, Б. В. Иоффе*. Газовая экстракция в хроматографическом анализе: Парофазный анализ и родственные методы, Л.: Химия, 1982. – 280 с.
11. *К. А. Гольберт, М. С. Вигдергауз*. Введение в газовую хроматографию, 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Химия, 1990. – 352 с.
12. *Г. И. Барам*. ВЭЖХ для всех. Лекции. Новосибирск, 2007. – 116 с.
13. *С. Перри, Р. Амос, П. Брюер*. Практическое руководство по Жидкостной Хроматографии. од ред. К. В. Чмутова. – М.: Мир, 1974. – 260 с.

14. *Е. Л. Стыскин, Л. Б. Ициксон, Е. В. Брауде.* Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. Москва: 1986. – 284 с.

15. *С. А. Кибардин, К. А. Макаров.* Тонкослойная хроматография в органической химии. Москва: 1978. – 126 с.

16. *Э. Шталь.* Хроматография в тонких слоях, М.: Мир, 1965. – 508 с.

17. *Н. П. Бельская, О. С. Ельцов, М. Г. Понизовский.* Ядерный магнитный резонанс. Теория и практика. Екатеринбург: УрФУ, 2011. – 105 стр.

18. *А. А. Полякова, Р. А. Хмельницкий.* Масс-спектрометрия в органической химии, Л.: Химия, 1972. – 368 с.

19. *А. А. Пупышев* Атомно-абсорбционный спектральный анализ, Техносфера, 2009. – 784 с.

20. *Ю. А. Золотов, Е. Н. Дорохова, В. И. Фадеева.* Основы аналитической химии. В 2-х книгах. Изд. 3-е, перераб. и доп. М.: Высшая школа. – 395/505 с.

Н.Г. Ярышев, Ю.Н. Медведев, М.И. Токарев,  
А.В. Бурихина, Н.Н. Камкин

**ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ  
И ИХ ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ  
В ХИМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ**

Издательство «Прометей»  
115035 г. Москва, ул. Садовническая, 72, стр. 1  
Тел./факс: 8 (495) 799-54-29  
E-mail: [info@prometej.su](mailto:info@prometej.su)

Подписано в печать 05.05.2015  
Формат 60х90/16. Объем 12,25  
Тираж 500 экз. Заказ № 484

ISBN 978-5-9906134-6-1



9 785990 613461