

Лекции 6-8 ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

- 1 Теоретические основы спектроскопических исследований
- 2 Спектроскопия в видимой и УФ-областях, основной закон светопоглощения
- 3 Атомный и молекулярный спектральный анализ
- 4 ИК-спектроскопия

1 Теоретические основы спектроскопических исследований

К **спектроскопическим методам анализа** относят физические методы, основанные на взаимодействии **электромагнитного излучения** с веществом. Это взаимодействие приводит к различным энергетическим переходам, которые регистрируются экспериментально в виде поглощения излучения, отражения и рассеяния электромагнитного излучения. В зависимости от **характера возбуждения и процессов внутреннего взаимодействия в веществе** различают и методы (принципы) спектрального анализа: атомно-эмиссионная, абсорбционная, люминесцентная, комбинационного рассеяния, радио- и рентгеновская спектроскопии и т. д.

В спектральном анализе используют широкий диапазон длин волн, от рентгеновских излучений до радиоволн. На рис. 1 представлена схема электромагнитного спектра.

Спектр представляет собой зависимость количества поглощенной или излученной системой энергии от длины волны или другого параметра, например волнового числа. Молекулы взаимодействуют с излучением в широком диапазоне длин волн, поэтому их спектры лежат в разных областях (рис. 5.1). Для измерений в каждом спектральном диапазоне используется специальное оборудование. Одни типы спектров получить довольно легко, и соответствующие методы широко используются биохимиками в повседневной работе. Однако есть область спектроскопии, где применяется довольно сложное оборудование.

Каждая спектральная линия характеризуется **длиной волны** или **частотой**. В спектральном анализе длину волны линии принято выражать в нанометрах ($1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м}$) или микрометрах ($1 \text{ мкм} = 10^{-6} \text{ м}$). Однако применяют и несистемную единицу – ангстрем ($1 \text{ Å} = 0,1 \text{ нм} = 10^{-10} \text{ м}$).

Для аналитических целей чаще используют ультрафиолетовую, видимую и ближнюю инфракрасную части спектра. Ультрафиолетовая область спектра условно разделяется на вакуумную (10 – 185 нм), дальнюю (185 – 230 нм) и ближнюю (230 – 400 нм). Видимая часть спектра (400 – 750 нм) в отличие от других областей спектра

воспринимается глазом человека в виде семи основных цветов: фиолетового (390 – 420 нм), синего (424 – 455 нм), голубого (455 – 494 нм), зеленого (494 – 565 нм), желтого (565 – 595 нм), оранжевого (595 – 640 нм), красного (640 – 723 нм) и их оттенков. За видимой красной частью спектра расположена инфракрасная область спектра, которая подразделяется на ближнюю (0,75 – 25 мкм) и дальнюю (>25 мкм).

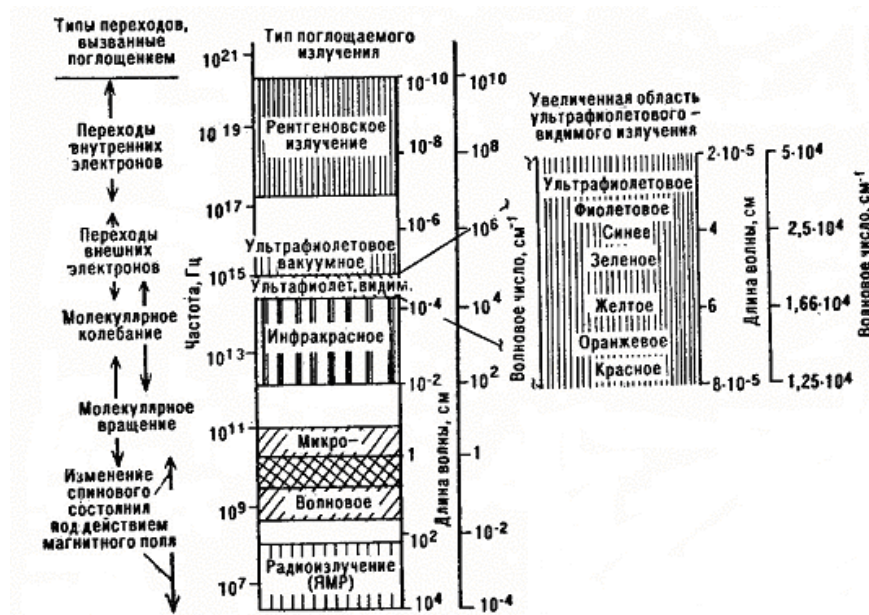


Рис. 1. Электромагнитный спектр излучения

Спектральный анализ дает возможность установить элементный, изотопный, молекулярный состав вещества и его строение.

Для понимания механизмов, лежащих в основе спектральных свойств молекул, воспользуемся представлением о квантовой природе электромагнитного излучения. Согласно квантовой механике, свет представляет собой поток частиц, называемых *квантами* или *фотонами*. Энергия каждого кванта определяется длиной волны излучения.

В основном энергетическом состоянии электроны в атоме занимают самые нижние энергетические уровни. При поглощении кванта энергии электрон переходит из основного состояния в более высокое, **возбужденное**, при этом энергия кванта должна точно соответствовать разности соответствующих энергетических уровней. Переход электрона из возбужденного состояния в основное сопровождается испусканием кванта, или, иначе говоря, излучением света определенной длины волны. В первом случае мы получаем спектр поглощения молекулы, а во втором – испускания.

$$\Delta E = E_1 - E_2 = h\nu \quad (1)$$

где E – поглощенная или излученная молекулой энергия,
 E_1 – первоначальная энергия электрона,
 E_2 – конечная энергия электрона,
 h – постоянная Планка, равная $6,63 \cdot 10^{-34}$ Дж·с,
 ν – частота колебаний, Гц.

Частота колебаний связана с длиной волны уравнением:

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

где c – скорость света, равная $3 \cdot 10^8$ м /с,
 λ – длина волны излучения

В спектральном анализе часто пользуются величиной *волновое число* ν , обратной длине волны и выраженной в см^{-1} .

При образовании молекул электроны атомов занимают новые положения, появляются новые энергетические уровни. Атомы в молекуле могут колебаться и вращаться вокруг связей, и это приводит к возникновению около электронных уровней молекулы *колебательных и вращательных подуровней*.

Поскольку в молекулах каждое основное и возбужденное электронное состояние разбивается на ряд энергетических подуровней, спектры молекул являются, как правило, **полосатыми**. Из-за отсутствия колебательных подуровней спектры атомов довольно простые, **линейчатые**. Линейчатые спектры испускают атомы или ионы, которые находятся на таких расстояниях друг от друга, что их излучение можно считать независимым. Газы и пары металлов имеют линейчатые спектры. Полосатые спектры возникают при излучении ионизированных и неионизированных молекул, состоящих из двух и более атомов, если эти молекулы удалены друг от друга настолько, что не взаимодействуют с соседними молекулами. Сплошные или непрерывные спектры испускают раскаленные жидкие или твердые тела. При определенных условиях их могут испускать также и отдельные атомы, или молекулы. Полосатые спектры состоят из близко расположенных линий, которые хорошо наблюдаются в спектрах, полученных на приборах с большой дисперсией.

Электронные спектры обусловлены переходом электронов наружных оболочек атомов с одного энергетического уровня на другой, они занимают *видимую* и *ультрафиолетовую* области. Обычно электронные переходы сопровождаются изменениями в колебательных и вращательных энергетических уровнях. Эта область спектроскопии широко применяется в биохимии (спектрофотометрия, ИК-спектроскопия, пламенная спектроскопия, спектрофлуоресценция).

2 Спектрофотометрия в видимой и УФ-областях; основной закон светопоглощения

Свет поглощается раствором избирательно: при некоторых длинах волн светопоглощение происходит интенсивно, а при некоторых не поглощается. Интенсивно поглощаются кванты света, энергия которых равна энергии возбуждения частицы. Спектр поглощения представляет собой распределение по частотам (или длинам волн) значений молярного коэффициента поглощения. Обычно спектры поглощения в ультрафиолетовой (10-400 нм) и видимой (400-760 нм) областях имеют пики, отражающие переходы связанных и несвязанных электронов в молекуле. Это, например, делокализованные π -электроны двойных $C=C$ связей и неподелённые пары азота и кислорода. Поскольку, электроны в молекуле при комнатной температуре находятся на нижнем энергетическом уровне, спектры в этой области дают информацию об основном и первом возбужденном электронных состояниях молекулы. Ввиду того, что длина волны поглощенного света соответствует определенному переходу, пики на спектрах поглощения вещества обусловлены присутствием в нем известных структур. Группа в молекуле, которая дает вклад в спектр ее поглощения, называется *хромофором*. Такой группой является, например, карбонильная группа $>C=O$.

При образовании сопряженных связей в молекуле энергия возбужденного состояния электронов уменьшается, и, следовательно, хромофор начинает поглощать свет большей длины волны. Такой сдвиг в спектрах поглощения называется *батохромным* (*гиперхромным*). Наоборот, сдвиг спектра в коротковолновую область именуется *гипсохромным*. *Гиперхромный* и *гипсохромный* эффекты – это соответственно увеличение и уменьшение экстинкции.

Оборудование. Для получения спектра поглощения необходимо измерить экстинкцию при различных длинах волн. Для этого используют приборы – *спектрофотометры*. Поглощение в видимой области можно регистрировать глазом (*спектроскопы, стилоскопы, стилометры*) или фотографированием в видимой и УФ-областях (*спектрографы*).

Основные узлы спектрофотометра: источник света, монохроматор, кювета, фотоэлемент. В качестве источников света в видимой области применяются лампы накаливания, а в ультрафиолетовой – водородные или дейтериевые лампы. Монохроматор – оптическая система, выделяющая из всего спектра источника света излучение определенной длины волны. Это обычно призмы, по-разному преломляющие свет

разных длин волн, или дифракционные решетки. В видимой области используются обычные стеклянные призмы, но в ультрафиолетовой области они не годятся, поскольку стекло начинает поглощать уже при 400 нм, поэтому призмы делают из кварца. На самом деле к образцу от монохроматора поступает не монохроматическое излучение, а свет в некотором диапазоне длин волн, называемом **спектральной шириной щели**. Ширина щели – важный параметр, поскольку она определяет тот диапазон длин волн, при которых на самом деле проводятся измерения.

Исследуемое вещество растворяют в соответствующем растворе и помещают в оптически прозрачный сосуд для измерений – кювету. Для определения поглощения только исследуемого вещества используется кювета сравнения, идентичная кювете с образцом; в нее наливают только растворитель. Для работы с летучими или химически активными веществами кюветы закрывают пробками. Поскольку кювета, помещенная в спектрофотометр, становится составной частью его оптической системы, с ней нужно обращаться очень аккуратно. Царапины и грязь на стенках кюветы сильно рассеивают и поглощают свет, искажая результаты измерений. Об этом особенно надо помнить при работе в ультрафиолетовой области. Содержимое кюветы должно быть гомогенным – это необходимое условие получения воспроизводимых данных. Нужно следить за тем, чтобы раствор не был мутным. Особенно мешают измерениям пузырьки воздуха, сильно увеличивающие рассеяние.

Фотоэлементы преобразовывают световую энергию в электрическую. Электрический сигнал затем усиливается и регистрируется. Фотоны, бомбардируя поверхность фотоэлемента, выбивают из нее электроны, количество которых пропорционально интенсивности света. Эти электроны летят к положительному электроду; в результате в замкнутой цепи возникает электрический ток, который регистрируется по падению напряжения на сопротивлении, находящемся в этой цепи.

На рис. 2 представлена оптическая схема одного из распространенных приборов стилоскопа СЛ-11.

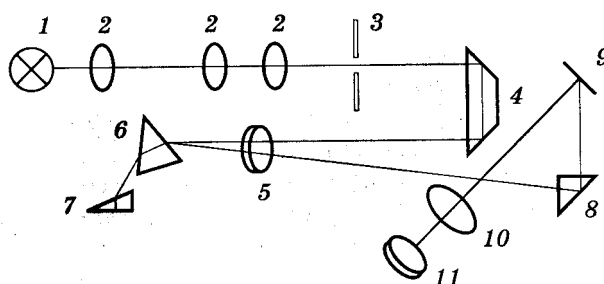


Рис. 2. Оптическая схема стилоскопа СЛ-11

Свет от источника возбуждения 1 через оптическую систему 2 попадает на входную щель 3 постоянной ширины 0,02 мм и поворотной призмой 4 через объектив 5 направляется на диспергирующую систему из двух призм 6 и 7. Покрытый серебром катет призмы 7 отражает лучи, которые вновь проходят диспергирующую систему и через объектив 5 и поворотную призму 8 попадают на зеркало 9 и далее в окуляр 11, служащий для наблюдения спектра. Фотометрический клин 10 позволяет ослаблять интенсивность выбранной спектральной линии и по специальной шкале, связанной с клином, оценивать ее относительную интенсивность. Призма 7 может вращаться, что приводит к перемещению спектра в поле зрения, а угол поворота призмы показывает по шкале, к какой области длин волн относится наблюдаемый участок спектра. Стилоскоп предназначен для работы в спектральной области от 390 до 700 нм, для возбуждения спектра обычно используется дуговой генератор. Элементарный фотометрический клин позволяет повысить точность анализа по сравнению с обычными стилоскопами. Юстировка оптической системы делается на заводе, заданное положение оптических деталей сохраняется благодаря жесткому монтажу.

Для выполнения экспрессных аналитических работ вне лаборатории применяют переносной стилоскоп типа СЛП-2, оптическая схема которого лишь немногим отличается от оптической схемы СЛ-11.

Турбидиметрия, нефелометрия. Очень разбавленные суспензии можно количественно исследовать при помощи турбидиметрии, т. е. измерения экстинкции не в полосе поглощения вещества (измерение мутности). В этом случае рассеяние света меняется с концентрацией нелинейно, поэтому стандартизовать измерение концентрации разбавленных суспензий по уменьшению интенсивности попадающего на фотоэлемент света довольно трудно. Нефелометрия – это метод измерения интенсивности рассеянного суспензией света; он применяется в основном для определения концентрации микроорганизмов.

Основной закон светопоглощения. Уменьшение интенсивности света, прошедшего через раствор, характеризуется *коэффициентом пропускания* (или просто пропусканием) T , где I и I_0 – соответственно интенсивности света, прошедшего через раствор и растворитель.

$$T = I/I_0 \quad (3)$$

Взятый с обратным знаком логарифм T называется *оптической плотностью* A или *экстинкцией*:

$$-lgT = -lgI/I_0 = lg I_0/I = A \quad (4)$$

Уменьшение интенсивности света при прохождении его через раствор подчиняется закону Бугера - Ламберта - Бера:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon \cdot l \cdot c} \quad (4)$$

или

$$-\lg T = A = \varepsilon \cdot l \cdot c \quad (5)$$

где ε - молярный коэффициент поглощения,

l – толщина светопоглощающего слоя,

c – концентрация раствора

Физический смысл молярного коэффициента поглощения сразу становится ясным, если мы принимаем $c = 1$ моль/л и $l = 1$ см. Тогда $A = \varepsilon$. Следовательно, молярный коэффициент поглощения равен оптической плотности одномолярного раствора при толщине слоя 1 см.

Закон Бугера – Ламберта – Бера связывает уменьшение интенсивности цвета, прошедшего через слой светопоглощающего вещества, с концентрацией вещества и толщиной слоя. Чтобы учесть потери света на отражение и рассеяние, сравнивают интенсивности цвета, прошедшего через исследуемый раствор и растворитель. При одинаковой толщине слоя в кюветах, из одинакового материала, содержащих один и тот же растворитель, потери на отражение и рассеяние света будут примерно одинаковы у обоих пучков, и уменьшение интенсивности света будет линейно зависеть от концентрации вещества.

В соответствии с уравнением получается, что зависимость оптической плотности от концентрации графически выражается прямой линией, выходящей из начала координат. Опыт же показывает, что линейная зависимость наблюдается не всегда. При практическом применении закона необходимо учитывать следующие ограничения:

1. Закон справедлив для монохроматического света. Чтобы отметить это ограничение в уравнение вводят индексы и записывают в виде: $A_\lambda = \varepsilon_\lambda l c$. Индекс λ указывает, что величины A и ε относятся к монохроматическому свету с длиной волны λ

2. Коэффициент ε зависит от показателя преломления среды. Если концентрация раствора сравнительно невелика, его показатель преломления остается таким же, каким он был у чистого растворителя, и отклонений от закона по этой причине не наблюдается. Изменение показателя преломления в высококонцентрированных растворах может явиться причиной отклонений от основного закона светопоглощения

3. Температура при измерениях должна оставаться постоянной хотя бы в пределах нескольких градусов.

4. Пучок света должен быть параллельным

5. Данное уравнение соблюдается для систем, в которых светопоглощающими центрами являются частицы только одного сорта. Если при изменении концентрации будет изменяться природа этих частиц вследствие, например, кислотно – основного взаимодействия, полимеризации, диссоциации, то зависимость A от c не будет линейной, так как молярный коэффициент поглощения вновь образующихся частиц не будет в общем случае одинаковым.

Оптическая плотность раствора, содержащего несколько окрашенных веществ, обладает свойством *аддитивности*, т.е. поглощение света каким-либо веществом не зависит от присутствия в растворе других веществ. При наличии окрашенных веществ в растворе каждое из них будет давать свой аддитивный вклад в экспериментально определяемую оптическую плотность:

$$A = l (\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2 + \varepsilon_k c_k) \quad (6)$$

Абсолютные методики определения веществ по закону Бугера-Ламберта-Бера:

1. Метод сравнения оптических плотностей стандартного и исследуемого окрашенных растворов. Для определения концентрации вещества берут аликвотную часть исследуемого раствора, приготавливают из нее окрашенный раствор и измеряют его оптическую плотность. Затем аналогично приготавливают 2-3 стандартных окрашенных раствора определяемого вещества известной концентрации и измеряют их оптические плотности при той же толщине слоя (те же кюветы):

$$C_1/C_x = A_1/A_x$$

Еще более точный способ определения концентрации – метод ограничивающих растворов. Приготавливают 2 раствора, таким образом, чтобы $A_1 < A_x < A_2$. Концентрацию находят по формуле:

$$C_x = (C_2 - C_1) (A_x - A_1) / (A_2 - A_1).$$

2. Метод градуировочного графика. В соответствии с законом Бугера-Ламберта-Бера график в координатах оптическая плотность – концентрация должен быть линейным и прямая должна проходить через начало координат. Применение градуировочных графиков является наиболее распространенным и точным методом фотометрических измерений. Основные ограничения метода связаны с трудностями приготовления эталонных растворов и учетом влияния третьих

компонентов, которые находятся в пробе, сами не определяются, но оказывают влияние на конечный результат.

3. Метод добавок. Этот метод применяют при анализе растворов сложного состава, так как он позволяет автоматически учесть влияние третьих компонентов. Сущность его заключается в следующем. Сначала определяют оптическую плотность A_x анализируемого раствора, содержащего определяемый компонент неизвестной концентрации c_x , а затем в анализируемый раствор добавляют известное количество определяемого компонента ($c_{ст}$) и вновь измеряют оптическую плотность $A_{x+ст}$. Оптическая плотность анализируемого раствора равна: $A_x = \varepsilon l c_x$, а оптическая плотность анализируемого раствора с добавкой стандартного: $A_{x+ст} = \varepsilon l (c_x + c_{ст})$.

3 Атомный и молекулярный спектральный анализ

Атомный спектральный анализ (АСА) определяет элементный состав образца по атомным (ионным) спектрам испускания и поглощения, молекулярный спектральный анализ (МСА) – молекулярный состав веществ по молекулярным спектрам поглощения, люминесценции и комбинационного рассеяния света.

Эмиссионный спектральный анализ производят по спектрам испускания атомов, ионов и молекул, возбуждённым различными источниками электромагнитного излучения в диапазоне от γ -излучения до микроволнового. Абсорбционный спектральный анализ осуществляют по спектрам поглощения электромагнитного излучения анализируемыми объектами (атомами, молекулами, ионами вещества, находящегося в различных агрегатных состояниях).

Историческая справка. В основе АСА лежит индивидуальность спектров испускания и поглощения химических элементов, установленная впервые Г. Р. Кирхгофом и Р. Бунзеном. В 1861 Кирхгоф доказал на основе этого открытия присутствие в хромосфере Солнца ряда элементов, положив начало астрофизике. В 1861-1923 с помощью АСА было открыто 25 элементов. В 1932 спектральным методом был открыт дейтерий. Высокая чувствительность и возможность определения многих элементов в пробах малой массы сделали АСА эффективным методом качественного анализа элементного состава объектов. В 1926 нем. физик В. Герлах положил начало количественному спектральному анализу. Для развития спектрального анализа и внедрения его на промышленных предприятиях СССР большую роль сыграли Г. С. Ландсберг, С. Л. Мандельштам, А. К. Русанов (Москва), А. Н. Филиппов, В. К. Прокофьев (Ленинград) и др.

Атомный спектральный анализ (АСА)

Методы **эмиссионного спектрального анализа** основаны на измерении длины волны, интенсивности и других характеристик света, излучаемого атомами и ионами вещества в газообразном состоянии. Испускание света атомами происходит за счет изменения энергии атомов. Атомы могут обладать только строго определенными дискретными запасами внутренней энергии: E_A , E_B и т. д. Это означает также, что атомы не могут иметь энергию, промежуточную между этими значениями. В невозбужденном, т. е. нормальном, состоянии атомы обладают минимальной энергией. При подведении энергии, например, при столкновении с быстролетающими электронами, энергия которых достаточна для возбуждения, атомы возбуждаются, т. е. переходят на более высокий энергетический уровень. Через очень короткое время ($\sim 10^{-8}$ с) атом самопроизвольно возвращается в нормальное или какое-то более низкое возбужденное состояние. Освобождающаяся при этом энергия ΔE излучается в виде светового кванта $h\nu$.

Эмиссионный АСА состоит из следующих основных процессов:

- 1) отбор пробы, отражающей средний состав анализируемого материала или местное распределение определяемых элементов в материале;
- 2) введение пробы в источник излучения, в котором происходят испарение твёрдых и жидких проб, диссоциация соединений и возбуждение атомов и ионов;
- 3) преобразование их свечения в спектр и его регистрация (либо визуальное наблюдение) с помощью спектрального прибора;
- 4) расшифровка полученных спектров с помощью таблиц и атласов спектральных линий элементов. На этой стадии заканчивается *качественный АСА*. По яркости линий при визуальном просмотре можно дать грубую оценку содержания тех или иных элементов в пробе.

Основой *качественного* спектрального анализа является свойство каждого химического элемента излучать характерный линейчатый спектр. Задача качественного спектрального анализа сводится к отысканию линий определяемого элемента в спектре пробы. Принадлежность линии данному элементу устанавливается по длине волны и интенсивности линии. Однако общее число линий в спектре многих элементов очень велико: например, спектр тория насчитывает свыше 2500 линий, а спектр урана – более 5000. Нет необходимости, определять длины волн всех спектральных линий в спектре пробы. Для целей качественного анализа необходимо установить наличие или

отсутствие в спектре так называемых *аналитических* или *последних линий*.

При уменьшении содержания элемента в пробе интенсивность линий этого элемента в спектре будет уменьшаться, некоторые линии исчезнут, и число линий уменьшится. При какой-то очень малой концентрации останется всего несколько линий. Это и есть последние линии, по которым обычно проводится качественный анализ. Последние линии хорошо изучены, их длины волн и характеристику интенсивности можно найти в специальных таблицах и атласах спектральных линий.

Для расшифровки спектра и определения длины волны анализируемой линии пользуются спектрами сравнения, в которых длины волн отдельных линий хорошо известны. Чаще всего для этой цели используют спектр железа, имеющий характерные группы линий в разных областях длин волн. Надежность анализа возрастает, когда встык со спектром пробы фотографируют спектры подозреваемых элементов, как это можно видеть на рис. 3. Анализ этих спектров показывает, например, что в железе содержится небольшое количество марганца (линия 294,92 нм) и алюминия (линия 281,61 нм). В спектре алюминиево-магниевого сплава (спектр 2) легко обнаруживается железо по группе линий 275,57 – 274,65 нм, медь по линии 282,43 нм и довольно большое количество марганца (группа линий 294,92 – 293,31 нм). Четко видны линии магния (спектр 3) в спектре алюминиево-магниевого сплава (спектр 2). При проведении качественного спектрального анализа часто пользуются атласом спектральных линий.

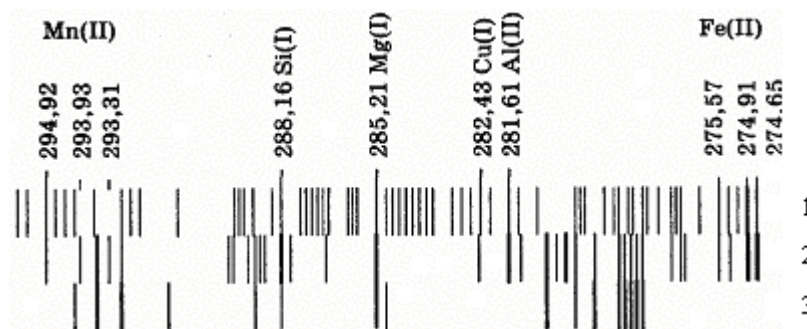


Рис. 3. Участок спектра: 1 – железа; 2 – алюминиево-марганцевого сплава; 3 – магния

Отсутствие последней линии определяемого элемента в спектре гарантирует отсутствие других линий этого элемента.

В основе *количественного АСА* лежит уравнение Ломакина-Шайбе, которое хорошо описывает концентрационную зависимость интенсивности спектральной линии:

$$I = a c^b \quad (7)$$

где a – коэффициент, зависящий от режима работы источника возбуждения, его стабильности, температуры и т. д.;

b – коэффициент самопоглощения, учитывающий поглощение квантов света невозбужденными атомами.

Не все кванты, испускаемые возбужденными частицами, достигают приемника света. Квант света может быть поглощен невозбужденным атомом и, таким образом, не будет зафиксирован приемником излучения. Это так называемое самопоглощение. С увеличением концентрации вещества самопоглощение возрастает.

При логарифмировании уравнения (7) получаем

$$\lg I = b \lg c + \lg a \quad (8)$$

Линейная зависимость $\lg I$ от $\lg c$ очень удобна для построения градуировочного графика.

Количественный АСА можно осуществлять сравнением интенсивностей двух спектральных линий в спектре пробы, одна из которых принадлежит определяемому элементу, а другая (линия сравнения) – основному элементу пробы, концентрация которого известна, или специально вводимому в известной концентрации элементу ("внутреннему стандарту"). Соотношение, связывающее концентрацию c определяемого элемента с отношением интенсивностей линии определяемой примеси (I_1) и линии сравнения (I_2):

$$I_1/I_2 = a c^b \quad (9)$$

(постоянные a и b определяются опытным путём), или

$$\lg (I_1/I_2) = b \lg c + \lg a \quad (10)$$

с помощью стандартных образцов (не менее 3) можно построить график зависимости $\lg (I_1/I_2)$ от $\lg c$ и определить по нему a и b . Значения I_1 и I_2 можно получать непосредственно путём фото-электрической регистрации или путём фотометрирования (измерения плотности почернения) линии определяемой примеси и линии сравнения при фоторегистрации. Фотометрирование производят на микрофотометрах.

Ширина спектральных линий. Важной характеристикой спектральной линии является ее ширина. Как известно, спектральная линия – это оптическое изображение щели спектрального прибора, и чем шире щель, тем шире спектральная линия. Тем не менее, хотя все спектральные линии в данном спектре являются изображением одной и той же щели, и, казалось бы, должны иметь одинаковую ширину, она на самом деле различна. Это кажущееся противоречие вызывается несколькими причинами. Наиболее существенны из них следующие.

1. Реальное излучение в обычных условиях эмиссионной спектроскопии не бывает строго монохроматичным (его энергия распределена в некотором интервале длин волн), и чем больше этот интервал, тем шире спектральная линия. Это так называемая естественная ширина спектральной линии, она составляет величину порядка 10^{-3} нм. При решении большинства аналитических задач с этим уширением практически можно не считаться, так как оно значительно меньше уширения, вызываемого другими причинами.

2. Если светящаяся частица движется вдоль линии наблюдения, то излучаемая ею длина волны испытывает некоторое смещение, приводящее в условиях эмиссионной спектроскопии при большом числе излучающих частиц к уширению спектральных линий. Это **доплеровское уширение**. Оно возрастает с уменьшением атомной массы излучающего атома и повышением температуры. Для элементов середины периодической системы и температуры 5000°C доплеровское уширение в видимой части спектра составляет примерно 0,001 – 0,002 нм.

3. В электрическом или магнитном поле энергетические уровни атома расщепляются на ряд подуровней. Это явление известно как **эффект Штарка** (расщепление в электрическом поле) или **эффект Зеемана** (расщепление в магнитном поле). Поле, обусловленное заряженными частицами в плазме, оказывается достаточным, чтобы вызвать уширение спектральных линий, которое доступно наблюдению на обычных приборах.

4. С увеличением концентрации элемента в пробе возрастает самопоглощение, что приводит к уменьшению интенсивности центральной части линии и ее уширению.

Очень широкие и очень узкие спектральные линии менее пригодны для спектрального анализа, чем линии средней ширины.

Прибор для проведения спектрального анализа имеет следующие основные узлы: источник возбуждения (излучения), диспергирующий элемент и приемник света. Кроме этих основных узлов в любом спектральном приборе есть оптическая система, предназначенная для получения параллельного пучка света, его фокусировки, изменения хода лучей и т. д. В источнике возбуждения вещество атомизируется и возбужденные атомы или ионы испускают свет, который диспергирующим элементом разделяется в пространстве на отдельные составляющие, а приемник света их фиксирует.

Для возбуждения спектра в АСА используют различные **источники возбуждения** соответственно различные **способы введения в них образцов**. Выбор источника зависит от конкретных условий анализа

определённых объектов. Тип источника и способ введения пробы составляют главное содержание частных методик АСА.

В эмиссионном АСА широко используют электрические источники света. Более стабильные условия возбуждения создаёт дуга переменного тока. Первым искусственным источником излучения АСА было пламя газовой горелки – источник весьма удобный для быстрого и точного определения многих элементов. Температура пламён горючих газов не высока (от 2100 К для смеси водород - воздух до 4500 К для редко используемой смеси кислород - циан). С помощью фотометрии пламени определяют около 70 элементов по их аналитическим линиям, а также по молекулярным полосам соединений, образующихся в пламенах.

С помощью различных приёмов введения анализируемых веществ в плазму этих типов разряда (продувка порошков, распыление растворов и т. д.) значительно повышена относительная точность анализа (до 0,5-3%), в том числе и компонентов сложных проб, содержание которых составляет десятки %. В некоторых важных случаях анализа чистых веществ применение этих типов разряда снижает пределы определения примесей на 1-2 порядка (до 10^{-5} - 10^{-6} %).

Атомно-абсорбционный спектральный анализ (ААА) и атомно-флуоресцентный спектральный анализ (АФА). В этих методах пробу превращают в пар при этом анализируемое вещество под действием тепловой энергии разлагается на атомы – процесс называют атомизацией, а часть прибора, в которой протекает этот процесс – атомизатором (пламя, графитовая трубка, плазма стабилизированного ВЧ- или СВЧ-разряда).

В парообразном (атомарном) состоянии проба, а точнее, ее атомы, способны к поглощению света. В ААА свет от источника дискретного излучения, проходя через этот пар, ослабляется, и по степени ослабления интенсивностей линий определяемого элемента судят о концентрации его в пробе. ААА проводят на специальных спектрофотометрах. Методика проведения ААА по сравнению с др. методами значительно проще, для него характерна высокая точность определения не только малых, но и больших концентраций элементов в пробах. ААА с успехом заменяет трудоёмкие и длительные химические методы анализа, не уступая им в точности.

Атомное поглощение, как и молекулярное, характеризуется экспоненциальным законом убывания интенсивности проходящего света в зависимости от длины поглощающего слоя, аналогичным закону Бугера-Ламберта-Бера:

$$\lg I_0/I = k \cdot l \cdot c \quad (11)$$

где I_0 , I – интенсивности падающего и прошедшего света;
 k – коэффициент поглощения, зависящий от частоты света;
 c – концентрация поглощающих атомов;
 l – толщина поглощающего слоя.

Излучательные переходы осуществляются спонтанно без какого-либо внешнего воздействия. Повышение температуры излучающего облака в значительной степени сказывается на увеличении в нем концентрации возбужденных атомов, на интенсивности спектральных линий и, следовательно, на чувствительности атомно-эмиссионного спектрального анализа.

В отличие от атомного излучения атомное поглощение определяется заселенностью нижнего уровня, поэтому тепловая энергия должна быть использована только для атомизации анализируемых веществ. Увеличение же числа атомов в возбужденном состоянии за счет атомов, находящихся в основном состоянии, приводит к уменьшению чувствительности определения атомно-абсорбционным методом.

Атомное поглощение было известно еще в начале прошлого столетия, однако для аналитических целей его начали применять в 1955 г., когда физик Уолш предложил схему прибора. Она состоит из источника света, пламени, монохроматоров и блоков усиления и регистрации (рис.4).

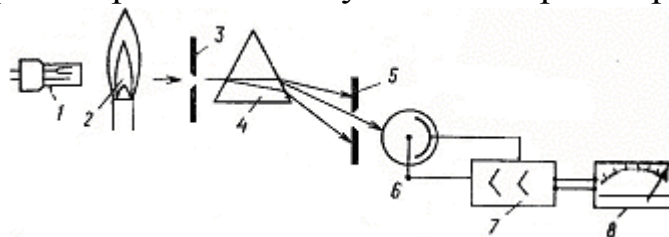


Рис. 4. Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрофотометра: 1 – источник света; 2 – пламя; 3-5 – монохроматор; 6-8 – блок усиления и регистрации

АСА позволяет проводить измерения изотопного состава. Некоторые элементы имеют спектральные линии с хорошо разрешенной структурой (например, Н, Не, U). Изотопный состав этих элементов можно измерять на обычных спектральных приборах с помощью источников света, дающих тонкие спектральные линии (полый катод, безэлектродные ВЧ- и СВЧ-лампы). Для проведения изотопного спектрального анализа большинства элементов требуются приборы высокой разрешающей способности (например, эталон Фабри - Перо). Изотопный спектральный анализ можно также проводить по электронно-колебательным спектрам молекул, измеряя изотопные сдвиги полос, достигающие в ряде случаев значительной величины.

Экспрессные методы АСА широко применяются в промышленности, сельском хозяйстве, геологии и многих др. областях народного хозяйства и науки. Значительную роль АСА играет в атомной технике, производстве чистых полупроводниковых материалов, сверхпроводников и т. д. Методами АСА выполняется более 3/4 всех анализов в металлургии. В геологии и геологической разведке для оценки месторождений производят около 8 млн. анализов в год. АСА применяется для охраны окружающей среды и анализа почв, в криминалистике и медицине, геологии морского дна и исследовании состава верхних слоев атмосферы, при разделении изотопов и определении возраста и состава геологических и археологических объектов и т. д.

В АФА атомные пары пробы облучают светом источника резонансного излучения и регистрируют флуоресценцию (свечение) определяемого элемента. Для некоторых элементов (Zn, Cd, Hg и др.) относительные пределы их обнаружения этим методом весьма малы ($\sim 10^{-5}$ - 10^{-6} %).

Молекулярный спектральный анализ (МСА)

В основе МСЛ лежит качественное и количественное сравнение измеренного спектра исследуемого образца со спектрами индивидуальных веществ. Соответственно различают качественный и количественный МСА. В МСА используют различные виды молекулярных спектров:

- вращательные [спектры в микроволновой и длинноволновой инфракрасной (ИК) областях],
- колебательные и колебательно-вращательные [спектры поглощения и испускания в средней ИК-области, спектры комбинационного рассеяния света (КРС), спектры ИК-флуоресценции],
- электронные, электронно-колебательные и электронно-колебательно-вращательные [спектры поглощения и пропускания в видимой и ультрафиолетовой (УФ) областях, спектры флуоресценции].

МСА позволяет проводить анализ малых количеств (в некоторых случаях доли мкг и менее) веществ, находящихся в различных агрегатных состояниях.

Основные факторы, определяющие возможности методов МСА:

1) информативность метода. Условно выражается числом спектрально разрешаемых линий или полос в определённом интервале длин волн или частот исследуемого диапазона (для микроволнового диапазона оно

$\sim 10^5$, для средней ИК-области в спектрах твёрдых и жидких веществ $\sim 10^3$);

2) количество измеренных спектров индивидуальных соединений;

3) существование общих закономерностей между спектром вещества и его молекулярным строением;

4) чувствительность и избирательность метода;

5) универсальность метода;

6) простота и доступность измерений спектров.

Качественный МСА устанавливает молекулярный состав исследуемого образца. Спектр молекулы является его однозначной характеристикой. Наиболее специфичны спектры веществ в газообразном состоянии с разрешенной вращательной структурой, которые исследуют с помощью спектральных приборов высокой разрешающей способности. Наиболее широко используют спектры ИК-поглощения и КРС веществ в жидком и твёрдом состояниях, а также спектры поглощения в видимой и УФ-областях. Широкому внедрению метода КРС способствовало применение для их возбуждения лазерного излучения.

Для повышения эффективности МСА в некоторых случаях измерение спектров комбинируют с др. методами идентификации веществ. Так, всё большее распространение получает сочетание хроматографического разделения смесей веществ с измерением ИК-спектров поглощения выделенных компонент.

К качественному МСА относится также т. н. структурный молекулярный анализ. Установлено, что молекулы, имеющие одинаковые структурные элементы, обнаруживают в спектрах поглощения и испускания общие черты. Наиболее ярко это проявляется в колебательных спектрах. Так, наличие сульфгидрильной группы (-SH) в структуре молекулы влечёт за собой появление в спектре полосы в интервале $2565\text{--}2575\text{ см}^{-1}$, нитрильная группа (-CN) характеризуется полосой $2200\text{--}2300\text{ см}^{-1}$ и т. д. Присутствие таких характеристических полоса колебательных спектрах веществ с общими структурными элементами объясняется характеристичностью частоты и формы многих молекулярных колебаний. Подобные особенности колебательных (и в меньшей степени электронных) спектров во многих случаях позволяют определять структурный тип вещества. Качественный анализ существенно упрощает и ускоряет применение ЭВМ. В принципе его можно полностью автоматизировать, вводя показания спектральных приборов непосредственно в ЭВМ. В её памяти должны быть заложены спектральные характеристические признаки многих веществ, на основании которых машина произведёт анализ исследуемого вещества.

Количественный МСА по спектрам поглощения основан на законе Бугера - Ламберта - Бера. Если полоса поглощения исследуемого вещества достаточно изолирована и свободна от наложения полос др. компонент смеси, исследуемый спектральный участок можно выделить, например, при помощи интерференционного светофильтра.

При количественном МСА по спектрам КРС чаще всего интенсивность линии определяемого компонента смеси сравнивают с интенсивностью некоторой линии стандартного вещества, измеренной в тех же условиях (метод "внешнего стандарта"). В др. случаях стандартное вещество добавляют к исследуемому в определённом количестве (метод "внутреннего стандарта").

Особое значение имеет МСА с применением техники замороженных растворов в специальных растворителях, например парафинах. Спектры веществ в таких растворах (спектры Шпольского) обладают ярко выраженной индивидуальностью, они резко различны для близких по строению и даже изомерных молекул. Это позволяет идентифицировать вещества, которые по спектрам их флуоресценции в обычных условиях установить не удаётся. Например, метод Шпольского даёт возможность осуществлять качественный и количественный анализ сложных смесей, содержащих ароматические углеводороды. Качественный анализ в этом случае производят по спектрам люминесценции и поглощения, количественный – по спектрам люминесценции методами "внутреннего" и "внешнего" стандартов. Благодаря исключительно малой ширине спектральных линий в спектрах Шпольского в этом методе удаётся достигнуть пороговой чувствительности обнаружения некоторых многоатомных ароматических соединений ($\sim 10^{-11}$ г/см³).

Среди др. методов качественного и количественного МСА наибольшей чувствительностью обладает **флуоресцентный анализ**, однако в обычных условиях он уступает методам колебательной спектроскопии в универсальности и избирательности.

Частицы вещества могут переходить под действием света в возбужденное состояние. При переходе с возбужденного синглетного состояния на какой-либо колебательный подуровень основного электронного (тоже синглетного) состояния происходит излучение кванта света. Этот процесс называют флуоресценцией. Спектр флуоресценции соединения сдвинут в длинноволновую область по сравнению со спектром его поглощения, этот сдвиг называется **стоксовым**. Иногда вещество поглощает в УФ-области, а испускает видимый свет. Флуоресцируют отнюдь не все органические молекулы, хотя большинство из них поглощает в УФ- или видимой области.

Количественный МСА по спектрам флуоресценции основан на сравнении свечения раствора исследуемого образца со свечением ряда

эталонных растворов близкой концентрации. Интенсивность флуоресценции сильно зависит от температуры; при уменьшении ее от 30 до 20°C она падает на 10 - 50%, поэтому при измерениях необходимо тщательно контролировать температуру. На рис.5 приведена общая схема устройства спектрофлуориметра. Он состоит из:

- 1) источника света с широким спектральным диапазоном (например, ртутная или ксеноновая лампа);
- 2) монохроматора 1 выделяющего свет определенной длины волны для возбуждения образца;
- 3) второго монохроматора 2, который установлен для определения спектра флуоресценции образца при постоянной длине волны возбуждения;
- 4) детектора – обычно это чувствительный фотоэлемент; для измерения же флуоресценции при длинах волн больше 500 нм используется фотоумножитель, чувствительный к красному свету;
- 5) усилителя.

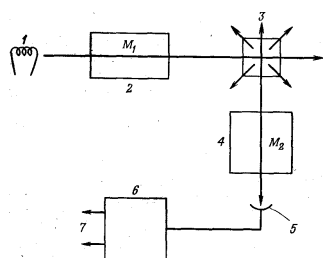


Рис. 5. Схема устройства спектрофлуориметра
1 – источник света; 2 – монохроматор 1; 3 – образец; 4 – монохроматор 2; 5 – фотоэлемент-детектор; 6 – усилитель; 7 – к самописцу

Для регистрации спектра возбуждения образца его освещают светом различных длин волн; поворачивая монохроматор 1 измеряют флуоресценцию при постоянной длине волны. Спектр флуоресценции снимают при неподвижном 1 (в этом случае образец освещается светом постоянной длины волны) и измеряют флуоресценцию при различных длинах волн, перемещая 2.

4 ИК- спектроскопия

Инфракрасная спектроскопия, ИК-спектроскопия, раздел спектроскопии, включающий получение, исследование и применение спектров испускания, поглощения и отражения в инфракрасной области спектра. Инфракрасная область электромагнитного излучения делится на ближнюю инфракрасную (1-2 мкм), инфракрасную (2-25 мкм) и дальнюю инфракрасную области (25-250 мкм). Наиболее часто применяется область 2,5-20 мкм.

На рис. 6 изображены колебания для углерода (IV) оксида. Колебания, сопровождающиеся изменением дипольного момента, т. е.

смещения заряда, наблюдаются в инфракрасной области. Другие колебания регистрируются с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния (рамановской спектроскопии). Инфракрасные спектры абсолютно специфичны, поэтому их можно считать своеобразными «отпечатками пальцев» молекул. Инфракрасные спектры для таких простых молекул, как двуокись углерода и вода, идентифицировать довольно просто, но для биохимии интересны молекулы очень большого размера.

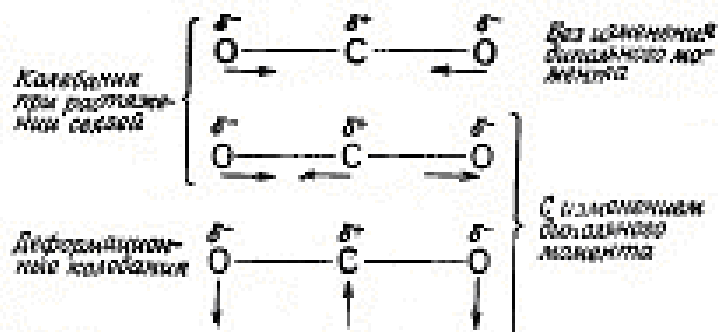


Рис. 6. Основные колебания в молекуле CO_2
(стрелки показывают одновременное относительное смещение атомов)

Некоторые полосы в инфракрасных спектрах разных молекул проявляются при одних и тех же длинах волн и относятся к одинаковым группам атомов в молекулах. Такие «группы частот» – важный элемент при анализе спектров (поскольку инфракрасные спектры – это колебательные спектры, их принято строить в частотах, а не длинах волн). Весьма полезен для аналитических целей тот факт, что поглощение группы атомов в молекуле зависит от их окружения – частоты колебаний смещаются в ту или иную сторону. Так удастся различить колебания C-H -связи в группах $=\text{CH}_2$ и $-\text{CH}_3$. При увеличении энергии связи атомов, например при образовании двойных связей, частота колебаний растяжения связей увеличивается, т. е. уменьшается длина волны поглощенного света.

ИК-спектроскопия занимается главным образом изучением молекулярных спектров, так как в ИК-области расположено большинство колебательных и вращательных спектров молекул. В ИК-спектроскопии наиболее широкое распространение получило исследование ИК-спектров поглощения, которые возникают в результате поглощения ИК-излучения при прохождении его через вещество. Это поглощение носит селективный характер и происходит на тех частотах, которые совпадают с некоторыми собственными частотами колебаний атомов в молекулах вещества и с частотами

вращения молекул как целого, а в случае кристаллического вещества - с частотами колебаний кристаллической решётки. В результате интенсивность ИК-излучения на этих частотах резко падает – образуются полосы поглощения. Количественная связь между интенсивностью I прошедшего через вещество излучения, интенсивностью падающего излучения I_0 и величинами, характеризующими поглощающее вещество, даётся законом Бугера - Ламберта - Бера.

На практике обычно ИК-спектр поглощения представляют графически в виде зависимости от частоты ν (или длины волны λ) ряда величин, характеризующих поглощающее вещество: коэффициента пропускания; коэффициента поглощения; оптической плотности.

Основные характеристики спектра ИК-поглощения: число полос поглощения в спектре, их положение, определяемое частотой ν (или длиной волны λ), ширина и форма полос, величина поглощения - определяются природой (структурой и химическим составом) поглощающего вещества, а также зависят от агрегатного состояния вещества, температуры, давления и др.

Изучение колебательно-вращательных и чисто вращательных спектров методами ИК-спектроскопии позволяет определять структуру молекул, их химический состав, моменты инерции молекул, величины сил, действующих между атомами в молекуле и др. Вследствие однозначности связи между строением молекулы и её молекулярным спектром ИК-спектроскопия широко используется для качественного и количественного анализа смесей различных веществ. Изменения параметров ИК-спектров (смещение полос поглощения, изменение их ширины, формы, величины поглощения), происходящие при переходе из одного агрегатного состояния в другое, растворении, изменении температуры и давления, позволяют судить о величине и характере межмолекулярных взаимодействий.

ИК-спектроскопия находит применение в исследовании строения полупроводниковых материалов, полимеров, биологических объектов и непосредственно живых клеток. Быстродействующие спектрометры позволяют получать спектры поглощения за доли секунды и используются при изучении быстропротекающих химических реакций. С помощью специальных зеркальных микроприставок можно получать спектры поглощения очень малых объектов, что представляет интерес для биологии и минералогии. ИК-спектроскопия играет большую роль в создании и изучении молекулярных оптических квантовых генераторов, излучение которых лежит в инфракрасной области спектра.

Оборудование. Однолучевые приборы обладают рядом недостатков, ограничивающих их применение, и все промышленные инфракрасные спектрофотометры, используемые для аналитических целей, двухлучевые. В таких приборах все побочные эффекты, обусловленные растворителем и примесями, автоматически компенсируются, а также снимаются трудности, связанные с сильным поглощением двуокиси углерода и паров воды воздуха.

Источник света. Идеальным тепловым источником является, конечно, черное тело, но интенсивность его излучения очень мала, поэтому используют лампы накаливания. У них максимум в спектре испускания приходится на 2 мкм, и с увеличением длины волны интенсивность излучения сильно падает (при 15 мкм она составляет около 15% от максимальной).

Монохроматоры. Первоначально в инфракрасных спектрофотометрах применяли призмы из бромистого калия или хлористого натрия, поскольку стекло для инфракрасного излучения непрозрачно, однако сейчас в качестве монохроматоров используют в основном дифракционные решетки. Это объясняется не только лучшим разрешением и линейной зависимостью дисперсии от длины волны, но и большей экономичностью решеток. Обычно для устранения интерферирующих лучей, идущих с дифракционной решетки, используют малодисперсные призмы или несколько интерференционных фильтров. Иногда вместо дорогих и непрочных линз из хлористого натрия применяют зеркала из полированного алюминия. Оптическая часть делается по возможности простой, поскольку при каждом отражении теряется 20% света.

Образцы. Образцы нельзя приготавливать в воде, поскольку она, как и органические растворители, очень сильно поглощает в инфракрасной области. Вода растворяет также почти все вещества, прозрачные в этой области спектра. Для уменьшения довольно большого фона, возникающего из-за рассеяния при снятии спектров поглощения в твердых порошках, приготавливают тонко размолотую пасту вещества в парафине или спрессованные диски в бромиде калия. В последнее время нашел применение другой способ снятия спектров, при котором уменьшают общее отражение. Он основан на законах отражения света на поверхности раздела между веществами с сильно различающимися коэффициентами преломления. Этот способ в последние годы значительно расширил область применения инфракрасной спектрофотометрии. Образец следует экранировать от источника света, чтобы его температура не увеличивалась больше, чем на 5°С в 1 ч.

Детекторы. В качестве детектора инфракрасного излучения используют, как правило, батарею термопар, смонтированную в

откачанном баллоне с прозрачным к инфракрасному свету окном. Он представляет собой чувствительный к давлению прибор, который состоит из запаянного резервуара с газом, расширяющимся при нагревании его инфракрасным. Ширина щели в спектрофотометрах меняется автоматически, чтобы при сканировании на детектор от кюветы сравнения попадало постоянное количество света.