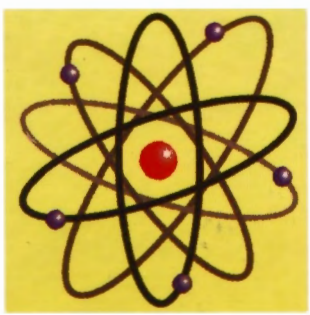
ХИМИИ

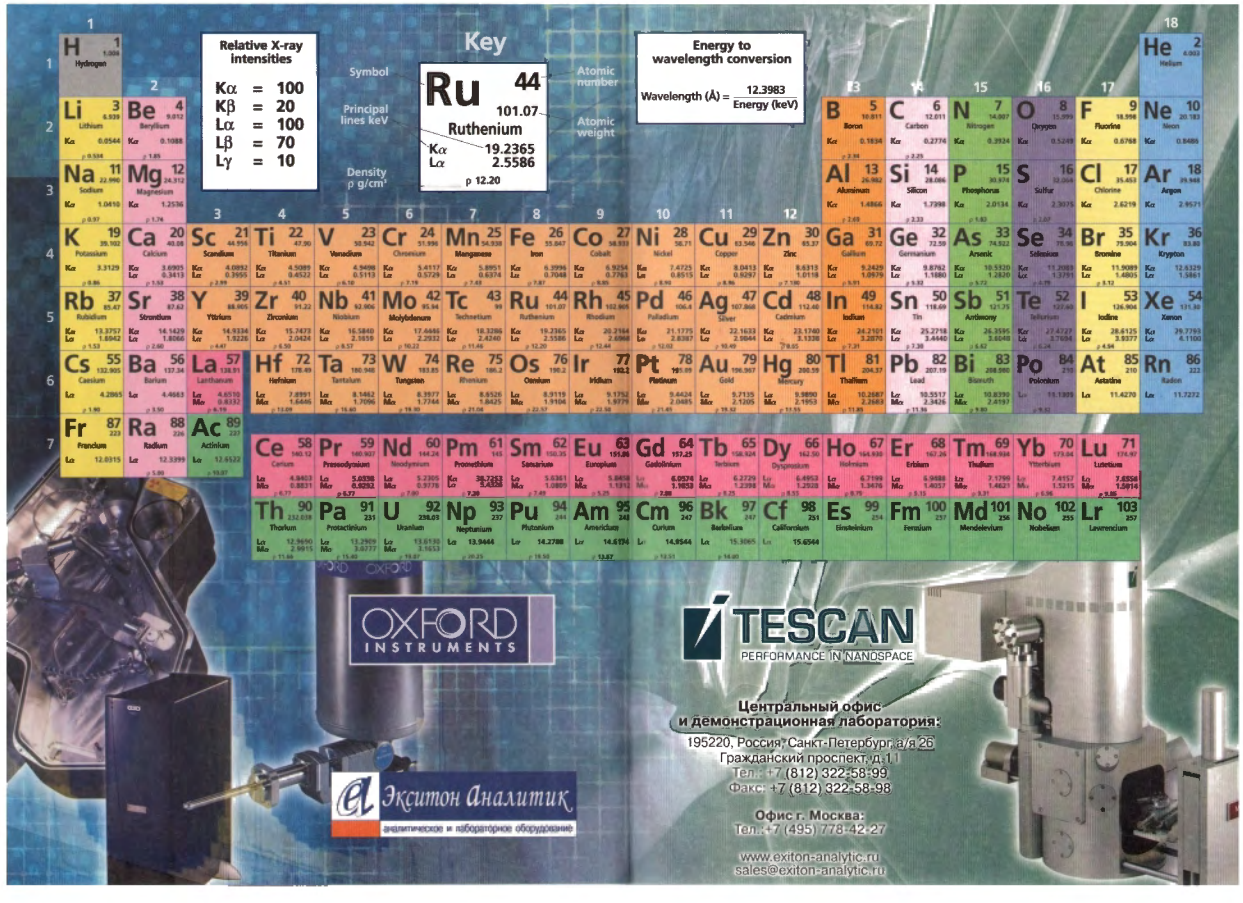
М. ОТТО

Современные методы аналитической химии

3-Е ИЗДАНИЕ

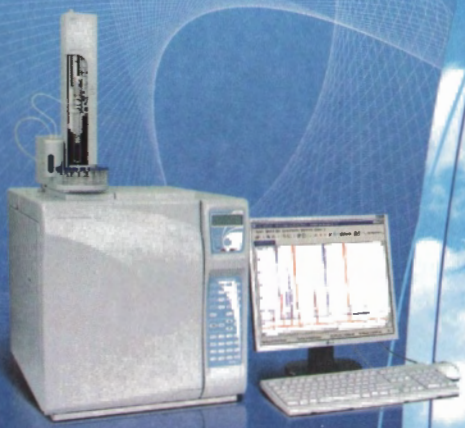


ТЕХНОСФЕРА


Relative X-ray intensities
Kα = 100
Kβ = 20
Lα = 100
Lβ = 70
Lγ = 10
Key
Symbol
Principal lines keV
Density ρ g/cm³
Ru 44
101.07
Ruthenium
Kα 19.2365
Lα 2.5586
ρ 12.20
Atomic number
Atomic weight
Energy to wavelength conversion
Wavelength (Å) = 12.3983 / Energy (keV)
OXFORD INSTRUMENTS
TESCAN
PERFORMANCE IN NANOSPACE
Экситон Аналитик
аналитическое и лабораторное оборудование
Центральный офис и демонстрационная лаборатория:
195220, Россия, Санкт-Петербург, а/я 26
Гражданский проспект, д.11
Тел.: +7 (812) 322-58-99
Факс: +7 (812) 322-58-98
Офис г. Москва:
Тел.: +7 (495) 778-42-27
www.exiton-analytic.ru
sales@exiton-analytic.ru

Разработка и производство аналитического оборудования

ХРОМАТЭК



Лабораторный газовый хроматограф «Хроматэк-Кристалл 5000»

- Надежность
- Простота и удобство в эксплуатации
- Широкие аналитические возможности
- Высокая производительность

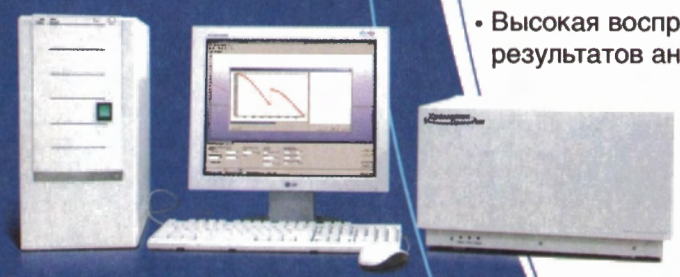


Квадрупольный хромато-масс-спектрометр на базе хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000»

- Высокая чувствительность
- Идентификация по базам данных более 200 тысяч соединений

ЯМР-анализатор «Хроматэк-Протон 20М»

- Полная автоматизация процесса измерений
- Высокая воспроизводимость результатов анализа



424000, г. Йошкар-Ола,
ул. Строителей, 94
Главпочтамт, а/я 84
e-mail: sales@chromatec.ru

www.chromatec.ru

МИР ХИМИИ

М. ОТТО

Современные методы аналитической химии

3-е издание

Перевод с немецкого
под редакцией А.В. Гармаша

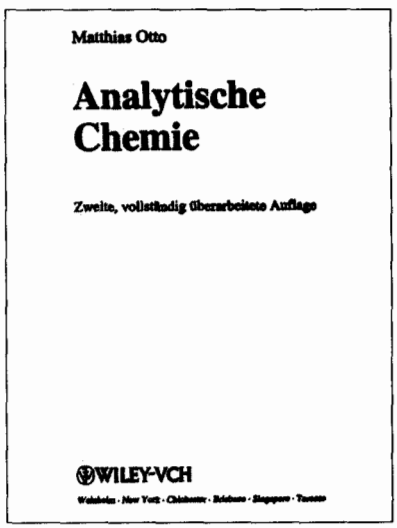
ТЕХНОСФЕРА
Москва
2008

М. Отто
Современные методы аналитической химии
3-е издание
Москва:
Техносфера, 2008. – 544 с. ISBN 978-5-94836-192-5

Аналитическая химия, будучи наукой междисциплинарной, включает в себя множество разнообразных методов, использующих различные химические, физические, а, в последнее время, и биологические явления.

В третьем издании известного учебника подробно рассмотрены современные методы математической обработки результатов химического анализа и наиболее актуальные проблемы аналитической химии – автоматизация анализа, анализ материалов, биологических объектов и объектов окружающей среды.

Автор учебника сумел изложить разнообразные методы анализа – от классических до самых современных – с единых позиций, основанных на представлении об аналитическом процессе, как процедуре извлечения информации о веществе. Книга, безусловно, будет полезна студентам университетов, изучающим химию, и специалистам-химикам.



© 2000 WILEY-VCH Verlag GmbH, D-69469 Weinheim (Federal Republic of Germany)
© 2006, ЗАО «РИЦ «Техносфера», перевод на русский язык, приложение
© 2008, ЗАО «РИЦ «Техносфера», оригинал-макет, оформление

ISBN 5-94836-072-5
ISBN 978-5-94836-192-5

Содержание

Предисловие редактора перевода 10

Предисловие ко второму изданию 11

Предисловие 12

Глава 1.
Основы аналитической химии 15

1.1. Предмет аналитической химии и ее общественная роль 15
1.2. Процесс анализа: пробоотбор, пробоподготовка, измерение, обработка результатов 21
1.3. Аналитические характеристики и статистические оценки: от точности до стоимости 30
1.4. Литература 37

Глава 2.
Классические методы анализа 38

2.1. Химические реакции как основа процесса анализа 38
2.2. Использование кислотно-основных реакций в анализе 43
2.3. Применение реакций осаждения в гравиметрии, титриметрии и для маскирования 67
2.4. Реакции комплексообразования — не только для определения жесткости воды 76
2.5. Реакции окисления-восстановления в химических системах 87
2.6. Экстракция и ионный обмен: у колыбели хроматографии 97
2.7. Кинетические методы: количественная оценка протекания реакций во времени 111
2.8. Термические методы 117
2.9. Литература 120

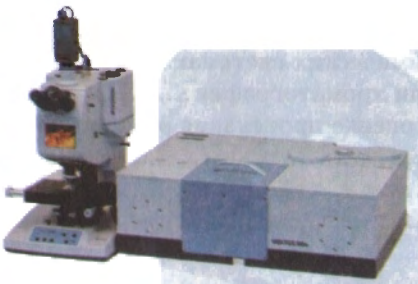
Глава 3.
Спектроскопические методы 121

3.1. Основы спектроскопии 121
3.2. Методы атомной спектроскопии 137
3.2.1. Атомно-абсорбционная спектроскопия: поглощение света свободными атомами 144
3.2.2. Атомно-эмиссионная спектроскопия: самый популярный многоэлементный метод анализа 156
3.2.3. Рентгеновская и электронная спектроскопия: возбуждение внутренних электронов 166
3.3. Методы оптической молекулярной спектроскопии 180
3.3.1. Инфракрасная спектроскопия и спектроскопия комбинационного рассеяния: молекула начинает колебаться 180
3.3.2. УФ-видимая спектроскопия: возбуждение валентных электронов молекулы 209

СОВРЕМЕННОЕ АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ КОМПАНИИ BRUKER



Bruker AXS предлагает современные рентгеновские аналитические системы: рентгенофлуоресцентные волнодисперсионные и энергодисперсионные спектрометры, в том числе TXRF (полного внешнего отражения) и ЭДС спектрометры для микроанализа на РЭМ и ЭЗМА, дифрактометры (порошковые, высокого разрешения и монокристальные).



Bruker Optics предлагает использовать методы оптической спектроскопии для определения качественных и количественных характеристик объектов. Полный спектр ИК-Фурье техники: от самого маленького в мире ИК-Фурье спектрометра Alpha до спектрометра с максимально существующим разрешением IFS 125 HR максимально соответствует требованиям любого анализа.

www.bruker.ru
www.bruker.com

Представительства компании Bruker в России

119991, Москва,
Ленинский проспект 47,
ИОХ РАН
Тел: (495) 935 80 81
Тел: (495) 935 80 81
info@bruker.ru

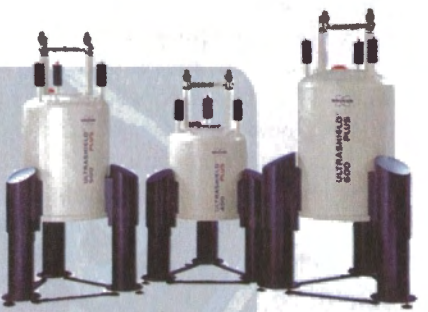
199034, Санкт-Петербург,
Биржевой проезд, д.6,
ИВС РАН, комн. 401
Тел: (812) 923 01 55
Факс: (812) 323 46 09
litin@bruker.ru

BRUKER

Bruker Daltonics производит широкий спектр масс-спектрометров, в том числе интегрируемых в системы ВЭЖХ-МС, для научных (MALDI-TOF, ESI-Ion Trap, ESI-TOF, FTMS) и экологических исследований (NBC), автоматизированные комплексы пробоподготовки, загрузки образцов и проведения измерений.



Bruker BioSpin производит высокопольные цифровые ЯМР – спектрометры частотой от 300 до 950 МГц, исследовательские ЭПР спектрометры до 94 ГГц (W-band) и магнитно-резонансные томографы для животных на основе сверхпроводящих магнитов с реконденсацией гелия (refrigerated).



603155, Нижний Новгород,
ул. Большая Печерская, д.31/9,
офис 2225
Тел: (910) 388 38 89
Факс: (8312) 16 06 60
chuprova@bruker.ru

620142, Екатеринбург,
ул. Большакова, д. 61,
офис 314
Тел: (343) 345 85 92
Факс: (343) 257 85 92
golovkov@bruker.ru

660036, Красноярск,
Академгородок, 50,
офис 505
Тел: (3912) 49 49 60
Факс: (913) 539 74 61
bruker@akadem.ru

3.3.3. Флуоресцентная и фосфоресцентная спектроскопия: различие — в продолжительности свечения ... 224
3.4. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) ... 230
3.5. Масс-спектрометрия: идентификация молекулы по ее осколкам ... 248
3.6. Методы анализа, основанные на радиоактивности ... 265
3.7. Литература ... 272

Глава 4. Электрохимические методы ... 273

4.1. Основы электрохимических процессов ... 274
4.2. Кондуктометрия ... 283
4.3. Потенциометрия: измерение напряжения при отсутствии тока ... 286
4.4. Вольтамперометрия: обработка зависимостей силы тока от потенциала 300
4.5. Кулонометрия: применение закона Фарадея в анализе ... 321
4.6. Литература ... 324

Глава 5. Хроматографические и родственные методы ... 325

5.1. Основы процесса хроматографического разделения ... 325
5.2. Газовая хроматография ... 338
5.3. Жидкостная хроматография ... 355
5.3.1. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) ... 356
5.3.2. Ионная хроматография: классические и высокоэффективные методы ... 374
5.3.3. Гель-хроматография: разделение путем исключения молекул ... 378
5.3.4. Тонкослойная хроматография: плоскостной вариант жидкостной хроматографии ... 383
5.4. Сверхкритическая флюидная хроматография и электрофорез ... 387
5.5. Сочетание хроматографии и спектроскопии ... 399
5.6. Литература ... 406

Глава 6. Хемометрика ... 407

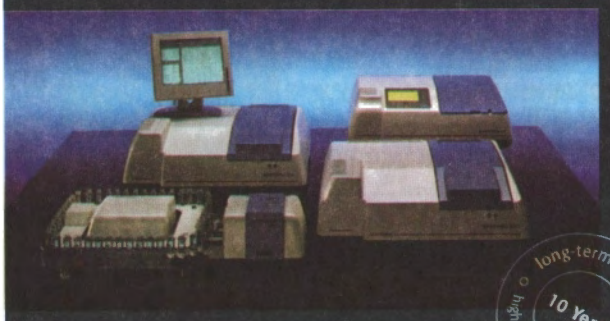
6.1. Компьютерно-ориентированные методы обеспечения качества результатов анализа ... 407
6.2. Обработка сигналов: цифровая фильтрация, преобразование данных ... 418
6.3. Многомерные методы: обработка массивов данных ... 424
6.4. Литература ... 435

Глава 7. Автоматизация анализа и производственный анализ ... 436

7.1. Механизация и автоматизация лабораторий ... 436
7.2. Химические сенсоры ... 449
7.3. Автоматизированный контроль производственных процессов ... 468
7.4. Литература ... 478

analytikjena

Оптическая спектроскопия – это ключевая область компетентности Analytik Jena



Молекулярная спектроскопия:
UV VIS, NIR



long-term warranty
10 Years
high end optical components

Analytik Jena – это единственный производитель, дающий продолжительную гарантию на оптические компоненты



Атомная спектроскопия:
атомная абсорбция, атомная флуоресценция



Элементный анализ:
C, N, S, Cl

Анализ суммарных параметров:
TOC, TOX, TN

Московское представительство | Старосадский пер. 7/10 | 101000 Москва
Телефон +7-495/6283262 | Телефакс +7-495/9335576 | www.analytik-jena.ru | mmukhina@analytik-jena.ru

Глава 8.
Специальные вопросы аналитической химии 479

8.1. Анализ объектов окружающей среды 479
8.2. Анализ материалов 486
8.3. Ферментативные и иммунохимические методы 495
8.4. Обеспечение качества результатов анализа и «Хорошая лабораторная практика» 505
8.5. Литература 511

Глава 9.
Последние достижения в развитии методов аналитической химии 512

9.1. Плоскостная хроматография 512
9.2. Сверхкритическая флюидная хроматография 513
9.3. Жидкостная хроматография 514
9.4. Газовая хроматография 516
9.5. Атомная спектроскопия 516
9.6. Оптоволоконные химические сенсоры и биосенсоры 518
9.7. Твердофазная спектроскопия ЯМР 519
9.8. Рентгеновская спектроскопия 519
9.9. Термические методы анализа 520
9.10. Хемометрика 521

Приложение 523

Предметный указатель 535

ООО "ЛОМО ФОТОНИКА" Санкт-Петербург

Техника для оптической спектроскопии



Монохроматоры, источники света, фотоприемники, конденсоры

Двухлучевые спектрофотометры СФ-256 с приставками диффузного и зеркального отражения





Набор светофильтров для поверки спектрофотометров

В комплект поставки входит программное обеспечение с широким набором математических функций, встроенным On-line калькулятором и программируемым экспериментом

Санкт-Петербург
www.lomophotonica.ru

(812) 324-84-88
sale@lomophotonica.ru

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

www.spectro-systems.ru

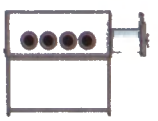
Лазерные эмиссионные спектрометры

СПЕКС ЛАЭС

анализ включений от 100 мкм

любые твердые объекты

предел обнаружения - от 1 ppm



Спектрофотометры

Сухие боксы

ЗАО "Спектроскопические системы"

тел. +7 (495) 540-3858, 540-3848

Предисловие редактора перевода

В последние годы в области аналитической химии наблюдается столь бурный прогресс, что учебная литература уже с трудом поспевает за темпами ее развития. Постоянно возникают новые методы, зачастую основанные на достаточно сложных физических явлениях и высоких технологиях приборостроения. В этом море методов порой нелегко бывает сориентироваться даже специалисту, получившему высшее химическое образование лишь несколько лет назад. Остро назрела необходимость издания своего рода «путеводителя»по различным методам химического анализа, учебного пособия, охватывающего воедино как традиционные, так и современные методы и позволяющего читателю получить достаточно точное представление о современном состоянии дел, задачах и перспективах развития аналитической химии. Такие пособия — большая редкость даже во всемирном масштабе. На русском же языке подобная литература практически отсутствует.

Книга немецкого профессора Маттиаса Отто «Современная аналитическая химия»как раз и является такого рода учебником. В ней рассмотрены общие основы аналитической химии, химические, спектроскопические и электрохимические методы анализа — как вполне традиционные, так и самые современные (например, ИК-спектроскопия в ближней области или двумерная спектроскопия ЯМР). Подробно рассмотрены различные варианты хроматографических методов, ставших в настоящее время едва ли не самыми популярными методами химического анализа, современные методы математической обработки результатов химического анализа и, наконец, наиболее актуальные проблемы аналитической химии — автоматизация анализа, анализ материалов, биологических объектов и объектов окружающей среды.

Книга Маттиаса Отто будет полезна всем, кто по роду своей деятельности так или иначе связан с проблемами химического анализа, контроля качества продукции, аналитического приборостроения, контроля и охраны окружающей среды, студентам, аспирантам и преподавателям химических вузов.

Предисловие ко второму изданию

Четыре года назад вышло первое издание моего учебника по аналитической химии. Я очень рад, что оно было встречено весьма позитивно. Особенно меня обрадовали многочисленные дополнения и интенсивная дискуссия по поводу написанного. Я особенно благодарен за множество полезных замечаний Хельмуту Мюллеру (Мерзебург), Торстену Шмидту (Марбург) и Петре Кристек (Майнц).

В связи с обсуждением содержания книги у меня вскоре возникло желание переработать и дополнить ее текст. В результате этих усилий мне удалось в ходе успешного сотрудничества с издательством Wiley-VCH подготовить второе издание учебника.

Во многих университетах сейчас идет реформа преподавания химии. В частности, в Германии в качестве образца взята «вюрцбургская модель». Я также адаптировал второе издание учебника и содержание *«Основного курса аналитической химии»* к этой модели. В первой главе изложены основы *аналитического процесса* и связанные с ним *фундаментальные понятия*. В ней же кратко обсуждены и некоторые специальные проблемы, например, связанные с контролем окружающей среды (см. также раздел 8.1). Необходимые сведения о методах *разделения* и *концентрирования* можно найти в разделах 2.6 (осаждение, экстракция, ионный обмен), 4.5 (электроосаждение), главе 5 (хроматографические и электрофоретические методы). К *методам определения*, изучаемым в основном курсе, относятся гравиметрия (раздел 2.3), титриметрия (разделы 2.2–2.5), электрохимические методы (глава 4), атомная спектроскопия (раздел 3.2), молекулярная оптическая спектроскопия (раздел 3.3), ЯМР-спектроскопия (раздел 3.4), масс-спектрометрия (раздел 3.5), методы, основанные на радиоактивности (раздел 3.6), а также ферментативные и иммунологические методы (раздел 8.3). В книге рассмотрены также основы хемометрики (глава 6) и обеспечения качества результатов анализа (раздел 8.4).

С удовлетворением отмечаю, что по своему содержанию книга соответствует учебным планам всех вузов, преподающих инструментальные методы анализа. Таким образом, круг ее потенциальных читателей достаточно широк.

Хочу выразить надежду, что второе издание учебника найдет столь же живой отклик, что и первое.

Декабрь 1999 г. Маттиас Отто

Предисловие

Своим возникновением эта книга обязана необходимости ближе познакомить студентов-химиков и вообще всех студентов, изучающих аналитическую химию, с современным состоянием дел в этой дисциплине. В ходе своих лекций, семинарских и практических занятий я в последнее время все чаще задавал себе вопрос: какой учебник, охватывающий все разделы аналитической химии, рекомендовать студентам? В моем распоряжении имелись, главным образом, либо учебники, посвященные основам аналитической химии, либо такие, которые описывают лишь инструментальные методы. В принципе по инструментальным методам есть хорошие американские учебники, однако мне бы не хотелось, чтобы студенты обучались по англоязычной литературе, по крайней мере, там, где преподавал я сам: в Лейпциге, Вене, Мюнхене и Фрайберге.

Еще один аргумент в пользу написания этого учебника — бурное развитие, которое аналитическая химия получила в последние десятилетия. Необходимо донести до учащегося действительно самое важное и актуальное, освободить курс от устаревшего балласта. Так, уже в скором будущем вряд ли хоть один студент столкнется с использованием фотопластинок в атомно-эмиссионном анализе. В то же время в век генной инженерии каждый студент должен иметь хотя бы некоторое представление о методах иммунного анализа.

Дополнительный импульс к написанию книги мне придало желание углубленно изложить некоторые сквозные идеи аналитической химии. Так, я обнаружил, что в своем лекционном курсе многократно возвращался к равновесиям в растворе угольной кислоты. Впервые я упомянул о них в общей части курса при обсуждении кислотно-основного титрования, затем — в связи с определением карбонатной жесткости воды, далее — говоря о сенсибилизированных электродах, потом — в лекции, посвященной аналитической химии окружающей среды (в связи с оценкой величины pH кислотных дождей) и т. д. Аналогично обстояло дело и с законом распределения Нернста или с обсуждением кинетических явлений (например, для объяснения размывания хроматографических пиков). Перечень подобных примеров (который легко может быть продолжен) ясно показывает, какого рода информационные пробелы призвана заполнить эта книга.

Учебник состоит из восьми глав. Первая глава вводит читателя в мир *основ аналитической химии*. Изложение общих принципов аналитического процесса и фундаментальных аналитических характеристик сознательно поставлено в самое начало для того, чтобы с их помощью в дальнейшем характеризовать конкретные методы анализа и области их приложения.

Вторая глава посвящена *классическим методам анализа*. В ней, с одной стороны, излагаются основные положения аналитической химии, связанные с протеканием химических реакций, а с другой — обсуждаются конкретные методы анализа, непосредственно основанные на химических превращениях. К ним относятся методы гравиметрии и титриметрии, в основе которых лежат химические равновесия различных типов (кислотно-основные, комплексообразования, окислительно-восстановительные, осаждения), а также методы, основанные на протекании реакций во времени (кинетические методы).

В третьей главе читатель знакомится со *спектроскопическими методами*. Общие основы спектроскопии изложены на примере оптических методов с использованием понятия электромагнитного спектра. Подробно обсуждаются методы атомной спектроскопии: атомно-абсорбционная, атомно-эмиссионная и рентгенофлуоресцентная. Затем следует раздел, посвященный методам оптической молекулярной спектроскопии — фотометрии в УФ-видимой области и люминесцентной спектроскопии. Не менее подробно обсуждаются и методы вращательной и колебательной спектроскопии в ИК области. Глава, посвященная спектроскопии, содержит также разделы, посвященные методам ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и масс-спектрометрии. Завершает главу знакомство с методами, основанными на явлении радиоактивности.

Наряду с классическими, спектроскопическими и хроматографическими методами, одним из «столпов» аналитической химии являются *электрохимические методы*, описанные в четвертой главе. На основе общих электрохимических принципов изложены методы кондуктометрии, потенциометрии, вольтамперометрии и кулонометрии. В этой же главе кратко обсуждаются вопросы электрохимического детектирования в хроматографии и принципы действия электрохимических датчиков (сенсоров).

Пятая глава посвящена *хроматографии*. Известно, что в настоящее время с помощью хроматографии выполняется около 60% всех анализов. В связи с этим хроматографические методы описаны в книге достаточно подробно. Специальные разделы посвящены газовой и жидкостной хроматографии, в том числе плоскостной (бумажной и тонкослойной), а также таким современным методам, как сверхкритическая флюидная хроматография и капиллярный электрофорез.

Шестая глава посвящена компьютерным методам обработки аналитических данных и обеспечения качества результатов анализа, объединяемым под понятием *хемометрика*.

Методы автоматизации анализа и контроля производственных процессов, а также использование химических датчиков составляют содержание седьмой главы *«Автоматизация анализа и производственный анализ»*.

В следующей, восьмой, главе рассмотрены некоторые *специальные вопросы* аналитической химии: контроль окружающей среды, химический анализ в материаловедении и биологии, обеспечение качества результатов анализа. *Приложение* содержит обширный массив цифровых данных. Завершает книгу *предметный указатель*.

Основная задача книги — изложение теоретических основ и возможностей практического применения различных аналитических методов. Читатель должен получить представление об аналитической химии как о «химической информатике», о том, как решать ту или иную аналитическую задачу с помощью разнообразных методов, руководствуясь едиными принципами химического анализа. Эта книга ни в коем случае не является практическим руководством. Для получения подробного описания методик анализа следует обращаться к соответствующим практическим руководствам, а также к официально утвержденным методикам.

Хотя эта книга в первую очередь предназначена в качестве учебника для университетов и других вузов, при ее написании я исходил из того, что она

может быть использована и для *самостоятельного повышения квалификации всеми исследователями, так или иначе связанными* с химическим анализом.

Сейчас материалы к этой книге составляют файлы общим объемом двадцать мегабайт. Я прекрасно отдаю себе отчет в том, что они никогда не будут приведены в полностью завершенное состояние. Тем не менее я каждый день стараюсь их пополнять и исключать из них лишнее. Многое из того, что написано в книге, я уже изменил. Хотя я значусь в качестве единственного автора книги и лично напечатал все ее 650 страниц, ее выходом в свет я во многом обязан своим коллегам-аналитикам, их замечаниям, разнообразным дискуссиям с ними. Всем им, внесшим свой вклад в успех этой книги, я выражаю здесь свою благодарность.

Январь 1995 г. Маттиас Отто

ГЛАВА 1

ОСНОВЫ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

1.1. Предмет аналитической химии и ее общественная роль

История

Современная химия включает в себя химическую *теорию*, химический *синтез*, химическую *технологию* и *аналитическую химию*. Уже в самых ранних химических исследованиях виден аналитический аспект. В ходе переработки полезных ископаемых, получения лекарств, поисков «эликсира жизни» или попыток превратить неблагородные металлы в золото вещества необходимо было разделять, разлагать и, наконец, определять. В ходе общего развития химии развивалась и техника химико-аналитического эксперимента. Уже к XIX веку аналитическая химия сформировалась как вполне самостоятельная отрасль химии. Один из ее представителей, Я. Берцелиус (1779-1848), писал:

> *В ходе качественного анализа необходимо установить, какие из веществ, которые, как можно предполагать, содержатся в образце, действительно в нем находятся, и одновременно доказать, что никаких других веществ в нем нет.*

Уже в 1821 г. К. Пфафт издал «Пособие по аналитической химии для химиков, государственных врачей, аптекарей, экономистов и рудознатцев». В 1894 г. В. Оствальд публикует книгу «Теоретические основы аналитической химии». В ней он впервые описывает многие явления аналитической химии с точки зрения физической химии — дисциплины, бурно развивавшейся в то время. Сейчас физико-химические основы составляют лишь один из разделов аналитической химии. Помимо них, для аналитической химии важное значение имеют основы неорганической химии, например, в связи с проблемами элементного анализа. Хроматографическое определение органических веществ было бы невозможно без использования теоретических представлений органической химии. В связи с развитием в середине XX века высокоэффективных спектроскопических и хроматографических методов потребовалось использовать в аналитической химии многие идеи из области физики, измерительной техники, информатики, материаловедения, а в последнее время — также биологии и генной инженерии.

Таким образом, аналитическая химия в настоящее время представляет собой междисциплинарную отрасль знаний. Она в значительной степени определяет общий прогресс в науке, технике, медицине. Она необходима для производства как

сверхбольших интегральных схем, так и продуктов питания, лекарств и другой промышленной продукции. Методы химического анализа применяют в клинических испытаниях, для контроля качества питьевых, природных, сточных вод, для определения следов пестицидов или тяжелых металлов в почвах. В них нуждаются археологи и музейные работники, например, для установления подлинности произведений искусства или древних кладов.

Аналитик как «ученый-детектив»

Первоначально задачи аналитической химии ограничивались установлением *состава веществ* или главных компонентов в их смесях. Затем появились методы, позволяющие определять *следовые*, т. е. весьма незначительные, количества элементов или химических соединений. Круг задач аналитиков стал включать в себя и установление *структуры* молекул или твердых тел. Сейчас перед аналитической химией стоят также задачи *контроля производственных процессов* и состояния *окружающей среды*, разработка соответствующих систем анализа и химических датчиков.

Задачи аналитической химии можно сформулировать следующим образом:

> *Аналитическая химия занимается разработкой методов, аппаратуры и общей стратегии исследования качественного и количественного состава веществ и отдельных химических компонентов, а также их пространственной структуры и изменения во времени.*

Предмет исследования аналитика называется *образцом* (*пробой*). Это может быть, к примеру, сточная вода, сталь или объект неизвестной химической природы.

Прежде чем приступить непосредственно к анализу образца, необходимо четко сформулировать *цель анализа*. Необходимо, в частности, ответить на следующие вопросы.

- **Что** следует проанализировать? Иными словами, что представляет собой *объект анализа*? В простейшем случае это может быть индивидуальное химическое соединение, строение которого необходимо установить. Однако, если речь идет о более сложном образце — промышленном материале, почве, воздухе, — необходимо прежде всего решить, как произвести *отбор пробы* и как обеспечить ее *представительность*.

- **Какую** информацию следует получить в результате анализа? Требуется ли установить состав образца в целом или строение его поверхности? Следует ли проводить полный анализ раствора или можно ограничиться измерением его значения pH?

- **Зачем** производится анализ? Предполагается ли на основе его результатов наложение штрафа на промышленное предприятие или необходимо установить, превышена ли предельно допустимая концентрация диоксинов в окружающей среде? Или заказчик вообще не знает, для чего ему нужны будут результаты анализа?

Таким образом, аналитик не только разрабатывает методику и выполняет собственно анализ. Его участие необходимо в процессе *постановки конкретной задачи*, при *пробоотборе* и *интерпретации* результатов. При выполнении анализа приходится идти на своего рода компромиссы, поскольку ни одна лаборатория не располагает полным набором всевозможного оборудования. Методические возможности аналитика неизбежно ограничены имеющимся оборудованием, опытом работы лаборатории и квалификацией персонала.

Сферы задач аналитической химии

Согласно определению, данному выше, рассмотрим основные классы задач, решаемых аналитиками. Если требуется установить состав образца, это означает, что необходимо определить содержащиеся в нем элементы либо химические соединения. В соответствии с этим различают *элементный анализ* и *вещественный анализ*. Для установления структуры молекул или твердых тел используют термин *«структурный анализ»*. Динамическое поведение веществ в ходе производственного процесса — предмет исследования *производственного анализа*.

Элементный и вещественный анализ

Состав образца можно исследовать как с точки зрения *природы*, так и *количеств* содержащихся в нем химических компонентов.

Качественный анализ

Процесс установления состава образца с точки зрения **природы** содержащихся в нем компонентов называется *качественным анализом*. Результат качественного анализа — ответ «да–нет»: содержится рассматриваемое вещество либо элемент в пробе или не содержится. В классическом курсе неорганического качественного анализа для ответа на этот вопрос используют схему разделения, завершающуюся обнаружением отдельных элементов с помощью соответствующих химических реакций. В настоящее время вопросы качественного анализа возникают прежде всего в связи с обнаружением следовых количеств веществ: примесей в полупроводниковых материалах, загрязнений в воздухе, запрещенных медицинских препаратов в биологических объектах или побочных продуктов в образцах химической продукции.

Основание для принятия решения о наличии компонента в образце — величина *аналитического сигнала*. В простейшем случае эффекты, связанные с наличием компонента, можно наблюдать визуально, например, появление черной окраски осадка сульфида при обнаружении меди действием сероводорода. Если окраска достаточно интенсивна, можно сделать вывод о том, что данный элемент в пробе присутствует. Мы как бы сравниваем окраску образца с некоей подразумеваемой цветовой шкалой. Подобные шкалы действительно существуют и могут быть использованы в методах полуколичественного и количественного анализа, в том числе инструментальных.

Таким образом, различие между качественным и количественным анализом достаточно условное. Можно трактовать качественный анализ как разновидность количественного, когда оценка величины сигнала производится *достаточно грубо*, приближенно.

Для надежного доказательства наличия или отсутствия компонента в пробе необходим *объективный критерий*. Таковым может служить предел обнаружения компонента данным методом (раздел 1.3). *Предел обнаружения* — это наименьшее количество или концентрация компонента, которое еще может быть обнаружено с помощью данной методики. А поскольку соответствующая концентрация может быть установлена только с помощью градуировки, то выходит, что для объективного решения вопроса о наличии или отсутствии компонента в пробе необходим количественный анализ.

Подчеркнем, что результат качественного анализа зависит от *возможностей выбранной методики*. Если, к примеру, в ходе систематического качественного анализа при действии сероводорода не наблюдается черного осадка, это не свидетельствует о том, что меди в образце нет вообще. Это означает лишь, что ее содержание ниже, чем предел обнаружения для данной методики. Для обнаружения (и определения) более низких содержаний можно использовать, например, методы атомной спектроскопии, описанные в разделе 3.2. Но и при использовании этих методов отрицательный результат по-прежнему свидетельствует не об абсолютном отсутствии меди, а лишь о невозможности ее обнаружить выбранным методом.

На практике применение той или иной методики качественного анализа зависит от конкретной задачи. При этом никогда не ставится вопрос о доказательстве *полного* отсутствия некоторого элемента или соединения, а лишь о том, превышает ли его содержание ту или иную границу. В соответствии с этим и выбирают конкретную методику.

Количественный анализ

Задача количественного анализа — определить **количество** элемента или соединения. Вместо абсолютного количества нас может интересовать *концентрация* (при анализе растворов) или *массовая доля* (при анализе твердых проб).

В основе количественного анализа лежит *точное измерение величины аналитического сигнала*. В простейшем случае аналитическим сигналом может служить масса (в гравиметрическом методе) или интенсивность окраски. Но бывает, что измерению сигнала предшествует некая сложная процедура, например, возбуждение атомов элемента с помощью лазера.

Следует различать методы, основанные на измерении интенсивности сигнала в единственной измерительной позиции (например, измерение светопоглощения при одной длине волны), и методы, в которых используют несколько измерительных позиций (регистрация полного спектра поглощения в оптических методах анализа). Методы первой группы называют *одномерными*. Они пригодны лишь для однокомпонентного анализа. Методы, использующие несколько измерительных позиций, называются *двумерными*. Их можно использовать и для многокомпонентного анализа (рис. 1.1).

Как правило, *классические методы* такие, как гравиметрия и титриметрия (глава 2), являются одномерными. К двумерным методам относятся многие *инструментальные*: спектроскопические, хроматографические, электрохимические (главы 3–5). Данные, полученные с помощью двумерных методов, можно представить в виде кривой на плоскости. При этом одна (вертикальная) ось

координат этой плоскости соответствует величине (*интенсивности*) аналитического сигнала. Вторая (горизонтальная) ось в спектроскопии соответствует *длине волны* (или *энергии фотонов*), в хроматографии — *времени*, в электрохимических методах — *потенциалу* или *силе тока*.

Путем сочетания двумерных методов анализа можно получить *трех-* и *многомерные* методы (см. раздел 5.5).

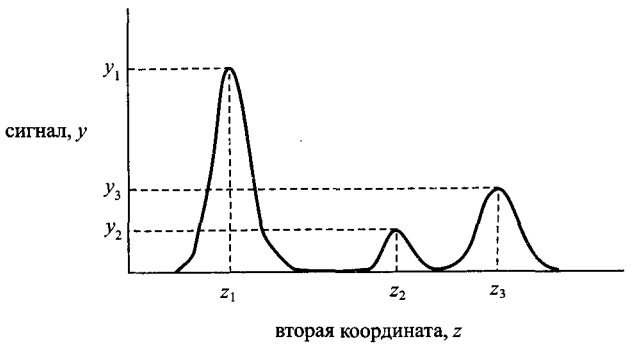


Рис. 1.1. Качественная и количественная информация, извлекаемая из результатов двумерного метода анализа.

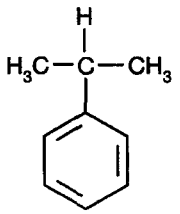
Обычно кривые, полученные с помощью двумерных методов, содержат отдельные *пики* (хроматография, электрохимические методы) или *полосы* (спектроскопия) (рис. 1.1). *Положение* максимума пика или полосы дает качественную информацию о природе соответствующего элемента или соединения. Высота или площадь пика (полосы) несет количественную информацию и используется для определения содержания соответствующего компонента.

Структурный анализ

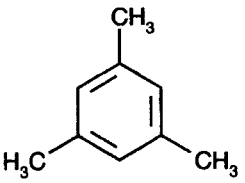
Задача структурного анализа — определение *пространственного расположения* и *порядка связи* элементарных фрагментов атомного уровня, составляющих вещество. При синтезе нового химического соединения представляет интерес установление структуры его отдельных *молекул*. При разработке новых материалов необходимо исследовать структуру *твердого тела*.

При исследовании молекул необходимо прежде всего установить их *состав*, выяснить, из каких атомов или структурных фрагментов состоит молекула (получить качественную информацию). Далее необходимо установить конфигурацию и конформацию молекулы (количественный аспект структурного анализа). Под *конфигурацией* молекулы здесь понимается порядок, в котором в пространстве связаны между собой ее структурные фрагменты. Этот порядок позволяет, в частности, отличить один изомер от другого (рис. 1.2). Изомеры можно различить, например, с помощью метода ЯМР (раздел 3.4).

Найденную конфигурацию следует уточнить, поскольку одни и те же структурные фрагменты, связываясь друг с другом в одном и том же порядке, могут образовать несколько разных молекул, которые невозможно превратить друг в друга без разрыва и нового замыкания химических связей. Такие молекулы мы называем *конформерами*, а структуру конкретного конформера — *конформацией* (рис. 1.3).

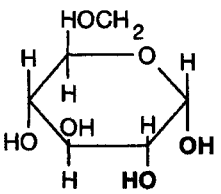


кумол

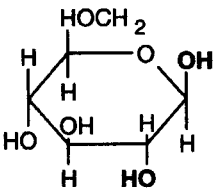


1,3,5,-триметилбензол

Рис. 1.2. Изомерные углеводороды общей формулы C_9H_{12}.



цис-форма



транс-форма

Рис. 1.3. Конформеры циклической формы глюкозы с различным расположением ОН-групп.

Для точного установления пространственных координат отдельных структурных фрагментов молекулы служат методы *дифракции рентгеновских лучей* и *элементарных частиц*. В данной книге эти методы не рассматриваются.

Распределительный анализ

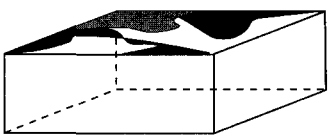


Рис. 1.4. Неравномерное распределение атомов элемента на поверхности материала.

До сих пор при обсуждении методов количественного анализа мы предполагали, что их задача — определение *среднего* содержания элемента или соединения в пробе. Иными словами, объектом анализа служила *вся* проба. Если же, например, необходимо выяснить, каким образом элемент добавки распределен в образце полупроводникового материала, то такие методы не годятся. В подобных случаях при анализе твердых тел необходимо использовать методы *распределительного анализа*. С их помощью можно исследовать распределение элемента по *поверхности* образца (рис. 1.4), по его *глубине* или, в целом, во всем *объеме* твердой пробы (раздел 8.2).

Производственный анализ

В ходе производственного анализа необходимо постоянно контролировать макроскопические *потоки веществ* или *производственные процессы* в целом. Таким образом, в качестве независимой переменной выступает время; здесь проявляется *динамический аспект* аналитической химии. В зависимости от характера процесса для одного анализа может требоваться время от менее чем минуты до нескольких часов. Если это время достаточно велико, пробу можно отправлять в лабораторию и анализировать обычным образом. Специальные решения необходимы, если промежуток между двумя последовательными анализами (*временное разрешение*) не должен превышать десяти минут. В этих случаях можно

использовать, например, *пневматическую почту* (на металлургических предприятиях). Измерения непосредственно в ходе процесса можно осуществлять с помощью *химических датчиков* (рис. 1.5), подробнее рассматриваемых в разделе 7.2.

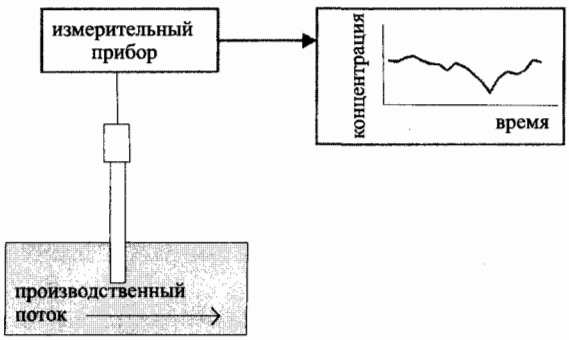


Рис. 1.5. Анализ производственного потока при помощи химического датчика.

Существуют разные классификации методов анализа, позволяющие полнее понять суть аналитической химии. В данной книге мы будем основываться на характере *аналитического процесса* и познакомимся со связанным с ним *методическим арсеналом* современных аналитических методов и вытекающими отсюда их *возможными областями применения*.

1.2. Процесс анализа: пробоотбор, пробоподготовка, измерение, обработка результатов

Как практически выглядит процесс решения аналитической задачи? Например, предприятие собирается инвестировать новое строительство и нуждается в заключении о качестве почвы. Задача аналитика — исследовать качество почвы в месте предполагаемого строительства. Совместно с заказчиком он должен решить, какие компоненты требуется определить в почве, какие общепризнанные, надежные методики анализа для этого следует применить, какие, возможно, в них следует внести изменения и в какой форме представить результаты.

> *Точная постановка аналитической задачи — необходимое условие того, что результаты анализа будут применены с пользой для дела.*

Затем начинается собственно аналитическая работа. Необходимо отобрать пробу почвы и подготовить ее для анализа. Подготовленную пробу следует проанализировать с помощью выбранной методики. В заключение следует обработать полученные результаты и представить их в отчете.

Стандартная схема *процесса анализа* начинается с превращения задачи в форме, поставленной *потребителем*, в собственно *аналитическую задачу*. Затем следует из *объекта исследования*, в данном случае почвы, *отобрать пробу*. После этого следует стадия *пробоподготовки* и затем *измерения*. Завершает

процесс анализа *обработка результатов*, их сведение воедино, представление в *отчете* и передача потребителю (рис. 1.6).

Следует различать принцип анализа, метод анализа и методику анализа.

Принцип анализа — это некоторое явление природы, которое может предоставить аналитику интересующую его информацию. Типичные примеры — взаимодействие *электромагнитного излучения* с веществом применительно к спектроскопии или явление *разделения веществ* в хроматографии. При этом следует понимать, какой именно конкретный тип взаимодействия может дать требуемую информацию о данной пробе. Применительно к процессу анализа принцип анализа можно охарактеризовать согласно способу измерения.

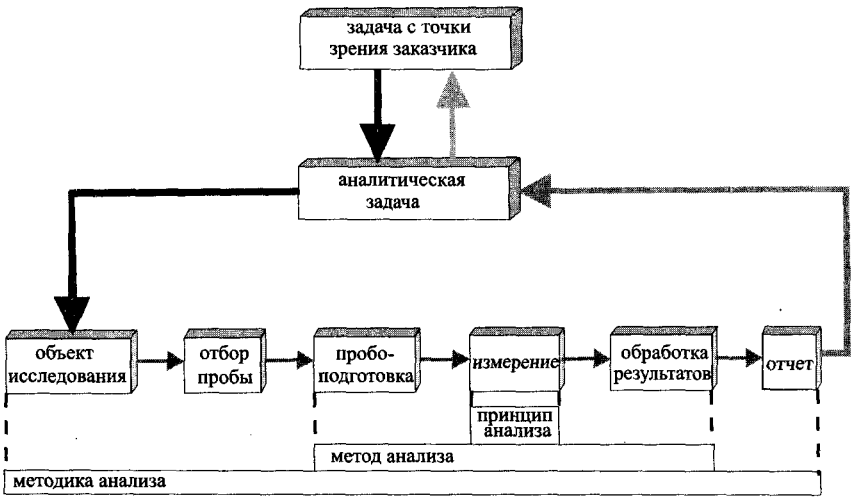


Рис. 1.6. Общая схема процесса анализа.

Метод анализа характеризует ход анализа с точки зрения его важнейших стадий в соответствии с тем или иным принципом анализа. В частности, метод анализа определяет характер и способ пробоподготовки и обработки результатов при анализе определенного типа пробы и определении в ней того или иного компонента.

Методика анализа — это полное описание всего хода анализа. В ней в форме подробных прописей оговариваются все детали анализа, включая отбор пробы и представление результатов. Особенно строгие требования предъявляются к описаниям *стандартных методик* (раздел 8.4).

Рассмотрим подробнее важнейшие стадии процесса анализа — отбор пробы, пробоподготовку, измерение и обработку результатов.

Отбор пробы

Успех химического анализа в решающей мере зависит от качества отбора пробы. Мы рассмотрим главным образом отбор пробы для определения среднего состава компонента в образце, например, свинца в листьях или глюкозы в крови. Проба должна удовлетворять ряду требований.

Во-первых, она должна быть **представительной** по отношению к объекту анализа. Это предполагает, что проба должна быть *гомогенной*, а если она гетерогенна, то ее следует гомогенизировать. В качестве примера можно сказать, что для анализа руды с размером зерен порядка 1 мм следует отобрать не менее 8 кг пробы, чтобы ее можно было сделать действительно гомогенной и представительной. Кроме того, пробу следует отбирать в нужное время и в нужном месте. *Время отбора пробы* может определяться временем года или суток, а при отборе биологических проб существенно зависеть от биоритмов исследуемого пациента. *Место отбора пробы* может играть большую роль, например, при исследовании геологических материалов или растений (здесь важно, какие части растений анализировать — листья, корни, цветы и т. д.).

Во-вторых, проба не должна содержать **никаких загрязнений** — ни из устройства пробоотбора, ни из материала контейнера, ни из воздуха, ни из консервирующего реактива.

В-третьих, вплоть до выполнения анализа проба должна быть **устойчивой**. Для этого ее иногда приходится специально **консервировать**. Из нее не должны выделяться никакие вещества, и никакие вещества не должны проникать внутрь пробы. Следует также предотвращать протекание возможных химических (окисление, восстановление) или биохимических (с участием бактерий) реакций. Ход транспортировки и хранения пробы следует точно документировать.

В-четвертых, проба должна быть представлена в **количестве, достаточном для анализа**. При исследовании вод и минерального сырья отбор достаточного количества пробы не представляет проблем. Однако совершенно иначе обстоит дело, например, при анализе крови у младенца или изделия микроэлектроники.

Количество пробы, отбираемой для анализа, определяется погрешностями пробоотбора и требуемой точностью результатов (раздел 1.3). Чем выше погрешность пробоотбора и чем выше требования к точности, тем больше должна быть проба.

Разумеется, каждая проба должна быть *промаркирована*, а все действия с ней — *запротоколированы*. Путаница в этих вопросах может привести к крайне неприятным последствиям.

Отбор проб газов, жидкостей и твердых тел

Газы и жидкости изначально представляют собой гомогенные объекты. Поэтому отбор таких проб осуществлять намного проще, чем твердых тел, которые, как правило, гетерогенны.

Отбор проб жидкостей

Отбор жидкой пробы фактически сводится к помещению ее в закрытый сосуд из стекла, кварца или полиэтилена. Чтобы избежать нежелательных фотохимических превращений, часто используют сосуды из темного стекла.

Жидкие пробы можно консервировать физическим способом, охлаждая их до 2—5°С или замораживая до −15— −20°С. Для химической стабилизации проб воды их часто подкисляют до значения pH ниже 2 или добавляют специальные

консервирующие реактивы, например, хлорид ртути для предотвращения биохимических процессов.

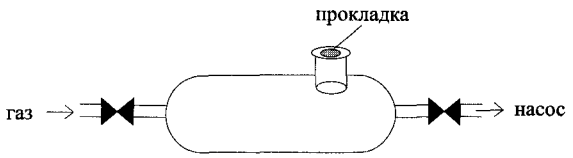


Рис. 1.7. Устройство для отбора проб газов.

Отбор проб газов

При отборе проб воздуха и других газов следует исходить из того, требуется ли анализ самой *газовой фазы* или содержащихся в ней *аэрозольных частиц*, например, частиц пыли.

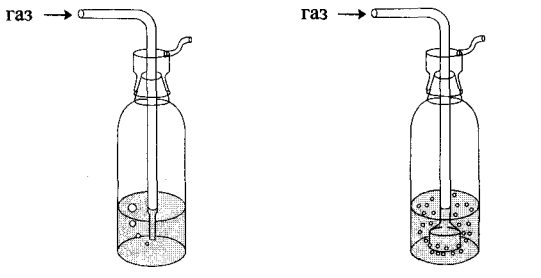


Рис. 1.8. Поглощение газов жидкостями.

Для непосредственного отбора пробы газа служит устройство, изображенное на рис. 1.7. Газ, подлежащий анализу, прокаливают насосом в течение определенного времени через сосуд, который после этого закрывают. Отбор проб из этого сосуда можно осуществить через вентили или с помощью шприца через прокладку (из силиконовой резины).

Газы, *поглощаемые жидкостями*, можно улавливать, пропуская их через *капилляр* или *пористый стеклянный фильтр* (рис. 1.8). При использовании стеклянного фильтра достигается более полное поглощение газа вследствие меньшего размера пузырьков, образующихся в этом случае.

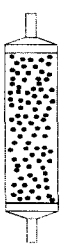


Рис. 1.9. Адсорбирующий патрончик.

Для отбора проб воздуха в полевых условиях используют *адсорбирующие патрончики* разнообразных конструкций (рис. 1.9). Газы или пары, содержащиеся в воздухе, адсорбируются на активной поверхности адсорбента. Для анализа их смывают подходящим растворителем. В частности, пары бензола можно эффективно адсорбировать на активированном угле.

Для сбора взвешенных частиц и аэрозолей можно использовать *фильтры* (рис. 1.10). В качестве материалов фильтров обычно используют тефлон или стекло. При этом собираются все частицы независимо от их размера. Для *фракционированного пробоотбора* используют *каскадные фильтры* (импакторы). Ток воздуха проходит через каскадный фильтр, содержащий систему

насадок с разным диаметром отверстий. Таким образом, частицы сортируются по их размеру. Для снятия частиц с фильтра используют кислотное разложение, вымывание или экстракцию, например, в аппарате Сокслета.

Отбор твердых проб

Твердые тела лишь в редких случаях (например, стекло) являются гомогенными. Руды, горные породы, суспензии, почвы, таблетки или промышленные материалы всегда в большей или меньшей степени неоднородны. В общем случае, чем более *неоднороден* объект, тем *больше* должна быть отбираемая проба. Для гомогенизации пробы ее *размалывают*, *растворяют* или *разлагают*, а также *сплавляют* в стеклообразную массу (см. далее, «Пробоподготовка»).

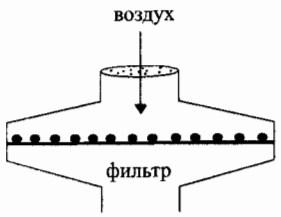


Рис. 1.10. Фильтр для отбора взвешенных частиц из воздуха.

Очень часто погрешность пробоотбора превосходит погрешности всех последующих стадий анализа. Ее обязательно нужно учитывать при оценке общей погрешности результатов анализа (см. «Распространение погрешностей», раздел 1.3).

Диапазоны количеств пробы и определяемого компонента

Динамический диапазон — это диапазон, в котором наблюдается функциональная зависимость между концентрацией (массой) и аналитическим сигналом.

В *количественном анализе* необходимый размер пробы зависит от диапазона определяемых содержаний компонента. Так, титриметрическим методом можно определять миллиграммовые количества. Диапазон от наименьшего до наибольшего содержания, определяемого данным методом, называется *рабочим диапазоном*. Диапазон количеств определяемого компонента, m_A, называемый *абсолютным*, и диапазон количеств матрицы, m_M, в сумме составляют *диапазон количеств пробы* P:

$$P = m_A + m_M. \tag{1.1}$$

Масса пробы может изменяться от макроскопических величин до нанограммов и менее (рис. 1.11). Проба может представлять собой как глыбу руды, так и микровключение в образце сплава.

Диапазон содержаний компонента представляет собой отношение количества компонента к количеству пробы:

$$G = \frac{m_A}{m_A + m_M}. \tag{1.2}$$

Как правило, **содержание** *макрокомпонентов* в твердом образце выражают в виде отношения г/г (кг/кг) или массовых процентов. Диапазон их содержаний составляет от 0,01 до 1 г/г, т.е. от 1 до 100%. Содержание *сопутствующих компонентов* составляет порядка 0,0001–0,01 г/г (0,01–1%). Если содержание компонента ниже 0,01%, он называется *следовым*; в предельном случае это может

быть единичный атом. Содержание следовых компонентов удобно выражать в следующих единицах:

1 ppm (англ. part per million, часть на миллион) = $\frac{1}{10^6}$, т. е. $10^{-4}\%$,

1 ppb (англ. part per billion, часть на миллиард) = $\frac{1}{10^9}$, т. е. $10^{-7}\%$,

1 ppt (англ. part per trillion, часть на триллион) = $\frac{1}{10^{12}}$, т. е. $10^{-10}\%$.



Рис. 1.11. Диапазоны значений масс пробы и содержаний компонента.

Концентрацию определяемого компонента выражают, согласно системе СИ, как массовую (г/л, кг/л) или через количество вещества (моль/л, сокращенно М).

Пробоподготовка

Следующий этап процесса анализа состоит в подготовке пробы к измерению. Для этого используют *физические* приемы, а также перевод пробы в раствор путем ее *растворения, разложения, плавления* или *элюирования*. Часто определяемый компонент (*аналит*) приходится отделять от сопутствующих компонентов, *матрицы*. При определении следовых количеств столь же часто приходится применять *концентрирование*.

Физические методы пробоподготовки

При пробоподготовке наиболее распространены следующие физические приемы: *удаление влаги, измельчение* и *обработка поверхности*.

Для **удаления влаги** из образца можно использовать простое *высушивание на воздухе*, например, высушивание слоя почвы толщиной 1–2 см. Высушивание на воздухе может, однако, занять несколько суток. Очень используют *высушивание при* 105°C (германский стандарт DIN 38414, часть 2). При этом может также происходить потеря массы вследствие удаления газов и испарения части пробы. Этого можно избежать, если проводить *лиофильное высушивание* в замороженном состоянии, при температурах до −85°C. При этом проба распыляется и ее поверхность значительно увеличивается. Вследствие этого пробы, высушенные методом лиофильной сушки, часто весьма гигроскопичны.

Для **измельчения** твердых проб служат *мельницы*, в которых проба превращается в порошок с определенным размером частиц (обычно менее 0,1 мм).

Чтобы предотвратить загрязнения, детали мельниц изготавливают из твердого инертного материала — например, агата или корунда. Для отбора фракций порошкообразных материалов с определенным размером частиц используют *сита*.

Для непосредственного анализа твердых проб их *разделение на фракции* часто бывает столь же необходимо, как и обработка поверхности. Например, при анализе металлов их поверхность *шлифуют* или *полируют*.

Растворение, разложение, плавление и элюирование

Эти способы пробоподготовки применяют для перевода твердой пробы в раствор, который часто бывает необходим для последующих аналитических операций, а также вымывания из образца определенных компонентов.

Для **растворения** твердых проб используют воду, кислоты (например, для растворения металлов и сплавов), щелочные растворы или органические растворители (см. практические руководства).

Элюирование (*выщелачивание*) — характерный прием при анализе почв. Например, твердый образец массой 100 г смешивают с 1 л воды, встряхивают в течение 24 ч, отделяют нерастворившуюся часть, а раствор анализируют.

Разложение (вскрытие) проб проводят при нормальном и повышенном давлении, а также используют «сухое» разложение (рис. 1.12). В *открытых системах* для разложения используют жидкие реагенты, обычно окислители или восстановители (см. практические руководства). Например, разложение проб почв и донных отложений для определения в них металлов можно проводить путем кипячения с царской водкой с обратным холодильником. Поскольку *разлагающий реагент* берется в большом избытке, к его чистоте предъявляются повышенные требования.

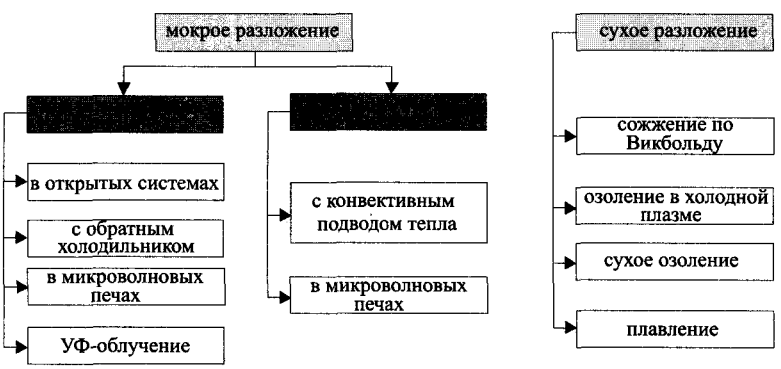


Рис. 1.12. Обзор методов разложения пробы.

Для разложения можно использовать *микроволновые печи*, излучающие обычно при 2,45 ГГц, или *УФ-излучение* ртутной лампы высокого давления. В последнем случае к пробе обычно добавляют небольшие количества пероксида водорода и кислот.

Биологические материалы, продукты питания, пластмассы, угли, смазочные масла требуется разлагать в особо жестких условиях. Для этого служат *методы разложения при повышенном давлении*. В устройстве Кнаппа (рис. 1.13) твердая проба пребывает в течение нескольких часов в автоклаве в атмосфере азота

под давлением 13 МПа при температуре до 320°С в контакте с концентрированной азотной кислотой. По окончании процесса и охлаждении пробы в кварцевом сосуде для разложения остается давление порядка 2 МПа. При стравливании избыточного давления из сосуда удаляется азот, диоксид углерода, оксиды азота и остается прозрачный раствор, окрашенный в темно-зеленый цвет за счет остаточных количеств растворенных оксидов азота.

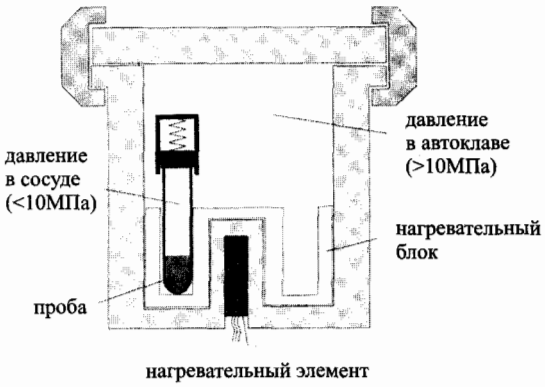


Рис. 1.13. Устройство Кнаппа для разложения пробы под давлением.

Разложение под давлением можно ускорить, если использовать микроволновые печи. Однако полнота разложения при этом может оказаться ниже.

Помимо применения жидких реагентов, для разложения используют и «сухие» способы, например, *сжигание* пробы или ее *плавление*. Для элементного анализа органических веществ пробу можно сжигать в токе кислорода при 950°С (раздел 8.1). Органические вещества, экстрагируемые пентаном или гексаном, можно полностью сжечь в кислородно-водородном пламени методом Викбольда. При *озолении в холодной плазме* пробу обрабатывают атомарным кислородом, образующимся в высокочастотном электромагнитном поле. В таком состоянии кислород является особенно сильным окислителем. При определении мышьяка, сурьмы, теллура и селена в органических и биологических пробах можно использовать их способность образовывать легколетучие соединения.

Разделение и концентрирование

Как для отделения **определяемого компонента** от матрицы, так и для его концентрирования можно применять одни и те же способы. *Концентрированием* называется процесс, в результате которого возрастает концентрация компонента в растворе либо его доля по отношению к матрице по сравнению с исходной пробой.

Основы методов разделения и концентрирования будут рассмотрены позже. Важнейшими методами разделения и концентрирования являются:

- отгонка летучих компонентов;
- осаждение или соосаждение компонента на коллекторе, например, гидроксиде железа при определении следов металлов (раздел 2.3);

- экстракция и ионный обмен (раздел 2.6);
- электролитическое выделение (раздел 4.5);
- колоночная хроматография и сорбция (раздел 5.3).

Разделение и концентрирование газовых проб можно осуществить непосредственно в ходе пробоотбора, используя *абсорбцию* жидкостью (рис. 1.8) или *адсорбцию* твердой фазой (рис. 1.9). Так, на тенаксе — разновидности активированного угля — хорошо адсорбируются пары спиртов, сложных эфиров, кетонов и ароматических соединений.

Выделение легколетучих органических веществ из водных растворов можно осуществить с помощью следующего приема. Раствор пробы кипятят на водяной бане и продувают потоком газа-носителя (гелий), поступающим на адсорбционную колонку. После термической десорбции адсорбированные компоненты определяют методом газовой хроматографии (раздел 5.2).

Возможно определять легколетучие вещества и непосредственно в паровой фазе. Сосуд с анализируемым раствором плотно закрывают. Через некоторое время между определяемым компонентом, находящимся в растворе, и его парами устанавливается равновесие. С помощью соответствующей градуировки можно установить зависимость между содержанием паров в газовой фазе и концентрацией вещества в растворе. В этом методе определяемый компонент и матрица разделяются сами собой. Такой способ пробоподготовки используют, например, при определении летучих углеводородов в водах или содержания алкоголя в крови.

Удаление матрицы

Рассмотренные методы разделения и концентрирования принципиально возможно применить и для удаления **матрицы** образца. На практике наиболее распространен *сорбционный* метод. Жидкую (или переведенную в раствор) пробу пропускают через стеклянную или пластмассовую колонку, заполненную соответствующим сорбентом; при этом компоненты пробы сорбируются. Мешающие компоненты матрицы затем удаляют путем *промывания* колонки подходящим элюентом. Затем другим элюентом вымывают из колонки определяемый компонент (см. раздел 5.3).

Измерение

Для получения аналитической информации соответствующим образом подготовленную пробу необходимо подвергнуть измерительному процессу в соответствии с принципом, положенным в основу выбранного метода. Все принципы анализа базируются либо на протекании химических реакций, либо на физических взаимодействиях.

В методах, основанных на **химических реакциях**, сам факт протекания реакции (и наблюдаемый при этом эффект, например, возникновение окраски) используют для целей *качественного анализа*. Если измерить количество вещества, вступившего в реакцию (в титриметрии, гравиметрии), либо скорость реакции (в кинетических методах), то можно извлечь и *количественную информацию*. Химические реакции лежат в основе классических и электрохимических

методов анализа, обсуждаемых, соответственно, в главе 2 и разделах 4.4–4.5. Сейчас идеи этих методов получили новое развитие в биохимических и иммунных методах анализа (раздел 8.3).

Принципы анализа, основанные на **физических взаимодействиях**, реализуются в спектроскопических (глава 3), некоторых электрохимических (разделы 4.2 и 4.3) и хроматографических (глава 5) методах. Подобные методы анализа часто называют *инструментальными*. Отметим, что без применения необходимой аппаратуры невозможна *автоматизация анализа* (раздел 7.1) — даже с использованием методов, основанных на протекании химических реакций.

Обработка и представление данных

Важной частью процесса анализа является обработка измеренных величин сигналов и преобразование их в *аналитическую информацию* — касающуюся природы и количества вещества, его химической структуры или пространственного распределения в образце. Благодаря непосредственному сопряжению аналитической и вычислительной техники значительную часть этой работы теперь выполняет компьютер. Тем более необходимой становится *проверка правильности* результатов анализа и их *оценка* статистическими методами, выполняемая химиком-аналитиком. Основы наиболее важных из таких методов рассмотрены в разделе 1.3 и более углубленно — в разделе 6.1, посвященном хемометрике.

Наконец, результаты анализа, включая их оценку, следует представить в виде отчета и обсудить в соответствии с сутью поставленной задачи. Все возрастающее значение правильности результатов анализа (хотя бы по причине высокой ответственности принимаемых на их основе решений) делает чрезвычайно актуальной проблему *обеспечения качества* результатов анализа на максимально высоком уровне. В конце книги имеется раздел 8.4, рассматривающий требования к процедурам проверки и стандартизации методик анализа.

1.3. Аналитические характеристики и статистические оценки: от точности до стоимости

При обсуждении качества анализа (особенно *количественного*) аналитик оперирует целым рядом величин и понятий. К ним относятся те, которые можно оценить в результате градуировки и статистической обработки данных: *чувствительность, точность, воспроизводимость, правильность*, а также *предел обнаружения* и *граница определяемых содержаний*. Характеристикой, определяющей возможности определения компонента в присутствии посторонних веществ, служит *селективность* (*избирательность*), а экономическими показателями — *затраты ресурсов, стоимость* и *время* анализа.

Градуировка и ее роль в процессе анализа

Для определения содержания компонента на основе результатов измерений необходимо в процессе анализа хотя бы один раз выполнить градуировку. Цель

градуировки — описание связи между величиной (интенсивностью) аналитического сигнала и массой, относительным содержанием либо концентрацией определяемого компонента с помощью **градуировочной функции** — как правило, прямолинейной (рис. 1.14).

Мы будем выражать градуировочную функцию в виде следующего уравнения:

$$y = b_0 + b_1 x. \tag{1.3}$$

Свободный член b_0 (отрезок, отсекаемый градуировочной прямой на оси ординат), представляет собой сигнал фона. *Сигнал фона* — это величина аналитического сигнала, соответствующая нулевой концентрации определяемого компонента. Следует иметь в виду, что при обработке градуировочных данных численными методами сигнал фона, вообще говоря, всегда отличен от нуля. Если сигнал фона можно экспериментально измерить, то его можно вычитать из всех сигналов и представить уравнение градуировки в виде $y = b_1 x$. Для оценки значимости сигнала фона, рассчитанного математическими методами, следует применить соответствующие статистические тесты (раздел 6.1).

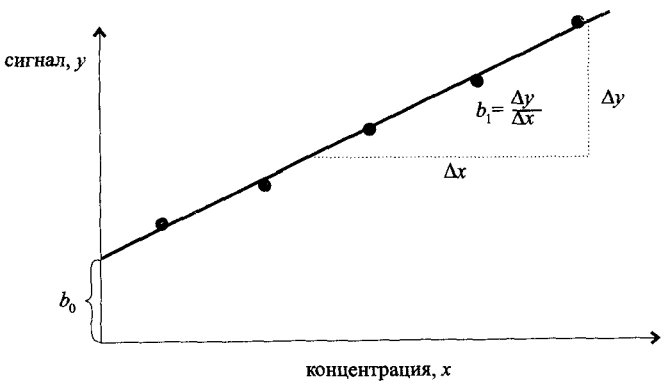


Рис. 1.14. Линейная градуировочная функция, построенная по пяти значениям концентраций x и соответствующим величинам сигнала y.

Тангенс угла наклона градуировочной прямой, b_1, называют **коэффициентом чувствительности**. В случае *искривленной* градуировочной функции значения коэффициента чувствительности в разных ее точках разные. В этом случае обычно используют значение, соответствующее середине диапазона определяемых концентраций.

Отметим, что термин «чувствительность обнаружения» *не следует* использовать, поскольку он не имеет однозначного истолкования.

Среди методов анализа различают абсолютные и относительные. К **абсолютным методам** относят те, в которых концентрацию определяют при помощи фундаментальных физических постоянных и законов, таких, как молярные массы и соотношения стехиометрии в гравиметрии и титриметрии (разделы 2.2–2.5), постоянная Фарадея и законы электролиза в кулонометрии (раздел 4.5). Абсолютные методы не нуждаются в градуировке (в самом крайнем случае градуировку можно выполнить один раз). В **относительных методах** параметры градуировочной функции (коэффициент чувствительности и сигнал фона) следует каждый раз заново определять экспериментально. Методы, основанные на

физических явлениях, как правило, являются относительными и требуют градуировки.

Для нахождения неизвестной концентрации по измеренному значению аналитического сигнала y_A необходимо решить уравнение (1.3) относительно концентрации x_A. В результате получим **аналитическую функцию**:

$$x_A = \frac{y_A - b_0}{b_1}. \tag{1.4}$$

Применение метода добавок для учета матричных эффектов

Особым способом градуировки является метод добавок. Применение этого метода призвано исключить *влияние матрицы* на результаты анализа, например, при анализе плазмы крови. В этом случае градуировочную функцию строят не отдельно от образца, используя серию специально приготовленных растворов различной концентрации, а непосредственно *добавляют* известные количества определяемого компонента к отдельным порциям раствора образца. Из результатов измерения растворов образца без добавок и с различными добавками находят неизвестную концентрацию компонента в образце, как показано на рис. 1.15.

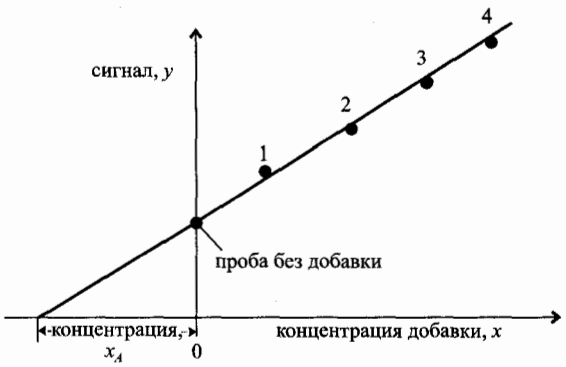


Рис. 1.15. Градуировка по методу добавок: к пробе добавлены четыре раствора определяемого компонента известной концентрации.

Из рис. 1.15 можно убедиться, что метод добавок позволяет проводить определение и в случае изменения *коэффициента чувствительности*, обусловленного влиянием матрицы. Однако величина *сигнала фона* с помощью метода добавок не может быть найдена. При использовании метода добавок она должна быть точно известна.

Внутренний и внешний стандарт

Для учета влияния различных внешних условий на результаты анализа следует измерять аналитический сигнал по отношению к сигналу некоторого стандарта. Если сигнал компонента, служащего стандартом, измерен отдельно от образца, такой стандарт называют *внешним*. Если же он вносится непосредственно в пробу либо в качестве стандарта используют один из компонентов самой пробы, он называется *внутренним стандартом*.

Метод внутреннего стандарта можно использовать и для проверки методик, если, к примеру, необходимо проконтролировать весь ход анализа от пробопод-

готовки до обработки результатов. В этом случае внутренний стандарт вносится в исходную пробу до начала выполнения анализа.

Специальные требования, предъявляемые к внутренним и внешним стандартам, будут рассмотрены при обсуждении отдельных методов анализа.

Статистическая обработка результатов

Результат анализа, не обработанный статистически, имеет малую ценность. Почему? Для ответа на этот вопрос рассмотрим следующую, вполне жизненную, ситуацию.

В образце сточной воды трижды определено содержание фенола с помощью стандартной методики (германский стандарт DIN 38 409 H 16). Найденное среднее значение составляет 0,51 г/л. *Предельно допустимая концентрация* фенолов в сточных водах в странах ЕС составляет 0,5 г/л. Можно ли утверждать, что эта концентрация превышена? Без применения статистических тестов на этот вопрос ответить невозможно, поскольку величина 0,51 г/л есть *среднее* значение; в то же время необходимо учесть и степень разброса данных относительно этого среднего.

В этом разделе будут рассмотрены лишь основы статистических методов обработки и оценки данных. Конкретные статистические тесты, т. е. алгоритмы проверки (необходимые, в частности, для ответа на вопрос, поставленный выше), обсуждаются в разделе 6.1.

Точность результатов анализа: воспроизводимость и правильность

При выполнении любого аналитического измерения — как, например, при определении фенола в сточной воде — могут возникнуть погрешности двух видов. В одном случае результаты измерений при их повторении случайным образом разбросаны друг относительно друга. Такая погрешность называется *случайной*. Величину случайной погрешности результатов анализа характеризует понятие *воспроизводимость* (рис. 1.16). В другом случае результаты анализа отклоняются от истинного значения на постоянную величину. Такая погрешность называется *систематической*, ее характеризует понятие *правильность*.

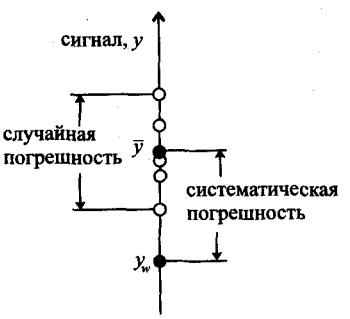


Рис. 1.16. Случайные погрешности измерения сигнала y и систематическое отклонение среднего значения $\bar{y}$ от истинного значения y_w.

Воспроизводимость результатов анализа можно оценить, выполнив независимую серию повторных измерений (параллельных определений) одной и той же пробы и рассчитав величину стандартного отклонения результатов относительно среднего.

Среднее значение обобщенно характеризует результат измерения, т. е. положение точки на некоторой числовой оси (применительно к измерению сигнала

это будет ось ординат, y). Среднее из n параллельных определений равно

$$\bar{y} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} y_i. \tag{1.5}$$

Стандартное отклонение s есть мера разброса значений измеряемой величины относительно среднего:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2}{n-1}}. \tag{1.6}$$

Стандартное отклонение можно выразить и в относительной форме, разделив его на среднее значение. *Относительное стандартное отклонение* s_r вычисляется как

$$s_r = \frac{s_y}{\bar{y}}. \tag{1.7}$$

Его можно выразить и в процентах: $s_r\,(\%) = s_r \cdot 100$.

Все величины (среднее, стандартные отклонения), рассчитанные по формулам (1.5)–(1.7), относятся к величине *сигнала* y. Для точности в уравнении (1.6) следовало бы написать s_y.

Чтобы охарактеризовать воспроизводимость применительно к *концентрации* x, надо использовать соответствующую величину s_x. Ее можно рассчитать, используя градуировочную зависимость:

$$s_x = \frac{s_y}{b_1}. \tag{1.8}$$

Величину s_x называют *стандартным отклонением методики*.

Общая погрешность процесса анализа определяется не только погрешностью измерения соответствующим образом подготовленной пробы, но и погрешностями пробоотбора, пробоподготовки и обработки данных. Некоторую погрешность может внести даже процесс считывания результатов со шкалы измерительного прибора или оцифровка измеряемой величины. Для оценки общей погрешности служит *закон распространения погрешностей*. При наличии нескольких суммирующихся независимых друг от друга источников погрешностей для оценки общей погрешности следует сложить квадраты стандартных отклонений — *дисперсии* — отдельных составляющих. Для оценки погрешности произведения или частного следует сложить квадраты относительных случайных погрешностей.

Пусть общая погрешность результатов анализа s^2, состоит из погрешности пробоотбора $s_{\text{П}}^2$ и погрешности измерения $s_{\text{М}}^2$. При этом было отобрано m проб и каждая была проанализирована n раз. В этом случае

$$s^2 = \frac{s_{\text{П}}^2}{m} + \frac{s_{\text{М}}^2}{n \cdot m}. \tag{1.9}$$

Множество отдельных источников погрешностей надо особенно тщательно учитывать для *многостадийных* методик анализа, т. е. таких, где проба от отбора до измерения сигнала проходит через множество операций: разложение, концентрирование, разделение компонентов (см. раздел 1.2).

Под истинным значением следует понимать значение, известное с высокой точностью и потому принимаемое в качестве истинного.

Воспроизводимость — это лишь одна из составляющих точности результатов анализа. Может так случиться, что достаточно хорошо воспроизводящиеся результаты тем не менее не соответствуют действительности: найденная концентрация компонента значительно отличается от его истинного содержания в образце. Подобное *систематическое отличие* измеренной величины от истинной характеризуется понятием **правильность**. Общая *погрешность* одного единичного результата анализа, e_i, складывается из случайной и систематической составляющей:

$$e_i = \underbrace{(x_i - \bar{x})}_{\text{случайная погрешность}} + \underbrace{(\bar{x} - x_{\text{ист}})}_{\text{систематическая погрешность}} \qquad (1.10)$$

Для характеристики правильности используют *процентную меру правильности* (англ. recovery). Она представляет собой выраженное в процентах отношение найденной концентрации (среднего значения) к истинному значению концентрации компонента в пробе и для одного анализа рассчитывается как

$$\text{recovery}\,(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{\text{ист}}} \cdot 100. \qquad (1.11)$$

Для характеристики правильности методики в целом служит *функция правильности* (раздел 8.1).

Откуда нам может быть известно об истинном содержании компонента в анализируемой пробе? *Истинное значение* можно получить путем анализа образца множеством различных, независимых друг от друга, методов либо при помощи стандартных образцов, для которых значение содержания официально удостоверено. Анализ образца независимыми методами обычно проводят в форме *межлабораторного* («кругового») *эксперимента*. Для этого образец рассылают в разные лаборатории и там анализируют. Истинное значение находят в результате анализа и оценки массива полученных данных. Содержание компонентов в *стандартном образце* находят подобным же образом; кроме того, состав стандартных образцов тщательно контролируют уже на стадии их приготовления (раздел 8.1).

Доверительный интервал результата анализа

При представлении результатов анализа требуется указать и оценку их неопределенности. Неопределенность результатов выражают в форме *доверительного интервала*. Для *абсолютных методов* — таких, как титриметрия, — доверительный интервал рассчитывают из стандартного отклонения s и числа параллельных определений n при помощи специального статистического коэффициента — коэффициента Стьюдента t для выбранной доверительной вероятности P и числа степеней свободы f:

$$\Delta x = \frac{t(P,f)s}{\sqrt{n}}. \qquad (1.12)$$

Для результатов анализа *одной* пробы $f = n - 1$. Оценку величины стандартного отклонения s, как правило, находят из той же самой серии параллельных результатов либо определяют отдельно. Значения коэффициентов Стьюдента t берут из таблиц (см. раздел 6.1).

Для *относительных методов* при расчете доверительного интервала необходимо учитывать и погрешность, вносимую градуировочной функцией:

$$\Delta x = s \cdot t(P, f) \cdot \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y} - \bar{\bar{y}})^2}{b_1^2 \sum_{i=1}^{m} (x_i - \bar{x})^2}}. \qquad (1.13)$$

Здесь $\bar{y}$ — среднее значение сигнала для n параллельных анализов пробы, а $\bar{\bar{y}}$ — среднее значение сигналов для всех m точек градуировочного графика.

Результат анализа представляют в форме среднего значения из серии параллельных определений с рассчитанным доверительным интервалом:

$$\bar{x} \pm \Delta x. \qquad (1.14)$$

Предел обнаружения — минимальная концентрация, которая может быть обнаружена

В разделе 1.1 мы уже видели, что возможности обнаружения вещества с помощью любой аналитической методики ограничены. Знание величины *предела обнаружения* особенно важно при анализе *следовых количеств*.

Аналитический сигнал $y_{\min}$, соответствующий пределу обнаружения, складывается из величины сигнала фона y_B и стандартного отклонения сигнала фона s_B как

$$y_{\min} = y_B + 3s_B. \qquad (1.15)$$

С помощью градуировочной функции можно выразить предел обнаружения непосредственно в единицах концентрации:

$$x_{\min} = \frac{y_{\min} - b_0}{b_1}. \qquad (1.16)$$

Таким образом, предел обнаружения тем ниже, чем выше коэффициент чувствительности b_1 и чем меньше случайная погрешность методики.

Селективность: насколько хорошо методика может различать отдельные компоненты

Понятие *селективность* характеризует, насколько посторонние компоненты пробы мешают определению данного компонента. При помощи *полностью селективной методики* компонент можно определить в пробе любого состава. Подобные методики называют *специфичными* по отношению к данному компоненту.

В случае *неполностью селективных методик* имеет место наложение аналитических сигналов отдельных компонентов. Для получения правильных результатов требуется отделять мешающие компоненты или вводить необходимые поправки расчетным путем (см. раздел 6.4). Полностью селективные (специфичные по отношению к определенному компоненту) методики встречаются крайне редко. На практике оказывается достаточным, чтобы концентрация мешающе-

го компонента была достаточно мала и не вызывала (в пределах погрешности измерений) искажений аналитического сигнала.

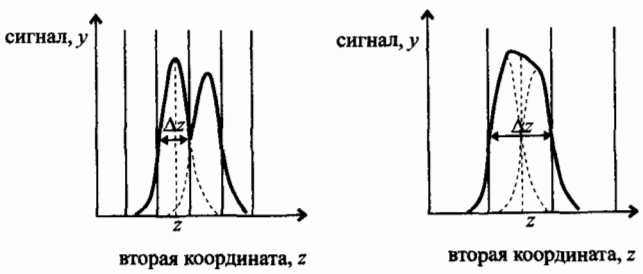


Рис. 1.17. Двумерные методы анализа с различными значениями разрешающей способности N.

В качестве количественной характеристики селективности в разных методах применяют разные величины. К ним относятся *коэффициент селективности* в потенциометрии (раздел 4.3) или *разрешение* в хроматографии (раздел 5.1). Для наиболее общего описания степени разрешения двух аналитических сигналов используют величину, называемую *разрешающей способностью*. Два пика считаются различимыми, если они отстоят друг от друга на величину, равную их полуширине (т. е. ширине на половине высоты) Δz. Разрешающая способность определяется как отношение положения пика z к его полуширине Δz:

$$N = \frac{z}{\Delta z}. \tag{1.17}$$

Эта величина может изменяться в зависимости от положения пика z.

Экономические характеристики: затраты, время, стоимость

Процесс анализа необходимо оценивать и с экономической точки зрения. Всемерное сокращение *затрат* и *времени* анализа является непременной задачей при разработке методик. В этом большую помощь может оказать механизация и *автоматизация* анализа (см. раздел 7.1).

Стоимость анализа включает в себя, например, производственные расходы по приобретению, установке и эксплуатации необходимого оборудования, затраты на покупку стандартных образцов и специальной литературы, оплату труда сотрудников соответствующей квалификации.

1.4. Литература

K.Doerffel, R.Geyer und H.Müller, Analytikum, 9. Auflage, Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig-Stuttgart, 1994.

K.Doerffel, Statistische Methoden in der analytischen Chemie, 5. Auflage, Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1990.

R.Kellner, J.-M.Mermet, M.Otto and H.M.Widmer (Eds.), Analytical chemistry, VCH, Weinheim, 1995.

D.A.Skoog, D.M.West and F.J.Holler, Fundamentals of Analytical Chemistry, 6. Auflage, Sounders College Publishing, Fort Worth, USA, 1993.

ГЛАВА 2

КЛАССИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

После того, как мы в первой главе познакомились с общими основами аналитической химии, рассмотрим классические методы анализа. Определение «классические» не следует понимать как «устаревшие». В связи с тенденцией к инструментализации аналитической химии для ряда методов, рассматриваемых ниже, область применения в будущем, возможно, действительно будет сокращаться. Но, несмотря на это, большинство основополагающих принципов классических методов сохраняют свое значение и в сфере «высоких аналитических технологий». Тот, кто понимает суть процессов диссоциации и восстановления химических веществ в водных растворах, легко адаптирует эти знания, например, к подобным же процессам диссоциации и восстановления, протекающим в пламени в условиях атомно-абсорбционного анализа.

Более того. В некоторых весьма актуальных областях, например, при анализе объектов окружающей среды сейчас наблюдается возврат к классическим методам. Например, для определения суммы экстрагируемых органических галогенов в почвах требуется малоселективный метод. Самым простым способом решения этой задачи оказалось титрование галогенид-ионов раствором нитрата серебра.

2.1. Химические реакции как основа процесса анализа

Основа классических методов анализа — применение химических реакций для определения вещества. В аналитических целях можно использовать *состояние химического равновесия* и величины, его характеризующие. Можно также использовать и *процесс протекания реакции* во времени. Для понимания обоих этих аспектов следует вспомнить основные закономерности, связанные с химическим равновесием и химической кинетикой и подробно изучаемые в курсе физической химии.

Химическое равновесие

Ни одна химическая реакция не протекает до конца. В ходе реакции устанавливается состояние равновесия, при котором в системе в тех или иных количествах присутствуют все участвующие в реакции вещества. Это справедливо и для *гомогенных* систем, состоящих из единственной фазы, и для *гетерогенных* систем,

включающих несколько фаз. Напомним, что *фаза* — это часть системы, обладающая во всех точках одинаковыми физическими свойствами — показателем преломления, вязкостью и др. В гетерогенных системах в результате реакции некоторые фазы могут совсем исчезнуть, например, при растворении металла в кислоте.

Закон действующих масс

Рассмотрим в общем виде химическую реакцию

$$\nu_A A + \nu_B B \underset{v_{-1}}{\overset{v_1}{\rightleftharpoons}} \nu_C C. \tag{2.1}$$

Здесь A,B,C — реагирующие вещества,
ν_A, ν_B, ν_C — соответствующие стехиометрические коэффициенты,
v_1, v_{-1} — скорости прямой и обратной реакции.

Скорость химической реакции есть мера изменения концентрации частиц во времени. Упрощенно связь между концентрациями и скоростью можно представить следующим образом (см. также раздел 2.7):

$$v_1 = k_1[A][B], \tag{2.2}$$

$$v_{-1} = k_{-1}[C], \tag{2.3}$$

где k_1, k_{-1} — константы скорости прямой и обратной реакции,
[A], [B], [C] — концентрации соответствующих частиц.

При достижении равновесия скорости прямой и обратной реакции становятся равными. Хотя при этом внешне может показаться, что система находится в покое, однако в действительности она находится в состоянии динамического равновесия. Приравнивая скорости прямой и обратной реакции

$$k_1[A][B] = k_{-1}[C], \tag{2.4}$$

получаем выражение **закона действующих масс**, открытого Гульдбергом и Вааге:

$$K_c = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[C]}{[A][B]}.$$

Для произвольных стехиометрических коэффициентов следует записать

$$K_c = \frac{[C]^{\nu_C}}{[A]^{\nu_A}[B]^{\nu_B}}. \tag{2.5}$$

Здесь вместо активностей реагирующих частиц использованы их концентрации. Соответствующая константа равновесия K_c называется *концентрационной*. Константа равновесия — величина размерная. В данном примере при $\nu_A = \nu_B = \nu_C = 1$ ее размерность — л/моль.

Термодинамическая константа равновесия, K^+, определяется сходным образом через активности реагирующих частиц. Для реакции, описываемой уравнением (2.1), при $\nu_A = \nu_B = \nu_C = 1$ ее выражение имеет вид

$$K^+ = \frac{a_C}{a_A a_B}. \tag{2.6}$$

Активности следует использовать, например, при рассмотрении равновесий в потенциометрии (раздел 4.3). Активность частицы и ее концентрация c связаны посредством коэффициента активности f:

$$a = fc. \tag{2.7}$$

Если коэффициент активности равен единице, активность равна концентрации.

Основные типы химических реакций и равновесий

Химические равновесия играют большую роль не только в классических, но и в спектроскопических, электрохимических и хроматографических методах анализа. Принципиально различают *гомогенные* и *гетерогенные* реакции.

Гомогенные реакции в газовой фазе

Для аналитика реакции в газовой фазе представляют интерес тем, что они протекают при определении веществ в парообразном (в газовой хроматографии) и газообразном (в пламени или плазме в методах атомной спектроскопии) состояниях. Например, термическую диссоциацию хлорида натрия на атомы Na и Cl, которая имеет место в случае пламенного атомно-абсорбционного определения натрия, можно охарактеризовать следующим равновесием:

$$\mathrm{NaCl} \rightleftharpoons \mathrm{Na} + \mathrm{Cl}.$$

Константа этого равновесия записывается в соответствии с выражением закона действующих масс с использованием парциальных давлений компонентов p_i:

$$K_\mathrm{D} = \frac{p_\mathrm{Na} p_\mathrm{Cl}}{p_\mathrm{NaCl}}.$$

Гомогенные реакции в растворах

В растворах (кроме водных, о которых ниже) аналитик может столкнуться с гомогенными реакциями, например, при проведении дериватизации органических соединений с целью их последующего газохроматографического или масс-спектрометрического определения. Так, альдегиды перед их определением методом газовой хроматографии превращают в О-алкилоксимы действием О-алкилгидроксиламина:

$$\mathrm{RHC{=}O + H_2N - O(CH_2)_2CH_3} \xrightarrow{\text{пиридин}} \mathrm{RHC{=}N - O(CH_2)_2CH_3 + H_2O},$$

где R — остаток молекулы.

Для этой реакции выражение закона действующих масс имеет вид:

$$K = \frac{[\mathrm{RHC = N - O(CH_2)_2CH_3}][\mathrm{H_2O}]}{[\mathrm{RHC = O}][\mathrm{H_2N - O(CH_2)_2CH_3}]}.$$

Обратите внимание, что в этой реакции вода играет роль реагента, а не растворителя.

Гомогенные реакции в водных растворах

Для аналитической химии наиболее важны гомогенные реакции, протекающие в водных растворах. В некоторых особых случаях, реакции, характерные для

водных растворов, могут протекать и в неводных, например, при определении общего содержания аминных групп в лекарственных препаратах.

В последующих разделах, посвященных отдельным классическим методам, мы подробно рассмотрим важнейшие типы реакций в водных растворах, а именно: кислотно-основные (раздел 2.2), комплексообразования (раздел 2.4) и гомогенные окислительно-восстановительные реакции (раздел 2.5).

Гетерогенные реакции

К гетерогенным реакциям относятся в первую очередь реакции растворения и образования осадков. Итог таких реакций — состояние равновесия между *веществом в растворе* (например, ионами серебра и хлорид-ионами) и *твердой фазой* (осадком AgCl):

$$Ag^+ + Cl^- \rightleftharpoons AgCl(s),$$

(символ (s) — англ. solid — обозначает твердую фазу). Поскольку активность и концентрацию вещества в твердой фазе можно принять равными единице, выражение закона действующих масс в этом случае принимает особую форму, называемую произведением растворимости:

$$K_L = [Ag^+][Cl^-].$$

Равновесия между жидкой и твердой фазами наблюдаются и в электрохимических процессах. При этом в равновесии могут участвовать и газы. Рассмотрим процесс растворения цинка в кислоте:

$$Zn(s) + 2H^+ \rightleftharpoons Zn^{2+} + H_2.$$

Выражение закона действующих масс в этом случае имеет вид

$$K_{c,p} = \frac{[Zn^{2+}]p_{H_2}}{[H^+]^2}.$$

Равновесия между *двумя жидкими фазами* описывают процессы распределения вещества между двумя взаимно ограниченно растворимыми фазами. Закон действующих масс здесь принимает вид закона распределения Нернста, описанного в разделе 2.6.

Электролиты

Большинство реакций в водных растворах, применяемых в анализе, являются реакциями между *ионами*. Вещества, существующие в растворе в виде ионов и потому способные проводить электрический ток, называются *электролитами*.

Истинные электролиты состоят из ионов и в твердом (а также расплавленном) состоянии, как, например, большинство солей. *Потенциальные* электролиты — это соединения, образующие ионы только в растворах, например, кислоты или органические основания.

Диссоциацию электролита, состоящего из катиона K^+ и аниона A^-, в соответствии с законом действующих масс можно описать следующим образом:

$$KA \rightleftharpoons K^+ + A^-, \tag{2.8}$$

$$K_c = \frac{[K^+][A^-]}{[KA]}. \tag{2.9}$$

Характерное свойство растворов электролитов — их электропроводность. Теоретические основы и экспериментальные методы измерения электропроводности рассматриваются в разделе 4.2.

Процессы электролитической диссоциации не ограничиваются водными растворами. Мы рассмотрим и методы анализа в неводных средах, в частности, для титриметрического определения лекарственных веществ.

Слабые электролиты

Слабыми называются электролиты, диссоциирующие в растворах *не полностью*. Их степень диссоциации зависит от концентрации: чем выше концентрация слабого электролита в растворе, тем ниже его степень диссоциации. Типичными примерами слабых электролитов могут служить органические кислоты, например, уксусная или лимонная, органические основания, как анилин, а также некоторые соли — FeF_3, $HgCl_2$.

Степень диссоциации α равна отношению концентрации ионов определенного сорта, образовавшихся в результате диссоциации электролита, к его общей концентрации c_0. Для 1-1-зарядного электролита KA

$$\text{степень диссоциации } \alpha = \frac{[K^+]}{c_0} = \frac{[A^-]}{c_0}, \tag{2.10}$$

где $c_0 = [KA] + [A^-]$ или $c_0 = [KA] + [K^+]$.

Для слабых электролитов $\alpha < 1$ и при прочих равных условиях тем меньше, чем электролит слабее.

Объединив закон действующих масс с теорией электролитической диссоциации Аррениуса, Оствальд получил соотношение, известное ныне как *закон разбавления Оствальда*:

$$K_c = \frac{\alpha^2}{1-\alpha} c_0. \tag{2.11}$$

Степень диссоциации электролита можно определить экспериментально путем измерения электропроводности (см. раздел 4.2).

Сильные электролиты

Отличительный признак сильных электролитов — *полная диссоциация* в растворах, даже при высоких концентрациях. Их степень диссоциации достигает предельной величины: $\alpha \approx 1$.

Для электролита произвольного состава, диссоциирующего на ν_+ катионов заряда $z_+ > 0$ и ν_- анионов заряда $z_- < 0$, можно записать:

$$K^{z+}_{\nu_+} A^{z-}_{\nu_-} \rightleftharpoons \nu_+ K^{z+} + \nu_- A^{z-}. \tag{2.12}$$

Концентрации катиона c_+ и аниона c_- связаны между собой следующим образом

$$c_+ = \nu_+ c_0, \qquad c_- = \nu_- c_0.$$

Пользуясь условием электронейтральности раствора, можно определить понятие *электрохимической валентности* электролита z_e, равной

$$z_+ \nu_+ = |z_-| \nu_- = z_e. \tag{2.13}$$

Примеры электролитов различной электрохимической валентности приведены в табл. 2.1.

Таблица 2.1. Примеры электролитов различного состава.

Электролит	z_e	Обозначение
NaCl	1	1-1-зарядный
Na_2SO_4	2	1-2-зарядный
$NiSO_4$	2	2-2-зарядный
$FeCl_3$	3	3-1-зарядный
$La[Fe(CN)_6]$	3	3-3-зарядный

Качественный и количественный анализ

Химические реакции можно использовать и для качественного, и для количественного анализа. Классическая (*сероводородная*) схема качественного анализа представляет собой *процесс разделения* с целью идентификации неорганических ионов. Эту схему сейчас изучают в курсе неорганической химии — для получения фундаментальных знаний о свойствах веществ, практического ознакомления с неорганическими реакциями и понятием о групповой селективности реагентов, и для отработки простейших навыков техники химического эксперимента. Описание классической схемы разделения ионов можно найти в практических руководствах.

В современной аналитической практике элементы сероводородной схемы можно встретить, например, в методиках определения H_2S в воздухе с использованием индикаторных трубок, содержащих соединения меди или свинца. В этом разделе использование химических реакций в анализе будет рассмотрено исключительно на примере методов *количественного анализа*. При этом мы не ограничимся методами определения лишь неорганических веществ, но и познакомимся с возможностями определения органических соединений, например, фенолов.

2.2. Использование кислотно-основных реакций в анализе

Кислотно-основная теория Бренстеда

Первая теория, описывающая реакции между кислотами и основаниями, была создана Аррениусом и Оствальдом. В соответствии с ней кислотами назывались водородсодержащие соединения, образующие в водных растворах ионы H^+, а основаниями — гидроксилсодержащие соединения, образующие ионы OH^-. Для кислот наподобие CO_2 или оснований вроде NH_3, не содержащих в своем составе соответствующих ионов, приходилось объяснять их кислотные и основные свойства с привлечением дополнительных представлений. Кроме того, эта теория была неприменима к неводным растворам.

В результате дальнейшего развития представлений о кислотах и основаниях появились теории Бренстеда, Усановича, Пирсона и Льюиса (см. учебники по неорганической химии). Среди них наиболее пригодной для количественного

описания кислотно-основных процессов в условиях химического анализа оказалась теория Бренстеда (1923).

Согласно теории Бренстеда кислоты и основания определяются следующим образом.

Кислоты — это молекулы или ионы, способные отдавать ионы H^+ (протоны). Таким образом, кислоты — это *доноры протонов*.

Основания — это молекулы или ионы, способные принимать протоны. Основания — это *акцепторы протонов*.

Типичные примеры кислот и оснований Бренстеда приведены в табл. 2.2. В растворах свободный протон не существует, присоединяясь к молекуле растворителя (в воде при этом образуется ион гидроксония H_3O^+).

Особая группа веществ может выступать как донорами, так и акцепторами протонов. Они проявляют *амфотерные* свойства и называются *амфолитами*. Амфолитом является вода, претерпевая диссоциации в соответствии с уравнением

$$H_2O + H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + OH^-. \qquad (2.14)$$

Таблица 2.2. Примеры кислот и оснований согласно теории Бренстеда

Тип	Пример
Незаряженные кислоты	$HCl + H_2O \rightleftharpoons Cl^- + H_3O^+$
Кислоты-катионы	$NH_4^+ + H_2O \rightleftharpoons NH_3 + H_3O^+$
Кислоты-анионы	$HSO_4^- + H_2O \rightleftharpoons SO_4^{2-} + H_3O^+$
Незаряженные основания	$NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH_4^+ + OH^-$
Основания-катионы	$[Al(OH)(H_2O)_5]^{2+} + H_2O \rightleftharpoons$ $\rightleftharpoons [Al(H_2O)_6]^{3+} + OH^-$
Основания-анионы	$HPO_4^{2-} + H_2O \rightleftharpoons H_2PO_4^- + OH^-$
Кислоты в неводных растворах	$HCl + CH_3OH \rightleftharpoons Cl^- + CH_3OH_2^+$
Кислоты в газовой фазе	$HCl(g) + NH_3(g) \rightleftharpoons NH_4Cl(s)$

Другими примерами амфолитов могут служить частично депротонированные кислоты — HSO_4^-, $H_2PO_4^-$, аквагидроксокомплексы металлов наподобие $[Al(H_2O)_5(OH)]^{2+}$, а также аминокислоты, имеющие большое значение в клиническом анализе; впоследствии их кислотно-основные свойства будут рассмотрены более подробно. Выступает ли амфолит в роли кислоты или основания — это зависит от его партнера по химической реакции.

Описание протолитических равновесий

Как видно, теория Бренстеда сильно облегчает описание кислотно-основных свойств веществ в любых растворителях. Понятие о силе кислоты или основания имеет смысл только применительно к определенному растворителю. Поскольку большинство аналитически важных реакций протекает в воде, рассмотрим сначала кислотно-основные реакции в водных растворах.

Автопротолиз воды

Согласно уравнению (2.14), вода сама по себе образует ионы — гидроксоний и гидроксид. Можно доказать экспериментально, путем измерения электропроводности (см. раздел 4.2, табл. 4.3), что вода является электролитом.

Если к уравнению автопротолиза воды применить закон действующих масс, то получим выражение, называемое **ионным произведением воды**. Ионное произведение воды, записанное через *активности* ионов, представляет собой термодинамическую константу равновесия:

$$K_W^+ = a_{H_3O^+} a_{OH^-} . \tag{2.15}$$

Если вспомнить определения величин pH и pOH, то легко получить выражение для ионного произведения воды в логарифмической форме:

$$pH + pOH = pK_W^+ , \tag{2.16}$$

где

$$pH = -\lg a_{H_3O^+} , \tag{2.17}$$

$$pOH = -\lg a_{OH^-} . \tag{2.18}$$

Для очень разбавленных растворов можно использовать ионное произведение воды в форме концентрационной константы:

$$K_W = [H_3O^+][OH^-]. \tag{2.19}$$

Как и любая константа равновесия, величина K_W зависит от температуры. В табл. 2.3 приведены значения K_W для различных температур. При температурах 18, 22 и 100°C значение pH чистой воды составляет, соответственно, 7,07, 7,00 и 6,07.

Таблица 2.3. Зависимость термодинамического ионного произведения воды от температуры.

T, °C	K_W^+, моль$^2 \cdot$ л$^{-2}$	pK_W^+
10	$0,36 \cdot 10^{-14}$	14,45
18	$0,74 \cdot 10^{-14}$	14,13
22	$1,00 \cdot 10^{-14}$	14,00
50	$5,60 \cdot 10^{-14}$	13,25
100	$74 \cdot 10^{-14}$	12,13

В водных растворах диапазон значений pH составляет от 0 до 14, а соответствующий диапазон значений pOH — от 14 до 0. Среда в водных растворах определяется следующими соотношениями:

кислая среда: $pH < 7$,
нейтральная среда: $pH = 7$,
щелочная среда: $pH > 7$.

Сила кислот и оснований

Для количественного описания силы кислот и оснований используют закон действующих масс (см. уравнение (2.5)). В общем случае, когда кислота HA нахо-

дится в равновесии с соответствующим основанием A^-, можно записать:

$$HA + H_2O \rightleftharpoons A^- + H_3O^+ . \tag{2.20}$$

Константа этого равновесия называется *константой кислотности*:

$$K_S = \frac{[A^-][H_3O^+]}{[HA]} . \tag{2.21}$$

Для основания A^-

$$A^- + H_2O \rightleftharpoons HA + OH^- . \tag{2.22}$$

Аналогично, константа этого равновесия называется *константой основности*:

$$K_B = \frac{[HA][OH^-]}{[A^-]} . \tag{2.23}$$

Произведение этих констант равно ионному произведению воды:

$$K_S K_B = \frac{[A^-][H_3O^+]}{[HA]} \frac{[HA][OH^-]}{[A^-]} = [H_3O^+][OH^-] = K_W . \tag{2.24}$$

В логарифмической форме:

$$pK_S + pK_B = pK_W . \tag{2.25}$$

Рассмотрим эти соотношения на конкретном примере *уксусной кислоты*. Равновесие ее протолитической диссоциации описывается уравнением

$$CH_3COOH + H_2O \rightleftharpoons CH_3COO^- + H_3O^+ .$$

Значение pK_S уксусной кислоты составляет 4,75. Из уравнения (2.25) можно рассчитать константу основности ацетат-иона:

$$pK_B(CH_3COO^-) = 14 - 4,75 = 9,25 .$$

Константы кислотности и основности приводятся в таблицах. В приложении в табл. П.1 содержатся константы для наиболее важных кислот и оснований. Для многоосновных кислот и оснований приведены константы для каждой ступени диссоциации. Конкретные примеры будут рассмотрены при вычислении значений pH.

В зависимости от своей *силы* кислоты и основания можно весьма условно разделить на следующие группы:

очень сильные кислоты (очень слабые основания)	$pK_S < pK_S(H_3O^+) = -1,74$,
умеренно сильные кислоты (слабые основания)	$-1,74 < pK_S < 4,5$,
умеренно слабые кислоты (умеренно слабые основания)	$4,5 < pK_S < 9,0$,
слабые кислоты (умеренно сильные основания)	$9,0 < pK_S < 15,74$
очень слабые кислоты (очень сильные основания)	$pK_S > pK_S(H_2O) = 15,74$.

Очень сильные кислоты, такие, как хлорная ($pK_S \approx -10$) или хлористоводородная ($pK_S \approx -6$) в водных растворах практически полностью превращаются в более слабую кислоту H_3O^+ ($pK_S = -1,74$). Растворы очень сильных кислот одинаковой концентрации проявляют одинаковые кислотные свойства независимо от величины pK_S. Чтобы различить очень сильные кислоты по их силе, необходимо использовать растворитель с более слабо, чем у воды, выраженными основными свойствами, например, ледяную уксусную кислоту (см. ниже «Реакции в неводных растворителях»).

Подобный нивелирующий эффект вода проявляет и по отношению к очень сильным основаниям. Такие ионы, как O^{2-}, H^- или NH_2^-, в воде полностью превращаются в ион OH^-.

Степень диссоциации кислот и оснований

Доля кислоты (основания), находящейся в растворе в виде ионов, представляет собой степень ее кислотной (соответственно, основной) диссоциации. Для ее расчета применим к кислотам и основаниям уравнение для степени диссоциации электролита (2.20). В соответствии с ним степень диссоциации кислоты HA составит

$$\alpha = \frac{[A^-]}{c_0} = \frac{c_0 - [HA]}{c_0}, \qquad (2.26)$$

где $c_0 = [HA] + [A^-]$.

Используя закон разбавления Оствальда (2.11), можно для достаточно слабых кислот, для которых $\alpha \ll 1$, получить следующее приближенное выражение:

$$\alpha = \sqrt{\frac{K_S}{c_0}}. \qquad (2.27)$$

Например, для 0,01 М водного раствора уксусной кислоты степень диссоциации составит

$$\alpha = \sqrt{\frac{1,78 \cdot 10^{-5}}{1 \cdot 10^{-2}}} = 0,042.$$

Лишь 4,2% уксусной кислоты в этих условиях находится в диссоциированном состоянии (в форме ацетат-ионов), тогда как основная ее доля — 95,8% — в виде недиссоциированных молекул. Для оснований степень диссоциации рассчитывается аналогично. В аналитической практике никогда не следует забывать, что многие соли — хлорид железа (III), хлорид аммония, ацетат натрия, карбонат натрия и др. — в водных растворах претерпевают кислотно-основную диссоциацию.

Расчеты величин pH

Рассмотрим по отдельности способы расчета pH для одно- и многоосновных кислот и оснований и амфолитов.

Диссоциация кислот

Пусть произвольная кислота HA диссоциирует в соответствии с уравнением (2.20). Для расчета pH ее раствора в общем случае следует применить такие соотношения:

Закон действующих масс: $K_S = \dfrac{[A^-][H_3O^+]}{[HA]}$. (2.21)

Ионное произведение воды: $K_W = [H_3O^+][OH^-]$. (2.19)

Закон сохранения массы
(уравнение материального баланса): $c_0 = [HA] + [A^-]$. (2.28)

Закон сохранения заряда
(уравнение электронейтральности): $[H_3O^+] = [A^-] + [OH^-]$. (2.29)

Ионы OH^- появляются в растворе в результате автопротолиза воды. Поскольку раствор кислый, этим явлением можно пренебречь (положив $[OH^-] \approx 0$), и уравнение электронейтральности (2.29) упростится:

$$[H_3O^+] = [A^-].$$

Подставив это соотношение в выражение закона действующих масс (2.21), получим:

$$K_S = \frac{[H_3O^+]^2}{c_0 - [H_3O^+]}. \qquad (2.30)$$

Преобразовав это выражение в квадратное уравнение относительно $[H_3O^+]$ (сокращенно $[H^+]$) и решив его, получим:

$$[H^+] = -\frac{K_S}{2} + \sqrt{\frac{K_S^2}{4} + K_S c_0}. \qquad (2.31)$$

По этому уравнению следует вычислять pH в растворах **умеренно сильных кислот**. Для очень сильных, а также слабых и умеренно слабых кислот его можно дополнительно упростить:

очень сильные кислоты ($pK_S < -1$):

$$[H^+] = c_0; \qquad pH = -\lg c_0. \qquad (2.32)$$

Концентрация протонов в растворе очень сильной кислоты равна общей концентрации кислоты, а значение pH — ее отрицательному десятичному логарифму.

слабые кислоты ($[H^+] \ll c_0$):

$$[H^+] = \sqrt{K_S c_0}; \quad pH = \frac{1}{2}(pK_S - \lg c_0). \qquad (2.33)$$

Для слабых кислот величина pH, кроме концентрации, зависит также от величины константы кислотной диссоциации.

Для примера рассчитаем pH в $1 \cdot 10^{-3}$ М растворе уксусной кислоты:

$$pH = \frac{1}{2}(4,75 - \lg 1 \cdot 10^{-3}) = 3,88.$$

Величина pH оказалась выше, чем была бы для сильной кислоты такой же концентрации (3,00), поскольку уксусная кислота диссоциирует не полностью.

Диссоциация оснований

Расчеты pH в растворах оснований выполняются аналогично. Диссоциация основания в общем случае описывается уравнением

$$B + H_2O \rightleftharpoons BH^+ + OH^-. \tag{2.34}$$

Для оснований, как и для кислот, можно записать выражения законов действующих масс, сохранения массы и сохранения заряда. В этом случае они имеют следующий вид:

$$\text{Закон действующих масс: } K_B = \frac{[BH^+][OH^-]}{[B]}. \tag{2.35}$$

$$\text{Закон сохранения массы (уравнение материального баланса): } c_0 = [B] + [BH^+]. \tag{2.36}$$

$$\text{Закон сохранения заряда (уравнение электронейтральности): } [H_3O^+] + [BH^+] = [OH^-]. \tag{2.37}$$

Здесь также можно пренебречь автопротолизом воды — в данном случае концентрацией $[H_3O^+]$ — и упростить уравнение электронейтральности (2.37):

$$[BH^+] = [OH^-]. \tag{2.38}$$

Кроме того, для слабых и умеренно слабых оснований концентрация $[OH^-]$ значительно ниже, чем c_0. Отсюда можно получить выражение, аналогичное (2.33):

слабые основания:

$$[OH^-] = \sqrt{K_B c_0}; \quad pH = 14 - \frac{1}{2}(pK_B - \lg c_0). \tag{2.39}$$

Для очень сильных, полностью диссоциирующих оснований $[B] \approx 0$. С учетом этого из уравнений (2.36) и (2.38) находим:

очень сильные основания ($pK_B < -1$):

$$[OH^-] = c_0; \quad pH = 14 + \lg c_0. \tag{2.40}$$

Вычислим величину pH 0,01 М водного раствора аммиака по уравнению (2.39):

$$pH = 14 - \frac{1}{2}(4,75 - \lg 1 \cdot 10^{-2}) = 10,63.$$

Для сильного основания той же концентрации значение pH составило бы 12,00.

Диссоциация многоосновных кислот

В случае многоосновных кислот следует рассматривать отдельные ступени их диссоциации и величины соответствующих констант. Возьмем для примера диссоциацию фосфорной кислоты:

$$H_3PO_4 + H_2O \rightleftharpoons H_2PO_4^- + H_3O^+, \qquad pK_{S_1} = 2,23, \tag{2.41}$$

$$H_2PO_4^- + H_2O \rightleftharpoons HPO_4^{2-} + H_3O^+, \qquad pK_{S_2} = 7,21, \tag{2.42}$$

$$HPO_4^{2-} + H_2O \rightleftharpoons PO_4^{3-} + H_3O^+, \qquad pK_{S_3} = 12,32 \tag{2.43}$$

и ее константы кислотности:

$$K_{S_1} = \frac{[H_3O^+][H_2PO_4^-]}{[H_3PO_4]}, \qquad K_{S_2} = \frac{[H_3O^+][HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}, \qquad K_{S_3} = \frac{[H_3O^+][PO_4^{3-}]}{[HPO_4^{2-}]}.$$

Если для многоосновных кислот (оснований) последовательные константы кислотности (основности) различаются не менее чем на 2 единицы pK, то их можно рассматривать как одноосновные и учитывать диссоциацию только по соответствующей ступени.

Если же константы диссоциации достаточно близки между собой, необходимо учитывать несколько кислотно-основных равновесий одновременно. Для двухосновных кислот в этом случае в расчеты можно внести некоторые упрощения. В случае многоосновных кислот для совместного расчета множества кислотно-основных равновесий существуют специальные компьютерные программы, основанные на итерационных алгоритмах.

Диссоциация амфолитов

Кислотно-основные свойства амфолитов играют большую роль в процессах *электрофоретического разделения* (раздел 5.4). В общем случае в растворах амфолита A существуют два равновесия — с участием основания B^- и кислоты S^+:

амфолит реагирует как кислота: $A + H_2O \rightleftharpoons B^- + H_3O^+$,

$$K_S = \frac{[H_3O^+][B^-]}{[A]}, \tag{2.44}$$

амфолит реагирует как основание: $A + H_2O \rightleftharpoons S^+ + OH^-$,

$$K_B = \frac{[OH^-][S^+]}{[A]}. \tag{2.45}$$

Выражения для законов сохранения массы и заряда выглядят в этом случае следующим образом:

уравнение материального баланса: $c_0 = [A] + [B^-] + [S^+]$, (2.46)

уравнение электронейтральности: $[H_3O^+] + [S^+] = [OH^-] + [B^-]$. (2.47)

Если значения констант K_S и K_B не очень велики, можно приближенно принять равновесную концентрацию формы A равной общей концентрации амфолита: $c_0 \approx [A]$. Подстановка этой величины в уравнения (2.44)–(2.47) и решение полученной системы совместно с уравнением ионного произведения воды (2.24) приводит к выражению

$$[H^+] = \sqrt{\frac{K_W(K_S c_0 + K_W)}{K_B c_0 + K_W}}. \tag{2.48}$$

В зависимости от величин констант кислотности и основности амфолита его раствор будет иметь различную реакцию среды:

$K_S = K_B$	→	среда нейтральная, pH = 7,
$K_S > K_B$	→	среда кислая, pH < 7,
$K_S < K_B$	→	среда щелочная, pH > 7.

Очень важной характеристикой амфолита является значение pH, при котором концентрации его кислотной и основной форм равны:

$$[S^+] = [B^-].$$

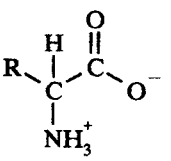
Это значение pH называется ***изоэлектрической точкой***. Оно может быть рассчитано как

$$pH_{iso} = \frac{1}{2}(pK_W + pK_S - pK_B). \quad (2.49)$$

Если вместо значения pK_B использовать значение pK'_S формы S^+, равную $pK_W - pK_B$, то изоэлектрическую точку можно найти как среднее арифметическое двух последовательных констант кислотности:

$$pH_{iso} = \frac{1}{2}(pK_S + pK'_S). \quad (2.50)$$

Важность расчетов pH в растворах амфолитов проиллюстрируем на примере кислотно-основных свойств α-аминокислот — структурных единиц, из которых построены белки. α-Аминокислоты существуют преимущественно в виде цвиттер-ионов — частиц, несущих одновременно и положительный, и отрицательный заряд.



R – остаток молекулы

Амфолитная природа α-аминокислот проявляется в наличии как кислотной функции аммонийной группы ($-NH_3^+$), так и основной функции карбоксилатной группы ($-COO^-$). Их можно описать с помощью следующих равновесий:

$$H_3^{\oplus}N - CH(R) - COOH + H_2O \rightleftharpoons H_3^{\oplus}N - CH(R) - COO^- + H_3O^+,$$

$$K_{S_1} = \frac{[H_3^{\oplus}N - CH(R) - COO^-][H_3O^+]}{[H_3^{\oplus}N - CH(R) - COOH]},$$

$$H_3^{\oplus}N - CH(R) - COO^- + H_2O \rightleftharpoons H_2N - CH(R) - COO^- + H_3O^+,$$

$$K_{S_2} = \frac{[H_2N - CH(R) - COO^-][H_3O^+]}{[H_3^{\oplus}N - CH(R) - COO^-]}.$$

Значения *изоэлектрических точек* некоторых аминокислот приведены в таблице 2.4. При значении pH, равном pH_{iso}, наблюдается минимальная величина подвижности молекулы амфолита в электрическом поле. Различие в величинах pH_{iso}, как бы мало оно ни было, можно использовать для электрофоретического разделения аминокислот (раздел 5.4).

Таблица 2.4. Значения изоэлектрических точек некоторых α-аминокислот.

α-Аминокислота	R	pK_{S_1}	pK_{S_2}	pH_{iso}
глицин	H	2,34	9,60	5,97
аланин	CH_3	2,34	9,69	6,02
валин	$(CH_3)_2CH$	2,32	9,62	5,96

Зависимость равновесных концентраций от pH

Многие аналитические реакции протекают в водных растворах с участием только одной определенной равновесной формы кислоты или основания. Так, осадок сульфида выпадает только тогда, когда в растворе имеется достаточная концентрация лишь одной, полностью депротонированной формы сероводорода — S^{2-}. Комплексообразование ионов металлов также протекает с участием лишь одной определенной формы лиганда.

Существуют различные средства как графические, так и вычислительные (компьютерные алгоритмы), позволяющие находить равновесные концентрации всех форм кислоты или основания при заданном значении pH. Для графического решения этой задачи используют *логарифмические диаграммы*, предложенные Хэггом. Они представляют собой зависимости логарифма концентрации той или иной формы кислоты или основания от pH (рис. 2.1 и рис. 2.2). Построение таких диаграмм рассмотрим на примере слабой одноосновной кислоты S, находящейся в равновесии со своей основной формой B:

$$S + H_2O \rightleftharpoons B + H_3O^+. \tag{2.51}$$

Из выражений для константы кислотности K_S и уравнения материального баланса можно получить следующие зависимости равновесных концентраций обеих форм от pH:

$$[B] = c_0 \frac{K_S}{K_S + [H_3O^+]} = \frac{c_0}{1 + \frac{[H_3O^+]}{K_S}} = \frac{c_0}{1 + 10^{pK_S - pH}}, \tag{2.52}$$

$$[S] = c_0 \frac{[H_3O^+]}{K_S + [H_3O^+]} = \frac{c_0}{1 + \frac{K_S}{[H_3O^+]}} = \frac{c_0}{1 + 10^{pH - pK_S}}. \tag{2.53}$$

Прологарифмируем эти зависимости.

pH-зависимость для *основной формы*:

$$\lg[B] = \lg c_0 - \lg(1 + 10^{pK_S - pH}); \tag{2.54}$$

pH-зависимость для *кислотной формы*:

$$\lg[S] = \lg c_0 - \lg(1 + 10^{pH - pK_S}). \tag{2.55}$$

Для системы уксусная кислота — ацетат-ион графики этих зависимостей приведены на рис. 2.1. На кривых, изображенных на этом рисунке, можно выделить следующие участки.

При $pH < pK_S$ в уравнении (2.54) $10^{pK_S - pH} \gg 1$, поэтому

$$\lg[B] = \lg c_0 - (pK_S - pH) \qquad \frac{d\lg[B]}{d\,pH} = +1.$$

При этом же условии в уравнении (2.55) $10^{pH - pK_S} \ll 1$, следовательно,

$$\lg[S] = \lg c_0 \qquad \frac{d\lg[S]}{d\,pH} = 0.$$

В этой области pH на кривой для основной формы наблюдается прямолинейный участок, идущий параллельно зависимости $\lg[OH^-]$ от pH, а кривая для кислотной формы идет параллельно оси pH (рис. 2.1).

При $pH > pK_S$ в уравнении (2.54) $10^{pK_S - pH} \ll 1$, поэтому

$$\lg[B] = \lg c_0 \qquad \frac{d\lg[B]}{d\,pH} = 0.$$

В уравнении (2.55) $10^{pH - pK_S} \gg 1$, следовательно,

$$\lg[S] = \lg c_0 - (pH - pK_S) \qquad \frac{d\lg[S]}{d\,pH} = -1.$$

При pH более высоких, чем pK_S, кривая для основной формы асимптотическиприближается к горизонтальной прямой, а кривая для кислотной формы идет параллельно зависимости для концентрации $[H^+]$-ионов (рис. 2.1).

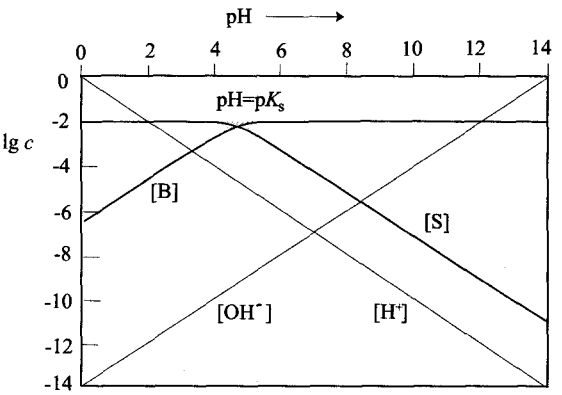


Рис. 2.1. Логарифмическая диаграмма для кислотно-основной пары уксусная кислота — ацетат-ион ($pK_S = 4,75$) при общей концентрации $c_0 = 0,01$ М.

В точке пересечения кривых для кислотной и основной форм $pH = pK_S$, а концентрации обеих форм можно найти из уравнений (2.52) и (2.53):

$$[B] = [S] = \frac{c_0}{2} \quad \text{или} \quad \lg[B] = \lg[S] = \lg c_0 - 0,30.$$

На рис. 2.2 приведен пример логарифмической диаграммы для *многоосновной* (ортофосфорной) кислоты. Ее построение основано на использовании уравнений (2.41)–(2.43) и не отличается от описанного выше. Для кислот, у которых последовательные значения pK_S различаются менее чем на 2 единицы, необходимо учитывать одновременное протекание нескольких кислотно-основных процессов. Для этого разработаны специальные компьютерные вычислительные алгоритмы.

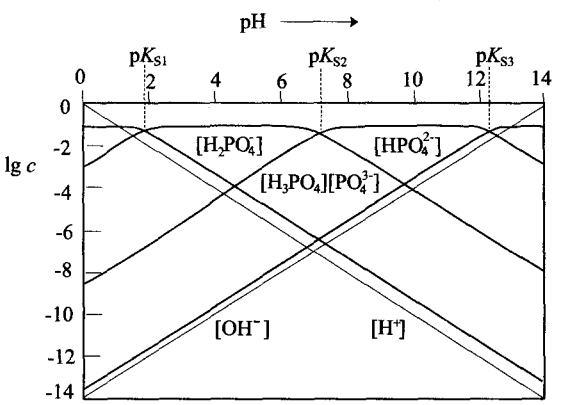


Рис. 2.2. Логарифмическая диаграмма для многоосновной кислоты (H_3PO_4, общая концентрация $c_0 = 0,1$ М).

Кислотно-основные буферы

Кислотно-основным буфером называется *химическая система, сохраняющая* (приблизительно) *постоянное значение* pH при добавлении к ней кислот или оснований. Примером природной буферной системы может служить кровь. Значение pH крови, равное 7,4, поддерживается благодаря наличию в ней смеси $CO_2 \cdot H_2O/HCO_3^-$ и амфотерных белков плазмы. В химическом анализе используют буферные системы, способные поддерживать постоянство pH в ходе анализа. На использовании буферных систем основано и плавное изменение pH (формирование градиента pH) в заданных пределах при хроматографическом разделении.

Кислотно-основные буферы представляют собой смеси компонентов кислотно-основной пары в близких концентрациях.

Кислотно-основная пара может состоять из слабой кислоты и ее аниона, например, CH_3COOH/CH_3COO^-, $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$, или слабого основания и его сопряженной кислоты-катиона — например, NH_3/NH_4^+.

Расчет pH буферных растворов

Заменив в выражении константы кислотной диссоциации (2.21) равновесные концентрации частиц общими концентрациями кислотной c_S и основной c_B формы, получим уравнение Хендерсона — Хассельбаха для расчета **pH буферного раствора**:

$$[H^+] = K_S \frac{c_S}{c_B}; \qquad pH = pK_S - \lg \frac{c_S}{c_B}. \tag{2.56}$$

Действие буферной системы проще всего понять путем проведения мысленного эксперимента (с использованием уравнения (2.56)) по добавлению к буферному раствору кислоты или основания и его разбавлению.

Рассмотрим ацетатный буферный раствор, состоящий из 0,1 М уксусной кислоты (HAc) и 0,1 М ацетата натрия (Ac^-). Для уксусной кислоты $pK_S = 4,75$.

- Исходное *значение pH буферного раствора* составляет:

$$pH = pK_S - \lg \frac{0,1}{0,1} = 4,75.$$

  Для буферных систем, состоящих из эквимолярных концентраций кислотной и основной форм, значение pH равно величине pK_S кислотной формы.

- *Добавление* $1 \cdot 10^{-2}$ *M HCl*:
  если добавить $1 \cdot 10^{-2}$ М хлористоводородной кислоты к чистой воде, не обладающей буферными свойствами, величина pH составит 2,00. В ацетатном же буферном растворе при этом будут протекать такие реакции:

  – кислотная диссоциация уксусной кислоты:

$$HAc + H_2O \rightleftharpoons Ac^- + H_3O^+,$$

  – взаимодействие ацетат-ионов с хлористоводородной кислотой:

$$Ac^- + HCl \rightleftharpoons HAc + Cl^-.$$

В результате величина pH составит

$$\text{pH} = \text{p}K_\text{S} - \lg\frac{c_\text{S} + c_\text{HCl}}{c_\text{B} - c_\text{HCl}} = 4,75 - \lg\frac{0,11}{0,09} = 4,66.$$

По сравнению с исходным значением величина pH уменьшилась всего на 0,09 единиц.

- *Добавление* $1 \cdot 10^{-2}$ *M NaOH*:
  при добавлении NaOH к ацетатному буферному раствору он будет реагировать с уксусной кислотой:

$$\text{HAc} + \text{NaOH} \rightleftharpoons \text{Na}^+ + \text{Ac}^- + \text{H}_2\text{O}.$$

  Расчет pH в этом случае выполняется аналогично:

$$\text{pH} = \text{p}K_\text{S} - \lg\frac{c_\text{S} - c_\text{NaOH}}{c_\text{B} + c_\text{NaOH}} = 4,75 - \lg\frac{0,09}{0,11} = 4,84.$$

  Здесь величина pH также изменилась всего на 0,09 единиц. В отсутствие же буфера значение pH было бы равно 12!

- *Разбавление буферного раствора в 100 раз*:

$$\text{pH} = 4,75 - \lg\frac{0,001}{0,001} = 4,75.$$

  При разбавлении величина pH буферного раствора не изменяется. Однако его буферная емкость, т. е. способность противостоять действию некоторого количества кислоты или основания, при этом снижается. Проведя вычисления, аналогичные приведенным выше, нетрудно убедиться, что раствор с концентрациями компонентов, равными 0,001 М, уже не способен поддерживать даже приближенно постоянное значение pH при добавлении 0,01 М кислоты. Рассмотрим понятие буферной емкости более подробно.

Буферная емкость

Буферная емкость есть мера способности буферного раствора поглощать сильные кислоты и основания без существенного изменения pH.

Буферная емкость зависит от концентраций компонентов буферной смеси. Буферную емкость β определяют как отношение концентрации добавленного к буферному раствору сильного основания к изменению pH раствора:

$$\beta = \frac{\text{d}c_\text{B}}{\text{d}\,\text{pH}}. \tag{2.57}$$

Если графически представить зависимость концентрации добавленного основания от величины pH, получится кривая, обратная кривой титрования (рис. 2.3). Наклон этой кривой соответствует буферной емкости системы (уравнение (2.57)) при соответствующих условиях.

При добавлении к буферному раствору кислоты буферная емкость выражается как производная со знаком минус:

$$\beta = -\frac{\text{d}c_\text{S}}{\text{d}\,\text{pH}}. \tag{2.58}$$

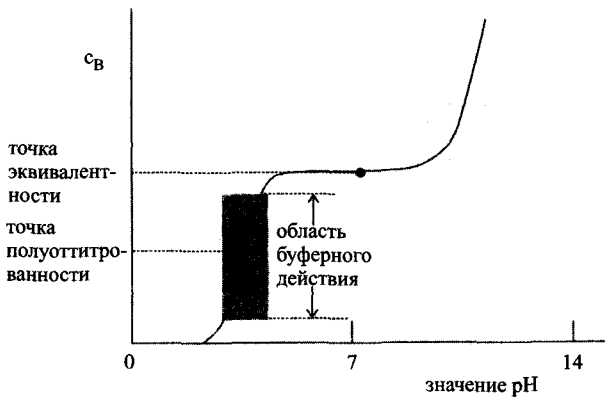


Рис. 2.3. Схематическое представление изменения pH буферного раствора при возрастании концентрации добавленного основания c_B как меры буферной емкости.

Для вычисления буферной емкости при определенном значении pH следует использовать уравнение (2.56). Для удобства дифференцирования перепишем его следующим образом:

$$\mathrm{pH} = \mathrm{p}K_S + \lg[\mathrm{B}] - \lg(c_0 - [\mathrm{B}]),$$

где $c_0 = [\mathrm{S}] + [\mathrm{B}]$. В результате дифференцирования получим:

$$\frac{\mathrm{d\,pH}}{\mathrm{d}c_B} = \frac{1}{\beta} = \frac{1}{2,3[\mathrm{B}]} + \frac{1}{2,3(c_0 - [\mathrm{B}])} = \frac{c_0}{2,3[\mathrm{B}][\mathrm{S}]}.$$

После подстановки c_0 и преобразования получаем выражение:

$$\beta = 2,3\frac{[\mathrm{S}][\mathrm{B}]}{[\mathrm{S}] + [\mathrm{B}]}. \tag{2.59}$$

Если, используя уравнения (2.52) и (2.53), представить буферную емкость как функцию от общей концентрации буфера и pH, то получится следующее приближенное выражение:

$$\beta = 2,3\frac{[\mathrm{H}^+]c_0K_\mathrm{S}}{\left([\mathrm{H}^+] + K_\mathrm{S}\right)^2}. \tag{2.60}$$

Зависимость буферной емкости от pH для системы уксусная кислота — ацетат-ион приведена на рис. 2.4.

Из рис. 2.4 можно сделать следующие выводы.

- Максимальная буферная емкость достигается при значении pH равном $\mathrm{p}K_S$. Для ацетатной буферной смеси это значение равно 4,75.

- Буферные растворы проявляют буферные свойства лишь при значениях pH вблизи точки максимальной буферной емкости. Практически эту область можно считать лежащей в диапазоне

$$\mathrm{pH} = \mathrm{p}K_\mathrm{S} \pm 1.$$

- При *разбавлении* буферных растворов значение pH не изменяется, но буферная емкость уменьшается.

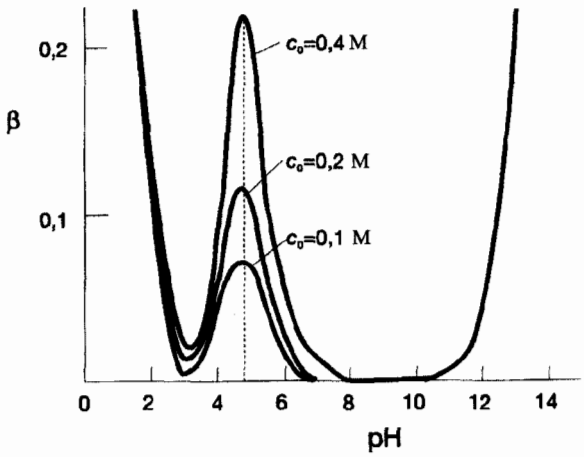
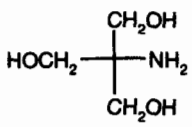


Рис. 2.4. Кривые буферной емкости для ацетатных буферных растворов различной концентрации.

Применение буферных систем в анализе

На практике в химическом анализе буферные системы могут использоваться как *стандарты* для величин pH. Такие стандартные буферы готовят по точным навескам составляющих их компонентов. Примерами могут служить стандартные буферные растворы на основе фталевой кислоты и гидрофталата калия или дигидрофосфата калия и гидрофосфата натрия (табл. 2.5). Они используются, например, для калибровки pH-метров.

Кроме того, буферы необходимы для поддержания как можно более постоянного значения pH при добавлении к раствору сильной кислоты или основания. Для этой цели часто используют многоосновные кислоты (лимонную, фосфорную) или их смеси. Из диаграммы распределения лимонной кислоты (рис. 2.5) видно, что цитратные буферные растворы проявляют максимальную буферную емкость вблизи значений pH 2,94, 4,14 и 5,82, равных соответствующим величинам pK_S лимонной кислоты.



Для поддержания pH в нейтральной области удобен трис-буфер на основе трис(оксиметил)-аминометана ($pK_S = 8,075$).

Таблица 2.5. Примеры буферных систем.

pH максимальной буферной емкости (область буферного действия)	Компоненты буфера
4,01	фталевая кислота, гидрофталат калия
4,75	уксусная кислота, ацетат натрия
6,86	KH_2PO_4, Na_2HPO_4
9,18	$Na_2B_4O_7 10H_2O$
9,25	NH_4Cl, NH_3
от 2 до 6	лимонная кислота (согласно Серенсену)
от 2,2 до 7	лимонная кислота, гидрофосфат натрия

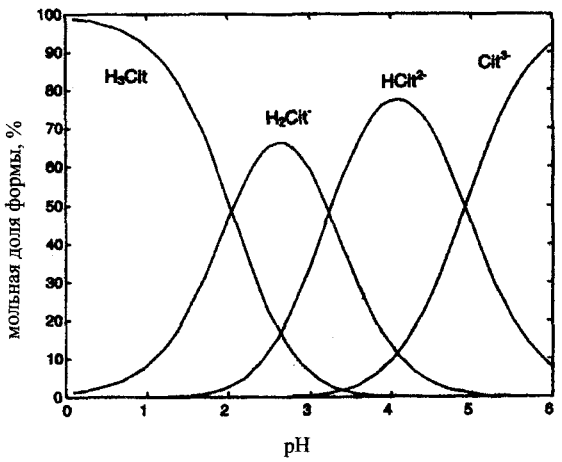


Рис. 2.5. Распределительная диаграмма для лимонной кислоты, применяемой в качестве буфера в области pH 2–6.

Кислотно-основное титрование

Кислотно-основное титрование применяют для *определения концентраций* кислот и оснований. Для этого к анализируемому раствору кислоты (основания) добавляют раствор реагента, называемого титрантом — основания (соответственно, кислоты) известной концентрации до тех пор, пока определяемое вещество и титрант не окажутся в эквивалентных друг другу количествах. Этот момент, называемый *точкой эквивалентности*, можно зафиксировать по изменению окраски индикатора или потенциометрическим методом (раздел 4.3). Для лучшего понимания теории и практического применения кислотно-основного титрования полезно познакомиться с кривыми титрования.

Ход кривой титрования

Кривой кислотно-основного титрования называется зависимость pH раствора от объема добавленного титранта или его концентрации. Чтобы облегчить сопоставление различных кривых титрования, количество титранта лучше всего характеризовать безразмерной величиной, которая называется *степень оттитрованности* и определяется как

$$\tau = \frac{c'}{c_0}, \tag{2.61}$$

где c' — концентрация добавленного титранта (кислоты или основания),
c_0 — концентрация титранта в точке эквивалентности.

Титрование сильных кислот и оснований. Рассмотрим сначала титрование сильной кислоты, например, HCl, раствором сильного основания, например, NaOH.

- *В начале титрования* ($\tau = 0$) значение pH определяется только концентрацией кислоты:

$$[H^+] = c_S; \qquad pH = -\lg c_S.$$

На рис. 2.6 (а) представлены кривые титрования 0,1 и 0,01 М растворов кислот. В начальной точке значения pH равны, соответственно, 1 и 2.

- *В точке эквивалентности*, при τ=1, среда *нейтральная*. Величина pH определяется процессом автопротолиза воды и может быть рассчитана из величины ионного произведения:

$$pH = \frac{1}{2} pK_W = 7,0 \quad (\text{при } 22^\circ C).$$

- В области до точки эквивалентности ($0 < \tau < 1$) концентрация протонов рассчитывается следующим образом:

$$[H^+] = c_0 - c', \quad pH = -\lg c_0 - \lg(1 - \tau)$$

(поскольку $c' = \tau c_0$).

- При *избытке титранта* ($\tau > 1$) величина pH определяется только избыточной концентрацией щелочи:

$$[OH^-] = c' - c_0, \qquad pH = pK_W + \lg c_0 + \lg(\tau - 1).$$

Вблизи точки эквивалентности на кривой титрования наблюдается *скачок* pH. Его величина зависит от концентрации титруемой кислоты и титранта. Чем выше эти концентрации, тем больше скачок (см. рис. 2.6 (а)).

На рис. 2.6 (б) представлены аналогичные кривые титрования сильного основания сильной кислотой. Здесь в начальной точке величина pH определяется концентрацией титруемого основания. В точке эквивалентности значение pH также определяется процессом автопротолиза воды и равно 7. После точки эквивалентности значения pH вновь определяются избытком титранта — в данном случае кислоты.

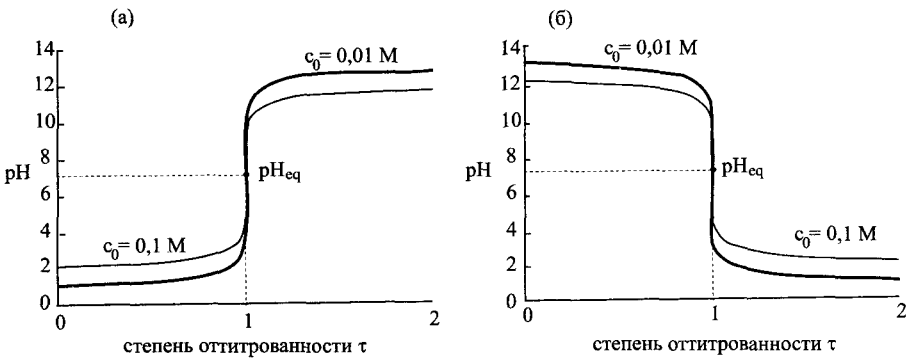


Рис. 2.6. (а) Кривая титрования сильной кислоты сильным основанием (0,01 М). (б) титрование сильного основания сильной кислотой (0,01 М).

Титрование слабых кислот и оснований. В качестве примера рассмотрим кривую титрования уксусной кислоты, являющуюся умеренно слабой, раствором сильного основания NaOH (рис. 2.7). На этой кривой можно выделить следующие характерные точки и участки.

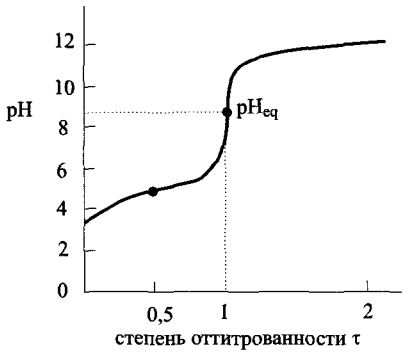


Рис. 2.7. Кривая титрования 0,01 М уксусной кислоты раствором 0,01 М NaOH.

- В начале титрования ($\tau = 0$) в системе присутствует только уксусная кислота. Значение pH рассчитывается по соответствующей формуле (2.33) для водного раствора слабой кислоты:

$$\mathrm{pH} = \frac{1}{2}(\mathrm{p}K_\mathrm{S} - \lg c_0).$$

  В данном случае (0,01 М раствор) величина pH составляет 3,38.
- В точке эквивалентности система представляет собой чистый раствор ацетата натрия, образовавшегося из уксусной кислоты. Величина pH рассчитывается по уравнению (2.39) для раствора слабого основания:

$$\mathrm{pH} = 14 - \frac{1}{2}(\mathrm{p}K_\mathrm{B} - \lg c_0).$$

  В рассматриваемом случае (рис. 2.7) pH равно 8,38.
- В области до точки эквивалентности ($0 < \tau < 1$) раствор пред- ставляет собой буфер. Величина его pH рассчитывается по уравнению (2.56):

$$\mathrm{pH} = \mathrm{p}K_\mathrm{S} - \lg\frac{[\mathrm{HAc}]}{[\mathrm{Ac}^-]}.$$

  Если в первом приближении пренебречь кислотной и основной диссоциацией HAc и Ac^-, соответственно, и принять $[Ac^-] = c'$, то

$$\mathrm{pH} = \mathrm{p}K_\mathrm{S} - \lg\frac{c_0 - c'}{c'}.$$

  (поскольку $c_0 = [\mathrm{HAc}] + [\mathrm{Ac}^-]$, $[\mathrm{HAc}] = c_0 - c'$).

  В точке полуоттитрованности ($\tau = 0,5$) значение pH равно $\mathrm{p}K_S$:

$$\mathrm{pH} = \mathrm{p}K_\mathrm{S} - \lg\frac{c_0 - 0,5c_0}{0,5c_0} = \mathrm{p}K_\mathrm{S} - \lg 1 = \mathrm{p}K_\mathrm{S}.$$

  В этой точке достигается *максимальное значение буферной емкости.*
- Ход кривой при $\tau > 1$ в точности совпадает с таковым для кривой титрования сильной кислоты сильным основанием.

При рассмотрении кривой титрования на рис. 2.7 важно отметить, что теперь точка эквивалентности лежит не в нейтральной, а в *щелочной* области. Это важно знать для выбора индикатора.

Все основные положения, касающиеся кривых титрования слабых кислот сильными основаниями, справедливы и для кривых титрования *слабых оснований* сильными кислотами. В качестве примера на рис. 2.8 приведена кривая титрования раствора аммиака раствором хлористоводородной кислоты. Соответствующие расчеты pH приведены в табл. 2.6. Точка эквивалентности в этом случае лежит в кислой области.

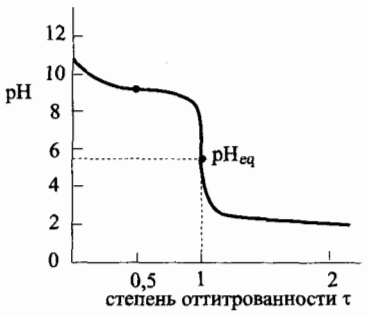


Рис. 2.8. Кривая титрования 0,01 М раствора аммиака 0,01 М раствором HCl.

Титрование многоосновных кислот. Кислотно-основная диссоциация многоосновных кислот была рассмотрена ранее на примере ортофосфорной кислоты (уравнения (2.41)–(2.43)). Кривая титрования 0,1 М раствора H_3PO_4 раствором едкого натра приведена на рис. 2.9. При достаточном различии в последовательных значениях pK_S многоосновная кислота ведет себя как *смесь* соответствующих *одноосновных кислот*.

Таблица 2.6. Расчет pH в некоторых точках кривой титрования слабого основания — аммиака (0,01 М) сильной кислотой — HCl (0,01 М).

Степень оттитрованности	Формула для расчета pH	Значение pH
$\tau = 0$	$pH = 14 - \frac{1}{2}(pK_B - \lg c_0)$	10,63
$\tau = 0,5$	$pH = pK_W - pK_B$	9,25
$\tau = 1,0$	$pH = \frac{1}{2}(pK_S - \lg c_0)$	5,63
$\tau > 1$	$pH = -\lg[(\tau - 1)c_0]$	–

Первая точка эквивалентности на рис. 2.9 соответствует оттитровыванию фосфорной кислоты до $H_2PO_4^-$. При добавлении удвоенного количества NaOH достигается вторая точка эквивалентности, соответствующая оттитровыванию до HPO_4^{2-}. Третья точка эквивалентности находится в сильнощелочной области; практического значения она не имеет. В точках с $\tau = 0,5$ и 1,5 значения pH равны соответствующим величинам pK_S (ср. рис. 2.2). Величины pH в точках эквивалентности равны

$$pH_{eq_1} = \frac{1}{2}(pK_{S_1} + pK_{S_2}), \qquad pH_{eq_2} = \frac{1}{2}(pK_{S_2} + pK_{S_3}).$$

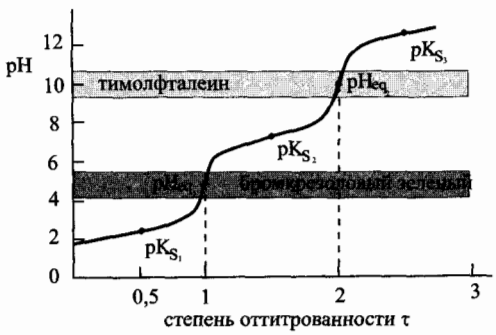
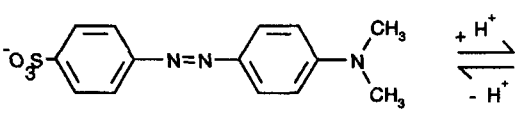


Рис. 2.9. Кривая титрования 0,1 М H_3PO_4 раствором 0,01 М NaOH.

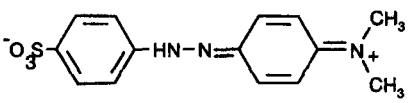
На рис. 2.9 приведены также области pH изменения окраски индикаторов. Для индикации первой точки эквивалентности (в кислой области) применяют индикатор бромкрезоловый зеленый, а второй точки — тимолфталеин. Принцип действия кислотно-основных индикаторов рассмотрен в следующем разделе.

Кислотно-основные индикаторы

Кислотно-основные индикаторы — это *красители*, изменяющие свою окраску в зависимости от величины pH. Причина зависимости окраски индикаторов от pH в том, что они существуют в двух формах — кислотной и основной.



основная (желтая)



кислотная (красная)

Рис. 2.10. Кислотная и основная формы метилового оранжевого.

На рис. 2.10 изображены формулы кислотной и основной форм индикатора *метилового оранжевого*. В общем случае между кислотной HIn и основной In^- формами индикатора существует кислотно-основное равновесие:

$$HIn + H_2O \rightleftharpoons In^- + H_3O^+, \tag{2.62}$$

$$K_i = \frac{[H_3O^+][In^-]}{[HIn]}. \tag{2.63}$$

Отрицательный десятичный логарифм константы кислотности индикатора K_i называется *показателем титрования* p_i. Из этой величины и формулы для расчета pH буферного раствора (2.56) можно получить выражение, характеризующее преобладающую форму индикатора в растворе:

$$pH = p_i - \lg \frac{[HIn]}{[In^-]}. \tag{2.64}$$

Из этого следует, что:

при $pH < p_i$	преобладает кислотная форма HIn (красная в случае метилового оранжевого, рис. 2.10);
при $pH > p_i$	преобладает основная форма In^- (желтая в случае метилового оранжевого).

Различают индикаторы одноцветные, у которых одна из форм окрашена, а другая — бесцветна (например, фенолфталеин, рис. 2.11), и двухцветные, у которых окрашены обе формы (как у метилового оранжевого).

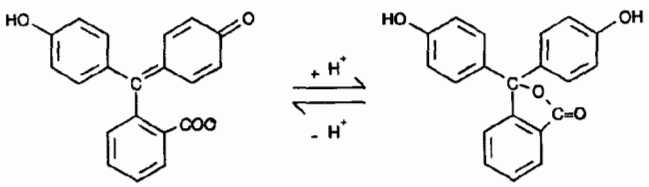


Рис. 2.11. Кислотная и основная формы трифенилметанового красителя фенолфталеина.

Двухцветные индикаторы

Человеческий глаз способен различить переход окраски, когда соотношение концентраций окрашенных форм индикатора изменяется от 1 : 10 до 10 : 1. Применительно к ***двухцветным индикаторам*** это означает, что

при $\mathrm{pH} = p_i - 1$ *(когда* $\frac{[\mathrm{HIn}]}{[\mathrm{In}^-]} = 10$*) наблюдается только окраска кислотной формы,*

а при $\mathrm{pH} = p_i + 1$ *— только основной. Таким образом, интервал перехода окраски индикатора составляет*

$$\mathrm{pH} = p_i \pm 1. \tag{2.65}$$

Поскольку окраска форм индикатора может иметь разную интенсивность и по-разному восприниматься глазом, уравнение (2.65) — приближенное. На практике интервал перехода окраски индикатора часто оказывается несимметричным.

Одноцветные индикаторы

В случае *одноцветных индикаторов* восприятие перехода окраски более сложное. Допустим, что бесцветна кислотная форма индикатора (как в случае фенолфталеина). Если обозначить общую концентрацию индикатора как $c_{0,I}$, то можно записать:

$$\mathrm{pH} = p_\mathrm{i} - \lg \frac{c_{0,\mathrm{I}} - [\mathrm{In}^-]}{[\mathrm{In}^-]} \tag{2.66}$$

(поскольку $c_{0,I} = [\mathrm{HIn}] + [\mathrm{In}^-]$).

В момент появления окраски концентрация бесцветной, кислотной, формы намного выше, чем окрашенной, основной, и $c_{0,I} \gg [\mathrm{In}^-]$. При этом выражение (2.66) упрощается:

$$\mathrm{pH} = p_\mathrm{i} - \lg c_{0,\mathrm{I}} + \lg [\mathrm{In}^-]. \tag{2.67}$$

Таким образом, интервал перехода окраски одноцветного индикатора зависит от его *концентрации*. Чем она выше, тем ниже pH появления окраски. При практическом использовании одноцветных индикаторов следует точно выдерживать его рекомендуемое количество.

Выбор индикатора

В табл. П.2 и табл. П.3 приложения приведены наиболее распространенные кислотно-основные индикаторы и их интервалы перехода окраски. Наряду с про-

стыми индикаторами используют и их специально подобранные смеси (смешанные индикаторы). Обычно в нейтральной среде они имеют серую окраску.

При выборе индикаторов можно руководствоваться следующими практическими правилами.

При титровании *сильных кислот* (оснований) *сильными основаниями* (кислотами) можно использовать любые индикаторы, изменяющие окраску в интервале pH от 4 до 10.

При титровании *слабых кислот сильными основаниями* необходимо использовать индикаторы, изменяющие окраску в *щелочной* среде.

При титровании *слабых оснований сильными кислотами* индикатор должен изменять окраску в *кислой* среде.

Более точный выбор индикатора производится на основании значения pH в точке эквивалентности (см. рис. 2.9).

Мешающее влияние диоксида углерода

Следует учитывать, что вода может содержать растворенный CO_2, проявляющий в водном растворе свойства слабой кислоты:

$$CO_2 \cdot H_2O + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H_3O^+, \qquad pK_{S_1} = 6,4; \tag{2.68}$$

$$HCO_3^- + H_2O \rightleftharpoons CO_3^{2-} + H_3O^+, \qquad pK_{S_2} = 10,3. \tag{2.69}$$

Наличие растворенного CO_2 создает проблемы в случаях, если титрование заканчивают в щелочной среде. При титровании слабого основания сильной кислотой результаты оказываются заниженными, поскольку часть титруемого основания связывается угольной кислотой.

При титровании кислоты основанием результаты получаются завышенными, так как при этом титруется также гидрокарбонат-ион. Погрешность возникает и в том случае, если диоксид углерода содержится в *стандартном растворе титранта-основания* (как правило, NaOH). В этом случае его титр снижается, поскольку часть щелочи переходит в ион CO_3^{2-}.

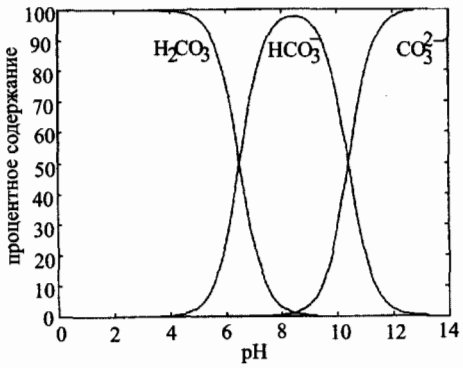
Чтобы избежать помех со стороны растворенного CO_2, воду для приготовления растворов для титрования следует предварительно прокипятить. Всегда, когда это возможно, следует использовать индикатор, изменяющий окраску в кислой среде.

Примеры практического применения

Многочисленные практические аспекты кислотно-основного титрования включают в себя, в частности, вопросы, связанные с *приготовлением стандартных растворов* и их *стандартизации* (точного определения концентрации) путем титрования подходящего химического вещества. Об этом можно прочитать в практических руководствах.

Титрование сильных и умеренно сильных кислот (оснований) растворами сильных оснований (соответственно, кислот) обычно не вызывает практических затруднений (см. кривые титрования на рис. 2.6–2.9). Раствором NaOH можно легко оттитровать такие кислоты, как HCl, $HClO_4$, H_2SO_4 или H_3PO_4 (по первой ступени). Так же легко можно оттитровать растворы NaOH, KOH или NH_3 раствором HCl.

Определение *суммарного* содержания кислот или оснований — необходимая процедура при *оценке качества вод* (германский стандарт DIN 38 409/H7 по потреблению водами кислот и щелочей). Расход кислоты либо щелочи определяют, титруя пробу воды растворами HCl и NaOH с индикаторами метиловым оранжевым и фенолфталеином, соответственно. Если в воде содержатся только сильные электролиты, наблюдается отчетливый переход окраски. При наличии же слабых электролитов (таких, как угольная кислота) переход окраски размыт. В этих случаях необходимо титровать воду до строго определенного значения pH — 4,3 в кислой и 8,2 в щелочной среде.

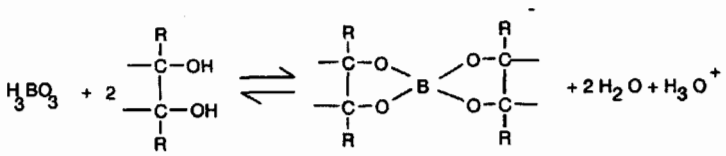


Распределительная диаграмма равновесных форм угольной кислоты, рассчитанная по уравнениям (2.68) и (2.69).

При титровании очень слабых кислот или оснований изменение pH вблизи точки эквивалентности весьма незначительное. В таких случаях применяют специальные приемы, с которыми мы познакомимся на примерах определения борной кислоты и иона аммония.

Определение борной кислоты

Борная кислота является очень слабой одноосновной кислотой с $pK_S = 9,3$. Прямое титрование столь слабых кислот невозможно. Однако борную кислоту можно превратить в кислоту средней силы путем комплексообразования с многоатомными спиртами, например, маннитом:



$$R = CHOH - CH_2OH. \tag{2.70}$$

При титровании борной кислоты в присутствии маннита раствором NaOH в качестве индикатора используют фенолфталеин.

Определение иона аммония

Величина pK_S иона NH_4^+ составляет 9,25 (табл. П.1 приложения):

$$NH_4^+ + H_2O \rightleftharpoons NH_3 + H_3O^+. \tag{2.71}$$

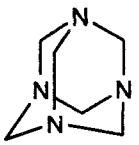
Для увеличения силы иона аммония как кислоты титрование проводят в присутствии избытка формальдегида, смещающего равновесие (2.71) вправо за счет

взаимодействия с аммиаком по реакции

$$4NH_3 + 6CH_2O \rightleftharpoons C_6H_{12}N_4 + 6H_2O. \qquad (2.72)$$

При этом образуется гексаметилентетрамин (уротропин) — вещество, в ходе титрования действующее как буфер.

Титрование в неводных растворителях



уротропин

Теория Бренстеда применима и к растворам в неводных протонсодержащих растворителях, способных к кислотно-основным взаимодействиям. Путем измерения электропроводности можно показать, что такие *амфипротные* растворители претерпевают автопротолиз подобно воде. В общем случае реакцию автопротолиза растворителя LH можно записать как

$$LH + LH \rightleftharpoons LH_2^+ + L^-. \qquad (2.73)$$

Ионы LH_2^+ и L^-, возникающие в результате автопротолиза, называются, соответственно, *лионий* и *лиат*. Константы автопротолиза K_{LH} для некоторых растворителей приведены в табл. 2.7.

При титровании в неводных растворителях может подавляться наблюдающийся в водных растворах нивелирующий эффект — выравнивание кислотно-основных свойств сильных кислот (оснований). В неводных же растворах сила этих кислот может оказаться *различной*. Так, кислоты, в воде ведущие себя как сильные (и, следовательно, неразличимые по кислотно-основным свойствам), в ледяной уксусной кислоте имеют следующие значения pK_S:

$$HClO_4, \qquad pK_S = 4,87;$$
$$H_2SO_4, \qquad pK_S = 7,24;$$
$$HCl, \qquad pK_S = 8,55.$$

Таблица 2.7. *Константы автопротолиза K_{LH} некоторых амфипротных растворителей.*

$2LH \rightleftharpoons LH_2^+ + L^-$	Температура, °C	K_{LH}, моль^{2}л$^{-2}$
$2NH_3 \rightleftharpoons NH_4^+ + NH_2^-$	−33	10^{-22}
$2CH_3OH \rightleftharpoons CH_3OH_2^+ + CH_3O^-$	25	10^{-17}
$2H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + OH^-$	22	10^{-14}
$2CH_3COOH \rightleftharpoons CH_3COOH_2^+ + CH_3COO^-$	25	10^{-13}
$2HCOOH \rightleftharpoons HCOOH_2^+ + HCOO^-$	25	10^{-6}

По отношению же к *основаниям* нивелирующий эффект проявляет как раз ледяная уксусная кислота. Этот эффект можно использовать для титрования тех слабых оснований, которые в водном растворе напрямую оттитровать невозможно. В ледяной же уксусной кислоте они становятся сильными и могут быть оттитрованы, например, раствором $HClO_4$. Конечную точку титрования в этих случаях устанавливают также с помощью соответствующих окрашенных индикаторов либо потенциометрически.

Очень слабые кислоты, такие, как угольная или фенолы, можно оттитровать в среде диметилформамида или диметилсульфоксида. Титрантом в этом случае может служить раствор чистого KOH в этаноле.

В фармацевтическом анализе при определении органических веществ, мало растворимых в воде, часто приходится вести титрование в смешанных средах таких, как вода–метанол. При переходе от водных к смешанным средам величины pH изменяются, что можно учесть с помощью эмпирических поправок.

2.3. Применение реакций осаждения в гравиметрии, титриметрии и для маскирования

Реакции осаждения с давних пор использовали в анализе для качественного обнаружения неорганических ионов. В количественном анализе реакции осаждения используются в *гравиметрии* и *осадительном титровании*. Сначала мы рассмотрим теоретические основы реакций осаждения.

Описание равновесий осаждения

В результате реакции осаждения достигается состояние равновесия между малорастворимым соединением и составляющими его ионами в растворе. Выпадение осадка хромата серебра из водного раствора можно описать следующим уравнением:

$$2Ag^+ + CrO_4^{2-} \rightleftharpoons Ag_2CrO_4(s). \tag{2.74}$$

Важнейшей характеристикой малорастворимого соединения является произведение растворимости — константа приведенного выше равновесия:

$$K_L = [Ag^+]^2[CrO_4^{2-}] \tag{2.75}$$

(приведено выражение концентрационной константы).

Коцентрационное и термодинамическое произведение растворимости

В общем случае равновесие образования осадка можно записать как

$$\{K_{\nu_+} A_{\nu_-}\} \rightleftharpoons \nu_+ K^{z+} + \nu_- A^{z-}, \tag{2.76}$$

где ν_+, ν_- — стехиометрические коэффициенты при катионе K^{z+} и анионе A^{z-};
z_+, z_- — заряды катиона и аниона.

Если выражение закона действующих масс записать с использованием активностей ионов, т. е. произведений их концентраций на коэффициенты активности, то получим ***термодинамическое произведение растворимости***:

$$K_L^+ = a_+^{\nu_+} a_-^{\nu_-} = f_+^{\nu_+} f_-^{\nu_-} [K^{z+}]^{\nu_+} [A^{z-}]^{\nu_-}, \tag{2.77}$$

где a_+, a_- — активности катиона и аниона;
f_+, f_- — коэффициенты активности катиона и аниона.

Чтобы вместо активностей ионов использовать их концентрации, должны либо быть известны коэффициенты активности, либо существовать условия, при которых коэффициенты активности можно приближенно принять равными единице:

$$f_{\pm} \approx 1.$$

Эти условия наблюдаются в достаточно разбавленных растворах, например, в чистых растворах весьма мало растворимых электролитов. В этом случае можно вместо термодинамического непосредственно использовать ***концентрационное произведение растворимости*** K_{L}:

$$K_{\mathrm{L}} = [\mathrm{K}^{z+}]^{\nu_+}[\mathrm{A}^{z-}]^{\nu_-}. \tag{2.78}$$

В аналитической практике такие растворы встречаются редко. Обычно в анализируемых растворах присутствуют посторонние ионы, увеличивающие ионную силу и уменьшающие коэффициенты активности. По определению, ***ионной силой*** называется величина, равная

$$I = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{\mathrm{n}} c_i z_i^2, \tag{2.79}$$

где n — число различных типов ионов, присутствующих в растворе;

c_i — концентрация иона i-го сорта и

z_i — заряд иона i-го сорта.

Например, в 0,01М растворе Na_2SO_4 ионная сила равна 0,03 моль/л, поскольку

$$I = \frac{1}{2}(0,02 \cdot 1^2 + 0,01 \cdot 2^2) = 0,03\,\text{моль/л}.$$

Связь между ионной силой раствора и средним коэффициентом активности иона характеризует уравнение Льюиса:

$$\lg f_{\pm} = -Az_+ |z_-| \sqrt{I}\,. \tag{2.80}$$

Здесь A — константа. Детальное обсуждение физической модели, положенной в основу этого уравнения, можно найти в учебниках по физической химии. Аналитику важно понимать, что произведение растворимости сохраняет постоянное значение только *при определенной ионной силе*. Поэтому методика анализа должна быть построена таким образом, чтобы исключить погрешности, связанные с возможным изменением ионной силы в ходе ее выполнения.

Произведения растворимости некоторых используемых в анализе малорастворимых соединений приведены в табл. 2.8 и табл. П.4 приложения.

Таблица 2.8. Произведения растворимости некоторых малорастворимых соединений.

Соединение	K_L	pK_L
$BaSO_4$	$1,09 \cdot 10^{-10}$ моль^{2}л$^{-2}$	9,96
AgCl	$1,78 \cdot 10^{-10}$ моль^{2}л$^{-2}$	9,75
PbS	$3,4 \cdot 10^{-28}$ моль^{2}л$^{-2}$	27,5
Ag_2CrO_4	$2 \cdot 10^{-12}$ моль^{3}л$^{-3}$	11,7
CdS	$\approx 10^{-26}$ моль^{2}л$^{-2}$	26

Концентрация в насыщенном растворе и растворимость

Малорастворимое соединение начинает выпадать в осадок в случае, если произведение концентраций составляющих его ионов превышает произведение растворимости. Выпадение происходит до тех пор, пока концентрация вещества не станет равной концентрации в его *насыщенном растворе* c_{sa}. Она называется *растворимостью*. В свою очередь, при контакте с водой происходит растворение малорастворимого соединения до тех пор, пока его концентрация в растворе не станет равна его растворимости.

Равновесные концентрации катиона и аниона малорастворимого соединения связаны с его растворимостью следующим образом:

$$[K^{z+}] = \nu_+ c_{sa}, \qquad [A^{z-}] = \nu_- c_{sa}.$$

Подставив эти соотношения в выражение произведения растворимости, получим:

$$K_L = \nu_+^{\nu_+} \nu_-^{\nu_-} c_{sa}^{\nu_+ + \nu_-}. \tag{2.81}$$

Отсюда можно рассчитать растворимость:

$$c_{sa} = \sqrt[\nu_+ + \nu_-]{\frac{K_L}{\nu_+^{\nu_+} \nu_-^{\nu_-}}}.$$

Для примера рассчитаем растворимость в чистой воде хлорида и хромата серебра.

Растворимость AgCl:

$$K_L = [Ag^+][Cl^-], \qquad c_{sa} = [Ag^+] = [Cl^-],$$

$$c_{sa} = \sqrt{K_L} = 1{,}33 \cdot 10^{-5}\ \text{M}.$$

Растворимость Ag_2CrO_4:

$$K_L = [Ag^+]^2[CrO_4^{2-}], \qquad c_{sa} = \frac{1}{2}[Ag^+] = [CrO_4^{2-}],$$

$$c_{sa} = \sqrt[3]{\frac{K_L}{4}} = 7{,}94 \cdot 10^{-5}\ \text{M}.$$

Растворимость хромата серебра равна концентрации ионов CrO_4^{2-} в его насыщенном растворе. Концентрация ионов Ag^+ в таком растворе вдвое выше, т. е. $1{,}59 \cdot 10^{-4}$ M.

Степень осаждения

Полноту выпадения осадка характеризует *степень осаждения* α — отношение количества вещества, выпавшего в осадок, к исходному его количеству в растворе. Последнее можно рассчитать как произведение исходной концентрации вещества на объем раствора, а количество вещества, выпавшего в осадок, — по разности:

$$\alpha = \frac{c_0 V_0 - c'V'}{c_0 V_0} = 1 - \frac{c'V'}{c_0 V_0}, \tag{2.82}$$

где $c_0 V_0$ — исходное количество вещества в растворе,

$c'V'$ — количество вещества, оставшееся в растворе после осаждения.

Пример. Какова степень осаждения серебра из 0,1 М раствора $AgNO_3$ после добавления к нему равного объема 0,1 М раствора HCl?

Концентрацию серебра, оставшегося в растворе, найдем из произведения растворимости:

$$c' = c_{sa} = \sqrt{K_L} = 1,33 \cdot 10^{-5}\,\text{М}.$$

Учитывая двукратное разбавление раствора в процессе осаждения ($V'/V_0 = 2/1$), получаем:

$$\alpha = 1 - \frac{1,33 \cdot 10^{-5} \cdot 2}{0,1 \cdot 1} = 0,9997.$$

Полнота осаждения серебра составляет 99,97%.

Факторы, влияющие на равновесие осадок-раствор

До сих пор мы упоминали лишь о том, что положение равновесия осадок-раствор может измениться вследствие изменения ионной силы. Однако в аналитической практике часто встречаются случаи, когда положение этого равновесия изменяется также под воздействием ионов, участвующих либо непосредственно в нем, либо в других равновесиях таких, как комплексообразование. Соответственно, различают эффекты, вызванные *одноименными ионами* и *посторонними ионами*.

Влияние одноименного иона

Растворимость малорастворимого соединения понижается в присутствии избытка иона, входящего в его состав. Мы видели, что в чистом водном растворе Ag_2CrO_4 концентрация иона CrO_4^{2-} составляет $7,94 \cdot 10^{-5}$ М. Посмотрим, как она изменится в результате добавления ионов Ag^+ в концентрации 0,1 М. Из произведения растворимости хромата серебра

$$K_L = [Ag^+]^2[CrO_4^{2-}] \tag{2.83}$$

находим:

$$c_{sa} = [CrO_4^{2-}] = \frac{K_L}{[Ag^+]^2} = \frac{2 \cdot 10^{-12}}{0,1^2} = 2 \cdot 10^{-10}\,\text{М}.$$

При расчете мы пренебрегли той частью ионов Ag^+, которая перешла в раствор из осадка.

Влияние посторонних ионов

Посторонние ионы, присутствующие в растворе, не только изменяют его ионную силу, но и могут участвовать в побочных равновесиях, в частности, комплексообразования и кислотно-основных.

Влияние комплексообразования на растворимость. Лиганды, присутствующие в растворе, могут связывать катионы осадка в комплексы и тем самым увеличивать его растворимость. Это явление известно еще из курса качественного анализа, где оно используется для растворения серебра из осадка хлоридов металлов под действием аммиака.

Осаждение: $Ag^+ + Cl^- \rightleftharpoons AgCl(s)$

Комплексообразование: $Ag^+ + 2NH_3 \rightleftharpoons Ag(NH_3)_2^+$

Суммарное уравнение: $AgCl + 2NH_3 \rightleftharpoons Ag(NH_3)_2^+ + Cl^-$

Количественное описание этого процесса будет рассмотрено в разделе 2.4, посвященном комплексообразованию.

Влияние кислотно-основных равновесий на растворимость. Влияние кислотно-основных процессов на растворимость осадков может заключаться в протонировании аниона или взаимодействии катиона металла с гидроксид-ионами. Рассмотрим достаточно сложный пример влияния кислотно-основных равновесий на растворимость таких осадков, как ***сульфиды*** двухзарядных катионов M^{2+}, например, Cu^{2+} или Pb^{2+}. Образование этих сульфидов используется на практике при определении сероводорода в воздухе с помощью индикаторных трубок Дрегера.

При взаимодействии сероводорода с катионом металла протекают следующие взаимосвязанные процессы.

Общее уравнение реакции:

$$M^{2+} + H_2S + 2H_2O \rightleftharpoons MS + 2H_3O^+. \tag{2.84}$$

Отдельные реакции:

$$H_2S + H_2O \rightleftharpoons HS^- + H_3O^+, \qquad pK_{S_1} = 7,0, \tag{2.85}$$

$$HS^- + H_2O \rightleftharpoons S^{2-} + H_3O^+, \qquad pK_{S_2} = 13,0, \tag{2.86}$$

$$M^{2+} + S^{2-} \rightleftharpoons MS. \tag{2.87}$$

Им соответствуют константы равновесий:

Произведение растворимости:

$$K_L = [M^{2+}][S^{2-}]. \tag{2.88}$$

Константы кислотности сероводорода:

$$K_{S_1} = \frac{[H_3O^+][HS^-]}{[H_2S]}, \tag{2.89}$$

$$K_{S_2} = \frac{[H_3O^+][S^{2-}]}{[HS^-]}. \tag{2.90}$$

Выражение для растворимости в этом случае имеет следующий вид:

$$c_{sa} = [M^{2+}] = [S^{2-}] + [HS^-] + [H_2S] \tag{2.91}$$

Если выразить равновесные концентрации $[HS^-]$ и $[H_2S]$ через $[S^{2-}]$ из уравнений (2.89) и (2.90) и подставить их в (2.91), получим:

$$c_{sa} = [S^{2-}]\left(1 + \frac{[H_3O^+]}{K_{S_2}} + \frac{[H_3O^+]^2}{K_{S_1}K_{S_2}}\right). \tag{2.92}$$

С использованием уравнения произведения растворимости (2.88) получим следующее выражение для растворимости сульфида металла:

$$c_{sa} = \sqrt{K_L\left(1 + \frac{[H_3O^+]}{K_{S_2}} + \frac{[H_3O^+]^2}{K_{S_1}K_{S_2}}\right)}. \tag{2.93}$$

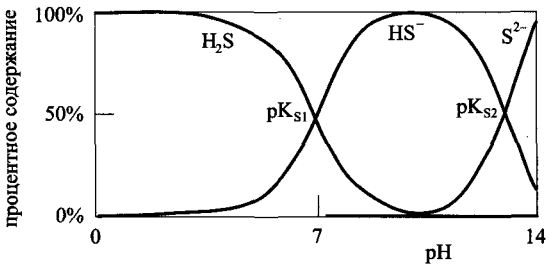


Рис. 2.12. Диаграмма распределения отдельных форм сероводорода в водном растворе.

Мы видим, что если, как в рассматриваемом случае, анион осадка (сульфид-ион) способен протонироваться, то растворимость зависит уже не только от величины *произведения растворимости* K_L, но и *значения pH* раствора. Чем выше концентрация протонов в растворе, т. е. чем ниже величина pH, тем выше растворимость, тем меньше полнота осаждения. Этот вывод можно сделать и при помощи непосредственного рассмотрения зависимости равновесной концентрации свободного иона S^{2-} от pH. На рис. 2.12 изображена зависимость доли отдельных форм сероводорода от pH в диапазоне pH от 0 до 14. Видно, что с уменьшением pH равновесная концентрация иона S^{2-}, необходимого для осаждения, уменьшается, что снижает степень осаждения.

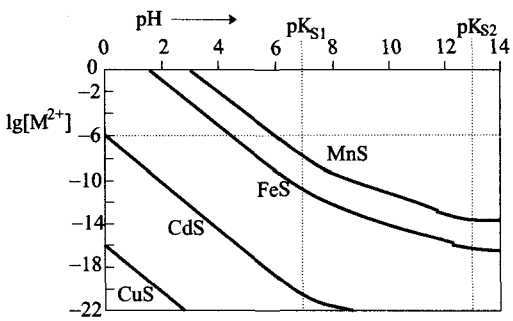


Рис. 2.13. Логарифмическая диаграмма, иллюстрирующая зависимость полноты осаждения сульфидов различных ионов металлов от pH.

Влияние pH на процесс осаждения сульфидов ионов металлов иллюстрирует также рис. 2.13. Будем считать осаждение полным, если остаточная концентрация иона металла в растворе не превышает $1 \cdot 10^{-6}$ М. Как видно из рис. 2.13, для достижения полноты осаждения сульфидов меди, кадмия, железа и марганца необходимы значения pH, приведенные ниже.

CuS ($pK_L \approx 44$) — осаждается при любом pH;

CdS ($pK_L \approx 22$) — при $pH \geq 0$;

FeS ($pK_L \approx 18$) — при $pH \geq 4,5$;

MnS ($pK_L \approx 15$) — при $pH \geq 6$.

Для расчета растворимости *гидроксидов металлов* в зависимости от pH можно использовать следующие выражения:

уравнение реакции осаждения:
$$\nu_+ M^{z+} + \nu_- OH^- \rightleftharpoons M_{\nu_+}(OH)_{\nu_-}; \qquad (2.94)$$

произведение растворимости:
$$K_L = [M^{z+}]^{\nu_+}[OH^-]^{\nu_-}; \qquad (2.95)$$

растворимость (при $\nu^+ = 1$):
$$c_{sa} = [M^{z+}]^{\nu^+} = \frac{K_L}{[OH^-]^{\nu_-}} = \frac{K_L[H_3O^+]^{\nu_-}}{K_W^{\nu_-}}. \qquad (2.96)$$

Из уравнения (2.96) можно, в частности, заключить, что при pH 10 гидроксид алюминия ($pK_L = 32,7$) выпадает полностью (его растворимость в этих условиях составляет $2 \cdot 10^{-21}$ М), а гидроксид магния ($pK_L = 10,74$) — далеко не полностью (его растворимость равна $1,82 \cdot 10^{-3}$ М).

Практическое применение

Разделение катионов металлов

Схема разделения классического качественного анализа основана на групповой селективности реагентов-осадителей по отношению к химически сходным ионам металлов. В табл. 2.9 схематически представлен ход разделения ионов сероводородным методом. Сначала отделяют катионы первой группы, *группы хлористоводородной кислоты*, образующие малорастворимые хлориды с pK_L от 17,88 для Hg_2Cl_2 до 4,77 для $PbCl_2$ (см. табл. П.4 приложения). Затем осаждают катионы *сероводородной группы*, имеющие значения pK_L сульфидов выше 25, в сильнокислой среде. Катионы, для сульфидов которых pK_L меньше 25, составляют *группу сульфида аммония*; их отделяют в аммиачной среде. Предварительно действием аммиачно-аммонийного буферного раствора осаждают малорастворимые гидроксиды трехзарядных ионов *группы аммиака*. Для этих гидроксидов значения pK_L выше 30. В последнюю очередь отделяют малорастворимые карбонаты катионов щелочноземельных металлов, входящих в *группу карбоната аммония*. При этом магний остаётся в растворе вместе с калием и натрием. Для этих ионов группового реагента нет.

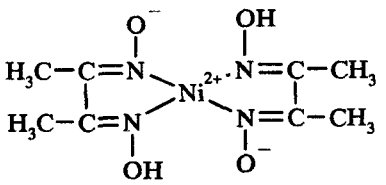
Таблица 2.9. Сероводородная схема разделения катионов металлов.

Катион	+HCl	$+H_2S$	$+NH_3$	$+(NH_4)_2S$	$+(NH_4)_2CO_3$	
Ag^+	AgCl					
Hg_2^{2+}	Hg_2Cl_2					
Pb^{2+}	$PbCl_2$					
Hg^{2+}		HgS				
Cu^{2+}		CuS				
Cd^{2+}		CdS				
Bi^{3+}		Bi_2S_3				
As^{3+}		As_2S_3				
Sb^{3+}		Sb_2S_3				
Sn^{2+}		SnS				
Fe^{3+}			$Fe(OH)_3$			
Cr^{3+}			$Cr(OH)_3$			
Al^{3+}			$Al(OH)_3$			
Mn^{2+}				MnS		
Zn^{2+}				ZnS		
Co^{2+}				CoS		
Ni^{2+}				NiS		
Ba^{2+}					$BaCO_3$	
Sr^{2+}					$SrCO_3$	
Ca^{2+}					$CaCO_3$	
Na^+						Na^+
K^+						K^+
Mg^{2+}						Mg^{2+}

Гравиметрический метод анализа

Гравиметрия — химический метод анализа, в ходе которого определяемое вещество выделяют из раствора в виде малорастворимого осадка. Затем осадок подвергают необходимой обработке и взвешивают, а из полученного значения массы находят содержание определяемого компонента.

Для гравиметрического анализа необходимо, чтобы осаждение было *количественным* (степень осаждения не менее 99,9%). Следует избегать загрязнения осадка посторонними веществами ввиду их совместного осаждения, адсорбции или окклюзии. Необходимо, чтобы осадок можно было легко отфильтровать и перевести в гравиметрическую форму стехиометрического состава.



комлекс никеля с диметилглиоксимом

Если осадок перед взвешиванием прокаливают (как, например, гидроксиды металлов — $Al(OH)_3$, $Fe(OH)_3$), то его отфильтровывают через бумажные фильтры. Для отделения кристаллических осадков — $BaSO_4$ или фосфатов — можно в этом случае использовать и фарфоровые фильтрующие тигли. Если же осадок не прокаливают, а высушивают (многие хелатные комплексы, сульфиды), то его отфильтровывают через стеклянный фильтрующий тигель. Возможности гравиметрического определения некоторых элементов иллюстрирует табл. 2.10.

Таблица 2.10. Примеры гравиметрического определения элементов.

Элемент	Осаждаемая форма	Гравиметрическая форма
Pb	$PbSO_4$	$PbSO_4$
Sn	$Sn(OH)_4$	SnO_2
Al	$Al(OH)_3$	Al_2O_3
Cr	$BaCrO_4$	$BaCrO_4$
Zn	ZnS	ZnO
Ni	Ni(диметилглиоксим)$_2$	Ni(диметилглиоксим)$_2$

Гравиметрический метод очень трудоемок. В настоящее время его применяют лишь в тех случаях, когда требуется с высоко точностью определить содержание основного компонента, например, при определении концентрации *стандартных растворов* различных элементов.

Осадительное титрование

В титриметрии реакции осаждения играют очень важную роль, в частности, в анализе объектов окружающей среды при определении содержания адсорбируемых (AOX) и экстрагируемых (EOX) органических галогенов. Для этого используют метод, основанный на тировании растворами соединений серебра и известный как *аргентометрия*. Поскольку среди всех видов осадительного титрования аргентометрия — важнейший, мы рассмотрим основы метода на этом примере.

Ход кривой титрования

Рассмотрим кривую титрования 0,01 М раствора Cl^- 0,1 М раствором $AgNO_3$ (рис. 2.14). Для ее построения необходимо выполнить следующие расчеты.

- *В начальной точке кривой* значение pAg (то есть величина $-\lg[Ag^+]$) не определено, поскольку ионы серебра в растворе отсутствуют. После добавления первой же капли титранта в титруемом растворе устанавливается равновесие осадок-раствор. Используя выражение произведения растворимости (2.78), можно рассчитать равновесные концентрации ионов Cl^- и Ag^+ в области $0 < \tau < 1$:

$$[Ag^+] = \frac{K_L}{[Cl^-]} = \frac{K_L}{c_0(1-\tau)}, \qquad (2.97)$$

поскольку $[Cl^-] = c_0 - c' = c_0 - \tau c_0 = c_0(1-\tau)$. В нашем случае величина pAg вблизи начальной точки (т. е. при $\tau \to 0$) составляет

$$[Ag^+] = \frac{K_L}{c_0} = \frac{1{,}78 \cdot 10^{-10}}{0{,}01} = 1{,}78 \cdot 10^{-8}\,\text{М}, \qquad pAg = 7{,}75.$$

- *В точке эквивалентности* справедливо равенство $[Ag^+] = [Cl^-]$. Отсюда:

$$[Ag^+] = \sqrt{K_L} = 1{,}33 \cdot 10^{-5}\,\text{М}, \qquad pAg = 4{,}87. \qquad (2.98)$$

- *При степени оттитрованности* $\tau > 1$ концентрация ионов серебра определяется избытком титранта. Поэтому

$$[Ag^+] = (\tau - 1)c_0.$$

На рис. 2.14 пунктирной линией изображена также кривая титрования 0,01 М раствора I^-. Рассчитанные с использованием величины pK_L для иодида серебра, равной 16,08, значения pAg вблизи начальной точки и в точке эквивалентности составляют 14,08 и 8,04, соответственно. Чем больше величина pK_L, тем больше и скачок на кривой титрования вблизи точки эквивалентности.

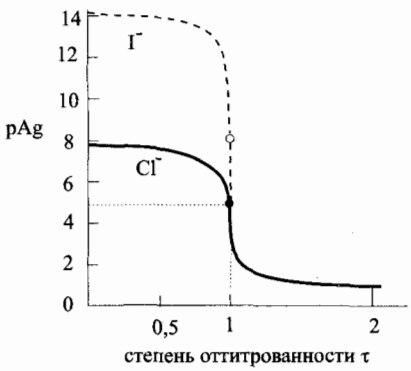


Рис. 2.14. Кривые титрования 0,01 М растворов Cl^- и I^- 0,1 М раствором Ag^+

Осадительные индикаторы

Непрерывную *индикацию* в ходе осадительного титрования можно осуществлять потенциометрическим методом с использованием ионоселективных электродов (раздел 4.3). В основе классических методов с визуальной индикацией лежит образование окрашенного осадка, окрашивание раствора или изменение цвета продукта реакции осаждения при использовании адсорбционных индикаторов таких, как эозин или флуоресцеин.

Определение галогенидов по Мору

При определении галогенидов, например, хлоридов, можно использовать индикацию, основанную на образовании *красно-коричневого* осадка хромата серебра. К титруемому раствору хлоридов добавляют немного хромата калия. При этом возможно протекание следующих реакций:

$$Cl^- + Ag^+ \rightleftharpoons AgCl(s),$$
$$2Ag^+ + CrO_4^{2-} \rightleftharpoons Ag_2CrO_4(s).$$

При добавлении ионов серебра сначала образуется осадок AgCl. После того, как весь хлорид серебра выпадет, концентрация ионов серебра в растворе повышается до значения, необходимого для выпадения осадка хромата. При этом окраска осадка изменяется с белой на красно-коричневую.

Этот метод применим и для определения бромидов. Иодиды таким способом определять нельзя: необходимая в этом случае концентрация хромата столь велика, что не может быть достигнута на практике.

Определение серебра по Фольгарду

В этом методе раствор серебра титруют раствором роданид-ионов, а конечную точку титрования определяют по образованию растворимого роданидного комплекса Fe(III), окрашенного в интенсивный красный цвет:

$$Ag^+ + SCN^- \rightleftharpoons AgSCN(s),$$
$$Fe^{3+} + 3SCN^- \rightleftharpoons Fe(SCN)_3.$$

Образование роданида железа происходит в момент, когда все серебро оттитровано.

2.4. Реакции комплексообразования — не только для определения жесткости воды

О важности реакций комплексообразования в химическом анализе свидетельствует хотя бы их использование в *комплексометрическом титровании*. С помощью этого вида титрования можно определять множество суммарных показателей таких, как жесткость воды, обусловленную наличием ионов Ca^{2+} и Mg^{2+}. Кроме того, реакции комплексообразования используют для облегчения *атомизации элементов* в атомной спектроскопии, для *разделения энантиомерных соединений* в хроматографии с использованием хиральных фаз, содержащих комплексы металлов, для *определения отдельных форм* металлов в вольтамперометрии и т. д.

Комплексное соединение образуется в результате реакции центрального иона с лигандами. Уравнение образования комплекса из катиона металла M^{n+} и анионных лигандов L^- записывается следующим образом:

$$M^{n+} + nL^- \rightleftharpoons ML_n. \qquad (2.99)$$

Комплексы, содержащие несколько ионов металлов либо лиганды различных типов (тройные и т. д.), мы рассматривать не будем.

Типы комплексных соединений

Среди комплексов, представляющих интерес для аналитической химии, различают комплексы с монодентатными и полидентатными лигандами. Под *дентатностью* понимают число атомов лиганда, способных к координации с ионом металла.

Монодентатные лиганды

Типичными монодентатными лигандами являются *нейтральные лиганды* H_2O или NH_3. Поскольку ионы металлов в водных растворах изначально существуют в виде аква-ионов, реакция комплексообразования по существу представляет собой процесс *замещения* молекул воды молекулами лиганда. Координация нескольких лигандов протекает *ступенчато*, что можно пояснить, например, следующей схемой образования амминных комплексов хрома (III) и его гексааквакомплекса:

Ступенчатое комплексообразование:

$$[Cr(H_2O)_6]^{3+} + NH_3 \rightleftharpoons [Cr(H_2O)_5NH_3]^{3+} + H_2O,$$

$$[Cr(H_2O)_5NH_3]^{3+} + NH_3 \rightleftharpoons [Cr(H_2O)_5(NH_3)_2]^{3+} + H_2O,$$

$$\dots$$

$$\dots$$

$$[Cr(H_2O)(NH_3)_5]^{3+} + NH_3 \rightleftharpoons [Cr(NH_3)_6]^{3+} + H_2O.$$

Суммарное уравнение:

$$[Cr(H_2O)_6]^{3+} + 6NH_3 \rightleftharpoons [Cr(NH_3)_6]^{3+} + 6H_2O.$$

Не следует забывать, что в данном случае квадратные скобки служат лишь для обозначения комплексной частицы, а не равновесной концентрации.

Нейтральными монодентатными лигандами могут быть и органические молекулы — анилин, дифениламин, пиридин, другие амины и т. д.

Большую группу монодентатных лигандов составляют анионные или *ацидолиганды*. К ним относятся фторид- (F^-), хлорид- (Cl^-), бромид- (Br^-), иодид- (I^-) ионы, а также комплексные анионы: гексацианоферрат (III) ($[Fe(CN)_6]^{3-}$), тетрагидроксоалюминат (III) ($[Al(OH)_4]^-$).

Полидентатные (хелатообразующие) лиганды

Особенно устойчивые комплексы образуются с участием лигандов, способных координироваться с ионом металлов одновременно несколькими атомами, охватывая ион металла словно клешней. Такие комплексы (рис. 2.15) называются *хелатными*. Хелатные комплексы могут быть как нейтральными, так и положительно или отрицательно заряженными. В качестве примера на рис. 2.15 приведена структура *незаряженного* хелатного комплекса железа (III) с ацетилацетонат-ионами.

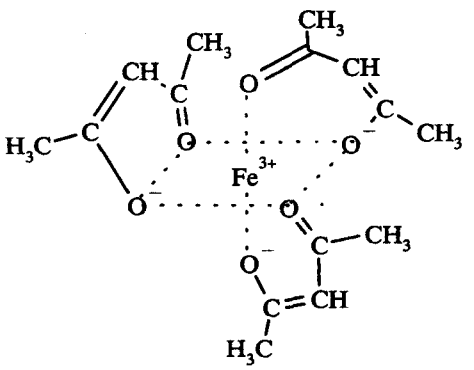
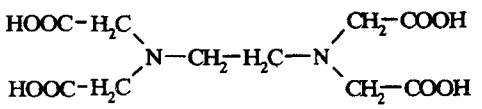


Рис. 2.15. Структура трис-ацетилацетонатного хелатного комплекса железа (III).

К лигандам, образующим преимущественно *анионные хелатные комплексы*, относится, например, оксалат-ион. Так, с ионом железа он образует трис-оксалатоферрат(III)-анион $[Fe(C_2O_4)_3]^{3-}$. Примером *катионного* хелатного комплекса может служить положительно заряженный трис-комплекс Fe^{2+} с 1,10-фенантролином (см. табл. 3.23 в разделе 3.3.2).



этилендиаминтетрауксусная кислота

Особенно устойчивые циклические структуры образуются в комплексах с α-аминополикарбоновыми кислотами, важнейшим представителем которых является *этилендиаминтетрауксусная кислота* (ЭДТА). Такие комплексы являются анионными (табл. 2.12 и рис. 2.17).

Устойчивость комплексов

Для количественного описания равновесий комплексообразования запишем (опустив заряды) уравнение реакции комплексообразования между ионом металла M и лигандом L:

$$M + nL \rightleftharpoons ML_n. \tag{2.100}$$

Константа этого равновесия, записанная в соответствии с законом действующих масс, характеризует термодинамическую *устойчивость* комплекса. Константы, характеризующие присоединение отдельных молекул лиганда по ступеням, называются **ступенчатыми** и обозначаются символом K. Константы, описывающие одновременное присоединение нескольких молекул лиганда к центральному иону, называются **общими** и обозначаются β.

Ступенчатые константы устойчивости:

$$M + L \rightleftharpoons ML, \qquad K_1 = \frac{[ML]}{[M][L]}; \tag{2.101}$$

$$ML + L \rightleftharpoons ML_2, \qquad K_2 = \frac{[ML_2]}{[ML][L]}; \tag{2.102}$$

$$\ldots \qquad \ldots$$

$$\ldots \qquad\qquad \ldots$$

$$ML_{n-1} + L \rightleftharpoons ML_n, \qquad K_n = \frac{[ML_n]}{[ML_{n-1}][L]}. \tag{2.103}$$

С увеличением числа присоединенных лигандов комплексообразующая способность центрального иона уменьшается. Уменьшаются и значения ступенчатых констант устойчивости. Это явление (на примере амминных комплексов никеля) иллюстрирует табл. 2.11.

Общие константы устойчивости:

$$M + L \rightleftharpoons ML, \qquad \beta_1 = \frac{[ML]}{[M][L]} = K_1; \tag{2.104}$$

$$M + 2L \rightleftharpoons ML_2, \qquad \beta_2 = \frac{[ML_2]}{[M][L]^2} = K_1 \cdot K_2; \tag{2.105}$$

$$\ldots \qquad\qquad \ldots$$

$$\ldots \qquad\qquad \ldots$$

$$M + nL \rightleftharpoons ML_n, \qquad \beta_n = \frac{[ML_n]}{[M][L]^n} = K_1 \cdot K_2 \cdots K_n. \tag{2.106}$$

Общие константы устойчивости равны произведению последовательных констант, а их логарифмы — сумме логарифмов соответствующих последовательных констант. Из данных по аммиакатам никеля, приведенным в табл. 2.11, можно рассчитать общую константу устойчивости:

$$Ni^{2+} + 6NH_3 \rightleftharpoons [Ni(NH_3)_6]^{2+}$$

$$\lg \beta_6 = \sum_{i=1}^{6} \lg K_i = 8,74.$$

Рассматриваемые здесь концентрационные константы устойчивости можно непосредственно использовать только в случаях, когда процесс комплексообразования не осложнен *никакими побочными реакциями* такими, как образование осадков, окислительно-восстановительные, обмен лигандов или кислотно-основные. Для учета побочных реакций вместо концентрационных используют ***условные константы***. Рассмотрение побочных реакций начнем со случая, когда наряду с комплексообразованием происходит образование малорастворимого соединения.

Таблица 2.11. Логарифмы последовательных констант устойчивочти аммиакатов никеля.

Уравнение реакции		$\lg K_i$
Ni^{2+}	$+NH_3 \rightleftharpoons [Ni(NH_3)]^{2+}$	2,80
$[Ni(NH_3)]^{2+}$	$+NH_3 \rightleftharpoons [Ni(NH_3)_2]^{2+}$	2,24
$[Ni(NH_3)_2]^{2+}$	$+NH_3 \rightleftharpoons [Ni(NH_3)_3]^{2+}$	1,73
$[Ni(NH_3)_3]^{2+}$	$+NH_3 \rightleftharpoons [Ni(NH_3)_4]^{2+}$	1,19
$[Ni(NH_3)_4]^{2+}$	$+NH_3 \rightleftharpoons [Ni(NH_3)_5]^{2+}$	0,75
$[Ni(NH_3)_5]^{2+}$	$+NH_3 \rightleftharpoons [Ni(NH_3)_6]^{2+}$	0,03

Сочетание реакций комплексообразования и осаждения

Пусть катион металла M образует с анионом A малорастворимое соединение. Если катион M одновременно вступает в реакцию комплексообразования с лигандом L, то выражение для произведения растворимости

$$K_L = [M]^{\nu_M}[A]^{\nu_A} \tag{2.107}$$

можно видоизменить следующим образом:

$$K'_L = [M']^{\nu_M}[A']^{\nu_A} = \alpha_M^{\nu_M}\alpha_A^{\nu_A}K_L, \tag{2.108}$$

где K'_L есть *условное произведение растворимости*, а $[M']$ и $[A']$ — суммарные концентрации всех равновесных форм катиона металла и аниона. Коэффициенты побочных реакций α_M и α_A характеризуют степень протекания побочных реакций с участием иона металла и аниона, соответственно.

Коэффициенты побочных реакций представляют собой отношения общих концентраций всех форм M и, соответственно, A к их равновесным концентрациям:

$$\alpha_M = \frac{[M']}{[M]} \qquad \alpha_A = \frac{[A']}{[A]}.$$

Выразив общие концентрации через значение растворимости, можно рассчитать растворимость при протекании комплексообразования:

$$[M'] = \nu_M c_{sa} \qquad [A'] = \nu_A c_{sa}.$$

Отсюда

$$c_{sa} = \sqrt[\nu_M+\nu_A]{\frac{K_L\alpha_M^{\nu_M}\alpha_A^{\nu_A}}{\nu_M^{\nu_M}\nu_A^{\nu_A}}}. \tag{2.109}$$

Пример. Концентрация AgCl в насыщенном водном растворе составляет $1,33 \cdot 10^{-5}$ M (см. 2.3). Для растворения осадка хлорида серебра к нему добавили аммиак в концентрации 1 M. Как изменится растворимость осадка?

Уравнение реакции:

$$AgCl(s) + 2NH_3 \rightleftharpoons [Ag(NH_3)_2]^+ + Cl^-.$$

Анион Cl^- не вступает в побочные реакции, поэтому $\alpha_A = 1$. Для катиона серебра необходимо принять во внимание последовательное образование аммиачных комплексов состава 1 : 1 и 1 : 2:

$$\beta_1 = \frac{[Ag(NH_3)^+]}{[Ag^+][NH_3]} \qquad \beta_2 = \frac{\left[[Ag(NH_3)_2]^+\right]}{[Ag^+][NH_3]^2}.$$

Общая концентрация серебра равна

$$[Ag'] = [Ag^+] + [Ag(NH_3)^+] + [Ag(NH_3)_2^+].$$

Используя величины констант устойчивости, приведенные в табл. П.5, рассчитаем коэффициент побочных реакций:

$$\alpha_M = \frac{[M']}{[M]} = \frac{[Ag']}{[Ag^+]} = 1 + \beta_1[NH_3] + \beta_2[NH_3]^2 = 1 + 10^{3,2} \cdot 1 + 10^{7,03} \cdot 1^2 = 1,07 \cdot 10^7.$$

Отсюда растворимость равна

$$c_{sa} = \sqrt[1+1]{K_L \cdot 1,07 \cdot 10^7 \cdot 1} = 4,37 \cdot 10^{-2}\text{M}.$$

В присутствии аммиака растворимость возросла более чем в 3000 ($4,37 \times \times 10^{-2}/1,33 \cdot 10^{-5}$) раз.

Сочетание с кислотно-основными реакциями

При рассмотрении побочных реакций с участием иона металла и лиганда необходимо учитывать и возможность *кислотно-основных* реакций. Сочетание реакций комплексообразования с кислотно-основными реакциями мы рассмотрим на практически весьма важном примере титрования ионов металлов раствором четырехосновной *этилендиаминтетрауксусной кислоты* (ЭДТК).

Для краткости будем обозначать ЭДТК как H_4Y. Комплексообразование двухзарядного иона металла с анионом ЭДТК протекает по уравнению

$$M^{2+} + Y^{4-} \rightleftharpoons MY^{2-}. \tag{2.110}$$

При этом образуется только комплекс состава 1 : 1. Запишем для него (опустив заряды) выражение концентрационной

$$K_{MY} = \frac{[MY]}{[M][Y]}. \tag{2.111}$$

и условной константы устойчивости:

$$K_{M'Y'} = \frac{[MY]}{[M'][Y']} \tag{2.112}$$

Здесь [M′] обозначает суммарное содержание всех форм металла, не связанных с Y, а [Y′] — суммарное содержание всех форм ЭДТА, не связанных с металлом.

Типичными *побочными реакциями с участием иона металла* являются образование его гидроксо-комплексов, а также комплексов с посторонними лигандами, например, входящими в состав буферного раствора. Например, для аммиачного раствора цинка можно записать:

$$[M'] = [Zn'] = [Zn^{2+}] + [Zn(OH)^+] + [Zn(NH_3)^{2+}] + \ldots$$

Используя значения *констант устойчивости* ионов цинка с гидроксид-ионами и другими лигандами, запишем выражение коэффициента побочных реакций для иона металла

$$\alpha_M = \frac{[M']}{[M^{2+}]} = \frac{[Zn']}{[Zn^{2+}]} = 1 + \beta_1[OH^-] + \beta_1'[NH_3] + \ldots, \tag{2.113}$$

где

$$\beta_1 = \frac{[Zn(OH)^+]}{[Zn^{2+}][OH^-]} \qquad \beta_1' = \frac{[Zn(NH_3)^{2+}]}{[Zn^{2+}][NH_3]}.$$

Чтобы выразить *общую концентрацию* Y, не связанного с цинком, надо принять во внимание возможность связывания аниона ЭДТК с другими катионами. В частности, всегда необходимо учитывать протонирование ЭДТА:

$$[Y'] = [H_4Y] + [H_3Y^-] + [H_2Y^{2-}] + [HY^{3-}] + [Y^{4-}]$$

Для расчета коэффициента побочных реакций α_Y вместо констант кислотности ЭДТК удобно использовать константы связывания протонов:

$$\alpha_Y = \frac{[Y']}{[Y^{4-}]} = 1 + \beta_{H,1}[H^+] + \beta_{H,2}[H^+]^2 + \beta_{H,3}[H^+]^3 + \beta_{H,4}[H^+]^4. \quad (2.114)$$

где $\beta_{H,1} = \frac{[HY^{3-}]}{[Y^{4-}][H^+]}$; $\beta_{H,2} = \frac{[H_2Y^{2-}]}{[Y^{4-}][H^+]^2}$ и т. д.

С помощью коэффициентов побочных реакций (формулы (2.113) и (2.114)) выразим *условную константу устойчивости* следующим образом:

$$K_{M'Y'} = \frac{[MY]}{[M'][Y']} = \frac{[MY]}{\alpha_M[M]\alpha_Y[Y]} = \frac{K_{MY}}{\alpha_M\alpha_Y} \quad (2.115)$$

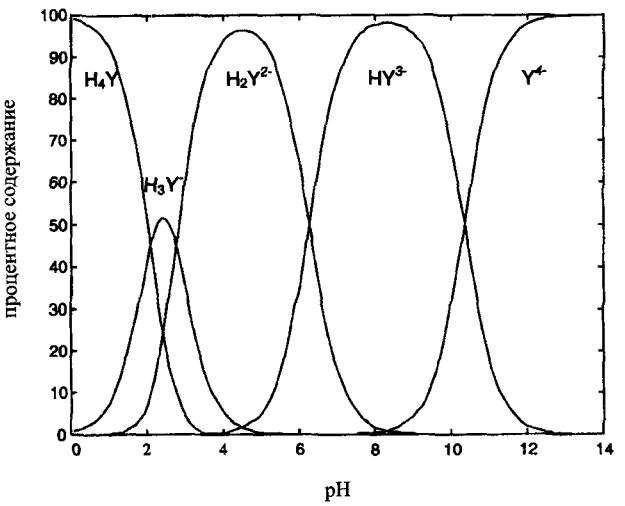


Диаграмма распределения форм ЭДТК, рассчитанная с использованием значений констант связывания протонов $\beta_{H,1} = 10^{10,34}$, $\beta_{H,2} = 10^{16,58}$, $\beta_{H,3} = 10^{19,33}$, $\beta_{H,4} = 10^{21,40}$.

Поскольку коэффициенты побочных реакций, в соответствии с их определением, всегда не меньше единицы, условные константы устойчивости всегда не превышают концентрационные. Константы устойчивости многих ионов металлов с ЭДТА приведены в табл. 2.12. При взаимодействии ионов металлов с ЭДТА образуются исключительно комплексы состава 1 : 1.

Зависимость условных констант устойчивости от pH показана на рис. 2.16 на примере комплексов Zn^{2+}, Hg^{2+}, Ca^{2+} и Al^{3+} с ЭДТА. *При расчете этих величин* использованы коэффициенты побочных реакций для аниона ЭДТА α_Y из табл. П.6 приложения. Часто значения концентрационных констант вообще не достигаются. Так, для комплекса Hg с ЭДТА величина $\lg K$ равна 21,8. В то же время наибольшее значение логарифма условной константы устойчивости (рис. 2.16) составляет лишь 11,3. Недостижимость значений концентрационных констант связана с тем, что одновременное существование металла в форме исключительно аква-иона, а лиганда — в полностью депротонированной форме в одних и тех же условиях невозможно.

Таблица 2.12. Константы устойчивости комплексов с ЭДТА при 20°C и ионной силе $I = 0,1$ М (KNO_3).

Катион	Комплекс	lg K	Катион	Комплекс	lg K
Mg^{2+}	MgY^{2-}	8,69	La^{3+}	LaY^{-}	15,9
Ca^{2+}	CaY^{2-}	10,69	Ce^{3+}	CeY^{-}	15,98
Sr^{2+}	SrY^{2-}	8,63	Eu^{3+}	EuY^{-}	17,35
Ba^{2+}	BaY^{2-}	7,76	Gd^{3+}	GdY^{-}	17,37
Al^{3+}	AlY^{-}	16,13	La^{3+}	YbY^{-}	19,51
Ga^{3+}	GaY^{-}	20,25	Pb^{2+}	PbY^{2-}	18,04
In^{3+}	InY^{-}	24,95	Ti^{3+}	TiY^{-}	19,4
Sc^{3+}	ScY^{-}	23,1	TiO^{2+}	TiY	21,3
Y^{3+}	YY^{-}	18,09	Th^{4+}	ThY	23,3
ZrO^{2+}	ZrY	19,9	Ni^{2+}	NiY^{2-}	18,62
HfO^{2+}	HfY	19,2	Co^{2+}	CoY^{2-}	16,31
Bi^{3+}	BiY^{-}	22,8	Co^{3+}	CoY^{-}	≈ 41
V^{3+}	VY^{-}	25,9	Ag^{+}	AgY^{3-}	7,2
VO^{2+}	VOY^{2-}	18,77	Cu^{2+}	CuY^{2-}	18,8
Cr^{3+}	CrY^{-}	23,1	Zn^{2+}	ZnY^{2-}	16,50
Mn^{2+}	MnY^{2-}	14,04	Cd^{2+}	CdY^{2-}	16,46
Fe^{2+}	FeY^{2-}	14,33	Hg^{2+}	HgY^{2-}	21,80
Fe^{3+}	FeY^{-}	25,1			

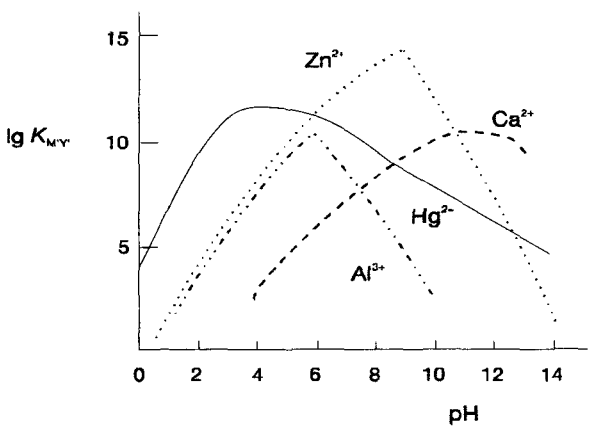


Рис. 2.16. Зависимость условных констант устойчивости некоторых ионов металлов с ЭДТА состава 1 : 1 от pH.

Комплексонометрическое титрование

Метод титрования ионов металлов растворами этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) или других α-аминополикарбоновых кислот называется *комплексонометрией*. Высокая устойчивость образующихся комплексов, большая скорость реакции и возможность образования комплексов единственного состава 1 : 1 обусловливают высокую точность результатов комплексонометрического титрования. Для обеспечения достаточной растворимости в качестве титранта обычно применяют динатриевую соль ЭДТК Na_2H_2Y. С различными ионами металлов образу-

ются комплексы разного заряда, например:

$$Cu^{2+} + H_2Y^{2-} \rightleftharpoons CuY^{2-} + 2H^+, \tag{2.116}$$

$$Al^{3+} + H_2Y^{2-} \rightleftharpoons AlY^- + 2H^+. \tag{2.117}$$

Пространственное строение комплексов металлов с ЭДТА показано на рис. 2.17.

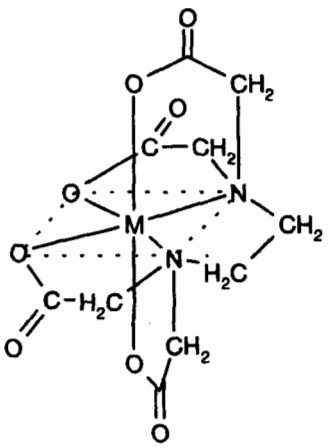


Рис. 2.17. Пространственное строение комплекса металла с ЭДТА.

Кривые комплексонометрического титрования

Процесс комплексонометрического титрования иллюстрирует изображенная на рис. 2.18 кривая титрования 0,01 М раствора Cu^{2+} 0,01 М раствором ЭДТА при pH 8,0. Рассмотрим изменение в ходе титрования концентрации незакомплексованного иона металла, выраженной в логарифмической шкале в виде значения pM (т. е. $-\lg[M^{2+}]$).

- *В начальной точке кривой* величина pM соответствует общей концентрации металла в растворе — в данном случае pM = 2. В области значений $0 < \tau < 1$ величина pM увеличивается в соответствии с уменьшением концентрации металла, оставшегося неоттитрованным.

- *В точке эквивалентности* при $\tau = 1$ имеет место равенство

$$[M'] = [Y'].$$

При этом концентрация комплекса приблизительно равна общей концентрации металла в растворе, $[MY] \approx c_M$. Отсюда, используя выражение константы устойчивости комплекса состава 1 : 1 (уравнение (2.101)), можно рассчитать концентрацию иона металла, не связанного с Y:

$$[M'] = \sqrt{\frac{c_M}{K_{M'Y'}}} \quad \text{или} \quad pM' = \frac{1}{2}(pc_M + \lg K_{M'Y'}). \tag{2.118}$$

В частности, при титровании меди, используя соответствующее значение константы устойчивости из табл. 2.12 и величину коэффициента побочных

реакций для ЭДТА при pH 8,0 из табл. П.6 приложения, можно рассчитать значение pM′ в точке эквивалентности как

$$pM' = \frac{1}{2}(2 + \lg\frac{10^{18,8}}{1 \cdot 10^{2,35}}) = 9,23.$$

Использованы значения $\lg \alpha_Y = 2,35$ и $\alpha_M = 1$.

- *При* $\tau > 1$ концентрация свободного металла определяется избыточной концентрацией лиганда. Значения pM в этой области зависят от константы устойчивости комплекса. При увеличении τ они плавно увеличиваются рис. 2.18.

Для обеспечения высоких значений условных констант устойчивости комплекса металла с ЭДТА необходимо выбирать соответствующее значение pH раствора и в ходе титрования поддерживать его постоянным. При этом надо дополнительно учитывать, что использование для этой цели буферов, например, аммиачного при титровании меди, может привести к некоторому уменьшению условных констант устойчивости вследствие комплексообразующих свойств компонентов буфера.

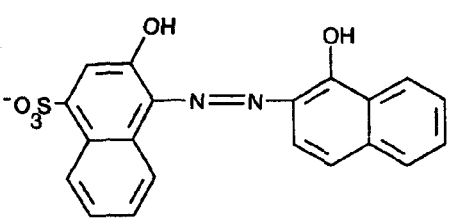


Рис. 2.18. Кривая комплексонометрического титрования 0,01 М раствора Cu^{2+} 0,01 М раствором ЭДТА при pH 8,0.

Индикаторы в комплексонометрии

В соответствии с суммарным уравнением реакции комплексообразования с ЭДТА (уравнения (2.116) и (2.117)) для индикации конечной точки можно было бы контролировать концентрацию выделяющихся в ходе реакции протонов. Однако это применяют только в исследовательских целях, при построении полной кривой титрования и определении констант устойчивости комплексов. На практике, когда необходимо только зафиксировать положение скачка на кривой титрования, используют *металлоиндикаторы*.

Металлоиндикаторы — это красители, обладающие комплексообразующими и, как правило, кислотно-основными свойствами. При этом необходимо, чтобы различные формы красителя обладали разной окраской.



Для примера рассмотрим металлоиндикатор *эриохромовый черный Т*, который, в частности, используют при титровании ионов магния при pH 8–10.

В водном растворе этого индикатора преобладает форма H_2I^-. Она вступает в следующие кислотно-основные равновесия:

$$\underset{\text{винно-красная}}{H_2I^-} + H_2O \rightleftharpoons \underset{\text{голубая}}{HI^{2-}} + H_3O^+ \qquad pK_{S_1} = 6,3,$$

$$\underset{\text{голубая}}{HI^{2-}} + H_2O \rightleftharpoons \underset{\text{оранжевая}}{I^{3-}} + H_3O^+ \qquad pK_{S_2} = 11,5.$$

При pH 8–10 преобладающей формой индикатора становится HI^{2-}. При добавлении небольшого количества индикатора к раствору магния последний окрашивается в красный цвет вследствие образования комплекса с магнием:

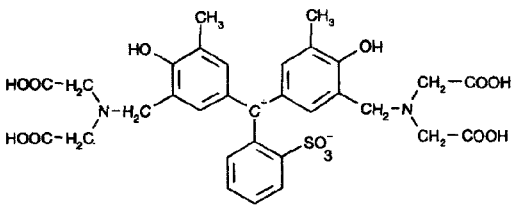
$$\underset{\text{голубая}}{HI^{2-}} + Mg^{2+} \rightleftharpoons \underset{\text{красная}}{MgI^-} + H_3O^+.$$

Протоны, выделяющиеся в ходе этой реакции, поглощаются компонентами буфера.

При титровании ЭДТА раствор остается окрашенным в красный цвет до тех пор, пока весь магний не будет связан с ЭДТА. Вблизи точки эквивалентности происходит вытеснение индикатора из магниевого комплекса

$$\underset{\text{красная}}{MgI^-} + H_2Y^{2-} + H_2O \rightleftharpoons MgY^{2-} + \underset{\text{голубая}}{HI^{2-}} + H_3O^+,$$

и раствор окрашивается в голубой цвет вследствие высвобождения голубой формы свободного индикатора.



ксиленоловый оранжевый

Положение *области перехода окраски* индикатора определяется величиной его константы устойчивости с ионом металла, подобно тому, как для кислотно-основных индикаторов — величиной константы кислотности. Для металлоиндикаторов границы pM′ области перехода окраски составляют:

$$pM'_{\text{перехода}} = \lg K_{M'I'} \pm 1. \qquad (2.119)$$

Здесь $K_{M'I'}$ — константа устойчивости комплекса металла с индикатором.

Некоторые примеры металлоиндикаторов приведены в табл. 2.13.

Таблица 2.13. Индикаторы для комплексонометрического определения металлов.

Ион металла	pH	Индикатор	Переход окраски
Mg^{2+}	10	эриохромовый черный Т	красная — голубая
Ca^{2+}	12	мурексид	розовая — фиолетовая
Zn^{2+}	10	эриохромовый черный Т	красная — голубая
Bi^{3+}	1	ксиленоловый оранжевый	красная — желтая
Fe^{3+}	2–3	тайрон	зеленовато-голубая — желтая

Практическое применение

Примеры использования реакций комплексообразования в спектроскопических, хроматографических и электрохимических методах анализа будут рассмотрены в разделах, посвященных этим методам.

В классических методах анализа комплексообразование используют в *гравиметрии*, например, при определении никеля в виде комплекса с диметилглиоксимом (табл. 2.10).

Другое важное направление использования комплексообразования — это *комплексонометрическое титрование*. При помощи ЭДТА и аналогичных лигандов, таких, как нитрилотриуксусная кислота (НТК, НТА) или триэтилентетрамин, можно титриметрически определять около 30 элементов (табл. 2.12).

Практически важным является совместное титриметрическое определение кальция и магния для характеристики *общей жесткости воды*. Суммарное содержание кальция и магния можно определить путем *прямого титрования* пробы воды раствором ЭДТА при pH 10 с индикатором эриохромовым черным Т. При этом следует иметь в виду, что комплекс кальция с индикатором недостаточно устойчив ($\lg K_{M'I'} = 5,4$), и поэтому переход окраски не очень отчетливый. Комплекс же с магнием ($\lg K_{M'I'} = 7$) достаточно устойчив. Поэтому при анализе вод бедных магнием к пробе добавляют избыток раствора комплекса магния с ЭДТА, а затем титруют магний, вытесненный кальцием из комплекса (ср. константы устойчивости этих ионов в табл. 2.12), раствором ЭДТА. Такой метод титрования называется *заместительным*.

Для практических целей жесткость воды выражают в *немецких градусах жесткости* (°d). Один градус жесткости соответствует 10 мг CaO в литре.

Если концентрация металлов в воде выражена в ммоль/л, то величину жесткости в немецких градусах получают, умножив это значение на 5,6.

Пример. Общая жесткость воды равная 7,5°d соответствует содержанию металлов 1,34 ммоль/л, т. е. 75,0 мг CaO или 54,0 мг MgO в литре.

2.5. Реакции окисления-восстановления в химических системах

Реакции окисления-восстановления лежат в основе многих аналитических методов. К ним относятся, в частности, методы разложения металлических образцов кислотами, электрохимические методы контроля качества воды, методы окислительно-восстановительного титрования. В данном разделе мы ограничимся рассмотрением гомогенных окислительно-восстановительных реакций в водных растворах, протекающих в отсутствие электродов. Однако теоретические основы таких процессов справедливы и для гетерогенных окислительно-восстановительных реакций, протекающих при контакте раствора с твердой фазой, например, платиновым электродом. Гетерогенные окислительно-восстановительные реакции будут рассмотрены в главе 4, посвященной электрохимическим методам анализа.

Описание окислительно-восстановительных реакций

Рассмотрим основные понятия, касающиеся окислительно-восстановительных реакций, на примере взаимодействия ионов железа (III) с иодид-ионами. Эта реакция используется для титриметрического (иодометрического) определения железа.

$$2Fe^{3+} + 2I^- \rightleftharpoons 2Fe^{2+} + I_2. \qquad (2.120)$$

Будем считать, что реакция протекает слева направо. В этом случае ионы Fe^{3+} восстанавливаются до Fe^{2+}, а I^- — окисляются до иода. В общем случае:

окисление — это процесс, связанный с отдачей электронов, т. е. увеличением степени окисления;

восстановление — это процесс, связанный с принятием электронов, т. е. уменьшением степени окисления.

В реакции (2.120) каждый участник выступает и в восстановленной, и в окисленной форме. Ее составляют следующие полуреакции:

$$2Fe^{3+} + 2e^- \rightleftharpoons 2Fe^{2+},$$
$$2I^- \rightleftharpoons I_2 + 2e^-.$$

В общем случае для окислительно-восстановительных полуреакций (с передачей одного электрона) можно записать:

Окисление:	$\nu_1 \mathrm{Red}_1 \rightleftharpoons \nu_1 \mathrm{Ox}_1 + e^-$.	(2.121)
Восстановление:	$\nu_2 \mathrm{Ox}_2 + e^- \rightleftharpoons \nu_2 \mathrm{Red}_2$.	(2.122)
Суммарное уравнение:	$\nu_1 \mathrm{Red}_1 + \nu_2 \mathrm{Ox}_2 \rightleftharpoons \nu_1 \mathrm{Ox}_1 + \nu_2 \mathrm{Red}_2$,	(2.123)

где ν_1 и ν_2 — стехиометрические коэффициенты, а
Red_1, Ox_1 и Red_2, Ox_2 — соответственно, окисленная и восстановленная форма первого и второго участника реакции.

Примеры окислительно-восстановительных полуреакций приведены в табл. П.7 приложения. Применяя к уравнению (2.123) закон действующих масс, получим выражение для константы окислительно-восстановительного равновесия:

$$K = \frac{[\mathrm{Ox}_1]^{\nu_1}[\mathrm{Red}_2]^{\nu_2}}{[\mathrm{Red}_1]^{\nu_1}[\mathrm{Ox}_2]^{\nu_2}}. \qquad (2.124)$$

Уравнение Нернста

Важнейшей характеристикой окислительно-восстановительного процесса служит *окислительно-восстановительный потенциал*. Способы измерения потенциалов в электрохимических системах рассмотрены в главе 4, посвященной электрохимическим методам анализа. Как для гомогенных, так и для гетерогенных систем окислительно-восстановительные (электродные) потенциалы описываются уравнением Нернста:

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\mathrm{Ox}]}{[\mathrm{Red}]}, \qquad (2.125)$$

где R — газовая постоянная ($8,314$ Дж·К$^{-1}$·моль$^{-1}$),
F — постоянная Фарадея (96485 Кл·моль$^{-1}$),
z — число переданных электронов,
T — температура (в К),
E^0 — стандартный электродный потенциал (В),
E — равновесный электродный потенциал.

Запишем уравнение Нернста для полуреакций (2.121) и (2.122):

$$E_1 = E_1^0 + \frac{RT}{\nu_1 z_1 F} \ln \frac{[\mathrm{Ox}_1]^{\nu_1}}{[\mathrm{Red}_1]^{\nu_1}}, \tag{2.126}$$

$$E_2 = E_2^0 + \frac{RT}{\nu_2 z_2 F} \ln \frac{[\mathrm{Ox}_2]^{\nu_2}}{[\mathrm{Red}_2]^{\nu_2}}. \tag{2.127}$$

В состоянии равновесия $E_1 = E_2$. Отсюда можно выразить константу окислительно-восстановительного равновесия через стандартные электродные потенциалы участников реакции. Обозначим общее число электронов, переданных в ходе реакции от одного участника другому, как z_r:

$$z_\mathrm{r} = \nu_1 z_1 = \nu_2 z_2.$$

Приравняем разность равновесных потенциалов нулю и используем выражение константы равновесия (2.124):

$$E_1 - E_2 = E_1^0 - E_2^0 + \frac{RT}{z_\mathrm{r} F} \ln \frac{[\mathrm{Ox}_1]^{\nu_1}[\mathrm{Red}_2]^{\nu_2}}{[\mathrm{Red}_1]^{\nu_1}[\mathrm{Ox}_2]^{\nu_2}} = 0,$$

$$-\lg K = \mathrm{p}K = \frac{(E_1^0 - E_2^0) z_\mathrm{r} F}{2,303 RT}. \tag{2.128}$$

В соответствии с уравнением (2.128) *константа окислительно-восстановительного равновесия* K тем выше, чем больше разность стандартных электродных потенциалов.

Пример. Рассчитаем константу равновесия (2.120) с участием ионов Fe^{3+} и I^-, используя величины стандартных потенциалов из табл. П.7 приложения. Число переданных электронов z_r равно двум.

$$E^0(\mathrm{Fe}^{3+}/\mathrm{Fe}^{2+}) = 0,770 \text{ В},$$

$$E^0(\mathrm{I}_2/2\mathrm{I}^-) = 0,536 \text{ В},$$

$$\mathrm{p}K = \frac{(0,536 - 0,770) \cdot 2}{0,059} = -7,93.$$

При 25°С нернстовский коэффициент $2,303(RT/F)$ составляет $0,059$ В. Величина константы равновесия K равна приблизительно 10^8.

Расположение металлов согласно изменению их стандартных окислительно-воссстановительных потенциалов называется *рядом напряжений*. Таким же образом можно расположить и любые другие окислительно-восстановительные пары для оценки их окислительной и восстановительной способности. Для оценки силой окислителей и восстановителей можно пользоваться ориентировочной клас-

сификацией согласно табл. 2.14. Точные значения стандартных потенциалов приведены в табл. П.7 приложения.

Таблица 2.14. *Классификация окислителей и восстановителей по их силе согласно величинам стандартных электродных потенциалов.*

	E^0, В	Примеры
сильные окислители	$> 1,4$	$S_2O_8^{2-}$, MnO_4^-, Ag^{2+}, Au^{3+}, Ce^{4+}, Co^{3+}, F_2
окислители средней силы	от 1,0 до 1,4	MnO_2, Cl_2, $Cr_2O_7^{2-}$, Br_2, IO_3^-
слабые окислители	от 0,5 до 1,0	Ag^+, Fe^{3+}, I_2, Cu^+, ClO_3^-
слабые восстановители	от 0 до 0,5	Sn^{2+}, H_2S, $S_2O_3^{2-}$, HCHO, Cu, $[Fe(CN)_6]^{4-}$
восстановители средней силы	от $-0,6$ до 0	Fe, Cd, $N_2H_5^+$, Ni, Pb
сильные восстановители	$< -0,6$	Zn, Al, Na

Влияние условий на протекание окислительно-восстановительных реакций

Влияние pH

Во многих окислительно-восстановительных процессах, особенно с участием кислородсодержащих окислителей (MnO_4^-, H_2O_2 и др.), непосредственно участвует ион водорода. Запишем в общем виде уравнение окислительно-восстановительной полуреакции с участием m протонов:

$$\mathrm{Red} \rightleftharpoons \mathrm{Ox} + m\mathrm{H}^+ + z\mathrm{e}^-. \tag{2.129}$$

Для этой полуреакции уравнение Нернста выглядит следующим образом:

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\mathrm{Ox}][\mathrm{H}^+]^m}{[\mathrm{Red}]}. \tag{2.130}$$

Преобразуем его, подставив величину pH и значение нернстовского коэффициента при 25°C:

$$E = E^0 + \frac{0,059}{z} \lg \frac{[\mathrm{Ox}]}{[\mathrm{Red}]} - 0,059\frac{m}{z}\mathrm{pH}. \tag{2.131}$$

Видно, что в данном случае с уменьшением pH сила окислителя возрастает.

Пример. Посмотрим, как изменяется потенциал пары, зависящий от pH, например, Mn(VII)/Mn(II) в области pH от 2 до 5.

$$\mathrm{Mn}^{2+} + 4\mathrm{H_2O} \rightleftharpoons \mathrm{MnO_4^-} + 8\mathrm{H}^+ + 5\mathrm{e}^-. \tag{2.132}$$

Для простоты примем, что концентрации окисленной и восстановленной формы равны: $[Mn^{2+}] = [MnO_4^-]$. При этом второе слагаемое в уравнении (2.131)

обратится в нуль. Используя величину стандартного потенциала для полуреакции (2.132), равную 1,51 В, получим следующие значения равновесных электродных потенциалов:

$$\text{pH} = 2: \qquad E = 1,51 - 0,189 = 1,32\,\text{В},$$
$$\text{pH} = 5: \qquad E = 1,51 - 0,472 = 1,038\,\text{В}.$$

Расчеты выполнены при $m = 8$ и $z = 5$. Как и ожидалось, с увеличением pH потенциал уменьшается.

Влияние образования малорастворимого соединения

Сопутствующие процессы осаждения–растворения изменяют величины окислительно-восстановительных потенциалов тем сильнее, чем меньше произведение растворимости осадка. Рассмотрим равновесие, лежащее в основе иодометрического определения меди:

$$2Cu^{2+} + 4I^- \rightleftharpoons \underbrace{2Cu^+ + 2I^-}_{Cu_2I_2} + I_2. \qquad (2.133)$$

Если бы окислительно-восстановительный процесс не сопровождался образованием осадка, то константа равновесия была бы (при 25°C) следующей:

$$E^0(Cu^{2+}/Cu^+) = 0,170\ \text{В}, \qquad E^0(2I^-/I_2) = 0,536\ \text{В},$$
$$-\lg K = \frac{(E_1^0 - E_2^0)z_r F}{2,303RT} = \frac{(0,536 - 0,170)\cdot 2}{0,059} = 12,41.$$

Величина константы равновесия равная $10^{-12,41}$ означает, что равновесие целиком смещено в сторону исходных веществ. Однако поскольку иодид меди (I) — малорастворимое соединение с произведением растворимости $10^{-22,6}$ моль$^{-4}$·л$^{-4}$, равновесие сдвигается вправо. Рассчитаем, насколько при этом изменится электродный потенциал за счет уменьшения концентрации свободных ионов Cu^+. Концентарцию иодид-ионов примем равной 0,1 М.

Выражение произведения растворимости имеет вид:

$$K_L = [Cu^+]^2[I^-]^2.$$

Уравнение Нернста запишем как

$$E = E^0(Cu^{2+}/Cu^+) + \frac{0,059}{2}\lg\frac{[Cu^{2+}]^2}{[Cu^+]^2} \qquad \text{или}$$
$$E = E^0(Cu^{2+}/Cu^+) + \frac{0,059}{2}\lg[Cu^{2+}]^2 - \frac{0,059}{2}\lg[Cu^+]^2.$$

Чтобы оценить изменение потенциала вследствие образования осадка, снова примем концентрацию $[Cu^{2+}]$ равной единице. В этом случае второе слагаемое в последнем выражении обратится в нуль:

$$E = E^0(Cu^{2+}/Cu^+) - \frac{0,059}{2}\lg[Cu^+]^2 = E^0(Cu^{2+}/Cu^+) - \frac{0,059}{2}\lg\frac{K_L}{[I^-]^2},$$

$$E = 0,170 - \frac{0,059}{2}\lg\frac{10^{-22,6}}{[0,1]^2} = 0,170 + 0,608 = 0,778\ \text{В}.$$

Как видно, потенциал существенно увеличился. Используя его значение, рассчитаем величину условной константы окислительно-восстановительного равновесия:

$$-\lg K = \frac{(E_1^0 - E_2^0) z_\text{т} F}{2,303RT} = \frac{(0,536 - 0,778) \cdot 2}{0,059} = -8,20.$$

Величина константы теперь составляет $10^{8,20}$. Ввиду образования малорастворимого соединения равновесие полностью сместилось в сторону образования продуктов реакции. Это обстоятельство (при наличии достаточного избытка иодид-ионов) обеспечивает возможность титриметрического определения меди.

Влияние комплексообразования

Влияние комплексообразования на окислительно-восстановительные свойства веществ рассмотрим сначала на примере гетерогенной реакции. Как изменится потенциал пары Cu^{2+}/Cu, образованной электродом из металлической меди, погруженным в 0,01 М раствор Cu^{2+}, если в растворе создать концентрацию аммиака, равную 1 М?

Возьмем из таблиц необходимые значения стандартного окислительно-восстановительного потенциала и константы устойчивости:

$$Cu \rightleftharpoons Cu^{2+} + 2e^-, \qquad E^0 = 0,346 \text{ В},$$

$$Cu^{2+} + 4NH_3 \rightleftharpoons [Cu(NH_3)_4]^{2+},$$

$$\beta_4 = \frac{[Cu(NH_3)_4^{2+}]}{[Cu^{2+}][NH_3]^4} = 10^{12,67} \text{ л}^4 \cdot \text{моль}^{-4}.$$

Сравнительно большая величина константы устойчивости комплекса позволяет предположить, что в условиях эксперимента медь будет практически нацело связана в комплекс, т. е. $c_{Cu^{2+}} \approx [Cu(NH_3)_4^{2+}]$. Чтобы найти изменение потенциала, подставим в уравнение Нернста концентрацию свободных ионов меди, рассчитанную с использованием константы устойчивости:

$$E = E^0 + \frac{0,059}{2} \lg [Cu^{2+}] = 0,346 + \frac{0,059}{2} \lg \frac{c_{Cu^{2+}}}{\beta_4 [NH_3]^4} = -0,087 \text{ В}.$$

В уравнение Нернста мы не включаем концентрацию твердой фазы, поскольку ее активность можно принять равной единице. Таким образом, потенциал рассматриваемой системы уменьшился с 0,346 до −0,087 В. Использование комплексообразования — мощное средство для изменения окислительно-восстановительных потенциалов в желательном направлении.

Практическое применение

Растворение металлов в процессе пробоподготовки

Во многих случаях при анализе металлических образцов их необходимо предварительно перевести в раствор. Рассмотрим растворение металлов и сплавов в кислотах как окислительно-восстановительный процесс. В общем виде раство-

рение металла в кислоте можно описать уравнением

$$M \rightleftharpoons M^{n+} + ne^-. \tag{2.134}$$

В зависимости от того, выше или ниже стандартный потенциал пары M^{n+}/M, чем стандартный потенциал пары $H^+/1/2\,H_2$ (принимаемый за нуль), для растворения металла следует применять кислоты, обладающие или не обладающие окислительными свойствами. Кислоты, *не являющиеся окислителями* такие, как хлористоводородная или разбавленная серная, можно использовать лишь для растворения металлов, чей стандартный потенциал ниже нуля. Самые активные металлы вроде натрия растворяются уже в воде: для их окисления достаточно даже той концентрации протонов ($1 \cdot 10^{-7}$ М, pH = 7), которая имеется в чистой воде. Окислительно-восстановительный потенциал воды при pH 7 можно рассчитать из уравнения Нернста:

$$E = 0 + 0,059 \lg 1 \cdot 10^{-7} = -0,413 \text{ В}.$$

Эта величина значительно выше, чем стандартные электродные потенциалы для пар, образованных щелочными металлами (например, для натрия $E^0(Na^+/Na) = -2,713$ В, табл. П.7 приложения).

Для растворения металлов со стандартными потенциалами выше нуля (таких, как медь или серебро) необходимо использовать только *кислоты-окислители*, например, концентрированную серную, азотную или царскую водку.

Окислительно–восстановительное титрование

Ход кривой титрования

Процесс титрования, основанного на протекании окислительно-восстановительной реакции, можно описать с помощью зависимости равновесного потенциала системы от количества добавленного титранта. Как и ранее, при расчетах будем использовать выражения для соответствующих равновесных процессов.

В качестве простейшего примера рассмотрим титрование ионов Fe(II) раствором Ce(IV):

$$Fe^{2+} + Ce^{4+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + Ce^{3+}. \tag{2.135}$$

Значения стандартных потенциалов возьмем из табл. П.7 приложения:

$$E^0(Fe^{3+}/Fe^{2+}) = 0,770 \text{ В}; \qquad E^0(Ce^{4+}/Ce^{3+}) = 1,61 \text{ В}.$$

На рис. 2.19 схематически представлена соответствующая кривая титрования. Для ее построения можно использовать следующие соображения.

- В области *до точки эквивалентности* ($0 < \tau < 1$) потенциал системы определяет пара, образованная титруемым веществом (Fe^{3+}/Fe^{2+}), поскольку титрант (Ce^{4+}) постоянно расходуется. Равновесный потенциал можно рассчитать непосредственно из уравнения Нернста, используя определение степени оттитрованности:

$$E = E^0 + \frac{0,059}{1} \lg \frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]}, \tag{2.136}$$

$$\tau = \frac{c'}{c_0} = \frac{[Fe^{3+}]}{c_0} = \frac{[Ce^{3+}]}{c_0},$$

$$E = E^0 + 0,059 \lg \frac{\tau \cdot c_0}{(1-\tau)c_0} = E^0 + 0,059 \lg \frac{\tau}{1-\tau}.$$

- В частности, *при* $\tau = 0,5$ в точках полуоттитрованности $[Fe^{3+}] = [Fe^{2+}]$, и, как следует из уравнения Нернста, равновесный потенциал системы равен стандартному потенциалу пары Fe^{3+}/Fe^{2+}:

$$E = E^0(Fe^{3+}/Fe^{2+}) = 0,770 \text{ В}.$$

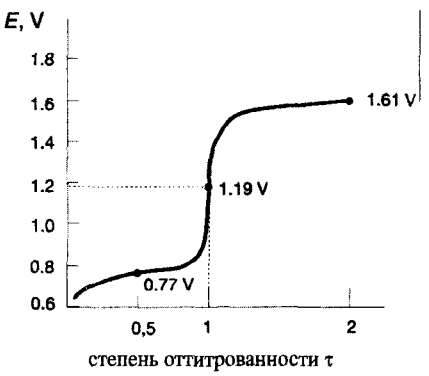


Рис. 2.19. Кривая окислительно-восстановительного титрования раствора Fe(II) раствором Ce(IV).

- *В точке эквивалентности* справедливы следующие соотношения между концентрациями реагирующих частиц:

$$[Ce^{3+}] = [Fe^{3+}] \quad \text{и} \quad [Ce^{4+}] = [Fe^{2+}].$$

Обозначим пару (Fe^{3+}/Fe^{2+}), образованную титруемым веществом, индексом 1, а пару, образованную титрантом, — индексом 2. Значение равновесного потенциала в точке эквивалентности можно найти из уравнения Нернста с учетом написанных выше соотношений:

$$E = \frac{z_1 E_1^0 + z_2 E_2^0}{z_1 + z_2} = \frac{1 \cdot 0,770 + 1 \cdot 1,61}{1+1} = 1,19 \text{ В}. \qquad (2.137)$$

- *После точки эквивалентности* ($\tau > 1$) все количество определяемого вещества полностью окислено, и в растворе присутствует лишь пара, образованная титрантом (Ce^{4+}/Ce^{3+}). Равновесный потенциал можно рассчитать как

$$E = E^0(Ce^{4+}/Ce^{3+}) + \frac{0,059}{1} \lg(\tau - 1).$$

- В частности, *при* $\tau = 2$ $[Ce^{4+}] = [Ce^{3+}]$ и равновесный потенциал равен стандартному потенциалу пары титранта:

$$E = E^0(Ce^{4+}/Ce^{3+}) = 1,61 \text{ В}.$$

Уравнение (2.137) для расчета равновесного потенциала в точке эквивалентности можно вывести и из выражения константы окислительно-восстановительного равновесия. Аналогично рассчитывается стандартный окислительно-восстановительный потенциал E^0 полуреакции, являющейся суммой двух полуреакций с потенциалами E_1^0 и E_2^0 (правило Лютера):

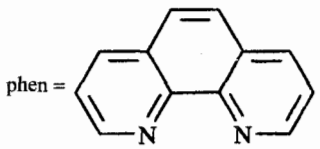
$$E^0 = \frac{z_1 E_1^0 + z_2 E_2^0}{z_1 + z_2}. \qquad (2.138)$$

Это правило полезно при количественном описании так называемых *редокс-амфотерных* систем — окислительно-восстановительных систем, включающих более чем две различные степени окисления.

Индикация конечной точки окислительно-восстановительного титрования

В окислительно-восстановительном титровании индикацию можно осуществлять *потенциометрическим методом* путем непосредственного измерения электродного потенциала (раздел 4.3). Если одна из форм веществ, участвующих в реакции, интенсивно окрашена (например, фиолетовый ион MnO_4^- в перманганатометрии), возможна визуальная индикация без применения специальных индикаторов. Наиболее общим приемом визуальной индикации является использование *окислительно-восстановительных индикаторов* — веществ, способных существовать в окисленной и восстановленной форме.

В табл. 2.15 приведены некоторые окислительно-восстановительные индикаторы и значения потенциалов перехода их окраски. Примером индикатора, претерпевающего очень простой по механизму окислительно-восстановительныйпроцесс, может служить ферроин, способный окисляться до ферриина согласно уравнению

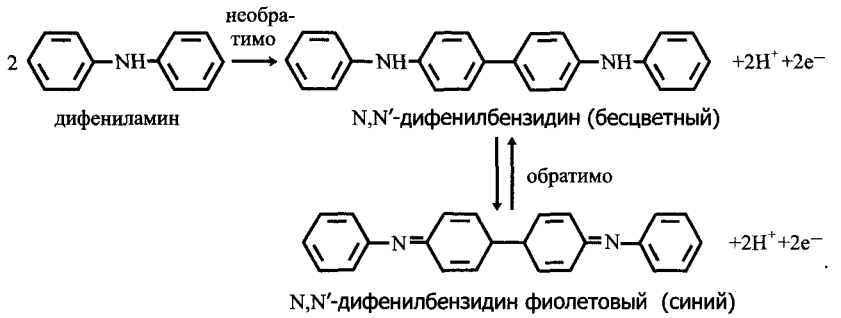


$$\underbrace{[Fe(phen)_3]^{2+}}_{\text{ферроин (красный)}} \rightleftharpoons \underbrace{[Fe(phen)_3]^{3+}}_{\text{ферриин (голубой)}} + e^- . \qquad (2.139)$$

Таблица 2.15. Примеры окислительно-восстановительных индикаторов.

Индикатор	Переход окраски	E (В, при pH = 7)
Ферроин	красная — голубая	1,06
Дифениламин	бесцветная — синяя	0,76
Метиленовый голубой	голубая — бесцветная	0,01
Индигосульфоновая кислота	синяя — желтая	−0,11

Механизмы окислительно-восстановительных превращений органических индикаторов часто достаточно сложны. Например, схему превращений дифениламина можно представить так:



В качестве примеров рассмотрим подробнее методы перманганатометрического и иодометрического титрования.

Перманганатометрия

В основе перманганатометрического титрования лежит окислительно-восстановительный процесс с участием пары Mn(VII)/Mn(II) ($E^0 = 1,52$ В) в кислой среде:

$$Mn^{2+} + 4H_2O \rightleftharpoons MnO_4^- + 8H^+ + 5e^-. \qquad (2.140)$$

При использовании раствора перманганата калия в качестве титранта можно определять железо, пероксид водорода, оксалаты:

$$5Fe^{2+} + MnO_4^- + 8H^+ \rightleftharpoons Mn^{2+} + 5Fe^{3+} + 4H_2O,$$
$$5H_2O_2 + 2MnO_4^- + 6H^+ \rightleftharpoons 2Mn^{2+} + 5O_2 + 8H_2O,$$
$$5C_2O_4^{2-} + 2MnO_4^- + 16H^+ \rightleftharpoons 2Mn^{2+} + 10CO_2 + 8H_2O.$$

Конечную точку определяют без индикатора по появлению собственной фиолетовой окраски перманганат-иона.

Иодометрия

Стандартный потенциал окислительно-восстановительной пары

$$2I^- \rightleftharpoons I_2 + 2e^- \qquad (2.141)$$

равен 0,54 В. В титровании применяют и иод в качестве окислителя, и иодид-ионы в качестве восстановителя.

Иод как окислитель. Для титрования используют стандартные растворы I_2 в KI. Присутствие KI необходимо для обеспечения хорошей растворимости иода в воде (за счет образования KI_3). Примеры определения различных веществ титрованием иодом приведены ниже.

$$AsO_3^{3-} + I_2 + H_2O \rightleftharpoons AsO_4^{3-} + 2I^- + 2H^+,$$
$$H_2S + I_2 \rightleftharpoons S(s) + 2I^- + 2H^+,$$
$$Sn^{2+} + I_2 \rightleftharpoons Sn^{4+} + 2I^-.$$

Иодид как восстановитель. При титровании используют водные растворы KI. В соответствии с величинами окислительно-восстановительных потенциалов воз-

можно, в частности, определение следующих окислителей:

$$2Fe^{3+} + 2I^- \rightleftharpoons 2Fe^{2+} + I_2,$$
$$H_2O_2 + 2I^- + 2H^+ \rightleftharpoons 2H_2O + I_2,$$
$$2CrO_4^{2-} + 6I^- + 16H^+ \rightleftharpoons 2Cr^{3+} + 3I_2 + 8H_2O.$$

Индикацию осуществляют потенциометрическим методом (разд. 4.3) или визуально с крахмалом, образующим с иодом соединение включения интенсивно синего цвета. При титровании раствором иода крахмал добавляют в титруемый раствор в начале титрования. При использовании иодида титрование проводят непрямым методом. К анализируемому раствору добавляют избыток иодида, а затем выделившийся иод титруют раствором тиосульфата натрия. При этом образуется тетратионат-ион:

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \rightleftharpoons 2I^- + S_4O_6^{2-}. \qquad (2.142)$$

С другими видами окислительно-восстановительного титрования такими, как *цериметрия*, *дихроматометрия* (титрант — $K_2Cr_2O_7$) или *броматометрия* (титрант — $KBrO_3$) — можно ознакомиться в практических руководствах.

2.6. Экстракция и ионный обмен: у колыбели хроматографии

До сих пор при обсуждении химических методов анализа мы исходили из предположения, что рассматриваемый метод селективен по отношению к определяемому компоненту либо мешающие компоненты в пробе отсутствуют. Последнее допущение, как правило, неприменимо к реальной практике химического анализа, в ходе которой часто приходится анализировать образцы весьма сложного состава. В этом случае необходимо предварительное разделение компонентов пробы.

Один из способов такого разделения может служить осаждение тех или иных компонентов (раздел 2.3). В данном разделе мы рассмотрим другие методы разделения, основанные на *распределении* вещества между двумя несмешивающимися фазами и *обмене* ионов между двумя фазами в статических условиях. Соответствующие методы разделения называются *экстракцией* и *ионным обменом*. Идеи, положенные в основу этих методов, получили дальнейшее развитие в методе *хроматографии*, подробно описанном в главе 5.

Наряду с *разделением* веществ большую роль в анализе играет и их *концентрирование*. Принципы обоих процессов сходны. Концентрирование особенно важно при определении следовых количеств.

Экстракция

Под *экстракцией* понимают переход вещества в раствор из другой жидкой или твердой фазы. При этом вещество, содержащееся в фазе L′, в той или иной мере переходит в фазу L″. Основой теоретического описания распределения вещества между двумя фазами служит следующее выражение константы межфазного рав-

новесия:

$$K = \frac{c''}{c'}. \qquad (2.143)$$

Величина K называется константой распределения Нернста, а c' и c'' — это концентрации (более строго — активности) вещества в фазах L′ и L″, соответственно. Уравнение (2.143) известно как закон распределения Нернста. Его можно сформулировать следующим образом.

Вещество распределяется между двумя несмешивающимися фазами таким образом, что отношение его концентраций в обеих фазах есть величина постоянная при постоянной температуре.

Экстракционное равновесие между твердой и жидкой фазами играет особенно большую роль в процессе пробоподготовки (*твердофазная экстракция*, раздел 1.2). Здесь же мы ограничимся рассмотрением распределения вещества между двумя жидкими фазами. Этот процесс называют *жидкостной экстракцией*. Раствор вещества в фазе L″ называется *экстрактом*. Фазу L′, обедненную веществом, иногда называют *рафинатом*.

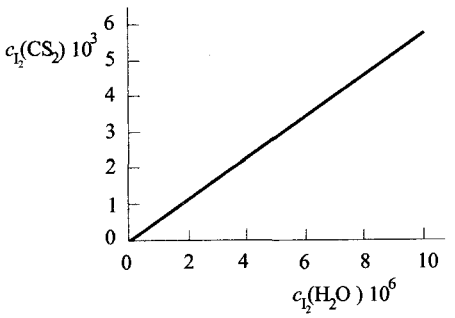
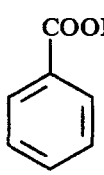


Рис. 2.20. Изотерма распределения иода между сероуглеродом и водой.

Закон распределения Нернста соблюдается строго лишь в том случае, если экстрагируемое вещество в обеих фазах находится в одной и той же молекулярной форме. В этом случае *изотерма экстракции*, т. е. зависимость концентрации вещества в одной фазе от концентрации в другой фазе, в некотором концентрационном диапазоне линейна (см. рис. 2.20), изотерма распределения иода между сероуглеродом и водой. Для этой системы константа распределения составляет

$$K = \frac{c_{I_2}(CS_2)}{c_{I_2}(H_2O)} = 581.$$



бензойная кислота

При наличии побочных реакций наблюдаются отклонения изотермы распределения от линейной зависимости. Рассмотрим экстракцию карбоновых кислот, например, бензойной из воды в бензол. Этот процесс сопровождается димеризацией молекул кислоты в органической фазе и кислотной диссоциацией — в водной (рис. 2.21).

В этом случае закон распределения Нернста выполняется строго только применительно к мономерной молекулярной форме:

$$K = \frac{c_{RCOOH}(C_6H_6)}{c_{RCOOH}(H_2O)} \qquad (2.144)$$

Чтобы рассчитать константу распределения с учетом процессов димеризации и протолиза, следует в это выражение подставить общие концентрации вещества в фазах.

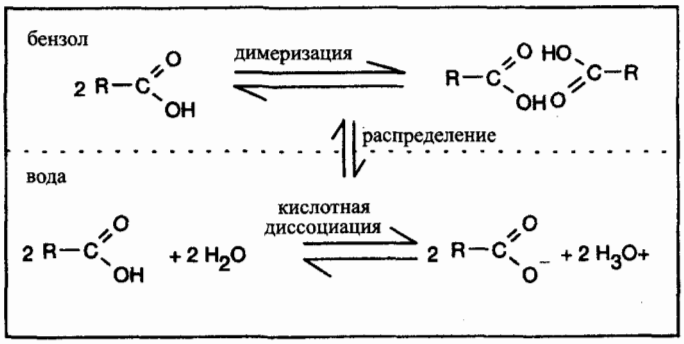


Рис. 2.21. Сочетание равновесий распределения карбоновой кислоты между бензолом и водой, димеризации в органической фазе и кислотно-основных равновесий в водной фазе. Символ R означает остаток молекулы.

Общие концентрации карбоновой кислоты в бензоле, $c_0(C_6H_6)$, и воде, $c_0(H_2O)$, выражаются следующим образом:

$$c_0(C_6H_6) = c_{RCOOH}(C_6H_6) + 2c_{(RCOOH)_2}(C_6H_6), \tag{2.145}$$

$$c_0(H_2O) = c_{RCOOH}(H_2O) + c_{RCOO^-}(H_2O). \tag{2.146}$$

Запишем выражения для степени диссоциации кислоты в водном растворе α_1 и димеризации в бензоле α_2:

$$\alpha_1 = \frac{c_{RCOO^-}(H_2O)}{c_0(H_2O)}, \tag{2.147}$$

$$\alpha_2 = \frac{2c_{(RCOOH)_2}(C_6H_6)}{c_0(C_6H_6)}. \tag{2.148}$$

Кроме того, для равновесия димеризации в органической фазе можно записать:

$$\frac{c^2_{RCOOH}(C_6H_6)}{c_{(RCOOH)_2}(C_6H_6)} = \text{const}. \tag{2.149}$$

Используя соотношения (2.145)–(2.149), можно выразить концентрацию мономерной формы в бензоле следующим образом:

$$c_{RCOOH}(C_6H_6) = c_0(C_6H_6)(1-\alpha_2) = \sqrt{\frac{c_0(C_6H_6)}{2\,\text{const}}}. \tag{2.150}$$

Подстановка (2.147) и (2.150) в (2.144) приводит к следующему выражению для константы распределения:

$$K = \frac{\sqrt{c_0(C_6H_6)(1-\alpha_2)}}{c_0(H_2O)(1-\alpha_1)}. \tag{2.151}$$

Таким образом, в выражение константы распределения в этом случае входят не только концентрации вещества в органической и водной фазах, но и величины *степени димеризации и кислотной диссоциации*.

Для практических целей используют условную константу распределения — отношение общих концентраций вещества в фазах. Она называется *коэффициен-*

том распределения и обозначается как D:

$$D = \frac{c_0''}{c_0'}. \tag{2.152}$$

В рассматриваемом случае коэффициент распределения выражается следующим образом:

$$D = \frac{c_{\mathrm{RCOOH}}(\mathrm{C_6H_6}) + 2c_{(\mathrm{RCOOH})_2}(\mathrm{C_6H_6})}{c_{\mathrm{RCOOH}}(\mathrm{H_2O}) + c_{\mathrm{RCOO^-}}(\mathrm{H_2O})}. \tag{2.153}$$

Приводя величины коэффициентов распределения всегда следует точно указывать условия экстракции, которым они соответствуют.

Однократная и многократная экстракция

Для описания процессов экстракционного разделения и концентрирования необходимы еще две величины, называемые коэффициентом экстракции и коэффициентом разделения. *Коэффициент экстракции* E — это отношение количеств экстрагирующегося вещества в обеих фазах:

$$E = \frac{c''V''}{c'V'} = \frac{m''}{m'}. \tag{2.154}$$

Индексы $'$ и $''$ относятся к фазам L′ и L″, соответственно.

Коэффициент разделения $T_{\mathrm{A,B}}$ двух веществ A и B есть отношение их коэффициентов экстракции:

$$T_{\mathrm{A,B}} = \frac{E_{\mathrm{A}}}{E_{\mathrm{B}}} = \frac{K_{\mathrm{A}}}{K_{\mathrm{B}}} > 1. \tag{2.155}$$

Чем больше коэффициент разделения, тем лучше разделяются вещества A и B. Часто однократной экстракции оказывается недостаточно для обеспечения достаточной полноты извлечения вещества. В этом случае используют многократную (повторную) экстракцию.

Для описания этого процесса рассмотрим доли вещества p и q, содержащиеся, соответственно, в фазах L′ и L″ после однократной экстракции:

$$p = \frac{m''}{m_{\mathrm{общ}}} = \frac{E}{E+1} = \frac{DV''}{DV'' + V'}, \tag{2.156}$$

$$q = \frac{m'}{m_{\mathrm{общ}}} = \frac{1}{E+1} = \frac{V'}{DV'' + V'}, \tag{2.157}$$

где $m_{\mathrm{общ}}$ — общая (исходная) масса вещества.

При однократной экстракции в экстракт переходит доля вещества равная p, а доля равная q остается непроэкстрагированной. При повторной экстракции в экстракт переходит доля равная pq, а остается — q^2.

После n повторных экстракций непроэкстрагированной останется доля вещества, равная

$$q^{\mathrm{n}} = \frac{1}{(E+1)^{\mathrm{n}}}. \tag{2.158}$$

Доля вещества, содержащаяся в объединенных экстрактах, равна

$$1 - q^{\mathrm{n}} = \frac{(E+1)^{\mathrm{n}} - 1}{(E+1)^{\mathrm{n}}}. \tag{2.159}$$

В качестве численного примера рассмотрим распределение вещества между эфиром и водой при величине константы распределения $K = 1$. В табл. 2.16 (а) приведены доли вещества, находящегося в каждой из фаз после повторных экстракций водной фазы свежей порцией эфира равного объема. Значение E в этом случае равно

$$E = K\frac{V''}{V'} = 1 \cdot \frac{50}{50} = 1.$$

В табл. 2.16 (б) рассмотрен пример повторных экстракций четырехкратным объемом растворителя. Теперь значение E составляет

$$E = K\frac{V''}{V'} = 1 \cdot \frac{200}{50} = 4.$$

Чтобы проэкстрагировать не менее 99% вещества, в случае (а) требуется не менее 7 экстракций (общая степень извлечения при этом составляет 99,22%), а в случае (б) — только три.

Таблица 2.16. Многократная экстракция вещества из водной фазы эфиром. K=1.

(а) Объемы фаз: вода — 50 мл, эфир — 50 мл.

n	Доля вещества в водной фазе, q^n	Доля вещества в орган. фазе, $1-q^n$
1	0,5	0,5
2	0,25	0,75
3	0,125	0,875
4	0,0625	0,9375
5	0,03125	0,9688
6	0,015625	0,9843
7	**0,007813**	**0,9922**

(б) Объемы фаз: вода — 50 мл, эфир — 200 мл.

n	Доля вещества в водной фазе, q^n	Доля вещества в орган. фазе, $1-q^n$
1	0,2	0,8
2	0,04	0,96
3	**0,008**	**0,992**
4	0,0016	0,9984

Для достижения наибольшей полноты извлечения лучше много раз обрабатывать водную фазу малыми порциями экстрагента, чем один (или малое число) раз — большой порцией. Однако разделение двух экстрагирующихся веществ при этом ухудшается.

Рассмотрим, например, распределение двух веществ А и В , для которых $E_A = 10$ и $E_B = 0,1$. Коэффициент разделения $T_{A,B}$ при этом составляет 100 (уравнение (2.155)). С помощью уравнений (2.158) и (2.159) легко рассчитать, что после первой экстракции в экстракте содержится 90,91% общего количества А и 9,09% В. После второй экстракции в органическую фазу перейдет еще 8,27% А, но также и 8,26% В.

Чтобы получить экстрагирующееся вещество в возможно более чистом виде, целесообразно после первой экстракции обработать экстракт свежей порцией воды (провести *реэкстракцию*). В рассмотренном примере при этом из экстракта перейдет в водную фазу 8,26% А, но также и 8,26% В. В органической фазе останется 82,46% А и лишь 0,826% В.

При высоких значениях коэффициента разделения сочетание экстракции с реэкстракцией позволяет добиться полного разделения даже за одну стадию. Но значительно лучшие результаты достигаются при многократном повторении этой операции. Рассмотрим периодический многократный процесс разделения, называемый процессом Крейга.

Разделительный процесс Крейга

В качестве иллюстрации процесса Крейга на рис. 2.22 схематически изображены первые восемь стадий многократного процесса разделения при соотношении объемов фаз $V''/V' = 1$ и значении $K = 1$. Исходно все сосуды содержат чистую водную фазу. В сосуд 0 помещается также органическая фаза, содержащая 100 мг исследуемого вещества. После установления межфазного равновесия органическую фазу переносят в соседний справа сосуд (1), а сосуд 2 заполняют чистой органической фазой. Затем эту операцию повторяют.

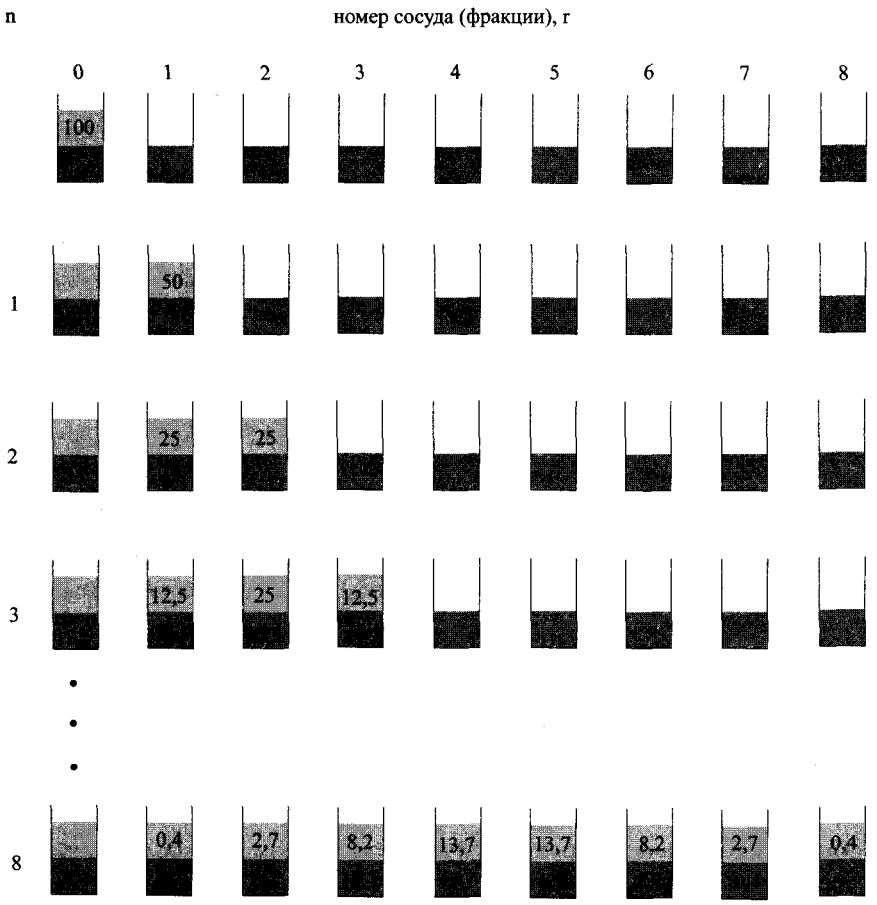


Рис. 2.22. Многократное распределение 100 мг вещества согласно процессу Крейга. Приведены массы вещества в отдельных фазах фракций в мг.

Для этого процесса распределение вещества по фракциям описывается математической моделью биномиального распределения. В соответствии с ней доля вещества в органической фазе в r-м сосуде (фракции) после n-го шага процесса составляет

$$T_{n,r} = \frac{n!}{r!(n-r)!} \cdot p^r q^{n-r} = \frac{n!}{r!(n-r)!} \cdot \frac{E^r}{(1+E)^n}. \qquad (2.160)$$

При известной величине E можно построить теоретическую кривую распределения Крейга. В качестве примера на рис. 2.23 приведены кривые распределения после двадцатой стадии процесса для различных значений E. Как видно из этого рисунка, вещества с $E_A = 5$ и $E_B = 0,2$ при этом практически полностью разделяются.

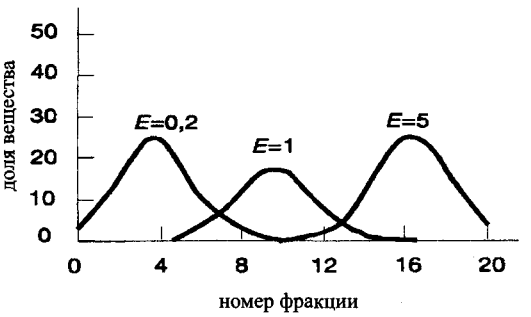


Рис. 2.23. Кривые распределения, описывающие 20-стадийный процесс Крейга для различных значений E.

При достаточно большом числе стадий ($n > 20$) биномиальное распределение практически совпадает с нормальным (гауссовым; см. раздел 6.1).

Типы экстракционных систем

Экстракция может представлять собой процесс простого распределения индивидуальных молекулярных форм вещества либо сопровождаться различными химическими реакциями.

Таблица 2.17. Коэффициенты распределения (рассчитанные по уравнению (2.152)) при экстракции некоторых органических веществ из водных растворов.

Соединение	Органическая фаза	D
анилин	бензол	10
2-нафтиламин	бензол	280
бутан $CH_3-CH_2-CH_2-CH_3$	диэтиловый эфир	200
бутанол $CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-OH$	диэтиловый эфир	7,4
масляная кислота $CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-COOH$	диэтиловый эфир	6,5

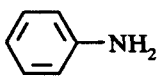
В табл. 2.17 приведены примеры распределения *молекулярных форм* ряда органических веществ в двух различных парах растворителей. Увеличение коэффициента распределения 2-нафтиламина по сравнению с анилином объясняется увеличением размера молекулы и связанным с этим увеличением растворимости в органическом растворителе. В ряду бутан — бутанол — масляная кислота

наблюдается уменьшение коэффициентов распределения, вызванное усилением взаимодействия молекул с водой за счет образования водородных связей. Спирты и карбоновые кислоты удерживаются в водной фазе значительно прочнее, чем соответствующие углеводороды.

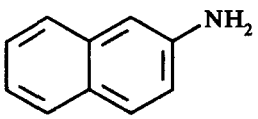
Молекулярный механизм распределения характерен и для некоторых неорганических веществ, например, при экстракции $GeCl_4$, HgI_2, $AsCl_3$ или OsO_4 из водной в органическую фазу.

Среди *химических реакций*, сопровождающих экстракционные процессы, наиболее важны реакции комплексообразования и образования ионных ассоциатов.

Экстракция комплексных соединений



анилин



2-нафтиламин

Чтобы проэкстрагировать ионные вещества, например ионы металлов, их необходимо превратить в незаряженные гидрофобные соединения. Применительно к ионам металлов для этого используют реакции комплексообразования (раздел 2.4). Особенно удобно использовать хелатообразующие лиганды, которые одновременно занимают все координационные места иона металла и нейтрализуют его заряд. При этом образуются *незаряженные хелаты* или *внутрикомплексные соединения*. Примеры распространенных реагентов для экстракции металлов приведены ниже и в табл. 2.18.

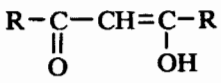
Таблица 2.18. Экстракционные системы, используемые для разделения металлов.

Экстрагируемый ион	Экстрагент	Растворитель
Mn^{2+}, Cu^{2+}, Pb^{2+}	дифенилтиокарбазон (дитизон)	тетрахлорид углерода
Al^{3+}, Mg^{2+}, Th(IV), Fe^{3+}, Cu^{2+}	8-оксихинолин	хлороформ
Ni^{2+}, Pd^{2+}	диметилглиоксим	хлороформ
Zr(IV), Ti(IV)	трибутилфосфат	трибутилфосфат
Fe^{3+}, Cu^{2+}, Co^{2+}	триоктиламин	бензол
редкоземельные элементы	ди-2-этилгексилфосфорная кислота	н-гептан

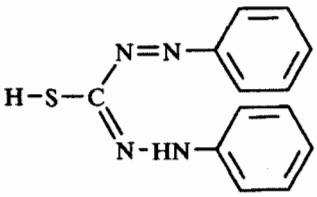
На практике в качестве экстрагентов обычно используют органические кислоты и основания. Поэтому наряду с процессом распределения комплекса необходимо учитывать и кислотно-основные процессы с участием лиганда.

Для комплекса, образованного ионом металла M^{n+} с зарядом n и лигандом — одноосновной кислотой HX — можно записать общее уравнение экстракции из водной (w) в органическую (o) фазу в форме

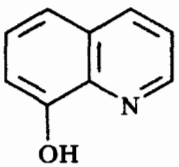
$$(M^{n+})_w + n(HX)_o \rightleftharpoons (MX_n)_o + n(H^+)_w. \qquad (2.161)$$



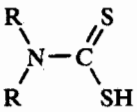
β-дикетоны (енольная форма)



дитизон



8-оксихинолин



дитиокарбаминовые кислоты

Константа этого равновесия называется *константой экстракции*:

$$K_{ex} = \frac{[MX_n]_o[H^+]_w^n}{[M^{n+}]_w[HX]_o^n} = \frac{K_{MX_n}\beta_{MX_n}K_S^n}{K_{HX}^n}, \tag{2.162}$$

где

$$K_{HX} = \frac{[HX]_o}{[HX]_w}, \qquad K_{MX_n} = \frac{[MX_n]_o}{[MX_n]_w},$$

$$\beta_{MX_n} = \frac{[MX_n]_w}{[M^{n+}]_w[X^-]_w^n}, \qquad K_S = \frac{[H^+]_w[X^-]_w}{[HX]_w}.$$

Таким образом, константа экстракции тем больше, чем устойчивее комплекс (т. е. чем больше константа β_{MX_n}) и чем больше его константа распределения K_{MX_n}. Экстракция также улучшается с увеличением константы кислотности лиганда K_S. Что же касается экстракционных свойств лиганда, то, как следует из уравнения (2.162), он должен экстрагироваться как можно меньше (величина K_{HX} должна быть мала).

При использовании экстрагентов, обладающих кислотно-основными свойствами, необходим контроль pH водной фазы. Уже из самого выражения константы экстракции (2.162) видно, что в этих случаях распределение комплекса зависит от pH. Упрощенно зависимость коэффициента распределения иона металла от pH можно выразить следующим образом:

$$D_{M^{n+}} = \frac{[MX_n]_o}{[M^{n+}]_w} = \frac{K_{ex}[HX]_o^n}{[H^+]_w^n}. \tag{2.163}$$

Чем ниже концентрация протонов, т. е. чем выше pH, тем выше коэффициент распределения металла. На рис. 2.24 приведены примеры зависимости степени извлечения ионов металлов 8-оксихинолином в хлороформ от pH.

Различный характер влияния pH на экстракцию отдельных ионов металлов можно использовать для их разделения. Например, согласно данным рис. 2.24, при pH можно отделить железо от ионов Ni, Co и Mn.

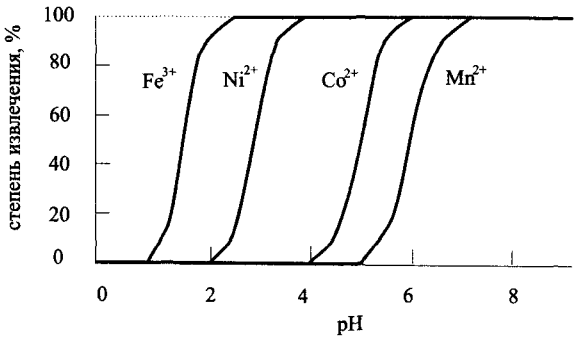
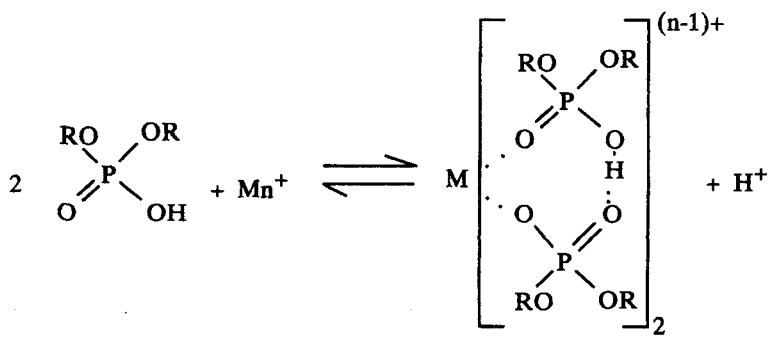


Рис. 2.24. Зависимость степени извлечения ионов металлов (из 0,01 М водных растворов) в хлороформ в виде их комплексов с 8-оксихинолином от pH. Степень извлечения представляет собой долю металла в органической фазе (уравнение (2.156)), выраженную в процентах.

Специфический вид комплексообразования наблюдается, когда ион металла при взаимодействии с экстрагентом, находящимся в органической фазе, выделяет в водную фазу эквивалентное количество ионов H^+. Экстрагент в таких случаях обычно рассматривают не как лиганд, а как *жидкий ионообменник*. Чаще всего в качестве жидких ионообменников используют моно- и диэфиры фосфорной кислоты:



R — органический радикал (например, 2-этилгексил). (2.164)

Экстракция ионных ассоциатов

Другой возможностью превращения ионов в незаряженное гидрофобное (и, по возможности, большого размера) соединение является образование ионных ассоциатов.

Заряженные хелатные комплексы такие, как комплекс Fe(II) с 1,10-фенантролином (рис. 2.25) можно перевести в органическую фазу при действии ионов ClO_4^- или N_3^-.

Анионы, например ReO_4^- или MnO_4^-, можно проэкстрагировать в присутствии катионов большого размера — тетрабутиламмония или тетрафениларсония (рис. 2.26).

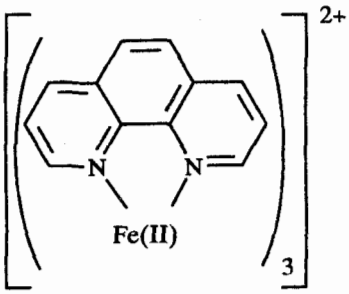
Для экстракции анионов можно использовать также *жидкие ионообменники* — обычно амины (триоктиламин). Раствор амина в органическом раство-

рителе предварительно встряхивают с водным раствором кислоты. При этом в органической фазе образуется соль аммонийного производного:

$$(R_3N)_o + (HCl)_w \rightleftharpoons \{R_3NH^+Cl^-\}_o. \qquad (2.165)$$

R — октил

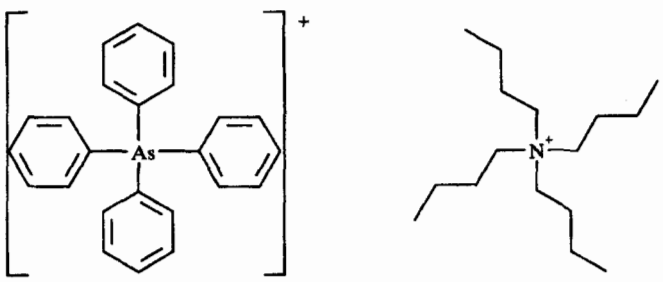
Рис. 2.25. Строение катионного трис-фенантролинового комплекса железа (II).



Анион образующейся соли способен к обмену с другими анионами в водной фазе:

$$\{R_3NH^+Cl^-\}_o + (NO_3^-)_w \rightleftharpoons \{R_3NH^+NO_3^-\}_o + (Cl^-)_w. \qquad (2.166)$$

Рис. 2.26. Строение катионов тетрафениларсония и тетрабутиламмония, используемых в экстракции для образования ионных пар.



Экстракция сольватов

Экстракция в органическую фазу может происходить и за счет образования сольватов. Из сольватообразующих экстрагентов практически важное значение имеют фосфорорганические, например, трибутилфосфат (TBP). Экстрагент, играющий роль основания Льюиса, взаимодействует с катионом металла (кислотой Льюиса) с образованием донорно-акцепторного соединения:

$$M^{3+} + 3NO_3^- + 3(TBP)_o \rightleftharpoons \{M(NO_3)_3 \cdot 3TBP\}_o. \qquad (2.167)$$

Примеры экстракционных систем такого типа приведены в табл. 2.18.

Практическое применение

Как уже было сказано в начале раздела, экстракционные методы используют главным образом для разделения и концентрирования веществ. Во многих методах анализа, например экстракционно-фотометрических (раздел 3.3.2), экстрак-

ция является неотъемлемой частью пробоподготовки. Экстракционные процессы с участием экстрагента, закрепленного на твердом носителе, лежат в основе метода *экстракционной хроматографии* (раздел 5.3).

Ионный обмен

Принципов ионного обмена мы уже касались, рассматривая применение жидких ионообменников в экстракции. Катион или анион жидкого ионообменника находится в гетерогенном равновесии с ионом соответствующего знака. Такие же равновесия могут иметь место и для твердых ионообменников.

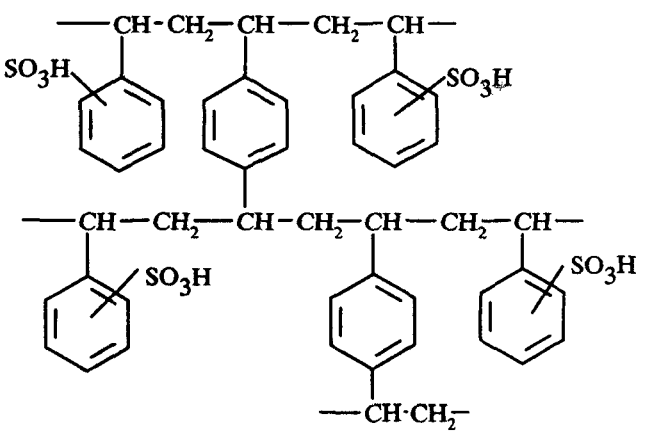
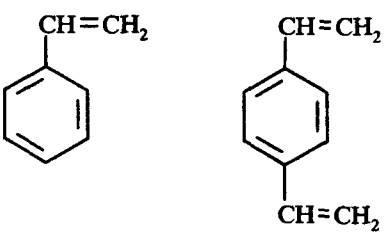


Рис. 2.27. Строение сильнокислотного катионообменника на основе сополимера стирола-дивинилбензола с привитыми сульфогруппами.



стирол дивинилбензол

Твердые *ионообменники* — это макромолекулы нитевидного или каркасного строения, содержащие ионогенные группы. Ионообменник представляет собой полиэлектролит с каналами и порами, в которые может проникать вода. Поэтому ионообменник способен к набуханию. Для аналитической химии особый интерес представляют органические ионообменики. Основу (матрицу) таких ионообменников составляет органический полимер, например сополимер стирола, дивинилбензола (рис. 2.27). Полиэлектролитные свойства обеспечиваются наличием привитых катионо- или анионообменных групп. Среди них наиболее распространены:

- катионообменные группы: $-SO_3H$, $-COOH$, $-OH$, $-PO(OH)_2$
- анионообменные группы: $-N^+(CH_3)_3$, $-N^+R_3$
- амфотерные группы: $-N(CH_2-COOH)_2$, HO_3S-(матрица)$-N^+(CH_3)_3$

Так же, как и низкомолекулярные кислоты и основания (раздел 2.2), ионогенные группы ионообменников можно классифицировать с точки зрения силы их

кислотных или основных свойств. В связи с этим выделяют сильно- и слабокислотные катионообменники и сильно- и слабоосновные анионообменники.

Для разделения ионов металлов предложены также ионообменники с привитыми группами, обладающими комплексообразующей способностью.

Емкость и набухание ионообменников

Способность ионообменника к поглощению определенного количества ионов характеризуют понятием *емкость*. Обычно ее выражают в виде *удельной емкости* — количества молей эквивалентов поглощаемых ионов, отнесенных к единице массы воздушно-сухого ионообменника. Удельная емкость большинства ионообменников находится в пределах 4–5 ммоль/г. Емкость сильнокислотных и сильноосновных ионообменников не зависит от pH. Для слабокислотных или слабоосновных ионообменников такая зависимость наблюдается. Так, для слабокислотных ионообменников с уменьшением pH емкость уменьшается ввиду уменьшения степени диссоциации ионообменных групп.

Наряду с ионами соответствующего заряда ионообменники способны поглощать и другие вещества вследствие *адсорбции*. Существуют специальные ионообменники, для которых этот механизм является основным. Поэтому различают *обменную* и *адсорбционную* емкость ионообменника.

Под *набуханием ионообменника* понимают увеличение его объема вследствие поглощения растворителя. При высушивании объем ионообменника снова уменьшается. Степень набухания ионообменника зависти от жесткости (степени сшивки) его матрицы. Чем степень сшивки меньше, тем набухание больше.

Емкость ионообменника можно охарактеризовать и применительно к его набухшему состоянию. В этом случае используют *удельную объемную емкость*. Ее величина обычно составляет 1–2 ммоль/мл набухшего ионообменника.

Равновесие ионного обмена

Равновесие ионного обмена мы рассмотрим на примере сильнокислотного (например, содержащего привитые — SO_3H — группы) ионообменника. Пусть он исходно содержит катионы A^+ (например, H^+), которые обмениваются с находящимися в растворе катионами B^+ (например, Na^+):

$$\bar{A}^+ + B^+ \rightleftharpoons \bar{B}^+ + A^+, \tag{2.168}$$

(черта над символом иона означает твердую фазу ионообменника).

При постоянных условиях эксперимента (степень заполнения ионообменника ионами того или иного вида, концентрация посторонних электролитов в растворе и т. д.) константу равновесия ионного обмена можно записать в форме условной константы K, называемой в этом случае *коэффициентом селективности*:

$$K_{A^+,B^+} = \frac{[A^+][\bar{B}^+]}{[\bar{A}^+][B^+]}. \tag{2.169}$$

Величина коэффициента селективности зависит от следующих факторов.

- С уменьшением *степени сшивки* ионообменника коэффициент селективности приближается к единице.

- Коэффициент селективности зависит от *степени заполнения* ионообменника. При прочих равных условиях преимущественно поглощается тот ион, содержание которого в ионообменнике меньше.

- С увеличением *температуры* коэффициенты селективности, как правило, уменьшаются.

- При обмене ионов *разной величины заряда* из разбавленных растворов преимущественно поглощается ион с большим, из концентрированных — с меньшим зарядом.

Рассмотренные применительно к экстракционному процессу величины коэффициентов распределения (2.152) и разделения (2.155) можно использовать и для характеристики ионообменного равновесия. *Коэффициент распределения* иона A^+ между ионообменником и жидкой фазой равен

$$D_{A^+} = \frac{[\bar{A}^+]}{[A^+]}.$$

Коэффициент разделения ионов A и B равен

$$T_{A^+,B^+} = \frac{D_A}{D_B}.$$

Для сильнокислотных и сильноосновных ионообменников на основе полистирола закономерности изменения коэффициентов распределения ионов можно объяснить на основе представлений об электростатических взаимодействиях. Так, для *сильнокислотных* катионообменников коэффициенты распределения уменьшаются с уменьшением заряда иона в ряду

$$D_{Th^{4+}} > D_{Al^{3+}} > D_{Ca^{2+}} > D_{Na^+}.$$

Для ионов одинакового заряда сродство к ионообменнику уменьшается с увеличением радиуса гидратированного иона:

$$D_{Cs^+} > D_{Rb^+} > D_{K^+} > D_{Na^+} > D_{H^+} > D_{Li^+}.$$

Для зависимости селективности сильноосновных анионообменников от заряда и радиуса ионов справедливы те же закономерности. Преимущественно сорбируются легко поляризующиеся ионы:

$$D_{I^-} > D_{Br^-} > D_{Cl^-} > D_{F^-}.$$

Практическое применение

Ионообменный процесс можно проводить в статическом и динамическом режиме. В *статическом* режиме к анализируемому раствору добавляют некоторое количество ионообменника в требуемой форме и оставляют стоять до достижения равновесия. После этого ионообменник отделяют от раствора. Недостаток такого способа состоит в том, что для обеспечения полноты обмена требуется достаточно большой избыток ионообменника.

При работе в *динамическом* режиме ионообменник помещают в колонку. Затем ее промывают раствором электролита для перевода ионообменника в требуемую форму. После этого в колонку вносят порцию анализируемого раствора,

а затем промывают раствором элюента для вымывания сорбировавшихся ионов. Таким образом построенный процесс представляет собой один из вариантов ионообменной хроматографии, подробно рассматриваемой в разделе 5.3.2.

Важной областью применения ионного обмена служит *умягчение воды*, т. е. удаление из нее ионов кальция и магния. Это достигается путем обмена ионов щелочных металлов на натрий с помощью ионообменника в натриевой форме:

$$2\bar{\mathrm{N}}\mathrm{a}^{+} + \mathrm{Ca}^{2+} \rightleftharpoons 2\mathrm{Na}^{+} + \bar{\mathrm{C}}\mathrm{a}^{2+}. \qquad (2.170)$$

Получаемая при этом «мягкая» вода обладает хорошими моющими свойствами. Однако общее содержание солей в ней при этом не уменьшается. Для *обессоливания* воды используют сочетание катионного и анионного обмена. Ионы натрия, выделяющиеся в соответствии с уравнением (2.170), удаляют с помощью катионообменника в H^{+}-форме. Высвобождающиеся при этом ионы H^{+} реагируют с ионами OH^{-} анионообменника:

$$\mathrm{Na}^{+} + \mathrm{Cl}^{-} + \bar{\mathrm{H}}^{+} \rightleftharpoons \bar{\mathrm{N}}\mathrm{a}^{+} + \mathrm{Cl}^{-} + \mathrm{H}^{+},$$

$$\mathrm{H}^{+} + \mathrm{Cl}^{-} + \mathrm{OH}^{-} \rightleftharpoons \bar{\mathrm{C}}\mathrm{l}^{-} + \mathrm{H_2O}.$$

Этот процесс можно осуществить ступенчато, пропуская воду последовательно через слои катионо- и анионообменника, либо использовать смесь обоих ионообменников.

Ионный обмен применяется также для разделения катионов и анионов перед их определением и для концентрирования следовых количеств ионов.

2.7. Кинетические методы: количественная оценка протекания реакций во времени

Все рассмотренные ранее классические методы анализа основаны на исследовании химических систем *в состоянии равновесия*. Здесь мы рассмотрим методы, в основе которых лежит изучение *скорости химической реакции*. Такие методы называются *кинетическими*. С кинетическими явлениями аналитик сталкивается не только в кинетических методах анализа, но и, например, в хроматографии (уширение пиков), в вольтамперометрии (изменение потенциалов полуволн), в спектроскопических методах (явление люминесценции).

Выражения для скорости химической реакции мы уже использовали ранее, рассматривая химическое равновесие (уравнение (2.1)) в разделе 2.1. Будем считать, что реакция

$$\nu_{\mathrm{A}}\mathrm{A} + \nu_{\mathrm{B}}\mathrm{B} \xrightarrow{k} \nu_{\mathrm{C}}\mathrm{C}, \qquad (2.1)$$

протекает необратимо и нацело слева направо. Ее скорость можно выразить через концентрации ее участников следующим образом:

$$v = -\frac{1}{\nu_{\mathrm{A}}}\frac{\mathrm{d[A]}}{\mathrm{d}t} = -\frac{1}{\nu_{\mathrm{B}}}\frac{\mathrm{d[B]}}{\mathrm{d}t} = \frac{1}{\nu_{\mathrm{C}}}\frac{\mathrm{d[C]}}{\mathrm{d}t}.$$

Таким образом, определение скорости реакции можно осуществить, измеряя как концентрации исходных веществ, так и продуктов. Скорость реакции зави-

сит от константы скорости k, концентраций реагирующих веществ, температуры, природы растворителя, ионной силы и наличия катализатора.

Химические реакции можно классифицировать с точки зрения количества молекул, принимающих участие в ее элементарном акте. С этих позиций различают *моно-*, *би-* и *тримолекулярные реакции*. Другим подходом является классификация реакций с точки зрения описывающих их кинетических уравнений (законов изменения концентраций участников реакции во времени). Эту классификацию мы рассмотрим в следующем разделе.

Кинетические уравнения

Кинетические уравнения отражают характер зависимости скорости реакции от концентраций ее участников. Применительно к уравнению (2.1) в общем случае можно записать:

$$v = k[\mathrm{A}]^{\alpha}[\mathrm{B}]^{\beta}, \tag{2.171}$$

где k — константа скорости реакции, $(\text{л}\cdot\text{моль}^{-1})^{1-n}\cdot\text{с}^{-1}$;
α, β — порядки реакции по компонентам A B соответственно.

Сумма $n = \alpha + \beta$ называется общим порядком реакции (слово «общий» часто опускают). Порядки реакции по отдельным компонентам (α и β) в общем случае не совпадают с соответствующими стехиометрическими коэффициентами (ν_{A} и ν_{B}). В случае сложных механизмов реакций их порядки могут быть дробными.

Для простоты в дальнейшем будем считать, что все стехиометрические коэффициенты в уравнении рассматриваемой реакции (2.1) равны единице.

Реакции нулевого порядка

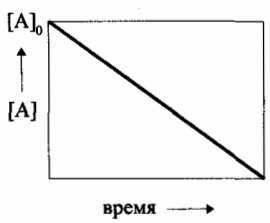


Рис. 2.28. Изменение концентрации компонента во времени для реакции нулевого порядка.

Для реакций нулевого порядка скорость *не зависит* от концентраций реагирующих веществ:

$$v = -\frac{\mathrm{d}[\mathrm{A}]}{\mathrm{d}t} = k. \tag{2.172}$$

Интегрирование этого уравнения в пределах от $t = 0$ до t приводит к выражению

$$[\mathrm{A}] = [\mathrm{A}]_0 - kt, \tag{2.173}$$

где $[\mathrm{A}]_0$ — концентрация вещества A при $t = 0$, т. е. в начальный момент реакции.

Нулевой порядок могут иметь ферментативные реакции в случае насыщения субстратом (раздел 8.3) и некоторые другие реакции со сложным механизмом.

Реакции первого и второго порядка

Кинетическое уравнение для *реакции первого порядка* имеет вид

$$v = -\frac{\mathrm{d}[\mathrm{A}]}{\mathrm{d}t} = k[\mathrm{A}]. \tag{2.174}$$

Интегральную форму уравнения первого порядка также можно получить путем интегрирования от $t = 0$ до t:

$$[\mathrm{A}] = [\mathrm{A}]_0 e^{-kt}. \tag{2.175}$$

Если же рассматривать изменение концентрации не исходных веществ, а продукта, то интегральное уравнение выглядит так:

$$[\mathrm{A}] = [\mathrm{A}]_0 - [\mathrm{C}],$$
$$[\mathrm{C}] = [\mathrm{A}]_0 \cdot (1 - e^{-kt}). \tag{2.176}$$

На рис. 2.29 схематически представлено изменение концентраций для реакции первого порядка.

Кинетическое уравнение реакции *второго порядка* может иметь различный вид. В одном случае второй порядок обусловлен тем, что скорость реакции пропорциональна концентрации одного из ее участников во второй степени:

$$v = -\frac{1}{2}\frac{\mathrm{d}[\mathrm{A}]}{\mathrm{d}t} = k[\mathrm{A}]^2, \tag{2.177}$$

или, в интегральной форме,

$$[\mathrm{A}] = \frac{[\mathrm{A}]_0}{1 + 2[\mathrm{A}]_0 kt}. \tag{2.178}$$

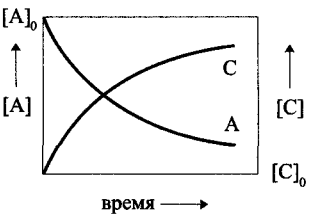


Рис. 2.29. Изменение концентрации компонентов во времени для реакции первого порядка.

В другом случае скорость пропорциональна концентрациям двух участников в первой степени:

$$v = -\frac{\mathrm{d}[\mathrm{A}]}{\mathrm{d}t} = -\frac{\mathrm{d}[\mathrm{B}]}{\mathrm{d}t} = k[\mathrm{A}][\mathrm{B}]. \tag{2.179}$$

Интегрирование этого выражения приводит к формуле

$$\ln \frac{[\mathrm{A}][\mathrm{B}]_0}{[\mathrm{B}][\mathrm{A}]_0} = ([\mathrm{A}]_0 - [\mathrm{B}]_0)\, kt. \tag{2.180}$$

Разумеется, возможны и еще более сложные кинетические уравнения. Однако в аналитической практике стараются проводить реакции таким образом, чтобы их кинетические уравнения имели как можно более простой вид. Обычно для практических целей рассмотренных уравнений оказывается вполне достаточно.

Кажущийся порядок реакции

Один из способов упрощения кинетического уравнения состоит в использовании реакций, имеющих кажущийся порядок (псевдо-порядок). Для этого один из ее участников (или несколько) берется в столь большом избытке, что его концентрация практически не изменяется в ходе реакции и не влияет на ее скорость. Например, при большом избытке вещества B реакция второго порядка (2.179) превращается в реакцию псевдо-первого порядка:

$$v = -\frac{\mathrm{d}[\mathrm{A}]}{\mathrm{d}t} = k[\mathrm{A}][\mathrm{B}] = k'[\mathrm{A}]. \tag{2.181}$$

Концентрация [B] в этом случае становится постоянной величиной, которую можно включить в значение новой константы скорости k'.

Начальные скорости реакций

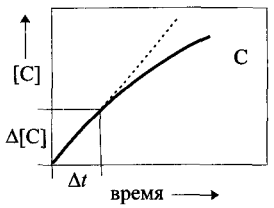


Рис. 2.30. Определение начальной скорости реакции.

Скорость реакции проще всего измерить, если ограничиться изучением лишь ее начального участка. Начальная скорость реакции v_0 зависит только от исходных концентраций ее участников. Например, для реакции второго порядка

$$v_0 = -\frac{\mathrm{d[A]}}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d[C]}}{\mathrm{d}t} = k[\mathrm{A}]_0[\mathrm{B}]_0. \qquad (2.182)$$

Начальную скорость реакции можно определить графически по тангенсу угла наклона начального участка зависимости концентрации от времени $\Delta[\mathrm{C}]/\Delta t$ (рис. 2.30).

Зависимость концентрации от времени можно считать практически линейной вплоть до степени превращения равной 10%.

Факторы, влияющие на скорость реакции

Помимо концентраций реагирующих веществ, скорость реакции зависит от температуры, природы растворителя и концентрации посторонних электролитов.

Влияние **температуры** на величину константы скорости реакции k описывается уравнением Аррениуса:

$$k = A \cdot e^{-\frac{E_\mathrm{A}}{RT}}, \qquad (2.183)$$

где A — эмпирическая константа,
E_A — энергия активации Аррениуса.

Зависимость скорости реакции от температуры означает, что при практическом использовании кинетических методов температуру реакционной смеси необходимо поддерживать постоянной (в пределах $\pm 1^\circ$C).

Солевые эффекты, вызванные присутствием электролитов, могут иметь различное происхождение. *Первичные солевые эффекты* заключаются в изменении коэффициентов активности участников реакции или активированного комплекса и, следовательно, свободной энергии активации реакции.

Вторичными солевыми эффектами называют влияние электролитов на скорость реакции, связанное с изменением кислотно-основных свойств ее участников.

Ввиду возможности этих эффектов ионную силу растворов при кинетических измерениях также необходимо контролировать.

Влияние природы растворителя играет роль при проведении реакций в неводных или смешанных водно-органических средах. Мы ограничимся лишь реакциями в водных растворах и поэтому влияние растворителя рассматривать не будем.

Большое влияние на скорость реакций оказывает наличие **катализатора**. Рассмотрим наиболее простой пример химической реакции, заключающейся в превращении исходного вещества A в продукт P:

$$\mathrm{A} \rightarrow \mathrm{P}. \qquad (2.184)$$

Реакция (2.184) протекает через образование промежуточного активированного состояния. Ее скорость зависит от энергии образования этого состояния, называемой энергией активации (более строго — стандартной свободной энтальпией активации). На рис. 2.31 схематически изображен ход некаталитической реакции. Действие катализатора К состоит в том, что он образует промежуточное соединение с субстратом АК и при его распаде (и превращении в продукт Р) вновь выделяется в свободном состоянии:

$$A + K \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} AK, \tag{2.185}$$

$$AK \xrightarrow{k_2} P + K. \tag{2.186}$$

В присутствии катализатора реакция ускоряется, поскольку константа скорости каталитической реакции выше, чем некаталитической.

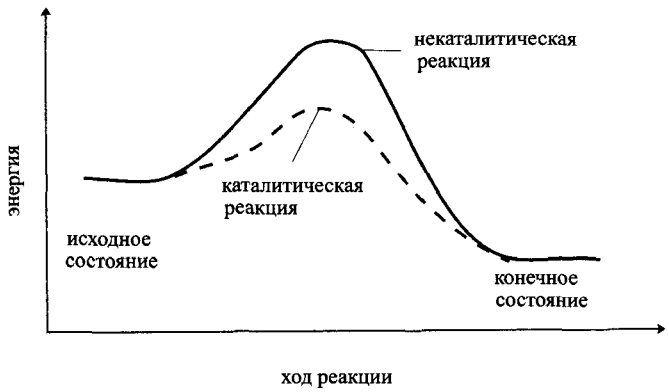


Рис. 2.31. Сравнение энергий активации каталитической и некаталитической реакции.

В табл. 2.19 приведены примеры изменения энергии активации реакции разложения пероксида водорода под действием катализаторов. Если сравнить энергии активации некаталитической реакции и реакции, катализируемой ферментом каталазой, то из уравнения Аррениуса (2.183) следует, что фермент ускоряет реакцию в 10^8 раз.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{катализатор}} 2H_2O + O_2.$$

Таблица 2.19. Энергии активации реакции разложения H_2O_2.

Условия реакции	Энергия активации, кДж/моль
некаталитическая	76
катализатор — Pt	57
катализатор — каталаза	29

Практическое применение

В основе кинетических методов анализа могут лежать как некаталитические, так и каталитические реакции. Мы ограничимся рассмотрением только послед-

них. Каталитические реакции применяют, например, при определении следовых количеств ионов металлов, в которых они служат катализаторами.

Рассмотрим наиболее простой пример реакции, протекающей в присутствии катализатора:

$$A + B \xrightarrow{K} C$$

Пусть по отношению к реагирующим веществам A и B она является реакцией псевдо-нулевого порядка. В этом случае общая скорость реакции, измеряемая по увеличению концентрации продукта C (индикаторного вещества), зависит только от концентрации катализатора c_K и скорости некаталитической реакции:

$$\nu = \frac{d[C]}{dt} = k_{\text{некат.}} + k_{\text{кат.}} c_K. \qquad (2.187)$$

Значения скорости реакции при различных концентрациях катализатора можно найти из соответствующих зависимостей концентрации индикаторного вещества C от времени (рис. 2.32). На начальных участках они являются прямолинейными, а скорости соответствуют тангенсам углов их наклона $\operatorname{tg}\alpha = \Delta[C]/\Delta t$. Такой метод измерения скоростей реакций называется *методом тангенсов*. Градуировочный график в этом случае представляет собой зависимость $\operatorname{tg}\alpha$ от концентрации катализатора.

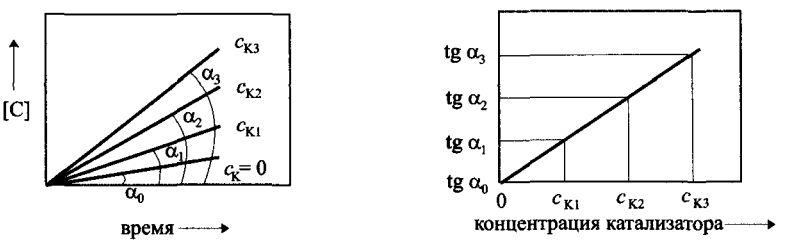


Рис. 2.32. Измерение скорости каталитической реакции методом тангенсов.

Еще проще можно измерить скорость реакции по *методу фиксированного времени*. В этом методе измеряют концентрацию индикаторного вещества по истечении определенного фиксированного времени, а градуировочный график строят как зависимость концентрации индикаторного вещества от концентрации катализатора (рис. 2.33).

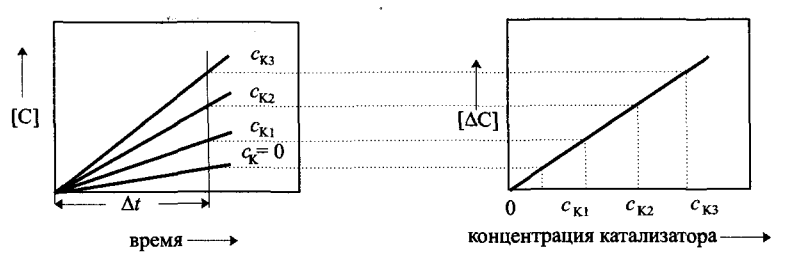


Рис. 2.33. Измерение скорости каталитической реакции методом фиксированного времени.

В табл. 2.20 приведены примеры кинетических методов определения элементов, являющихся катализаторами в окислительно-восстановительных реакциях. Для каталитических методов пределы обнаружения часто находятся в области следовых концентраций. В то же время селективность таких методов часто слишком низка для решения сложных практических задач. Высокоселективными катализаторами являются ферменты. *Ферментативные методы анализа* (раздел 8.3) представляют собой весьма важное в практическом отношении приложение каталитических реакций в аналитической химии.

Таблица 2.20. Примеры определения элементов-катализаторов кинетическими методами.

Определяемое вещество (катализатор)	Индикаторная реакция	Способ детектирования	Предел обнаружения
иодид	Ce(IV)+As(III)	фотометрический	1 мкг/мл
молибден	$I^- + BrO_3^-$	амперометрический	5 нг/мл
осмий	1-нафтиламин+ NO_3^-	фотометрический	2 нг/мл
медь	гидрохинон+H_2O_2	фотометрический	0,5 нг/мл

2.8. Термические методы

В основе термических методов анализа лежит измерение зависимости *физических свойств* веществ и продуктов их реакций от температуры. Для этого образец подвергают нагреванию согласно определенной *температурной программе*. Таким способом можно исследовать как чистые вещества, так и смеси. Результатом измерений являются *термограммы*, которые можно использовать для контроля качества и изучения свойств различных веществ природного и промышленного происхождения: металлов, сплавов, полимеров, минералов и т. д.

Для получения химической информации особенно полезны методы термогравиметрического анализа (ТГА), дифференциального термического анализа (ДТА) и дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).

Термогравиметрия

В гравиметрическом методе анализа вещество нагревают до тех пор, пока его масса не станет постоянной (раздел 2.3). В *термогравиметрическом* методе интерес представляет как раз изменение массы образца *в зависимости от температуры*. Часто измеряют зависимость массы образца, нагреваемого по определенной температурной программе, от времени. Пример подобной зависимости (термогравиграммы), полученной при термическом анализе образца полимера, приведен на рис. 2.34.

Для термогравиметрических измерений необходимы высокоточные весы, нагревательная печь и устройство для создания инертной — либо, наоборот, реакционной — атмосферы в печи. Управление установкой, сбор и обработка информации осуществляются с помощью компьютера.

Поскольку в основе ТГА лежит изменение массы образца, сфера применения этого метода ограничена изучением процессов *разложения* и *окисления* веществ, а также исследованием физических процессов таких, как *испарение*, *возгонка* и *десорбция*.

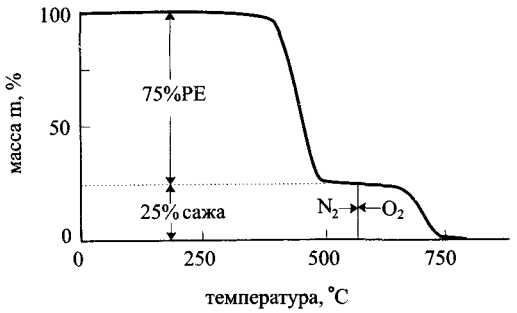


Рис. 2.34. Термогравиметрическое определение состава образца полиэтилена (PE), покрытого сажей.

С помощью ТГА можно, например, установить термически устойчивую форму вещества, пригодную для его гравиметрического определения. На рис. 2.34 приведена термогравиграмма, характеризующая термическое *разложение полиэтилена*, покрытого слоем сажи для повышения его устойчивости к фотохимическому окислению под действием солнечных лучей. С помощью этой термогравиграммы возможно количественное *определение содержания* полиэтилена и сажи, осуществить которое каким-либо другим методом затруднительно.

Термогравиграммы полимеров весьма характеристичны и могут быть использованы для их *идентификации*. При наличии в образце *нескольких компонентов* принципиально возможно их раздельное определение. Для улучшения разрешения отдельных стадий термогравиграмм применяют их дифференцирование.

Дифференциальный термический анализ

В методе ДТА анализируемый образец подвергают нагреванию одновременно с некоторым образцом сравнения и регистрируют разность их температур в ходе нагревания (рис. 2.35). В качестве образца сравнения используют какой-либо инертный материал — оксид алюминия, карбид кремния или стеклянный шарик.

Пробу и образец сравнения помещают в алюминиевый патрон и нагревают в печи, температура которой во времени изменяется по линейному закону. Разность температур двух образцов измеряют с помощью термоэлемента и регистрируют зависимость этой разности от температуры окружающего пространства.

На рис. 2.35 приведена дифференциальная термограмма моногидрата оксалата кальция, полученная в атмосфере кислорода. Минимумы на кривой обусловлены охлаждением образца (по сравнению с образцом сравнения) за счет протекания *эндотермических* реакций (представленных на рис. 2.35). Максимум соответствует протеканию *экзотермической* реакции окисления оксалата кислородом окружающей среды.

Площадь под каждым пиком, A, пропорциональна массе продукта реакции m и энтальпии реакции ΔH:

$$A = k'm\Delta H, \qquad (2.188)$$

где k' — градуировочный коэффициент. По уравнению (2.188) можно *определить массу* m, если величины k' и ΔH известны. С другой стороны, по известным значениям m и k' можно найти *энтальпию* реакции.

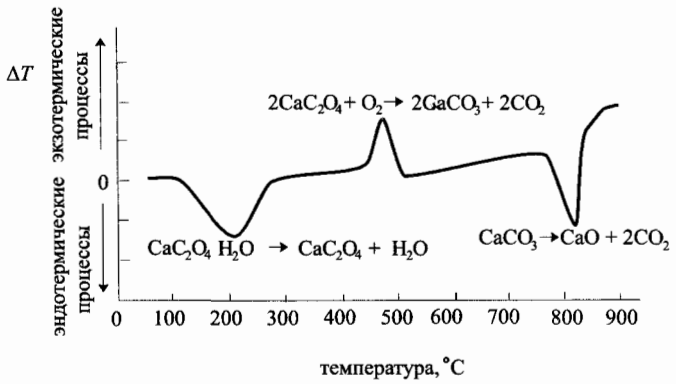


Рис. 2.35. Кривая дифференциального термического анализа моногидрата оксалата кальция, полученная в атмосфере кислорода.

Дифференциальный термический анализ можно использовать для анализа природных и промышленных материалов: полимеров, силикатов, ферритов, оксидов, минералов, керамик, катализаторов, стекол. Метод полезен в медицине — при исследовании почечных и желчных камней на содержание солей фосфорной, щавелевой, мочевой кислот. Кроме того, его используют для построения фазовых диаграмм и для определения температур плавления, кипения и разложения.

Дифференциальная сканирующая калориметрия

Среди термических методов анализа наиболее мощной является дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК). В этом методе измеряют потоки тепла, подводимые к пробе и образцу сравнения по определенной *температурной программе*. В отличие от ДТА, ДСК — *калориметрический метод*, основанный на измерении не температур, а энергий.

Результаты дифференциальной сканирующей калориметрии представляют в виде зависимости дифференциальной энтальпии $\Delta H/\Delta T$ от температуры. Обычно процесс организуют так, что в ходе нагревания проба и образец сравнения получают такие порции тепла, чтобы их температура все время оставалась одинаковой (*изотермический* режим). Это осуществляют при помощи двух термоэлектрических нагревательных элементов, помещенных в спаренный калориметр. В ходе работы в обеих его измерительных ячейках попеременно измеряют (сканируют — отсюда название метода) температуру. Если температуры ячеек различаются, скорости нагрева автоматически изменяют так, чтобы температуры снова выравнялись.

Методом ДСК можно не только определять состав веществ (точнее, чем другими термическими методами), но и измерять их тепловые характеристики. Поскольку любые химические реакции обычно сопровождаются значительными изменениями энтальпии, сфера применения метода очень широка: от проверки чистоты лекарственных препаратов до изучения процессов кристаллизации полимеров.

2.9. Литература

G.D.Christian, Analytical Chemistry, 5 edition, Wiley, New York, 1994.

J.S.Fritz, G.H.Schenk. Quantitative Analytische Chemie, Vieweg & Sohn, Braunschweig/Wiesbaden, 1989.

W. F.Hemminger, H.G.Cammenga, Methoden der Thermischen Analyse (Anleitung für die chemische Laboratoriumspraxis, Bd. 24), Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1989.

U.R.Kunze, Grundlagen der quantitativen Analyse, 3. Auflage, Thieme, Stuttgart/New York, 1990.

H.P.Latscha, H.A.Klein, Analytische Chemie, Chemie-Basiswissen III, Springer, Berlin, 1990.

ГЛАВА 3

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Спектроскопические методы, наряду с хроматографическими и электрохимическими, представляют собой один из важнейших «столпов» современной аналитической химии. Ввиду большого разнообразия спектроскопических методов освоение этой области аналитической химии задача далеко не простая. При выборе конкретного метода исследователь должен ответить на множество вопросов, касающихся фундаментальных методических основ. Например: в какой области длин волн проводить измерения? Какой метод выбрать для возбуждения излучения? Что за прибор имеется в наличии, какова его конструкция, возможности, годится ли он для решения поставленной задачи? Подобный систематический подход облегчает и изучение новейших достижений в области спектроскопии, которые, как правило, осуществляются путем постепенного совершенствования как методов измерения, так и измерительной аппаратуры. Мы начнем изложение с рассмотрения фундаментальных основ спектроскопических методов.

3.1. Основы спектроскопии

Спектроскопическими методами анализа называются методы, основанные на *взаимодействии вещества* (в данном случае — анализируемого образца) *с электромагнитным излучением*.

Электромагнитное излучение представляет собой вид энергии, которая распространяется в вакууме со скоростью около 300 000 км/с и которая может выступать в форме света, теплового и ультрафиолетового излучения, микро- и радиоволн, гамма- и рентгеновских лучей.

Одни свойства электромагнитного излучения удобнее описывать, исходя из его волновой природы, другие — из корпускулярной. Характеристиками электромагнитного излучения с волновой точки зрения (как классической синусоидальной волны) являются длина волны, частота, амплитуда и скорость распространения. Для распространения электромагнитного излучения не требуется наличия какой-либо вещественной среды (как, например, для звуковых волн): оно может распространяться и в вакууме.

Для описания явлений поглощения и испускания электромагнитного излучения необходимо использовать представления о его корпускулярной природе. При этом излучение представляют в виде потока отдельных частиц — фотонов. Энергия каждой такой частицы находится в строгом соответствии с частотой излучения. Идеи о двойственном характере электромагнитного излучения можно использовать и при описании других микрочастиц (электронов, ионов) методами волновой механики.

Электромагнитный спектр и спектроскопические методы

Диапазон электромагнитного спектра простирается от наиболее длинноволнового излучения — радиоволн с длинами волн более 0,1 см — до наиболее высокоэнергетического γ-излучения с длинами волн порядка 10^{-11} м (рис. 3.1). Как видно из рис. 3.1, отдельные области электромагнитного спектра часто перекрываются. Область электромагнитного излучения, воспринимаемая человеческим глазом, весьма незначительна по сравнению со всем его диапазоном.

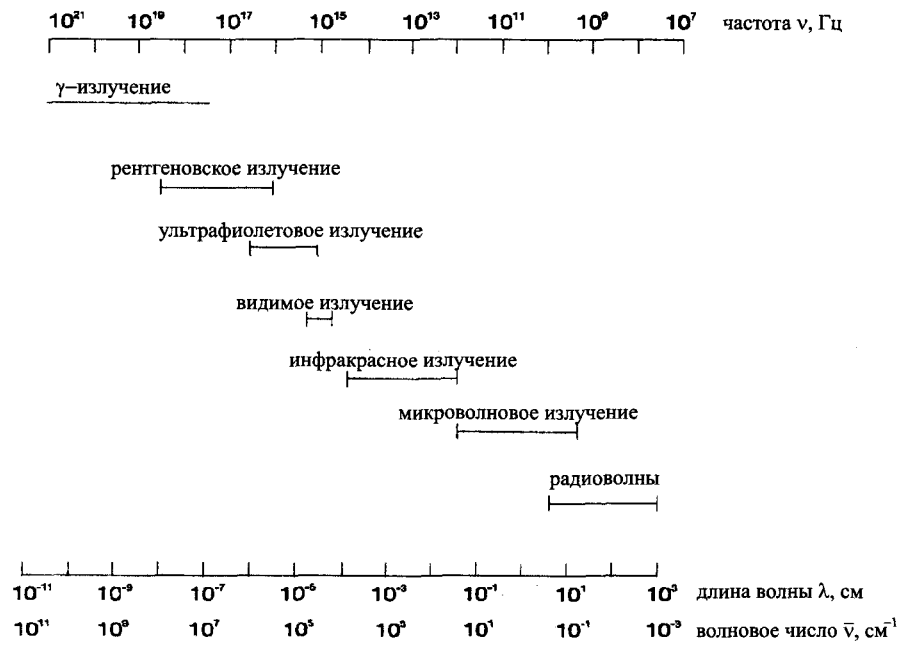


Рис. 3.1. Области электромагнитного спектра.

С отдельными областями электромагнитного спектра связаны различные методы анализа. В табл. 3.1 приведен обзор этих методов во взаимосвязи с соответствующими спектральными диапазонами и характером процессов, протекающих при взаимодействии излучения с веществом.

Волновая природа света

Характеристиками света как электромагнитной волны служат *длина волны* λ и *частота* ν. Последняя представляет собой число колебаний электрического поля за одну секунду. Частота зависит только от природы источника излучения. Скорость же распространения электромагнитных волн а, следовательно, и длина волны (см. формулу (3.1)) зависят также от свойств среды. Скорость распространения электромагнитного излучения в вакууме является фундаментальной физической постоянной, называемой скоростью света и равной $2,997925 \cdot 10^8$ м/с.

В воздухе скорость света уменьшается приблизительно на 0,03%. Для практических целей можно принять значение скорости света равной $3 \cdot 10^8$ м/с.

Таблица 3.1. Взаимосвязь спектроскопических методов и областей электромагнитного спектра.

Спектроскопические методы	Спектральная область	Изменяют свою энергию
ядерно-физические	0,005–1,4 Å	ядра
рентгеновские	0,1–100 Å	внутренние электроны
вакуумная УФ-спектроскопия	10–180 нм	валентные электроны
УФ-спектроскопия	180–400 нм	валентные электроны
спектроскопия в видимой области	400–780 нм	валентные электроны
ближняя инфракрасная спектроскопия	780–2500 нм	молекулы (колебательная энергия)
инфракрасная спектроскопия	4000–400 $см^{-1}$	молекулы (колебательная, вращательная энергия)
микроволновая спектроскопия	0,75–3,75 мм	молекулы (вращательная энергия)
электронный парамагнитный резонанс	~ 3 см	неспаренные электроны (в магнитном поле)
ядерный магнитный резонанс	0,6–10 м	ядерные спины (в магнитном поле)

Связь скорости света, длины волны и частоты излучения описывает соотношение

$$c = \nu\lambda. \tag{3.1}$$

Прохождение света через оптически плотную среду (например, воздух) сопровождается взаимодействием излучения с валентными электронами молекул вещества, в результате чего скорость распространения излучения уменьшается. Поскольку частота излучения при этом остается постоянной, длина волны изменяется. Пример, приведенный на рис. 3.2, показывает, что при переходе видимого излучения из воздуха в стекло длина волны уменьшается приблизительно на 200 нм.

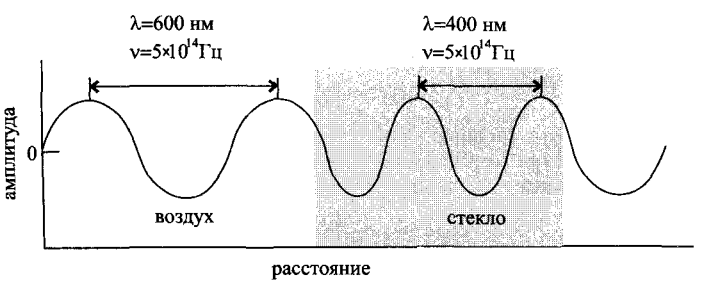


Рис. 3.2. Изменение длины волны монохроматического излучения при прохождении в стекле.

Уменьшение скорости света при прохождении его через вещественную среду объясняется периодической *поляризацией* атомов или молекул среды. При этом часть энергии излучения поглощается средой и через приблизительно 10^{-14} с

высвобождается в том же количестве. Поэтому никакого результирующего поглощения энергии не наблюдается.

Преломление света

Мерой степени взаимодействия излучения с материалом среды служит показатель преломления n. *Абсолютный показатель преломления* равен отношению скорости света в вакууме c к скорости распространения излучения в данной среде v:

$$n = \frac{c}{v}. \tag{3.2}$$

Показатель преломления зависит от длины волны излучения. Изменение показателя преломления при изменении длины волны (частоты) называется *дисперсией*. Если зависимость показателя преломления от длины волны линейна, то такая дисперсия называется нормальной. Резкое изменение показателя преломления в узком диапазоне длин волн называется аномальной дисперсией. Материалы, обладающие как нормальной, так и аномальной дисперсией, используют для создания спектральных приборов. Так, линзы оптических приборов изготавливают из материалов с нормальной дисперсией, поскольку желательно, чтобы в этом случае показатель преломления в некотором спектральном диапазоне как можно меньше зависел от длины волны (и был достаточно высоким). Материалы с аномальной дисперсией, сильно изменяющие показатель преломления при изменении длины волны, удобны для изготовления призм, разлагающих излучение в спектр.

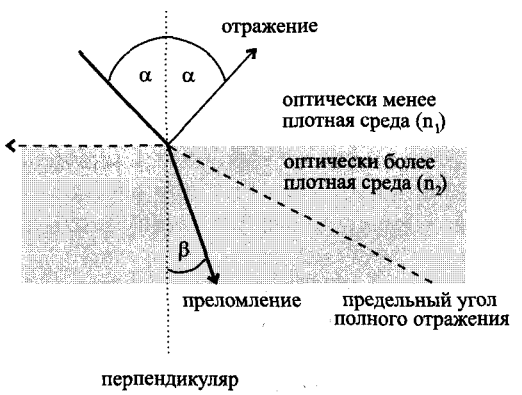


Рис. 3.3. Преломление света при переходе из оптически менее плотной в оптически более плотную среду.

Абсолютный показатель преломления воздуха составляет 1,0003, т. е. хотя и незначительно, но отличается от единицы. Для практических целей обычно используют *относительный показатель преломления*, равный отношению скоростей распространения излучения в воздухе и в данной среде:

$$n = \frac{v_{\text{возд.}}}{v}. \tag{3.3}$$

При переходе света из оптически менее плотной в оптически более плотную среду показатель преломления изменяется скачкообразно (рис. 3.3). При этом изменяется и направление распространения света. Его можно охарактеризовать при помощи закона преломления Снеллиуса:

$$\frac{\sin\alpha}{\sin\beta} = \frac{n_2}{n_1} = n_2, \tag{3.4}$$

где n_2 — показатель преломления более плотной среды,

n_1 — показатель преломления менее плотной среды (для воздуха $n_1 = 1$).

Как правило, показатели преломления измеряют при длине волны D-линии излучения натрия (589,3 нм). Для жидкостей они обычно находятся в диапазоне от 1,3 до 1,8, а для твердых тел — от 1,3 до 2,5. Методом *рефрактометрии* легко измерить показатели преломления с точностью до 0,001.

При прохождении излучения через границу раздела двух сред всегда наблюдается и частичное отражение света. Доля отраженного света зависит от угла его падения. При падении света с интенсивностью I_0 перпендикулярно границе раздела доля отраженного света составляет

$$\frac{I_{отр}}{I_0} = \frac{(n_2 - n_1)^2}{(n_2 + n_1)^2}. \tag{3.5}$$

Если направление распространения света, показанное на рис. 3.3, изменить на противоположное (из более плотной среды в менее плотную), то в результате преломления луч станет в большей мере отклоняться от перпендикуляра к границе раздела. При некотором угле падения это отклонение составит 90°, а при дальнейшем его увеличении будет наблюдаться только отражение, но не преломление. Величина *предельного угла полного отражения* не зависит от длины волны (рис. 3.3). Поскольку в случае полного отражения $\sin\alpha = 1$, из уравнения (3.4) легко найти, что для предельного угла полного отражения $\sin\beta = 1/n_2$. При всех углах падения, для которых

$$\sin\beta > \frac{1}{n_2},$$

наблюдается полное отражение.

Рассеяние света

Как было отмечено ранее, изменение скорости света при прохождении его через материальную среду связано с поглощением — высвобождением части его энергии вследствие поляризации частиц среды. При этом высвобождаемая энергия распространяется во всех направлениях. Если частицы, составляющие среду, достаточно малы по сравнению с длиной волны излучения (как, например, атомы или молекулы), то доля света, распространяющаяся в направлении отличном от первоначального, очень невелика. При точных измерениях, однако, можно заметить, что и в этом случае часть света *рассеивается*, а интенсивность светового потока вдоль первоначального направления уменьшается тем сильнее, чем больше размер частиц.

Для молекул или молекулярных ассоциатов, размеры которых значительно меньше чем длина волны излучения, рассеяние света называется *релеевским рассеянием*. Релеевским рассеянием объясняется, в частности, голубой цвет неба, поскольку более коротковолновый (голубой) свет рассеивается сильнее, чем длинноволновый. Рассеяние света на более крупных — коллоидных — частицах называется *тиндалевским*. Его можно наблюдать невооруженным глазом. Еще один вид рассеяния света — *комбинационное* (*рамановское*) рассеяние, сопровождающееся изменением колебательной энергии рассеивающих частиц. Это явление лежит в основе метода комбинационного рассеяния (рамановской спектроскопии), рассматриваемого в разделе 3.3.1.

Корпускулярная природа электромагнитного излучения

Для описания электромагнитного излучения как потока частиц (фотонов, квантов света) служит соотношение, выведенное Эйнштейном:

$$E = h\nu \qquad \text{или} \qquad E = \frac{hc}{\lambda}, \tag{3.6}$$

где $h = 6,6262 \cdot 10^{-34}$ Дж·с — фундаментальная физическая постоянная, называемая постоянной Планка или квантом действия.

Таким образом, энергия одного фотона прямо пропорциональна частоте и обратно пропорциональна длине волны электромагнитного излучения.

Представление о корпускулярной природе электромагнитного излучения необходимо для описания процессов поглощения и испускания света. В ходе *поглощения излучения*, лежащего в определенной области спектра, отдельный атом, ион или молекула, взаимодействуя с фотоном, увеличивает свою энергию на величину, равную энергии фотона, и переходит из основного энергетического состояния в возбужденное. Согласно квантовой теории, возможные энергетические состояния частицы дискретны и определяются природой частицы, ее окружением и физическим состоянием вещества. Процессы поглощения света отдельными атомами и молекулами протекают по-разному, о чем будет подробнее сказано при обсуждении соответствующих методов анализа.

Испускание излучения наблюдается тогда, когда частица, находящаяся в возбужденном состоянии, переходит в состояние с меньшей энергией. При этом избыток энергии высвобождается в виде фотона. Для перевода частицы в возбужденное состояние можно использовать поглощение излучения от внешнего источника, высокую температуру (в пламени или плазме), бомбардировку электронами или ионами и другие методы.

Аппаратура для оптической спектроскопии

Принципиальная схема спектрометра включает источник излучения, отделение для пробы, диспергирующее устройство или монохроматор для разложения светового потока и систему детектирования и регистрации (рис. 3.4). Для некоторых спектроскопических методов требуется весьма специфическое оборудование. Для оптической же спектроскопии аппаратура почти всегда состоит из одного и того же ограниченного набора компонентов, единого для всех методов.



Рис. 3.4. Принципиальная схема оптического спектрометра.

Под *оптической спектроскопией* первоначально понимали методы, использующие излучение лишь видимого диапазона. Сейчас в это понятие включают также методы спектроскопии в ультрафиолетовой (УФ) и инфракрасной (ИК) областях.

Источники излучения

Первым компонентом спектрометра является источник излучения. Обычно он помещается вне пробы. Однако, например, в методе атомно-эмиссионной спектроскопии анализируемая проба сама по себе является одновременно источником излучения (раздел 3.2.2). В табл. 3.2 приведены важнейшие источники излучения, используемые в отдельных диапазонах оптической спектроскопии. Общими требованиями ко всем источникам являются высокая интенсивность и стабильность излучения. Самыми общеизвестными являются источники непрерывного излучения, которые широко применяются и в быту (например, лампы накаливания). В атомно-абсорбционной спектроскопии для регистрации весьма узких атомных линий необходимы источники линейчатого спектра (раздел 3.2.1).

Таблица 3.2. Источники излучения для оптической спектроскопии.

Область спектра	Источник излучения
непрерывный спектр:	
вакуумная УФ	аргоновые, ксеноновые лампы
УФ	ксеноновые, водородные, дейтериевые лампы
видимая	вольфрамовые, галогенные лампы
ближняя ИК	вольфрамовые лампы, штифты Нернста, нихромовые излучатели, глобары
ИК	штифты Нернста ($ZrO_2 + Y_2O_3$), нихромовые излучатели (Ni + Cr), глобары (SiC)
полосатый спектр:	
УФ-видимая	Светодиоды
линейчатый спектр:	
УФ-видимая	Лампы с полым катодом, безэлектродные разрядные лампы

С изобретением в 1960 г. **лазеров** спектроскопические методы анализа получили еще один источник излучения, отличающийся особенно высокой интенсивностью, узостью светового потока (сотые доли микрометра), высокой монохроматичностью (0,01 нм и менее) и когерентностью излучения, т. е. совпадением по направлению и фазе всех испускаемых волн. Первые модели лазеров излучали лишь при одной определенной длине волны. Сейчас разработаны и лазеры с перестраиваемой частотой, например, лазеры на красителях для видимой части спектра.

Основной частью лазера является активная среда (рабочее тело). Ею может быть кристалл (например, рубин), полупроводниковый материал, раствор красителя или газ — гелий, неон, аргон (рис. 3.5). Иногда рабочее тело лазера необходимо активировать электрическим разрядом, например, в случае газовых лазеров. В других случаях требуется подвод энергии к лазеру от внешнего источника излучения, например, импульсной лампы.

Принцип действия лазера основан на резонансе излучения, отражаемого зеркалами и многократно пробегающего через активную среду. При каждом его проходе испускаются дополнительные фотоны, и лазерное излучение многократно усиливается. При этом световой пучок дополнительно фокусируется. Пос-

кольку одно из зеркал является полупроницаемым, лазерное излучение выходит наружу (рис. 3.5).

Возникновение лазерного излучения можно пояснить с помощью понятий «оптического насоса», спонтанного испускания, вынужденного испускания и поглощения света. Эти четыре явления схематически изображены на рис. 3.6 для двух электронов, которые могут находиться в основном E_g и возбужденном E_a энергетическом состоянии.

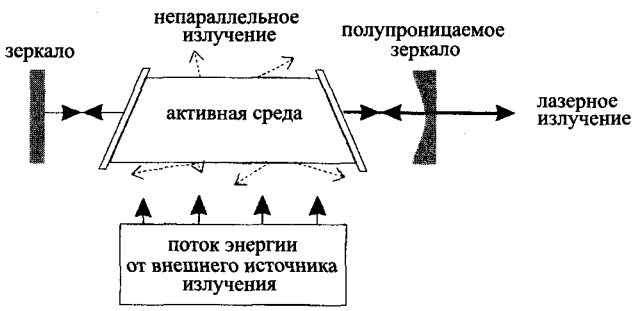


Рис. 3.5. Принципиальная схема лазера.

Переход частиц рабочего тела из основного в возбужденное состояние осуществляется под действием внешнего источника энергии, называемого *«оптическим насосом»*. Как упоминалось выше, «оптическим насосом» может служить внешний источник излучения или электрический разряд. Возбужденных электронных состояний может быть множество (в частности, на рис. 3.6 не показано расщепление уровней энергии вследствие наличия колебательных подуровней).

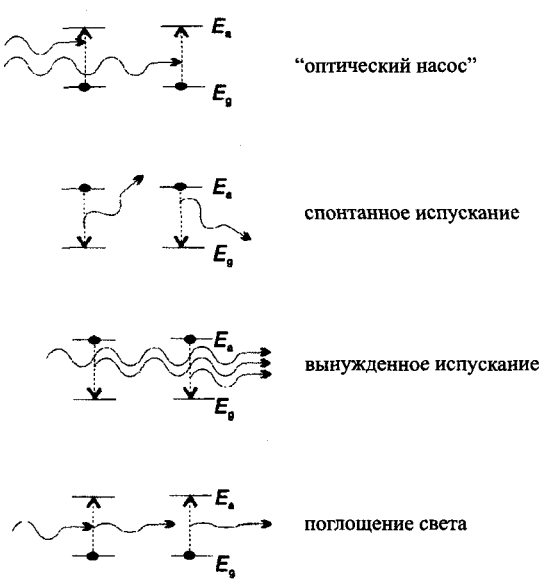


Рис. 3.6. Элементарные процессы, приводящие к возникновению вынужденного излучения лазера.

Следующим элементарным актом является *спонтанное испускание* с возвращением в основное состояние. Оно может сопровождаться безызлучательным переходом с возбужденного на основной колебательный подуровень, в результате которого выделяется некоторое количество тепла. Длина волны спонтанного излучения равна $\lambda = hc/(E_a - E_g)$. Отметим, что это излучение распространяется во всех направлениях и неоднородно по фазе, т. е. является *некогерентным*.

Это спонтанное излучение, взаимодействуя с возбужденными частицами, вызывает *вынужденное испускание* света. Вынужденное излучение характеризуется той же энергией фотонов, равной E_a–E_g. При этом интенсивность излучения резко усиливается. В отличие от спонтанного, вынужденное лазерное излучение *когерентно*.

Процессом, конкурирующим с вынужденным испусканием, является *поглощение* излучения невозбужденными частицами и их переход из основного состояния в возбужденное. В результате этого интенсивность лазерного излучения уменьшается. Суммарный эффект — усиление или ослабление лазерного излучения — определяется относительной заселенностью основного и возбужденного электронных уровней, достигаемой в результате действия «оптического насоса».

Если число частиц в основном состоянии больше, чем в возбужденном, преобладает процесс поглощения, и интенсивность излучения ослабляется (рис. 3.7). При достижении *инверсной заселенности* уровней, т. е. когда число возбужденных частиц превышает число невозбужденных, начинает преобладать процесс вынужденного испускания, и интенсивность лазерного излучения возрастает.

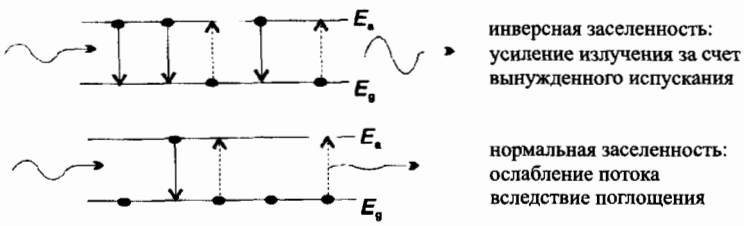


Рис. 3.7. Сравнение вероятностей процессов вынужденного испускания и поглощения в случаях инверсной и нормальной заселенности энергетических уровней.

В аналитической химии лазеры используются как источники излучения для спектроскопии высокого разрешения и исследования быстрых процессов. Их можно использовать для непосредственного определения следов примесей в атмосфере, в приборах для комбинационного рассеяния и ИК-спектроскопии с фурье-преобразованием. Наиболее распространенные типы лазеров приведены в табл. 3.3.

Разложение светового потока

В спектроскопическом анализе, как правило, стараются работать с *монохроматичным* или, по крайней мере, как можно более узкополосным излучением. Как в абсорбционной, так и в эмиссионной спектроскопии применение монохроматического излучения улучшает селективность, а в абсорбционной, кроме того, и увеличивает чувствительность. Использование монохроматического излучения в качестве источника возбуждения часто бывает необходимым условием получе-

ния линейных зависимостей концентрация — сигнал в широком динамическом диапазоне.

Таблица 3.3. Наиболее распространенные типы лазеров

тип лазера, активная среда	λ, нм	относительная интенсивность по сравнению с наиболее интенсивной линией, %
Газовые:		
He/Ne	632,82 (красная)	
Ar	514,53 (зеленая)	100
	501,72	17
	496,51	38
	487,99 (синяя)	88
Kr	476,49	38
	676,44	24
	647,09 (красная)	100
	568,19 (желтая)	30
	530,87	40
Твердотельные:		
Рубин	694,33 (красная)	
Неодим–иттрий-алюминиевый гранат ($Y_3Al_5O_{12}$)	1064,8 (ближняя ИК)	
На красителях:		
Натрий-флуоресцеин	530–590	
Родамин 6Ж	570–650	

Для выделения узкополосных световых потоков используют *светофильтры* или *монохроматоры*.

Светофильтры

Светофильтры делятся на *абсорбционные* и *интерференционные*. Они различаются с точки зрения степени пропускания (интенсивности прошедшего света) и спектральной ширины пропускания. Из рис. 3.8 можно оценить сравнительные возможности обоих типов светофильтров в видимой области спектра.

Эффективная спектральная ширина пропускания типичного интерференционного светофильтра составляет около 10 нм, а абсорбционного — около 50 нм. Абсорбционные светофильтры, помимо большей спектральной ширины, обычно обладают и значительно меньшей степенью пропускания по сравнению с интерференционными. Для решения многих практических задач спектроскопии светофильтры применяются до сих пор, несмотря на их существенно меньшие возможности по сравнению с монохроматорами. Они относительно недороги и очень удобны в использовании в специализированной и миниатюризированной аппаратуре.

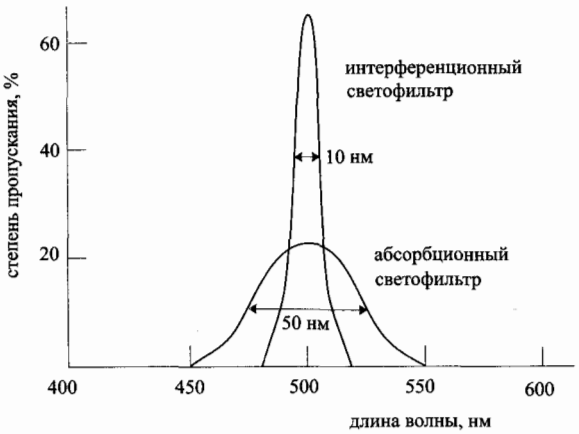


Рис. 3.8. Степень пропускания и эффективная спектральная ширина интерференционного и абсорбционного светофильтра.

Монохроматоры

Монохроматоры состоят из следующих частей:

- входная щель, вырезающая узкий прямоугольный пучок из падающего светового потока;
- система линз или вогнутых зеркал для получения параллельного светового потока;
- диспергирующий элемент — призма или дифракционная решетка;
- фокусирующее устройство для фокусирования потока на выходной щели;
- выходная щель, вырезающая из выходного светового потока пучок лучей желаемой спектральной ширины.

Часто в монохроматорах используют и вспомогательные светофильтры для отсечения паразитных световых потоков, приходящих из окружающей среды. Типичные схемы призменных и решеточных монохроматоров приведены на рис. 3.9.

В монохроматоре любой конструкции световой поток попадает сначала на входную щель. Затем его превращают в параллельный с помощью системы линз (в призменных монохроматорах, рис. 3.9 а) или вогнутых зеркал (в решеточных, рис. 3.9 б). Ранее основным типом диспергирующих элементов монохроматоров были призмы. Сейчас большинство спектрометров оснащены решеточными монохроматорами, причем отражательные дифракционные решетки преобладают над прозрачными (работающими на пропускание). После выхода из диспергирующего устройства лучи различных длин волн (на рис. 3.9 изображены лучи двух длин волн) фокусируют в фокальной плоскости с помощью линз или зеркал. Выходная щель, находящаяся в фокальной плоскости, вырезает световой поток малой спектральной ширины, длина волны которого определяется положением диспергирующего элемента.

Дифракционные решетки дешевле призм. По сравнению с призмами равного размера они обладают лучшим спектральным разрешением, а дисперсия излучения одинакова во всем диапазоне длин волн. В то же время *призмы* обладают большей светосилой. Показатель преломления материала призмы нелинейно зависит от длины волны. Вследствие этого дисперсия призм неодинакова в различных спектральных областях. В области коротких волн она выше, чем в области длинных. Для кварцевых призм дисперсия в видимой области ниже, чем для стеклянных. Для любого оптического материала наивысшая дисперсия (а, следовательно, и разрешающая способность) достигается вблизи края полосы поглощения.

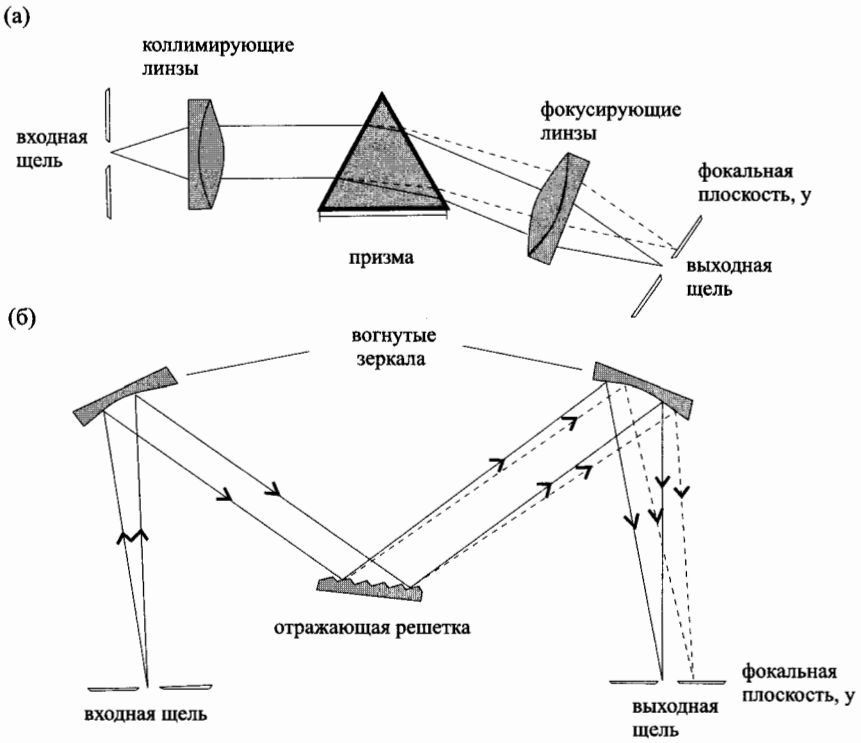


Рис. 3.9. Схемы монохроматоров на основе призмы (монохроматор Бунзена) (а) и отражающей дифракционной решетки (Черни-Тернера) (б).

Традиционно дифракционные решетки производят механическим способом, процарапывая борозды на поверхности полированного твердого материала алмазной иглой. Получаемые таким, весьма трудоемким, способом оригиналы затем тиражируют с помощью специальных устройств. Отражательные решетки для работы в УФ- и видимой областях содержат до 1200 штрихов на миллиметр. Решетки для работы в ИК-области имеют 100–200 штрихов на миллиметр. Для обеспечения особенно высокой разрешающей способности (что необходимо, например, в атомно-абсорбционной спектроскопии) требуются решетки с еще большим числом штрихов на миллиметр.

Дисперсия и разрешающая способность монохроматора

Возможность разделения отдельных спектральных полос зависит от *дисперсии* монохроматора. В качестве характеристики дисперсии используют линейную (D) и, особенно часто, *обратную линейную дисперсию*.

Линейная дисперсия : $$D = \frac{\mathrm{d}y}{\mathrm{d}\lambda}. \tag{3.7}$$

Обратная линейная дисперсия : $$\frac{1}{D} = \frac{\mathrm{d}\lambda}{\mathrm{d}y}. \tag{3.8}$$

Обратная линейная дисперсия D^{-1} показывает, какая разность длин волн наблюдается в двух точках фокальной плоскости, отстоящих на 1 мм. Она выражается в нм/мм или Å/мм.

Разрешающая способность характеризует возможность раздельного наблюдения двух спектральных линий, близких по длинам волн. По определению, спектральная разрешающая способность R равна

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda}, \tag{3.9}$$

где λ — средняя длина волны двух линий, а $\Delta\lambda$ — разность их длин волн (ср. с уравнением 1.16).

Для *призмы* разрешающая способность зависит от ширины ее основания b (рис. 3.9 а) и степени зависимости показателя преломления n от длины волны:

$$R = b\frac{\mathrm{d}n}{\mathrm{d}\lambda}. \tag{3.10}$$

Величина $\mathrm{d}n/\mathrm{d}\lambda$ в коротковолновой области спектра значительно выше, чем в длинноволновой. Соответственно, в коротковолновой области выше и разрешающая способность.

Для *дифракционных решеток* разрешающая способность выражается следующим образом:

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} = mN, \tag{3.11}$$

где m — порядок отражения, N — число штрихов решетки.

В отличие от спектров, получаемых с помощью призм, при использовании решеток спектр получается неоднозначным из-за возможного перекрывания линий разных порядков отражения. Обычно измерения производят в первом порядке отражения, так как с ростом порядка отражения уменьшается интенсивность линий. Используя решетки со специальным (пилообразным) профилем бороздок, можно сконцентрировать основную часть излучения (по крайней мере, в некотором спектральном диапазоне) данного порядка в определенной пространственной области. Решетки такого типа называются эшелеттами (см. рис. 3.30 в разделе 3.2.2). Типичная решетка, используемая в молекулярной спектроскопии в видимой области и имеющая 1200 штрихов на миллиметр, при 500 нм в первом порядке отражения может разделить лучи с $\Delta\lambda = \lambda/mM == 500/(1 \cdot 1200) = 0,42$ нм (см. уравнение (3.11)).

Современные технологии производства дифракционных решеток основаны на использовании лазеров, позволяющих оптическим способом наносить бороздки

на плоские или вогнутые поверхности. Изготовленные таким способом *голографические решетки* являются высокоточными. Они содержат до 6000 штрихов на миллиметр. Их используют, в частности, в спектрометрах с диодными детекторами (в том числе массивами диодов).

Спектральная ширина светового потока

Спектральная ширина светового потока, выходящего из монохроматора, определяется шириной его *входной* и *выходной щелей*.

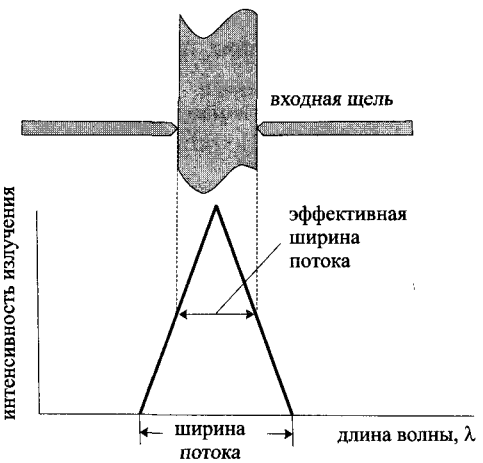


Рис. 3.10. Эффективная спектральная ширина светового потока на выходе из монохроматора.

Практическое значение имеет *эффективная спектральная ширина*. Она в два раза меньше, чем общая спектральная ширина светового потока в случае, когда ширина входной щели равна ширине выходной. Эффективная ширина характеризует ту область длин волн, которую реально можно наблюдать на выходе из монохроматора (рис. 3.10). Ее можно оценить из величины обратной линейной дисперсии монохроматора

$$D^{-1} = \frac{\Delta\lambda}{\Delta y}.$$

Если ширина щели w равна расстоянию между линиями в фокальной плоскости Δy, то эффективная спектральная ширина равна

$$\Delta\lambda_{эфф} = wD^{-1}. \qquad (3.12)$$

Чем меньше эффективная спектральная ширина монохроматора, тем лучше можно разделить близко расположенные спектральные линии. Наилучшая разрешающая способность достигается при использовании узких щелей при возможно большей дисперсии монохроматора.

Сосуды для проб и оптические материалы

В оптических спектрометрах пробы помещают в специальные сосуды. Для жидких проб используют кюветы, изготовленные из кварца (для исследований в УФ-области), стекла (для видимой и ближней ИК-области) или солей — NaCl, KBr (для ИК-области спектра). Из этих же материалов изготавливают призмы, линзы и оптические окошки. Более подробно оптические материалы будут рассмотрены применительно к конкретным методам. Твердые образцы исследуют или непосредственно, или в виде таблеток, спрессованных из порошкообразного материала и подходящего наполнителя, например, KBr в ИК-спектроскопии.

Приемники излучения

Для детектирования излучения в оптической области используют приемники, действие которых основано на фотоэлектрических или термоэлектрических явлениях.

Явление *внешнего фотоэффекта* лежит в основе действия счетчиков фотонов таких, как фотоэлементы или фотоэлектронные умножители (ФЭУ). Фотоэлемент содержит катод, из которого фотон при падении на него выбивает электрон. Вследствие этого в вакуумном пространстве между катодом и анодом возникает электрический ток. Коэффициент полезного действия (квантовый выход) такого фотоэлектрического преобразователя не очень высок. Материалом катодов обычно служит сплав щелочных металлов. Например, катоды из сплава K/Cs очень чувствительны к излучению в УФ-видимой области вплоть до 600 нм (рис. 3.11). В более длинноволновой области применяют другие многокомпонентные материалы — Na/K/Cs/Sb или Ag/O/Cs. Высокой и практически постоянной чувствительностью в широком спектральном диапазоне обладают фотокатоды на основе Ga/As.

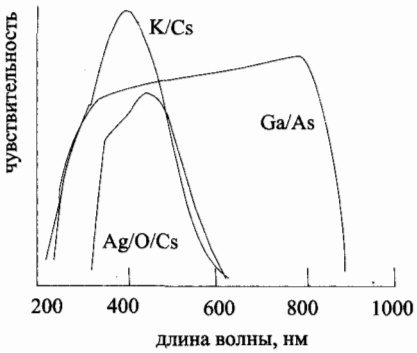
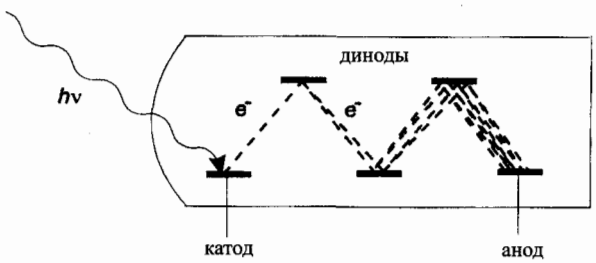


Рис. 3.11. Спектральная чувствительность различных материалов для фотокатодов.

Чувствительность можно значительно увеличить, если поместить между катодом и анодом дополнительные электроды (так называемые диноды). В этом случае электрон, вылетающий из катода, бомбардирует ближайший к нему электрод и выбивает из него несколько вторичных электронов. Те, в свою очередь, бомбардируют следующий электрод, и в результате число выбитых электронов возрастает лавинообразно. Описанное устройство называется фотоэлектронным умножителем. При коэффициенте умножения числа электронов на каждом катоде от 4 до 6 применение ФЭУ позволяет увеличить результирующий ток в 10^4–10^7 раз по сравнению с простым фотоэлементом. Однако ФЭУ можно применять не в любых спектральных приборах ввиду их больших размеров и необходимости подачи высокого напряжения до нескольких сотен вольт.

Рис. 3.12. Схема строения фотоэлектронного умножителя (ФЭУ).



Фотоприемниками на основе *внутреннего фотоэффекта* являются полупроводниковые фотоэлементы и фотодиоды. В качестве примера рассмотрим устройство полупроводникового диода, изображенного на рис. 3.13. На слой полупроводникового материала с электронной проводимостью (n) нанесен слой с собственной проводимостью (i), а затем — тонкий слой с дырочной проводимостью (p). Последний из них образует кольцо, так что падающий свет попадает

непосредственно на i-слой. Напряжение к диоду подведено таким образом, что он находится в запертом состоянии. При этом по цепи не протекает никакого тока, кроме незначительного темнового. Когда же на фотодиод падает поток света, то каждый (в идеале) фотон генерирует в полупроводнике пару носителей заряда — электрон и дырку. Электрон при этом перемещается к положительно заряженному n-слою, а дырка — к отрицательно заряженному p-слою. При этом в цепи возникает импульс электрического тока в ответ на каждый падающий фотон. В настоящее время производятся кремниевые фотодиоды, чувствительные к излучению в отдельных спектральных областях от 190 до 1100 нм.

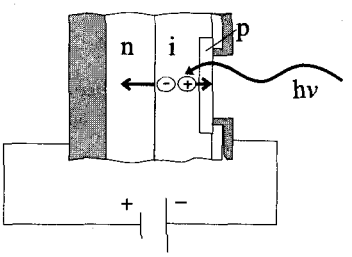


Рис. 3.13. Схема устройства фотодиода.

Для одновременного измерения интенсивностей во всей области спектра все большее распространение находят многоканальные детекторы (массивы фотодиодов, диодные линейки). В них отдельные фотоприемники (светочувствительные элементы) расположены таким образом, чтобы световой поток, разложенный в спектр, освещал все светочувствительные элементы одновременно (рис. 3.14). Расстояние между отдельными элементами составляет порядка 0,025 мм, а высота каждого элемента — около 2,5 мм. Ширина щели монохроматора выбирается так, чтобы световой поток отдельного спектрального диапазона падал только на один элемент. Число фотоприемников в диодной линейке может составлять от 64 до 4096. Используя диодные линейки, можно одновременно регистрировать весь спектр излучения.

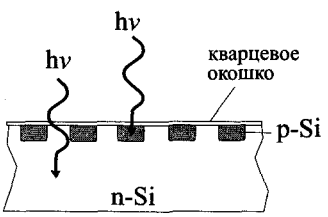


Рис. 3.14. Схема диодной линейки.

Одновременная регистрация всего спектра возможна и с использованием элементов-видиконов, применяющихся, в частности, в видеокамерах. Следует иметь в виду, что для полупроводниковых детекторов описанного типа большинство характеристик — чувствительность, рабочий диапазон, отношение сигнал–шум — хуже, чем для ФЭУ. С этой точки зрения представляется очень перспективным использование в спектроскопии светочувствительных полупроводниковых приборов нового типа — так называемых приборов с переносом заряда (ППЗ).

Регистрация *инфракрасного излучения* представляет собой более серьезную проблему, чем регистрация видимого или УФ-излучения. Интенсивность источников излучения и потоки энергии в ИК-области ниже, чем в УФ или видимой. Фотоэлектрические детекторы здесь неприменимы, поскольку в ИК-области фотоэффект не наблюдается. Устройства для регистрации ИК-излучения описаны в разделе 3.3.1. Они работают по принципу термодетекторов. Их характеристики намного хуже, чем у ФЭУ.

Обобщение понятия «спектроскопия»

Первоначально спектроскопическими методами называли лишь те, которые основаны на взаимодействии вещества с электромагнитным излучением. Сейчас это

понятие трактуют более широко, включая в него и методы с использованием электронных и ионных зондов, и методы на основе акустических явлений (такие, как акустическая спектроскопия). К спектроскопическим относят и масс-спектрометрию, в основе которой лежит процесс разделения ионов. Этот метод также будет рассмотрен в данной главе.

3.2. Методы атомной спектроскопии

Теоретические основы

Методы атомной спектроскопии основаны на явлениях поглощения и испускания света свободными атомами, а также их люминесценции. При использовании излучения УФ- и видимой области спектра возбуждаются валентные, а рентгеновской — внутренние электроны атомов.

В первых трех разделах, посвященных атомной спектроскопии, мы познакомимся с методами, основанными на изменении энергии валентных электронов свободных атомов. Эти процессы протекают при высокой температуре, например, в пламени или плазме. Впервые атомные спектры были использованы для получения химической информации в ходе астрономических исследований. Еще в начале XIX века, Волластон в 1802 г. и, независимо от него, Фраунгофер в 1815 г. обнаружили в непрерывном спектре солнечного излучения темные линии. Объяснить происхождение этих линий, называемых *фраунгоферовыми*, удалось существенно позднее — лишь в 1859–1861 гг., когда Кирхгоф и Бунзен исследовали поведение паров солей в пламени. Основные выводы из их экспериментов состояли в следующем.

- Наблюдаемые линии в спектре обусловлены наличием *свободных атомов*, а не их соединений.
- Атомы, способные поглощать свет определенной длины волны, испускают свет той же длины волны (*закон соответствия процессов испускания и поглощения*).
- Линии, наблюдаемые в спектрах, являются характеристичными для *определенного элемента*.

Открытие Кирхгофа и Бунзена означало появление первого метода атомной спектроскопии, названного *спектральным анализом*. Первоначально он использовался лишь для *качественного* и *полуколичественного* анализов. Наблюдение атомных эмиссионных спектров позволило еще в XIX веке открыть ряд новых элементов — Rb и Cs (Кирхгоф, Бунзен), Tl (Крукс), In (Райх), Ga (Лекок де Буабодран).

Начиная с 20-х годов. XX века, спектральный анализ превращается в метод *количественного* анализа. Дальнейшими важными этапами явились создание в 1960-е годы. методов атомно-абсорбционной спектроскопии и атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивной или емкостной связанной плазмой. Плазма звезд, с которой, собственно, и началась вся спектроскопия, словно бы спустилась на землю, и круг замкнулся.

Типы спектров

При высокотемпературном воздействии на химическое вещество возможно возникновение спектров трех типов: непрерывных, полосатых и линейчатых.

Излучение с *непрерывным спектром* испускается раскаленными твердыми телами. Непрерывные спектры испускания и поглощения можно наблюдать и для отдельных молекул в плазме, например, при протекании следующих процессов диссоциации.

Непрерывный спектр испускания:

$$(O_2)_2^* \rightarrow 2O_2 + h\nu. \tag{3.13}$$

Непрерывный спектр поглощения:

$$I_2 + h\nu \rightarrow 2I. \tag{3.14}$$

Столкновение возбужденных атомов (A) или ионов с быстрыми электронами плазмы тоже может вызвать появление непрерывных спектров. Примером такого излучения, называемого тормозным излучением электронов, может служить излучение, возникающее в ходе процесса

$$A^{+^*} + e^-_{быстрый} \rightarrow A^{+^{**}} + e^-_{медленный} + h\nu. \tag{3.15}$$

Непрерывные спектры не являются характеристичными для отдельных элементов и сильно зависят от условий термического возбуждения.

Полосатые спектры типичны для молекул, находящихся при высокой температуре — CN, N_2^+, CH, C_2, SrOH. Эти спектры отражают сложные процессы, связанные с изменением электронной, колебательной и вращательной энергии молекул.

Линейчатые спектры обусловлены процессами возбуждения электронов свободных атомов и одноатомных ионов. Как мы увидим в дальнейшем, именно спектры этого типа представляют наибольший интерес для аналитической химии.

Атомные спектры

Как установили еще Кирхгоф и Бунзен, расположение линий в атомном спектре характеристично для данного атома или иона. Таким образом, положение спектральных линий можно использовать для обнаружения элементов (*качественного анализа*). Для объяснения линейчатой (дискретной) природы атомных спектров можно использовать боровскую модель атома. Эта модель изучается в курсе общей химии. Здесь мы лишь воспользуемся некоторыми ее важнейшими положениями.

Серийная структура линий атомных спектров

Линии в атомном спектре можно сгруппировать в серии таким образом, чтобы все линии серии соответствовали переходам электронов на один определенный уровень энергии. Для атома водорода можно, в соответствии с моделью Бора, записать следующее соотношение между энергией испущенного фотона и главными квантовыми числами электронных уровней энергии:

$$\bar{\nu} = R\left(\frac{1}{n_1^2} - \frac{1}{n_2^2}\right), \tag{3.16}$$

где $\bar{\nu}$ — волновое число ($см^{-1}$),
R — постоянная Ридберга,
n_2, n_1 — главные квантовые числа электронных уровней более высокой и более низкой энергии, соответственно.

Для водородоподобных ионов (отличающихся от атома водорода только *зарядом ядра* — He^+, Li^{2+} и т.д.) в уравнение (3.16) необходимо включить и заряд ядра Z:

$$\bar{\nu} = Z^2 R \left(\frac{1}{n_1^2} - \frac{1}{n_2^2} \right). \tag{3.17}$$

Увеличение волнового числа с ростом Z связано с увеличением притяжения электронов к ядру. Спектры таких ионов, содержащих только один электрон, весьма похожи на спектр атома водорода. Для водородоподобных ионов энергия электронного состояния с главным квантовым числом n выражается как

$$E = -Z^2 \frac{R \cdot h \cdot c}{n^2}, \tag{3.18}$$

где h и c — постоянная Планка и скорость света, соответственно.

Сходные закономерности в спектрах можно наблюдать и для других элементов, следующих друг за другом в Периодической системе. Эта закономерность известна как *правило сдвига Косселя–Зоммерфельда*. Оно гласит, что спектр каждого элемента подобен спектру однократно ионизированного атома элемента, следующего за ним. Эта же закономерность распространяется и на многократно ионизированные атомы. Так, наблюдается сходство в атомных спектрах в рядах

$$Na, Mg^+, Al^{2+}, Si^{3+}, \ldots \quad \text{или}$$
$$Al, Si^+, P^{2+}, S^{3+}, \ldots .$$

Переходы между дискретными уровнями энергии подчиняются *правилам отбора*. Применительно к главным квантовым числам правила отбора гласят, что в атомных спектрах наблюдаются только такие линии, для которых $\Delta n = 1, 2, 3, \ldots$ Для многоэлектронных систем возможны и переходы с $\Delta n = 0$.

Многоэлектронные системы с одним валентным электроном

Наличие множества спектральных серий для атомов щелочных металлов, обладающих единственным валентным электроном, привело Зоммерфельда к мысли о существовании, наряду с главным, еще одного, побочного, или орбитального, квантового числа l, принимающего значения от $l = 0$ до $l = n - 1$ и характеризующего орбитальный момент импульса электрона. С учетом этого квантового числа выражение для энергии электронного состояния выглядит так (см. формулу (3.18)):

$$E = -Z^2 \frac{R \cdot h \cdot c}{[n - \alpha(l)]^2}. \tag{3.19}$$

Величина $\alpha(l)$, по мысли Зоммерфельда, отражает изменение энергии вследствие эксцентриситета электронной орбиты. Для $l = 0$ эта величина наибольшая. Электронные *состояния* с $l = 0, 1, 2, 3$ по традиции обозначаются символами s, p, d, f соответственно. Они происходят от английских названий серий спектральных линий, соответствующих переходам в такие состояния: sharp (резкая),

principal (главная), **d**iffuse (диффузная) и **f**undamental (фундаментальная). На рис. 3.15 показана схема электронных переходов, вызывающих появление линий этих серий, для атома лития. Соответствующие спектральные серии изображены на рис. 3.16. Правило отбора для побочного квантового числа выражается в виде $\Delta l = \pm 1$.

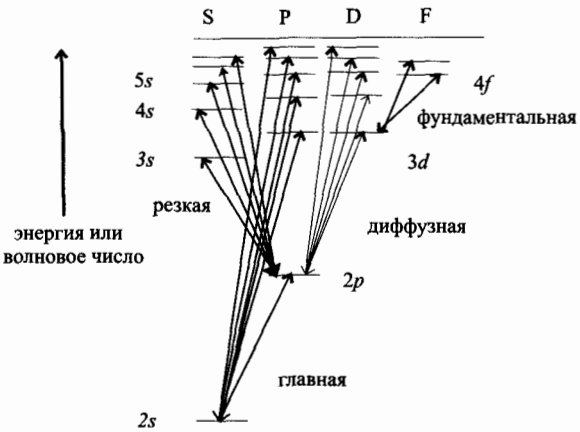


Рис. 3.15. Схема электронных переходов в атоме лития для серий спектральных линий с историческими названиями «резкая» (sharp), «главная» (**p**rincipal), «диффузная» (**d**iffuse) и «фундаментальная» (**f**undamental).

Обнаружение мультиплетов у некоторых спектральных линий, в частности, дублета в спектре атома натрия при 589,6 и 589,0 нм привело к необходимости введения еще одного, *спинового* квантового числа s. Оно принимает значения $s = \pm 1/2$ и характеризует собственный момент импульса электрона. Взаимодействие орбитального и собственного моментов импульса электрона дает квантовое число $j = l + s$, характеризующее полный момент импульса электрона.

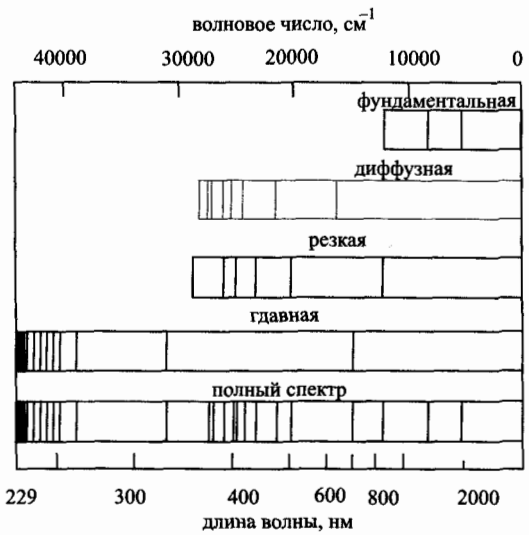


Рис. 3.16. Серийная структура атомного спектра на примере спектра атома лития

В атомах щелочных металлов для $l = 1$ и двух возможных значений $s = \pm 1/2$ могут реализоваться состояния с $j = 1/2$ и $j = 3/2$. Соответствующие им уровни энергии очень близки, но все же различны (см. рис. 3.17, схема уровней атома натрия). Правила отбора для j гласят: $\Delta j = \pm 1$ или $\Delta j = 0$. Последний тип переходов, связанный с одновременным изменением квантовых чисел l и s, наблюдается редко.

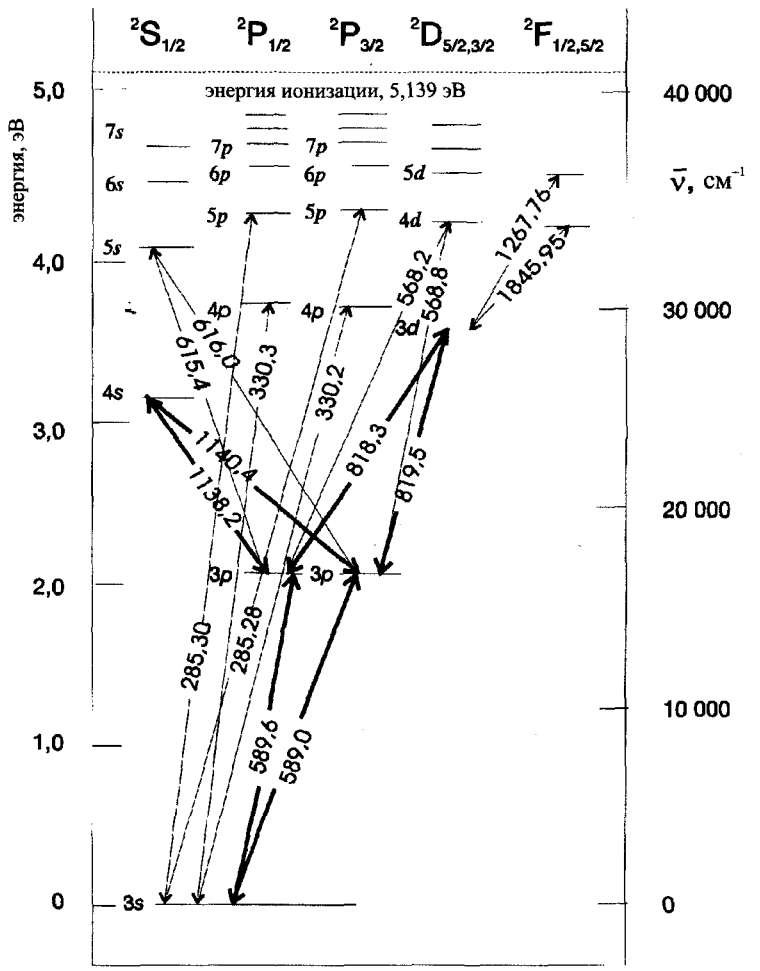


Рис. 3.17. Схема электронных уровней и длины волн некоторых спектральных линий (в нм) для атома натрия (числа, написанные посреди стрелок).

Многоэлектронные системы с несколькими валентными электронами

В многоэлектронных системах с несколькими валентными электронами последние взаимодействуют, образуя одно общее энергетическое состояние. Для эле-

ментов с небольшими атомными номерами это взаимодействие выражается в том, что орбитальные и спиновые квантовые числа отдельных электронов складываются, давая полное орбитальное L и спиновое S квантовые числа атома в целом:

$$l_1, l_2, l_3, \ldots \rightarrow L,$$
$$s_1, s_2, s_3, \ldots \rightarrow S.$$

Эти квантовые числа образуют число $J = L + S$ (связь Рассела–Саундерса). Мультиплетность электронного состояния атома вычисляется так же, как и для отдельного электрона: $2S+1$. Максимальное значение мультиплетности достигается только при определенных значениях L. Электронное состояние атома обозначается с помощью специального набора символов, называемого термом. Он имеет следующий вид:

$$n^{\text{мультиплетность}} L_j. \tag{3.20}$$

Так, для атома натрия (многоэлектронная система с одним валентным электроном, рис. 3.17) можно записать:

для основного состояния $3^2S_{1/2}$, (3.21)

для возбужденных состояний $3^2P_{1/2}$ и $3^2P_{3/2}$, (3.22)

и т.д. На рис. 3.17 в числе других показаны и переходы, соответствующие хорошо известной дублетной линии атома Na с длинами волн 589,0 и 589,6 нм. Для систем с несколькими валентными электронами действуют правила отбора:

$$\Delta n = 0, 1, 2, 3, \ldots,$$
$$\Delta L = \pm 1,$$
$$\Delta J = \pm 1(0).$$

Тяжелые элементы

Для элементов с большими атомными номерами структура электронных уровней значительно сложнее. Ввиду дополнительных видов взаимодействий электронных состояний спектры становятся столь богаты линиями, что их серийную структуру становится почти невозможно распознать. Например, для вольфрама известно около 8000 атомных спектральных линий. Такая сложность спектров, однако, не является препятствием для их практического использования в анализе.

Название «спектральная линия» возникло исторически. При использовании такой техники регистрации, как спектроскоп или фотопластинка, структурные элементы атомных спектров, имеющие ширину порядка 10^{-3} нм, воспринимались действительно как линии. Современные аналитические приборы, оснащенные регистрирующими устройствами на основе компьютеров или плоттеров, позволяют разглядеть отдельные детали спектральной «линии» и трактовать ее как спектральную полосу, имеющую определенную форму и вполне измеримую ширину.

Интенсивность атомной спектральной линии

При обсуждении энергетических переходов в атоме мы уже упоминали о том, что отдельные переходы более или менее вероятны. Эти различия в *вероятности*

электронных переходов приводят к тому, что различные спектральные линии имеют различную интенсивность.

Насколько различаются, к примеру, интенсивности одной и той же спектральной линии в спектрах поглощения и испускания? Для ответа на этот вопрос следует иметь в виду, что, например, температуры пламени (низкотемпературной плазмы) достаточно для возбуждения лишь весьма незначительного числа атомов. Подавляющая часть атомов в этих условиях находится в основном энергетическом состоянии. В соответствии с законом распределения Больцмана при тепловом равновесии числа частиц в возбужденном N^* и основном N_0 состояниях относятся как

$$\frac{N^*}{N_0} = \frac{g^*}{g_0} e^{-\frac{\Delta E}{kT}}, \tag{3.23}$$

где g^*, g_0 — статистические веса возбужденного и основного состояний;
ΔE — разность энергий возбужденного и основного состояний;
k — константа Больцмана ($1,38 \cdot 10^{-23}$ Дж $\cdot$ К$^{-1}$).

Для иллюстрации вычислим доли атомов в возбужденном состоянии при температурах пламени для некоторых элементов — Na, Cu и Zn (табл. 3.4).

Применительно к пламени — низкотемпературной плазме с температурами от 1000 до 4000 К — справедливы следующие утверждения.

- Подавляющее большинство атомов находятся — даже при высоких температурах — в *основном электронном состоянии*. Таким образом, величина N_0 практически равна общему числу атомов в плазме. Вероятность поглощения света атомами выше, чем вероятность испускания, и абсорбционные измерения в пламени в принципе чувствительнее эмиссионных.

- Вероятность *поглощения света* — в отличие от испускания — практически *не зависит от температуры*. Повышение температуры на 1000 К значительно изменяет число возбужденных частиц. Число же невозбужденных частиц остается при этом почти неизменным. На практике в атомно-абсорбционном анализе зависимость сигнала от температуры наблюдается, но она вызвана совершенно другими причинами (изменением степени атомизации вещества).

Таблица 3.4. Отношения заселенностей возбужденного и основного энергетических состояний атомов некоторых элементов при температурах пламени.

Элемент	Длина волны, нм	Энергия возбуждения, эВ	g^*/g_0	N^*/N_0 при 2273 К	N^*/N_0 при 3273 К
Na	589	2,1	2	$1,0 \cdot 10^{-5}$	$5,8 \cdot 10^{-4}$
Cu	324	3,8	2	$4,8 \cdot 10^{-10}$	$6,6 \cdot 10^{-7}$
Zn	213	5,8	3	$7,5 \cdot 10^{-15}$	$5,0 \cdot 10^{-10}$

Еще один важный вывод состоит в том, что абсорбционные спектры существенно *беднее линиями*, чем эмиссионные. Причина состоит в том, что реально могут наблюдаться лишь линии поглощения, связанные с переходами из основного состояния. В то же время линии испускания могут быть обусловлены переходами из множества различных возбужденных состояний.

В высокотемпературной плазме, при температурах до 10000 K, спектры испускания становятся еще сложнее, поскольку с ростом температуры возможно возбуждение частиц до все более высокоэнергетических состояний. Поэтому различные источники возбуждения в атомно-эмиссионной спектроскопии требуют отдельного обсуждения (раздел 3.2.2).

В качестве *количественной меры* интенсивности спектральной линии в атомно-эмиссионной спектроскопии используют интенсивность излучения (в физическом смысле) как таковую. Градуировочной функцией служит зависимость интенсивности спектральной линии от концентрации определяемого элемента. В атомно-абсорбционной спектроскопии интенсивность процесса поглощения света описывают с помощью закона Ламберта–Бера.

3.2.1. Атомно-абсорбционная спектроскопия: поглощение света свободными атомами

Использование явления поглощения света свободными атомами в аналитических целях берет свое начало в 1955 г. и связано с именем Уолша, предложившего метод атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС). На рис. 3.18 представлена принципиальная блок-схема ААС-спектрометра. Проба в нем вносится в *атомизатор* (например, пламя), где распадается до свободных атомов. Возбуждение атомов осуществляется потоком света УФ-видимой области, исходящего из *лампы с полым катодом*. Отсечение постороннего излучения и детектирование производятся при помощи устройств, уже обсужденных ранее, — *монохроматора* и *ФЭУ*, соединенного с устройством отображения информации.

Источники излучения

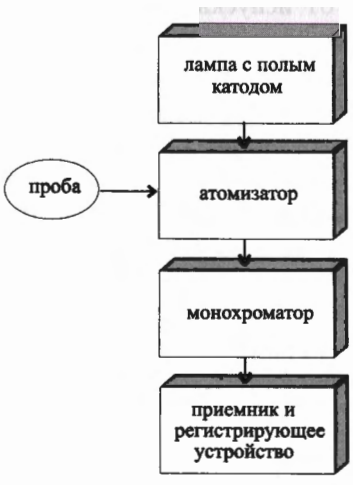


Рис. 3.18. Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра.

Чтобы измерить степень поглощения света анализируемым образцом, необходимо сравнить интенсивности света, падающего на образец и прошедшего через образец.

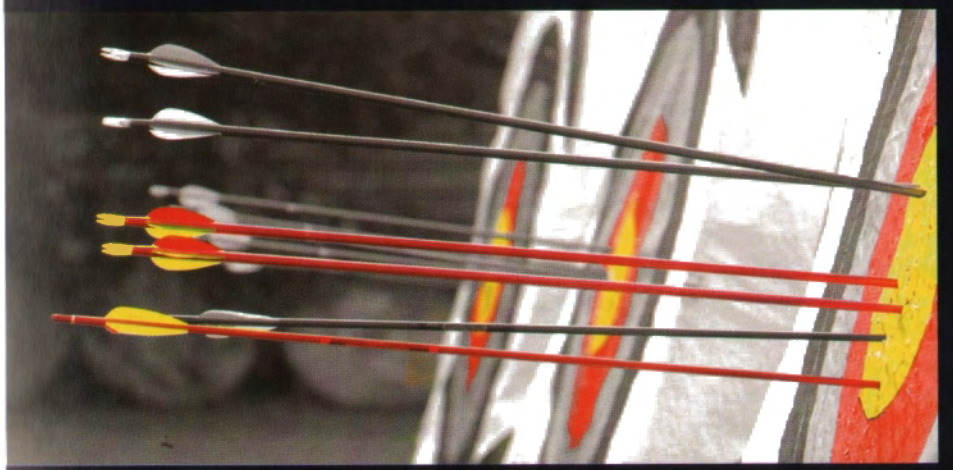
Спектры молекул имеют достаточно широкие полосы поглощения. В молекулярной спектроскопии используют источники излучения, дающие непрерывный спектр. Из него с помощью монохроматора выделяют спектральную полосу, лежащую в требуемом диапазоне.

В атомно-абсорбционной спектроскопии применение источников непрерывного спектра невозможно. Причина состоит в том, что атомные линии поглощения *очень узкие* — их ширина составляет 10^{-3} – 10^{-2} нм. При облучении атомов недостаточно монохроматичным источником света большая часть светового потока пройдет через образец без поглощения.

Поэтому в атомно-абсорбционной спектроскопии необходимо использовать источники света,

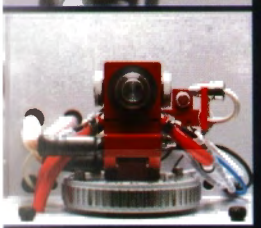
analytikjena

contrAA® Точно в цель!









Технология AAC высокого разрешения с источником сплошного спектра

Интеллектуальная технология AAC для рынка будущего

contrAA®

AAC высокого разрешения с источником сплошного спектра (HR-CS AAS) для пламенной, гидридной и электротермической техники, возможность анализировать в одной системе как жидкие, так и твердые пробы

HR-CS AAS плюс contrAA® означает:

- один источник света для всех элементов
- последовательный мультиэлементный анализ, как стандарт
- уникальная синхронная коррекция неселективного поглощения
- высокая светосила
- быстрая готовность к измерениям
- легкость в управлении и надежность
- информативность
- сведение к минимуму числа и влияния источников погрешностей
- высокая производительность

Московское представительство | Старосадский пер. 7/10 | 101000 Москва
Телефон +7-495/6283262 | Телефакс +7-495/9335576 | www.analytik-jena.ru | mmukhina@analytik-jena.ru

дающие линейчатый спектр. При этом ширина линий в спектре испускаемого света должна быть по крайней мере сравнима с шириной линий атомного спектра.

Ширина атомных спектральных линий зависит от многих факторов. *Естественное уширение* спектральной линии, обусловленное соотношением неопределенностей Гейзенберга, составляет порядка 10^{-5} нм. Дополнительное уширение вызвано эффектом Допплера. Ширина линий зависит также от давления в атомизаторе и интенсивностей электрического и магнитного полей.

Допплеровское уширение

Эффект Допплера заключается в *изменении частоты излучения* при движении излучателя и приемника излучения друг относительно друга. В акустике этот эффект можно наблюдать в повседневной жизни: когда мимо вас на большой скорости проносится автомобиль, издающий громкий звуковой сигнал, высота звука непрерывно изменяется. В атомно-абсорбционной спектроскопии излучающими объектами являются атомы, совершающие беспорядочное тепловое движение в атомизаторе в разных направлениях относительно неподвижного приемника излучения. Их скорости движения подчиняются закону распределения Максвелла–Больцмана. Средняя скорость движения атомов пропорциональна корню квадратному из температуры. Атомы, движущиеся в направлении распространения излучения, поглощают при более низких частотах, а движущиеся навстречу излучению — при более высоких. В результате возникает симметричное уширение спектральной линии, называемое допплеровским. Его величина приблизительно в 100 раз больше, чем естественного. Уравнение (3.24) описывает зависимость допплеровского уширения от температуры (T), длины волны излучения (λ) и массы атома (M):

$$\Delta\lambda = \frac{2\lambda}{c}\left(\frac{2kT}{M}\ln 2\right)^{1/2}, \tag{3.24}$$

где k — постоянная Больцмана, c — скорость света.

Лоренцевское уширение

Еще одной причиной уширения линий являются *столкновения* атомов в атомизаторе с другими атомами или ионами. Их вероятность повышается с ростом *давления*. Вследствие взаимодействия электронных состояний сталкивающихся частиц наблюдается расщепление их энергетических уровней и, следовательно, уширение спектральных линий. Этот тип уширения называется лоренцевским. Величина лоренцевского уширения также на два-три порядка выше, чем естественного. В пространстве лампы с полым катодом излучающие атомы находятся под давлением ниже атмосферного. Поэтому линии спектра испускания лампы более узкие, чем линии спектра поглощения атомов в атомизаторе.

Лампы с полым катодом как источники излучения в ААС

Таким образом, в ААС необходимо использовать источники излучения с шириной линий менее 10^{-3} — 10^{-2} нм. В качестве таковых обычно используют лампы с полым катодом (ЛПК). Излучение этих ламп обусловлено процессами

возбуждения атомов при низкой температуре — более низкой, чем температура атомизатора. По этой причине ширина линий спектра лампы также меньше, чем ширина атомных линий поглощения (см. рис. 3.19). Столь монохроматичное излучение в заметной мере поглощается атомами. Посторонние линии, присутствующие в спектре ЛПК, отрезаются монохроматором.

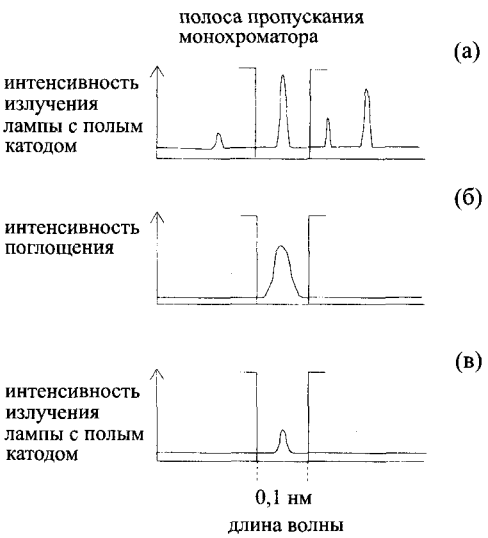


Рис. 3.19. Схема процесса поглощения атомами света лампы с полым катодом. (а) — спектр испускания лампы, (б) — атомная линия поглощения, (в) — интенсивность света лампы, прошедшего через атомизатор и монохроматор.

Строение лампы с полым катодом изображено на рис. 3.20. Материал катода изготавливается из определяемого элемента. Внутреннее пространство лампы заполнено инертным газом — аргоном или неоном — при пониженном давлении (200–800 Па). Для питания лампы используют постоянное напряжение порядка 600 В. Материал катода под действием возникающего внутри лампы холодного тлеющего разряда испускает свет. Ширина линий испускания ЛПК составляет 10^{-4} — 10^{-3} нм.

Из некоторых материалов — As, Sb, Se, Te — трудно изготовить полый катод. Кроме того, излучение, даваемое этими неметаллами, часто находится в весьма коротковолновой области. Для его возбуждения требуется значительная энергия, а его интенсивность низка. В подобных случаях вместо ламп с полым катодом применяют безэлектродные разрядные лампы. Внутри такой лампы находится небольшое количество (1–2 мг) соответствующего элемента, который во время работы лампы под действием высокочастотного электрического разряда переходит в парообразное состояние. Как и для ЛПК, корпус безэлектродной разрядной лампы сделан из кварца, а внутреннее пространство заполнено инертным газом при пониженном давлении.

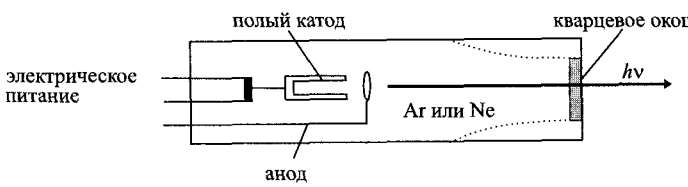


Рис. 3.20. Схема строения лампы с полым катодом.

Атомизаторы

Простейшим способом перевода растворенной пробы в атомарное состояние является использование *пламени*. Впоследствии для улучшения чувствительно-

сти определения был предложен *электротермический* способ атомизации с использованием графитовых печей. Рассмотрим сначала пламенные атомизаторы.

ААС в пламени

При пламенном способе атомизации раствор пробы распыляют в пламя в виде мелких капель. Устройство атомизатора этого типа на основе щелевой горелки, дающей ламинарное пламя, изображено на рис. 3.21. Продольная длина пламени составляет 5–10 см.

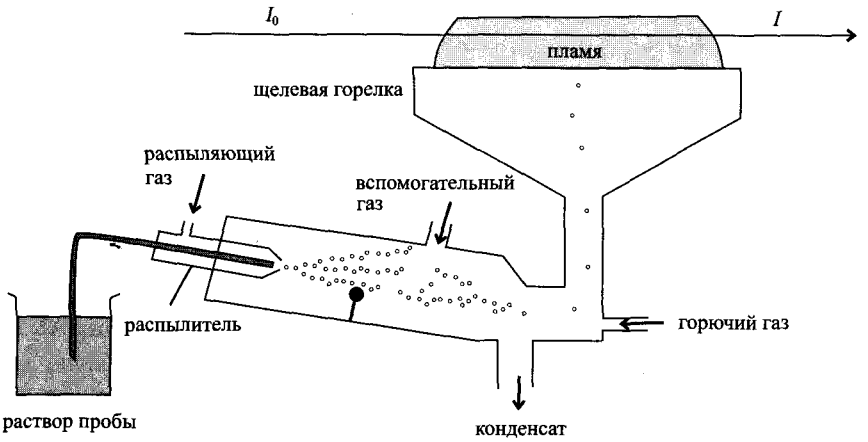


Рис. 3.21. Схема атомизатора для пламенной ААС на основе щелевой горелки. I_0 — интенсивность падающего света, I — интенсивность прошедшего света.

Горючая смесь для поддержания пламени состоит из *горючего газа* и *газа-окислителя*. Окислитель может одновременно служить распыляющим газом или подаваться в горелку отдельно (вспомогательный газ). Наиболее распространенные сочетания газов приведены в табл. 3.5. Для определения большинства элементов достаточно температур, даваемых смесью ацетилен–воздух.

Таблица 3.5. Составы газовых смесей для пламенной ААС.

Газовая смесь (горючий газ — окислитель)	Температура, K	Определяемые элементы
ацетилен–воздух	до 2500	большинство
ацетилен–закись азота	до 3100	B, Al, Si, Be, элементы 3–5 побочных подгрупп
водород–воздух	до 2300	As, Se
метан–воздух	до 2000	щелочные металлы

Недостаток ацетилен-воздушного пламени — значительное собственное поглощение при длинах волн менее 230 нм. Для трудно атомизируемых или трудно летучих элементов — Be, Ca, Sr, Ti, Zr, Hf, V, Mo, W, редкоземельные элементы — необходимо применение более высоких температур. Для этого можно использовать смесь ацетилен–закись азота, дающую температуру до 3100 K. Однако столь горячее пламя обладает большим собственным испусканием. Для элементов, атомы которых поглощают в очень коротковолновой области (As, Se),

целесообразно использовать пламя водород–воздух, не обладающее заметным поглощением вплоть до 210 нм. Для определения легко атомизируемых щелочных металлов достаточно температуры пламени метан–воздух.

Процессы, происходящие в пламени

В пламени происходит *испарение* составных частей пробы, их *диссоциация* на свободные атомы, *возбуждение* атомов под действием внешнего излучения и, как побочный процесс, *ионизация* атомов. Эти же процессы протекают и в атомизаторах других типов, рассматриваемых далее.

Испарение. Первым компонентом пробы, переходящим в газообразное состояние, является растворитель. Затем испаряются твердые компоненты, находящиеся в растворе. При использовании органических растворителей наблюдается их горение. Испарение твердых компонентов может происходить непосредственно или через стадию плавления. Последний случай сопровождается гомогенизацией пробы и может привести к образованию весьма трудно летучих *смешанных оксидов* или *фосфатов*. В этих случаях необходимо правильно подобрать состав и температуру пламени: температура должна быть достаточно высокой, а среда в пламени — восстановительной. Подобными свойствами обладает, например, пламя ацетилен–закись азота, применяемое для определения Al, B, Si.

Мешающее влияние матрицы можно устранить также с помощью добавок специальных реагентов. Так, при определении кальция в фосфатных растворах добавляют хлорид лантана в качестве «освобождающей» добавки. В пламени лантан образует фосфат $LaPO_4$, предотвращая тем самым образование трудно летучего пирофосфата кальция. Можно использовать и добавку ЭДТА. Кальций при этом образует комплекс с ЭДТА, который более устойчив, чем фосфатный, и легко атомизируется вследствие сгорания органического лиганда.

Диссоциация и восстановление. На следующей стадии испарившиеся соединения металлов диссоциируют на свободные атомы. Процесс диссоциации сопровождается одновременным восстановлением ионов до свободных атомов металлов:

$$NaCl \rightleftharpoons Na + Cl. \tag{3.25}$$

Подобные равновесия можно охарактеризовать с помощью обычных величин, применяемых для описания химических равновесий — степени диссоциации α и константы диссоциации K_D. Константу в этом случае выражают через парциальные давления компонентов:

$$K_D = \frac{p_{Na} p_{Cl}}{p_{NaCl}}, \tag{3.26}$$

$$\alpha = \frac{p_{Na}}{p_{Na} + p_{NaCl}}. \tag{3.27}$$

Степень диссоциации зависит от температуры пламени, энергии диссоциации соединения, его концентрации и степени влияния на положение равновесия со стороны посторонних компонентов.

С увеличением *температуры* степень диссоциации возрастает, поскольку при этом увеличивается константа диссоциации K_D.

Энергии диссоциации некоторых молекул приведены в табл. 3.6. Ввиду различий в энергиях диссоциации молекул степень диссоциации может зависеть от валового состава пробы. Наличие посторонних веществ может сказываться на величине аналитического сигнала и вследствие их влияния на положение равновесия диссоциации. Например, в присутствии высоких содержаний KCl равновесие диссоциации хлорида натрия (3.25) смещается влево (из-за возрастания p_{Cl}), и степень диссоциации снижается. Поэтому градуировочные зависимости, построенные с использованием чистых водных растворов NaCl, могут оказаться непригодными для определения натрия в присутствии KCl. Чтобы избежать погрешностей, следует строить градуировочные зависимости, используя растворы, близкие по составу к анализируемой пробе.

Таблица 3.6. Энергии диссоциации некоторых молекул.

Молекула	Энергия диссоциации, эВ
NaCl	4,2
NaI	3,1
AlF	6,8
AlCl	5,1
InCl	4,5
InO	3,3

Из уравнения (3.27) следует также, что степень диссоциации уменьшается с увеличением концентрации определяемого вещества. Вследствие этого может нарушиться пропорциональная зависимость между концентрацией натрия в анализируемом растворе и парциальным давлением атомов натрия в пламени и, как результат, наблюдаться *искривление градуировочной зависимости*.

Возбуждение. Число невозбужденных свободных атомов, способных к возбуждению под действием излучения лампы с полым катодом, определяется в соответствии с рассмотренным ранее законом распределения Больцмана (3.23).

Ионизация. Наряду с диссоциацией происходит (особенно интенсивно — при высоких температурах) и нежелательный процесс ионизации свободных атомов:

$$M \rightleftharpoons M^+ + e^-. \tag{3.28}$$

Для этого равновесия можно записать выражения константы ионизации (K_I) и степени ионизации (β):

$$K_I = \frac{p_{M^+} p_{e^-}}{p_M}, \tag{3.29}$$

$$\beta = \frac{p_{M^+}}{p_M + p_{M^+}}. \tag{3.30}$$

Чем ниже энергия ионизации, тем выше доля ионизированных атомов. Как видно из табл. 3.7, явление ионизации особенно заметно в случае щелочных металлов.

Положение равновесия ионизации непосредственно зависит от парциального давления свободных электронов в пламени. Оно, в свою очередь, может зависеть от состава матрицы. Для поддержания парциального давления электронов на

постоянном и высоком уровне к пробе часто (особенно при использовании высокотемпературных пламен таких, как ацетилен–закись азота) добавляют избыток соли легко ионизирующегося элемента, например, натрия или калия. Такие добавки называют *спектроскопическими буферами*.

Таблица 3.7. Энергии ионизации атомов некоторых металлов.

Элемент	Энергия ионизации, эВ
Cs	3,893
Rb	4,176
K	4,339
Na	5,138
Li	5,390
Ba	5,210
Mg	7,644
Cd	8,990
Hg	10,430

Электротермический способ атомизации

Еще один способ атомизации состоит в использовании графитовых трубок, нагреваемых электрическим током. Их часто называют графитовыми кюветами (Львов, 1958, Массман, 1970). На рис. 3.22 показано устройство такой графитовой кюветы. Длина трубки составляет обычно от 30 до 50 мм, внутренний диаметр — около 10 мм. Раствор пробы (порядка 10 мкл) вводят в кювету и нагревают ее по специальной температурной программе, подводя напряжение через металлические контакты. Таким способом можно достичь температур порядка 3000 K.

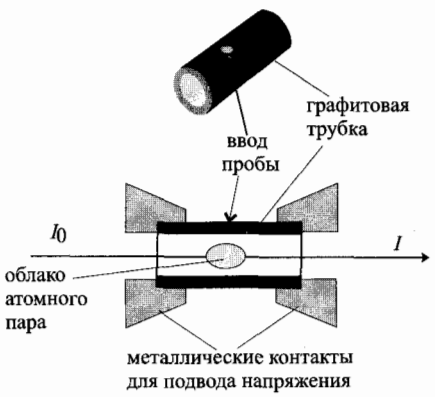


Рис. 3.22. Схема графитовой кюветы для электротермической атомизации. I_0 — интенсивность падающего света, I — интенсивность прошедшего света.

Путем программируемого повышения температуры до 105–110°C раствор пробы сначала *высушивают* в защитной атмосфере инертного газа (например, аргона). Затем пробу озоляют, поднимая температуру до 500 – 700°C. В процессе *озоления* удаляются летучие компоненты матрицы — соединения ртути, органические вещества, некоторые галогениды. При этом также протекает ряд реакций разложения — дегидратация кристаллогидратов и гидроксидов, разложение нитратов. Кроме того, многие компоненты пробы под действием графита восстанавливаются: сульфаты до сульфидов, некоторые ионы металлов — до свободных металлов. При этом также могут образоваться и нежелательные побочные продукты: термически устойчивые карбиды или труднолетучие оксиды, например, бора или фосфора.

Затем температуру повышают до 2000–3000 K. При этом происходят процессы диссоциации, восстановления и ионизации, аналогичные описанным ранее в применении к пламенным атомизаторам.

Гидридная техника

Очень эффективный способ атомизации состоит в превращении определяемого компонента в летучее соединение и вводе его в пламенный (обычно используют водородно-воздушное пламя) или графитовый атомизатор в виде пара или газа. Таким образом можно определять ртуть, обладающую значительным давлением насыщенного пара уже при обычных условиях. Такие элементы, как As, Bi, Ge, Sb, Se, Sn, переводят в летучие гидриды восстановлением боргидридом натрия $NaBH_4$.

Сравнение пламенного и электротермического способов атомизации

В целом о возможностях двух описанных способов атомизации в ААС можно сказать следующее.

- **Чувствительность**. При электротермическом способе атомизации в атомизатор попадает все количество пробы, а при распылении в пламя — не более 10%. Время пребывания пробы в электротермическом атомизаторе значительно выше, чем в пламенном. Вследствие этого пределы обнаружения при использовании электротермических атомизаторов обычно на несколько порядков ниже (см. табл. П.8 приложения).

  Для повышения эффективности атомизации в пламени в последнее время применяют способ прямого ввода раствора пробы в атомизатор (пламенно-инжекционная техника).

- **Селективность**. Электротермический способ атомизации позволяет непосредственно в ходе анализа удалить из пробы часть компонентов матрицы. Вследствие этого мешающие влияния посторонних компонентов при электротермической атомизации ниже, чем при пламенной.

- **Анализ твердых образцов**. При использовании электротермической атомизации существует принципиальная возможность (при проведении соответствующей градуировки) непосредственного анализа твердых образцов (например, биологических тканей или частиц минералов).

Электротермический способ атомизации требует наличия специальных устройств для очень быстрого нагрева печи, применения защитного инертного газа, а графитовые кюветы должны быть изготовлены из сверхчистого графита. Поэтому электротермический способ атомизации более дорогостоящий, чем пламенный.

К числу *недостатков* электротермического способа следует отнести возможность образования в ходе анализа труднолетучих карбидов металлов. Однако этого явления можно избежать, применяя графитовые *печи с платформами*. Примером может служить изображенная на рис. 3.23 графитовая трубка со вставленной в нее пластинкой из тантала. Графитовая печь служит в этом случае

исключительно для нагрева, а процесс атомизации происходит на платформе. Применяют и печи с платформами, сделанными из графита. Преимущество таких печей по сравнению с обычными состоит в более равномерном нагревании пробы. При этом воспроизводимость результатов анализа значительно улучшается.

Монохроматоры и детекторы

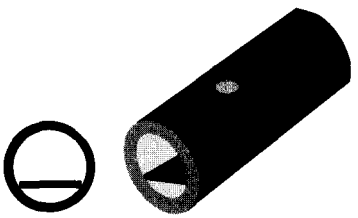


Рис. 3.23. Графитовый атомизатор с платформой.

Поскольку, как было отмечено ранее, спектральные линии, испускаемые лампами с полым катодом, чрезвычайно узкие, то можно задать вопрос: зачем в таком случае в атомно-абсорбционных спектрометрах вообще нужны монохроматоры? Ответ состоит в следующем. В атомно-абсорбционной спектроскопии роль монохроматора заключается в отсечении лишних линий испускания лампы с полым катодом (рис. 3.19, а), молекулярных полос и постороннего внешнего излучения. Диапазон длин волн, представляющий интерес для ААС, простирается от 193,7 нм (резонансная линия аргона) до 851 нм (линия, используемая для определения цезия). Ввиду слишком широких спектральных полос пропускания использование светофильтров в ААС невозможно. Обычно для монохроматизации используют дифракционные решетки, содержащие 500–3000 штрихов на миллиметр (общее число штрихов достигает при этом порядка 10^5). Обратная линейная дисперсия таких решеток (уравнение 3.8) составляет от 0,5 до 5 нм/мм.

В качестве приемников излучения применяют ФЭУ. Пример непрерывной регистрации атомно-абсорбционного сигнала во времени в ходе программируемого нагревания электротермического атомизатора приведен на рис. 3.24.

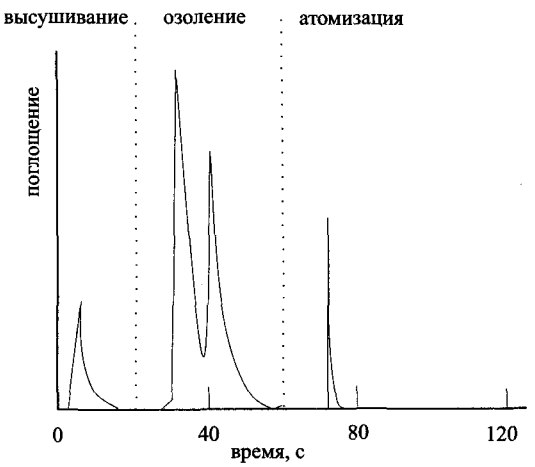


Рис. 3.24. Изменение атомно-абсорбционного сигнала в ходе атомизации пробы в графитовой кювете.

Количественный анализ

Зависимость между интенсивностью светового потока, прошедшего через атомизатор, от концентрации поглощающих частиц пробы выражается с помощью закона Ламберта–Бера:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon_\lambda l c}, \tag{3.31}$$

или, вводя величину A, называемую *оптической плотностью*,

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon_\lambda l c, \tag{3.32}$$

где I_0 — интенсивность падающего излучения,
I — интенсивность прошедшего излучения,
ε_λ — коэффициент поглощения, при длине волны λ,
l — длина оптического пути.

В ААС коэффициент поглощения косвенно связан с величиной допплеровского уширения спектральной линии. Кроме того, в указанное выражение следует ввести еще и коэффициент пропорциональности, связывающий концентрацию поглощающих частиц в атомизаторе и концентрацию определяемого компонента в растворе пробы. При контролируемых условиях атомизации этот коэффициент остается примерно постоянным. Поэтому можно построить градуировочную зависимость непосредственно по значениям концентраций стандартных растворов.

Факторы, влияющие на величину абсорбционного сигнала

Многие явления могут вызвать искажение величины абсорбционного сигнала. Испускание света возбужденными атомами, флуоресценция атомов или неспецифическое излучение самого атомизатора уменьшают регистрируемую величину светопоглощения. Это приводит к снижению чувствительности определения, повышает предел обнаружения. Для устранения помех, вызванных *испусканием света*, излучение лампы с полым катодом модулируют с частотой около 100 Гц. При помощи соответствующей настройки приемника излучения (частотной и фазовой фильтрации) на желаемой длине волны можно удалить немодулируемую часть излучения.

Рассеяние света и неспецифическое поглощение излучения молекулами (фоновое поглощение) увеличивают регистрируемую величину поглощения. *Рассеяние* света происходит в первую очередь на твердых, не испарившихся частицах, присутствующих в атомизаторе. В соответствии с законом Релея интенсивность рассеянного излучения пропорциональна третьей степени радиуса частиц и обратно пропорциональна четвертой степени длины волны:

$$\frac{I_S}{I_0} = 24\pi r^3 \frac{N v^2}{\lambda^4}, \tag{3.33}$$

где I_S — интенсивность рассеянного излучения,
N — число частиц,
r — радиус частицы,
v — объем частицы.

При переходе от 800 к 200 нм интенсивность рассеянного света при прочих равных условиях возрастает в 256 раз. На практике это означает необходимость особенно тщательной пробоподготовки при работе в коротковолновой области.

Молекулярные спектры поглощения отличаются от атомных наличием весьма широких полос — от нескольких нанометров до 100 нм и более. Влияние поглощения света молекулами фона можно устранить различными способами — используя источник непрерывного спектра излучения (дейтериевую лампу), метод «двух линий» или эффект Зеемана.

Коррекция фонового поглощения

Коррекция при помощи дейтериевой лампы

В этом методе для коррекции фонового поглощения используют два источника света с различной спектральной шириной светового потока: узкополосные, дающие линейчатый спектр (лампы с полым катодом или безэлектродные разрядные лампы) и широкополосные, дающие непрерывный спектр (дейтериевая лампа). Поглощение, измеренное при длине волны резонансной линии ЛПК, складывается из специфического поглощения атомов определяемого элемента и неспецифического поглощения фона. При облучении дейтериевой лампой поглощает только фон. Пробу поочередно облучают световыми потоками ЛПК и дейтериевой лампы (выделяя из нее монохроматором полосу шириной 0,1–3 нм) и находят величину специфического (атомного) поглощения $A_{\text{спец}}$ по разности:

$$A_{\text{спец}} = A_{\text{ЛПК}} - A_{D_2} = \lg \frac{I_0}{I_{\text{ЛПК}}} - \lg \frac{I_0}{I_{D_2}} = \lg \frac{I_{D_2}}{I_{\text{ЛПК}}}, \qquad (3.34)$$

где $I_{\text{ЛПК}}$ и I_{D_2} — интенсивности световых потоков ЛПК и дейтериевой лампы на выходе из атомизатора.

Этот способ коррекции фонового поглощения чрезвычайно распространен. При его использовании следует ясно отдавать себе отчет в его возможностях и границах применимости. Поскольку измерения потоков производятся поочередно, колебания оптических характеристик среды могут привести к погрешностям. Кроме того, использование дополнительного источника света и устройства для переключения световых потоков (прерывателя) увеличивает отношение сигнал–шум. Дейтериевая коррекция фона возможна лишь при длинах волн не выше 350 нм, поскольку при больших длинах волн интенсивность излучения дейтериевой лампы резко падает.

Метод двух линий

Метод двух линий позволяет устранить мешающее влияние фона путем одновременного измерения поглощения при двух длинах волн. В этом методе рядом с резонансной линией поглощения атома выбирают еще одну линию испускания ЛПК, при длине волны которой поглощает только фон. Величину поглощения, измеренного при этой длине волны, используют для коррекции. Выбор такой линии, поглощение при длине волны которой не зависело бы от концентрации определяемого элемента и соответствовало фоновому поглощению при длине волны резонансной линии, может представлять проблему. Кроме того, для одновре-

менного измерения поглощения при двух длинах волн необходим спектрометр специальной конструкции.

Применение эффекта Зеемана

Еще один способ коррекции фонового поглощения в ААС основан на использовании *эффекта Зеемана*. Этот способ особенно эффективен в случае сильного фонового поглощения возникающего, например, при анализе биологических образцов. Эффект Зеемана состоит в расщеплении электронных уровней атома под действием магнитного поля.

В простейшем случае при действии магнитного поля атомная спектральная линия расщепляется на три близко расположенные линии (рис. 3.25). Они называются π- и σ-компонентами. Положение π-компоненты совпадает с длиной волны исходной линии λ_0, а обе σ-компоненты расположены симметрично относительно нее в области больших и меньших длин волн. При этом излучение π- и σ-компонент по-разному поляризовано: π-компоненты — параллельно, а σ-компонент — перпендикулярно вектору магнитного поля. При пропускании светового потока через поляризационный светофильтр обе компоненты можно разделить. Применяя специальную схему измерения, можно добиться, чтобы поглощение при длине волны π-компоненты соответствовало суммарному специфическому и неспецифическому поглощению, а при длине волны σ-компоненты — только специфическому. Магнитное поле можно налагать на излучатель или атомизатор. Чаще используют второй способ.

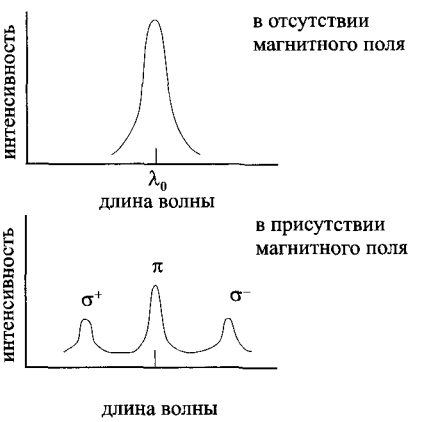


Рис. 3.25. Зеемановское расщепление возбужденных электронных уровней атома в ААС.

Практическое применение

Методом ААС можно определять 60–70 элементов, главным образом металлов. Неметаллы, как правило, непосредственно определять нельзя. В то же время существуют способы косвенного определения неметаллов по величине поглощения молекулярных полос. Атомно-абсорбционный метод широко используют как метод массовых, быстрых, селективных и достаточно точных определений металлов. Методом ААС принципиально возможно определять как следовые, так и достаточно высокие содержания (в последнем случае — после соответствующего разбавления). Чаще всего этим методом определяют малые содержания: в пламенной ААС — порядка нанограммов-микрограммов на миллилитр, в электротермической — пикограммов–нанограммов на миллилитр. Пределы обнаружения различных элементов приведены в табл. VIII приложения. Ввиду того, что объем пробы в электротермической ААС составляет всего 10–200 мкл, этим

методом можно определять очень малые абсолютные количества — вплоть до нескольких фемтограммов.

Недостаток ААС состоит в том, что это *одноэлементный* метод анализа. Для определения каждого элемента необходимо использовать свою лампу с полым катодом. Для достаточно быстрого определения нескольких элементов можно установить несколько ламп во вращающийся барабан и поочередно облучать атомизатор. Однако производительность такого устройства все же недостаточно высока, а соотношение «производительность–затраты» ниже, чем для атомно-эмиссионного метода. Трудности могут возникнуть и при определении методом ААС с электротермической атомизацией сверхмалых количеств элементов в матрицах сложного состава. В подобных случаях для получения правильных результатов необходимо сочетание ААС с химическими методами пробоподготовки, например, отделения определяемого компонента от матрицы с помощью ионообменной хроматографии (раздел 2.6).

3.2.2. Атомно-эмиссионная спектроскопия: самый популярный многоэлементный метод анализа

Устройство спектрометра для измерения интенсивности излучения света, испускаемого возбужденными атомами, в целом соответствует принципиальной схеме, изображенной на рис. 3.4. Единственное отличие состоит в том, что отдельный, внешний источник излучения как таковой отсутствует: сама проба, т. е. ее возбужденные атомы, служит в этом случае источником излучения. Атомизация и возбуждение атомов происходят в атомизаторе одновременно. Атомизатор представляет собой источник низкотемпературной (пламя) или высокотемпературной плазмы.

Источники атомизации и возбуждения

Пламена

В простейшем случае атомизатором может служить пламя. Раствор пробы распыляется в пламя, и возникающее излучение термически возбужденных атомов можно измерить непосредственно.

Как нам уже известно, в пламени можно достичь лишь температур до 3000 K. В соответствии с законом распределения Больцмана (уравнение (3.23)) при таких температурах в достаточных количествах возбуждаются лишь атомы наиболее легко возбудимых элементов — щелочных и щелочноземельных металлов. В принципе можно создать и пламена с более высокими температурами. Однако они обладают значительным собственным излучением и для аналитических целей неприменимы. Пламенно-эмиссионные фотометры для определения щелочных и щелочноземельных металлов выпускаются промышленностью. Ими оснащены все лаборатории, выполняющие определение этих элементов: в водах, почвах, растительных объектах, в сфере клинического анализа (табл. 3.8). Многие пламенные атомно-абсорбционые спектрометры также можно перестроить для работы в эмиссионном режиме.

Для достижения более высоких температур необходимы другие источники атомизации и возбуждения. К ним относятся атомизаторы на основе дугового и искрового разряда, а также плазменные (с индуктивной или емкостной связью).

Таблица 3.8. Определение щелочных и щелочноземельных металлов в биологических жидкостях с использованием четырехканального пламенно-эмиссионного фотометра в пламени ацетилен – воздух).

Образец	Концентрация элемента, ммоль/л			
	Na	K	Ca	Li
Моча	0–300	0–200	0–10	–
Плазма крови	0–200	0–10	0–5	0–2
Длина волны испускания, нм	589	766	620	671

Дуговой и искровой разряды

Высоких температур, достаточных для возбуждения атомов большинства элементов, можно достичь с помощью стационарного (дугового, постоянного или переменного тока) или нестационарного (искрового) электрического разряда. Разряд возникает в промежутке между двумя электродами. На нижний электрод помещается проба (либо проба сама служит электродом, например, при анализе металлов). Верхний электрод представляет собой заточенный стержень из железа или спектрально чистого углерода. На рис. 3.26 приведены примеры конструкций электродов для анализа твердых материалов, порошков и растворов.

Для получения воспроизводимых результатов поверхность металлических образцов перед анализом шлифуют. Непроводящие порошкообразные материалы смешивают в определенной пропорции с угольным порошком и помещают в полость графитового электрода. В углубление графитового электрода можно помещать и растворы. Однако в связи с развитием атомно-эмиссионных методов с плазменными атомизаторами, которые значительно более удобны для анализа растворов, в настоящее время дуговой и искровой источник атомизации применяют исключительно для анализа *твердых образцов*. Примером массовых анализов с использованием искровых атомизаторов может служить экспресс-анализ сплавов (доставляемых в лабораторию по пневматической почте) на металлургических производствах.

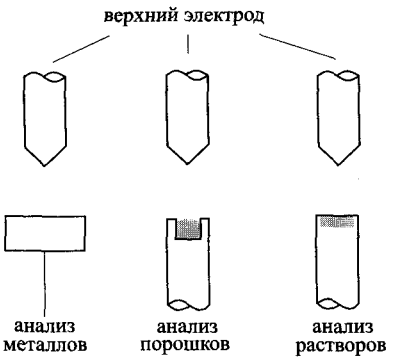


Рис. 3.26. Конструкции электродов для атомно-эмиссионного анализа с дуговым или искровым возбуждением.

Дуговой разряд представляет собой стационарный электрический газовый разряд между электродами. Напряжение между электродами составляет 30–80 В, сила тока — 1–35 А. Разряд обусловлен переносом ионов и электронов в плазме. Температура дугового разряда составляет 4000–6000 К. При таких температурах атомы большинства элементов находятся в неионизированном состоянии. Поэтому дуговые спектры состоят в основном из атомных линий. Доля ионных линий незначительна. Дуговой разряд в принципе можно использовать для количественного анализа металлических и порошкообразных проб. Однако воспроизводимость результатов при этом хуже, чем для искрового разряда. Пре-

делы обнаружения же достаточно низки. Поэтому дуговой разряд используют в основном для *качественного (обзорного) анализа*.

Для дугового разряда переменного тока воспроизводимость выше, чем для постоянного.

Искровой разряд является нестационарным. Он возникает при кратковременном замыкании конденсатора колебательного контура на разрядный промежуток. Частота колебаний искрового разряда составляет 120–1800 Гц. В искровом разряде достигаются температуры 10000–20000 К и выше. Ввиду того, что температура столь высока, в искровом спектре ионные линии преобладают над атомными. Более высокая, чем для дугового разряда, воспроизводимость служит предпосылкой к использованию искрового разряда для *количественного анализа*.

Плазменные атомизаторы

Современными источниками атомизации и возбуждения служат индуктивно связанная плазма (ИСП, ICP), плазма постоянного тока (DCP), а также микроволновая плазма с емкостной (CMP) или индуктивной (MIP) связью.

Чаще всего применяют источник ИСП. Устройство плазменной горелки этого типа приведено на рис. 3.27.

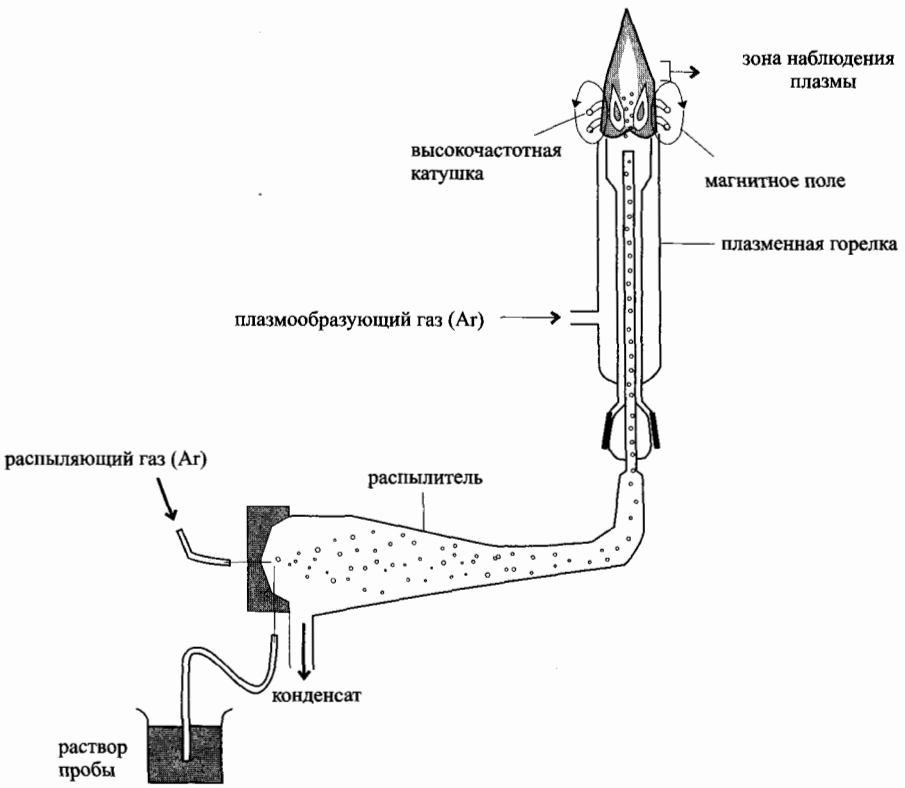


Рис. 3.27. Источник атомизации с индуктивно связанной плазмой.

Плазменная горелка состоит из трех концентрических кварцевых трубок, непрерывно продуваемых аргоном. Верхняя часть горелки помещена внутрь катушки индуктивности высокочастотного генератора (обычно 27,12 или 40,68 МГц). Высокочастотная аргоновая плазма инициируется с помощью искрового разряда. При этом аргон частично ионизируется, и в нем возникают свободные носители заряда. Затем в электропроводящем газе индуцируется высокочастотный ток, вызывающий дальнейшую лавинообразную ионизацию газа. Ввиду малого сопротивления плазмы она быстро нагревается до температур 6000–10000 K без прямого контакта с электродами. В центральный канал горелки в виде аэрозоля поступает раствор пробы. При этом стабильность плазмы не нарушается. В плазме происходит высушивание пробы, диссоциация на атомы, ионизация и термическое возбуждение образующихся атомов и ионов.

Ввиду относительно долгого пребывания пробы в плазме и высоких температур условия атомизации и возбуждения близки к оптимальным. Химические матричные эффекты в ИСП обычно отсутствуют. По этим причинам пределы обнаружения элементов методом ИСП очень низки (табл. П.8 приложения). Дополнительным достоинством метода является возможность плавно регулировать условия атомизации и возбуждения. Поэтому при анализе методом ИСП можно подобрать «компромиссные» условия, обеспечивающие одновременное определение множества различных элементов. Таким образом, ИСП–АЭС-типичный *многоэлементный* метод анализа. *Диапазон линейности* градуировочного графика в этом методе достигает пяти-шести порядков, а правильность и воспроизводимость достаточно высоки.

Недостатком метода является *очень большой расход аргона*. Расход плазмообразующего газа достигает 10–19 л/мин, а распыляющего газа — 1 л/мин. Часто в средний канал горелки подают еще и поток вспомогательного газа (также аргон). Для лаборатории на металлургическом заводе такие расходы аргона невелики по сравнению с расходами на основном производстве. Однако многим другим аналитическим лабораториям приходится выходить из положения, используя горелки уменьшенного размера или заменяя аргон другим газом.

Атомизатор на основе плазмы постоянного тока (DCP) можно использовать для анализа растворов вместо дугового разряда. Температура такой плазмы составляет порядка 5000 K. По сравнению со спектром ИСП здесь преобладают линии атомов, а не ионов. Приборы, использующие плазму постоянного тока (плазматроны), выпускаются промышленностью. Однако значение этого метода по сравнению с ИСП невелико.

Большее распространение в аналитической практике получили источники микроволновой плазмы — с индуктивной (MIP) или емкостной (CMP) связью. Источники с индуктивной связью работают при атмосферном давлении, используя ионизированный гелий. Они находят все более широкое применение в качестве специфических детекторов отдельных элементов в газовой хроматографии, позволяющих детектировать не только металлы, но и трудно возбудимые неметаллы. В частности, при газохроматографическом анализе органических и металлоорганических соединений можно с высокой чувствительностью и точностью детектировать как свинец, так и хлор и даже углерод, входящий в состав всех определяемых веществ (неспецифическое детектирование; см. раздел 5.2).

Источники тлеющего разряда

Особым источником атомизации и возбуждения служит источник *тлеющего разряда* (источник Гримма). С этим видом электрического разряда мы уже встречались, обсуждая принцип действия ламп с полым катодом в ААС. При атомизации в тлеющем разряде пробу используют в качестве катода. Ионы, возникающие в пространстве между катодом и анодом в результате разряда, бомбардируют поверхность катода и выбивают из нее отдельные атомы. Последние переходят в возбужденное состояние и испускают излучение. Таким образом, в тлеющем разряде происходит послойное травление поверхности катода-пробы, что позволяет использовать этот метод для *распределительного анализа* (раздел 8.2). При этом не представляет проблем и определение *неметаллов*, поскольку энергии разряда достаточно для возбуждения даже наиболее трудно возбудимых элементов (излучающих с длиной волны менее 220 нм). Недостаток метода состоит в необходимости вакуумирования пространства, в которое помещается проба.

Типы спектрометров

Спектрометры в ААС и АЭС различаются не только с точки зрения способа атомизации пробы, но и конструкцией используемых монохроматоров и детекторов.

В плазменных спектрометрах используют изображенные на рис. 3.9 *монохроматоры* конструкции Черни–Тернера. Входная щель выделяет пучок из светового потока от источника возбуждения, а через выходную щель свет направляется на ФЭУ.

Для дугового и искрового возбуждения чаще применяют монохроматоры схемы Эберта. Иногда их используют и в ИСП-спектрометрах. Устройство монохроматора Эберта изображено на рис. 3.28. Он отличается от монохроматора Черни–Тернера тем, что здесь используется единственное зеркало как для коллимации, так и для фокусирования световых потоков.

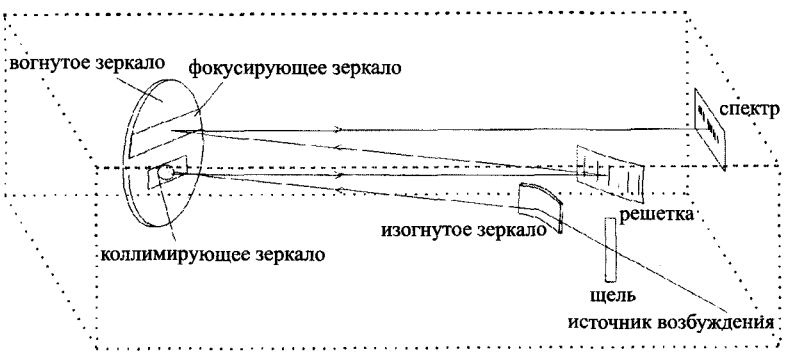


Рис. 3.28. Схема монохроматора модели Эберта на основе совмещенного коллимирующего-фокусирующего зеркала.

Для одновременной регистрации нескольких спектральных линий в спектрометрах используют устройство на основе круга Роуланда. На рис. 3.29 приведен

пример одного из таких устройств (Пашена–Рунге). Поток света от атомизатора падает на голографическую решетку, расположенную на круге Роуланда. Она служит одновременно и для разложения света, и для его фокусировки. Для детекции используют набор ФЭУ, расположенный за выходными щелями монохроматора в фиксированных положениях. Число таких ФЭУ может составлять от 4 до 48. Подобные многоканальные спектрометры очень удобны для проведения быстрых многоэлементных анализов, в частности, в металлургии.

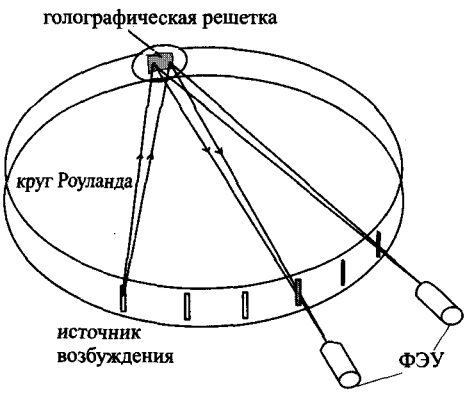


Рис. 3.29. Многоканальный спектрометр с монохроматором Пашена–Рунге на основе круга Роуланда.

Рабочий диапазон спектрометров обычно составляет примерно от 170 до 800 нм. Для измерений в области менее 200 нм необходимы либо вакуумирование (до давления ниже 4 Па), либо работа в атмосфере азота. Дифракционными решетками обычно служат голографические решетки-эшелетты, содержащие 2400–3600 штрихов на миллиметр. Подбором соответствующей величины угла β (называемого «углом блеска») между плоскостью решетки и гранью бороздки (рис. 3.30 (а)) можно добиться того, чтобы излучение одного порядка концентрировалось вдоль определенного направления. При этом в меньших порядках отражения концентрируются более длинноволновые, а в больших — более коротковолновые лучи. Разрешение такой решетки составляет примерно 0,012 нм в первом и 0,006 нм во втором порядке отражения в области длин волн 170–350 нм. Обратная линейная дисперсия D^{-1} составляет около 0,4 нм/мм в первом и 0,2 нм/мм во втором порядке.

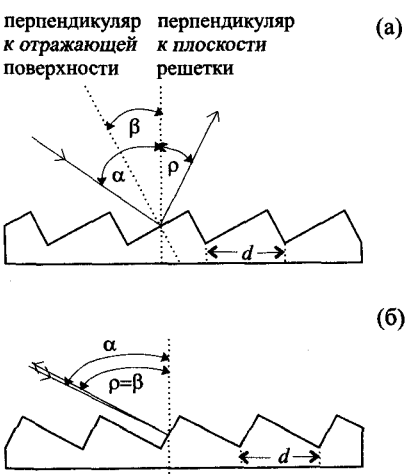


Рис. 3.30. Решетки типа эшелетт (а) и эшелле (б). α — угол падения, ρ — угол отражения, d — расстояние между отражающими поверхностями, β — «угол блеска».

Значительно более высоким разрешением обладают решетки типа *эшелле* (рис. 3.30 (б)). В обычных решетках-эшелеттах углы отражения и интерферен-

ции достаточно велики, а в эшелле — значительно меньше. Напротив, «угол блеска» для решеток-эшелле существенно больше. В силу этого характер зависимости между направлениями падающих, отраженных и интерферирующих лучей изменяется. Для решеток-эшелле угол падения α и угол отражения ρ близки:

$$\alpha \cong \rho = \beta.$$

Поэтому если для обычных дифракционных решеток условие возникновения интерференционного максимума выглядит как

$$n\lambda = d(\sin\alpha + \sin\rho), \tag{3.35}$$

то для решеток-эшелле — как

$$n\lambda = 2d\sin\beta, \tag{3.36}$$

где n — порядок отражения, d — постоянная решетки (расстояние между отражающими плоскостями).

Для обычных решеток-эшелеттов высокое разрешение достигается за счет большой густоты штрихов и большого расстояния до фокальной плоскости. В решетках-эшелле оно достигается путем выбора угла β и использования высоких порядков n. Даже при значительно меньшем числе штрихов на миллиметр можно добиться разрешения на порядок выше, чем в эшелеттах. Сравнение характеристик двух типов дифракционных решеток — обычных и эшелле — приведено в табл. 3.9.

Таблица 3.9. Сравнение характеристик дифракционных решеток типов эшелетт и эшелле.

Параметр	Обычные (эшелетт)	Эшелле
Длина фокальной плоскости	0,5 м	0,5 м
Число штрихов на мм	1200	79
«Угол блеска» β	10°22′	63°26′
Порядок отражения при 300 нм	1	75
Разрешение при 300 нм, $\lambda/\Delta\lambda$	62400	763000
Обратная линейная дисперсия D^{-1}	1,6 нм/мм	0,15 нм/мм

Использование высоких (часто выше 80) порядков отражения и обусловленная этим чрезвычайно высокая дисперсия приводят к сильному перекрыванию излучения различных длин волн. Из-за этого возникает необходимость дополнительного разложения излучения. Обычно совместно с решеткой-эшелле используют призму. При этом решетка и призма разлагают свет во взаимно перпендикулярных плоскостях. При этом в фокальной плоскости возникает двумерный спектр. Типичное расположение световых потоков различных длин волн в таком спектре показано на рис. 3.31. Монохроматоры на основе эшелле обычно собирают по схеме Черни–Тернера.

Для *детектирования* излучения первоначально использовали *фотопластинки*. Сейчас преобладает *фотоэлектрический* способ регистрации. В эшелле-спектрометрах для количественного используют также камеры-поляроиды или детекторы на основе приборов с зарядовой связью (ПЗС). Они позволяют одновременно регистрировать множество спектральных линий точно так же, как и «классические» фотопластинки.

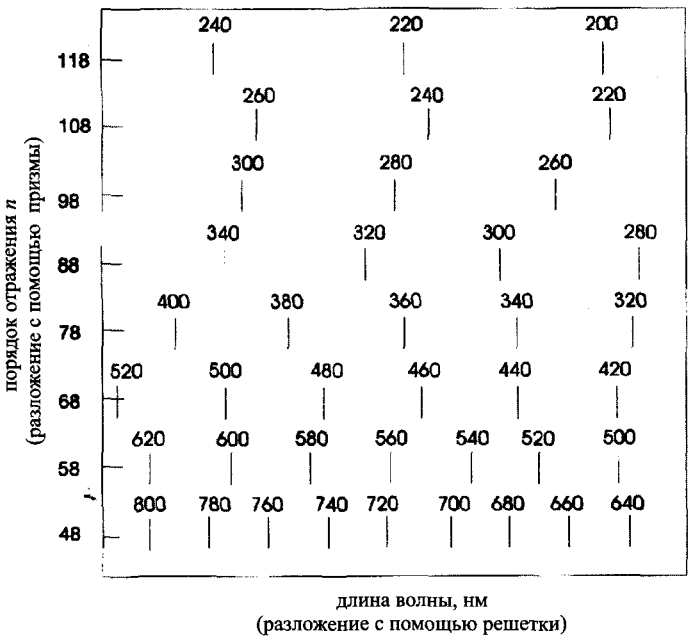


Рис. 3.31. Расположение длин волн в двумерном спектре, полученном с помощью решетки-эшелле.

Количественный и качественный анализ

Для количественного анализа методом атомно-эмиссионной спектроскопии плазма как источник возбуждения предпочтительнее, чем дуговой или искровой разряд. Наиболее распространенный плазменный источник (ИСП) характеризуется высокой стабильностью, низким уровнем шумов и малой величиной фонового сигнала. Мешающие влияния со стороны материалов атомизатора — от электродов в дуговом, искровом разрядах или при использовании плазмы постоянного тока — отсутствуют. Химические влияния и матричные эффекты для ИСП также выражены слабее, чем для атомизаторов других типов.

Все методы атомно-эмиссионной спектроскопии являются *относительными*, т. е. требуют градуировки с использованием подходящих стандартов. В случае ИСП, где диапазон линейности градуировочной зависимости составляет несколько порядков величин концентрации, градуировка очень проста. Для этого часто достаточно лишь измерить сигналы одного-единственного стандарта и фона. Регистрация сигнала осуществляется при помощи ФЭУ. Время регистрации составляет несколько секунд, если регистрируют весь пик, и несколько миллисекунд — при измерении в области его максимума. Пример спектра, полученного с помощью ИСП (определение меди по ее линии при 324,746 нм в матрице на основе железа), показан на рис. 3.32.

Для дугового и искрового атомизаторов вследствие их недостаточно высокой стабильности время измерения может составлять до 20 с. Это означает, что

при многоэлементном анализе практически возможна только одновременная регистрация всех спектральных линий (в противном случае время анализа будет слишком большим). Для повторяющихся однотипных анализов (например, в ходе контроля качества продукции на металлургическом заводе) удобно использовать многоканальные детекторы с несколькими ФЭУ (см. рис. 3.29).

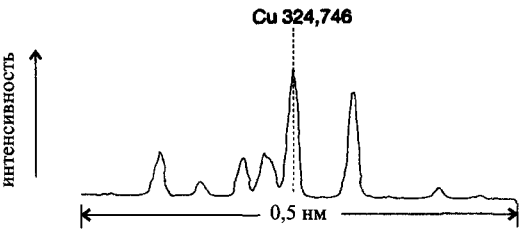


Рис. 3.32. Эмиссионный спектр (ИСП) образца при определении меди в диапазоне длин волн 0,5 нм. Концентрация меди 1 мг/л, концентрация железа 10 г/л.

При использовании фотопластинки (рис. 3.33) для количественного анализа измеряют величину почернения спектральной линии S при помощи денситометра. Она равна логарифму отношения интенсивностей света, прошедшего через незасвеченную часть пластинки (I_0) и через спектральную линию (I):

$$S = \lg \frac{I_0}{I}. \qquad (3.37)$$

Отметим, что соотношение между почернением и интенсивносьтю света, выраженное соотношением (3.37), справедливо только в определенных границах. В целом же кривая почернения фотопластинки имеет S-образный вид (рис. 3.34). Однако на этой кривой можно выделить отдельные приближенно линейные участки. С помощью некоторых преобразований привести к линейному виду и всю кривую в целом. Можно также использовать специальные методы хемометрики, предназначенные для анализа нелинейных зависимостей. В любом случае для количественного анализа нельзя непосредственно использовать данные, полученные с помощью денситометра. Их следует тем или иным способом преобразовать с помощью кривой почернения.



Рис. 3.33. Эмиссионный спектр 29 элементов в искровом разряде.

Вследствие колебаний условий возбуждения при определении концентрации элемента, как правило, следует для сравнения использовать линию еще какого-либо элемента, называемого внутренним стандартом. Отношение интенсивности линии определяемого элемента I к интенсивности линии внутреннего стандарта I_B связано с соответствующими концентрациями (c, c_B) следующим эмпирическим выражением:

$$\frac{I}{I_\text{B}} = a\left(\frac{c}{c_B}\right)^b, \qquad (3.38)$$

где a и b — константы.

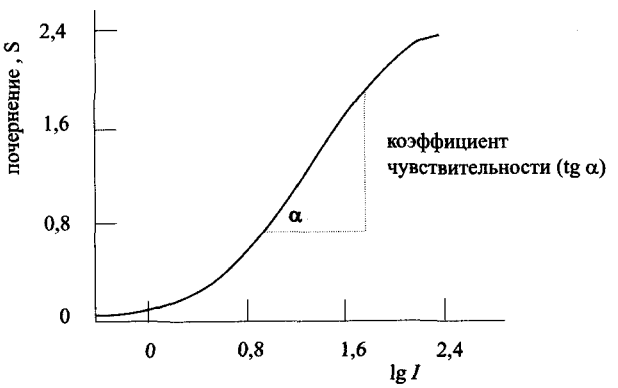


Рис. 3.34. Зависимость почернения фотопластинки от интенсивности падающего света.

При использовании фотопластинки *качественный анализ* проводят путем сопоставления спектра образца со стандартными спектрами отдельных элементов или со спектром железа. *Спектр железа* особенно удобен для идентификации, поскольку он богат линиями во всех областях спектра, где могут находиться линии различных элементов. Для качественного анализа фотопластинку непосредственно проецируют на атлас линий спектра железа (рис. 3.35), спектры совмещают по положению какой-либо известной линии и далее идентифицируют неизвестные линии, руководствуясь атласом. Для совмещения спектров часто используют линии железа, содержащиеся в спектре образца (поскольку при съемке спектра второй электрод обычно бывает изготовлен из железа).

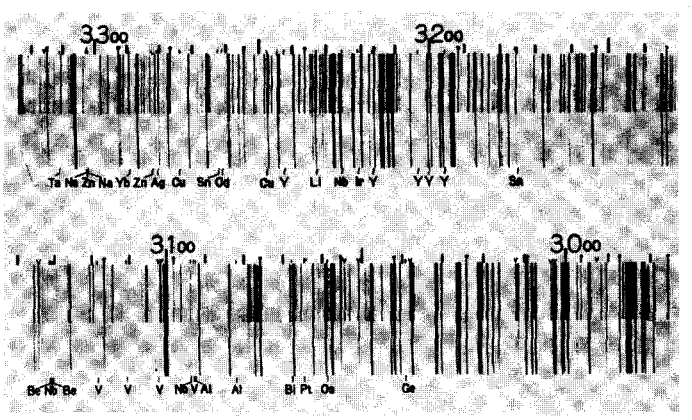


Рис. 3.35. Фрагмент атласа искрового спектра железа. Длины волн приведены в ангстремах. Так, 3300 Å соответствуют 330 нм.

Вид эмиссионного спектра зависит от *условий атомизации и возбуждения*. Как уже было сказано, дуговой спектр состоит в основном из атомных линий, а искровой — из ионных. Необходимое условие идентификации — *точное совпадение* положения линии. При этом для надежной идентификации элемента необходимо совпадение *не одной, а нескольких линий*. *В первую очередь* следует искать наиболее интенсивные линии элементов, обусловленные излучением нейтральных атомов вследствие перехода электронов из первого возбужденного состояния в основное. Такие линии называются «последними», поскольку при

уменьшении концентрации элемента (или последовательном ослаблении излучения с помощью ступенчатого нейтрального светофильтра) они исчезают в последнюю очередь.

С использованием *плазменных* атомизаторов также возможен качественный анализ на металлы и те неметаллы, энергии возбуждения которых лежат в УФ-видимой области. При этом для идентификации также используют наиболее интенсивные линии. Современные спектрометры снабжены базами данных, содержащими до 50000 важнейших линий различных элементов. Путем последовательного сканирования всей области длин волн на таких приборах можно провести полный качественный анализ за достаточно небольшое время — порядка 45 мин. Новейшие модификации приборов с эшелле-монохроматорами и детекторами с ПЗС позволяют выполнить обзорный анализ за то же время, что и с использованием фотопластинок.

Практическое применение

Атомно-эмиссионная спектроскопия находит применение везде, где требуется *многоэлементный* анализ: в металлургии, медицине, при исследовании состава руд, минералов, силикатов, вод. Пределы обнаружения, приведенные в табл. П.8 приложения, показывают высокую чувствительность атомно-эмиссионного метода, его применимость для определения следов. В то же время его можно с равным успехом использовать и для определения главных и сопутствующих компонентов.

3.2.3. Рентгеновская и электронная спектроскопия: возбуждение внутренних электронов

Все рассмотренные ранее спектроскопические методы основаны на возбуждении валентных электронов. Для возбуждения электронов внутренних оболочек необходимо излучение более высокой энергии. Такое излучение находится в рентгеновской области спектра. Использование рентгеновского излучения лежит в основе множества методов анализа, в частности, рентгенофлуоресцентной спектроскопии, методов рентгеновской дифракции, оже- и фотоэлектронной спектроскопии.

Основы рентгеновской спектроскопии

Общие основы спектроскопических методов рассмотрены нами в разделе 3.1. Взаимодействие рентгеновского излучения с веществом имеет ряд особенностей, более подробно обсуждаемых ниже. Рассмотрим взаимодействие твердого образца с рентгеновским излучением (рис. 3.36).

Пусть образец облучается рентгеновским излучением (называемым первичным) с длиной волны λ_0 и интенсивностью $I_0(\lambda_0)$ При прохождении через образец интенсивность первичного рентгеновского излучения уменьшается. Его интенсивность на выходе из образца $I(\lambda_0)$ зависит от *толщины* образца x, *плотности* материала образца ρ и коэффициента поглощения. В рентгеновской спектроскопии обычно применяют *массовый* коэффициент поглощения μ.

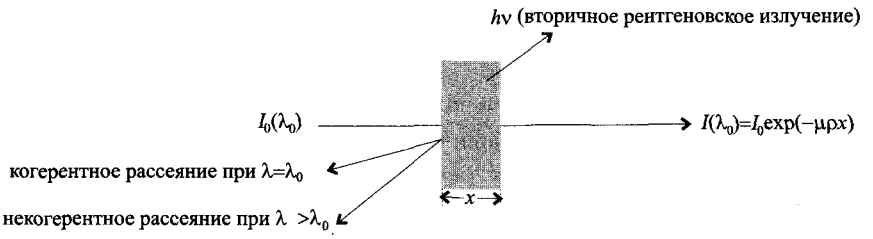


Рис. 3.36. Взаимодействие рентгеновского излучения с твердым образцом.

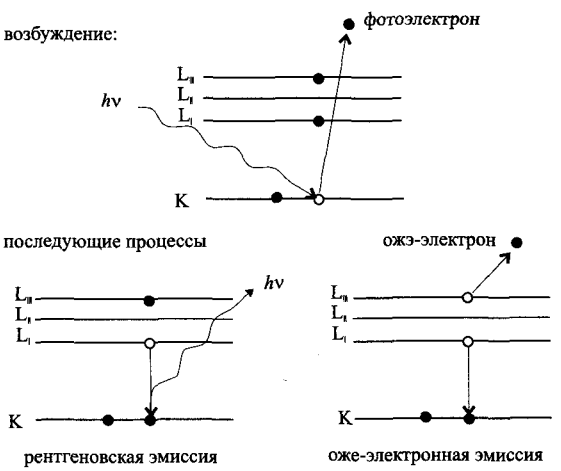
Наряду с поглощением, часть рентгеновского излучения рассеивается. Кроме того, возникает *вторичное* рентгеновское излучение самого образца. *Рассеянное* рентгеновское излучение может иметь длину волны ту же, что и первичное (оно называется когерентным) или более высокую (некогерентное рассеяние). Явление рассеяния рентгеновского излучения используют для установления *кристаллической структуры* веществ.

Процессы, обусловливающие явления поглощения и испускания рентгеновского излучения, будут рассмотрены в следующем разделе.

Механизм возбуждения внутренних электронов

Снова представим себе строение атома при помощи модели Бора. Взаимное расположение трех ближайших к ядру электронных уровней энергии изображено на рис. 3.37.

Рис. 3.37. Механизм электронного возбуждения в рентгеновской спектроскопии (черные кружки — электроны, светлые — вакансии).



На рисунке приведены обозначения уровней энергии электронов, общепринятые в рентгеновской спектроскопии. Символами K, L, M, N, O, P обозначаются уровни энергии с главными квантовыми числами, равными, соответственно, 1, 2, 3, 4, 5, 6, т. е. в порядке удаления электронных оболочек от ядра.

При взаимодействии первичного рентгеновского излучения с атомом сначала происходит выбивание электрона с одного из внутренних электронных уровней.

Этот электрон (фотоэлектрон) обладает кинетической энергией, равной разности энергии падающего кванта первичного излучения $h\nu$ и *энергии связи* электрона с ядром E_B:

$$E_{kin} = h\nu - E_B. \tag{3.39}$$

Получающаяся электронная конфигурация неустойчива: электроны более высоких энергетических состояний стремятся заполнить образовавшуюся вакансию. При переходе электрона с более высокого на более низкий энергетический уровень испускается квант вторичного рентгеновского излучения. Таким образом в данном случае как источник возбуждения, так и возникающее излучение имеют одну и ту же природу (рентгеновское излучение). Такой процесс называется *рентгеновской флуоресценцией*. Если для возбуждения атомов использовать электроны высоких энергий, процесс называется *рентгеновской эмиссией* (раздел 8.2).

Переход внутреннего электрона на нижний уровень может сопровождаться и безызлучательным процессом. Энергия, высвобождающаяся в результате такого перехода, может пойти на выбивание одного из электронов более высоких энергетических уровней. Этот процесс (*оже-эффект*) протекает параллельно с испусканием рентгеновского излучения. Доля оже-электронов зависит от многих факторов, в первую очередь — от порядкового номера элемента.

В отличие от фотоэлектронов, кинетическая энергия оже-электронов не зависит от энергии возбуждающего излучения. Она определяется только энергиями связи всех трех электронов, участвующих в процессе. Для процесса с участием K-, L_{I}- и L_{III}-электронов, изображенного на рис. 3.37, кинетическая энергия оже-электрона равна

$$E_{kin} = (E_K - E_{L_{\text{I}}}) - E_{L_{\text{III}}}. \tag{3.40}$$

Важнейшие для рентгеновской спектроскопии электронные переходы изображены на рис. 3.38. В рентгенофлуоресцентной и оже-электронной спектроскопии принято обозначать уровни энергии заглавными латинскими буквами. В *фотоэлектронной спектроскопии* (ЭСХА — электронная спектроскопия для химического анализа) используют обычные квантовохимические обозначения.

В этой главе мы рассмотрим рентгеновский флуоресцентный и дифракционные методы. Методы оже- и электронной (ЭСХА) спектроскопии будут рассмотрены в разделе 8.2, посвященном анализу материалов.

Рентгенофлуоресцентный анализ

Рентгенофлуоресцентный анализ (РФА) основан на измерении интенсивности вторичного рентгеновского излучения. Для примера рассмотрим конкретный электронный переход, вызывающий излучение линии меди K_{α_1}. Оно возникает при выбивании электрона с K-уровня и последующем переходе электрона с L_{III}-уровня (см. рис. 3.38). Энергия перехода равна разности энергий связи соответствующих электронов:

$$\Delta E = E_K - E_{L_{\text{III}}} = (8,973 - 0,993)\,\text{кэВ} = 8,040\,\text{кэВ}.$$

В РФА излучение находится в диапазоне энергий 0,6–60 кэВ. Это соответствует длинам волн от 0,02 до 2 нм или, как более принято в рентгеновской

спектроскопии, от 0,2 до 20 Å (1 Å = 0,1 нм). Связь длины волны излучения λ (Å) и его энергии E (кэВ) выражается следующей формулой (ср. (3.6)):

$$\lambda(\text{Å}) = \frac{12,398}{E[keV]}. \tag{3.41}$$

Для каждого элемента самой интенсивной является его K_{α_1}-линия. Другие линии приведены на рис. 3.38. Наиболее интенсивные из них выделены жирными стрелками. Как и в оптической атомной спектроскопии, линии в РФА группируются в *серии*. Все линии K-серии соответствуют переходам, заканчивающимся на K-уровне. Аналогичное происхождение имеют $L-$, $M-$ и N-серии.

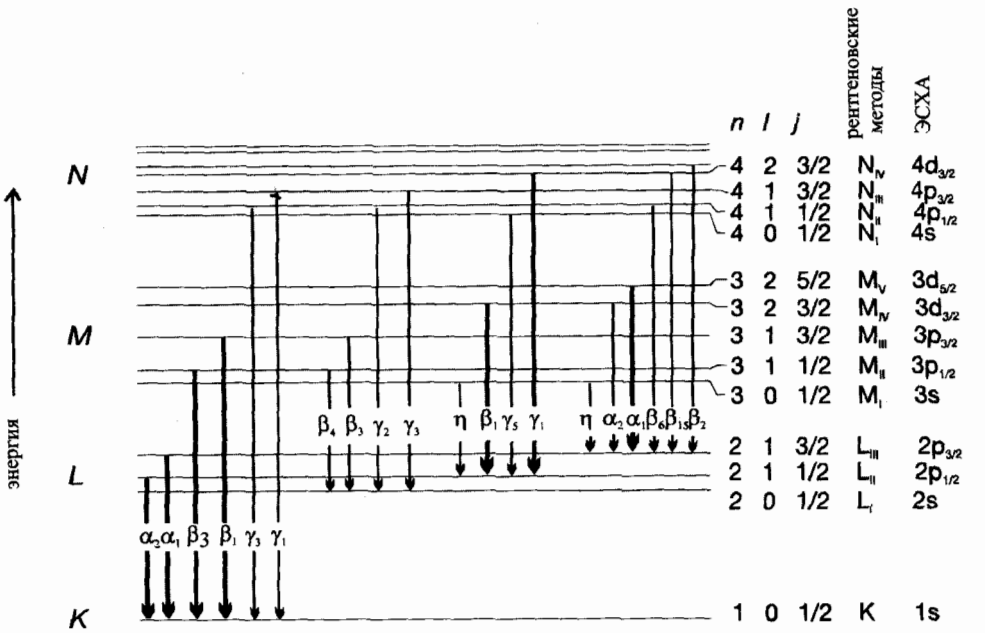


Рис. 3.38. Обзор важнейших электронных переходов между внутренними энергетическими уровнями. n, l и j — главное, побочное и полное квантовые числа (раздел 3.1).

Линии K-серии имеют наибольшую интенсивность. Соотношение интенсивностей линии определяется *относительными заселенностями уровней*, которые можно рассчитать теоретически. Чем дальше электрон отстоит от ядра, тем меньше интенсивность линии. Исходя из теоретических соображений, можно ожидать следующего соотношения интенсивностей линий K-серии:

$$K_{\alpha_1} : K_{\alpha_2} : K_{\beta_1} = 4 : 2 : 1. \tag{3.42}$$

В рентгеновском спектре K-серия выглядит приблизительно так, как показано на рис. 3.39. Ее можно наблюдать не всегда, поскольку для тяжелых элементов для возбуждения излучения K-серии требуются очень высокие энергии. В этом случае работают с линиями L-серии.

Устройство рентгеновского спектрометра

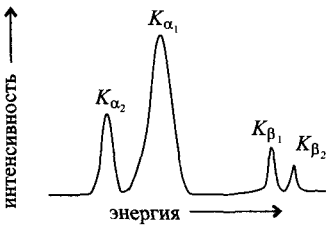


Рис. 3.39. Соотношение интенсивностей линий K-серии.

Основные узлы спектрометра — источник излучения, щель, диспергирующее устройство и детектор — в приборах для рентгенофлуоресцентного анализа соответствуют рентгеновской трубке, коллиматору (обычно из молибденовой фольги), кристаллу-анализатору и приемнику излучения в виде разрядной трубки или сцинтилляционного детектора (рис. 3.40). Помещение для пробы часто вакуумируют.

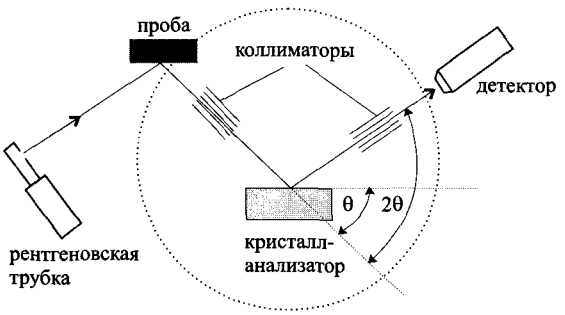
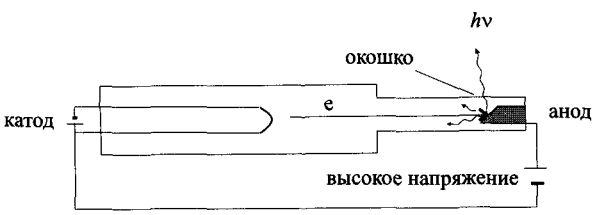


Рис. 3.40. Основные узлы рентгенофлуоресцентного спектрометра с волновой дисперсией.

Источники излучения для РФА

Излучение для возбуждения рентгеновской флуоресценции может возникать в результате бомбардировки металлической мишени электронами или исходить от радиоактивного материала. В классической модели рентгеновского спектрометра с волновой дисперсией используют рентгеновские трубки, действие которых основано на первом из названных принципов. В состав рентгеновской трубки входят катод и анод. Анод изготавливается из тяжелого металла, испускающего рентгеновское излучение под действием электронов — Cr, Rh, W, Mo, Ag, Au (рис. 3.41). Напряжение между катодом и анодом составляет 60–80 кВ, сила тока — около 70 мА. Электроны, вылетающие из катода и ускоряющиеся под действием приложенного напряжения, бомбардируют анод. В результате соударения кинетическая энергия электронов переходит главным образом в тепло, поэтому анод необходимо непрерывно охлаждать. Однако порядка 1% энергии переходит в *излучение*. Излучение исходит из трубки через окошко, сделанное из материала, не взаимодействующего с рентгеновскими лучами, например, бериллия.

Рис. 3.41. Устройство рентгеновской трубки.



Спектр излучения рентгеновской трубки лежит в достаточно широком интервале длин волн. В его состав входит тормозное излучение, которое возникает в результате торможения электронов и представляет собой непрерывное распределение по энергиям. Наименьшая длина волны тормозного излучения связана с напряжением U, приложенным к трубке, согласно уравнению Дюана–Ханта:

$$\lambda_{\min} = \frac{hc}{U} = \frac{12,398}{U}. \qquad (3.43)$$

Она не зависит от материала анода.

Другая составная часть спектра рентгеновской трубки — характеристическое излучение материала анода (рис. 3.42). Его длина волны не зависит от приложенного напряжения и определяется только энергиями связей электронов и, следовательно, природой материала анода. Связь между длиной волны характеристического излучения и атомным номером элемента описывается законом Мозли. Согласно этому закону, корень квадратный из обратной длины волны излучения пропорционален атомному номеру Z. С учетом поправки на экранирование σ закон Мозли можно записать в виде

$$\frac{1}{\sqrt{\lambda}} = K[Z - \sigma]. \qquad (3.44)$$

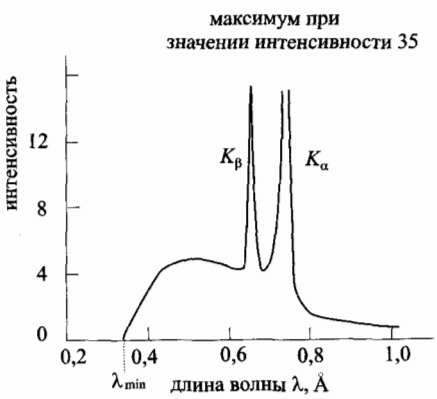


Рис. 3.42. Распределение излучения рентгеновской трубки с молибденовым анодом по длинам волн.

Коэффициент пропорциональности K имеет свое значение для каждой линии определенной серии (рис. 3.43). Определить в пробе элемент, из которого состоит анод, невозможно, поскольку излучение этого элемента присутствует в спектре рентгеновской трубки изначально.

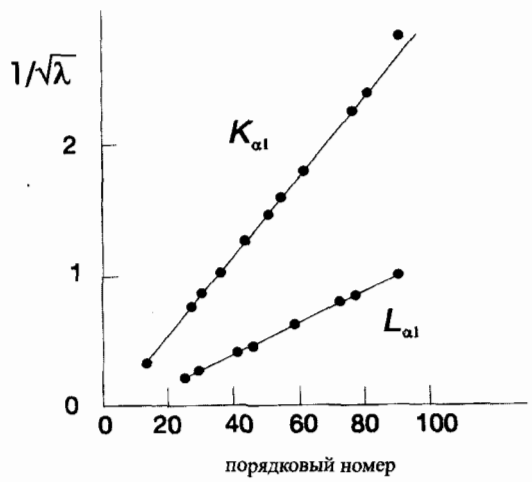


Рис. 3.43. Связь между обратной длиной волны λ (в Å) рентгеновского излучения и порядковым номером элемента для отдельных линий K- и L-серий в соответствии с законом Мозли.

Другим источником излучения могут служить радиоактивные изотопы такие, как Fe^{55}, Am^{241} или Cd^{109}. Эти источники особенно удобны для создания портативных РФА-спектрометров.

Кристалл-анализатор

Разложение полихроматического рентгеновского излучения осуществляется по принципу интерференции при помощи кристалла, определенным образом ориентированного относительно кристаллографических осей, например, LiF(420). На рис. 3.44 схематически изображено строение кристалла-анализатора. Усиление излучения вследствие интерференции происходит тогда, когда разность хода лучей равна целому числу n длин волн λ. Связь этих величин с углом между лучом и плоскостью кристалла θ, а также межплоскостным расстоянием в кристалле (постоянной решетки) d описывает закон Брэгга, открытый в 1912 г.:

$$n\lambda = 2d\sin\theta. \tag{3.45}$$

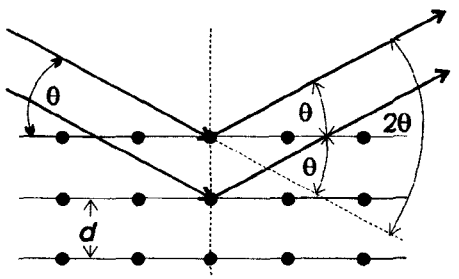


Рис. 3.44. Интерференция лучей на кристалле-анализаторе с межплоскостным расстоянием d при угле падения лучей θ.

Положение кристалла, соответствующее необходимому углу, устанавливают при помощи вращающегося столика (*гониометра*). В отличие от оптической спектроскопии, в рентгеновской всегда одновременно регистрируют только излучение *одной* длины волны. Чтобы с помощью кристалла зарегистрировать весь спектр, необходимо одновременно с кристаллом поворачивать и детектор, вращая его со скоростью, вдвое большей, чем кристалл (см. рис. 3.40).

В рентгенофлуоресцентном анализе необходимо покрыть всю область длин волн от 0,2 до 20 Å. На практике угол θ не может превышать 75°. Согласно уравнению Брэгга (3.45), для такого угла $n\lambda = 2d \cdot 0,96$. Если подставить в это соотношение $\lambda = 20$ Å, то получится, что величина $2d$ должна составлять 21 Å. Эта величина слишком большая. Разрешение в этом случае оказалось бы неудовлетворительным. Напомним, что чем меньше постоянная решетки d, тем выше ее разрешающая способность.

Для обеспечения высокого разрешения в разных диапазонах длин волн используют разные кристаллы-анализаторы, различающиеся значениями $2d$. Некоторые из распространенных кристаллов-анализаторов для РФА вместе с их параметрами (величина $2d$ и кристаллографическая ориентация в соответствии с индексами Миллера) перечислены в табл. 3.10. Для определения легких элементов невозможно применять кристаллы с высокой разрешающей способностью типа LiF. В этих случаях используют, например, кристаллы пиролитического графита (PG) или пентаэритрита (PE).

Детекторы

Для регистрации рентгеновского излучения применяют газоразрядные трубки, сцинтилляционные или полупроводниковые детекторы.

Таблица 3.10. Кристаллы-анализаторы для РФА-спектрометров с волновой дисперсией.

Кристалл	$2d$, Å	Определяемые элементы (порядковые номера)
LiF (420)	1,802	обеспечивает высокое разрешение
LiF (220)	2,848	
LiF (200)	4,028	≥ 20
PG	6,715	P(15), S(16), Cl(17)
PE	8,742	от Al(13) до K(19)

Газоразрядная трубка заполнена инертным газом — аргоном, ксеноном или криптоном. Рентгеновские фотоны, проникающие в трубку, ионизируют находящийся в ней газ. Образующиеся ионы притягиваются анодом, находящимся под напряжением порядка 1,5 кВ. Величина возникающего импульса тока пропорциональна интенсивности излучения. В зависимости от прилагаемого напряжения и других особенностей различают отдельные типы газоразрядных трубок — ионизационные камеры, счетчики Гейгера–Мюллера и пропорциональные счетчики. Газоразрядные трубки особенно подходят для определения легких элементов, излучающих в области 1,5–20 Å.

Сцинтилляционный детектор изготавливают обычно из кристаллов иодида натрия с добавками таллия. При падении рентгеновского кванта на такой кристалл вследствие люминесценции возникает вспышка света, которая регистрируется при помощи ФЭУ. Рабочий диапазон детектора составляет 0,3–2,5 Å. Для регистрации излучения во всем диапазоне длин волн обычно используют газоразрядные трубки в сочетании со сцинтилляционными детекторами.

Особым типом приемников излучения являются *полупроводниковые детекторы*. Полупроводниковый детектор представляет собой кристалл кремния, активированный литием и охлаждаемый жидким азотом. Он работает как дискриминатор фотонов по энергиям и не нуждается в использовании кристалла-анализатора и коллиматора. Излучение поступает непосредственно на многоканальный анализатор, каждый из каналов которого чувствителен к рентгеновским лучам в определенной области энергии. Приборы с такими детекторами называются РФА-спектрометрами с энергетической дисперсией (рис. 3.45).

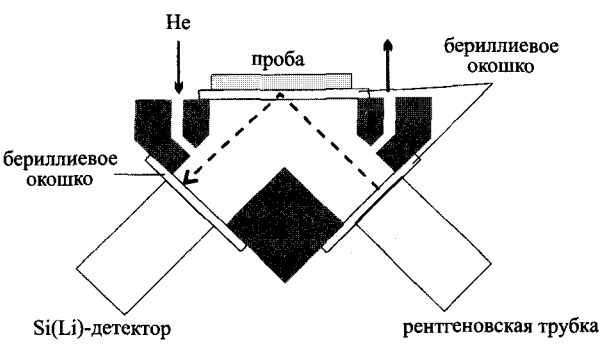


Рис. 3.45. Устройство РФА-спектрометра с энергетической дисперсией на основе полупроводникового детектора.

Приборы с энергетической дисперсией значительно дешевле и проще по своей конструкции, чем приборы с волновой дисперсией. Ввиду того, что излучение

попадает непосредственно на детектор, не наблюдается потерь интенсивности потока излучения. Поэтому в таких приборах можно использовать маломощные рентгеновские трубки или радиоактивные источники. Недостаток спектрометров с энергетической дисперсией — низкая разрешающая способность в области длин волн выше 1 Å.

Качественный анализ

Для качественного анализа предпочтительнее использовать приборы с волновой дисперсией ввиду их более высокой разрешающей способности. Для идентификации элемента следует в первую очередь руководствоваться положением его линии в спектре. При этом необходимо иметь в виду следующее.

- В рентгеновском спектре всегда могут присутствовать линии элементов, входящих в состав материала *анода рентгеновской трубки* и других *деталей прибора*.
- В первую очередь следует искать *наиболее интенсивную* линию элемента. В K-серии это K_α, в L-серии — L_{α_1}-*линия*.
- Необходимо иметь в виду возможность наблюдения *линий высших порядков отражения*, в первую очередь — второго.
- Как и в других спектроскопических методах, следует учитывать возможность *перекрывания линий*. Это явление можно частично предотвратить путем подбора напряжения рентгеновской трубки или порога дискриминации импульсов.

Кроме положений линий, следует учитывать и *соотношение их интенсивностей*. Как показано на примере K-серии (уравнение (3.42)), в пределах каждой серии существует определенное статистически обусловленное соотношение интенсивностей линий. Однако наблюдаемые соотношения могут изменяться в зависимости от состава пробы. Классическим примером служит искажение соотношения интенсивностей K-линий железа в присутствии марганца (рис. 3.46).

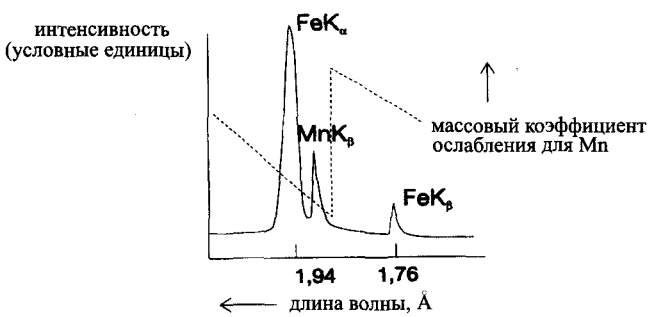


Рис. 3.46. Ослабление линии Fe-K_β в присутствии элемента основы — марганца.

Теоретически отношение интенсивностей линий FeK_α и FeK_β должно составлять 4 : 1. В присутствии Mn интенсивность линии FeK_β значительно снижается ввиду сильного поглощения атомами марганца излучения при этой длине

волны. Возможность подобных явлений следует иметь в виду при интерпретации спектров.

Характер приведенной на рис. 3.46 зависимости массового коэффициента ослабления Mn от длины волны является весьма общим. Для каждого элемента вблизи его линии (на «краю поглощения») наблюдается скачкообразное изменение коэффициента ослабления.

Количественный анализ

Важная особенность метода РФА — наличие сильных матричных эффектов, вызванных физическими причинами. Помимо непосредственного возбуждения атомов определяемого элемента *первичным рентгеновским излучением*, может наблюдаться ряд других явлений взаимодействия излучения с веществом. Среди них следующие:

- Возбуждение атомов определяемого элемента под действием *вторичного излучения* от атомов элементов матрицы. Это приводит к завышению аналитического сигнала.
- Поглощение *первичного* излучения элементами матрицы. Вследствие этого интенсивность возбуждающего излучения уменьшается, а величина аналитического сигнала оказывается заниженной.
- Поглощение вторичного излучения, испускаемого атомами определяемого элемента, атомами матрицы (*вторичное поглощение*). Это также приводит к *занижению сигнала*.

В РФА детекторы регистрируют число импульсов в единицу времени — так называемую *скорость счета*. В отсутствие указанных эффектов скорость счета была бы прямо пропорциональна концентрации определяемого элемента. В реальности же, с учетом поглощения части излучения как определяемым элементом (А), так и элементом матрицы (М), имеет место следующее соотношение:

$$\frac{N_\mathrm{A}}{N_\mathrm{A100}} = \frac{\mu_\mathrm{A} c_\mathrm{A}}{\mu_\mathrm{A} c_\mathrm{A} + \mu_\mathrm{M} c_\mathrm{M}}, \tag{3.46}$$

где N_A — скорость счета, измеренная для пробы,
N_A100 — скорость счета для чистого вещества А,
$\mu_\mathrm{A,M}$ — массовые коэффициенты поглощения (ослабления) для элементов А и М,
$c_\mathrm{A,M}$ — концентрации элементов А и М.

В соответствии с уравнением (3.46) можно ожидать линейной зависимости скорости счета от концентрации А лишь тогда, когда массовые коэффициенты ослабления определяемого элемента и компонента матрицы равны друг другу. В любом другом случае зависимость окажется искривленной (рис. 3.47). Поэтому в методе РФА следует ожидать, что градуировочный график в общем случае будет *нелинейным*. Эта нелинейность сначала представляла собой серьезную проблему, ограничивавшую возможности РФА как метода количественного анализа. В настоящее время разработано много способов коррекции матричных эффектов. Важнейшие из них следующие.

Коррекция матричных эффектов

Одна из возможностей состоит в использовании *внешнего стандарта* — образца, максимально близко соответствующего по составу анализируемой пробе. В этом случае матричные эффекты в равной мере сказываются на скорости счета и для образца, и для стандарта, и их нет необходимости учитывать в явном виде. Неизвестную концентрацию элемента c_A можно рассчитать непосредственно из соотношения интенсивностей, измеренных для пробы (I_A) и внешнего стандарта (I_{st}):

$$c_A = c_{st}\frac{I_A}{I_{st}}. \qquad (3.47)$$

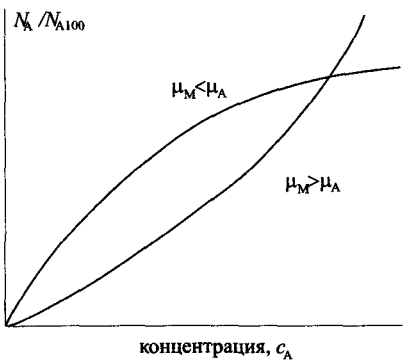


Рис. 3.47. Зависимости относительной скорости счета от концентрации определяемого элемента при различных соотношениях массовых коэффициентов ослабления

Подобным образом можно использовать и метод внутреннего стандарта (см. раздел 1.3).

Матричные эффекты можно уменьшить и с помощью специальной *пробоподготовки*. Например, пробу можно сильно разбавить слабо поглощающим материалом — сахарозой или целлюлозой. В этом случае матричные влияния становятся пренебрежимо малыми. Подобный «эффект разбавления» наблюдается сам по себе при анализе серии образцов с одинаковой матрицей и малыми (10^{-4}–10^{-1} %) содержаниями определяемого элемента. В этом случае массовые коэффициенты ослабления для всех образцов одинаковые, а градуировочная зависимость — линейна. Иногда для обеспечения постоянства коэффициента ослабления, наоборот, разбавляют пробу сильно поглощающим материалом.

Наконец, возможна коррекция матричных эффектов и *расчетным путем* — с использованием теоретических представлений о взаимодействии вещества с рентгеновским излучением или эмпирических математических процедур.

Для *теоретической* («физической») коррекции применяют ту или иную физическую модель взаимодействия излучения с веществом, включающую ряд *фундаментальных параметров*: массовые коэффициенты ослабления, выход флуоресценции, угол облучения поверхности образца, положения краев поглощения и т. д. С помощью такой модели можно затем теоретически рассчитать концентрации компонентов по величинам интенсивности излучения. Коррекция с использованием фундаментальных параметров особенно целесообразна в применении к способу регистрации с энергетической дисперсией.

Эмпирический («математический») подход основан на общих принципах анализа многокомпонентных систем (раздел 6.3). В этом случае создают формальную математическую модель, описывающую зависимость интенсивности линий от концентрации в виде линейной, квадратичной или иной (обычно полиномиальной) функции. Она включает также члены, описывающие взаимные влияния элементов. Можно применить и так называемую обратную градуировку — за-

Рентгеновские

СПЕКТРОН

Спектрометры серии

СПЕКТРОСКАН

- анализаторы элементного состава вещества

Достоинства

- Анализируются любые вещества: твердые, жидкие, порошки, осажденные на фильтры пленки.
- Содержания всех необходимых элементов определяются из одной пробы.
- Высокая чувствительность: нижний предел обнаружения от 0,0001% (1 ppm).
- Волнодисперсионный (WDX) способ выделения аналитических линий элементов обеспечивает наилучшую разрешающую способность (FeKα 45 eV, SiKα 9 eV).
- Разработанные и аттестованные Госстандартом методики обеспечивают процедуру и результаты измерений, соответствующие ГОСТам, стандартам ASTM, ISO.
- Программное обеспечение в среде Windows позволяет проводить качественный, количественный анализ, а также безэталонный анализ методом фундаментальных параметров.
- Освобожден от регистрации в органах санэпиднадзора как источник ионизирующего излучения.
- Не требует специального помещения.
- Прибор не требует подключения к внешним системам охлаждения и газовым баллонам.

Спектрометры предназначены для определения элементного состава любых веществ. На приборах определяются содержания всех элементов от ^{11}Na до ^{92}U в сплавах, нефти и нефтепродуктах, горных породах, рудах, минеральных маслах, воде, технологических продуктах, отходах производства и т.п.



РФ, 190103, С-Петербург, а/я 214, НПО Спектрон
тел. (812) 325-8183, Факс (812) 325-8503
www.spectron.ru, e-mail: to@spectron.ru

висимость концентрации от интенсивности. Необходимые расчетные процедуры часто включают в состав программного обеспечения приборов. Производители оборудования могут поставлять также и *наборы стандартных образцов* для градуировки.

Практическое применение

Традиционно рентгенофлуоресцентным методом определяют главные компоненты — при анализе материалов металлургической, строительной, стекольной, керамической, топливной промышленности, в геологии. В последнее время наблюдается расширение сферы применения метода за счет использования его для анализа объектов окружающей среды, в медицине и научно-исследовательских целях.

Методом РФА принципиально возможно определять 83 элемента, от фтора ($Z = 9$) до урана ($Z = 92$). Определение легких элементов, однако, вызывает трудности, поскольку для элементов с малыми порядковыми номерами *выход флуоресценции* (отношение вероятностей испускания рентгеновского кванта и оже-электрона) невелик (рис. 3.48). Кроме того, излучение легких элементов лежит в длинноволновой области. Такое излучение характеризуется малой *проникающей способностью* (лишь около 1 мкм), поэтому регистрируемая *интенсивность излучения* мала. В силу этих причин даже натрий ($Z = 11$) можно определять лишь на некоторых типах приборов.

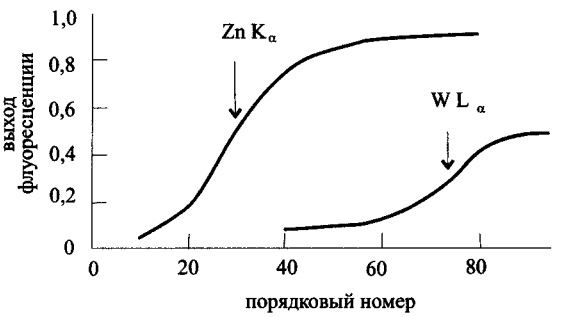


Рис. 3.48. Зависимость выхода рентгеновской флуоресценции от порядкового номера элемента для двух длин волн возбуждающего излучения.

Методом РФА анализируют главным образом твердые образцы — порошкообразные, стеклообразные, металлические. *Порошки* должны иметь размер зерен менее 30 мкм для того, чтобы эффекты, связанные с рассеянием излучения, были воспроизводимыми. Образцы предварительно прессуют в таблетки без наполнителя или в смеси с целлюлозой, графитом либо поливиниловым спиртом. Для гомогенизации пробы можно использовать и *метод плавления*. В этом случае образец сплавляют с боратом натрия или лития в однородную стеклообразную массу. Этот способ пробоподготовки первоначально применяли при рентгенофлуоресцентном анализе продуктов стекольного производства. *Металлические образцы* анализируют непосредственно.

Важная особенность РФА состоит в том, что это *неразрушающий* метод анализа. Он исключительно удобен для анализа приповерхностного слоя материалов и произведений искусства. В последнем случае метод РФА часто оказывается

просто незаменимым благодаря наличию портативных спектрометров с радиоактивными источниками излучения и детекторов с энергетической дисперсией. Такие приборы можно легко доставить непосредственно к анализируемому объекту.

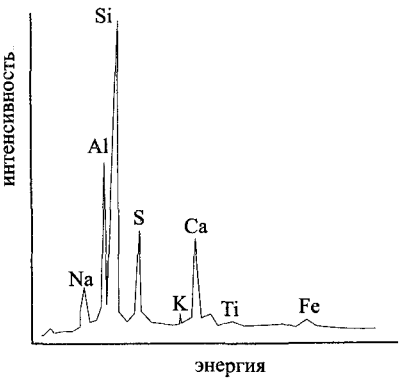


Рис. 3.49. Рентгенофлуоресцентный спектр слоя краски на картине Рафаэля «Мадонна на лугу», зарегистрированный с помощью спектрометра с энергетической дисперсией.

В качестве примера использования РФА для исследования произведений искусства на рис. 3.49 приведен спектр слоя голубой краски с картины Рафаэля «Мадонна на лугу». На основании этого спектра был проидентифицирован пигмент краски, которой написана накидка мадонны. Знание этого состава было необходимо для проведения реставрационных работ. Предполагалось, что красящим веществом мог быть либо азурит ($2CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$), либо ультрамарин ($Na_{8-10}Al_6Si_6O_{24}S_{2-4}$). По спектральным данным установлено, что красящим веществом является ультрамарин.

Наряду с главными компонентами, метод РФА позволяет определять и сопутствующие, а также — после концентрирования — следовые компоненты. Однако для определения следов лучше использовать не традиционный, а один из современных вариантов РФА с энергетической дисперсией, называемый РФА *с полным отражением*. В традиционном варианте углы между поверхностью образца и падающим (а также испускаемым) излучением составляют порядка 45° (рис. 3.45). В варианте с полным отражением эти углы должны быть настолько малы (порядка 0,1°), чтобы обеспечить полное отражение луча (см. раздел 3.1, уравнение (3.3)) на границе сред (рис. 3.50).

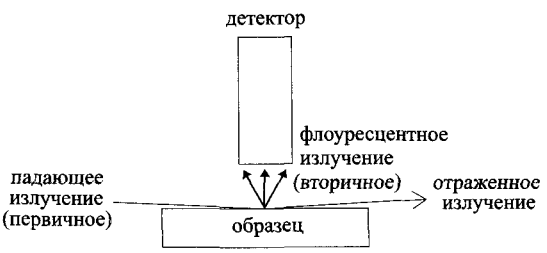


Рис. 3.50. РФА с энергетической дисперсией и полным отражением.

При использовании полного отражения пределы обнаружения составляют порядка нескольких частей на миллион и даже миллиард. Помехи за счет вторичного поглощения и возбуждения пренебрежимо малы. Это связано с тем, что в данном варианте, в отличие от традиционного, анализируют тончайший слой образца (несколько мкм), нанесенного в виде пленки на подложку (искусственный кварц). В этом случае построение градуировочной зависимости не вызывает проблем, а одна и та же зависимость может быть использована для анализа образцов с разными матрицами.

Рентгенодифракционные методы

В основе рентгенодифракционных методов лежит тот факт, что дифракционная картина, получаемая в результате рассеяния рентгеновского излучения, характеристична для определенного типа кристаллических структур или индивидуальных кристаллических веществ.

Среди методов рентгеновской дифракции следует в первую очередь упомянуть метод *рентгеноструктурного анализа* (РСА) *монокристаллов*. Объектом исследования здесь является монокристалл, а результатом — картина пространственного расположения составляющих его атомов. С его помощью можно исследовать структуру не только простых соединений, но и весьма сложных таких, как стероиды, витамины, антибиотики.

Методами рентгеновской дифракции можно изучать и порошкообразные твердые вещества. *Порошковая рентгенография* дает информацию о природе отдельных кристаллических фаз, содержащихся в образце. В отличие от рассмотренных ранее методов, она позволяет определять не только элементный, но и вещественный состав образца.

Картина рентгеновской дифракции каждого кристаллического вещества уникальна и представляет собой как бы «отпечатки пальцев». Образец перед анализом методом порошковой рентгенографии измельчают. Полученный порошок представляет собой множество мельчайших кристаллов, ориентированных во всех направлениях. При облучении порошка рентгеновскими лучами можно ожидать, что найдется достаточно частиц, для которых в соответствии с их ориентацией и, следовательно, величиной межплоскостного расстояния соблюдается условие дифракционного максимума (уравнение Брэгга, формула (3.44)).

Для получения дифракционной картины образец облучают монохроматическим излучением, например, линии K_α меди или молибдена. Классическим устройством для регистрации порошковых рентгенограмм служит порошковая камера Дебая–Шерера (рис. 3.51). Для идентификации веществ используют положения линий дифракционных максимумов, (выраженные в виде значений углов дифракции θ или 2θ), а также относительные интенсивности линий. Значение угла дифракции определяется тем или иным межплоскостным расстоянием кристалла d, которое может быть рассчитано из уравнения Брэгга (3.45) по известной длине волны и величине θ. Полученный набор значений d используют для идентификации кристаллической фазы, сопоставляя его с имеющимися данными (например, базой данных ASTM).

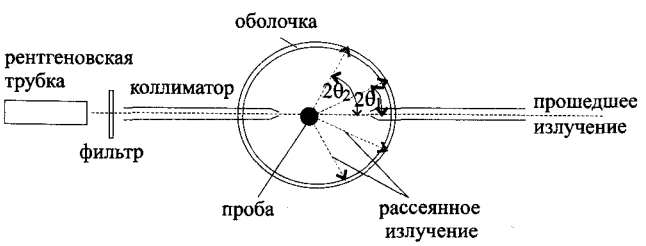


Рис. 3.51. Получение дифракционной рентгенограммы с помощью порошковой камеры.

Метод порошковой рентгенографии широко применяют для идентификации кристаллических фаз в минералогии, а также при исследовании твердофазных химических реакций.

3.3. Методы оптической молекулярной спектроскопии

В предыдущих разделах данной главы мы познакомились с методами атомной спектроскопии, главное предназначение которых — определение элементного состава образца. Теперь мы рассмотрим методы молекулярной спектроскопии в оптическом диапазоне. С их помощью можно решать разнообразные задачи — от исследования химической структуры молекул до анализа сложных многокомпонентных смесей.

3.3.1. Инфракрасная спектроскопия и спектроскопия комбинационного рассеяния: молекула начинает колебаться

В результате взаимодействия потока излучения с веществом исходная интенсивность потока (I_0) уменьшается вследствие процессов поглощения (на величину I_A), отражения (I_R) и рассеяния (I_S). Связь между этими величинами и интенсивностью потока I, прошедшего через вещество, выражается следующим соотношением:

$$I_0 = I + I_A + I_R + I_S. \tag{3.48}$$

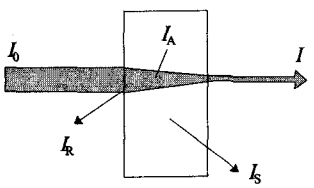


Рис. 3.52. Возможные процессы, протекающие при прохождения потока излучения через образец.

Отражение и рассеяние происходят с участием макроскопических частиц. Эти явления не представляют интереса для методов молекулярной спектроскопии и должны отсутствовать либо быть скомпенсированы путем выбора соответствующей схемы измерения.

В данном разделе рассматриваются методы, основанные на взаимодействии вещества с излучением ИК-области спектра. Они являются *абсорбционными*, основанными на явлении поглощения излучения. Эмиссионные методы в этой области спектра обычно не используют ввиду трудностей получения и регистрации спектров испускания.

В ИК-области для характеристики энергии фотонов, помимо приведенных ранее, часто используют еще одну величину, называемую волновым числом:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}. \tag{3.49}$$

Ее размерность — $см^{-1}$. Волновое число представляет собой число длин волн, укладывающихся на отрезке 1 см.

Вращательные спектры

Вращательная спектроскопия изучает процессы периодического изменения ориентации дипольных моментов молекулы (рис. 3.53). Этим методом можно исследовать лишь молекулы, обладающие постоянным дипольным моментом, например, HCl. Неполярные молекулы такие, как H_2, методом вращательной спектроскопии исследовать нельзя.

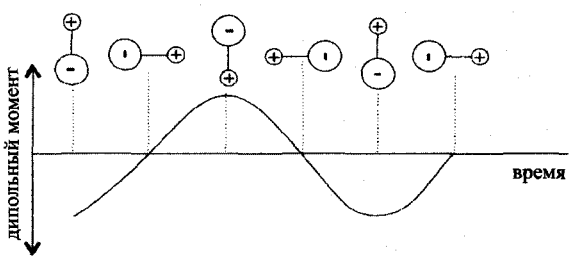


Рис. 3.53. Вращение молекулы, обладающей постоянным дипольным моментом.

Для возбуждения вращения молекулы требуется энергия, приблизительно в тысячу раз меньшая, чем для возбуждения колебаний. В свою очередь, для возбуждения колебаний также требуется лишь тысячная доля энергии, необходимой для возбуждения высших энергетических состояний валентных электронов.

Модель жесткого волчка

Для описания вращательных переходов в молекуле мы рассмотрим сначала модель жесткого волчка.

Пусть двухатомная молекула состоит из атомов с массами m_1 и m_2, расстояние между которыми r_0 фиксировано. Расстояния соответствующих атомов от центра масс молекулы S обозначим как r_1 и r_2 (рис. 3.54).

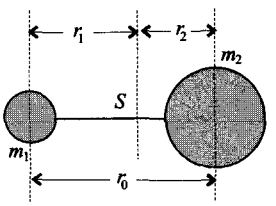


Рис. 3.54. Модель гантелеобразной двухатомной молекулы.

Момент инерции I такой молекулы равен

$$I = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} r_0^2 = \mu r_0^2. \qquad (3.50)$$

где символом μ обозначена так называемая приведенная масса.

Вращательные переходы, как и другие изменения внутренней энергии микрочастиц, квантуются. Возможные значения энергии вращательных состояний связаны с моментом инерции и *вращательным квантовым числом* J следующим образом:

$$E_{вр} = \frac{h^2}{8\pi^2 I} J(J+1), \qquad (3.51)$$

Эту энергию можно охарактеризовать при помощи *вращательного терма* $F(J)$ — величины, имеющей размерность $см^{-1}$ и равной энергии вращательного состояния, деленной на $h \cdot c$:

$$F(J) = \frac{E_{вр}}{hc} = \frac{h}{8\pi^2 cI} J(J+1), \qquad (3.52)$$

где $c = 2,99 \cdot 10^{10}$ см/с.

Коэффициент, стоящий в формуле (3.52) перед квантовым числом, называется *вращательной постоянной* и обозначается B. Он имеет размерность кг·м^2 и зависит от момента инерции молекулы следующим образом:

$$B = \frac{h}{8\pi^2 cI} = \frac{27,986 \cdot 10^{-47}}{I} [см^{-1}]. \qquad (3.53)$$

В табл. 3.11 приведены значения вращательных постоянных для некоторых молекул. Из них можно рассчитать соответствующие вращательные термы по формуле

$$F(J) = BJ(J+1). \tag{3.54}$$

Таблица 3.11. Вращательные постоянные некоторых молекул.

Молекула	B ($см^{-1}$)
HF	20,91
HCl	10,594
HBr	8,474
CO	4,23

Для вращательных переходов существует *правило отбора*: $\Delta J = \pm 1$. С учетом этого правила и формулы (3.54) приходим к выводу, что вращательный спектр состоит из набора линий, отстоящих друг от друга на равные промежутки $2B$. Волновое число каждой такой линии (рис. 3.55) равно

$$\bar{\nu}_{вр} = 2B(J+1). \tag{3.55}$$

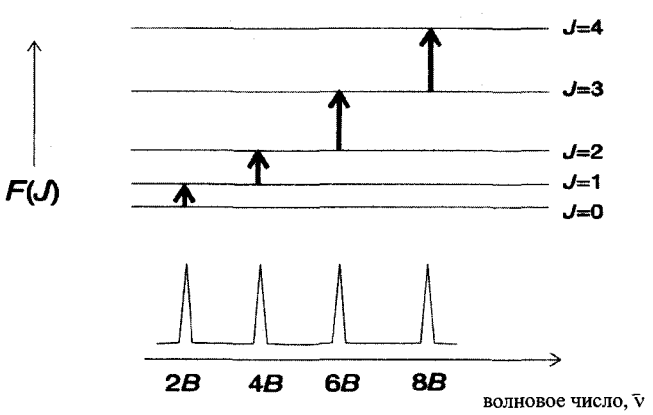


Рис. 3.55. Схема вращательных термов и вращательный спектр для модели жесткого волчка.

Однако экспериментальные спектры значительно отличаются от теоретических, рассчитанных для модели жесткого волчка. Основные отличия и их причины состоят в следующем.

- В экспериментальном спектре *расстояния между соседними линиями* закономерно уменьшаются с увеличением волнового числа. Это свидетельствует о несовершенстве модели жесткого волчка. С увеличением скорости вращения молекулы (т. е. с увеличением J) увеличиваются и центробежные силы, вызывающие увеличение межатомного расстояния r.

- Экспериментально наблюдаемые *интенсивности* спектральных линий проходят через максимум. Это связано с различиями в заселенностях соответствующих уровней энергии и их различными статистическими весами.

- При исследовании молекул, состоящих из смеси изотопов (элементов с *нецелочисленными атомными массами*), например, ^{35}Cl и ^{37}Cl — наблюдается расщепление спектральных линий.

Для малых молекул таких, как HCl или NH_3 — энергии, необходимые для возбуждения вращательных переходов, находятся в ИК-области спектра. Для молекул большего размера, обладающих более высокими значениями момента инерции, эти энергии находятся в микроволновой области. *Микроволновой спектрометр* состоит из источника микроволнового излучения (клистрона), испускающего монохроматическое излучение в определенном диапазоне, камеры для пробы и кремниевого или германиевого детектора — приемника излучения. Исследуемые газообразные образцы должны находиться при пониженном давлении 0,1–10 Па для предотвращения межмолекулярных взаимодействий.

Колебательные спектры

Двухатомные молекулы

Рассмотрение колебаний молекулы начнем с модели двухатомной молекулы, называемой моделью *гармонического осциллятора* (рис. 3.54). При возбуждении колебания такой молекулы межатомное расстояние изменяется на величину Δr. При этом возникает сила упругости F, связанная с Δr следующим соотношением классической механики:

$$F = -k\Delta r, \tag{3.56}$$

где k — силовая постоянная.

Согласно второму закону Ньютона, зависимость F от Δr и времени t описывается следующим образом:

$$F = \mu \frac{\mathrm{d}^2(\Delta r)}{\mathrm{d}r^2}, \tag{3.57}$$

где символом μ снова обозначена приведенная масса молекулы. Решение этого дифференциального уравнения имеет вид

$$\Delta r = a \cdot \cos 2\pi\nu_{кол}t, \tag{3.58}$$

где a — некоторая константа. После подстановки соотношений (3.56) и (3.58) в уравнение (3.57) и дифференцирования получаем следующее выражение для частоты колебаний гармонического осциллятора:

$$\nu_{кол} = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{k}{\mu}} \qquad [\mathrm{c}^{-1}] \tag{3.59}$$

или

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{k}{\mu}} \qquad [\mathrm{см}^{-1}]. \tag{3.60}$$

Значения частот колебаний $\nu_{кол}$ и соответствующих волновых чисел (формула) можно определить экспериментально. Из этих значений и известных масс атомов по уравнению (3.60) можно рассчитать *силовые постоянные* связей в различных молекулах. Они являются мерой прочности химической связи.

Потенциальная энергия колебаний

$$E_{\text{пот}} = \frac{1}{2}k(\Delta r)^2 \tag{3.61}$$

возрастает с ростом Δr. В точке равновесия она равна нулю. Уравнение (3.61) описывает параболу с вершиной, соответствующей равновесному расстоянию между атомами r_0 (рис. 3.56). Частота колебаний при этом *не зависит* от величины Δr.

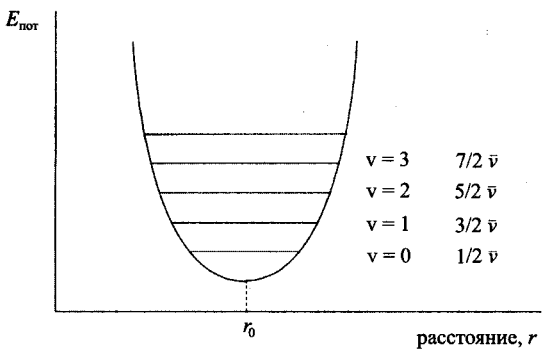


Рис. 3.56. Потенциальная кривая для гармонического осциллятора.

Как и вращательная, колебательная энергия молекул также квантуется. Возможные значения энергии дает решение уравнения Шредингера:

$$E_v = (v + \frac{1}{2})h\nu_{\text{кол}}, \tag{3.62}$$

где колебательное квантовое число v может принимать значения $0, 1, 2, 3, \ldots$ Из уравнения (3.62) следует, что колебания молекул происходят всегда: даже при $v = 0$ колебательная энергия не равна нулю и составляет $h\nu_{\text{кол}}/2$. Этот вывод находится в полном соответствии с соотношением неопределенностей Гейзенберга.

Термы колебательных состояний (ср. с уравнением (3.56)) представляют собой набор равноотстоящих значений:

$$G(v) = \frac{E_\nu}{hc} = (v + \frac{1}{2})\bar{\nu}. \tag{3.63}$$

Для колебательных переходов правило отбора состоит в том, что $\Delta v = \pm 1$. Например, для перехода с изменением v от 0 до 1

$$\Delta G = \left(1 + \frac{1}{2}\right)\bar{\nu} - \left(0 + \frac{1}{2}\right)\bar{\nu} = \bar{\nu}. \tag{3.64}$$

Это же значение ΔG получится и для всех других разрешенных переходов. Таким образом, для гармонического осциллятора все линии для данного типа колебаний сливаются в одну.

В действительности же для определенного типа колебаний наблюдается несколько спектральных линий. Причина состоит в том, что поведение молекулы описывается моделью гармонического осциллятора лишь приближенно. С одной стороны, в ходе колебаний атомы не могут сближаться беспредельно: с уменьшением межатомного расстояния резко возрастают силы отталкивания. С другой

стороны, межатомные расстояния не могут и беспредельно увеличиваться, поскольку в какой-то момент молекула распадается.

Таким образом, реальная зависимость энергии связи от межатомного расстояния (потенциальная кривая) не совпадает с таковой для гармонического осциллятора (рис. 3.56). Любая молекула представляет собой *ангармонический осциллятор*, потенциальная кривая которого имеет вид, изображенный на рис. 3.57.

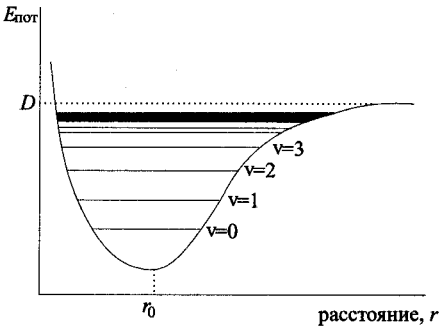


Рис. 3.57. Потенциальная кривая для ангармонического осциллятора. D — энергия диссоциации.

Математически строгое описание ангармонического осциллятора достаточно сложно. С ростом квантового числа уровни энергии ангармонического осциллятора сближаются. Их положения ограничены энергией диссоциации. В уравнение, описывающее ангармонический осциллятор, входят энергия диссоциации и так называемая константа ангармоничности. Для ангармонического осциллятора, в отличие от гармонического, разрешены и переходы с $\Delta v = \pm 2, \pm 3, \ldots$ В результате, например, для молекулы HCl в колебательном спектре наряду с основной частотой наблюдается ряд обертонов.

Основная частота: $\nu_0 \rightarrow \nu_1$; $\bar{\nu}_1$=2890 см$^{-1}$.
Первый обертон: $v_0 \rightarrow v_2$; $\bar{\nu}_2$=5668 см$^{-1}$.
Второй обертон: $v_0 \rightarrow v_3$; $\bar{\nu}_3$=8347 см$^{-1}$.

Колебательно-вращательные спектры

В соответствии с приближением Борна-Оппенгеймера энергетические термы колебательных и вращательных состояний суммируются, давая общий колебательно-вращательный терм:

$$S(v, J) = G(v) + F(J). \tag{3.65}$$

Следует иметь в виду, что это простое приближение строго справедливо лишь применительно к моделям жесткого волчка и гармонического осциллятора. Подставляя в уравнение (3.65) значения соответствующих термов, выраженные через соответствующие квантовые числа (вращательное J и колебательное v), получаем:

$$S(v, J) = (v + \frac{1}{2})\bar{\nu} + BJ(J+1). \tag{3.66}$$

На рис. 3.58 показаны возможные колебательно-вращательные переходы между двумя колебательными уровнями двухатомной молекулы. Колебательно-вращательные спектры состоят из P-, Q- и R-серий (ветвей). Для линий, входящих в эти серии, справедливы следующие правила отбора.

P-ветвь: $\Delta v = \pm 1$, $\Delta J = -1$.
Q-ветвь: $\Delta v = \pm 1$, $\Delta J = 0$.
R-ветвь: $\Delta v = \pm 1$, $\Delta J = +1$.

Для двухатомных молекул переходы, принадлежащие Q-ветви, запрещены, поэтому на рис. 3.58 соответствующий переход показан пунктиром. Волновые числа линий, соответствующих R-ветви, больше, чем для P-ветви. Для многоатомной молекулы связь между волновыми числами произвольного колебательно-вращательного перехода и основного колебания в общем случае выражается следующим образом:

$$\bar{\nu}_{J,\nu} = \bar{\nu}_{осн} \pm 2B(J+1). \qquad (3.67)$$

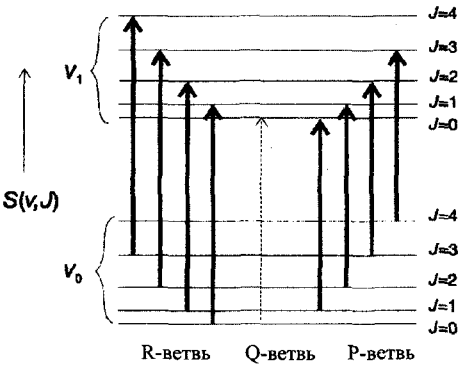


Рис. 3.58. Схема колебательно-вращательных термов двухатомной молекулы.

В качестве примера на рис. 3.59 приведен колебательно-вращательный спектр газообразного хлористого водорода. Ввиду наличия в молекулах HCl изотопов ^{35}Cl и ^{37}Cl линии удваиваются. Волновое число произвольной линии равно

$$\bar{\nu} = G(v+1) - G(v) \pm [F(J+1) - F(J)]. \qquad (3.68)$$

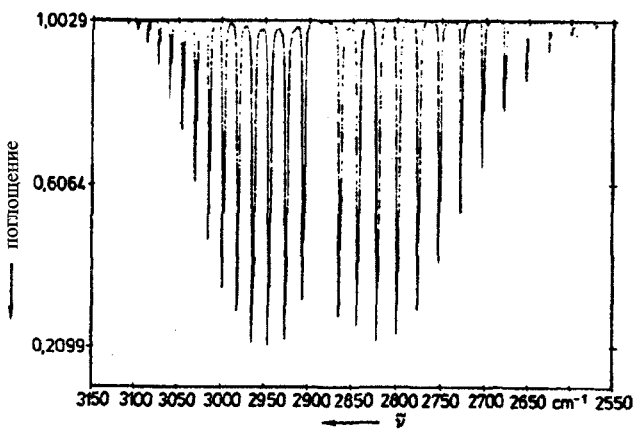


Рис. 3.59. Колебательно-вращательный спектр газообразного хлористого водорода (согласно Наумеру и Хеллеру).

При этом знак плюс относится к R-ветви, а минус — к P-ветви. Отдельные вращательные линии можно наблюдать только для газообразных веществ. В конденсированном состоянии они сливаются в одну широкую полосу.

Эффект комбинационного рассеяния

Эффект комбинационного рассеяния (рамановский эффект) относится к явлениям рассеяния света. Рассеяние света на макроскопических частицах называется эффектом Тиндаля, а на отдельных молекулах — эффектом Релея. При облучении светом молекулы образца рассеивают приблизительно 1/1000 энергии падающего излучения. При этом рассеяние происходит главным образом без изменения длины волны света. Однако в 1/1000 случаев рассеяние происходит с изменением длины волны.

Явление изменения длины волны света при рассеянии называется комбинационным, или рамановским, рассеянием (КР). Для наблюдения этого явления непригодны ИК-спектрометры, которые позволяют регистрировать поглощение ИК-излучения при облучении образца полихроматичным световым потоком. В спектроскопии комбинационного рассеяния используют монохроматичные световые потоки с длиной волны, *не поглощаемой* образцом. Обычно для этой цели применяют *лазеры*, излучающие в видимом диапазоне.

При облучении молекулы монохроматичным световым потоком ее электронная оболочка начинает совершать вынужденные колебания под действием периодически изменяющегося электромагнитного поля. Подвижные электроны перемещаются относительно положительно заряженного атомного остова. При этом индуцируется наведенный дипольный момент μ_{ind}, являющийся как бы микроскопической антенной молекулярных размеров. Величина μ_{ind} пропорциональна поляризуемости молекулы α и напряженности электрической составляющей электромагнитного излучения E_0:

$$\mu_{\text{ind}} = \alpha E_0. \tag{3.69}$$

Условием проявления эффекта комбинационного рассеяния является изменение поляризуемости молекулы в ходе колебаний:

$$\frac{\partial \alpha}{\partial(\Delta r)} \neq 0. \tag{3.70}$$

Если молекула имеет центр симметрии, для нее справедливо правило *альтернативного запрета*: колебание может проявиться или в ИК-спектре, или в спектре комбинационного рассеяния.

В спектрах комбинационного рассеяния всегда наблюдается полоса с волновым числом света источника излучения $\bar{\nu}_0$. Она обусловлена эффектом релеевского рассеяния (рис. 3.60). Кроме того, наблюдаются полосы с волновыми числами $\bar{\nu}_{ram} = \bar{\nu}_0 \pm \bar{\nu}_{vib}$, где $\bar{\nu}_{vib}$ — волновое число колебательной полосы. Полосы, смещенные в низкочастотную область $(\bar{\nu}_0 - \bar{\nu}_{vib})$, называются *стоксовыми*, а в высокочастотную $(\bar{\nu}_0 + \bar{\nu}_{vib})$ — *антистоксовыми*.

Стоксовы полосы возникают вследствие того, что некоторая часть излучения при взаимодействии с молекулами возбуждает их колебания. При этом часть энергии излучения расходуется. Поэтому стоксовы полосы характеризуются более низкими частотами и, соответственно, более высокими значениями длин волн. *Антистоксовы полосы* возникают при взаимодействии излучения с молекулами, находящимися в возбужденном колебательном состоянии. Кванты падающего света принимают колебательную энергию молекул, и полосы смещаются в более высокочастотную область. Поскольку это явление возможно только при взаимодействии с возбужденными молекулами, доля которых при комнатной температуре мала (основная часть молекул находится в невозбужденном состоянии), то соответствующие процессы происходят весьма редко, а интенсивность антистоксовых полос значительно ниже, чем стоксовых (рис. 3.60).

Комбинационное рассеяние и поляризация света

Полосы комбинационного рассеяния можно охарактеризовать не только частотой и интенсивностью, но и *степенью деполяризации* излучения. Явление депо-

ляризации наблюдается в случае, если облучать образец поляризованным светом. Если молекулы образца обладают *изотропной*, т. е. одинаковой по всем направлениям, поляризацией, то рассеянный свет останется полностью поляризованным. В случае *анизотропной*, неодинаковой вдоль различных направлений, поляризуемости, рассеянный свет окажется частично деполяризованным.

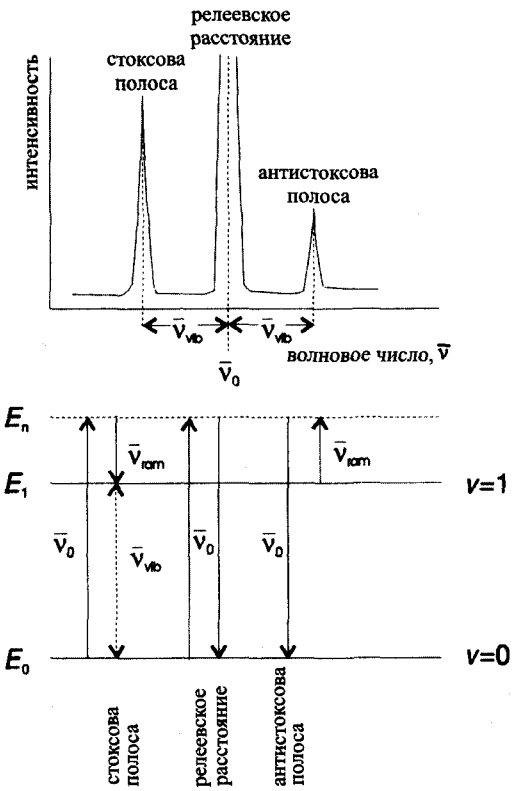


Рис. 3.60. Полосы спектра комбинационного рассеяния и соответствующие энергетические переходы.

Для регистрации деполяризации света используют поляризационные светофильтры. Сначала светофильтр устанавливают таким образом, чтобы интенсивность света, рассеянного в определенном направлении, была максимальной. Эта интенсивность ($I_{||}$) представляет собой интенсивность поляризованной составляющей света. Затем светофильтр поворачивают на 90° и измеряют интенсивность деполяризованной составляющей ($I_{\perp}$). Степень деполяризации ρ равна

$$\rho = I_{\perp}/I_{||}. \tag{3.71}$$

В общем случае справедливы следующие соотношения:

полностью поляризованный свет $I_{\perp} = 0$ и $\rho = 0_{|}$,
полностью деполяризованный свет $I_{\perp} = I_{||}$ и $\rho = 1$,
частично поляризованный свет $0 < \rho < 1$.

Некоторые общие утверждения относительно спектроскопии комбинационного рассеяния в поляризованном свете сводятся к следующему.

- Рассеянное рамановское излучение всегда поляризовано.
- Для полносимметричных колебаний оптически изотропных молекул $\rho = 0$.
- Для симметричных колебаний оптически анизотропных молекул $0 \leq \rho \leq 3/4$.
- Для несимметричных колебаний $\rho = 3/4$. Такие полосы комбинационного рассеяния называются деполяризованными.

Колебания многоатомных молекул

Всевозможные изменения положения молекул в трехмерном пространстве сводятся к *поступательному, вращательному* и *колебательному* движению.

Молекула, состоящая из N атомов, имеет всего $3N$ степеней свободы движения. Эти степени свободы распределяются между видами движения по-разному в зависимости от того, является молекула линейной или нет. Для молекул обоих типов существуют по 3 поступательных степени свободы, а число вращательных степеней свободы для нелинейных молекул равно 3, а для линейных — 2. Таким образом, на долю колебательных степеней свободы (рис. 3.61) приходятся:

$$3N - 5 \text{ степеней свободы для линейных молекул,} \tag{3.72}$$

$$3N - 6 \text{ степеней свободы для нелинейных молекул.} \tag{3.73}$$

Основные типы колебаний молекулы называются *нормальными колебаниями*. На рис. 3.61 показаны нормальные колебания трехатомных молекул. Более строго, нормальными колебаниями называются такие колебания, которые происходят независимо друг от друга. Это означает, что при возбуждении нормального колебания не происходит никакой передачи энергии для возбуждения других колебаний. Нормальные колебания являются симметричными: в этом случае все атомы колеблются в одной фазе и с одинаковой частотой. Несимметричные движения атомов приводят к более сложным колебаниям. Каждое колебание может быть представлено как линейная комбинация некоторых нормальных колебаний.

С точки зрения формы колебаний различают:

- *валентные колебания* (обозначаемые как ν), которые происходят в направлении химических связей и при которых изменяются межатомные расстояния;
- *деформационные колебания* (δ), при которых изменяются валентные углы, а межатомные расстояния остаются постоянными.

Для молекул H_2O и CO_2 различные нормальные колебания приведены в табл. 3.12. Молекула CO_2 имеет два валентных и два деформационных колебания. Деформационные колебания CO_2 являются двукратно вырожденными, то есть обладают одной и той же энергией и наблюдаются в спектре при одном и том же значении волнового числа ($\bar{\nu}_3 = \bar{\nu}_4$).

Все колебания, в процессе которых дипольный момент не изменяется, в ИК-спектрах не проявляются. В КР-спектрах проявляются колебания, связанные с изменением поляризуемости молекулы (уравнение (3.70)). Как видно из табл. 3.12, колебания могут быть вырожденными. Вырождение колебаний может произойти

и случайно, например, если бы какой-нибудь обертон симметричного валентного колебания молекулы CO_2 (основное волновое число — 1330 $см^{-1}$) случайно совпал по частоте с каким-либо другим колебанием. В подобных случаях наблюдается единое резонансное колебание с передачей части энергии от одного колебания другому. При этом в спектрах комбинационного рассеяния может наблюдаться расщепление полос.

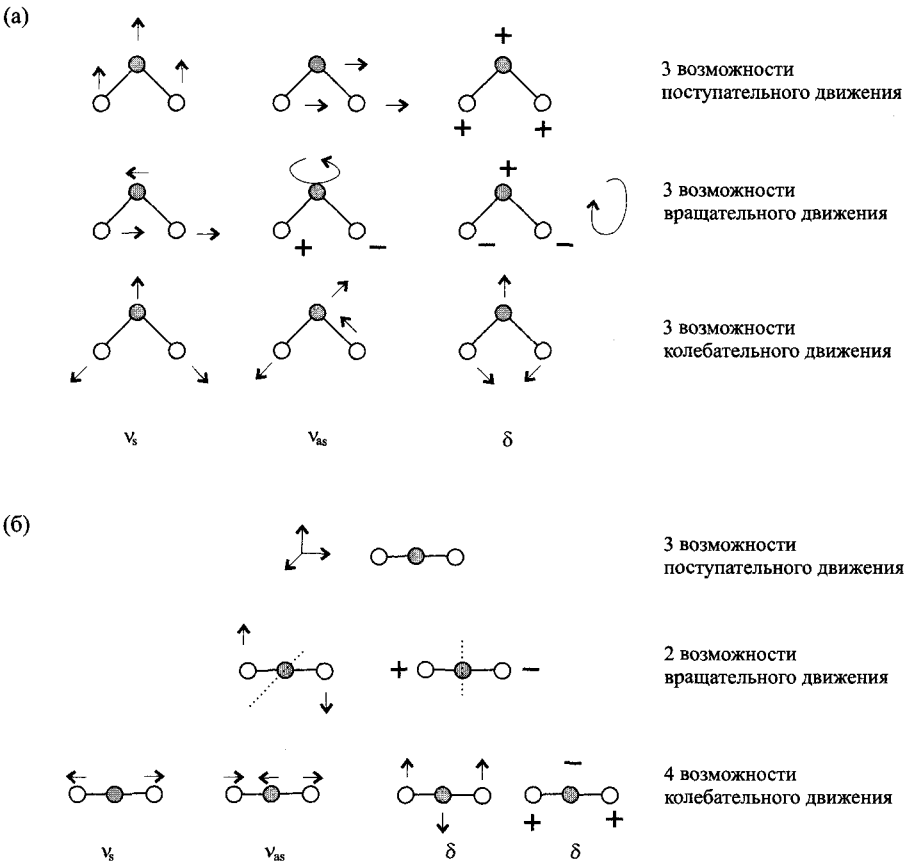


Рис. 3.61. Различные возможности движения трехатомных молекул. (а) Молекула H_2O (нелинейная). (б) Молекула CO_2 (линейная). Символами + и − обозначены движения в направлении, перпендикулярном плоскости рисунка.

При поглощении инфракрасного излучения возбуждаются только те колебания, которые связаны с изменением дипольного момента молекулы:

$$\frac{\partial \mu}{\partial(\Delta r)} \neq 0 \tag{3.74}$$

В экспериментально полученных колебательных спектрах число полос часто не совпадает с теоретическим. Как правило, в экспериментальных спектрах полос меньше ввиду того, что не все возможные колебания возбуждаются, а некоторые из них являются вырожденными. Экспериментальный спектр может быть и

более богат полосами по сравнению с теоретическим ввиду наличия обертонов и сложных колебаний. Частоты сложных колебаний равны линейным комбинациям частот различных валентных и деформационных колебаний. Такие дополнительные полосы требуют специальной интерпретации.

Таблица 3.12. Нормальные колебания молекул H_2O и CO_2.

Колебание	Волновое число	Проявляется в спектрах	
		ИК	КР
CO_2			
ν_s	$\bar{\nu}_1 = 1330\text{см}^{-1}$	–	+
ν_{as}	$\bar{\nu}_2 = 2344\text{см}^{-1}$	+	–
δ	$\bar{\nu}_3 = \bar{\nu}_4 = 667\text{см}^{-1}$	+	–
δ	$\bar{\nu}_4 = \bar{\nu}_3$	+	–
H_2O			
ν_s	$\bar{\nu}_1 = 3652\text{см}^{-1}$	+	+
ν_{as}	$\bar{\nu}_2 = 3756\text{см}^{-1}$	+	+
δ	$\bar{\nu}_3 = 1595\text{см}^{-1}$	+	+

Аппаратура для колебательной спектроскопии

Принципиальная схема обычного ИК-спектрометра не отличается от общей схемы оптического спектрометра (рис. 3.4). В методах ИК-спектроскопии с фурье-преобразованием и комбинационного рассеяния света используется специальная аппаратура, подробно обсуждаемая ниже. Сначала мы рассмотрим устройство традиционного ИК-спектрометра.

Источники излучения

В качестве источников излучения в ИК-области используют раскаленные твердые тела. Для таких источников распределение интенсивности излучения по длинам волн зависит от температуры и описывается законом излучения Планка. Это распределение неравномерно и имеет четко выраженный максимум. Для ИК-спектроскопии необходимо отсечь интенсивное коротковолновое излучение в видимой области и оставить более длинноволновое и относительно менее интенсивное излучение — как правило, в области 4000-400 см^{-1} (иногда до 200 см^{-1}).

Наиболее распространенные источники ИК-излучения — *штифты Нернста*, изготовленные из оксидов иттрия и циркония, и *глобары* из карбида кремния. Их нагревают до высоких температур электрическим током. Для штифтов Нернста рабочие температуры составляют около 1900°C, для глобаров — порядка 1350°C. Менее интенсивные, но более продолжительные в эксплуатации источники изготавливают из тугоплавких сплавов (например, хрома и никеля). Их нагревают до температуры порядка 800°C.

Для дальней ИК-области (от 200 до 10 см^{-1} или, соответственно, от 50 до 1000 мкм) необходимо использовать специальные источники излучения. Чаще всего применяют *ртутные разрядные лампы высокого давления*. В ближней ИК-области (4000–12800 см^{-1}, 2500–780 нм) можно использовать обыкновенные вольфрамовые лампы накаливания (см. табл. 3.1).

Отделение для пробы

В ИК-спектроскопии пробоподготовка часто более трудоемка, чем в спектроскопии видимого диапазона (где, как правило, пробу просто растворяют в воде или другом растворителе и помещают в стеклянную кювету той или иной толщины).

Для *газообразных* проб используют специальные вакуумированные кюветы толщиной от нескольких миллиметров до многих метров. Однако значительно чаще исследуют *жидкости* или *растворы*. При этом в качестве растворителя ни вода, ни спирт, как правило, непригодны, поскольку оба эти вещества интенсивно поглощают в ИК-области, а, кроме того, воздействуют на наиболее распространенные материалы кювет для ИК-спектроскопии (галогениды щелочных металлов). Поэтому любой органический растворитель, используемый в ИК-спектроскопии, следует тщательно избавить от следов воды.

На рис. 3.62 показано устройство съемных кювет для регистрации ИК-спектров жидкостей. Жидкая проба заливается в кювету (толщину которой можно регулировать с помощью специальных прокладок) через отверстие. В качестве материала для окошек кюветы обычно используют NaCl (прозрачен в области 4000–600 $см^{-1}$), реже KCl (4000–400 $см^{-1}$). Выбор растворителя, не поглощающего ИК-излучение, представляет серьезную проблему. Области прозрачности наиболее распространенных растворителей в ИК-диапазоне показаны на рис. 3.63. Чтобы собственное поглощение растворителя было как можно меньше, используют достаточно тонкие кюветы — толщиной от 0,01 до 1 мм.

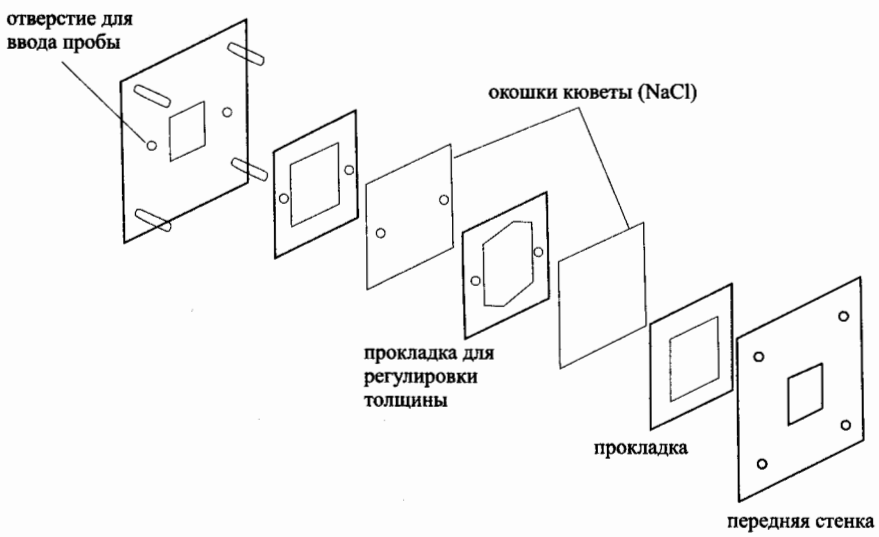


Рис. 3.62. Устройство жидкостной кюветы для ИК-спектроскопии.

Твердые образцы можно спектроскопировать непосредственно, если из материала образца можно приготовить достаточно тонкий слой. Кроме того, твердые пробы часто смешивают с KBr или нуйолом. При использовании KBr несколько миллиграммов образца тонко растирают в агатовой ступке вместе со 100 мг бромида калия, перемешивают и прессуют в прозрачную таблетку с помощью

гидравлического пресса под высоким давлением. Для спектроскопии в дальней ИК-области вместо KBr применяют полиэтилен.

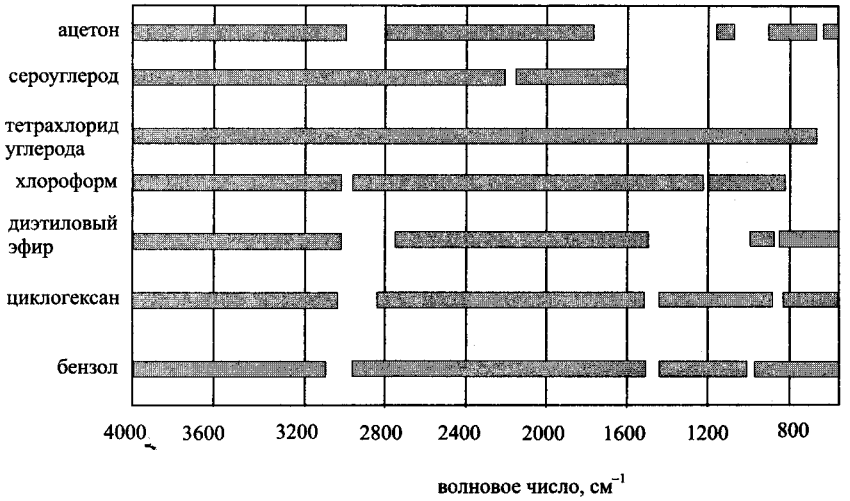


Рис. 3.63. Области прозрачности растворителей в ИК-диапазоне при толщине поглощающего слоя 0,1 мм.

Нуйол (длинноцепочечная парафиновая фракции нефти) представляет собой вязкую жидкость. Измельченную в порошок пробу смешивают с нуйолом, получая пастообразную суспензию. Ее помещают между двумя окошками кюветы. Окошки плотно прижимают друг к другу, чтобы избавиться от возможных пузырьков. Поскольку в состав нуйола входят группы $-CH_2-$ и $-CH_3$, обладающие собственным поглощением в ИК-области, определение этих структурных фрагментов в образце невозможно. Для решения этой задачи вместо нуйола применяют фторированные или хлорированные производные такие, как перфторуглерод и др. В отличие от прессования с KBr, использование нуйола позволяет исследовать образцы, чувствительные к атмосферному воздуху и влаге.

Рассмотренные способы пробоподготовки не позволяют решить ряд важных аналитических задач. К ним, например, относится исследование растворов в тех растворителях, которые сильно поглощают в ИК-области. Это, в частности, все водные растворы, в том числе биологические жидкости. Трудности также представляет исследование волокнистых материалов и различных покрытий. В последнем случае можно успешно применять специальный способ регистрации ИК-спектров, называемый ИК-спектроскопией с нарушенным полным внутренним отражением (НПВО). В этом способе используют призму из TlBr, TlI или германия и приводят ее в как можно более тесный контакт с исследуемым материалом. Выбор материала призмы связан с тем, что его показатель преломления должен быть больше, чем у материала пробы. Если пустить излучение на поверхность раздела под углом большим, чем угол полного отражения (см. рис. 3.3), то на границе раздела сред наблюдается явление полного отражения. При таком отражении электромагнитная волна немного — приблизительно на 5 мкм — проникает в толщу образца, граничащего с призмой и частично поглощается. Измеряя

интенсивности отраженного излучения при различных длинах волн, можно получить спектр поглощения материала образца. Качество спектра можно улучшить, если использовать многократное отражение (рис. 3.64).

Монохроматоры

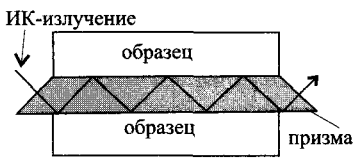


Рис. 3.64. Метод НПВО-ИК-спектроскопии для исследования непрозрачных и сильно поглощающих образцов.

В ИК-спектроскопии в качестве монохроматоров можно применять как призмы, так и дифракционные решетки. В зависимости от исследуемого спектрального диапазона применяют призмы из кварца (от 0,16 до 2,8 мкм), LiF (2–6 мкм), NaCl (2,5–15 мкм), KBr (12–25 мкм) или CsI (20–50 мкм). Однако в настоящее время преобладают решеточные монохроматоры ввиду их многих преимуществ перед призменными (более высокая и равномерная разрешающая способность, механическая и химическая устойчивость, широкий рабочий диапазон спектра).

Детекторы

В качестве детекторов (приемников) инфракрасного излучения используют термические детекторы — термопары и болометры. *Термопара* (термоэлемент) преобразует энергию ИК-излучения в тепловую, а затем электрическую. Возникающую в результате этого процесса разность потенциалов регистрируют обычным способом. *Болометр* работает по принципу термометра сопротивления. Рабочим материалом болометра является металл или сплав (платина, никель, а также полупроводниковые материалы), электрическое сопротивление которых сильно изменяется с изменением температуры.

Общей проблемой измерения интенсивности ИК-излучения является наличие значительного *теплового шума* окружающей среды при относительно небольшом полезном сигнале. Детекторы ИК-излучения следует как можно лучше изолировать от окружающей среды. Кроме того, используют модуляцию полезного сигнала с помощью прерывателя, чтобы выделить его из теплового шума.

Устройство обычного ИК-спектрометра

Как правило, ИК-спектрометр работает по двухлучевой схеме: два параллельных световых потока пропускают через кювету с анализируемым образцом и кювету сравнения. Это позволяет уменьшить погрешности, связанные с рассеянием, отражением и поглощением света материалом кюветы и растворителем. Типичная схема ИК-спектрометра с волновой дисперсией показана на рис. 3.65. Свет, испускаемый источником, делится на два потока, один из которых проходит через *измерительную кювету*, а другой — через *кювету сравнения*. Затем оба потока падают на зеркало, вращающееся с определенной частотой (порядка 5 Гц). Вращающееся зеркало разделено на четыре равных (90°) сектора, два из которых — прозрачные, а два других — отражающие. Таким образом, световые

потоки поочередно попадают на монохроматор (монохроматор, изображенный на рис. 3.65, собран по схеме Литтрова).

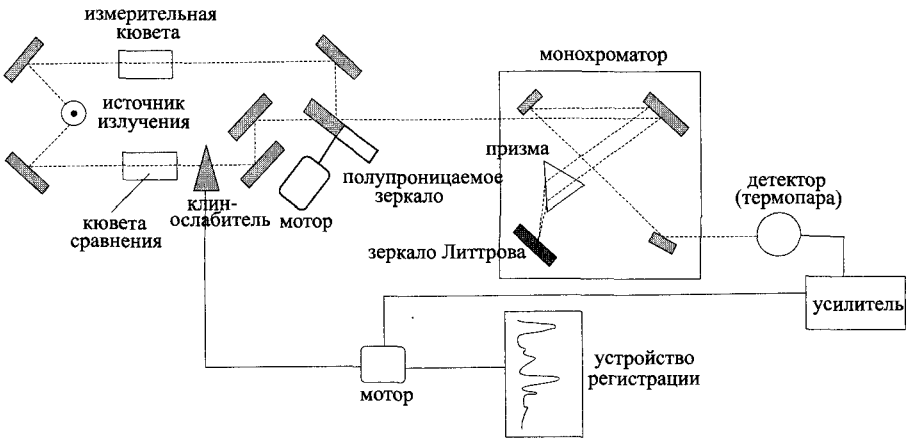


Рис. 3.65. Устройство обычного ИК-спектрометра с призменным монохроматором конструкции Литтрова.

Световой луч отражается зеркалом Литтрова и дважды проходит через призму. Затем он с помощью системы зеркал направляется на выходную щель монохроматора. Сканирование спектра осуществляется при помощи поворота зеркала Литтрова или призмы.

В качестве детектора в приборе, схематически изображенном на рис. 3.65, применяется высокочувствительная термопара. Электрическая схема усилителя собрана так, чтобы при одинаковых интенсивностях измеряемого светового потока и потока сравнения результирующий ток был нулевым. При поглощении света в измеряемой кювете интенсивность соответствующего светового потока уменьшается. Это вызывает появление в цепи электрического тока, который (после усиления) приводит в действие мотор. Мотор перемещает клин-ослабитель, вдвигая его в световой поток сравнения настолько, чтобы снова выравнять интенсивности обоих сигналов. Таким образом, положение клина характеризует степень поглощения света. Одновременно информация о положении клина подается на регистрирующее устройство (самописец, компьютер). Данные о текущей длине волны определяются положением зеркала Литтрова.

ИК-спектрометр с фурье-преобразованием

В обычных ИК-спектрометрах (с волновой дисперсией) спектр регистрируется последовательно. Спектрометры же с фурье-преобразованием позволяют сразу получить всю информацию о спектре в форме интерферограммы.

Принципиальная схема классического интерферометра Майкельсона приведена на рис. 3.66. Рассмотрим сначала монохроматический световой поток с длиной волны λ_0. Луч света попадает на полупроницаемое зеркало, которое часть света отражает, а другую часть пропускает и, таким образом, делит световой поток на два когерентных равной амплитуды. Эти потоки отражаются от зеркал и

вновь попадают на полупроницаемое зеркало, где сливаются в один и интерферируют. При помощи системы линз результирующий поток фокусируют на детекторе. Если оптические пути обоих потоков одинаковы или различаются на целое число длин волн λ_0, результатом интерференции будет взаимное усиление световых потоков — наблюдается интерференционный максимум. Одно из зеркал является подвижным. Легко видеть, что если его сместить на расстояние, равное $\lambda/4$, то разность оптических путей составит полуцелое число длин волн, и будет наблюдаться взаимное погашение световых потоков (интерференционный минимум). Если перемещать подвижное зеркало со скоростью d мм/с, то вследствие непрерывного изменения во времени разности путей будет регистрироваться синусоидальный сигнал с частотой $d/(\lambda/4)$ Гц.

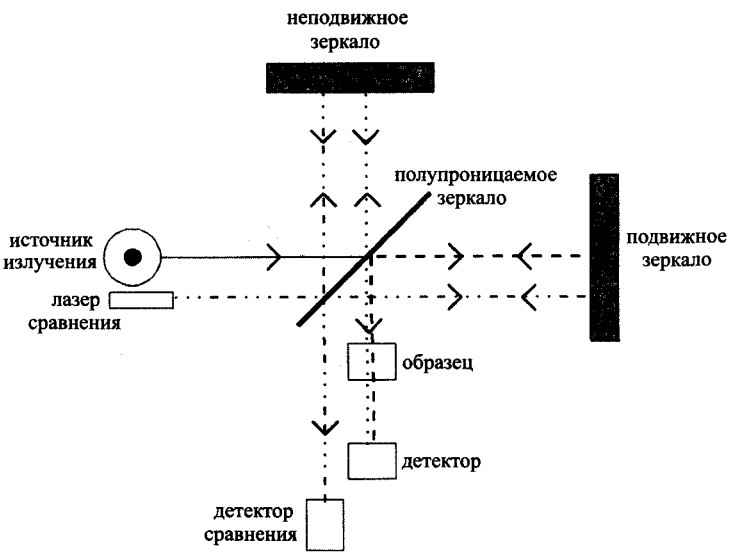


Рис. 3.66. Принципиальная схема интерферометра Майкельсона.

При использовании полихроматического светового потока при разности оптических путей, равной нулю, будет по-прежнему наблюдаться интерференционный максимум. Однако теперь зависимость результирующей интенсивности света от времени будет более сложной, поскольку для отдельных длин волн условия полного усиления или ослабления потоков отвечают различным положениям зеркала. Как правило, в этом случае интенсивность отдельных максимумов закономерно уменьшается с увеличением разности оптических путей. Пример интерферограммы источника излучения приведен на рис. 3.102.

Путем специального преобразования, называемого преобразованием Фурье, из интерферограммы можно получить спектр источника излучения. Математические основы преобразования Фурье изложены в разделе 6.2. Лазер сравнения (опорный лазер, рис. 3.66) с монохроматическим излучением известной длины волны используют для градуировки интерферометра по абсолютным значениям волновых чисел.

Спектрометр комбинационного рассеяния

По своей конструкции спектрометр комбинационного рассеяния больше напоминает спектрометр УФ-видимой области, чем ИК-спектрометр. Для наблюдения КР-спектров необходим интенсивный источник *монохроматического излучения*, а также обладающий высокой светосилой монохроматор и высокочувствительный детектор (поскольку интенсивность комбинационного рассеяния крайне мала). Первоначально для получения интенсивного монохроматического излучения использовали ртутные лампы высокого давления, выделяя из ее спектра линию 435,8 нм. В настоящее время почти исключительно используют *лазеры* — едва ли не идеальные источники для спектроскопии КР. Основными типами лазеров являются гелий-неоновый, аргоновый и лазер на основе Nd-иттрий-алюминиевого граната, дающий излучение с длиной волны 1064 нм (см. табл. 3.3). Последний тип источников используют в спектрометрах с фурье-преобразованием, позволяющих надежно отделить паразитное флуоресцентное излучение от весьма слабого полезного сигнала КР в ближней ИК-области.

Излучение комбинационного рассеяния наблюдают под прямым углом к падающему световому лучу. Его разлагают с помощью монохроматора и регистрируют при помощи ФЭУ (рис. 3.67). Очень существенным техническим упрощением является то обстоятельство, что в спектрометрах комбинационного рассеяния — в отличие от ИК-спектрометров — можно в качестве оптического материала (для линз, кювет, оптических окошек) использовать стекло вместо непрочных галогенидов щелочных металлов.

Как ИК-, так и КР-спектроскопия может быть использована для определения структуры и идентификации веществ, а также для количественного анализа. Мы рассмотрим сначала возможности обоих методов в отношении структурного анализа.

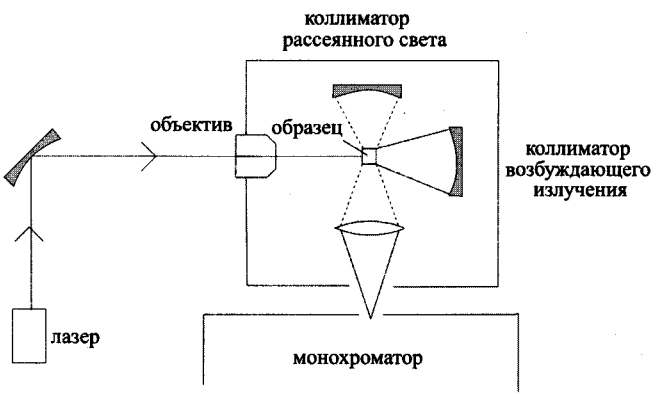


Рис. 3.67. Кюветное отделение КР-спектрометра с лазерным возбуждением.

Характеристические частоты функциональных групп

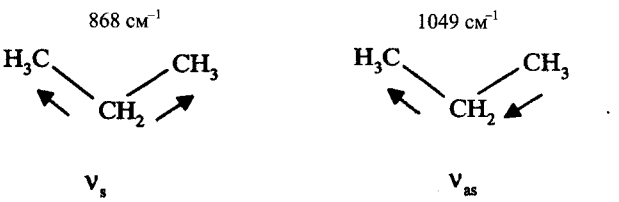
Из теории колебательной спектроскопии известно, что в каждом нормальном колебании, строго говоря, участвуют одновременно все атомы молекулы. Почему же некоторые структурные фрагменты молекул можно идентифицировать на

основании характеристических частот их колебаний? Дело в том, что некоторые колебания могут быть локализованы главным образом на некоторых атомах и практически не затрагивать остальную часть остова молекулы. Это наблюдается в тех случаях, когда частоты колебаний группы атомов и остального остова сильно различаются между собой. В соответствии с моделью гармонического осциллятора (уравнение (3.60)) такое отличие может иметь место тогда, когда в рассматриваемый структурный фрагмент входят либо атомы, значительно отличающиеся от остальных по своей *массе*, либо связи со значительно отличающейся *силовой постоянной*.

Взаимодействие колебаний

Можно считать, что если *силовые постоянные* связей различаются на 25% и более, то такие связи колеблются практически независимо друг от друга. Силовые постоянные простой, двойной и тройной C-C-связей различаются как 1 : 2 : 3. Это различие достаточно велико для того, чтобы пренебречь взаимодействием колебаний кратных связей и основного остова и наблюдать в спектре отдельные характеристические частоты колебаний кратных связей. Если же колебания отдельных связей взаимодействуют между собой, то в спектрах обычно наблюдается расщепление полосы на две — в области более высоких и более низких частот.

Так, полоса колебаний простой C-C-связи имеет волновое число 993 $см^{-1}$. При взаимодействии колебаний двух таких связей наблюдаются две полосы, соответствующие симметричному и асимметричному валентному колебанию:



Различие в *массах* колеблющихся атомов не приводит к взаимодействию колебаний, если оно составляет 2 и более раз. По отношению к атому углерода столь сильно отличающейся массой обладают атомы H, S, Cl, Br, J. Атомы O и N по массе достаточно близки к атому C, и связи с участием таких атомов колеблются совместно.

Таблица 3.13. Области характеристических частот локализованных колебаний.

3 700	2 800	2 400	1 900	1 500 $см^{-1}$
X – H валентные колебания		X ≡ Y валентные колебания	X = Y валентные колебания	Деформационные колебания, остовные колебания, валентные колебания тяжелых атомов

X = C, O, N, Y = C, N

С учетом различий в силовых постоянных связей и массах атомов можно приблизительно очертить отдельные области характеристических частот структурных фрагментов (табл. 3.13). В коротковолновой области 3700–2800 $см^{-1}$ находятся частоты колебаний связей атома водорода с атомами углерода, кислорода и азота. Затем следует область валентных колебаний тройных, а при еще больших длинах волн — двойных связей. Волновые числа менее 1500 $см^{-1}$ соответствуют разнообразным совместным колебаниям простых связей молекулярного каркаса (*остовные колебания*), а также деформационным колебаниям и валентным колебаниям с участием тяжелых атомов, например, связей углерод–галоген. Характер спектра в этой области, очень богатой полосами, уникален для каждой отдельной молекулы. Поэтому ее часто называют *областью отпечатков пальцев*.

Типы деформационных колебаний

До сих пор мы рассматривали лишь грубое разделение колебательных процессов на два класса: валентные и деформационные. В свою очередь, деформационные колебания также можно подразделить на несколько классов. Часто к деформационным (в узком смысле слова) относят лишь плоские деформационные колебания, при которых связи колеблются подобно движениям ножниц. На рис. 3.68 изображены и три других типа деформационных колебаний.

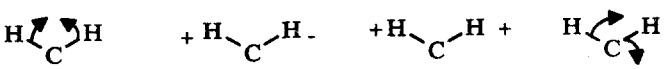
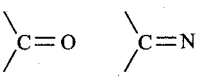


Рис. 3.68. Различные виды деформационных колебаний: (а) — ножничные, (б) — крутильные, (в) — веерные, (г) — маятниковые. Стрелка означает движение в плоскости рисунка, знаки + и − — перпендикулярно плоскости рисунка.

Факторы, влияющие на характеристические частоты

Агрегатное состояние вещества влияет на величины характеристических частот постольку, поскольку при изменении агрегатного состояния изменяются межмолекулярные взаимодействия. Так, для ацетона полоса колебаний связи C = O при переходе из газообразного в жидкое состояние смещается от 1742 до 1718 $см^{-1}$ вследствие некоторой ассоциации полярных молекул ацетона в жидкой фазе. В целом для полярных связей, представленных на рисунке, в полярных растворителях наблюдается смещение полос вследствие взаимодействия с растворителем.



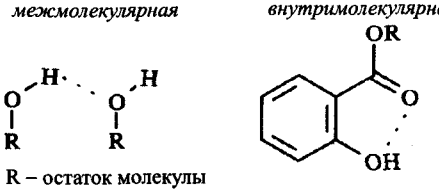
В твердом состоянии может наблюдаться дальнейшее смещение полос — до 10 $см^{-1}$ по сравнению с жидким.

Водородные связи также влияют на положение полос поглощения в ИК-спектрах. С помощью ИК-спектроскопии можно различить внутри- и межмолекулярные водородные связи.

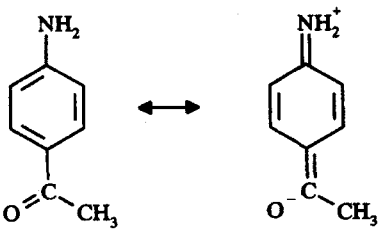
Полоса колебания свободной OH-связи находится вблизи 3600 $см^{-1}$. При образовании водородной связи силовая постоянная связи O – H уменьшается, и полоса сдвигается до 3500–2500 $см^{-1}$. Чем прочнее водородная связь, тем ниже часто-

та колебаний. Два типа водородных связей можно легко различить, исследуя растворы вещества различных концентраций. Зависимость частоты колебаний ОН-связи от концентрации наблюдается только в случае межмолекулярных водородных связей, поскольку в этом случае при разбавлении уменьшается степень ассоциации молекул. В случае внутримолекулярной водородной связи концентрация раствора не влияет на частоту колебаний.

межмолекулярная *внутримолекулярная*



R – остаток молекулы



(а) (б)

Рис. 3.69. Предельные мезомерные структуры *n*-аминоацетофенона.

Положение полосы поглощения может изменяться и под воздействием *электронных эффектов*. Это явление можно легко описать с помощью предельных мезомерных структур молекулы. На рис. 3.69 приведены две предельные мезомерные структуры ацетофенона, замещенного в пара-положении аминогруппой. Рассмотрим, как при таком замещении изменяется положение полосы колебаний карбонильной группы. В незамещенном ацетофеноне ее волновое число составляет 1691 $см^{-1}$. При введении электронодонорных заместителей таких, как аминогруппа, в распределении электронной плотности преобладает мезомерная форма (б) (рис. 3.69), и кратность связи С – О уменьшается. Частота колебаний этой связи также уменьшается (табл. 3.14).

В случае электроноакцепторных заместителей (галогены, нитрогруппа) в структуре молекулы преобладает форма (а), и частота колебаний повышается по сравнению с незамещенным ацетофеноном (табл. 3.14). На положение характеристических частот оказывают влияние и другие факторы — эффект массы, напряжения в циклах, конформация молекулы.

Влияние *массы атома* на положение характеристических частот наблюдается особенно отчетливо при замещении атома его более тяжелым изотопом, например, водорода (протия) дейтерием. В соответствии с уравнением (3.60) увеличение массы атома приводит к сдвигу полосы в сторону меньших волновых чисел.

Влияние *напряжения в циклах* проявляется, например, в том, что кратные связи в циклических структурах искажены тем сильнее, чем меньше размер цикла. Искажение кратных связей приводит к уменьшению силовых постоянных и частот колебаний. Так, в циклогексене, циклопентене и циклобутене валентные колебания С = С-связей наблюдаются при 1646, 1611 и 1566 $см^{-1}$, соответственно.

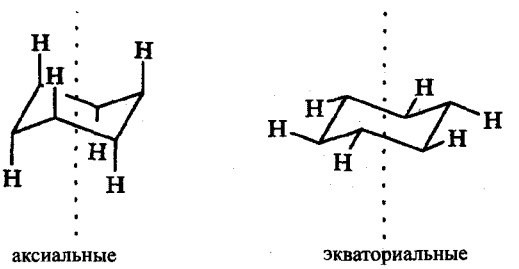
Конформационные эффекты обусловлены различным взаимным расположением атомов и атомных групп в различных конформациях молекулы. Классическим

примером служит различие в характере (и частотах) колебаний связей в циклогексане: аксиальные связи колеблются параллельно, а экваториальные — почти перпендикулярно оси симметрии молекулы (рис. 3.70).

Таблица 3.14. Частоты колебаний карбонильной группы для различных пара-замещенных ацетофенонов.

Заместитель	ν, $см^{-1}$
амино-	1677
метил-	1687
незамещенный	1691
хлор-	1692
бром-	1693
нитро-	1700

Рис. 3.70. Аксиальные и экваториальные связи в молекуле циклогексана (в конформации «кресло»).



В общем случае для заместителя X в экваториальном положении частоты колебаний соответствующей связи выше, чем в аксиальном. Это можно объяснить тем, что для экваториального положения колебание C – X-связи накладывается на колебание (растяжение–сжатие) всего остова и, таким образом, распределяется по большому числу атомов. Для аксиальной связи этого не происходит.

Качественный анализ: идентификация веществ и расшифровка структуры

Инфракрасные спектры можно использовать для решения различных задач. Во-первых, на основании ИК-спектра можно установить *природу* вещества. Для этого следует сравнить экспериментальный спектр неизвестного вещества со спектрами, имеющимися в спектральной библиотеке. В разделе 6.3 обсуждаются критерии сходства различных спектров.

Во-вторых, ИК-спектры позволяют выяснить, отвечает ли строение вещества предлагаемой формуле, а также выбрать среди нескольких структур наиболее вероятную. Наконец, можно даже предположить структуру вещества, о котором вообще ничего не известно заранее. При *исследовании структуры* веществ методом ИК-спектроскопии необходимо придерживаться следующих основных положений.

- Для регистрации ИК-спектра следует использовать чистое вещество.
- Весьма полезна любая дополнительная информация о веществе: значение молярной массы, элементный состав и т. д.

- Отсутствие полосы в некоторой области частот — весьма надежное доказательство того, что соответствующий структурный фрагмент в молекуле отсутствует. Однако наличие полосы еще не свидетельствует, что в молекуле имеется данная группа.

- Для рассматриваемой группы следует найти все ее характеристические спектральные полосы.

- Не все полосы ИК-спектра одинаково информативны. Необходимо в первую очередь исследовать полосы в тех областях спектра, где их мало.

- Достоверное отнесение структуры возможно лишь тогда, когда все характеристические полосы проидентифицированы и имеется спектр аналогично построенного соединения для сравнения.

Для расшифровки молекулярной структуры можно использовать различные таблицы положений характеристических частот. Классическими являются таблицы Колтупа. Необходимо иметь в виду, что ни один метод, включая ИК-спектроскопию, не может дать исчерпывающей информации о структуре вещества. Поэтому по возможности следует использовать сочетание нескольких методов. В первую очередь необходимо (возможно, методом перебора) определить, к какому классу соединений относится исследуемое вещество, а затем более детально изучать его функциональный состав.

Основные классы органических соединений. Насыщенные, ненасыщенные и ароматические соединения можно различить на основании характеристических частот валентных колебаний C–H-, C=C- и C≡C-связей, а также неплоских деформационных колебаний C–H-связей (табл. 3.15).

Таблица 3.15. Типичные области ИК-спектра, применяемые для идентификации классов органических соединений.

Колебания	Класс веществ	$\tilde{\nu}$, $см^{-1}$
C–H-, валентные	алифатические	2800–3000
C–H-, валентные	ненасыщенные	3000–3100
C=C-, валентные	алкены	1630–1680
C=C-, валентные	ароматические	1500–1600
C≡C-, валентные	алкины	2100–2260
C–H-, веерные	алкены, ароматические	700–1000

Наличие полос валентных колебаний C–H-связей в области 2800–3000 $см^{-1}$ свидетельствует об алифатическом характере вещества. Для непредельных соединений эти полосы находятся обычно в области 3000–3100 $см^{-1}$. Олефины обладают характерными полосами при 1630–1680 $см^{-1}$. Для ароматических соединений обычно наблюдаются две полосы в областях 1600 и 1500 $см^{-1}$, а часто и дополнительная полоса при 1580 $см^{-1}$.

Частота полосы неплоских веерных деформационных колебаний в области 700–1000 $см^{-1}$ позволяет получить информацию о природе заместителя в непредельном или ароматическом соединении (рис. 3.71).

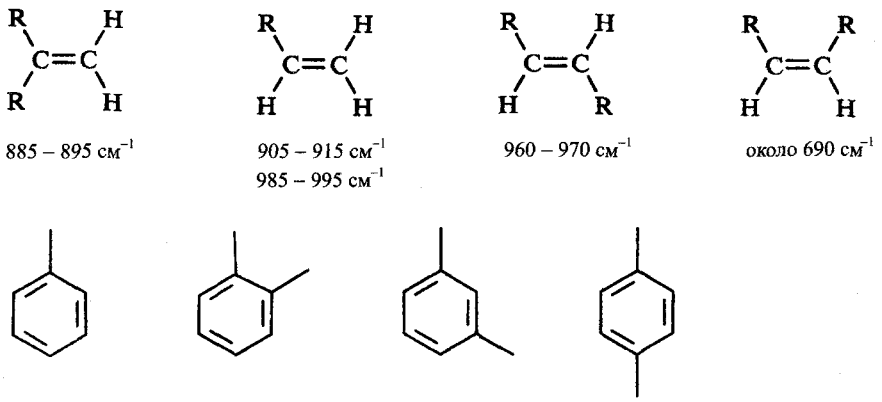


Рис. 3.71. Частоты веерных деформационных колебаний для различных замещенных алкенов и ароматических соединений.

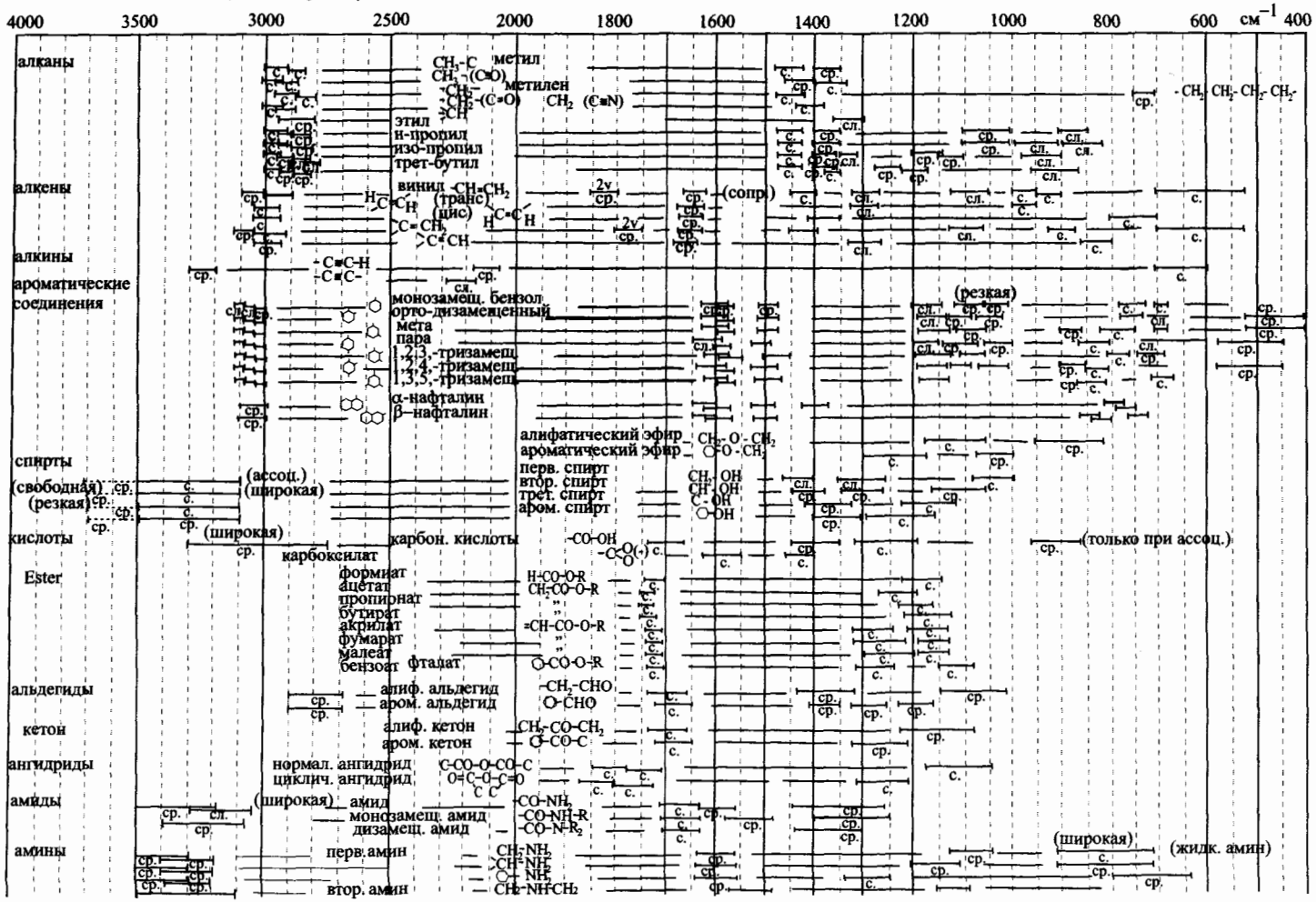
Функциональные группы. После отнесения вещества к тому или иному классу следует более детально изучить полосы, присущие функциональным группам. Так, наличие полосы колебаний O–H-группы при 3200–3650 $см^{-1}$ позволяет отнести вещество к спиртам, фенолам или карбоновым кислотам. Наличие полосы карбонильной группы в области 1700 $см^{-1}$ свидетельствует о том, что это вещество — альдегид, кетон, сложный эфир или карбоновая кислота (табл. 3.16). Ввиду наличия множества вариантов отнесения полос следует перебрать все возможные структуры. Классическим сводом областей характеристических частот являются корреляционные таблицы Колтупа (рис. 3.72). Для более детального отнесения можно использовать компьютерные системы интерпретации ИК-спектров, рассматривающие все важнейшие характеристики спектров в их взаимосвязи.

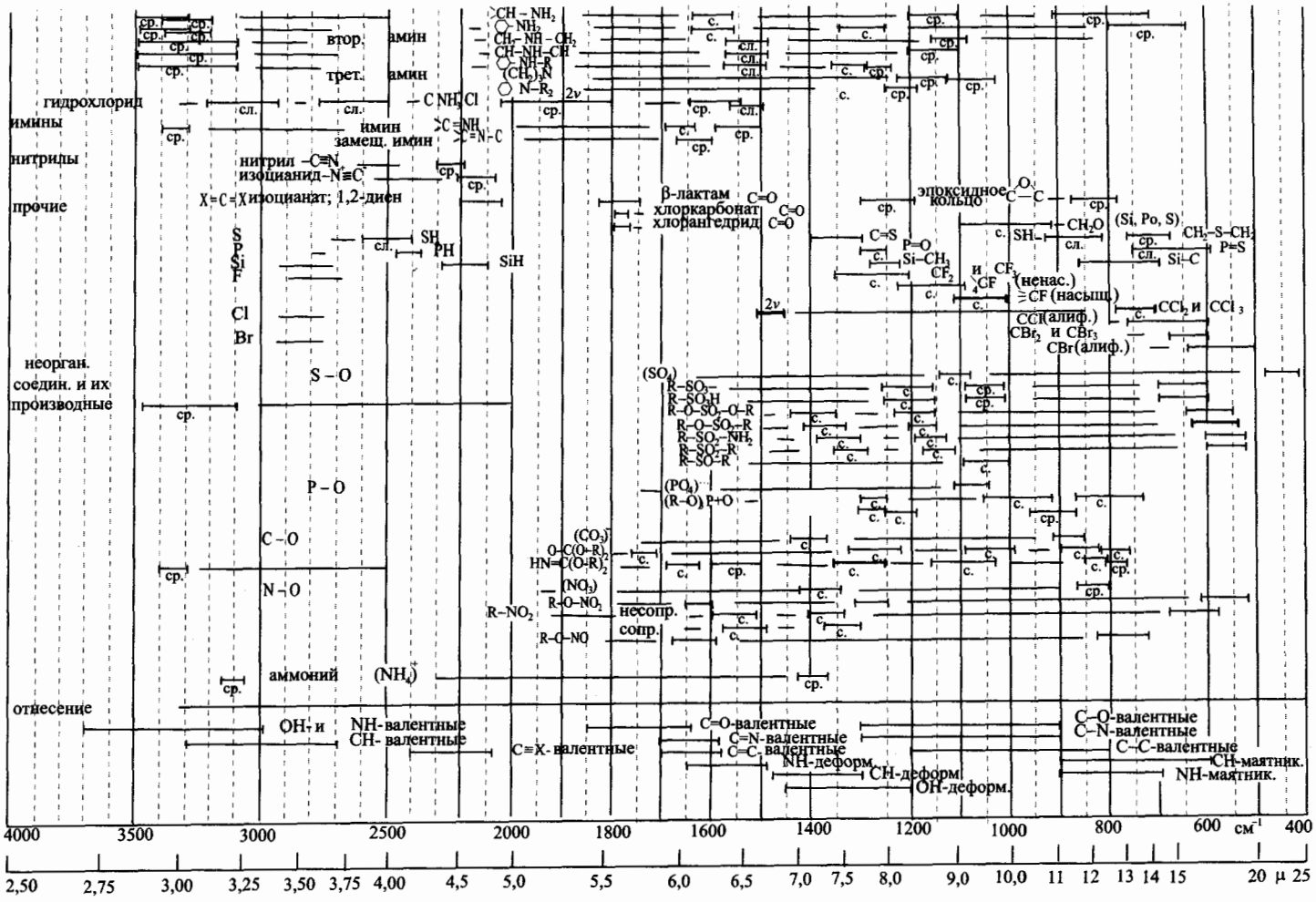
Таблица 3.16. Типичные области частот колебаний функциональных групп.

Функциональная группа	$\bar{\nu}$, $см^{-1}$	Интенсивность
O–H	3200–3650	переменная
N–H	3300–3500	средняя
C–O	1050–1300	сильная
C=O	1690–1760	сильная
NO_2	1300–1370	сильная

В качестве примера рассмотрим отнесение полос в ИК-спектре фенола, приведенном на рис. 3.73. Полосу в области 3000–3100 $см^{-1}$ можно отнести к валентным колебаниям ароматической C–H-связи. Резко выраженные полосы валентных колебаний C=C-связей в области 1500–1600 $см^{-1}$, также полосы веерных колебаний при 700 $см^{-1}$ свидетельствуют об ароматическом характере соединения. Этот вывод подтверждается и наличием полос между 1000 и 1200 $см^{-1}$, которые можно

Рис. 3.72. Таблица Колтупа (согласно Борсдорфу и Шольцу)





гидрохлорид
имины
нитрилы
прочие
неорган. соедин. и их производные
отнесение
втор. амин
трет. амин
имин
замещ. имин
нитрил –C≡N
изоцианид –N≡C
X=C=X изоцианат; 1,2-диен
β-лактам
хлоркарбонат
хлорангедрид
эпоксидное кольцо
(Si, Po, S)
(ненас.)
(насыщ.)
(алиф.)
CBr(алиф.)
S–O
P–O
C–O
N–O
аммоний
несопр.
сопр.
OH- и NH-валентные
CH- валентные
C≡X- валентные
C=O-валентные
C=N-валентные
C=C- валентные
NH-деформ.
CH-деформ.
OH-деформ.
C–O-валентные
C–N-валентные
C–C-валентные
CH-маятник.
NH-маятник.
4000 3500 3000 2500 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800 600 см⁻¹ 400
2,50 2,75 3,00 3,25 3,50 3,75 4,00 4,5 5,0 5,5 6,0 6,5 7,0 7,5 8,0 9,0 10,0 11 12 13 14 15 20 μ 25

отнести к маятниковым колебаниям связей C–H. О наличии гидроксильной функциональной группы свидетельствуют полосы валентных колебаний связей O–H при 3400 см$^{-1}$ и C–O при 1220 см$^{-1}$. Полосу при 1380 см$^{-1}$ можно отнести к деформационным колебаниям связи O–H.

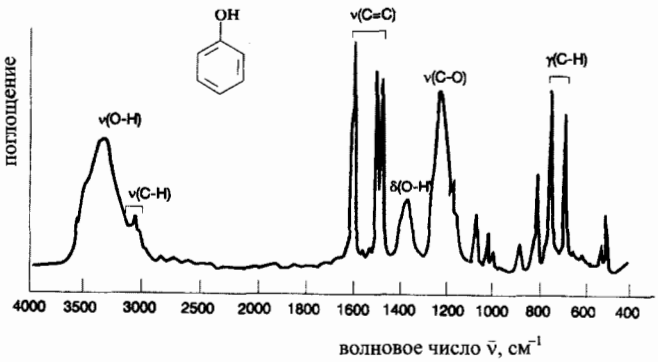


Рис. 3.73. ИК-спектр фенола.

Величина волнового числа, равная 1220 см$^{-1}$, однозначно свидетельствует о том, что гидроксильная группа является фенольной. У спиртов эта полоса находится в более длинноволновой области (1050–1150 см$^{-1}$). Из значения волнового числа маятникового колебания (γ) C–H-связи, лежащего между 700 и 750 см$^{-1}$, можно заключить, что бензольное кольцо содержит только один заместитель (ср. рис. 3.71). Характер замещения бензольного кольца можно установить также, изучая полосы комбинированных колебаний в области 1650–2000 см$^{-1}$. На рис. 3.73 они мало заметны. Однако они хорошо проявляются при увеличении концентрации вещества или чувствительности регистрации спектра, их структура соответствует монозамещенному ароматическому соединению (рис. 3.74).

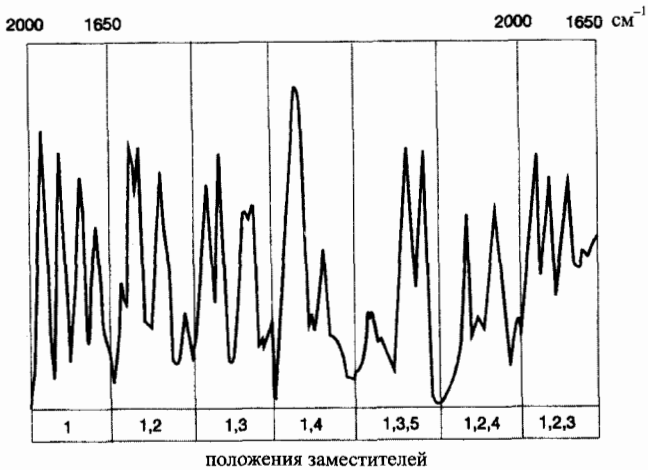


Рис. 3.74. Полосы комбинированных колебаний для ароматических соединений различной замещенности.

Часто ИК- и КР-спектры дают взаимодополняющую информацию. На рис. 3.75 приведены спектры обоих типов для транс-1,2-дихлорэтилена. В ИК-спектре наблюдаются симметричные, а в КР-спектре — антисимметричные колебания.

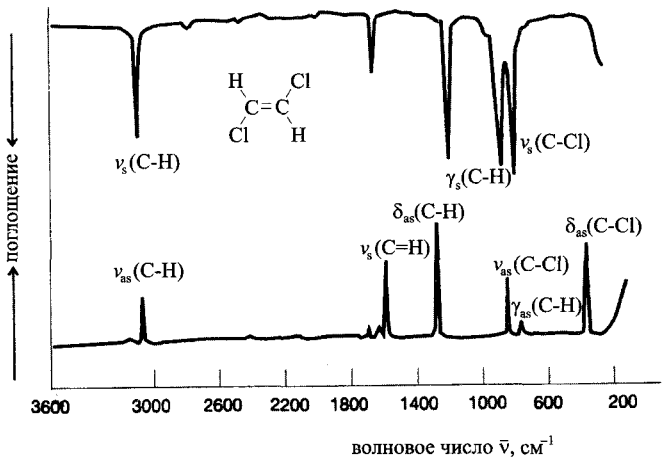


Рис. 3.75. ИК- (вверху) и КР-спектры транс-1,2-дихлорэтилена. Символом γ обозначена полоса маятниковых колебаний.

Ближняя инфракрасная область

Спектральная область 4000–12500 см$^{-1}$ (2500–800 нм) называется ближней инфракрасной областью. В ней наблюдаются полосы обертонов и комбинированных колебаний, особенно с участием N–H-, O–H- и C–H-связей.

Волновые числа обертона и основного колебания связаны следующим образом:

$$\bar{\nu}_v = v\bar{\nu}_0(1 - v\kappa), \tag{3.75}$$

где $\bar{\nu}_v$ — волновое число $(v\text{-}1)$-го обертона,
v — колебательное квантовое число,
$\bar{\nu}_0$ — волновое число основного колебания,
κ — константа ангармоничности.

Последняя учитывает то обстоятельство, что частоты колебаний обертонов не строго кратны частоте основного колебания, а несколько меньше. Экспериментально определенные значения волновых чисел валентных колебаний C–H-связей в молекуле хлороформа приведены в табл. 3.17.

В принципе возможно составить таблицу отнесения частот и для ближней ИК-области, но лишь для X–H-связей (X = N, O, C). В отличие от средней ИК-области, спектры в ближней ИК-области не позволяют сделать полных выводов о строении вещества.

С точки зрения техники эксперимента ближняя ИК-область очень удобна, поскольку здесь можно применять в качестве материала для кювет и прочих оптических узлов стекло или кварц. Спектроскопия в ближней ИК-области применяется главным образом для количественного анализа.

Таблица 3.17. Положения полос основного колебания и обертонов для валентных колебаний C—H-связей в молекуле $CHCl_3$. ε — молярный коэффициент поглощения.

Колебание	v	$\tilde{\nu}$, $см^{-1}$	ε, $л \cdot моль^{-1} \cdot см^{-1}$
Основное	1	3030	—
1 обертон	2	5913	484
2 обертон	3	8682	22
3 обертон	4	11325	1,1
4 обертон	5	13843	0,082

Количественный анализ

Средняя ИК-область для количественного анализа не столь пригодна, как УФ- или видимая область. Интенсивность источников излучения и чувствительность детекторов здесь невелика. Для обеспечения необходимой интенсивности излучения приходится широко раскрывать щель монохроматора. Ввиду недостаточной монохроматичности излучения связь между оптической плотностью и концентрацией поглощающего компонента оказывается нелинейной, не подчиняющейся закону Ламберта–Бера (уравнение (3.79)). Кроме того, сложности создает очень малая толщина кювет, которую трудно воспроизвести и точно измерить. Наконец, уровень рассеянного излучения в ИК-области значительно выше, чем в УФ- или видимой.

Тщательная градуировка с использованием стандартных образцов, применение современной аппаратуры позволяют в какой-то мере преодолеть эти трудности и использовать ИК-спектроскопию для количественного анализа. С помощью методов многоволновой спектроскопии и многомерной градуировки (раздел 6.3) удается даже проводить достаточно сложные анализы: определение отдельных ароматических углеводородов, прямое (неинвазивное) определение глюкозы в сыворотке крови, определение различных загрязнителей воздуха — CO, ацетона, этиленоксида или хлороформа.

Для анализа жидких органических веществ (в том числе растворов) используют кюветы из галогенидов щелочных металлов. Для анализа водных растворов (в частности, таких, как плазма крови) необходимо использовать метод НПВО (см. рис. 3.64).

Особенно большое значение для количественного анализа приобрела ***ближняя ИК-область***. Для обработки данных здесь широко используют современные методы хемометрики: регрессию на главных компонентах (PCR), блочный, или дробный, метод наименьших квадратов (БМНК, PLS; см. раздел 6.3). Таким способом можно, например, определять с погрешностью порядка 2% содержание жиров или влаги в продуктах питания (рис. 3.76), белка в зерне и т. д. При этом измерения обычно проводятся в отраженном свете, а полученные значения интенсивностей диффузного отражения R преобразуют с помощью функции Кубелки–Мунка (уравнение (3.84)).

Методом спектроскопии в ближней ИК-области можно непосредственно определять октановое число бензина, поскольку оно прямо коррелирует с интенсивностями обертоновых колебаний метильных, метиленовых и фенильных групп в этой области спектра (рис. 7.29).

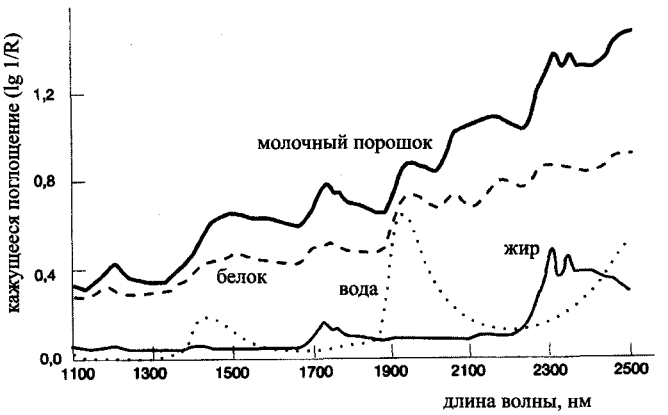


Рис. 3.76. Определение содержания белков, воды и жиров в молочном порошке по спектрам диффузного отражения в ближней ИК-области.

3.3.2. УФ-видимая спектроскопия: возбуждение валентных электронов молекулы

Электронные спектры молекул

В предыдущих разделах мы рассматривали два явления, связанные с возбуждением атомов и молекул: возбуждение вращательных и колебательных энергетических состояний молекул под действием инфракрасного излучения и возбуждение электронных состояний валентных электронов атомов под действием УФ- и видимого излучения.

Для возбуждения валентных электронов молекул также необходимо излучение, лежащее в УФ-видимой области. Энергии такого излучения достаточно для того, чтобы одновременно возбудить колебательные и вращательные состояния молекул. Разделение УФ-видимой области спектра на диапазоны показано на рис. 3.77. При длинах волн ниже 190 нм начинает интенсивно поглощать кислород воздуха; работа в этом диапазоне возможна лишь в вакууме. Поэтому диапазон 100–200 нм называют вакуумной УФ-областью. В дальнейшем мы его рассматривать не будем. Энергии УФ-излучения вакуумной области достаточно для того, чтобы выбить электрон из молекулы. На этом явлении основан метод фотоэлектронной спектроскопии, рассматриваемый в разделе 8.2.

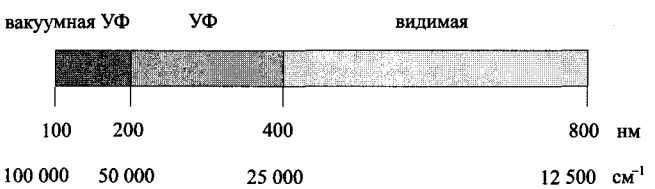


Рис. 3.77. УФ-видимая область электромагнитного спектра.

Человеческий глаз восприимчив лишь к излучению видимого диапазона. Окраска различных предметов обусловлена тем, что они поглощают видимое излучение некоторых длин волн и отражают (или пропускают, если речь о прозрачных

телах) излучение при всех остальных длинах волн. Поэтому наблюдаемая окраска представляет собой цвет, дополнительный к цвету поглощаемого излучения (табл. 3.18).

Таблица 3.18. Дополнительные цвета в видимой области спектра.

Поглощаемая длина волны, нм	Цвет	Дополнительный цвет
400–435	фиолетовый	желто-зеленый
435–480	синий	желтый
480–490	голубой	оранжевый
490–500	зелено-голубой	красный
500–560	зеленый	пурпурный
560–580	желто-зеленый	фиолетовый
580–595	желтый	синий
595–610	оранжевый	голубой
610–750	красный	зелено-голубой

Электронные переходы

Светопоглощение молекул в УФ-видимой области связано с возбуждением валентных электронов, находящихся в различных состояниях: n-, σ-, π-электронов (обычно в органических соединениях), d-, f-электронов (в ионах металлов), а также с электронными переходами с переносом заряда (в комплексных соединениях).

Разделение молекулярных орбиталей на σ-, π- и n-орбитали связано с различным характером распределения электронной плотности. Для σ-орбиталей электронная плотность распределена симметрично относительно оси, связывающей ядра атомов. π-Орбитали характеризуются симметрией относительно плоскости, проходящей через два или более ядер. σ- и π- Орбитали могут быть связывающими или разрыхляющими. n-Орбитали локализованы на гетероатоме. Они являются несвязывающими. В отличие от связывающих орбиталей, для них не существует парной разрыхляющей орбитали. В качестве примера на рис. 3.78 приведено распределение электронной плотности для некоторых орбиталей двухатомной молекулы.

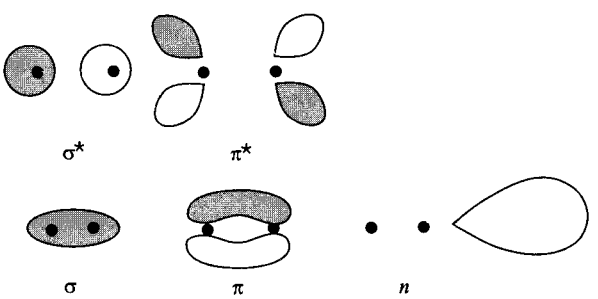


Рис. 3.78. Распределение электронной плотности для связывающих σ-, π-, разрыхляющих σ^*-, π^*- и несвязывающих n-орбиталей. Светлые и заштрихованные области символизируют симметрию соответствующих волновых функций.

Для молекулярных электронных переходов также справедливы определенные правила отбора. Они связаны с изменением спинового состояния, симметрии

молекулярных орбиталей, колебательных квантовых чисел (принцип Франка–Кондона) и другими факторами. Более подробно об этом можно прочитать в учебниках по квантовой химии. Пример действия правил отбора, связанных с изменением спина, будет рассмотрен в разделе 3.3.3, посвященном флуоресценции.

Для нас представляют интерес возможные переходы n-, σ- и π-электронов, изображенные на рис. 3.79.

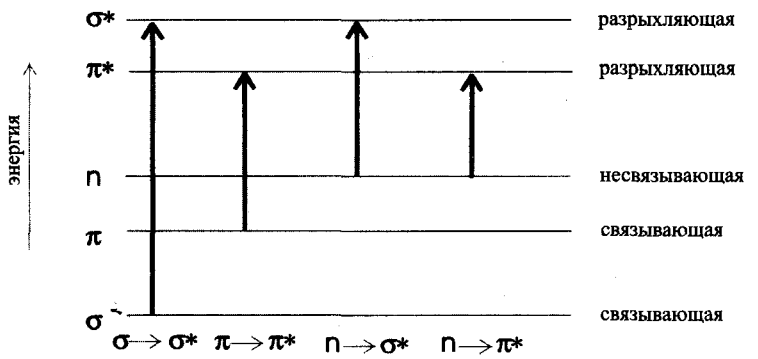


Рис. 3.79. Электронные переходы в молекуле с участием n-, σ- и π-электронов.

$\sigma \rightarrow \sigma^*$-Переходы связаны с самыми большими изменениями энергии. Они наблюдаются главным образом в вакуумной УФ-области (например, для насыщенных углеводородов). Коротковолновая полоса поглощения молекулы CH_4 лежит при 125 нм. Гомологи метана поглощают в более длинноволновой области, поскольку для возбуждения электронов связи С–С требуется меньше энергии, чем для связи С–Н. Поскольку измерения при длинах волн меньше 190 нм возможны только с применением специальных вакуумных спектрометров, для аналитической практики $\sigma \rightarrow \sigma^*$-переходы представляют незначительный интерес.

$n \rightarrow \sigma^*$-Переходы наблюдаются в более длинноволновой области спектра по сравнению с $\sigma \rightarrow \sigma^*$-переходами. Значение длины волны в максимуме поглощения зависит от характера связи гетероатома и его электроотрицательности. В табл. 3.19 приведены характеристики некоторых полос поглощения $n \rightarrow \sigma^*$-переходов.

Таблица 3.19. Характеристики полос поглощения $n \rightarrow \sigma^*$-переходов для молекул, содержащих гетероатомы.

Соединение	λ_{max}, нм	ε_{max}, л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$
H_2O	167	1480
CH_3Cl	173	200
CH_3OH	184	150
CH_3NH_2	215	600
$(CH_3)_3N$	227	900

Чтобы различить $n \rightarrow \sigma^*$- и $\sigma \rightarrow \sigma^*$-переходы, можно использовать явление протонирования гетероатома (например, азота) в кислых средах. При этом полоса

$n \rightarrow \sigma^*$-перехода исчезает, поскольку присоединенный протон блокирует свободную электронную пару гетероатома.

$n \rightarrow \pi^*$- и $\pi \rightarrow \pi^*$-переходы имеют для аналитической химии наибольшее значение. Они находятся в наиболее длинноволновой области и имеют наибольшую интенсивность (вероятность перехода) по сравнению с переходами всех других типов. Рассмотрим сначала молекулу с изолированной π-связью. Электроны π-связей более легко возбудимы, чем электроны σ-связей. Так, для этилена полоса $\pi \rightarrow \pi^*$-перехода лежит при 162 нм.

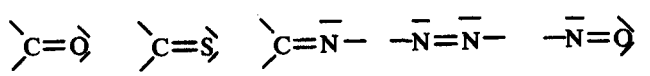


Рис. 3.80. Хромофорные группы, обусловливающие $\pi \rightarrow \pi^*$ и $n \rightarrow \pi^*$-переходы.

Замещение водорода в молекуле этилена алкильным радикалом приводит к *батохромному* (в длинноволновую область) сдвигу полосы поглощения. Типичные группы-**хромофоры** (носители окраски) приведены на рис. 3.80. Для этих групп наряду с $\pi \rightarrow \pi^*$- наблюдаются и $n \rightarrow \pi^*$-переходы, обусловленные наличием свободных электронных пар на атомах кислорода, азота и серы. Полосы $n \rightarrow \pi^*$-переходов находятся в более длинноволновой области, чем $\pi \rightarrow \pi^*$-переходов (см. схему электронных уровней на рис. 3.79), однако имеют меньшую интенсивность. Так, для карбонильной группы максимум основной полосы поглощения, обусловленной $\pi \rightarrow \pi^*$-переходом, лежит при длине волны менее 200 нм. На ней присутствует плечо при 270–280 нм, связанное с $n \rightarrow \pi^*$-переходом. Его интенсивность составляет около 1% от интенсивности в максимуме полосы.

С помощью соответствующего сочетания хромофорных групп можно достичь столь значительного батохромного сдвига, что поглощение будет наблюдаться в видимой области. В табл. 3.20 приведены примеры хромофорных групп с длинноволновыми полосами поглощения $n \rightarrow \pi^*$–переходов.

Таблица 3.20. Характеристики полос $n \rightarrow \pi^*$–переходов для некоторых хромофорных групп.

Группа	λ_{max}, нм	ε_{max}, л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$
>C=N–	240	159
>C=O	280	20
–N=N–	350	12,6
>C=S	500	10
–N=O	660	20

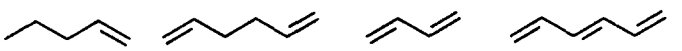
Приведенные в табл. 3.20 величины следует рассматривать лишь как ориентировочные. Точные значения длин волн и молярных коэффициентов поглощения зависят от конкретных заместителей и природы растворителя. В общем случае для $n \rightarrow \pi^*$-переходов с ростом полярности растворителя наблюдается *гипсохромный* (в коротковолновую область), а с уменьшением полярности — батохромный сдвиг полосы поглощения (табл. 3.21).

Из теории строения молекул известно, что сдвиг полос поглощения в длинноволновую (вплоть до видимой) область особенно значителен, если отдельные хро-

мофорные группы находятся в сопряжении друг с другом. Для изолированных двойных связей (например, в 1,5-гексадиене) полоса поглощения практически не смещается, а ее интенсивность близка к сумме интенсивностей соответствующих отдельных полос. При сопряжении же наблюдается батохромный сдвиг — тем более значительный, чем больше двойных связей находятся в сопряжении. Например, для триалкенов (гексатриен) он выражен сильнее, чем для диалкенов (бутадиен).

Таблица 3.21. Наиболее распространенные растворители для УФ-видимой спектроскопии (*расположены в порядке возрастания полярности*) и их коротковолновые границы прозрачности.

Растворитель	Граница прозрачности, нм
н-гексан	195
хлороформ	240
диэтиловый эфир	200
этанол	200
вода	185



λ	184 нм	185 нм	217 нм	250 нм
ε_{max}	около 10000	около 20000	около 21000	

Рис. 3.81. Влияние сопряжения хромофорных групп (на примере двойных связей в алкенах — пентен, 1,5-гексадиен, 1,3-бутадиен, 1,3,5-гексатриен) на оптические характеристики.

Дополнительный батохромный сдвиг возникает при сопряжении хромофорных групп с электронодонорными (**ауксохромы**) или электроноакцепторными (**антиауксохромы**) группировками (рис. 3.82). Влияние этих группировок очень хорошо прослеживается на примере ароматических соединений (табл. 3.22).

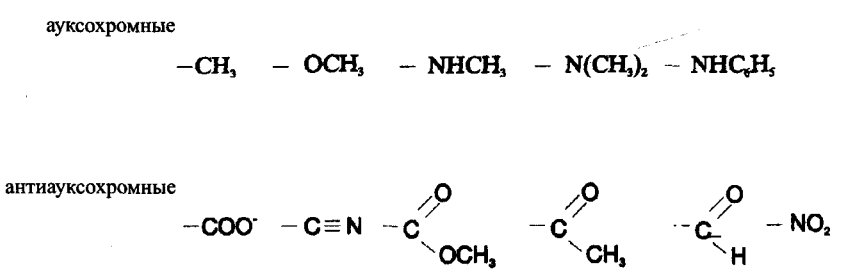


Рис. 3.82. Ауксохромные и антиауксохромные группы в УФ-видимой спектроскопии.

Рассмотрим спектр поглощения бензола в УФ-области, приведенный на рис. 3.83. Он имеет три полосы. Самая длинноволновая (255 нм) имеет небольшую интенсивность ($\varepsilon \approx 200$ л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$), так как обусловлена запрещенным $\pi \rightarrow \pi^*$-переходом. Этот переход становится возможным только в результате взаимо-

действия с колебательными уровнями энергии. Соответствующая полоса имеет хорошо выраженную колебательную структуру. В области около 200 нм наблюдается еще одна, более интенсивная ($\varepsilon \approx 8000$ л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$) полоса. Третья, самая интенсивная полоса ($\varepsilon \approx 10^5$ л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$) отвечает разрешенному $\pi \rightarrow \pi^*$-переходу.

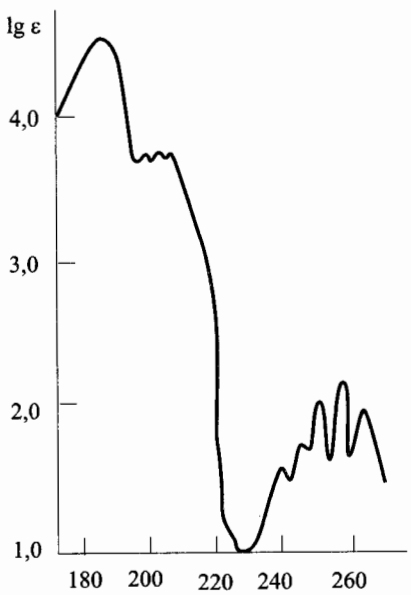


Рис. 3.83. Спектр поглощения бензола в УФ-области. Поглощение представлено по оси ординат в виде логарифма молярного коэффициента поглощения.

Оба типа заместителей, ауксохромные и антиауксохромные, вызывают батохромный сдвиг (табл. 3.22). Часто влияние заместителя проявляется не просто в изменении электронной плотности на отдельных атомах, но в удлинении цепочки сопряжения.

Структуру интенсивно окрашенных, содержащих длинные сопряженные системы соединений, таких, как трифенилметановые или азо-красители, мы обсудим в разделе, посвященном органическим реагентам.

В УФ-видимой области можно наблюдать и полосы, обусловленные ***переходами d- и f-электронов***. Их описание основано на теории кристаллического поля (см. учебники по неорганической химии) и квантовохимических моделях. Для $d-d$-переходов в комплексах ионов металлов максимально возможные величины молярных коэффициентов поглощения составляют лишь 100–1000 л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$.

Для аналитической химии особенно важны соединения, имеющие в своем спектре ***полосы переноса заряда***. Они возникают при взаимодействии атомов — донора и акцептора электронов. Типичными примерами могут служить многие комплексы ионов металлов с органическими реагентами, например, иона Fe^{2+} (акцептор электронов) с 1,10-фенантролином (донор электронов). Для таких полос молярные коэффициенты поглощения достигают значений 10000 и выше. Поэтому комплексы с переносом заряда очень целесообразно использовать для фотометрического определения металлов (см. раздел, посвященный количественному анализу).

Таблица 3.22. Смещение максимума поглощения в замещенных производных бензола (в водных растворах)

Заместитель	λ_{max}, нм	ε_{max}, л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$
отсутствует	254	204
CH_3	261	225
Cl	263	190
OH	270	1450
CN	271	1000
COOH	273	970
NH_2	280	1430

Аппаратура

С принципиальной точки зрения аппаратура для спектроскопии в УФ-видимой области вполне соответствует общей блок-схеме (рис. 3.4). В качестве источников излучения в УФ-области используют главным образом дейтериевые, а в видимой — вольфрамовые или (в последнее время все чаще) галогеновые лампы.

Для монохроматизации света можно использовать самое простое устройство — светофильтр. В высококачественных регистрирующих спектрофотометрах преобладают дифракционные решетки (1200 штрихов на миллиметр).

Измерение светопоглощения

Методом спектроскопии в УФ-видимой области изучают, главным образом, жидкие среды. При измерениях в видимой области образцы можно помещать в стеклянные кюветы. В УФ-области стекло обладает собственным поглощением, поэтому там необходимо использовать кюветы из кварца.

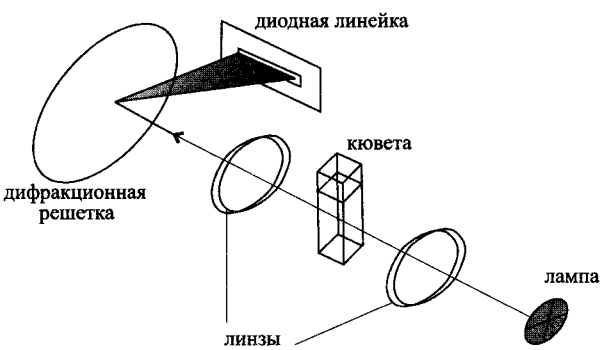


Рис. 3.84. Ход лучей в спектрофотометре с диодной линейкой.

В качестве детектора используют ФЭУ, а в некоторых случаях — фотоэлементы. В фотометрах с быстрой регистрацией применяют массивы фотоэлементов или фотодиодов (диодные линейки). Отличие таких приборов от обычных состоит в способе облучения образца и детектора (рис. 3.84). Раствор образца облучают полихроматическим светом и лишь затем разлагают его с помощью дифракционной решетки (обычно голографической). Полученный световой пучок направляют на детектор — диодную линейку. Во избежание возможных фотохимических реакции следует облучать пробу только непосредственно во время измерений.

При использовании многоканальной регистрации время записи спектра лимитировано только скоростью считывания показаний диодов, а разрешение достигает от 1 до 5 нм. Весь спектр в области 200–800 нм можно записать за 0,1 с. Для улучшения отношения сигнал–шум спектр записывают несколько раз и усредняют результаты.

Аппаратурные погрешности измерений могут сильно различаться для приборов разных классов качества. Можно показать, что относительная погрешность измерения концентрации (выраженная в форме относительного стандартного

отклонения s_c/c) связана с величиной пропускания T и его стандартным отклонением s_T следующим образом:

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0,434 s_T}{T \lg T}. \tag{3.76}$$

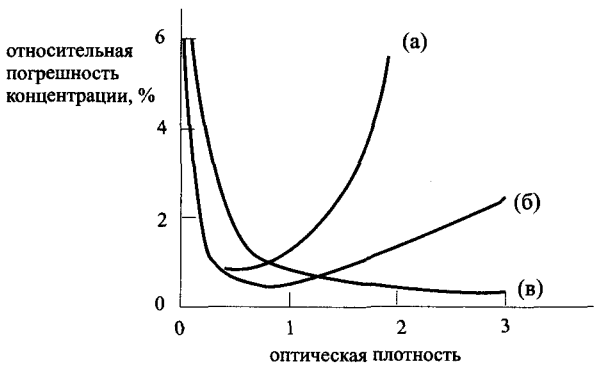


Рис. 3.85. Зависимость относительной погрешности определения концентрации (в процентах, согласно уравнению (3.76)) от величины оптической плотности. (а) $s_T = a_0$. (б) $s_T = a_1(T^2+T)^{1/2}$. (в) $s_T = a_1 T$. a_0 и a_1 — константы.

Таким образом, относительная погрешность определения концентрации зависит от величины пропускания T и абсолютной погрешности ее измерения s_T; последняя, в свою очередь, может изменяться с изменением величины пропускания. На рис. 3.85 приведены примеры зависимости относительной погрешности измерения концентрации для случаев, когда погрешность пропускания постоянна (кривая (а)) и переменна (кривые (б), (в)). Случай (а) характерен для обычных спектрофотометров с ограниченной измерительной шкалой при больших значениях темновых токов или высоких коэффициентах усиления. Случай (б) соответствует более высококачественным приборам, использующим детекцию на основе счета фотонов. Случай (в) наблюдается, в частности, при неточной установке кюветы в кюветном отделении или при наличии некоторых специфических приборных шумов.

Измерения в отраженном свете

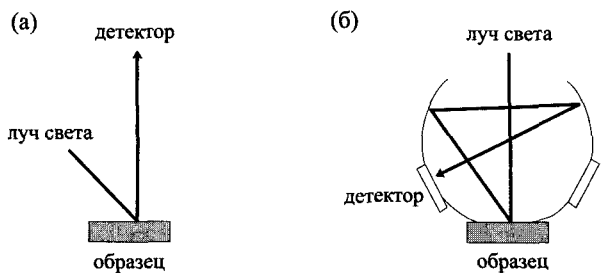


Рис. 3.86. Устройства для спектроскопических измерений в отраженном свете. (а) — облучение пробы под углом 45°, измерение — под углом 0° к вертикали. (б) — измерение с помощью фотометрической сферы.

При исследовании непрозрачных образцов вместо кюветы используют устройство для измерения *отраженного света*. На рис. 3.86 показаны два таких устройства. В первом случае (а) образец облучают световым потоком под углом 45° к

его поверхности, а отраженный свет измеряют в направлении, перпендикулярном поверхности образца. Во втором случае (б) используют фотометрическую сферу. Здесь световой поток падает на образец перпендикулярно его поверхности, затем многократно отражается во всех направлениях и, наконец, попадает на детектор. В качестве образца сравнения используют сильно рассеивающий непоглощающий материал, например, порошок сульфата бария или оксида магния.

Количественный анализ

Явление ослабления светового потока при прохождении его через поглощающую среду уже было рассмотрено ранее в разделе, посвященном ИК-спектроскопии (см. рис. 3.52). В УФ-видимой области наблюдаются те же процессы. Некоторая часть света (I_A) поглощается образцом, другая (I_R) — отражается на границах раздела сред. Возможны также потери света за счет рассеяния (I_S) и поглощения материалом кюветы (I_{AK}). В результате интенсивность света, прошедшего через кювету (I), меньше, чем интенсивность падающего света (I_0).

Потери света за счет рассеяния, отражения и поглощения материалом кюветы (а также растворителем) можно скомпенсировать, проводя измерения относительно раствора сравнения — кюветы, содержащей только растворитель. Поскольку в УФ-видимой спектроскопии толщина поглощающего слоя значительно выше, чем в ИК-спектроскопии, и составляет обычно 1–50 мм, толщину кювет можно строго выдержать и надежно скомпенсировать все эффекты, несвязанные с поглощением света.

Мерой светопоглощения служат величины, называемые пропусканием и оптической плотностью.

Пропускание:

$$T = \frac{I}{I_0} \text{ или } T[\%] = \frac{I}{I_0} \cdot 100. \tag{3.77}$$

Оптическая плотность:

$$A = \lg \frac{1}{T} = \lg \frac{I_0}{I}. \tag{3.78}$$

Если раствор образца совсем не поглощает света, пропускание равно 100%, а оптическая плотность — нулю. При полном поглощении света пропускание равно нулю, а оптическая плотность — бесконечности. Чтобы измерять величины пропускания между 0 и 100%, спектрофотометр перед измерениями калибруют по этим двум предельным значениям.

Закон Ламберта–Бера

Исследования Бугера (1698–1758) и Ламберта (1728–1777) показали, что оптическая плотность прямо пропорциональна толщине кюветы. Зависимость оптической плотности раствора поглощающего вещества от его молярной концентрации установил Бер (1825–1863). Закон, объединяющий в себе обе эти зависимости, называется законом Ламберта–Бера или Бугера–Ламберта–Бера. Применительно к спектрофотометрии в УФ-видимой области спектра его записывают следующим образом:

$$A = \varepsilon(\lambda) \cdot d \cdot c, \tag{3.79}$$

где $\varepsilon(\lambda)$ — молярный коэффициент поглощения (л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$) при длине волны λ, d — толщина кюветы (см), c — концентрация поглощающих частиц (моль/л).

Наблюдаемые отклонения от закона Ламберта–Бера могут быть вызваны следующими причинами.

- Концентрация поглощающих частиц столь велика, что между ними происходят *электростатические взаимодействия*. В результате этого оптическая плотность перестает быть прямо пропорциональна концентрации. В разбавленных растворах электростатические взаимодействия пренебрежимо малы. Поэтому измерения стараются проводить в растворах с концентрацией определяемого вещества не выше 0,01 М.

- В результате *побочных реакций* частиц определяемого вещества между собой (ассоциация, диссоциация) или с растворителем могут получаться продукты с другими молярными коэффициентами поглощения.

- При использовании *недостаточно монохроматичного света* наблюдаются отклонения концентрационной зависимости оптической плотности от линейности. Этот эффект особенно выражен в случаях, когда молярный коэффициент поглощения сильно зависит от длины волны, т. е. на краях полосы поглощения. Поэтому обычно стараются работать в максимуме поглощения.

- Рассеянный свет (рис. 3.87) также искажает измеренные значения оптической плотности.

Спектрофотометрические определения

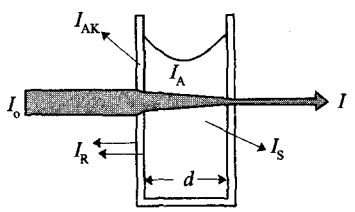


Рис. 3.87. *Ослабление светового потока при прохождении его через кювету с раствором пробы.*

Определение содержания вещества методом молекулярной абсорбции (спектрофотометрии) можно проводить как непосредственно, так и с использованием специальных фотометрических реагентов.

Определение без реагентов

В УФ области можно *непосредственно* определять ароматические соединения, например, содержание бензола в воде (см. рис. 3.83). В видимой области можно определять различные красители или окрашенные неорганические ионы — MnO_4^- (фиолетовый), $Cr_2O_7^{2-}$ (оранжевый). Возможно проводить и *титрование* этими ионами с фотометрической индикацией.

Определение с помощью реагентов

Для определения «бесцветных» катионов и анионов необходимо вначале перевести определяемый компонент в окрашенный продукт при помощи подходящего реагента. Для этого используют как неорганические, так и органические реагенты.

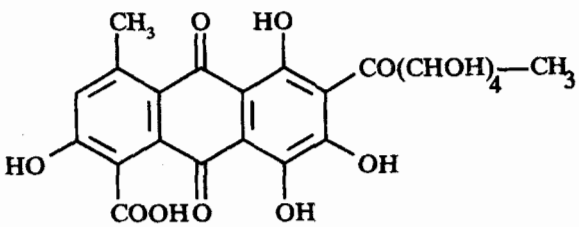
Неорганические реагенты иногда применяют для определения ионов металлов. Для количественного анализа можно в ряде случаев использовать те цветные реакции, которые применяются в качественном анализе (раздел 2.4): образования синего аммиаката меди, красного роданидного комплекса железа (III), желтого пероксидного комплекса титана.

В этих случаях окраска продукта обусловлена, как правило, ($d \rightarrow d^*$)-электронными переходами иона металла. Она не очень интенсивна: молярные коэффициенты поглощения не превышают 1500 л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$. Поэтому соответствующие методики применяют лишь для определения высоких содержаний.

Исключение составляют методы определения фосфора, мышьяка и кремния с использованием гетерополикислот. Желтые и получаемые их восстановлением синие формы гетерополикислот характеризуются высокими молярными коэффициентами поглощения (для фосфорномолибденовой кислоты — порядка 16300 л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$) и могут быть использованы даже для определения следовых количеств. Синие формы содержат Mo(VI) и Mo(V) одновременно, например, в составе ионов $[Si(Mo_3O_{10})_4]^{4-}$ или $[P(Mo_3O_{10})_4]^{3-}$.

Значительно более важную роль играют **органические реагенты**. К настоящему времени предложено уже около 7500 органических реагентов для фотометрического анализа, однако не все они реально применяются на практике. Окраска комплексов ионов металлов с органическими реагентами может быть обусловлена электронными $n \rightarrow \pi^*$- *или* $\pi \rightarrow \pi^*$-*переходами в молекулах лигандов*, а также переходами с переносом заряда.

Рис. 3.88. Карминовая кислота — реагент для фотометрического определения бора.



Необходимое условие применимости органического реагента — достаточно высокая *устойчивость* образующегося комплекса. Кроме того, для обеспечения *полноты* комплексообразования используют *избыток реагента*. Для фотометрии широко используются полидентатные лиганды, образующие хелатные и оттого особенно устойчивые комплексы с металлами. Для достижения достаточной чувствительности *различие в окраске* между комплексом и свободным реагентом (контрастность реакции) должно быть достаточно велико. В табл. 3.23 приведены наиболее распространенные органические реагенты для фотометрического определения металлов.

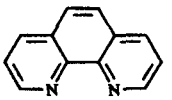
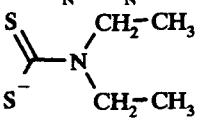
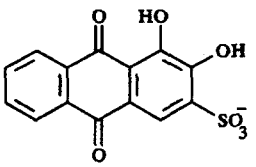
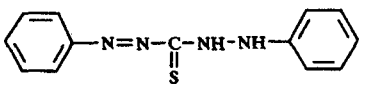
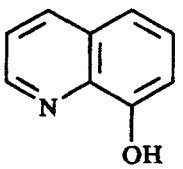
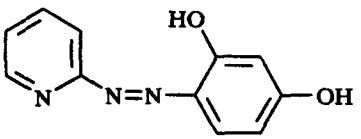
Примером фотометрического определения *неметаллов* может служить определение бора по окраске его комплекса с карминовой кислотой ($\lambda = 610$ нм).

Чувствительность фотометрического анализа

Метод молекулярной абсорбционной спектроскопии применяется главным образом для определения *средних* и *низких* содержаний. *Пределы обнаружения* зави-

сят от значения молярного коэффициента поглощения фотометрируемого соединения, а также от величины фонового сигнала (сигнала контрольного опыта). Последняя, в свою очередь, определяется чистотой применяемых реагентов и наличием загрязнений, поступающих извне. При молярном коэффициенте поглощения порядка 40000, величине оптической плотности 0,010 и толщине кюветы 1 см можно, в соответствии с законом Ламберта–Бера, определять концентрации порядка $2 \cdot 10^{-7}$ М. Если принять молярную массу определяемого компонента равной 50, то это соответствует массовой концентрации порядка 10 нг/мл.

Таблица 3.23. Органические реагенты для фотометрического определения металлов.

Донорн. атомы	Реагент	Структурная формула	Определяемые ионы
N	1,10-фенантролин		Fe^{2+}, Cu^{+}
S	Диэтилдитиокарбамат		Cu^{2+}, Ni^{2+}
O	Ализарин S		Al^{3+}
N–S	Дитизон		Bi^{3+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Pb^{2+}, Zn^{2+}, Ag^{+}, Hg^{2+}
N–O	8-Оксихинолин		Fe^{3+}, Mo(VI), V(V)
	Пиридил-азо-резорцин (ПАР)		Fe^{3+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, V(V)

Селективность фотометрического анализа

По сравнению с атомно-абсорбционным анализом фотометрический метод сам по себе значительно менее селективен. Существует лишь очень небольшое число специально синтезированных реагентов, селективно взаимодействующих с одним определенным ионом металла. В то же время есть много способов, позволяющих значительно улучшить селективность фотометрических определений. Это достигается выбором необходимого значения pH, применением маскирующих ре-

агентов, сочетанием фотометрического анализа с методами разделения, например, экстракцией (экстракционная фотометрия), либо применением специальных математических методов анализа многокомпонентных систем.

Влияние *величины pH* на полноту протекания реакций мы уже обсуждали в разделе, посвященном классическим методам анализа (см. рис. 2.24). Некоторые *маскирующие реагенты*, применяемые в фотометрии, приведены в табл. 3.24. Сочетание определения с *методами разделения* — экстракцией, ионообменной хроматографией — обсуждается в соответствующих разделах (2.6, 5.3.2).

Таблица 3.24. Наиболее распространенные маскирующие реагенты для фотометрического анализа.

Маскируемый ион	Маскирующий реагент
Fe^{3+}	F^-, PO_4^{3-}, цитрат, тартрат, CN^-
Ni^{2+}	CN^-, SCN^-, NH_3
Ti(IV)	SO_4^{2-}, F^-, H_2O_2
Al^{3+}	F^-, OH^-, цитрат, триэтаноламин
Ag^+	Cl^-, Br^-, I^-, CN^-, $S_2O_3^{2-}$, NH_3

Рассмотрим кратко основные принципы классического многокомпонентного анализа. Более общий хемометрический подход к этой проблеме обсуждается в разделе 6.3.

Одновременное определение нескольких компонентов. Существуют математические методы, позволяющие определять концентрации компонентов в случае перекрывания их спектров поглощения. Для этого следует измерить оптическую плотность при *нескольких* длинах волн. Их число должно быть не меньше, чем число поглощающих компонентов, содержащихся в образце. В качестве примера рассмотрим одновременное определение Ni^{2+} и Cu^{2+} с диэтилдитиокарбаматом натрия. Спектры поглощения соответствующих комплексов приведены на рис. 3.89.

Для значений оптических плотностей, измеренных при двух длинах волн λ_1 и λ_2, можно, в соответствии с законом Ламберта–Бера (уравнение (3.79)), записать два уравнения, образующие следующую систему:

$$\begin{aligned} E_{\lambda_1} &= \varepsilon_{11} dc_{Ni^{2+}} + \varepsilon_{12} dc_{Cu^{2+}}, \\ E_{\lambda_2} &= \varepsilon_{21} dc_{Ni^{2+}} + \varepsilon_{22} dc_{Cu^{2+}}. \end{aligned} \qquad (3.80)$$

Решениями этой системы являются неизвестные значения концентраций. При этом должны быть известны величины всех входящих в нее молярных коэффициентов поглощения. Их можно найти или из градуировочных зависимостей, построенных для отдельных компонентов, или методами многомерной градуировки (раздел 6.3).

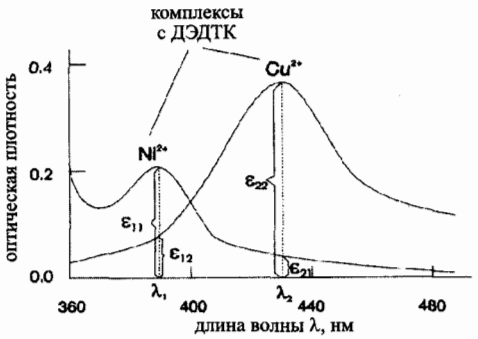


Рис. 3.89. Пример многокомпонентного анализа: одновременное фотометрическое определение меди и никеля с диэтилдитиокарбаматом натрия (ДЭДТК).

Отражательная спектроскопия

Зеркальное и диффузное отражение

В разделе, посвященном аппаратуре для молекулярного абсорбционного анализа, мы уже упоминали о принципиальной возможности анализа непрозрачных образцов (порошки, окрашенные поверхности) в отраженном свете (рис. 3.86). Говоря о явлении отражения света, следует различать зеркальное и диффузное отражение.

Зеркальное отражение происходит при освещении зеркальных поверхностей. Для него справедлив известный из геометрической оптики закон отражения света, рассмотренный ранее в разделе, посвященном основам спектроскопии.

При отражении света, падающего из воздуха ($n_1 = 1$) под прямым углом на поверхность твердого тела с коэффициентом преломления n_2, доля неполяризованного отраженного света (рис. 3.3) R равна

$$R = \left(\frac{n_2 - 1}{n_2 + 1}\right)^2. \qquad (3.81)$$

Если тело поглощает свет, интенсивность отраженного света увеличивается. В этом случае она зависит от коэффициента поглощения ε_λ и длины волны света:

$$R = \frac{(n_2 - 1)^2 + \left(\frac{\varepsilon_\lambda \cdot \lambda}{4\pi}\right)^2}{(n_2 + 1)^2 + \left(\frac{\varepsilon_\lambda \cdot \lambda}{4\pi}\right)^2}. \qquad (3.82)$$

В соответствии с уравнением (3.82) увеличение интенсивности отраженного света становится заметным лишь в том случае, если коэффициент поглощения достигает достаточно больших величин. Так, для видимого света ($\lambda \sim 500$ нм $= 5 \cdot 10^{-5}$ см) значение ε_λ должно быть не меньше, чем 10^4 см$^{-1}$. Такими значениями коэффициентов поглощения обладают, например, металлы или некоторые органические вещества в кристаллическом состоянии.

Если размер частиц меньше, чем длина волны света, то явления отражения, преломления и рассеяния света становятся неразличимыми. Единственным наблюдаемым явлением в этом случае будет *рассеяние* света — распространение излучения от поверхности непрозрачного тела во всех направлениях.

Рассеяние света будет равномерным, если частицы рассеивающих центров находятся близко друг к другу, как в случае тонкодисперсных порошков. Возникающее при этом явление называется *диффузным отражением*. Его мерой служит отношение интенсивностей рассеянного (I) и падающего (I_0) излучения:

$$R = \frac{I}{I_0}. \qquad (3.83)$$

Функция Кубелки–Мунка

При одновременном протекании процессов поглощения и рассеяния света величина диффузного отражения R достаточно сложным образом зависит от концентрации поглощающего компонента в образце. Однако ее можно привести к виду, очень похожему на уравнение Ламберта–Бера, с помощью специального

преобразования, называемого функцией Кубелки–Мунка:

$$F(R) = \frac{(1-R)^2}{2R} = \frac{K}{S} = \frac{\varepsilon_\lambda c}{S}. \qquad (3.84)$$

Это уравнение справедливо для толстых непрозрачных слоев — например, слоев тонкодисперсных кристаллических порошков толщиной не менее 1 мм. Интенсивность диффузно отраженного света обратно пропорциональна коэффициенту рассеяния S. Способность вещества к светопоглощению отражена в уравнении (3.84) в виде коэффициента K, который, в свою очередь, есть произведение коэффициента поглощения ε_λ на концентрацию поглощающих частиц c. Таким образом, величина $F(R)$ прямо пропорциональна концентрации. Значение коэффициента поглощения ε_λ находят путем градуировки.

Применение спектроскопии диффузного отражения

В результате измерения диффузного отражения получают *спектр диффузного отражения*, подобный спектру поглощения вещества в растворе. Эти спектры можно непосредственно использовать для идентификации твердых непрозрачных окрашенных образцов — пигментов, порошков, слоев краски, поверхностей металлов. На рис. 3.90 приведены спектры отражения кожуры бананов, которые можно использовать для оценки степени их зрелости.

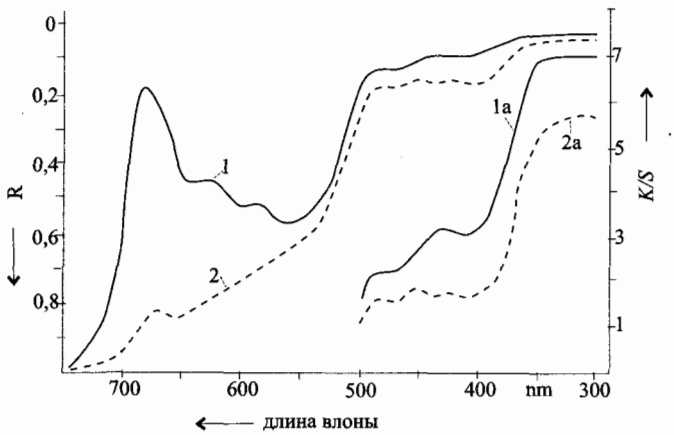


Рис. 3.90. Спектры диффузного отражения кожуры бананов различной степени зрелости (согласно Наумеру и Хеллеру). 1 — зеленые, 2 — зрелые бананы, в шкале R. 1а, 2а — то же, в шкале K/S.

Важная область применения отражательной спектроскопии — объективная оценка цвета различных предметов. Чтобы строго выдерживать окраску любых промышленных изделий, ее необходимо контролировать с помощью отражательной спектроскопии. На практике для этой цели используют также различные цветовые шкалы.

Нефелометрия: измерение степени помутнения

Одним из важных показателей качества воды является *мутность*. Для измерения мутности также можно использовать фотометрию. С этой целью измеряют

интенсивность света, рассеянного под прямым углом к падающему лучу. Стандарты мутности готовят на основе формазина — смеси сульфата гидразина и гексаметилентетрамина (уротропина, см. раздел 2.2).

Качественный анализ

В сочетании с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ, раздел 5.3.1) спектроскопия в УФ-видимой области применяется для *идентификации* и *оценки степени чистоты* органических веществ. Спектры регистрируют с помощью детекторов на основе диодной линейки. Их принципиальное устройство показано на рис. 3.84 (подробнее см. в разделе 5.3.1).

Как и для колебательных, для электронных молекулярных спектров существуют свои таблицы отнесения длин волн полос и соответствующие правила, с помощью которых можно получать информацию о структуре соединения. В частности, с помощью этих спектров можно:

- различать предельные и непредельные соединения, цис- и транс- конфигурации, отдельные таутомерные формы (кетонную, енольную), изолированные и сопряженные системы хромофорных группировок;
- идентифицировать полосы поглощения карбонильных групп по наличию плеча, обусловленного $n \rightarrow \pi^*$-переходом;
- распознавать ароматические системы;
- обнаруживать электронные эффекты, вызванные наличием различных заместителей.

Однако на практике использование спектроскопии в УФ-видимой области для структурного анализа играет довольно незначительную роль ввиду наличия других, гораздо более информативных в этом отношении методов — в первую очередь спектроскопии ЯМР (раздел 3.4).

3.3.3. Флуоресцентная и фосфоресцентная спектроскопия: различие — в продолжительности свечения

Теоретические основы

Последним из рассматриваемых нами методов оптической спектроскопии будет метод молекулярной люминесценции. Он подразделяется на методы флуоресцентной, фосфоресцентной и хемилюминесцентной спектроскопии. Первые два основаны на измерении интенсивности излучения, испускаемого в результате поглощения фотонов (*фотолюминесценция*). *Хемилюминесценция* — это процесс испускания света молекулами, возбужденными в ходе химической реакции. Такими молекулами являются не частицы определяемого компонента сами по себе, а продукты их химических превращений (например, окисления).

Механизмы возбуждения при флуоресценции и фосфоресценции

Явление флуоресценции можно наблюдать как для атомов, так и для молекул. Мы ограничимся рассмотрением лишь *молекулярной* флуоресценции (а также фосфоресценции).

Рассмотрим процесс возбуждения валентных электронов молекулы несколько подробнее, чем мы это делали ранее. Каждое энергетическое состояние валентных электронов (электронная орбиталь, рис. 3.79) дополнительно характеризуется набором уровней колебательной энергии. Взаимное расположение электронных и колебательных уровней можно представить графически в виде диаграммы Яблонского (рис. 3.91). На ней электронные уровни изображены более жирными, а колебательные (с колебательным квантовым числом v) — более тонкими линиями. Расстояние между колебательными уровнями уменьшается с ростом колебательного квантового числа.

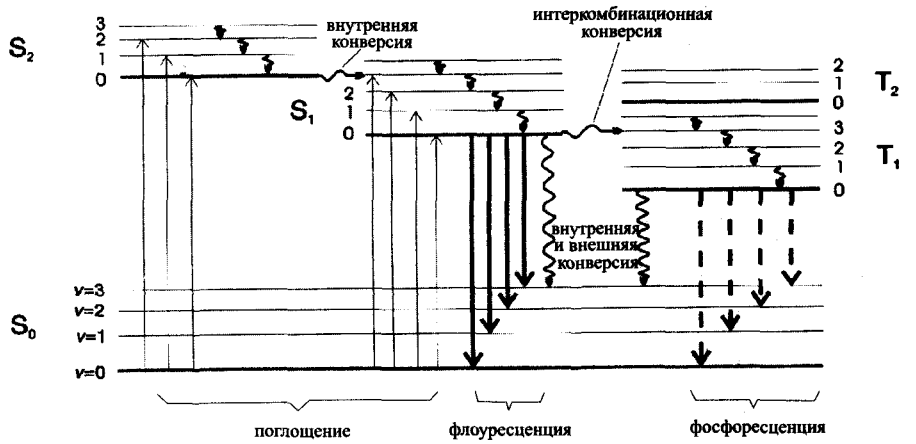


Рис. 3.91. Диаграмма Яблонского, поясняющая различные абсорбционные и эмиссионные переходы в молекуле.

Рассматривая электронные переходы в молекуле, следует различать синглетные (S_0, S_1, S_2) и триплетные (T_1, T_2) электронные состояния. В синглетных состояниях — основном (S_0) и возбужденных (S_1, S_2) — все спины электронов ориентированы антипараллельно, неспаренные электроны отсутствуют. В триплетных состояниях спины электронов ориентированы параллельно (рис. 3.92). Поэтому в синглетном состоянии молекула диамагнитна, а в триплетном — парамагнитна.

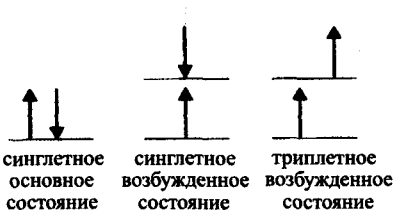


Рис. 3.92. Ориентация электронных спинов в синглетном и триплетном состояниях.

Основное состояние не может быть триплетным. В этом случае два электрона на одной орбитали имели бы одинаковые спиновые квантовые числа, что противоречит принципу Паули (никакие два электрона не могут иметь полный набор одинаковых квантовых чисел). По-

этому, если два электрона обладают параллельно ориентированными спинами, они должны находиться на разных орбиталях.

Время жизни электрона в возбужденном синглетном состоянии составляет 10^{-8}–10^{-5} с, а в триплетном — не менее 10^{-4} с. Таким образом, вероятность перехода между двумя синглетными состояниями намного выше, чем между синглетным и триплетным. Прямой переход из основного состояния S_0 в триплетное в результате поглощения фотона (длительность этого процесса порядка 10^{-15} с) практически невозможен и на диаграмме Яблонского (рис. 3.92) не изображен. Молекула может оказаться в триплетном состоянии только в результате переходов электронов с возбужденных синглетных состояний.

Рассмотрим в принципиальном плане различные механизмы возвращения молекулы из возбужденного состояния в основное.

Безызлучательные переходы

Чаще всего дезактивация молекулы (отдача энергии, затраченной на возбуждение) происходит без излучения. Дезактивация может происходить как в пределах одного электронного состояния, так и с изменением электронного состояния.

Дезактивация в пределах одного электронного состояния состоит в потере избытка колебательной энергии. Она может происходить в результате установления теплового равновесия или рассеяния энергии. В растворах эти процессы происходят при столкновении возбужденных молекул с молекулами растворителя. Таким образом, излучательный переход может происходить только с самого нижнего колебательного уровня.

Безызлучательная дезактивация с изменением электронного состояния может происходить в форме *внутренней конверсии* (рис. 3.91). Этот процесс происходит особенно интенсивно, если соответствующие электронные состояния близки по энергиям. Если конверсия происходит под воздействием внешних причин, например, взаимодействия с молекулой растворителя, она называется *внешней конверсией*.

При изменении электронного состояния может измениться спин. Такое явление называется *интеркомбинационной конверсией*. Вероятность этого процесса также резко возрастает в случае энергетической близости электронных состояний, например, перекрывания каких-либо колебательных уровней.

Излучательная дезактивация

Среди процессов дезактивации с излучением света различают флуоресценцию и фосфоресценцию.

Флуоресценция — это процесс излучательного перехода с низшего возбужденного синглетного состояния в основное ($S_1 \rightarrow S_0$). Длительность этого процесса составляет порядка 10^{-9}–10^{-7} с. В отличие от фосфоресценции (см. ниже), флуоресценция происходит в одну стадию. Как видно из диаграммы, изображенной на рис. 3.91, энергия фотона, испущенного в результате флуоресценции, ниже, чем энергия поглощенного фотона. Поэтому спектр флуоресценции молекулы находится в области более длинных волн по сравнению с ее же спектром поглощения (возбуждения). На рис. 3.93 приведено сравнение спектров поглощения

и флуоресценции молекул антрацена. Видно, что эти спектры зеркально симметричны друг другу. Причина состоит в схожести строения колебательных уровней энергии в основном и возбужденном состоянии (ср. рис. 3.91).

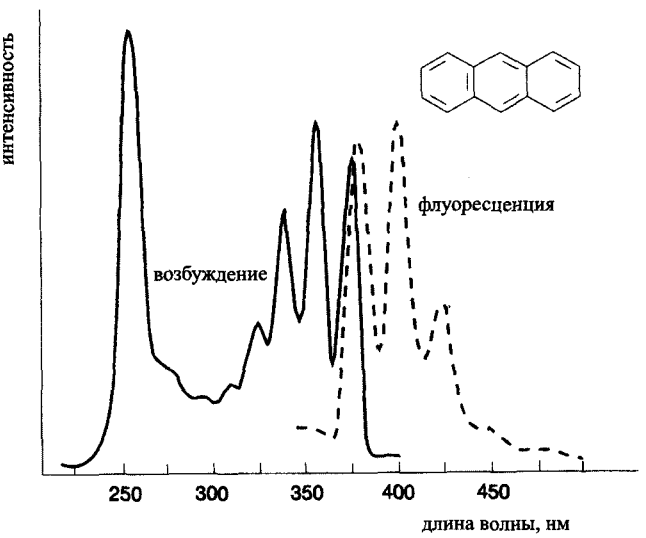


Рис. 3.93. Спектры возбуждения и флуоресценции антрацена.

Фосфоресценция обусловлена переходом из триплетного состояния. Как следует из диаграммы Яблонского (рис. 3.91), для осуществления фосфоресценции необходима предварительная интеркомбинационная конверсия. Длительность процесса фосфоресценции составляет от 10^{-3} до 10 с. Особенно длительное свечение наблюдается в случае биолюминесценции.

Количественный анализ

В люминесцентном методе анализа зависимость аналитического сигнала (интенсивности люминесценции) от концентрации вещества сложнее, чем в абсорбционном (закон Ламберта–Бера). Она зависит от квантового выхода люминесценции Q:

$$Q = \frac{\text{число испущенных фотонов}}{\text{число поглощенных фотонов}}. \qquad (3.85)$$

Для очень разбавленных растворов зависимость между интенсивностью люминесценции I и концентрацией c приближенно выражается как

$$I = QI_0\varepsilon dc, \qquad (3.86)$$

где I_0 — интенсивность внешнего источника света, а ε, d и c имеют те же значения, что и в формуле (3.79) выражения закона Ламберта–Бера. Важно отметить, что, в отличие от оптической плотности, интенсивность люминесценции прямо пропорциональна интенсивности источника света. Чем выше интенсивность источника, тем больше и аналитический сигнал.

По сравнению с методом абсорбционной спектроскопии люминесцентный метод характеризуется более широким динамическим диапазоном концентраций, достигающим трех порядков (от 10^{-7} до 10^{-4} М).

В то же время область линейности градуировочной зависимости (ее подчинения уравнению (3.86)) в люминесцентном методе невелика. С ростом концентрации (особенно при концентрациях выше 10^{-4} М) градуировочный график заметно отклоняется вниз. Причинами являются эффект концентрационного тушения люминесценции и самопоглощение.

Тушение люминесценции происходит в результате столкновения возбужденной молекулы с другими молекулами — особенно парамагнитными (растворенный кислород), которые стимулируют процессы интеркомбинационной конверсии. *Самопоглощение* состоит в поглощении части испускаемого света слоем люминесцирующего вещества.

Аппаратура в люминесцентном анализе

Прибор для измерения интенсивности флуоресценции отличается от абсорбционного спектрофотометра тем, что измерение происходит под углом (обычно прямым) к падающему лучу света. Поэтому кюветы должны быть прозрачными во всех направлениях.

Высококачественный флуоресцентный спектрометр включает в себя два монохроматора. Это позволяет независимо регистрировать и спектр возбуждения, и спектр флуоресценции (рис. 3.94).

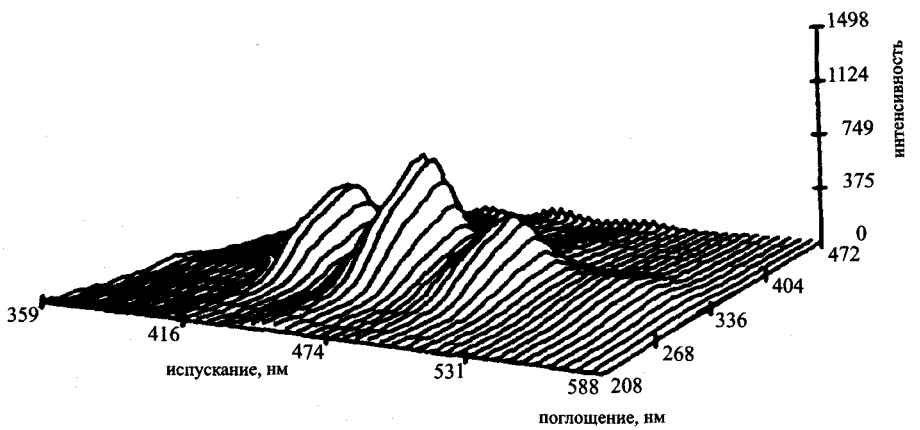


Рис. 3.94. Трехмерный спектр возбуждения и флуоресценции антрацена.

Для регистрации фосфоресценции необходимы еще два дополнительных устройства. Одно из них — механический или электронный прерыватель, позволяющий облучать пробу очень короткими импульсами и тем самым отделить длительное фосфоресцентное свечение от кратковременного флуоресцентного. Кроме того, фосфоресценция обычно наблюдается лишь при очень низких температурах (при повышении температуры происходят интенсивные процессы дезактивации триплетного состояния вследствие столкновений между молекулами). Поэтому фосфоресцентный спектрометр, как правило, включает в себя и устройство для охлаждения пробы до температуры жидкого азота.

Практическое применение

Число флуоресцирующих веществ весьма ограничено. Особенно интенсивной флуоресценцией обладают конденсированные полиароматические системы такие, как в молекулах антрацена, флуоресцеина или флуорена (рис. 3.95). Для флуорена квантовый выход близок к 1 (в то время, как, например, для дифенила — лишь 0,2). Часто интенсивность флуоресценции возрастает в результате комплексообразования с ионом металла, например, в случае образования комплекса Li^+ с 8-оксихинолином (рис. 3.95).

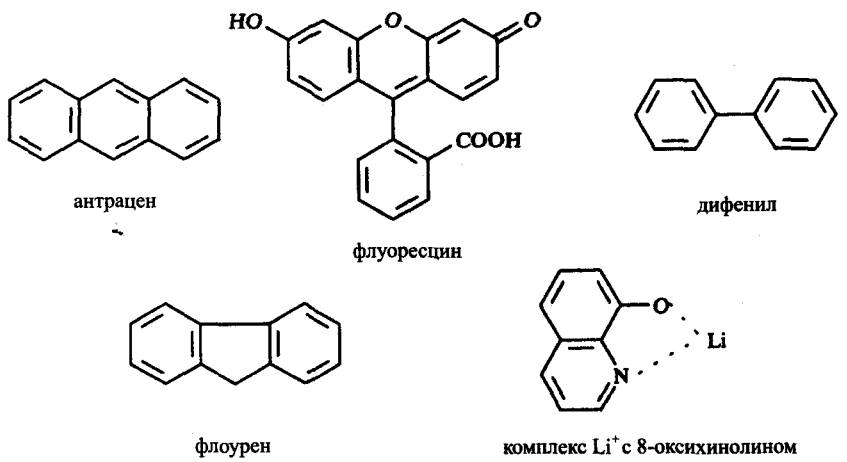


Рис. 3.95. Некоторые флуоресцирующие вещества.

Из рис. 3.95 можно заключить, что флуоресцентный метод применим для непосредственного определения некоторых органических веществ. С его помощью можно контролировать чистоту природных вод, поскольку среди органических загрязнителей, как правило, всегда имеются флуоресцирующие.

Использование флуоресцирующих органических реагентов таких, как 8-оксихинолин, позволяет определять и ионы металлов. Пределы обнаружения в этих случаях находятся на уровне пикограммов в литре. Селективность флуоресцентных методов часто выше, чем абсорбционных фотометрических. В табл. 3.25 приведены примеры использования органических люминесцентных реагентов.

Таблица 3.25. Методы флуоресцентного определения неорганических ионов.

Ион	Реагент	Длина волны, нм		Предел обнаружения, нг/л	Мешают
		возбужд.	флуор.		
Al^{3+}	морин	420	488	0,03	Be, Fe, Cu, F^-
F^-	комплекс Al с морином (тушение)	420	488	0,01	Be, Fe, Cu
$B_4O_7^{2-}$	бензоин	370	450	0,04	Be, Sb, NH_3
Sn^{4+}	флаванол	400	470	0,1	Zr, F^-, PO_4^{3-}
Li^+	8-оксихинолин	370	570	0,2	Mg

Фосфоресценцию используют для количественного анализа крайне редко, несмотря на то, что фосфоресцентный метод, как правило, селективнее флуоресцентного. Причины состоят в низких точностных характеристиках фосфоресцентного метода и необходимости использования низких температур. Известны методики фосфоресцентного определения ряда органических и биологических соединений — пестицидов, аминокислот, нуклеиновых кислот. Для некоторых соединений, содержащих ароматические системы с заместителями — тяжелыми атомами (бром, иод), способность к фосфоресценции выражена даже сильнее, чем к флуоресценции.

Хемилюминесценция

Хемилюминесцентное излучение наблюдается тогда, когда в ходе химической реакции образуется возбужденная молекула, способная люминесцировать при переходе в основное состояние. Это явление наблюдается и в биологических системах и называется в этих случаях *биолюминесценцией*. Рассмотрим хемилюминесцентную реакцию, применяемую для определения оксида азота NO:

$$NO + O_3 \rightarrow NO_2^* + O_2,$$

$$NO_2^* \rightarrow NO_2 + h\nu.$$

Для выполнения анализа требуется лишь измерить интенсивность возникающего люминесцентного излучения с помощью ФЭУ. Поскольку единственным источником излучения в этом случае является химическая реакция, разложения света в спектр не требуется. В рассмотренном примере интервал длин волн испускаемого света составляет 600–2800 нм. Реагент — озон — генерируют электрохимически и смешивают с анализируемой пробой.

Практически важное значение имеет и определение самого озона с помощью хемилюминесцентной реакции. Реагент — краситель родамин В — иммобилизуют на поверхности силикагеля. Методика позволяет определить до 1 части озона на миллиард.

3.4. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР)

Метод ядерного магнитного резонанса, сокращенно обозначаемый как ЯМР, основан на использовании электромагнитного излучения в радиочастотной области (см. рис. 3.1). В отличие от всех рассмотренных ранее спектроскопических методов, здесь происходит возбуждение атомных ядер. Энергии радиочастотного излучения самой по себе недостаточно для возбуждения атомных ядер. Однако при наложении внешнего магнитного поля уровни энергии ядер расщепляются, и в этом случае для возбуждения может быть использовано радиочастотное излучение.

Спектроскопия ЯМР — важнейший метод *определения структуры* органических молекул, включая биоорганические. Ее можно использовать и для установления структуры неорганических соединений, а также для количественного анализа.

Теоретические основы

Возбуждение ядер в магнитном поле

Большинство атомных ядер обладает собственным моментом импульса или **ядерным спином** p. Он характеризует *магнитный момент* ядра. Ядерный спин квантуется в соответствии с соотношением

$$p = \sqrt{I(I+1)} \cdot \frac{h}{2\pi}, \tag{3.87}$$

где h — постоянная Планка (уравнение (3.6)), а I — *спиновое квантовое число*.

Наиболее важные для спектроскопии ЯМР ядра ^{1}H, ^{13}C, ^{19}F и ^{31}P имеют ядерный спин, равный 1/2. Существуют и ядра с более высокими спинами, например, 3/2 для ^{11}B и 5/2 для ^{17}O. Спины некоторых ядер приведены в табл. 3.26. Следует обратить внимание, что в таблице не упоминаются изотопы ^{12}C и ^{16}O, составляющие основную долю природных углерода и кислорода. Спины этих ядер равны нулю. Они не обладают магнитным моментом и непригодны для спектроскопии ЯМР.

Магнитный момент ядра μ пропорционален его моменту импульса:

$$\mu = \gamma p. \tag{3.88}$$

Коэффициент пропорциональности γ называется *гиромагнитным отношением*. Он имеет размерность Тл/с (тесла на секунду) и свое значение для каждого ядра (табл. 3.26).

Таблица 3.26. *Свойства наиболее важных для спектроскопии ЯМР ядер.*

Изотоп	Спин	Распространенность в природе, %	Гиромагнит. отношение γ, 10^7 Тл/с	Относительная чувствительность ($B_0 = 4,69$ Тл)	Частота ЯМР, МГц ($B_0 = 2,349$ Тл)
^{1}H	1/2	99,98	26,752	1,00	100,0
^{10}B	3	19,6	2,875	0,020	10,747
^{11}B	3/2	80,4	8,584	0,165	32,084
^{13}C	1/2	1,11	6,728	0,016	25,144
^{14}N	1	99,634	1,934	0,001	7,224
^{15}N	1/2	0,366	−2,712	0,001	10,133
^{17}O	5/2	0,038	−3,628	0,029	13,557
^{19}F	1/2	100,0	25,181	0,833	94,077
^{29}Si	1/2	4,67	−5,319	0,008	19,865
^{31}P	1/2	100,0	10,841	0,066	40,481

Как мы уже упоминали, без *внешнего магнитного поля* расщепления уровней энергии ядер не наблюдается. В магнитном поле с плотностью магнитного потока B_0 потенциальная энергия ядра равна

$$E = -\frac{\gamma m h}{2\pi} B_0, \tag{3.89}$$

где m — *магнитное квантовое число*, которое может принимать значения I, $I-1$, $I-2$, ... $-I$. Таким образом, в результате расщепления в магнитном поле всего имеется $(2I+1)$ уровней энергии ядра. Они называются зеемановскими

ядерными уровнями (напомним, что эффекта расщепления энергетических уровней в магнитном поле мы уже касались при обсуждении атомно-абсорбционной спектроскопии, раздел 3.2.1).

Для наиболее важного в практическом отношении случая $I = 1/2$ возможны лишь два значения m, равные $+1/2$ и $-1/2$. Соответствующие энергии равны

$$E_{+1/2} = -\frac{\gamma h}{4\pi} B_0 \quad \text{и} \quad E_{-1/2} = \frac{\gamma h}{4\pi} B_0. \tag{3.90}$$

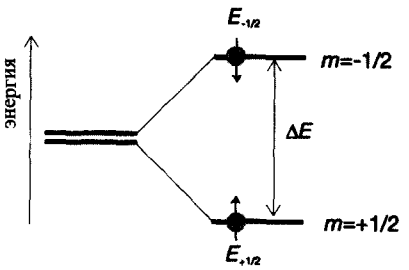


Рис. 3.96. Зеемановское расщепление уровней энергии ядра в магнитном поле.

Разность энергии этих уровней (рис. 3.96) равна

$$\Delta E = \frac{\gamma h}{2\pi} B_0. \tag{3.91}$$

Эта разность энергии связана с частотой поглощаемого или испускаемого излучения обычным образом (уравнение (3.6)):

$$\Delta E = h\nu_0.$$

Таким образом, при поглощении или испускании электромагнитного излучения существует следующее соотношение между частотой излучения и плотностью магнитного потока:

$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi}. \tag{3.92}$$

В табл. 3.27 приведены соотношения между наиболее часто используемыми в спектрометрах частотами излучения и соответствующими величинами плотности магнитного потока для ядер ^{1}H и ^{13}C.

Таблица 3.27. Частоты измерений и соответствующие плотности магнитного потока в спектроскопии ЯМР ^{1}H и ^{13}C.

B_0, Тл	Частота измерения, МГц	
	^{1}H	^{13}C
1,41	60	15,1
1,88	80	20,1
2,11	90	22,63
2,35	100	25,15
4,70	200	50,3
5,87	250	62,9
7,05	300	75,4
9,40	400	100,6
11,74	500	125,7
14,09	600	150,9

Заселенность энергетических уровней

Относительную заселенность энергетических уровней описывает фундаментальное уравнение Больцмана (3.23). Подставив в него значение разности энергий

спиновых ядерных уровней в магнитном поле (уравнение (3.91)), получаем:

$$\frac{N^*}{N_0} = \exp\left(-\frac{\Delta E}{kT}\right) = \exp\left(-\frac{\gamma h B_0}{2\pi kT}\right) \approx 1 - \frac{\gamma h B_0}{2\pi kT}, \qquad (3.93)$$

где N^* и N_0 — числа ядер на верхнем и нижнем уровнях энергии, k и T — постоянная Больцмана и абсолютная температура, соответственно.

В отличие от всех рассмотренных ранее спектроскопических методов, в спектроскопии ЯМР заселенности верхнего и нижнего энергетических уровней *практически одинаковы*. Например, для протонов в условиях резонанса ($B_0 = 4,69$ Тл, 20^0C, частота 200 МГц)

$$\frac{N^*}{N_0} = \exp\left(-\frac{26{,}8\cdot10^7\ \text{Тл}^{-1}\text{с}^{-1}\cdot6{,}63\cdot10^{-34}\ \text{Дж}\cdot\text{с}\cdot4{,}69\ \text{Т}}{6{,}28\cdot1{,}38\cdot10^{-23}\ \text{Дж}\cdot\text{К}^{-1}\cdot293\ \text{К}}\right) = 0,999967.$$

На каждый миллион протонов, находящихся в возбужденном состоянии, приходится

$$N_0 = \frac{1\cdot10^6}{0,999967} = 1,000033\cdot10^6$$

протонов в основном состоянии. Таким образом, число протонов в основном состоянии лишь на 33 миллионных доли больше, чем в возбужденном. Лишь благодаря столь ничтожной разнице вообще возможно поглощение внешнего излучения и регистрация сигнала.

Из уравнения (3.93) следует, что отношение заселенностей уровней косвенно зависит от величины приложенного магнитного поля. Чем оно выше, тем отношение заселенностей меньше и, следовательно, тем больше ядер находятся в основном состоянии и могут быть возбуждены. В результате чувствительность метода возрастает. Этим обстоятельством объясняется современная тенденция к созданию приборов, использующих все более сильные магнитные поля.

Условие магнитного резонанса

Как можно представить себе поведение ядра в магнитном поле? Простейшим наглядным образом может служить вращающийся *гироскоп*, отклоняемый под действием внешней силы. Такую силу создает магнитное поле, направленное вдоль «оси вращения» ядра. В результате отклонения этой оси происходит *прецессия* (рис. 3.97). В отличие от обычного гироскопа, угол этой прецессии θ строго определен и, например, для протонов составляет 54°44′.

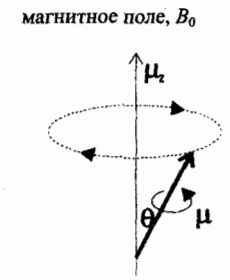


Рис. 3.97. Прецессия вращающегося магнитного ядра под действием магнитного поля.

Частота прецессии ядра называется *ларморовой частотой*. Ее можно рассчитать по уравнению (3.92).

Магнитный момент ядра может располагаться вдоль или противоположно направлению магнитного поля. Разность энергий этих двух состояний непосредственно связана с величиной угла прецессии (рис. 3.97):

$$E = -\mu_z B_0 = -\mu B_0 \cos\theta. \qquad (3.94)$$

Для переходов между ядерными магнитными состояниями правило отбора заключается в том, что $\Delta m = \pm 1$.

На рис. 3.98 схематически изображено распределение ядер со спином 1/2 между двумя энергетическими состояниями. Заселенность основного состояния (в котором магнитные моменты ориентированы вдоль поля) выше, чем возбужденного.

Процессы релаксации

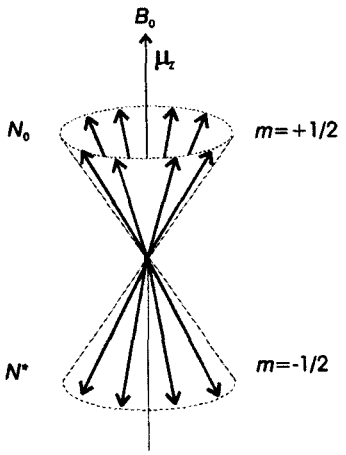


Рис. 3.98. Двойной конус прецессии для ядра со спином 1/2.

В результате поглощения электромагнитного излучения ядра, находившиеся в основном состоянии, переходят в возбужденное. Поскольку исходная разница в заселенности уровней незначительна, в результате поглощения фотонов заселенности могут выравняться. При этом наступает явление *насыщения* спиновой системы, и никакой сигнал больше не регистрируется. Очевидно, что для обеспечения возможности измерения сигнала скорость *релаксации* ядер (их возврата в основное состояние) должна быть сравнима или выше, чем скорость поглощения фотонов. Оптимальное время жизни возбужденного состояния составляет 0,1–10 с.

Релаксация ядер может происходить путем *безызлучательной* передачи энергии окружающей среде. При этом число частиц в основном состоянии возрастает. По традиции окружение ядер в спектроскопии магнитного резонанса называют *решеткой* вне зависимости от агрегатного состояния объекта (твердое, жидкое или газообразное). Поэтому такой механизм релаксации называется *спин-решеточным*. В результате спин-решеточной релаксации энергия возбуждения ядер переходит в тепловую. Кинетика процесса спин-решеточной релаксации имеет первый порядок (см. раздел 2.7). Для его описания вместо константы скорости k (уравнение (2.174)), как правило, используют обратную величину $T_1 = 1/k$, называемую временем спин-решеточной релаксации.

Малые значения T_1 наблюдаются для решеток с высокой подвижностью — газообразных, жидких. В твердых телах и вязких жидкостях величины T_1 выше.

Помимо спин-решеточной, существует *спин-спиновая* релаксация. Она осуществляется путем обмена энергией между ядерными спинами. При этом общая спиновая энергия системы ядер не изменяется. Скорость спин-спиновой релаксации характеризует время T_2.

Для жидких сред времена T_1 и T_2 сравнимы по величине. Для твердых тел и вязких жидкостей величины (T_2 менее 10^{-4} с) значительно меньше, чем T_1.

Импульсная ЯМР-спектроскопия

Применительно к спектроскопии ЯМР обычный способ регистрации спектров путем непрерывного изменения частоты электромагнитного излучения (или, в данном случае — магнитного поля, см. уравнение (3.92)) приводит к достаточно низким значениям отношения сигнал–шум. Для увеличения этого отноше-

ния в современных ЯМР-спектрометрах часто используют особый прием облучения пробы кратковременными импульсами радиочастотного излучения. Длительность импульса τ составляет порядка 10 мкс, а промежуток между импульсами T — от 1 до 10 с (рис. 3.99).

В течение времени T измеряют затухающий сигнал в направлении, перпендикулярном приложенному магнитному полю. Такой метод измерения называют методом *спада свободной индукции*. Для увеличения отношения сигнал–шум регистрацию спектра повторяют многократно, а полученные сигналы суммируют (накапливают). При этом получают спектр ЯМР во временном представлении. Чтобы превратить полученные данные в обычный спектр ЯМР (в частотном представлении), используют *преобразование Фурье* (раздел 6.2).

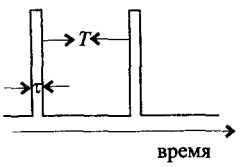


Рис. 3.99. Последовательность импульсов радиочастотного излучения в импульсной ЯМР-спектроскопии.

Рассмотрим подробнее, что же происходит после наложения импульса (рис. 3.100). Первоначально ядра, прецессирующие вокруг оси z, направленной вдоль магнитного поля, обладают статической намагниченностью M, направленной вдоль той же оси (рис. 3.100 (а)). Ориентация моментов отдельных ядер случайная. Все они вращаются с одной и той же ларморовой частотой (уравнение (3.92)).

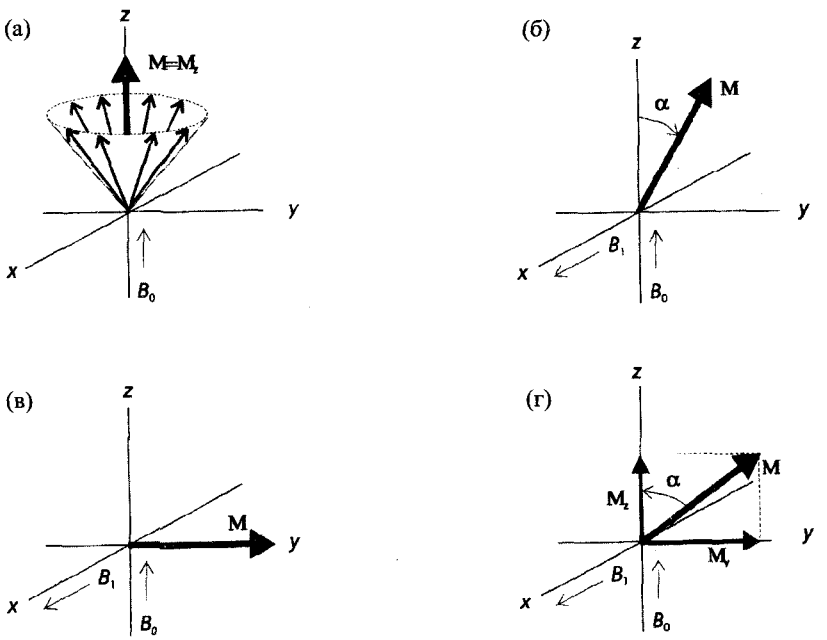


Рис. 3.100. Изменение намагниченности ядер при наложении 90^0-импульса. (а) Статическая намагниченность ядер вдоль оси z. (б) Поворот вектора намагниченности на угол α в течение действия импульса. (в) Поворот вектора на 90^0. (г) Релаксация после прекращения действия импульса.

При наложении импульса вдоль оси x (B_1) возникает намагниченность, направленная вдоль оси y (рис. 3.100 (б)). Вектор результирующей намагниченности отклоняется от первоначального направления на угол α, величина которого зависит от продолжительности импульса:

$$\alpha = \gamma B_1 \tau. \tag{3.95}$$

Обычно продолжительность импульса выбирают таким образом, чтобы угол α составлял 90° (рис. 3.100 (в)). После прекращения импульса ядра начинают релаксировать, в результате чего по прошествии некоторого времени вектор намагниченности M возвращается в исходное состояние. При этом намагниченность вдоль оси z увеличивается, а вдоль оси y — уменьшается (рис. 3.100 (г)).

Изменение намагниченности вдоль оси z соответствует процессу *спин-решеточной релаксации*. Поскольку эта релаксация происходит в направлении вдоль магнитного поля, ее еще называют *продольной*.

Спин-спиновая релаксация является *поперечной*. Для понимания этого процесса рассмотрим, вслед за основоположником метода ЯМР Блохом, вспомогательную систему координат, вращающуюся вдоль оси z с ларморовой частотой (рис. 3.101). В момент прекращения импульса $M_z = 0$, все энергетические уровни заселены одинаково, а все спины прецессируют с одной и той же частотой и в одной и той же фазе (когерентно). Однако из-за неоднородности магнитного поля когерентность нарушается — индивидуальные магнитные спины начинают «разбегаться», и поперечная намагниченность (вдоль оси y) уменьшается, пока не исчезнет совсем. Полная же энергия спиновой системы при этом остается неизменной.

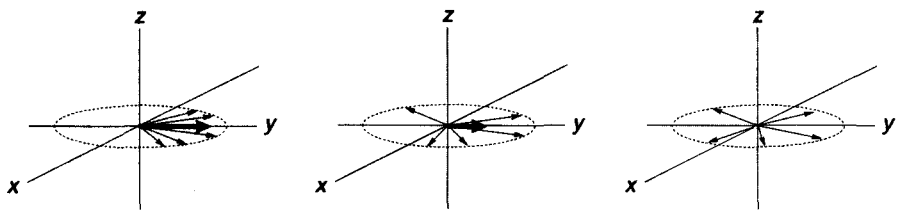


Рис. 3.101. Процесс релаксации поперечной намагниченности ядер в плоскости xy.

Измерить поперечную намагниченность M_y можно с помощью детектора, ориентированного вдоль оси x. На рис. 3.102 изображены спектры ЯМР ^{1}H иодистого метила, зарегистрированные методом спада свободной индукции. Первоначально спектр регистрируют в шкале времени. После преобразования Фурье получается спектр в обычном виде (в шкале частот).

Химический сдвиг

Под влиянием химического окружения ядер частоты магнитного резонанса несколько смещаются. Причина этого явления состоит в воздействии дополнительных магнитных полей, индуцируемых в окружающих электронах и ядрах. Эти магнитные поля направлены противоположно внешнему магнитному полю и как бы «экранируют» ядро от него. Таким образом, результирующее магнитное поле

B_{eff} отличается от внешнего поля B_0 на величину индуцированного поля σB_0:

$$B_{eff} = B_0 - \sigma B_0 = (1 - \sigma)B_0. \qquad (3.96)$$

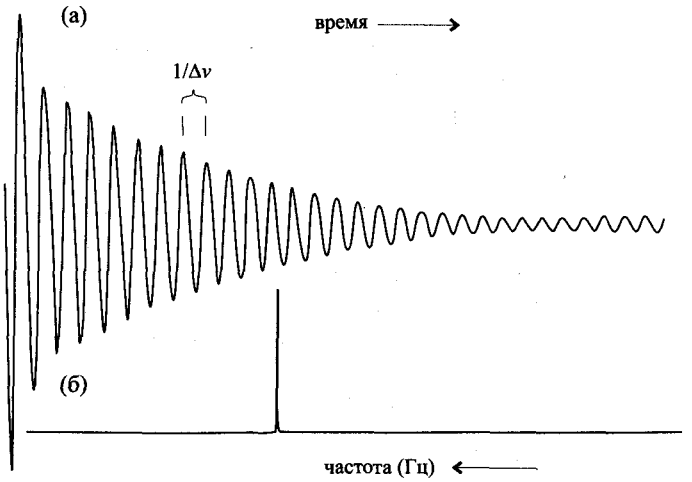


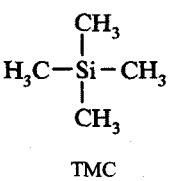
Рис. 3.102. Спектр ЯМР иодистого метила (частота 90 МГц) в шкале времени (а) и частот (б) (согласно Фриболину).

Величина σ называется *константой экранирования*. С учетом явления экранирования условие резонанса (см. формулу (3.92)) выглядит как

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0(1 - \sigma). \qquad (3.97)$$

Чем больше величина σ, тем сильнее экранировано ядро от внешнего магнитного поля, тем больше — при постоянной частоте — должно быть внешнее поле, чтобы наблюдался резонанс. Если же сила магнитного поля постоянна, то чем больше экранировано ядро, тем меньше резонансная частота.

Поскольку резонансная частота ν и сила магнитного поля B_0 взаимосвязаны (уравнение (3.92)), то удобно представлять спектр ЯМР не в абсолютных величинах ν или B_0, а в относительных единицах. Для построения такой относительной шкалы в качестве начала отсчета используют сигнал какого-либо стандартного вещества. В спектроскопии ЯМР ^{1}H и ^{13}C им обычно служит *тетраметилсилан* (ТМС). Он дает единственный сигнал ЯМР, поскольку все его двенадцать протонов (и четыре атома углерода) эквивалентны. При этом в молекуле ТМС они экранированы сильнее, чем в большинстве других органических соединений. ТМС можно непосредственно добавлять к пробе в качестве внутреннего стандарта. Поскольку температура кипения ТМС составляет всего 26,5°C, после проведения анализа его легко можно удалить из пробы.



ТМС

Для определения химического сдвига ядер следует измерить разность между величинами B для изучаемого ядра X и ТМС:

$$\Delta B = B(\text{X}) - B(\text{ТМС}). \qquad (3.98)$$

При использовании шкалы частот ν поступают аналогично:

$$\Delta\nu = \nu(\text{X}) - \nu(\text{ТМС}) = \frac{\gamma}{2\pi}\Delta B. \qquad (3.99)$$

Полученную разность преобразуют в безразмерную относительную величину. Она и называется *химическим сдвигом* δ. При использовании ТМС в качестве стандарта

$$\delta(\text{X}) = 10^6\frac{\Delta\nu}{\nu} \quad \text{и} \quad \delta(\text{ТМС}) = 0. \qquad (3.100)$$

Спектр ЯМР представляют в виде зависимости интенсивности сигнала от безразмерного значения химического сдвига, выраженного в миллионных долях (м.д.). В соответствии с традицией величины химических сдвигов возрастают справа налево.

Значения химических сдвигов не зависят от используемой частоты и абсолютных значений напряженности магнитного поля. Она является характеристической величиной для данного ядра в данном химическом окружении. В спектроскопии ЯМР ^{1}H величины химических сдвигов обычно составляют от 0 до 10, а в спектроскопии ЯМР ^{13}C — от 0 до 220 (в отдельных случаях до 400) м.д.

На рис. 3.103 показан спектр ЯМР ^{1}H для бромоформа, бромистого метилена и бромистого метила. Резонансная частота для неэкранированного протона в этих условиях равна 90 МГц. Измеренные частоты составляют 90 000 237 Гц для CH_3Br, 90 000 441 Гц для CH_2Br_2 и 90 000 614 Гц для $CHBr_3$. Отсюда, в соответствии с уравнением (3.100), химический сдвиг для протонов CH_3Br составляет

$$\delta_{\text{H}} = 10^6\frac{237}{90\cdot 10^6} = 2{,}63$$

(и аналогично для других соединений).

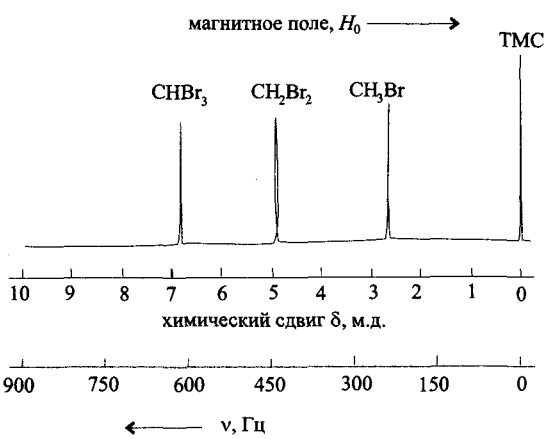


Рис. 3.103. Спектры ЯМР ^{1}H (90 МГц) для CH_3Br, CH_2Br_2 и $CHBr_3$.

При более детальном рассмотрении эффектов экранирования ядер следует различать диамагнитную, парамагнитную и анизотропную составляющие. *Диамагнитная* составляющая экранирования возникает за счет магнитного поля, индуцируемого в электронной оболочке под действием внешнего поля и напра-

вленного противоположно ему. Близкие к ядру электроны экранируют сильнее, чем удаленные.

Диамагнитная составляющая экранирования уменьшается с ростом электроотрицательности элемента. Это можно наблюдать на примере величин химических сдвигов протонов в молекулах метилгалогенидов CH_3X. Значения δ (м.д.) составляют 2,16 для X = I, 2,68 для X = Br, 3,05 для X = Cl и 4,26 для X = F. Наиболее электроотрицательный атом — фтор — сильнее всего оттягивает электроны от ядра, в результате чего ядро наименее экранировано, а сигнал находится в области наиболее слабых полей (соответственно, наиболее высоких частот). Для наименее электроотрицательного элемента — иода — сигнал находится в области наиболее сильных полей (что соответствует наименьшей величине δ).

Парамагнитная составляющая экранирования обусловлена возбуждением *p*-электронов под действием магнитного поля. Ее действие направлено противоположно действию диамагнитной составляющей. В спектроскопии протонного магнитного резонанса она не играет никакой роли. В спектроскопии же ядер ^{13}C этот эффект является основным.

Наконец, рассмотрим *анизотропную* составляющую экранирования. Для соединений с двойными и тройными связями величины химических сдвигов протонов не могут быть объяснены действием одних лишь локальных диамагнитных эффектов. Так, для протонов бензола химический сдвиг составляет 7,3 м.д., т. е. сигнал находится в области слишком слабых полей. Подобное явление связано с анизотропией магнитных свойств молекулы бензола. В плоскости бензольного кольца под воздействием внешнего магнитного поля индуцируется кольцевой ток, формирующий собственное магнитное поле. При этом в области пространства внутри бензольного кольца оно направлено противоположно внешнему полю (рис. 3.104). Вне кольца, т. е. как раз в области расположения протонов, оно действует в направлении внешнего поля. Таким образом, внешнее магнитное поле усиливается, а химический сдвиг протонов — возрастает.

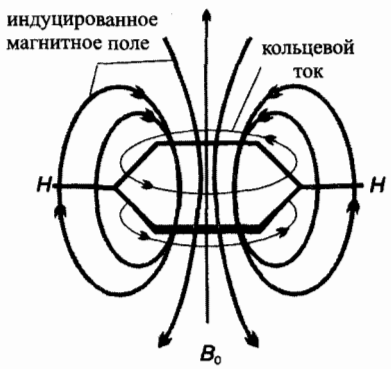


Рис. 3.104. Взаимодействие внешнего магнитного поля с кольцевым током в молекуле бензола.

Аналогичные явления, приводящие к увеличению значений δ, наблюдаются в любых молекулах, содержащих кратные связи. Для протонов в молекуле этилена $\delta = 5,8$ м.д., ацетилена — 2,9 м.д., в то время как для этана — лишь 0,9 м.д.

Спин-спиновое взаимодействие

В спектрах ЯМР высокого разрешения можно наблюдать много деталей, связанных с различными дополнительными взаимодействиями частиц в молекуле. К ним в первую очередь следует отнести взаимодействия между *ядерными спинами*. Они, как правило, передаются по системе *химических связей*. В спектрах

ЯМР твердых тел можно наблюдать и эффекты, вызванные прямым взаимодействием спинов через пространство.

Эффекты спин-спинового взаимодействия накладываются на эффекты экранирования (химические сдвиги) и проявляются в форме расщепления сигнала на несколько линий. Величина спин-спинового взаимодействия не зависит от силы внешнего магнитного поля и характеризуется *константой спин-спинового взаимодействия* J (Гц).

В спектрах замещенных метанов (рис. 3.103) не наблюдается никакого расщепления сигналов. Однако в спектре замещенного этана (бромистого этила) наблюдается типичный эффект расщепления линий, вызванный спин-спиновым взаимодействием протонов (рис. 3.105).

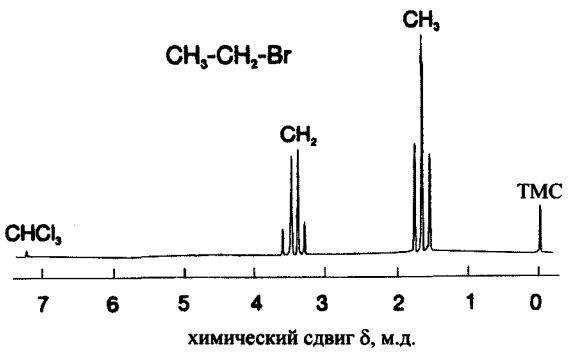
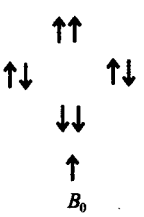


Рис. 3.105. Спектр ЯМР ^{1}H раствора бромистого этила в дейтерохлороформе (система A_3X_2, константа взаимодействия $J = 7{,}5$ Гц).

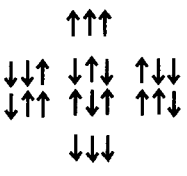


На рис. 3.105 сигнал протонов метильной группы состоит из трех компонент с соотношением интенсивностей 1 : 2 : 1, а метиленовой — из четырех компонент с соотношением 1 : 3 : 3 : 1. Происхождение такой структуры спектра состоит в следующем. Каждый из эквивалентных протонов *метильной* группы взаимодействует с двумя протонами метиленовой группы. При этом существуют четыре возможности для ориентации спинов метиленовых протонов.

Если оба спина ориентированы противоположно внешнему магнитному полю, то действие поля ослабляется. В этом случае сигнал наблюдается в области более сильных полей (при меньшем значении δ). Наоборот, спины, ориентированные в направлении поля, усиливают его действие. В случае антипараллельной ориентации спинов (один — вдоль, другой — противоположно полю) их влияние отсутствует. Существуют две равноценные возможности для такой ориентации, поэтому соответствующий сигнал имеет вдвое большую интенсивность.

Протоны *метиленовой* группы взаимодействуют с тремя протонами метильной группы. Возможные ориентации спинов метильных протонов изображены на следующей странице.

С помощью рассуждений, аналогичных вышеприведенным, легко заключить, что сигнал метиленовой группы будет состоять из четырех компонент. При этом интенсивности двух средних компонент втрое выше, чем крайних.



Для расщепленных (мультиплетных) сигналов за величину химического сдвига принимают *среднее взвешенное* (центр тяжести) химических сдвигов отдельных компонент. В рассматриваемом случае

$$\delta_{CH_3} = 1,67 \quad \text{и} \quad \delta_{CH_2} = 3,43.$$

Константа спин-спинового взаимодействия в обоих случаях равна $J = 7,5$ Гц.

В общем случае при взаимодействии спинов в молекуле, содержащей n ядер типа A и m ядер типа X (обозначение A_nX_m) мультиплетность сигналов составляет

$$\begin{aligned} &\text{для ядер A:} && m \cdot 2I_X + 1, \\ &\text{для ядер X:} && n \cdot 2I_A + 1, \end{aligned} \tag{3.101}$$

где I_X и I_A означают спины ядер X и A соответственно. При $I_X == I_A = 1/2$ в спектрах наблюдаются (табл. 3.28)

$(m + 1)$ линий для ядер A,

$(n + 1)$ линий для ядер X.

Однако эти простые соотношения справедливы только для так называемых спектров первого порядка. Эти спектры наблюдаются в случае, если разность частот $\Delta\nu$ для сигналов A и X (точнее, их центров тяжести) по меньшей мере в 10 раз превосходит величину константы спин-спинового взаимодействия. В противном случае наблюдаются спектры более высоких порядков. Их интерпретация существенно сложнее и выходит за рамки предмета этой книги.

Таблица 3.28. Структура мультиплетных сигналов в спектрах ЯМР первого порядка для ядер со спином $I = 1/2$.

Число соседних взаимодействующих ядер	Мультиплетность	Отношение интенсивностей компонент
0	синглет (1)	1
1	дублет (2)	1 : 1
2	триплет (3)	1 : 2 : 1
3	квартет (4)	1 : 3 : 3 : 1
4	квинтет (5)	1 : 4 : 6 : 4 : 1
5	секстет (6)	1 : 5 : 10 : 10 : 5 : 1
6	септет (7)	1 : 6 : 15 : 20 : 15 : 6 : 1

Независимость константы спин-спинового взаимодействия от силы внешнего магнитного поля позволяет легко отличить две компоненты мультиплетного сигнала от двух сигналов с близкими, но различными химическими сдвигами: при изменении поля взаимное расположение первых, в отличие от вторых, не изменяется. Интерпретация спектров ЯМР тем проще, чем сильнее магнитное поле: с увеличением силы поля химические сдвиги (в абсолютной шкале частот) увеличиваются, и сигналы отстоят все дальше друг от друга.

Для взаимодействий протон–протон величины константы спин-спинового взаимодействия составляют от -20 до 20 Гц. Для взаимодействий между другими

ядрами эти значения обычно выше. Так, константа взаимодействия между спинами ^{13}C и ^{1}H в молекуле ацетилена равна 250 Гц.

Устройство ЯМР-спектрометра

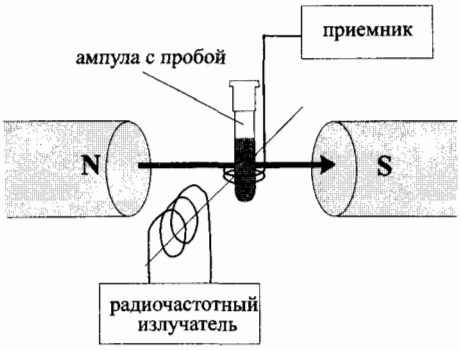


Рис. 3.106. Схема устройства ЯМР-спектрометра.

Спектрометр ЯМР состоит из держателя пробы, магнита, одного или нескольких радиочастотных излучателей и приемника радиочастотного излучения (рис. 3.106).

Образец помещают в небольшую пробирку или ампулу и располагают между полюсами магнита. Для обеспечения однородности поля ампулу вращают вокруг вертикальной оси. Как правило, изучаемое вещество растворяют в растворителе с малой вязкостью. Распространенными растворителями являются CCl_4, CS_2 и *дейтерированные растворители* — дейтерохлороформ $CDCl_3$, дейтеробензол C_6D_6. С помощью специальной аппаратуры можно изучать и твердые образцы. В спектроскопии на ядрах ^{13}C чаще всего применяют дейтерохлороформ. При этом резонансный сигнал ядер дейтерия используют в качестве *опорного сигнала* для стабилизации соотношения сила поля–частота.

В спектрометрах высокого разрешения используют *магниты* с плотностью потока от 1,4 до 14 Тл. Для наблюдения резонанса протонов при этом необходимы частоты от 60 до 600 МГц (см. табл. 3.27). В спектрометрах среднего класса применяют частоты от 60 до 100 МГц, в более высококачественных — 200–600 МГц и сверхпроводящие магниты, охлаждаемые жидким гелием.

Для возбуждения ядер и регистрации сигнала служат, соответственно, излучатель и приемник излучения, работающие в высокочастотном радиоволновом диапазоне.

Исторически наиболее ранний способ регистрации спектров ЯМР состоял в непрерывном изменении частоты излучения или силы магнитного поля (см. уравнение (3.92)). В настоящее время преобладают импульсные спектрометры с фурье-преобразованием.

При обработке спектров ЯМР их обычно интегрируют. При этом помимо обычного спектра (в виде пиков), информацию дополнительно представляют в форме интегрального спектра (ступенчатая кривая, рис. 3.108). Высота каждой ступени соответствует площади пика. Относительная погрешность измерения площадей пиков составляет обычно ±2%.

Применение спектроскопии ЯМР ^{1}H

Установление структуры молекул

Самая важная область применения спектроскопии ЯМР на ядрах ^{1}H — установление структуры органических, биоорганических и металлоорганических соединений. Основными данными, которые можно извлечь из спектров *первого порядка* для решения этой задачи, являются следующие.

- Число сигналов химически неэквивалентных протонов.
- Величины химических сдвигов сигналов.
- Мультиплетности групп пиков.
- Значения констант спин-спинового взаимодействия.
- Площади пиков как показатели относительного числа протонов.

Диапазоны примерных значений химических сдвигов протонов для различных структурных фрагментов приведены на рис. 3.107. В качестве примера рассмотрим интерпретацию изображенного на рис. 3.108 спектра ЯМР неизвестного вещества. Оно представляет собой бесцветную жидкость, состоящую только из углерода и водорода и являющуюся одним из изомеров триметилбензола C_9H_{12}.

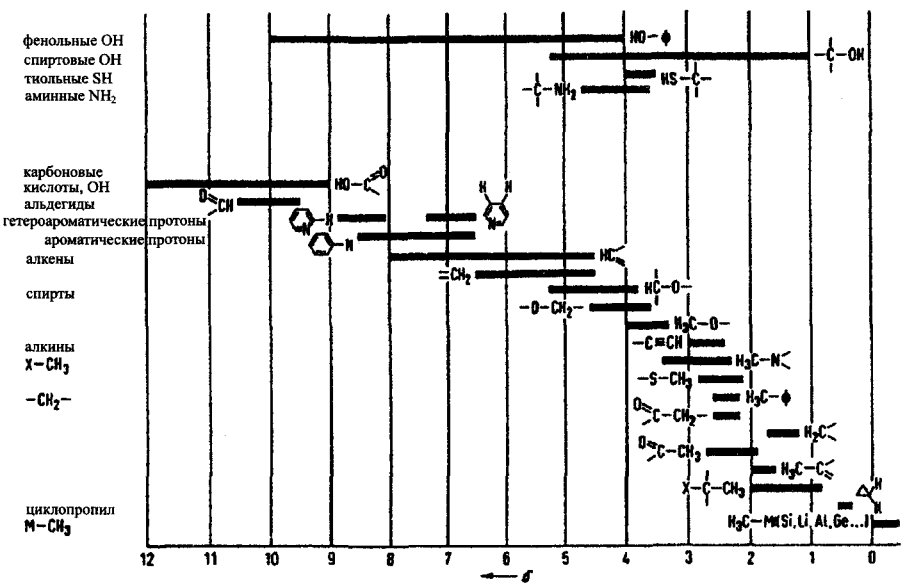
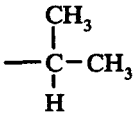
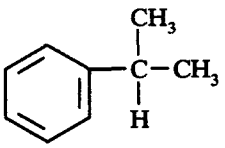


Рис. 3.107. Области химических сдвигов ядер ^{1}H в органических соединениях в составе различных структурных фрагментов (согласно Фриболину).



Наличие синглетного пика при $\delta = 7,2$ м.д. указывает на ароматический характер соединения. Относительная интенсивность этого пика равна 5, что свидетельствует о наличии пяти протонов, связанных с бензольным кольцом. Таким образом, это — монозамещенный бензол. При $\delta = 2,9$ м.д. находится мультиплет, состоящий из 7 компонент (наблюдаются при соответствующем увеличении масштаба), а при $\delta = 1,2$ м.д. — дублет. Если принять во внимание и их относительные интенсивности (1 и 6, соответственно), то легко нарисовать структуру соединения (см. рис. сбоку).

Таким образом, неизвестное соединение имеет следующее строение:



Это кумол — один из изомеров триметилбензола, применяемый для промышленного получения фенола.

Количественный анализ

Определение концентрации веществ в растворе методом ЯМР основано на наличии прямо пропорциональной зависимости между *площадью пика* и числом соответствующих *ядер*. Для построения градуировочной зависимости используют внутренние стандарты. Необходимо, чтобы пики внутреннего стандарта не перекрывались с другими сигналами.

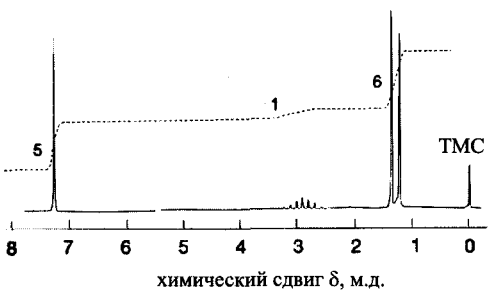


Рис. 3.108. Спектр ЯМР ^{1}H неизвестного соединения в $CDCl_3$.

Для определения содержания с использованием внутреннего стандарта служит следующая формула:

$$m_x = m_{cm} \frac{N_{cm}}{N_x} \cdot \frac{M_x}{M_{cm}} \cdot \frac{A_x}{A_{cm}}, \quad (3.102)$$

где m — масса вещества, N — число протонов в группе, для которой измерен сигнал, A — площадь пика, M — молярная масса вещества, а индексы x и cm обозначают определяемое вещество и внутренний стандарт.

В качестве внутреннего стандарта можно использовать и сам растворитель, например, бензол или воду. Особенно удобны в качестве внутренних стандартов кремнийорганические соединения, поскольку их сигналы расположены в области сильных полей и редко перекрываются с другими сигналами.

Анализ сложных смесей веществ значительно затрудняется наличием множества пиков и их перекрыванием. В таких случаях можно использовать общие подходы к одновременному многокомпонентному анализу (раздел 6.3).

Спектроскопию ЯМР ^{1}H можно использовать для определения содержания отдельных функциональных групп, например, спиртовых, фенольных или альдегидных.

Применение спектроскопии ЯМР ^{13}C

Природное содержание изотопа ^{13}C составляет 1,1%. Ядра ^{13}C обладают меньшим гиромагнитным отношением по сравнению с ^{1}H (табл. 3.26). В силу этих причин чувствительность в спектроскопии ЯМР ^{13}C в 6000 раз ниже, чем в спектроскопии ^{1}H. Только развитие производства приборов с фурье-преобразованием позволило сделать спектроскопию ЯМР ^{13}C повседневным методом исследования.

Особое значение спектроскопии ЯМР ^{13}C состоит в том, что она дает непосредственную информацию о строении углеродного скелета молекулы (а не ее периферии, как спектроскопия ЯМР ^{1}H). Диапазон химических сдвигов для ядер ^{13}C достигает 200 м.д., что существенно шире, чем для протонов.

В отличие от спектроскопии ЯМР ^{1}H, в спектроскопии на ядрах ^{13}C гомоядерные спин-спиновые взаимодействия не играют никакой роли, поскольку вероятность одновременного нахождения двух ядер ^{13}C в одной молекуле ничтожно мала. Взаимодействия ядер ^{13}C и ^{12}C невозможны, поскольку ядро ^{12}C не обладает спином.

Развязка от протонов

Основную роль в спектроскопии ЯМР ^{13}C играют спин-спиновые взаимодействия ядер ^{13}C и ^{1}H, резко усложняющие спектр. Для упрощения спектра и облегчения его интерпретации используют методы, называемые *двойным резонансом*. К им относятся методы широкополосной и внерезонансной развязки.

Широкополосная развязка

В этом методе спин-спиновые взаимодействия ядер ^{13}C и ^{1}H подавляют путем одновременного облучения пробы источником широкополосного радиочастотного излучения в области, соответствующей возбуждению всех присутствующих в молекуле протонов. При этом происходит насыщение спинов протонов, и взаимодействия исчезают.

На рис. 3.109 схематически изображен эффект широкополосной развязки для метиновой, метиленовой и метильной групп. Видно, что в этом случае спектр ЯМР сильно упрощается по сравнению с исходным. При этом, однако, вся информация о взаимодействиях ^{13}C–^{1}H теряется.

Внерезонансная развязка

В этом методе применяют дополнительное облучение образца в области низких частот (1000–2000 Гц). При этом константы спин-спинового взаимодействия уменьшаются (рис. 3.109), и в спектре наблюдаются лишь наиболее сильные взаимодействия.

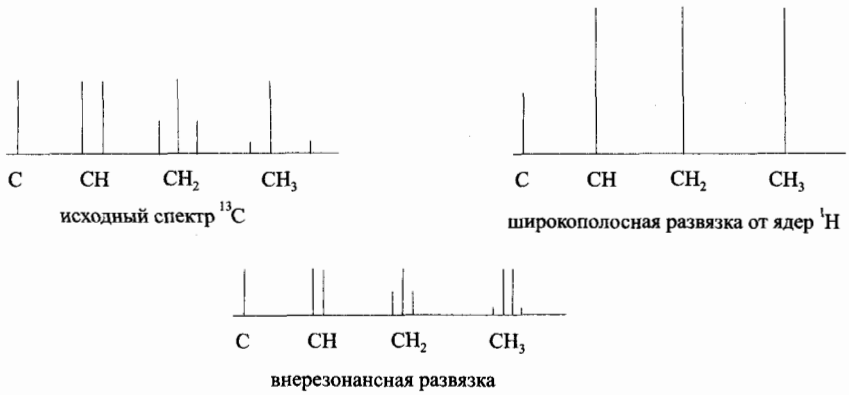


Рис. 3.109. Различные методы развязки от протонов в спектроскопии ЯМР ^{13}C в случае прямых взаимодействий спинов ^{13}C и ^{1}H.

Внерезонансная развязка бывает очень полезна при исследовании сложных спектров, особенно высоких порядков. В исходном виде такие спектры ввиду наличия множества налагающихся друг на друга мультиплетов часто практически не поддаются интерпретации.

Ядерный эффект Оверхаузера

При использовании широкополосной (а частично — и внерезонансной) развязки интенсивности сигналов ядер ^{13}C возрастают по сравнению с теоретическими (т. е. рассчитанными из отношений заселенностей уровней по уравнению (3.93)). Это явление называется ядерным эффектом Оверхаузера. Оно обусловлено непосредственным магнитным взаимодействием ядер протонов и соседних ядер ^{13}C. Результатом является увеличение заселенности нижних энергетических уровней ядер (вплоть до трехкратного).

Возрастание интенсивностей сигналов вследствие ядерного эффекта Оверхаузера позволяет соответственно сократить время регистрации спектров. Однако при этом нарушается пропорциональная зависимость между площадью пика и числом ядер, что препятствует количественному анализу.

Установление структуры

В спектроскопии ЯМР ^{13}C величины химических сдвигов используются для установления структуры органических и биоорганических молекул точно таким же способом, как и в спектроскопии ЯМР ^{1}H. При этом информацию о спин-спиновых взаимодействиях используют редко. Типичные диапазоны химических сдвигов в спектроскопии ЯМР на ядрах ^{13}C приведены на рис. 3.110.

Методы интерпретации спектров с точки зрения химического окружения ядер в спектроскопии ЯМР ^{13}C и ^{1}H весьма схожи. Однако в данном случае взаимодействия не ограничиваются ближайшим окружением, а влияния заместителей на величины химических сдвигов иногда прослеживаются вплоть до пятого по счету атома углерода.

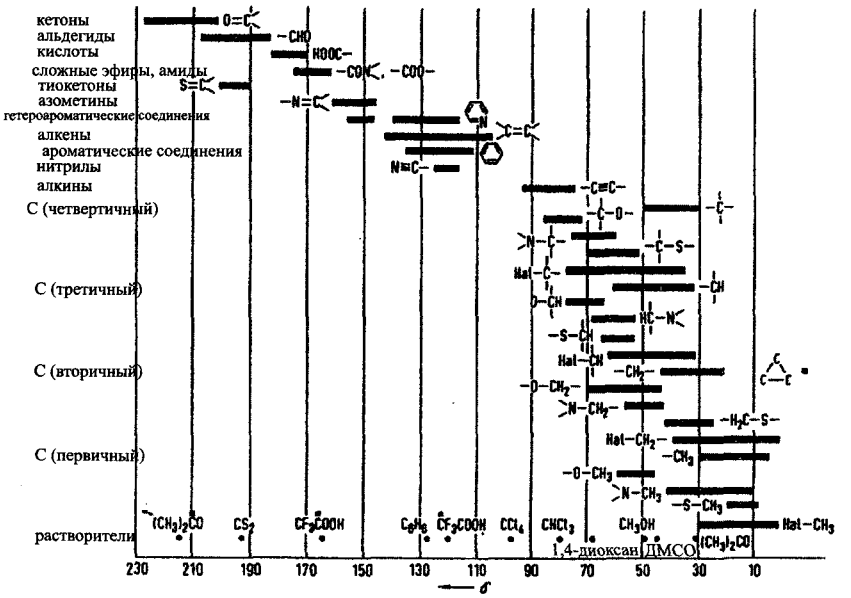


Рис. 3.110. Химические сдвиги ядер ^{13}C в органических соединениях (согласно Фриболину).

Двумерная спектроскопия ЯМР

Под двумерной спектроскопией ЯМР понимают метод исследования, результатом которого являются зависимости интенсивностей сигналов ЯМР от двух частотных переменных. Графически двумерные спектры ЯМР представляют в виде трехмерных диаграмм.

Если, например, на одной оси откладывать величины химических сдвигов, а на другой — значения констант спин-спинового взаимодействия, то получится *двумерный J-спектр ЯМР*. Спектры, в которых по обеим осям отложены величины химических сдвигов, называются *двумерными δ-спектрами* или *корреляционными спектрами* (COSY). Спектры коррелированных химических сдвигов протонов называют H,H-COSY-спектрами. Возможно получение и корреляционных гетероядерных (например, ^1H и ^{13}C) спектров.

В основе всех этих современных разновидностей ЯМР-спектроскопии лежит импульсный метод, при котором спад свободной индукции (см. выше, об импульсных методах в целом) измеряют лишь после подачи серии дополнительных импульсов. Методы двумерной спектроскопии позволяют идентифицировать сигналы в значительно более сложных спектрах, чем традиционные одномерные методы ЯМР.

Спектроскопия ЯМР других ядер

Методом ЯМР можно изучать любые ядра, спин которых отличен от нуля (табл. 3.26). Всего известно около 200 ядер, обладающих магнитным моментом. Для иссле-

дования структуры наряду с ядрами ^{1}H и ^{13}C чаще всего используют ядра ^{11}B, ^{19}F и ^{31}P.

3.5. Масс-спектрометрия: идентификация молекулы по ее осколкам

Метод масс-спектрометрии основан на превращении определяемых компонентов в *ионизированные частицы* и их разделении в газовой фазе в соответствии с их *массовыми числами* — отношениями массы (m) к заряду (z).

Строго говоря, масс-спектрометрию не следовало бы относить к спектроскопическим методам, поскольку в ее основе не лежат процессы взаимодействия вещества с электромагнитным излучением. Масс-спектр характеризует результат разделения ионов в электрическом или магнитном поле, поэтому масс-спектрометрию можно было бы отнести к методам разделения. Однако по традиции ее относят к спектроскопическим методам, с которыми она действительно имеет много общего.

Значение метода масс-спектрометрии определяется характером решаемых с его помощью задач:

- установление структуры органических соединений, включая определение молярной массы;
- качественный и количественный анализ сложных смесей органических и неорганических соединений с высокой чувствительностью и разрешающей способностью;
- определение изотопного состава;
- исследование состава и структуры поверхностей.

Масс-спектр представляет собой зависимость интенсивности сигнала детектора (относительной меры количества данного иона) от отношения *массы иона к его заряду* (m/z).

Устройство масс-спектрометра

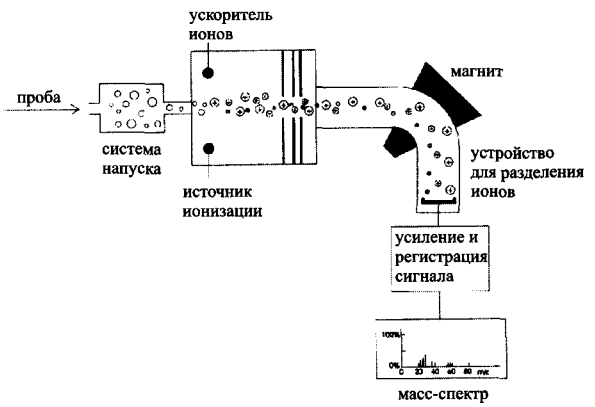
Масс-спектрометры относятся к весьма сложным аналитическим приборам. Это выражается в том числе и в их стоимости: цена одного масс-спектрометра может значительно превышать 100000 евро. Главными узлами масс-спектрометра являются *система напуска*, *источник ионизации* (ионизатор) с ускорителем ионов, *масс-анализатор* (устройство для разделения ионов) и *детектор* в сочетании с *регистрирующим устройством* (рис. 3.111). Чтобы по возможности исключить соударение ионов с другими атомами и молекулами, анализ производят в вакууме. В ионизаторе давление составляет 10^{-3}–10^{-4} Па, а в масс-анализаторе — 10^{-3}–10^{-8} Па.

Система напуска

Количество вводимой пробы не должно превышать нескольких микромолей, чтобы не нарушить вакуум внутри прибора. Существуют прямой и непрямой способы ввода пробы.

При *непрямом* способе пробу вводят в масс-спектрометр в газообразном состоянии. При исследовании жидких или твердых образцов их необходимо предварительно перевести в пар путем нагревания до температур порядка 500°C в условиях вакуума ($\sim 10^{-4}$ Па). Пробу испаряют в специальной камере, из которой пары в виде молекулярного пучка поступают через отверстие в ионизатор.

Рис. 3.111. Схема устройства масс-анализатора.



Прямой ввод пробы используют тогда, когда проба труднолетуча. В этих случаях образец непосредственно вводят в ионизатор с помощью штанги через систему шлюзовых камер. При таком способе ввода потери вещества значительно меньше, чем при непрямом вводе, поэтому для анализа бывает достаточно нескольких нанограммов образца.

Еще один способ ввода пробы состоит в том, что анализируемое вещество поступает в масс-спектрометр в ходе хроматографического разделения. Сочетание масс-спектрометрии с *хроматографией* уже давно используют в газовой хроматографии, а в последнее время — и в жидкостной. Этот метод анализа (хромато-масс-спектрометрия) подробно рассматривается в разделе 5.5.

Источники ионизации

Перед разделением анализируемые вещества необходимо перевести из нейтральных молекул или атомов в ионное состояние. Для ионизации используют потоки быстрых частиц — электронов, ионов, атомов, фотонов — а также тепловую или электрическую энергию. На выходе из ионизатора проба находится главным образом в форме положительно заряженных ионов. Их затем ускоряют с помощью специального устройства.

В табл. 3.29 приведены наиболее распространенные способы ионизации в масс-спектрометрии. Форма получаемого масс-спектра сильно зависит от применяемого способа ионизации. Поэтому более подробно особенности отдельных источников ионизации будут рассмотрены дальше, в разделах, посвященных обработке и интерпретации масс-спектров.

Масс-анализаторы

Масс-анализатор представляет собой устройство для разделения ионов и играет ту же роль, что дифракционная решетка в оптической спектроскопии. Но, в

отличие от оптической спектроскопии, где происходит разделение фотонов по их энергиям или длинам волн, в масс-спектрометрии разделяют ионы в соответствии с величинами отношений *массы к заряду*. Задача состоит в том, чтобы, во-первых, добиться как можно более полного разделения и тем самым достичь высокого *разрешения*, а, во-вторых, обеспечить достаточно большое *количество* разделяемых ионов и тем самым — высокие значения ионных токов. Эти задачи в известной мере противоречат друг другу, поэтому на практике стремятся достичь некоего компромисса.

Таблица 3.29. Способы ионизации в масс-спектрометрии. Символ M означает нейтральную молекулу или атом.

Название	Сокращение	Источник ионизации	Процесс
ионизация электронным ударом	EI	электроны	$M + e^- \rightarrow M^{+\bullet} + 2e^-$
химическая ионизация	CI	газ-реагент	$M + CH_5^+ \rightarrow MH^+ + CH_4$
полевая ионизация, полевая десорбция	FI/FD	электрическое поле	$M \rightarrow M^{+\bullet} + e^-$
бомбардировка быстрыми атомами	FAB	ускоренные атомы	$M + X \rightarrow (M + H)^+$
фотоионизация	PI	УФ-излучение	$M + h\nu \rightarrow M^{+\bullet} + e^-$
искровая ионизация	SSMS	высоковольтная искра	$M \rightarrow M^{+\bullet} + e^-$
ионизация в индуктивно связанной плазме	ICP/MS	тепловая энергия	$M \rightarrow M^{+\bullet} + e^-$
ионизация вторичными ионами	SIMS	ионы	$M + Ar^+ \rightarrow M^{+\bullet} + Ar$

Разрешающую способность масс-спектрометрического анализа можно, в соответствии с уравнением (1.17), охарактеризовать как

$$R = \frac{z}{\Delta z} = \frac{m}{\Delta m}. \tag{3.103}$$

Для примера будем считать два соседних пика разрешенными, если положение максимума одного из них совпадает с точкой, где высота другого составляет 10% от максимальной. В этом случае величина разрешения R, равная 5000, означает возможность раздельной регистрации пиков ионов с массами 500,0 и 500,1 либо 50,00 и 50,01.

Серийно выпускаемые приборы характеризуются разрешением в пределах от 500 до 500000. Требуемое разрешение определяется характером поставленной задачи. Разрешение порядка нескольких тысяч необходимо, например, для раздельного определения ионов $C_2H_4^+$, CH_2N^+, N_2^+ и CO^+. Округленно молярные массы всех этих ионов равны 28, а точные значения составляют 28,0313, 28,0187, 28,0061 и 27,9949, соответственно. В то же время для раздельной регистрации ионов NH_3^+ и CH_4^+ (молярные массы — 17 и 16) вполне достаточно разрешения $R = 50$.

Секторный магнитный анализатор

Классическим способом разделения ионов в статических условиях является использование секторного магнитного анализатора. С его помощью пучок ионов

отклоняют в магнитном поле постоянного магнита или электромагнита на определенный угол, например, 60°, 90°, 120° или 180°. На рис. 3.111 изображено устройство анализатора с углом отклонения 90°.

Перед разделением пучок ионов необходимо ускорить. Ускорение ионов осуществляют в электростатическом поле с напряжением 800–8000 В. В соответствии с законом сохранения энергии можно записать:

$$zU = \frac{1}{2}mv^2, \tag{3.104}$$

где U — ускоряющее напряжение, z — заряд, m — масса и v — скорость иона.

Ускоренные ионы попадают в магнитное поле с напряженностью H, силовые линии которого ориентированы перпендикулярно направлению движения ионов. При этом траектории ионов искривляются и превращаются в круговые. Радиус описываемой окружности можно рассчитать, используя выражения для отклоняющей силы Лоренца

$$F_{\mathrm{L}} = zHv \tag{3.105}$$

и центростремительной силы

$$F_{\mathrm{Z}} = \frac{mv^2}{r}. \tag{3.106}$$

Отсюда

$$zHv = \frac{mv^2}{r}. \tag{3.107}$$

Подставляя выражение (3.104) в (3.107), получаем основное уравнение, описывающее поведение ионов в магнитном анализаторе:

$$\frac{m}{z} = \frac{H^2r^2}{2U}. \tag{3.108}$$

Отсюда видно, что масс-спектр можно зарегистрировать, изменяя либо величину магнитного поля H, либо ускоряющее напряжение U, либо величину r. Последний способ используют при регистрации масс-спектра на фотопластинку. В этом случае величины H и U поддерживают постоянными.

Однако в большинстве случаев конструкция прибора позволяет регистрировать поток ионов только при одном определенном значении r. В этих случаях обычно варьируют величину H (поддерживая значение U постоянным).

Описанный способ разделения ионов достаточно прост. К сожалению, он не позволяет обеспечить высокого разрешения. Причина состоит в том, что ионы, поступающие в масс-анализатор, различаются по своим скоростям. Для увеличения разрешающей способности следует использовать более совершенные масс-анализаторы.

Масс-спектрометры с двойной фокусировкой

После ускорения ионов в электрическом поле кинетическая энергия ионов одного и того же сорта оказывается неодинаковой. Отдельные ионы приобретают различную энергию уже в источнике ионизации. Кроме того, скорости отдельных ионов различны (как по величине, так и по направлению) вследствие их теплового движения. Оба эти эффекта приводят к уширению пиков и ухудшению разрешающей способности.

При использовании метода двойной фокусировки ионы разделяют сначала в *электростатическом*, а затем в *магнитном* секторе. На рис. 3.112 показана схема устройства такого масс-анализатора с геометрией Нира–Джонса.

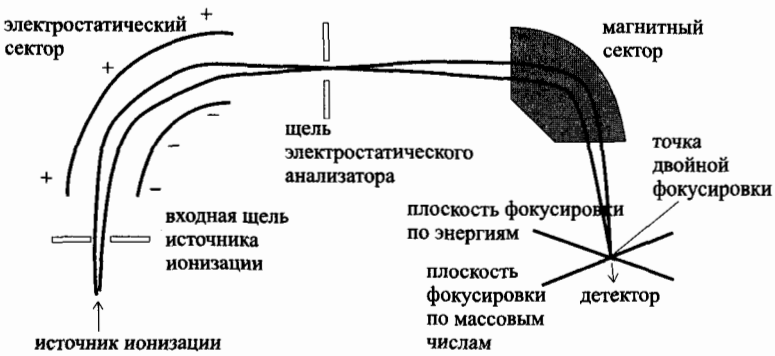


Рис. 3.112. Масс-спектрометр с двойной фокусировкой в геометрии Нира–Джонса.

В *электростатическом* секторе ионы разделяют (фокусируют) в соответствии с их кинетическими энергиями. Выходная щель электростатического сектора пропускает только те ионы, энергия которых находится в достаточно узком диапазоне и соответствует средней кинетической энергии.

Затем ионы разделяют в *магнитном* секторе в соответствии с их массовыми числами, как описано выше. Обе плоскости фокусировки — электростатической (по энергиям) и магнитной (по массовым числам) перпендикулярны друг другу. В результате такой *двойной фокусировки* в точку пересечения обеих плоскостей попадают только те ионы, которые обладают как определенной кинетической энергией, так и определенным значением массового числа.

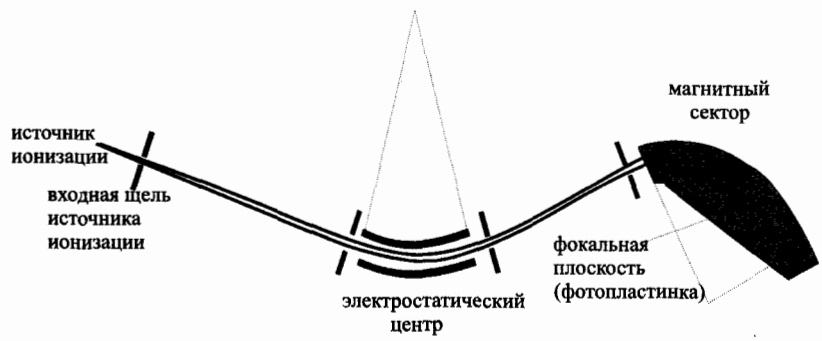


Рис. 3.113. Масс-спектрометр с двойной фокусировкой в геометрии Маттауха–Герцога.

При ином взаимном расположении электростатического и магнитного секторов можно добиться, чтобы обе плоскости фокусировки совпадали. Такая геометрия масс-анализатора называется геометрией Маттауха–Герцога (рис. 3.113). Она особенно удобна для регистрации масс-спектра на фотопластинку и часто применяется для элементного масс-спектрометрического анализа с искровой ионизацией.

Применение двойной фокусировки позволяет достичь разрешения порядка 10^5 и определять массовые числа с точностью до пяти значащих цифр.

Квадрупольные масс-спектрометры

Другой тип масс-спектрометров составляют приборы с квадрупольными масс-анализаторами. Они более компактны и надежны в эксплуатации, чем приборы с магнитными анализаторами. Разделение ионов в них осуществляется в динамическом режиме. Ионы ускоряют под действием постоянного напряжения 5–15 В и направляют в пространство между четырьмя параллельными электродами (рис. 3.114). Электроды представляют собой металлические стержни (размером приблизительно $0,6 \times 15$ см). Одна пара расположенных по диагонали электродов заряжена положительно, другая — отрицательно.

Кроме этого постоянного напряжения, а электроды налагают также высокочастотное переменное напряжение. Для одной пары электродов переменное напряжение смещено по фазе на 180° по отношению к другой. Совместное действие постоянного и переменного электрического поля вызывает отклонение траекторий ионов от первоначального направления. При прохождении потока ионов в канале анализатора напряжения подбирают таким образом, чтобы весь путь между электродами прошли только ионы с определенным значением массового числа. При этом происходит своеобразная «фильтрация» ионов. Поэтому данный тип масс-анализаторов называют также «*масс-фильтрами*».

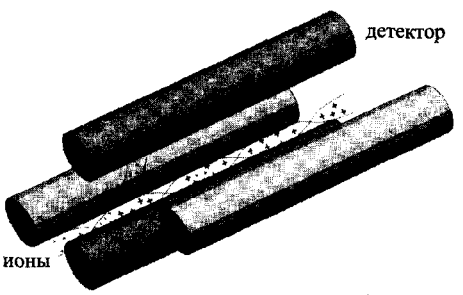


Рис. 3.114. Расположение электродов в квадрупольном масс-анализаторе.

Дальнейшее развитие конструкции квадрупольных масс-анализаторов привело к созданию трехмерных ионных ловушек. Они позволяют регистрировать и ионы, движущиеся по нестационарным траекториям (в то время как обычные квадрупольные анализаторы — только по стационарным).

Квадрупольные масс-анализаторы характеризуются высокой чувствительностью, в результате чего становится возможным работать при давлениях вплоть до 10^{-2} Па. Разрешающая способность достигает 1000. Приборы с квадрупольными масс-анализаторами невелики по размерам, дешевы, стабильны в эксплуатации и позволяют зарегистрировать спектр за очень короткое время (до 0,1 с). Последнее обстоятельство очень важно при использовании масс-спектрометрии в сочетании с хроматографией. Этот тип приборов в настоящее время наиболее распространен.

Времяпролетные масс-анализаторы

Действие времяпролетных масс-анализаторов основано на зависимости скорости движения ионов от их массы. После ускорителя все ионы обладают одинаковой

кинетической энергией. Следовательно, чем больше их масса, тем меньше скорость (уравнение (3.104)). Во времяпролетных масс-анализаторах ускоритель ионов отделяют от детектора трубой дрейфа. Чем тяжелее ион, тем больше время, затрачиваемое им на то, чтобы пролететь трубу дрейфа и достичь детектора. Различие во временах движения ионов может составлять всего 1–30 мкс, поэтому здесь необходима система цифровой регистрации с очень высоким быстродействием. Разрешающая способность времяпролетных масс-анализаторов невелика, менее 1000. Достоинством таких анализаторов является высокая надежность в эксплуатации и неограниченный диапазон измеряемых масс.

Еще один тип масс-анализаторов составляют *ионные ловушки* или *масс-спектрометры с фурье-преобразованием*. Как и другие типы спектрометров с фурье-преобразованием (ИК, ЯМР), они характеризуются высокими значениями отношений сигнал–шум, повышенным быстродействием, высокой чувствительностью и разрешающей способностью. В основе их действия лежит явление ионно-циклотронного резонанса.

Детекторы ионов

Для преобразования ионного тока в измеряемый сигнал первоначально использовали *фотопластинки*. В настоящее время применяют главным образом электрический способ регистрации на основе *вторичных электронных умножителей* — ФЭУ, диноды которых покрыты слоем Cu/Be.

Кроме того, используют и *фарадеевские детекторы*. Они представляют собой высокоомные (10^9–10^{11} Ом) сопротивления. Поток ионов, попадая на такой детектор, создает разность потенциалов, величина которой пропорциональна силе ионного тока. Фарадеевские детекторы отличаются хорошей воспроизводимостью. Однако их чувствительность мала, а время отклика велико. Последнее обстоятельство не позволяет их использовать в сочетании с хроматографией.

Масс-спектры для различных источников ионизации

Характер молекулярных масс-спектров сильно зависит от природы используемого источника ионизации. Самым ранним способом ионизации служила ионизация электронным ударом. Как уже упоминалось, ионизация в этом случае осуществляется в газовой фазе под действием электронов высокой энергии. Этот метод имеет ряд недостатков, однако вплоть до настоящего времени он остается преобладающим — во многом из-за того, что большинство имеющихся библиотек масс-спектров составлены именно применительно к ионизации электронным ударом.

Основные типы источников ионизации приведены в табл. 3.29. Как правило, в серийных приборах предусмотрена возможность использования *нескольких* различных источников. Все ионизаторы можно разделить на два больших класса.

Первый из них составляют источники ионизации, предназначенные для работы в *газовой* фазе. В этих случаях обычно используют непрямой способ ввода пробы с помощью внешнего устройства напуска. Иногда испарение пробы осуществляют и непосредственно в ионизаторе с помощью нагревательного элемента.

Второй класс — ионизаторы, использующие явление *десорбции* пробы. Этим методом можно изучать в том числе и нелетучие или термически нестабильные

вещества. Непосредственно к твердой или жидкой пробе подводится энергия в количестве, достаточном для ионизации и испарения его молекул. Ввод пробы осуществляют только прямым способом.

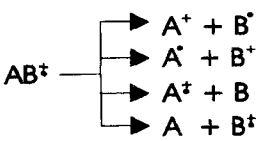
Газофазные источники ионизации

Применение предварительного испарения пробы позволяет изучать лишь молекулы с молекулярными массами менее 1000, которые переходят в газовую фазу при температурах не выше 500°C. Среди способов ионизации, перечисленных в табл. 3.29, мы рассмотрим здесь ионизацию электронным ударом, химическую ионизацию и полевую ионизацию.

Ионизация электронным ударом

Источником высокоэнергетических электронов служит раскаленная вольфрамовая или рениевая проволока. Энергия образующихся электронов составляет около 70 эВ. Коэффициент полезного действия такого ионизатора невелик: ионизируется лишь приблизительно одна миллионная часть молекул пробы. В результате ионизации первоначально образуется радикал-катион, имеющий почти такую же массу, что и исходная молекула (см. табл. 3.29).

Ввиду того, что масса электрона значительно меньше массы молекулы, энергия *поступательного движения* последней в результате соударения и ионизации возрастает незначительно. В то же время кинетической энергии электрона вполне достаточно для того, чтобы резко увеличить потенциальную энергию образующегося иона — в первую очередь его *колебательную* и *вращательную* составляющие (см. раздел 3.3.1). В результате ион обычно претерпевает распад, *фрагментацию*. Образующиеся *дочерние ионы*, как правило, обладают меньшими массами, чем исходная молекула. Основные пути фрагментации ионизированной молекулы AB изображены ниже.



(3.109)

Точка символизирует неспаренный электрон.

Обычно масс-спектрометр способен регистрировать лишь положительно заряженные ионы. Отрицательные ионы (и тем более нейтральные радикалы и молекулы) не регистрируются.

В ходе ионизации в результате различных столкновений могут образовываться и частицы с массами более высокими, чем у исходной молекулы (M). Очень часто в результате протонирования образуются значительные количества частицы с массой M + 1 (уравнение (3.113)).

На рис. 3.115 приведен масс-спектр нитробензола. В нем присутствует пик *молекулярного иона* M^+ с массой 123. Как очень часто бывает, он не является самым интенсивным. Самый интенсивный пик (называемый *базовым*) с $m/z = 77$ соответствует фрагменту, образовавшемуся в результате отщепления нитрогруппы. В масс-спектрах интенсивность пиков обычно нормируют, принимая интенсивность базового пика за 100%.

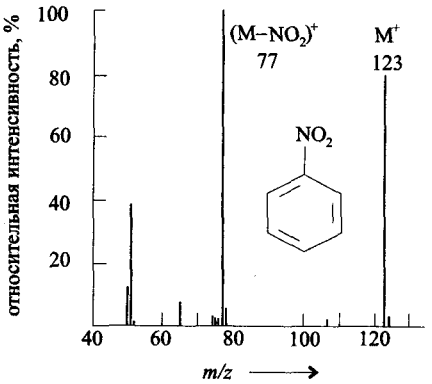


Рис. 3.115. Масс-спектр нитробензола при ионизации электронным ударом.

Как видно из рис. 3.115, в спектре присутствуют и пики с массовыми числами более высокими, чем у исходной молекулы. В данном случае это пики *изотопно замещенных* молекул. Так, пик с $m/z = 124$ соответствует молекулярному иону, содержащему изотоп ^{13}C. В табл. 3.30 приведены относительные содержания изотопов различных элементов. Фтор, фосфор и иод состоят из одного-единственного элемента. Величины относительных интенсивностей изотопных пиков позволяют сделать важные выводы об элементном составе молекулы и часто — определить ее брутто-формулу.

Таблица 3.30. Массы и относительная распространенность изотопов некоторых элементов.

Изотоп	Масса	Относительная распространенность, %
^{1}H	1,0078	100
^{2}H	2,0141	0,015
^{10}B	10,0129	24,668
^{11}B	11,0093	100
^{12}C	12,0000	100
^{13}C	13,0034	1,12
^{14}N	14,0031	100
^{15}N	15,0001	0,366
^{16}O	15,9949	100
^{18}O	17,9992	0,240
^{28}Si	27,9769	100
^{29}Si	28,9765	5,110
^{30}Si	29,9738	3,385
^{32}S	31,9721	100
^{33}S	32,9715	0,789
^{34}S	33,9679	4,433
^{35}Cl	34,9689	100
^{37}Cl	36,9659	32,399
^{79}Br	78,9183	100
^{81}Br	80,9163	97,940

Ионизация электронным ударом относится к *жестким* способам ионизации. Она особенно удобна для идентификации веществ, поскольку при этом возникает множество осколочных фрагментов, а масс-спектр богат пиками и однозначно характеризует молекулу, служит как бы ее «отпечатками пальцев». Однако сложность спектров может быть столь велика, что идентифицировать отдельные фрагменты не удается. Кроме того, при интенсивной фрагментации может вообще не наблюдаться молекулярный пик — важнейший источник информации о составе молекулы.

Химическая ионизация

Более *мягкий* способ ионизации основан на взаимодействии молекул пробы с *ионами газа-реагента*. Этот способ называется *химической ионизацией*. По степени распространенности он занимает второе место.

В методе химической ионизации пары анализируемой пробы смешивают с избытком (100–10000-кратным) газа-реагента — обычно *метана*, а также аммиака, NO или изобутана. Газ-реагент ионизируют с помощью электронного удара. Обычно процесс проводят так, чтобы образовывались положительно заряженные ионы. Для определения веществ с высоким сродством к электрону можно использовать и отрицательные ионы. Ввиду того, что газ-реагент находится в большом избытке, непосредственной ионизации молекул пробы обычно не наблюдается.

При использовании метана в результате ионизации первоначально образуются главным образом ионы CH_4^+ по реакции

$$CH_4 + e^- \rightarrow CH_4^+ + 2e^-. \tag{3.110}$$

В небольших количествах образуются также ионы CH_3^+ и CH_2^+. Затем в результате вторичных процессов могут образоваться и другие крайне реакционноспособные частицы, например, CH_5^+ или $C_2H_5^+$:

$$CH_4 + CH_4^+ \rightarrow CH_5^+ + CH_3, \tag{3.111}$$

$$CH_4 + CH_3^+ \rightarrow C_2H_5^+ + H_2. \tag{3.112}$$

Последующая ионизация молекул исследуемого вещества XH может происходить за счет переноса *протона*

$$CH_5^+ + XH \rightarrow XH_2^+ + CH_4, \tag{3.113}$$

или *гидрид-иона*:

$$C_2H_5^+ + XH \rightarrow X^+ + C_2H_6. \tag{3.114}$$

В первом случае в масс-спектре наблюдается пик $(M + 1)^+$, во втором — $(M - 1)^+$. Очень часто к молекуле исследуемого вещества присоединяется ион $C_2H_5^+$, в результате чего наблюдается пик $(M+29)^+$ (квазимолекулярный пик).

На рис. 3.116 приведены два масс-спектра глюкозы, полученные в жестких (электронный удар) и мягких (химическая ионизация) условиях.

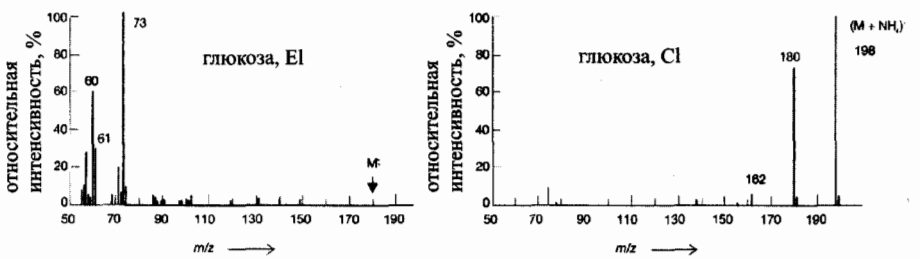
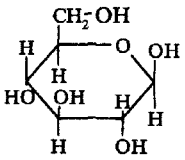


Рис. 3.116. Сравнение масс-спектров глюкозы, полученных методами электронного удара (слева) и химической ионизации (справа; газ-реагент — аммиак).


глюкоза

При электронном ударе наблюдается очень сильная фрагментация. Наибольшее наблюдаемое значение M равно 112 (пик $C_8H_{16}^+$). Базовый пик находится при M=73. При химической ионизации спектр очень беден пиками. Самый интенсивный пик (M=198) является *квазимолекулярным*. Он возник в результате присоединения иона NH_4^+ к молекуле глюкозы. Истинный молекулярный пик находится при M=180.

Полевая ионизация

В этом методе ионизация происходит под действием электростатического поля высокой напряженности (10^7–10^8 В/см). При этом наблюдается отрыв электрона от молекулы пробы вследствие квантовомеханического туннельного эффекта. Ионизация происходит на так называемом *эмиттере*, которым служит вольфрамовая проволока, покрытая пиролитическим углеродом. Частицы углерода образуют на поверхности проволоки микроскопические острия, увеличивающие локальную напряженность поля и тем самым способствующие ионизации. Полевая ионизация относится к мягким способам ионизации. При ее использовании количество фрагментов невелико, а спектр достаточно прост и содержит молекулярный пик.

Десорбционные методы ионизации

Десорбционные методы ионизации незаменимы при исследовании *биоорганических веществ* с молярными массами порядка 10000. В этих методах ионизации подвергается непосредственно твердая или жидкая проба без ее предварительного испарения. Масс-спектры крайне просты и в предельном случае вообще состоят только из молекулярного пика. В настоящее время для ионизации все шире используют лазеры, например, УФ-лазер с длиной волны 337 нм. При анализе биологических образцов к пробе часто добавляют матрицу, играющую роль переносчика энергии. Среди методов этой группы мы рассмотрим наиболее распространенные — полевую десорбцию и бомбардировку быстрыми атомами.

Полевая десорбция

Как и в методе полевой ионизации, пробу ионизируют на эмиттере под действием высокого напряжения. Для облегчения десорбции эмиттер нагревают электрическим током. Масс-спектр в этом случае еще проще, чем при полевой ионизации. На рис. 3.117 показаны масс-спектры глюкозы, полученные методами полевой ионизации и полевой десорбции.

Бомбардировка быстрыми атомами

В этом методе для ионизации используют *высокоэнергетические нейтральные атомы*, например, Xe или Ar. Пробу, находящуюся в конденсированном агрегатном состоянии, помещают в ионизатор непосредственно или в виде раствора, например, в глицерине. Бомбардировка пробы приводит к образованию положительно и отрицательно заряженных ионов, которые в результате процесса десорбции отрываются от поверхности.

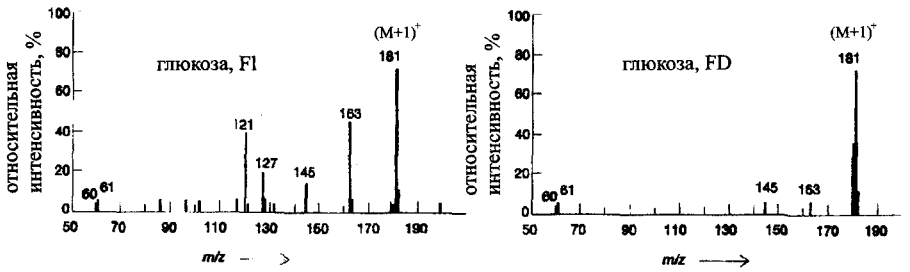


Рис. 3.117. Сравнение масс-спектров глюкозы, полученных методами полевой ионизации и полевой десорбции.

Ввиду высокой скорости процессов ионизации и десорбции фрагментация молекул незначительна. При использовании растворов в глицерине растворитель принимает на себя значительную долю энергии, вследствие чего вероятность фрагментации становится еще меньше. Более того, в глицериновой матрице молекулярные осколки могут рекомбинировать, вновь образуя исходный молекулярный ион.

Метод бомбардировки быстрыми атомами применим для исследования высокомолекулярных (молярная масса до 3000) и термически неустойчивых соединений. В последнее время исследуемый диапазон молярных масс расширен до 10000. Кроме того, применение этого метода ионизации представляется очень перспективным в плане сочетания масс-спектрометрии с жидкостной хроматографией (раздел 5.5).

Применение масс-спектрометрии

Определение молярной массы

Масс-спектрометрия является одним из методов определения молярной массы веществ. Источником информации служит положение молекулярного пика M^+ или его производных — пиков $(M+1)^+$, $(M-1)^+$, а также квазимолекулярных пиков. При использовании жестких способов ионизации таких, как электронный удар, положение молекулярного пика необходимо обязательно подтвердить, используя другие способы ионизации.

Установление брутто-формулы вещества

При наличии масс-спектрометров *высокого разрешения* (с двойной фокусировкой) брутто-формулу соединения можно установить непосредственно. Предположим, что в масс-спектре высокого разрешения для молекулярного пика вещества найдено массовое число, равное $120,070 \pm 0,005$. Расчеты с использованием точных значений молярных масс элементов показывают, что этим веществом может быть бензамин $C_7H_8N_2$ ($M = 120,069$), но не ацетофенон C_8H_8O ($M = 120,096$). Для установления брутто-формул существуют специальные таблицы с точными значениями молярных масс всех возможных соединений, состоящих из атомов C, H, N, O. Важным правилом является так называемое «*азотное правило*». Оно

гласит, что если молярная масса вещества (округленная до целого) нечетна, то его молекула содержит нечетное число атомов азота.

При использовании масс-спектров низкого разрешения установить брутто-формулу можно на основе данных по природному содержанию отдельных *изотопов*.

Наличие изотопов приводит к появлению пиков M^+, $(M+1)^+$, $(M+2)^+$ и т.д. Рассмотрим в качестве примера изотопные пики метана и этана. В соответствии с содержаниями отдельных изотопов отношение интенсивностей пиков $^{12}CH_4$ и $^{13}CH_4$ составляет 100 : 1,1 (см. табл. 3.30). Для этана возможны следующие изотопно замещенные молекулы:

$^{12}CH_3 - {}^{12}CH_3$	$^{13}CH_3 - {}^{12}CH_3$
$m/z = 30(M^{+\bullet})$	$m/z = 31((M+1)^{+\bullet})$
$^{12}CH_3 - {}^{13}CH_3$	$^{13}CH_3 - {}^{13}CH_3$
$m/z = 31((M+1)^{+\bullet})$	$m/z = 32((M+2)^{+\bullet})$.

Пики с массовыми числами 30, 31 и 32 имеют относительные интенсивности (%) 100, 2,2 и 0,01. Путем деления относительной интенсивности пика $(M+1)^+$ на природное содержание изотопа ^{13}C можно непосредственно найти *число атомов углерода* в молекуле. В данном примере оно равно $2,2 : 1,1 = 2$.

В общем случае при наличии двух изотопов одного элемента с молярными массами, различающимися на единицу, соотношения интенсивностей пиков M^+, $(M+1)^+$, $(M+2)^+$ и т. д. являются слагаемыми биномиального разложения

$$(a+b)^n, \tag{3.115}$$

где a — относительное содержание легкого изотопа
b — относительное содержание тяжелого изотопа
n — число атомов данного элемента в молекуле.

Для таких элементов, как S, Si, Cl, Br, массы природных изотопов различаются на 2 единицы (табл. 3.30). В этом случае выражение (3.115) дает отношение интенсивностей пиков M^+, $(M+2)^+$, $(M+4)^+$ и т. д. Например, для молекулы с двумя атомами хлора

$$(1+0,324)^2 = 1 + 2 \cdot 1 \cdot 0,324 + 0,324^2 = 1 + 0,648 + 0,105.$$

На рис. 3.118 приведены соотношения интенсивностей молекулярных пиков соединений, содержащих различные числа атомов хлора и брома.

Для соединений, содержащих только атомы C, H, N, O (а также F и P), однозначное установление брутто-формулы часто бывает возможным лишь при привлечении дополнительных данных, например, элементного анализа.

Установление структуры с помощью осколочных спектров

Процесс ионизации молекулы длится около 10^{-16} с. Время, затрачиваемое на прохождение ионом пути от источника ионизации до детектора, составляет не менее 10^{-5} с. За это время из исходного иона может образоваться множество осколочных ионов-фрагментов. Процессы фрагментации подчиняются определенным закономерностям, описание которых можно найти в специальной литературе.

Осколочные ионы, образующиеся в результате фрагментации, можно разделить на два класса. С одной стороны — это ионы, обладающие характерным значением *массы* (табл. 3.31). С другой — ионы, обладающие характерным значением *разности* между массой молекулярного пика и собственной массой. Такие ионы возникают в результате отщепления от исходного иона M^+ определенной нейтральной частицы X и имеют массу, равную M – X. Ионы с характерными значениями разности масс приведены в табл. 3.32.

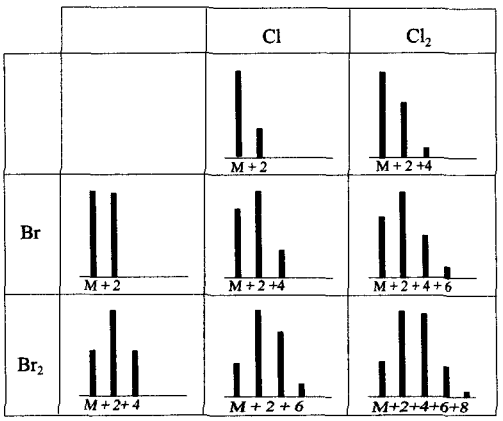


Рис. 3.118. Распределение интенсивностей изотопных молекулярных пиков для различных чисел атомов хлора и брома.

Осколочные ионы часто группируются в периодические *серии*. Их наличие обусловлено последовательным отщеплением одного и того же структурного фрагмента. Так, для насыщенных алифатических углеводородов наблюдаются «алкильные серии»вследствие последовательного отщепления фрагмента CH_2 (m/z = 14, рис. 3.119).

Рис. 3.119. Масс-спектр н-додекана, демонстрирующий серийный характер расположения осколочных пиков вследствие отщепления фрагментов $C_nH_{2n+1}^+$.

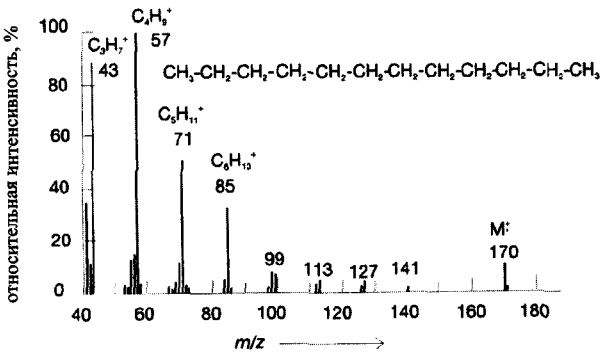


Таблица 3.31. Важнейшие осколочные ионы с характерными значениями масс.

Массовое число	Фрагмент	Предположительная структура
29	CHO^+	O-содержащие
	$C_2H_5^+$	алкильные группы
30	NO^+	нитросоединения
	$CH_2{=}NH_2^+$	амины
31	$CH_2{=}OH^+$	алканолы, простые эфиры
33	HS^+	тиолы
36/38	HCl^+	Cl-содержащие
39	$C_3H_3^+$	бензоидные, гетероциклические

Продолжение таб. 3.31.

43	$C_3H_7^+$	алкильные группы
	CH_3CO^+	ацетильные группы
44	CO_2^+	(продукт разложения пробы)
	$C_2H_6N^+$	амины
45	$CH_3-CH=OH^+$	алканолы
	$CH_3-O-CH_2^+$	метиловые простые эфиры
	$COOH^+$	карбоновые кислоты
	CHS^+	тиолы, тиоэфиры
46	CH_2S^+	тиолы, тиоэфиры
47	$CH_2=SH^+$	тиолы, тиоэфиры
51	$C_4H_3^+$	ароматические соединения
55	$C_4H_7^+$	алкены, циклоалканы
	$CH_2=CH-CO^+$	циклоалканоны
57	$C_4H_9^+$	алкильные группы
	$CH_3-CH_2-CO^+$	этилкетоны
	$CH_2=CH-CH=OH^+$	циклоалканолы
58	$CH_2=C(OH)-CH_3^+$	алканоны
	$(CH_3)_2N=CH_2^+$	амины
59	$CH_3-C(CH_3)=OH^+$	алканолы, простые эфиры
60	$CH_2=C(OH)_2^+$	карбоновые кислоты
	CH_2-O-NO^+	нитриты
61	$C_2H_5S^+$	тиолы
65	$C_5H_5^+$	бензильные группы
69	$C_5H_9^+$	алкены, циклоалканы
71	$C_5H_{11}^+$	алкильные группы
	$C_3H_7CO^+$	пропилкетоны, эфиры масляной кислоты
72	$C_3H_7-CH=NH_2^+$	амины
73	$C_4H_9O^+$	карбоновые кислоты, простые эфиры, алканолы
	$(CH_3)_3Si^+$	триметилсилильные группы
74	$CH_2=C(OH)OCH_3^+$	метиловые сложные эфиры
77	$C_6H_5^+$	ароматические соединения
79/81	Br^+	Br-содержащие
80	$C_5H_6N^+$	производные пиррола
81	$C_5H_5O^+$	производные фурана
85	$C_6H_{13}^+$	алкильные группы
	$C_5H_9O^+$	производные тетрагидрофурана
86	$C_4H_9CH=NH_2^+$	амины
89	$C_7H_5^+$	гетероциклические соединения
91	$C_7H_7^+$	бензильные группы
92	$C_6H_6N^+$	алкилпиридины
91/93	$C_4H_8Cl^+$	алкилхлориды
94	$C_6H_6O^+$	эфиры фенола

Окончание таб. 3.31.

97	$C_5H_5S^+$	алкилтиофены
99	$C_7H_{15}^+$	алкильные группы
	$C_5H_8O_2^+$	кетали
105	$C_8H_9^+$	алкилбензолы
	$C_6H_5CO^+$	бензоильные группы
121	$C_8H_9O^+$	алкилфенолы

Таблица 3.32. Важнейшие осколочные ионы с характерными значениями разностей масс.

$[M-X]^{+\bullet}$, $[M-X]^{+\bullet}$	X, $X^\bullet$	Предположительная структура
M-14	CH_2	гомологи
M-16	O	нитросоединения, сульфоксиды
	NH_2	амиды
M-17	OH	O-содержащие
	NH_3	аминогруппы
M-18	H_2O	спирты, кетоны, альдегиды
M-19	F	F-содержащие
M-20	HF	F-содержащие
M-26	C_2H_2	ароматические соединения
M-27	HCN	N-гетероциклы, нитрилы
M-28	C_2H_4	O-гетероциклы, фенолы
	CO	хиноны, арилкетоны
M-29	CHO	ароматические альдегиды, фенолы
	C_2H_5	н-алканы, циклоалканы
M-30	C_2H_6	алкильные группы
	NO	нитроароматические соединения
	CH_2O	метоксиарены
M-31	OCH_3	метиловые сложные эфиры
M-32	S	S-содержащие
M-33	HS	S-содержащие
M-34	H_2S	тиолы
M-36	HCl	Cl-содержащие
M-41	C_3H_5	пропиловые сложные эфиры
M-42	CH_2CO	ацетоксиарены
	C_3H_6	пропильные группы
M-43	C_3H_7	аллильные группы
	CH_3O	метилкетоны
M-44	CO_2	сложные эфиры, ангидриды
M-45	COOH	карбоновые кислоты
M-46	NO_2	нитроароматические соединения
M-47	HNO_2	нитроалканы

Окончание таб. 3.32.

M-57	C_4H_9	бутиловые сложные эфиры
	C_2H_5CO	этилкетоны
M-60	CH_3COOH	ацетали
M-64	SO_2	сульфоны
M-79/81	Br	Br-содержащие
M-93	C_6H_5O	феноксигруппы
M-127	I	I-содержащие

Качественный анализ

При *идентификации* веществ с помощью масс-спектрометрии исходят из того, что характер фрагментации неизвестного вещества и соединения предполагаемой структуры одинаковый, а спектры получены в близких экспериментальных условиях.

Первое из этих допущений не всегда справедливо. Кроме того, характер фрагментации сам по себе не позволяет различить стерические или топологические изомеры, а зачастую и несколько близко родственных соединений различного состава, но сходной структуры. Условия эксперимента тоже часто изменяются в широких пределах.

Несмотря на это, сопоставление экспериментального и библиотечного масс-спектров часто приводит к правильным выводам. В любом случае при использовании способа ионизации с сильной фрагментацией (например, электронного удара) вероятность совпадения масс-спектров одного и того же вещества выше, чем масс-спектров разных веществ.

Для надежной идентификации необходимо наряду со спектром неизвестного вещества экспериментально получить и масс-спектр вещества с предполагаемой структурой. Существующие *библиотеки масс-спектров* насчитывают до 150000 спектров различных соединений. Имеются и специализированные библиотеки масс-спектров для отдельных классов веществ — пестицидов, лекарственных средств.

Количественный анализ

С помощью масс-спектрометрии можно проводить как вещественный, так и элементный количественный анализ.

Вещественный анализ осуществляют обычно в сочетании с хроматографическим разделением. Чаще всего для этого используют газовую хроматографию. В ходе хроматографического процесса регистрируют во времени интенсивность какого-либо пика с определенным массовым числом. В результате получается зависимость сигнала детектора от времени, как и в любом другом виде хроматографии. Поскольку метод масс-спектрометрии здесь используется только для детектирования и играет подчиненную роль, более подробно количественный масс-хроматографический анализ будет рассмотрен в главе, посвященной хроматографии (раздел 5.5).

Отметим, что сочетание методов разделения и масс-спектрометрического определения возможно и в форме так называемой *тандемной масс-спектроме-*

трии. Здесь последовательно используют два масс-спектрометра. Первый служит для выделения молекулярных пиков отдельных веществ из масс-спектра их смеси, второй — для фрагментации выделенных веществ с целью их идентификации. В идейном отношении метод тандемной масс-спектрометрии очень похож на хромато-масс-спектрометрию.

Для количественного анализа можно использовать и масс-спектр как таковой. Для этого следует выбрать некоторый пик, принадлежащий определяемому компоненту, и измерить его интенсивность. Для исключения влияния условий эксперимента используют *внутренний стандарт* — обычно изотопную разновидность определяемого вещества или его гомолог. При перекрывании пиков можно использовать математические методы анализа многокомпонентных смесей (раздел 6.3).

Непосредственное определение концентраций масс-спектрометрическим методом используют, например, для определения содержания углеводородов C_3-C_5 или спиртов C_1-C_5 в газовых смесях. Погрешность определения составляет 2–10%.

Элементный анализ осуществляют путем ионизации образца в *электрической искре*, *индуктивно связанной плазме* или *тлеющем разряде* (раздел 3.2.2). При искровой ионизации обычно применяют масс-анализатор с двойной фокусировкой геометрии Маттауха–Герцога (рис. 3.113). Этим методом анализируют главным образом *твердые* образцы. При использовании ИСП или тлеющего разряда применяют главным образом квадрупольные анализаторы. В настоящее время масс-спектрометрия с ИСП стала очень важным методом анализа *растворов*, позволяющим определять любые элементы (с массовыми числами начиная от 3) с пределами обнаружения от 0,1 до 10 частей на миллион. Для элементного анализа вполне достаточно разрешения в одну единицу m/z.

Метод масс-спектрометрии (в форме масс-спектрометрии вторичных ионов) применяется и для исследования *поверхности* при анализе материалов (раздел 8.2).

3.6. Методы анализа, основанные на радиоактивности

Существует много способов использования ядерных реакций для химического анализа. Один из них — измерение *естественной радиоактивности* элементов, содержащихся в пробе. Таким методом можно, например, определить содержание радона в воздухе или оценить возраст археологических либо геологических объектов.

Другой способ (*активационный анализ*) основан на переводе компонентов пробы в радиоактивное состояние (активации) под действием облучения — главным образом потоком нейтронов. Вместо нейтронов можно использовать и заряженные частицы — ядра водорода, дейтерия или гелия. Измерение интенсивности наведенного радиоактивного излучения лежит в основе количественного активационного анализа.

Наконец, можно измерить радиоактивность образца, в который предварительно добавлено определенное количество радиоактивного вещества. Важнейшим из методов этой группы является метод *изотопного разбавления*, применяемый главным образом при определении следовых содержаний.

Методы, основанные на измерении радиоактивности одного определенного компонента, называются *радиохимическими*. Для их реализации достаточно лишь простого детектора радиоактивности. Более сложное оборудование, например, γ-спектрометры — применяют в *радиоспектроскопических* методах.

С помощью методов, основанных на явлении радиоактивности (ядерно-физических), можно определять очень малые содержания (до 1 части на миллиард и ниже) многих элементов. Поэтому такие методы имеют особенно большое значение при определении *ультрамалых количеств*.

Теоретические основы

Ядерно-физические методы анализа основаны на протекании *ядерных реакций* с участием определенных изотопов того или иного элемента. С отдельными изотопами определяемого элемента мы уже имели дело при обсуждении масс-спектрометрических методов анализа (раздел 3.5). Здесь нас будут интересовать лишь *радиоактивные* изотопы.

Любой радиоактивный изотоп (*радионуклид*) претерпевает процесс распада, завершающийся образованием некоторого стабильного изотопа. Этот распад сопровождается испусканием электромагнитного излучения (рентгеновских или γ-лучей) или потоков заряженных частиц (α, β-частицы). β-частицы представляют собой электроны или позитроны. Испускание как фотонов, так и заряженных частиц может быть положено в основу методов химического анализа.

Распад радионуклидов

Рассмотрение процессов распада радионуклидов начнем с *α-распада*. α-частицы представляют собой ядра $^4_2\mathrm{He}$ с массой 4 а.е.м. и зарядом +2. Они образуются лишь в ходе распада достаточно тяжелых (с атомными номерами свыше 60) ядер. Например, распад ядра урана-238 протекает по уравнению

$$^{238}_{92}\mathrm{U} \rightarrow {}^{234}_{90}\mathrm{Th} + {}^{4}_{2}\mathrm{He}. \qquad (3.116)$$

Одновременно с α-частицей часто выделяется и γ-квант.

Возникающая в результате радиоактивного распада α-частица достаточно быстро отрывает от атомов окружающих веществ два электрона и превращается в нейтральный атом гелия. Ввиду большой массы и заряда проникающая способность α-частиц невелика. Поток α-частиц является моноэнергетическим или характеризуется распределением энергий в достаточно узком диапазоне.

В ходе *β-распада* масса ядра остается неизменной, а атомный номер (заряд ядра) изменяется на единицу. При испускании *электрона* (β^--частица) одновременно испускается и антинейтрино $\bar{\nu}$:

$$^{40}_{19}\mathrm{K} \rightarrow {}^{40}_{20}\mathrm{Ca} + \beta^- + \bar{\nu}. \qquad (3.117)$$

Испускание *позитрона* (β^+-частицы) сопровождается испусканием нейтрино ν:

$$^{65}_{30}\mathrm{Zn} \rightarrow {}^{65}_{29}\mathrm{Cu} + \beta^+ + \nu. \qquad (3.118)$$

Нейтрино и антинейтрино практически не взаимодействуют с веществом и поэтому не имеют никакого практического значения для химического анализа.

Электроны участвуют еще в одном виде ядерных превращений, который называется *K-захватом*. Примером может служить следующая реакция:

$$^{48}_{24}\mathrm{Cr} + {}^{0}_{-1}e \rightarrow {}^{48}_{23}\mathrm{V} + \text{рентгеновское излучение.} \qquad (3.119)$$

Возникающий в ходе подобных ядерных реакций атом (в данном случае ванадия) имеет электронную вакансию на одном из внутренних энергетических уровней (чаще всего на K-уровне). Это состояние является неустойчивым. Поэтому вслед за ядерным превращением происходит переход электрона на образовавшуюся вакансию с одного из более высокоэнергетических уровней аналогично тому, как это наблюдается в ходе рентгенофлуоресцентного анализа (раздел 3.2.3). При этом выделяется квант рентгеновского излучения. Обратите внимание, что в этом случае испускание кванта электромагнитного излучения является вторичным процессом и не связано с ядерными превращениями как таковыми. В отличие от α-излучения, β-излучение характеризуется распределением энергий частиц в широком диапазоне. Поскольку масса β-частиц значительно меньше, чем α-частиц, проникающая способность β-излучения гораздо выше. Помимо этого, β-излучение сильно рассеивается в окружающей среде.

При ядерных превращениях могут испускаться и электромагнитные кванты (*γ-излучение*). Это происходит в тех случаях, когда ядро, первоначально образующееся в ходе ядерной реакции, находится в возбужденном состоянии. При переходе такого ядра в невозбужденное состояние выделяется γ-квант подобно тому, как при переходе электрона в более низкое по энергии состояние — рентгеновский квант.

Основные механизмы взаимодействия γ-излучения с веществом окружающей среды сводятся к следующему. *Низкоэнергетические* γ-кванты отдают свою энергию почти исключительно в результате фотоэффекта (см. рис. 3.37). Для γ-квантов *средних энергий* (а также и для рентгеновского излучения, возникающего в ходе рентгенофлуоресцентного анализа) характерен эффект *комптоновского рассеяния*, при котором энергия кванта передается среде лишь частично. При этом образуется новый фотон с меньшей энергией, который может вызвать фотоэффект или еще один акт комптоновского рассеяния. Наконец, наиболее *высокоэнергетические* ($> 1,02$ МэВ) γ-кванты обычно порождают пару электрон-позитрон.

В ходе ядерных реакций (при так называемой *внутренней конверсии* возбужденного ядра) может возникнуть и *рентгеновское излучение*. В этом случае первоначально избыток ядерной энергии затрачивается на выбивание в окружающее пространство одного из внутренних электронов атома (аналогично ожеэффекту, раздел 3.2.3). Возникшая вакансия (на K или L-уровне) заполняется электроном с более высокого уровня, в результате чего и возникает рентгеновское излучение.

Скорость радиоактивного распада

По отношению к одному определенному ядру радиоактивный распад — процесс абсолютно случайный. По отношению же к большой совокупности ядер процесс радиоактивного распада хорошо описывается кинетическим уравнением первого

порядка (раздел 2.7):

$$-\frac{\mathrm{d}N}{\mathrm{d}t} = \lambda N, \tag{3.120}$$

где λ — постоянная радиоактивного распада,
N— число ядер радионуклида.

Произведение $A = \lambda N$ называется *активностью*. В интегральной форме (см. раздел 2.7) процесс радиоактивного распада можно описать следующим образом:

$$N = N_0 e^{-\lambda t}. \tag{3.121}$$

Это уравнение экспоненциальной кривой (см. рис. 2.29). Важной характеристикой скорости распада является время, в течение которого распадается половина ядер. Оно называется *периодом полураспада* и может быть выражено как

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} = \frac{0,693}{\lambda}. \tag{3.122}$$

Для различных радионуклидов период полураспада может составлять от малых долей секунды до многих миллионов лет.

Единицей активности A является беккерель (Бк), равный одному распаду ядра за одну секунду. Таким образом, $1\,\text{Бк} = 1\,\text{с}^{-1}$. Традиционно в качестве единицы активности используется и кюри (Ки): $1\,\text{Ки} = 3,70 \cdot 10^{10}\,\text{Бк}$. 1 Ки в точности равен активности 1 г чистого радия-226.

На практике в ходе химического анализа обычно измеряют не абсолютные значения активностей, а так называемую *скорость счета* R. Она отличается от активности на величину коэффициента эффективности детектора b:

$$R = bA = b\lambda N. \tag{3.123}$$

Результаты измерения скорости счета подчиняются *закону распределения Пуассона*. Это следует учитывать при выборе интервала времени для измерения радиоактивности (см. раздел 6.1). Для количественного анализа измеренные значения скоростей счета следует корректировать на величину фонового сигнала. Фоновая радиоактивность может быть обусловлена наличием в атмосфере незначительных количеств радона или других радиоактивных веществ, образующихся под действием космических лучей.

Измерение интенсивности радиоактивного излучения

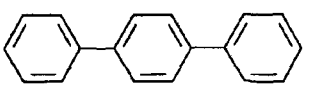
Для измерения радиоактивности используют детекторы, аналогичные применяемым для измерения интенсивности рентгеновского излучения (раздел 3.2.3). Они делятся на газоионизационные, сцинтилляционные и полупроводниковые.

Газоионизационные детекторы (пропорциональные счетчики Гейгера–Мюллера) особенно удобны для измерения β-активности. В этом случае эффективность счета составляет почти 100%. По отношению же к γ-квантам эффективность таких детекторов порядка 1%. Недостаток газоионизационных детекторов — значительная инерционность. Для измерения α-активности газоионизационные детекторы снабжают окошком из специального материала, чувствительного к α-частицам.

Сцинтилляционные детекторы характеризуются значительно более высоким быстродействием, чем счетчики Гейгера – Мюллера. Для регистрации различных видов излучения существуют различные сцинтилляционные материалы. α-частицы чаще всего регистрируют с помощью детекторов на основе кристаллов ZnS, активированных серебром. β-частицы можно регистрировать при помощи жидких детекторов, например, растворов п-терфенила в бензоле. Для γ-излучения применяют детекторы тех же типов, что и в РФА, например, на основе кристаллов NaI/Tl.

Полупроводниковые детекторы можно использовать для регистрации всех видов радиоактивного излучения.

При взаимодействии с частицами, образующимися в результате радиоактивного распада, детекторы всех типов генерируют импульсы напряжения, которые затем можно анализировать (как и в РФА, раздел 3.2.3) с помощью *анализаторов высоты импульсов*. Интегральные анализаторы регистрируют все импульсы с величиной, превышающей заданное пороговое значение. Изменяя высоту порога, можно получить картину распределения импульсов по энергиям. Это же распределение можно получить и с помощью дифференциальных анализаторов. Они работают по *многоканальному* принципу: каждый канал (их общее число составляет от 128 до 4096) такого анализатора настроен на некоторый достаточно узкий диапазон величин импульсов.



п-терфинил

Практическое применение

Измерение естественной радиоактивности

Для определения содержания ряда элементов можно использовать радиоактивные свойства их природных радионуклидов. Необходимые предпосылки состоят в постоянстве изотопного состава и радиохимической чистоте определяемых элементов. Таким способом можно, например, контролировать содержание калия в веществах и материалах калийных производств (предел обнаружения порядка 300 мг K) или оценивать радиоактивный фон на заводах по переработке урана по величине активности одного из продуктов его распада — радона.

Измерение естественной радиоактивности применяют и для *определения возраста* геологических и археологических объектов. Важнейший метод, применяемый для этой цели, — радиоуглеродный. В его основе лежит реакция образования радиоактивного изотопа ^{14}C

$$^{14}_{7}N + {}^{1}_{0}n \rightarrow {}^{14}_{6}C + {}^{1}_{1}p \quad \text{или, сокращенно,} \quad {}^{14}_{7}N(n,p){}^{14}_{6}C.$$

В результате этой реакции из атмосферного азота каждую секунду образуется приблизительно 25 000 атомов ^{14}C на один квадратный метр поверхности Земли. В объектах, постоянно контактирующих с атмосферным CO_2 (в частности, в живых организмах), соотношение $^{14}C/^{12}C$ остается постоянным ввиду непрерывно протекающего изотопного обмена. Для объектов, утративших контакт с биосферой, это равновесие прекращается, и содержание ^{14}C начинает непрерывно уменьшаться. Таким образом, зная исходное (N_0) и текущее (N)

значения отношения $^{14}C/^{12}C$, а также период полураспада ^{14}C, можно, в соответствии с уравнением (3.121), оценить возраст объекта.

Нейтронно-активационный анализ

Для активации образца чаще всего используют поток нейтронов. Основным источником нейтронов служит *ядерный реактор*. Наряду с этим можно использовать и некоторые радионуклиды, а также ускорители заряженных частиц.

Из радионуклидов применяют обычно трансурановые элементы, например, калифорний-252 с периодом полураспада 2,6 года. Можно применять и смесь α-излучателя (плутоний, америций) с бериллием. При облучении бериллия α-частицами происходит ядерная реакция

$$^{9}_{4}\mathrm{Be} + {}^{4}_{2}\mathrm{He} \rightarrow {}^{12}_{6}\mathrm{C} + {}^{1}_{0}\mathrm{n} + 5,7\,\text{МэВ}$$

с выделением нейтрона.

В *ускорителях* образование нейтронов может происходить в результате многих ядерных реакций, например, между ускоренными ионами дейтерия и ядрами тритий, адсорбированными на титане:

$$^{2}_{1}\mathrm{H} + {}^{3}_{1}\mathrm{H} \rightarrow {}^{4}_{2}\mathrm{He} + {}^{1}_{0}\mathrm{n}.$$

Проходя через такие материалы, как вода (обычная или тяжелая) или парафин, быстрые нейтроны (с энергией в несколько МэВ) вследствие упругого рассеяния замедляются до энергий порядка 0,04 эВ. Такие нейтроны, называемые *тепловыми*, главным образом и используют в активационном анализе. Однако для активации легких элементов — N, O, F, Si — необходимы как раз быстрые (с энергиями до 14 МэВ) нейтроны, получаемые непосредственно в ускорителях.

Период полураспада нейтрона составляет около 12,5 мин. Продуктами распада нейтрона являются протон и электрон. Отсутствие у нейтрона электрического заряда облегчает его проникновение в положительно заряженное атомное ядро. В результате *захвата нейтрона* масса ядра возрастает на единицу, а заряд остается без изменений. Так, активация ядра натрия-23 происходит следующим образом:

$$^{23}_{11}\mathrm{Na} + {}^{1}_{0}\mathrm{n} \rightarrow {}^{24}_{11}\mathrm{Na} + \gamma \quad \text{или, сокращенно,} \quad {}^{23}_{11}\mathrm{Na(n,\gamma)}{}^{24}_{11}\mathrm{Na}. \tag{3.124}$$

Ввиду того, что нейтрон несет с собой большую энергию, образующееся ядро первоначально находится в возбужденном состоянии.

Степень активации образца зависит от *плотности потока* нейтронов Φ, *сечения захвата* σ и так называемого *коэффициента насыщения* S. Таким образом, с учетом соотношения (3.123) скорость счета облученного образца составляет

$$R = N\Phi\sigma bS. \tag{3.125}$$

Анализируемую пробу облучают до тех пор, пока не наступит насыщение. Одновременно в тех же условиях облучают и образец сравнения, используемый как внешний стандарт. В соответствии с уравнением (3.125) при одинаковых условиях облучения отношение активностей пробы (индекс x) и образца сравнения (индекс $ст$) определяется только числом активированных ядер N. Поэтому

масса определяемого элемента в анализируемой пробе равна

$$m_x = \frac{R_x}{R_{ст}} m_{ст}. \tag{3.126}$$

При помощи нейтронно-активационного анализа можно определять 69 элементов, включая инертные газы. *Пределы обнаружения* лежат в диапазоне от 200 мкг для серы до $5 \cdot 10^{-6}$ мкг для европия. Они зависят как от характеристик конкретной ядерной реакции, так и от возможностей детектирования излучения. *Относительная погрешность* результата анализа обычно составляет порядка 10%, в отдельных случаях — порядка 1%.

Пробоподготовка перед облучением может сводиться лишь к запаиванию пробы и образца сравнения в ампулы — из тефлона, полиэтилена или кварца. После облучения может потребоваться *разделение* компонентов — с помощью экстракции, осаждения или хроматографии.

Серьезными недостатками активационных методов анализа являются необходимость использования весьма дорогостоящего оборудования и работы с радиоактивными материалами. Следует применять все необходимые средства защиты от излучения и строго соблюдать все требования техники безопасности. При работе с долгоживущими радионуклидами дополнительным недостатком является большая длительность регистрации сигнала из-за малых скоростей счета.

Активационный анализ широко используют в криминалистике для определения ультрамалых содержаний элементов, например, в образцах волос, обрывках бумаги. Определение сверхмалых содержаний элементов бывает необходимо и при решении вопроса о подлинности или подделке предметов старины — музыкальных инструментов, произведений искусства и т.д.

Метод изотопного разбавления

В методе изотопного разбавления к пробе добавляют известное количество изотопно меченного определяемого вещества. Затем определяемый компонент выделяют в чистом виде, например, с помощью экстракции или осаждения и измеряют активность определенной части выделенного препарата.

Пусть скорость счета изотопной метки с массой определяемого компонента m_T равна R_T, а масса определяемого компонента в пробе равна m_x. После смешения пробы и метки масса компонента составила $m_T + m_x$, а скорость счета — по-прежнему R_T. Легко видеть, что если для части пробы, содержащей массу компонента m_M, измеренная скорость счета составляет R_M, то

$$m_x = \frac{R_T}{R_M} m_M - m_T. \tag{3.127}$$

При использовании метода изотопного разбавления во многих случаях полного отделения определяемого компонента не требуется. Этим методом можно определять свыше 30 элементов, а также органические и биоорганические вещества в малых концентрациях — инсулин, пенициллин, витамин B_{12} (в последнем случае удобно использовать изотопную метку ^{60}Co). Метод изотопного разбавления во многих случаях успешно конкурирует с активационным.

Важнейшее достоинство метода изотопного разбавления — возможность определения отдельных химических форм элемента. Например, для определения хро-

матов в смеси с Cr^{3+} в пробу вводят меченый ион $^{51}Cr_2O_7^{2-}$ и отделяют хроматы от Cr^{3+} осаждением в виде $BaCrO_4$ в сильнощелочной среде. По результатам измерения активности осадка находят содержание хроматов.

3.7. Литература

Раздел 3.2. Атомная спектроскопия

B.Welz, Atomabsorptionsspektrometrie, Wiley-VCH, Weinheim, 1997.

P.W.J.M.Boumans, Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy (Part 1 and 2), Wiley, New York, 1990.

R.Jenkins, X-ray Fluorescence Spectrometry, New York, Wiley, 1988.

Раздел 3.3. Оптическая молекулярная спектроскопия

H.Günzler, R.Böck, IR-Spektroskopie — eine Einführung, Wiley-VCH, Weinheim, 1996.

H.H.Perkampus, UV-VIS Spektroskopie und ihre Anwendungen, Springer, Berlin, 1986.

D.A.Burns, E.W.Ciurczak, Handbook of Near-Infrared Analysis, Marcel Dekker, New York, 1992.

B.Schrader, Raman/Infrared Atlas of Organic Compounds, VCH, Weinheim, 1989.

Разделы 3.4 и 3.5. ЯМР и масс-спектрометрия

M.Hesse, H.Meier, B.Zech, Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, Thieme, Stuttgart, 4. Auflage, 1991.

H.Friebolin, Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie, Wiley-VCH, Weinheim, 1999.

E.Schröder, Massenspektrometrie, Begriffe und Definitionen, Springer, Berlin, 1991.

Разделы 3.6. Ядерно-физические методы

H.Naumer, W.Heller (Hrsg.), Untersuchungsmethoden in der Chemie, Thieme, Stuttgart, 2. Auflage, 1990.

W.Stolz, Radioaktivität–Grundlagen–Messung–Anwendung. Carl Hanser Verlag München/Wien, Teubner Verlagsges. Leipzig, 1990.

ГЛАВА 4

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Измерение электрических величин для определения состава веществ является одним из важнейших приемов аналитической химии. Все электрохимические измерения проводятся с использованием электрохимической ячейки — раствора, в который погружены по меньшей мере два электрода. На электродах происходят различные физические и химические процессы, о степени протекания которых можно судить путем измерения напряжения, силы тока, электрического сопротивления, электрического заряда или подвижности заряженных частиц в электрическом поле. Определяемое вещество при этом, как правило, находится в растворе электролита.

С методической точки зрения электрохимические методы анализа можно разделить на прямые и косвенные. Последние представляют собой методы титрования, в которых конечную точку определяют электрохимическим способом.

Другой вид классификации электрохимических методов (число которых очень велико) основан на том, протекает ли в ходе анализа через ячейку электрический ток или нет. *Потенциометрические* методы основаны на измерении напряжения на электродах ячейки в отсутствие тока. Как и любые другие электрохимические методы, они делятся на прямые (например, pH-метрия) и косвенные (потенциометрическое титрование). Если же через ячейку протекает электрический ток (происходит процесс электролиза), то для химического анализа можно использовать зависимость силы тока от напряжения. Соответствующие методы называются *вольтамперометрическими* (в частном случае, при использовании ртутного капающего электрода — *полярографическими*). Методы, основанные на измерении напряжения при постоянной силе тока, называются *вольтаметрическими*, а на измерении силы тока при постоянном напряжении — *амперометрическими*. В любом варианте вольтамперометрический анализ проводят в условиях, когда степень электрохимического превращения определяемого вещества вследствие электролиза пренебрежимо мала. Однако электролиз можно проводить и до полного превращения определяемого вещества. На этом основаны методы *электрогравиметрии* и *кулонометрии*. В электрогравиметрии для определения содержания вещества применяют взвешивание продукта электролиза, а в кулонометрии — измерение количества электричества, затраченного на электролиз. Электрогравиметрические и прямые кулонометрические определения обычно проводят при постоянном потенциале рабочего электрода (в потенциостатическом режиме). Косвенный кулонометрический анализ (кулонометрическое титрование), как правило, ведут при постоянной силе тока (в гальваностатическом режиме). Здесь электролизу подвергают вспомогательный реагент, продукт электрохимического превращения которого служит титрантом для определяемого вещества.

4.1. Основы электрохимических процессов

Электроды и электрохимическая ячейка

Все электрохимические равновесия основаны на превращениях веществ в гетерогенных системах с участием частиц — носителей заряда. Отметим, что в состоянии электрохимического равновесия как электрические потенциалы фаз, так и химические потенциалы участников процесса в разных фазах различаются.

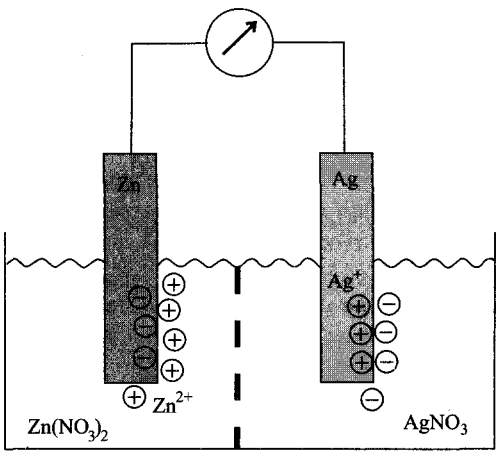


Рис. 4.1. Цинк-серебряная электрохимическая ячейка.

В качестве классического примера рассмотрим цинк-серебряную электрохимическую ячейку. Она состоит из растворов, содержащих ионы Ag^+ и Zn^{2+}, которые разделены диафрагмой для того, чтобы обеспечить возможность протекания тока без смешения растворов. В каждый из растворов погружен электрод, изготовленный из соответствующего металла (серебра, цинка). Схематическое устройство такой ячейки изображено на рис. 4.1.

На границах раздела фаз металл–раствор протекают следующие процессы:

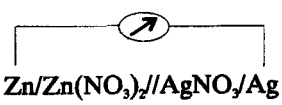
$$Ag^+ \rightleftharpoons Ag^+(aq), \qquad (4.1)$$

$$Zn^{2+} \rightleftharpoons Zn^{2+}(aq). \qquad (4.2)$$

Между соответствующими ионами в фазах металла и раствора устанавливается равновесие. Каждая из двух систем, включающих металл и раствор соответствующего иона, называется полуэлементом. Каждый полуэлемент включает в себя две фазы, одна из которых характеризуется электронной, а другая — ионной проводимостью.

На границе раздела фаз полуэлемента происходит *электродная реакция* — процесс с участием компонентов обеих фаз, в результате которого осуществляется перенос ионов или электронов через границу раздела и, вследствие этого, протекание электрического тока.

Электрохимической ячейкой называется многофазная система, состоящая по меньшей мере из двух полуэлементов, в которых жидкие фазы находятся между собой в электролитическом контакте. Границу раздела твердой и жидкой фаз обычно обозначают символом «/» (или «|»), а электролитический контакт двух жидких фаз — символом «//» (или «||»). Таким образом, схему рассматриваемой ячейки можно представить в следующем виде



Суммарная электрохимическая реакция, протекающая в ячейке, складывается из двух процессов, происходящих в каждом из полуэлементов:

$$2Ag^+ + Zn \rightleftharpoons 2Ag + Zn^{2+}. \tag{4.3}$$

Направление самопроизвольного протекания этого процесса в стандартных условиях можно определить из величин стандартных электродных (окислительно-восстановительных) потенциалов соответствующих электрохимических пар (для пары Ag^+/Ag $E^0 = 0,81$ В, для Zn^{2+}/Zn $E^0 = -0,76$ В).

На каждой из границ раздела фаз — Ag/Ag^+ и Zn/Zn^{2+} — образуется двойной электрический слой. Обусловленная им разность потенциалов называется *гальвани-потенциалом*. Величину гальвани-потенциала одного отдельного электрода измерить невозможно. Можно измерить только разность двух гальвани-потенциалов, т. е. общее напряжение на электродах ячейки. При отсутствии тока эта разность потенциалов называется равновесной (E_{eq}). Она равна электродвижущей силе (ЭДС), создаваемой ячейкой. Связь между ЭДС и активностями ионов в обоих полуэлементах I и II описывается *уравнением Нернста*:

$$E_{\text{eq}} = E(\text{I}) - E(\text{II}), \tag{4.4}$$

$$E_{\text{eq}} = E^0(\text{I}) - E^0(\text{II}) + \frac{RT}{z_r F} \ln a_{\text{M(I)}}^{\nu(\text{I})_+} - \frac{RT}{z_r F} \ln a_{\text{M(II)}}^{\nu(\text{II})_+}, \tag{4.5}$$

где a — активности соответствующих ионов в растворах,
ν — стехиометрические коэффициенты для ионов z_r, F, R, E и E^0 имеют тот же смысл, что и в уравнении Нернста (2.125).

При этом все индексы I относятся к правому, а II — к левому полуэлементу.

Величина гальвани- (или, в общем случае, **электродного**) потенциала одного отдельно взятого электрода (называемого индикаторным), представляла бы для аналитической химии несомненный интерес. Но, поскольку его измерить невозможно, измерения производят относительно некоторого электрода, потенциал которого остается постоянным. Такой электрод называют электродом сравнения.

Стандартным электродом сравнения служит *стандартный водородный электрод*. Это газовый электрод, состоящий из платиновой проволоки, покрытой слоем платиновой черни, находящийся в атмосфере водорода под давлением 1 атм ($1,013 \cdot 10^5$ Па) и погруженный в водный раствор с активностью ионов H^+, равной 1 моль/л. В соответствии с международным соглашением потенциал стандартного водородного электрода условно принят за нуль:

$$E^0(H^+/\frac{1}{2}H_2) = 0,00\,\text{В}. \tag{4.6}$$

Все табличные значения стандартных электродных потенциалов измерены относительно стандартного водородного электрода. Однако практическое применение стандартного водородного электрода имеет ряд очевидных неудобств. Поэтому на практике в качестве электродов сравнения обычно используют другие электроды — например, *каломельный* или *хлоридсеребряный* электроды. Их электродные потенциалы E(В) постоянны и точно известны. Поэтому при необходимости из величины потенциала $E_{\text{В}}$, измеренной относительно электрода сравнения, можно всегда рассчитать соответствующую величину потенциала (E)

относительно стандартного водородного электрода как

$$E = E_{\text{В}} + E(\text{В}). \tag{4.7}$$

Рассмотрим классификацию электродов в соответствии с характером протекающих на них электрохимических процессов и их конструктивными особенностями.

Классификация электродов

Электроды, на которых протекают окислительно-восстановительные процессы, называются металлическими. В зависимости от природы частиц — переносчиков заряда они подразделяются на инертные и активные. Активные электроды, в свою очередь, делятся на электроды первого и второго рода.

Инертные электроды

Инертным называется электрод, роль которого сводится к переносу электронов между частицами, находящимися в растворе. Таким электродом может служить платиновая проволока, погруженная в раствор соответствующего состава, например, содержащего ионы Fe^{2+} и Fe^{3+}.

В этом случае суммарная электродная реакция состоит из процессов переноса электронов из металла в раствор и последующего переноса электрона в растворе.

Межфазный перенос: $$e^-_{\text{металл}} \rightleftharpoons e^-_{\text{раствор}}. \tag{4.8}$$

Последующая реакция: $$Fe^{3+}_{\text{раствор}} + e^-_{\text{раствор}} \rightleftharpoons Fe^{2+}_{\text{раствор}}. \tag{4.9}$$

Суммарная реакция: $$Fe^{3+}_{\text{раствор}} + e^-_{\text{металл}} \rightleftharpoons Fe^{2+}_{\text{раствор}}. \tag{4.10}$$

Подобный электрод в принципе возможно себе представить применительно и к другим окислительно-восстановительным системам: Sn^{4+}/Sn^{2+}, Pb^{4+}/Pb^{2+}, $Cr_2O_7^{2-}$, H^+/Cr^{3+}, MnO_2, H^+/Mn^{2+} (две последние системы являются pH-зависимыми).

Активные электроды

Роль активных электродов — перенос ионов через границу раздела фаз. Например, для серебряного электрода, погруженного в раствор Ag^+, имеют место следующие процессы:

Межфазный перенос: $$Ag^+_{\text{металл}} \rightleftharpoons Ag^+_{\text{раствор}}. \tag{4.11}$$

Последующая реакция: $$Ag_{\text{металл}} \rightleftharpoons Ag^+_{\text{металл}} + e^-. \tag{4.12}$$

Суммарная реакция: $$Ag_{\text{металл}} \rightleftharpoons Ag^+_{\text{раствор}} + e^-. \tag{4.13}$$

Такие электроды, состоящие из металла, погруженного в раствор собственных ионов, называются **электродами первого рода**. Например, в ячейке, изображенной на рис. 4.1, имеются два электрода первого рода — Ag/Ag^+ и Zn/Zn^{2+}.

Электроды второго рода — это системы, в которых происходит перенос не собственных катионов материала электрода, а анионов, образующих с ионами металла *малорастворимые соединения* или *устойчивые комплексы*.

К электродам второго рода, в основе действия которых лежит образование малорастворимого соединения, относятся, в частности, упоминавшиеся ранее хлоридсеребряный и каломельный электроды. Они имеют большое практическое значение, поскольку повсеместно используются в качестве электродов сравнения.

В качестве примера рассмотрим принцип работы каломельного электрода. Каломельный электрод состоит из ртути, покрытой слоем каломели (Hg_2Cl_2) и погруженной в раствор KCl. Для электродов сравнения, как правило, используют насыщенный раствор KCl. Схематически конструкция такого электрода изображена на рис. 4.2. Контакт электрода с анализируемым раствором может осуществляться посредством мембраны или диафрагмы (как показано на рис. 4.9).

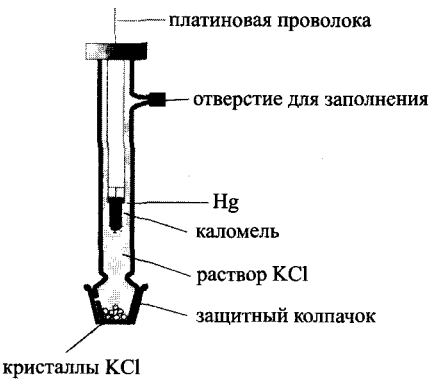


Рис. 4.2. Устройство насыщенного каломельного электрода.

Потенциал каломельного электрода определяет следующая электродная реакция:

$$Hg_2Cl_2 + 2e^- \rightleftharpoons 2Hg + 2Cl^-. \qquad (4.14)$$

Для вывода уравнения, описывающего равновесный потенциал каломельного электрода, необходимо принять во внимание как собственно потенциалопределяющую стадию, так и равновесие осадок–раствор с участием хлорида ртути (I). Поскольку в потенциалопределяющей стадии участвуют ионы Hg_2^{2+}, то

$$E = E^0(Hg_2^{2+}/Hg) + \frac{RT}{z_r F}\ln[Hg_2^{2+}]. \qquad (4.15)$$

Для равновесия осадок–раствор

$$Hg_2Cl_2 \rightleftharpoons Hg_2^{2+} + 2Cl^-, \qquad (4.16)$$

произведение растворимости равно

$$K_L = [Hg_2^{2+}][Cl^-]^2 = 10^{-17,96} = 1,10 \cdot 10^{-18}. \qquad (4.17)$$

Выразив концентрацию ионов Hg_2^{2+} из (4.17) и подставив ее в уравнение (4.15), получим уравнение Нернста в виде

$$E = E^0(Hg_2^{2+}/Hg) + \frac{RT}{z_r F}\ln\frac{K_L}{[Cl^-]^2}. \qquad (4.18)$$

Таким образом, потенциал каломельного электрода зависит от концентрации хлорид-ионов.

В насыщенном растворе KCl (рис. 4.2) концентрация ионов Cl^- составляет 2,83 моль/л. После подстановки всех численных величин в уравнение (4.18) находим потенциал насыщенного каломельного электрода:

$$E = 0,799 + \frac{0,0592}{2}(-17,96 - 2\lg 2,83) = 0,242\text{В} \qquad (4.19)$$

Насыщенный хлоридсеребряный электрод устроен аналогично. Его потенциал равен 0,197 В. В общем случае для электрода второго рода на основе малорас-

творимого хлорида MCl_n можно записать:

$$E = E^0 + \frac{0,059}{n} \lg K_L - \frac{0,059}{n} \lg[Cl^-]^n = E_{const} - 0,059 \lg[Cl^-]. \quad (4.20)$$

Подобным же образом действуют электроды второго рода, основанные на образовании *устойчивых комплексов*, например, комплексов с ЭДТА. Для измерении концентрации аниона ЭДТА Y^{4-} можно использовать ртутный электрод в присутствии некоторого количества устойчивого комплекса Hg^{2+} с ЭДТА. Потенциал ртутного электрода в этом случае будет равен

$$E = E^0(Hg^{2+}/Hg) + \frac{RT}{z_r F} \ln[Hg^{2+}]. \quad (4.21)$$

Равновесие комплексообразования

$$Hg^{2+} + Y^{4-} \rightleftharpoons HgY^{2-}, \quad (4.22)$$

характеризуется константой устойчивости

$$\beta = \frac{[HgY^{2-}]}{[Hg^{2+}][Y^{4-}]}. \quad (4.23)$$

Подставив (4.23) в (4.21), получаем:

$$E = E^0(Hg^{2+}/Hg) - \frac{RT}{z_r F} \ln \frac{\beta[Y^{4-}]}{[HgY^{2-}]}. \quad (4.24)$$

При этом суммарное уравнение процесса, протекающего на электроде, можно представить в виде

$$HgY^{2-} + 2e^- \rightleftharpoons Hg + Y^{4-}. \quad (4.25)$$

Ввиду высокой устойчивости комплекса Hg^{2+} с ЭДТА возможно измерять концентрации ионов Y^{4-} в широком диапазоне даже в присутствии небольших концентраций HgY^{2-}. Считая эту концентрацию величиной постоянной, можно переписать уравнение (4.24) в виде

$$E = E_{const} - \frac{0,059}{2} \lg[Y^{4-}], \quad (4.26)$$

где постоянный член равен

$$E_{const} = E^0(Hg^{2+}/Hg) - \frac{0,059}{2} \lg \frac{\beta}{[HgY^{4-}]}. \quad (4.27)$$

Электрод второго рода описанного типа можно использовать, например, для определения конечной точки при комплексонометрическом титровании с ЭДТА.

Механизмы переноса зарядов в растворах

Перенос заряда в растворах происходит в результате направленного движения носителей заряда — ионов. Существуют различные механизмы такого переноса. Среди них можно выделить конвекцию, миграцию и диффузию.

Конвекцией называется перенос вещества макроскопическими потоками. В электрохимическом анализе часто применяют *перемешивание* раствора для ускорения переноса ионов вследствие конвекции.

Миграция — это движение заряженных частиц под действием электростатического поля. Зависимость скорости движения ионов от напряженности электростатического поля может исказить результаты анализа, поэтому миграцию ионов определяемого вещества стараются исключить. Для этого в анализируемый раствор добавляют инертный (электрохимически неактивный) электролит в достаточно высокой концентрации. Находясь в избытке, ионы электролита являются в этом случае основными переносчиками тока, и доля заряда, переносимая определяемыми ионами, оказывается невелика. В водных растворах в качестве инертных электролитов можно использовать растворы KNO_3, $NaClO_4$ или KCl в концентрациях 0,1 М или выше. В органических растворителях инертными электролитами могут служить нацело диссоциированные соли, образованные крупными органическими катионами, например, перхлорат тетрабутиламмония (рис. 2.26).

Диффузия — это процесс переноса вещества под действием разности химических потенциалов. Теоретические основы этого явления изучаются в курсе физической химии. Основные законы, описывающие процесс диффузии, называются законами Фика. В разделе 4.4 мы рассмотрим первый закон Фика (см. уравнение (4.88)) применительно к электрохимическим явлениям.

Электропроводность электролитов

Электролитами называются вещества, обладающие ионной проводимостью. Они могут представлять собой твердые тела, жидкости или растворы. Электролит может состоять из ионов изначально (*истинные* электролиты: многие соли в твердом или расплавленном состоянии), либо ионы могут образовываться в результате растворения электролита вследствие электролитической диссоциации (*потенциальные* электролиты: кислоты, органические основания).

В общем случае поведение в растворе электролита KA, состоящего (реально или потенциально) из катиона K^+ и аниона A^- характеризуется равновесием

$$KA \rightleftharpoons K^+ + A^-, \tag{4.28}$$

с константой диссоциации

$$K_c = \frac{[K^+][A^-]}{[KA]}. \tag{4.29}$$

Электрическое сопротивление раствора электролита (Ом) можно выразить из закона Ома

$$R = \frac{U}{I}, \tag{4.30}$$

где U — напряжение (разность потенциалов), В, I — сила тока (А).

Величина сопротивления зависит от геометрических параметров проводника: она прямо пропорциональна его длине l и обратно пропорциональна площади поперечного сечения A. Величина

$$\rho = \frac{A \cdot R}{l} \quad \text{(Ом·см)} \tag{4.31}$$

от геометрии проводника не зависит. Она называется удельным сопротивлением.

Величина, обратная к удельному сопротивлению, называется удельной электропроводностью:

$$\kappa = \frac{1}{\rho} \quad (\text{Ом}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}). \tag{4.32}$$

В табл. 4.1 приведены значения удельной электропроводности некоторых растворов.

Таблица 4.1. Удельная электропроводность некоторых растворов при 18°С.

Раствор	$\kappa, \text{Ом}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$
дистиллированная вода	$\sim 10^{-5}$
вода для измерения электропроводности	$< 10^{-6}$
HCl, 20% раствор	0,76
H_2SO_4, 30% раствор	0,76
NaCl, 25% раствор	0,21
$CaCl_2$, 25% раствор	0,18

Электропроводность растворов электролитов зависит от их концентрации. Поэтому в электрохимии используют такие величины, как мольная λ_m и эквивалентная λ электропроводность (размерности $\text{Ом}^{-1}\cdot\text{см}^2\cdot\text{моль}^{-1}$):

$$\lambda_m = \frac{\kappa}{c}, \tag{4.33}$$

$$\lambda = \frac{\kappa}{c_{\text{ev}}}. \tag{4.34}$$

Эквивалентная концентрация c_{ev} выражается как

$$c_{\text{ev}} = z_+\nu_+ c = |z_-|\nu_- c = z_{\text{e}} c,$$

где z_+, z_- — заряд катиона (аниона),
ν_+, ν_- — стехиометрические коэффициенты,
z_e — электрохимическая валентность,
c — концентрация вещества в растворе (моль/л).

Мольная и эквивалентная электропроводность определяется величинами *подвижностей ионов* электролита. Ионы, обладающие различными размерами и зарядом, движутся в электростатическом поле с разными скоростями. При этом катионы движутся к отрицательно заряженному электроду, катоду, а анионы — к положительно заряженному электроду, аноду. (рис. 4.3).

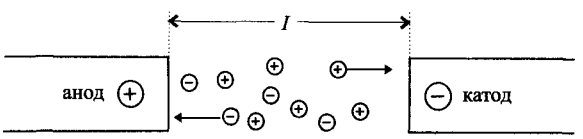


Рис. 4.3. Миграция ионов в электрическом поле.

Скорости движения ионов зависят от напряженности электрического поля $\boldsymbol{E}$ — отношения напряжения U к расстоянию между электродами l:

$$\boldsymbol{E} = \frac{U}{l}. \tag{4.35}$$

Электростатическая сила, действующая на ион в электрическом поле, равна произведению напряженности поля на заряд иона:

$$F_e = \boldsymbol{E} z_e e. \tag{4.36}$$

При движении иона возникает сила вязкого трения, величину которой для сферических частиц можно выразить при помощи закона Стокса:

$$F_R = 6\pi r \eta v, \tag{4.37}$$

где r — радиус частицы (см),
η — коэффициент вязкости среды ($м^{-1}\cdot кг\cdot с^{-1}$),
v — скорость движения ($см\cdot с^{-1}$).

Постоянная скорость движения иона отвечает случаю, когда обе эти силы уравновешивают друг друга:

$$v = \frac{\boldsymbol{E} z_e e}{6\pi r \eta}. \tag{4.38}$$

Характеристикой движения ионов в электрическом поле, не зависящей от напряженности, является подвижность u:

$$u = \frac{v}{\boldsymbol{E}} = \frac{z_e e}{6\pi r \eta}. \tag{4.39}$$

Для электролита произвольного состава электропроводность его раствора *связана с подвижностями, составляющих* его ионов следующим образом:

$$\kappa = cF(z_+\nu_+ c + |z_-|\nu_- c) = z_e c F(u_+ + u_-). \tag{4.40}$$

Подставляя выражение (4.40) в (4.34), получаем связь между эквивалентной электропроводностью λ и подвижностями ионов:

$$\lambda = \frac{\kappa}{z_e c} = F(u_+ + u_-). \tag{4.41}$$

В соответствии с предложением Кольрауша произведения Fu_+ и Fu_- называются *эквивалентными электропроводностями* соответствующих *ионов*. Их сумма равна эквивалентной электропроводности раствора электролита:

$$\lambda = \lambda_+ + \lambda_-. \tag{4.42}$$

Зависимость электропроводности от концентрации

Очевидно, что электропроводность раствора электролита зависит от степени его диссоциации. Поэтому следует ожидать, что для сильных и слабых электролитов зависимость электропроводности от концентрации будет различной.

Сильные электролиты диссоциированы нацело даже в достаточно концентрированных растворах. В этом случае, в соответствии с уравнением (4.40), электропроводность должна быть прямо пропорциональна концентрации. Однако ввиду межионных взаимодействий с ростом концентрации электропроводность растет медленнее, чем этого следовало бы ожидать из уравнения (4.40), а при очень высоких концентрациях (1–15 моль/л) начинает падать. Это явление связано с образованием незаряженных ионных пар и ионных ассоциатов, неспособных проводить ток.

Описанное явление приводит к тому, что *эквивалентная электропроводность* сильных электролитов уменьшается с ростом концентрации (рис. 4.4).

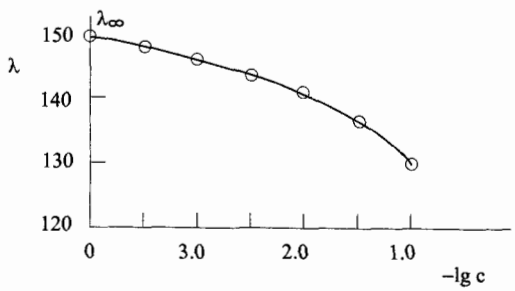


Рис. 4.4. Зависимость эквивалентной электропроводности растворов сильного электролита (KCl) от концентрации.

При бесконечном разбавлении межионные взаимодействия отсутствуют, и подвижности ионов достигают максимальных значений. На рис. 4.4 показано значение эквивалентной электропроводности раствора KCl при бесконечном разбавлении.

Для любого иона величина эквивалентной электропроводности при бесконечном разбавлении (табл. 4.2) не зависит от условий эксперимента и может быть использована для приближенной оценки электропроводности раствора электролита.

Таблица 4.2. Эквивалентные электропроводности некоторых ионов при бесконечном разбавлении (18°C).

Катион	$\lambda_{+\infty}$, $см^2 \cdot Ом^{-1} \cdot моль^{-1}$	Анион	$\lambda_{-\infty}$, $см^2 \cdot Ом^{-1} \cdot моль^{-1}$
H^+	349,8	OH^-	197,6
Li^+	38,7	F^-	55,0
Na^+	50,1	Cl^-	76,3
K^+	73,5	Br^-	78,3
Ag^+	61,9	I^-	76,8
Mg^{2+}	53,1	ClO_4^-	67,3
Ca^{2+}	59,5	CH_3COO^-	40,9
NH_4^+	73,3	NO_3^-	71,5

Как видно из табл. 4.2, ионы H^+ и OH^- характеризуются электропроводностью, во много раз превышающей электропроводность других ионов. Это объясняется особым, так называемым эстафетным, механизмом переноса заряда этими ионами в водных растворах, заключающемся в серии последовательных актов разрыва и образования водородных связей.

Зависимость эквивалентной электропроводности сильных электролитов от концентрации (рис. 4.4) в области до 0,01 М хорошо описывается законом Кольрауша («законом квадратного корня»):

$$\lambda = \lambda_\infty - k\sqrt{c}. \tag{4.43}$$

Величина константы k для каждого электролита имеет свое значение.

Для **слабых электролитов** с изменением концентрации изменяется степень диссоциации. В сильно разбавленных растворах слабые электролиты диссоциированы нацело. С увеличением концентрации степень диссоциации уменьшается.

К слабым электролитам относятся, в частности, органические кислоты и основания, а также некоторые соли — FeF_3, $HgCl_2$.

Для разбавленных растворов слабых электролитов межионные взаимодействия пренебрежимо малы. Отличие электропроводности от предельной (при бесконечном разбавлении) связано в этом случае лишь с неполнотой диссоциации. Поэтому *степень диссоциации* α равна

$$\alpha = \frac{\lambda}{\lambda_\infty}. \tag{4.44}$$

Она представляет собой отношение концентрации катиона или аниона электролита к его общей концентрации:

$$\alpha = \frac{[K^+]}{c} = \frac{[A^-]}{c}. \tag{4.45}$$

Для слабых электролитов в очень разбавленных растворах между эквивалентной электропроводностью и концентрацией наблюдается приближенно линейная зависимость:

$$\lambda = \lambda_\infty - k'c. \tag{4.46}$$

При более высоких концентрациях степень диссоциации слабых электролитов значительно меньше единицы. Удельную электропроводность можно рассчитать (см. уравнения (4.40)–(4.44)) как

$$\kappa = \alpha z_e c(\lambda_{+\infty} + \lambda_{-\infty}). \tag{4.47}$$

4.2. Кондуктометрия

Метод кондуктометрии основан на измерении *электропроводности* анализируемого раствора. На рис. 4.5 схематически представлено устройство ячейки для точного измерения электропроводности растворов. Эту ячейку включают в качестве одного плеча в компенсационную электрическую схему измерения сопротивления (мостик Уитстона).

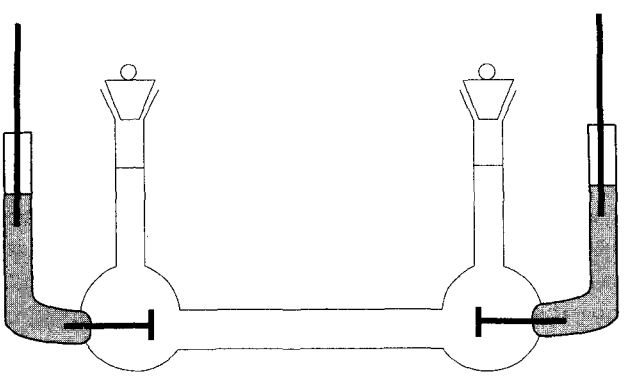


Рис. 4.5. Ячейка для измерения электропроводности. Электроды изготавливают из платины, серебра или нержавеющей стали.

Из измеренной величины сопротивления ячейки R можно, в соответствии с уравнениями (4.31) и (4.32), рассчитать *удельную электропроводность*:

$$\kappa = \frac{1}{R} \cdot \frac{l}{A} = GC, \tag{4.48}$$

где $G = 1/R$ — электропроводность раствора электролита ($Ом^{-1}$),
C — постоянная ячейки ($см^{-1}$).

Постоянную ячейки C находят экспериментальным путем с помощью градуировки. Для этого обычно используют растворы KCl, удельная электропроводность которых при различных концентрациях известна с высокой точностью (табл. 4.3).

Таблица 4.3. Удельная электропроводность растворов KCl при 18°C.

Концентрация, моль/л	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	0,1	1,0
κ, $Ом^{-1} \cdot см^{-1}$	$1,271 \cdot 10^{-4}$	$1,225 \cdot 10^{-3}$	$1,111910 \cdot 10^{-2}$	$0,8922 \cdot 10^{-1}$

Чтобы исключить явления электролиза и поляризации электродов, к электродам прилагают переменное напряжение. Следует учитывать, что сопротивление ячейки в этом случае имеет наряду с омической также емкостную и индуктивную составляющую, и скомпенсировать их.

Метод прямой кондуктометрии широко используется для контроля производственных процессов, например, при производстве бумаги (раздел 7.3). Это также распространенный способ детектирования в жидкостной хроматографии (раздел 5.3). Поскольку электропроводность является универсальным свойством ионов, измерение электропроводности позволяет детектировать любые ионы, выходящие из хроматографической колонки. Явление аномально высокой электропроводности протонов используется в классической ионной хроматографии (раздел 5.3.2).

Измерение электропроводности газов при высоких температурах используют для детектирования в газовой хроматографии (раздел 5.2) и в элементном анализе органических веществ (раздел 7.1).

При **кондуктометрическом титровании** (кислотно-основном, осадительном) измерение электропроводности служит для индикации конечной точки титрования. Рассмотрим сначала титрование сильной кислоты (HCl) сильным основанием (NaOH).

$$H^+ + Cl^- + Na^+ + OH^- \rightleftharpoons \quad Na^+ + Cl^- + H_2O. \tag{4.49}$$

Кривая кондуктометрического титрования представляет собой зависимость измеренной электропроводности раствора G от степени оттитрованности τ (рис. 4.6). Сначала в ходе титрования очень подвижные ионы H^+ замещаются на менее подвижные ионы Na^+, в результате чего электропроводность раствора уменьшается. После точки эквивалентности электропроводность начинает возрастать ввиду того, что в растворе появляются дополнительные ионы, в том числе OH^-, обладающие очень высокой подвижностью. В точке эквивалентности наблюдается очень резкое изменение электропроводности.

Совсем иным будет ход кривой при титровании слабой кислоты (например, CH_3COOH).

$$CH_3COOH + Na^+ + OH^- \rightleftharpoons \quad Na^+ + CH_3COO^- + H_2O. \qquad (4.50)$$

В начальной точке электропроводность определяется лишь концентрацией свободных протонов и ацетат-ионов, образовавшихся в результате диссоциации уксусной кислоты. Ввиду неполноты ее диссоциации электропроводность ниже, чем для раствора HCl той же концентрации. При добавлении NaOH электропроводность сначала становится еще ниже ввиду замещения ионов H^+ на ионы Na^+, обладающие меньшей электропроводностью. Однако, поскольку замещение H^+ на Na^+ связано также с увеличением степени диссоциации, вскоре электропроводность начинает возрастать. После точки эквивалентности рост электропроводности становится более резким ввиду появления свободных ионов OH^-. В целом ход кривой намного более плавный, а излом в точке эквивалентности выражен куда менее резко, чем при титровании HCl.

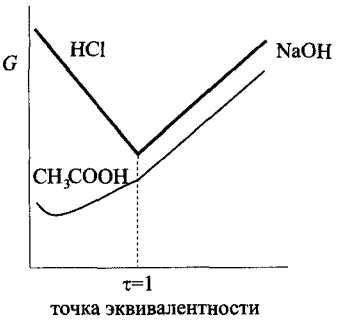
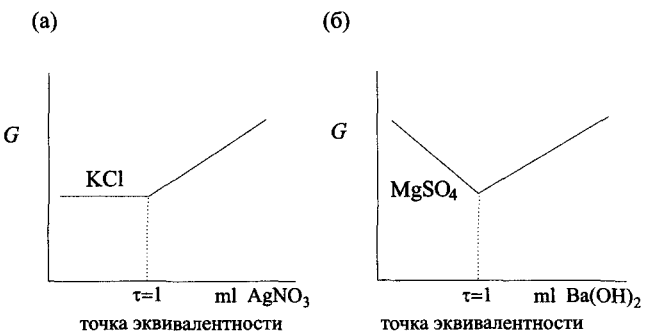


Рис. 4.6. Кривые кислотно-основного титрования сильной (HCl) и слабой (CH_3COOH) кислоты сильным основанием (NaOH) с кондуктометрической индикацией.

В качестве примеров осадительного титрования с кондуктометрической индикацией на рис. 4.7 (а) приведена кривая титрования хлорид-ионов раствором нитрата серебра, а на рис. 4.7 (б) — сульфат-ионов (в растворе $MgSO_4$) раствором гидроксида бария.

Рис. 4.7. Кривые осадительного титрования хлорид-ионов раствором нитрата серебра (а) и сульфат-ионов раствором гидроксида бария (б) с кондуктометрической индикацией.



При титровании хлорид-ионов до точки эквивалентности электропроводность раствора почти не изменяется, поскольку происходит замещение ионов Cl^- на NO_3^-, эквивалентные электропроводности которых близки (см. табл. 4.2).

$$K^+ + Cl^- + Ag^+ + NO_3^- \rightleftharpoons \quad AgCl(s) + K^+ + NO_3^-. \qquad (4.51)$$

После точки эквивалентности электропроводность возрастает ввиду увеличения в растворе концентрации переносчиков заряда — ионов Ag^+ и NO_3^-.

Титрование раствора $MgSO_4$ раствором $Ba(OH)_2$ протекает по уравнению

$$Mg^{2+} + SO_4^{2-} + Ba^{2+} + 2OH^- \rightleftharpoons Mg(OH)_2(s) + BaSO_4(s). \qquad (4.52)$$

До точки эквивалентности электропроводность резко уменьшается, поскольку продукты реакции как сульфат бария, так и гидроксид магния выпадают в осадок. После точки эквивалентности электропроводность начинает возрастать за счет избытка сульфата бария.

4.3. Потенциометрия: измерение напряжения при отсутствии тока

Метод потенциометрии основан на измерении напряжения на электродах ячейки в отсутствие тока. В этом случае один из электродов является неполяризуемым индикаторным электродом, а другой — электродом сравнения (обычно используют насыщенный каломельный или хлоридсеребряный электрод).

Рассмотрим общий принцип потенциометрического анализа на примере определения ионов Ag^{2+} при помощи серебряного индикаторного электрода. Устройство соответствующей ячейки показано на рис. 4.8.

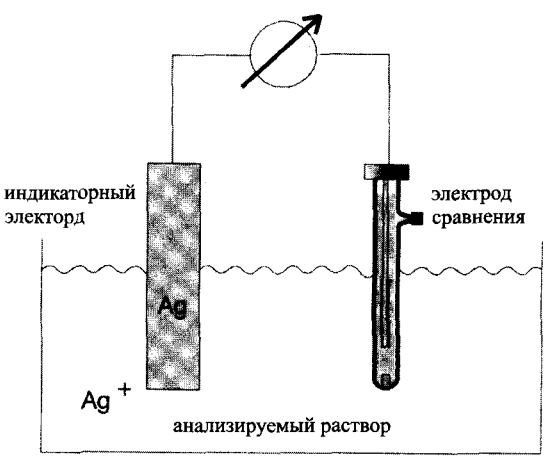


Рис. 4.8. Ячейка для потенциометрического определения Ag^+ с помощью серебряного электрода (электрод сравнения — насыщенный каломельный). Напряжение измеряют вольтметром при отсутствии тока.

Измеряемое вольтметром напряжение на электродах ячейки в соответствии с уравнением Нернста в общем случае равно

$$E_{eq} = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{ox}}{a_{red}}.$$

В данном случае активность восстановленной формы (металлическое серебро) постоянна и может быть принята равной единице, поэтому

$$E_{eq} = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln a_{Ag^+}. \qquad (4.53)$$

При комнатной температуре (25°C) значение предлогарифмического коэффициента в уравнении Нернста в данном случае (перенос одного электрона) рав-

но 59,16 мВ. При переносе двух или трех электронов оно равно, соответственно, 29,5 и 19,7 мВ. Однако случай переноса трех электронов в потенциометрическом анализе практически не встречается.

Прямая потенциометрия

Измерение pH с помощью стеклянного электрода

Едва ли не самое известное применение прямой потенциометрии состоит в измерении pH при помощи стеклянного электрода. Стеклянный электрод состоит из корпуса, в который налит буферный раствор. В этот раствор погружен внутренний электрод сравнения — чаще всего хлоридсеребряный (рис. 4.9). Нижняя шарообразная часть корпуса сделана из очень тонкого стекла и обычно называется стеклянной мембраной. Однако это не мембрана в обычном смысле слова, поскольку она непроницаема для компонентов раствора.

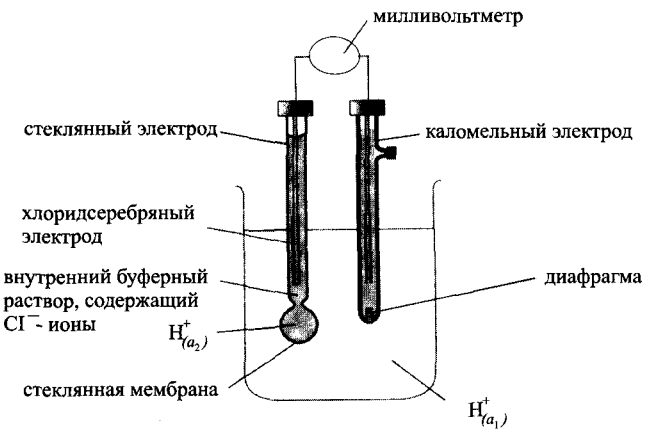


Рис. 4.9. Потенциометрическое измерение при помощи стеклянного электрода и каломельного электрода сравнения.

При контакте с раствором приповерхностный слой стекла выступает в роли ионообменника, обменивая катионы, находящиеся в пустотах силикатного каркаса, на ионы H^+. Для того, чтобы мембрана электрода приобрела способность к такому обмену, ее следует предварительно вымочить в кислом растворе.

Равновесное значение потенциала стеклянного электрода зависит от активностей ионов H^+ в анализируемом растворе (a_1) и внутреннем растворе электрода (a_2). В первом приближении эта зависимость имеет вид

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{a_2}{a_1}. \tag{4.54}$$

Поскольку активность ионов H^+ во внутреннем растворе (a_2) постоянна, то

$$E = E_{const} + \frac{RT}{F} \ln a_1. \tag{4.55}$$

Подставляя численные значения параметров и переходя от натуральных логарифмов к десятичным, при 25°C имеем:

$$E(25°\text{C}) = E_{const} - 59,16\,\text{pH (мВ)}. \tag{4.56}$$

Величина E_{const} зависит от значения pH внутреннего раствора, а также от *потенциала асимметрии* стеклянной мембраны. На практике угол наклона градуировочной зависимости может отличаться от теоретического значения 59,16 мВ. В этих случаях в уравнение вводят эмпирическую поправку k — *коэффициент крутизны*:

$$E(25°\text{C}) = E_{const} - k \cdot 59{,}16\,\text{pH (мВ)}. \qquad (4.57)$$

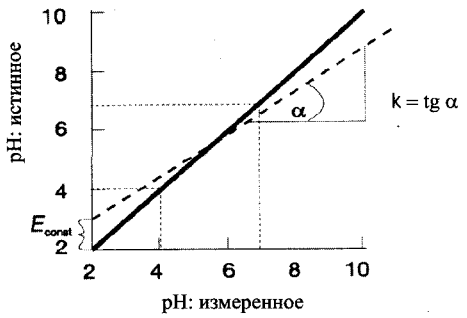


Рис. 4.10. Градуировка стеклянного электрода по двум стандартным буферным растворам с pH = 4,01 (фталатный) и 6,86 (фосфатный).

Для нахождения постоянного члена E_{const} и коэффициента крутизны k (уравнения (4.56), (4.57)) измеряют значения pH стандартных буферных растворов (см. табл. 2.5) с известными величинами pH и сравнивают измеренные значения с теоретическими (рис. 4.10). При наличии расхождений между ними прибор соответствующим образом подстраивают. Необходимо использовать по меньшей мере два стандартных раствора, покрывающих весь диапазон измеряемых значений pH. Часто градуировку проводят по нейтральному фосфатному буферу (pH = 6,86), а второй буфер выбирают в кислой или щелочной области, в зависимости от требуемого диапазона pH.

Стеклянные электроды позволяют с высокой точностью измерять значения pH от 1 до 10. На краях этого диапазона pH наклон градуировочной зависимости несколько ниже теоретического. При pH < 1 возникает *кислотная погрешность*, величина которой зависит от сорта стекла, использованного для изготовления мембраны. При pH > 10 электрод становится чувствительным к ионам щелочных металлов, вследствие чего возникает *щелочная погрешность*. Существуют сорта стекла (в частности, на основе Li_2O–BaO–La_2O_3–SiO_2), для которых рабочий диапазон pH более широкий как в кислой, так и в щелочной области. С другой стороны, чувствительность стеклянной мембраны к ионам натрия и калия можно использовать для создания специальных сортов стекол и разработке на их основе электродов для определения этих ионов.

Ионселективные электроды (ИСЭ)

Стеклянный электрод для измерения pH является примером широкого класса электродов, называемых ионселективными. Многие ионселективные электроды, применяемые для определения различных ионов, устроены совершенно аналогично стеклянному. Существуют и другие типы ИСЭ в частности, электроды с *кристаллической* и *жидкой мембраной*. Общий принцип работы этих электродов тот же, что и у стеклянного. Однако они отличаются от стеклянного электрода с точки зрения природы электродной мембраны. Главное же отличие всех ионселективных электродов от металлических, рассмотренных выше, состоит в том, что на ИСЭ не протекает никакой окислительно-восстановительной реакции.

Зависимость потенциала ИСЭ от состава раствора обусловлена равновесиями ионного обмена, комплексообразования, распределения и равновесиями осадок–раствор.

Ионселективные электроды позволяют определять *активности* ионов. В сильно разбавленных растворах различия между активностями и концентрациями невелики. В других случаях ИСЭ следует градуировать по значениям концентраций определяемых ионов, поддерживая ионную силу раствора постоянной. В то же время в ряде случаев требуется определение именно активностей, и для решения таких задач ИСЭ очень удобны. Другой важной сферой применения ИСЭ является определение *отдельных химических форм* вещества, например, отдельных степеней окисления или свободных ионов металла в присутствии их комплексов.

Наряду с термином «*ионселективные* электроды» иногда используют термин «*ион-специфичные* электроды». Этим термином, однако, следует пользоваться с осторожностью и ясно отдавать себе отчет в том, что не существует электродов, вообще не обладающих чувствительностью к посторонним ионам и, следовательно, специфичным в строгом смысле слова.

Рассмотрение отдельных типов ионселективных электродов мы начнем с электродов со стеклообразными (некристаллическими) мембранами. Они наиболее похожи на стеклянный электрод для определения pH, рассмотренный ранее.

Электроды со стеклообразными мембранами

На возможность создания таких электродов, а именно, электродов для определения ионов *натрия* и *калия* на основе специальных сортов стекол, мы уже указывали выше. Повышения селективности стекол к ионам щелочных металлов по отношению к ионам водорода можно достичь, вводя в состав стекла более 1% оксидов алюминия или бора — элементов, у которых координационное число выше, чем степень окисления. При этом в структуре стекла возникают избыточные отрицательные заряды, обеспечивающие возможность обмена с ионами с подходящим отношением заряда к радиусу. С помощью подобных электродов можно определять целый ряд ионов: Li^+, Na^+, K^+, Rb^+, Cs^+, NH_4^+, Ag^+. Стекло, имеющее особенно высокую селективность к ионам натрия, содержит 27% Na_2O и 18% Al_2O_3.

Среди электродов рассматриваемого типа, которые выпускаются серийно, наиболее распространены электроды, селективные к ионам лития, натрия, калия и аммония.

Электроды с кристаллическими мембранами

Мембраны таких электродов состоят из ионных кристаллов или их смесей. Иногда они представляют собой монокристаллы, например, у фторидселективного электрода на основе LaF_3. Чаще, однако, мембраны изготавливают из порошков, уплотненных прессованием или плавлением.

Электроды с монокристаллическими мембранами. На основе мембраны из монокристалла LaF_3 можно создать электрод, обладающий высокой селективностью к *фторид-ионам*. Устройство такого электрода (а также многих других ИСЭ) похоже на устройство стеклянного электрода для определения pH.

Вместо стеклянного шарика этот электрод имеет мембрану, заключенную в корпус из химически устойчивого материала — пластмассы или тефлона (рис. 4.11).

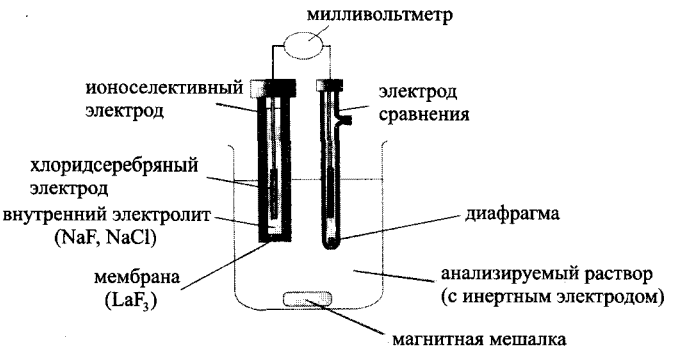


Рис. 4.11. Схема потенциометрической ячейки с ионселективным электродом для определения фторидов.

Ионселективная мембрана — в данном случае из кристаллического LaF_3 — отделяет анализируемый раствор от внутреннего раствора. Для уменьшения электрического сопротивления электрода и облегчения переноса ионов в мембрану вводят добавки EuF_2. Внутренний раствор содержит определяемый ион (фторид). Кроме того, он насыщен хлорид-ионами, поскольку в качестве внутреннего электрода сравнения используют электрод второго рода, чувствительный к хлорид-ионам. Внешний электрод сравнения, погруженный в анализируемый раствор, как всегда, служит для измерения разности потенциалов.

На границах контакта мембраны с внутренним и анализируемым растворами устанавливается равновесие с участием ионов LaF_2^+ мембраны и F^- раствора:

$$LaF_3 \rightleftharpoons LaF_2^+ + F^-. \qquad (4.58)$$

В результате этого каждая поверхность мембраны приобретает заряд, величина которого зависит от концентрации фторид-иона в соответствующем растворе. Возникающая разность потенциалов линейно связана с логарифмом активности фторид-ионов в анализируемом растворе в соответствии с уравнением Нернста:

$$E(LaF_3, F^-, 25°C) = E_{const} - 59,16 \lg a_{F^-} = E_{const} + 59,16pF \text{ (мВ)}, \qquad (4.59)$$

где $pF = -\lg a_{F^-}$.

Поскольку здесь потенциал определяет анион, второе слагаемое в уравнении Нернста имеет знак «минус» в отличие от аналогичного уравнения (4.56) для стеклянного электрода, чувствительного к катионам (H^+).

Селективность электрода на основе LaF_3 чрезвычайно велика. Мешающие влияния других ионов заметно сказываются главным образом в щелочных средах (конкуренция между ионами F^- и OH^-). При $pH < 5$ чувствительность электрода снижается ввиду образования недиссоциированных молекул HF, к которым электрод нечувствителен. Поэтому при работе с такими электродами следует контролировать значение pH раствора. Оптимальный рабочий диапазон pH составляет 6–8.

При определении фторид-ионов в реальных объектах (например, в питьевой воде) часто бывает, что ионная сила в анализируемом растворе весьма мала. Для

обеспечения постоянства ионной силы (а также величины pH) анализируемого раствора к нему добавляют специальные кондиционирующие растворы. Один из таких растворов, называемый TISAB, содержит NaCl (1 M) для поддержания постоянной ионной силы, ацетатную буферную смесь с pH 5 и цитрат-ионы ($\sim 10^{-3}$ M), играющие роль маскирующего реагента для освобождения ионов F^- из прочных фторидных комплексов Al^{3+} и Fe^{3+}. Перед измерением TISAB смешивают с раствором пробы в соотношении 1 : 1.

Количественно охарактеризовать селективность фторидселективного электрода можно на основе общих подходов, рассматриваемых ниже.

Электроды с поликристаллическими мембранами. Электроды этого типа мы рассмотрим на примере электродов с мембраной на основе Ag_2S. Сульфид серебра обладает ионной проводимостью, обусловленной наличием ионов Ag^+. Кроме того, он является весьма малорастворимым соединением ($K_L(Ag_2S) \sim \sim 10^{-51}$ моль$^3 \cdot$л$^{-3}$). Поэтому с помощью мембран из сульфида серебра можно определять как ионы Ag^+, так и S^{2-}. Для определения серебра такой электрод имеет преимущества перед описанным выше металлическим серебряным электродом первого рода, поскольку он менее чувствителен к окислителям и восстановителям.

На основе сульфида серебра можно изготовить множество других ионселективных мембран. Например, в результате прессования смесей порошков Ag_2S и галогенидов либо псевдогалогенидов серебра AgX (X = Cl, Br, I, SCN) получаются мембраны, которые чувствительны не только к ионам Ag^+ и S^{2-}, но и X^-. Причина такой чувствительности в том, что в соответствии с уравнением гетерогенного равновесия

$$AgX \rightleftharpoons Ag^+ + X^-, \tag{4.60}$$

активность ионов серебра на поверхности мембраны однозначно связана с активностью ионов X^-. Потенциал такого электрода определяется выражением

$$E = E_{const} + \frac{RT}{F} \ln a_{Ag^+} = \\ = E_{const} + \frac{RT}{F} \ln \frac{K_{L(AgX)}}{a_{X^-}} = E'_{const} - \frac{RT}{F} \ln a_{X^-}. \tag{4.61}$$

Еще один тип ИСЭ представляют собой электроды с мембраной из сульфида серебра с добавками малорастворимых сульфидов других ионов — Cu^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}. От концентрации соответствующего иона металла зависит концентрация сульфид-иона и, в конечном счете, концентрация иона Ag^+, определяющего величину потенциала.

В качестве матрицы электродных мембран вместо сульфида серебра можно использовать другие материалы. В частности, проф. Пунгор разработал ряд поликристаллических мембранных электродов на основе силикона, в котором суспендирован поликристаллический порошок активного компонента мембраны.

Электроды с жидкими мембранами

Электроды, основу мембраны которых составляет несмешивающаяся с водой жидкость, называются электродами с жидкими мембранами. Первые электроды с жидкими мембранами изготавливали с использованием жидких ионообменни-

ков (см. раздел 2.6), удерживаемых в порах полимерной пленки. Типичная конструкция электрода с жидкой мембраной показана на рис. 4.12. Корпус электрода (например, тефлоновый) состоит из двух концентрических отсеков, раствор жидкого ионообменника в органическом растворителе находится во внешнем из них. Ионообменник под действием капиллярных сил проникает в поры мембраны, изготовленной из гидрофобного полимерного материала. Мембрана закрывает торец электрода.

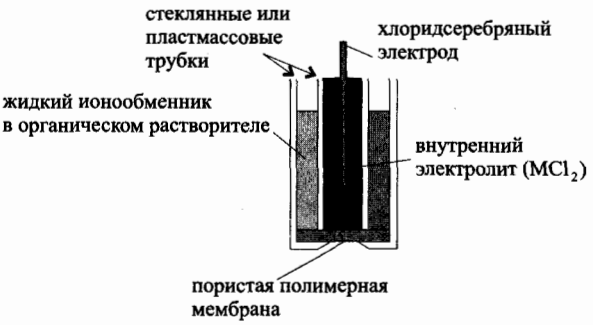


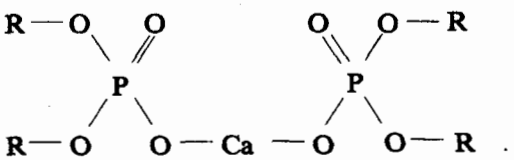
Рис. 4.12. Устройство ИСЭ с жидкой мембраной для определения ионов M^{2+}.

В состав жидкой мембраны для определения ионов металлов (например, M^{2+}) входит вещество — жидкий ионообменник или *ионофор* (обозначаемое I^-), взаимодействующее с определяемым ионом согласно уравнению гетерогенной реакции

$$\overline{I_2M} \rightleftharpoons 2\bar{I}^- + M^{2+}, \qquad (4.62)$$

где черта над символом означает органическую фазу.

Классический представитель этого типа ИСЭ с жидкими мембранами — кальций-селективный электрод на основе алифатических диэфиров фосфорной кислоты:



При использовании полярных растворителей, например, диоктилфенилфосфоната, электрод селективен к ионам кальция. Если же в качестве растворителя использовать деканол, то электрод становится чувствителен ко всем ионам щелочноземельных металлов и может быть использован, в частности, для определения жесткости воды.

Равновесие ионного обмена, протекающее на кальций-селективном электроде, имеет вид

$$[(RO)_2POO]_2Ca \rightleftharpoons 2(RO)_2POO^- + Ca^{2+}. \qquad (4.63)$$

Зависимость потенциала электрода от активности ионов кальция выражается следующим уравнением:

$$E = E_{const} + \frac{59,16}{2} \lg a_{Ca^{2+}} = E_{const} - \frac{59,16}{2} \mathrm{pCa}\ (\text{мВ}). \qquad (4.64)$$

Поскольку в равновесии участвует двухзарядный ион, коэффициент чувствительности вдвое ниже, чем в случае однозарядных ионов.

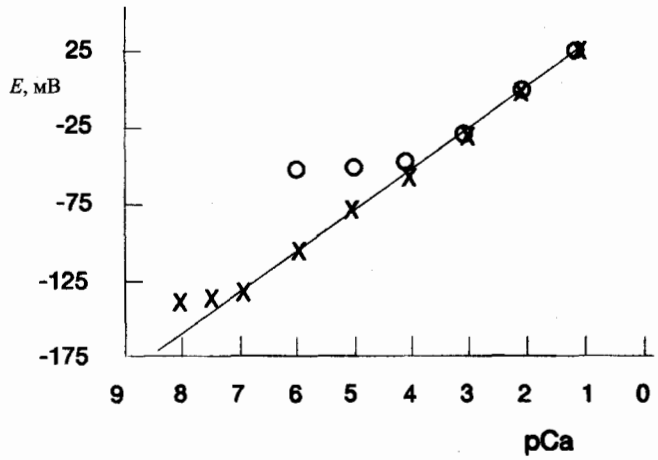
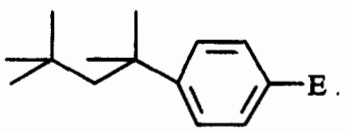


Рис. 4.13. Градуировочные зависимости для Ca^{2+}-селективного электрода. Фоновый электролит — 0,1 М KCl, pH = 7,6 (трис-буфер). Кружочки — данные, полученные в отсутствие, крестики — в присутствии ионного буфера. Ионный буфер состоит из ЭГТА (этиленгликольтетрауксусной кислоты), ОЭДТА (оксиэтилэтилендиаминтетрауксусной кислоты) и НТА (нитрилотриуксусной кислоты).

На рис. 4.13 изображена градуировочная зависимость для кальций-селективного электрода на основе диэфира фосфорной кислоты. Остаток молекулы сложного эфира в данном случае представляет собой п-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенил:



Для чистых водных растворов рабочий диапазон электрода простирается приблизительно от 10^{-5} до 0,1 М Ca^{2+}. При использовании ионных буферных систем этот диапазон может быть расширен до значений порядка 10^{-8} М. Причина этого явления состоит в том, что предел обнаружения ИСЭ данного типа лимитируется главным образом диссоциацией комплекса иона металла с ионофором. Вследствие этого в незабуференном растворе концентрация ионов кальция на поверхности мембраны достаточно велика, и определение концентраций ниже 10^{-5} М невозможно. Использование же *ионных буферов* — лигандов (индивидуальных либо смесей), образующих с ионом металла устойчивые комплексы — снижает концентрацию иона металла на поверхности мембраны, и предел обнаружения понижается.

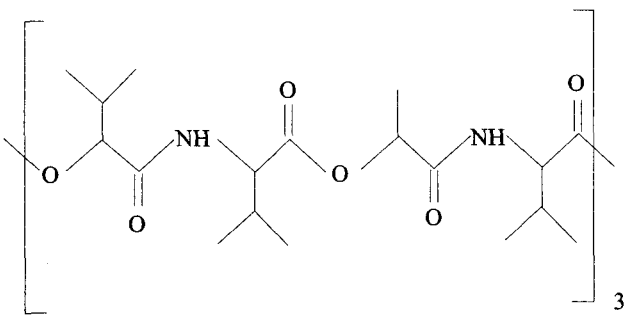
Определению ультрамалых (10^{-6} М и ниже) концентраций ионов Ca^{2+} препятствуют также их потери за счет адсорбции на стенках сосуда и взаимодействия с примесями. Ионные буферы позволяют предотвратить и эти процессы.

Определение весьма низких концентраций кальция имеет большое значение для медицинской диагностики. В биологических жидкостях организма человека концентрация Ca^{2+} может достигать 10^{-6} М и ниже. Такие жидкости содержат аминокислоты и белки, играющие роль ионных буферов.

Дальнейшее свое развитие ИСЭ рассматриваемого типа (называемые «электродами с жидкими мембранами») получили в результате разработки техники иммобилизации ионофоров в полимерной матрице. Для этой цели было исследовано множество полимеров, наилучшим оказался поливинилхлорид (ПВХ). Технология изготовления мембран из ПВХ весьма проста. Ионофор смешивают с измельченным ПВХ и пластификатором (например, себацинатом), растворяют в полярном растворителе (как правило, тетрагидрофуране), и выливают раствор тонким слоем внутрь кольца, закрепленного на стеклянной пластинке. После испарения растворителя остается тонкая гибкая поливинилхлоридная пленка. Из нее вырезают маленькие кружочки и используют их в качестве мембран для ИСЭ, закрепляя на торцах корпусов электродов. Техника работы с электродами на основе жидких мембран такая же, как и с ИСЭ других типов.

В качестве ионофоров для ИСЭ с мембранами из ПВХ были исследованы тысячи различных веществ. Многие из них синтезированы и запатентованы проф. Симоном из Высшей технической школы (ETH, Цюрих). Особенно большое значение имеют ионофоры для определения ионов, содержащихся в сыворотке крови.

Так, для определения ионов K^+ с очень высокой селективностью используют некоторые природные вещества — валиномицин и нонактин. Молекула антибиотика валиномицина, применяемого для этой цели чаще всего, имеет внутреннюю полость. В области этой полости электронная плотность весьма высока, а ее размер почти идеально подходит для селективного связывания ионов калия. Несмотря на то, что молекула валиномицина незаряжена, она удерживает ионы K^+ очень прочно за счет ион-дипольных взаимодействий с атомами кислорода. Циклическая молекула валиномицина состоит из трех фрагментов следующего состава.



Исключительно высокая селективность валиномицинового электрода к ионам калия по отношению к ионам натрия обусловила его широкое практическое использование во многих областях клинического анализа (см. табл. 4.4).

Подобно валиномицину построены молекулы ряда других нейтральных ионофоров для определения ионов металлов. Примеры синтетических ионофоров — полимерных простых эфиров — приведены на рис. 4.14.

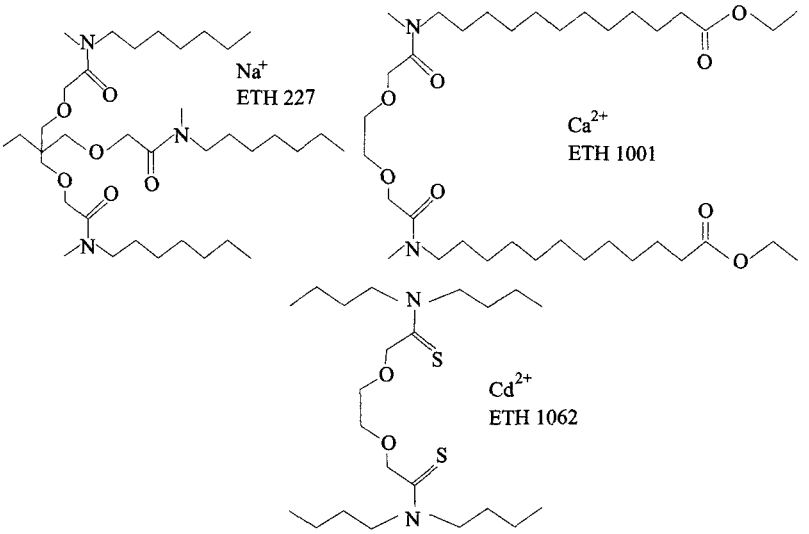


Рис. 4.14. Нейтральные полиэфиры — ионофоры для ИСЭ для определения ионов натрия, кальция и кадмия.

Анионселективные жидкие мембраны можно создавать на основе положительно заряженных жидких анионообменников. Так, в нитрат-селективных электродах используют мембрану, содержащую нитробензольный раствор катионного комплекса Fe(II) с 1,10-фенантролином $[Fe(Phen)_3]^{2+}$ (см. рис. 2.25) в форме ионного ассоциата с перхлорат-ионами. Аналогично можно создавать электроды, селективные к другим анионам — в том числе таким, которые трудно определить иными методами (ClO_4^-, BF_4^-).

Селективность ионселективных электродов

Селективность ИСЭ можно охарактеризовать количественно, используя уравнение Никольского. Оно описывает зависимость потенциала электрода от концентрации посторонних ионов при помощи коэффициентов селективности. В случае одного постороннего иона уравнение Никольского выглядит так:

$$E = E' + \frac{RT}{z_i F} \ln \left[a_i + K_{ij}^{pot} a_j^{z_i/z_j} \right], \tag{4.65}$$

где a_i — активность определяемого иона с зарядом z_i,
a_j — активность постороннего иона с зарядом z_j,
K_{ij}^{pot} — потенциометрический коэффициент селективности.

В общем случае, при наличии m мешающих ионов

$$E = E' + \frac{RT}{z_i F} \ln \left[a_i + \sum_{j=1}^{m} K_{ij}^{pot} a_j^{z_i/z_j} \right]. \tag{4.66}$$

Коэффициент селективности показывает, при каком соотношении концентраций определяемого и постороннего иона последний начинает оказывать меша-

ющее влияние. Значения коэффициентов селективности изменяются от весьма малых величин, близких к нулю, до единицы и более. Чем меньше величина коэффициента селективности, тем выше селективность электрода. Так, коэффициент селективности, равный $1 \cdot 10^{-3}$, означает, что чувствительности электрода по отношению к определяемому и постороннему ионам относятся как 1000 : 1. Величина же, равная 15, свидетельствует о том, что электрод в 15 раз более чувствителен к постороннему иону.

Значение коэффициента селективности непосредственно связано с величинами констант равновесий, описывающих механизм взаимодействия ионов с мембраной. Это могут быть константы равновесий комплексообразования, осадок–раствор или экстракционных равновесий (глава 2). Например, для фторидселективного электрода коэффициент селективности определяется величинами произведений растворимости (см. уравнение (4.58)).

Самый простой экспериментальный способ определения коэффициентов селективности состоит в измерении потенциалов электрода для двух растворов, содержащих отдельно определяемый и посторонний ион с равными активностями. Как следует из уравнения Никольского, эти потенциалы (E_1 и E_2 соответственно) равны

$$E_1 = E_{const} + \frac{59,16}{z_i} \lg a_i \qquad \text{(мВ)}, \tag{4.67}$$

$$E_2 = E_{const} + \frac{59,16}{z_i} \lg K_{ij}^{pot} a_j \quad \text{(мВ)}. \tag{4.68}$$

Поскольку по условию эксперимента $a_i = a_j$, то

$$E_2 - E_1 = \frac{59,16}{z_i} \lg K_{ij}^{pot}, \tag{4.69}$$

и

$$\lg K_{ij}^{pot} = \frac{z_i(E_2 - E_1)}{59,16}. \tag{4.70}$$

Однако с помощью такого метода невозможно учесть эффекты, обусловленные взаимным влиянием ионов. Поэтому предпочтительнее другой способ определения коэффициентов селективности, основанный на исследовании растворов, содержащих смеси определяемого и постороннего ионов.

Можно, например, рассчитать коэффициент селективности из серии градуировочных зависимостей, построенных в присутствии различных концентраций постороннего иона (рис. 4.15). При больших избытках посторонних ионов потенциал электрода определяется вторым слагаемым в уравнении Никольского (4.65). Он остается постоянным и не зависит от концентрации определяемого иона (горизонтальный участок на градуировочной кривой). Из абсциссы точки пересечения двух участков градуировочной зависимости — горизонтального и наклонного — равной

$$a_i = K_{ij}^{pot} a_j^{z_i/z_j}, \tag{4.71}$$

можно, зная постоянную величину a_j, рассчитать коэффициент селективности. Аналогично рассчитываются коэффициенты селективности и в случае, если концентрацию определяемого иона поддерживают постоянной, а изменяют концентрацию определяемого иона.

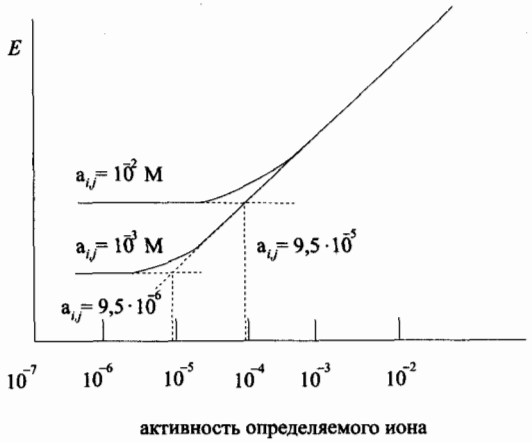


Рис. 4.15. Определение коэффициента селективности ИСЭ по уравнению (4.71) из градуировочных зависимостей, построенных в присутствии посторонних ионов. В данном случае коэффициент селективности равен $9,5 \cdot 10^{-3}$.

Описанный метод в принципе позволяет определить коэффициент селективности даже по одной-единственной градуировочной зависимости. Но, разумеется, для большей достоверности следует рассчитать коэффициенты селективности из нескольких зависимостей (в присутствии различных концентраций посторонних ионов) и усреднить их. Можно использовать и одновременную обработку нескольких линейных или нелинейных зависимостей методами регрессионного анализа (раздел 6.3).

Для электродов с твердыми мембранами можно оценить коэффициент селективности априори из величин соответствующих произведений растворимости. Так, в частности, роданид-ионы мешают определению бромидов с ИСЭ на основе $AgBr/Ag_2S$ ввиду наличия равновесия

$$SCN^- + AgBr(s) \rightleftharpoons AgSCN(s) + Br^-. \qquad (4.72)$$

Образование твердых роданида и бромида серебра начинается тогда, когда произведение активностей соответствующих ионов достигает величины соответствующего произведения растворимости. Согласно общей теории, изложенной в разделе 2.3,

$$\frac{1}{K_{ij}^{pot}} = \frac{a_{SCN^-}}{a_{Br^-}} = \frac{K_L(AgSCN)}{K_L(AgBr)} = \frac{1 \cdot 10^{-12}}{5,25 \cdot 10^{-13}} \approx 2. \qquad (4.73)$$

Таким образом, можно ожидать, что отклонений градуировочной зависимости от линейной начнется при соотношении концентраций роданид- и бромид-ионов, равном 2. Однако следует еще раз подчеркнуть, что полученная величина является сугубо оценочной.

Применение ионселективных электродов

В табл. 4.4 приведены примеры серийно выпускаемых ионселективных электродов и их коэффициенты селективности по отношению к наиболее важным мешающим ионам.

Как видно из табл. 4.4, многие электроды характеризуются чрезвычайно широким рабочим диапазоном концентраций — от практически насыщенных рас-

творов до значений порядка 10^{-7} – 10^{-8} М (в присутствии подходящих катионных или анионных буферов). Этим определяются широкие и разнообразные возможности практического применения ИСЭ.

Таблица 4.4. Серийно выпускаемые ионселективные электроды.

Определяемый ион	Тип мембраны	Рабочий диапазон концентраций, М	Коэффициенты селективности (мешающие ионы)
Cl^-	твердая	$5 \cdot 10^{-5} - 10^0$	20 (I^-), 1,2 (Br^-), 400 (CN^-)
Br^-	твердая	$5 \cdot 10^{-6} - 10^0$	20 (I^-), $6 \cdot 10^{-3}$ (Cl^-), 25 (CN^-)
I^-	твердая	$5 \cdot 10^{-8} - 10^1$	$6{,}5 \cdot 10^{-5}$ (Br^-), $6 \cdot 10^{-6}$ (Cl^-), $5 \cdot 10^{-2}$ (CN^-, S^{2-})
Ca^{2+}	жидкая	$5 \cdot 10^{-7} - 10^0$	$6 \cdot 10^{-3}$ (Sr^{2+}), $4 \cdot 10^{-2}$ (Cu^{2+}), $5 \cdot 10^{-2}$ (Ni^{2+})
Cu^{2+}	твердая	$10^{-8} - 10^{-1}$	$7 \cdot 10^{-3}$ (Pb^{2+}), $3 \cdot 10^{-3}$ (Cd^{2+})
F^-	твердая	$10^{-6} - 10^{-1}$	0,1 (OH^-)
NO_3^-	жидкая	$7 \cdot 10^{-6} - 10^0$	$1 \cdot 10^{-7}$ (ClO_4^-), $5 \cdot 10^{-6}$ (I^-), $5 \cdot 10^{-5}$ (ClO_3^-), $2 \cdot 10^{-2}$ (CO_3^{2-}), $3 \cdot 10^{-2}$ (Cl^-), 0,6 (F^-)
K^+	жидкая	$10^{-6} - 10^0$	$2 \cdot 10^{-5}$ (Na^+), $3 \cdot 10^{-5}$ (Cs^+), $6 \cdot 10^{-3}$ (NH_4^+, Tl^+), $1 \cdot 10^{-2}$ (H^+), 2,0 (Li^+)
$Ca^{2+} + Mg^{2+}$ (жесткость воды)	жидкая	$6 \cdot 10^{-6} - 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$ (Ni^{2+}), $4 \cdot 10^{-4}$ (Sr^{2+}), $6 \cdot 10^{-4}$ (Ba^{2+}), $3 \cdot 10^{-2}$ (Na^+), 0,1 (K^+)

Ионселективные электроды используют для определения ионов Cl^{2-}, NO_3^-, NO_2^-, F^- в питьевой воде, жесткости промышленных вод, токсичных ионов CN^-, S^{2-}, NH_4^+ в сточных водах. В медицине методики потенциометрического определения Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^- в биологических жидкостях являются стандартными.

Ионселективные электроды используют и в потенциометрическом титровании, например, свинец-селективный электрод при титриметрическом определении сульфатов (см. следующий раздел).

Простота конструкции, дешевизна, надежность в эксплуатации и возможность миниатюризации ионселективных электродов обусловила их широкое использование в качестве химических сенсоров (см. раздел 7.2).

Потенциометрическое титрование

Наряду с прямой потенциометрией, имеющей в настоящее время огромное значение в химическом анализе, важную роль играет также потенциометрическое титрование. Эта роль обусловлена двумя основными причинами:

– не для всех определяемых ионов существуют подходящие ионселективные электроды;

– точность прямого потенциометрического анализа недостаточно велика, поскольку определяемой величиной служит логарифм концентрации, а не сама концентрация.

Небольшие погрешности в определении логарифма концентрации могут привести к значительным погрешностям в величине концентрации. Рассмотрим следующий пример. Пусть воспроизводимость измерения потенциала составляет ±1 мВ, а число электронов, участвующих в электродном процессе, равно единице (в этом случае при изменении концентрации в 10 раз потенциал изменяется на 59,16 мВ). Погрешность в определении концентрации можно рассчитать следующим образом:

$$\Delta \lg c = \frac{\Delta E}{59,16}, \tag{4.74}$$

$$\frac{\Delta c}{c} = 2,303\,\Delta \lg c = \frac{2,303 \cdot 1}{59,16} \sim 0,04. \tag{4.75}$$

Таким образом, абсолютная погрешность измерения потенциала всего в 1 мВ приводит к относительной погрешности определения концентрации в 4%.

Метод потенциометрического титрования намного точнее. В ходе титрования концентрация потенциалопределяющего иона вблизи точки эквивалентности изменяется на несколько порядков. Это приводит к появлению на кривой титрования значительного скачка потенциала, положение которого позволяет с высокой точностью определить эквивалентный объем титранта.

В качестве примера рассмотрим потенциометрическое титрование смеси ионов Br^- и Cl^- раствором $AgNO_3$ с использованием Ag^+-селективного электрода. Соответствующая кривая титрования изображена на рис. 4.16.

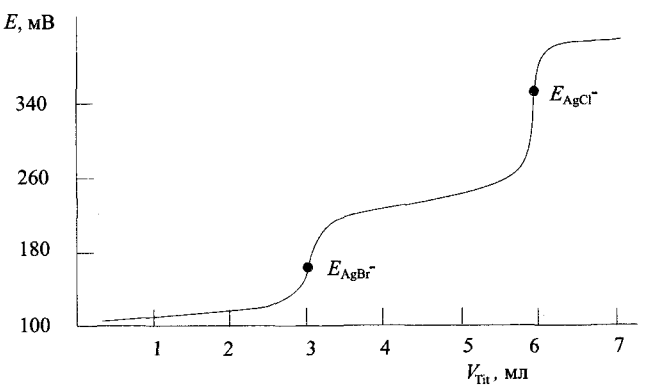


Рис. 4.16. Кривая титрования 100,0 мл раствора, содержащего по $3 \cdot 10^{-4}$ М Br^- и Cl^-, раствором 0,01 М $AgNO_3$.

Как в одной (3,00 мл), так и в другой (6,00 мл) точке эквивалентности скачок потенциала достаточно велик. Следует, однако, иметь в виду, что вблизи точки эквивалентности концентрация потенциалопределяющего иона бывает слишком мала, и потенциал электрода часто нестабилен. Поэтому при титровании слишком разбавленных ($< 10^{-3}$ М) растворов обычно возникают трудности. Для определения точки эквивалентности часто используют не исходную кривую

титрования, а ее первую или вторую производную. Для кривой первой производной точке эквивалентности соответствует положение максимума, а второй производной — точка пересечения оси абсцисс (рис. 4.17).

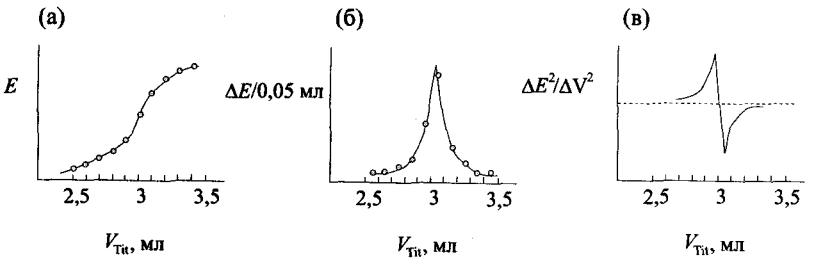


Рис. 4.17. Нахождение точки эквивалентности по исходной кривой потенциометрического титрования (а), ее первой (б) и второй (в) производной.

Потенциометрическую индикацию можно использовать не только в осадительном, но и в кислотно-основном (стеклянный электрод для измерения pH), комплексонометрическом (металл-селективные электроды — например, Cu^{2+}-селективный) и окислительно-восстановительном (металлические, в частности — инертные электроды) титровании. Используемый для индикации электрод должен быть чувствителен либо к определяемому иону, либо к иону-титранту.

4.4. Вольтамперометрия: обработка зависимостей силы тока от потенциала

В рассмотренных ранее электрохимических методах — кондуктометрии и потенциометрии — измерения проводятся в отсутствие тока, протекающего через ячейку. Методы, использующие зависимость между напряжением, приложенным к ячейке, и силой протекающего через нее тока, называются *вольтамперометрическими*. Рассмотрим сначала теоретические основы электрохимических процессов, протекающих при прохождении электрического тока через электрохимическую ячейку.

Электрохимические процессы

Анодный и катодный ток

В разделе 2.5 мы познакомились с понятиями «окисление» и «восстановление». Если эти явления происходят на электродах, то окисление называется анодным процессом, а восстановление — катодным процессом. Электроды, на которых эти процессы протекают, называются, соответственно, анодом и катодом.

Анодное окисление может происходить в форме:

- перехода положительно заряженных частиц из фазы металла в фазу раствора; так, процесс

$$Ag_{металл} \rightarrow Ag^{+}_{раствор} + e^{-}_{металл} \qquad (4.76)$$

включает переход иона серебра

$$Ag^{+}_{\text{металл}} \rightarrow Ag^{+}_{\text{раствор}} \tag{4.77}$$

– перехода отрицательно заряженных частиц из фазы раствора в фазу металла:

$$Fe^{2+}_{\text{раствор}} \rightarrow Fe^{3+}_{\text{раствор}} + e^{-}_{\text{металл}}. \tag{4.78}$$

Катодное восстановление может происходить в форме:

– перехода положительно заряженных частиц из фазы раствора в фазу металла:

$$Ag^{+}_{\text{раствор}} + e^{-}_{\text{металл}} \rightarrow Ag_{\text{металл}} \tag{4.79}$$

с переходом иона серебра

$$Ag^{+}_{\text{раствор}} \rightarrow Ag^{+}_{\text{металл}} \tag{4.80}$$

– перехода отрицательно заряженных частиц из фазы металла в фазу раствора:

$$Fe^{3+}_{\text{раствор}} + e^{-}_{\text{металл}} \rightarrow Fe^{2+}_{\text{раствор}}. \tag{4.81}$$

В потенциометрическом анализе измерения проводят в состоянии равновесия, в отсутствие тока, протекающего через ячейку. Однако это означает лишь отсутствие суммарного тока в цепи. На каждом электроде в той или иной степени всегда происходят две взаимно обратные электрохимические полуреакции, *катодная* и *анодная*, например:

$$Ag^{+}_{\text{металл}} \underset{j_-}{\overset{j_+}{\rightleftharpoons}} Ag^{+}_{\text{раствор}}. \tag{4.82}$$

В состоянии равновесия скорости этих полуреакций, характеризуемые плотностями анодного j_+ и катодного j_- токов, равны. Соответственно, суммарная плотность тока j ($А \cdot м^{-2}$) равна нулю. В общем же случае

$$j = j_+ + j_-. \tag{4.83}$$

Состояние равновесия характеризуется плотностью *тока обмена*

$$j_0 = j_+ = |j_-|. \tag{4.84}$$

Величина тока обмена зависит от характера электрохимической реакции. Чем плотность тока обмена выше, тем менее затруднена электрохимическая реакция кинетически, тем в большей степени она обратима.

Влияние силы тока на величину напряжения на электродах

Протекание тока через ячейку приводит к отклонению системы от равновесного состояния. Причины этого состоят в следующем.

а) Ввиду наличия внутреннего сопротивления ячейки R_i между электродами происходит омическое падение напряжения

$$U = IR_i. \tag{4.85}$$

При этом измеренное напряжение, очевидно, отличается от равновесного. Поэтому при потенциометрических измерениях для уменьшения силы тока в цепи следует использовать высокоомные вольтметры.

б) Кинетические затруднения отдельных электродных реакций вызывают явление перенапряжения.

в) Ввиду протекания электролиза концентрации веществ вблизи электрода могут отличаться от равновесных.

Последнее явление лежит в основе вольтамперометрического метода анализа. Изменение напряжения ячейки вследствие кинетических затруднений протекания электродных реакций называется также *поляризацией*. Ее можно определить как разность потенциалов одного и того же электрода при протекании тока $E_{(I)}$ и в отсутствие тока $E_{(0)}$:

$$P = E_{(I)} - E_{(0)}. \tag{4.86}$$

Потенциал электрода в отсутствие тока называется потенциалом покоя. Экспериментально измеренный потенциал покоя лишь в редких случаях (как, например, для серебряного электрода) совпадает с теоретическим равновесным значением E_{eq}.

Разность между потенциалом электрода при протекании тока и равновесным потенциалом называется *перенапряжением* η:

$$\eta = E_{(I)} - E_{eq}. \tag{4.87}$$

Таким образом, понятия «поляризация»и «перенапряжение» хотя и не тождественны, но характеризуют, по существу, одно и то же явление и в аналитической практике часто употребляются как синонимы. По традиции применительно к электродам применяется термин «поляризация»(поляризуемый, неполяризуемый электрод), а не «перенапряжение».

Кинетические затруднения при протекании электродных реакций могут иметь разные причины. Обычно различают поляризацию перехода, концентрационную (диффузионную) и химическую поляризацию.

Поляризация перехода. Этот вид поляризации обусловлен малой скоростью переноса заряда через границу раздела фаз раствор–электрод вследствие высокой энергии активации. Для *обратимых* электродных реакций, при высоких плотностях тока обмена, поляризация перехода невелика. Для *необратимых* же реакций поляризация перехода значительна.

Концентрационная поляризация. При быстром протекании электродной реакции сила тока определяется скоростью подвода реагирующих частиц к поверхности электрода. Если скорость разряда частиц выше, чем скорость их подачи к электроду, приэлектродный слой обедняется реагирующими частицами, и возникает концентрационная поляризация. В случае, когда среди различных механизмов переноса заряда в растворе (раздел 4.1) преобладает диффузия, поляризация называется диффузионной. Ее величина непосредственно зависит от плотности предельного диффузионного тока j_D(А·м$^{-2}$). Последняя связана с концентрациями частиц в толще раствора (c) и вблизи поверхности электрода (c_0)

в соответствии с первым законом Фика:

$$j_D = -zFD\frac{c - c_0}{\delta}, \tag{4.88}$$

где D — коэффициент диффузии частиц, $м^2 \cdot с^{-1}$,
F — постоянная Фарадея, Кл·моль$^{-1}$,
δ — толщина диффузного слоя, м ,
z — число переносимых электронов.

Химическая поляризация. На величину потенциала электрода могут влиять сопутствующие химические реакции, например, комплексообразования или образования малорастворимого соединения. Так, при восстановлении ионов Cd^{2+} в присутствии иодид-ионов наблюдается изменение потенциала вследствие реакции комплексообразования

$$[CdI_4]^{2-} \rightleftharpoons Cd^{2+} + 4I^-,$$

$$Cd^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Cd.$$

Не все виды поляризации и перенапряжения следует рассматривать как негативные, нежелательные явления. Ведь только благодаря поляризации электродов оказывается вообще возможным вольтамперометрический метод анализа!

Поляризуемые и неполяризуемые электроды

Поляризация электрода означает, что электрод, несмотря на приложенное напряжение, не проводит электрический ток.

Все электроды поляризуемы лишь в некоторой ограниченной области потенциалов. Твердые электроды — стеклоуглеродные, графитовые, платиновые, золотые — в водных растворах поляризуемы в области приблизительно от -1 до $+1$ В. Ртутный электрод обладает чрезвычайно высоким перенапряжением разряда ионов водорода и потому в отрицательной области поляризуем вплоть до -2 В. В положительной же области он, наоборот, поляризуем в довольно малом диапазоне — лишь до $+0,2$ В.

Неполяризуемые электроды не изменяют своего потенциала при прохождении тока. К таким электродам относятся, в частности, электроды сравнения известных нам типов — каломельный и хлоридсеребряный. Их потенциалы постоянны и равны, соответственно, 0,242 и 0,197 В независимо от силы тока в цепи.

Построение вольтамперных кривых

Метод вольтамперометрии основан на изучении зависимостей силы тока от напряжения между электродами, называемых вольтамперными кривыми. Для их регистрации анализируемый раствор помещают в ячейку, состоящую из рабочего электрода (ртутного, угольного, платинового, золотого) и электрода сравнения (каломельного, хлоридсеребряного). Анализируемый раствор должен содержать инертный фоновый электролит. На электроды налагают напряжение, изменяющееся во времени (как правило, линейно). Величину этого напряжения (потенциал рабочего электрода, измеренный относительно электрода сравнения)

откладывают по оси абсцисс, обычно направленной в сторону отрицательных потенциалов. Вдоль оси ординат откладывают силу тока, причем катодные токи соответствуют верхней, а анодные — нижней половине оси ординат (рис. 4.18). Такое «обращенное» направление осей координат обусловлено тем, что основным рабочим электродом является ртутный, рабочая область которого находится главным образом при отрицательных потенциалах.

При наложении напряжения U на электроды 1 и 2 справедливо соотношение

$$U = |E_1 - E_2| + IR_i. \tag{4.89}$$

Таким образом, наложение напряжения в общем случае приводит к изменению потенциалов электродов E_1 и E_2 и омическому падению напряжения вследствие сопротивления ячейки R_i.

Рассмотрим сначала случай, когда оба электрода являются *неполяризуемыми*. Это возможно, например, когда рабочий электрод является медным (а электрод сравнения всегда неполяризуемый). При этом потенциалы электродов не изменятся, и сила тока будет непосредственно связана с напряжением на электродах в силу закона Ома:

$$I = \frac{1}{R_i}U. \tag{4.90}$$

Вольтамперная кривая в этом случае будет представлять собой прямолинейную зависимость. Такие вольтамперные кривые не представляют интереса для химического анализа.

Кривая 2 рис. 4.18 отвечает случаю *поляризуемого* рабочего электрода — в данном случае ртутного капающего. Несмотря на прилагаемое напряжение, в области потенциалов от $+0,2$ до -2 В через ячейку практически не протекает ток. Причина состоит в кинетической затрудненности электрохимической реакции разряда ионов водорода на ртутном электроде, вследствие чего возникает перенапряжение (см. уравнение (4.89)).

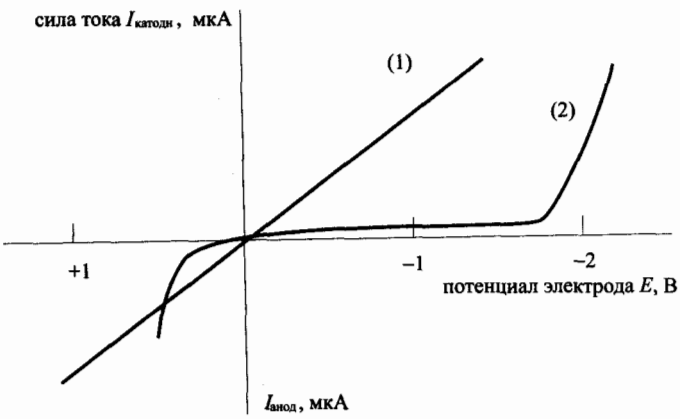


Рис. 4.18. Вольтамперные характеристики неполяризуемого медного (1) и поляризуемого ртутного капельного (2) рабочего электрода в анодной и катодной области.

Катодный ток в области отрицательных потенциалов обусловлен восстановлением находящихся в растворе ионов водорода:

$$\mathrm{H^+ + e^- \rightarrow \frac{1}{2}H_2}. \tag{4.91}$$

В положительной области потенциалов анодный ток вызван растворением ртути вследствие ее электрохимического окисления.

Область поляризуемости большинства твердых электродов, например, платинового или угольного, составляет от +1 до −1 В. Твердые электроды характеризуются меньшим перенапряжением по отношению к ионам водорода, но большей устойчивостью к окислению. Поэтому для работы в анодной области потенциалов они более пригодны, чем ртутный электрод.

Полярография

Традиционно вольтамперометрический метод, в котором в качестве рабочего электрода используется ртутный капающий, называется полярографией. Он был разработан в 1922 г. Я. Гейровским. Полярографическая установка включает в себя резервуар со ртутью, соединенный шлангом с капилляром, погруженным в анализируемый раствор (рис. 4.19). Электродом сравнения может служить слой донной ртути: при работе в хлоридных средах вследствие частичного анодного окисления ртути и образования на ее поверхности слоя каломели он работает как электрод второго рода. В настоящее время, однако, чаще применяют обычные электроды сравнения — каломельный или хлоридсеребряный.

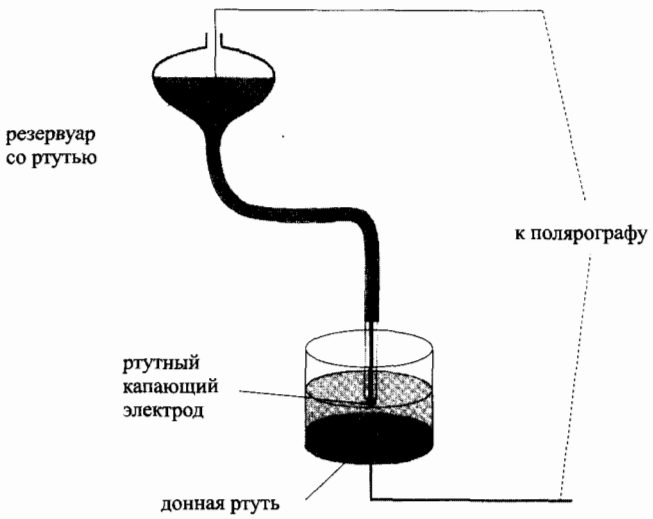


Рис. 4.19. Схема полярографической ячейки. Электродом сравнения служит донная ртуть, образующая в хлоридных растворах на своей поверхности слой каломели.

Восстановление иона металла, например, Cd^{2+}, на ртутном электроде происходит по реакции

$$Cd^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Cd(Hg). \qquad (4.92)$$

Кадмий, восстанавливаясь до металла, образует амальгаму.

Процесс восстановления отражается на полярограмме в виде ступени, называемой волной (рис. 4.20). Она содержит в себе как качественную, так и количественную информацию о восстанавливающемся ионе. Кривая 2 рис. 4.20, приведенная для сравнения, соответствует кривой 2 рис. 4.18 и представляет собой полярограмму раствора фонового электролита.

Качественный полярографический анализ

Информацию о природе восстанавливающегося иона несет положение полярографической волны на оси потенциалов. Согласно уравнению Нернста, равновесный потенциал окислительно-восстановительной системы равен

$$E = E^0 + \frac{0,059}{z} \lg \frac{[\mathrm{Ox}]}{[\mathrm{Red}]}. \qquad (4.93)$$

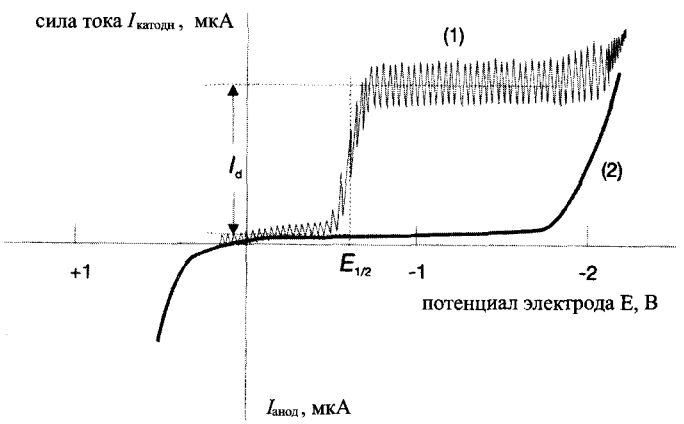


Рис. 4.20. Полярограмма восстановления ионов кадмия на фоне 1М раствора KCl (1) и полярограмма фонового раствора (2).

В области плато на полярографической волне сила тока определяется скоростью диффузии ионов к электроду, а соответствующее значение силы тока называется предельным диффузионным током (I_d). Потенциал, при котором сила тока равна половине предельного диффузионного

$$I = \frac{1}{2} I_d \qquad (4.94)$$

называется потенциалом полуволны ($E_{1/2}$). При этом значении потенциала концентрации окисленной и восстановленной форм можно в первом приближении считать равными друг другу

$$[\mathrm{Ox}] = [\mathrm{Red}].$$

Подставляя это равенство в уравнение (4.93), получаем:

$$E_{1/2} = E^0. \qquad (4.95)$$

Таким образом, для обратимой электродной реакции потенциал полуволны приближенно равен стандартному электродному потенциалу. При использовании электрода сравнения с потенциалом E(В) измеренное значение потенциала полуволны равно

$$E_{1/2} = E^0 - E(\mathrm{В}). \qquad (4.96)$$

Однако на практике это равенство соблюдается далеко не всегда. Отличие потенциала полуволны от стандартного электродного потенциала может быть вызвано многими причинами, среди которых назовем следующие.

- *Кинетические явления*, обусловленные замедленным протеканием или сложностью механизма перехода вещества через границу раздела фаз.

- *Адсорбционные явления*, приводящие к тому, что восстановление свободных и адсорбированных частиц происходит по-разному. Сначала восстанавливаются свободные частицы и лишь при более отрицательных потенциалах — адсорбированные, поскольку для их восстановления требуется затратить дополнительную энергию, равную энергии адсорбции.

- Влияние сопутствующих *химических реакций* таких, как равновесия комплексообразования или кислотно-основной диссоциации.

Таким образом, значения потенциалов полуволн необходимо рассматривать применительно к конкретным условиям эксперимента. В табл. 4.5 приведены примеры экспериментальных величин потенциалов полуволн для различных составов фоновых электролитов (KCl, аммиачный буфер). Вы можете самостоятельно сравнить их со значениями стандартных потенциалов, пользуясь данными табл. П.7 приложения.

Таблица 4.5. Потенциалы полярографических полуволн в 1 М растворах KCl и аммиачного буфера (измерены относительно насыщенного хлоридсеребряного электрода)

Ион	Потенциал полуволны $E_{1/2}$, В	
	1 М KCl	1 М NH_3/NH_4Cl
As(III)	−0,06	−1,61
Cd^{2+}	−0,61	−0,76
Co^{2+}	−1,37	−1,25
Cu^{2+}/Cu^{+}	−0,17	−0,19/ − 0,45
Fe^{2+}	−1,56	−1,43
Mn^{2+}	−1,54	−1,58
Ni^{2+}	−1,02	−1,06
Pb^{2+}	−0,40	−0,46
Sn^{2+}	−0,42	−0,71
Tl^{+}	−0,46	−0,45
Zn^{2+}	−0,98	−1,31

Количественный полярографический анализ

Информацию о количестве несет высота полярографической волны, т. е. сила предельного диффузионного тока I_d. Величина диффузионного тока I связана с концентрацией иона в растворе c в соответствии с уравнением Ильковича:

$$I = 0,627zFD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}(c - c_0), \qquad (4.97)$$

где D — коэффициент диффузии иона, $см^2 \cdot с^{-1}$,
m — скорость истечения ртути из капилляра, $мг \cdot с^{-1}$,
t — период капания ртути, с,
c — концентрация иона в растворе, $моль \cdot л^{-1}$,
c_0 — концентрация иона в приэлектродном слое, $моль \cdot л^{-1}$,
z — число электронов в электродной реакции,
F — постоянная Фарадея, $Кл \cdot моль^{-1}$.

В области потенциалов, соответствующей предельному диффузионному току, можно принять $c_0 = 0$. В этом случае при постоянных условиях эксперимента уравнение Ильковича можно записать в виде

$$I_d = kc, \tag{4.98}$$

где константа k объединяет все постоянные члены уравнения (4.97). Ее можно найти путем градуировки.

Таким образом, предельный диффузионный ток прямо пропорционален концентрации определяемого иона. Для того, чтобы ток был диффузионным, необходимо наличие в растворе *фонового электролита*.

Полярографические волны кислорода

Проведению полярографического анализа препятствует электрохимическое восстановление растворенного в воде кислорода. Оно происходит в две стадии. Восстановление молекулярного кислорода до пероксида водорода начинается при $-0,1$ В:

$$O_2 + 2H_2O + 2e^- \rightleftharpoons H_2O_2 + 2OH^-. \tag{4.99}$$

Дальнейшее восстановление (до воды или гидроксид-ионов, в зависимости от кислотности среды) протекает при -1 В:

$$H_2O_2 + 2e^- \rightleftharpoons 2OH^-. \tag{4.100}$$

Для удаления кислорода анализируемый раствор предварительно продувают инертным газом — азотом или аргоном. Из щелочных растворов кислород можно удалить химическим путем — добавлением сульфита натрия (если при этом не произойдет побочных реакций, мешающих дальнейшему определению).

По своей форме полярографические волны кислорода, особенно вторая, сильно сглажены и растянуты из-за влияния различных кинетических эффектов, упомянутых выше.

Отметим, что полярограммы могут быть искажены не только ввиду наличия растворенного кислорода, но и в силу других причин. Важнейшее из таких явлений — образование *полярографических максимумов*. Максимумы первого рода возникают из-за неравномерного распределения заряда по поверхности ртутной капли, а второго рода — из-за слишком быстрого вытекания ртути из капилляра и вызванного этим перемешивания окружающего раствора (рис. 4.21). Полярографические максимумы можно подавить путем введения в анализируемый раствор поверхностно-активных веществ — обычно раствора желатина.

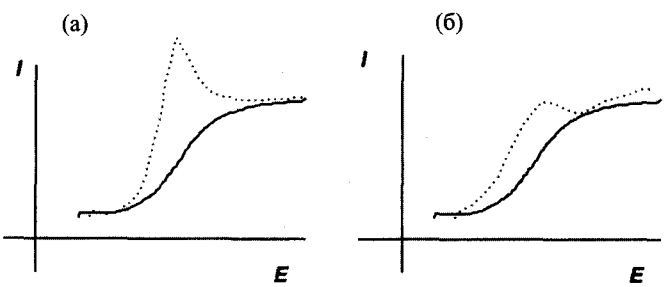


Рис. 4.21. Полярографические максимумы первого (а) и второго (б) рода (пунктирные линии). Для сравнения сплошными линиями показаны соответствующие полярографические волны в отсутствие максимумов.

Полярограммы искажаются также из-за возникновения *каталитических токов* и связанного с ними снижения перенапряжения выделения водорода в ртутном электроде. Они могут быть вызваны ионами некоторых металлов, в частности, молибдена и ванадия. Каталитические токи проявляются в виде волн, предшествующих току разряда фонового электролита в области $-1,8$ — $-2,0$ В.

Практическое применение

Помимо ионов, перечисленных в табл. 4.5, полярографическим методом можно определять следующие ионы: Al^{3+}, Bi^{3+}, Cr^{3+}, In^{3+}, Pd^{2+}, Sb^{3+}, Se(IV), Sn(IV), Te(IV), Ti(IV), U(VI), V(V) и Zr(IV). Большинство из элементов, определяемых при помощи полярографии, растворимы в ртути и образуют амальгамы. Особенно хорошо растворимы в ртути Bi, Cd, In, Pb, Tl и Zn.

Среди анионов полярографическим методом определяют BrO_3^-, ClO_2^-, IO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, AsO_3^-, MoO_4^{2-}, SeO_3^{2-}, TeO_3^{2-}, VO_4^{3-} и WO_4^{2-}. Возможно и определение органических веществ, способных восстанавливаться на ртутном капающем электроде в пределах его рабочей области потенциалов. К ним относятся соединения, содержащие структурные фрагменты R-NO_2, R-NO, R-N=N, R-COOH, R-C≡N и R-C≡C.

Ввиду ограниченной растворимости многих органических веществ в воде их полярографическое определение часто проводят в неводных или смешанных средах. Из органических растворителей для этой цели чаще всего применяют хлористый метилен, ацетонитрил, диметилсульфоксид, метанол и этанол. В качестве фонового электролита в этих случаях используют соли крупных органических катионов — тетрабутиламмония или тетрафениларсония — в форме хлоридов, перхлоратов или нитратов (см. рис. 2.26).

Селективность полярографического анализа определяется возможностью раздельной регистрации двух полярографических волн, т. е. разностью потенциалов полуволн. В классической полярографии она должна быть не меньше 200 мВ. Сопутствующие компоненты мешают определению, если они восстанавливаются в той же области потенциалов, что и определяемые вещества.

Достоинства и недостатки классической полярографии

Исключительно высокое перенапряжение выделения водорода на ртути открывает широкие возможности для определения ионов, восстанавливающихся в катодной области потенциалов вплоть до -2 В. В анодной же области рабочий диапазон ртутного электрода весьма ограничен и простирается лишь до $+0,2$ В. Это обусловлено возникновением анодных токов вследствие окисления ртути:

$$2Hg \rightleftharpoons Hg_2^{2+} + 2e^-, \tag{4.101}$$

$$Hg_2^{2+} \rightleftharpoons 2Hg^{2+} + 2e^-. \tag{4.102}$$

Чувствительность полярографического анализа определяется величиной остаточного тока, вызванного главным образом заряжением ртутной капли с образованием двойного электрического слоя. Поэтому этот ток называется емкостным. По мере роста капли емкостной ток уменьшается, а после ее отрыва и образования новой капли снова возрастает. В то же время величина полезного фарадеев-

ского тока, обусловленного электрохимическим восстановлением или окислением определяемого вещества, наоборот, возрастает в течение времени жизни капли (рис. 4.22). Современная аппаратура позволяет измерять ток в конце жизни капли, где отношение фарадеевского и емкостного токов наибольшее.

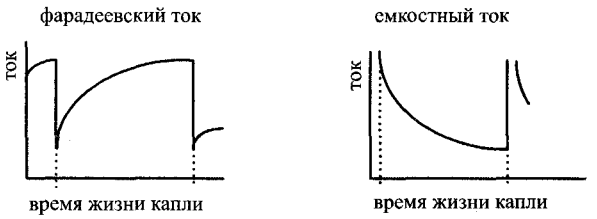


Рис. 4.22. Зависимости фарадеевского и емкостного токов на ртутном капающем электроде от времени.

Преимуществом ртутного капающего электрода по сравнению с твердыми электродами является *постоянное возобновление поверхности*. Пределы обнаружения большинства ионов в методе классической полярографии составляют 10^{-5}–10^{-6} М.

Применение вращающихся твердых электродов

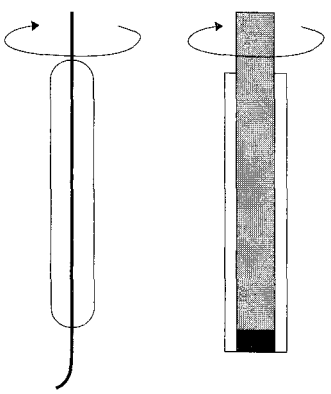


Рис. 4.23. Вращающиеся платиновый и стеклоуглеродный дисковый электроды.

Важное достоинство твердых электродов таких, как платиновый, золотой или угольные (стеклоуглеродный, пастовые) — их поляризуемость в анодной области до +1,0 В (относительно насыщенного каломельного электрода). В ходе анализа твердые электроды обычно вращают вокруг своей оси. При работе с такими электродами полученные вольтамперограммы по своей форме принципиально не отличаются от классических полярограмм.

Для твердых вращающихся электродов зависимость между предельным диффузионным током и концентрацией электроактивного вещества выглядит аналогично уравнению Ильковича (4.97) и называется уравнением Левича:

$$I_d = 0,620zFAD^{2/3}\omega^{1/2}v^{-1/6}c, \qquad (4.103)$$

где A — площадь поверхности электрода, см^2, ω — угловая скорость вращения электрода, с$^{-1}$, v — кинематическая вязкость раствора, м^2·с$^{-1}$.

Разновидности вольтамперометрических методов

Один из недостатков классической постояннотоковой полярографии — недостаточно высокая чувствительность, обусловленная емкостными токами. Увеличить соотношение фарадеевского и емкостного токов можно, налагая на электроды переменное или пульсирующее напряжение. Соответствующие методы называются переменнотоковой и импульсной полярографией.

Импульсные методы

В классической полярографии потенциал рабочего электрода линейно изменяется во времени. При этом полярограмма имеет вид ступенчатой кривой (рис. 4.24). Как отмечено выше, применяемый при этом способ непрерывного измерения силы тока в течение всего времени жизни ртутной капли имеет свои недостатки. Наибольшее различие в величинах фарадеевского и емкостного токов наблюдается в конце жизни капли (рис. 4.22). Это обстоятельство можно использовать для повышения чувствительности полярографического анализа.

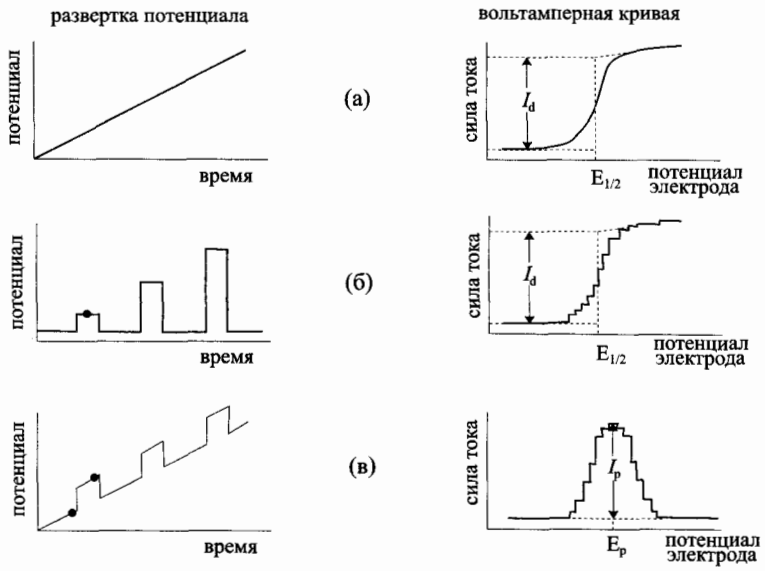


Рис. 4.24. Изменение потенциала во времени и вольтамперные кривые для классической постояннотоковой (а), нормальной импульсной (б) и дифференциальной импульсной (в) полярографии.

Нормальная прямоугольная импульсная полярография

Самым простым способом, основанным на измерении тока в конце жизни капли, является нормальная импульсная полярография. В этом методе на электрод налагают импульсы постоянного напряжения прямоугольной формы, возрастающие по величине (рис. 4.24). В промежутках между импульсами потенциал электрода поддерживают таким, чтобы фарадеевский ток был пренебрежимо мал. После образования новой капли на нее подают импульс продолжительностью порядка 50 мс. Ток измеряют непосредственно перед отрывом капли. Времени между подачей импульса и измерением вполне достаточно, чтобы емкостной ток снизился до весьма малых величин. Фарадеевский ток при этом также убывает, но значительно медленнее. В результате пределы обнаружения по сравнению с классическим способом регистрации снижаются примерно в 10 раз — до 10^{-6} М.

Полярограмма, полученная методом нормальной импульсной полярографии, имеет такой же вид, что и классическая, однако содержит небольшие ступеньки, обусловленные прерывистым способом регистрации сигнала (рис. 4.24).

Дифференциальная импульсная полярография

Еще более низких пределов обнаружения, до 10^{-8} М, можно достичь в дифференциальной импульсной полярографии. Здесь на линейно изменяющееся напряжение налагают короткие импульсы одинаковой величины — порядка 10–100 мВ. За время жизни капли ток измеряют дважды: в первый раз — незадолго до подачи импульса, во второй раз — непосредственно перед отрывом капли (как и в нормальном импульсном методе). В качестве аналитического сигнала используют разность измеренных величин тока как функцию потенциала электрода. В этом случае полярограмма состоит не из ступеней-волн, а из пиков (рис. 4.24). Положение максимума пика E_p почти совпадает с потенциалом полуволны, но несколько смещено относительно него (на величину напряжения импульса). Сила тока в максимуме пика I_p пропорциональна концентрации определяемого вещества.

В методе дифференциальной импульсной полярографии концентрацию фонового электролита обычно выбирают небольшой, порядка 10^{-3} М. В этом случае величина остаточного фарадеевского тока, обусловленная разрядом примесей, снижается, а чувствительность, соответственно, увеличивается.

Реализация метода дифференциальной импульсной полярографии требует достаточно совершенной и быстродействующей микроэлектронной аппаратуры. В настоящее время необходимые приборы вполне доступны и в высокой степени автоматизированы.

Инверсионная вольтамперометрия

Основной принцип инверсионной вольтамперометрии состоит в электрохимическом *концентрировании* определяемого вещества на электроде путем электролиза анализируемого раствора и последующем вольтамперометрическом анализе концентрата. В этом методе используют *стационарные* электроды.

Вольтамперометрия на стационарных электродах

Стационарным электродом может служить висящая ртутная капля или любой неподвижный твердый электрод. Вся вольтамперная зависимость в этом случае регистрируется на одной и той же электродной поверхности. В отличие от ртутного капающего электрода, здесь она в ходе анализа не обновляется.

При работе со стационарными электродами приэлектродный слой в ходе электрохимической реакции обедняется определяемыми ионами. Поэтому ток сначала возрастает до максимального значения, а затем медленно убывает. Характеристиками вольтамперограммы служат потенциал пика E_p и сила тока I_p в максимуме пика.

Для обратимых окислительно-восстановительных систем потенциалы пика и полуволны связаны следующим образом:

$$E_p = E_{1/2} \pm \frac{29,5}{z} \quad \text{(мВ)}. \tag{4.104}$$

При анодной развертке потенциалов (от более отрицательных к более положительным) пик сдвинут в анодную, а при катодной — в катодную область по

сравнению с потенциалом полуволны. Сила тока I_p прямо пропорциональна концентрации электроактивного компонента в соответствии с уравнением Рендлса–Шевчика:

$$I_p = kAD^{1/2}z^{3/2}v^{1/2}c, \qquad (4.105)$$

где k — коэффициент Рендлса–Шевчика ($2{,}69 \cdot 10^5$ при 25°C),
A — площадь поверхности электрода, см^2,
v — скорость изменения потенциала, В/с.

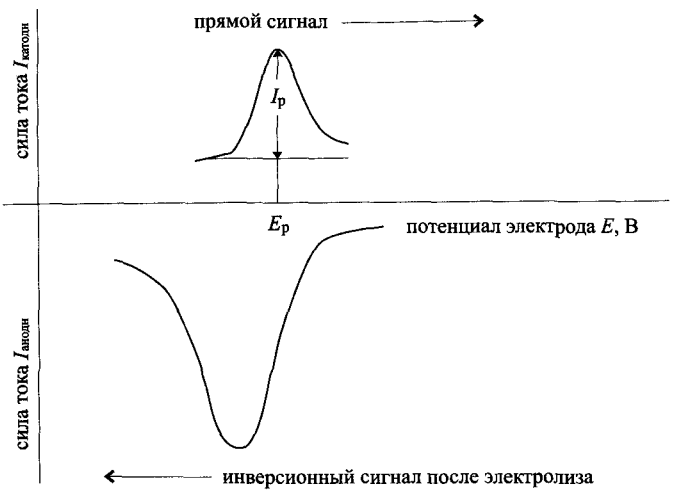


Рис. 4.25. Вольтамперные кривые на стационарных электродах: прямой и инверсионный (при анодной развертке потенциала после электролиза) анализ.

Как видно из этого уравнения, на высоту пика оказывает непосредственное влияние скорость развертки потенциала. В полярографии возможно использовать скорости развертки от менее чем 0,01 до 50 В/с. В классической полярографии обычно используют малые скорости развертки, обеспечивающие достаточную поляризацию электродов и позволяющие анализировать даже необратимые окислительно-восстановительные системы. Чем менее обратима электрохимическая система, тем более пологим и низким получается пик. При больших скоростях развертки потенциала пик необратимой системы может исчезнуть совсем.

Инверсионный вольтамперометрический анализ

В ходе инверсионного вольтамперометрического анализа определяемые ионы (например, Cu^{2+}, Pb^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}) сначала концентрируют на электроде, проводя электролиз раствора при постоянном отрицательном значении потенциала (−1,3 В и ниже) в течение фиксированного времени (2-3 мин). Затем начинают линейно изменять потенциал в анодную область. При этом возникают анодные пики растворения металлов. Их высоты измеряют (рис. 4.26). В результате эффекта концентрирования можно определять очень малые содержания: Cd, Pb, Cu — в пикограммовых, Zn — в нанограммовых количествах. К сожалению, метод инверсионной вольтамперометрии не для всех элементов дает одинаковый выигрыш в чувствительности. Наименьшие пределы обнаружения наблюдаются для тех металлов, которые образуют амальгамы.

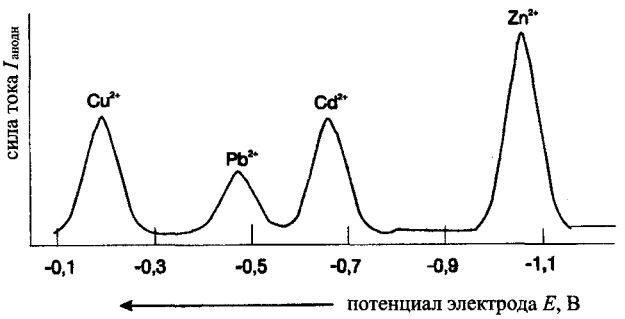


Рис. 4.26. Одновременное определение четырех ионов металлов в воде методом инверсионной вольтамперометрии. Потенциал предварительного концентрирования $-1,3$ В, фоновый электролит — аммонийно-цитратный буфер. После концентрирования осуществляется развертка потенциала в анодную область, при этом происходит последовательное анодное растворение металлов.

Чем выше степень концентрирования, тем больше величины пиков при анодной развертке. Пределы обнаружения можно дополнительно снизить, если после концентрирования регистрировать сигнал, используя описанные выше принципы наиболее чувствительных полярографических методов — импульсного или переменнотокового.

Циклическая вольтамперометрия

Для исследования обратимости электродных реакций и их механизмов в целом весьма полезен метод *циклической вольтамперометрии* с треугольной разверткой потенциала. Измерения проводят на стационарном электроде, потенциал которого развертывают сначала в катодную, а затем в анодную область (или наоборот). Таким образом, график зависимости потенциала от времени в этом случае имеет треугольную форму. На рис. 4.27 приведена циклическая вольтамперограмма восстановления и последующего окисления одного из диаминов.

Для обратимых окислительно-восстановительных реакций, в соответствии с уравнением (4.104), разность потенциалов катодного и анодного пиков составляет

$$E_{p_1} - E_{p_2} = \frac{59,16}{z} \quad (\text{мВ}) \tag{4.106}$$

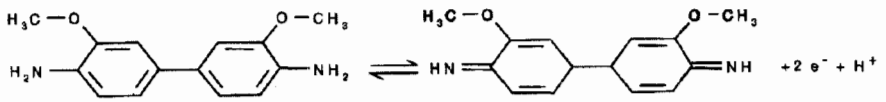
При этом высота пика пропорциональна корню квадратному из скорости развертки, и величина $I_p/\sqrt{v}$ не зависит от v.

Появление дополнительных пиков на циклических вольтамперограммах позволяет идентифицировать промежуточные окисленные и восстановленные формы, выдвигать предположения о процессах ассоциации, диссоциации и других деталях механизма электродной реакции.

Амперометрия и вольтаметрия

Очевидно, что для определения одного-единственного компонента в случае селективной электрохимической реакции нет необходимости регистрировать всю вольтамперную зависимость целиком: достаточно лишь выбрать подходящее зна-

чение потенциала рабочего электрода и измерить в этих условиях силу тока. Значение потенциала при этом должно находиться в области предельного диффузионного тока определяемого компонента (рис. 4.28).



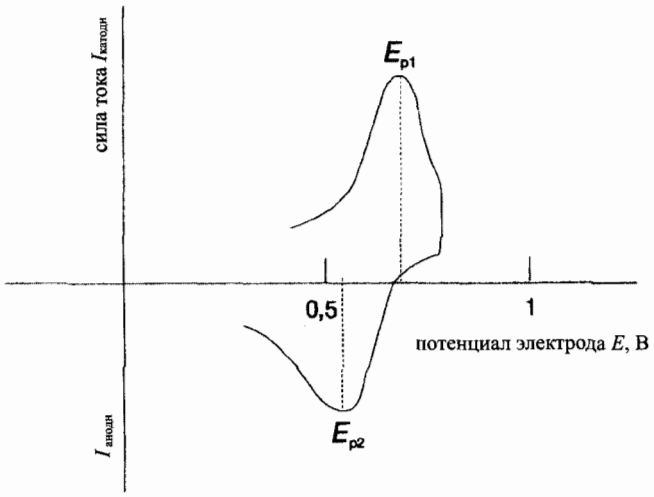


Рис. 4.27. Циклическая вольтамперограмма о-дианизидина (фон — 0,1 М раствор п-толуолсульфоновой кислоты в ДМСО) на стеклоуглеродном электроде при скорости развертки 0,04 В/с.

Такой метод анализа называется *амперометрией*. Подобно другим электрохимическим методам, различают прямую амперометрию и амперометрическое титрование.

Прямая амперометрия

Важное практическое значение прямой амперометрии — ее использование в электрохимических сенсорах (см. раздел 7.2). Наиболее известным примером является датчик Кларка для определения кислорода.

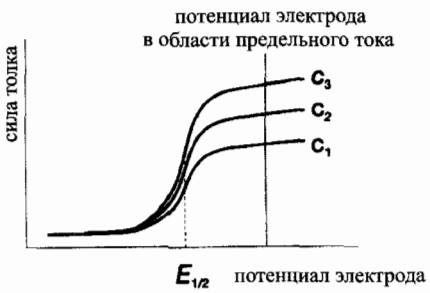


Рис. 4.28. Амперометрия — измерение силы тока при постоянном значении потенциала электрода. Соотношение концентраций определяемого вещества $c_3 > c_2 > c_1$.

Датчик Кларка состоит из рабочего платинового электрода и хлоридсеребряного электрода сравнения (в форме серебряного кольца, погруженного в 1 М раствор KCl). Для отвода тока обычно используют еще один, вспомогательный, электрод (рис. 4.29). Кислород из окружающего пространства диффундирует внутрь датчика в раствор через газопроницаемую мембрану.

В ходе анализа протекают следующие окислительно-восстановительные реакции.

На *катоде*: $$O_2 + 2H_2O + 4e^- \rightleftharpoons 4OH^-. \quad (4.107)$$

На *аноде*: $$4Ag + 4Cl^- \rightleftharpoons 4AgCl + 4e^-. \quad (4.108)$$

Для градуировки датчика Кларка измеряют с его помощью величины предельных токов при различных концентрациях кислорода и строят зависимость

$$I_d = k[O_2] + I_0, \quad (4.109)$$

где I_0 — остаточный ток. Коэффициент пропорциональности k зависит в числе прочего от характеристик мембраны — ее толщины, площади и проницаемости.

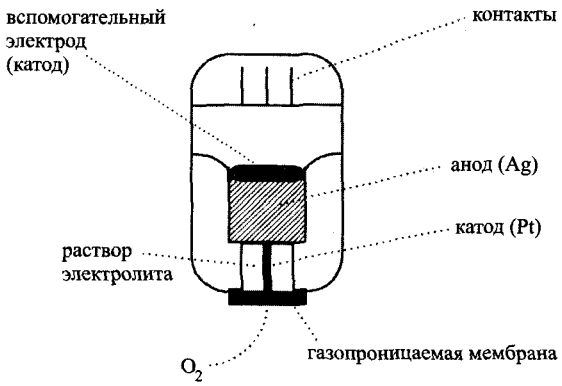


Рис. 4.29. Кислородный датчик Кларка.

Амперометрические кислородные датчики применяют во множестве приборов, в том числе портативных, предназначенных для работы в полевых условиях. Датчики Кларка применяют в медицинских исследованиях для определения кислорода в крови (в виде миниатюрных измерительных камер) и непосредственно в тканях организма (в виде игольчатых зондов). Их можно использовать при повышенных давлениях (например, глубоко под водой) и температурах.

Тот же самый принцип положен в основу *ферментативных* датчиков. В них между мембраной и рабочим электродом помещают раствор фермента или материал (например, желатин), содержащий иммобилизованный фермент. Полупроницаемая мембрана, контактирующая со слоем фермента, одновременно и предотвращает его потери вследствие вымывания, и обеспечивает проникновение в слой фермента небольших молекул субстрата (рис. 4.30).

Одно из самых важных применений таких датчиков — определение глюкозы для диагностики диабета при помощи фермента глюкозооксидазы:

$$\beta - D - \text{глюкоза} + O_2 \xrightarrow{\text{глюкозооксидаза}} D - \text{глюконат} + H_2O_2. \quad (4.110)$$

При этом амперометрическим методом можно контролировать как образование пероксида водорода (путем его анодного окисления)

$$H_2O_2 + 2OH^- \rightleftharpoons O_2 + 2H_2O + 2e^-, \quad (4.111)$$

так и потребление кислорода (путем катодного восстановления):

$$O_2 + 2H_2O + 4e^- \rightleftharpoons 4OH^-. \quad (4.112)$$

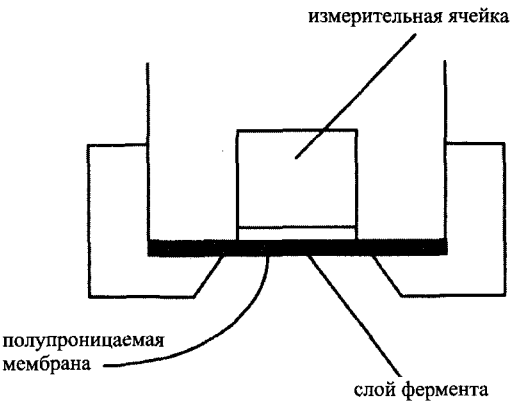


Рис. 4.30. Принципиальная схема устройства ферментативного амперометрического датчика.

Мембрана такого датчика состоит из трех слоев. Самый внешний представляет собой поликарбонатную пленку, проницаемую для молекул глюкозы, но непроницаемую для белков и других крупных молекул, содержащихся в биологических жидкостях. Средний слой содержит фермент глюкозооксидазу. Внутренний слой из ацетата целлюлозы снова проницаем лишь для малых молекул таких, как пероксид водорода.

Методы, использующие ферментативные реакции, являются кинетическими. Измерение сигнала в этих случаях необходимо проводить по истечении определенного времени (метод фиксированного времени, раздел 2.7), либо следует измерять скорость реакции (например, потребления кислорода) как таковую.

Амперометрическое титрование

Для амперометрической индикации в титровании можно использовать ячейку такого же принципиального устройства, что и для прямой амперометрии. В этом случае метод называется амперометрическим титрованием с *одним поляризованным электродом*. В ходе титрования контролируют ток, обусловленный определяемым веществом, титрантом или продуктом реакции, при постоянном значении потенциала рабочего электрода, находящимся в области потенциалов предельного диффузионного тока.

В качестве примера рассмотрим осадительное титрование ионов Pb^{2+} раствором хромата калия при различных потенциалах рабочего электрода.

Области предельных диффузионных токов окислительно-восстановительных пар Pb^{2+}/Pb и $CrO_4^{2-}/Cr(OH)_3$ расположены таким образом, что при потенциале 0 В хромат-ион уже восстанавливается, а ион Pb^{2+} еще нет (этот процесс происходит лишь при более отрицательных потенциалах).

В зависимости от потенциала рабочего электрода можно получить кривые титрования различной формы.

а) Потенциал равен -1 В (рис. 4.31).

До точки эквивалентности протекающий через ячейку ток является катодным током восстановления ионов Pb^{2+}. При добавлении титранта их концентрация уменьшается, и ток падает. После точки эквивалентности

ток обусловлен восстановлением Cr(VI) до Cr(III), вследствие чего по мере добавления титранта катодный ток начинает возрастать. В точке эквивалентности (τ=1) на кривой титрования наблюдается резкий излом (на практике он бывает выражен слабее, чем на рис. 4.31).

б) Потенциал равен 0 В.

При этом потенциале ионы Pb^{2+} не восстанавливаются. Поэтому до точки эквивалентности наблюдается лишь небольшой постоянный остаточный ток. После точки эквивалентности в системе появляются свободные хромат-ионы, способные к восстановлению. При этом по мере добавления титранта катодный ток возрастает, как и в ходе титрования при −1 В (рис. 4.31).

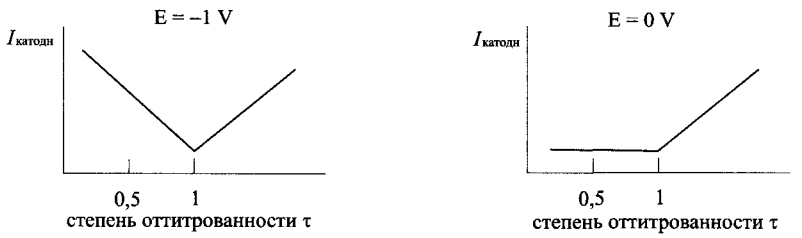


Рис. 4.31. Кривые амперометрического титрования Pb^{2+} хромат-ионами при потенциалах рабочего электрода −1 В и 0 В.

По сравнению с прямой амперометрией амперометрическое титрование, как и любой титриметрический метод, характеризуется более высокой точностью. Однако метод амперометрического титрования более трудоемок. Наиболее широко применяются на практике методики амперометрического титрования с двумя поляризованными электродами.

Биамперометрическое титрование

Этот вид амперометрического титрования основан на использовании *двух поляризуемых электродов* — обычно платиновых, на которые подается небольшая разность потенциалов — 10–500 мВ. В этом случае прохождение тока возможно лишь при протекании обратимых электрохимических реакций на обоих электродах. Если хоть одна из реакций кинетически затруднена, происходит поляризация электрода, и ток становится незначительным.

Вольтамперные зависимости для ячейки с двумя поляризуемыми электродами приведены на рис. 4.32. В этом случае играет роль лишь разность потенциалов между двумя электродами. Значение потенциала каждого из электродов в отдельности остается неопределенным ввиду отсутствия электрода сравнения.

В зависимости от степени обратимости электродных реакций можно получить кривые титрования различной формы.

а) Титрование компонента обратимой окислительно-восстановительной пары компонентом необратимой пары, например, иода тиосульфатом (рис. 4.33 (а)):

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \rightleftharpoons 2I^- + S_4O_6^{2-}. \qquad (2.142)$$

До точки эквивалентности через ячейку протекает ток, обусловленный процессом

$$2I^- \rightleftharpoons I_2 + 2e^-.$$

Ток возрастает вплоть до величины степени оттитрованности, равной 0,5, при которой оба компонента пары I_2/I^- находятся в одинаковых концентрациях. Затем ток начинает убывать вплоть до точки эквивалентности. После точки эквивалентности вследствие того, что пара $S_4O_6^{2-}/S_2O_3^{2-}$ является необратимой, наступает поляризация электродов, и ток прекращается.

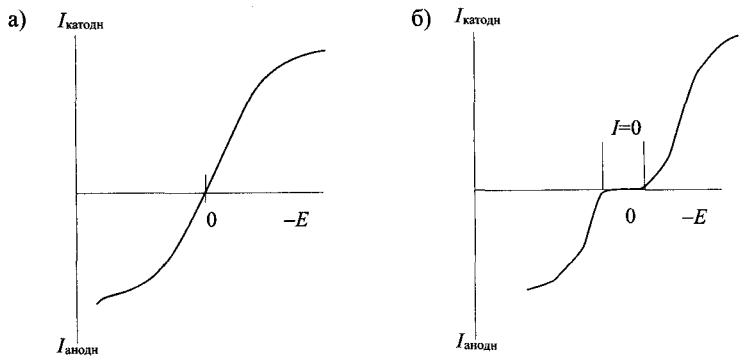


Рис. 4.32. Вольтамперные зависимости для ячейки с двумя одинаковыми поляризуемыми электродами в случае обратимой реакции без перенапряжения (а) и необратимой реакции с перенапряжением (б).

б) Титрование компонента необратимой пары компонентом обратимой пары, например, ионов As(III) бромом (рис. 4.33 (б)).

$$As^{3+} + Br_2 + 4H_2O \rightleftharpoons H_3AsO_4 + 2Br^- + 5H^+. \qquad (4.113)$$

До точки эквивалентности электроды поляризованы, поскольку окислительно-восстановительная система As(V)/As(III) необратима. Через ячейку не протекает ток. После точки эквивалентности ток возрастает, поскольку в растворе появляется обратимая окислительно-восстановительная система Br_2/Br^-.

в) Определяемое вещество и титрант образуют обратимые окислительно-восстановительные пары: титрование ионов Fe(II) ионами Ce(IV) (рис. 4.33 (в)):

$$Fe^{2+} + Ce^{4+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + Ce^{3+}. \qquad (2.135)$$

Здесь поляризации электродов не наблюдается ни на каком этапе титрования. До точки эквивалентности ход кривой такой же, как на рис. 4.33 (а), после точки эквивалентности — как на рис. 4.33 (б).

Поскольку в биамперометрическом титровании не используется электрод сравнения, этот метод особенно удобен для титрования в неводных растворах. Практически важным примером такого титрования может служить определение воды по Карлу Фишеру.

В основе титрования по Фишеру лежит окисление диоксида серы в метанольном растворе, которое протекает только в присутствии воды:

$$I_2 + 2H_2O + SO_2 \rightleftharpoons SO_4^{2-} + 2I^- + 4H^+. \qquad (4.114)$$

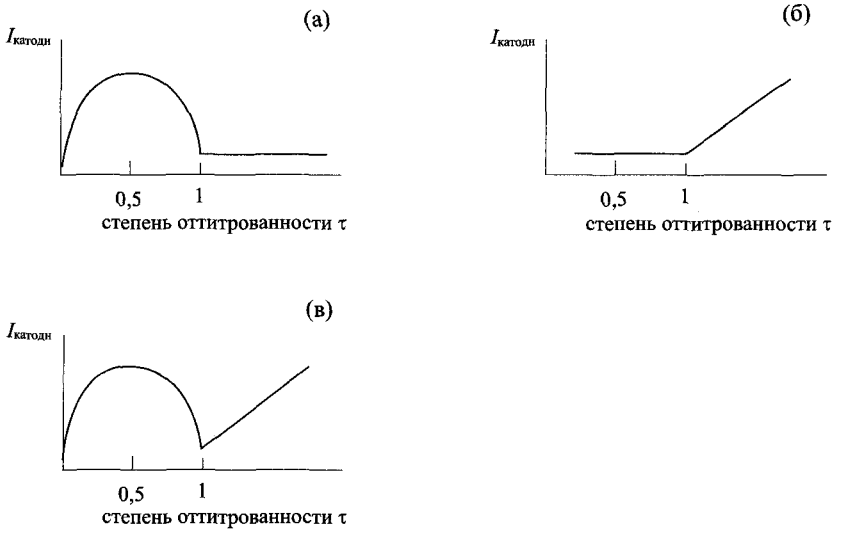


Рис. 4.33. Кривые биамперометрического титрования иода тиосульфатом (а), As(III) бромом (б) и ионов Fe(II) ионами Ce(IV) (в).

Для того, чтобы эта реакция протекала количественно, выделяющиеся ионы водорода необходимо связать пиридином или каким-нибудь другим, менее токсичным, основанием, например, диэтаноламином или салицилатом натрия. Реактив Фишера состоит из смеси двух растворов — иода в тщательно обезвоженном метаноле и диоксида серы в пиридине. Кривая биамперометрического титрования воды реактивом Фишера имеет вид, характерный для титрования необратимой окислительно-восстановительной пары с помощью обратимой (рис. 4.33, Б): после оттитровывания всего количества воды в системе появляется обратимая пара I_2/I^-, и ток после точки эквивалентности возрастает.

Спирт (ROH) и основание (B) принимают активное участие в титровании по Фишеру, связывая образующиеся в результате реакции ионы в ионные ассоциаты в органическом растворителе:

$$B \cdot I_2 + B \cdot SO_2 + B + H_2O \rightarrow 2BH^+I^- + {}^+B \cdot SO_3^-$$

$${}^+B \cdot SO_3^- + ROH \rightarrow BH^+ROSO_3^-$$

Вольтаметрическое титрование

В ходе титрования можно поддерживать постоянной силу тока, а измерять напряжение поляризации. Такой вид индикации называется вольтаметрическим титрованием или *гальваностатическим поляризационным титрованием*. Как и амперометрическое титрование, оно может осуществляться с одним или двумя поляризуемыми электродами. Сила тока, пропускаемого через раствор, может

составлять от 0,1 до 4 мкА. В зависимости от обратимости участвующих в реакции окислительно-восстановительных систем могут получаться кривые титрования различной формы.

4.5. Кулонометрия: применение закона Фарадея в анализе

Наверное, самым простым электрохимическим методом является электрогравиметрия, основанная на полном электрохимическом превращении определяемого вещества и взвешивании продукта реакции. Для этого можно, например, выделить путем электролиза определяемый ион (Cu^{2+} или Zn^{2+}) в виде металла на катоде из платиновой сетки и определить содержание металла по увеличению массы электрода. Метод кулонометрии также основан на полном химическом превращении определяемого вещества в результате электролиза, однако здесь содержание находят не путем взвешивания, а путем измерения количества электричества, затраченного на электролиз.

В основе кулонометрического анализа лежат законы электролиза Фарадея.

Первый закон Фарадея гласит, что масса вещества m, выделившегося в результате электролиза, прямо пропорциональна *количеству электричества* (электрическому заряду) Q, затраченному на электролиз:

$$m \sim Q. \tag{4.115}$$

Согласно второму закону Фарадея, при равных количествах электричества массы веществ — продуктов электролиза — относятся как их электрохимические эквивалентные массы:

$$\frac{m_1}{m_2} = \frac{M_{z_1}}{M_{z_2}}. \tag{4.116}$$

Выражение объединенного закона Фарадея, связывающего в общей форме заряд и массу продукта электролиза, имеет вид:

$$Q = It = \frac{m}{M} zF. \tag{4.117}$$

F — постоянная Фарадея, равная

$$N_A \cdot e = 6,022317 \cdot 10^{23}\,\text{моль}^{-1} \cdot 1,602118 \cdot 10^{-19}\,\text{Кл} =$$
$$= 96484,6\,\text{Кл} \cdot \text{моль}^{-1}.$$

Необходимое условие для получения правильных результатов анализа — полнота электрохимического превращения определяемого вещества. Среди кулонометрических методов различают потенциостатические и гальваностатические.

Потенциостатическая кулонометрия — кулонометрический анализ при постоянном потенциале

В этом методе электролиз проводят при постоянном потенциале рабочего электрода. Электрохимическая ячейка обычно включает три электрода — рабочий (например, в виде платиновой спирали), вспомогательный и электрод сравнения.

Во избежание нежелательных химических реакций вспомогательный электрод отделяют диафрагмой от рабочего электрода (рис. 4.34).

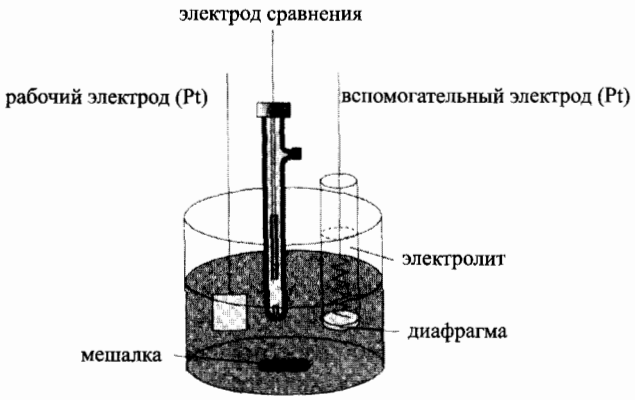


Рис. 4.34. Электрохимическая ячейка для потенциостатического кулонометрического анализа.

Зависимость силы тока от времени электролиза при постоянном потенциале выражается экспоненциальной функцией (рис. 4.35 (а)):

$$I = I_0 \mathrm{e}^{-Kt}. \tag{4.118}$$

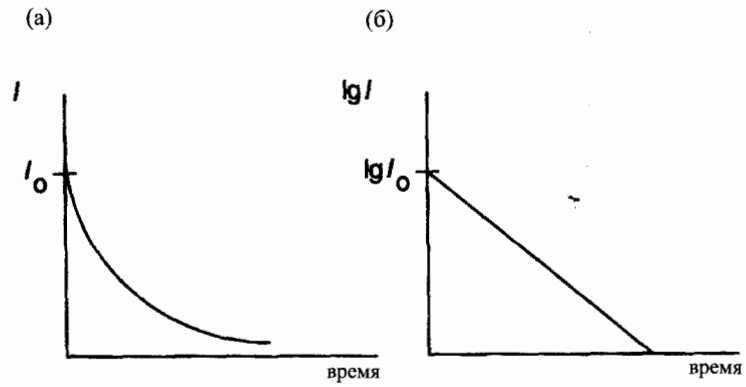


Рис. 4.35. Зависимость силы тока от времени в потенциостатической кулонометрии в обычных (а) и логарифмических (б) координатах.

Константа K зависит от коэффициента диффузии электроактивного вещества D, объема раствора V, толщины диффузионного слоя δ и площади поверхности электрода A:

$$K = \frac{DA}{\delta V}. \tag{4.119}$$

Для определения общего количества электричества необходимо проинтегрировать зависимость силы тока от времени. Обычно эту зависимость перестраивают в логарифмических координатах, в которых она превращается в прямую линию. Из угла наклона этой прямой

$$\lg I = \lg I_0 - 2,303Kt, \tag{4.120}$$

можно найти константу K и начальную силу тока I_0 и вычислить количество электричества путем интегрирования:

$$Q = \int_0^\infty I\mathrm{d}t = \int_0^\infty I_0 \mathrm{e}^{-Kt}\mathrm{d}t = \left[-\frac{I_0}{K}\mathrm{e}^{-Kt}\right]_0^\infty = \frac{I_0}{K} \qquad (4.121)$$

Электролиз можно проводить как на катоде, так и на аноде.

При помощи *катодных реакций* можно определять многие ионы металлов — Bi(III), Co(II), Cu(II), Pb(II), Ni(II) и другие — путем их восстановления до металла или до низших степеней окисления (Cr(VI) до Cr(III), Fe(III) до Fe(II) и др.).

Анодные реакции на твердых электродах (платина, материалы на основе углерода) можно использовать для определения галогенид-ионов и SCN^-, а также As(III) (окисление до As(V)), Cr(II) (окисление до Cr(III)) и др.

Гальваностатическая кулонометрия: кулонометрическое титрование

В этом случае при постоянной силе тока электрохимическим путем генерируют вещество, служащее титрантом для определяемого вещества. Для индикации конечной точки титрования можно использовать любые существующие методы. Чаще всего применяют визуальную, фотометрическую или электрохимическую (например, амперометрическую) индикацию.

Кулонометрическое титрование незаменимо при использовании неустойчивых титрантов таких, как Br_2, Cl_2, Ag(II) или Ti(III). Очень удобно титровать As(III), Sb(III), тиосульфат- и сульфид-ионы электрохимически генерированным иодом (на аноде из I^-). Само титрование протекает по уже известной (уравнение (2.142)) реакции:

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \rightleftharpoons 2I^- + S_4O_6^{2-}.$$

Индикацию конечной точки титрования можно осуществлять биамперометрическим методом; в этом случае получится кривая титрования, изображенная на рис. 4.33 (б).

При анализе объектов окружающей среды кулонометрическое титрование применяют для определения содержания экстрагируемых галогенов. Титрантом служат ионы Ag^+, генерируемые электрохимически на серебряном аноде. Конечную точку титрования определяют амперометрическим или потенциометрическим методом.

Для кислотно-основного титрования можно генерировать электрохимически ионы водорода и гидроксида.

Ионы водорода для титрования оснований генерируют на платиновом аноде по реакции:

$$H_2O \rightarrow \frac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^-. \qquad (4.122)$$

На катоде при этом образуются гидроксид-ионы, поэтому во избежание попадания их в анодное пространство последнее необходимо изолировать с помощью диафрагмы. Реакция катодной генерации *гидроксид-ионов* для титрования ки-

слот соответствует уравнению

$$2H_2O + 2e^- \rightarrow 2OH^- + H_2. \qquad (4.123)$$

Кулонометрическое кислотно-основное титрование применяют для определения кислорода в стали. В ходе пробоподготовки содержащийся в стали кислород превращают в диоксид углерода и оттитровывают его водный раствор как кислоту.

4.6. Литература

G.Henze, R.Neeb, Elektrochemische Analytik, Springer, Berlin/Heidelberg, 1986.

F.Oehme, Ionenselektive Elektroden, CHEMFETs-ISFETs-pH-FETs, 2. Auflage, Hüthig, Heidelberg, 1991.

M.R.Smyth, J.G.Vos, Analytical Voltammetry, Elsevier, Amsterdam, 1992.

J.Wang, Electroanalytical Techniques in clinical Chemistry and Laboratory Medicine, New York, VCH Publishers, 1988.

ГЛАВА 5

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ И РОДСТВЕННЫЕ МЕТОДЫ

5.1. Основы процесса хроматографического разделения

В разделе 2.6, посвященном теоретическим основам равновесий распределения и ионного обмена, мы уже обсуждали возможности использования различных методов для разделения веществ. Вполне очевидно, что эффективного разделения близких по свойствам веществ можно достичь только с помощью многократно повторяемых процессов разделения. Один из таких приемов — многоступенчатый процесс Крейга — удобен лишь для препаративных разделений.

В химическом анализе эффективного многоступенчатого разделения можно достичь с помощью метода хроматографии. По имеющимся оценкам, в настоящее время порядка 60% всех выполняемых в мире анализов проводятся с применением хроматографии.

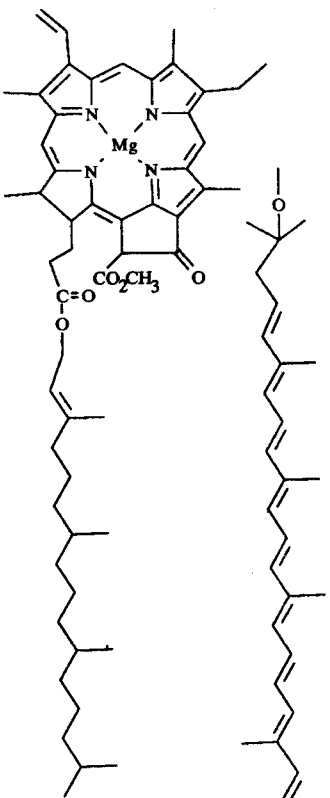
Метод колоночной хроматографии был предложен в 1906 г. русским ботаником Михаилом Цветом. Используя колонку, заполненную тонкодисперсным порошком карбоната кальция, и петролейный эфир, он сумел разделить окрашенные компоненты (хлорофилл и ксантофилл спириллоксантин) экстракта листьев растений. При этом он наблюдал на колонке окрашенные зоны компонентов и поэтому назвал метод *хроматографией* (дословно «цветопись» — от греческих слов «хрома» — цвет и «графо» — «пишу»).

Общий обзор

В основе хроматографии лежит процесс распределения разделяемых компонентов между двумя несмешивающимися фазами. Пробу вводят в *подвижную фазу*, которой может быть жидкость, газ или сверхкритический флюид. Подвижная фаза движется относительно *неподвижной фазы*, находящейся на колонке или в плоском тонком слое. Различия в силе взаимодействия компонентов пробы с неподвижной фазой приводят к тому, что при достаточно большом времени движения компоненты разделяются.

В зависимости от способа регистрации различают внутренние и внешние хроматограммы. При *внутреннем* способе регистрации компоненты анализируемой смеси за одно и то же время проходят различные расстояния. По окончании процесса разделения все они находятся внутри разделяющего устройства и там детектируются. Этот способ регистрации характерен для *плоскостной* хроматографии — бумажной, тонкослойной (раздел 5.3.4). Здесь неподвижная фаза

имеет форму тонкого слоя, вдоль которого подвижная фаза перемещается под действием капиллярных или гравитационных сил.



хлорофилл А

спириллоксантин

Внешние хроматограммы регистрируют в *колоночной* хроматографии — газовой, жидкостной, флюидной. Здесь все компоненты проходят одно и то же расстояние и регистрируются на выходе из колонки. Ввиду различного сродства компонентов пробы к неподвижной фазе их времена выхода оказываются различными.

В табл. 5.1 приведена классификация методов колоночной хроматографии в соответствии с природой подвижной и неподвижной фаз. Хроматографические методы можно классифицировать и с точки зрения механизма разделения веществ. Два самых важных из них — *распределительный* и *адсорбционный*. Адсорбционная хроматография основана на непосредственном взаимодействии молекул вещества с поверхностью неподвижной фазы (газотвердофазная, жидкостно-твердофазная хроматография, табл. 5.1). В распределительной хроматографии неподвижной фазой служит жидкость, иммобилизованная на твердом носителе (газо-жидкостная, жидкостно-жидкостная хроматография).

Жидкостную хроматографию можно осуществлять как в колоночном, так и в плоскостном вариантах. Оба они основаны на одних и тех же физико-химических принципах. Газовая хроматография осуществляется только в колоночном варианте.

Мы рассмотрим теоретические основы хроматографических методов главным образом применительно к *колоночной хроматографии*.

Получение хроматограмм

В химическом анализе преобладающим способом получения хроматограмм является *элюативный*[1].

В элюативной хроматографии пробу, растворенную в подвижной фазе, помещают на вершину колонки. Затем через колонку пропускают подвижную фазу до тех пор, пока все компоненты пробы не выйдут из колонки и не будут зарегистрированы на выходе из нее. На

[1]Помимо элюативного, существуют также *фронтальный* и *вытеснительный* способы. При фронтальном способе раствор пробы непрерывно подают в колонку вплоть до «проскока», т. е. насыщения колонки. Этот способ используют главным образом как способ очистки, например устранения жесткости воды или обезвоживания растворителей.

рис. 5.1 схематически показан процесс элюативной хроматографии на примере разделения смеси двух веществ А и В.

Таблица 5.1. Классификация методов колоночной хроматографии с точки зрения природы подвижной и неподвижной фаз.

Неподвижная фаза	Подвижная фаза		
	газовая	*флюидная*	*жидкая*
Твердая	ГТХ (газо-твердофазная хроматография)	СФХ (сверхкритическая флюидная хроматография)	ЖТХ (жидкостно-твердофазная хроматография)
Жидкая	ГЖХ (газо-жидкостная хроматография)		ЖЖХ (жидкостно-жидкостная хроматография)

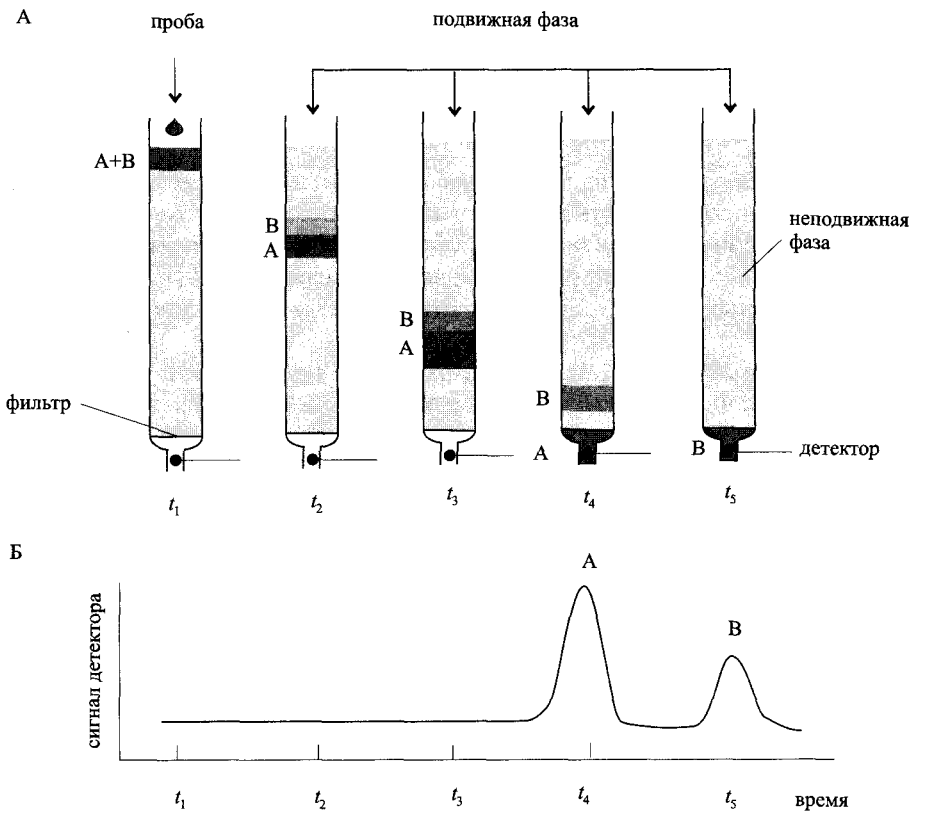


Рис. 5.1. Разделение двух веществ А и В при помощи элюативной хроматографии. А — формирование внутренней хроматограммы на неподвижной фазе. Б — внешняя хроматограмма, регистрируемая детектором.

В ходе хроматографического процесса компоненты пробы непрерывно распределяются между все новыми и новыми порциями неподвижной и подвиж-

ной фазы (называемой также *элюентом*). Средняя скорость движения вещества вдоль колонки определяется силой его взаимодействия с неподвижной фазой. Чем сильнее вещество взаимодействует с неподвижной фазой, тем медленнее оно движется, тем большее время оно находится в колонке. В идеальном случае по истечении некоторого времени вещества полностью разделяются и могут быть раздельно зарегистрированы на выходе из колонки.

Зависимость сигнала детектора от времени называется *хроматограммой*. Если следить за изменениями зон веществ внутри колонки, то в ходе процесса можно наблюдать два эффекта (рис. 5.1). Расстояния между зонами компонентов непрерывно увеличиваются. В то же время сами эти зоны непрерывно уширяются, что снижает эффект разделения. Таким образом, улучшить разделение компонентов можно за счет двух факторов:

- увеличения *различия в скоростях движения* зон;
- уменьшения *уширения* зон (хроматографических пиков).

Численные величины, характеризующие то и другое явления, будут рассмотрены в следующих разделах.

Хроматографические параметры

Начнем с величин, характеризующих *скорости движения* веществ в ходе хроматографического процесса. Фундаментальной величиной, характеризующей относительное сродство вещества к подвижной (индекс M) и неподвижной (индекс S) фазам, является коэффициент распределения (уравнение (2-143)). Он равен отношению равновесных концентраций вещества в неподвижной c_S и подвижной c_M фазах:

$$K = \frac{c_S}{c_M}. \qquad (5.1)$$

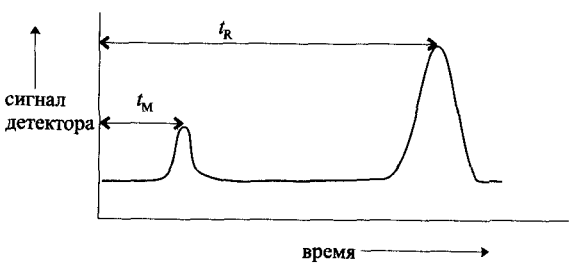


Рис. 5.2. Элюативная хроматограмма двухкомпонентной системы. Первый пик с временем удерживания t_M соответствует неудерживаемому компоненту.

Это число нельзя «считать» непосредственно из хроматограммы. Непосредственной хроматографической величиной, показывающей относительное сродство вещества к неподвижной и подвижной фазам, является *время удерживания* (t_R), т.е. время выхода вещества из колонки. Именно оно отложено по оси абсцисс рис. 5.2. Вернемся к этому рисунку. Первый пик, характеризующийся временем удерживания t_M, принадлежит веществу, которое вообще не удерживается неподвижной фазой. В этом случае его время удерживания представляет собой чистое время нахождения в подвижной фазе (отсюда индекс M) в ходе

хроматографического процесса. Фактически это время, которое затрачивает молекула подвижной фазы на прохождение всего пути вдоль колонки. Оно часто называется «*мертвым*» временем. Если быть точнее, то мертвое время — это время от момента ввода неудерживаемого компонента до момента его детектирования.

Через времена удерживания можно выразить среднюю скорость движения разделяемого компонента $\bar{v}$ и скорость движения молекул подвижной фазы u:

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R}, \tag{5.2}$$

$$u = \frac{L}{t_M}, \tag{5.3}$$

где L — длина колонки.

Времена удерживания непосредственно связаны с коэффициентами распределения. Неудерживаемый компонент все время находится только в подвижной фазе. Вещества, взаимодействующие с неподвижной фазой, проводят в подвижной фазе только часть времени. Эта часть равна отношению массы вещества в подвижной фазе к общей массе вещества в колонке. Таким образом,

$$\bar{v} = u\frac{c_M V_M}{c_M V_M + c_S V_S} = u\frac{1}{1 + \dfrac{c_S V_S}{c_M V_M}}, \tag{5.4}$$

(массы вещества представлены как произведения концентраций на объемы соответствующих фаз).

Разность между общим временем удерживания и мертвым временем называется исправленным временем удерживания:

$$t'_R = t_R - t_M.$$

Подставляя в соотношение (5.4) выражение коэффициента распределения K, получаем следующую зависимость средней скорости движения вещества от его коэффициента распределения:

$$\bar{v} = u\frac{1}{1 + K\dfrac{V_S}{V_M}}. \tag{5.5}$$

Отношение объемов фаз $\beta = V_M/V_S$ называется *фазовым отношением*. С его помощью можно выразить важнейшую характеристику удерживания вещества при заданных условиях эксперимента — *коэффициент емкости* k':

$$k' = K\frac{V_S}{V_M} \quad \text{или} \quad k' = \frac{K}{\beta}. \tag{5.6}$$

Подставив выражение (5.6) в (5.5), получим соотношение

$$\bar{v} = u\frac{1}{1 + k'}. \tag{5.7}$$

В свою очередь, подставив это выражение в соотношения (5.2) и (5.3) и сократив на L, получим:

$$\frac{1}{t_R} = \frac{1}{t_M}\frac{1}{1 + k'}. \tag{5.8}$$

Таким образом, коэффициент емкости непосредственно связан с исправленным временем удерживания:

$$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M}. \quad (5.9)$$

Величину коэффициента емкости можно легко рассчитать из хроматографических данных по времени удерживания компонента и мертвому времени (рис. 5.2). Оптимальный для практических целей диапазон коэффициентов емкости находится между 1 и 5. При слишком малых значениях k' компоненты слишком быстро вымываются из колонки и потому плохо разделяются. Слишком большие величины коэффициентов емкости означают большую длительность хроматографического разделения.

Общей характеристикой степени разделения двух веществ (раздел 2.6) служит коэффициент разделения, представляющий собой отношение их коэффициентов распределения (уравнение (2.155)). В хроматографии коэффициент разделения называется *коэффициентом селективности* и обозначается α. Для двух веществ A и B

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A}. \quad (5.10)$$

Легко видеть (уравнение (5.6)), что коэффициент селективности равен отношению двух коэффициентов емкости:

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A}. \quad (5.11)$$

Коэффициенты емкости и селективности используют для расчета величин, которые характеризуют степень разрешения двух хроматографических пиков. Они будут рассмотрены далее.

Из экспериментальных хроматографических данных можно рассчитать коэффициент селективности как отношение исправленных времен удерживания:

$$\alpha = \frac{(t'_R)_B}{(t'_R)_A} = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M}.$$

Теория хроматографии: описание эффективности колонки

Теперь рассмотрим второй из отмеченных эффектов — *уширение пиков* в ходе хроматографического процесса. Ширина хроматографического пика непосредственно характеризует *эффективность* колонки, т. е. ее разделяющую способность. Связь между шириной пика и эффективностью колонки описывает классическая теория хроматографии.

Классическая теория хроматографии

Классическая теория хроматографии трактует хроматографический процесс как серию последовательных однократных актов разделения (см. раздел 2.6). Создатели этой теории Мартин и Синдж (Нобелевская премия 1952 г.) ввели по-

нятие *высоты, эквивалентной теоретической тарелке* (ВЭТТ) и *числа теоретических тарелок*. Под теоретической тарелкой понимается условный участок колонки, в пределах которого устанавливается равновесие частиц хроматографируемого вещества между подвижной и неподвижной фазами. Движение вещества вдоль колонки можно представить как последовательный его перенос с одной теоретической тарелки на другую.

Число теоретических тарелок N равно отношению длины колонки к высоте, эквивалентной теоретической тарелке H:

$$N = \frac{L}{H}. \tag{5.12}$$

Высота, эквивалентная теоретической тарелке H, непосредственно связана с дисперсией пика в колонке σ^2, выраженной в единицах длины (σ_L^2) или времени (σ_t^2):

$$H = \frac{\sigma_L^2}{L}, \qquad \text{или} \tag{5.13}$$

$$H = \frac{\sigma_t^2 L}{t_R^2}. \tag{5.14}$$

При обоих способах вычисления H имеет размерность длины. Чем меньше ВЭТТ, тем выше *эффективность* колонки, тем лучшее разрешение пиков может быть достигнуто.

Число теоретических тарелок можно легко рассчитать непосредственно из хроматограммы. Для этого сначала пик (имеющий обычно форму, близкую к гауссовой кривой) аппроксимируют треугольником, продолжают его боковые стороны до пересечения с базовой линией и измеряют ширину пика у основания w (рис. 5.3).

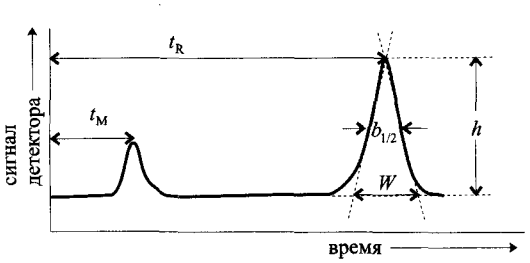


Рис. 5.3. Оценка стандартного отклонения пика σ_t по его ширине у основания w $(w = 4\sigma_t)$ или по ширине $b_{1/2}$ на половине высоты h.

Можно показать, что для пика гауссовой формы справедливо приближенное равенство $w = 4\sigma_t$. Подставив его в выражение (5.14), получим:

$$H = \frac{w^2 L}{16 t_R^2}. \tag{5.15}$$

Отсюда *число теоретических тарелок* равно

$$N = 16\left(\frac{t_R}{w}\right)^2. \tag{5.16}$$

Таким образом, эту величину можно рассчитать непосредственно из хроматограммы, измерив время удерживания t_R и ширину пика у основания w. Более

точные результаты часто дает другой способ расчета — с использованием ширины пика на половине его высоты $b_{1/2}$:

$$N = 5{,}54\left(\frac{t_R}{b_{1/2}}\right)^2. \qquad (5.17)$$

Высота, эквивалентная теоретической тарелке, и число теоретических тарелок — общепринятые характеристики эффективности хроматографического разделения. В то же время понятно, что классическая теория тарелок есть лишь приближенная модель явлений, реально происходящих в колонке. На самом деле хроматографический процесс является не периодическим, а непрерывным, а состояние равновесия между фазами, как правило, не достигается. Для сравнения эффективности различных колонок следует рассчитывать ВЭТТ в как можно более близких экспериментальных условиях — по крайней мере, с использованием пиков *одного и того же вещества*.

Кинетическая теория хроматографии

Уширение хроматографических пиков обусловлено *кинетическими явлениями*, в частности, ограниченной скоростью процессов массопереноса в колонке. Величина уширения зависит от скорости движения подвижной фазы.

Рассмотрим экспериментальные зависимости ВЭТТ от *линейной* скорости подвижной фазы $\bar{u}$ (см/с). Типичные зависимости для жидкостной и газовой хроматографии приведены на рис. 5.4. В табл. 5.2 приведены важнейшие величины, влияющие на эффективность колонки.

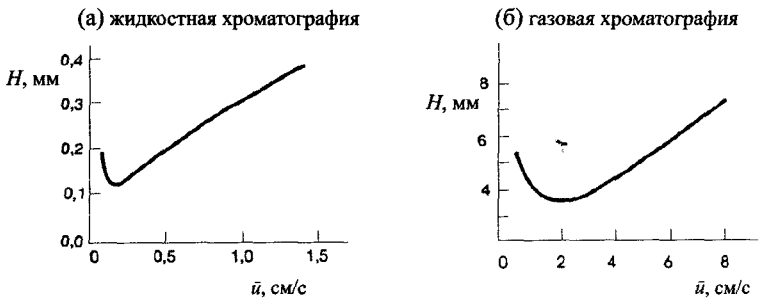


Рис. 5.4. Зависимость высоты, эквивалентной теоретической тарелке H от линейной скорости подвижной фазы $\bar{u}$ для жидкостной (а) и газовой (б) хроматографии.

Как видно из рис. 5.4, в обоих случаях рассматриваемая зависимость имеет вид кривой с минимумом. При этом для жидкостной хроматографии минимум лежит при значительно меньших скоростях подвижной фазы, чем для газовой. Столь малые скорости в реальных хроматографических разделениях обычно вообще не используются. Величины ВЭТТ в жидкостной хроматографии также значительно меньше, чем в газовой. Однако в жидкостной хроматографии обычно применяют значительно более короткие колонки (не более 25–50 см из-за ограничений, вызванных необходимостью работы при высоких давлениях), чем в газовой (до 50 м), поэтому числа теоретических тарелок в обоих методах оказываются сопоставимыми.

Таблица 5.2. Основные величины, влияющие на эффективность колонки.

Величина	Обозначение	Размерность
Линейная скорость потока	$\bar{u}$	см·с$^{-1}$
Коэффициент диффузии в подвижной фазе	D_M	см^2·с$^{-1}$
Коэффициент диффузии в неподвижной фазе	D_S	см^2·с$^{-1}$
Размер частиц наполнителя колонки	d_p	см
Толщина слоя неподвижной жидкой фазы	d_f	см
Характерное время десорбции компонента	t_d	с
Внутренний диаметр колонки	d_c	см

Для математического описания зависимости H от $\bar{u}$ было предложено много различных моделей. Самая ранняя из них, первоначально разработанная для описания технологических процессов и впоследствии примененная к хроматографии, описывается *уравнением Ван-Деемтера*:

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C\bar{u}. \tag{5.18}$$

В уравнение Ван-Деемтера входят три константы — A, характеризующая вихревую диффузию, B, характеризующая молекулярную (продольную) диффузию, и C, характеризующая сопротивление массопереносу. Под *вихревой диффузией* понимается неравномерность движения отдельных потоков жидкости в колонке вследствие неравномерности ее заполнения.

Более точная модель зависимости H от $\bar{u}$ описывается уравнением

$$H = C_M\sqrt{\bar{u}} + \frac{B}{\bar{u}} + C_S\bar{u}. \tag{5.19}$$

Константы B, C_M и C_S характеризуют, соответственно, молекулярную диффузию и сопротивление массопереносу в подвижной и неподвижной фазах. Вклад отдельных слагаемых в общую величину H более подробно рассмотрен в табл. 5.3 и проиллюстрирован на рис. 5.5.

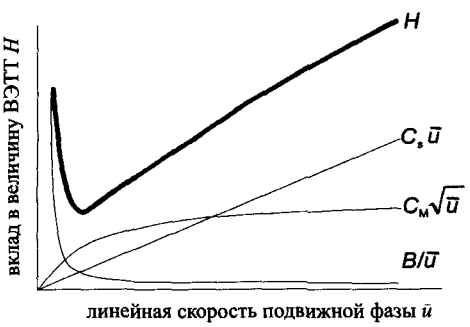


Рис. 5.5. Вклад членов, характеризующих диффузию $B/\bar{u}$ и массоперенос $C_M\sqrt{\bar{u}}$, $C_S\bar{u}$, в величину ВЭТТ H.

Уравнение (5.19), как и уравнение Ван-Деемтера (5.18), описывает кривую с минимумом, соответствующим некоторой оптимальной скорости потока подвижной фазы. Слагаемое с коэффициентом B характеризует вклад молекулярной диффузии, т.е. диффузии отдельных частиц компонента от максимума его пика в направлении движения подвижной фазы и в противоположном направлении. Это единственное слагаемое, величина которого не зависит от размеров частиц неподвижной фазы. Она пропорциональна коэффициенту диффузии молекул вещества в подвижной фазе и возрастает с уменьшением его молярной массы. В жидкостной хроматографии

для реально используемых там скоростей подвижной фазы это слагаемое обычно пренебрежимо мало.

Таблица 5.3. Вклад отдельных кинетических факторов в величину размывания пика. Обозначения см. в табл. 5.2 и в примечании к данной таблице.

Фактор	Член в выражении (5.19)
Молекулярная диффузия	$\frac{B}{\bar{u}} = \frac{2k_D D_m}{\bar{u}}$
Массоперенос в жидкой неподвижной фазе	$C_S\bar{u} = \frac{qk'd_f^2\bar{u}}{(1+k')^2 D_S}$
Массоперенос в твердой неподвижной фазе	$C_S\bar{u} = \frac{2t_d k'\bar{u}}{(1+k')^2}$
Массоперенос в подвижной фазе	$C_M\sqrt{\bar{u}} = \frac{f(d_p^2, d_c^2)\sqrt{\bar{u}}}{D_M}$

k_D, q — константы, f — некоторая функция.

С увеличением линейной скорости подвижной фазы влияние молекулярной диффузии уменьшается, а эффектов массопереноса — увеличивается. Последнее обстоятельство объясняется тем, что для переноса вещества между фазами и установления межфазного равновесия необходимо определенное время. Чем выше скорость подвижной фазы, тем большее расстояние она пройдет за это время.

Член, описывающий процессы *массопереноса в подвижной фазе* $C_M\sqrt{\bar{u}}$, характеризует конвективную составляющую размывания пика. Он соответствует члену, описывающему вихревую диффузию в уравнении Ван-Деемтера. Его величина обратно пропорциональна коэффициенту диффузии в подвижной фазе и связана с размером частиц неподвижной фазы и диаметром колонки, как следует из соответствующей формулы табл. 5.3.

Для слагаемого $C_S\bar{u}$, характеризующего процессы массопереноса к неподвижной фазе и от нее, следует рассмотреть два случая: один для твердой, другой для иммобилизованной жидкой фазы.

Для жидкой неподвижной фазы преобладающим механизмом разделения является распределительный. В этом случае размывание пиков увеличивается с увеличением толщины слоя иммобилизованной жидкости и уменьшением коэффициентов диффузии в неподвижной фазе. Если же неподвижная фаза твердая, то скорость массопереноса определяется скоростью процессов адсорбции и десорбции.

В идеале при хроматографическом разделении всегда стремятся достичь *высокой эффективности при малой продолжительности анализа*. Это оказывается возможным, если зависимость H от линейной скорости потока выражается достаточно пологой кривой. В этом случае даже значительное увеличение скорости потока (и, тем самым, сокращение продолжительности анализа) не приводит к существенному увеличению ВЭТТ и потере эффективности. Для уменьшения величин ВЭТТ существуют следующие возможности:

- уменьшение размера частиц и толщины слоя иммобилизованной жидкой неподвижной фазы;

- увеличение однородности размеров частиц неподвижной фазы и упаковки колонки;
- уменьшение внутреннего диаметра колонок;
- использование неподвижных фаз с высокими коэффициентами диффузии и подвижных фаз с низкими коэффициентами диффузии. В газовой хроматографии коэффициенты диффузии в подвижной (газовой) фазе существенно уменьшаются с уменьшением температуры.

Поскольку коэффициенты диффузии для различных молекул различаются, степень уширения пика зависит от молярной массы вещества. Для малых молекул размывание пиков, как правило, меньше.

Фактор разрешения R_S — мера степени разделения хроматографических пиков

Ранее мы рассмотрели величину коэффициента селективности (уравнение (5.11)) как меру селективности хроматографического разделения двух веществ. Однако коэффициент селективности характеризует только взаимное расположение двух хроматографических пиков (точнее, их максимумов). В то же время степень разделения зависит также от величины размывания пиков, т. е. эффективности колонки.

Обобщающим параметром, характеризующим степень разделения веществ с учетом как селективности, так и эффективности хроматографического процесса, служит *фактор разрешения* (сокращенно называемый просто «разрешением») R_S. Для пиков двух веществ A и B он вычисляется как (см. рис. 5.6)

$$R_S = \frac{\Delta t}{(w_A + w_B)/2} = \frac{t_R^B - t_R^A}{w}. \quad (5.20)$$

(последнее равенство — при условии, что $w_A \approx w_B = w$).

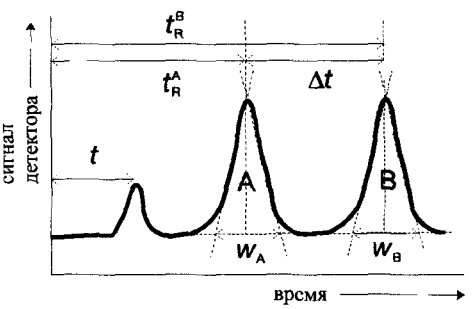


Рис. 5.6. Хроматограмма смеси веществ A и B. Разрешение пиков R_S может быть рассчитано из данных, приведенных на рисунке, по уравнению (5.20).

Формулу (5.20) можно представить и в другом виде, с использованием величин коэффициентов емкости, коэффициента селективности и числа теоретических тарелок. Для этого сначала подставим в выражение (5.20) ширину пика у основания, выраженную через число теоретических тарелок из (5.16):

$$R_S = \frac{t_R^B - t_R^A}{t_R^B} \cdot \frac{\sqrt{N}}{4}. \quad (5.21)$$

Подставим в полученное выражение величины факторов емкости из (5.9):

$$R_S = \frac{k'_B - k'_A}{1 + k'_B} \cdot \frac{\sqrt{N}}{4}. \quad (5.22)$$

Наконец, с использованием коэффициента селективности (уравнение (5.11)) получаем следующую формулу расчета **хроматографического разрешения**:

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4}\left(\frac{\alpha-1}{\alpha}\right)\frac{k'_B}{1+k'_B}. \tag{5.23}$$

Это соотношение часто используют в упрощенном виде в случаях, когда $k'_A \cong \cong k'_B = k'$. Тогда $\alpha \approx 1$ и

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4}(\alpha-1)\frac{k'}{1+k'}. \tag{5.24}$$

Из полученных соотношений можно рассчитать число теоретических тарелок, необходимых для обеспечения требуемого разрешения:

$$N = 16R_S^2\left(\frac{\alpha}{\alpha-1}\right)^2\left(\frac{1+k'_B}{k'_B}\right)^2. \tag{5.25}$$

На основе известной взаимосвязи между величинами R_S, α, k' и N (или H) можно оптимизировать процесс хроматографического разделения. Многие из упомянутых величин можно варьировать в известной мере независимо друг от друга. Для изменения значений α и k' можно изменять температуру (в газовой хроматографии) или природу подвижной фазы (в жидкостной). И в том, и в другом методе для этой же цели можно изменить неподвижную фазу. Увеличить число теоретических тарелок можно путем увеличения длины колонки или уменьшения ВЭТТ H. Последняя величина, в свою очередь, зависит от скорости потока подвижной фазы, размера частиц неподвижной фазы, вязкости фаз и толщины пленки неподвижной фазы, если она жидкая (см. табл. 5.3).

Для пиков одинаковой высоты и симметричной формы достаточным обычно считается разрешение $R_S = 1$ (называемое также 4σ-разрешением). Легко видеть, что для полного разделения пиков в случае, если они несимметричны или сильно различаются по высоте, требуется большее разрешение.

Качественный хроматографический анализ

Методы хроматографии можно использовать как для качественного, так и для количественного анализа, а также для препаративного разделения. Особенности препаративной хроматографии будут рассмотрены лишь бегло.

Информацию о *природе вещества* несет положение его зоны в случае внутреннего способа регистрации хроматограмм и время удерживания в случае внешней регистрации. Воспроизводимость всех хроматографических характеристик удерживания вещества обычно значительно ниже, чем, например, величин длин волн в спектроскопических методах. Поэтому для надежной идентификации следует применять относительные характеристики удерживания, рассчитываемые с использованием внутреннего стандарта. Еще более достоверные результаты можно получить при сочетании хроматографического разделения со спектроскопическим детектированием. Например, в газовой хроматографии широко используются масс-спектрометрические, а в жидкостной — УФ-детекторы на основе диодной линейки.

При выполнении качественного хроматографического анализа следует иметь в виду, что максимальное число хроматографических пиков, разрешенных до

ЗАО Амперсенд

компьютерная
автоматизация
хроматографии

МультиХром

Программно-аппаратный комплекс **МультиХром**:

управление хроматографическим оборудованием;
прием и обработка данных;
оформление итоговых документов.



Используется как в лабораторных,
так и заводских условиях
для всех видов хроматографии:

газовой,
ВЭЖХ,
препаративной,
эксклюзионной,
тонкослойной, а также для
капиллярного электрофореза

Постоянное расширение номенклатуры
управляемого оборудования.

Специализированные версии,
адаптированные для задач заказчика.

Разделение пиков и идентификация компонентов
по спектрам с помощью специальных алгоритмов
обработки сигнала многоканальных детекторов.

Гибкая настройка процедур обработки
хроматографической информации и
оформления конечных документов.

телефоны: 8-499-196-18-57
8-499-196-52-90
8-916-675-25-92
эл. почта: support@ampersand.ru
интернет: www.ampersand.ru

ХРОМЛАБ
ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР
ФИРМЫ «МЕРК»



Компания ХРОМЛАБ предоставляет полный спектр услуг по обучению персонала и оснащению лабораторий хроматографическими материалами и оборудованием:

- **Широчайший ассортимент продукции для всех видов хроматографии: от ТСХ до препаративной ВЭЖХ и флэш-хроматографии**
- **Разработка методов разделения любой степени сложности**
- **Консультирование, обучение персонала лабораторий**
- **Организация тематических семинаров и тренинг курсов**



MERCK

КОНТАКТЫ:
Тел./факс: (495)6486032
(812)4480745
E-mail: sales@chromlab.ru
WWW.CHROMLAB.RU

базовой линии, которые можно зарегистрировать при определенных условиях хроматографического процесса, ограничено (рис. 5.7). В элюативной хроматографии максимальное число разрешенных пиков n можно оценить по следующей формуле:

$$n = 1 + \frac{\sqrt{N}}{4} \ln \frac{t_R^n}{t_R^1}, \tag{5.26}$$

где t_R^1 и t_R^n — времена удерживания первого и последнего компонента, вымываемого из колонки.

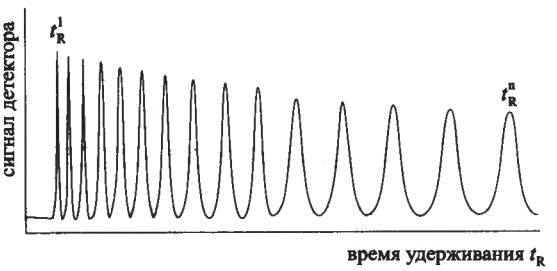


Рис. 5.7. Иллюстрация понятия «максимальное число разрешенных пиков».

Если число компонентов, содержащихся в пробе, превышает максимальное число разрешенных пиков, то наложение двух или более пиков неизбежно. В табл. 5.4 приведены типичные максимальные числа разрешенных пиков для методов газовой, жидкостной и гель-фильтрационной хроматографии (см. также рис. 5.7).

Таблица 5.4. Типичные значения максимального числа разрешенных пиков для различных чисел теоретических тарелок в методах газовой, жидкостной и гель-хроматографии (согласно Гиддингсу).

Число теоретических тарелок N	Максимальное число пиков n		
	гель	газовая	жидкостная
100	3	11	7
400	5	21	13
1000	7	33	20
2500	11	51	31
10000	21	101	61

Количественный хроматографический анализ

В колоночной хроматографии информацию о *количестве* вещества содержит высота или площадь пика. В плоскостной хроматографии (при внутреннем способе регистрации) для определения содержания вещества можно, например, измерить интенсивность окраски зоны (пятна) компонента. Все хроматографические методы требуют градуировки с использованием образцов сравнения (стандартов). Применяют как внешние, так и внутренние стандарты.

При использовании *высот* пиков следует убедиться, что форма всех пиков определяемого компонента — как для анализируемой пробы, так и для образцов

сравнения — одна и та же. В противном случае высота пика не будет прямо пропорциональна концентрации. Все условия эксперимента (температуру колонки, скорость подвижной фазы, объем вводимой пробы и др.) следует строго контролировать. Следует также избегать работы с большими количествами веществ (перегрузка колонки).

При использовании *площадей* пиков возможное изменение их формы (вследствие размывания или других причин) играет меньшую роль, и результаты, как правило, получаются более точными. Сейчас для измерения площадей пиков широко используют компьютерные методы численного интегрирования. Площадь пика можно оценить и вручную как произведение его высоты h на ширину на половине высоты $b_{1/2}$ (рис. 5.3). В случае очень узких пиков точность вычисления площадей может значительно ухудшиться.

5.2. Газовая хроматография

В методе газовой хроматографии определяемые вещества (при необходимости) испаряют и пропускают через колонку при помощи газа, являющегося подвижной фазой. Как правило, газ выступает только в роли переносчика веществ и никак с ними не взаимодействует. Поэтому в методе газовой хроматографии подвижную фазу называют обычно *газом-носителем*. Неподвижной фазой может служить твердое вещество, адсорбирующее разделяемые вещества. Этот вариант газовой хроматографии называется газо-твердофазной. Он используется главным образом для анализа атмосферного воздуха и будет вкратце рассмотрен в конце раздела. Преобладающим же вариантом газовой хроматографии является газожидкостная (сокращенно называемая просто «газовой»). Она широко используется для определения органических веществ. Основным механизмом разделения в газожидкостной хроматографии является распределительный.

Характеристики удерживания и коэффициенты распределения

В газовой хроматографии любые численные величины, характеризующие удерживание веществ, существенно зависят от условий эксперимента — в первую очередь температуры и давления. Обычно вместо времен удерживания используют *удерживаемые объемы*. Удерживаемый объем равен произведению времени удерживания на объемную (мл/мин) скорость потока газа-носителя F. Для удерживаемого объема компонента смеси V_R и мертвого удерживаемого объема V_M можно записать:

$$V_{\mathrm{R}} = F \cdot t_{\mathrm{R}}, \tag{5.27}$$

$$V_{\mathrm{M}} = F \cdot t_{\mathrm{M}}. \tag{5.28}$$

Экспериментально величину V_M можно определить по времени удерживания неудерживаемого газа — воздуха или метана. Основной характеристикой удерживания вещества в газовой хроматографии служит *исправленный удерживаемый объем* V'_R:

$$V'_{\mathrm{R}} = V_{\mathrm{R}} - V_{\mathrm{M}}. \tag{5.29}$$

Величина исправленного удерживаемого объема вещества связана с его коэффициентом распределения через объем неподвижной фазы:

$$V'_{\mathrm{R}} = KV_{\mathrm{S}}. \tag{5.30}$$

Для того, чтобы обеспечить прохождение газа-носителя через колонку, на входе колонки необходимо создать избыточное давление. Таким образом, в колонке существует перепад давлений. Ввиду сжимаемости газа его объемная скорость вдоль колонки неодинакова: на входе она меньше, чем на выходе. Чтобы сделать значения удерживаемых объемов не зависящими от перепада давления, их следует умножить на коэффициент j, называемый коэффициентом Мартина:

$$V_{\mathrm{N}} = j \cdot V'_{\mathrm{R}}. \tag{5.31}$$

Коэффициент Мартина вычисляется как

$$j = \frac{3\left[\left(\frac{p_i}{p_0}\right)^2 - 1\right]}{2\left[\left(\frac{p_i}{p_0}\right)^3 - 1\right]},$$

где p_i, p_0 — давления газа-носителя на входе и выходе колонки. Величина V_{N} называется *чистым удерживаемым объемом.*

Из значения чистого удерживаемого объема можно рассчитать *удельный удерживаемый объем* V_g:

$$V_{\mathrm{g}} = \frac{V_{\mathrm{N}}}{W_{\mathrm{S}}}\frac{273}{T}, \tag{5.32}$$

где W_S — масса неподвижной фазы (г), а T — температура колонки (К). Среди всех характеристик удерживания вещества удельный удерживаемый объем в наименьшей степени зависит от экспериментальных условий. Однако его определение достаточно трудоемко. На практике в качестве характеристик удерживания обычно используют исправленные удерживаемые объемы — абсолютные или, что предпочтительнее, относительные.

Процессы разделения в газовой фазе

Нам уже известны основные величины, характеризующие эффективность разделения в колонках — число теоретических тарелок N и высота, эквивалентная теоретической тарелке H. Особенность газовой хроматографии состоит в том, что на их значения сильно влияет продольная диффузия (слагаемое с коэффициентом B в уравнении (5.19)). Причиной тому являются высокие величины коэффициентов диффузии в газовой фазе — в 10^4 раз большие, чем в жидкой. Зависимость H от линейной скорости газа-носителя $\bar{u}$ выражена не очень резко, а минимальные значения H находятся при довольно больших скоростях потока подвижной фазы.

Чтобы установить, пригодна ли данная колонка для решения данной практической задачи, разумеется, недостаточно только знания характеристик ее эффективности. Необходима еще информация о свойствах разделяемых веществ — в первую очередь их летучести и сродстве к неподвижной фазе.

В соответствии с законом Рауля давление пара вещества над раствором пропорционально давлению его насыщенного пара p^0 и коэффициенту активности

в растворе γ. Исходя из этого, Херингтон охарактеризовал разделяющую способность неподвижной жидкой фазы по отношению к двум компонентам 1 и 2 как

$$\lg \frac{V_{g_2}}{V_{g_1}} = \lg \frac{p_1^0}{p_2^0} + \lg \frac{\gamma_1^0}{\gamma_2^0}. \tag{5.33}$$

Для исправленных времен удерживания можно (приближенно) записать аналогичное выражение

$$\lg \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}} = \lg \frac{p_1^0}{p_2^0} + \lg \frac{\gamma_1}{\gamma_2} \quad \text{или} \quad \frac{t'_{R_2}}{t'_{R_1}} = \frac{p_1^0}{p_2^0} \cdot \frac{\gamma_1^0}{\gamma_2^0}. \tag{5.34}$$

Таким образом, возможность разделения компонентов определяется, с одной стороны, их относительными *летучестями* (выраженными в виде отношения давлений их насыщенных паров, зависящим от температуры), а с другой — их относительным сродством к неподвижной фазе (отношение коэффициентов активности). Относительное сродство неподвижной фазы к различным компонентам характеризует ее селективность. В настоящее время существует уже свыше 1000 различных неподвижных фаз для газовой хроматографии.

На различиях в давлении насыщенных паров основано разделение близких по химическим свойствам веществ, например членов одного гомологического ряда. Если же температуры кипения веществ близки, то их разделение возможно только на основе различного сродства к ним неподвижной фазы. В этом случае возможно разделить даже компоненты азеотропных смесей, не разделимые простой перегонкой.

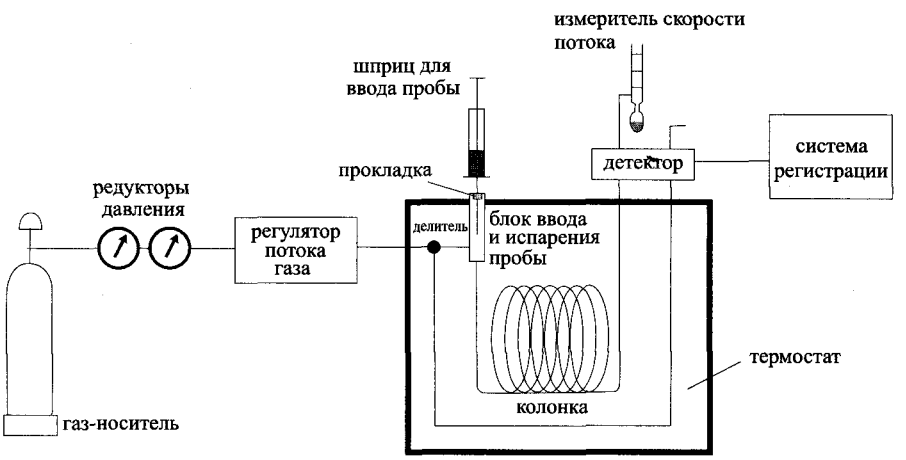


Рис. 5.8. Схема устройства газового хроматографа.

Устройство газового хроматографа

Основные узлы газового хроматографа схематически изображены на рис. 5.8. Различные модели газовых хроматографов могут отличаться друг от друга с точки зрения природы используемого газа-носителя, особенностей системы ввода пробы, применяемых колонок и детекторов.

Газы-носители

В качестве газов-носителей применяют химически инертные газы — гелий, аргон, азот, диоксид углерода или водород. Выбор газа-носителя во многом зависит от способа детектирования. Газ-носитель должен быть тщательно обезвожен, для чего его обычно предварительно пропускают через молекулярные сита. Поток газа обеспечивается за счет избыточного давления в газовом баллоне, какие-либо специальные насосы не требуются. Для получения воспроизводимых результатов скорость потока газа следует поддерживать постоянной.

При работе с одной колонкой в *изотермическом* режиме достаточно поддерживать постоянным давление газа на входе при помощи двухступенчатого редуктора. При работе в режиме *программирования температуры* или при переключении колонок необходимо использовать дополнительные средства регулирования газового потока, поскольку при этом сопротивление потоку в процессе работы изменяется. Для измерения скорости потока можно использовать ротаметр на входе в хроматограф или мыльный измеритель скорости на выходе.

Обычно для набивных колонок скорость газа-носителя составляет от 25 до 150, а для капиллярных — 1–25 мл/мин.

Блок ввода и испарения пробы

При анализе газообразных образцов пробу (объемом до 20 мкл) непосредственно вводят в поток газа-носителя. Жидкие и твердые пробы следует сначала испарить. Для этого служит специальный блок хроматографа, называемый испарителем. Через испаритель, снабженный нагревателем, протекает поток газа-носителя (см. рис. 5.8). От окружающего пространства он изолирован с помощью *прокладки* (обычно из силиконовой резины).

Пробу вводят через прокладку с помощью шприца. Эту операцию следует проделывать как можно быстрее. Медленный ввод пробы приводит к значительному размыванию пиков и трудностям в интерпретации хроматограммы. Для набивных колонок объем вводимой пробы составляет от 0,5 до 20 мкл. Для капиллярных колонок объемы пробы существенно меньше (до 0,001 мкл). Для отбора столь малых объемов используют специальное устройство — делитель газовых потоков. Высококачественная автоматизированная система ввода пробы обеспечивает воспроизводимость величин вводимых объемов до 0,5%.

Температуру испарителя, как правило, задают на 5°С выше, чем температура кипения наименее летучего компонента пробы.

Колонки и термостаты

Корпус колонки для газовой хроматографии изготавливают из нержавеющей стали, стекла или высокочистого плавленого кварца; последний материал используется все шире. Для предохранения кварцевых колонок от механических повреждений их покрывают снаружи слоем полиимидного материала. Для поддержания постоянной температуры колонок их помещают в термостат. Основными типами колонок являются набивные (насадочные) и капиллярные. *Набивные* колонки заполнены зернистым твердым материалом, поверхность которого покрыта тонким слоем жидкости — неподвижной фазы. Колонку заполняют

через воронку. Внутренний диаметр набивных колонок составляет 3–8 мм, длина — до 1–3 м. *Капиллярные* колонки внутри полые. Жидкую неподвижную фазу в этом случае наносят на внутренние стенки. Для этого через колонку медленно пропускают с постоянной скоростью достаточно концентрированный раствор неподвижной фазы либо заполняют ее разбавленным раствором неподвижной фазы, а затем испаряют растворитель в вакууме. Длина капиллярных колонок может составлять до 100 м, а внутренний диаметр — 0,15–1 мм.

Набивные колонки небольшой длины могут иметь прямолинейную или U-образную форму. Более длинные набивные и капиллярные колонки свернуты в спираль с диаметром колец от 10 до 30 см.

Для удаления из колонок остатков растворителя (а также — в газотвердофазной хроматографии — для перевода твердой неподвижной фазы в активное состояние) через заполненную колонку необходимо некоторое время пропускать газ-носитель при повышенной температуре.

Детекторы

В качестве универсальных детекторов в газовой хроматографии используют детекторы теплопроводности (катарометры) и пламенно-ионизационные детекторы (ПИД). Для детектирования определенных веществ все чаще используют масс-спектрометрические детекторы. Системы детектирования в газовой хроматографии непрерывно совершенствуются с тем, чтобы обеспечить селективное детектирование или снизить пределы обнаружения веществ.

Детектор теплопроводности (катарометр)

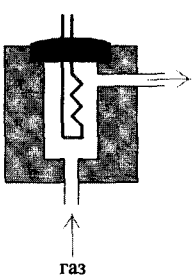


Рис. 5.9. Устройство ячейки детектора теплопроводности.

Детектирование по теплопроводности основано на том, что в присутствии определяемых веществ теплопроводность газа-носителя изменяется (как правило, уменьшается). Для гелия и водорода — наиболее подходящих для этого способа детектирования газов-носителей — теплопроводность в 6–10 раз выше, чем для большинства органических веществ. Для других газов-носителей эти различия существенно меньше. Теплопроводность измеряют при помощи термометра сопротивления — нагреваемой электрическим током металлической спирали, сопротивление которой зависит от температуры окружающей среды (рис. 5.9). Используют две одинаковые измерительные ячейки, включенные в компенсационную электрическую схему измерения сопротивления. Одна из ячеек постоянно омывается потоком чистого газа-носителя, другая — потоком газа на выходе из хроматографа. Сигнал детектора теплопроводности пропорционален *концентрации* вещества в потоке газа-носителя. Детекторы-катарометры неспецифичны (универсальны), они могут использоваться для детектирования как органических, так и неорганических веществ.

Как видно из табл. 5.5, чувствительность катарометров ниже, а диапазон линейности — уже, чем у большинства детекторов других типов. Ввиду недоста-

точной чувствительности детекторы теплопроводности обычно не используют в сочетании с капиллярными колонками. Достоинством детекторов теплопроводности является то, что в результате детектирования компоненты пробы не разрушаются.

Таблица 5.5. Основные типы детекторов в газовой хроматографии.

Тип детектора	Детектируемые вещества	Предел обнаружения	Диапазон линейности
Катарометр	универсальный	10^{-8} г/мл	10^4
ПИД	органические вещества	10^{-13} г/с	10^7
ДЭЗ	соединения с электроотрицательными атомами	$5 \cdot 10^{-14}$ г/с	$5 \cdot 10^4$
Термоионный	P-содержащие	10^{-15} г/с	10^5
	N-содержащие	10^{-14} г/с	
ПФД	P-содержащие	$3 \cdot 10^{-13}$ г/с	10^5
	S-содержащие	$2 \cdot 10^{-11}$ г/с	

ПИД — пламенно-ионизационный детектор, ДЭЗ — детектор электронного захвата, ПФД — пламенно-фотометрический детектор.

Пламенно-ионизационный детектор (ПИД)

В настоящее время это самый распространенный тип детекторов. В основе работы таких детекторов лежит увеличение электропроводности водородного пламени, помещенного в электрическое поле, в присутствии органических веществ. Органические вещества, поступающие с потоком газа-носителя из колонки, попадают в водородное пламя и там сгорают. При этом образуются ионы и свободные электроны, например:

$$CH \cdot + O \rightarrow CHO^+ + e^-. \qquad (5.35)$$

Увеличение концентрации ионов приводит к увеличению ионного тока, регистрируемого при помощи электрода-коллектора (рис. 5.10)

Пламенно-ионизационный детектор позволяет детектировать любые вещества, содержащие C–C- или C–H-связи. К веществам, содержащим функциональные группы — карбонильные, спиртовые, аминные, а также атомы галогенов — он менее чувствителен. Негорючие газы — H_2O, CO_2, SO_2, оксиды азота определять с его помощью нельзя.

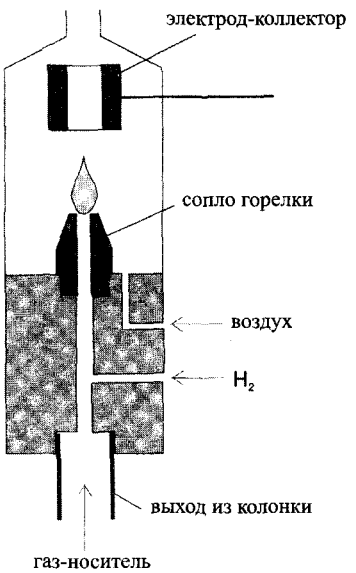


Рис. 5.10. Схема устройства пламенно-ионизационного детектора.

Сигнал ПИД пропорционален *массе* вещества в единицу времени. Поэтому изменения скорости потока подвижной фазы ма-

ло влияют на показания таких детекторов. Пламенно-ионизационные детекторы отличаются очень низкими пределами обнаружения и широким диапазоном линейности сигнала (табл. 5.5). В результате детектирования компоненты пробы полностью разрушаются.

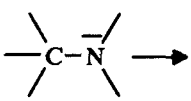
Детектор электронного захвата (ДЭЗ)

Принцип действия детектора электронного захвата похож на принцип действия газоразрядного счетчика (разделы 3.2.3, 3.6). Газ, выходящий из колонки, в специальной ячейке с двумя электродами непрерывно облучают потоком β-частиц, испускаемым изотопом ^{63}Ni или тритием. При этом газ-носитель ионизируется. Вследствие этого в отсутствие определяемых веществ через ячейку протекает ток постоянной силы. Некоторые же органические вещества способны захватывать электроны с образованием стабильных анионов, вследствие чего электронный ток уменьшается. К таким веществам относятся те, которые имеют в своем составе электроотрицательные заместители: галогенпроизводные, хиноны, нитросоединения. Для них ДЭЗ является высокочувствительным селективным детектором. Он очень удобен, в частности, для определения хлорсодержащих пестицидов.

По отношению к большинству других органических соединений — аминам, спиртам, углеводородам — детектор электронного захвата нечувствителен. Характеристики детекторов этого типа приведены в табл. 5.5.

Специальные типы детекторов

Термоионный детектор. Термоионные детекторы высокоселективны к азот- и фосфорсодержащим соединениям (табл. 5.5): по отношению к обоим этим элементам их чувствительность приблизительно в 10 000 раз выше, чем к углероду. По своему устройству термоионные детекторы очень похожи на пламенно-ионизационные. Отличие состоит в том, что горючая смесь в этом случае сильно обеднена водородом и не способна к самостоятельному горению. Ячейка термоионного детектора содержит два электрода. Положительно заряженный электрод является электродом-коллектором. Отрицательно заряженный электрод представляет собой раскаленную платиновую проволоку, на которую помещена капля рубидийсодержащего стекла. Вокруг раскаленного стекла образуется слой плазмы, попадая в который N- и P-содержащие молекулы образуют радикалы:



(5.36)

Затем радикалы реагируют с окружающими их свободными атомами рубидия с образованием ионов:

$$\cdot C \equiv N| + Rb^{\cdot} \rightarrow |C \equiv N|^{-} + Rb^{+}. \qquad (5.37)$$

Образующиеся катионы рубидия притягиваются отрицательно заряженным электродом и вновь оказываются в стекле, а цианид-анионы (или образующиеся из них в ходе последующих процессов свободные электроны) движутся к электроду-коллектору, создавая электрический ток. Аналогичные явления про-

исходят и с фосфорсодержащими веществами. При этом образуются главным образом радикалы, изображенные на рис. 5.11.

Спектроскопические детекторы

Пламенно-фотометрический детектор. Это самый простой из спектроскопических детекторов в хроматографии. Он используется для селективного детектирования фосфора и серы. Газ, выходящий из колонки, подается в водородно-воздушное пламя. В результате неполного сгорания фосфор- и серосодержащих веществ образуются радикалы, которые возбуждаются и испускают излучение. Для его регистрации используют ФЭУ. Фосфор детектируют при 526 нм, а серу — при 394 нм.

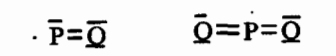


Рис. 5.11. Фосфорсодержащие радикалы, играющие важную роль в процессе термоионного детектирования.

Атомно-эмиссионный детектор. Принцип действия этого детектора тот же, что и пламенно-фотометрического. Однако в этом случае в качестве источника атомизации используют не пламя, а гелиевую микроволновую плазму, обладающую значительно более высокой температурой. С его помощью можно селективно определять такие элементы, как N, P, S, C, Si, Hg, Br, Cl, H (в том числе отдельно — D), F, O (см. раздел 3.2.2). Испускаемое излучение регистрируют при помощи фотометра с диодной линейкой в области 170–780 нм.

Точность атомно-эмиссионных детекторов невелика, относительная погрешность составляет от 2 до 20%. Однако их важным достоинством является возможность элементного анализа веществ непосредственно в ходе хроматографического процесса. Особенно высока чувствительность атомно-эмиссионных детекторов к таким элементам, как C, P и S. Диапазон линейности существенно уже, чем, например, для пламенно-ионизационных детекторов.

Возможность определения отдельных элементов особенно важна в случае анализа сложных смесей. Использование таких детекторов, например, позволяет селективно определять спирты в бензине при помощи линии испускания кислорода.

Масс-спектрометрический детектор. Непосредственное сочетание хроматографической колонки и масс-спектрометрического детектора возможно при использовании капиллярных колонок ввиду малых скоростей потоков газа-носителя (1–25 мл/мин), применяемых в этом случае. При использовании набивных колонок поток газа-носителя следует предварительно разбавить при помощи специального устройства — *сепаратора*.

Особенности сочетания газохроматографического разделения с масс-спектрометрическим (а также ИК-) детектированием будут отдельно рассмотрены в разделе 5.5.

Неподвижные фазы для газожидкостной хроматографии

Условиями эффективного разделения является достаточно большое число теоретических тарелок колонки, высокая селективность неподвижной фазы и достаточная ее емкость.

Первоначально в газовой хроматографии использовали исключительно *набивные колонки*, в которых неподвижная фаза находится в виде тонкой пленки на поверхности частиц носителя. Длина набивных колонок обычно не превышает 5 м. Максимально возможная длина набивной колонки — 20 м, после чего перепад давлений газа-носителя становится слишком большим. Число теоретических тарелок для набивных колонок существенно меньше 10 000.

Важным этапом увеличения эффективности в жидкостной хроматографии явилось создание *капиллярных колонок* (1958 г., Голей). В капиллярных колонках неподвижная жидкая фаза находится на внутренней поверхности стенок, поэтому ток газа ничем не затруднен. Капиллярные колонки могут иметь длину свыше 100 м, а число теоретических тарелок — 100 000 и более. Кроме того, для капиллярных колонок отношение объемов подвижной и неподвижной фазы существенно выше, чем для набивных.

Носители неподвижной фазы

Желательно, чтобы носитель неподвижной фазы состоял из маленьких, однородных, химически инертных, термически и механически устойчивых сферических частиц с удельной поверхностью 0,5–4 $м^2/г$. Размер зерен носителя обычно составляет 149–250 мкм (60–100 меш, согласно американской номенклатуре).

Чаще всего в качестве материала для носителя используют *кизельгур* — ископаемый минерал, на 90% состоящий из аморфного кремнезема. Он представляет собой окаменевшие останки древних водорослей. Оболочки их клеток имели развитую систему пор, через которые водоросли получали питательные вещества посредством молекулярной диффузии. Кизельгур, сохранивший эту пористую структуру, является поистине идеальным хроматографическим материалом. В зависимости от удельной поверхности кизельгура доля наносимой на него неподвижной фазы составляет от 5 до 30% по массе.

В качестве носителей неподвижной фазы используют также синтетический кремнезем — силикагель (см. раздел 5.3.1), пористые стеклообразные материалы и органические полимеры (табл. 5.8).

Капиллярные колонки

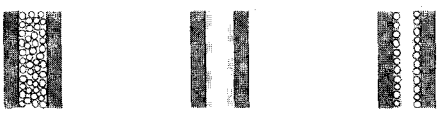


Рис. 5.12. Типы колонок для газо-жидкостной хроматографии.

Закрепление неподвижной жидкой фазы на внутренней поверхности капиллярных колонок можно осуществить двумя способами — в виде тонкой пленки непосредственно на стенках или в порах твердого материала, нанесенного на стенки колонки и выполняющего функцию носителя. Колонки первого типа называются тонкопленочными, второго — тонкослойными (рис. 5.12). В качестве носителя для тонкослойных колонок чаще всего используют также кизельгур. По сравнению с тонкопленочными тонкослойные колонки обладают большей *емкостью*, поскольку содержат больше жидкой фазы. Одна-

ко их эффективность ниже. По эффективности тонкослойные колонки занимают промежуточное положение между тонкопленочными и набивными.

Корпуса капиллярных колонок изготавливают почти исключительно из *плавленого кварца* высокой чистоты, по возможности не содержащего примесей оксидов металлов. Некоторые характеристики колонок различных типов приведены в табл. 5.6.

Дезактивация поверхности колонок

Необработанный носитель или капиллярная колонка всегда содержит на своей поверхности некоторое количество остаточных силанольных групп (рис. 5.13), способных прочно адсорбировать молекулы полярных (например, спиртов) или ароматических соединений. Это приводит к сильному уширению хроматографических пиков и появлению на них длинных «хвостов» вследствие замедленной десорбции.

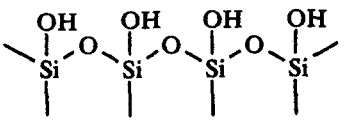
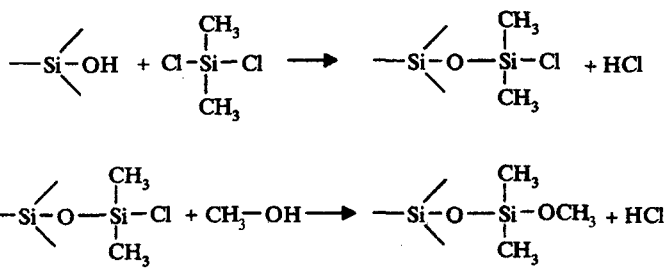


Рис. 5.13. Строение полностью гидролизованной поверхности силикагеля

Таблица 5.6. Характеристики основных типов колонок, используемых в газовой хроматографии.

Характеристика	Набивные	Тонкопленочные	Тонкослойные
Длина, м	1–5	10–100	10–100
Внутренний диаметр, мм	2–4	0,1–0,75	$\sim 0,5$
Эффективность, т.т./м	500–1000	1000–4000	600–1200
Масса пробы, нг	$10–10^6$	10–1000	10–1000
Перепад давлений	значительный	малый	малый

Для предотвращения этих нежелательных явлений остаточные силанольные группы дезактивируют, прививая к ним ди- или триметилсилильные радикалы. В результате поверхность становится гидрофобной. Пример такой дезактивации — обработка силикагеля дихлорсиланом, а затем метанолом:



Активные центры, остающиеся на поверхности после дезактивации, могут быть обусловлены только наличием примесей оксидов металлов. Кварцевые капиллярные колонки изготавливают из высокочистого кварца, поэтому на их поверхностях активных центров, как правило, не остается.

Неподвижные жидкие фазы

Жидкости, используемые в газовой хроматографии в качестве неподвижных фаз, должны быть *термически* и *химически устойчивыми*. Они также должны быть *труднолетучими* во избежание потерь при хроматографировании. Желательно, чтобы температура кипения жидкой фазы была приблизительно на 100°C выше, чем рабочая температура колонки. Жидкая фаза должна быть достаточно *селективной*, т. е. характеризоваться значительным различием в коэффициентах распределения для разных веществ. При этом коэффициенты распределения не должны быть слишком большими или слишком маленькими, поскольку в противном случае времена удерживания будут или столь велики, что анализ станет чрезмерно продолжительным, или столь малы, что разделение веществ окажется невозможным.

При выборе жидкой фазы следует руководствоваться общеизвестным химическим правилом: ***подобное растворяется в подобном.***

В соответствии с этим для разделения полярных веществ следует использовать *полярные* жидкие фазы. Они могут содержать функциональные группы $-CN$, $-C{=}O$, $-OH$ или сложноэфирные и характеризуются выраженной селективностью по отношению к полярным веществам: спиртам, органическим кислотам, аминам. *Неполярные* фазы представляют собой углеводороды или силиконовые масла. Они подходят для разделения углеводородов, особенно насыщенных, и их галогенпроизводных. Для разделения веществ средней полярности — простых эфиров, кетонов, альдегидов — можно использовать соответствующим образом модифицированные фазы. В табл. 5.7 приведены основные классы веществ, используемых в качестве неподвижных фаз, указаны их полярности и рабочий диапазон температур. Формулы некоторых представителей этих классов приведены на рис. 5.14.

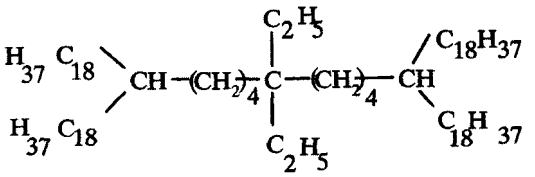
Особый класс составляют *химически привитые* фазы. Их получают путем закрепления молекул неподвижной фазы на поверхности (частиц носителя или капиллярной колонки) посредством ковалентных связей, образующихся в результате химической реакции. Они характеризуются более высокой термической устойчивостью и не улетучиваются из колонки даже при экстремальных режимах работы.

Универсальным исходным веществом для создания жидких фаз является силикон. Вводя в состав его молекул те или иные заместители, можно получать разнообразные жидкие фазы различной полярности, пригодные для разделения практически любых смесей веществ (см. табл. 5.7).

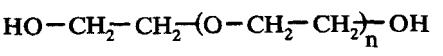
В то же время выбор неподвижной фазы для решения конкретной практической задачи осложняется наличием многообразных видов взаимодействий между молекулами неподвижной фазы и разделяемых веществ. Перечислим основные из таких типов взаимодействий:

- неспецифические *дисперсионные* взаимодействия, характерные для неполярных молекул (алканы, бензол);
- *ориентационные* взаимодействия между молекулами, обладающими постоянными дипольными моментами (в частности, с образованием водородных связей);

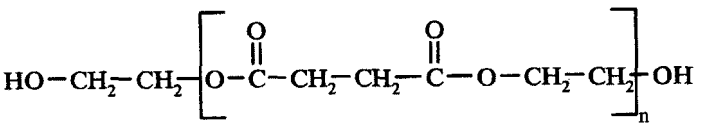
- *индуцированные* взаимодействия между постоянным и наведенным диполями;
- химические взаимодействия с образованием *комплексов с переносом заряда*, например, между ароматическим кольцом и ионом металла.



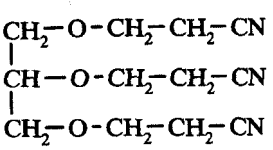
аполан-87



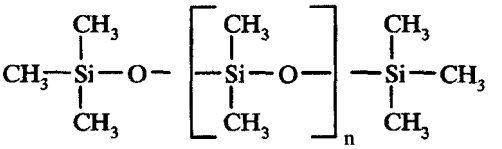
полиэтиленгликоль



полиэтиленгликольсукцинат



1,2,3-трис(2-цианоэтокси)пропан



полидиметилсиликон

Рис. 5.14. Формулы некоторых веществ, используемых в качестве неподвижных жидких фаз (см. табл. 5.7)

Таблица 5.7. Неподвижные жидкие фазы для газовой хроматографии (формулы некоторых представителей — на рис. 5.14).

Класс веществ	Представитель	Рабочий диапазон температур	Полярность
Углеводороды	сквалан	20–150	неполярный
	аполан-87	50–300	неполярный
Полигликоли	полиэтиленгликоль (карбовакс)	50–225	полярный
Сложные эфиры	полиэтиленгликоль-сукцинат	100–200	сильно полярный
	диизодециладипинат	20–125	средней полярности
Азотсодержащие соединения	1,2,3-трис(2-цианоэтокси)пропан	110–200	полярный
Силиконы	метилсиликон (OV-1, SE-30)	200–300	неполярный
	фенилсиликон (OV-22)		средней полярности
	нитрилсиликоновое масло (OE-4178)		сильно полярный

Для количественного описания этих типов взаимодействий Роршнайдер и, позднее, Мак-Рейнольдс предложили использовать хроматографические данные, полученные для стандартного набора веществ (бензол, этанол, бутанон, нитрометан, пиридин). Ими же был предложен и алгоритм целенаправленного выбора неподвижной фазы на основе этих данных. В его основе лежит система особых индексов удерживания и набор численных значений — аддитивных инкрементов для различных функциональных групп и других структурных фрагментов.

Применение газожидкостной хроматографии

Газовую хроматографию можно применять исключительно для разделения. Это бывает необходимо для оценки чистоты веществ, а также препаративного выделения отдельных компонентов из смесей. Однако химика-аналитика интересует в первую очередь применение хроматографии в качестве метода *качественного* и *количественного анализа*.

Качественный газохроматографический анализ

Качественную информацию о природе вещества несут в себе хроматографические характеристики удерживания, например исправленный удерживаемый объем или исправленное время удерживания (см. раздел 5.1). Как и в других методах, для надежной идентификации целесообразно сравнить характеристики неизвестного вещества и вещества предполагаемого состава (если таковое имеется в распоряжении), полученные в одинаковых условиях.

Последнее замечание весьма существенно, поскольку параметры хроматографического удерживания очень сильно зависят от условий эксперимента. К таким условиям, в частности, относятся:

- температура колонки;
- скорость потока газа-носителя;
- природа газа-носителя;
- величина перепада давлений в колонке;
- природа и количество неподвижной фазы;
- размеры колонки (длина и внутренний диаметр).

Принципиально возможно исключить влияние некоторых из этих факторов, если использовать значения удельных удерживаемых объемов (уравнение (5.32)). Однако определение этих значений часто требует достаточно длительного и трудоемкого эксперимента. Поэтому вместо абсолютных обычно используют *относительные* характеристики удерживания. Кроме того, для идентификации очень удобно применять *спектроскопические* методы детектирования, которые сами по себе часто являются источником дополнительной информации о природе и составе вещества. Как правило, для этого используют масс-спектрометрию.

Индексы удерживания Ковача

Среди различных шкал относительных характеристик удерживания наиболее распространена система индексов удерживания, предложенная Ковачем в 1958 г. В основе этой системы лежит тот факт, что в гомологическом ряду нормальных

алканов зависимость между логарифмом исправленного времени удерживания и числом углеродных атомов можно с высокой точностью описать *линейной функцией*. Используя эту зависимость, можно приписать любому веществу некоторую величину, называемую *индексом удерживания* I, согласно следующему правилу.

Индексом удерживания данного вещества называется число, в 100 раз превышающее число атомов углерода (возможно, нецелочисленное) *гипотетического н-алкана, обладающего тем же временем удерживания.*

Согласно этому определению, для любого нормального алкана при любой температуре и на любой колонке индекс удерживания в 100 раз превышает число его атомов углерода. Так, индекс удерживания н-гексана в любых условиях по определению равен 600, н-октана — 800 и т. д.

Для расчета индекса удерживания исследуемое вещество подвергают хроматографическому анализу в смеси, содержащей по крайней мере два нормальных алкана. При этом необходимо, чтобы время удерживания вещества находилось между временами удерживания алканов.

Пусть н-алканы содержат, соответственно, z и z+y атомов углерода. Обозначим их исправленные времена удерживания как t_{Rz} и $t_{\mathrm{R(z+y)}}$. Исправленное время удерживания исследуемого вещества обозначим как t_x. Тогда индекс удерживания I вещества x, в соответствии с данным определением, равен

$$I = 100\mathrm{y}\left(\frac{\lg t_{\mathrm{Rx}} - \lg t_{\mathrm{Rz}}}{\lg t_{\mathrm{R(x+y)}} - \lg t_{\mathrm{Rz}}}\right) + 100\mathrm{z}. \qquad (5.38)$$

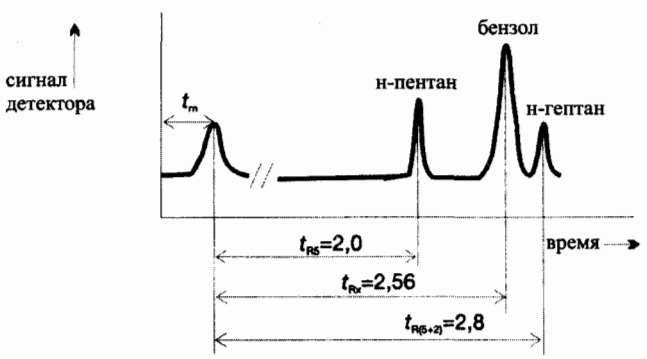


Рис. 5.15. Газохроматографическое определение индекса удерживания Ковача.

Рис. 5.15 иллюстрирует расчет индекса удерживания для бензола. Исходным источником данных служит приведенная на рисунке хроматограмма смеси бензола с н-пентаном и н-гептаном. Используя величины исправленных времен удерживания (мин) $t_{\mathrm{R5}} = 2,0$, $t_{\mathrm{R(5+2)}} = 2,8$ и $t_{\mathrm{Rx}} = 2,56$, находим индекс удерживания бензола:

$$I = 100 \cdot 2\left(\frac{\lg 2,56 - \lg 2,0}{\lg 2,8 - \lg 2,0}\right) + 100 \cdot 5 = 640.$$

На рис. 5.16 определение индекса удерживания бензола проиллюстрировано графически.

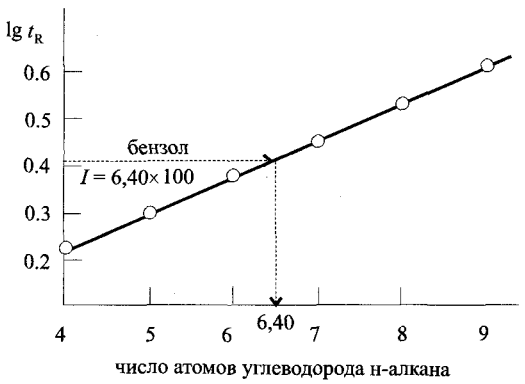


Рис. 5.16. Определение индекса Ковача для бензола при помощи н-алканов. Неподвижная фаза - сквалан, температура колонки 60°С.

Индексы удерживания множества веществ при различных условиях эксперимента определены и собраны в *базы данных*. Они мало зависят от температуры колонки.

Количественный газохроматографический анализ

В хроматографии мерой концентрации вещества служит высота или площадь хроматографического пика (раздел 5.1). Для получения правильных результатов необходимы:

- полнота и воспроизводимость процесса испарения пробы;
- полнота отделения определяемого вещества и правильность идентификации его пика.

В области линейности отклика детектора как высота, так и площадь пика прямо пропорциональны массе (при использовании детекторов-катарометров — концентрации) определяемого вещества.

Режимы хроматографического анализа: изотермический и программируемой температуры

Фундаментальной характеристикой вещества, определяющей все его хроматографические параметры удерживания, является коэффициент распределения (уравнение (5.30)). Как и любая константа химического равновесия, он зависит от температуры. Удерживаемый объем, кроме того, зависит от давления насыщенного пара вещества (уравнение (5.34)), также изменяющегося с изменением температуры в соответствии с законом Клаузиуса–Клапейрона:

$$\lg p = -\frac{\Delta_V H}{2,303RT} + const, \qquad (5.39)$$

где $\Delta_V H$ — парциальная мольная энтальпия испарения. Можно показать, что для зависимости скорости движения вещества по колонке от температуры наблюдается такая же логарифмическая зависимость. При повышении температуры скорости движения веществ увеличиваются, а времена удерживания — уменьшаются.

При **изотермическом** режиме температура колонки поддерживается постоянной в ходе всего процесса разделения. Этот режим является оптимальным для разделения смесей веществ, температуры кипения которых находятся в достаточно узком интервале. Если же они различаются значительно (более чем на 100°С), разделение осложняется. Если поднять температуру колонки слишком высоко, то наиболее летучие компоненты выйдут слишком быстро и плохо разделятся. При более же низких температурах, во-первых, значительно увеличится общее время анализа, а, во-вторых, наименее летучие компоненты будут находиться в колонке столь долго, что их пики окажутся очень размытыми.

Эти трудности можно преодолеть, используя режим **программирования температуры**. Он заключается в ступенчатом или непрерывном (как правило, линейном) увеличении температуры колонки по мере протекания хроматографического процесса. Начальная температура выбирается таким образом, чтобы обеспечить оптимальное разделение наиболее легко летучих компонентов. При этом вещества с более высокими температурами кипения будут находиться в начальной части колонки. При повышении температуры они начнут перемещаться по колонке.

На рис. 5.17 приведено сравнение двух хроматограмм одной и той же смеси спиртов, полученных в изотермическом режиме и режиме программирования температуры.

По сравнению с изотермическим режим программирования температуры имеет преимущества не только для качественного, но и для количественного анализа. Поскольку при программировании температуры пики различных веществ имеют близкую форму, то и все метрологические характеристики (в первую очередь — пределы обнаружения и погрешности результатов анализа) для различных веществ оказываются близки.

Понятие о газоадсорбционной хроматографии

Исторически метод адсорбционной хроматографии оказался первым хроматографическим методом. В методе газоадсорбционной (газотвердофазной) хроматографии неподвижной фазой является твердое тело — адсорбент. Разделение происходит за счет процессов адсорбции–десорбции. В этом методе также можно использовать как набивные, так и капиллярные колонки. В качестве капиллярных колонок можно использовать полые трубки, на внутренней поверхности которой иммобилизованы молекулы адсорбента. Можно использовать и тонкослойные капиллярные колонки, аналогичные применяемым в газожидкостной хроматографии (рис. 5.18).

Газоадсорбционная хроматография перед газожидкостной имеет следующие преимущества:

- более широкий рабочий интервал температур;
- большая устойчивость положения базовой линии (что особенно важно при использовании режима программирования температуры или в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием);
- большая скорость установления равновесия и, как следствие этого, меньшее время анализа.

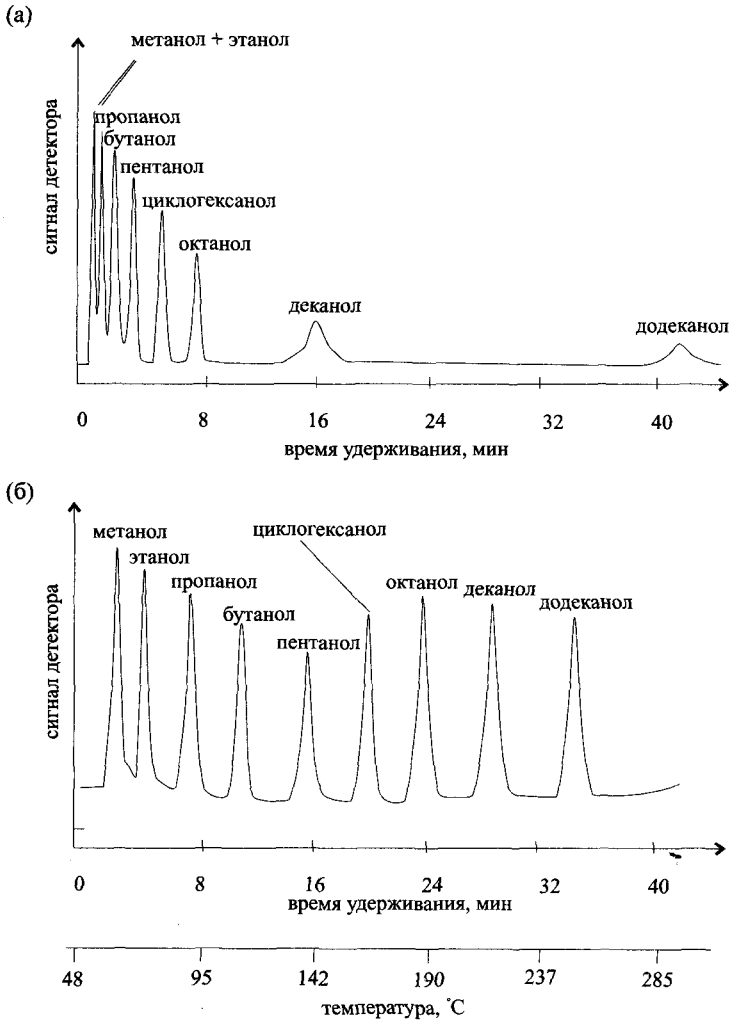


Рис. 5.17. (а) — Газохроматографическое разделение смеси спиртов в изотермическом (175°C) режиме, (б) — в режиме программирования температуры.

Однако этот метод имеет и существенные недостатки:

- несимметричная форма пиков вследствие ограниченности линейного участка изотермы адсорбции;
- как правило — большие времена удерживания вследствие высоких значений энтальпии адсорбции;
- неоднородность поверхности адсорбента, наличие каталитически активных центров;
- ограниченный выбор и трудность стандартизации неподвижных фаз.



Рис. 5.18. Типы колонок для газоадсорбционной хроматографии.

В качестве *неподвижных фаз* используют различные неорганические адсорбенты — алюмосиликаты (применяются также в молекулярных ситах), сажу, графит, а также пористые органические полимеры, например, сополимер стирола и дивинилбензола (рис. 2.27). Удельная поверхность твердой фазы в газоадсорбционной хроматографии значительно выше, чем в газожидкостной (см. табл. 5.8).

Таблица 5.8. Твердые адсорбенты и наполнители хроматографических колонок.

Класс веществ	Торговое название	Максимальная рабочая температура, °С	Удельная поверхность, $м^2/г$	Применение
Кизельгур	CHROMOSORB A	400	0,5–4	носитель для газожидкостной хроматографии
Силикагель	PORASIL	400	1,5–500	универсальное
Активированный уголь		400	1300	адсорбент, неорганические газы
Сополимер полистирола	CHROMOSORB B	275	50–800	адсорбент, низкомолекулярные, полярные вещества
	PORAPAK P,Q,T	250	100–600	
Тефлон	CHROMOSORB T	250	7–8	адсорбент, высокополярные вещества

Особенно большое значение адсорбционная хроматография имеет для разделения и определения низкокипящих газов — водорода, азота, кислорода, метана, оксида и диоксида углерода, инертных газов, а также низкокипящих углеводородов.

5.3. Жидкостная хроматография

Жидкостной хроматографией называется хроматографический метод с использованием *жидкой подвижной фазы*. В классическом варианте жидкостной хроматографии, берущем начало с основополагающей работы Цвета (1906 г.), использовали стеклянные колонки с внутренним диаметром от 1 до 5 см и длиной 50–500 см. Частицы наполнителя имели размер 150–200 мкм. При этом скорость потока подвижной фазы составляла не более 1 мл/мин, и разделение часто оказывалось слишком длительным.

Попытки увеличить скорость потока путем использования вакуумных и иных насосов обычно приводили лишь к ухудшению разделения. Этот результат вполне объясним, поскольку из хроматографической теории известно, что увеличение линейной скорости потока подвижной фазы при прочих равных условиях уменьшает число теоретических тарелок. Довольно скоро стало понятно, что

увеличения эффективности можно достичь только за счет уменьшения размеров зерен наполнителя. Однако при этом резко возрастает сопротивление потоку жидкости, преодолеть которое можно лишь путем увеличения давления. Работа с тонкодисперсными наполнителями требовала столь высоких давлений, что обычные стеклянные колонки его не выдерживали.

Только в конце 1960-х годов. появились технические возможности создания аппаратуры, позволяющей работать с колонками, заполненными наполнителем с размерами зерен порядка 3–10 мкм. С этого времени *классическая* жидкостная хроматография низкого давления стала применяться, главным образом, для препаративных целей. Аналитическая жидкостная хроматография высокого давления в новом аппаратурном оформлении получила название *высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)*. Именно этому варианту жидкостной хроматографии мы и уделим основное внимание.

5.3.1. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Основные механизмы разделения в жидкостной хроматографии

В жидкостной хроматографии существуют четыре основных механизма разделения веществ:

- *адсорбционный*
- *распределительный*
- *ионообменный*
- *эксклюзионный*

Как мы знаем, первым был реализован адсорбционный механизм в форме *жидкостно-твердофазной хроматографии*. В настоящее время этот вид хроматографии используется для разделения неполярных веществ, пространственных изомеров, а также группового разделения, например, алифатических углеводородов и алифатических спиртов. Распределительный механизм лежит в основе *жидкость-жидкостной хроматографии*. К ней относятся методы *нормально-фазовой* и *обращенно-фазовой хроматографии*. Последний в настоящее время является одним из самых распространенных аналитических методов вообще. Ионообменная хроматография представляет собой реализацию явления ионного обмена (раздел 2.6) в хроматографическом варианте. Высокоэффективная ионообменная хроматография называется *ионной хроматографией*. Эксклюзионная хроматография основана на молекулярно-ситовом эффекте, т. е. разделении молекул на пористом материале в соответствии с их размерами. Методы эксклюзионной хроматографии обычно называют *гель-хроматографией*.

Как это часто бывает в хроматографии вообще, в большинстве конкретных случаев не представляется возможным выделить какой-то один определенный механизм разделения. Обычно все четыре упомянутых механизма в той или иной степени сопутствуют друг другу.

Размер частиц носителя

Из кинетической теории хроматографии известно, что высота, эквивалентная теоретической тарелке, зависит от коэффициента сопротивления массопереноса C_M, который, в свою очередь, прямо пропорционален квадрату размера частиц

носителя — наполнителя колонки (табл. 5.3). Уменьшение размеров зерен существенно уменьшает ВЭТТ и увеличивает эффективности колонки.

На рис. 5.19 схематически изображено изменение зависимости ВЭТТ от линейной скорости потока подвижной фазы с изменением размера зерен. Как было отмечено ранее, в жидкостной хроматографии на этих зависимостях реально не наблюдается минимума, поскольку он расположен в области очень низких, не применяемых на практике, скоростей потоков.

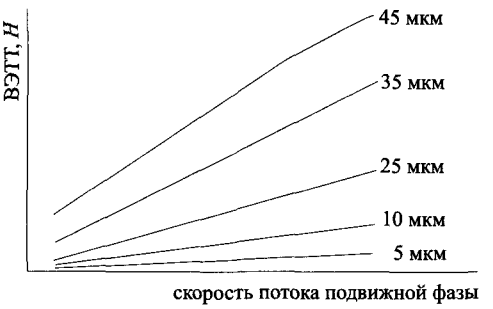


Рис. 5.19. Схематическая иллюстрация влияния размеров зерен носителя в жидкостной хроматографии на высоту, эквивалентную теоретической тарелке H.

Аппаратура

Оборудование для *классической* жидкостной хроматографии состоит из следующих компонентов.

- Резервуар для подвижной фазы. В простейшем случае подвижная фаза подается на вершину колонки по каплям.
- Разделяющая колонка — стеклянная трубка с внутренним диаметром около 1 см и длиной порядка 30 см. Нижняя часть колонки закрыта стеклянным фильтром или слоем стекловаты для удержания наполнителя.
- Шприц или вентиль для ввода раствора пробы.
- Коллектор фракций — набор пробирок, в которые вручную или автоматически последовательно отбирают порции раствора, выходящего из колонки (элюата) объемом несколько миллилитров. Для непрерывной регистрации обычно используется проточный фотометр.

Такое оборудование неприменимо при работе с частицами наполнителя размером 3–10 мкм. В этом случае для обеспечения скорости потока порядка 1 мл/мин необходимо приложить давление не менее 15 МПа. Принципиальная схема *высокоэффективного жидкостного хроматографа* изображена на рис. 5.20. В его состав входит один или несколько сосудов для растворителей, компонентов подвижной жидкой фазы, система насосов, устройство ввода пробы, возможно, предколонка, разделяющая колонка и детектор. Для уменьшения размывания пиков мертвый объем жидкостной системы (особенно для устройства ввода и детектора) должен быть как можно меньше.

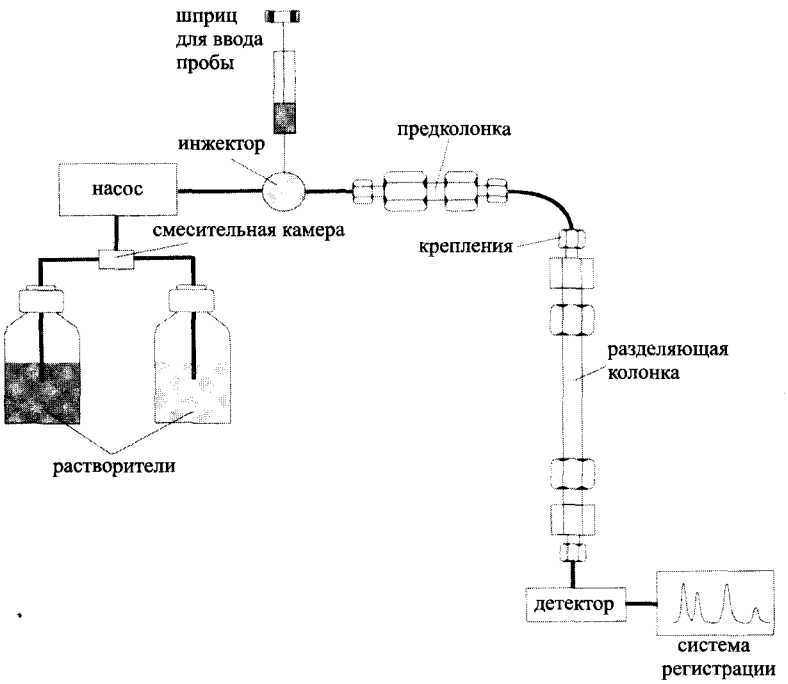


Рис. 5.20. Схема устройства высокоэффективного жидкостного хроматографа с предколонкой.

Подвижные фазы

Растворители и растворы — компоненты подвижной фазы — хранятся в сосудах из стекла или нержавеющей стали. Из жидкостей необходимо тщательно удалить *растворенные газы* (которые могут образовывать пузырьки и тем самым нарушать работу детекторов) и *взвешенные частицы*. Для удаления твердых частиц растворы предварительно фильтруют под вакуумом через микропористый фильтр. Растворенные газы (кислород, азот) удаляют, продувая жидкость гелием (который практически нерастворим в воде и других растворителях) или путем ультразвуковой обработки.

В жидкостной хроматографии различают изократический и градиентный режим элюирования. В *изократическом* режиме через колонку непрерывно пропускают подвижную фазу постоянного состава, например, смесь 30% об. метанола и 70% об. воды. Однако разделение часто улучшается при *градиентном* элюировании. В этом случае состав подвижной фазы (элюента) в ходе разделения изменяют согласно специально задаваемой программе. Можно, например, непрерывно изменять полярность элюента, изменяя относительные содержания компонентов в водно-метанольной смеси (рис. 5.21). Достигаемый эффект аналогичен тому, который наблюдается при программировании температуры в газовой хроматографии: время анализа сокращается, пики компонентов располагаются на хроматограмме более равномерно, имеют одинаковую форму, а точность определения становится равной для всех компонентов.

Насосы

К насосам, применяемым в ВЭЖХ, предъявляются следующие требования:

- создание давления не менее 15 МПа;
- как можно меньшие пульсации потока;
- химическая устойчивость конструкционных материалов;
- производительность в пределах 0,1–10 мл/мин;
- высокая воспроизводимость скорости потока (погрешность не более 0,5%).

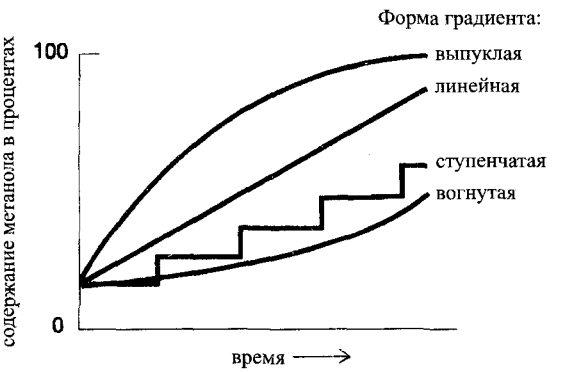


Рис. 5.21. Изменение состава элюента на основе двухкомпонентной системы метанол–вода во времени при градиентом элюировании.

В качестве конструкционных материалов применяют нержавеющую сталь, тефлон, керамику. Для изготовления вентилей высокого давления используют сапфир. Основными типами насосов являются шприцевые и плунжерные.

Принцип действия *шприцевых насосов* понятен из названия. Они отличаются большой длиной хода поршня. Определенный объем жидкой фазы — порядка 200 мл — засасывают при помощи шприца-поршня и затем без пульсаций подают в жидкостную систему хроматографа. Недостатком шприцевых насосов является необходимость периодической остановки хроматографического процесса для заполнения цилиндра поршня. Обычно шприцевые насосы применяют в миниатюризованных системах с небольшим расходом подвижной фазы.

Преобладающим типом насосов в настоящее время являются *плунжерные* (рис. 5.22). В таких насосах поршень совершает периодические возвратно-поступательные движения с малой длиной хода. Обычно плунжерные насосы объединяют по два, причем поршни обоих насосов работают в противофазе. В этом случае пульсации скорости подачи подвижной фазы взаимно компенсируются. Существуют плунжерные насосы особой конструкции, так называемые *мембранные*. В них движения поршня при помощи гидравлической системы передаются мембране, а непосредственный контакт подвижных деталей насоса с раствором отсутствует.

Достоинствами плунжерных насосов являются малые величины мертвых объемов (40–400 мкл), высокое давление на выходе (до 60 МПа) и постоянство скорости потока независимо от гидравлического сопротивления колонки и вязкости растворителя.

Градиент подвижной фазы можно создавать в системе низкого или высокого давления. Формированием градиента в системе *низкого* давления называется способ создания градиента, при котором два или более растворителей смешивают на входе насоса. При создании градиента в системе *высокого* давления каждый растворитель подают при помощи отдельного насоса и смешивают на выходе из насосов. Этот способ позволяет более точно контролировать соотношения компонентов, поскольку предварительное смешение растворителей часто сопряжено со значительными изменениями объема.

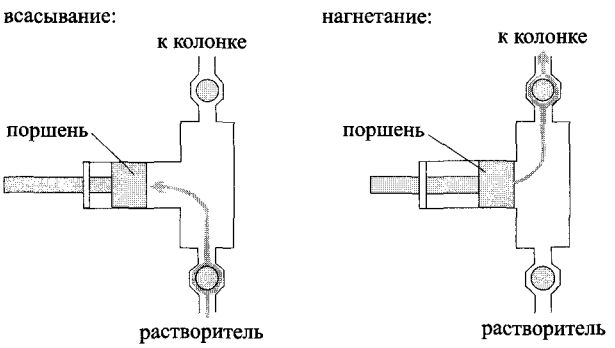


Рис. 5.22. Двухплунжерный насос с шаровыми сапфировыми вентилями.

Система ввода пробы

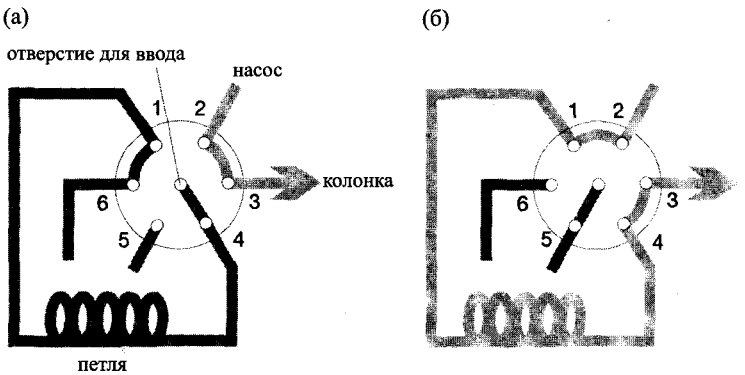


Рис. 5.23. Ввод пробы в колонку при помощи шестиходового крана. (а) — Заполнение петли инжектора, (б) — ввод.

Система ввода пробы должна позволять точно дозировать объемы от 5 до 500 мкл. При этом в процессе ввода давление в системе должно оставаться постоянным. Основным типом устройства для дозирования объема пробы служит *петля инжектора*. Она соединена с двумя выходами шестиходового крана. Раствор вводят в петлю при помощи микрошприца. При этом переключатель шестиходового крана устанавливают в положение, показанное на рис. 5.23 (а); в колонку в это время непрерывно (через выходы 2–3) подается поток элюента. Затем для ввода отмеренного объема пробы в поток переключатель крана переводят в положение, показанное на рис. 5.23 (б), после чего вновь возвращают его в исходное положение.

Для повышения точности дозирования используют автоматические системы ввода, работающие от сжатого воздуха.

Разделяющие колонки

Корпуса разделяющих колонок обычно изготавливают из отполированной нержавеющей стали. Ввиду гладкости внутренней поверхности эффективность колонки возрастает. Применяют и толстостенные стеклянные колонки из специальных сортов стекла (дюран, пирекс). Колонку в виде сменного патрона соединяют с жидкостной системой хроматографа (рис. 5.20). Герметичность соединений обеспечивают при помощи металлических конических шайб. Жидкостные коммуникации представляют собой трубки из нержавеющей стали. Стандартная колонка имеет длину 250 мм и внутренний диаметр 4,6 мм. Она заполнена частицами носителя размером 5 или 10 мкм. При этом число теоретических тарелок достигает 50 000 на метр.

В ВЭЖХ необходимо использовать очень чистые растворители. Для уменьшения их расхода используют микроколонки с внутренним диаметром до 1 мм и диной 30–75 мм. При заполнении частицами размером 3 мкм эффективность таких колонок может достигать 100 000 теоретических тарелок на метр.

Для предохранения разделяющих колонок, а также для предварительного разделения и, возможно, концентрирования веществ перед разделяющей колонкой может быть установлена *предколонка*, имеющая обычно внутренний диаметр 4,5 мм и длину порядка 30 мм. Во избежание слишком большого перепада давления предколонку заполняют относительно грубозернистым материалом с размером частиц 10–30 мкм.

Заполнение колонок очень малыми частицами (размером менее 20 мкм) сопряжено с известными трудностями. Такие частицы ввиду высокой поверхностной энергии склонны к накоплению статического электричества и отталкиванию друг от друга. Поэтому заполнение колонки сухим порошкообразным материалом невозможно. Если же для заполнения использовать суспензии, то ввиду процессов седиментации может возникнуть нежелательный градиент размеров частиц по высоте колонки.

Тем не менее использование суспензий является единственно возможным способом заполнения колонок для ВЭЖХ. В обращенно-фазовой хроматографии обычно используют суспензии в метаноле. Очень равномерного заполнения можно достичь при использовании так называемых «взвешенных» суспензий. Это суспензии, в которых плотности твердой и жидкой фаз равны. Для регулирования плотности жидкой фазы используют добавки подходящих растворителей, например, дибромметана.

Детекторы

В ВЭЖХ используют следующие два основных принципа детектирования.

- Измерение какого-либо *общего свойства подвижной фазы*, например, показателя преломления или электропроводности. Этот способ детектирования является неселективным и потому универсальным.

- Измерение какого-либо *специфического свойства разделяемых веществ* — светопоглощения в УФ-области, интенсивность флуоресценции или сила тока при электролизе вещества на рабочем электроде.

Фотометрическое детектирование

Для измерения светопоглощения подвижной фазы на выходе из колонки используют проточные фотометрические кюветы (ячейки) Z-образной формы (рис. 5.24). Для предотвращения размывания хроматографических пиков объем ячейки стараются сделать как можно меньше — 1–10 мкл. Длина оптического пути ячейки составляет от 2 до 10 мм. При измерениях в УФ-области оптические окна кюветы необходимо изготавливать из кварца.

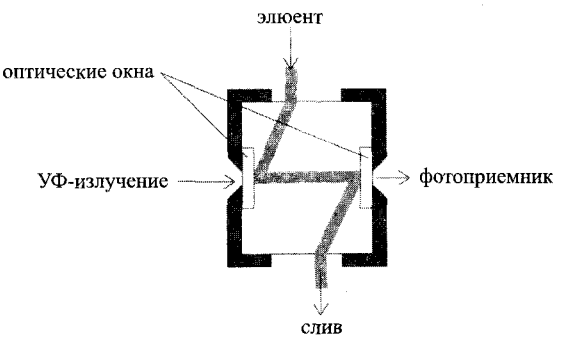


Рис. 5.24. Проточная фотометрическая ячейка для УФ-детектирования в ВЭЖХ.

В основе работы фотометрического детектора лежат общие принципы спектрофотометрического анализа, изложенные в разделах 3.1 и 3.3.2. Детектирование в УФ- (реже — видимой) области осуществляют при одной (используя светофильтр) или нескольких длинах волн.

Простейшей разновидностью фотометрического детектора является *одноволновой* УФ-детектор. Источником света служит ртутная лампа. Требуемую длину волны выделяют при помощи светофильтра. Измерения чаще всего проводят при 254 нм. Вблизи этой длины волны находятся максимумы поглощения всех ароматических соединений. Многие другие органические и некоторые неорганические вещества также обладают интенсивным поглощением при этой длине волны (раздел 3.3.2).

Наряду с одноволновыми применяют и многоволновые детекторы — сканирующие (с призменными или решеточными монохроматорами) и многоканальные. В многоканальных детекторах регистрацию осуществляют с помощью массива фотодиодов — диодной линейки (рис. 3.84). Информацию представляют в виде трехмерной диаграммы или проекции ее сечений-горизонталей (линий равной высоты) как зависимость светопоглощения от двух параметров — времени элюирования и длины волны (рис. 5.25). Представление хроматограммы в виде линий горизонтальных сечений очень удобно для выбора оптимальной длины волны детектирования.

В табл. 5.10 приведены коротковолновые границы прозрачности различных растворителей в УФ-области.

В ВЭЖХ принципиально возможно фотометрическое детектирование и в ИК-области спектра (раздел 3.3.1). Однако поскольку в этом диапазоне большинство наиболее распространенных растворителей (вода, метанол и др.) интенсивно поглощает, этот способ детектирования применяют лишь в специальных случаях.

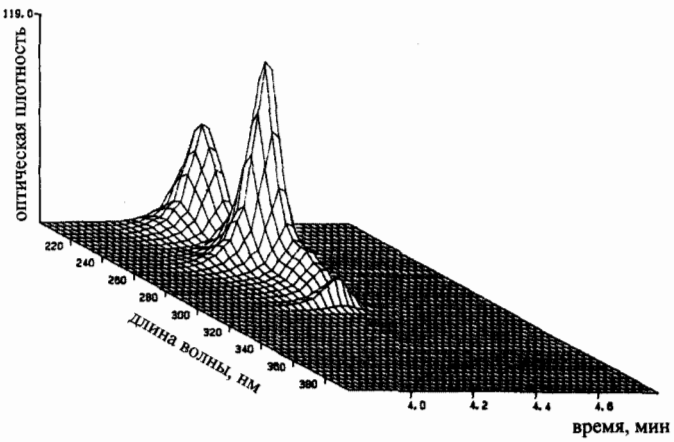


Рис. 5.25. Трехмерная хроматограмма пика фенантрена, полученная при помощи детектора — диодной линейки.

Флуоресцентные детекторы

Использование флуоресцентного способа (раздел 3.3.3) позволяет повысить чувствительность детектирования приблизительно в 1000 раз по сравнению с фотометрическим. В качестве источника возбуждения флуоресценции чаще всего применяют ртутную лампу (в приборах высокого класса — ксеноновую лампу высокого давления). Для выбора длин волн возбуждения и регистрации используют светофильтры. Возможна и регистрация всего спектра флуоресценции в целом при помощи спектрофлуориметра. Для определения многих природных соединений, лекарственных препаратов и других физиологически активных веществ можно использовать их собственную флуоресценцию. Для детектирования не флуоресцирующих веществ их химическим путем превращают во флуоресцирующие (дериватизация, см. рис. 5.30).

Рефрактометрические детекторы

В основе рефрактометрического детектирования лежит измерение показателя преломления подвижной фазы. Этот метод детектирования абсолютно неселективен и потому универсален; он применим ко всем веществам. Единственное необходимое условие состоит в том, чтобы показатели преломления чистой подвижной фазы и раствора определяемого вещества достаточно сильно различались.

Для измерения показателя преломления используют призму. Измерение можно вести как в отраженном, так и в проходящем свете (см. раздел 3.1). На рис. 5.26 изображена схема рефрактометрического детектора, работающего по принципу отражения света. В ходе измерений приходится непрерывно изменять *угол наблюдения*. Луч *света дважды проходит* через призму и слой элюента,

отражаясь от полированной поверхности подложки — массивной стальной пластинки, служащей одновременно и зеркалом, и термостатом.

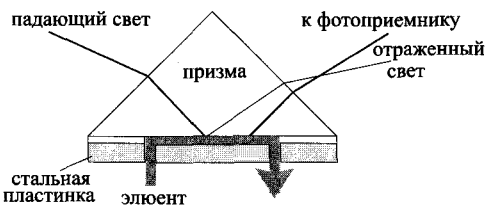


Рис. 5.26. Схема устройства рефрактометрического детектора для ВЭЖХ.

При рефрактометрическом детектировании используют две одинаковые ячейки — измерительную и ячейку сравнения (через которую непрерывно протекает поток чистого элюента). Поэтому такой детектор-рефрактометр называют дифференциальным. Чувствительность рефрактометрического детектора ниже, чем фотометрического в УФ-области. Кроме того, его показания чрезвычайно чувствительны к изменениям температуры. В идеале температуру рефрактометрического детектора следовало бы поддерживать в пределах ±0,001°С. Рефрактометрическое детектирование применяют в случаях, когда вещество не поглощает в УФ-области, например, при определении сахаров.

Электрохимические детекторы

Электрохимическое детектирование можно осуществлять методами вольтамперометрии, амперометрии, кулонометрии и кондуктометрии (глава 4).

Кондуктометрическое детектирование — главный метод детектирования в ионной хроматографии (раздел 5.3.2). Детектором служит проточная кондуктометрическая ячейка, аналогичная описанной в разделе 4.2.

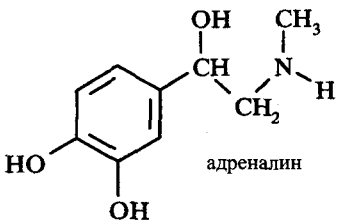
Кулонометрическое детектирование применяется в варианте кулонометрического титрования. При этом происходит взаимодействие определяемого вещества с электрохимически генерированным реагентом, например, галогенид-ионов с электрохимически генерированными ионами Ag^+ (раздел 4.5). Кулонометрическое детектирование в ВЭЖХ применяют редко.

Возможно и *вольтамперометрическое детектирование* путем регистрации вольтамперных зависимостей на подходящем рабочем электроде. Для обеспечения непрерывного детектирования в потоке скорость развертки напряжения должна быть существенно выше, чем скорость движения подвижной фазы. Обычно используют скорости развертки порядка 1 В/с. В силу конструктивных ограничений можно применять только стационарные рабочие электроды. При столь высоких скоростях развертки на стационарных электродах возможно детектирование лишь компонентов полностью обратимых окислительно-восстановительных систем.

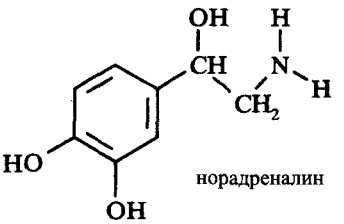
Значительно более распространены *амперометрический* метод детектирования при постоянном значении потенциала рабочего электрода (стеклоуглеродного, золотого, платинового) в области предельного диффузионного тока определяемого вещества. Для отвода тока от электрода сравнения служит вспомогательный электрод (рис. 5.27).

Амперометрическим методом можно детектировать все вещества, способные окисляться или восстанавливаться при выбранном потенциале рабочего электрода (раздел 4.4). Для детектирования предпочтительнее использовать ток окисления, поскольку в этом случае следы растворенного кислорода не оказывают

мешающего влияния. Амперометрическим методом можно селективно и с высокой чувствительностью (до 10^{-12} моль) детектировать многие биологически активные вещества, например, гормоны стресса адреналин и норадреналин (катехоламин).



адреналин



норадреналин

А мперометрическое детектирование неприменимо в присутствии поверхностно-активных веществ (белки плазмы крови, моющие средства, содержащиеся в сточных водах и т. д.), поскольку они отравляют поверхность рабочего электрода.

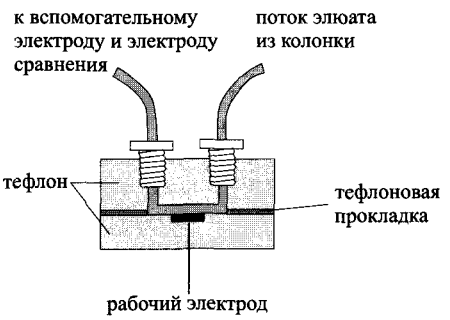


Рис. 5.27. Амперометрический детектор со стеклоуглеродным рабочим электродом.

Спектроскопические детекторы

Примером спектроскопических детекторов может служить рассмотренный выше фотометрический детектор с диодной линейкой. Для детектирования в ВЭЖХ используют и другие спектроскопические методы — *масс-спектрометрию* (для одновременной идентификации органических веществ), *атомно-абсорбционную, атомно-эмиссионную спектроскопию*. Вопросы, связанные с особенностями сопряжения хроматографических и спектроскопических методов, будут рассмотрены в разделе 5.5.

Распределительная хроматография

Распределительный вариант жидкостной хроматографии используется чаще, чем адсорбционный, ионообменный или эксклюзионный. Как правило, методом распределительной жидкостной хроматографии определяют *незаряженные полярные* вещества с *молярной массой не более 3000*. В последнее время разработаны методы определения и более высокомолекулярных веществ.

Неподвижные фазы

В жидкостной хроматографии неподвижной фазой служит *иммобилизованная жидкость* или химически модифицированная поверхность носителя (*химически закрепленная* фаза).

Иммобилизованные жидкости

В классическом варианте жидкостной хроматографии работают с жидкой фазой, которая закреплена на поверхности твердого носителя за счет сил физической адсорбции. Основными материалами для носителей служат *силикагель* (удельная поверхность 10–500 $м^2/г$) и *оксид алюминия* (60–200 $м^2/г$). В качестве неподвижной фазы используют полярные жидкости — воду, триэтиленгликоль. Подвижная фаза представляет собой неполярную жидкость, например, гексан или диизопропиловый эфир.

Такой вид хроматографии, когда полярность неподвижной фазы выше, чем подвижной, называется *нормально-фазовой* хроматографией. В противном случае, когда неподвижная фаза достаточно малополярна (например, углеводород), а подвижная — полярна (вода, метанол) — метод называется *обращенно-фазовой* хроматографией.

При использовании неподвижной фазы, закрепленной посредством физической адсорбции (нековалентно), возникает опасность ее *вымывания* в ходе хроматографического процесса. При высоких давлениях, используемых в ВЭЖХ, это становится практически неизбежным. Поэтому нековалентно закрепленные неподвижные фазы применяют только в *классическом* варианте жидкостной хроматографии низкого давления. Частичное вымывание неподвижной фазы может происходить и в этом случае, поэтому колонку периодически регенерируют, «подпитывая» ее новыми порциями неподвижной фазы. Такую подпитку можно осуществлять и непрерывно, непосредственно в ходе хроматографического процесса, если в подвижную фазу вводить в небольшой концентрации вещество неподвижной фазы. Однако в этом случае *градиентное* разделение становится *невозможным*.

Химически закрепленные фазы

Способ химического закрепления неподвижной фазы можно применять как в нормально-фазовой, так и в обращенно-фазовой хроматографии. В настоящее время наиболее распространен *обращенно-фазовый* метод, на долю которого приходится порядка 75% всех хроматографических анализов.

Обращенные фазы. Для закрепления обращенных (неполярных) фаз в качестве носителя используют *силикагель*, а также оксид алюминия и ионообменные смолы. В отличие от классических ионообменных материалов с органической матрицей (раздел 2.6), силикагель *не набухает*, т. е. не изменяет своего объема при контакте с водой или другим растворителем.

Силикагель используют в виде однородного пористого (объем пор порядка 1,2 мл/г) порошкообразного материала с размером зерен 3, 5 или 10 мкм. Желательно, чтобы зерна имели сферическую форму. Порошок силикагеля отличается достаточно высокой механической прочностью.

Как мы уже упоминали в связи с газовой хроматографией, поверхность полностью гидролизованного силикагеля покрыта силанольными (гидроксильными) группами (рис. 5.12), содержание которых составляет порядка 8 мкмоль/м^2. Для создания обращенной фазы поверхность силикагеля гидрофобизируют (силанизируют), обрабатывая ее алкилхлорсиланами. При этом образуется химически закрепленная фаза **силоксана**, содержащая Si–O–Si-связи.

Чаще всего алкильным остатком реагента является н-октадецил (C_{18}), затем следует н-октил (C_8). Алкильные группы располагаются перпендикулярно к поверхности зерен силикагеля, образуя *щеточную структуру* (рис. 5.28).

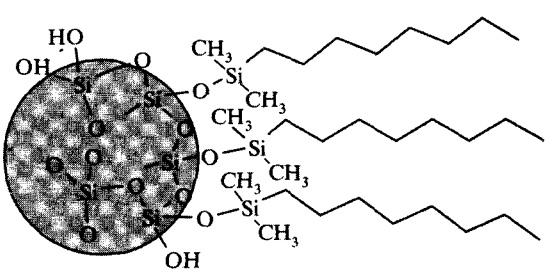


Рис. 5.28. Участок поверхности обращенной фазы C_8. На поверхности имеются остаточные силанольные группы, частично связанные водородными связями между собой и с атомами кислорода силоксановых групп.

Поверхностный слой обращенной фазы обычно рассматривают как (псевдо)*жидкость, хотя до сих пор нет полной ясности в механизме удерживания* веществ на такой поверхности — является ли он распределительным или адсорбционным.

Чем длиннее алкильный радикал обращенной фазы, тем больше времена удерживания органических веществ (рис. 5.29). От длины радикала зависит также емкость колонки и, соответственно, максимальное количество пробы. Для фазы C_{18} оно вдвое больше, чем для фазы C_4.

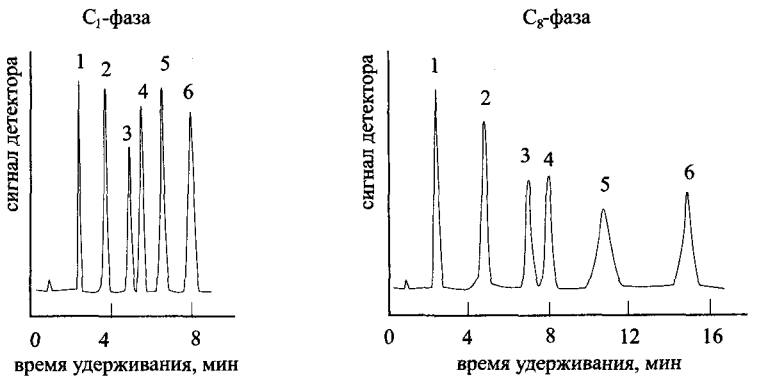


Рис. 5.29. Сравнение хроматограмм, полученных методом ВЭЖХ на силоксановых обращенных фазах с алкильными радикалами C_1 (метил) и C_8 (октил). 1 — урацил, 2 — фенол, 3 — ацетофенон, 4 — нитробензол, 5 — метилбензоат, 6 — толуол. Подвижная фаза — метанол–вода (50 : 50% об.). Скорость потока 1 мл/мин.

В результате силанизации химическому превращению подвергается не более 50% находящихся на поверхности силанольных групп, т. е. порядка 4 мкмоль/м^2.

Непрореагировавшие *остаточные силанольные группы* являются высокополярными и могут адсорбировать из раствора полярные молекулы (рис. 5.28). На хроматограмме это явление проявляется в виде образования нежелательных *«хвостов»* хроматографических пиков. Поэтому остаточные силанольные группы необходимо как можно полнее дезактивировать. Для дезактивации применяют повторную обработку поверхности силикагеля триметилхлорсиланом. При этом силанольные группы превращаются в метилсилоксановые (см. раздел 5.2).

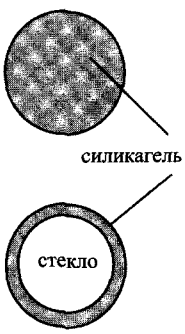
Обращенные силоксановые фазы, как правило, химически устойчивы в среде метанола, ацетонитрила и водных растворах при pH 2–8. При pH выше 8 они необратимо гидролизуются, в результате чего наблюдается деградация и даже разрушение частиц носителя.

Нормальные фазы. Химически связанные фазы применяются и в *нормально-фазовой хроматографии*. В табл. 5.9 приведены примеры полярных функциональных групп, используемых для синтеза нормальных фаз на поверхности силикагеля, расположенные в порядке убывания полярности.

Таблица 5.9. Полярные радикалы, используемые для синтеза химически закрепленных нормальных хроматографических фаз.

Группировка	Радикал
Диольная	$-(CH_2)_3OCH_2CH(OH)CH_2OH$
Нитрильная	$-(CH_2)_3C{\equiv}N$
Аминная	$-(CH_2)_nNH_2$ ($n = 3$ или 4)
Диметиламинная	$-(CH_2)_3N(CH_3)_2$
Диаминная	$-(CH_2)_3NH(CH_2)_2NH_2$

Наполнители предколонок



В предколонках в качестве наполнителей обычно используют шарики из *непористого стекла* или *полимерных материалов* диаметром порядка 30 мкм. Их поверхность покрыта тонким слоем пористого материала — силикагеля, оксида алюминия, ионообменных смол. На такой пористой поверхности можно адсорбировать слой жидкости, служащей неподвижной фазой. Ее можно также химически модифицировать методами, описанными выше.

Подвижные фазы

В отличие от газовой хроматографии, в которой подвижная фаза *химически инертна* и выполняет лишь роль переносчика, в жидкостной хроматографии между компонентами подвижной фазы и молекулами разделяемых веществ наблюдаются достаточно сильные физико-химические *взаимодействия*. Поэтому выбор подвижной фазы является очень важным элементом в разработке любой жидкостно-хроматографической методики.

Из теории хроматографии известно, что разрешение хроматографических пиков (уравнение (5.23)) зависит от числа теоретических тарелок N, коэффициента емкости k' и коэффициента селективности α. Величины k' и α можно

изменять посредством выбора соответствующей подвижной фазы. При этом наибольшую роль играет ее *полярность*.

Общая схема действий при выборе хроматографических фаз такова. Сначала выбирают неподвижную фазу — такую, чтобы она была близка по полярности к разделяемым веществам. Затем подбирают подвижную фазу так, чтобы коэффициенты емкости разделяемых веществ по возможности находились в пределах от 2 до 5. При этом следует учитывать, что если полярности неподвижной и подвижной фаз близки, то времена удерживания оказываются слишком маленькими. Наоборот, если фазы сильно различаются по полярности, времена удерживания будут слишком велики.

Элюотропный ряд растворителей

Полярность растворителей оценивают при помощи специальной шкалы, называемой *элюотропным рядом*. Количественной мерой полярности служит *индекс полярности* Снайдера. Значения индексов полярности P' для ряда растворителей приведены в табл. 5.10. Как видно из этих данных, наименее полярными растворителями являются алканы, а наиболее полярным — вода.

Для оценки полярности *смесей растворителей* используют соответствующую аддитивную комбинацию индексов полярности индивидуальных растворителей. Так, индекс полярности смеси метанола и воды, взятых в объемном соотношении 30 : 70, равен

$$P'_{CH_3OH/H_2O} = 0,3P'_{CH_3OH} + 0,7P'_{H_2O} = 1,53 + 7,14 = 8,67.$$

В общем случае

$$P'_{смеси} = \sum_{i=1}^{m} \Phi_i P'_i, \tag{5.40}$$

где Φ_i — объемная доля i-го растворителя.

Элюирующая сила растворителей

Элюирующую способность растворителя часто характеризуют при помощи величины, называемой *элюирующей силой* ε^0. В отличие от индекса полярности, являющегося только характеристикой растворителя (подвижной фазы) и не зависящего от природы неподвижной фазы, элюирующая сила является мерой энергии взаимодействия молекул растворителя и неподвижной фазы и, таким образом, имеет смысл лишь применительно к определенной неподвижной фазе. В табл. 5.10 приведены значения элюирующей силы растворителей по отношению к силикагелю $\varepsilon^0(SiO_2)$.

Порядок следования растворителей согласно величинам их элюирующей силы в общем сохраняется и при переходе от силикагеля к другой полярной неподвижной фазе. Например, для оксида алюминия приведенные в таблице значения ε^0 следует разделить на 0,8. При использовании же неполярных фаз порядок изменяется на противоположный. Например, на обращенной углеводородной фазе сильно полярный растворитель — вода — обладает гораздо меньшей элюирующей силой, чем неполярный гексан.

Таблица 5.10. Элюотропный ряд растворителей для жидкостной хроматографии, расположенных в порядке возрастания полярности.

Растворитель	Индекс полярности P'	Элюирующая сила $\varepsilon^0(SiO_2)$	Граница прозрачности в УФ-области, нм
Фторированные алканы	< -2	$-0,2$	200
Циклогексан	0,04	0,03	200
Н-гексан	0,1	0,01	195
Тетрахлорид углерода	1,6	0,11	265
Диизопропиловый эфир	2,4	0,22	220
Толуол	2,4	0,22	285
Диэтиловый эфир	2,8	0,38	215
Метиленхлорид	3,1	0,34	230
Тетрагидрофуран	4,0	0,35	210
Хлороформ	4,1	0,26	235
Этанол	4,3	0,68	205
Этилацетат	4,4	0,38	255
Диоксан	4,8	0,49	215
Метанол	5,1	0,73	205
Ацетонитрил	5,8	0,50	190
Нитрометан	6,0	0,49	380
Вода	10,2	большая	170

Рассмотрим относительный порядок элюирования веществ различной полярности в нормально-фазовой и обращенно-фазовой жидкостной хроматографии. В нормально-фазовой хроматографии, где полярность неподвижной фазы выше, чем подвижной, полярные вещества элюируются в последнюю очередь. При этом, чем менее полярна подвижная фаза, тем больше их времена удерживания. Напротив, в обращенно-фазовой хроматографии полярные вещества элюируются первыми, а чем более полярна подвижная фаза, тем сильнее удерживаются неполярные вещества.

Выбор подвижной фазы

Выбор подвижной фазы может быть произведен достаточно обоснованно, если известен *механизм* разделения веществ. Однако выяснение такого механизма требует, как правило, весьма обширного исследования (тем более, что различные механизмы обычно сопутствуют друг другу) и при решении конкретных практических задач далеко не всегда возможно. Поэтому подвижные фазы очень часто находят просто путем *подбора* — случайного («метод проб и ошибок») или направленного, с использованием методов многофакторной оптимизации.

В ходе такого подбора в первую очередь оптимизируют величины коэффициентов емкости k'. Однако значения коэффициентов емкости сами по себе еще не гарантируют полноты разделения, поскольку она зависит также от коэффициентов селективности α и числа теоретических тарелок N. В принципе разделение тем полнее, чем выше коэффициенты селективности. Однако при высокой эффективности колонок (большие значения N) разделение возможно и при значениях α, мало отличающихся от единицы. Таким образом, для улучшения разделе-

ния процесс оптимизации состава подвижной фазы обычно бывает необходимо продолжить.

В *обращенно-фазовой хроматографии* компонентами подвижной фазы часто служат метанол, ацетонитрил, тетрагидрофуран и их смеси. Чтобы изменить в нужную сторону величины k', элюирующую силу регулируют, добавляя то или иное количество воды. В *нормально-фазовой хроматографии* основными компонентами подвижной фазы могут быть диэтиловый эфир, хлористый метилен или хлороформ. Элюирующую силу можно регулировать, добавляя в подвижную фазу гексан.

Применение распределительной жидкостной хроматографии

Сейчас *обращенно-фазовая хроматография*, как правило, служит самым первым методом, который опробывают для решения какой-либо новой практической задачи, связанной с определением органических веществ. В отличие от газовой хроматографии с ее обилием разнообразных и часто плохо воспроизводимых неподвижных фаз, в жидкостной хроматографии неподвижные фазы, например, обращенная C_{18}-фаза, могут быть строго стандартизированы, а требуемые параметры удерживания и селективности достигнуты за счет выбора состава подвижной фазы.

Обращенно-фазовая хроматография находит применение практически во всех областях, так или иначе связанных с определением органических веществ: в фармацевтике, биохимии, криминалистике, медицине, различных отраслях промышленности. Ее используют при анализе продуктов питания, определении загрязнителей окружающей среды — пестицидов, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), полихлорбифенилов.

Если удовлетворительного разделения нельзя достичь в *изократическом* режиме, применяют *градиентную* хроматографию. При определении ионогенных веществ элюирующую способность подвижной фазы изменяют, регулируя ее *значение pH* или вводя в нее добавки ионных веществ (*ион-парных реагентов*). Оба эти приема служат для того, чтобы превратить разделяемые вещества в нейтральные частицы, способные удерживаться на неподвижной фазе. Так, в методе *ион-парной хроматографии*, как следует из названия, определяемые ионы переводят в ионные пары, добавляя в подвижную фазу соответствующий противоион. Примеры веществ, которые можно определять методом ион-парной хроматографии, приведены в табл. 5.11.

Таблица 5.11. Ион-парные реагенты для обращенной ВЭЖХ.

Определяемое вещество	Ион-парный реагент	Подвижная фаза
Амины	ClO_4^-	0,1 М $HClO_4/H_2O$/ ацетонитрил
Карбоновые кислоты	$(C_4H_9)_4N^+$	pH 7,4
Сульфокислоты	$(C_6H_{33})(CH_3)_3N^+$	вода/пропанол

Регулирование pH позволяет перевести вещества основного или кислотного характера в ту или иную *равновесную форму*.

Еще один прием, используемый в жидкостной хроматографии, состоит в химической *дериватизации* определяемого вещества — превращение его в некоторое производное соединение. с помощью дериватизации можно, например, изменить полярность вещества либо повысить чувствительность или селективность детектирования. Например, аминокислоты — продукты гидролиза белков — при помощи реакции с дансилхлоридом (5-диметиламино-1-нафталинсульфохлоридом) можно превратить во флуоресцирующие соединения (рис. 5.30) и использовать для их детектирования высокочувствительный флуоресцентный метод.

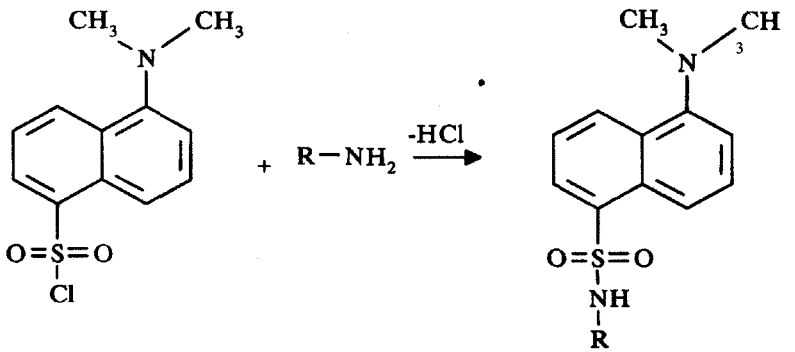


Рис. 5.30. Дериватизация аминокислот и пептидов (R-NH_2) при помощи дансилхлорида с образованием флуоресцирующих производных.

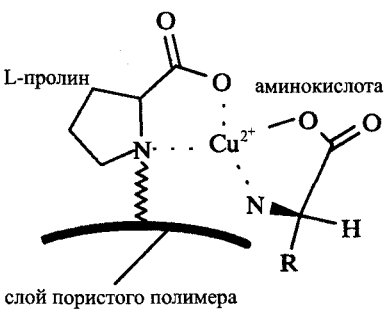


Рис. 5.31. Использование комплексообразования хиральной фазы, содержащей оптически активный комплекс меди(II) с L-пролином, для разделения энантиомеров аминокислот.

Возможно разделять даже *энантиомеры*, если использовать для этого хиральные фазы. Неподвижные хиральные фазы можно создавать на основе носителя-силикагеля, покрытого слоем полимера, с которым химически связаны оптически активные молекулы. Одним из механизмов взаимодействия разделяемых веществ с хиральной фазой может быть комплексообразование. На рис. 5.31 показано применение неподвижной фазы, содержащей комплекс меди (II) с L-пролином, для разделения оптически активных аминокислот.

Очень важной, хотя и частной, задачей, решаемой при помощи нормально-фазовой хроматографии, является разделение алкилпроизводных ПАУ. Многие из них обладают потенциальными канцерогенными и мутагенными свойствами. Они являются опасными загрязнителями, содержащимися в воздухе, сточных водах и других объектах. Для определения незамещенных ПАУ можно с успехом использовать обращенно-фазовую хроматографию, но алкилированные ПАУ этим методом не разделяются. Для разделения и определения алкилпроизводных ПАУ используют нормальную неподвижную фазу, содержащую диаминные группы, и гептан в качестве подвижной фазы.

Другими примерами практического применения нормально-фазовой хроматографии может служить групповое разделение алканов и липидов или стероидов, сахаров и жирорастворимых витаминов.

Жидкостная адсорбционная хроматография

Адсорбционная, или *жидкостно-твердофазная*, хроматография, явилась самым первым хроматографическим методом, использованным еще в пионерской работе Цвета. Неподвижной фазой обычно служит *силикагель* или *оксид алюминия*. Силикагель применяется более широко, поскольку он обладает большей емкостью и доступен во множестве хорошо охарактеризованных стандартных модификаций.

Удерживание веществ в адсорбционной хроматографии обусловлено процессами *адсорбции* на поверхности твердого адсорбента. При этом молекулы разделяемых веществ конкурируют с молекулами подвижной фазы. Адсорбция — значительно более выгодный с энергетической точки зрения процесс, чем распределение вещества между двумя жидкими фазами. Ввиду того, что процессы диффузии в адсорбционной хроматографии протекают быстрее, чем в распределительной, времена удерживания, как правило, оказываются ниже. Однако изотерма адсорбции линейна лишь в достаточно ограниченном диапазоне концентраций, поэтому в адсорбционной хроматографии даже при малых количествах пробы часто наблюдается *перегрузка* колонки.

Процессы адсорбции локализованы на *активных центрах* поверхности адсорбента. Сильно полярные молекулы такие, как вода, необратимо адсорбируются на этих центрах и, таким образом, дезактивируют поверхность адсорбента. Поэтому в адсорбционной хроматографии следует очень тщательно контролировать содержание воды в используемых растворителях.

Применяемые подвижные фазы, например хлористый метилен или изооктан, как правило, обладают меньшей полярностью, чем адсорбент. Поэтому адсорбционную хроматографию обычно рассматривают как разновидность нормально-фазовой.

Для оценки элюирующей способности растворителей в адсорбционной хроматографии лучше всего использовать величины *элюирующей силы* ε^0 (табл. 5.10). Напомним, что значения элюирующей силы как раз и характеризуют энергетику процессов адсорбции молекул растворителя на поверхности адсорбента. Для силикагеля энергии адсорбции составляют в среднем 0,8 от энергий адсорбции на оксиде алюминия. Порядок элюирования большинства веществ на силикагеле и оксиде алюминия мало различается. На этих адсорбентах времена удерживания веществ различных классов в целом возрастают в ряду

алкены < ароматические углеводороды < галогенпроизводные углеводородов, органические сульфиды < простые эфиры < < нитросоединения < сложные эфиры ≈ кетоны ≈ спирты ≈ ≈ амины < сульфоны < сульфоксиды < амиды < карбоновые кислоты.

Адсорбционная хроматография очень удобна для разделения *неполярных веществ*, плохо растворимых в воде. Как и в распределительной хроматографии, здесь возможно разделение веществ с самыми разными функциональными группами.

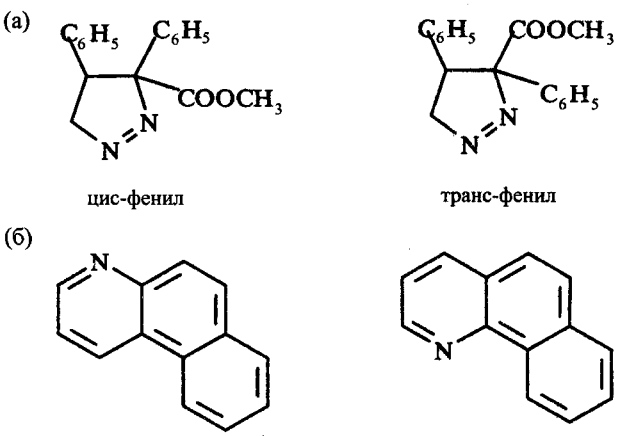


Рис. 5.32. Возможности разделения различных изомеров при помощи жидкостной адсорбционной хроматографии. (а) Геометрические изомеры цис- и транс-замещенных пиразолинов. (б) Изомеры положения: два различных аза-производных фенантролина.

С помощью адсорбционной хроматографии можно успешно разделять *геометрические изомеры* и *изомеры положения*. Два примера приведены на рис. 5.32.

Оптимизацию состава подвижной фазы проводят теми же способами, что и в распределительной хроматографии. При этом для предварительных экспериментов можно использовать тонкослойную хроматографию, поскольку она, по существу, является плоскостным вариантом адсорбционной хроматографии.

5.3.2. Ионная хроматография: классические и высокоэффективные методы

Ионной хроматографией называется *высокоэффективный вариант ионообменной хроматографии*. Ионную хроматографию применяют для разделения и определения ионов при помощи ионообменников. Особенно широко она используется для определения неорганических ионов.

Теоретические основы явления ионного обмена изложены в разделе 2.6. Однако там мы рассматривали лишь *статический* вариант ионного обмена. Процессы *динамического* ионного обмена основаны на общих принципах элюативной хроматографии (раздел 5.1).

Классическая ионообменная хроматография

В *классической ионообменной хроматографии* используют главным образом ионообменные смолы на основе сополимера стирола и дивинилбензола (раздел 2.6; рис. 2.27). Катионообменники на такой основе были давно и успешно использованы для разделения ионов редкоземельных элементов, очень близких по своим химическим свойствам. Определение отдельных элементов при этом проводили в соответствующих фракциях элюата классическими химическими методами.

В качестве примера рассмотрим разделение ионов различных металлов в виде их *хлоридных комплексов* на *анионообменнике* (эта задача очень часто включается в общий практикум по аналитической химии). Предварительно ионообменник помещают в колонку и переводят в хлоридную форму, промывая концентрированной (12 М) соляной кислотой. На вершину колонки помещают раствор смеси солей металлов в соляной кислоте той же концентрации. В этих условиях большинство катионов металлов переходит в форму анионных хлоридных комплексов, например,

$$Cu^{2+} + 4Cl^- \rightleftharpoons [CuCl_4]^{2-}, \qquad (5.41)$$

и сорбируются на анионообменнике.

При промывании колонки 12 М HCl вымывается только никель, образующий крайне непрочные хлоридные комплексы и потому не сорбирующийся даже в этих условиях. Затем концентрацию соляной кислоты в элюенте последовательно снижают. При этом один за другим вымываются все новые и новые ионы. Порядок их следования соответствует относительной устойчивости их хлоридных комплексов. На рис. 5.33 приведена хроматограмма смеси ионов Ni^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+} и Zn^{2+}. Там же показан *ступенчатый градиент* концентрации HCl, применяемый для их разделения. Разделенные ионы металлов можно определить в отдельных фракциях титриметрическим или фотометрическим методом.

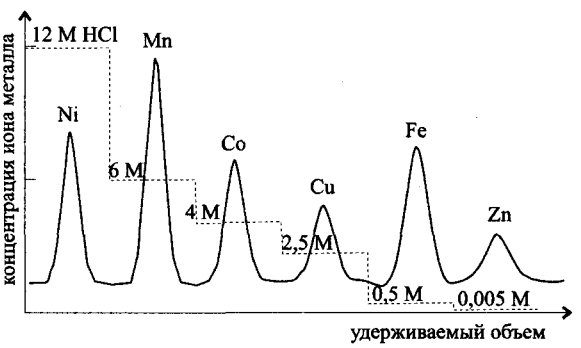


Рис. 5.33. Разделение ионов металлов в виде их хлоридных комплексов на сильноосновном анионообменнике, используя ступенчатый концентрационный градиент элюента — HCl.

Ионная хроматография

Современная ионная хроматография возникла в середине 1970-х годов. как высокоэффективный вариант ионообменной хроматографии. При этом требовалось решить две основные проблемы. Во-первых, создать ионообменные материалы, пригодные для работы в условиях ВЭЖХ. Классические ионообменные смолы для этого не годились ввиду их малой механической прочности, набухаемости и малой скорости диффузии в поры частиц сорбента. Во-вторых, требовалось разработать универсальный способ автоматического детектирования, пригодный для всех неорганических ионов.

Наполнители колонок. Взамен классических ионообменных смол для ионной хроматографии были разработаны специальные материалы. Они представляют собой сферические частицы (диаметром 30–40 мкм) непористого стекла

или высокопрочного полимера, покрытые тонким слоем пористого ионообменника. Другой тип сорбентов представляет собой частицы пористого силикагеля (подобные тем, которые используются в адсорбционной хроматографии), покрытые тонким слоем жидкого ионообменника (раздел 2.6).

В обоих случаях *процессы диффузии* ионов осуществляются значительно быстрее, чем для классических ионообменников. В то же время *емкость* новых ионообменных материалов существенно ниже.

Кондуктометрическое детектирование. В качестве универсального метода детектирования неорганических ионов была предложена *кондуктометрия*. Из теории известно, что для водных растворов электролитов электропроводность прямо пропорциональна их концентрации (раздел 4.2). Однако ввиду того, что в ионной хроматографии элюент сам представляет собой раствор электролита достаточно высокой концентрации и поэтому обладает собственной электропроводностью, детектирование путем простого измерения электропроводности элюата невозможно.

Ионная хроматография с использованием подавляющей колонки

Проблемы детектирования были решены за счет использования дополнительной *подавляющей колонки* и специального выбора подвижной фазы.

Рассмотрим принцип действия подавляющей колонки на примере определения *анионов*. В этом случае подавляющая колонка заполняется *катионообменником в H^+-форме* и располагается непосредственно за разделяющей. Подвижная фаза может представлять собой раствор $NaHCO_3/Na_2CO_3$. Компоненты подвижной фазы, выходящие из разделяющей колонки, реагируют с катионообменником подавляющей колонки согласно уравнениям

$$Na^+ + HCO_3^- + \overline{H}^+ \rightleftharpoons \overline{Na}^+ + H_2CO_3, \qquad (5.42)$$

$$2Na^+ + CO_3^{2-} + 2\overline{H}^+ \rightleftharpoons 2\overline{Na}^+ + H_2CO_3. \qquad (5.43)$$

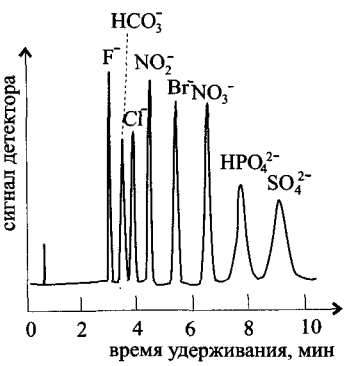


Рис. 5.34. Ионная хроматограмма смеси анионов. Элюент – 2,8 мМ $NaHCO_3/2,3$ мМ Na_2CO_3.

Как и ранее (раздел 2.6), черта символизирует нахождение соответствующего иона в фазе ионообменника. Таким образом, собственные ионы подвижной фазы в результате ионного обмена превращаются в малодиссоциированную и обладающую очень малой электропроводностью угольную кислоту. Отсюда и происходит название «подавляющая колонка». Определяемые же ионы, например Cl^- или NO_3^-, не претерпевают на подавляющей колонке никаких химических превращений и сохраняют свою электропроводность.

На рис. 5.34 приведен пример ионной хроматограммы смеси анионов и условия их определения.

Для определения *катионов* разделяющую колонку заполняют катионообменником. Подвижной фазой может служить раствор соляной кислоты, а подавляющую колонку заполняют *анионообмен-*

ником в OH^--форме. Реакция элюента в подавляющей колонке в этом случае происходит по уравнению

$$H^+ + Cl^- + \overline{OH}^- \rightleftharpoons \overline{Cl}^- + H_2O. \qquad (5.44)$$

После этого единственными электропроводящими частицами в растворе снова оказываются разделяемые ионы, в данном случае катионы, например, Na^+ или K^+.

Недостаток использования подавляющих колонок состоит в том, что после определенного времени работы (обычно порядка 10 часов) емкость ионообменника исчерпывается, и его приходится регенерировать (или заменять колонку). В современных приборах вместо подавляющих колонок все чаще используют *мембранные подавители*, непрерывно регенерируемые в процессе работы. Схематическое устройство такого подавителя представлено на рис. 5.35. Поток элюента омывает две ионообменные мембраны, которые в зависимости от природы определяемых ионов отдают в раствор H^+- или OH^--ионы. В то же время обе мембраны непрерывно омываются и противотоком регенерирующего раствора — сильной кислоты или основания, соответственно.

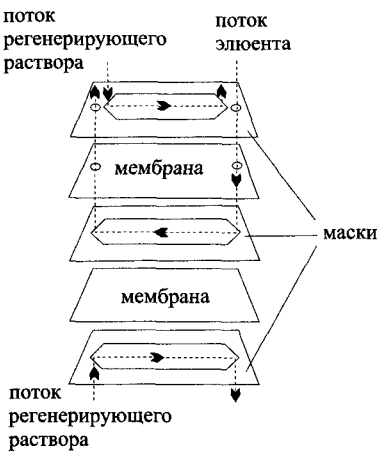


Рис. 5.35. Подавитель электропроводности на основе микромембран. Потоки элюента и регенерирующего раствора движутся через мембрану навстречу друг другу.

Подавитель электропроводности элюента может быть также выполнен не в виде мембраны, а в виде *полых волокон* из соответствующего ионообменного материала. В этом случае вместо послойного (изображенного на рис. 5.35) движения потоков имеет место их кольцеобразное движение.

Одноколоночная ионная хроматография

Если собственная электропроводность подвижной фазы достаточно мала, то можно обойтись и без подавляющей колонки. В этом случае необходимо также использовать разделяющую колонку с *ионообменником малой емкости*. Элюентами с малой электропроводностью могут служить растворы слабых органических кислот, например, фталевой, бензойной или салициловой (их величины pK_S можно найти в табл. П.1 приложения). Для обеспечения постоянства электропроводности и ионной силы элюента следует очень точно поддерживать значение pH раствора. Поправку на величину собственной (фоновой) электропроводности элюента производит электронная схема регистрирующего устройства.



Одноколоночный вариант ионной хроматографии находит все возрастающее применение для определения органических ионогенных веществ, например аминокислот. Для его реализации подходит обычное оборудование для ВЭЖХ. Од-

нако чувствительность детектирования в одноколоночном варианте ниже, чем в двухколоночном.

Необходимость в подавляющей колонке отсутствует и в том случае, если используется фотометрическое детектирование. Для детектирования ионов, не обладающих собственным светопоглощением, можно применять *косвенное фотометрическое детектирование*. В этом случае в качестве элюента используют раствор вещества, поглощающего в УФ-области, например фталевой кислоты. При выходе из колонки пиков разделяемых ионов интенсивность фонового поглощения уменьшается.

Для *прямого фотометрического детектирования* непоглощающих ионов можно использовать их превращение в светопоглощающие вещества посредством химической реакции, например, при помощи мембранного устройства, аналогичного изображенному на рис. 5.35. Вместо регенерирующего раствора через мембрану пропускают раствор реагента, образующего с ионами металлов окрашенные комплексы, например пиридил-азо-резорцина (табл. 3.23).

5.3.3. Гель-хроматография: разделение путем исключения молекул

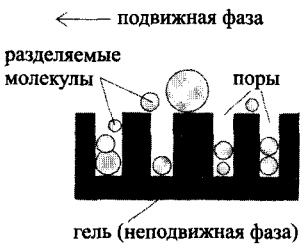


Рис. 5.36. Иллюстрация принципа гель-хроматографии.

Специфическим видом жидкостной хроматографии является *гель-хроматография*. Принцип гель-хроматографии — разделение молекул в соответствии с их размерами (рис. 5.36). Неподвижной фазой являются частицы пористого инертного материала (силикагель, полимеры) с определенным размером пор. Молекулы с размерами, большими, чем размер пор, не задерживаются частицами неподвижной фазы (эффект *молекулярной эксклюзии* или *исключения*). Молекулы же с меньшими размерами проникают в поры неподвижной фазы и, таким образом, удерживаются. В отличие от всех рассмотренных ранее видов жидкостной хроматографии, в ходе гель-хроматографического разделения не происходит никаких физико-химических взаимодействий разделяемых частиц с неподвижной фазой.

Гель-хроматография — важный метод анализа *высокомолекулярных соединений*, в частности, белков или синтетических полимеров.

Молекулярная эксклюзия

При контакте молекул раствора с частицами пористой неподвижной фазы возможны два крайних случая. Молекулы с размерами, превышающими максимальный диаметр пор, *не удерживаются* и элюируются первыми, перемещаясь одновременно с подвижной фазой. Молекулы с размерами, меньшими, чем минимальный диаметр пор, свободно проникают в поры и элюируются из колонки в последнюю очередь.

Остальные молекулы, имеющие промежуточные размеры, удерживаются в порах частично и в ходе элюирования разделяются на фракции в соответствии

со своими размерами и, частично, формой. Их пики выходят из колонки с временами удерживания, промежуточными между двумя рассмотренными крайними случаями.

Основной характеристикой удерживания в гель-хроматографии служит известная нам величина — ***удерживаемый объем***, т. е. произведение времени удерживания на объемную скорость потока подвижной фазы (см. уравнения (5.27) и (5.28)). Он равен объему элюента V_E, пропущенному через колонку до момента выхода пика компонента.

Общий объем гель-хроматографической колонки $V_{общ}$ равен

$$V_{общ} = V_0 + V_p + V_{гель}. \tag{5.45}$$

Здесь V_0 — мертвый объем колонки (объем межзеренного пространства), V_p — суммарный объем пор, $V_{гель}$ — собственный объем твердой фазы (геля). Для неудерживаемых молекул удерживаемый объем равен мертвому объему V_0. Для молекул, свободно проникающих в поры геля, удерживаемый объем равен сумме $V_0 + V_p$ (рис. 5.37).

В общем случае, когда молекула проводит в порах геля некоторую долю K от общего времени нахождения в колонке, удерживаемый объем V_E равен

$$V_E = V_0 + KV_p. \tag{5.46}$$

Величину K можно интерпретировать как коэффициент распределения вещества между порами геля и подвижной фазой в межзеренном пространстве колонки. Она может принимать значения от 0 до 1.

- Если молекула совершенно не проникает в поры геля и не удерживается неподвижной фазой, $K = 0$.
- Если молекула свободно проникает в поры, $K = 1$.
- В промежуточном случае $0 < K < 1$.

Все сказанное справедливо лишь в том случае, если между молекулами разделяемых веществ и поверхностью геля не наблюдается никаких физико-химических взаимодействий — в первую очередь адсорбционных. При наличии таких взаимодействий значения K могут превышать единицу. В этом случае пик вещества выходит из колонки при величине V_E большей, чем максимально возможное (при отсутствии взаимодействий) значение, равное $V_0 + V_p$ (рис. 5.37 (а)).

Величину K можно выразить путем простейшего преобразования соотношения (5.46). В соответствии с уравнением (5.1), она равна отношению концентраций вещества в фазах:

$$K = \frac{V_E - V_0}{V_p} = \frac{c_S}{c_M}. \tag{5.47}$$

Значения коэффициентов распределения можно использовать для сравнительной характеристики удерживания вещества на различных носителях.

Неподвижные фазы

Наполнителями колонок для гель-хроматографии служат порошкообразные пористые стекла, силикагель, полисахариды или синтетические полимеры. Размер зерен составляет 5–10 мкм.

Пористые стекла и силикагели характеризуются большими скоростями диффузии молекул разделяемых веществ и растворителя в поры и высокой механической устойчивостью, в том числе при повышенных температурах. Такими материалами достаточно легко наполнять колонки. Размер пор составляет от 40 до 2500 Å. Недостатком таких материалов является высокая вероятность протекания процессов адсорбции. Поэтому их поверхность часто дезактивируют посредством силанизации.

Из *синтетических полимеров* первоначально использовали лишь стирол-дивинилбензольные сополимеры. Размер пор можно регулировать, изменяя содержание дивинилбензола и тем самым — степень сшивки. Эти материалы гидрофобны, поэтому их использование возможно лишь при условии, что подвижная фаза неполярна.

В настоящее время используют и гидрофильные полимеры — в частности, на основе сульфированного дивинилбензола или полиакриламидных смол.

Размеры пор для наиболее распространенных наполнителей приведены в таблице 5.12. Этими размерами определяются *границы исключения* молекул — значения относительных молекулярных масс (дальтон), выше которых молекулы не удерживаются гелем.

Таблица 5.12. Наиболее распространенные наполнители для гель-хроматографии.

Средний размер пор, Å	Граница исключения, дальтон
Сополимеры стирола и дивинилбензола	
$\sim 10^2$	700
$\sim 10^4$	$1 \cdot 10^4$ — $20 \cdot 10^4$
$\sim 10^6$	$5 \cdot 10^6$ — $10 \cdot 10^6$
Силикагель	
125	$0,2 \cdot 10^4$ — $5 \cdot 10^4$
500	$0,05 \cdot 10^5$ — $5 \cdot 10^5$
1000	$5 \cdot 10^5$ — $20 \cdot 10^5$

Как видно из табл. 5.12, при заданном размере пор границы исключения могут варьироваться в достаточно широком диапазоне. Строго говоря, определяющей величиной здесь является не молекулярная масса, а объем, который занимает сольватированная молекула в растворе. Он называется *гидродинамическим объемом*.

Подвижные фазы

Выбор подвижной фазы определяется природой неподвижной фазы. В зависимости от природы фаз методы гель-хроматографии подразделяются на гель-фильтрационную и гель-проникающую хроматографию.

В *гель-фильтрационной* хроматографии используют гидрофильные гели. Подвижной фазой служат *водные растворы*, как правило, буферные, с контролируемым значением pH. Гель-фильтрационную хроматографию применяют для разделения водно-растворимых веществ. В *гель-проникающей* хроматографии неподвижная фаза гидрофобна, а подвижная — неполярна (тетрагидрофуран,

хлористый метилен, толуол и др.). Этот метод применяют для разделения гидрофобных, нерастворимых в воде веществ.

Детекторы

Для детектирования могут использоваться детекторы различных типов, применяемые в жидкостной хроматографии — рефрактометрические, фотометрические (в УФ- или ИК-области) и др., сигнал которых пропорционален концентрации растворенного вещества.

Специфическим типом детекторов для анализа высокомолекулярных соединений являются *проточные вискозиметры*. Они измеряют вязкость протекающего через них элюента. В присутствии высокомолекулярных веществ вязкость раствора возрастает, что регистрируется на хроматограмме в форме пика.

Применение гель–хроматографии

Обычно гель-хроматографию применяют для анализа смесей веществ с относительными молекулярными массами выше 2000.

Гель-фильтрационную хроматографию часто используют для отделения высокомолекулярных природных веществ от низкомолекулярных, в том числе солей. Например, при использовании неподвижных фаз, характеризующихся границами исключения порядка нескольких тысяч дальтон (см. табл. 5.12), можно отделять белки от аминокислот и низкомолекулярных пептидов.

С помощью *гель-проникающей* хроматографии можно разделять различные гомологи и олигомеры гидрофобных органических веществ, например, жирные кислоты с молекулярными массами в области 100–350. Для этого в качестве неподвижной фазы используют полимерные гели с границами исключения не выше 1000.

Обе разновидности гель-хроматографии широко используются для определения *молекулярных масс* и *молекулярно-массового распределения* природных и синтетических полимеров.

Для определения молекулярных масс используют тот факт, что зависимость между логарифмом удерживаемого объема и логарифмом молекулярной массы в некотором диапазоне является линейной (см. рис. 5.37 (б)). Предварительно колонку калибруют, используя стандартные вещества с известными значениями молекулярных масс M_r и близкие по своей природе и свойствам к анализируемым. Измерив для стандартных веществ удерживаемые объемы V_E, методом линейного регрессионного анализа находят коэффициенты b_0 и b_1 в уравнении калибровки

$$\lg M_\text{r} = b_0 - b_1 \lg V_\text{E}. \qquad (5.48)$$

В качестве стандартных веществ, *растворимых в воде*, используют декстраны, полиэтиленгликоль, сульфированные полистиролы и белки. Примерами *нерастворимых в воде* стандартных веществ могут служить полистирол, политетрагидрофуран и полиизопрен.

Принцип определения молекулярной массы по значениям удерживаемых объемов проиллюстрирован на рис. 5.37 (б) и (в).

Достоинства гель-хроматографии. В гель-хроматографии все возможные значения удерживаемых объемов укладываются в точно определенный ин-

тервал между V_0 и $V_0 + V_p$. Поэтому данный метод характеризуется *небольшими временами удерживания*, определяемыми значениями коэффициента распределения K. Пики на гель-хроматограммах обычно достаточно узкие и хорошо воспроизводимые. Ввиду того, что вещество не претерпевает в ходе хроматографического процесса никаких химических взаимодействий, оно выходит из колонки *в неизменном виде* и без потерь. Поэтому гель-хроматографию можно использовать и в препаративных целях. С другой стороны, и вещество не оказывает никакого воздействия на колонку, что нередко наблюдается в других видах хроматографии.

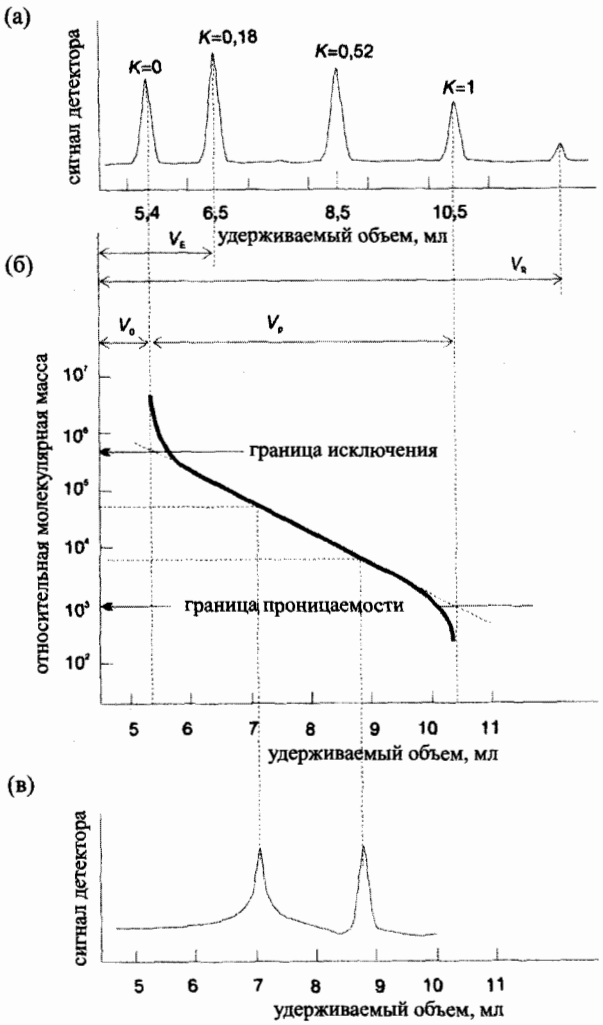


Рис. 5.37. Удерживание веществ и калибровка колонки в гель-хроматографии. (а) Гель-хроматограмма смеси стандартных веществ с относительными молекулярными массами от 10^6 до 10^3 и коэффициентами распределения от 0 до 1. Последний, пятый, пик принадлежит веществу, испытывающему физико-химические взаимодействия с неподвижной фазой. (б) Билогарифмическая зависимость между удерживаемыми объемами и относительными молекулярными массами стандартных веществ, полученная по данным рис. 5.37 (а). (в) Определение молекулярных масс неизвестных веществ. Все условия хроматографического процесса (объем пробы, скорость потока элюента и др.) должны быть строго идентичны условиям калибровки.

Недостатки гель-хроматографии. Ввиду ограниченности диапазона значений K (между 0 и 1) *максимальное число разрешенных пиков* в гель-хроматографии относительно невелико (см. табл. 5.4). Этим методом невозможно раз-

делить молекулы *одинакового размера*, в частности, изомеры. Обычно считают, что удовлетворительного разделения двух веществ можно достичь лишь в случае, если их молекулярные массы различаются *не менее, чем на 10%*.

5.3.4. Тонкослойная хроматография: плоскостной вариант жидкостной хроматографии

В предыдущих разделах, посвященных жидкостной хроматографии, мы рассматривали исключительно ее колоночный вариант. В этом разделе мы коснемся методов плоскостной хроматографии, в которых регистрируют *внутренние хроматограммы* (см. раздел 5.1). К плоскостным методам относятся *бумажная* и *тонкослойная* хроматографии, а также *электрохроматография*.

Плоский носитель неподвижной фазы может использоваться непосредственно (полоска бумаги в бумажной хроматографии) или быть нанесен в виде тонкого слоя на пластинку (из стекла, пластмассы, металла). Движение подвижной фазы может обеспечиваться капиллярными, гравитационными или электромиграционными силами.

Мы ограничимся рассмотрением лишь наиболее распространенного метода плоскостной хроматографии — *тонкослойной хроматографии (ТСХ)*. Метод ТСХ может рассматриваться как модифицированный вариант колоночной жидкостной хроматографии. Очень часто эксперименты по тонкослойной хроматографии являются предварительным этапом разработки методик колоночной хроматографии, поскольку они более просты в выполнении и позволяют за короткое время опробовать большое число подвижных фаз и разнообразные условия разделения.

Тонкослойная хроматография широко используется для *обзорного анализа* в химических, производственных, медицинских, фармацевтических, биохимических и биологических лабораториях.

Неподвижные и подвижные фазы

В тонкослойной хроматографии используют те же неподвижные фазы, что и в соответствующих методах колоночной ВЭЖХ — адсорбционной, распределительной (нормально-фазовой и обращенно-фазовой), ионообменной, молекулярно-эксклюзионной. Слой тонкоизмельченного носителя наносят на пластинки размерами 5×10, 10×20 или 20×20 см. Для стандартных пластинок толщина слоя носителя составляет 200–250 мкм, а размеры частиц носителя — 20 мкм и более. При длине разделяющего пути 12 см число теоретических тарелок может достигать 2000, а время разделения составлять порядка 25 мин.

Современным методом ТСХ является *высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ)*. В этом методе толщина слоя носителя составляет порядка 100 мкм, а размер зерен — 5 мкм и менее. Разделение происходит более полно и за более короткое время, около 10 мин. При длине разделяющего пути 3 см число теоретических тарелок достигает 4000. Однако *емкость* неподвижной фазы и, соответственно, максимальное количество пробы в этом случае существенно меньше.

Нанесение пробы и получение хроматограмм

Нанесение пробы (в виде раствора с концентрацией от 0,01 до 0,1%) на пластинку проще всего осуществить при помощи капилляра. Объем раствора составляет от 0,5 до 5 мкл. Каплю раствора наносят на расстоянии 1–2 см от края пластинки. Для качественного анализа диаметр образовавшегося пятна раствора не должен превышать 5 мм, для количественного он должен быть еще меньше. В ВЭТСХ обычно используют капилляры из сплава платины с иридием, при использовании которых объем капли раствора составляет от 100 до 200 нл. Этот объем можно достаточно точно дозировать. После нанесения капли раствора необходимо полностью испарить растворитель.



Рис. 5.38. Хроматографическая камера для тонкослойной хроматографии.

Для *получения хроматограммы* необходимо обеспечить движение подвижной фазы вдоль пластинки. Для этого пластинку помещают в закрытую хроматографическую камеру (рис. 5.38). На дно камеры наливают немного растворителя — подвижной фазы и насыщают ее парами. При установке пластинки необходимо следить, чтобы пятно пробы не касалось жидкого слоя растворителя. Под действием капиллярных сил растворитель начинает перемещаться вверх по пластинке. Однако скорость его движения неравномерна. Зависимость скорости движения растворителя от пройденного пути выражается гиперболической функцией.

После того, как растворитель пройдет примерно две трети длины пластинки, пластинку вынимают из камеры. На этом получение хроматограммы заканчивается. После этого растворитель высушивают и детектируют пятна компонентов пробы.

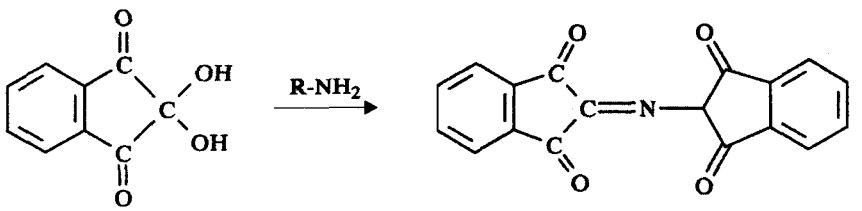
Детектирование

В ходе предварительных, *обзорных*, анализов, как правило, ограничиваются визуальным детектированием с целью идентификации компонентов смеси. Для определения *положения* пятен компонентов пробы существуют следующие способы.

- Использование *люминесцентных свойств* разделяемых веществ. Для органических веществ, как правило, наблюдают флуоресценцию, для неорганических — фосфоресценцию (см. раздел 3.3.3).
- Нанесение *флуоресцентного индикатора* на носитель. При облучении пластинки ультрафиолетовым пятна компонентов наблюдаются как темные, не флуоресцирующие области на общем светящемся фоне пластинки. В качестве индикаторов можно использовать производные пирена, флуоресцеин, морин, родамин Б.
- Опрыскивание пластинки раствором неспецифического *сильного окислителя* — HNO_3, $KMnO_4$, а также концентрированной серной кислотой. В ре-

зультате окисления органических веществ на пластинке будут наблюдаться темные пятна.

- Опрыскивание раствором *группового* или *селективного* реагента, образующего с соединениями определенных классов окрашенные продукты: нингидрина в качестве реагента на NH_2-группы (рис. 5.39), хлорида железа(III) как реагента на фенолы, анилинфталата для проявления пятен некоторых сахаров или лигандов, образующих окрашенные комплексы, — для проявления пятен ионов металлов.



нингидрин синий продукт реакции

Рис. 5.39. Образование продукта, окрашенного в синий цвет, при взаимодействии нингидрина с NH_2-группами.

Идентификацию вещества на основании положения его пятна можно осуществить очень легко, если одновременно с пробой на той же пластинке для сравнения провести хроматографирование индивидуальных предполагаемых веществ. При этом в случае использования проявляющих реактивов должны совпасть не только положения пятен, но и их окраска. Более подробно о способах идентификации веществ на основании положения их пятен мы поговорим ниже.

Среди инструментальных методов детектирования преобладает измерение интенсивности *локального диффузного отражения света* в УФ- или видимой области. Предназначенный для этого прибор называется *денситометром* или сканнером. Кроме того, можно послойно снимать носитель с пластинки и анализировать его отдельные порции обычными методами химического анализа, например спектроскопическими.

Величина R_f и коэффициент емкости

Для количественной характеристики удерживания веществ на *внутренних* хроматограммах, к которым принадлежат тонкослойные, используются специальные параметры. Основным является *коэффициент удерживания*, обозначаемый (и чаще всего так и называемый) R_f. Он представляет собой отношение расстояний, пройденных на пластинке данным веществом (z_R) и фронтом подвижной фазы (z_M; рис. 5.40):

$$R_f = \frac{z_R}{z_M}. \qquad (5.49)$$

Для симметричных пятен z_R находят по положению центра пятна, для несимметричных — по положению максимума интенсивности.

Выразим связь между величиной R_f и *коэффициентом емкости*. Для этого сначала найдем, за какие времена t_M и t_R фронт растворителя и вещество пройдут *одно и то же* определенное расстояние, скажем равное z_R. Пусть средняя линейная скорость движения растворителя равна $\bar{u}$. Тогда

$$t_M = \frac{z_R}{\bar{u}}. \qquad (5.50)$$

Вещество проходит расстояние z_R за то же самое время, за какое фронт растворителя проходит расстояние z_M. Поэтому

$$t_R = \frac{z_M}{\bar{u}}. \qquad (5.51)$$

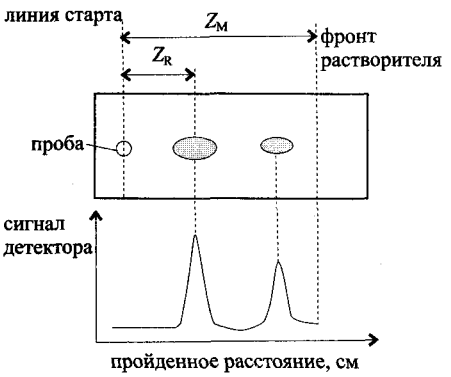


Рис. 5.40. К расчету характеристик удерживания в тонкослойной хроматографии.

Подставляя выражения (5.50) и (5.51) в формулу для расчета коэффициента емкости (5.9), получаем:

$$k' = \frac{z_M - z_R}{z_R}. \qquad (5.52)$$

Отсюда k' выражается через R_f следующим образом:

$$k' = \frac{1 - \frac{z_R}{z_M}}{\frac{z_R}{z_M}} = \frac{1 - R_f}{R_f}. \qquad (5.53)$$

Далее, выразив k' через *коэффициент распределения* K и фазовое отношение β (уравнение (5.6)), получаем следующее соотношение:

$$R_f = \frac{1}{1 + k'} = \frac{1}{1 + \beta K}. \qquad (5.54)$$

Величину расстояния, пройденного веществом, можно использовать для расчетов числа теоретических тарелок и высоты, эквивалентной теоретической тарелке. Для тонкослойной хроматографии соответствующие выражения выглядят следующим образом.

Число теоретических тарелок: $N = 16\left(\frac{z_R}{w}\right)^2$. (5.55)

Высота, эквивалентная теоретической тарелке: $H = \frac{z_R}{N}$. (5.56)

Применение тонкослойной хроматографии

Мы уже упоминали о важной сфере применения тонкослойной хроматографии как очень простого в исполнении метода *обзорного анализа* в самых разнообразных областях. Дополнительным достоинством ТСХ является возможность *одновременного* анализа нескольких проб на одной и той же пластинке.

Для *качественного* анализа можно использовать характеристики удерживания, а также данные, полученные при помощи инструментального детектирования (в случае его применения).

Отметим, что непосредственное использование абсолютных значений R_f для идентификации веществ, как правило, невозможно, поскольку эти значения сильно зависят от конкретных условий эксперимента. К ним относятся толщина слоя носителя, влажность подвижной и неподвижной фаз, температура, степень насыщения хроматографической камеры парами растворителя, а также количество пробы (и, соответственно, размеры пятен). Поэтому предпочтительнее использовать *относительные* значения R_f, рассчитанные по отношению к некоторому стандартному веществу:

$$R_{f,\text{отн}} = R_f(\text{в} - \text{ва})/R_f(\text{станд. в} - \text{ва})ю \qquad (5.57)$$

Основным методом *инструментального качественного и количественного анализа* служит фотометрия диффузного отражения (раздел 3.3.2). Чтобы сигнал линейно зависел от концентрации, используют преобразование при помощи функции Кубелки–Мунка (уравнение (3.84)). Для количественного анализа большую роль играет поправка на *сигнал фона*, величина которого сильно зависит от состояния слоя носителя.

По сравнению с ВЭЖХ метод тонкослойной хроматографии имеет и ряд существенных недостатков.

Скорость потока подвижной фазы не может быть задана произвольно и *не является постоянной величиной*. Она зависит от размеров зерен носителя, вязкости растворителя и множества других факторов. Кроме того, она изменяется в ходе хроматографического процесса, что приводит к уширению пятен. По мере движения растворителя его скорость значительно уменьшается, поэтому длина участка пластинки, который может быть использован для разделения, достаточно ограничена. Соответственно, ограничено и реально достижимое число теоретических тарелок.

При использовании многокомпонентной подвижной фазы ее состав может непрерывно изменяться в течение хроматографического процесса из-за наличия многообразных равновесий между жидкой, твердой и газообразной (пространство хроматографической камеры) фазами. Это приводит к плохой воспроизводимости величин R_f и, соответственно, плохой воспроизводимости разделения как такового.

Эти недостатки могут быть до некоторой степени преодолены при использовании новейшего метода тонкослойной хроматографии — радиальной тонкослойной хроматографии, использующей принудительное движение растворителя с постоянной скоростью от центра пластинки к периферии.

5.4. Сверхкритическая флюидная хроматография и электрофорез

В этом разделе мы рассмотрим последние достижения в области хроматографических и родственных методов такие, как методы сверхкритической флюидной хроматографии и капиллярного электрофореза.

Сверхкритическая флюидная хроматография

В методе сверхкритической флюидной хроматографии (СФХ) подвижной фазой является так называемая *флюидная фаза*. Этот метод удачно сочетает в себе основные достоинства как газовой, так и жидкостной хроматографии и часто оказывается незаменим для решения задач, которые не могут быть решены ни с помощью газовой, ни жидкостной хроматографии. Это относится, в частности, к проблемам определения веществ, которые *нелетучи*, т. е. не могут быть переведены в газовую фазу без разложения и потому не могут быть определены методом газовой хроматографии. С другой стороны, существует много веществ, определение которых при помощи жидкостной хроматографии затруднено из-за отсутствия подходящих способов детектирования. Согласно некоторым оценкам, доля задач, не решаемых ни с помощью газовой, ни с помощью жидкостной хроматографии, достигает 25% от общего числа практических задач химического анализа, требующих разделения веществ. Они часто встречаются в ходе анализа природных веществ, лекарственных препаратов, продуктов питания, полимеров, нефтей, при определении пестицидов.

Как известно из курса физической химии, для любого вещества существует некоторая *критическая температура*, выше которой оно ни при каком давлении не может существовать в жидком состоянии. Давление, соответствующее критической температуре, называется *критическим давлением*. Совокупность критических значений температуры и давления называется критической точкой. Вблизи критической точки вещество находится в так называемом *сверхкритическом (флюидном) состоянии* и обладает свойствами, промежуточными между свойствами газа и жидкости.

Из физических свойств вещества в сверхкритическом состоянии для хроматографии наиболее важны *плотность*, *вязкость* и *коэффициенты диффузии*. В табл. 5.13 приведены сравнительные величины, характеризующие эти свойства для газов, сверхкритических флюидов и жидкостей. Следствием достаточно высокой плотности флюидов является *хорошая растворимость* в них многих нелетучих веществ большой молярной массы. Так, в диоксиде углерода в сверхкритическом состоянии хорошо растворяются все нормальные алканы с числом атомов углерода от 5 до 40, полициклические ароматические углеводороды.

Таблица 5.13. Сравнение важных для хроматографического анализа свойств веществ в газообразном, флюидном и жидком состояниях.

Свойство, характеристика	Газы	Сверхкритические флюиды	Жидкости
Плотность, г·см$^{-3}$	$0,6 \cdot 10^{-3}$ — $2 \cdot 10^{-3}$	0,2 — 0,5	0,6 — 2
Вязкость, г·см$^{-1}$·с$^{-1}$	$1 \cdot 10^{-4}$ — $3 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$ — $3 \cdot 10^{-4}$	$0,2 \cdot 10^{-2}$ — $3 \cdot 10^{-2}$
Коэффициенты диффузии, см^2·с$^{-1}$	$1 \cdot 10^{-1}$ — $4 \cdot 10^{-1}$	10^{-4} — 10^{-3}	$0,2 \cdot 10^{-5}$ — $2 \cdot 10^{-5}$

В табл. 5.14 приведены характеристики ряда веществ в критической точке. Все эти вещества можно использовать в качестве подвижных фаз в СФХ. Обычно рабочая температура колонки составляет около $1,2\,T_k$, а давление — от 1 до $3\,p_k$.

Таблица 5.14. Критические величины для веществ, используемых как подвижные фазы в сверхкритической флюидной хроматографии.

Флюид	Темп. $T_к$, °C	Давл. $p_к$, МПа	Плотн. $d_к$, г·см$^{-3}$
CO_2	31,3	7,39	0,468
N_2O	36,5	7,27	0,457
NH_3	132,5	11,40	0,235
Метанол	239,4	8,10	0,272
н-Бутан	152,0	3,80	0,228
Дихлордифторметан	111,8	4,12	0,558
Диэтиловый эфир	195,6	3,64	0,265

Для большинства веществ, приведенных в табл. 5.14, критические температуры и давления относительно невелики и не выходят за пределы обычных для газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии рабочих диапазонов. В силу этого и аппаратура для СФХ мало отличается от газовых и жидкостных хроматографов и представляет собой в некотором роде их гибрид.

Особенности свойств сверхкритических флюидов могут быть использованы и для *сверхкритической флюидной экстракции* в процессе пробоподготовки. В промышленности сверхкритическая флюидная экстракция широко используется для извлечения кофеина из кофе и никотина из табака.

Аппаратура

Как уже упоминалось, флюидный хроматограф устроен как комбинация отдельных узлов аппаратуры для высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографии. Важным требованием является поддержание *постоянства температуры* колонки. Это обеспечивается при помощи термостатируемых печей, подобных тем, что используются в газовой хроматографии. Кроме того, в колонке необходимо постоянно поддерживать *давление*, достаточное для того, чтобы подвижная фаза все время находилась в сверхкритическом состоянии. На выходе же из колонки давление сбрасывают. При этом подвижная фаза переходит в газообразное состояние, и для детектирования используют обычные для газовой хроматографии методы. Для сброса давления служат устройства, называемые дросселями. Они представляют собой капилляры длиной от 2 до 10 см с внутренним диаметром, приблизительно в 10 раз меньшим, чем внутренний диаметр колонки (5–10 и 50–100 мкм, соответственно). В простейшем случае капиллярный дроссель насаживают непосредственно на выходное отверстие колонки (рис. 5.41).



Рис. 5.41. Вытянутый капилляр — дроссель давления для капиллярной СФХ.

Давление в системе следует контролировать с высокой точностью, поскольку от величины давления зависит плотность флюида и, соответственно, коэффициенты емкости. При повышении давления возрастают плотность и элюирующая способность флюида, и времена удерживания уменьшаются. Так, повышение давления флюида CO_2 от 7 до 9 МПа приводит к уменьшению времени удерживания с 25 до 5 мин. В СФХ используют и прием *градиентного программирования*

давления, полностью аналогичный программированию температуры в газовой хроматографии или состава подвижной фазы в жидкостной хроматографии.

Неподвижные и подвижные фазы

В СФХ применяют как набивные, так и капиллярные колонки. *Набивные колонки* аналогичны тем, что применяются в распределительной ВЭЖХ. Они также имеют внутренний диаметр от 0,5 до 4,6 мм, длину до 25 см и заполняются частицами размером от 3 до 10 мкм.

Капиллярные колонки подобны применяемым в газовой хроматографии. Их изготавливают из плавленого кварца. Неподвижную фазу наносят на внутреннюю силанизированную поверхность в виде *тонкой жидкой пленки* или *химически связывают* с ней. Длина капиллярных колонок обычно составляет 10–20 м, внутренний диаметр — от 0,05 до 10 мм, толщина слоя неподвижной фазы — от 0,05 до 1 мкм.

В качестве *подвижной фазы* чаще всего используют *диоксид углерода*. Он удобен в работе, дешев, нетоксичен, не обладает запахом и не обладает светопоглощением в УФ-области вплоть до 190 нм. Критические характеристики CO_2 (табл. 5.14) позволяют варьировать температуру и давление в широких пределах, совместимых с техническими возможностями обычной аппаратуры для ВЭЖХ. Иногда в подвижную фазу добавляют модификатор — небольшие количества метанола или диоксана. Другие вещества, используемые как подвижные фазы в СФХ, перечислены в табл. 5.14.

Детекторы

Детектирование в газовом потоке, выходящем из дросселя давления, можно осуществить при помощи обычного пламенно-ионизационного детектора для газовой хроматографии. Условием его применимости является низкая величина фонового сигнала, что имеет место при использовании в качестве подвижной фазы CO_2, N_2O или NH_3.

По сравнению с жидкостной хроматографией в СФХ технически проще реализовать сочетание хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования. В сверхкритической хроматографии масс-спектрометрическое детектирование применяется более широко, чем в жидкостной. Используют также фотометрические детекторы в УФ- и ИК-области, флуоресцентные, пламенно-фотометрические детекторы, а также катарометры и детекторы электронного захвата (см. раздел 5.2).

Показатели эффективности СФХ

Из сопоставления характеристик сверхкритических флюидов, газов и жидкостей (табл. 5.13) можно сделать два основных вывода.

Поскольку *вязкость* флюидов меньше, чем жидкостей, в СФХ можно использовать *более высокие скорости потоков* подвижной фазы, чем в ВЭЖХ (рис. 5.42). Времена выполнения анализа в СФХ такого же порядка, как и в газовой хроматографии, и существенно меньше, чем в жидкостной.

С точки зрения величин *коэффициентов диффузии* флюиды занимают промежуточное положение между газами и жидкостями. Поэтому *уширение пиков* в сверхкритической хроматографии выражено сильнее, чем в жидкостной, но слабее, чем в газовой хроматографии.

Сравним зависимости высоты, эквивалентной теоретической тарелке, от линейной скорости потока подвижной фазы для сверхкритической и жидкостной хроматографии (рис. 5.42). Начнем с величин *ВЭТТ*. При одной и той же линейной скорости потока, равной 0,6 см/с, для СФХ ВЭТТ равна 0,13 мм, а для ВЭЖХ — 0,39 мм, т. е. в три раза больше. Как следует из уравнения (5.17), это означает, что при одних и тех же условиях хроматографические пики в СФХ в $\sqrt{3}$ раза уже, чем в ВЭЖХ.

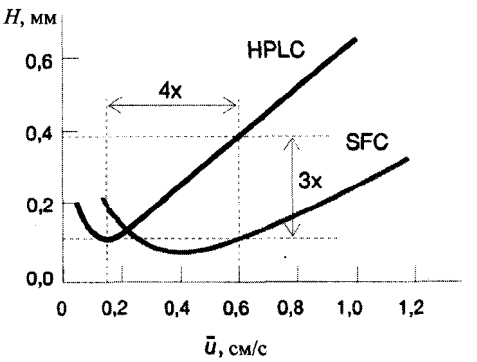


Рис. 5.42. Сравнение зависимостей ВЭТТ (H) от линейной скорости потока подвижной фазы ($\bar{u}$) для ВЭЖХ и СФХ (подвижная фаза — диоксид углерода).

Теперь сравним *скорости потоков*, соответствующие минимальным значениям ВЭТТ. Для ВЭЖХ она составляет 0,15 см/с, а для СФХ — 0,6 см/с, т. е. в 4 раза больше.

В отличие от газовой хроматографии, в сверхкритической хроматографии подвижная фаза не является лишь переносчиком разделяемых веществ. Как и в ВЭЖХ, в СФХ могут иметь место *физико-химические взаимодействия* разделяемых веществ с компонентами подвижной фазы. Изменение состава подвижной фазы можно использовать для целенаправленного изменения величин *коэффициентов селективности* α.

Ввиду высокой растворимости веществ в сверхкритических фазах их определение можно проводить при температурах значительно более низких, чем температуры испарения. Это открывает широкие возможности для определения методом СФХ синтетических и биологических полимеров, а также различных термически нестабильных соединений, для которых неприменим метод газовой хроматографии. Верхняя граница молекулярных масс определяемых веществ значительно выше, чем в газовой хроматографии и, как и в ВЭЖХ, достигает порядка 10^5. Молекулы с еще большей массой (до 10^7) следует определять методом гельхроматографии.

Применение сверхкритической флюидной хроматографии

О больших возможностях использования СФХ для определения нелетучих веществ с достаточно большими молекулярными массами мы уже сказали. К ним относятся многие природные вещества и синтетические материалы, компоненты продуктов питания, нефтей, пестициды, поверхностно-активные вещества, полимеры, взрывчатые вещества.

Сверхкритическая флюидная хроматограмма смеси *олигомеров полиэтилена* приведена на рис. 5.43. Обратите внимание, что пики достаточно узкие несмотря

на то, что использована набивная колонка. Характер *градиента давления* типичен для метода СФХ: в начале процесса — постоянное давление, затем линейное повышение до максимального значения в течение определенного времени, затем постоянное максимальное значение до окончания разделения.

Электрофорез

В основе методов электрофореза лежит явление *миграции* ионов, т. е. их движение в электрическом поле. Коротко об этом явлении было сказано в разделе 4.1. Для разделения используют различия в величинах подвижностей отдельных ионов.

Большинство электрофоретических методов, строго говоря, нельзя отнести к хроматографии, поскольку здесь не происходит распределения частиц между подвижной и неподвижной фазами. Однако с точки зрения аппаратурного оформления и некоторых теоретических положений как классический вариант электрофореза — на бумаге, так и современный — капиллярный — достаточно сходны с соответствующими разновидностями хроматографии (плоскостной и капиллярной).



Рис. 5.43. Анализ смеси олигомеров полиэтилена средней молекулярной массы 740 при помощи СФХ. Разделяющая колонка: 10 × × 0,01 см, набивная, нормальнофазовая, наполнитель — Al_2O_3, размер зерен 5 мкм. Подвижная фаза: CO_2, давление 10 МПа в течение 7 мин, затем программируемое повышение до 36 МПа в течение 25 мин, затем постоянное 36 МПа. Температура колонки 100°С. Детектор — пламенно-ионизационный.

Различия в скоростях движения в электрическом поле можно использовать для электрофоретического разделения не только низкомолекулярных ионов, но и коллоидных частиц, макромолекул, вирусов и даже целых живых клеток.

Классический электрофорез

Классический вариант электрофореза до сих пор широко применяют при исследованиях в области биохимии и молекулярной биологии для разделения, выделения и определения белков, полинуклеотидов и других биополимеров. Различают метод простого электрофореза и электрофореза на носителе.

Предложенный А. Тизелиусом (Нобелевская премия, 1948 г.) метод *простого электрофореза* был первоначально реализован как процесс перемещения ионов вблизи границы контакта двух растворов — исследуемого и буферного. Растворы заливают в U-образную трубку; находящийся сверху буферный раствор во избежание механического перемешивания должен иметь плотность меньшую,

чем исследуемый (рис. 5.44). При наложении при помощи платиновых электродов постоянного напряжения ионы различной природы, находящиеся в исследуемом растворе, в силу их различных подвижностей концентрируются в разных зонах вблизи поверхности раздела растворов. Эта разновидность метода называется *фронтальным электрофорезом*. Фронтальный электрофорез не позволяет достичь полного разделения.

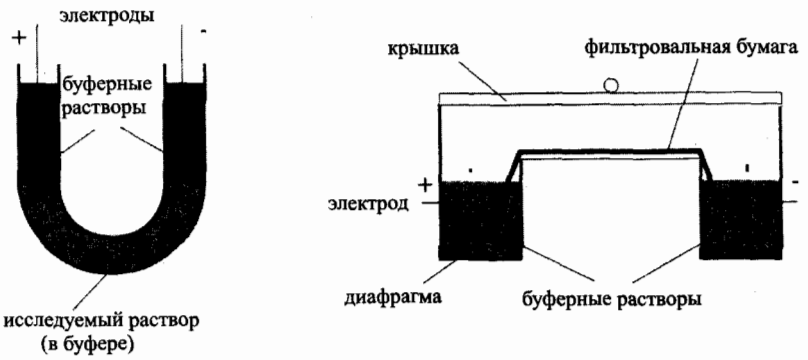


Рис. 5.44. Схемы установок для простого электрофореза (слева) и электрофореза на бумажном носителе (справа).

Чаще применяют метод *электрофореза на носителе*. Здесь ионы перемещаются в неподвижном слое носителя — бумаги или геля, например агарового, полимерного или силикагеля. Слой носителя пропитывают раствором инертного электролита. По концам слой носителя контактирует с буферными растворами, в которые погружены электроды (рис. 5.44). Прилагаемое постоянное напряжение составляет сотни и тысячи вольт.

Исследуемый раствор наносят в виде как можно более узкой полоски вблизи одного из концов слоя носителя. В процессе электрофореза различные ионы исследуемого раствора образуют отдельные зоны. Этот метод называется *зонным электрофорезом*.

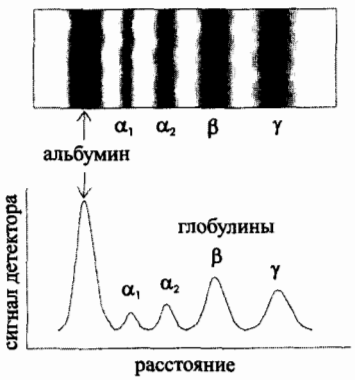


Рис. 5.45. Электрофореграмма белков сыворотки крови, полученная при помощи фотометрической регистрации.

Получаемая в результате картинка — распределение разделяемых ионов по зонам — носит название *электрофореграммы*. Если ионы окрашены, ее можно наблюдать визуально или регистрировать фотометрически. На рис. 5.45 приведена классическая электрофореграмма белков сыворотки крови.

Дальнейшее развитие метода

Для разделения *амфолитов*, например аминокислот или белков, применяют вариант электрофореза, называемый *изоэлектрическим фокусированием*. В этом методе в направлении электрического поля создают *градиент pH* при помощи

подходящей смеси буферов. Как известно из теории кислотно-основных равновесий (раздел 2.2), молекулы амфолитов при значении pH раствора, равном pH изоэлектрической точки, не движутся в электрическом поле. Поэтому в условиях градиента pH молекула каждого амфолита при наложении электрического поля перемещается к области с величиной pH, равной pH ее изоэлектрической точки. Таким образом, различные амфолиты концентрируются в различных зонах.

Изоэлектрическое фокусирование широко применяют при анализе смесей белков. Необходимое условие применения метода — наличие устойчивого неподвижного градиента pH. Его создают при помощи смесей большого числа низкомолекулярных буферных систем с большой буферной емкостью. Как правило, это амфолиты с различными значениями изоэлектрических точек. Под действием электрического поля они фокусируются в определенных зонах и создают там соответствующие значения pH.

Еще один современный вариант электрофореза называется *изотахофорезом* (от греческих слов «изос» — равный и «тахос» — скорость). Как следует из названия, в условиях изотахофореза различные частицы движутся в электрическом поле с одинаковыми скоростями.

Во всех рассмотренных до сих пор электрофоретических методах частицы движутся в постоянном электрическом поле $\boldsymbol{E}$ с различными скоростями v_i:

$$v_i = \boldsymbol{E}u_i, \tag{5.58}$$

где u_i — подвижность i-го иона.

Ввиду того, что подвижности ионов различны, для обеспечения равенства скоростей их движения

$$v = \boldsymbol{E}_1 u_1 = \boldsymbol{E}_2 u_2 = ... = \boldsymbol{E}_n u_n, \tag{5.59}$$

необходимо, чтобы каждый i-й ион находился под воздействием поля соответствующей напряженности $\boldsymbol{E}_i$. Например, если

$$u_1 > u_2 > \ldots > u_n,$$

то

$$\boldsymbol{E}_1 < \boldsymbol{E}_2 < \ldots < \boldsymbol{E}_n.$$

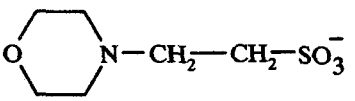
При этом, если ион движется слишком быстро, то он попадает в находящуюся впереди зону с меньшей напряженностью поля и, таким образом, затормаживается. Наоборот, в случае медленного движения ион оказывается в зоне с большей напряженностью поля и ускоряется. В результате ионы каждого сорта концентрируются в очень узкой области пространства. Это явление называется *динамическим обострением* границ зон.

На практике движение ионов с одинаковыми скоростями достигают следующим образом. Для изотахофореза используют капилляр (например, тефлоновый) и два буферных раствора с ионами разных подвижностей. Один конец капилляра заполняют *ведущим* раствором, другой — *замыкающим* раствором. Ионы ведущего раствора должны иметь более высокую подвижность, чем ионы замыкающего раствора. Анализируемый раствор помещают между зонами обоих буферных растворов. При наложении поля все ионы, находящиеся в капилляре, располагаются в порядке убывания их подвижностей и тем самым разделяются.

В частности, для разделения и определения иммуноглобулина методом изотахофореза в качестве ведущего используют раствор морфолинэтансульфоната с pH 9, а в качестве замыкающего — раствор аминокапроата с pH 10,8. Капиллярный изотахофорез является очень распространенным вариантом электрофоретических методов.



6-аминокапронат как замыкающий ион



морфолинэтансульфонат как ведущий ион

В целом использование *капиллярной техники* позволяет преодолеть многие недостатки, присущие классическим методам электрофореза. Главные из них — недостаточные эффективность и воспроизводимость разделения, а также трудности регистрации зон отдельных ионов. В методах простого электрофореза серьезную проблему представляет джоулево тепло, в значительных количествах выделяющееся в ходе процесса вследствие высоких значений используемого напряжения и малого сопротивления раствора. Выделение тепла приводит к возникновению *тепловых конвекционных потоков*, перемешивающих раствор электролита и ухудшающих разделение.

Капиллярный электрофорез

Использование в электрофорезе технических наработок, применяемых в капиллярной газовой хроматографии, резко расширило возможности метода. Современный вариант электрофореза называют капиллярным электрофорезом или, по аналогии с ВЭЖХ, высокоэффективным капиллярным электрофорезом.

Капиллярная техника принципиально позволяет реализовать все разновидности электрофоретических методов. Как и в хроматографии (газовой или флюидной), при этом значительно снижаются помехи вследствие диффузионных процессов. Кроме того, в капиллярном варианте сопротивление раствора намного выше, чем в классическом. Поэтому количество выделяемого джоулевого тепла меньше, а его отвод (термостатирование капилляра) осуществляется намного проще.

Аппаратура

Схема установки для капиллярного электрофореза приведена на рис. 5.46. Установка состоит из двух резервуаров с буферными растворами, капилляра с системой охлаждения, источника высокого напряжения, устройства ввода пробы, детектора и регистрирующего устройства.

Капилляры для электрофореза обычно имеют длину 10–100 см и внутренний диаметр 25–100 мкм. Материалом служит плавленый кварц. Используют капилляры как с немодифицированной, так и с модифицированной внутренней поверхностью. Модификацию осуществляют за счет адсорбции или химического

связывания. Капилляр заполняют буферным раствором, гелем или раствором полимера.

Величина *напряжения*, налагаемого на платиновые электроды для создания электрического поля, составляет до 30 кВ.

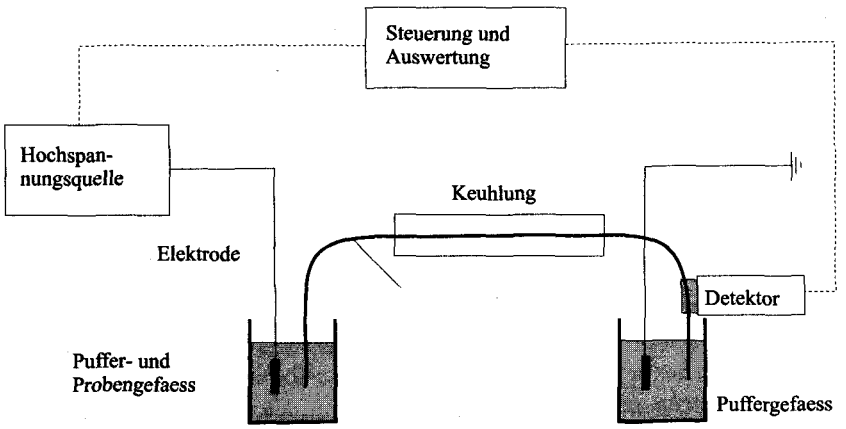


Рис. 5.46. Схема устройства для капиллярного электрофореза.

Ввод пробы обычно осуществляется со стороны отрицательно заряженного электрода (катода) и может производиться под действием *силы тяжести*. Для этого конец капилляра со стороны катода опускают в сосуд с анализируемым раствором и приподнимают его на некоторое время приблизительно на 10 см над уровнем жидкости в другом сосуде. Пробу можно вводить и под действием *электрокинетических сил*. В этом случае конец капилляра погружают в анализируемый раствор и подают короткий импульс (несколько секунд) высокого напряжения (порядка 5 кВ). В результате возникающего электроосмотического потока (см. ниже) в капилляр засасывается объем раствора (5–50 нл), пропорциональный времени подачи импульса. Разработаны и автоматизированные системы ввода пробы, основанные на изложенных выше принципах.

Во внутреннем пространстве капилляра, охлаждаемого окружающим воздухом или при помощи термостата, разделяемые ионы движутся к противоположному электроду. Как мы уже упоминали, ввиду того, что сечение капилляра очень мало, электрическое сопротивление раствора велико, а количество выделяемого джоулевого тепла незначительно. Кроме того, тонкий капилляр характеризуется большой величиной отношения внешней поверхности к объему, что способствует быстрому отводу тепла. Таким образом, в ходе разделения капилляр практически не нагревается, поэтому конвекционные потоки жидкости и вызванное этим уширение пиков весьма незначительны. В методе капиллярного электрофореза ширина пиков часто соответствует теоретически возможному минимуму, обусловленному лишь молекулярной диффузией, а число теоретических тарелок достигает 500 000 или даже миллиона.

Для детектирования можно использовать методы фотометрии (одноволновой УФ-детектор или диодная линейка), флуоресценции или различные электрохи-

мические методы. Детектор располагается вблизи одного из концов капилляра. Расстояние от детектора до противоположного конца капилляра называется *эффективной* длиной капилляра.

Электроосмотический поток и его использование для разделения веществ

Разделение веществ в методе капиллярного электрофореза в целом основано на тех же принципах, что и в классическом варианте. Однако капиллярные методы имеют одну особенность, связанную с наличием электроэндоосмотического потока, обычно называемого просто *электроосмотическим потоком*. Причина возникновения электроосмотического потока — образование *двойного электрического слоя* между раствором и внутренней поверхностью капилляра. Немодифицированная внутренняя поверхность кварцевого капилляра содержит множество силанольных групп, которые обладают кислотными свойствами и в щелочных средах диссоциируют с отщеплением протона. При этом внутренняя поверхность электрода заряжается отрицательно и притягивает из раствора положительно заряженные противоионы. В результате жидкость, находящаяся в капилляре, оказывается как бы заключенной в положительно заряженную с поверхности трубку (рис. 5.47). Поэтому при наложении напряжения весь объем жидкости, находящейся внутри капилляра, начинает двигаться к отрицательно заряженному электроду (катоду) как единое целое. Это движение и называется электроосмотическим потоком. Его скорость зависит от плотности отрицательного заряда на внутренней поверхности капилляра и, следовательно, от величины pH раствора (причем очень резко). Обычно электроосмотический поток наблюдается лишь при pH > 4. При этом чем выше pH, тем больше его скорость. Путем соответствующей химической модификации поверхности капилляра электроосмотический поток можно уменьшить, подавить или даже повернуть в противоположном направлении.

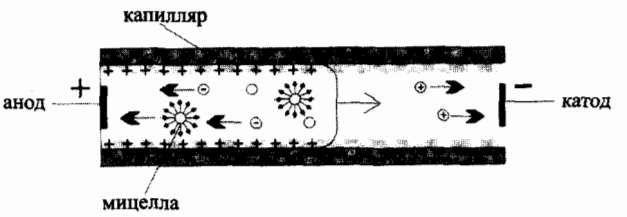


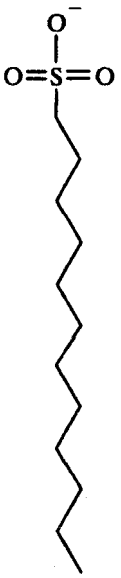
Рис. 5.47. Электроосмотический поток, возникающий в результате образования двойного электрического слоя между раствором и внутренней поверхностью капилляра.

Фронт электроосмотического потока имеет практически плоскую форму (рис. 5.47), что обусловливает равномерность течения жидкости вдоль сечения капилляра. Фронт же обычного гидродинамического потока, например, в любом варианте хроматографи, имеет параболическую форму. Ввиду равномерности электроосмотического потока его наличие не приводит к заметному дополнительному уширению пиков.

Если бы электроосмотического потока не было, то при наложении напряжения все положительно заряженные ионы двигались бы к катоду, а все отрицательно заряженные — к аноду. Однако электроосмотический поток вызывает

дополнительное перемещение к катоду *всего объема раствора*. Естественно, что при этом *положительно заряженные* ионы будут по-прежнему двигаться к катоду (причем с большей скоростью). Однако относительно направления движения отрицательно заряженных ионов уже нет однозначного ответа. Если собственная скорость движения иона превышает скорость электроосмотического потока (что бывает редко), то такой ион будет по-прежнему двигаться к аноду, хотя и с меньшей скоростью.

В противном же случае ион будет медленно перемещаться к катоду. К катоду, вместе с электроосмотическим потоком, перемещаются и все незаряженные частицы. Таким образом, детектор, установленный вблизи катода, будет регистрировать сначала катионы, затем нейтральные частицы и, наконец, некоторые анионы.



додецилсульфат

Очевидно, что в описанных условиях все незаряженные частицы движутся с одной и той же скоростью и поэтому не могут быть разделены. Однако их электрофоретическое разделение становится возможным, если ввести в раствор поверхностно-активное вещество, образующее *мицеллы*, например, додецилсульфат натрия. В водных растворах ядро мицеллы гидрофобно и может захватывать нейтральные молекулы. Внешний же слой мицелл заряжен. Поэтому в электрическом поле мицелла перемещается, унося с собой захваченную внутрь нейтральную молекулу (рис. 5.47).

Метод разделения нейтральных молекул в электрическом поле при помощи мицелл называется *мицеллярной электрокинетической капиллярной хроматографией*. Слово «хроматография» в названии метода не случайно. В отличие от всех остальных рассмотренных нами электрофоретических методов, здесь разделение веществ, как и в хроматографии, основано на *распределительном равновесии* с участием двух (псевдо)фаз — мицеллярной (аналог подвижной фазы в хроматографии) и фазой раствора (аналог неподвижной фазы).

Применение электрофоретических методов

Классический электрофорез (в «макроскопическом» масштабе) является одним из самых распространенных аналитических методов в биологии и биохимии, поскольку биомолекулы в большинстве случаев заряжены. Как правило, здесь применяют *электрофорез на полимерном носителе*. Использование носителя значительно уменьшает нежелательное влияние тепловых конвекционных потоков. Однако методы классического электрофореза с трудом поддаются автоматизации и поэтому часто оказываются длительными и трудоемкими.

Применение *капиллярного* электрофореза позволяет устранить самые главные проблемы метода — тепловую конвекцию и трудности детектирования. Капиллярный электрофорез — высокоэффективный метод, широко применяемый для определения *аминокислот, пептидов, белков, нуклеиновых кислот* и других *биополимеров*. Так, смесь фрагментов ДНК можно проанализировать за 10 мин, используя капилляр длиной 35 см и внутренним диаметром 50 мкм в среде борат-

ного буфера при напряжении на электродах 8 кВ с фотометрическим детектированием при 260 нм. При помощи классического электрофореза на полиамидном геле такой же анализ занимает около трех часов.

На рис. 5.48 приведены две электрофореграммы *смеси белков*. При использовании кварцевого капилляра с немодифицированными внутренними стенками (рис. 5.48 (а)) необходимо использовать достаточно высокую концентрацию буферного раствора, чтобы предотвратить адсорбцию разделяемых веществ на стенках капилляра. При внимательном рассмотрении электрофореграммы видно, что пики несимметричны и имеют «хвосты». Если же поверхность капилляра покрыть поливиниловым спиртом (рис. 5.48 (б)), то пики становятся симметричными. В данном случае при эффективной длине капилляра 57 см число теоретических тарелок составляет около 1000 000.

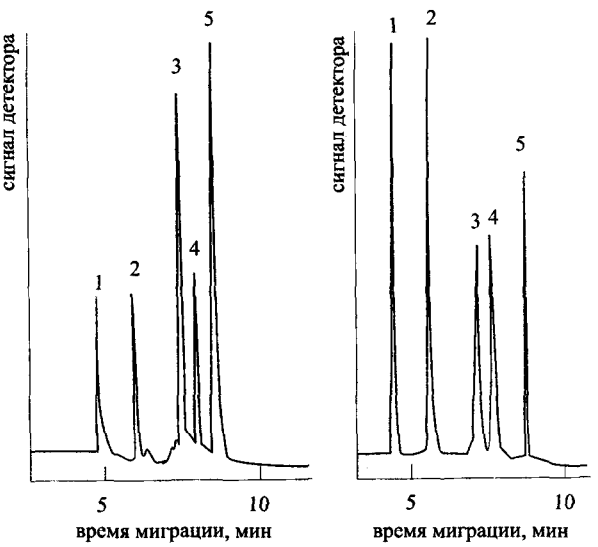


Рис. 5.48. Анализ смеси белков методом капиллярного электрофореза с использованием немодифицированного капилляра (а) и капилляра, покрытого слоем поливинилового спирта (б). 1 — цитохром, 2 — лизоцим, 3 — трипсин, 4 — трипсиноген, 5 — α-химотрипсин. Капилляр: эффективная длина 57 см, общая длина 70 см, внутренний диаметр 50 мкм. Буфер: фосфатный, pH 3, 150 мМ (а), 50 мМ (б). Напряжение 30 кВ. Ввод пробы: электрокинетический, 15 кВ, 5 с. Детектирование: УФ, 214 нм.

Методом электрофореза можно определять и *низкомолекулярные ионы*, в частности, катионы и анионы, содержащиеся в биологических жидкостях. *Диапазон линейности* зависимости сигнала детектора от концентрации в этих случаях составляет обычно три порядка и выше.

Применение мицеллообразования позволяет определять методом мицеллярной электрокинетической хроматографии и *нейтральные молекулы*. Это используют при анализе объектов окружающей среды, например, для определения фенолов.

5.5. Сочетание хроматографии и спектроскопии

Сочетание нескольких методов анализа в одно целое позволяет резко увеличить объем извлекаемой информации о веществе. В данном разделе мы рассмотрим

те дополнительные возможности, которые открываются в результате сочетания методов хроматографии и спектроскопии.

Одновременное использование этих двух методов позволяет получать данные в виде зависимости *интенсивности* сигнала одновременно от *времени удерживания* и *длины волны*. Графически ее можно представить в форме трехмерной диаграммы (рис. 5.25).

Возможности сочетания отдельных методов хроматографии и спектроскопии представлены в табл. 5.15. Сочетание газовой хроматографии с масс-спектрометрией и жидкостной хроматографии с УФ-спектроскопией используется повсеместно. Постепенно возрастает и роль комбинации жидкостная хроматография — масс-спектрометрия, а также применение атомно-эмиссионной спектроскопии с различными источниками возбуждения в сочетании с газовой и жидкостной хроматографией. Наиболее важные комбинации хроматографических и спектроскопических методов будут подробнее рассмотрены ниже.

Таблица 5.15. *Возможности сочетания* хроматографических и спектроскопических методов. +++ — используется повсеместно, ++ — используется часто, + — принципиально возможно.

Хроматография	Спектроскопия				
	МС	УФ	ИК	ААС	АЭС
ГХ	+++		++		++
ВЭЖХ	++	+++		+	++

ГХ — газовая хроматография, ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография, МС — масс-спектрометрия, УФ — УФ-спектроскопия, ИК — ИК-спектроскопия, ААС — атомно-абсорбционная спектроскопия, АЭС — атомно-эмиссионная спектроскопия.

Сочетание газовой хроматографии и масс-спектрометрии

Техническая реализация

Для *капиллярной газовой хроматографии* объединение хроматографа и масс-спектрометра не встречает технических трудностей. В этом случае скорость потока газа-носителя (1–25 мл/мин) достаточно мала, и выходящий газовый поток можно непосредственно вводить в ионизационную камеру масс-спектрометра.

При использовании *набивных* колонок поток газа слишком велик и не может быть введен в вакуумированную систему масс-спектрометра непосредственно. Поэтому между колонкой и масс-спектрометром устанавливают *сепаратор*.

Действие сепаратора основано на принципе *молекулярных пучков*. Наиболее распространенная конструкция сепаратора представлена на рис. 5.49. Поток газа из колонки поступает через сопло в камеру, из которой непрерывно откачивается газ. При этом преимущественно откачиваются молекулы газа-носителя как более легкие. Поэтому газовая среда относительно обогащается (примерно на 50%)

молекулами определяемого вещества. Часть разреженного газового потока через трубку-переходник поступает в ионизатор масс-спектрометра.

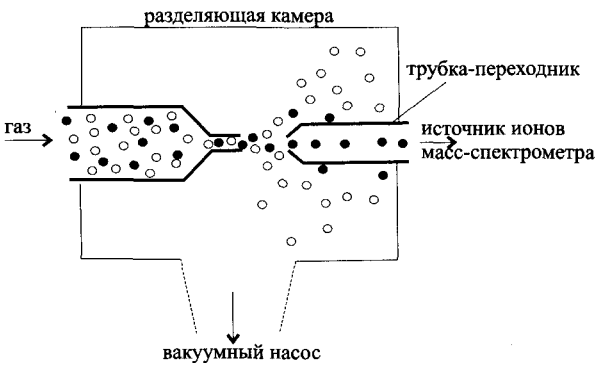


Рис. 5.49. Сепаратор для соединения набивной газо-хроматографической колонки и масс-спектрометра. Темные кружки — молекулы определяемого вещества, светлые кружки — молекулы газа-носителя.

Обычно в сочетании с газовой хроматографией используют квадрупольные или секторные магнитные масс-анализаторы. Соответствующие приборы — хромато-масс-спектрометры — серийно выпускаются промышленностью.

Регистрация масс-хроматограмм

В ходе хроматографического разделения с масс-спектрометрическим детектированием можно регистрировать *полный ионный ток* — сумму ионных токов, отвечающих всевозможным массовым числам — как функцию от времени удерживания.

Можно также настроить масс-спектрометрический детектор на одно или несколько определенных значений массового числа и непрерывно регистрировать соответствующие ионные токи (селективный мониторинг ионов). Преимуществом этого способа является возможность более длительной регистрации, что увеличивает чувствительность определения.

Для одного пика или всей хроматограммы в целом можно регистрировать и полный масс-спектр. Обработку и графическое представление полученной *масс-хроматограммы* обычно осуществляют при помощи компьютера. В частности, масс-хроматограмму можно представить в виде набора отдельных масс-спектров и идентифицировать вещества, пользуясь *библиотекой масс-спектров*.

Практическое применение

Сочетание газовой хроматографии и масс-спектрометрии — очень мощный метод *идентификации* органических веществ по их масс-спектрам. Этим методом можно анализировать пробы сложного состава — природные и сточные воды, продукты питания (в частности, для определения вкусовых и ароматических добавок), определять различные метаболиты в биологических жидкостях.

Путем сравнения масс-спектров, зарегистрированных на *краях пика*, можно судить о том, насколько этот пик соответствует индивидуальному веществу и, таким образом, о полноте хроматографического разделения. Часто для контроля полноты разделения вычисляют отношения интенсивностей характерных

масс-спектрометрических пиков при определенных массовых числах. При полном разделении эти отношения должны быть постоянны на всем протяжении хроматографического пика.

Сочетание жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии

Как и для газовой хроматографии, для ВЭЖХ масс-спектрометрическое детектирование представляет интерес в первую очередь в плане расширения возможностей *идентификации* веществ в многокомпонентных смесях. Однако ввиду использования достаточно больших объемов жидкой фазы в ВЭЖХ непосредственный ввод потока элюата в вакуумную систему масс-спектрометра, как правило, невозможен. Некоторую часть потока можно ввести в масс-спектрометр непосредственно лишь при использовании *микрокапиллярных колонок*, для которых скорость потока жидкой фазы составляет от 10 до 50 мкл/мин. Во всех остальных случаях необходимо применять специальные устройства сопряжения.

Одним из первых таких устройств была движущаяся лента-транспортер, при помощи которой поток жидкости, выходящий из колонки, поступал в нагревательную камеру, где растворитель испарялся. Затем пробу переносили в ионизационную камеру масс-спектрометра и ионизировали ее при помощи десорбционных методов.

В настоящее время для определения неполярных и умеренно полярных веществ чаще всего применяют струйный интерфейс. Полярные соединения определяют, используя термораспыление или химическую ионизацию при атмосферном давлении. Для определения высокополярных, ионных и высокомолекулярных веществ используют электрораспыление.

Сопряжение при помощи пучка частиц (струйный интерфейс)

Устройство струйного интерфейса напоминает сепаратор для сопряжения газового хроматографа и масс-спектрометра (*см.* рис. 5.47). Элюат со скоростью 0,1–1 мл/мин поступает в распылительную камеру, где под действием потока гелия превращается в аэрозоль (аналогично устроен и распылитель в атомно-абсорбционных спектрометрах). Затем аэрозоль перемещается в десольватационную камеру, температура в которой составляет 50°С, а давление — порядка $3 \cdot 10^4$ Па. Здесь растворитель улетучивается, а определяемое вещество переходит в форму микроскопических взвешенных капелек. В следующей, разделительной, камере пары растворителя отсасывают при помощи насоса, а пучок частиц определяемого вещества через сопло и трубку-переходник поступает в масс-спектрометр. Перед ионизацией частицы вещества испаряют в вакууме при температуре 250°С.

Для *ионизации* можно использовать методы электронного удара или химической ионизации. Описанный способ сопряжения применим как для нормально-фазовой, так и для обращенно-фазовой хроматографии в изократическом или градиентном режиме. Однако, поскольку здесь требуется полное испарение растворителя, подвижная фаза не должна содержать нелетучих компонентов — в частности, *буфера*. Струйный интерфейс применяют обычно при определении неполярных веществ.

Термораспыление

Для определения полярных веществ удобным методом сопряжения и одновременно ионизации является *термораспыление*. Поток жидкой подвижной фазы, выходящий из колонки со скоростью порядка 2 мл/мин, поступает в нагреваемый капилляр, где жидкость частично испаряется, а частично распыляется (рис. 5.50). Образуется аэрозоль, состоящий из частиц растворителя и определяемого вещества. Особенностью метода термораспыления является то, что здесь не требуется внешнего источника ионизации. Для осуществления ионизации в жидкую фазу добавляют специальный реагент, обычно ацетат аммония, который образует с молекулами определяемого вещества аддукты с ионом NH_4^+. Они поступают непосредственно в масс-анализатор.

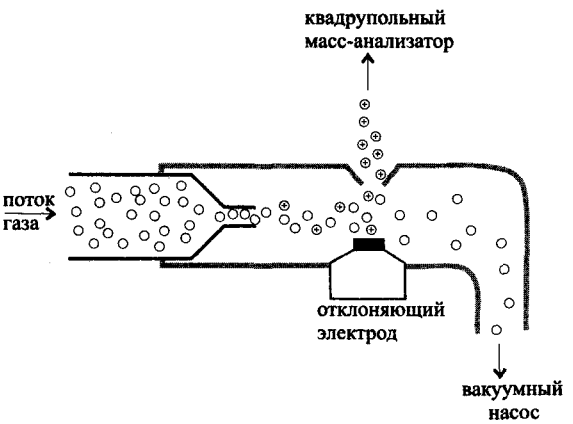


Рис. 5.50. Сочетание ВЭЖХ с масс-спектрометрией посредством термораспыления. Отклоняющий электрод служит для направления потока ионов к масс-анализатору. Он должен быть заряжен одноименно с определяемыми ионами.

Термораспыление является *мягким* методом ионизации. Масс-спектры, получаемые с использованием термораспыления, достаточно просты и содержат молекулярный пик, а значительного фрагментирования, как при электронном ударе, не происходит. Таким образом, возможности идентификации веществ по их масс-спектрам довольно ограничены. Поскольку ионизирующий реагент — соль аммония — должен быть хорошо растворим в подвижной фазе, она должна быть полярной. Таким образом, метод термораспыления применим главным образом к определению полярных веществ методом обращенно-фазовой хроматографии, использующей полярные подвижные фазы.

При использовании термораспыления можно регистрировать масс-спектры большинства полярных, нелетучих, термически устойчивых соединений, в частности, пептидов и нуклеотидов. Пределы обнаружения составляют до 1 пг.

Ионизация при атмосферном давлении

Ионизация при атмосферном давлении может осуществляться посредством электрораспыления или как химическая ионизация. Здесь поток элюата также превращают в аэрозоль, а затем ионизируют при атмосферном давлении.

В методе электрораспыления как распыление, так и последующая ионизация осуществляются под действием электрического поля высокой напряженности.

Элюат поступает в стальной капилляр, являющийся одним из электродов. Между ним и вторым электродом создают разность потенциалов около 3 кВ.

Метод электрораспыления применим для определения умеренно и высокополярных, ионных и высокомолекулярных соединений. При определении веществ, молекулы которых содержат множество функциональных групп, например, белков, часто образуются многократно заряженные ионы. При этом массовое число иона уменьшается по сравнению с молекулярной массой вещества в соответствующее число раз. Поэтому даже при использовании недорогих квадрупольных масс-анализаторов с верхней границей массовых чисел порядка 3000 дальтон становится возможно определение веществ с очень высокой молекулярной массой. Ограничение метода электрораспыления — необходимость очень малых скоростей потока жидкой фазы (1–10 мкл/мин). При более высоких скоростях применяют метод ионного распыления, в котором аэрозоль создают с помощью быстрого потока газа.

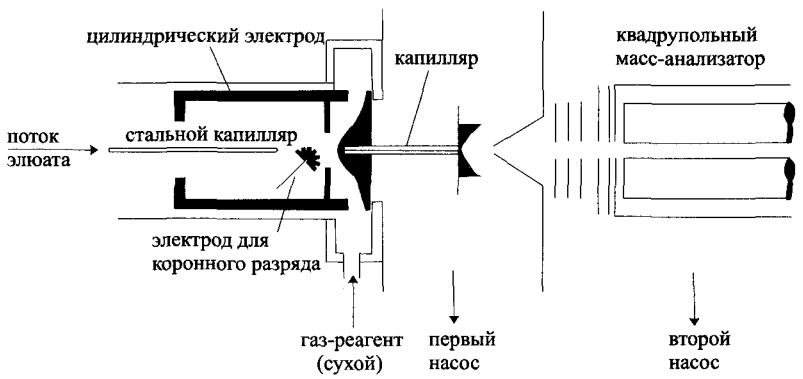


Рис. 5.51. Сопряжение жидкостного хроматографа и масс-спектрометра посредством электрораспыления или химической ионизации при атмосферном давлении.

Метод химической ионизации при атмосферном давлении с аппаратурной точки зрения очень похож на метод электрораспыления. Оба вида сопряжения хроматографа и масс-спектрометра можно реализовать в одном техническом устройстве (рис. 5.51). В методе химической ионизации распыление потока элюата осуществляют пневматически. Полученный аэрозоль смешивают с газом-реагентом, а источником ионизации служит коронный электрический разряд.

Сочетание газовой хроматографии и ИК-спектроскопии

Для детектирования в газовой хроматографии посредством ИК-спектроскопии с фурье-преобразованием используют газовую кювету — стеклянный капилляр длиной от 10 до 40 см и внутренним диаметром 1–3 мм. Внутренние стенки капилляра покрыты слоем золота, поэтому при прохождении через капилляр светового потока наблюдается многократное отражение (рис. 5.52). Для предотвращения конденсации паров определяемого вещества газовую кювету непрерывно обогревают током горячего газа с температурой до 300°C.

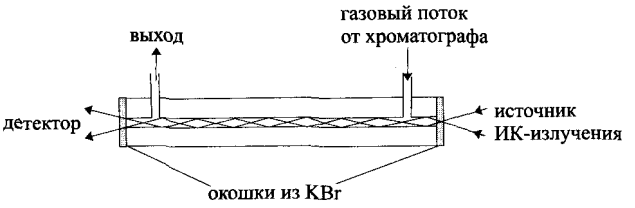


Рис. 5.52. Устройство газовой кюветы для сопряжения газовой хроматографии и ИК-спектроскопии с фурье-преобразованием.

Для регистрации поглощения в ИК-области используют высокочувствительные детекторы, например, на основе теллурида кадмия–ртути. Их охлаждают жидким азотом.

Для регистрации хроматографических пиков применяют универсальный неразрушающий детектор, обычно катарометр. Как и при использовании масс-спектрометрического детектирования, при ИК-детектировании возможно регистрировать как общую величину поглощения, так и поглощение при определенных длинах волн, а также ИК-спектров целиком. Однако, если использовать полученные ИК-спектры для идентификации веществ, то следует иметь в виду, что библиотечные ИК-спектры, как правило, относятся к веществам в жидком или твердом состоянии. В газовой же фазе спектры содержат дополнительные полосы, обусловленные вращательными переходами молекул. Напротив, полосы, обусловленные межмолекулярными взаимодействиями, например, водородными связями, в газовой фазе, как правило, не наблюдаются.

Другие способы сочетания

Существуют и другие способы сочетания хроматографических и спектроскопических методов. О некоторых из них, например, о сочетании жидкостной хроматографии и УФ-спектроскопии с многоканальной регистрацией, мы уже упоминали (рис. 5.25).

В газовой хроматографии используют и сочетание с атомно-эмиссионным детектированием (раздел 5.2). В этом случае поток газа-носителя поступает через нагретый капилляр непосредственно в плазму. В газовой хроматографии обычно используют атомизатор на основе микроволновой, а в жидкостной — на основе индуктивно-связанной плазмы. Хроматография с атомно-эмиссионным детектированием — очень удобный способ определения *отдельных химических форм* какого-либо элемента. В разделе, посвященном анализу объектов окружающей среды (8.1), мы рассмотрим пример определения отдельных форм мышьяка (рис. 8.5).

Сочетание ВЭЖХ с атомно-абсорбционным детектированием осуществить особенно просто при использовании гидридной техники для определения элементов, образующих летучие гидриды (раздел 3.2.1).

Возможные комбинации различных методов анализа не ограничиваются лишь сочетанием методов хроматографии и спектроскопии. Можно комбинировать между собой отдельные хроматографические методы. Аналогично, возможны и сочетания спектроскопических методов, например, в форме тандемной масс-спектрометрии (см. раздел 3.5). Следует ожидать, что в будущем появятся новые

гибридные методы, сочетающие в себе уже несколько хроматографических и спектроскопических методов в различных комбинациях.

5.6. Литература

G.Schomburg, Gaschromatographie — Grundlagen, Praxis, Kapillartechnik, VCH, Weinheim, 1987.

G.Guichon, L.Guillemin, Quantitative Gas Chromatography, Elsevier, Amsterdam, 1988.

K.K.Unger (Hrsg.), Handbuch der HPLC, Teil 1 bis 3, GIT-Verlag, Darmstadt, 1986.

L.R.Snyder, J.L.Glajch, J.J.Kirkland, Practical HPLC Method Development, Wiley, New York, 1988.

K.Zielow, H.-P.Frey, Qualitative und quantitative Dünnschichtchromatographie — Grundlagen und Praxis, VCH, Weinheim, 1993.

H.Engelhardt, W.Beck, T.Schmitt, Kapillarelektrophorese, Vieweg, Braunschweig/ Wiesbaden, 1994.

ГЛАВА 6

ХЕМОМЕТРИКА

Сейчас компьютер стал неотъемлемой деталью любой химико-аналитической лаборатории. В современных аналитических приборах компьютер служит средством управления, обработки, хранения и интерпретации данных. Даже простое представление данных в графической форме и их численную обработку уже трудно себе представить без помощи компьютера.

Применение компьютеров в аналитической химии и осуществляемые с их помощью математические и статистические методы обработки данных составляют предмет особого раздела аналитической химии, называемого *хемометрикой*.

В разделе 1.3 мы уже кратко касались простейших статистических приемов обработки химико-аналитических данных. Однако для осуществления всестороннего контроля качества результатов следует использовать и ряд более сложных методов. К ним в первую очередь относятся разнообразные статистические тесты, применяемые для проверки результатов анализа в соответствии с определенными алгоритмами.

Методы хемометрики незаменимы, когда требуется выделить полезный сигнал на фоне шумов, оптимизировать методику анализа или обработать информацию, представленную в виде многомерного массива данных — спектра, хроматограммы или хроматоспектра (см. раздел 5.5).

6.1. Компьютерно-ориентированные методы обеспечения качества результатов анализа

В основе всех понятий, характеризующих качество результатов анализа или методик таких, как точность, чувствительность и т. д., так или иначе лежит представление о *случайном характере* результатов измерения. Их случайный характер проявляется в том, что при многократном повторении измерительного процесса каждый раз будет получено, вообще говоря, другое значение. При этом между отдельными значениями может наблюдаться или не наблюдаться какая-либо зависимость. Мы рассмотрим лишь методы анализа некоррелированных, т. е. независимых друг от друга, данных. Для исследования *коррелированных данных*, которые, в частности, могут встретиться в ходе производственного анализа (ряд значений концентрации продукта, закономерно изменяющихся с течением времени), используют специальные методы, например, анализ временных рядов.

Распределение случайных величин

Для определения понятия *«распределение случайной величины»* рассмотрим сначала частоты попадания случайных данных в тот или иной интервал значений.

В качестве примера проанализируем набор величин оптической плотности, полученных для одного и того же раствора при многократных фотометрических измерениях (табл. 6.1). В табл. 6.2 приведены 9 интервалов значений и число результатов, попавших в соответствующий интервал. Графически данные табл. 6.2 можно представить в виде гистограммы (рис. 6.1).

Таблица 6.1. Результаты повторных измерений оптической плотности одного и того же раствора. Среднее значение равно 0,2397.

Измерение	Значение	Измерение	Значение
1	0,2350	9	0,2410
2	0,2400	10	0,2419
3	0,2379	11	0,2410
4	0,2400	12	0,2430
5	0,2360	13	0,2418
6	0,2370	14	0,2360
7	0,2400	15	0,2400
8	0,2450		

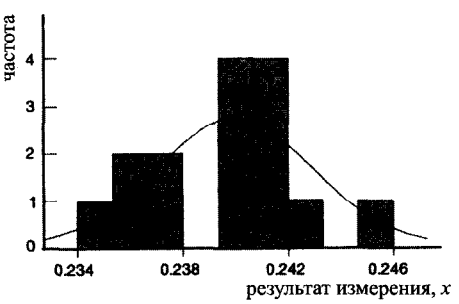


Рис. 6.1. Представление частот попадания данных из табл. 6.1 в интервалы значений в виде гистограммы и теоретическое распределение частот (кривая Гаусса).

При неограниченном увеличении числа измерений и, соответственно, неограниченном сужении интервалов значений экспериментальная гистограмма в пределе превратится в плавную колоколообразную кривую, называемой кривой *гауссова* или *нормального распределения* (рис. 6.1). Математически кривая нормального распределения описывается следующим уравнением:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}, \qquad (6.1)$$

где $f(x)$ — относительная частота (плотность вероятности), σ — стандартное отклонение, μ — среднее значение, x — результат измерения или, в общем случае, произвольная случайная переменная.

Среднее значение характеризует *положение*, а стандартное отклонение — форму (ширину) гауссовой кривой, т. е. *разброс* данных (рис. 6.2).

По традиции в статистике греческими буквами (в данном случае — μ и σ) принято обозначать параметры, относящиеся к *бесконечной* (генеральной) совокупности данных. При наличии конечного числа данных можно рассчитать лишь приближенные, случайные *оценки* этих параметров. Они обычно обозначаются соответствующими латинскими буквами (за исключением среднего, которое обозначается при помощи черты над символом переменной). С использованием

таких оценочных значений кривую Гаусса можно приближенно описать как

$$f(x) \approx \frac{1}{s\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\bar{x})^2}{2s^2}}, \tag{6.2}$$

где s — оценка стандартного отклонения,
$\bar{x}$ — оценка среднего значения.

Таблица 6.2. Частота попадания данных из табл. 6.1 в интервалы значений.

Интервал значений	Частота(число данных)	Относительная частота, %
0,2340–0,2353	1	6,67
0,2353–0,2367	2	13,33
0,2367–0,2380	2	13,33
0,2380–0,2393	0	0
0,2393–0,2407	4	26,67
0,2407–0,2420	4	26,67
0,2420–0,2433	1	6,67
0,2433–0,2447	0	0
0,2447–0,2460	1	6,67

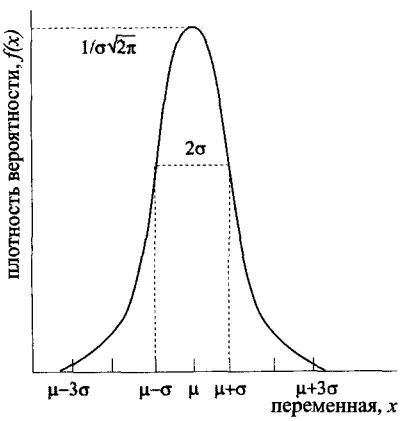


Рис. 6.2. Кривая плотности вероятности нормального распределения (уравнение (6.1)) для среднего значения μ и стандартного отклонения σ.

При наличии серии из n результатов эти оценки вычисляются следующим образом (см. уравнения (1.5) и (1.6)):

$$\bar{x} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} x_i, \tag{6.3}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}. \tag{6.4}$$

Другие статистические распределения

Нормальное распределение — не единственная математическая модель, которая может описывать статистическое распределение результатов измерения (и вообще случайных величин). Например, вероятность обнаружить в партии из определенного числа изделий, среди которых могут быть хорошие и бракованные, заданное число хороших изделий описывается моделью *биномиального распределения* (см. также уравнение (2.160)). Если результат измерения представляет собой определенное число относительно редко происходящих событий, например, число импульсов, регистрируемых пропорциональным счетчиком (раздел 3.2.3), то распределение таких данных, как правило, хорошо описывается моделью *распределения Пуассона*. Однако в большинстве случаев при достаточно большом числе данных (измерений) подобные модели приближаются к нормальному распределению.

Среди специальных типов распределений в математической статистике большую роль играют те, которые используются при проведении *статистических тестов*. К ним в первую очередь относятся F- и t-распределения.

Другие характеристики положения и разброса данных

Для характеристики положения и разброса данных чаще всего используют, соответственно, среднее значение (уравнение (6.3)) и стандартное отклонение (уравнение (6.4)). Однако можно использовать и другие характеристики.

Так, при клинических испытаниях вместо среднего часто используют *медиану*. Медиана представляет собой среднее *по порядку* значение в серии данных, упорядоченных по возрастанию. Для данных, приведенных в табл. 6.1, медиана равна 0,2400. Для несимметрично распределенных данных медиана является более реалистичной оценкой, чем среднее. Для симметричных распределений медиана и среднее (в пределе) совпадают.

Для характеристики разброса данных можно, наряду со стандартным отклонением и его квадратом (дисперсией), использовать величину, называемую *размахом* серии. Она представляет собой разность между наибольшим и наименьшим значением. Для данных из табл. 6.1 размах составляет $0,2450-0,2350 = 0,0100$.

Статистические тесты и критерии проверки гипотез

Нормированное гауссово распределение

Обычно при статистической проверке результатов химического анализа исходят из того, что они подчиняются нормальному (гауссовому) распределению. Для удобства в качестве стандартного распределения используют так называемое нормированное гауссово распределение, для которого среднее равно 0, а стандартное отклонение — 1. Чтобы произвольное гауссово распределение с параметрами μ и σ преобразовать к нормированному, вводят новую переменную z, равную

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma}. \qquad (6.5)$$

При обработке экспериментальных данных вместо μ и σ используют их оценки $\bar{x}$ и s.

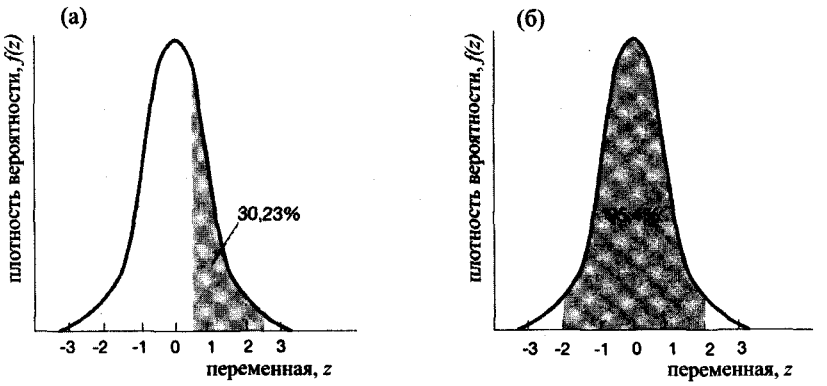


Рис. 6.3. Примеры интегрирования функции нормального распределения в заданных пределах: между значениями z от 0,5 до 2,5 (а) и от -2 до 2 (б).

В результате подстановки выражения (6.5) в общее уравнение нормального распределения (6.1) получаем следующее выражение для математической модели нормированного гауссова распределения:

$$f(z) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{z^2}{2}}. \tag{6.6}$$

Как видно из рис. 6.2, вероятность появления значений, сильно отличающихся от среднего (например, более, чем на 3σ), довольно мала. Для любой заданной вероятности P можно определить интервал значений, в который величина попадет с вероятностью P. Соответственно, вероятность того, что величина не попадет в этот интервал, равна $\alpha = 1 - P$. Вероятность P равна площади участка под кривой распределения в заданных границах. Эту вероятность можно рассчитать, используя интеграл от функции нормированного гауссова распределения (интеграл Гаусса). График этой функции приведен на рис. 6.4.

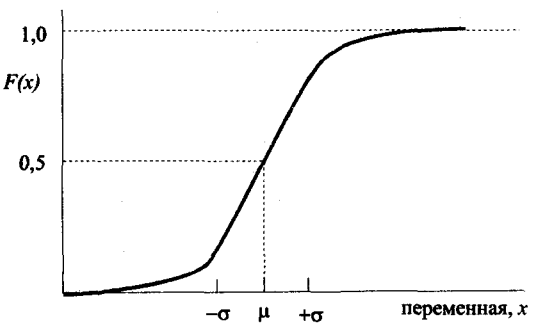


Рис. 6.4. Интеграл от функции нормированного гауссова распределения.

Пример. Какова вероятность того, что результат измерения окажется между значениями 27,5 и 37,5, если среднее значение равно $\mu = 25,0$, а дисперсия $\sigma^2 = 25,0$?

Преобразуем данные в соответствии с формулой (6.5):

$$z_1 = \frac{27,5 - 25,0}{\sqrt{25,0}} = 0,5, \qquad z_2 = \frac{37,5 - 25,0}{\sqrt{25,0}} = 2,5.$$

Значения интеграла Гаусса для 0,5 и 2,5 (которые можно взять из соответствующих таблиц, так как эта функция не выражается через элементарные функции) равны, соответственно, 0,99379 и 0,69146. Искомая вероятность равна $0,99379 - 0,69146 = 0,30233$, или 30,23% (см. рис. 6.3 (а)).

В табл. 6.3 приведены некоторые практически важные значения вероятностей нахождения величины в тех или иных интервалах. Один из этих случаев (нахождение величины в интервале $\mu \pm 2\sigma$) графически проиллюстрирован на рис. 6.3 (б).

Таблица 6.3. Вероятности нахождения случайной величины в некоторых границах.

Границы значений x		Вероятность попадания в интервал P, %	Вероятность непопадания в интервал α, %
x_1	x_2		
$\mu - 1\sigma$	$\mu + 1\sigma$	68,3	31,7
$\mu - 2\sigma$	$\mu + 2\sigma$	95,4	4,6
$\mu - 3\sigma$	$\mu + 3\sigma$	99,7	0,3
$\mu - 1,96\sigma$	$\mu + 1,96\sigma$	95,0	5,0
$\mu - 2,58\sigma$	$\mu + 2,58\sigma$	99,0	1,0
$\mu - 3,29\sigma$	$\mu + 3,29\sigma$	99,9	0,1

В химическом анализе для проверки результатов чаще всего используют значения P, равные 0,95 или 0,99.

Еще раз отметим, что распределение Гаусса строго применимо лишь для описания бесконечно большой серии данных, для которой величины μ и σ известны *точно*. Если же известны лишь их *приближенные* оценки $\bar{x}$ и s, то для расчета вероятностей и соответствующих им границ значений вместо распределения Гаусса следует использовать распределение Стьюдента (t-распределение). Оно очень часто используется в различных статистических тестах.

Сравнение среднего значения и константы: простой t-тест Стьюдента

Экспериментальное среднее значение, рассчитанное из конечного числа данных — случайных значений, также является случайной величиной. Поэтому для проверки любых предположений о возможном значении среднего следует использовать *статистические тесты проверки гипотез*. Отметим, что любой статистический тест может подтвердить или отвергнуть выдвигаемую гипотезу лишь с некоторой *статистической вероятностью*.

Для сравнения экспериментального среднего $\bar{x}$ для конечного числа данных и среднего μ для бесконечного числа данных (или какой-либо иной постоянной, точно известной величиной) используют простой t-тест Стьюдента. Условием его применимости является подчинение исходных данных (значений x) нормальному распределению.

Выдвинем гипотезу H_0 о том, что величины $\bar{x}$ и μ представляют собой, по сути, одно и то же значение, а возможное различие между ними носит чисто *случайный* характер. Назовем эту гипотезу *нуль-гипотезой* и символически запишем ее как $\bar{x} = \mu$. Подчеркнем, что знак равенства здесь не следует понимать

в буквальном, «арифметическом» смысле: численно величины $\bar{x}$ и μ могут различаться, знак равенства символизирует лишь то, что это отличие не выходит за рамки случайного.

Альтернативная гипотеза H_1 состоит в том, что различие между $\bar{x}$ и μ *не случайно*. Это утверждение можно символически записать как $\bar{x} \neq \mu$.

Поскольку проверка гипотез носит статистический характер, всегда существует вероятность ошибочно принять или отвергнуть как нуль-гипотезу, так и альтернативную гипотезу. Как правило, заранее задают некоторую достаточно малую допустимую вероятность ошибочно *принять альтернативную* гипотезу (или, что то же самое, ошибочно *отвергнуть нуль-гипотезу*). Эту вероятность, называемую *уровнем значимости*, обозначают α и обычно выбирают равной 0,05 или 0,01 (см. табл. 6.3).

Простой t-тест Стьюдента для проверки гипотезы о различии между средним $\bar{x}$ и постоянной величиной μ начинается с вычисления величины t, называемой *тестовой статистикой*:

$$t = \frac{|\bar{x} - \mu|}{s}\sqrt{n}, \tag{6.7}$$

где s — оценка стандартного отклонения той серии данных, из которой рассчитана величина $\bar{x}$;
n — число данных в этой серии.

Затем рассчитанное значение t сравнивают с табличным критическим значением функции t-распределения для выбранного уровня значимости α и числа степеней свободы $f = n-1$ (табл. 6.4). Если рассчитанное значение не превышает табличного, принимают нуль-гипотезу, в противном случае — альтернативную гипотезу.

Пример. Для стандартного образца сточной воды было выполнено три параллельных определения содержания фенола. Среднее значение составило $\bar{x} = 0,513$ мг/л, а стандартное отклонение $s = 0,05$ мг/л. Аттестованное содержание фенола в образце составляет $\mu = 0,52$ мг/л. Можно ли утверждать, что погрешность определения носит случайный характер? Уровень значимости $\alpha = 0,05$.

Сформулируем нуль-гипотезу и альтернативную гипотезу.

$$H_0 : \bar{x} = \mu,$$
$$H_1 : \bar{x} \neq \mu,$$
$$t = \frac{|0,513 - 0,52|}{0,05}\sqrt{3} = 0,242.$$

Из табл. 6.4 находим критическое значение (для двустороннего теста) $t(\alpha = 5\%, f = 2) = 4,303$. Поскольку рассчитанное значение меньше критического, различие между величинами незначимо, т. е. случайно.

В этом примере мы использовали тест Стьюдента в двустороннем варианте, поскольку нас интересовало, есть ли вообще значимое различие (в любую сторону) между сравниваемыми величинами. Односторонний вариант теста следует применять в тех случаях, когда важно выяснить, превышает или нет экспериментальное значение некоторую заданную величину. Можно ли, например, из

приведенных данных утверждать, что содержание фенола превышает предельно допустимую для стран Европейского Союза величину, равную $0,5\,г/л$? В этом случае нуль-гипотеза и альтернативная гипотеза будут выглядеть так:

$$H_0 : \bar{x} \leq \mu, \qquad H_1 : \bar{x} > \mu,$$

$$t = \frac{|0,513 - 0,5|}{0,05}\sqrt{3} = 0,45.$$

Теперь (односторонний вариант теста!) табличное значение равно

$$t(\alpha = 5\%,\ f = 2) = 2,920.$$

И в этом случае рассчитанное значение также меньше критического. Утверждать о превышении предельно допустимой концентрации нет оснований.

Таблица 6.4. Критические значения для двустороннего и одностороннего t-теста Стьюдента для различных уровней значимости α и чисел степеней свободы f от 1 до 20.



Двусторонний t-тест Стьюдента			Односторонний t-тест Стьюдента		
f	$\alpha = 5\%$	$\alpha = 1\%$	f	$\alpha = 5\%$	$\alpha = 2,5\%$
1	12,706	63,657	1	6,314	12,706
2	4,303	9,925	2	2,920	4,303
3	3,182	5,841	3	2,353	3,182
4	2,776	4,604	4	2,132	2,776
5	2,571	4,032	5	2,015	2,574
6	2,447	3,707	6	1,943	2,447
7	2,365	3,499	7	1,895	2,365
8	2,306	3,355	8	1,860	2,306
9	2,262	3,250	9	1,833	2,262
10	2,228	3,169	10	1,812	2,228
11	2,201	3,106	11	1,796	2,201
12	2,179	3,055	12	1,782	2,179
13	2,160	3,012	13	1,771	2,160
14	2,145	2,977	14	1,761	2,145
15	2,131	2,947	15	1,753	2,131
16	2,120	2,921	16	1,746	2,120
17	2,110	2,898	17	1,740	2,110
18	2,101	2,878	18	1,734	2,101
19	2,093	2,861	19	1,729	2,093
20	2,086	2,845	20	1,725	2,086

Сравнение двух средних значений: расширенный t-тест Стьюдента

Сравнение двух средних значений $\bar{x}_1$ и $\bar{x}_2$ производится аналогично сравнению среднего и константы. Для этого случая тестовая статистика вычисляется как

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_d}\sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}. \qquad (6.8)$$

Здесь: n_1, n_2 — числа значений в сериях данных, из которых рассчитаны, соответственно, $\bar{x}_1$ и $\bar{x}_2$; s_d — среднее стандартное отклонение, вычисляемое как

$$s_d = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}.$$

Нуль-гипотеза о равенстве значений $\bar{x}_1$ и $\bar{x}_2$ (точнее говоря, о том, что их возможное различие носит лишь случайный характер) принимается, если рассчитанное значение t не превышает табличную величину $t(\alpha, f = n_1 + n_2 - 2)$.

Предпосылкой применения расширенного t-теста, помимо подчинения исходных данных нормальному закону распределения, является однородность дисперсий s_1^2 и s_2^2. Термин «однородность» означает отсутствие значимого различия, т. е. тот факт, что возможное различие между численными величинами дисперсий можно объяснить лишь случайными причинами. Символически это можно записать как $s_1^2 = s_2^2$, если понимать знак равенства так же, как в выражении $\bar{x} = \mu$ (см. выше). Гипотезу об однородности двух дисперсий проверяют при помощи еще одного статистического теста, называемого F-тестом Фишера.

Сравнение двух дисперсий: F-тест Фишера

Для сравнения двух дисперсий применяют F-тест Фишера. Тестовая статистика в этом случае обозначается как F и вычисляется как отношение большей по величине дисперсии к меньшей:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \qquad (s_1^2 > s_2^2). \tag{6.9}$$

Как и при использовании теста Стьюдента, нуль-гипотеза $s_1^2 = s_2^2$ принимается, если рассчитанное значение F меньше критической табличной величины F для заданного уровня значимости α и чисел степеней свободы $f_1 = n_1 - 1$ и $f_2 = n_2 - 1$. Критические табличные величины F-распределения для уровней значимости 1% и 5% приведены в табл. 6.5.

Сравнение нескольких средних значений: простой дисперсионный анализ

Помимо сравнения *одного* среднего значения с константой (уравнение (6.7)) и *двух* средних значений между собой (уравнение (6.8)), часто возникает необходимость сравнения нескольких (более двух) средних значений. Предположим, что в одном и том же образце питьевой воды определяли содержание нитратов в четырех различных лабораториях. В каждой лаборатории выполнили по три параллельных определения и рассчитали среднее значение (табл. 6.6). Средние значения, полученные в различных лабораториях, находятся в диапазоне от 10,20 до 10,77 мг/л.

Установить, является ли различие между средними величинами случайным или нет, можно при помощи *простого дисперсионного анализа*. В суммарный разброс данных вносит вклад разброс данных внутри лаборатории и между лабораториями. Охарактеризуем суммарный разброс данных в виде дисперсии s^2 и представим ее как сумму межлабораторной дисперсии s_L^2 и внутрилабораторной (остаточной) дисперсии s_R^2:

Таблица 6.5. Критические значения для F-теста Фишера для уровня значимости $\alpha = 0,05$ (светлым шрифтом) и $\alpha = 0,01$ (жирным шрифтом) и различных чисел степеней свободы f_1 и f_2.

f_2	f_2=1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	20	50	∞
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	244	248	252	254
	4052	**4999**	**5403**	**5625**	**5764**	**5859**	**5928**	**5981**	**6022**	**6056**	**6106**	**6208**	**6302**	**6366**
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,36	19,37	19,38	19,39	19,41	19,44	19,47	19,50
	98,49	**99,00**	**99,17**	**99,25**	**99,30**	**99,33**	**99,36**	**99,37**	**99,39**	**99,40**	**99,42**	**99,45**	**99,48**	**99,50**
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,88	8,84	8,81	8,78	8,74	8,66	8,58	8,53
	34,12	**30,82**	**29,46**	**28,71**	**28,24**	**27,91**	**27,67**	**27,49**	**27,34**	**27,23**	**27,05**	**26,65**	**26,35**	**26,12**
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,91	5,80	5,70	5,63
	21,20	**18,00**	**16,69**	**15,98**	**15,52**	**15,21**	**14,98**	**14,80**	**14,66**	**14,54**	**14,37**	**14,02**	**13,69**	**13,46**
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,78	4,74	4,68	4,56	4,44	4,36
	16,26	**13,27**	**12,06**	**11,39**	**10,97**	**10,67**	**10,45**	**10,29**	**10,15**	**10,05**	**9,89**	**9,55**	**9,24**	**9,02**
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,87	3,75	3,67
	13,74	**10,92**	**9,78**	**9,15**	**8,75**	**8,47**	**8,26**	**8,10**	**7,98**	**7,87**	**7,72**	**7,40**	**7,10**	**6,88**
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,63	3,57	3,44	3,32	3,23
	12,25	**9,55**	**8,45**	**7,85**	**7,46**	**7,19**	**7,00**	**6,84**	**6,71**	**6,62**	**6,47**	**6,16**	**5,87**	**5,65**
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,34	3,28	3,15	3,03	2,93
	11,26	**8,65**	**7,59**	**7,01**	**6,63**	**6,37**	**6,19**	**6,03**	**5,91**	**5,82**	**5,67**	**5,36**	**5,08**	**4,86**
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,13	3,07	2,93	2,80	2,71
	10,56	**8,02**	**6,99**	**6,42**	**6,06**	**5,80**	**5,62**	**5,47**	**5,35**	**5,26**	**5,11**	**4,81**	**4,53**	**4,31**
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,97	2,91	2,77	2,64	2,54
	10,04	**7,56**	**6,55**	**5,99**	**5,64**	**5,39**	**5,21**	**5,06**	**4,95**	**4,85**	**4,71**	**4,41**	**4,13**	**3,91**
12	4,75	3,88	3,49	3,26	3,11	3,00	2,92	2,85	2,80	2,76	2,69	2,54	2,41	2,30
	9,33	**6,93**	**5,95**	**5,41**	**5,06**	**4,82**	**4,65**	**4,50**	**4,39**	**4,30**	**4,16**	**3,86**	**3,58**	**3,36**
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,12	1,96	1,84
	8,10	**5,85**	**4,94**	**4,43**	**4,10**	**3,87**	**3,70**	**3,56**	**3,46**	**3,37**	**3,23**	**2,94**	**2,65**	**2,42**
50	4,04	3,19	2,80	2,57	2,41	2,30	2,23	2,14	2,08	2,04	1,96	1,80	1,61	1,45
	7,20	**5,08**	**4,22**	**3,74**	**3,45**	**3,21**	**3,04**	**2,91**	**2,81**	**2,72**	**2,58**	**2,29**	**1,98**	**1,70**
μ	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,57	1,36	1,00
	6,63	**4,61**	**3,78**	**3,32**	**3,02**	**2,80**	**2,64**	**2,51**	**2,41**	**2,32**	**2,18**	**1,88**	**1,53**	**1,00**

$$s^2 = s_L^2 + s_R^2, \tag{6.10}$$

где $s^2 = \sum_{j=1}^{q}\sum_{i=1}^{n_j}(x_{ij} - \bar{\bar{x}})^2$, $s_L^2 = \sum_{j=1}^{q} n_j(\bar{x}_j - \bar{\bar{x}})^2$ $s_R^2 = \sum_{j=1}^{q}\sum_{i=1}^{n_j}(x_{ij} - \bar{x}_j)^2$,

$\bar{\bar{x}} = \frac{1}{n}\sum_{j=1}^{q}\sum_{i=1}^{n_j} x_{ij}$ — общее среднее,

$n = \sum_{j=1}^{q} n_j$ — общее число измерений,

q — число лабораторий,

n_j — число параллельных измерений, выполненных в j-й лаборатории,

x_{ij} — результат i-го измерения, выполненного в j-й лаборатории,

$\bar{x}_j = \frac{1}{n_j}\sum_{i=1}^{n_j} x_{ij}$ — среднее значение для j-й лаборатории.

Таблица 6.6. Значения концентраций нитрат-ионов (мг/л) в пробе питьевой воды, определенные в четырех различных лабораториях.

Измерение	Лаборатория			
	1	2	3	4
1	10,2	10,6	10,3	10,5
2	10,4	10,8	10,4	10,7
3	10,0	10,9	10,7	10,4
Среднее	10,20	10,77	10,47	10,53

Нуль-гипотезой является предположение о том, что различие между всеми средними значениями случайно. Для ее проверки применяют F-тест. Тестовая статистика в этом случае (ср. уравнение (6.9)) вычисляется как

$$F = \frac{s_L^2/(q-1)}{s_R^2(n-q)}. \tag{6.11}$$

Рассчитанную величину сравнивают с табличным значением для чисел степеней свободы $f_1 = q - 1$ и $f_2 = n - q$. Для результатов определения нитратов, представленных в табл. 6.6, соответствующие дисперсии приведены в табл. 6.7. Экспериментальное значение F, в соответствии с уравнением (6.11), равно

$$F = \frac{0,489/(4-1)}{0,260/(12-4)} = 5,02.$$

Эта величина больше, чем табличное значение $F(\alpha = 0,05; f_1 = 3; f_2 = 8) = 4,07$. Таким образом, различие между результатами, полученными в разных лабораториях, не случайно. Данные, представленные по крайней мере одной лабораторией, содержат систематическую погрешность.

При помощи простого дисперсионного анализа можно выявить влияние лишь одного фактора. В нашем случае это различия в условиях анализа в разных лабораториях. Однако на результаты анализа могут оказывать влияние несколько

факторов одновременно. Так, наряду с межлабораторными эффектами могут иметь место факторы, связанные с отдельными лаборантами или приборами и т. д. Все эти эффекты могут быть выявлены и оценены при помощи более сложных вариантов дисперсионного анализа — *многоуровневого* или *многофакторного*.

Таблица 6.7. Величины для проведения дисперсионного анализа, рассчитанные из данных табл. 6.6

Источник разброса данных	Число степеней свободы	Дисперсия
Между лабораториями, s_L^2	3	0,489
Внутри лабораторий, s_R^2	8	0,260
Всего, s^2	11	0,749

6.2. Обработка сигналов: цифровая фильтрация, преобразование данных

Отношение сигнал–шум

В ходе эксперимента любой сигнал искажается случайными помехами, называемыми шумами. На рис. 6.5 показано воздействие шумов на сигнал прямоугольной формы.

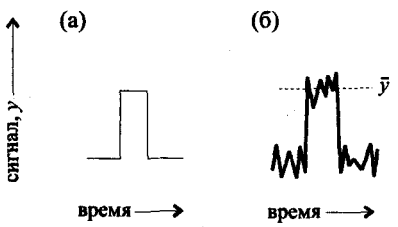


Рис. 6.5. Теоретическая форма сигнала прямоугольной формы (а) и экспериментальный зашумленный сигнал (б).

В простейшем случае средний уровень шумов R постоянен и не зависит от величины полезного сигнала S. Поэтому чем меньше величина полезного сигнала, тем больше относительная погрешность, вносимая шумами. Таким образом, отношение сигнала к шуму служит более хорошей характеристикой качества результата измерения, чем абсолютная величина уровня шумов. Отношение сигнал–шум можно охарактеризовать как отношение средней величины полезного сигнала $\bar{y}$ к стандартному отклонению сигнала s_y:

$$\frac{S}{R} = \frac{\bar{y}}{s_y}. \tag{6.12}$$

Как показывает опыт, при отношении сигнал–шум меньшем, чем 2–3, качество результатов оказывается совершенно неудовлетворительным. Для увеличения отношения сигнал–шум используют специальные способы обработки данных. Самый простой из них — *накопление* сигнала посредством суммирования и усреднения результатов многократных измерений. При n-кратном повторении измерения отношение сигнал–шум S/R по сравнению с исходным значением $(S/R)_0$ увеличивается в $\sqrt{n}$ раз:

$$\frac{S}{R} = \sqrt{n}\left(\frac{S}{R}\right)_0. \tag{6.13}$$

Другой способ увеличения отношения сигнал–шум заключается в использовании специальных *фильтров*.

Аналоговые и цифровые фильтры

При обработке аналитических данных, представленных в виде некоторой непрерывной зависимости — спектров, хроматограмм и т. д. — возникают следующие основные задачи.

- Увеличение интенсивности полезного сигнала по сравнению с шумами.
- Дифференцирование данных с целью подавления сигнала фона и улучшения разрешения пиков.
- Интегрирование данных для нахождения площади пиков.

Все эти задачи можно решить с помощью методов, называемых фильтрацией данных. Первоначально для этой цели использовали специальные аппаратные средства, называемые аналоговыми фильтрами. Сейчас ввиду широкого распространения компьютеров, непосредственно сопряженных с аналитическими приборами, преобладают численные методы фильтрации. Соответствующее программное обеспечение называется цифровыми фильтрами.

Цифровые фильтры устойчивее аналоговых. Они не подвержены воздействию электронных шумов. Поскольку данные с прибора обычно поступают в цифровой форме, их преобразование можно осуществить немедленно. Цифровые фильтры можно легко заменять и модифицировать для решения определенных конкретных задач.

Фильтрация при помощи скользящего среднего

Простейший численный метод подавления шумов называется методом скользящего среднего. Фильтр представляет собой окно постоянной, заранее выбранной ширины, перемещаемое вдоль спектра (хроматограммы). Необходимо, чтобы данные (отдельные точки) находились на равных расстояниях друг от друга. Данные, находящиеся внутри окна, усредняются. Таким образом, при ширине фильтра $2m + 1$ точек исходные данные y_k заменяются средними

$$y'_k = \frac{1}{2m+1} \sum_{j=-m}^{j=m} y_{k+j}, \tag{6.14}$$

где k — индекс обрабатываемого значения, $2m+1$ — число данных, используемых для усреднения (ширина фильтра).

За счет усреднения данных уровень шумов уменьшается. Однако этот метод не позволяет уменьшить величину временного дрейфа результатов, если он присутствует. Ширину фильтра следует выбирать так, чтобы не исказить общую структуру данных. На рис. 6.6 показаны результаты фильтрации данных с применением 5-точечного и 11-точечного фильтра. Уже при ширине фильтра 5 точек форма пиков заметно искажается (кривая 1). При ширине 11 точек этот эффект выражен еще сильнее (кривая 2).

Полиномиальное сглаживание: фильтр Савицкого–Голея

В методе скользящего среднего все данные усредняются с одним и тем же коэффициентом, равным $1/(2m+1)$. Более эффективное сглаживание данных можно осуществить при помощи фильтров, использующих взвешенное усреднение. Веса можно выбрать так, чтобы аппроксимировать данные многочленом второй степени. Этот метод сглаживания называется фильтрацией по Савицкому–Голею. При ширине фильтра $2m+1$ точек средние значения равны

$$y'_k = \frac{1}{NORM} \sum_{j=-m}^{j=m} c_j y_{k+j}. \qquad (6.15)$$

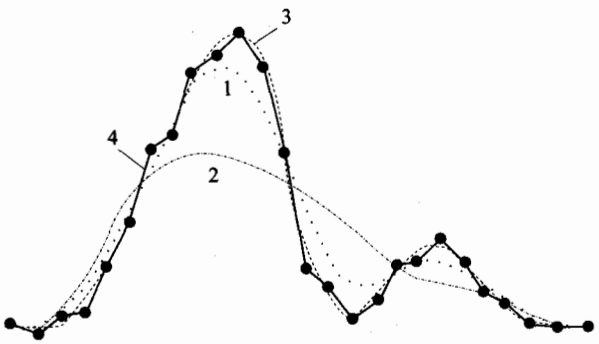


Рис. 6.6. Сглаживание данных при помощи различных цифровых фильтров. 1 — скользящее среднее, 5 точек; 2 — скользящее среднее, 11 точек; 3 — фильтр Савицкого–Голея, 5 точек; 4 — интерполяционный фильтр.

Весовые коэффициенты c_j для фильтров различной ширины табулированы (табл. 6.8). Значение $NORM$ равно сумме всех величин c_j. Кривая 3 рис. 6.6 демонстрирует применение к исходным данным фильтра Савицкого–Голея шириной 5 точек. По сравнению с фильтрацией методом скользящего среднего с той же шириной окна структура исходных данных сохраняется значительно лучше.

Для выбора подходящего фильтра можно пользоваться следующими правилами.

- *Ширина фильтра* должна быть приблизительно равна половине ширины пика (полосы). Если ширина фильтра слишком мала, сглаживание будет недостаточным. В случае слишком широкого фильтра форма пиков искажается (рис. 6.6).

- *Искажение пиков* меньше сказывается на их площади, чем на их высоте. Поэтому, если требуется вычислить лишь площади пиков, ширину фильтра можно выбрать побольше.

- При *многократном* применении одного и того же фильтра наибольший эффект сглаживания ($> 95\%$) достигается при первой фильтрации. Поэтому обычно бывает достаточно применить фильтр только один раз.

Существуют и специальные *рекурсивные* фильтры, использующие уже сглаженные данные и позволяющие осуществлять быструю фильтрацию непосредственно в процессе регистрации данных. Среди рекурсивных фильтров чаще всего используют *фильтр Калмана*.

Таблица 6.8. Весовые коэффициенты для сглаживающих фильтров Савицкого–Голея различной ширины (см. уравнение (6.15)).

Ширина фильтра (число точек)	15	13	11	9	7	5
−7	−78					
−6	−13	−11				
−5	42	0	−36			
−4	87	9	9	−21		
−3	122	16	44	14	−2	
−2	147	21	69	39	3	−3
−1	162	24	84	54	6	12
0	167	25	89	59	7	17
1	162	24	84	54	6	12
2	147	21	69	39	3	−3
3	122	16	44	14	−2	
4	87	9	9	−21		
5	42	0	−36			
6	−13	−11				
7	−78					
NORM	105	143	429	231	21	35

Дифференцирование и интегрирование данных

Фильтр Савицкого–Голея может быть использован и для дифференцирования или интегрирования данных. Для этого следует лишь соответствующим образом выбрать весовые коэффициенты. Численные методы дифференцирования и интегрирования сигналов широко применяются в стандартном математическом обеспечении аналитических приборов.

Дифференцирование позволяет устранить *постоянный сигнал фона* и улучшить *разрешение пиков*. Интегрирование пиков необходимо для нахождения их площади в количественном анализе.

Фильтрация данных с предварительным преобразованием сигнала

Существуют методы фильтрации, основанные на предварительном математическом преобразовании данных, последующем умножении результата на некоторую фильтрующую функцию и, наконец, обратном преобразовании. Чаще всего для этого используют фурье-преобразование, о котором мы упоминали в связи с ИК- и ЯМР-спектроскопией.

Фурье-преобразование

Рассмотрим принцип фурье-преобразования на примере электромагнитных спектров. Обычная форма представления спектра — зависимость интенсивности от *частоты* излучения. Однако любой спектр можно представить и как зависимость интенсивности от *времени*. В этом случае он выглядит как суперпозиция периодических синусоидальных колебаний. На рис. 6.7 показано представление спектра, состоящего из двух линий (частот), в разных формах.

В данном случае преобразование сигнала из функции, представленной в шкале времени $f(t)$, в шкалу частот $F(\nu)$ дает спектр, состоящий всего из двух линий с частотами 1 и $3\,\text{с}^{-1}$. Однако подобным образом можно преобразовать и произвольный спектр, в том числе с непрерывным распределением частот.

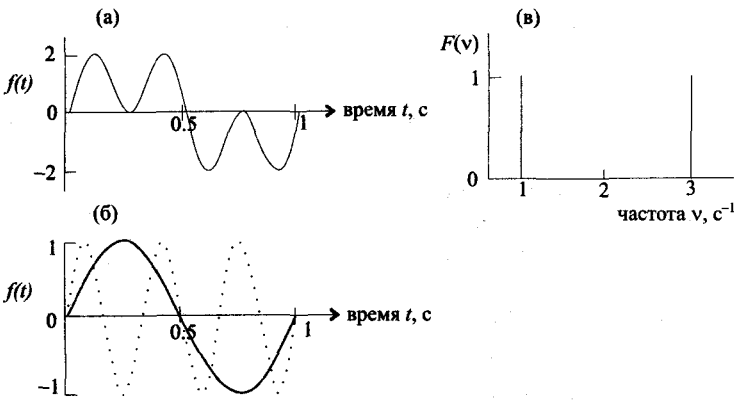


Рис. 6.7. Принцип фурье-преобразования. Суммарный сигнал (а) состоит (б) из двух синусоид с периодами $t_1 = 1\,\text{с}$ и $t_2 = 1/3\,\text{с}$, (в) — этот же спектр, представленный в виде зависимости интенсивности от частоты.

Представление спектра в шкале времени дает информацию о суммарной амплитуде сигнала, однако информация о частотах в такой форме представления непосредственно не видна. Представление же в шкале частот дает информацию лишь об относительных интенсивностях сигнала при тех или иных частотах, но не его суммарной амплитуде.

В традиционных вариантах спектроскопических методов спектр регистрируют в шкале частот. Ряд новых методов таких, как ИК-спектроскопия с фурье-преобразованием или импульсная ЯМР-спектроскопия, основаны на регистрации спектра в шкале времени. Для перехода к привычной шкале частот в этом случае необходимо выполнить фурье-преобразование.

Дискретное фурье-преобразование

Если спектр, зарегистрированный в шкале времени, оцифровать, т. е. представить в виде дискретной последовательности значений интенсивности, то к нему можно применить дискретное фурье-преобразование. Пусть оцифрованный спектр представляет собой последовательность из n значений сигнала, находящихся на равных расстояниях друг от друга по шкале t. Тогда преобразование спектра в шкалу частот осуществляется как

$$F(\nu) = \frac{1}{n}\sum_{t=1}^{n} f(t)e^{-(2\pi i\nu t/n)}, \tag{6.16}$$

где $i = \sqrt{-1}$ — мнимая единица. Экспоненциальная функция от мнимого числа равна

$$e^{-(2\pi i\nu t/n)} = \cos(2\pi\nu t/n) - i\sin(2\pi\nu t/n). \tag{6.17}$$

Полученная в результате преобразования функция $F(\nu)$ имеет действительную и мнимую часть. Спектр в шкале частот представляет собой ее действительную составляющую.

Обратное фурье-преобразование

Преобразование спектра из шкалы частот в шкалу времени осуществляется при помощи обратного фурье-преобразования:

$$f(t) = \sum_{\nu=1}^{n} F(\nu) e^{2\pi i \nu t/n}. \tag{6.18}$$

Как видно из сравнения выражений (6.16) и (6.18), прямое и обратное фурье-преобразование можно выполнить при помощи одного и того же алгоритма. Существуют очень быстрые алгоритмы такого преобразования.

Фильтрация данных при помощи фурье-преобразования

Фильтрацию с помощью фурье-преобразования осуществляют следующим образом. Сигнал, зарегистрированный в шкале времени, по уравнению (6.16) преобразуют в шкалу частот. Затем его умножают на подходящую фильтрующую функцию $H(\nu)$

$$G(\nu) = F(\nu)H(\nu), \tag{6.19}$$

и затем снова преобразуют в шкалу времени согласно уравнению (6.18).

Как правило, полезный сигнал соответствует некоторой средней области частот. Поэтому фильтрующую функцию подбирают так, чтобы она подавляла крайние, высокие и (или) низкие частоты. Для подавления высоких частот, обычно представляющих собой шум, можно применить фильтрующую функцию, график которой представлен на рис. 6.8 (а). График функции для подавления низких частот (в частности, обусловленных временным дрейфом сигнала) изображен на рис. 6.8 (б).

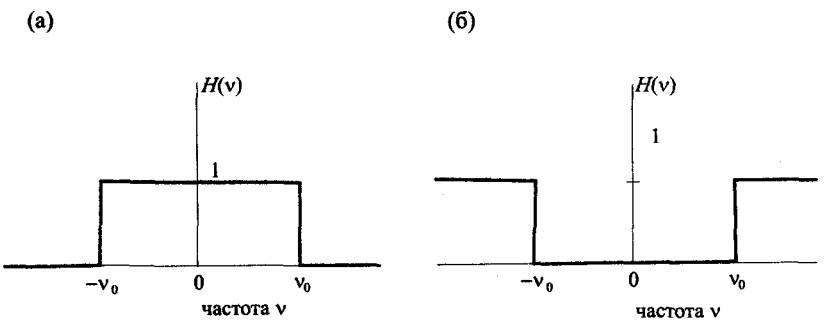


Рис. 6.8. Фильтрующие функции для подавления высоких (а) и низких (б) частот.

Фурье-фильтрация очень эффективна, когда требуется подавить лишь одну частоту (например, обусловленную наведенными помехами от сети переменного тока) или несколько определенных частот. Частотный спектр, полученный при помощи преобразования Фурье, сам по себе часто позволяет делать выво-

ды о характере и источнике помех. Так, один тип помех, называемый *белым шумом*, имеет равномерный спектр, т. е. одну и ту же интенсивность при всех частотах. Белый шум бывает обусловлен тепловым движением частиц (тепловой шум), он часто возникает при регистрации сигнала с помощью ФЭУ. Его можно эффективно подавить при помощи простых цифровых фильтров — скользящего среднего и Савицкого–Голея. Временной дрейф сигнала проявляется в виде шума, интенсивность которого обратно пропорциональна частоте. *Интерференционный шум*, вызванный помехами со стороны сетей переменного тока, имеет очень четкую структуру с пиками при характерных частотах.

Наряду с преобразованием Фурье для тех же целей можно использовать и *преобразование Адамара*. Алгоритм преобразования Адамара не требует работы с комплексными числами.

6.3. Многомерные методы: обработка массивов данных

Аналитические приборы, снабженные компьютерами, позволяют собирать и обрабатывать большие массивы данных. Так, обычный ИК-спектр может быть представлен в виде массива из 2000 чисел, а хромато-масс-спектр — из 600000 чисел. Объемы информации многократно возрастают при анализе сложных многокомпонентных смесей. В частности, проба почвы может содержать до 1000 компонентов.

Методы хемометрики для работы с массивами данных можно разделить на три основные группы.

- Методы многомерного моделирования для градуировки при использовании неселективных методов (одновременный многокомпонентный анализ) и планировании эксперимента (метод поверхностей отклика).
- Методы группировки данных (кластерный анализ) для установления степени сходства между различными объектами — спектрами, химическими структурами, элементными и вещественными составами образцов.
- Методы классификации, т. е. отнесения исследуемого объекта к тому или иному классу. Например, в криминалистике бывает необходимо на основании химического анализа образца автомобильного лака определить его сорт.

Методы хемометрики позволяют анализировать весьма большие массивы данных, которые невозможно обработать без помощи компьютера. Для этого применяют как общестатистическое, так и специализированное химико-аналитическое программное обеспечение.

Математическое моделирование аналитических данных

В аналитической химии, как и в других областях, математическое моделирование служит для *описания зависимости между несколькими величинами*. Напри-

мер, в жидкостной хроматографии можно построить математическую модель, описывающую зависимость разрешения пиков от величины pH элюента.

В частности, математическое моделирование позволяет описать зависимость аналитического сигнала от концентраций компонентов для неселективных методов анализа. Это важнейшее применение математического моделирования в аналитической химии называют *многокомпонентным анализом*. Так, с использованием методов многокомпонентного анализа можно одновременно определить содержание влаги и белка в образцах зерна при помощи ИК-спектроскопии в ближней области (см. раздел 3.3.1).

Чаще всего используют *линейные модели*. Слово «линейный» означает здесь, что модель представляет собой линейную функцию *относительно оцениваемых параметров*. Простейшей линейной моделью является уравнение прямой линии. Оно представляет собой функцию зависимой переменной y от независимой переменной x и включает два параметра — свободный член b_0 и угловой коэффициент b_1:

$$y = b_0 + b_1 x. \tag{6.20}$$

Однако и квадратичная зависимость y от x также представляет собой линейную (относительно *параметров*!) модель:

$$y = b_0 + b_1 x + b_{11} x^2. \tag{6.21}$$

Все параметры линейных моделей можно оценить методами линейной алгебры. При этом общие подходы и алгоритмы такой оценки применительно как к простейшей модели (6.20), так и к весьма сложным моделям для многокомпонентного анализа остаются одними и теми же. Начнем с рассмотрения самой простой одномерной линейной модели.

Одномерное моделирование: линейный регрессионный анализ

Модель, описываемую уравнением (6.20), часто применяют для градуировки (см. рис 1.14 и уравнение (1.3)). Значения параметров b_0 и b_1 можно оценить методом линейного регрессионного анализа. При наличии n пар данных (x_i, y_i), соответствующие расчетные формулы выглядят следующим образом:

$$b_1 = \frac{n\sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{n\sum x_i^2 - \left(\sum x_i\right)^2}, \tag{6.22}$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x}, \qquad \text{где} \tag{6.23}$$

$$\bar{x} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} x_i, \tag{6.24}$$

$$\bar{y} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} y_i. \tag{6.25}$$

Дисперсии рассчитанных значений параметров равны

$$s_{b_1}^2 = \frac{s_y^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2}, \tag{6.26}$$

$$s_{b_0}^2 = \frac{s_y^2 \sum x_i^2}{n\sum (x_i - \bar{x})^2}. \tag{6.27}$$

Величина s_y^2 называется *остаточной дисперсией*. Она характеризует разброс между экспериментальными величинами y_i и значениями $\hat{y}_i$, рассчитанными из модели по уравнению (6.20). Величина s_y^2 равна

$$s_y^2 = \frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}. \tag{6.28}$$

В приведенных формулах суммирование везде производится по всем n значениям.

Используя уравнение (6.20) как градуировочную модель, можно по измеренному значению аналитического сигнала y_0 рассчитать соответствующее значение концентрации x_0 (см. уравнение (1.4)):

$$x_0 = \frac{y_0 - b_0}{b_1}. \tag{6.29}$$

Если для расчета использовано среднее значение $\bar{y}_0$ из p параллельных измерений, то стандартное отклонение полученной величины x_0 равно

$$s_0 = \frac{s_y}{b_1\sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y}_0 - \bar{y})^2}{b_1^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}}}. \tag{6.30}$$

При использовании математического моделирования всегда необходимо проверять значимость рассчитанных величин параметров. Незначимые, т. е. статистически неотличимые от нуля, параметры следует исключить из модели. Следует также проверить адекватность модели в целом, т. е. степени ее соответствия экспериментальным данным. Для этого служат специальные статистические тесты — критерии согласия, реализованные в стандартном статистическом программном обеспечении.

Прежде, чем рассмотреть задачу линейного регрессионного анализа в общем виде, перепишем уравнение модели (6.20) в матричном виде. При наличии n пар данных оно выглядит как

$$\begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & x_1 \\ 1 & x_2 \\ \vdots & \vdots \\ 1 & x_n \end{pmatrix} \begin{pmatrix} b_0 \\ b_1 \end{pmatrix}, \tag{6.31}$$

или, в сокращенном виде,

$$\boldsymbol{y} = \boldsymbol{X}\boldsymbol{b}. \tag{6.32}$$

Здесь и далее мы будем изображать векторы полужирными строчными, а матрицы — полужирными прописными буквами.

Аналогично, линейную модель, представленную уравнением (6.21), можно записать как

$$\begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & x_1 & x_1^2 \\ 1 & x_2 & x_2^2 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & x_n & x_n^2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} b_0 \\ b_1 \\ b_{11} \end{pmatrix}, \tag{6.33}$$

что в сокращенном виде снова записывается как уравнение (6.32). Это уравнение является общей формой записи любой линейной регрессионной модели.

Вектор неизвестных параметров в уравнении (6.32) можно рассчитать с помощью стандартных методов линейной алгебры:

$$\boldsymbol{b} = (\boldsymbol{X}^{\mathrm{T}}\boldsymbol{X})^{-1}\boldsymbol{X}^{\mathrm{T}}\boldsymbol{y}. \tag{6.34}$$

Верхние символы T и -1 означают, соответственно, операции транспонирования и обращения матрицы.

Многомерное моделирование

Многомерные модели представляют собой линейные (относительно параметров) зависимости, которые могут включать в себя несколько как независимых, так и зависимых переменных. Рассмотрим градуировочную модель для многокомпонентного спектрофотометрического анализа. В этом случае зависимая переменная y представляет собой массив значений оптических плотностей, а независимые переменные x соответствуют концентрациям отдельных компонентов. Для измерений оптической плотности при p длинах волн при наличии в смеси m компонентов имеем систему линейных уравнений:

$$\begin{aligned} y_1 &= k_{10} + k_{11}x_1 + k_{12}x_2 + \ldots + k_{1m}x_m \\ y_2 &= k_{20} + k_{21}x_1 + k_{22}x_2 + \ldots + k_{2m}x_m \\ &\vdots \\ y_p &= k_{p0} + k_{p1}x_1 + k_{p2}x_2 + \ldots + k_{pm}x_m, \end{aligned} \tag{6.35}$$

или, в матричной форме,

$$\boldsymbol{y} = \boldsymbol{K}\boldsymbol{x}. \tag{6.36}$$

Элементами матрицы $\boldsymbol{K}$ являются коэффициенты поглощения, точнее, произведения молярных коэффициентов поглощения на толщину поглощающего слоя. Система уравнений (6.35) может рассматриваться как математическое выражение закона Ламберта–Бера для многокомпонентной системы (см. раздел 3.3.2).

Прямая градуировка

Прямую градуировку можно осуществить, если известны все коэффициенты поглощения для индивидуальных компонентов, входящие в матрицу $\boldsymbol{K}$. В этом случае вектор неизвестных концентраций $\boldsymbol{x}_0$ компонентов пробы можно рассчитать с использованием вектора значений оптической плотности $\boldsymbol{y}_0$ и матрицы коэффициентов поглощения $\boldsymbol{K}$. Если число длин волн равно числу компонентов ($p = m$), то такой расчет можно выполнить как

$$\boldsymbol{x}_0 = \boldsymbol{K}^{-1}\boldsymbol{y}_0. \tag{6.37}$$

Если же число длин волн превышает число компонентов ($p > m$), то

$$\boldsymbol{x}_0 = (\boldsymbol{K}^{\mathrm{T}}\boldsymbol{K})^{-1}\boldsymbol{K}^{\mathrm{T}}\boldsymbol{y}_0. \tag{6.38}$$

Непрямая градуировка

Часто значения коэффициентов поглощения отдельных компонентов заранее неизвестны — как, например, при анализе зерна методом ИК-спектроскопии в ближней области (раздел 3.3.1). В этих случаях необходимо предварительно найти элементы матрицы $\boldsymbol{K}$ по данным измерений для стандартных смесей.

Пусть для градуировки использованы n стандартных смесей из m компонентов, а измерения выполнены при p длинах волн. В этом случае имеем следующую систему уравнений, выписанную на следующей странице.

$$\begin{pmatrix} y_{11} & y_{21} & \dots & y_{1p} \\ y_{21} & y_{22} & \dots & y_{2p} \\ \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ y_{n1} & y_{n2} & \dots & y_{np} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1m} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2m} \\ \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ x_{n1} & x_{n2} & \dots & x_{nm} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} k_{11} & k_{12} & \dots & k_{1p} \\ k_{21} & k_{22} & \dots & k_{2p} \\ \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ k_{m1} & k_{m2} & \dots & k_{mp} \end{pmatrix},$$

или

$$\boldsymbol{Y} = \boldsymbol{X}\boldsymbol{K}. \tag{6.39}$$

Решение этой системы относительно коэффициентов матрицы $\boldsymbol{K}$ имеет следующий вид (ср. с уравнением (6.38)):

$$\boldsymbol{K} = (\boldsymbol{X}^{\mathrm{T}}\boldsymbol{X})^{-1}\boldsymbol{X}^{\mathrm{T}}\boldsymbol{Y}. \tag{6.40}$$

После того, как элементы матрицы $\boldsymbol{K}$ найдены, можно рассчитать вектор неизвестных значений концентраций компонентов $\boldsymbol{x}_0$ (см. уравнение (6.38)):

$$\boldsymbol{x}_0 = (\boldsymbol{K}^{\mathrm{T}}\boldsymbol{K})^{-1}\boldsymbol{K}^{\mathrm{T}}\boldsymbol{y}_0. \tag{6.41}$$

Недостаток метода непрямой градуировки состоит в том, что здесь приходится два раза выполнять операцию обращения матрицы — для нахождения коэффициентов поглощения (уравнение (6.40)) и для расчета концентраций (уравнение (6.41)). Это может значительно ухудшить точность результатов, особенно в случае так называемой плохой обусловленности обращаемой матрицы — явлении, когда зависимость между ее строками или столбцами близка к линейной. Плохая обусловленность может возникнуть как результат сходства спектров отдельных компонентов или неудачного выбора концентраций для стандартных смесей. Во всех случаях, особенно при плохой обусловленности, для обращения матриц лучше использовать устойчивые численные алгоритмы, основанные на сингулярном разложении.

При отклонениях оптических плотностей исследуемых смесей от закона аддитивности, а также при наличии в образцах дополнительных неизвестных компонентов непрямая градуировка дает более точные результаты, чем прямая градуировка с использованием матрицы коэффициентов поглощения индивидуальных компонентов.

Существует и метод *обращенной градуировки*. Здесь оптические плотности рассматриваются как независимые, а концентрации — как зависимые переменные. В программном обеспечении, поставляемом вместе с аналитическими приборами, для многомерной градуировки часто используются современные высокоэффективные методы регрессионного анализа такие, как регрессия на главных компонентах или блочный (дробный) метод наименьших квадратов. Однако в этих случаях коэффициенты градуировочной матрицы $\boldsymbol{K}$ бывают лишены определенного физического смысла.

Методы распознавания образов и классификации

Суть задач, решаемых с помощью методов распознавания образов и классификации, поясним на конкретном примере. В ходе расследования убийства на жертве

был найден фрагмент волос. Необходимо установить, кому из трех подозреваемых лиц принадлежат эти волосы. Для этого был выполнен элементный анализ образцов волос подозреваемых на содержание Cu, Mn, Cl, Br и I. Для каждого подозреваемого было сделано по три параллельных анализа. Соответствующие данные представлены в табл. 6.9.

Таблица 6.9. Элементный состав образцов волос трех человек (содержание в частях на миллион).

Номер образца	Cu	Mn	Cl	Br	I
1	9,2	0,30	1730	12,0	3,6
2	12,4	0,39	930	50,0	2,3
3	7,2	0,32	2750	65,3	3,4
4	10,2	0,36	1500	3,4	5,3
5	10,1	0,50	1040	39,2	1,9
6	6,5	0,20	2490	90,0	4,6
7	5,6	0,29	2940	88,0	5,6
8	11,8	0,42	867	43,1	1,5
9	8,5	0,25	1620	5,2	6,2

Для решения поставленной задачи в первую очередь необходимо убедиться, что данные химического анализа волос позволяют однозначно установить, кому принадлежит исследуемый образец. Это можно сделать при помощи хемометрических методов группировки данных. После этого по результатам анализа неизвестного образца можно отнести его к одному из подозреваемых.

Разумеется, подобные задачи можно решать применительно к объектам любой природы. Вместо образцов волос могут быть археологические объекты, образцы материалов, органические соединения и т. д. Будем обобщенно называть их просто *объектами*. Количественные характеристики объектов, служащие основанием для классификации, называются *признаками*. В нашем случае признаки — это содержания определенных элементов. В других случаях признаками могут служить разнообразные физические параметры или численные характеристики (дескрипторы) химической структуры. Спектральные или хроматографические данные также могут служить источником признаков.

Расположим все данные в виде матрицы $\boldsymbol{X}$, в которой каждая из n строк соответствует определенному объекту, а каждый из p столбцов — определенному признаку:

$$\boldsymbol{X} = \begin{pmatrix} x_{11} & x_{12} & \ldots & x_{1p} \\ x_{21} & x_{22} & \ldots & x_{2p} \\ \vdots & \vdots & \ldots & \vdots \\ x_{n1} & x_{n2} & \ldots & x_{np} \end{pmatrix}. \qquad (6.42)$$

Предварительная подготовка данных

В первую очередь необходимо проверить данные на *полноту*. Все ли позиции в матрице $\boldsymbol{X}$ заполнены? Если какие-то позиции пусты, их можно заполнить средними значениями по соответствующему столбцу или случайными величинами в пределах диапазона изменения соответствующего признака.

Признаки, имеющие *постоянное* значение (не изменяющиеся или практически не изменяющиеся при переходе от образца к образцу) или *сильно коррелирующие* с другими признаками, не представляют интереса для классификации и должны быть исключены из рассмотрения.

Как видно из табл. 6.9, отдельные признаки могут сильно различаться по своей величине. Поэтому значения признаков необходимо масштабировать. Один из наиболее распространенных способов масштабирования — *автомасштабирование*. Для значений признаков, содержащихся в k-м столбце, автомасштабирование выполняется как

$$x'_{ik} = \frac{x_{ik} - \bar{x}_k}{s_k}. \tag{6.43}$$

Здесь $\bar{x}_k$ — среднее значение признака к k-м столбце, а s_k — стандартное отклонение:

$$s_k = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_{ik} - \bar{x}_k)^2}{n-1}}.$$

После автомасштабирования каждый признак будет иметь среднее значение равное нулю, и стандартное отклонение равное единице.

Методы неконтролируемого обучения

Методы неконтролируемого обучения предназначены для группировки наборов признаков, характеризующих объекты, в определенные классы. Для группировки используют проекционные методы и методы кластерного анализа.

Проекционные методы

Основным проекционным методом является *анализ главных компонент*. Для этого исходную матрицу признаков преобразуют так, чтобы по возможности сократить размерность пространства, охватывающего векторы признаков. Векторы, характеризующие направления осей координат в новом пространстве (уменьшенной размерности), называются главными компонентами. Если для описания массива признаков достаточно всего двух или трех главных компонент, данные можно представить графически и сгруппировать в классы визуально.

Вернемся к нашим данным криминалистического анализа. Координата вектора i-го объекта по первой (а также любой другой) оси главных компонент PC_{1i} является некоторой линейной комбинацией всех исходных значений признаков объекта:

$$PC_{1i} = a_{11}x_{i1} + a_{12}x_{i2} + \ldots + a_{1p}x_{ip}. \tag{6.44}$$

Коэффициенты a_{ij} можно рассчитать методами линейной алгебры путем анализа собственных (или сингулярных) значений исходной матрицы. Число главных компонент обычно выбирают так, чтобы размерность полученного пространства позволяла описать заранее обусловленную, достаточно большую, долю дисперсии исходных данных. В нашем примере двух главных компонент достаточно для того, чтобы описать 92,9% дисперсии. Таким образом, весь массив исходных данных можно с хорошим приближением представить как множество

точек, расположенных в одной плоскости. Взаимное расположение точек, характеризующих составы образцов волос, в плоскости первых двух главных компонент показано на рис. 6.9. Как видно из рисунка, в этой плоскости четко различаются три отдельные области. Можно заключить, что образцы, расположенные в пределах каждой области, принадлежат одному и тому же человеку. Таким образом, данные содержания указанных элементов позволяют однозначно отнести образец волос определенному человеку.

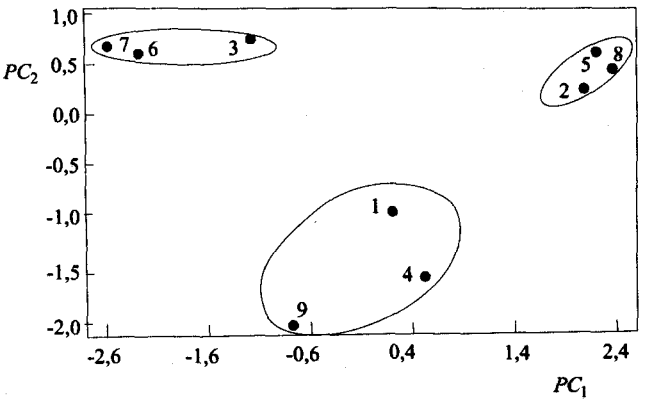


Рис. 6.9. Представление массива данных из табл. 6.9 при помощи первых двух главных компонент. Числа при точках соответствуют номерам образцов.

Кластерный анализ

Другой метод группировки данных называется кластерным анализом. В этом методе производят последовательную, шаг за шагом, группировку объектов на основании максимальной близости значений их признаков. В результате образуются группы объектов (кластеры), имеющие иерархическую структуру (рис. 6.10).

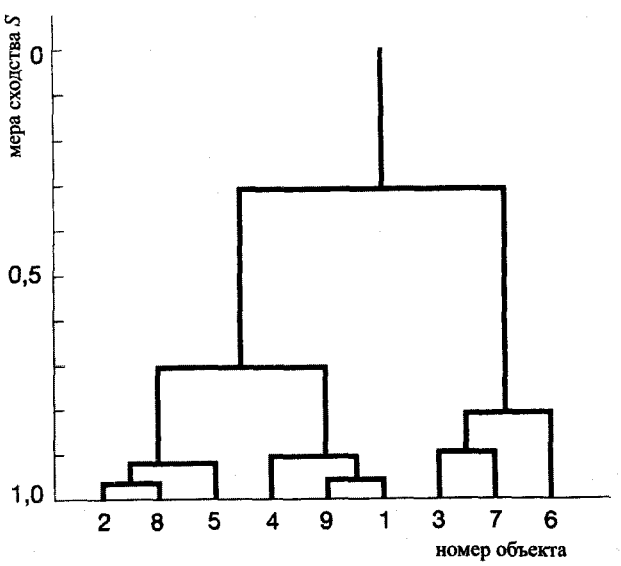


Рис. 6.10. Результат кластерного анализа данных табл. 6.9, представленный в виде дендрограммы. По оси ординат отложены значения меры сходства между объектами — величин S_{ij}, рассчитываемых из нормированных евклидовых расстояний (уравнение (6.46)).

Для оценки степени близости объектов друг другу используют ту или иную *меру расстояния* между ними. Чем меньше расстояние между объектами, тем они более похожи. Чаще всего применяют величину евклидова расстояния. *Евклидовым расстоянием* d_{ij} между объектами i и j называется величина

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{k=1}^{p} (x_{ik} - x_{jk})^2}. \qquad (6.45)$$

Если представить каждый объект в виде точки в p-мерном пространстве, координаты которой равны значениям соответствующих признаков, то евклидово расстояние есть длина отрезка, соединяющего две такие точки. Рис. 6.11 иллюстрирует понятие евклидова расстояния для случая, когда каждый объект характеризуется всего двумя признаками.

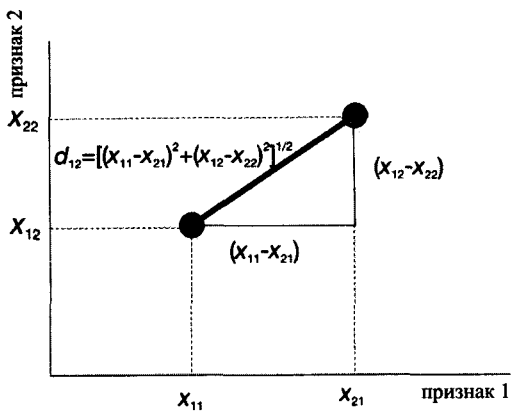


Рис. 6.11. Евклидово расстояние между i-м и j-м объектами, описываемыми при помощи двух признаков.

Чем больше евклидово расстояние, тем больше различие между объектами. Вместо меры различия в кластерном анализе часто используют *меру сходства* между объектами. Мера сходства между i-м и j-м объектами определяется как

$$S_{ij} = 1 - \frac{d_{ij}}{d_{ij}(\max)}, \qquad (6.46)$$

где $d_{ij}(\max)$ есть максимальное среди всех значений d_{ij}. Для пары полностью тождественных объектов $S_{ij} = 0$. Для объектов, максимально различающихся между собой, $S_{ij} = 1$.

Для проведения иерархической кластеризации объектов следует в первую очередь рассчитать все евклидовы расстояния между парами объектов. В табл. 6.10 эти расстояния представлены в виде *матрицы расстояний*.

Ввиду того, что матрица расстояний симметрична, приведена только ее нижняя часть. Наименьшее евклидово расстояние, равное 0,666, наблюдается между объектами 2 и 8. Эти два объекта объединим в один кластер и рассчитаем расстояния всех остальных объектов до центра тяжести этого кластера. Такой расчет проще всего выполнить путем усреднения расстояний до объектов, образующих кластер. Например, расстояние от объекта 1 до кластера, образованного

объектами 2 и 8, равно

$$d(\text{новое}) = \frac{d_{21} + d_{81}}{2} = \frac{2,405 + 2,562}{2} = 2,484.$$

Таблица 6.10. Матрица расстояний для объектов из табл. 6.9.

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0								
2	2,405	0							
3	2,250	3,392	0						
4	1,321	2,570	3,017	0					
5	2,713	1,613	3,391	2,799	0				
6	3,062	4,232	1,724	3,766	4,623	0			
7	3,378	4,611	1,666	3,793	4,655	1,337	0		
8	2,562	0,666	3,531	2,821	1,189	4,528	4,860	0	
9	1,667	3,603	2,991	1,511	3,987	3,116	3,306	3,910	0

В результате получим новую матрицу расстояний, уже меньшего размера. Затем вновь найдем два объекта (или кластера), наиболее близкие между собой, и повторим описанную процедуру. Иерархическую структуру формируемых при этом кластеров можно представить в виде дендрограммы (рис. 6.10).

На сколько же кластеров следует в итоге разделить исходные данные? *Число кластеров* зависит от характера решаемой задачи. В нашем случае заранее известно, что образцы волос принадлежат трем различным людям. Поэтому на дендрограмме следует провести горизонтальное сечение так, чтобы оно пересекало три вертикальных отрезка. В этом случае данные разделятся на три кластера. Такое сечение можно провести, например, при $S = 0,75$. К трем полученным кластерам относятся образцы 2,8,5; 1,9,4 и 3,7,6, соответственно (табл. 6.11). Состав полученных кластеров идентичен тому, который был ранее установлен посредством анализа главных компонент (рис. 6.9).

Таблица 6.11. Результаты группировки образцов волос, составы которых приведены в табл. 6.9, методом кластерного анализа.

Номер образца	Принадлежность
1	B
2	A
3	C
4	B
5	A
6	C
7	C
8	A
9	B

Если число кластеров заранее неизвестно, то его можно выбрать, пользуясь непосредственно величинам расстояний между различными объектами.

Контролируемое обучение

Контролируемым обучением называется собственно процесс классификации, т. е. отнесения неизвестного объекта к тому или иному классу на основании значений

его признаков. Классы могут быть известны заранее или установлены при помощи методов неконтролируемого обучения. Для осуществления классификации каждый класс обычно предварительно описывают некоторой математической моделью.

В нашем случае задача классификации состоит в том, чтобы отнести образец волос, найденных на месте преступления, одному из людей — A, B или C — на основании результатов его элементного анализа (табл. 6.12).

Таблица 6.12. Элементный состав образца волос (частей на миллион), подлежащего классификации.

Cu	Mn	Cl	Br	I
9,2	0,27	2200	9,8	4,7

Наиболее распространенным методом классификации является *линейный дискриминантный анализ* (ЛДА). В основе ЛДА лежит построение линейных дискриминирующих функций и их использование для последующей классификации. Один из способов построения дискриминирующих функций состоит в нахождении собственных значений и собственных векторов некоторой матрицы с использованием численных величин признаков объектов, а также информации о принадлежности каждого объекта определенному классу. Дискриминирующие функции строятся последовательно. Так, первый собственный вектор $\boldsymbol{w}_1$, соответствующий наибольшему собственному значению, описывает первую дискриминирующую функцию

$$s_1 = w_{11}x_1 + w_{12}x_2 + \ldots + w_{1p}x_p. \tag{6.47}$$

Затем находят следующее по величине собственное значение и соответствующий ему собственный вектор $\boldsymbol{w}_1$ и строят вторую дискриминирующую функцию:

$$s_2 = w_{21}x_1 + w_{22}x_2 + \ldots + w_{2p}x_p. \tag{6.48}$$

Дискриминирующих функций строят столько, сколько необходимо, чтобы с их помощью однозначно решить задачу классификации.

Например, для данных, представленных в табл. 6.9, первые две дискриминирующие функции имеют вид

$$s_1 = 0,227x_{\mathrm{Cu}} - 0,694x_{\mathrm{Mn}} + 1,200x_{\mathrm{Cl}} - 0,0394x_{\mathrm{Br}} + 0,0514x_{\mathrm{I}}, \tag{6.49}$$

$$s_2 = 0,00672x_{\mathrm{Cu}} + 0,936x_{\mathrm{Mn}} - 0,211x_{\mathrm{Cl}} + 1,342x_{\mathrm{Br}} - 0,395x_{\mathrm{I}}. \tag{6.50}$$

Первая дискриминирующая функция описывает 63,39% общей дисперсии данных, а вторая — еще 36,61%. Таким образом, двух дискриминирующих функций достаточно для того, чтобы в совокупности описать все 100% дисперсии данных. Графическое представление величин первой и второй дискриминирующей функции как координат точек на плоскости (рис. 6.12) наглядно показывает группировку объектов по трем классам.

Чтобы классифицировать неизвестный объект, для него вычисляют дискриминирующие функции на основании значений его признаков. Совокупность полученных значений определяет координаты некоторой точки в пространстве дискриминирующих функций. Объект относят к тому классу, для которого евклидово расстояние от полученной точки до центра тяжести класса наименьшее.

В нашем случае подстановка значений признаков неизвестного образца волос (табл. 6.12) в выражения для дискриминирующих функций (6.49) и (6.50) дает значения $s_1 = 4,416$ и $s_2 = -7,15$. Используя эти величины и координаты центров тяжести трех классов, находим, что для класса A евклидово расстояние составляет 15,66, для класса B 4,93 и для класса C 10,52. Следовательно, можно сделать однозначный вывод о том, что образец волос принадлежит человеку B.

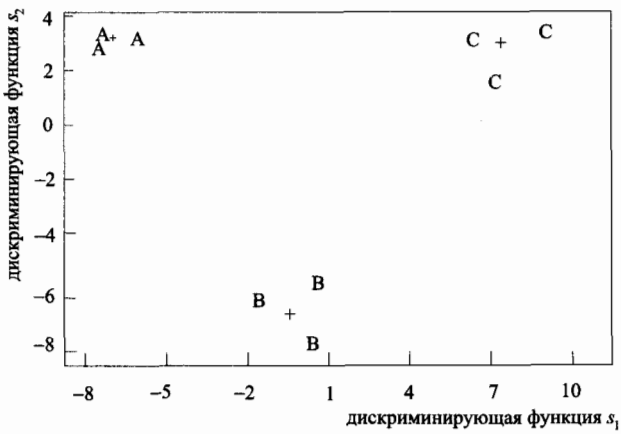


Рис. 6.12. Значения дискриминирующих функций для девяти объектов, составы которых представлены в табл. 6.9. Центр тяжести каждого класса показан крестиком.

Предпосылкой применимости линейного дискриминантного анализа является подчинение данных нормальному закону распределения. Кроме того, классы объектов должны иметь значительные различия в положениях их центров тяжестей, а дисперсии значений внутри классов должны быть одинаковы.

Альтернативой ЛДА служит метод классификации, называемый *методом K ближайших соседей*. Для его применения соблюдение перечисленных выше требований необязательно. Этот метод основан на вычислении расстояний от неизвестного объекта до некоторого заранее заданного общего числа объектов — его ближайших соседей. Неизвестный объект относят к тому классу, который содержит больше всего своих представителей среди общего числа ближайших соседей.

6.4. Литература

K.Doerffel, Statistik in der Analytischen Chemie, 5. Auflage, Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1990.

R.Henrion, G.Henrion, Methoden zur Interpretation multivariater Daten mit Beispielen aus der analytischen Chemie, Springer, Berlin/Heidelberg, 1994.

M.Otto, Chemometrie, VCH, Weinheim, 1997.

D.L.Massart, B.G.M.Vandeginste, S.N. Deming, L.M.C. Buydens, S. DeJong, P.J.Lewi, J.Smeyers-Verbeke, Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A and B: Elsevier, Amsterdam, 1997 and 1998.

ГЛАВА 7

АВТОМАТИЗАЦИЯ АНАЛИЗА И ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

7.1. Механизация и автоматизация лабораторий

Постоянно возрастающее число химических анализов в самых разных сферах деятельности — медицине, фармацевтике, промышленности, службах контроля окружающей среды — вызывает возрастающую потребность в полной или, по крайней мере, частичной механизации и автоматизации аналитического процесса. Прогресс в этой области аналитической химии заметно отстает по темпам от развития собственно методов химического анализа.

Основные **цели**, которые преследует механизация и автоматизация химического анализа, следующие.

- Возможность выполнения *большого числа анализов* в ограниченное время, что бывает крайне актуально, например, для медицинской диагностики.

- Значительное снижение расходов на *оплату труда персонала*. Автоматические анализаторы могут обслуживаться меньшим числом работников более низкой квалификации. Однако существенная экономия средств будет наблюдаться лишь в том случае, если число выполняемых анализов достаточно велико.

- Возможность выполнения *сложных* и *многостадийных* аналитических операций.

- *Сокращение времени анализа*, в частности, за счет одновременного выполнения нескольких однотипных действий или сокращения времени между выполнением отдельных стадий методики. Часто автоматизация анализа приводит к особенно значительному выигрышу во времени, если в ходе выполнения методики не требуется установление химического равновесия между реагирующими веществами, например, в кинетических методах анализа.

- *Предотвращение загрязнений* пробы посторонними веществами из окружающей среды при определении следовых количеств путем использования роботов-манипуляторов, способных работать в лабораториях, специально предназначенных для анализа особо чистых веществ, например, в ламинарных боксах.

- Повышение *точности* результатов за счет исключения субъективных источников погрешностей. Не будучи подверженными усталости, роботы позволяют обеспечить одинаковые точностные показатели на протяжении длительного периода работы. Кроме того, автоматизация анализа позволяет повысить точность за счет сокращения времени анализа и улучшения организации всего аналитического процесса в целом.

- Увеличение *эффективности извлечения информации* за счет автоматизированного сбора и обработки данных.

Механизация процесса анализа может быть осуществлена с различной степенью полноты. Операции, выполняемые вручную, могут быть механизированы частично или целиком — вплоть до создания полностью автоматизированных аналитических систем, работающих без вмешательства человека непосредственно с исходной пробой, не подвергнутой пробоподготовке и взвешиванию и выдающих конечный результат анализа.

Понятие «*автоматизация*» в строгом смысле слова означает создание механизмов и инструментов, в совокупности образующих информационно замкнутую систему. Это предусматривает наличие в такой системе множества обратных связей. Применительно к процессу анализа мы будем трактовать понятие «автоматизация» более широко — как разработку и использование инструментов, полностью или частично заменяющих человеческий труд на различных этапах анализа, включая обработку результатов.

Как правило, все методики анализа так или иначе включают в себя ряд однотипных, повторяющихся действий, которые мы будем называть *основными операциями*. Перечень таких типичных основных операций приведен в табл. 7.1. Разумеется, не обязательно все из них должны входить в каждую методику.

Таблица 7.1. Основные операции, входящие в состав методики химического анализа.

Операция	Примеры
Пробоподготовка	высушивание, гомогенизация, измельчение
Отбор определенного количества пробы	взвешивание, отбор аликвоты раствора
Вскрытие пробы	растворение, разложение
Разделение, концентрирование	осаждение, фильтрование, экстракция, диализ, хроматография
Добавление реагентов, перемешивание раствора	добавление растворов буфера, маскирующих реагентов, лигандов, ферментов
Измерение	измерение оптической плотности, потенциала, площади пика, эквивалентного объема (при титровании)
Градуировка	анализ образцов сравнения, построение градуировочной зависимости
Обработка результатов измерения	расчет содержания, концентрации, оценка точностных характеристик
Представление результатов	выдача результатов в численной или графической форме

Одна из задач механизации аналитического процесса — обеспечение наилучшей «стыковки» отдельных его этапов между собой. Для этого можно использовать как дискретный, так и непрерывный способ механизации. Такие операции,

как гомогенизация и взвешивание пробы, титрование, естественно осуществлять в дискретном режиме, в то время как все операции, связанные со смешением растворов, или диализ, можно проводить как дискретно, так и непрерывно.

Сбор, хранение, обработка и представление данных выполняются главным образом при помощи компьютера. Этот этап аналитического процесса в настоящее время автоматизирован наиболее полно, и в дальнейшем мы не будем его подробно рассматривать. Существуют и примеры достаточно глубокой автоматизации других стадий анализа. Например, в медицинской лаборатории стало возможным выполнять до 3000 определений в час 20 различных компонентов в пробах плазмы крови объемом по 0,5 мл.

Дискретные анализаторы

Механизированная обработка проб

Анализаторы, работающие по дискретному принципу, обрабатывают каждую пробу отдельно.

Рассмотрим дискретный способ автоматизации анализа на примере операции смешения реагирующих веществ. Для этого можно заранее приготовить необходимые растворы и при каждом определении отмерять и смешивать их определенные порции. Можно также смешивать отдельные, заранее приготовленные, порции реагентов. В обоих случаях смешение обычно осуществляют непосредственно в измерительной ячейке, например, в фотометрической кювете.

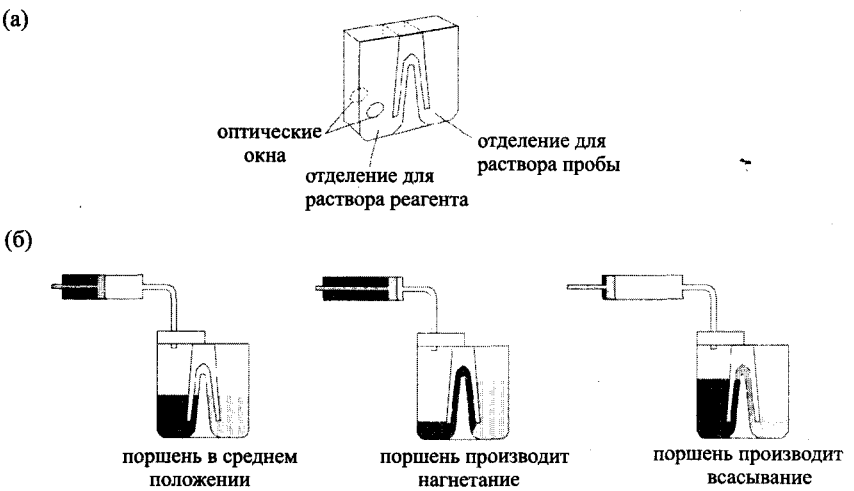


Рис. 7.1. Простейшая конструкция ячейки для автоматизированного фотометрического анализа. (а) Устройство измерительной ячейки. (б) Последовательность операций, предшествующих измерению.

Процесс автоматического дозирования и смешения порций двух растворов схематически показан на рис. 7.1 на примере фотометрического определения. Даже если перемешивание растворов будет неполным, стандартизация условий автоматического смешения позволяет получать правильные результаты.

Для механизированной обработки пробы используют различные перемещаемые пластинки, конвейерные ленты или карусельные устройства. На рис. 7.2 схематически показано карусельное устройство для транспортировки ячейки, изображенной на рис. 7.1.

Транспортное карусельное устройство работает по заранее заданной программе и управляется от компьютера. Различные управляющие программы можно создавать, например, для отдельных методик ферментативного анализа в медицине.

Достоинства дискретных анализаторов состоят в следующем.

- Простота механизации стандартных методик.
- Гибкость, возможность более быстрого, чем при использовании непрерывных анализаторов, изменения программы работы, последовательности и продолжительности отдельных операций.
- Уменьшение расхода реагентов по сравнению с непрерывными анализаторами.

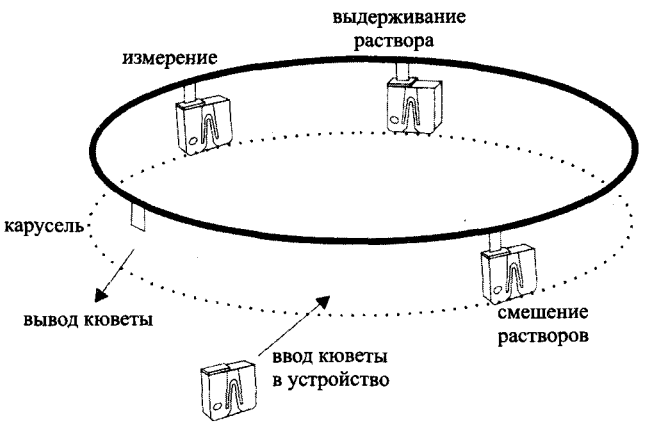


Рис. 7.2. Транспортная карусель для механизации фотометрического анализа.

Основным недостатком дискретных анализаторов является сравнительно низкая надежность в работе из-за большой *сложности механического устройства*.

Дискретные анализаторы: «безреактивный» анализ

Применение дискретных анализаторов позволяет не только механизировать последовательность операций, выполняемых вручную, но и полностью исключить или, по крайней мере, свести к минимуму некоторые из них. В первую очередь это относится к операциям дозирования и смешения растворов. Весь анализ можно выполнить на одной тестовой пластинке, состоящей из последовательности слоев пористых материалов (мембран), пропитанных растворами необходимых реагентов. Перемещение раствора пробы от слоя к слою осуществляется самотеком, под действием диффузии или силы тяжести. В отдельных слоях могут осуществляться все необходимые стадии пробоподготовки, разделения, проведения химических реакций и измерения.

Рассмотрим использование такой техники анализа на примере определения мочевины в крови. Устройство соответствующей тестовой пластинки схематически представлено на рис. 7.3. Каплю анализируемой пробы объемом порядка 10 мкл помещают на пластинку. В ходе проникновения в самый верхний слой порция крови равномерно в нем распределяется. Второй (сверху) слой содержит фермент уреазу, вызывающий гидролиз мочевины с образованием аммиака (см. уравнение (7.5)). Выделяющийся аммиак диффундирует сквозь следующий слой, представляющий собой полупроницаемую мембрану, в слой, пропитанный раствором кислотно-основного индикатора, и вызывает изменение pH этого раствора и, соответственно, окраски индикатора. Анализ производят фотометрическим методом, направляя луч света через прозрачное окошко в нижней части пластинки. Нижняя поверхность самого верхнего слоя частично отражает свет, поэтому пластинка представляет собой аналог обычной фотометрической кюветы для измерений в проходящем свете.

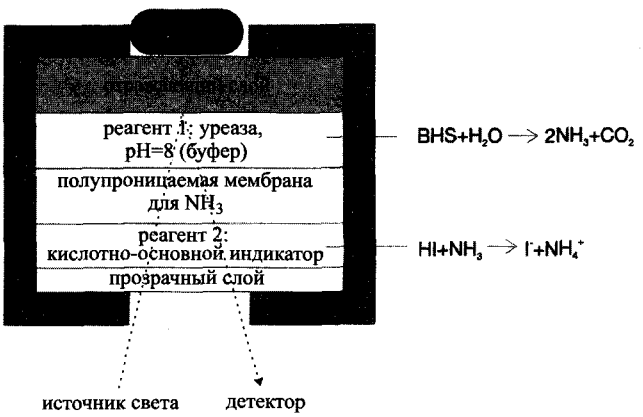


Рис. 7.3. Тестовая пластинка для определения мочевины в крови. Мочевина в результате ферментативной реакции превращается в аммиак, который определяют фотометрически при помощи кислотно-основного индикатора HI.

Подобным образом можно осуществлять не только процессы диффузионного транспорта и мембранного разделения компонентов раствора, но и фильтрование, селективную адсорбцию, стабилизацию реагентов, замедление процессов химического взаимодействия, маскирование и прочие химические реакции, в том числе с участием нескольких реагентов. Такие тестовые пластинки широко применяются в кинетических, особенно ферментативных, методах анализа, например, для определения различных субстратов в присутствии ферментов или кофакторов (раздел 8.3).

Миниатюрные тестовые пластинки могут служить одноразовыми химическими сенсорами (датчиками). Более подробно об этом мы поговорим в разделе 7.2 на примере оптических датчиков.

Существуют и одноразовые потенциометрические датчики (одноразовые ионселективные электроды). Их применяют в медицине для определения различных ионов в биологических жидкостях. Схема устройства одноразового ионселективного электрода для определения калия приведена на рис. 7.4.

Устройство состоит из двух идентичных ионселективных электродов — для анализируемого раствора и раствора сравнения с известной концентрацией ка-

лия. Электролитический контакт между обоими электродами осуществляется при помощи полоски влажной бумаги. Концентрацию калия в анализируемом растворе находят, измерив разность потенциалов между электродами. Достоинства таких миниатюризированных средств клинической диагностики состоят в следующем.

- Дешевизна устройства.
- Отсутствие необходимости периодического обновления ионселективной мембраны.
- Отсутствие отравления мембраны в результате адсорбции белков из плазмы крови и связанного с этим снижения чувствительности.

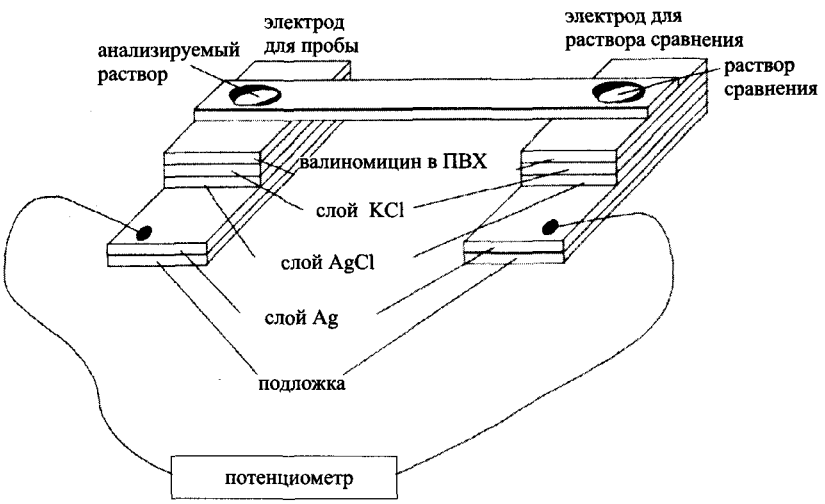


Рис. 7.4. Определение калия в сыворотке крови при помощи одноразового ионселективного электрода.

Очевидным недостатком любого одноразового датчика является невозможность его повторного использования.

Непрерывные анализаторы

Непрерывные анализаторы работают по принципу анализа в потоке. Раствор пробы, буфера и всех необходимых реагентов вводят в поток жидкости, перемешивают и регистрируют аналитический сигнал при помощи соответствующего детектора. Различают проточные методы анализа с использованием и без использования сегментации потока. Для сегментации используют пузырьки воздуха, вводимые в поток жидкости с определенной периодичностью. Методы с сегментацией потока называются методами *непрерывного проточного анализа (НПА)*, а без сегментации — методами *проточно-инжекционного анализа (ПИА)*.

Непрерывный проточный анализ (НПА)

Метод непрерывного проточного анализа предложил Л.Т.Скеггс в 1958 г. Анализируемый раствор подается при помощи перистальтического насоса в непрерывный поток жидкости, содержащий реагенты и буфер, и смешивается с ним в смесительной спирали. Полученную смесь в ряде случаев подвергают дополнительным операциям, например, термостатированию или диализу. Продукт реакции определяют в проточной ячейке при помощи соответствующего детектора. Чтобы уменьшить размывание зоны продукта реакции вследствие диффузии, поток жидкости сегментируют при помощи периодически вводимых пузырьков воздуха. Схематическое устройство непрерывного проточного анализатора показано на рис. 7.5.

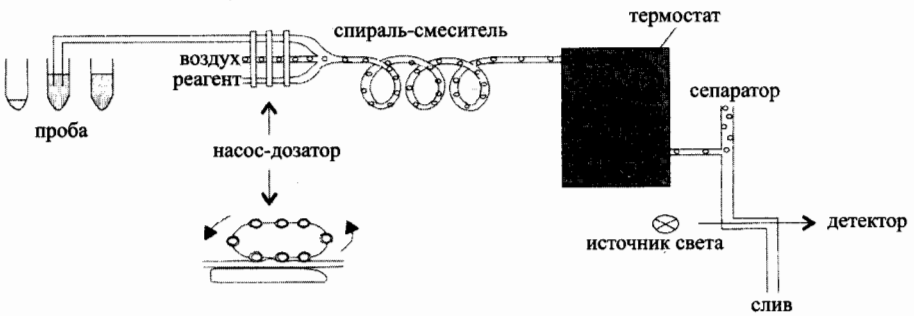


Рис. 7.5. Схема непрерывного проточного анализатора с сегментацией потока пузырьками воздуха и фотометрическим детектированием (согласно Скеггсу).

Перед детектированием из потока жидкости удаляют пузырьки воздуха при помощи сепаратора. Возможно и детектирование непосредственно в сегментированном потоке. Помехи со стороны пузырьков в этом случае устраняют при помощи электронных устройств.

В НПА-анализаторах применяют и многоканальные насосы, управляющие несколькими потоками реагентов. Устройства для непрерывного проточного анализа позволяют автоматизировать множество операций химического анализа: дозирование раствора пробы, разделение компонентов, разбавление, добавление реагентов, перемешивание, термостатирование, выдерживание (инкубирование) растворов, измерение, обработку и представление результатов. Детектирование чаще всего осуществляют фотометрическим методом в УФ- или видимой области. Часто используют и другие методы детектирования: флуориметрию, фотометрию пламени, потенциометрию с использованием ионселективных электродов.

Анализ неизвестного образца можно совместить с градуировкой, вводя в анализатор порции растворов пробы и стандартных растворов в чередующемся порядке. НПА можно использовать и в кинетических, в частности, ферментативных, методах анализа, выдерживая реакционную смесь перед измерением в течение некоторого определенного времени (см. раздел 2.7).

Применение многоканальных насосов позволяет выполнять одновременный анализ *нескольких проб* или анализ одной пробы на *несколько компонентов*. Например, в плазме крови можно определять восемь компонентов — Na^+, K^+,

Cl^-, CO_2, глюкозу, мочевинный азот, альбумин и общее содержание белков — с производительностью до 2000 полных анализов в час. В кинетических методах можно использовать большие времена инкубации реакционных смесей (и, соответственно, медленно протекающие реакции), поскольку вследствие сегментирования потока продольная диффузия и размывание зон весьма незначительны. В механическом отношении устройство НПА-анализаторов достаточно простое, поэтому они надежны в работе.

Недостатком метода является возможность *загрязнения* растворов в результате продолжительного движения по жидкостной системе. *Переоборудование* НПА-анализаторов для решения другой задачи осуществить сложнее, чем в случае дискретных анализаторов или при использовании технологии ПИА (см. ниже). НПА-анализаторы приспособлены лишь для выполнения множества серийных анализов; производить отдельные нерегулярные анализы с их помощью невозможно или нецелесообразно. Многие методики НПА включены в официальные нормативные документы. Например, собрание германских стандартов DIN содержит методики определения аммония, нитритов, нитратов, цианидов и фосфатов в водах методом НПА. Как правило, в подобных случаях в сборники стандартов включают и методики ПИА для решения тех же задач.

Конструкция непрерывных проточных анализаторов с середины 1970-х годов. практически не изменялась.

Проточно-инжекционный анализ (ПИА)

Дальнейшим развитием проточных методов явилось создание в 1974 г. Пунгором и, независимо, Ружичкой метода проточно-инжекционного анализа. В этом методе определенный объем пробы, около 100 мкл, вводят в ламинарный несегментированный непрерывный поток жидкости (носителя или раствора реагента) и осуществляют детектирование приблизительно через 30 с. Первоначально поток жидкости создавали самотеком, под действием силы тяжести. Затем для этой цели стали применять высокоэффективные жидкостные насосы. По своему устройству проточно-инжекционный анализатор сходен с высокоэффективным жидкостным хроматографом без разделяющей колонки (рис. 7.6).

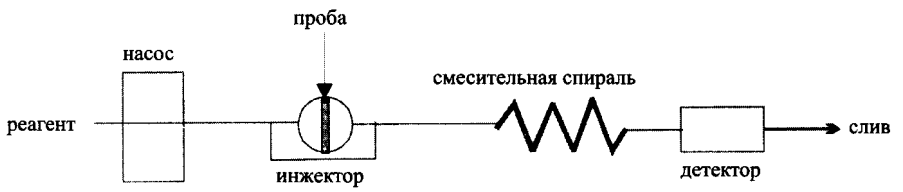


Рис. 7.6. Схема жидкостных потоков в одноканальном проточно-инжекционном анализаторе.

В ПИА обычно используют перистальтические насосы с круговым движением прижимных роликов (см. рис. 7.5). Они позволяют регулировать скорость потока в пределах от 0,0005 до 40 мл/мин. Для ввода пробы используют вентили, аналогичные применяемым в ВЭЖХ. Объемы вводимого раствора пробы обычно составляют от 10 до 30 мкл.

Перемешивание растворов реагентов и пробы происходит под действием конвекции и диффузии. Полного перемешивания при этом обычно не достигается, и сигнал имеет форму пика, а не плато (рис. 7.7).

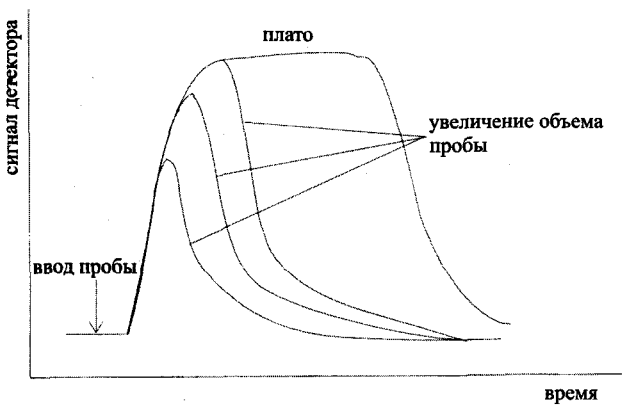


Рис. 7.7. Влияние объема пробы на форму и величину сигнала в ПИА.

Обычно детектирование осуществляют фотометрическим методом. Определять содержание вещества можно как по площади, так и по высоте пика. Соответствующим способом необходимо проводить и градуировку. В методе ПИА не требуется полного завершения реакции, поэтому производительность метода очень высока — до 100 и более анализов в час (рис. 7.8).

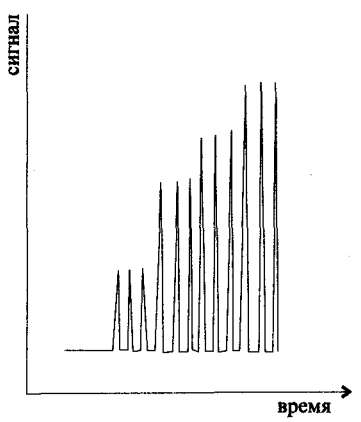


Рис. 7.8. Сигналы детектора при ПИА проб возрастающей концентрации. Каждую пробу анализируют трижды.

В жидкостных системах для ПИА используют очень узкие трубки с диаметром, обычно не превышающим 0,5 мм. Скорость потока необходимо устанавливать очень точно, чтобы обеспечить воспроизводимое размывание зон вследствие диффузии. Размывание зон характеризуют величиной дисперсии D. Она равна отношению концентрации анализируемого раствора c_0 к концентрации c в максимуме пика:

$$D = \frac{c_0}{c}. \qquad (7.1)$$

Дисперсия, равная единице, соответствует сигналу, имеющему форму плато (рис. 7.7). Это возможно лишь в случае, если в потоке не происходит ни перемешивания зоны продукта реакции с окружающей жидкостью, ни разбавления анализируемого раствора. Однако, если реагент не содержится в потоке носителя, а вводится дополнительно, то разбавление оказывается неизбежным. Поэтому величины дисперсий в ПИА всегда больше единицы.

При увеличении как длины смесительной спирали, так и скорости потока дисперсия возрастает. При этом вследствие конвекции и диффузии изменяет-

ся также форма пика(из исходной прямоугольной она становится размытой) и увеличивается его ширина (рис. 7.9).

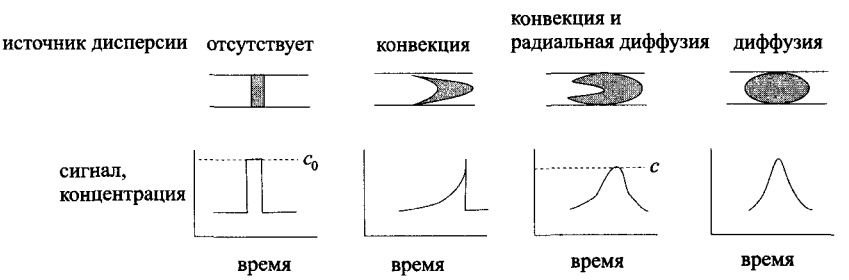


Рис. 7.9. Влияние конвекции и диффузии на концентрационный профиль зоны определяемого вещества и форму сигнала детектора.

В ходе дальнейшего развития ПИА стало возможным дополнительно уменьшить объемы вводимой пробы. Получили распространение и другие методы детектирования — потенциометрический с использованием ИСЭ, атомно-эмиссионный с ИСП, атомно-абсорбционный. Перенесение обычной методики химического анализа в проточно-инжекционный вариант, как правило, требует специального дополнительного исследования. Непосредственно в ходе проточно-инжекционного анализа можно осуществить множество видов пробоподготовки (табл. 7.2). В табл. 7.3 указаны некоторые стандартизованные методики анализа, осуществляемые при помощи ПИА.

Таблица 7.2. Виды пробоподготовки, осуществляемые в ходе ПИА.

Вид пробоподготовки	Применение
Установление pH	как правило, требуется всегда
Разложение под действием УФ- или микроволнового излучения	определение цианидов, фосфатов
Диализ	анализ окрашенных растворов, отделение матрицы
Отгонка	отделение определяемого компонента или матрицы
Экстракция, ионный обмен	отделение матрицы, концентрирование
Разбавление	анализ концентрированных растворов

В качестве примера рассмотрим определение анионных поверх-ностно-активных веществ (ПАВ) — сульфонатов и сульфатов — при помощи красителя метиленового голубого (хлорида метилтионииния). Эта методика используется для оценки эффективности биологической очистки сточных вод на очистных сооружениях. Катионный краситель метиленовый голубой (рис. 7.10) образует с анионными

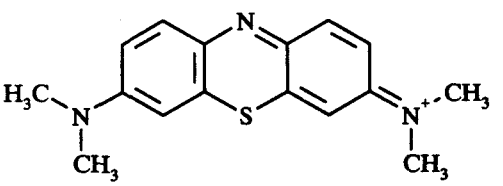


Рис. 7.10. Одна из мезомерных форм метиленового голубого — реагента для определения анионных поверхностно-активных веществ.

ПАВ ионный ассоциат, экстрагируемый хлороформом. Его концентрацию можно определить фотометрически при 650 нм.

Таблица 7.3. Методики проточно-инжекционного анализа, включенные в стандарты Германии.

Определяемый компонент	Диапазон концентраций, мг/л	Метод, реагенты	Стандарт
Аммиак	0,1–10	Бертло (газовая диффузия)	DIN 38406 E 23
Нитриты	0,01–1	реакция Грисса	DIN 38405 D 28
Нитраты	0,1–15	Cd-редуктор, реакция Грисса	DIN 38405 D 28
Общий азот	0,02–4	восстановление/окисление, реакция Грисса	ISO CD 11905
Хлориды	10–500	ИСЭ, тиоцианат	готовится
Фенольный индекс	0,01–1	4-аминоантипирин	готовится
Цианиды	0,01–1	хлорамин Т, барбитурат	готовится

На рис. 7.11 схематически изображена проточно-инжекционная установка для определения анионных ПАВ. Пробу вводят в поток носителя, представляющего собой дегазированную воду. Раствор реагента (метиленовый голубой в метаноле при pH 7 — фосфатный буфер) подается отдельным потоком. Органическую фазу (хлороформ) закачивают в поток воды и приводят к равновесию с водно-метанольной фазой, содержащей пробу и реагент, в экстракционной спирали. Органическую фазу отделяют в сепараторе и измеряют сигнал при помощи фотометрического детектора.

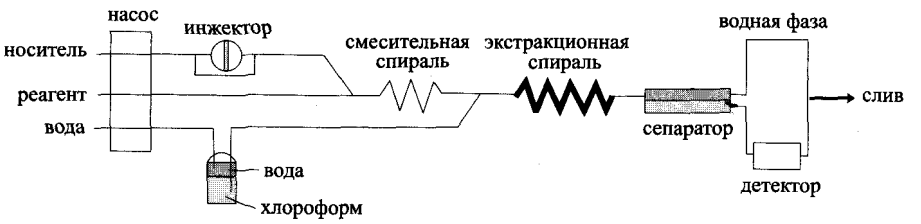


Рис. 7.11. Устройство для проточно-инжекционного определения анионных ПАВ при помощи метиленового голубого и экстракции хлороформом.

Часто возникает вопрос, какой из двух проточных методов — НПА или ПИА — использовать для решения той или иной задачи. Как правило, выбор определяется лишь необходимым числом анализов и временем, отводимым для них. Некоторую роль может играть и природа определяемого вещества, а также состав матрицы. В целом метод ПИА предпочтительнее для выполнения небольших серий анализов, поскольку в ПИА перенастроить оборудование для выполнения другой методики проще, чем в НПА. Для выполнения же большой серии стандартных анализов, а также достижения максимально возможной автоматизации процесса лучше использовать НПА. Этот метод более производительный ввиду возможности выполнения одновременных параллельных анализов при помощи многоканальных анализаторов. Часто метод НПА оказывается и чувствительнее, чем ПИА, поскольку сегментация потока пузырьками воздуха уменьшает

дисперсию и размывание пиков. Однако при использовании предварительного концентрирования, применяемого, например, в виде экстракции хлороформом при определении фенольного индекса, метод ПИА по чувствительности может превзойти НПА.

Центрифужные анализаторы

Методы проточного анализа — НПА и ПИА — позволяют, как правило, осуществлять лишь последовательный анализ проб. Если требуемое время анализа достаточно велико как, например в кинетическом методе, то это обстоятельство не позволяет достичь высокой производительности. Поэтому разработаны специальные анализаторы, предназначенные для одновременного анализа целой серии проб. Смешение растворов всех проб с раствором реагента в них производится одновременно. Такие анализаторы находят применение в медицинских лабораториях для выполнения анализов кинетическими методами.

Конструктивно *параллельный анализатор* устроен в виде центрифуги (рис. 7.12). Держатель для проб имеет форму диска и содержит множество гнезд, расположенных по периметру. Каждое гнездо имеет отсеки для раствора реагента и пробы. Перед началом анализа отсеки заполняют соответствующими растворами, а затем на короткое время приводят диск во вращение со скоростью около 350 оборотов в минуту при помощи центрифуги. При этом под действием центробежной силы растворы в каждом гнезде одновременно перемешиваются и поступают в фотометрическую ячейку. Иногда для ускорения перемешивания используют поток воздуха. После этого в каждой ячейке возможно измерить скорость химической реакции при помощи фотометрической индикации любым доступным способом — методом фиксированного времени или по наклону начального участка кинетической кривой (раздел 2.7).

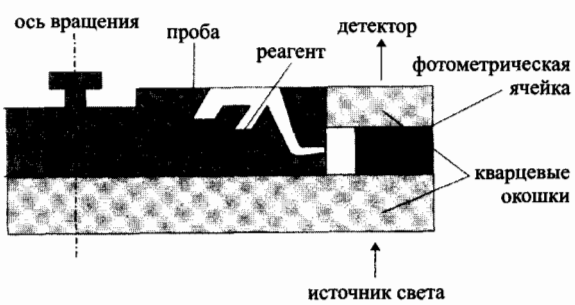


Рис. 7.12. Центрифужный анализатор для одновременного анализа нескольких проб кинетическим методом.

Такие анализаторы особенно часто используют для определения ферментов. В отличие от традиционного варианта ферментативных методов, применяемого для определения субстратов, здесь изучают зависимость скорости реакции от концентрации фермента, а не субстрата.

Элементные анализаторы

В органической химии элементный анализ был и остается одним из основных методов определения состава молекул. Разработаны методики определения всех

элементов, которые могут входить в состав органических веществ. Однако в автоматическом режиме чаще всего определяют лишь важнейшие из них, а именно углерод, водород, азот, а также кислород и серу. В автоматических элементных анализаторах (так называемых CHN-анализаторах) пробу сжигают, образующиеся газы разделяют газо-хроматографическим или адсорбционным методом и определяют, используя обычно детектор теплопроводности (катарометр).

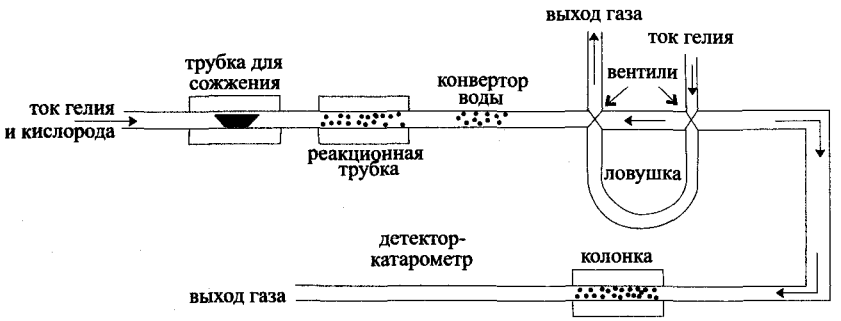


Рис. 7.13. Схема CHN-анализатора на основе газохроматографического разделения.

Масса навески пробы составляет 0,1–0,3 мг. Сожжение производят в атмосфере кислорода при 900°C (рис. 7.13). При этом углерод превращается в CO_2 и частично CO, водород сгорает до воды, а азот высвобождается в форме N_2 или оксидов азота. Газовую смесь пропускают через реактор — трубку, заполненную порошкообразным реагентом (на основе оксида меди) и нагретую до 750°C. В реакторе CO полностью окисляется до CO_2, оксиды азота превращаются в N_2, а избыток кислорода удаляется. Далее смесь газов следует через конвертор воды — трубку, заполненную карбидом кальция. При этом вода превращается в ацетилен — вещество, находящееся, в отличие от воды, в газообразном состоянии и при температуре ниже 100°C. Для отделения анализируемой газовой смеси от примесей и других продуктов сгорания ее пропускают через ловушку, охлаждаемую жидким азотом. Наконец, полученную газовую смесь анализируют методом газовой хроматографии, используя в качестве газа-носителя гелий, а в качестве детектора — катарометр. По окончании анализа из ловушки удаляют конденсат, пропуская через нее ток гелия в обратном направлении.

Этим методом невозможно определить кислород и серу. Их определяют отдельно, превращая в диоксид углерода и диоксид серы, соответственно. Для определения кислорода пробу подвергают пиролизу в присутствии платинированного угля; при этом кислород превращается в CO. Далее CO окисляют до CO_2 в реакторе с оксидом меди, как описано выше.

Лабораторные роботы

Еще одно направление автоматизации процесса анализа — использование лабораторных роботов. Лабораторный робот представляет собой механический манипулятор, устроенный подобно человеческой руке. Он имеет несколько подвижных стержней, аналогичных пальцам, которые приводятся в движение при

помощи системы двигателей и могут перемещаться в различных плоскостях. С помощью таких манипуляторов можно выполнять самые разнообразные механические действия с анализируемой пробой: взвешивание, диспергирование (разбавление), операции пробоподготовки, включая смешение с реагентами, управление измерительными приборами (рис. 7.14). Выполнение всей последовательности операций можно осуществлять программным путем.

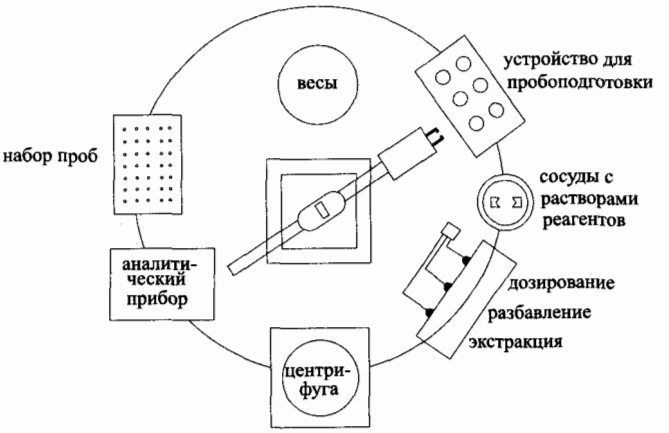


Рис. 7.14. Лабораторный робот и его окружение.

Лабораторные роботы широко применяются при манипуляциях с токсичными веществами и пробами неизвестного состава. Так, в производственных лабораториях весь цикл анализа органических веществ методом ЯМР выполняют при помощи роботов с тем, чтобы оператор не вступал в непосредственный контакт с неизвестным веществом.

7.2. Химические сенсоры

Потребность в разработке химических датчиков (сенсоров) обусловлена многими причинами. Во-первых, сенсоры призваны хотя бы отчасти заменить собой выполнение длительных и трудоемких методик *химических методов анализа*. Характерным примером может служить тенденция к замене метода фотометрии пламени для определения калия, натрия, лития и кальция в крови на химические датчики на основе ионселективных электродов.

Во-вторых, использование сенсоров неразрывно связано с *автоматизацией производственных процессов*. Для управления и контроля производства необходимо постоянное измерение множества химических параметров. Наилучшим средством таких измерений непосредственно в технологическом производственном потоке (раздел 7.3) являются химические сенсоры. Для использования на производстве к сенсорам предъявляется много требований. Они должны быть *надежны в эксплуатации*, иметь *большой срок службы* и быть устойчивы к воздействиям высоких и низких *температур*.

В таких областях, как водное хозяйство, охрана окружающей среды, служба техники безопасности, медицина, необходимо постоянное *наблюдение и кон-*

троль (мониторинг) целого ряда химических параметров. Примерами самых простых задач такого рода могут служить непрерывный контроль величины pH и мутности питьевых или сточных вод. Для решения этих задач можно использовать стеклянный электрод и оптический сенсор. В ближайшее время, вероятно, возникнет острая необходимость в организации такого же непрерывного внелабораторного контроля за содержанием тяжелых металлов или органических веществ в водах. Соответствующие сенсоры должны не реагировать на индивидуальные вещества, а измерять *суммарные параметры* загрязненности.

В области охраны окружающей среды актуальной задачей является контроль за выбросами из дымовых труб, за содержанием оксидов азота и серы в атмосфере. Очень удобным средством такого контроля могут служить газовые сенсоры (оптические и микроэлектронные). Значительно труднее организовать непрерывный контроль загрязнений почвы или донных отложений. Для этого потребуются сенсоры, способные осуществлять дистанционный анализ твердых тел.

Для оценки общего уровня загрязненности нужны недорогие, выпускаемые массовыми партиями датчики, от которых требуется регистрация лишь суммарных (за определенный период времени) или максимальных (пиковых) показателей. Для горнодобывающей промышленности необходимы датчики на взрывоопасные газы, а для метеорологии — датчики влажности или содержания CO в атмосфере.

В медицине бывает необходимо непосредственно в ходе хирургической операции постоянно контролировать соотношение калия и натрия в отдельно взятой клетке организма, поскольку эта величина является одним из важнейших показателей общего состояния пациента. Роль подобных измерений *in situ* непрерывно возрастает. Химические сенсоры незаменимы и для контроля за концентрацией в организме лекарственных средств и продуктов их метаболизма, анестетиков. В перспективе подобные задачи призваны решать сенсоры нового поколения, не вводимые непосредственно в организм. Уже есть примеры использования такого рода сенсоров для определения глюкозы в крови на основании путем регистрации спектра ногтей в ближней ИК-области.

Требования к химическим сенсорам и основные принципы их действия

Официальное определение химического сенсора гласит:

> *химический сенсор — это измерительное устройство, обычно небольших размеров, способное непрерывно измерять концентрацию какого-либо компонента в потоке жидкости или газа и преобразовывать химическую информацию в электрический или оптический сигнал.*

Сенсор состоит из химически чувствительного слоя («распознавателя» веществ), преобразователя исходной химической информации в электрический или оптический сигнал и устройства регистрации и вывода данных, интегрированного в корпус сенсора. Примером химического сенсора может служить ионселективный электрод. В нем химически чувствительным слоем является твердая или жидкая мембрана, а исходная химическая информация преобразуется в электри-

ческий сигнал — величину потенциала, которую можно измерить при помощи соответствующего измерительного прибора.

К химическим сенсорам предъявляется множество разнообразных требований. Часть из них является общими для любых методов анализа, часть — специфическими. Важнейшие из требований представлены в табл. 7.4.

Таблица 7.4. Основные характеристики химических сенсоров и требования, предъявляемые к ним.

Характеристика, требование
Чувствительность
Динамический диапазон
Селективность, специфичность
Временной дрейф
Воспроизводимость
Возможность миниатюризации
Механическая устойчивость
Время отклика
Время эксплуатации
Совместимость с окружающими условиями (давление, температура, взрывоустойчивость, радиоактивное излучение, биосовместимость, стерильность)

Наличие такого множества различных требований означает, что не может быть единого принципа работы химического сенсора, пригодного для всех случаев. Обзор основных принципов действия химических сенсоров приведен в табл. 7.5. Некоторые из них мы уже обсуждали в главах, посвященных соответствующим методам анализа, поэтому здесь мы остановимся лишь на особенностях реализации этих принципов применительно к сенсорам. Новые принципы, положенные в основу микроэлектронных и оптоволоконных сенсоров, мы рассмотрим подробнее.

Таблица 7.5. Основные типы химических сенсоров и принципы их действия.

Принцип действия	Тип сенсора
Изменение электропроводности	оксидно-полупроводниковые на основе органических полупроводников
Изменение потенциала	ионселективные электроды твердотельные газовые на основе полевых транзисторов
Изменение силы тока	амперометрические (датчик Кларка, ферментные, иммуносенсоры, зонды на основе твердых электролитов)
Изменение резонансной частоты	пьезоэлектрические весы поверхностно-волновые акустические
Изменение оптических характеристик	датчики поглощения/пропускания, мутности, флуоресценции, показателя преломления
Термооптические явления	фотоакустические
Тепловые эффекты	термические/калориметрические пеллисторы

Электрохимические и микроэлектронные сенсоры

Потенциометрические сенсоры

К потенциометрическим сенсорам относятся ионселективные электроды, рассмотренные ранее в разделе 4.3.

Принцип потенциометрических измерений можно применить и для определения газов таких, как диоксид углерода или аммиак, а также некоторых органических веществ, например мочевины.

Сенсоры на основе твердых электролитов

Для создания сенсоров можно использовать явление электропроводности многих твердых тел при повышенных температурах. Особенно большое практическое значение имеют оксиды, электропроводность которых обусловлена оксид-ионами. Оксидные электроды работают аналогично металлическим как окислительно-восстановительные электроды. Основой оксидных электродов служит обычно ZrO_2 с добавками CaO или Yb_2O_3, вызывающими образование вакансий в кристаллической структуре и тем самым увеличивающими электропроводность. Сенсоры на основе оксида циркония применяются для определения кислорода при высоких температурах — в топочных газах или в черной металлургии (кислородно-конверторный процесс, происходящий при температурах выше 1000°C).

Зависимость потенциала оксидных электродов от содержания кислорода обусловлена окислительно-восстановительным равновесием

$$O_2 + 4e^- \rightleftharpoons 2O^{2-}. \tag{7.2}$$

Возможно определение кислорода непосредственно *в расплавах* с использованием оксидного и платинового электродов. Для определении кислорода в газовой фазе применяют электрод из пористой платины, поры которого заполнены оксидным материалом. В этом случае электродом сравнения служит идентичный электрод, находящийся в камере сравнения — газовой среде с известным содержанием кислорода (обычно это воздух).

В соответствии с уравнением Нернста разность потенциалов между измерительным электродом и электродом сравнения зависит от парциальных давлений кислорода в измерительной камере p и камере сравнения p_0 как

$$E = \frac{RT}{4F} \ln \frac{p_0}{p}. \tag{7.3}$$

Оксидные электроды используют и для определения содержания кислорода в выхлопных газах автомобильных двигателей. На основе полученных данных производят необходимую регулировку двигателя.

Газочувствительные сенсоры

В принципиальном отношении газочувствительные сенсоры не представляют собой ничего нового. Основу их конструкции составляет обычная электрохимическая ячейка с ионселективным электродом и электродом сравнения. Оба электрода погружены во внутренний раствор электролита. Снаружи раствор электролита отделен от анализируемого раствора газопроницаемой мембраной (рис. 7.15). Мембрана может быть гомогенной или микропористой и обычно имеет толщину порядка 0,1 мм. Микропористые мембраны изготавливают из гидрофобного полимера — тефлона или полипропилена. Объем пор составляет около 70%, размер — менее 1 мкм. Сквозь такие поры из анализируемого раствора во внутренний электролит свободно проникают молекулы газа, а молекулы воды и растворенные в ней ионы задерживаются гидрофобной мембраной.

Основой гомогенных мембран обычно служит силиконовая резина. В такой мембране газ растворяется и диффундирует во внутренний раствор. Для обеспечения как можно более высокой скорости проникновения газа гомогенные мембраны обычно имеют гораздо меньшую толщину, чем микропористые, — порядка 0,02 мм.

Рассмотрим, как работает газовый сенсор для определения CO_2. Газ, диффундирующий через мембрану, проникает во внутренний раствор электролита — в данном случае это $NaHCO_3$+NaCl. При этом происходит кислотно-основная реакция:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+. \qquad (7.4)$$

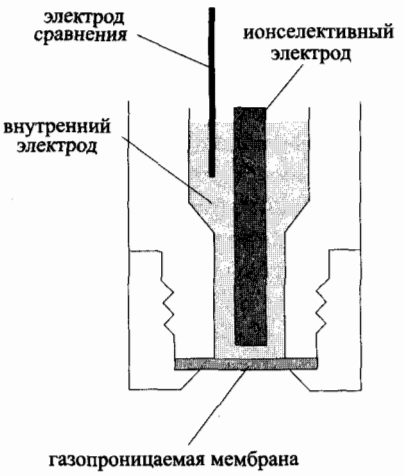


Рис. 7.15. Устройство газочувствительного потенциометрического зонда.

Поскольку гидрокарбонат-ион находится в большом избытке, зависимость между концентрациями CO_2 во внешнем растворе и H^+ во внутреннем растворе близка к линейной. Для измерения концентрации H^+ можно использовать любой подходящий ионселективный электрод, например стеклянный. Аналогичным образом можно определять концентрации и других газов, обладающих в водных растворах кислотно-основными свойствами, например, SO_2 или NO_2. Соответствующие реакции приведены в табл. 7.6.

Таблица 7.6. *Газы, для определения которых существуют промышленно выпускаемые сенсоры.*

Определяемый газ	Реакция во внутреннем растворе	Ионселективный электрод
CO_2	$CO_2 + 2H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H_3O^+$	pH (стеклянный)
NO_2	$2NO_2 + 3H_2O \rightleftharpoons NO_2^- + NO_3^- + 2H_3O^+$	pH (стеклянный) или NO_3^--ИСЭ
SO_2	$SO_2 + 2H_2O \rightleftharpoons HSO_3^- + H^+$	pH (стеклянный)
NH_3	$NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH_4^+ + OH^-$	pH (стеклянный)
H_2S	$H_2S + 2H_2O \rightleftharpoons S^{2-} + 2H_3O^+$	Ag_2S-ИСЭ
HCN	$HCN + H_2O \rightleftharpoons CN^- + H_3O^+$	Ag_2S-ИСЭ
HF	$HF + H_2O \rightleftharpoons F^- + H_3O^+$	LaF_3-ИСЭ

Газы, претерпевающие во внутреннем растворе однотипные реакции, мешают определению друг друга. Так, определению NO_2 с использованием стеклянного электрода мешают SO_2 и CO_2, поскольку они, как и NO_2, в водном растворе выделяют протон. Однако, если использовать нитрат-селективный электрод, то этого мешающего влияния уже не будет.

В табл. 7.6 приведены и другие примеры определения газов с использованием ИСЭ. Недостатками газовых сенсоров описанного типа являются значительное время отклика и невысокая чувствительность.

Биокаталитические мембранные сенсоры

Еще одна разновидность сенсоров представляет собой сочетание *ионселективных электродов* с биохимическими реакциями, катализируемыми *ферментами*,

например, превращением мочевины в аммиак и диоксид углерода. Образующиеся продукты можно определять, в частности, при помощи газочувствительных сенсоров, описанных выше. С помощью биокаталитических сенсоров обычно определяют вещества, представляющие интерес для биологии и биохимии, в том числе достаточно сложные органические молекулы. В биосенсорах можно использовать простые в эксплуатации ионселективные электроды с малым временем отклика. Применение биологических катализаторов — ферментов — обеспечивает высокоселективное протекание реакций в мягких, с точки зрения величин pH и температуры, условиях при минимальном расходе субстрата.

Чтобы предотвратить потери достаточно дорогого фермента, его *иммобилизуют*. Иммобилизацию можно осуществлять как непосредственно на поверхности мембраны, так и в специальном слое, покрывающем мембрану.

Примером субстрат-селективного мембранного электрода может служить электрод для определения мочевины на основе аммоний-селективного стеклянного электрода. Ион аммония является одним из продуктов реакции гидролиза мочевины, протекающей под действием фермента уреазы:

$$NH_2CONH_2 + 2H_2O + H^+ \xrightarrow{\text{уреаза}} 2NH_4^+ + HCO_3^-. \qquad (7.5)$$

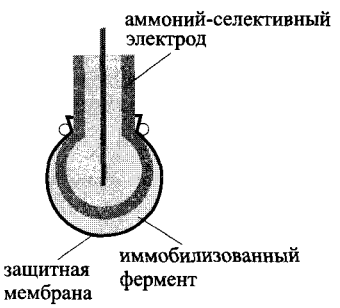


Рис. 7.16. Устройство биокаталитического мембранного сенсора на основе аммоний-селективого электрода и фермента уреазы.

Уреазу иммобилизуют в полиакриламидном слое, нанесенном на поверхность аммоний-селективного электрода (рис. 7.16). К сожалению, исходный электрод недостаточно селективен к ионам аммония, поэтому при анализе биологических жидкостей заметно мешающее влияние ионов натрия и калия.

Вместо стеклянного электрода можно использовать газочувствительный электрод для определения аммиака описанного выше типа. Однако у такого электрода невелика чувствительность, поскольку оптимальные значения pH для протекания ферментативной реакции (около 7) и для определения аммиака (8–9) различаются.

Выпускаемые промышленностью тест-системы для массовых определений мочевины устроены как проточные реакторы с иммобилизованным ферментом. Раствор пробы пропускают через такой реактор, затем подщелачивают и определяют выделившийся аммиак при помощи газочувствительного датчика (см. табл. 7.6).

Сенсоры на основе полевых транзисторов

Все рассмотренные ранее типы потенциометрических сенсоров включают чувствительную мембрану, электрический контакт которой с остальными элементами цепи осуществляется посредством раствора электролита. Для усиления и регистрации электрического сигнала в этом случае необходимо отдельное устройство.

Однако возможно интегрирование сенсора и устройства для последующей обработки сигнала в одно целое, если использовать *полевые транзисторы*. Такие сенсоры, впервые разработанные Бергвельдом, называются химическими или

ионселективными полевыми транзисторами (ИСПТ). Основой ИСПТ служит известное микроэлектронное устройство — металлооксидный полевой транзистор (рис. 7.17). Он состоит из кремниевой подложки с p-проводимостью, контактирующей с двумя областями из кремния с n-проводимостью. Эти области называются истоком и стоком и посредством металлических контактов (напыленный алюминиевый слой) могут быть включены в электрическую цепь. Подложка, сток и исток покрыты слоем изолятора, диоксида кремния. У транзистора, изображенного на рис. 7.17, имеется еще один дополнительный защитный слой из нитрида кремния.

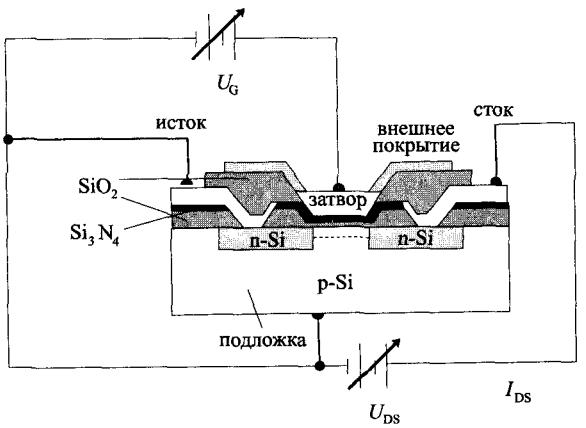


Рис. 7.17. Схема устройства металлооксидного полевого транзистора.

Если к истоку и стоку приложить напряжение U_{DS}, то между ними не потечет никакой ток, поскольку в любом случае один из p-n-переходов — между истоком и подложкой или подложкой и стоком — окажется запертым. Однако полевой транзистор содержит еще один электрод, называемый затвором. Он отделен от подложки изолирующим слоем из диоксида кремния.

Если приложить напряжение к затвору и подложке U_G, то в канале (слое подложки между истоком и стоком) возникнет электрическое поле. Под его воздействием между истоком и стоком начнет протекать ток I_{DS}. Величина этого тока зависит от приложенного напряжения U_G, причем вполне измеримый ток будет наблюдаться даже при очень малом значении U_G. В то же время, поскольку затвор отделен от подложки слоем диэлектрика, ток между затвором и подложкой пренебрежимо мал. Полевые транзисторы очень удобны как высокоомные входы вольтметров для потенциометрических измерений и часто используются там в качестве усилителей. Зависимость силы тока I_{DS} в цепи исток–сток от напряжения U_G называется вольтамперной характеристикой полевого транзистора.

Для создания ионселективного электрода на основе полевого транзистора достаточно заменить слой SiO_2, отделяющий затвор от подложки, на соответствующую ионселективную мембрану (рис. 7.18). Контакт в этом случае осуществляется посредством обычного электрода сравнения. В присутствии иона, к которому чувствительна мембрана, ее потенциал изменяется. Напряжение U_G, подаваемое на затвор, складывается с напряжением, возникающим на мембране. Это

приводит к параллельному сдвигу вольтамперной характеристики транзистора на величину, равную изменению потенциала мембраны. В идеальном случае для однозарядного иона величина этого сдвига в соответствии с уравнением Нернста составляет 59 мВ при изменении концентрации иона в 10 раз (рис. 7.19).

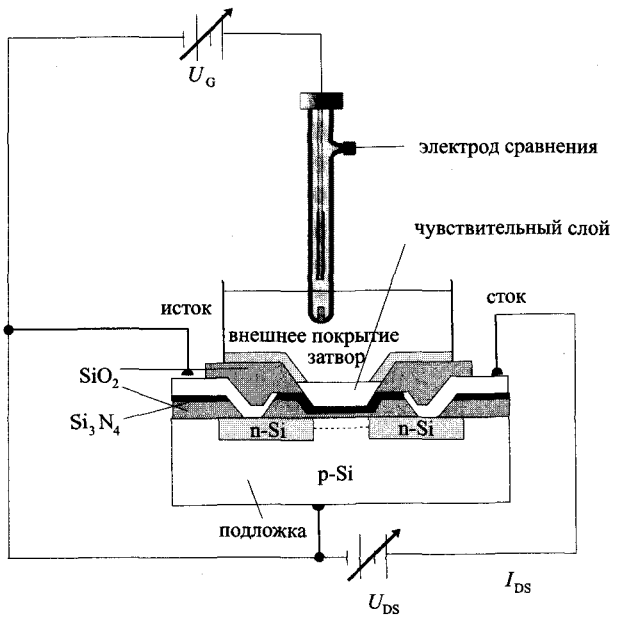


Рис. 7.18. Сенсор на основе ионселективного полевого транзистора (ИСПТ).

На практике при потенциометрических измерениях с использованием ИСПТ обычно силу тока в цепи исток–сток поддерживают постоянной, изменяя для этого соответствующим образом напряжение на затворе. Это изменение напряжения линейно связано с логарифмом активности потенциалопределяющего иона в соответствии с уравнением Нернста.

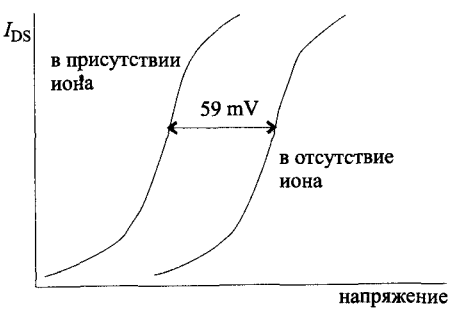


Рис. 7.19. Вольтамперные характеристики ИСПТ. Сила тока I_{DS} определяется суммой внешнего напряжения U_G и потенциала мембраны.

Впервые ИСПТ были применены для измерения pH. Для этого в качестве чувствительного слоя в принципе возможно использовать даже слой Si_3N_4, уже имеющийся в стандартных полевых транзисторах, однако в этом случае чувствительность невелика. Теоретическая нернстовская величина наклона градуировочной зависимости достигается при использовании слоя Ta_2O_5. Другие примеры применения полевых транзисторов для определения различных веществ — ионов, газов, ферментов и антител — приведены в табл. 7.7. Принципиально возможно использование в полевых транзисторах ион-

селективных мембран всех типов, применяющихся в обычных ИСЭ. Это открывает возможности к созданию разнообразных микроэлектронных сенсоров.

Таблица 7.7. Примеры химически селективных полевых транзисторов.

Тип	Затвор	Определяемые вещества
Газочувствительные ПТ	Pd	H_2, NH_3, CO
Ионселективные	Ta_2O_5, Al_2O_3, BN	H^+
	Газопроницаемые мембраны + Al_2O_3	NH_3, CO_2
	валиномицин	K^+
Ферментные	гель, полимер с иммобилизованным ферментом	пенициллин, ацетилхолин
Иммунные	антигены или антитела	альбумин

Принцип действия *ферментных* сенсоров такой же, как и у рассмотренных ранее аналогичных сенсоров на основе обычных ИСЭ. Одним из примеров иммунных методов анализа может служить радиоиммунный анализ (раздел 3.6).

В ходе разработки особо миниатюрных сенсоров на базе полевых транзисторов порой возникает ряд неожиданных проблем. В элементах микроэлектронной техники некоторые позиции очень чувствительны к воздействию окружающей среды, и при изготовлении серийных изделий их герметично изолируют слоем пластмассы или керамики. Для создания сенсоров это покрытие бывает необходимо удалить. Однако в этом случае показания сенсора часто оказываются очень нестабильными, сильно зависящими от атмосферной влажности, колебаний температуры или воздействия различных видов излучения. Причина состоит в том, что при таких малых размерах начинают сказываться факторы, которые при работе с изделиями большего размера пренебрежимо малы. В частности, это могут быть эффекты, связанные с поверхностным натяжением, явлениями диффузии, ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями, квантовомеханическими туннельными эффектами.

Амперометрические сенсоры

Применение вольтамперометрических измерений для создания химических сенсоров нам уже знакомо на примере амперометрического датчика Кларка для определения кислорода (раздел 4.4). В нем используется рабочий электрод — катод — из платины в паре с серебряным анодом. Можно использовать и электроды из других материалов — например, рабочий серебряный электрод в паре со свинцовым анодом. Электролитом в этом случае служит раствор гидроксида калия. На серебряном катоде происходит восстановление кислорода, а на свинцовом аноде — окисление свинца:

$$Pb + 6OH^- \rightleftharpoons [Pb(OH)_6]^{2-} + 4e^-. \qquad (7.6)$$

Преимущество такого сенсора перед датчиком Кларка в том, что продукт анодной реакции — гидроксокомплекс свинца — растворим в воде и не отравляет электрод. В случае же датчика Кларка продуктом анодной реакции является нерастворимый хлорид серебра, осаждающийся на электроде.

Известны амперометрические сенсоры и для определения других газов. В частности, на предприятиях по *хлорированию питьевой воды* используют безмембранные сенсоры для определения свободного хлора, а в состав средств защиты шахтеров входит датчик на оксид углерода. При превышении предельно допустимой концентрации он автоматически подает сигнал тревоги. Однако по основным своим характеристикам все эти сенсоры уступают датчику Кларка.

Датчик Кларка в сочетании с ферментными мембранами может использоваться для определения различных субстратов. Мы уже упоминали (раздел 4.4) о возможности определения глюкозы при помощи глюкозооксидазы. Аналогичным образом можно определять галактозу с помощью галактозооксидазы или мочевину с помощью уриказы.

Кондуктометрические сенсоры

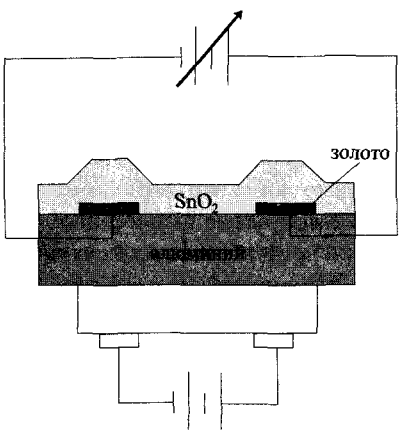


Рис. 7.20. Устройство газового сенсора на основе SnO_2.

В основе работы целого ряда *газовых сенсоров* лежит принцип измерения электропроводности. Наиболее известны сенсоры на основе оксидных материалов с электронной проводимостью (n-типа) — SnO_2, ZnO, TiO_2, Fe_2O_3. На рис. 7.20 показано устройство сенсора с чувствительным слоем из SnO_2. В основе действия подобных сенсоров лежит то обстоятельство, что на поверхности чувствительного слоя всегда адсорбируется кислород. При контакте с газами, обладающими восстановительными свойствами, адсорбированный кислород взаимодействует с ними. При этом электропроводность оксидного слоя изменяется.

Таким образом, подобные сенсоры являются неселективными датчиками для определения газов-восстановителей — H_2, PH_3, NH_3, SO_2, CO, CH_4 и других. Они могут использоваться и как датчики на кислород. Такие сенсоры отличаются исключительной простотой устройства.

Явление электронной проводимости используется и в так называемых *хеми-резисторах*. Сенсоры этого типа конструктивно выполнены в виде двух рядов параллельных стержней. Каждый стержень покрыт тонким слоем органического полупроводника — обычно фталоцианина или его комплекса с каким-либо ионом металла (к числу таких комплексов относятся, в частности, гемин и хлорофилл). Варьируя природу центрального атома, можно создавать сенсоры для определения различных газов — NH_3, NO_2 и других.

Оптические сенсоры

Развитие оптических сенсоров началось с появлением световодов для передачи излучения видимого диапазона. В настоящее время уже существуют оптоволоконные световоды и, соответственно, оптические сенсоры также для УФ-,

ближней и средней ИК-областей спектра. Наряду с оптоволоконными разрабатываются и сенсоры на основе *планарной оптики*.

В основе действия *оптических сенсоров* лежит зависимость той или иной оптической характеристики от концентрации вещества. С технологической точки зрения различают три поколения оптических сенсоров. Оптические сенсоры первого поколения служат, по существу, лишь устройствами для передачи сигнала и измерения величин, характеризующих традиционные, широко используемые в химическом анализе оптические явления — поглощение, испускание, ослабление, преломление света, флуоресценция. Сенсоры второго поколения используют те же явления в сочетании с химическими реакциями. Их уже можно считать системами распознавания химических веществ (хеморецепторами). В основе оптических сенсоров третьего поколения лежат новые принципы действия и оптические явления, не имеющие аналогий в традиционных методах анализа — образование поверхностных волн, интерференция, поляризация света.

Оптические сенсоры первого поколения

Простейший оптический сенсор представляет собой оптическую измерительную ячейку, соединенную с фотометром посредством *световода* — волоконно-оптического кабеля. Таким способом можно непосредственно измерять интенсивность окраски растворов или их флуоресценцию, например, для оценки загрязненности природных вод органическими веществами.

Рассмотрим сначала некоторые общие принципы, на которых основано использование волоконных кабелей в качестве световодов. Волоконно-оптический кабель изготовлен из стекла, кварца или пластмассы и имеет диаметр от $0,05$ мкм до $0,6$ см. Свет может передаваться как посредством одного-единственного волокна, так и по целому пучку волокон. Эти волокна могут быть расположены как случайно, так и в определенном порядке, например, при передаче цельного изображения. Передача изображений по световодам широко используется в медицине при исследовании внутренних органов.

Ход лучей в волоконном кабеле изображен на рис. 7.21. В зависимости от угла падения луча часть света отражается от границы раздела сердцевины и оболочки, а часть проходит. Для обеспечения полного отражения света вдоль всего световода угол падения θ должен составлять определенную величину, называемую предельным углом и зависящую от соотношения показателей преломления сердцевины n_1 и оболочки n_2. При этом показатель преломления *сердцевины* должен быть больше, чем *оболочки*. Часто в качестве материала сердцевины и оболочки используют стекла с показателями преломления $1,6$ и $1,5$, соответственно. Для работы в средней ИК-области используют другие материалы, например, халькогенидные стекла

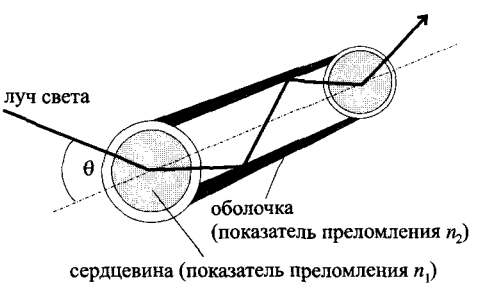


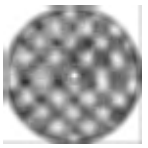
Рис. 7.21. Отражение света от стенок световода.

(As-Se-Te) или поликристаллические галогениды серебра, прозрачные в диапазоне 2–20 мкм. Показатель преломления сердцевины оптического волокна, состоящего из 75% AgBr и 25% AgCl, составляет 2,21. Материалом оболочки служит полимер с показателем преломления 1,5.

С величиной предельного угла и показателями преломления n_1 и n_2 связана важная характеристика оптического волокна, называемая *численной апертурой* NA:

$$NA = \sin\theta = \sqrt{n_1^2 - n_2^2}. \qquad (7.7)$$

Чем больше численная апертура, тем шире может быть входной конус светового потока.



одномодальное оптическое волокно

Вдоль световода луч света может распространяться по различным траекториям, называемым модами. Чаще всего используют *многомодальные* световоды. У таких световодов показатель преломления материала сердцевины однородный, а на границе с оболочкой он скачкообразно изменяется. Существуют и *одномодальные* световоды. Они характеризуются очень тонкой сердцевиной и достаточно толстой оболочкой — толщиной по меньшей мере в 10 раз больше диаметра сердцевины. Траектория распространения луча вдоль такого световода близка к линейной. По таким световодам можно передавать только хорошо сфокусированные потоки света, например, генерируемые лазерами. В лабораторной практике одномодальные световоды используют главным образом лишь для интерферометрических измерений.

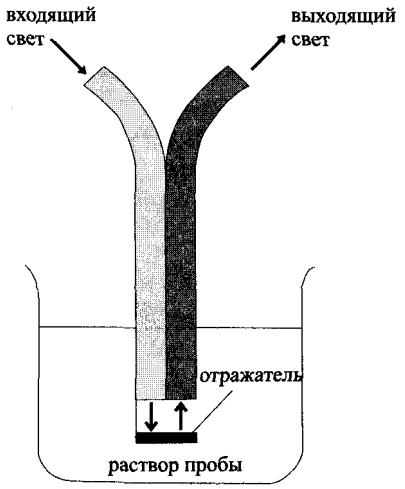


Рис. 7.22. Оптический сенсор первого поколения для измерения оптической плотности раствора.

Световод для соединения с измерительным прибором — спектрометром или фотометром — имеет форму Y-образного кабеля (рис. 7.22). Свет, падающий от источника, посредством оптического кабеля достигает анализируемого раствора и при помощи отражателя (зеркала) попадает в другой кабель и поступает к фотометру. Длина оптического пути в этом случае вдвое больше, чем расстояние от конца кабеля до зеркала.

Волоконный кабель играет лишь роль передатчика света от источника излучения к приемнику. В качестве приемников могут использоваться различные устройства — например, фотодиоды или оптоэлектронные элементы индикации. Источниками света могут служить полупроводниковые светодиоды.

Примеры применения волоконно-оптических сенсоров первого поколения приведены в табл. 7.8. В то время как, например, фотометрическое титрование с применением оптоэлектронных сенсоров достаточно легко осуществить на практике, техническая реализация непрерывного слежения за производственным процессом или состоянием природной воды требует применения достаточно сложных устройств. Не-

посредственный контроль *органических загрязнителей* природных вод можно осуществить путем измерения флуоресценции. При этом оценивается лишь суммарное качество воды без определения отдельных компонентов. Кроме того, следует иметь в виду, что далеко не все органические загрязнители способны флуоресцировать. Можно использовать и метод комбинационного рассеяния света с применением лазерных источников возбуждения. В этом случае возможно определение загрязняющих веществ при их содержаниях порядка нескольких частей на миллиард на удалении до 1000 м.

Таблица 7.8. *Области применения оптических сенсоров первого поколения.*

Определяемое вещество	Оптическая характеристика	Области применения
Ионы меди	поглощение при 930 нм	цветная металлургия
Органические вещества	флуоресценция	контроль природных вод
Гемоглобин	диффузное отражение при 600–750 нм	медицина
Галотан(анестетик)	поглощение в ближней ИК-области	медицина

Сенсоры с системами распознавания

Многие вещества не обладают свойствами, позволяющими определять их путем непосредственного измерения какой-либо оптической характеристики. В этом случае нужны системы химического распознавания, или хеморецепторы — устройства, изменяющие свои оптические характеристики (например, окраску) в присутствии определяемого вещества. Необходимый для этого реагент химически связывают или каким-либо иным образом иммобилизуют на торце световода (рис. 7.23). Иммобилизацию можно осуществить путем сорбции на ионообменной смоле, при помощи желатина или другого полимерного геля либо просто поместив раствор реагента в небольшой сосуд, отделенный от внешнего раствора мембраной.

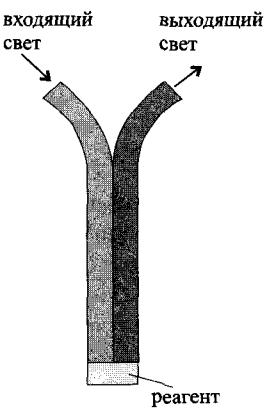


Рис. 7.23. Оптический сенсор второго поколения с иммобилизованным реагентом.

Первые оптические сенсоры второго поколения, называемые также *оптродами*, применялись для определения pH. Рассмотрим устройство такого сенсора. На конце Y-образного кабеля находится иммобилизованный кислотно-основной индикатор, например, феноловый красный в полиакриламидном геле. Изменение окраски реагента в зависимости от pH можно контролировать путем измерения оптической плотности с использованием зеркала, как описано в предыдущем разделе.

Чтобы сенсор был обратим, необходимо, чтобы была обратима реакция, лежащая в основе его действия. Рассмотрим простейший пример равновесия с участием определяемого вещества в растворе (или газовой фазе) A и иммобилизованного реагента $\overline{\mathrm{R}}$:

$$A + \overline{\mathrm{R}} \rightleftharpoons \overline{\mathrm{AR}}. \qquad (7.8)$$

Выражение константы этого равновесия записывается следующим образом:

$$K = \frac{\overline{\mathrm{AR}}}{[\mathrm{A}]\overline{\mathrm{R}}}. \tag{7.9}$$

В соответствии с законом Ламберта–Бера величина оптической плотности продукта реакции $\overline{\mathrm{AR}}$, измеряемая сенсором, прямо пропорциональна его концентрации, которая равна

$$\overline{\mathrm{AR}} = K\,[\mathrm{A}]\,\overline{\mathrm{R}}. \tag{7.10}$$

Примем для простоты, что концентрация вещества в растворе равна общей концентрации определяемого вещества: $[\mathrm{A}] = c_{\mathrm{A}}$. Концентрация свободной формы иммобилизованного реагента $\overline{\mathrm{R}}$ равна разности его общей концентрации и концентрации продукта реакции: $\overline{\mathrm{R}} = c_{\mathrm{R}} - \overline{\mathrm{AR}}$. Подставляя эти соотношения в уравнение (7.10), получаем следующее выражение зависимости $\overline{\mathrm{AR}}$ от концентрации определяемого вещества:

$$\overline{\mathrm{AR}} = \frac{Kc_{\mathrm{A}}c_{\mathrm{R}}}{1 + Kc_{\mathrm{A}}}. \tag{7.11}$$

Величины K и c_R можно считать постоянными. В этом случае график зависимости концентрации продукта реакции в иммобилизованном слое и, следовательно, показаний сенсора от концентрации определяемого вещества имеет вид, изображенный на рис. 7.24.

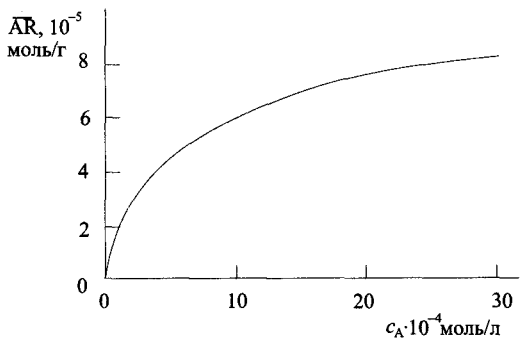


Рис. 7.24. Нелинейная зависимость между показаниями оптического сенсора с иммобилизованным реагентом $\overline{\mathrm{R}}$ и концентрацией определяемого вещества. Для расчета использованы значения $c_R = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/г, $K = 1660$ л/моль.

Общий вид градуировочной зависимости, приведенной на рис. 7.24, весьма типичен для оптических сенсоров второго поколения. Ее можно считать линейной лишь при достаточно малых концентрациях определяемого вещества, а именно, при $Kc_{\mathrm{A}} \ll 1$, т. е. $c_{\mathrm{A}} \ll 1/K$. С увеличением концентрации наблюдается загибание градуировочной зависимости и, наконец, насыщение — достижение предельного значения. При достижении насыщения использование сенсора невозможно, так как оптическая плотность перестает зависеть от концентрации определяемого вещества.

Нелинейный характер градуировочной зависимости сам по себе не является принципиальным препятствием для ее использования, тем более с применением современных компьютерных методов обработки данных. Однако в этом случае точность определения уменьшается. Поэтому, как правило, стараются использовать лишь начальный, приближенно линейный, участок. Его протяженность тем больше, чем *меньше* константа равновесия реакции. В отличие от традиционных оптических методов, где стараются использовать реакции с высокими значениями констант равновесий, для оптродов целесообразно применять реакции

с меньшими величинами констант с тем, чтобы расширить диапазон определяемых содержаний.

Одним из способов иммобилизации реагента является его **химическое связывание** на поверхности световода. Ковалентное связывание реагента характеризуется высокой прочностью. При этом исключается его вымывание. Для осуществления химического связывания необходимо, чтобы как на поверхности световода, так и в молекуле реагента имелись необходимые функциональные группы. Их создают путем химической модификации. В качестве носителя используют стекла, силикагель, полимерные материалы, обычно природного происхождения, — целлюлозу, декстран, агарозу. Можно использовать и синтетические полимеры, в частности, полиакриламид. Примеры модификации поверхности носителей для химической иммобилизации реагентов приведены в табл. 7.9. Технология химического закрепления реагентов на поверхности достаточно хорошо отработана и используется, в частности, в хроматографии для модификации неподвижных фаз.

Таблица 7.9. Примеры химической иммобилизации реагентов для оптических сенсоров.

Исходный носитель	Модифицированный носитель (функциональные группы)	Реагент для модификации	Возможно дальнейшее связывание с соединениями
Целлюлоза	аминоэтил-	бромциан, этилендиамин	карбоксилаты, сульфокислоты
	карбоксиэтил-	хлоруксусная кислота	амины
Стекло, силикагель	аминопропил-	γ-аминопропил-триэтокси-силан	карбоновые кислоты, альдегиды
	винил-	триацетокси-винилсилан	нуклеофилы
Полиакриламид	карбоксиэтил-	сильные щелочи и кислоты	амины, белки

Оптоволоконные сенсоры второго поколения применяют не только для определения pH. Существует множество оптродов для определения различных катионов и анионов (табл. 7.10). В основе их действия наряду с явлениями поглощения (шире — ослабления) света может лежать, например, флуоресценция. Преимущество флуоресцентных сенсоров состоит в их высокой чувствительности. Чувствительность можно дополнительно повысить, используя мощные источники излучения, поскольку интенсивность флуоресценции прямо пропорциональна интенсивности источника.

Использование принципов, лежащих в основе действия ионселективных электродов, привело к созданию ионселективных оптродов. Одна из возможных идей состоит в использовании мембран (обычно поливинилхлоридных, как и для ионселективных электродов), содержащих наряду с ионофором — веществом, ответственным за комплексообразование с определяемым ионом, — также хромофора, т. е. вещества, ответственного за изменение окраски. Так, на ионселективном оптроде для определения калия существует следующее сложное ионообменное равновесие:

$$K^+ + \overline{HC^+} + \bar{I} \rightleftharpoons \overline{KI^+} + H^+ + \bar{C}, \qquad (7.12)$$

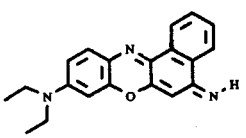
где HC^+, C — протонированная и депротонированная формы хромофора в фазе мембраны,

I, KI^+ — ионофор и его комплекс с калием в фазе мембраны.

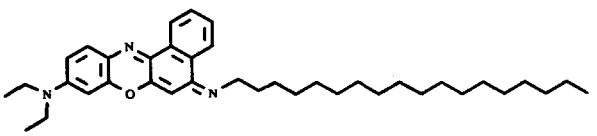
Таблица 7.10. Волоконно-оптические сенсоры (оптроды) с иммобилизованными реагентами.

Определяется	Реагент/носитель	Принцип измерения
pH	конго красный/ацетилцеллюлоза	поглощение
pH	флуоресцеинамин/стекло	флуоресценция
UO_2^{2+}	50% раствор фосфата/в сосуде	флуоресценция
Al^{3+}	морин/целлюлоза	флуоресценция
K^+	валиномицин+нильский голубой/ПВХ	поглощение
Cl^-	флуоресцеин/коллоидное серебро	флуоресценция
влажность	$CoCl_2$/желатин	поглощение
O_2	акрифлавин/силикагель	фосфоресценция
NH_3	оксазинперхлорат/адсорбция на стекле	поверхностные волны
альбумин	бромкрезоловый зеленый/целлофан	поглощение

В качестве ионофора можно, как и в потенциометрии, использовать валиномицин. Хромофором может служить краситель нильский голубой или запатентованное вещество ETH 5294, синтезированное проф. Симоном в Цюрихе:



нильский голубой



ETH 5294

Достоинством оптродов этого типа является широкий динамический диапазон концентраций, сравнимый с таковым для ионселективных электродов. Для создания оптродов можно использовать широкий ассортимент ионофоров, применяемых в потенциометрии.

Оптроды третьего поколения

Оптроды третьего поколения основаны на использовании новых оптических явлений. Одно из них носит название *поверхностных световых волн* и проявляется в частичном поглощении света при его полном отражении на границе раздела оптических сред. С этим явлением мы уже сталкивались при обсуждении метода ИК-спектроскопии с нарушенным полным внутренним отражением.

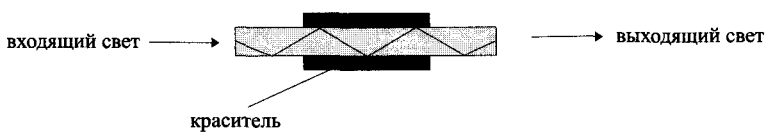


Рис. 7.25. Оптический сенсор, использующий явление поверхностных световых волн.

Рассмотрим оптрод третьего поколения, предназначенный для определения аммиака (рис. 7.25; см. также табл. 7.10). Он представляет собой тонкое стеклянное волокно или капилляр, покрытый слоем красителя, изменяющего свою окраску в присутствии аммиака. Если пустить луч света под малым углом к оси

оптрода, то он испытает многократное (до 600 раз) полное отражение. При каждом таком отражении часть света поглощается. Измеренная величина общего поглощения зависит от оптических характеристик красителя и, следовательно, от содержания аммиака.

Ряд других оптических сенсоров упомянут в табл. 7.10.

По сравнению с электрохимическими сенсорами оптические сенсоры обладают рядом **достоинств**.

- Использование оптических сенсоров позволяет в принципе регистрировать весь оптический спектр и, таким образом, получать значительно больше информации.
- Оптические сенсоры не подвержены влиянию электрических помех.
- При использовании оптических сенсоров обычно не требуется применение дополнительных устройств, подобных электроду сравнения.
- Фаза, содержащая реагент, легко может быть заменена. В связи с этим получили распространение одноразовые оптические сенсоры.

Оптические сенсоры имеют и ряд **недостатков**.

- Они подвержены помехам со стороны дневного света. Эти помехи можно предотвратить, если использовать пульсацию (модуляцию) источника излучения. Очень удобными источниками пульсирующего излучения могут служить светодиоды.
- Срок службы оптических сенсоров может быть невелик из-за вымывания реагента.
- Оптические сенсоры имеют, как правило, узкий динамический диапазон (см. уравнение (7.11)). Исключение составляют ионселективные оптроды.

Термические (калориметрические) сенсоры

Действие некоторых газовых сенсоров, называемых *пеллисторами*, основано на измерении теплоты, выделяющейся в результате каталитической реакции. Чувствительный элемент такого сенсора представляет собой королек стеклообразного материала, помещенный на подогреваемую до температуры порядка 550°C платиновую проволоку и покрытый каталитически активным слоем Pt или Pd (рис. 7.26). На поверхности такого слоя адсорбируется атмосферный кислород. Если на поверхность каталитически активного слоя попадают молекулы горючих газов, например CO или CH_4, то они каталитически окисляются,

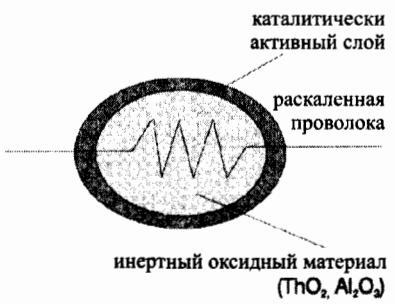


Рис. 7.26. Схема устройства пеллистора с каталитически активным слоем Pt или Pd.

выделяя тепло и увеличивая температуру чувствительного элемента. Это увеличение температуры, пропорциональное содержанию газа, регистрируют при помощи термосопротивления, включенного в компенсационную электрическую цепь (мостик Уитстона).

Калориметрические сенсоры в форме миниатюрных калориметров (раздел 2.8) применяют и для измерений в растворах. Простейшая конструкция таких сенсоров представляет собой проточный реактор с иммобилизованным реагентом. На выходе из реактора установлен терморезистор для измерения теплоты, выделяющейся в ходе реакции. Хотя устройства такого типа, строго говоря, не подпадают под определение сенсора (см. выше), они имеют с сенсорами (в строгом смысле слова) столь много общего, что их тоже относят к сенсорам. Принцип измерений, лежащий в основе калориметрических сенсоров, сам по себе неселективен, однако это компенсируется высокой селективностью используемых химических реакций, например, взаимодействия фермента с субстратом. При помощи ферментативных калориметрических сенсоров возможно определение мочевины, пенициллина, глюкозы, сахарозы, холестерина, молочной кислоты и других биологически важных соединений.

Гравиметрические сенсоры

Чувствительным элементом гравиметрического (массочувствительного) сенсора является пьезоэлектрический датчик. В основе действия таких сенсоров лежит изменение массы чувствительного элемента в присутствии определяемого вещества (например, газа) и вызванное этим изменение резонансной частоты. Возможно также использование явления поверхностно-акустических волн.

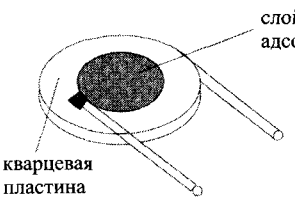


Рис. 7.27. Схема устройства пьезоэлектрического датчика для химических сенсоров.

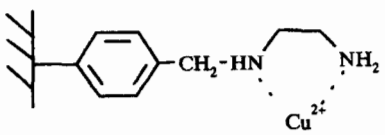
Схематически устройство кварцевого пьезоэлектрического датчика изображено на рис. 7.27. Вибрирующая кварцевая пластина покрыта слоем адсорбента, способного поглощать определяемый газ. В результате вибраций пластины с некоторой частотой вследствие пьезоэлектрического эффекта возникает переменное электрическое поле той же частоты. При адсорбции газа масса пластины изменяется. Соответственно, изменяется частота вибраций и частота переменного поля. Связь между изменением массы пластины и изменением частоты поля характеризует следующее соотношение:

$$\Delta\nu = -2,3 \cdot 10^6 \nu_0^2 \left(\frac{\Delta m}{A}\right), \qquad (7.13)$$

где A — площадь поверхности пластины, ν_0 — первоначальная резонансная частота вибраций.

Обычно резонансные частоты пьезоэлектрических датчиков составляют порядка 10–15 МГц. При этом возможно надежно зарегистрировать изменение частоты электромагнитных колебаний вплоть до 0,01 Гц, что соответствует изменению массы порядка 10^{-11} г. Таким образом, пьезоэлектрический датчик слу-

жит высокочувствительными весами. Выбор возможных адсорбентов для определения различных веществ очень широк. Например, фосфорорганические соединения можно определять при помощи комплексов меди с диаминами, химически закрепленных на поверхности полимера (см. рис. сбоку).



Такой сенсор является обратимым. Он позволяет детектировать диизопропилметилфосфонат при содержаниях до 20 частей на миллиард. Пьезоэлектрические сенсоры можно применять для непрерывного контроля за содержанием вредных газов или задымленностью атмосферы.

Более чувствительны гравиметрические сенсоры, основанные на явлении поверхностных акустических волн. Их резонансная частота существенно выше, чем у кварцевых пьезоэлектрических весов, и составляет около 1 ГГц. Соответственно, нижняя граница измеряемых масс меньше и находится уже в фемтограммовой (10^{-15} г) области. Схема резонатора на поверхностных акустических волнах изображена на рис. 7.28. Между двумя парами электродов — излучателем и приемником высокочастотного электромагнитного излучения — расположена кварцевая пьезоэлектрическая пластина (подложка) с нанесенным на нее слоем адсорбента. При облучении пластины импульсом электромагнитного излучения с резонансной частотой возникает обратный пьезоэлектрический эффект — механические колебания пластины, распространяющиеся в ее приповерхностном слое (поверхностные акустические, или релеевские, волны). Как и для кварцевых пьезоэлектрических весов, резонансная частота зависит от массы пластины. В результате адсорбции определяемого вещества на слое адсорбента масса пластины изменяется, что можно зарегистрировать по изменению резонансной частоты колебаний.

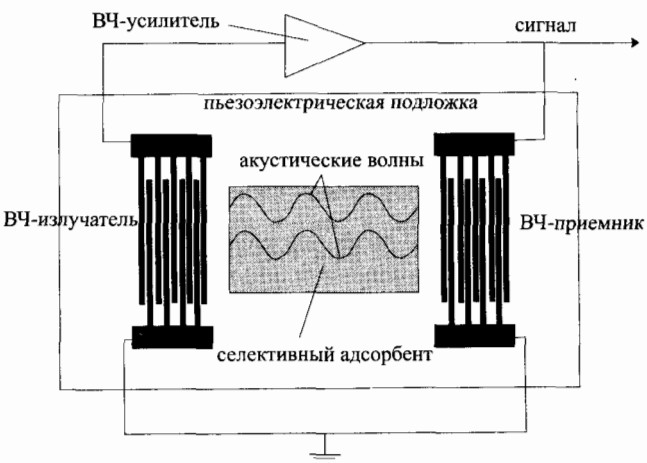


Рис. 7.28. Газовый сенсор на основе явления поверхностных акустических волн. Использование селективного адсорбента на основе комплекса $PtCl_2$ с этиленом и пиридином позволяет определять до 5 частей паров стирола на миллион.

Многоканальные сенсоры

Все рассмотренные типы сенсоров обладают, как правило, достаточно низкой селективностью. Взаимные *мешающие влияния* компонентов — вполне обычное

явление для большинства химических сенсоров, использующих лишь один канал информации (длина волны, потенциал, сила тока, резонансная частота). Селективность можно повысить, если осуществлять одновременную регистрацию сигналов по нескольким информационным каналам.

Простейшим способом создания *многоканальных* сенсоров является объединение отдельных сенсоров в массив. Например, можно объединить несколько различных пьезоэлектрических датчиков и использовать их как единое целое. Массив сенсоров на основе полевых транзисторов с чувствительными слоями разного состава можно включить в одну общую электрическую цепь. Об использовании массивов оптических сенсоров (в форме диодной линейки) для одновременной регистрации излучения в широком спектральном диапазоне мы уже неоднократно упоминали ранее.

Для обработки информации, поступающей от многоканальных сенсоров, применяют методы многокомпонентного анализа, описанные в разделе 6.3.

До сих пор основным направлением развития сенсорной техники явилось создание сенсоров, чувствительных к индивидуальным химическим соединениям. При этом, как правило, старались просто реализовать в сенсорном варианте имеющиеся наработки в области традиционных лабораторных методов анализа. При таком подходе, например, для оценки качества вина определяют содержание множества его отдельных компонентов, а затем из полученных данных выводят суммарный результирующий показатель. Однако, вероятно, было бы более целесообразно поступить по-другому: попытаться создать некий «вкусовой сенсор», действующий подобно системе восприятия вкуса у человека и оценивающий суммарное качество вина непосредственно. Аналогичные проблемы возникают и при анализе объектов окружающей среды, когда требуется, например, оценить суммарную степень загрязненности вод тяжелыми металлами или органическими веществами. Создание интегральных сенсоров такого рода сейчас еще только начинается. Для их массового использования необходимо будет создать соответствующую нормативную базу, что также представляет собой далеко не простую задачу.

7.3. Автоматизированный контроль производственных процессов

Аналитический контроль производственных процессов предполагает постоянное слежение за изменением различных физических и химических параметров с течением времени — в потоке жидкости, газа или сыпучего материала, в ходе химической реакции. Необходим бывает и непосредственный анализ твердых образцов, например, для контроля качества отливок в металлургии. Как правило, химические компоненты объектов производственного анализа бывают известны заранее. Поэтому основное содержание производственного анализа составляет *количественный анализ*. Задачи качественного анализа довольно ограничены и сводятся главным образом к установлению самого факта появления в анализируемом объекте какого-либо нового, неизвестного вещества.

В данной книге мы уже рассмотрели все основные методы химического анализа. Поэтому у читателя может возникнуть вопрос: зачем же отдельно обсу-

ждать использование этих методов применительно к производству? Однако дело в том, что условия промышленного производства предъявляют к методам анализа целый ряд новых, дополнительных требований. Важнейшие из них состоят в следующем.

- Методы производственного анализа должны быть достаточно *экспрессными*, т. е. выполняться за короткое время.
- Для выполнения анализа следует использовать значительно более *простые* по сравнению с аналитической лабораторией методики, а также простое и *компактное* оборудование.
- Показатели *точности* результатов должны быть весьма высокими — особенно в тех случаях, когда речь идет об определении достаточно дорогих продуктов (в металлургии, полимерной промышленности, тонком органическом синтезе).
- Используемая аппаратура должна обладать повышенной *устойчивостью в эксплуатации* по отношению к воздействию таких типичных производственных факторов, как вибрация, запыленность, электрические и магнитные поля.
- Выполнение методик анализа должно быть осуществимо непосредственно силами *производственного персонала*, который, как правило, в области аналитической химии обладает *меньшей квалификацией*, чем специалисты.
- Особые требования предъявляются к *пробоотбору* и *пробоподготовке*. Чаще всего лабораторные приемы, применяемые для этих целей, перенести в производственные условия оказывается невозможно. Объекты анализа могут иметь весьма высокую температуру, находиться под высоким давлением, представлять собой пересыщенные растворы, суспензии с обилием зернистых или волокнистых частиц, химически агрессивные среды или радиоактивные материалы.

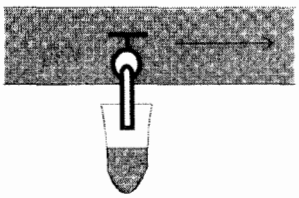
Этот перечень можно продолжать и далее. В производственном анализе применяют весь методический арсенал аналитической химии, начиная от методик, выполняемых непосредственно на месте производства, и кончая теми, которые выполняются в специализированных лабораториях.

Способы осуществления производственного анализа

Существует множество способов организации и выполнения производственных анализов. Среди них способы, которые условно можно назвать «в лаборатории», «на месте», «на линии», «в потоке», а также «бесконтактный».

Способ анализа «**в лаборатории**» с организационной точки зрения ничем принципиально не отличается от уже известной нам процедуры выполнения лабораторных анализов. Пробу отбирают из производственного потока, и отсылают в централизованную лабораторию, где ее и анализируют любыми доступными методами. Такой способ обычно применяют тогда, когда необходимы методы,

требующие сложного дорогостоящего оборудования — хромато-масс-спектрометрия, атомно-эмиссионная спектроскопия с ИСП. В этом случае способ анализа «в лаборатории» выгоден экономически, поскольку дорогостоящее оборудование постоянно загружено. Высокая квалификация специалистов, производящих анализ, методическая корректность выполняемых операций и использование оборудования, проверенного метрологическими службами, гарантируют достоверность получаемых результатов. Недостатком же такого способа является значительная длительность анализа. Выполнение анализа можно ускорить, если для транспортировки проб использовать пневматическую почту, однако это сопряжено с дополнительными затратами. Анализы в лабораторных условиях, как правило, производят лишь при запуске нового производства, отработке технологического регламента и в ходе производственных исследований.

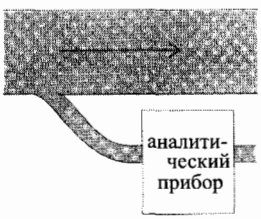


«в лаборатории»/«на месте»

Способ анализа **«на месте»** существенно приближен к условиям производства. В этом случае также отбирают пробу исследуемого материала, однако анализ выполняют уже непосредственно в производственном помещении при помощи достаточно простого оборудования, например, фотометров. Достоинствами такой организации являются сокращение времени анализа, увеличение возможностей для контроля за ходом производственного процесса и использование более простой и дешевой аппаратуры. Однако на практике реализовать такой способ анализа не всегда возможно.

Способ **«на линии»** предполагает уже непосредственный анализ технологического продукта. Отбор, подготовка и транспортировка пробы к измерительному прибору осуществляются автоматически. Набор параметров, измеряемых способом «на линии», не ограничивается лишь химической (качественной и количественной) информацией, но может включать и разнообразные физические величины, а также суммарные, обобщенные характеристики, например, октановое число для бензина. Анализ «на линии» можно выполнять как дискретно, так и непрерывно.

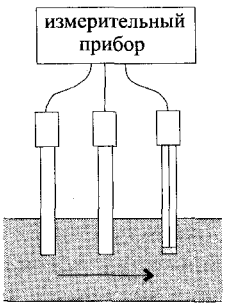
Дискретный анализ «на линии». Некоторую часть вещества автоматически отбирают из технологического потока через определенные промежутки времени и вводят в измерительный прибор, например, посредством инъекции. Среди используемых методов анализа преобладает газовая хроматография и проточно-инжекционный анализ. Специфические требования, предъявляемые к газовой хроматографии на производстве, мы обсудим ниже. Проточно-инжекционный анализ легко поддается автоматизации при помощи различных средств, рассмотренных в разделе 7.1. В проточно-инжекционном варианте можно реализовать множество традиционных методик анализа растворов химическими и физико-химическими методами. Время выполнения анализа достаточно мало, а производительность высока. Точностные показатели результатов анализа, как правило, вполне достаточны для требований производства. Если методика проточно-



«на линии»

инжекционного анализа требует дополнительных операций — экстракции, хроматографического разделения, диализа — то их также можно осуществить в автоматическом режиме в потоке. Дискретный анализ «на линии» в принципе позволяет полностью автоматизировать аналитический процесс и исключить вмешательство оператора.

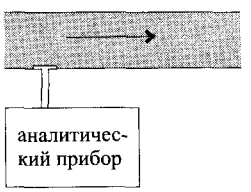
Непрерывный анализ «на линии». В этом случае некоторая часть вещества из производственного потока протекает через измерительную ячейку непрерывно. Из методов анализа чаще всего применяют спектроскопические. Первоначально применяли бездисперсионный вариант ИК-спектроскопии с использованием двух измерительных ячеек и микрофонного детектора (см. ниже). Прогресс в аналитическом приборостроении позволил вскоре применять и ИК-спектрометры с фурье-преобразованием, а также технику ИК-спектроскопии с нарушенным полным внутренним отражением (раздел 3.3.1). Для измерений в УФ-видимой области применяют автоматические спектрометры, регистрирующие спектры без использования механических операций — на основе диодных линеек и других многоканальных детекторов.



«в потоке»

Оба способа осуществления анализа «на линии» имеют один и тот же недостаток: анализу подвергается лишь некоторая отдельная часть технологического потока. Однако возможен анализ и непосредственно **«в потоке»**. Для этого в производственный поток вводят специальные зонды, например, изготовленные на основе химических сенсоров, и непрерывно или периодически регистрируют их показания. Осуществлению анализа «в потоке» способствует большое разнообразие типов химических сенсоров и широкий круг решаемых с их помощью задач (раздел 7.2). К сожалению, многие из разработанных на настоящий момент химических сенсоров не удовлетворяют всем требованиям производственного анализа. Поэтому часто приходится ограничиваться измерением лишь некоторых, наиболее простых, но вместе с тем часто и наиболее важных, параметров (например, на биотехнологических производствах — определением pH, содержания биомассы и растворенного кислорода). Серьезную проблему представляет собой «старение» сенсоров, ухудшение их характеристик с течением времени. Однако развитие аналитического приборостроения идет быстрыми темпами, и нет сомнения, что в будущем станет доступно множество различных сенсоров на базе новейших достижений микроэлектроники и микромеханики, позволяющих не только всесторонне контролировать технологические процессы, но и управлять ими.

«Бесконтактный» способ осуществления производственного анализа предполагает отсутствие непосредственного физического соприкосновения зонда или сенсора с анализируемым объектом. Как и в случае анализа «в потоке», здесь не требуется пробоотбор. Однако в этом случае к тому же отпадает и проблема загрязнения сенсора, отравления его компонентами технологического потока. Примерами «бесконтактного» анализа могут служить измере-



«бесконтактный анализ»

ния в ближней ИК-области, измерения интенсивности испускания ИК-излучения через окошко в производственном резервуаре, анализ методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии, а также ультразвуковые исследования для получения информации нехимического характера. Этот неразрушающий способ анализа часто осуществляется дистанционно.

Анализ на основе неселективных характеристик

Многие задачи производства могут быть решены даже с помощью весьма простых принципов измерения. Например, для контроля состава бинарных (двухкомпонентных) систем, в частности, определения содержания воды в органических жидкостях, вполне достаточно измерения простых физических параметров: плотности, вязкости, электропроводности, электрической емкости или каких-либо оптических характеристик.

Определение воды посредством измерения емкости

Диэлектрическая проницаемость воды, равная 80, сильно отличается от величин диэлектрической проницаемости большинства органических веществ (как правило, в пределах 1–10). Это открывает возможность определения содержания воды в органических средах путем простого измерения электрической емкости. Таким методом можно, например, измерять влажность бумаги — один из очень важных показателей ее качества — с высокой скоростью и без разрушения образца.

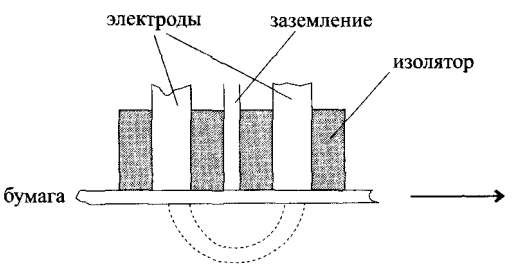


Рис. 7.29. Определение влажности бумаги путем измерения емкости конденсатора.

Соответствующее измерительное устройство схематически изображено на рис. 7.29. Бумажная лента движется со скоростью около 1000 м в минуту, соприкасаясь с двумя электродами, разделенными слоем изолятора. Электроды образуют конденсатор, емкость которого зависит от диэлектрической проницаемости бумаги. Последняя, в свою очередь, определяется содержанием влаги в бумаге. Путем измерения емкости конденсатора можно непрерывно контролировать влажность бумаги. При расчетах обычно используют величину диэлектрической проницаемости сухой бумаги, равную 3.

Определение ионных веществ в жидкостях путем измерения электропроводности

Для определения загрязнений ионного характера в жидкостях применяют метод измерения электропроводности. Таким методом оценивают, в частности, качество воды, предназначенной для бойлерных установок, систем охлаждения, производства бумаги. Основы метода измерения электропроводности (кондуктометрии) нам уже известны из раздела 4.2. В промышленности для измерения электропроводности используют погружные или проточные кондуктометриче-

ские ячейки, которые, как и в лаборатории, калибруют по растворам хлорида калия с известной электропроводностью. Точное измерение электропроводности возможно лишь в том случае, если сопротивление, вызванное поляризацией электродов, пренебрежимо мало. Для предотвращения поляризации электродов электропроводность обычно измеряют, используя переменное напряжение. Частоту подбирают так, чтобы достичь компромисса между поляризационным сопротивлением (убывает с увеличением частоты) и гидродинамическим сопротивлением (убывает с уменьшением частоты). Чаще всего используют обычную сетевую частоту 50 Гц.

При исследовании агрессивных сред, например, в ходе контроля сернокислотного производства, необходимо избежать прямого контакта электродов с раствором. В этих случаях поток жидкости пропускают через электрически изолированную трубку, встроенную в трансформаторную систему. Такое устройство позволяет измерить электропроводность без ущерба для измерительной ячейки.

Групповой анализ методами спектроскопии в УФ- и ближней ИК-области

В ходе контроля производственных процессов далеко не всегда необходимо — если вообще возможно — постоянно определять все отдельные компоненты, содержащиеся в технологическом потоке. Часто вполне достаточно определять суммарное содержание целых групп близких по природе веществ (например, в нефтеперерабатывающей промышленности — содержания моно-, ди-, три- и полициклических ароматических соединений) или обобщающие параметры такие, как октановое число бензина. Вид химического анализа, предназначенный для решения подобных задач, называется *групповым*.

Для суммарного определения групп органических соединений, например, ароматических соединений, диолефинов или кетонов, в промышленности часто применяют УФ-спектроскопию непосредственно в производственном потоке. Все возрастающую роль начинает играть и ИК-спектроскопия в ближней области, в частности, для определения ароматических и непредельных соединений, а также октанового числа бензина.

Традиционный способ измерения октанового числа при помощи автомобильного двигателя требует расхода около половины литра бензина. Этот метод достаточно дорогостоящий, так как сопряжен с большим расходом бензина и износом двигателя, выхлопные газы загрязняют окружающую среду, а работающий двигатель производит шум. Кроме того, для достижения нужной точности определения, зависящей от требований заказчика, необходимо еще выполнить градуировку, используя большее или меньшее число стандартных образцов бензина. Прямое спектроскопическое определение экологически безопасно, не требует расхода бензина и может быть выполнено в режиме «на линии». На рис. 7.30 приведены ИК-спектры в ближней области трех сортов бензина. Наблюдаемые полосы обусловлены комбинационными колебаниями и обертонами основных частот. Несмотря на то, что визуально спектры различаются достаточно мало, воспроизводимость результатов достаточна для определения октанового числа с погрешностью не большей, чем для стандартного метода. Для реализации спектроско-

пического метода необходимо наличие соответствующего спектрофотометра и программного обеспечения для анализа многокомпонентных смесей (раздел 6.3). Определение можно выполнять и «бесконтактным» способом в производственном потоке с применением световодов.

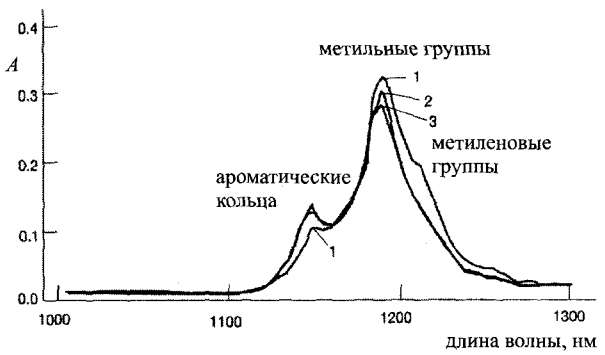


Рис. 7.30. ИК-спектры в ближней области для сортов бензина с октановыми числами 95,5 (1), 97,5 (2) и 96,7 (3)

Для производственного спектроскопического анализа далеко не всегда требуются спектрофотометры, позволяющие работать во всем спектральном диапазоне (УФ, видимом или ближнем ИК). Часто достаточно измерений всего лишь при одной или двух длинах волн, что можно обеспечить применением простых фотометров со светофильтрами. Измерения при двух длинах волн позволяют компенсировать колебания рабочих параметров измерительного прибора, а также контролировать чистоту продукта по величине отношения оптических плотностей. При помощи двухволновых измерений можно легко определять примеси ароматических углеводородов в нефтепродуктах, а также фенолы и некоторые неорганические ионы в водных растворах.

Производственная рефрактометрия

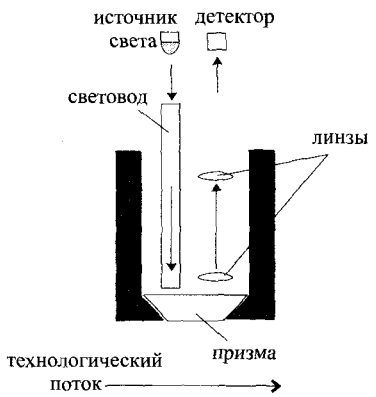


Рис. 7.31. Устройство промышленного зонда-рефрактометра.

Измерение показателя преломления служит одним из универсальных методов детектирования в жидкостной хроматографии (раздел 5.3). Этот измерительный принцип можно легко перенести в условия производства. В промышленности часто используют дифференциальные рефрактометры Эббингхауса, включающие две полые призмы. Через одну из них непрерывно протекает производственный раствор, вторая заполнена раствором сравнения. При таком способе измерения возникают помехи в случае анализа мутных, окрашенных, а также содержащих пузырьки газа или взвешенные частицы растворов. Эти трудности можно частично преодолеть, если для анализа непрозрачных растворов вместо видимого света использовать излучение в ближней ИК-области.

В последнее время разработана более устойчивая к помехам конструкция рефрактометра (рис. 7.31). В ней используют призму, для которой угол между торцевой и боковой плоскостями равен критическому. Такой рефрактометр можно выполнить в виде зонда-датчика и непосредственно вводить его в технологический раствор.

Промышленные рефрактометры часто используют на химических и фармацевтических производствах. Они позволяют регистрировать изменения показателя преломления до 10^{-4} единиц и очень удобны для контроля процессов ректификации и множества других, включая определение содержания экстракта в пивном сусле.

Инфракрасные анализаторы

Простейшие *бездисперсионные* ИК-анализаторы применяются главным образом для анализа газов. Как следует из названия, здесь используют полихроматический поток излучения. Приемниками излучения служат главным образом пневматические детекторы. Принципиальная схема ИК-анализатора этого типа приведена на рис. 7.32.

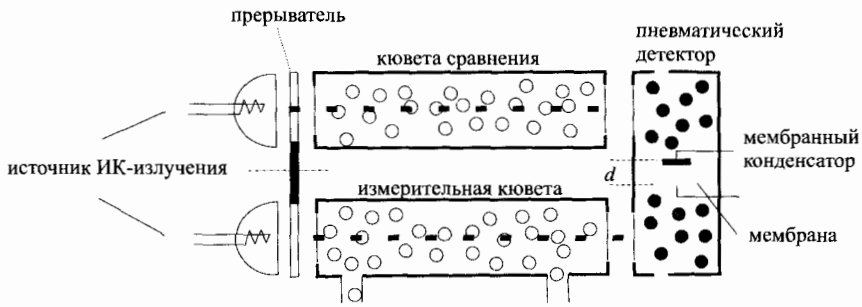


Рис. 7.32. Устройство бездисперсионного инфракрасного газоанализатора.

Две идентичные газовые кюветы — измерительную и кювету сравнения — облучают пульсирующими потоками ИК-излучения равной интенсивности. Пульсацию потоков осуществляют при помощи механического прерывателя с вращающимися лопастями. Кювету сравнения заполняют газом, не поглощающим в ИК-области, — обычно азотом. Пневматический детектор состоит из двух камер, разделенных мембраной. Мембрана одновременно является одним из электродов конденсатора. Камеры заполняют чистым определяемым газом, например, CO. Пульсирующее излучение поглощается газом, находящимся в камерах. Это приводит к увеличению температуры и, соответственно, периодическим колебаниям мембраны. Если интенсивности световых потоков, падающих на обе камеры, не одинаковы, мембрана смещается относительно нейтрального положения. Это приводит к изменению емкости конденсатора, пропорциональному величине поглощения.

Поскольку используется полихроматическое ИК-излучение, возможны помехи со стороны других газов, поглощающих в ИК-области. Однако, если природа мешающего компонента известна, помехи удается устранить. Для этого на пути

каждого светового потока между кюветой и детектором ставят по одной дополнительной кювете, заполненной мешающим компонентом. Они играют роль светофильтров, отсекая излучение тех длин волн, при которых поглощает мешающий компонент. Если этот способ не помогает, необходима хотя бы частичная монохроматизация исходного излучения.

Примеры применения бездисперсионных ИК-анализаторов приведены в таблице 7.11. В зависимости от диапазона определяемых концентраций длина оптического пути газовых кювет может составлять от 0,75 до 20 м.

Таблица 7.11. Применение бездисперсионных ИК-анализаторов для определения газов.

Определяемый газ	Длина волны максимума поглощения, мкм	Определяемые концентрации (%)	Объект анализа, область применения
CO	4,65	$1,2 \cdot 10^{-4}$ — 8,3	топочные, выхлопные газы
CO_2	4,25	$8 \cdot 10^{-6}$ — 0,75	испытания средств пожаротушения
SO_2	7,4	$1 \cdot 10^{-5}$ — 0,3	атмосферный воздух (экологический мониторинг)
NH_3	10,75	$2,2 \cdot 10^{-4}$ — 2,1	то же

Дисперсионные ИК-анализаторы необходимо применять в тех случаях, когда селективность бездисперсионных анализаторов (в том числе с применением светофильтров) оказывается недостаточной, при анализе жидких сред, а также при измерениях в области менее 1000 $см^{-1}$. Обычно измерения с использованием дисперсионных ИК-анализаторов проводят при двух длинах волн, используя одну длину волны непосредственно для измерения, а вторую — для компенсации погрешностей вследствие колебаний параметров прибора.

В последнее время все более широкое применение в производственном анализе находят *ИК-спектрометры с фурье-преобразованием*. Они позволяют непрерывно анализировать в реальном времени газы, жидкости и твердые тела. С их помощью можно не только определять состав и содержание вещества, но и контролировать степень полимеризации, толщину пленок и покрытий, обнаруживать примеси.

Для производственного контроля состава твердых тел все шире используют ИК-спектроскопию в ближней области. Как правило, измерения производят в отраженном свете (рис. 3.86). При помощи ИК-спектроскопии в ближней области можно определять не только обобщенные параметры такие, как октановое число (см. выше), но и отдельные компоненты. Этим методом можно определять влажность и содержание белка в зерне, оценивать параметры качества полупродуктов в фармацевтической или молочного порошка — в пищевой промышленности.

Кислородные анализаторы

Определение содержания кислорода имеет большое значение для контроля процессов горения, состава отходящих газов, в металлургии. Важно также уметь

определять содержание растворенного кислорода в различных жидкостях. В промышленности кислород определяют как физическими (измерение магнитной восприимчивости, теплопроводности), так и химическими методами — при помощи потенциометрии, амперометрии и калориметрии (с использованием процессов каталитического окисления).

Ряд уже упоминавшихся методов определения кислорода применяют и на производстве. К ним относятся методы с использованием твердых электролитов (кондуктометрические и потенциометрические) и амперометрическое определение кислорода в растворах при помощи датчика Кларка. Специфика кислородных датчиков, применяемых в промышленности, касается главным образом лишь конструктивных особенностей, которые изменяются от производителя к производителю.

Производственная хроматография

Процессы *производственной хроматографии* отличаются от лабораторных с точки зрения одной важной детали: анализируемую пробу необходимо отобрать непосредственно из производственного потока — как правило, при высокой температуре. Для отбора проб используют высокоточные дозирующие вентили. Ввод пробы непосредственно в хроматограф осуществляют, как обычно, при помощи шприца через прокладку (рис. 5.2). При анализе жидкостей часто бывает необходим предварительный сброс паров. Хроматографическая аппаратура, используемая на производстве, должна быть простой и надежной в эксплуатации. Обычно применяют лишь достаточно ограниченный круг неподвижных фаз. Сложные варианты хроматографических разделений — градиентные, с использованием дериватизации — как правило, не применяют. Время хроматографического разделения должно быть как можно меньше. Очень часто ограничиваются неполным разделением пиков на колонке, предпочитая разделять их при помощи математических методов. Часто анализ одной и той же пробы проводят параллельно на нескольких колонках с неподвижными фазами разной селективности.

Для увеличения селективности используют и отделение мешающих компонентов при помощи предколонки, играющей роль фильтра. Схема промышленного хроматографа с предколонкой изображена на рис. 7.33. Поскольку задача предколонки состоит в как можно более полном отделении компонентов матрицы, ее необходимо периодически регенерировать. Для этого время от времени через предколонку пускают поток газа-носителя в обратном направлении для десорбции накопившихся веществ.

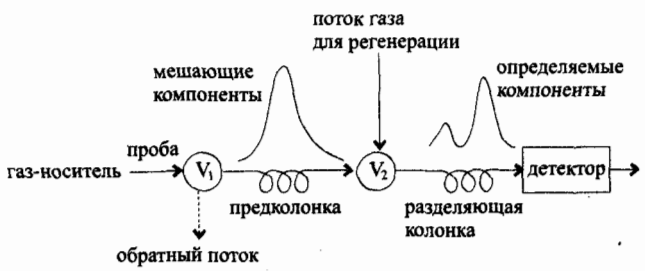


Рис. 7.33. Схема промышленного хроматографа с предколонкой.

В производственную практику постепенно начинает внедряться и высокоэффективная жидкостная хроматография. Хотя в случае ВЭЖХ при переходе от лабораторных к производственным условиям возникает гораздо больше проблем, чем в случае газовой хроматографии, во многих сферах, например, в пищевой или фармацевтической промышленности, метод ВЭЖХ оказывается поистине незаменим. В сочетании с методом ультрафильтрации для удаления высокомолекулярных компонентов ВЭЖХ находит все возрастающее применение и в области биотехнологии.

7.4. Литература

H.Bartels, Techniken der Automatisierung chemischer Analysenverfahren, in Analytiker-Taschenbuch, Bd. 2, S. 47/63, Akademie-Verlag, Berlin, 1981.

J.Ruzicka, E.H.Hansen, Flow Injection Analysis, 2 ed., Wiley, New York, 1988.

K.Doerffel, H.Müller, M.Uhlmann, Prozeßanalytik, Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1986.

R.Nießner, Chemische Sensoren: Prinzipien und Anwendungen, in Analytiker-Taschenbuch, Bd.7, S.55, Akademie-Verlag, Berlin, 1987.

ГЛАВА 8

СПЕЦИАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

8.1. Анализ объектов окружающей среды

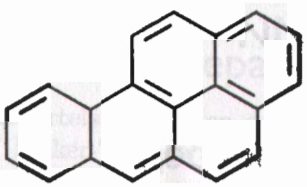
Окружающая среда включает в себя гидросферу, атмосферу, литосферу и биосферу. Соответственно, для исследования и контроля состояния окружающей среды необходимы методы анализа воды, воздуха, почв и живых организмов. Разумеется, в ходе анализа таких объектов постоянно приходится определять содержание множества индивидуальных химических компонентов. К числу повседневных задач химии окружающей среды относятся определение pH, содержания фосфатов, сульфатов, нитратов, ионов аммония, щелочных и тяжелых металлов в водах и почвах, определение газов в атмосфере — SO_2, CO, оксидов азота, озона, галогенов, определение множества органических компонентов — полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), диоксинов и других.

Решение подобного рода задач мы постоянно рассматривали в нашей книге и ранее. Однако в аналитической химии окружающей среды существует и ряд своих специфических проблем. Перечислим некоторые из них.

- Разработка *экспрессных тест-методов* определения загрязнителей *in situ*. Одним из средств решения этой задачи служат индикаторные трубки.
- Определение *обобщенных показателей* состояния окружающей среды таких, как химическое потребление кислорода (ХПК), содержание общего органического углерода (ООУ), суммы фенолов (фенольный индекс) или поверхностно-активных веществ в водах, характеристики кислотности почв.
- Оценка значений *групповых параметров*, характеризующих загрязнители с точки зрения как их состава, так и поведения в окружающей среде, например, содержания адсорбируемых органических галогенов (АОХ).
- Специфические проблемы, связанные с *пробоотбором*, определением *следовых содержаний* и разработкой *стандартизованных процедур* анализа.
- Изучение пространственного и фазового распределения элементов и соединений, их накопления в отдельных частях и органах (*компартментах*) растительных и животных организмов.
- Изучение распределения элементов по отдельным *химическим формам*, которые могут обладать разной токсичностью, например, Cr(III) и Cr(VI), свободные и связанные в комплексы ионы Cu(II) в морской воде (последние поглощаются организмами рыб в значительно меньшей степени).

- Исследование *мелкодисперсных объектов*, например, частиц пыли или дыма в атмосфере.
- *Дистанционный анализ*, например, для определения содержания озона в верхних слоях атмосферы.

Определение индивидуальных веществ



бенз[а]пирен

В качестве примера важной задачи аналитической химии окружающей среды, связанной с определением индивидуальных химических компонентов, рассмотрим определение отдельных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ). Существует свыше ста различных полициклических ароматических структур, многие из которых найдены в окружающей среде. В настоящее время американским Агентством по охране окружающей среды (EPA) установлены нормативы на 16 различных ПАУ (табл. 8.1). Основным из них считается бенз[а]пирен. Именно его содержание используют для оценки степени загрязнения ПАУ из различных источников — от пожаров до табачного дыма (табл. 8.2).

Идентификация и определение отдельных ПАУ представляет немалые трудности ввиду наличия в водах, почве и воздухе множества сопутствующих веществ. Как правило, в ходе анализа объектов окружающей среды компоненты пробы сначала разделяют на отдельные фракции, а затем уже нужную фракцию (которая по-прежнему представляет собой весьма сложную смесь) анализируют с помощью высокоэффективной хроматографии.

Таблица 8.1. ПАУ, содержание которых нормируется Агентством по охране окружающей среды (США).

1. Нафталин	9. Бенз[а]антрацен
2. Аценафтилен	10. Хризен
3. Аценафтен	11. Бенз[b]флуорантен
4. Флуорен	12. Бенз[k]флуорантен
5. Фенантрен	13. Бенз[а]пирен
6. Антрацен	14. Инденол[1,2,3-c,d]пирен
7. Флуорантен	15. Дибенз[a,h]антрацен
8. Пирен	19. Бенз[g,h,i]перилен

Рассмотрим схему определения ПАУ в конденсате выхлопных газов дизельных двигателей (рис. 8.1). Она включает в себя несколько процедур экстракционного и хроматографического разделения и завершается хроматографическим определением. Частицы, выходящие с выхлопными газами, собирают на фильтре из стекловолокна и экстрагируют толуолом. Затем толуольный экстракт разделяют на водорастворимую и жирорастворимую (гидрофобную) фракции. Раствор гидрофобной фракции в циклогексане разделяют хроматографическим методом на колонке с гелем Сефадекс LH-20 еще на три фракции — неполярную, не содержащую ПАУ, неполярную, содержащую ПАУ, и полярную. Фракцию, содержащую ПАУ, разделяют далее на колонке с силикагелем еще на две. Одна из них содержит углеводороды с 4–7 кольцами, другая — нитросоединения.

«ЛЮМЭКС»
Центральный офис:
192029, Санкт-Петербург,
пр. Обуховской Обороны, 70, корп. 2
Тел: +7(812)718-5390, +7(812)718-5391
Факс: +7(812)718-6865
Эл.почта: lumex@lumex.ru, www.lumex.ru
почтовый адрес: 190000, Санкт-Петербург, BOX 1234
«ЛЮМЭКС-ЦЕНТРУМ»:
127018, Москва, Сущевский вал, 47, офис 27
Тел: +7(495)232-4470, +7(495)232-4471
Эл.почта: byl@lumex.ru

Аналитические приборы собственной разработки, методическое обеспечение, развитый сервис

Группа компаний «ЛЮМЭКС®» - ведущий российский разработчик и производитель широкого спектра аналитических приборов и методического обеспечения, с 1991 г. работающий на отечественном рынке аналитического оборудования.

Приборы предлагаются в пакете с методическим обеспечением и обучением, что позволяет комплексно решать задачи аналитических лабораторий, оперативно вводить новые методы и методики в практику повседневной работы (всего разработано и аттестовано свыше 100 методик, на их основе разработаны и утверждены 14 Государственных стандартов России).

На территории России для десяти самых популярных приборов фирмы установлен **трехлетний гарантийный срок*** на производимое компанией оборудование.

В течение 3 лет пользователю представляется право

- бесплатного гарантийного ремонта приборов (на предприятии-изготовителе, а также по месту эксплуатации согласно условиям гарантии);
- бесплатного устранения недостатков оборудования в случае выявления несоответствия техническим условиям;
- бесплатного обучения в Санкт-Петербурге или на месте запуска оборудования;
- бесплатных дистанционных консультаций по вопросам эксплуатации приборов с методическим и программным обеспечением «ЛЮМЭКС®».

Система управления качеством фирмы сертифицирована на соответствие требованиям международного стандарта ISO 9001:2000.

Разработано и сделано в России

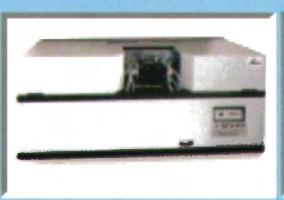
*1 год гарантии и 2 года бесплатного технического обслуживания. Предоставляется только на оборудование собственного производства, приобретенное с 01.09.05 и введенное в эксплуатацию фирмой "ЛЮМЭКС®" при проведении пуско-наладочных работ.



Анализатор жидкости «ФЛЮОРАТ®-02»



Инфракрасные фурье-спектрометры «ИнфраЛЮМ® ФТ-10/ФТ-02»



Атомно-абсорбционный спектрометр «МГА-915» с электротермической атомизацией



Универсальная микроволновая система «МИНОТАВР®-2»



Система капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ®»



Портативный анализатор ртути «РА-915+»



Спектрофлуориметр «ФЛЮОРАТ®-02-ПАНОРАМА»



Аналитический жидкостный модульный хроматограф «ЛЮМАХРОМ®» с набором детекторов

Таблица 8.2. Источники выбросов полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в окружающую среду.

Источник	Суммарные выбросы за 1981 г. (т)
Пожары	2,6
Электроэнергетика:	
– сжигание нефтепродуктов	0,02
– сжигание угля	0,001
Производство кокса	5,6
Транспорт:	
– бензиновые, газовые двигатели	2,2
– дизельные двигатели	0,14
Табачный дым	0,015

Наконец, углеводородную фракцию ПАУ, называемую также канцерогенной (фракция IIb, рис. 8.1), анализируют методом капиллярной газовой хроматографии. Полученная хроматограмма (рис. 8.2) весьма сложна, идентификация компонентов представляет собой непростую задачу. Очень удобным методом идентификации является масс-спектрометрия. Для селективного детектирования интересующего компонента можно использовать способ селективного мониторинга ионов (раздел 5.5), контролируя ионный ток соответствующего характеристического пика.

Экспресс-тесты и измерение долговременных экспозиций

Лабораторный анализ объектов окружающей среды — задача для высококвалифицированных специалистов. В то же время часто бывает необходимо быстро зарегистрировать аварийный выброс загрязнителя или оценить качество воды непосредственно на месте, причем силами работников, не обладающих высокой квалификацией в области аналитической химии.

Такие задачи решаются при помощи специальных, полностью оборудованных комплектов для выполнения полевых химических анализов, включающих, в частности, дозиметры и индикаторные трубки.

Разнообразные комплекты для выполнения *полевых анализов* выпускаются фирмой Merck. Большинство из них основано на обычных принципах химических методов анализа, реализуемых, как правило, в «безреактивном» вариан-



Рис. 8.1. Схема выделения канцерогенной фракции ПАУ (IIb).

те (раздел 7.1). Примерами могут служить индикаторные (тестовые) бумаги для определения pH. В настоящее время такие бумаги, пропитанные растворами соответствующих реагентов, выпускают и для определения различных ионов — аммония, металлов (Al, Pb, Cd, Cr, Fe, Ni, Cu, Mn). Существуют индикаторные бумаги для определения суммы кальция и магния (жесткости воды), анионов (фторидов, хлоридов, цианидов, нитратов, фосфатов, силикатов, сульфатов), химического потребления кислорода, а также для проведения микробиологических тестов с использованием сухих питательных сред. Оценка интенсивности окраски индикаторных бумаг осуществляется визуально путем сравнения с прилагаемой колориметрической шкалой или при помощи миниатюрных фотометров в отраженном свете. В полевые комплекты входят и все дополнительные реактивы, если требуется их использование.

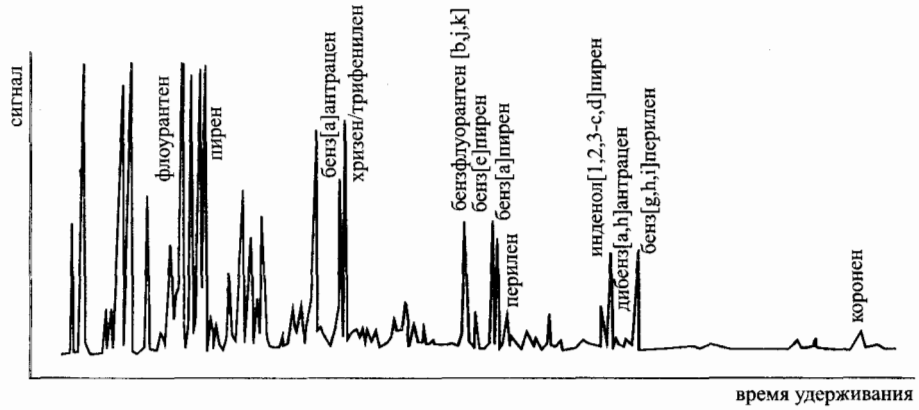


Рис. 8.2. Капиллярная газовая хроматограмма канцерогенной фракции ПАУ выхлопных газов дизельного двигателя.

В качестве полевых анализаторов воздуха применяют индикаторные трубки Дрегера. Их обычно заполняют порошком силикагеля, на котором адсорбирован соответствующий реагент. Трубки хранят в запаянном виде, их вскрывают лишь непосредственно перед анализом. С помощью ручного насоса через трубку прокачивают определенный объем воздуха. При этом в результате реакции с определяемым веществом слой силикагеля окрашивается. Чем больше концентрация вещества, тем больше длина окрашенной зоны. Значение концентрации оценивают при помощи прилагаемой измерительной шкалы.

Существуют индикаторные трубки для определения неорганических газов — HCN, CO, NH_3, оксидов азота, паров сильных кислот (HCl, HNO_3). В качестве примера определения паров органических веществ назовем комплект для одновременного детектирования ацетона, спиртов, толуола, гексана и перхлорэтилена.

Определение суммарных и групповых параметров

Суммарные параметры используют как обобщенные показатели загрязненности окружающей среды, например, воды органическими веществами или воздуха взвешенными частицами.

Рассмотрим систему таких показателей на примере оценки загрязненности вод органическими веществами. Эти показатели можно свести к двум основным группам — характеристики содержания углерода в различных формах и характеристики окисляемости. Содержание углерода характеризуют в виде содержания общего неорганического углерода (ОНУ) и общего органического углерода (ООУ). В свою очередь, общий органический углерод подразделяют на растворенный органический углерод (РОУ) и взвешенный органический углерод (ВОУ).

Для определения содержания органического углерода пробу воды фильтруют и определяют органический углерод раздельно в фильтрате и осадке. Предварительно весь неорганический углерод, который может находиться в форме растворенного CO_2 или карбонатов, удаляют кипячением с фосфорной кислотой и при необходимости также определяют. Для суспензий или твердых проб может потребоваться дополнительное высокотемпературное воздействие.

В основе определения органического углерода лежит термическое или химическое окисление органического вещества пробы до CO_2, который затем определяют непосредственно или после восстановления до метана. Существует много способов полного окисления органических веществ до CO_2. Один из наиболее распространенных, применяемый как для твердых, так и для жидких проб, — окисление при помощи персульфата калия с дополнительным УФ-облучением.

Определение CO_2 проще всего осуществить при помощи бездисперсионного ИК-анализатора. Возможно также использование кислотно-основного титрования в неводных средах, кулонометрии, CO_2-селективных электродов или катарометрическое определение после восстановления до метана.

Окисляемость воды характеризуют величинами, называемыми химическим потреблением кислорода (ХПК) и биохимическим потреблением кислорода (БПК). Определение ХПК основано на окислении органических веществ до CO_2 бихроматом калия. Для этого пробу воды кипятят с раствором $K_2Cr_2O_7$ в серной кислоте и оттитровывают непрореагировавший избыток бихромата калия стандартным раствором Fe(II) с индикатором ферроином (раздел 2.5):

$$Cr_2O_7^{2-} + 6Fe^{2+} + 14H^+ = 2Cr^{3+} + 6Fe^{3+} + 7H_2O.$$

Величина ХПК численно равна массе кислорода (мг), эквивалентной количеству $K_2Cr_2O_7$, пошедшего на полное окисление 1 л пробы воды. Она зависит как от содержания органических веществ в воде, так и от их природы.

Величина БПК равна массе кислорода (мг), необходимой для микробиологического окисления при 20°C органических веществ, содержащихся в 1 л пробы воды. При величине БПК указывают также длительность микробиологического окисления в сутках. Так, обозначение $БПК_{20}$ означает биохимическое потребление кислорода за 20 суток. Обычно в течение этого срока разлагается около 70% органических веществ, содержащихся в водах.

Чем меньше численные значения любых из упомянутых параметров, тем выше качество воды. Для сточных вод станций биологической очистки установлены следующие нормативы: $БПК_{20} < 50$ мг/л, ХПК < 150 мг/л, ООУ < 50 мг/л.

Примером **групповых параметров** оценки качества вод могут служить показатели содержания галогенпроизводных, образующихся, в частности, в процессе хлорирования питьевой воды. При этом хлорированию подвергаются и

растворенные в воде органические вещества. Различают содержание адсорбируемых, экстрагируемых и летучих органических галогенов. Содержание адсорбируемой фракции определяют при помощи адсорбции на активированном угле из пробы воды, подкисленной азотной кислотой. Затем адсорбент сжигают в токе кислорода при 1000°C, газообразные продукты сгорания пропускают через серную кислоту, поглощают водой и определяют галогенид-ионы кулонометрическим титрованием электрогенерированными ионами Ag^+ с потенциометрической индикацией при помощи серебряного электрода (раздел 4.5). Эта методика является стандартной (германский стандарт DIN 38409, часть 14).

Содержание экстрагируемой фракции определяют при помощи экстракции 1,1,2-трихлортрифторэтаном. Экстрагент испаряют, остаток сжигают и определяют галогениды титриметрическим методом.

Изучение пространственного и химического распределения веществ

Данные по *общему* (среднему) содержанию тех или иных компонентов во многих случаях не представляют для аналитической химии окружающей среды особого интереса. Для многих металлов подвижность в окружающей среде, усвояемость живыми организмами и токсические свойства очень сильно зависят от того, в какой химической форме находится элемент. Отметим, что во многих случаях химическая форма элемента более-менее однозначно определяется его физическим состоянием и средой нахождения: в растворе, в виде взвешенных, аэрозольных частиц или макроскопической твердой фазы. Часто бывает важно установить, в какой степени окисления находится элемент, в свободном (в виде аквакомплексов) или связанном состоянии, и если в связанном, то с какими лигандами и какова устойчивость этих комплексов. Также бывает важно выяснить распределение вещества по физическим формам (фазам).

Для решения всех подобных задач необходимо тщательно продумать общую схему анализа, позволяющую как можно полнее разделить определяемый компонент на фракции с точки зрения как физической, так и химической формы существования. После этого анализ отдельных фракций можно выполнить на основе обычных аналитических подходов. В настоящее время также интенсивно разрабатываются специальные методы, позволяющие непосредственно определять отдельные химические формы.

Характер проблем, возникающих при изучении распределения вещества по формам и средам существования, мы рассмотрим подробнее на примере распределения свинца в организме человека. Важно выяснить, в каких именно органах преимущественно накапливается свинец. Определение свинца в биологических жидкостях (кровь, моча) или, например, в молочных зубах не вызывает принципиальных проблем. В то же время определение свинца в костях — где, как предполагают, он главным образом и накапливается — составляет, очевидно, далеко не простую задачу (как отобрать пробу?). Масштабы накопления свинца в костях можно оценить косвенно на основании примерной схемы суточного материального баланса по свинцу для среднестатистического горожанина, в которой учтены различные источники поступления свинца в организм (рис. 8.3).

В настоящее время в качестве предельно допустимой концентрации свинца в крови принята величина 25 мкг на 100 мл. Для детей эта величина должна быть меньше. Разумеется, все числа, приведенные на рис. 8.3 — ориентировочные, оцененные из данных обычных методов анализа, включающих химическое разложение проб и атомно-абсорбционное определение.

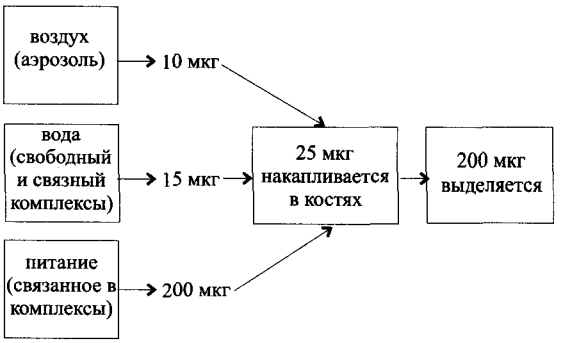


Рис. 8.3. Суточный материальный баланс по свинцу для среднестатистического горожанина.

Что касается распределения свинца по химическим формам существования, то здесь наблюдается большое разнообразие как неорганических, так и органических форм. Например, в дождевой воде найдены как свободные ионы Pb^{2+}, так и множество алкилпроизводных. Для их раздельного определения можно использовать *ВЭЖХ* в сочетании с *атомно-спектроскопическим детектированием*.

Этот же подход используют и для определения форм существования других элементов. Так, мышьяк в окружающей среде может находиться в виде неорганических ионов As(III) и As(V), монометиларсоновой (MMA) и диметиларсиновой (DMA) кислот, арсен-бетаина и арсен-холина (рис. 8.4). На рис. 8.5 приведена хроматограмма природной смеси различных форм мышьяка. Она получена при помощи ВЭЖХ с атомно-эмиссионным детектированием с ИСП и применением техники генерирования гидрида мышьяка (арсина).

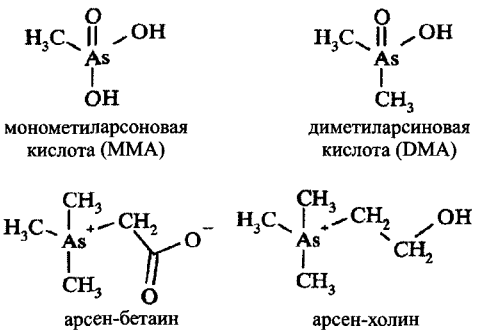


Рис. 8.4. Некоторые формы существования мышьяка в окружающей среде.

Хроматографическим методом можно определить лишь те формы существования элементов, которые *устойчивы* в условиях хроматографического процесса. *Лабильные* комплексы можно определить электрохимическими методами, если они электроактивны.

Рис. 8.5. Определение отдельных форм мышьяка в дождевой воде при помощи ВЭЖХ с АЭС-ИСП детектированием и гидридной генерацией.



8.2. Анализ материалов

Основные положения

До сих пор мы рассматривали лишь анализ гомогенных или гомогенизированных проб. Этот способ анализа называется *валовым*. В то же время при исследовании твердых тел наряду с определением интегральных характеристик состава часто представляет интерес и решение других задач. Вот некоторые из них.

- Определение химического и структурного состава отдельных *микроскопических областей* материала.
- Определение *фазового состояния* элемента и природы его *химических связей*, например, находится ли кремний в виде нитрида (SiN) или карбида (SiC).
- Выяснение характера *распределения* элемента по поверхности или в объеме образца материала (рис. 8.6).
- Изучение *морфологии* поверхности материала, ее рельефа (рис. 8.7).

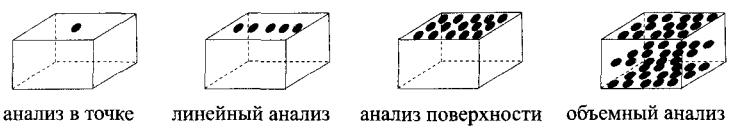


Рис. 8.6. Виды распределительного анализа твердых материалов.

Для решения этих задач, связанных с пространственным распределением элементов, необходимы специальные методы распределительного анализа — локального и анализа поверхности. Некоторые из них, а именно, методы электронной и ионной спектроскопии (масс-спектрометрия вторичных ионов, фотоэлектронная и оже-электронная спектроскопия), позволяют одновременно отвечать и на вопросы о химическом состоянии элементов.



Рис. 8.7. Особенности структуры поверхности твердых тел.

Важными характеристиками распределительных методов анализа являются геометрическое разрешение и глубина отбора аналитической информации.

Под **геометрическим разрешением** понимают отношение длины L, площади поверхности F или объема V образца к соответствующим размерам ΔL, ΔF, ΔV элементов образца, которые могут быть раздельно проанализированы при помощи данного метода.

Линейное (латеральное) разрешение:
$$A_{\mathrm{L}} = \frac{L}{\Delta L}. \qquad (8.1)$$

Поверхностное разрешение:
$$A_{\mathrm{F}} = \frac{F}{\Delta F}. \qquad (8.2)$$

Объемное разрешение:
$$A_{\mathrm{V}} = \frac{V}{\Delta V}. \qquad (8.3)$$

Глубина отбора аналитической информации является мерой разрешения по глубине и характеризует толщину слоя образца, формирующего аналитический сигнал. Для выполнения анализа поверхности необходимы методы, характеризующиеся высоким разрешением по глубине (малой глубиной отбора аналитической информации). Рис. 8.8 иллюстрирует два метода анализа, различающиеся глубиной отбора информации. Метод, обладающий малой глубиной отбора z_1, позволяет различить два образца I и II, а методом с большей глубиной отбора z_2 это сделать невозможно.

В табл. 8.3 приведены величины поверхностного разрешения, глубины отбора аналитической информации, а также пределы обнаружения для различных методов распределительного элементного анализа. Анализ поверхности в строгом смысле слова, т. е. нескольких атомных монослоев, возможен лишь с помощью отдельных методов таких, как масс-спектрометрия вторичных ионов. Для этого метода величина объемного разрешения при объеме образца $V = 0,1\,\text{см}^3$ составляет порядка 10^{11} — 10^{13}.

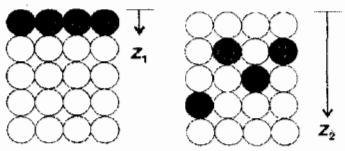


Рис. 8.8. Анализ образцов I и II двумя методами с глубинами отбора информации z_1 и z_2.

Таблица 8.3. Характеристики методов распределительного элементного анализа.

Метод	Латеральное разрешение A_L	Глубина отбора аналитической информации монослоев	мкм	Предел обнаружения, г
Масс-спектрометрия твердых тел	10^4 — 10^6		10	10^{-12}
Лазерный микроанализ	10^4 — 10^6		10	10^{-12}
Электронно-зондовый микроанализ	10^6 — 10^8		1	10^{-16}
Масс-спектрометрия вторичных ионов	10^6 — 10^8	1 — 5	0,0005	10^{-17}
Оже-электронная спектроскопия	10^6 — 10^8	10	0,005	10^{-13}

Высокое пространственное разрешение указанных методов основано на использовании локального пробоотбора при помощи лазеров, электронных и ионных микрозондов. Применение ионного травления — послойного удаления материала анализируемого образца под действием потока высокоэнергетических частиц — позволяет получать профили распределения элементов по глубине. Послойное травление можно осуществить также химическим или электрохимическим путем.

Методы распределительного анализа материалов

Лазерный микроанализ

Нам уже известно о применении лазеров в качестве источников света в спектроскопических методах анализа. Однако лазер может использоваться и для пробо-

отбора путем *испарения* микроскопических объемов пробы. Одновременно лазер может частично возбуждать атомы в образующемся атомном паре. Лазерный микроанализатор включает в себя твердотельный лазер, микроскоп для наблюдения за поверхностью образца и направления лазерного луча в нужную точку и спектрометр для анализа образующегося атомного пара (рис. 8.9).

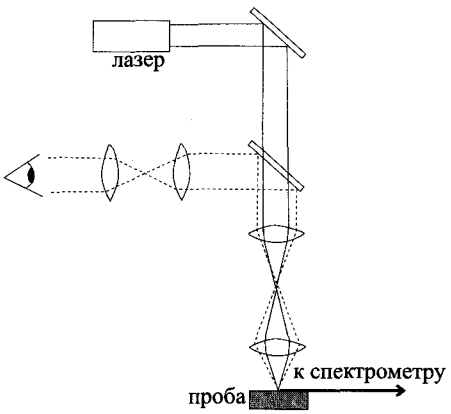


Рис. 8.9. Устройство лазерного микроанализатора.

При облучении лазерным лучом поверхности непрозрачного тела на ней образуется кратер диаметром 10–200 мкм и глубиной 10–100 мкм. Масса испарившегося вещества составляет 10^{-9} — 10^{-6} г. Применение точной фокусировки и наведения лазерного луча позволяет осуществить *качественный* и *количественный локальный* и *распределительный* анализ приповерхностного слоя материала.

Методами детектирования могут служить атомно-абсорбционная спектроскопия, атомно-эмиссионная спектроскопия (в частности, с индуктивно связанной плазмой) или масс-спектрометрия. Лазерный луч может одновременно служить источником излучения для регистрации поглощения света свободными атомами (лазерная атомно-абсорбционная спектроскопия) или возбуждения их флуоресценции (лазерно-индуцированная атомная флуоресценция). Возможно и детектирование ионов при помощи масс-спектрометрии. Для увеличения степени ионизации атомов также можно использовать лазер или электрическое поле (лазерная спектроскопия с полевой ионизацией).

Электронно-лучевой зонд

Методы анализа твердых тел с использованием сфокусированных пучков электронов называются электронно-зондовым микроанализом. При взаимодействии пучка электронов с анализируемым образцом возникает множество разнообразных явлений, схематически изображенных на рис. 8.10.

Среди электронов, испускаемых с поверхности образца, примерно половину составляют первичные электроны, претерпевшие обратное рассеяние, а другую половину — вторичные электроны, испускаемые атомами образца. Как те, так и другие можно использовать в аналитической химии. В химическом анализе используют и рентгеновское излучение, испускаемое атомами образца. Механизм его возникновения аналогичен описанному в разделе 3.2.3 применительно к рентгенофлуоресцентному анализу. Единственное отличие состоит в том, что в данном случае источником возбуждения атомов служит не рентгеновское излучение, а поток высокоэнергетических электронов.

Фокусировку пучка первичных электронов осуществляют при помощи электромагнитного поля. Используя хорошо сфокусированные пучки, можно проводить анализ отдельных участков поверхности площадью порядка 1 мкм^2 и тем

самым осуществлять локальный анализ с высоким линейным, поверхностным, а в сочетании с техникой травления — и объемным разрешением.

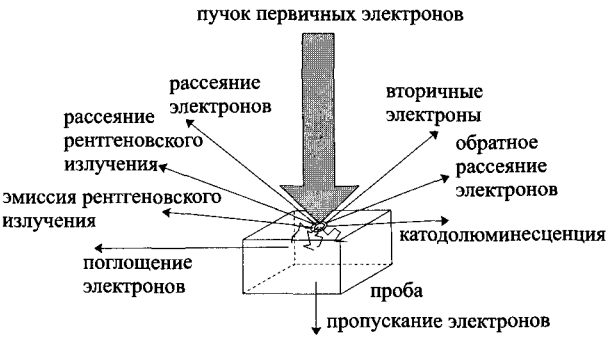


Рис. 8.10. Взаимодействие пучка электронов с анализируемым твердым образцом.

Ионный зонд

Подобно пучкам электронов можно использовать в химическом анализе и пучки ионов. При взаимодействии ионного пучка с поверхностью анализируемого материала происходит распыление вещества. При этом образуются вторичные ионы, которые регистрируют при помощи масс-спектрометрии. Этот метод анализа называется *масс-спектрометрией вторичных ионов* (МСВИ).

Генерирование первичных ионов осуществляют под действием электрического разряда или термическим способом (ионы щелочных металлов, например, Cs^+). Ионы ускоряют в электрическом поле при помощи экстрагирующего электрода и фокусируют системой электромагнитных линз. При взаимодействии пучка ионов с поверхностью образца происходит их рассеяние (так называемое обратное резерфордовское рассеяние ионов) и частичное испарение исследуемого материала с образованием нейтральных и ионизированных (в том числе многократно) атомов и атомных групп (кластеров). Анализ полученной смеси вторичных ионов осуществляют масс-спектрометрическим методом, обычно с применением двойной фокусировки (рис. 3.113). На рис. 8.11 показан пример масс-спектра вторичных ионов поверхности кремниевой подложки, покрытой слоем германия. В качестве первичных ионов использованы ионы O_2^+. Основными одноатомными ионами в спектре являются Ge^+, Si^+, O^+ и H^+. Ионы O^+ образуются главным образом в результате внедрения ионов O_2^+ в поверхностный слой образца, а ионы H^+ — из адсорбированной атмосферной влаги. В спектре наблюдаются и многозарядные ионы такие, как Si^{2+} или Si_2O^+, а также сложные кластеры типа GeSiO.

Анализ методом МСВИ можно проводить в статическом и динамическом режимах.

МСВИ в *статическом* режиме является практически неразрушающим методом анализа. В этом случае скорость травления (послойного удаления атомов с поверхности под действием пучка ионов) составляет лишь около 0,1 нм в час. Учитывая, что в методе МСВИ разрешение по глубине составляет 1–5 атомных слоев, можно говорить о том, что в этом случае осуществляется анализ поверхности в строгом смысле слова.

Динамический режим МСВИ используют для изучения профилей распределения элементов по глубине образца и объемного (трехмерного) распределительного анализа. Здесь скорость травления достигает 1 мкм в час. За счет непрерывного удаления материала образца становится возможным проводить его послойный анализ.

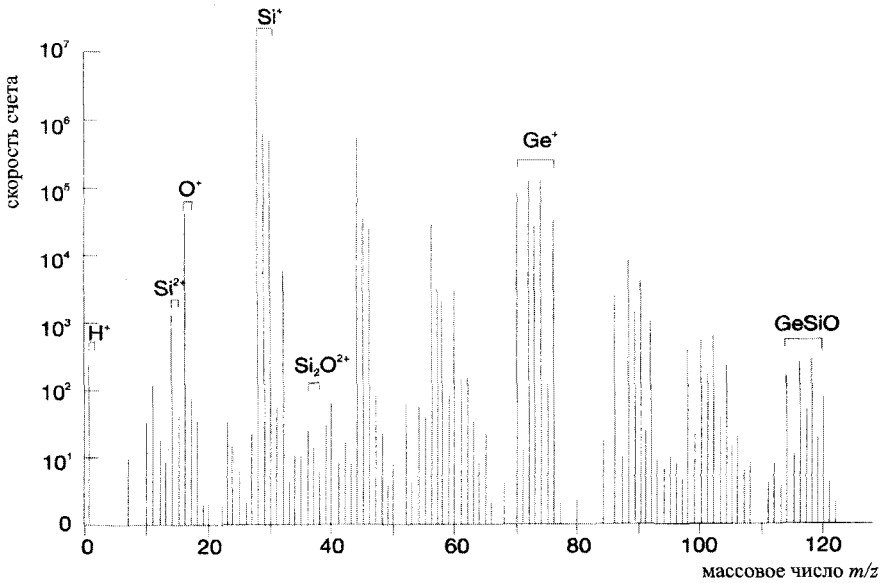


Рис. 8.11. Масс-спектр вторичных ионов кремниевой подложки, покрытой германием.

В результате взаимодействия пучка ионов с поверхностным слоем образца в больших количествах образуются нейтральные частицы, непосредственно не регистрируемые масс-спектрометром. Однако их можно зарегистрировать (и тем самым увеличить чувствительность метода) при использовании дополнительных источников ионизации. На этом принципе основаны современные варианты МСВИ — масс-спектрометрия в тлеющем разряде и масс-спектрометрия распыленных нейтральных частиц.

Методы электронной спектроскопии поверхности

В основе методов электронной спектроскопии лежит измерение энергии вторичных электронов, испускаемых атомами вещества при взаимодействии с потоком высокоэнергетических фотонов или электронов. Для аналитической химии поверхности твердого тела представляют интерес методы фотоэлектронной спектроскопии (иначе — электронной спектроскопии для химического анализа, ЭСХА) и оже-электронной спектроскопии. Теоретические основы процессов испускания фотоэлектронов рассмотрены в разделе 3.2.3, посвященном рентгеновской спектроскопии.

В основе **фотоэлектронной спектроскопии**, за развитие которой К.Зигбан в 1981 г. получил Нобелевскую премию, лежит процесс ионизации атома А фо-

тоном $h\nu$:

$$A + h\nu \rightarrow A^{+*} + e^{-}, \qquad (8.4)$$

и регистрация энергий испускаемых фотоэлектронов e^{-}. Кинетическая энергия фотоэлектрона E_{kin} определяется его энергией связи E_B и энергией возбуждающего излучения $h\nu$ (см. уравнение (3.39)). Для отрыва электрона требуется, чтобы энергия фотонов превышала некоторое минимально необходимое значение. Вместо фотонов можно использовать пучки электронов или синхротронное излучение достаточно высокой энергии. Если для возбуждения применять рентгеновское излучение (в этом случае метод называется рентгеновской фотоэлектронной спектроскопией, РФЭС), например, излучение линии CuK_α или CrK_α, то фотоэлектроны эмитируются с внутреннего уровня. При использовании излучения УФ-диапазона (УФ-фотоэлектронная спектроскопия) происходит эмиссия валентных электронов.

С учетом работы выхода электрона w можно записать следующее выражение для энергии связи фотоэлектрона:

$$E_B = h\nu - E_{kin} - w. \qquad (8.5)$$

При обсуждении методов рентгеновской спектроскопии мы упоминали и об *оже-эффекте* как явлении, сопутствующем главному процессу, лежащему в основе этих методов, — испусканию кванта рентгеновского излучения. Напомним, что оже-электрон испускается под действием избытка энергии, существующем в возбужденном ионизированном атоме. Схематично различные процессы, происходящие при ионизации атома первичным электроном и его последующей релаксации, можно представить следующим образом.

Ионизация под действием пучка электронов (или *рентгеновского излучения*):

$$A + e_i^{-} \rightarrow A^{+*} + e_i^{-'} + e_p^{-}, \qquad (8.6)$$

где e_i^{-}, $e_i^{-'}$ — первичный электрон до и после ионизации;
e_p^{-} — вторичный электрон.

Оже-эффект:

$$A^{+*} \rightarrow A^{2+} + e_A^{-}, \qquad (8.7)$$

e_A^{-} — оже-электрон.

Рентгеновская эмиссия:

$$A^{+*} \rightarrow A^{+} + h\nu. \qquad (8.8)$$

В отличие от фотоэлектрона, для оже-электрона кинетическая энергия не зависит от энергии возбуждающего первичного электрона (или рентгеновского кванта). Она определяется лишь расположением уровней электронов, участвующих в процессе (*KLL, LMM, MNN* и т. д. — см. рис. 3.38). Поэтому для регистрации оже-электронов можно использовать *полихроматическое рентгеновское излучение* или пучок электронов различных энергий.

Аппаратура для электронной спектроскопии

В принципиальном плане устройство электронного спектрометра напоминает устройство оптического спектрометра. Электронный спектрометр включает в

себя источник возбуждающих частиц, держатель пробы, электронный энергоанализатор (играющий ту же роль, что и монохроматор), детектор и устройство регистрации и отображения сигнала. Схематически устройство электронного спектрометра представлено на рис. 8.12.

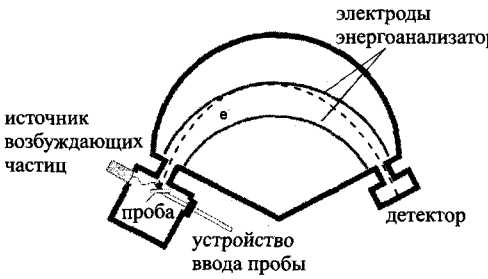


Рис. 8.12. Устройство спектрометра для ЭСХА и оже-спектроскопии.

В качестве *источника* возбуждающих частиц в ЭСХА используют рентгеновскую трубку с анодом из чистого металла, например, Mg или Al. K_α-линии обоих этих элементов имеют малую ширину (порядка 0,8 эВ), излучение достаточно монохроматично, что позволяет достичь высокой разрешающей способности. Для оже-электронной спектроскопии чаще применяют электронные пучки — катодные лучи, возникающие под действием тлеющего разряда. Этот пучок электронов с энергиями от 1 до 10 кэВ фокусируют на участок поверхности пробы диаметром 5–500 мкм, что обеспечивает высокое пространственное разрешение. Источники электронов с очень узкой, порядка 5 мкм, фокусировкой называют оже-микрозондами. Их можно использовать для локального анализа.

Действие *энергоанализаторов* основано на использовании электрических или магнитных полей. Путем изменения напряженности поля можно сфокусировать на детекторе электроны с различными кинетическими энергиями. Энергетический анализ электронов проводят в условиях сверхвысокого вакуума (порядка 10^{-7} Па). *Детектирование* в настоящее время осуществляют главным образом при помощи многоканальных детекторов электронов, аналогичных многоканальным фотоприемникам в оптической спектроскопии.

Практическое применение

ЭСХА — электронная спектроскопия для химического анализа. При помощи фотоэлектронной спектроскопии можно изучать атомы всех элементов, кроме водорода и гелия. Наложение спектральных линий различных элементов наблюдается редко. Фотоэлектронный спектр может содержать отдельные ожепики. Их легко обнаружить, изменяя энергию возбуждающих частиц, поскольку энергия оже-электронов, в отличие от энергии фотоэлектронов, не зависит от энергии возбуждения.

На рис. 8.13 приведен типичный пример фотоэлектронного спектра — спектр образца дифтортиофосфата тетрапропиламмония — в виде зависимости показаний детектора (скорости счета) от энергии связи электрона E_B (см. уравнение (8.5)). Энергия связи электрона в атоме зависит от его *степени окисления*, поэтому различным степеням окисления одного и того же элемента соответствуют

разные пики. Как правило, чем выше степень окисления, тем сильнее притяжение электрона к ядру, тем выше энергия связи. Примерные величины изменений энергии связей элементов (химические сдвиги) для различных степеней окисления приведены в табл. 8.4.

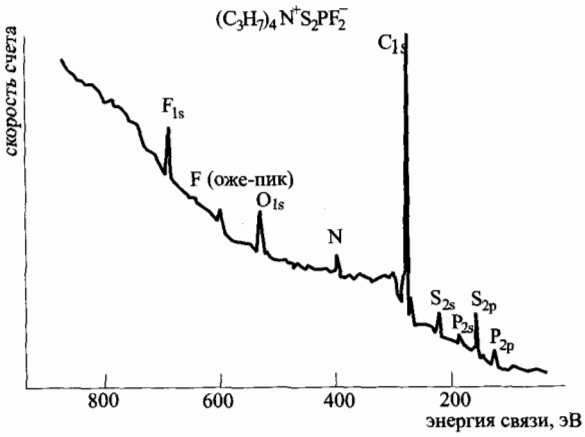


Рис. 8.13. Фотоэлектронный спектр дифтортиофосфата тетрапропиламмония. Источник возбуждения — рентгеновское излучение.

Таблица 8.4. Химические сдвиги в ЭСХА-спектрах некоторых элементов для различных степеней окисления. За условный нуль для разных элементов приняты разные степени окисления.

Элемент	Относительная энергия связи, эВ									
	Степень окисления									
	−2	−1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
N(1s)		0,0		4,5		5,1		8,0		
S(1s)	−2,0		0,0				4,5		5,8	
Cl(2p)		0,0				3,8		7,1		9,5
Cu(1s)			0,0	0,7	4,4					
I(4s)		0,0						5,3		6,5
Eu(3d)					0,0	9,6				

Помимо определения степени окисления, ЭСХА позволяет получать ценную информацию и о *структуре* молекул. На рис. 8.14 приведен спектр C(1s)-электронов этилтрифторацетата. Отнесение отдельных пиков к соответствующим атомам углерода можно легко осуществить на основе общих представлений об электронных эффектах в органической химии. Так, наименьшей кинетической энергией и, соответственно, наибольшей энергией связи обладает 1s-электрон атома углерода трифторметильной группы. Причина состоит в сильном индуктивном эффекте трех электроотрицательных атомов фтора, приводящем к повышению положительного заряда на атоме углерода.

Глубина отбора аналитической информации в методе фотоэлектронной спектроскопии составляет от 10 до 50 Å. С его помощью исследуют состав различных твердых тел — оксидных пленок на поверхностях металлов и сплавов, каталитические центры, обнаруживают примеси на поверхности полупроводниковых материалов.

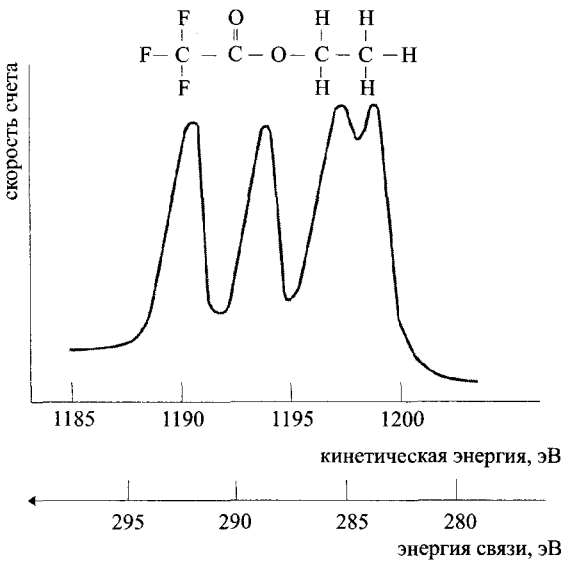


Рис. 8.14. Фотоэлектронный спектр C(1s)-электронов этилтрифторацетата. Источник возбуждения — рентгеновское излучение.

Оже-электронная спектроскопия. Методом оже-электронной спектроскопии выполняют как качественный, так и количественный анализ. Возможно определять все элементы, кроме водорода и гелия. Использование электронной пушки позволяет анализировать поверхность, а сфокусированных электронных пучков — осуществлять локальный анализ. Сочетание с техникой ионного травления (обычно посредством ионов Ag^+) позволяет проводить послойный анализ материалов. Глубина отбора аналитической информации меньше, чем для фотоэлектронной спектроскопии, и составляет от 3 до 30 Å. Здесь уже можно говорить об анализе поверхности в достаточно строгом смысле слова.

Дополнительными преимуществами оже-электронной спектроскопии по сравнению с ЭСХА являются более высокая чувствительность по отношению к легким элементам и очень малые матричные эффекты.

На рис. 8.15 (а) приведен пример использования метода оже-электронной спектроскопии для исследования поверхности. Образец представляет собой кремниевую подложку, покрытую слоем Ni-Cr толщиной около 150 Å. Оже-электронный спектр представлен как зависимость производной скорости счета $dN(E)/dE$ от энергии оже-электронов E.

Наряду с линиями основных элементов покрытия Ni и Cr отчетливо заметны линии кислорода. На рис. 8.15 (б) приведен спектр того же образца, покрытие с которого удалено посредством ионного травления. Сигналы Ni и Cr теперь значительно слабее. Наблюдается интенсивный пик элемента подложки — кремния. Использование оже-электронной спектроскопии в сочетании с ионным травлением позволяет получать профили распределения элементов по глубине (рис. 8.16). Для этого сначала строят зависимости интенсивностей пиков от времени травления, а затем по известной скорости травления пересчитывают значения времени в значения глубины.

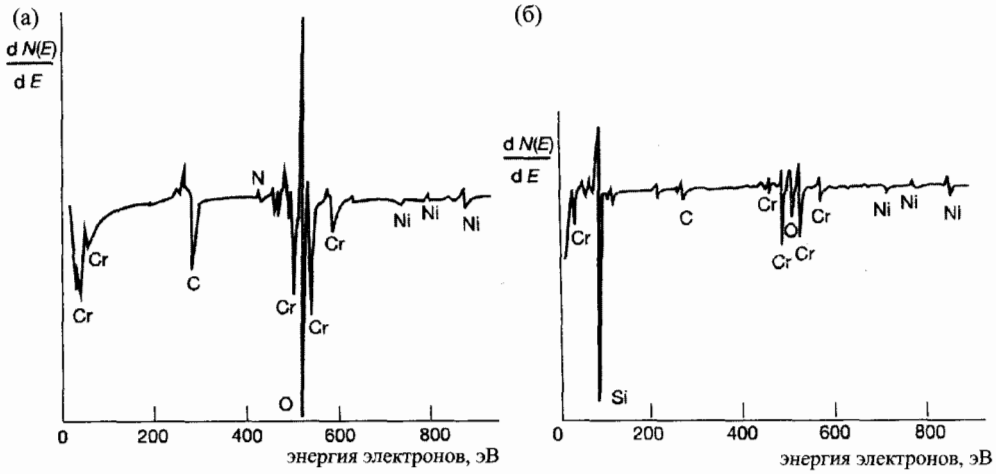
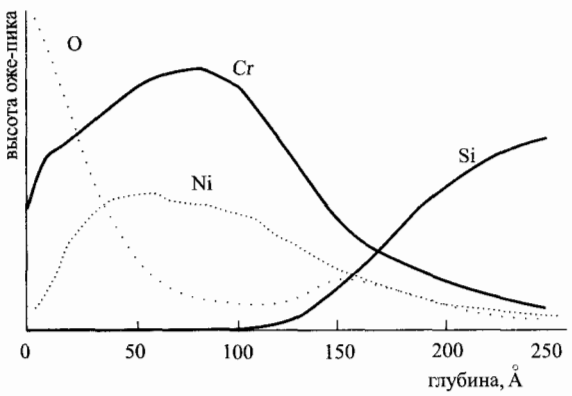


Рис. 8.15. Оже-электронный спектр кремниевой подложки, покрытой слоем никеля и хрома. (а) — Спектр поверхности. (б) — Спектр после стравливания слоя толщиной около 200 Å.

Рис. 8.16. Концентрационные профили распределения элементов по глубине кремниевой подложки, покрытой слоем Ni и Cr. Рассчитаны по данным оже-электронного микрозондового анализа.



8.3. Ферментативные и иммунохимические методы

Методы определения ферментов, их субстратов и антител имеют ряд особенностей, которые мы обсудим в этом разделе. С задачами определения такого рода веществ приходится сталкиваться не только в исследовательских лабораториях. Они относятся к числу повседневных задач медицинской диагностики, фармацевтической и микробиологической промышленности.

С биохимическими методами анализа мы уже встречались и ранее в частности, при обсуждении проблем, связанных с анализом объектов окружающей среды. Основное достоинство биохимических методов — высокая селективность, обусловленная специфичностью ферментативных и иммунных процессов.

Ферментативные методы анализа

Ферменты в аналитической химии

Ферменты — это белковые биологические катализаторы с относительными молекулярными массами от 10 000 до 2 000 000 дальтон. Они состоят из аминокислотных цепей, в которых остатки аминокислот связаны пептидными связями. Многие ферменты проявляют свое действие, только будучи связаны с кофактором. Чтобы различить действующий фермент и его белковую часть, используют термины «*холофермент*» и «*апофермент*», соответственно.



(8.9)

В качестве кофакторов могут выступать:

- *ионы металлов* — Zn^{2+} в алкогольдегидрогеназе и карбоксипептидазе, Mn^{2+} в фосфортрансферазе, ионы железа в цитохромах;
- органические молекулы — *коферменты* (коэнзимы), например, $НАД^+$ (рисунок 8.17), переносчик гидроксильных групп и электронов, или коэнзим А, переносчик ацильных групп.

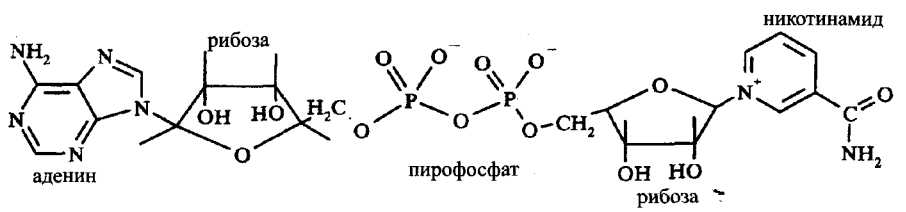


Рис. 8.17. Структурная формула кофермента никотинамидадениндифосфата ($НАД^+$).

Кинетика ферментативных реакций

В организме ферменты выполняют роль катализаторов биохимических реакций. В присутствии фермента энергия активации значительно снижается, и скорость реакции возрастает во много раз.

В аналитической химии каталитические реакции применяются в кинетических методах анализа (раздел 2.7). Весь математический аппарат формальной кинетики, используемый в этих методах, может быть применен и к ферментативным реакциям. Одна из особенностей ферментативных реакций — явление *насыщения по субстрату*, т. е. наблюдаемое при некоторых условиях отсутствие зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. Формально реакция при этом имеет нулевой порядок. Рис. 8.18 иллюстрирует это явление. Если представить графически зависимость начальной скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, то при небольших концентрациях наблюдается линейная зависимость (первый кинетический порядок),

далее порядок реакции становится промежуточным между первым и нулевым и, наконец, при высоких концентрациях субстрата наблюдается нулевой порядок.

Объяснить насыщение по субстрату можно с позиций кинетической теории ферментативных реакций, разработанной Михаэлисом и Ментен. В соответствии с этой теорией фермент E реагирует с субстратом S с образованием продукта P согласно следующей схеме:

$$\mathrm{E} + \mathrm{S} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ES}, \qquad (8.10)$$

$$\mathrm{ES} \xrightarrow{k_2} \mathrm{E} + \mathrm{P}. \qquad (8.11)$$

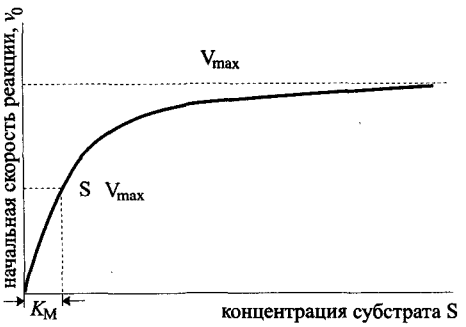


Рис. 8.18. Влияние концентрации субстрата на начальную скорость ферментативной реакции.

На первой, обратимой, стадии образуется комплекс фермента с субстратом. После второй стадии фермент высвобождается (ср. с уравнениями (2.182) и (2.183) в разделе 2.7). На рис. 8.19 показано изменение концентраций отдельных участников реакции во времени.

Выразим начальную скорость ферментативной реакции через концентрации фермента и субстрата. В соответствии с общей теорией формальной кинетики скорость образования продукта реакции выражается как

$$v_0 = k_2[\mathrm{ES}]. \qquad (8.12)$$

Примем, что концентрация промежуточного комплекса ES является *стационарной*, т. е. не изменяющейся во времени. Скорость *образования* комплекса равна

$$v_1 = k_1[\mathrm{E}][\mathrm{S}]. \qquad (8.13)$$

Скорость *распада* комплекса равна

$$v_2 = -k_{-1}[\mathrm{ES}] - k_2[\mathrm{ES}]. \qquad (8.14)$$

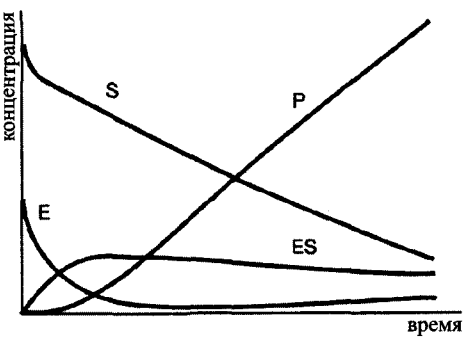


Рис. 8.19. Примерный ход изменения концентраций фермента E, субстрата S, продукта реакции P и промежуточного комплекса ES во времени в соответствии с кинетической схемой Михаэлиса–Ментен.

Ввиду допущения о стационарности общая скорость изменения концентрации комплекса равна нулю:

$$\frac{\mathrm{d}[\mathrm{ES}]}{\mathrm{d}t} = v_1 + v_2 = 0. \qquad (8.15)$$

Подставляя (8.13) и (8.14) в (8.15), получаем:

$$k_1[\mathrm{E}][\mathrm{S}] = k_{-1}[\mathrm{ES}] + k_2[\mathrm{ES}]. \qquad (8.16)$$

Общая концентрация фермента c_E равна

$$c_\mathrm{E} = [\mathrm{E}] + [\mathrm{ES}]. \qquad (8.17)$$

Подставим это соотношение в выражение (8.16):

$$k_1[\mathrm{S}](c_\mathrm{E}-[\mathrm{ES}]) = k_{-1}[\mathrm{ES}] + k_2[\mathrm{ES}]. \tag{8.18}$$

Введем величину K_M, называемую константой Михаэлиса–Ментен:

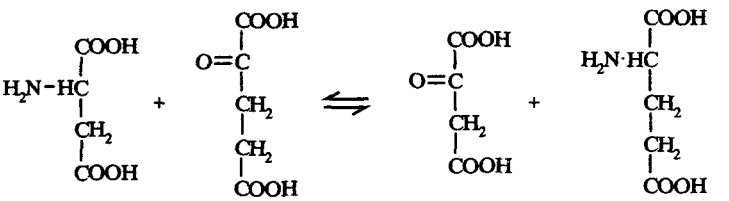
$$K_\mathrm{M} = \frac{k_{-1}+k_2}{k_1} = \frac{[\mathrm{S}](c_\mathrm{E}-[\mathrm{ES}])}{[\mathrm{ES}]}. \tag{8.19}$$

Решив уравнение (8.19) относительно [ES], получаем:

$$[\mathrm{ES}] = \frac{c_\mathrm{E}[\mathrm{S}]}{K_\mathrm{M}+[\mathrm{S}]}. \tag{8.20}$$

Отсюда начальная скорость образования продукта ферментативной реакции (см. уравнение (8.12)) равна

$$v_0 = k_2\frac{c_\mathrm{E}[\mathrm{S}]}{K_\mathrm{M}+[\mathrm{S}]}. \tag{8.21}$$



аспарагиновая кислота | α-кетоглутаровая кислота | щавелевоуксусная кислота | глутаминовая кислота

Примеры значений констант Михаэлиса–Ментен приведены в табл. 8.5. Ниже мы обсудим использование уравнения (8.21) для определения как ферментов, так и субстратов.

Таблица 8.5. Константы Михаэлиса–Ментен для некоторых аналитически важных ферментативных реакций.

Фермент	Субстрат	K_M, мМ
Каталаза	H_2O_2	25
Гексокиназа	глюкоза	0,15
Глутаматдегидрогеназа	глутамат	0,12

Определение ферментов

Если концентрация субстрата достаточно велика, $[\mathrm{S}] \gg K_M$, то уравнение (8.21) упрощается:

$$v_0 = v_\mathrm{max} = k_2 c_\mathrm{E}. \tag{8.22}$$

В этих условиях скорость реакции максимальна и зависит только от концентрации фермента, но не субстрата (упоминавшееся выше явление насыщения по субстрату). Таким образом, измерение скорости реакции можно использовать для определения концентрации фермента. Примером может служить определение фермента GOT — одного из ферментов класса трансаминаз, катализирующего

реакцию

$$\text{L-аспарагиновая кислота} + \alpha\text{-кетоглутаровая кислота} \xrightarrow{\text{GOT}} \xrightarrow{\text{GOT}} \text{щавелевоуксусная кислота} + \text{L-глутаминовая кислота}. \tag{8.23}$$

Концентрация этого фермента в сыворотке крови человека является очень важным диагностическим параметром, характеризующим протекание процессов метаболизма аминокислот.

Определение субстратов

Для определения субстратов следует использовать область концентраций $[S] \ll K_M$. В этом случае уравнение (8.21) превращается в

$$v_0 = \frac{k_2 c_E [S]}{K_M} = \frac{v_{max}}{K_M}[S] = \text{const} \cdot [S]. \tag{8.24}$$

Определение субстратов при помощи ферментативных реакций широко применяется в клиническом, производственном, экологическом анализе и других областях (табл. 8.6).

Таблица 8.6. Примеры использования ферментативных реакций для определения субстратов.

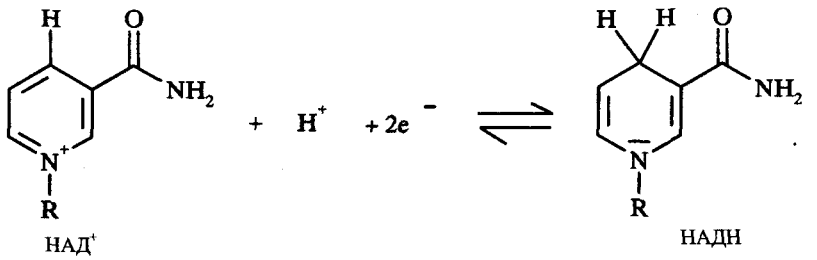
Субстрат	Ферментативная реакция	Фермент-катализатор
Медицина:		
Глюкоза	глюкоза + O_2 + H_2O $\rightleftharpoons$ $\rightleftharpoons$ D − глюконолактон + H_2O_2	глюкозооксидаза
Этанол (в крови)	этанол + НАД$^+$ $\rightleftharpoons$ $\rightleftharpoons$ ацетальдегид + НАДН	алкогольдегидрогеназа
Промышленность:		
Пенициллин	пенициллин + H_2O $\rightleftharpoons$ $\rightleftharpoons$ пенициллиновая кислота	пенициллиназа
Катехол	катехол + O_2 $\rightleftharpoons$ $\rightleftharpoons$ дикарбоновая кислота	катехол-1,2-оксигеназа
Экология:		
Фенол	фенол + O_2 $\rightleftharpoons$ $\rightleftharpoons$ о-бензохинон	полифенолоксидаза

Способы детектирования

В некоторых случаях ход протекания ферментативных реакций можно контролировать непосредственно, следя за изменением концентрации любого из ее участников. Так, для измерения скорости любой реакции с участием кислорода можно использовать кислородный датчик Кларка, а с участием иона аммония — соответствующий ионселективный электрод.

Однако значительно чаще используют химические индикаторы или дополнительные реакции, называемые индикаторными или вспомогательными. Так, для окислительно-восстановительных реакций в качестве индикатора можно использовать кофермент НАД$^+$ (рис. 8.17), поскольку УФ-спектры его окисленной

(НАД$^+$) и восстановленной (НАДН) форм заметно различаются.



НАД$^+$ НАДН (8.25)

УФ-спектры обеих форм НАД$^+$ приведены на рис. 8.20. Для фотометрического контроля наиболее удобна длина волны 340 нм.

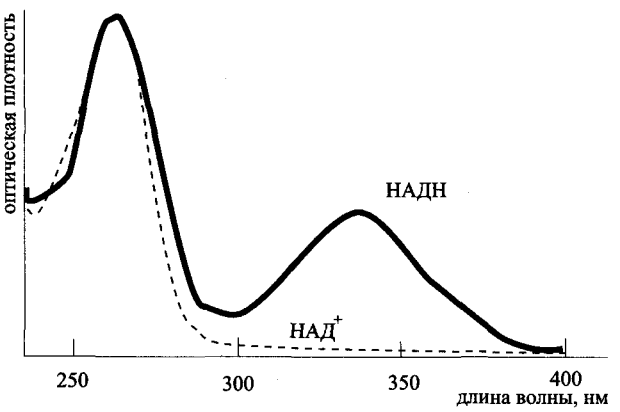
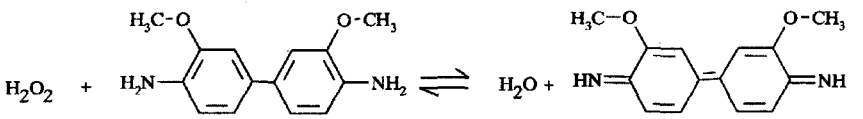


Рис. 8.20. Спектры поглощения в УФ-области водных растворов НАД$^+$ и НАДН.

Применение *индикаторных реакций* мы рассмотрим на примере определения глюкозы при помощи глюкозооксидазы (табл. 8.6). Одним из продуктов этой реакции является пероксид водорода. Введем в систему дополнительный реагент — о-дианизидин. Он бесцветен, однако в присутствии пероксида водорода превращается в окрашенный продукт вследствие реакции



восстановленная форма (бесцветная) окисленная форма (красная) (8.26)

Продукт окисления — диимин — интенсивно поглощает свет при 460 нм. Это можно использовать для фотометрического контроля протекания ферментативной реакции. Индикаторной реакции может предшествовать вспомогательная — как показано на следующей схеме.

Ферментативная реакция (основная):

$$\text{субстрат} + \text{АТФ} \overset{\text{фермент}}{\rightleftharpoons} \text{субстрат-фосфат} + \text{АДФ}.$$

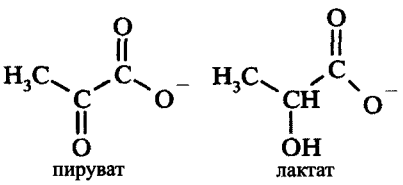
Вспомогательная реакция:

$$\text{АДФ} + \text{фосфоенолпируват} \rightleftharpoons \text{пируват} + \text{АТФ}.$$

Индикаторная реакция:

$$\text{пируват} + \text{НАДН} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{лактат} + \text{НАД}^+.$$

В этой схеме АДФ и АТФ — сокращенные обозначения аденозин-5′-дифосфата и аденозин-5′-трифосфата, соответственно (рис. 8.21). В качестве индикатора снова использован НАДН. Контроль реакции — фотометрический, по поглощению света при 340 нм (рис. 8.20).



Иммунный анализ

Еще одно направление развития биохимических методов анализа основано на использовании *иммунохимических* процессов. В основе методов иммунного анализа лежат взаимодействия антиген–антитело.

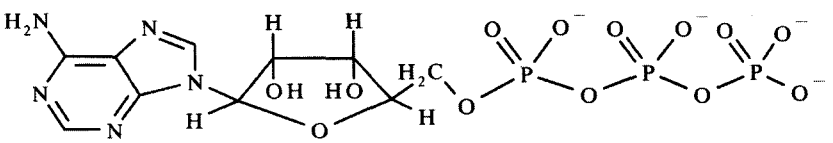
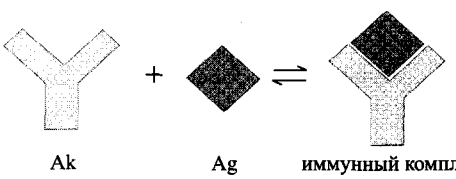


Рис. 8.21. Структурная формула аденозин-5′-трифосфата (АТФ).

При попадании в организм человека или животного чужеродного высокомолекулярного вещества природы вступает в действие иммунная система. Она вырабатывает специальное вещество, способное связать постороннее вещество и, таким образом, его обезвредить. Чужеродное вещество называется **антигеном**, а вырабатываемое иммунной системой «противоядие» — **антителом**. В результате реакции антигена (Ag) с антителом (Ak) образуется иммунный комплекс:



(8.27)

Впервые иммунные реакции в аналитической химии были использованы в 1950-е годы. для определения инсулина в плазме крови с использованием антител против инсулина.

Антитела представляют собой вещества белковой природы. Примером может служить гамма-глобулин (в форме так называемого IgG-глобулина). Антигенами, как уже упоминалось, являются высокомолекулярные вещества (например, белки, пептиды или полисахариды) с молекулярными массами свыше 1000. Принципиально возможно определять иммунохимическими методами и низкомо-

лекулярные вещества. Для этого их надо предварительно связать с каким-либо белком-носителем. Такое связанное с белком низкомолекулярное вещество называется **гаптеном**.

Основными принципами детектирования в иммунных методах анализа служат измерение люминесценции, активности фермента или радиоактивности. Мы рассмотрим две разновидности иммунного анализа — радиоиммунный анализ (РИА) и гетерогенный иммуноферментный анализ (ИФА).

Радиоиммунный анализ (РИА)

В методе радиоиммунного анализа удачно сочетаются высокая селективность реакций антиген–антитело и высокая чувствительность радиохимических методов анализа (раздел 3.6). Эти методы позволяют определять концентрации вплоть до нескольких пикограммов в миллилитре.

Радиоиммунные методы основаны на конкурирующем комплексообразовании определяемого вещества — природного антигена Ag — и синтетического меченого (радиоактивного) антигена Ag* — с антителом Ak:

$$\mathrm{Ag} + \mathrm{Ak} \rightleftharpoons \mathrm{AgAk} \qquad K = \frac{[\mathrm{AgAk}]}{[\mathrm{Ag}][\mathrm{Ak}]}, \tag{8.28}$$

$$\mathrm{Ag^*} + \mathrm{Ak} \rightleftharpoons \mathrm{Ag^*Ak} \qquad K^* = \frac{[\mathrm{Ag^*Ak}]}{[\mathrm{Ag^*}][\mathrm{Ak}]}. \tag{8.29}$$

При этом необходимо соблюдение следующих основных условий.

- Концентрации меченого антигена и антитела во всей серии измерений должны оставаться постоянными. Единственной переменной величиной является концентрация определяемого антигена.
- Меченый антиген берется в избытке по отношению к антителу. Число молекул меченого антигена должно быть больше, чем общее число мест связывания в молекулах антитела.
- Константы ассоциации определяемого и меченого антигена K и K^* должны достаточно различаться между собой. Как правило, такие константы имеют порядок величины от 10^{10} до 10^{13} л·моль$^{-1}$.

При взаимодействии с антителом смеси меченого и определяемого антигена имеют место процессы конкурентного комплексообразования (уравнения (8.28) и (8.29)). Ввиду этого концентрация меченого комплекса Ag*Ak тем выше, чем меньше концентрация Ag. Зависимость концентрации меченого комплекса от концентрации Ag имеет S-образный вид и может служить для градуировки (рис. 8.22).

Ход градуировочной зависимости, представленной на рис. 8.22, в принципе возможно рассчитать на основании закона действующих масс (см. главу 2). Однако на практике предпочитают пользоваться эмпирическими зависимостями, поскольку реальный процесс взаимодействия антиген–антитело обычно протекает сложнее, чем это представлено уравнениями (8.28) и (8.29) (за счет наличия множества различных центров связывания, образования комплексов разного состава и т. д.).

Концентрацию комплекса антитела с меченым антигеном определяют посредством измерения радиоактивности. Для этого комплекс предварительно отделяют от непрореагировавшего избытка меченого антигена. Разделение осуществляется очень легко, если антитело иммобилизовано. Обычно последовательность операций при выполнении радиоиммунного анализа выглядит следующим образом.

- Иммобилизация антитела, например, на внутренней поверхности реакционного сосуда.
- Проведение иммунной реакции с участием пробы, в которую добавлен меченый антиген.
- Отделение непрореагировавших веществ путем промывания поверхности сосуда.
- Измерение радиоактивности стенок сосуда.

Использование радиоактивной метки ^{125}I

Среди огромного множества радиоактивных изотопов наиболее подходящими радиохимическими свойствами для синтеза меченых антигенов обладают ^{32}P, ^{35}S, ^{3}H, ^{14}C, ^{57}Co и ^{125}I. Использование ^{32}P, ^{35}S и ^{3}H удобно еще и тем, что соответствующие элементы входят в состав большинства биологических веществ, определяемых радиоиммунным методом. Кроме того, они являются достаточно мягкими излучателями, и работа с ними требует соблюдения лишь относительно простых правил техники безопасности. Однако чаще всего используют изотоп ^{125}I. Он является чистым γ-излучателем, а его препараты легко доступны и могут быть получены в виде веществ со 100%-ной изотопной чистотой. Период полураспада изотопа ^{125}I достаточно велик и составляет 60 суток, а энергия его излучения относительно низкая.



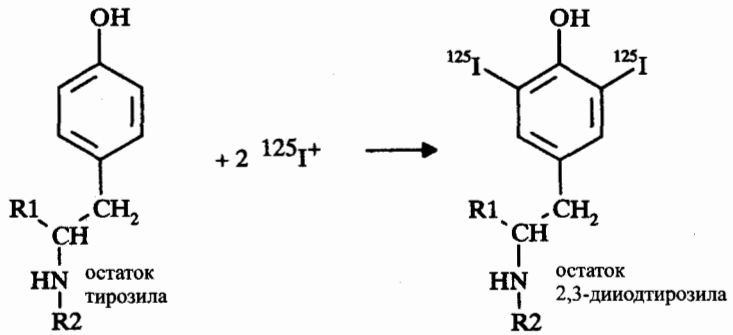
Рис. 8.22. Градуировочная зависимость для радиоиммунного метода анализа. Индикаторное вещество — меченый комплекс Ag*Ak.

При синтезе и работе с препаратами, меченными ^{125}I, следует иметь в виду ряд важных моментов.

- Если молекула определяемого вещества содержит иод, то возможен нежелательный процесс изотопного обмена между определяемым и меченым антителом. Примерами биологически активных иодсодержащих соединений могут служить гормоны щитовидной железы — тироксин и триодтиронин.
- Введение изотопной метки ^{125}I легко осуществимо, если молекула содержит остаток тирозина или гистидина (как, например, у многих белковых гормонов). В этом случае для введения метки достаточно использовать

смесь $Na^{125}I$ и окислителя, например, хлорамина Т. Реакция протекает по следующей схеме:

$$2^{125}I^- \xrightarrow{\text{хлорамин Т}} {}^{125}I_2 \rightarrow {}^{125}I^+ + {}^{125}I^-. \qquad (8.30)$$



(8.31)

- Если молекула не содержит удобных мест для введения метки ^{125}I, то метку можно ввести вместе с остатком тирозила.

Синтез иммуногенов

Как мы уже отмечали, к иммунным взаимодействиям способны лишь высокомолекулярные соединения с молекулярной массой свыше 1000. Такие вещества можно определять как антигены непосредственно. Низкомолекулярные соединения-гаптены — стероиды, триазины и др. — сами по себе не вступают в иммунохимические реакции. Для определения таких веществ их необходимо предварительно связать с белком-носителем в высокомолекулярный продукт, называемый иммуногеном:

$$\text{белок-носитель} + \text{гаптен} \rightleftharpoons \text{иммуноген}. \qquad (8.32)$$

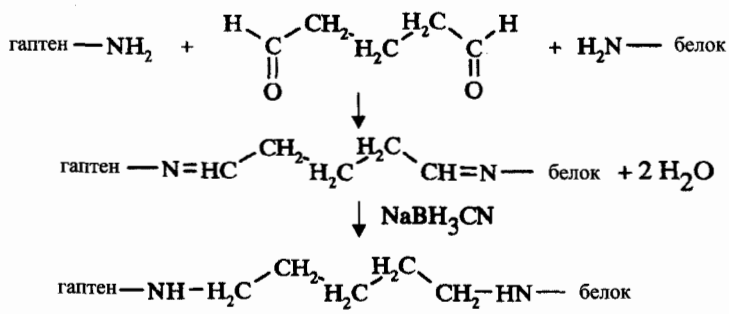


Рис. 8.23. Схема синтеза иммуногена по реакции глутарового альдегида с аминогруппами гаптена и белка.

Белком-носителем чаще всего служит человеческий или бычий альбумин. На рис. 8.23 приведен пример синтеза иммуногена посредством реакций по аминным группам. Сначала аминогруппы гаптена и белка связывают с карбонильными группами глутарового альдегида с образованием двойного шиффова основания. Затем продукт реакции восстанавливают для придания ему большей химической устойчивости.

Примеры использования радиоиммунного метода анализа для определения различных веществ приведены в табл. 8.7.

Гетерогенный иммуноферментный анализ

Использование ферментов в иммунных методах анализа позволяет осуществить более простой способ детектирования по сравнению с РИА. В методе иммуноферментного анализа (ИФА) используют антиген, меченный не радиоактивным изотопом, а ферментом.

Таблица 8.7. Примеры определения веществ иммунохимическими методами.

Определяемое вещество	Относительная молекулярная масса	Метод
Инсулин (белковый гормон)	5734	РИА
Пенициллин G	334	РИА
Морфин	285	РИА
Трипсин (белок)	24000	РИА
Атразин	179,5	ИФА
Бензол, толуол, ксилол	от 79 до 116	ИФА
Бенз[а]пирен	252	РИА

Как правило, иммуноферментный анализ проводят в гетерогенном варианте. В этом случае, как и в методе РИА, молекулы антитела иммобилизуют — часто посредством простой адсорбции на активной поверхности. В результате протекания конкурирующих реакций с участием определяемого и меченого антигена часть последнего оказывается связанной в комплекс с антителом и, таким образом, также сорбированной на поверхности. Реакционный сосуд отмывают от избытка несвязанного меченого антитела и добавляют необходимый субстрат с тем, чтобы определить содержание фермента, сорбированного на поверхности вместе с меченым антителом. Как и в других ферментативных реакциях, для определения фермента, как правило, применяют кинетический метод с фотометрическим детектированием.

Пределы обнаружения различных веществ методом гетерогенного ИФА находятся в области от наногрaммов до микрограммов в литре. Примеры практического использования этого метода приведены в табл. 8.7. Как видно из таблицы, метод позволяет определять вещества, важные как для медицины, так и с точки зрения контроля окружающей среды.

Антитела, применяемые в иммунохимических методах анализа, представляют собой, по существу, специфические реагенты на самые разнообразные вещества, создаваемые самой природой. Способность живых организмов к синтезу «аналитических реагентов» открывает возможности разработки иммунных методов определения даже таких веществ, природу которых трудно однозначно охарактеризовать с чисто химической точки зрения, например, гумусовых веществ.

8.4. Обеспечение качества результатов анализа и «Хорошая лабораторная практика»

Обеспечение качества результатов анализа

Важнейшей современной задачей аналитической химии является всестороннее обеспечение качества результатов анализа. Для этого необходимо постоянно сопоставлять между собой результаты, полученные в различных лабораториях —

в том числе и в международном масштабе. Средствами обеспечения качества результатов анализа служат также официально регламентируемые процедуры планирования и проведения анализов, обработки и хранения данных.

Все указанные средства обеспечения качества результатов анализа составляют единую систему. Понятие «качество», согласно германскому стандарту DIN 55350, определяется следующим образом:

Качество есть совокупность свойств и признаков продукта или вида деятельности, обеспечивающих его соответствие необходимым требованиям.

Соответственно, *обеспечение качества* — это совокупность всех мероприятий, призванных гарантировать соответствие продукта или вида деятельности необходимым требованиям. В нее входят системы управления качеством, планирования качества и испытания качества.

Несоответствие продукта необходимым требованиям, влияющие на его потребительские свойства, называется *дефектом*. В химическом анализе, где «продуктом» служат результаты анализа, типичными примерами такого несоответствия могут быть случайные или систематические погрешности, ложные выводы относительно наличия либо отсутствия вещества в объекте и, наконец, невозможность получения каких-либо осмысленных результатов как таковых.

Для контроля методики анализа на предмет возможных погрешностей и дефектов необходимо в первую очередь отработать ее отдельные стадии и строго прописать все процедуры их выполнения. Затем методику необходимо проверить в целом, произвести ее *валидацию*, и определить все ее важнейшие аналитические характеристики. Для внедрения методики в повсеместную и повседневную практику необходим еще целый ряд мер по контролю качества результатов, которые мы подробнее обсудим ниже.

Проверка методики анализа

Главная задача проверки (валидации) методики анализа — удостовериться в том, что она дает результаты, достаточно надежные и воспроизводимые для предполагаемой области применения.

При использовании относительных методов анализа первым этапом анализа является *градуировка*. В ее основе лежит использование образцов сравнения — стандартных растворов или твердых стандартов. Градуировочную функцию устанавливают при помощи линейного регрессионного анализа (разделы 1.3, 6.3).

Воспроизводимость методики характеризуют при помощи стандартного отклонения (уравнение (1.8)). Другими важнейшими характеристиками методики служат *предел обнаружения* (уравнения (1.14), (1.15)) и *рабочий диапазон* (раздел 1.3).

Для проверки методики на наличие систематических погрешностей, обусловленных причинами методического характера или влиянием матрицы, используют *процентную меру правильности* (уравнение (1.11)) как характеристику правильности отдельных результатов, и *функцию правильности* как характеристику методики в целом.

Функция правильности описывает связь между найденными $x_{\text{найд}}$ и истинными $x_{\text{ист}}$ значениями содержания определяемого компонента в виде линейной

зависимости

$$x_{\text{найд}} = a_0 + a_1 x_{\text{ист}}. \tag{8.33}$$

Под «истинным» значением понимается содержание вещества, установленное с наивысшей возможной точностью. В идеальном случае значения коэффициентов в уравнении (8.33) должны составлять

$$a_0 = 0 \qquad \text{и} \qquad a_1 = 1. \tag{8.34}$$

В действительности, конечно, они могут быть равны этим величинам лишь приближенно. Для проверки значимости отличия величин коэффициентов регрессии от «идеальных» значений рассчитывают доверительные интервалы

$$\Delta a_0 = a_0 \pm t(P, f) s_{a_0}, \tag{8.35}$$

$$\Delta a_1 = a_1 \pm t(P, f) s_{a_1}, \tag{8.36}$$

где t — коэффициент Стьюдента (см. табл. 6.4);
P — доверительная вероятность;
f — число степеней свободы;
s_{a_0}, s_{a_1} — стандартные отклонения a_0 и a_1, соответственно.

Стандартные отклонения параметров a_0 и a_1 рассчитывают по уравнениям (6.26) и (6.27) (раздел 6.3). Если доверительный интервал Δa_0 при заданной доверительной вероятности P не включает в себя значение 0, то это свидетельствует о наличии постоянной систематической погрешности. Аналогично, если доверительный интервал Δa_1 не включает в себя значение 1, то это говорит о наличии пропорциональной систематической погрешности.

В заключение следует проверить *устойчивость* (робастность) методики анализа. Цель такой проверки — убедиться, что на качество результатов анализа не влияют незначительные отклонения от точно прописанной процедуры.

Наиболее надежный способ проверки устойчивости методики — круговые межлабораторные испытания, осуществляемые в процессе внешнего контроля качества. Внутри лаборатории можно проверить методику на устойчивость, изменяя в определенных пределах характер выполнения процедур и параметры эксперимента.

Полностью отработанную и проверенную методику можно использовать в повсеместной аналитической практике, а также для контроля качества. Весь ход выполнения такой методики должен быть точно и строго описан согласно *стандартной форме*. Необходимо указать область применения методики и ее аналитические характеристики — показатели качества результатов.

Внутренний контроль качества

Внутрилабораторный контроль качества результатов осуществляется путем анализа *контрольных проб*. К ним относятся:

- стандартные растворы;
- холостые пробы;
- искусственные пробы;
- реальные пробы;
- аттестованные стандартные образцы (см. раздел 1.3).

Каждую контрольную пробу анализируют несколько раз.

Удобным средством текущего контроля качества результатов анализа служат *контрольные карты*. Их используют и на производстве — для непрерывного контроля качества продукции или параметров технологического процесса. Общий вид контрольной карты приведен на рис. 8.24.

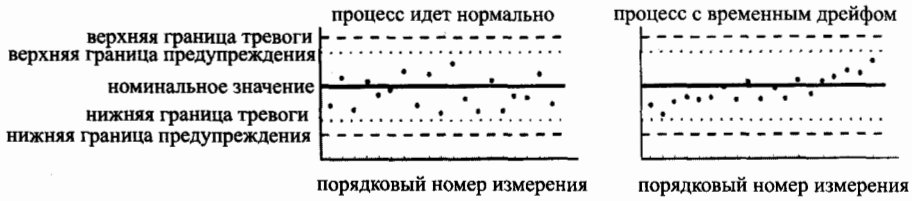


Рис. 8.24. Контрольные карты, отображающие изменение контролируемого параметра во времени.

Таблица 8.8. Параметры, используемые для контроля качества при помощи контрольных карт. Обозначения: N — число серий данных, n_i — число параллельных результатов в i-й серии, n — общее число данных, x_i — результат единичного измерения, s_i — стандартное отклонение для i-й серии, t — коэффициент Стьюдента, P — доверительная вероятность, $\alpha = 1 - P$ — уровень значимости, f — число степеней свободы, $\bar{x}$ — среднее значение, s_m — среднее стандартное отклонение, $\bar{R}$ — средний размах.

	Вычисление	Нижняя граница	Верхняя граница
$\bar{x}$	$\bar{x} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} x_i$	$\bar{x} - t(P,f)\frac{s}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} + t(P,f)\frac{s}{\sqrt{n}}$
s_m	$s_m = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N}(n_i-1)s_i^2}{\sum_{i=1}^{N}(n_i-1)}}$	$s_m\sqrt{\frac{1}{n-1}\chi^2\left(n-1,\frac{\alpha}{2}\right)}$	$s_m\sqrt{\frac{1}{n-1}\chi^2\left(n-1,1-\frac{\alpha}{2}\right)}$
$\bar{R}$	$\bar{R} = \frac{\sum_{i=1}^{N}(x_{i,\max}-x_{i,\min})}{N}$	$D_{\text{н}}\bar{R}$	$D_{\text{в}}\bar{R}$

Точки на контрольной карте отображают значения контролируемого параметра, измеренные через определенные интервалы времени. Контролируемыми параметрами могут быть результаты единичных измерений, средние значения, медианы, величины сигнала контрольного (холостого) опыта, стандартные отклонения, величины размахов в сериях измерений, значения процентной меры правильности. Положение средней горизонтальной прямой соответствует номинальному значению параметра. Сверху и снизу от средней линии проведены еще по две горизонтальные прямые — верхние и нижние границы предупреждения и тревоги (пунктирные и штриховые линии рис. 8.24, соответственно). Их положение определяется природой контролируемого параметра и рассчитывается методами математической статистики (табл. 8.8). Так, если контролируется среднее значение измеряемой величины, то положения границ рассчитывают при помощи t-коэффициентов Стьюдента. В случае стандартных отклонений используют коэффициенты χ^2-распределения (имеются в большинстве сборников статистических таблиц). Свои статистические коэффициенты — так называемые D-ко-

эффициенты — используют для величин размахов серий данных (разностей между наибольшим $x_{i,max}$ и наименьшим $x_{i,min}$ значением серии). D-коэффициенты для расчета верхней $D_в$ и нижней $D_н$ границ при доверительных вероятностях $P = 95$ и 99% приведены в табл. 8.9.

Таблица 8.9. D-коэффициенты для расчета верхней ($D_в$) и нижней ($D_н$) границ для величины размаха.

	$P = 95\%$ ($\alpha = 5\%$)		$P = 99\%$ ($\alpha = 1\%$)	
n	$D_н$	$D_в$	$D_н$	$D_в$
2	0,039	2,809	0,008	3,518
3	0,179	2,176	0,080	3,518
4	0,289	1,935	0,166	2,614
5	0,365	1,804	0,239	2,280
6	0,421	1,721	0,296	2,100
7	0,462	1,662	0,341	1,986
8	0,495	1,617	0,378	1,906
9	0,522	1,583	0,408	1,846
10	0,544	1,555	0,434	1,798

Значение $P = 95\%$ используют для расчета положений границ предупреждения, а $P = 99\%$ — границ тревоги. Однократное попадание точки вне диапазона границ предупреждения означает необходимость усиления контроля за протеканием процесса. При попадании же точки вне диапазона границ тревоги необходимо немедленное вмешательство: это означает, что процесс вышел из-под контроля.

Детальному описанию системы внутреннего контроля качества посвящены специальные руководства. В них содержатся описания всех необходимых стандартных рабочих процедур и средств контроля, а также сведения об организационных структурах для контроля качества и сферах их компетенции.

Внешний контроль качества

Круговые межлабораторные испытания

Важнейшим средством проверки достоверности результатов химического анализа служат межлабораторные испытания. Их задачами являются:

- стандартизация методик анализа;
- контроль лабораторных результатов анализа;
- аттестация стандартных образцов.

В соответствии с германским стандартом DIN 38402 в межлабораторных испытаниях должны участвовать не менее 8 (а лучше — более 15) лабораторий. В каждой лаборатории выполняют по 4 параллельных анализа одного и того же образца. Внутрилабораторные воспроизводимости результатов характеризуют при помощи величин стандартных отклонений (уравнение (1.6)). Для оценки правильности результатов используют процентную меру правильности (уравнение (1.11)). При этом, если истинное значение неизвестно с требуемой точностью, вместо него используют общее среднее значение для всех лабораторий.

Обеспечение единства результатов измерения химических величин (прослеживаемость)

Необходимо, чтобы результаты химических анализов можно было непосредственно сравнивать между собой подобно результатам измерения физических величин. Возможность сопоставления результатов физических измерений обеспечивается наличием единой системы единиц измерения: длину измеряют в метрах, массу — в килограммах и т. д.

Возможность установить связь между результатами химических измерений по отношению к основной единице измерения количества вещества — молю — называется прослеживаемостью. Основным средством прослеживаемости химических измерений служат аттестованные стандартные образцы, состав которых точно известен. Главная проблема, возникающая при обеспечении единства химических измерений, заключается в ограниченной селективности методик химического анализа. В то время, как при измерении, например, массы не возникает принципиальных трудностей, измерение содержания веществ в матрицах сложного состава (таких, как плазма крови) далеко не всегда приводит к достоверным результатам. Таким образом, проверка (валидация) результатов химических измерений представляет собой значительно более трудную задачу, чем проверка результатов измерения физических величин.

Аккредитация аналитических лабораторий

Процедура официального подтверждения соответствия аналитической лаборатории необходимым требованиям качества называется *аккредитацией*. Уровень компетентности лаборатории в выполнении анализов в определенной области проверяют независимые службы, которые в разных странах организованы поразному. Во многих странах существует централизованная система аккредитации лабораторий. В Германии единая служба аккредитации отсутствует.

Совет Европы предпринимает усилия по унификации национальных систем аккредитации. Разработаны единые критерии качества работы лабораторий, необходимые требования для их аккредитации и сертификации. Соответствующие нормативные документы составляют серию европейских стандартов EN 45000 (табл. 8.10). Ими должны руководствоваться все службы, проводящие аккредитацию.

Таблица 8.10. Европейские стандарты серии EN 45000, касающиеся аккредитации химико-аналитических лабораторий.

Европейский стандарт	Содержание
EN 45001	общие критерии деятельности аналитических лабораторий
EN 45002	общие критерии аттестации аналитических лабораторий
EN 45003	общие критерии для органов по аккредитации лабораторий
EN 45011	общие критерии для органов по аттестации продукции
EN 45012	общие критерии для органов по аттестации систем качества

Основы «Хорошей лабораторной практики» (GLP)

В течение более чем 20 лет действует система нормативов, известная как «Хорошая лабораторная практика» (GLP — англ. **G**ood **L**aboratory **P**ractice, нем. **G**ute **L**aborpr**a**xis). Первоначально она была разработана и введена в действие американским Управлением пищевой и медицинской промышленности (FDA) применительно к производствам, использующим токсичные вещества, с целью устранить имевшиеся несоответствия в нормативной документации. Нормы GLP стали обязательными для всех компаний в США, а впоследствии — и в странах, экспортирующих в США свою продукцию. Затем усилиями Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) эти нормы стали распространяться в международном масштабе. В частности, в Германии требования GLP являются обязательными при разработке любых новых видов химической продукции.

Главная задача GLP — обеспечить возможность полного прослеживания и восстановления всего хода исследования. Контроль качества призваны осуществлять специальные органы, периодически инспектирующие лаборатории на предмет соблюдения нормативов GLP.

GLP устанавливает очень строгие требования к ведению и хранению документации — значительно более жесткие, чем европейские стандарты серии EN 45000. Сферы применения норм GLP устанавливаются законодательно. В первую очередь это относится к разработке новых химических веществ, получению и использованию токсичных веществ и к здравоохранению.

8.5. Литература

Раздел 8.1

H. Hein, W. Kunze, Umweltanalytik mit Spektrometrie und Chromatographie, VCH, Weinheim, 1994.

I. L. Marr, M. S. Cresser, L. J. Ottendorfer, Umweltanalytik — Eine allgemeine Einführung, Thieme, Stuttgart, 1988.

Раздел 8.2

M. Grasserbauer, H. J. Dudek, M. Ebel, Angewandte Oberflächenanalyse mit SIMS Sekundär-Ionen-Massenspektrometrie, Springer, Berlin, 1985.

Раздел 8.3

H. U. Bergmayer (Hrsg.), Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Auflage, VCH, Weinheim, 1974.

E. Knoll, Radioimmunoassay, in: Analytiker-Taschenbuch, Bd. 8, S.93, Akademie-Verlag, Berlin, 1989.

Раздел 8.4

W. Funk, V. Dammann, G. Donnevert, Qualitätssicherung in der analytischen chemie, VCH, Weinheim, 1992.

H. Günzler (Hrsg.), Akkreditierung und Qualitätssicherung in der analytischen Chemie, Springer, Berlin, 1994.

ГЛАВА 9

ПОСЛЕДНИЕ ДОСТИЖЕНИЯ В РАЗВИТИИ МЕТОДОВ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Журнал «Analytical Chemistry» (http://pubs.acs.org/journals/ancham/index.html), издаваемый Американским химическим обществом (American Chemical Society), один из своих номеров (№ 12) раз в два года целиком посвящает фундаментальным обзорам новейших достижений в области аналитической химии. Такие обзоры дают достаточно адекватное представление о современном состоянии аналитической химии, тех ее областях и методах, в которых достигнут (или ожидается) наиболее существенный прорыв. Предлагаем Вашему вниманию краткий «обзор обзоров», опубликованных в № 12 журнала «Analytical Chemistry» за 2000 и 2002 г. Мы включили в него лишь наиболее значимые темы — те методы, которые упоминаются в обоих этих номерах. Оценки и выводы отражают точку зрения авторов соответствующих обзорных статей.

9.1. Плоскостная хроматография

Хроматография, в настоящее время являясь самым распространенным и наиболее часто используемым методом химического анализа, продолжает интенсивно развиваться. Одним из хроматографических методов, в которых в последние годы отмечен существенный прогресс, является плоскостная, в первую очередь, тонкослойная, хроматография (ТСХ).

Тонкослойная хроматография — уникальный хроматографический метод, сочетающий в себе множество разных качеств и возможностей. С одной стороны, это предельно простой, дешевый и производительный метод обзорного качественного анализа сложных смесей. С другой стороны, ТСХ в ее современном воплощении стала высокоэффективным методом количественного анализа. Роль ТСХ становится особенно важной в связи с бурным развитием идеологии массового параллельного синтеза органических веществ (в первую очередь — новых лекарственных препаратов), известной как «комбинаторная химия». Результатом комбинаторного синтеза является сложная смесь близко родственных по своей структуре веществ, для экспресс-анализа которой метод ТСХ, в настоящее время позволяющий разделять до нескольких десятков компонентов, является едва ли не оптимальным. Комбинаторный синтез часто проводят на частицах твердого носителя. В последнее время отмечены удачные попытки проведения такого синтеза непосредственно на частицах носителя, закрепленного на хроматографической пластине. При этом для ускорения реакции вместо традиционного нагревания использован метод нетермического, микроволнового, воздей-

ствия. Таким образом, пластина для ТСХ становится одновременно инструментом и для синтеза веществ, и для их разделения.

Для количественного анализа методом ТСХ в настоящее время широко используются различные устройства, обеспечивающие принудительное равномерное движение подвижной фазы за счет гидродинамических сил или электроосмотического потока. Начато использование в ТСХ градиентного элюирования — инструмента, традиционного для колоночной хроматографии, который позволяет как повысить эффективность разделения, так и сократить время анализа. Применение градиентного элюирования позволяет анализировать методом ТСХ смеси, состоящие из 30–40 компонентов.

Отмечен прогресс в области создания новых подвижных и неподвижных фаз для ТСХ, оптимизации их состава (для этого широко используются методы математического планирования эксперимента). Круг неподвижных фаз для ТСХ, долгое время сводившийся почти исключительно к тем или иным разновидностям силикагеля или оксида алюминия, в настоящее время стал почти столь же широким, как и круг неподвижных фаз для колоночной хроматографии. В частности, он включает в себя химически модифицированные кремнеземы — гидрофобизированные (для обращенно-фазовой ТСХ), с разнообразными функциональными группами, в том числе хиральными.

Развиваются и способы детектирования в ТСХ. Наряду с традиционными фотометрическим (в отраженном или проходящем свете) и флуориметрическим методами возрастающую роль начинают играть масс-спектрометрические методы детектирования — главным образом с лазерной десорбцией–ионизацией (MALDI). Для фотометрического детектирования все больше используется сканирующая лазерная денситометрия, в том числе с применением оптоволоконной техники.

Основными сферами применения ТСХ являются анализ лекарственных препаратов, реакционных смесей органического синтеза и биологических образцов. Важным достоинством ТСХ по сравнению со значительно более дорогостоящей колоночной хроматографией является возможность анализа загрязненных проб и, таким образом, резкое упрощение пробоподготовки при анализе реальных, в первую очередь природных, объектов.

9.2. Сверхкритическая флюидная хроматография

В настоящее время сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ) находится на том этапе своего развития, когда роль фундаментальных исследований уже снижается, а роль практического применения — резко возрастает. Наибольший рост использования СФХ отмечен в области анализа лекарственных средств и полупродуктов их синтеза (методами комбинаторной химии). В сумме методами СФХ и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в настоящее время выполняется около $^3/_4$ всех анализов такого рода объектов. При этом обращенно-фазовая ВЭЖХ и СФХ удачно дополняют друг друга. Механизм удерживания в СФХ близок к механизму удерживания

в нормально-фазовой ВЭЖХ. Поэтому метод СФХ очень удобен для определения относительно неполярных органических веществ, традиционно определяемых нормально-фазовой ВЭЖХ (для определения полярных веществ основным методом по-прежнему остается обращенно-фазовая ВЭЖХ). В то же время аппаратура для СФХ значительно дешевле, чем для ВЭЖХ, а время анализа — существенно меньше. Кроме того, процесс разделения в методе СФХ гораздо менее чувствителен к наличию в подвижной и неподвижной фазах следов воды, чем в методе нормально-фазовой ВЭЖХ, поэтому результаты получаются значительно более воспроизводимыми. Все это вместе взятое позволяет предполагать, что уже в ближайшем будущем СФХ станет едва ли не основным методом решения тех аналитических задач, которые традиционно решаются при помощи нормально-фазовой ВЭЖХ. Одна из важнейших задач такого рода — разделение и определение оптических изомеров, имеющая большое значение для анализа и контроля чистоты лекарственных препаратов и других физиологически активных веществ.

К сверхкритической флюидной хроматографии тесно примыкают новые направления ВЭЖХ, получившие развитие в последние годы, — ВЭЖХ при сверхвысоких температурах и давлениях. В основе тех и других методов лежит весьма сходная идеология, основанная на использовании температуры и давления как одного из основных средств оптимизации процесса разделения, а также уменьшении вязкости подвижной фазы для увеличения скорости ее потока и сокращения времени анализа. Для обобщенного наименования СФХ и ВЭЖХ при сверхвысоких температурах и давлениях предложен английский термин «unified chromatography».

Использование сверхвысоких температур открывает в ВЭЖХ совершенно новые возможности. Так, смесь алкилфенолов при сверхвысоких температурах удалось разделить в 50 раз быстрее, чем в традиционном варианте ВЭЖХ. Намечаются большие перспективы использования в качестве подвижной фазы перегретой (до 190°C) воды вместо обычных для обращенно-фазовой ВЭЖХ водно-органических смесей. Исключение органического растворителя из состава подвижной фазы позволяет, в частности, широко использовать для детектирования метод ЯМР ^{1}H. Для этого достаточно применять в качестве подвижной фазы относительно дешевую тяжелую воду D_2O, не дающую собственного сигнала ЯМР, в то время как в традиционной ВЭЖХ ее необходимо было бы использовать в смеси с чрезвычайно дорогими дейтерированными органическими растворителями.

Основными компонентами, определяемыми при помощи СФХ, как уже отмечалось, являются относительно неполярные органические вещества. Это липиды, жирорастворимые витамины, алкалоиды и терпеноиды растительного происхождения, металлоорганические соединения, компоненты горюче-смазочных материалов, многие лекарственные препараты, продукты комбинаторного синтеза.

9.3. Жидкостная хроматография

В традиционной высокоэффективной жидкостной колоночной хроматографии наибольший прогресс отмечается, главным образом, в сфере аналитического

оборудования. Основными тенденциями здесь являются миниатюризация, сокращение времени анализа, ориентация на биологические приложения (в том числе уже неоднократно упоминавшуюся здесь комбинаторную химию), повышение производительности анализа. Все шире используются микроколонки, позволяющие оперировать с объемами пробы менее 1 мкл. Для их изготовления применяют технологии, аналогичные технологиям производства микрочипов.

Одно из важных направлений совершенствования жидкостной колоночной хроматографии — развитие дву- и многомерных методов, давно используемых в плоскостном (тонкослойном) варианте. Суть двумерной ТСХ состоит в том, что хроматографическую пластинку после элюирования поворачивают на 90° и повторно элюируют в перпендикулярном направлении с использованием другой подвижной фазы. При этом могут разделиться компоненты, не разделившиеся на первой стадии процесса.

В колоночной хроматографии реализация подобного приема сопряжена со значительными техническими проблемами, поэтому двумерная колоночная хроматография появилась значительно позже тонкослойной и только сейчас, по существу, начинает активно развиваться. Для осуществления двумерной колоночной хроматографии используют две последовательно соединенные колонки, различающиеся природой неподвижной фазы (например, одна — нормальная, другая — обращенная). При этом режимы хроматографирования устанавливают таким образом, чтобы время разделения на второй колонке было значительно меньше, чем на первой. Между колонками находится промежуточный детектор и устройство переключения потока, позволяющее сразу же при появлении на выходе из первой колонки очередного пика направлять поток элюата на вторую колонку. Преимущества двумерной хроматографии перед одномерной — резкое возрастание максимально возможного числа разрешенных пиков (если для первой колонки это число равно n_1, а для второй — n_2, то в двумерном варианте теоретический предел составляет $n_1 n_2$ разрешенных пиков). Применение двумерной жидкостной хроматографии (в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием, предоставляющим дополнительные возможности раздельной регистрации компонентов сложных смесей) позволило обнаружить в продуктах частичного ферментативного разложения цитозольных белков дрожжей более 100 000 различных полипептидов в диапазоне концентраций, различающихся на три порядка.

Еще одно направление развития жидкостной колоночной хроматографии — использование электрокинетических сил для осуществления потока подвижной фазы (электрокапиллярная хроматография). При этом достигается удачное сочетание высокой селективности хроматографических методов с высокой эффективностью и большими возможностями в плане миниатюризации, присущими капиллярному электрофорезу.

Ведутся исследования по созданию и применению в жидкостной хроматографии неподвижных фаз совершенно новых типов. К ним относятся неподвижные фазы на основе полимерных матриц с молекулярными отпечатками (специально синтезируемых материалов с порами, размеры, форма и строение которых являются оптимальными для сорбции тех или иных веществ или классов веществ), а также неподвижные фазы с перестраиваемыми свойствами. Примером последних

могут служить электропроводящие полимеры, свойства которых (в том числе хроматографические) можно плавно изменять, регулируя значение приложенного к ним электрического потенциала.

9.4. Газовая хроматография

Газовая хроматография давно уже стала рутинным, повсеместно применяемым методом анализа. Вполне естественно, что большинство публикаций последнего времени в этой области посвящено не разработке основ метода, а его применению для решения конкретных практических задач. Среди фундаментальных работ можно отметить резко возросшее число статей по многомерной газовой хроматографии, технически реализуемой так же, как и многомерная жидкостная хроматография. Большие усилия направлены на сокращение времени анализа. Разумеется, оборотной стороной сокращения времени хроматографического анализа является уменьшение эффективности разделения (наиболее «быстрые» современные хроматографы могут разрешить лишь порядка 10 пиков), однако существует большой круг практических задач, в первую очередь экологических, для которых решающей аналитической характеристикой является именно время анализа. Помимо традиционных приемов, используемых для ускорения хроматографического анализа (уменьшение размеров колонки, увеличение скорости потока подвижной фазы — газа-носителя) в последнее время стали использовать и такое средство, как высокоскоростной режим программирования температуры (до 250°C/с). В некоторых случаях это позволило дополнительно сократить время анализа на порядок.

К задаче создания высокоскоростных газовых хроматографов тесно примыкает задача создания небольших портативных газовых хроматографов, пригодных, в том числе, для работы в полевых условиях (обе проблемы часто решаются сходными техническими средствами). В этом отношении перспективным представляется отказ от применения специальных газов-носителей, хранимых и транспортируемых в баллонах под высоким давлением, и использование взамен атмосферного воздуха при атмосферном давлении. Поток подвижной фазы в этом случае осуществляется при помощи вакуумного насоса, устанавливаемого на выходе из колонки.

9.5. Атомная спектроскопия

Среди различных методов атомно-спектроскопического (и шире, элементного) анализа наибольший прогресс отмечен в области атомно-эмиссионной спектроскопии и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП МС).

В атомно-эмиссионной спектроскопии наблюдается тенденция к возрастанию роли тлеющего разряда как источника атомизации (особенно при анализе проводящих материалов). Важное значение тлеющего разряда заключается в возможности его использования для проведения распределительного (послойного) анализа материалов. Достигнутые к настоящему времени разрешение по глубине и

чувствительность уже вполне сравнимы с характеристиками метода масс-спектрометрии вторичных ионов, традиционно используемого для решения подобных задач. Снизив мощность тлеющего разряда, можно осуществить испарение образца без его атомизации и, следовательно, использовать тлеющий разряд в молекулярном масс-спектрометрическом анализе. Таким образом, тлеющий разряд является перестраиваемым источником «двойного назначения», пригодным для использования как в атомном, так и в молекулярном анализе. Для локального пробоотбора и атомизации широко используются и лазеры (способ лазерной абляции). При этом в атомно-абсорбционной спектроскопии лазер может служить и источником внешнего излучения.

Другая важная тенденция — разработка и применение так называемых «тандемных источников», в которых функции атомизации пробы и возбуждения (в атомно-эмиссионной спектроскопии) или ионизации атомов (в масс-спектрометрии), обычно сочетаемые в одном устройстве, распределены между разными узлами прибора. Примером может служить объединение тлеющего разряда, используемого в качестве атомизатора, и микроволновой плазмы для возбуждения или ионизации полученных атомов. Такое разделение функций позволяет использовать режим работы каждого узла прибора, оптимальный для решения именно данной задачи, и в конечном счете приводит к заметному увеличению чувствительности, а во многих случаях — и селективности определения.

В масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, ставшей к настоящему времени основным видом элементного масс-спектрометрического анализа, отмечаются разнообразные усовершенствования аппаратуры, в первую очередь — масс-анализаторов. Наряду с традиционными квадрупольными анализаторами все шире используются быстродействующие времяпролетные, а также различные варианты многоканальных анализаторов. Применение многоканального способа регистрации, позволяющего одновременно в одинаковых условиях регистрировать ионные токи нескольких ионов, резко увеличивает точность результатов при использовании способа внутреннего стандарта, а также позволяет с высокой точностью измерить соотношение концентраций изотопов одного и того же элемента (изотопное отношение). Последнее особенно важно для многих геологических (в первую очередь — геохронологических) исследований. Еще один сравнительно новый для ИСП МС тип масс-анализаторов — секторные магнитные анализаторы, используемые обычно в молекулярной масс-спектрометрии. Они характеризуются высоким разрешением (описано использование в ИСП МС анализаторов с разрешением до 8000) и позволяют разделить изобарические ионные пики — пики, принадлежащие изотопам различных элементов с приблизительно одинаковой (с точностью до целого числа атомных единиц) массой. Наличие таких изотопов может сильно осложнить определение содержания отдельных элементов при использовании масс-анализаторов низкого разрешения.

Возрастает число работ, посвященных применению в элементной масс-спектрометрии буферных газов и газов-реагентов — обычно водорода или гелия. Для этого используют специальное устройство, — так называемую реакционную камеру, помещаемую между источником ионизации и масс-анализатором. При этом значительно уменьшаются интенсивности сигналов фона, формируемых самой аргоновой плазмой (ионов Ar^+, ArO^+, Ar_2^+ и др.) и, соответственно,

снижаются пределы обнаружения элементов. Этот прием до некоторой степени аналогичен химической ионизации, широко используемой в молекулярном масс-спектрометрическом анализе (хотя там он решает совсем другие задачи).

9.6. Оптоволоконные химические сенсоры и биосенсоры

В настоящее время широко применяются оптические химические и биохимические сенсоры всех трех поколений: первого, основанные на простом измерении какого-либо оптического свойства объекта, второго (индикаторные), использующие предварительное проведение химической реакции с иммобилизованным реагентом-индикатором, и третьего, в основе действия которых лежат новые физические явления, обычно не используемые в химическом анализе в отрыве от сенсоров.

Важнейшим элементом оптического сенсора любого типа, во многом определяющим его возможности, является оптоволоконный кабель–световод. Наряду с традиционными, прозрачными в видимой и (частично) ближней ИК-области, в последнее время начинают все шире применяться световоды для средней ИК-области на основе новых оптических материалов — халькогенидных и других неоксидных стекол. Используются и пучки световодов — для решения двух основных задач: получения оптических образов объектов и преодоления одного из основных недостатков оптических сенсоров — малой селективности. По-видимому, создание индивидуальных химических оптических сенсоров высокой селективности является слишком трудной задачей, которая вряд ли будет решена в ближайшее время. Альтернативой может быть использование массива малоселективных сенсоров с последующей обработкой данных известными хемометрическим методами многокомпонентного анализа.

В отличие от химических, биохимические сенсоры часто обладают исключительно высокой селективностью, обусловленной природой лежащих в основе их действия ферментативных и иммунохимических реакций. В качестве чувствительных элементов таких сенсоров сейчас используются не только иммобилизованные ферменты и антитела, но и цельные клетки микроорганизмов, например, сине-зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* для определения гербицидов (по их воздействию на процесс фотосинтеза). Предел обнаружения таких сенсоров составляет 0,1 мкг индивидуального пестицида в 1 л, что соответствует требованиям ЕС.

Исходно при использовании оптических биосенсоров чаще всего применяли люминесцентный (фото- или хемилюминесцентный) метод детектирования. Однако его использование, как правило, требует предварительного введения люминесцентной метки в молекулы вещества, используемого в чувствительном элементе сенсора. Это далеко не всегда является простой задачей. В настоящее время все большую популярность завоевывает новый метод детектирования, основанный на использовании поверхностного плазмонного резонанса. Поверхностный плазмонный резонанс — оптическое явление, имеющее квантовомеханическую природу. Оно заключается в том, что при облучении зеркальной поверхности проводника (обычно металла) лучом света под строго определенным углом

интенсивность отраженного света резко падает вследствие резонансного поглощения света электронами проводимости приповерхностного слоя проводника. Угол падения светового луча, при котором наблюдается поверхностный плазмонный резонанс, сильно зависит от показателя преломления среды, прилегающей к поверхности металла. Поэтому измерение угла поверхностного плазмонного резонанса можно рассматривать как своеобразный вариант весьма прецизионной рефрактометрии (возможно зафиксировать изменение показателя преломления на 10^{-6}–10^{-5} единиц). Сочетание высокой селективности, характерной для биохимических реакций, с универсальностью, присущей рефрактометрическому способу детектирования, делает биосенсоры на основе поверхностного плазмонного резонанса очень перспективным средством экспресс-контроля биологически активных веществ.

9.7. Твердофазная спектроскопия ЯМР

Традиционными объектами исследования в спектроскопии ЯМР являются жидкости и растворы. Однако в последнее время существует устойчивый интерес к применению этого метода для анализа твердых тел. Особенности спектроскопии ЯМР твердых тел обусловлены наличием в твердых телах сильных диполь–дипольных взаимодействий, приводящих к значительному уширению спектральных линий. Для получения спектров ЯМР твердых тел высокого разрешения (с почти столь же узкими линиями, как для жидкостей) применяют специальные приемы, в первую очередь — очень быстрое вращение образца под строго определенным, называемым магическим, углом к вектору напряженности внешнего магнитного поля.

Твердофазная спектроскопия ЯМР используется как метод исследования структуры твердых тел — в первую очередь с нечетко выраженной кристаллической структурой, к которым неприменимы традиционные методы рентгеноструктурного анализа. Важнейшими объектами исследования являются цеолиты и катализаторы на их основе (метод используется с целью изучения как структуры самих цеолитов, так и физико-химического состояния сорбированных на них веществ) и синтетические полимеры (изучение процессов старения, модификации). Отмечен рост числа публикаций по использованию этого метода для изучения природных полимеров биологического происхождения, в том числе гумусовых веществ. Надо сказать, что спектры ЯМР полимеров, как правило, отличаются чрезвычайной сложностью, затрудняющей их интерпретацию.

9.8. Рентгеновская спектроскопия

Использование явления полного отражения произвело настоящую революцию в методах рентгеновской спектроскопии, повысив их чувствительность на много порядков. Сейчас рентгенофлуоресцентная спектроскопия с полным отражением становится повседневным методом определения следов элементов в жидких образцах и анализа приповерхностных слоев твердых тел. В последние годы разработан родственный метод, называемый малоугловой рентгеновской спектро-

скопией (англ. grazing-exit X-ray spectrometry), обладающий, по-видимому, значительными потенциальными возможностями.

Дальнейшее развитие этого метода во многом будет определяться успехами в разработке новых детекторов рентгеновского излучения. В настоящее время все большее значение приобретает энергодисперсионный способ регистрации рентгеновского излучения. Для этого необходимы детекторы с большим разрешением и высоким квантовым выходом — особенно при определении легких элементов. Самыми совершенными в этом отношении представляются детекторы нового типа — со сверхпроводящим туннельным переходом (superconductive tunnel junction, STJ). Они обладают высокой скоростью счета, а их разрешающая способность сравнима с разрешающей способностью традиционных анализаторов с волновой дисперсией. Необходимо также создание детекторов-анализаторов с энергетической дисперсией, способных работать при относительно высоких температурах (без охлаждения сжиженными газами) и устойчивых к сильному рентгеновскому излучению.

В методе рентгенофлуоресцентного анализа все шире применяются устройства для фокусировки рентгеновского излучения (капиллярные рентгеновские линзы). Уже достигнута возможность фокусировать первичное рентгеновское излучение на участке образца диаметром до 5–10 мкм. Латеральное разрешение в этом случае составляет около 100 мкм. Таким образом, открываются возможности применения для локального анализа не только традиционно используемой для этого рентгеноэмиссионной (электронно-зондовой), но и рентгенофлуоресцентной спектроскопии. Кроме того, фокусирование рентгеновского излучения резко повышает его удельную интенсивность (на единицу поверхности) и, следовательно, чувствительность определения элементов. Это особенно важно при определении легких элементов, обладающих малыми выходами рентгеновской флуоресценции и низкоэнергетическим, сильно поглощающимся окружающей средой характеристическим рентгеновским излучением.

В методе рентгеноэмиссионного анализа проблема определения легких элементов стоит, пожалуй, еще более остро, чем в рентгенофлуоресцентной спектроскопии. В последнее время этот метод стал важным средством экологического контроля — едва ли не основным методом анализа аэрозольных частиц воздуха, в значительной степени состоящих как раз из легких элементов (C, N, O). Другая важная проблема рентгеноэмиссионной спектроскопии — повышение правильности результатов анализа. В силу крайне малых размеров участка анализируемой поверхности ее пространственные неоднородности могут сильно искажать количественные результаты определения элементов. Для учета этих факторов проводятся интенсивные теоретические исследования, главным образом методом статистического моделирования (Монте-Карло).

9.9. Термические методы анализа

В отличие от большинства других методов химического анализа, направленных главным образом на установление состава веществ и материалов, методы термического анализа — это методы изучения их свойств и определения фунда-

ментальных параметров: энтальпий, теплоемкостей, температур фазовых переходов. Среди различных методов термического анализа наибольшее применение находит дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК). Недавно описан способ, позволяющий получать информацию, обычно получаемую методом ДСК, посредством сочетания двух других методов термического анализа — термогравиметрии и дифференциального термического анализа.

Методы термического анализа непрерывно совершенствуются, повышается их прецизионность и чувствительность. Сейчас стало возможным изучать фазовые переходы и другие тепловые явления с невиданной ранее степенью детализации. Так, для монокристалла $BaTiO_3$, претерпевающего в области 403 K переход структуры кристаллической решетки из тетрагональной в кубическую, в диапазоне 1 K — от 402 до 403 K — зафиксировано шесть отдельных тепловых явлений. Для ультрамалых твердых частиц обнаружена сильная зависимость их температуры плавления от размера. Для частиц индия радиусом порядка 2 нм температура плавления снижается на 110 K по сравнению с макроскопическими образцами. Подобные исследования становятся чрезвычайно важными в связи с бурным развитием нанотехнологий.

Как и ранее, по-прежнему важны термические методы анализа при исследовании таких объектов, как керамики, катализаторы, стекла. Эти методы позволяют изучать протекание твердофазных реакций, ответственных за образование новых материалов. Другой важнейший круг объектов термического анализа — синтетические полимеры. Термическими методами можно исследовать процессы плавления, кристаллизации, стеклования, старения (деградации) полимеров. Здесь основная проблема состоит в том, что многие процессы с участием полимеров протекают достаточно медленно, и потому наблюдаемые эффекты сильно зависят от скорости нагревания, характеристик температурной модуляции и других параметров эксперимента. Еще одна сфера применения термических методов — исследование топливных материалов и высокоэнергетических, в том числе взрывчатых, веществ. Среди относительно новых областей использования можно отметить биологию и медицину. Это, в частности, исследование термическими методами лекарственных препаратов и особенно готовых форм, которые в зависимости от их состава и способа приготовления могут обладать весьма различными физическими характеристиками и, следовательно, биологической усвояемостью. Кроме того, изучение тепловых эффектов — важный неразрушающий метод исследования кинетики метаболических процессов в живых клетках.

9.10. Хемометрика

Хемометрика представляет собой универсальный инструмент, позволяющий извлекать из химических данных большого объема и сложной структуры скрытую в них информацию. Как и прежде, одно из важнейших направлений хемометрики — создание и применение математических методов анализа многокомпонентных систем в условиях наложения аналитических сигналов (включая и многомерную градуировку) или, говоря несколько условно, разделение сигналов вместо разделения веществ. При этом один и тот же алгоритм (с соответствую-

щими изменениями) может быть применен, к примеру, как для разделения перекрывающихся хроматографических или вольтамперометрических пиков, так и спектральных полос. В последнее время для решения подобных задач все больше используются методы так называемого «мягкого моделирования» (эволюционный и оконный факторный анализ, метод чередующихся наименьших квадратов и др.), позволяющие работать в условиях сильного дефицита информации об индивидуальных компонентах. Одним из методов анализа, где математическое разделение сигналов нашло особенно широкое применение, стала инфракрасная спектроскопия в ближней области спектра, бурно прогрессирующая в последние годы.

Еще одно важное направление развития современной хемометрики — построение и распознавание образов химических объектов, иными словами, их автоматическая классификация. В последнее время большее внимание стало уделяться первой, особенно трудно формализуемой, части этой задачи — отбору как можно более информативных признаков для построения наиболее эффективных классификационных моделей. Для этой цели используют методы и алгоритмы, традиционно используемые для решения других хемометрических задач, например, анализ главных компонент или дробный метод наименьших квадратов. Как методы многокомпонентного анализа, так и методы распознавания образов находят все большее применение в сферах, связанных с использованием химических сенсоров.

К проблемам, связанным с построением и распознаванием химических образов, тесно примыкает круг задач, связанных с установлением количественных соотношений между составом (или строением) и свойствами химических веществ, а также предсказания свойств по данным о составе и строению. Они имеют огромное значение для создания новых лекарственных средств, веществ и материалов с заданными свойствами. Как правило, для решения подобных задач применяют современные методы многомерного регрессионного анализа — такие, как регрессия на главных компонентах, дробный метод наименьших квадратов, а также методы с использованием обучаемых нейронных сетей. Здесь также отмечено повышенное внимание к проблеме отбора исходных признаков, служащих для количественного описания состава и особенно строения (молекулярных дескрипторов).

Приложение

Таблица П.1. Величины pK_S некоторых кислот при 25°C.

Кислота	pK_{S1}	pK_{S2}	pK_{S3}	pK_{S4}
$Al(H_2O)_6^{3+}$	4,85			
$Al(OH)_3$	12,2			
H_3AsO_3	9,20	13,50		
H_3AsO_4	2,22	6,98	11,53	
$H_3BO_3 \cdot H_2O$ (20°C)	9,28	12,75	13,80	
$H_2B_4O_7$	4,00	9,00		
HBr	−6			
HBrO	8,60			
Бромкрезоловый зеленый	4,68			
Бромкрезоловый пурпурный	6,30			
п-Бромфенол	9,24			
Бромфеноловый синий	3,86			
Бромтимоловый синий	7,10			
$CO_2 \cdot H_2O$	6,35	10,25		
HCOOH	3,75			
CH_3COOH	4,75			
C_2H_5COOH	4,87			
CH_2FCOOH	2,57			
CH_2ClOOH	2,87			
$CHCl_2COOH$	1,29			
CCl_3COOH	−0,08			
$CH_2BrCOOH$ (20°C)	2,89			
CH_2ICOOH (20°C)	3,16			
$CH_2CNCOOH$	2,47			
C_6H_5COOH	4,19			
$C_6H_5CH_2COOH$	4,31			
Фенол	9,89			
Феноловый красный	7,90			
Фенолфталеин	9,4			
1,10-Фенантролин·H^+	9,40			
Крезоловый пурпурный	1,51	8,32		
Крезоловый красный	8,20			
Тимоловый синий	8,90			
Тимолфталеин	10,0			
Щавелевая кислота	1,25	4,28		
Янтарная кислота	4,19	5,48		
Винная кислота	3,04	4,37		
Фталевая кислота	2,95	5,41		

Продолжение таб. П.1.

Лимонная кислота	2,94	4,14	5,82	
Аскорбиновая кислота	4,30	11,82		
Салициловая кислота	3,00	12,38		
Глицин·H^+	2,35	9,77		
N-трис(оксиметил)метилглицин	8,08			
Цистеин·H^+	1,96	8,36	10,28	
Цистин·$2H^+$	1,04	2,05	8,00	
ЭДТА	2,07	2,75	6,24	10,34
Гидрохинон	10,0	12,0		
8-Оксихинолин·H^+	5,01	9,90		
Метиловый оранжевый	3,40			
Метиловый красный	4,95			
Ванилин	7,40			
HCN	9,32			
HOCN	3,66			
HSCN	0,85			
HCl	−3			
HClO	7,53			
$HClO_2$	2,00			
$HClO_3$	0			
$HClO_4$	−9			
Хлорфеноловый красный	6,00			
$Cr_2O_7^{2-}·H_2O$ ($HCrO_4^-$)	6,50			
HF	3,17			
$Fe(H_2O)_6^{3+}$	2,22			
$H_4[Fe(CN)_6]$			2,22	4,17
HI	−8			
HIO	12,3			
HIO_3	0,79			
H_5IO_6	1,64			
NH_4^+	9,25			
$CH_3NH_3^+$	10,64			
$(CH_3)_2NH_2^+$	10,99			
$(CH_3)_3NH^+$	9,83			
$(C_2H_5)_2NH_2^+$	10,59			
$(C_2H_5)_3NH^+$	10,75			
$C_6H_5NH_3^+$	4,54			
Пиридин·H^+	5,10			
Имидазол·H^+	6,83			
$H_3N{-}NH_3^{2+}$	0,27	7,24		
$H_3N{-}CH_2{-}CH_2{-}NH_3^{2+}$	6,85	9,93		
$(C_2H_4OH)NH_3^+$	9,50			
$(C_2H_4OH)_3NH^+$	7,76			
CH_3-CH_2-NH_3^+	10,63			

Окончание таб. П.1.

Триаминопропан·$3H^+$	3,72	7,95	9,59	
Трис(оксиметил)аминометан	8,08			
HN_3	4,72			
Веронал	7,43			
HNO_3	−1,32			
H_2O_2 (20°C)	11,65			
PH_4^+	0			
H_3PO_2 (18°C)	2,00			
H_3PO_3 (18°C)	1,8	6,16		
H_3PO_4	2,23	7,21	12,32	
$H_4P_2O_7$	1,52	2,36	6,60	9,25
H_2S	7,00	12,92		
H_2SO_3	1,76	7,20		
H_2SO_4	−3	1,99		
NH_2SO_3H	0,99			
N-2-Оксиэтилпиперазин-N′-2-этансульфокислота	7,55			
2-(N-морфолин)этансульфокислота	6,15			
H_2Se	3,89	11,00		
H_2SeO_3	2,54	8,02		
H_2SeO_4	−3	2,00		
H_4SiO_4 (30^0C)	9,70	11,70	12	12
$Zn(H_2O)_6^{2+}$	9,60			

Таблица П.2. Изменение окраски, интервалы pH перехода и способы приготовления растворов некоторых индикаторов.

Индикатор	pH перехода	Изменение окраски (кислая–основная форма)	Растворять (г/100 мл)		
Метиловый фиолетовый, 1 ступень	0,1 – 1,5	желтая – синяя	0,05		
Крезоловый красный, 1 ступень	0,2 – 1,8	красная – желтая	0,04		
м-Крезоловый пурпурный, 1 ступень	1,2 – 2,8	красная – желтая	0,04	90%	A
Тимоловый синий, 1 ступень	1,2 – 2,8	желтая – красная	0,1	20%	A
Тропеолин 00	1,3 – 3,2	красная – желтая	1,0		W
Метиловый фиолетовый, 2 ступень	1,5 – 3,2	синяя – фиолетовая	0,05		W
2,4-Динитрофенол	2,6 – 4,0	бесцветная – желтая	0,05		W
Диметиловый желтый	2,9 – 4,0	красная – желтая	0,1		A
Бромфеноловый синий	3,0 – 4,6	желтая – синяя	0,04		A
Метиловый оранжевый	3,0 – 4,4	красная – оранжевая	0,1		W
Конго красный	3,0 – 5,2	синяя – красная	0,1		W
α-Нафтоловый красный	3,7 – 5,7	фиолетовая – желтая	0,1	70%	A

Окончание таб. П.2.

2,5-Динитрофенол	3,8 – 5,2	бесцветная – желтая			
Бромкрезоловый зеленый	3,8 – 5,4	желтая – синяя	0,04	90%	A
Метиловый красный	4,4 – 6,2	красная – желтая	0,2	60%	A
Бромкрезоловый пурпурный	5,2 – 6,8	желтая – пурпурная	0,04	90%	A
Лакмус	5,0 – 8,0	красная – синяя	0,1		W
Бромтимоловый синий	6,0 – 7,6	желтая – синяя	0,1	20%	A
4-Нитрофенол	6,0 – 8,0	бесцветная – желтая			
Нейтральный красный	6,8 – 8,0	красная – желтая	0,1	60%	A
Розоловая кислота	6,8 – 8,0	оранжевая – фиолетовая	0,5	90%	A
Крезоловый красный, 2 ступень	7,2 – 8,8	красная – желтая	0,04		W
α-Нафтолфталеин	7,3 – 8,7	розовая – зеленая	0,1	70%	A
м-Крезоловый пурпурный, 2 ступень	7,4 – 9,0	желтая – пурпурная	0,04		W
3-Нитрофенол	7,0 – 9,0	бесцветная – желтая			
Тимоловый синий, 2 ступень	8,0 – 9,6	желтая – синяя	0,1	20%	A
Фенолфталеин	8,2 – 10,0	бесцветная – красная	0,1	70%	A
Тимолфталеин	9,4 – 10,6	бесцветная – синяя	0,04	90%	A
β-Нафтоловый	10,0 – 12,0	оранжевая – фиолетовая	0,04		W
Ализариновый желтый	10,0 – 12,1	желтая – оранжевая	0,1		W
Ланациловый фиолетовый	11,0 – 13,0	фиолетовая – оранжевая	0,1		W

Примечание. A — этанол, W — вода.

Таблица П.3. Смешанные индикаторы для кислотно-основного титрования.

	Состав смеси	Изменение окраски, интервал pH
I	метиловый оранжевый (100 мг в 100 мл воды) + индигосульфонат натрия (500 мг в 50 мл воды)	3,0 – 4,0 – 4,4 фиолетовая – серая – зеленая
II	метиловый красный (125 мг в 50 мл метанола) + метиленовый голубой (85 мг в 50 мл метанола) (индикатор Таширо)	4,4 – 5,2 – 6,2 фиолетовая – серая – зеленая
III	нейтральный красный (100 мг в 100 мл 70% этанола) + метиленовый голубой (100 мг в 100 мл 70% этанола)	6,8 – 7,2 – 8,0 фиолетовая – серая – зеленая
IV	фенолфталеин (100 мг в 100 мл 70% этанола) + α-нафтолфталеин (50 мг в 50 мл 70% этанола)	7,5 – 8,6 – 9,8 розовая – зеленая – фиолетовая

Таблица П.4. Значения pK_L малорастворимых электролитов. В скобках — температура, °С (если не указана — 25°С).

Соединение	pK_L	.Соединение	pK_L	Соединение	pK_L
AgCl	9,75	$Ce(IO_3)_3$	9,5	$Mn(OH)_2$	14,2
AgCl (50)	8,88	$Ce_2(C_2O_4)_3$	28,4	$MnCO_3$	10,1
AgBr	12,28	$Co(OH)_2$	16	MnS (зеленый)	12,6
AgI	16,08	$CoCO_3$	12,0	MnS (розовый)	9,6
AgCN	14,2	CoS	22,1	MnS	15
AgSCN	12,0		(22–26)	$NaHCO_3$	2,9
$AgBrO_3$	4,28	$Cr(OH)_3$	30	$Ni(OH)_2$	13,8
$AgIO_3$	7,52	CuCl (20)	6,0	$NiCO_3$	6,87
AgOH (18)	7,9	CuBr (20)	7,4	NiS	20,7
$AgOOCCH_3$	2,40	CuI (20)	11,3		(21–26)
AgN_3	8,54	CuSCN (18)	10,8	PbF_2 (9)	7,5
Ag_2CO_3	11,2	Cu_2S	48,0	$PbCl_2$	4,77
Ag_2CrO_4	11,95	$Cu(IO_3)_2$	7,13	$PbBr_2$	4,4
$Ag_2Cr_2O_7$	6,7	$Cu(OH)_2$	19,3	PbI_2	8,06
$Ag_2C_2O_4$	11,30	$CuCO_3$	9,86	$Pb(OOCH)_2$	6,70
Ag_2S	49,6	CuC_2O_4	7,54	$Pb(IO_3)_2$	12,59
Ag_2SO_4	4,80	$CuCrO_4$	5,44	$PbCO_3$ (18)	13,5
Ag_3PO_4	17,8		(37–44)	PbC_2O_4 (18)	10,56
Ag_3AsO_4	19	CuS	35,1	$PbCrO_4$	13,75
Ag_3AsO_3	18,5	$Fe(OH)_2$ (18)	15,3	$PbSO_4$	7,80
Ag_3VO_4 (20)	6,3	$FeCO_3$ (20)	10,6	PbS	26,6
$Al(OH)_3$	32,7	FeC_2O_4	6,7		(27–29)
BaF_2	5,76	FeS	17,3	$RaSO_4$ (20)	10,37
$Ba(IO_3)_2$	9,2		(18–21)	$RbClO_4$	2,4
$BaCO_3$	9,26	$Fe(OH)_3$ (18)	37,4	$Sn(OH)_2$	25,3
BaC_2O_4 (18)	6,79	$[Hg_2]Cl_2$	17,88	SnS	25,0
$BaCrO_4$	9,93	$[Hg_2]Br_2$	20,9		(25–28)
$BaSO_4$	9,96	$[Hg_2]I_2$	27,9	SrF_2	8,54
$BaSO_4$ (50)	9,70	$[Hg_2](CN)_2$	39,3	$SrCO_3$	9,96
$Be(OH)_2$	18,6	$[Hg_2]CO_3$	16	SrC_2O_4 (18)	7,25
[BiO]Cl	6,15	$[Hg_2]CrO_4$	8,70	$SrCrO_4$ (18)	4,44
Bi_2S_3	97	$[Hg_2]SO_4$	6,17	$SrSO_4$	6,55
CaF_2	10,40	HgS (черный)	51,8	TlCl	3,72
$Ca(IO_3)_2$ (18)	6,13	HgS (красный)	52,4	TlBr	5,41
$Ca(OH)_2$ (18)	5,26	$KClO_4$	2,05	TlI	7,24
$CaCO_3$ (кальцит)	8,18	$K_2[PtCl_6]$	5,85	$TlIO_3$	5,66
CaC_2O_4	8,07	$La(IO_3)_3$	11,21	TlN_3	3,66
$CaCrO_4$ (18)	1,64	$La(OH)_3$	20	Tl_2CrO_4	12,01
$CaSO_4$	4,32	$La_2(C_2O_4)_3$	27,7	$Zn(OH)_2$	17
$Ca[HPO_4](H_2O)_2$	6,57	Li_2CO_3	0,5	α-ZnS	23,8
$Ca_3(PO_4)_2$	26,0	MgF_2	8,18	β-ZnS	21,6
$Cd(OH)_2$ (18)	13,9	$Mg(OH)_2$	10,74		(22–25)
$CdCO_3$	13,6	$MgCO_3(H_2O)_3$	4,25		
CdS (желтый)	26,1	MgC_2O_4	4,1		
CdS (красный)	28,0	$MgNH_4PO_4$	12,6		

Таблица П.5. Константы устойчивости комплексных соединений.

Комплекс	Температура, °С	Ионная сила	lg K	lg β
$[Cu(NH_3)]^{2+}$	30	0,5 – 5	4,15	4,15
$[Cu(NH_3)_2]^{2+}$	30	0,5 – 5	3,50	7,65
$[Cu(NH_3)_3]^{2+}$	30	0,5 – 5	2,89	10,54
$[Cu(NH_3)_4]^{2+}$	30	0,5 – 5	2,13	12,67
$[Cu(NH_3)_2]^{+}$			6,18	6,18
$[Cu(NH_3)_2]^{+}$			4,69	10,87
$[Ag(NH_3)]^{+}$	30	0,5 – 5	3,20	3,20
$[Ag(NH_3)_2]^{+}$			3,83	7,03
$[Zn(NH_3)_4]^{2+}$				9,46
$[Cd(NH_3)_4]^{2+}$				7,12
$[Ni(NH_3)_4]^{2+}$				7,95
$[Ni(NH_3)_6]^{2+}$				8,90
$[AlF_4]^{-}$	25	0,5		17,75
$[AlF_5]^{2-}$	25	0,5	1,62	19,37
$[AlF_6]^{3-}$	25	0,5	0,47	19,84
FeF_3	25	0,5		12,06
$[FeF_5]^{2-}$	25	0,5		15,4
$[Zn(OH)_4]^{2-}$	25			15,44
$[Al(OH)_4]^{-}$			−1	32
$[AgCl_2]^{-}$	25	0		4,75
$[AgCl_4]^{3-}$	25	5		5,32
$[AuCl_4]^{-}$	18			21,30
$[HgI_4]^{2-}$	25	0,5		29,83
$[CdI_4]^{2-}$	25	5		6,05
$[PbI_4]^{2-}$	25	0		3,85
$[Fe(CN)_6]^{4-}$	18			35,00
$[Fe(CN)_6]^{3-}$	18			42
$[Co(CN)_6]^{4-}$				29,5
$[Co(CN)_6]^{3-}$				48
$[Ni(CN)_4]^{2-}$				15,5
$[Cu(CN)_4]^{3-}$	25	0		30,3
$[Zn(CN)_4]^{2-}$	25			16,9
$[Cd(CN)_4]^{2-}$	25	3		18,45
$[Hg(CN)_4]^{2-}$	25			41,4
$[Au(CN)_2]^{-}$				38
$[Ag(CN)_2]^{-}$	18	0,3		21,1
$[Ag(SCN)_2]^{-}$	25	2,2		7,6
$[Ag(SCN)_4]^{3-}$	25	2,2		10,1
$[Hg(SCN)_4]^{2-}$	25	0,3		21,3
$[Ag(S_2O_3)]^{-}$	20	0		8,8
$[Ag(S_2O_3)_2]^{3-}$	20	0		13,5
$[Ni(en)_2]^{2+}$	30	1,2		14,1
$[Ni(en)_3]^{2+}$	30	1,2		18,6
$[Cu(en)_2]^{2+}$	30	0,5		19,6
$[Zn(en)_2]^{2+}$	30	1		10,4

Окончание таб. П.5.

$[Ag(en)_2]^+$	18			7,84
$[Cd(en)_2]^{2+}$	30	0,5		10,0
$[Cd(en)_3]^{2+}$	30	0,5		12,1
$[Co(en)_3]^{3+}$	30	1		48,7
$[Fe(phen)_3]^{2+}$				21,3
$[Fe(dipyr)_3]^{2+}$	25	0,33		17,58
$[Cu(dipyr)_2]^{2+}$	25	0,1	3,65	14,2
$[Cu(dipyr)_3]^{2+}$	25	0,5		17,85
$[Cu(citr)]^-$	25			14,20
$[Cu(OH)_2(citr)_2]^-$	25			18,77
$[Cu(OH)(citr)]^{2-}$	25			16,35
$[Cu(OH)_2(citr)_3]^{6-}$				19,3
Ca-ErioT				5,4
Mg-ErioT				7,0

Таблица П.6. Логарифмы коэффициентов побочных реакций $\alpha_Y = [Y']/[Y^{4-}]$ для аниона Y^{4-} этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА).

pH	$\lg \alpha_Y$	pH	$\lg \alpha_Y$	pH	$\lg \alpha_Y$
0	21,4	5,0	6,61	10,0	0,50
0,5	19,41	5,5	5,65	10,5	0,23
1,0	17,44	6,0	4,78	11,0	0,09
1,5	15,51	6,5	4,03	11,5	0,03
2,0	13,70	7,0	3,51	12,0	0,01
2,5	12,12	7,5	2,86	12,5	0,00
3,0	10,79	8,0	2,35		
3,5	9,65	8,5	1,85		
4,0	8,61	9,0	1,36		
4,5	7,60	9,5	0,90		

Таблица П.7. Стандартные электродные потенциалы некоторых окислительно-восстановительных пар при 25°C.

Восстановленная форма	$\rightleftharpoons$	Окисленная форма		E^0, В	pK
Ag	$\rightleftharpoons$	Ag^+	$+ e^-$	0,79996	13,5
$Ag + Cl^-$	$\rightleftharpoons$	AgCl	$+ e^-$	0,2221	3,75
$Ag + Br^-$	$\rightleftharpoons$	AgBr	$+ e^-$	0,0713	1,20
$Ag + I^-$	$\rightleftharpoons$	AgI	$+ e^-$	−0,1519	−2,57
$Ag + 2CN^-$	$\rightleftharpoons$	$[Ag(CN)_2]^-$	$+ e^-$	−0,395	−6,7
$2Ag + S^{2-}$	$\rightleftharpoons$	Ag_2S	$+ 2e^-$	−0,7051	−23,8
Ag^+	$\rightleftharpoons$	Ag^{2+}	$+ e^-$	1,987	33,6
Al	$\rightleftharpoons$	Al^{3+}	$+ 3e^-$	−1,67	−84,6
$As + 3\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$H_3AsO_3 + 3\ H^+$	$+ 3e^-$	0,2475	12,5
$H_3AsO_3 + H_2O$	$\rightleftharpoons$	$H_3AsO_4 + 2\ H^+$	$+ 2e^-$	0,58	19,6
$AsO_3^{3-} + 2OH^-$	$\rightleftharpoons$	$AsO_4^{3-} + H_2O$	$+ 2e^-$	−0,08	−2,7
Au	$\rightleftharpoons$	Au^+	$+ e^-$	1,46	24,8
Au	$\rightleftharpoons$	Au^{3+}	$+ 3e^-$	1,42	72,0
$Au + 4\ Cl^-$	$\rightleftharpoons$	$[AuCl_4]^-$	$+ 3e^-$	1,0	50,7
$Au + 2\ CN^-$	$\rightleftharpoons$	$[Au(CN)_2]^-$	$+ e^-$	−0,60	−10,1
Ba	$\rightleftharpoons$	Ba^{2+}	$+2\ e^-$	−2,90	−98

Продолжение таб. П.7.

Be	⇌	Be^{2+}	$+ 2e^-$	−1,70	−57,4
Bi	⇌	Bi^{3+}	$+ 3e^-$	0,277	14,0
$Bi^{3+} + 3\ H_2O$	⇌	$BiO_3^- + 6\ H^+$	$+ 2e^-$	1,73	58,4
$2\ Br^-$	⇌	$Br_2(aq)$	$+ 2e^-$	1,087	36,7
$Br^- + H_2O$	⇌	$HBrO + H^+$	$+ 2e^-$	1,33	44,9
$Br^- + 3\ H_2O$	⇌	$BrO_3^- + 6\ H^+$	$+ 6e^-$	1,44	146
$Br^- + 2\ OH^-$	⇌	$BrO^- + H_2O$	$+ 2e^-$	0,75	25,3
$Br^- + 6\ OH^-$	⇌	$BrO_3^- + 3\ H_2O$	$+ 6e^-$	0,61	61,8
$HCHO + H_2O$	⇌	$HCOOH + 2\ H^+$	$+ 2e^-$	0,056	1,89
HCOOH	⇌	$CO_2 + 2\ H^+$	$+ 2e^-$	−0,196	−6,62
Ca	⇌	Ca^{2+}	$+ 2e^-$	−2,76	−93,2
Cd	⇌	Cd^{2+}	$+ 2e^-$	−0,402	−13,6
Cd(Hg)	⇌	Cd^{2+}	$+ 2e^-$	−0,3519	−11,9
Ce^{3+}	⇌	Ce^{4+}	$+ e^-$	1,713	28,9
$2\ Cl^-$	⇌	Cl_2	$+ 2e^-$	1,3583	45,89
$Cl^- + H_2O$	⇌	$HClO + H^+$	$+ 2e^-$	1,489	50,6
$Cl^- + 2\ H_2O$	⇌	$HClO_2 + 3\ H^+$	$+ 4e^-$	1,57	106
$Cl^- + 3\ H_2O$	⇌	$ClO_3^- + 6\ H^+$	$+ 6e^-$	1,45	147
$Cl^- + 4\ H_2O$	⇌	$ClO_4^- + 8\ H^+$	$+ 8e^-$	1,36	184
$Cl^- + 2\ OH^-$	⇌	$ClO^- + H_2O$	$+ 2e^-$	0,88	29,8
$Cl^- + 4\ OH^-$	⇌	$ClO_2^- + 2\ H_2O$	$+ 4e^-$	0,77	52
$Cl^- + 6\ OH^-$	⇌	$ClO_3^- + 3\ H_2O$	$+ 6e^-$	0,62	62,8
$Cl^- + 8\ OH^-$	⇌	$ClO_4^- + 4\ H_2O$	$+ 8e^-$	0,53	71,6
Co	⇌	Co^{2+}	$+ 2e^-$	−0,277	−9,4
Co^{2+}	⇌	Co^{3+}	$+ e^-$	1,842	31,1
Cr	⇌	Cr^{2+}	$+ 2e^-$	−0,557	−18,8
Cr^{2+}	⇌	Cr^{3+}	$+ e^-$	−0,40	−6,76
$2\ Cr^{3+} + 7\ H_2O$	⇌	$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+$	$+ 6e^-$	1,36	138
$Cr(OH)_3 + 5\ OH^-$	⇌	$CrO_4^{2-} + 4H_2O$	$+ 3e^-$	−0,12	−6,1
$Cr^{3+} + 8\ OH^-$	⇌	$CrO_4^{2-} + 4\ H_2O$	$+ 3e^-$	−0,72	−36,5
Cs	⇌	Cs^+	$+ e^-$	−2,923	49,4
Cu	⇌	Cu^+	$+ e^-$	0,522	8,82
Cu	⇌	Cu^{2+}	$+ 2e^-$	0,3460	11,69
Cu(Hg)	⇌	Cu^{2+}	$+ 2e^-$	0,3511	11,86
Cu^+	⇌	Cu^{2+}	$+ e^-$	0,170	2,87
$2\ F^-$	⇌	F_2	$+ 2e^-$	2,87	96,9
Fe^{2+}	⇌	Fe^{3+}	$+ e^-$	0,7704	13,0
$[Fe(CN)_6]^{4-}$	⇌	$[Fe(CN)_6]^{3-}$	$+e^-$	0,36	6,1
ферроин	⇌	ферриин	$+ e^-$	1,04	17,6
H_2	⇌	$2\ H^+$	$+ 2e^-$	0,0000	0
$2\ H^-$	⇌	H_2	$+ 2e^-$	−2,24	−76
Hg	⇌	Hg^{2+}	$+ 2e^-$	0,852	28,8
2 Hg	⇌	Hg_2^{2+}	$+ 2e^-$	0,7986	27,0
2 Hg + 2 Cl^- (нас. KCl)	⇌	Hg_2Cl_2	$+2e^-$	0,2412	8,15
2 Hg + 2 Cl^-	⇌	Hg_2Cl_2	$+ 2e^-$	0,2677	9,04
2 Hg + 2 Br^-	⇌	Hg_2Br_2	$+ 2e^-$	0,1396	4,72
2 Hg + 2 I^-	⇌	Hg_2I_2	$+ 2e^-$	−0,0405	−1,37
$2\ Hg + SO_4^{2-}$	⇌	Hg_2SO_4	$+ 2e^-$	0,6151	20,8
$2\ I^-$	⇌	I_2	$+ 2e^-$	0,5355	18,1
$I^- + H_2O$	⇌	$IOH + H^+$	$+ 2e^-$	0,99	33,4
$I^- + 3\ H_2O$	⇌	$IO_3^- + 6\ H^+$	$+6e^-$	1,085	110

Продолжение таб. П.7.

$I^- + 2\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$IO^- + H_2O$	$+ 2e^-$	0,49	16,6
$I^- + 6\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$IO_3^- + 3\ H_2O$	$+6e^-$	0,26	26,4
K	$\rightleftharpoons$	K^+	$+ e^-$	−2,9241	−49,4
Li	$\rightleftharpoons$	Li^+	$+ e^-$	−2,9595	−50
Mg	$\rightleftharpoons$	Mg^{2+}	$+ 2e^-$	−2,375	−80
Mn	$\rightleftharpoons$	Mn^{2+}	$+ 2e^-$	−1,18	−39,9
Mn^{2+}	$\rightleftharpoons$	Mn^{3+}	$+ e^-$	1,51	25,5
$Mn^{2+} + 2\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$MnO_2 + 4\ H^+$	$+ 2e^-$	1,23	41,6
$Mn^{2+} + 4\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$MnO_4^{2-} + 8\ H^+$	$+ 4e^-$	1,74	118
$Mn^{2+} + 4\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$MnO_4^- + 8\ H^+$	$+ 5e^-$	1,51	127
$Mn + 2\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$Mn(OH)_2$	$+ 2e^-$	−1,52	−51
$MnO_2 + 4\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$MnO_4^{2-} + 2\ H_2O$	$+ 2e^-$	0,58	19,6
$MnO_2 + 4\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$MnO_4^- + 2\ H_2O$	$+ 3e^-$	0,58	29,4
Na	$\rightleftharpoons$	Na^+	$+ e^-$	−2,7131	−45,8
Ni	$\rightleftharpoons$	Ni^{2+}	$+ 2e^-$	−0,23	−7,77
$2\ NH_4^+$	$\rightleftharpoons$	$N_2H_5^+ + 3\ H^+$	$+2e^-$	1,28	43,2
$NH_4^+ + H_2O$	$\rightleftharpoons$	$NH_3OH^+ + 2\ H^+$	$+ 2e^-$	1,32	44,6
$2\ NH_4^+$	$\rightleftharpoons$	$N_2 + 8\ H^+$	$+ 6e^-$	0,27	27,4
$2\ NH_4^+ + H_2O$	$\rightleftharpoons$	$N_2O + 10\ H^+$	$+8e^-$	0,65	87,8
$NH_4^+ + H_2O$	$\rightleftharpoons$	$NO + 6\ H^+$	$+ 5e^-$	0,84	70,9
$NH_4^+ + 2\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$NO_2^- + 8\ H^+$	$+ 6e^-$	0,86	87,2
$NH_4^+ + 2\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$NO_2 + 8\ H^+$	$+7e^-$	0,89	105
$NH_4^+ + 3\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$NO_3^- + 10\ H^+$	$+ 8e^-$	0,88	119
$2\ HN_3$	$\rightleftharpoons$	$3\ N_2 + 2\ H^+$	$+ 2e^-$	−3,09	−104
$2\ NH_3 + 2\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$N_2H_4 + 2\ H_2O$	$+ 2e^-$	0,10	3,38
$NH_3 + 2\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$NH_2OH + H_2O$	$+ 2e^-$	0,42	14,2
$2\ NH_3 + 6\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$N_2 + 6\ H_2O$	$+ 6e^-$	−0,73	−74
$2\ NH_3 + 8\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$N_2O + 7\ H_2O$	$+8e^-$	−0,42	−56,8
$NH_3 + 5\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$NO + 4\ H_2O$	$+ 5e^-$	−0,10	−8,45
$NH_3 + 7\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$NO_2^- + 5\ H_2O$	$+ 6e^-$	−0,16	−16,2
$NH_3 + 7\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$NO_2 + 5\ H_2O$	$+ 7e^-$	−0,013	−1,54
$NH_3 + 9\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$NO_3^- + 6\ H_2O$	$+ 8e^-$	−0,12	−16,2
$2\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$O_2 + 4\ H^+$	$+ 4e^-$	1,229	83,0
H_2O_2	$\rightleftharpoons$	$O_2 + 2\ H^+$	$+ 2e^-$	0,682	23,0
$2\ H_2O_2$	$\rightleftharpoons$	$H_2O_2 + 2\ H^+$	$+ 2e^-$	1,77	59,8
$4\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$O_2 + 2\ H_2O$	$+ 4e^-$	0,401	27,1
$2\ HO_2^-$	$\rightleftharpoons$	$2\ O_2 + 2\ H_2O$	$+ 4e^-$	−0,075	−5,07
$P + 3\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$H_3PO_3 + 3\ H^+$	$+ 3e^-$	−0,50	−25,3
$P + 4\ H_2O$	$\rightleftharpoons$	$H_3PO_4 + 5\ H^+$	$+ 5e^-$	−0,41	−34,6
$PH_3 + 3\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$P + 3\ H_2O$	$+ 3e^-$	−0,87	−44
$P + 2\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$H_2PO_2^-$	$+ e^-$	−2,05	−34,6
$P + 5\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$HPO_3^- + 2\ H_2O$	$+ 3e^-$	−1,57	−79,6
$P + 8\ OH^-$	$\rightleftharpoons$	$PO_4^{3-} + 4\ H_2O$	$+ 5e^-$	−1,49	−126
Pb	$\rightleftharpoons$	Pb^{2+}	$+ 2e^-$	−0,1263	−4,27

Окончание таб. П.7.

$Pb^{2+} + 2\,H_2O$	$\rightleftharpoons$	$PbO_2 + 4\,H^+$	$+ 2e^-$	1,46	49,3
$PbSO_4 + 2\,H_2O$	$\rightleftharpoons$	$PbO_2 + SO_4^{2-} + 4H^+$	$+ 2e^-$	1,685	56,9
Rb	$\rightleftharpoons$	Rb^+	$+ e^-$	−2,9259	−49,4
H_2S	$\rightleftharpoons$	$S + 2\,H^+$	$+ 2e^-$	0,141	4,76
$H_2S + 4\,H_2O$	$\rightleftharpoons$	$SO_4^{2-} + 10\,H^+$	$+8e^-$	0,30	40,5
$2\,S + 3\,H_2O$	$\rightleftharpoons$	$H_2S_2O_3 + 4\,H^+$	$+4e^-$	0,50	33,8
$2\,S + 4\,H_2O$	$\rightleftharpoons$	$H_2S_2O_4 + 6\,H^+$	$+6e^-$	0,63	64
$S + 3\,H_2O$	$\rightleftharpoons$	$H_2SO_3 + 4\,H^+$	$+ 4e^-$	0,45	30,4
$S + 4\,H_2O$	$\rightleftharpoons$	$SO_4^{2-} + 8\,H^+$	$+ 6e^-$	0,356	36,1
$2\,S_2O_3^{2-}$	$\rightleftharpoons$	$S_4O_6^{2-}$	$+ 2e^-$	0,06	2,0
S^{2-}	$\rightleftharpoons$	S	$+ 2e^-$	−0,48	−16,2
$S + 6\,OH^-$	$\rightleftharpoons$	$SO_3^{2-} + 3\,H_2O$	$+ 4e^-$	−0,61	−41,2
$S + 8\,OH^-$	$\rightleftharpoons$	$SO_4^{2-} + 4\,H_2O$	$+ 6e^-$	−0,72	−73
$S_2O_3^{2-} + 10\,OH^-$	$\rightleftharpoons$	$2\,SO_4^{2-} + 5\,H_2O$	$+ 8e^-$	−0,76	−103
$Sb + H_2O$	$\rightleftharpoons$	$SbO^+ + 2\,H^+$	$+ 3e^-$	−0,212	−10,7
$H_3SbO_3 + 3\,H_2O$	$\rightleftharpoons$	$H[Sb(OH)_6] + 2\,H^+$	$+ 2e^-$	0,75	25,3
Sn	$\rightleftharpoons$	Sn^{2+}	$+ 2e^-$	−0,1496	−4,75
Sn^{2+}	$\rightleftharpoons$	Sn^{4+}	$+ 2e^-$	0,15	5,1
Sr	$\rightleftharpoons$	Sr^{2+}	$+ 2e^-$	−2,89	−97,6
Tl	$\rightleftharpoons$	Tl^+	$+ e^-$	−0,336	−5,7
Tl^+	$\rightleftharpoons$	Tl^{3+}	$+ 2e^-$	1,247	42,2
V^{2+}	$\rightleftharpoons$	V^{3+}	$+ e^-$	−0,253	−4,3
$V^{3+} + H_2O$	$\rightleftharpoons$	$VO^{2+} + 2\,H^+$	$+ e^-$	0,337	5,7
$VO^{2+} + 3\,H_2O$	$\rightleftharpoons$	$V(OH)_4^+ + 2\,H^+$	$+ e^-$	1,00	16,9
Zn	$\rightleftharpoons$	Zn^{2+}	$+ 2e^-$	−0,7628	−25,8

Таблица П.8. Сравнение пределов обнаружения элементов (нг/мл) различными методами атомной спектроскопии.

Элемент	Символ	Порядковый номер	ААС (пламя)	ААС (электротермич.)	АЭС (пламя)	АЭС (ИСП)	АЭС (ИПТ)	АФС
Азот	N	7						
Алюминий	Al	13	20	0,01	3	0,2	2	0,6
Барий	Ba	56	8	0,04	1	0,01	2	2
Бериллий	Be	4	1	0,003	100	0,003	0,5	1
Бор	B	5	700	15	50	0,1	5	2000
Бром	Br	35						
Ванадий	V	23	20	0,1	7	0,06	8	30
Висмут	Bi	83	0,02	0,1	1000	10	75	2
Вольфрам	W	74	500		200	0,8	30	2000
Гадолиний	Gd	64	1000	8	120	0,4		800
Галлий	Ga	31	50	0,01	5	0,6	38	0,9
Гафний	Hf	72	2000			10		

Продолжение таб. П.8.

Германий	Ge	32	50	0,1	400	0,5		100
Гольмий	Ho	67	40	0,7	10	3		100
Диспрозий	Dy	66	50		20	4	5	300
Европий	Eu	63	20	0,5	0,2	0,06		20
Железо	Fe	26	3	0,01	10	0,09	3	3
Золото	Au	79	6	0,01	500	0,9	3	5
Индий	In	49	20	0,02	1	0,4	38	0,2
Иод	I	53						
Иридий	Ir	77	500	0,5	400	30	60	
Иттербий	Yb	70	5	0,1	0,2	0,02		10
Иттрий	Y	39	50	10	40	0,04	2	500
Кадмий	Cd	48	0,5	0,0002	300	0,07	0,5	0,001
Калий	K	19	1	0,004	0,01	30	0,3	0,8
Кальций	Ca	20	0,5	0,01	0,1	0,001	0,2	0,08
Кислород	O	8						
Кобальт	Co	27	2	0,008	5	0,1	1	2
Кремний	Si	14	20	0,005		2	15	300
Лантан	La	57	2000	0,5	5	0,1	2	
Литий	Li	3	0,3	0,01	0,001	0,02	1	0,4
Лютеций	Lu	71	700		200	0,1		
Магний	Mg	12	0,1	0,0002	1	0,003	0,2	0,1
Марганец	Mn	25	0,8	0,0005	1	0,01	0,5	0,4
Медь	Cu	29	1	0,005	3	0,04	2	0,03
Молибден	Mo	42	10	0,02	10	0,2	0,5	12
Мышьяк	As	33	0,02	0,08	2000	2	45	0,1
Натрий	Na	11	0,2	0,004	0,01	0,1	0,05	0,1
Неодим	Nd	60	600		200	0,3	38	2000
Никель	Ni	28	2	0,05	10	0,2	2	2
Ниобий	Nb	41	1000		60	0,2	38	1000
Олово	Sn	50	10	0,03	100	3	23	10
Осмий	Os	76	80	2	2000	0,4		
Палладий	Pd	46	10	0,05	40	2	9	40
Платина	Pt	78	40	0,2	2000	0,9	26	300
Празеодим	Pr	59	2000		500	10	53	1000
Рений	Re	75	200	10	200	6	23	
Родий	Rh	45	2	0,1	10	30	45	100
Ртуть	Hg	80	0,001	0,2	150	1	75	0,003
Рубидий	Rb	37	0,3		0,02		15	
Рутений	Ru	44	70		300	30	30	500
Самарий	Sm	62	500		50	1	83	100
Свинец	Pb	82	10	0,007	0,2	1	23	10
Селен	Se	34	0,02	0,05		1	45	0,06
Сера	S	16	20	10	1600	30		
Серебро	Ag	47	0,9	0,001	2	0,2	2	0,1

Окончание таб. П.8.

Скандий	Sc	21	20	6	10	0,4		10
Стронций	Sr	38	2	0,01	0,1	0,002	2	0,3
Сурьма	Sb	51	0,1	0,08	200	10	3	0,1
Таллий	Tl	81	9	0,01	2	40		4
Тантал	Ta	73	9			5	75	
Теллур	Te	52	0,002	0,03	600	15	75	0,08
Тербий	Tb	65	600		200	0,1		500
Титан	Ti	22	10	0,3	30	0,03	1	2
Торий	Th	90				3		
Тулий	Tm	69	10		4	0,2		100
Углерод	C	6				44		
Уран	U	92		30	100	1,5	150	
Фосфор	P	15		0,3	100	15	75	
Фтор	F	9						
Хлор	Cl	17						
Хром	Cr	24	2	0,004	1	0,08	1	1
Цезий	Cs	55	8	0,04	0,02			
Церий	Ce	58			150	0,4		500
Цинк	Zn	30	0,8	0,0006	1000	0,1	2	0,0003
Цирконий	Zr	40	350		1000	0,06	8	
Эрбий	Er	68	40	0,3	20	1	5	500

Примечание. ААС — атомно-абсорбционная спектроскопия,
АЭС — атомно-эмиссионная спектроскопия,
ИСП — индуктивно связанная плазма,
ППТ — плазма постоянного тока,
АФС — атомно-флуоресцентная спектроскопия.

Предметный указатель

автоматизация лабораторий, 436
автоматический анализатор, 438
  дискретный, 439
  непрерывный, 441
  параллельный, 447
  центрийужный, 447
  элементный, 447
автопротолиз, 45, 66
адсорбция, 29, 373
аккредитация лабораторий, 510
активационный анализ, 265
активность, 40, 45, 67, 289
  коэффициент, 40
  радионуклидов, 268
альтернативного запрета правило, 187
амперометрия, 314, 477
  детектирование в ВЭЖХ, 364
анализ химический
  «безреактивный», 439
  автоматизация, 37
  валовый, 486
  вещественный, 17
  групповой, 473
  измерение, 29
  качественный, 17, 29, 73
    сероводородная схема, 43, 73
  количественный, 18, 25, 468
  локальный, 488
  методы
    абсолютные, 35
    двумерные, 37
    кинетические, 111
    классические, 38
    относительные, 36
    химические, 38
  многокомпонентный, 425, 427
  полевой, 481
  производственный, 17, 20, 436
  распределительный, 20, 486
  результаты
    обеспечение качества, 30
    обработка, 30, 33
    проверка правильности, 30
  структурный, 17, 19
  экономические характеристики, 37
  элементный, 17
анализатор высоты импульсов, 269
аналитическая функция, 32
аналитический сигнал, 17, 18, 25, 34
  фона, 31, 32, 36
ангармонический осциллятор, 185
антиген, 501
антитело, 501
аргентометрия, 74
Аррениуса уравнение, 114, 115
атомизаторы, 144
  в атомно-абсорбционной спектроскопии, 146
  в атомно-эмиссионной спектроскопии, 156
  плазменные, 158
атомизация электротермическая, 150
атомно-эмиссионная спектроскопия, 488

Бергвельд, 454
биолюминесценция, 227, 230
болометр, 194
Больцмана закон распределения, 149, 156, 232
Бора модель атома, 138, 167
Борна-Оппенгеймера приближение, 185
Брэгга закон, 172, 179
Бунзен, 137, 138
буферная емкость, 55, 57, 60
буферы
  ионные, 293
  кислотно-основные, 54, 85, 288
    применение в анализе, 57
  спектроскопические, 150

валентность электрохимическая, 42
валидация методики, 506
Ван-Деемтера уравнение, 333
Викбольда метод, 28
внешний стандарт, 176
внутренний стандарт, 164, 176, 244, 265, 336
внутрикомплексные соединения, 104
волновое число, 180
вольтаметрия, 314
вольтамперная кривая, 303
вольтамперометрия
  инверсионная, 312
  циклическая, 314
воспроизводимость, 33, 506
вращательная постоянная, 181
вращательная спектроскопия, 180
время удерживания, 328, 382, 400, 401
  исправленное, 329, 340, 350
вторичный электронный умножитель, 254

высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ), 331, 339, 356, 386, 391
выход флуоресценции, 177

газ-носитель, 338, 342, 400
газ-реагент, 257
газоразрядная трубка, 173
газоразрядный счетчик, 344
гальвани-потенциал, 275
гаптен, 502, 504
гармонического осциллятора модель, 185, 198
Гейгера–Мюллера счетчик, 173, 268
Гейровский, 305
генеральная совокупность, 408
гидридная техника, 151
гидродинамический объем, 380
гипотеза статистическая, 412
гиромагнитное отношение, 231
главные компоненты, 430
глубина отбора аналитической информации, 487, 494
гониометр, 172
гравиметрия, 31, 67, 74, 87
градуировка, 30, 506
  многомерная, 208, 221
    непрямая, 427
    обращенная, 428
    прямая, 427
градуировочная функция, 31
Гримма источник, 160

данные аналитические многомерные, 407, 424
  коррелированные, 407
датчики (сенсоры) химические, 21, 315, 316, 451–454, 457–459, 461, 464, 467, 468, 471
Дебая–Шерера порошковая камера, 179
денситометр, 385
детектирование
  в ферментативном анализе, 499
  в хроматографии, 341
    атомно-эмиссионное, 405
    атомно-эмиссионное, 485
    гель-, 381
    катарометр, 405
    кондуктометрическое, 376
    масс-спектрометрическое, 336, 390
    проточные вискозиметры, 381
    рефрактометрическое, 363
    спектроскопическое, 336, 350, 365
    тонкослойной, 384
    флуоресцентное, 372
    флюидной, 390
    фотометрическое, 362, 378
    электрохимическое, 364
детектор излучения микроволнового, 183
детекторы
  в ИК-спектроскопии, 194, 405
  пламенно-ионизационные, 343
  в хроматографии, 342
    термоионные, 344
    в ВЭЖХ, 361
    масс-спектроскопические, 345
    пламенно-ионизационные, 390
    спектроскопические, 345
    флуоресцентные, 363
    электронного захвата, 344
  газоионизационные, 268
  ионов, 254
  многоканальные, 161, 164, 173, 269, 492
  полупроводниковые, 269
  сцинтилляционные, 269
диаграмма распределения, 82
динамический диапазон, 25
диодная линейка, 136, 215, 224, 336, 362, 468, 471
дипольный момент, 180, 187, 190
дискриминирующая функция, 434
дисперсионный анализ, 415
  многоуровневый, многофакторный, 418
дисперсия, 34, 415
  внутрилабораторная, 415
  зон в ПИА, 444
  межлабораторная, 415
  остаточная, 426
  света, 124
  сравнение, 415
диссоциация электролитическая, 41
дифракционные решетки, 132, 152, 194, 215
  голографические, 134
  эшелетты, 133, 161
  эшелле, 161, 166
дифференциальная сканирующая калориметрия, 119
дифференциальный термический анализ, 118
диффузия, 279, 306, 333, 373, 376, 444
диффузное отражение, 208
добавок метод, 32
доверительная вероятность, 35
доверительный интервал, 35
Допплера эффект, 145
Дрегера индикаторные трубки, 71

дуговой разряд, 157
Дюана–Ханта уравнение, 171

емкость ионообменников, 376
емкость электрическая, 472

жесткого волчка модель, 181, 185
жесткость воды, 76, 87

закон действующих масс, 39–41, 48, 49, 67
  сохранения заряда, 48, 49
    массы, 48, 49
Зеемана эффект, 155

изотахофорез, 394
изотопное разбавление, 265, 271
изоэлектрическая точка, 51, 394
изоэлектрическое фокусирование, 393
ИК-анализатор бездисперсионный, 475, 483
ИК-спектроскопия
  в ближней области, 427, 450, 472–474
  с нарушенным полным внутренним отражением, 464, 471
  с фурье-преобразованием, 422, 471
Ильковича уравнение, 307, 310
индекс полярности Снайдера, 369
индексы удерживания, 350
  Ковача, 350
индикаторная реакция, 499
индикаторные бумаги, 482
  трубки, 479, 481
индикаторы
  в комплексонометрии, 85
  кислотно-основные, 62, 440
  окислительно-восстановительные, 95
  осадительные, 75
индуктивно связанная плазма, 265
интеграл Гаусса, 411
интерферометр Майкельсона, 195
ионизационная камера, 173
ионная ловушка, 253, 254
ионная сила, 68, 114, 289, 291
ионное произведение воды, 45, 48
ионный обмен, 29, 97, 108, 289, 374
ионообменники, 108, 374
  жидкие, 106, 292
ионофор, 292
искровой разряд, 158
испускание света, 153
  и поглощения, закон соответствия, 137
источник ионизации, 248, 254

Калмана фильтр, 420
калориметрия, 477
катализатор, 114, 116
катарометр, 342
качество вод, оценка, 65
квазимолекулярный пик, 258, 259
квантовое число
  вращательное, 181
  главное, 138
  колебательное, 184, 225
  магнитное, 231
  побочное, 139
  спиновое, 140, 231
квантовый выход люминесценции, 227, 229
Кирхгоф, 137, 138
Кларка датчик, 315, 477
классификация данных, 428
кластерный анализ, 431
Клаузиуса–Клапейрона закон, 352
клистрон, 183
Кнаппа устройство, 27
колебания молекул, 183–207
колонки хроматографические, 341
  для ВЭЖХ, 361
  емкость, 346
  капиллярные, 341, 342, 346, 353, 390
  капилярные, 346
  набивные, 341, 346, 353
колонока хроматографическая
  набивная, 400
Колтупа таблицы корреляционные, 203
Кольрауша закон, 282
комбинационное рассеяние, 186
  стоксовы и антистоксовы полосы, 187
комплексонометрия, 83
комплексы хелатные, 77
конвекция, 278, 444
кондуктометрия, 283, 376
  детектирование в ВЭЖХ, 364
константа
  автопротолиза, 66
  ангармоничности, 185
  кислотности, 46
  окислительно-восстановительного равновесия, 88, 91
  основности, 46
  распределения, 98, 105
  устойчивости, 78
    условная, 79, 81, 82
  экранирования, 237

экстракции, 105
контрольная карта, 508
контрольный опыт, 220
концентрирование, 28, 97
электрохимическое, 312
Косселя–Зоммерфельда правило сдвига, 139
кофактор, 496
кофермент, 496
коэффициент
Мартина, 339
диффузии, 303, 307, 333, 339, 388, 391
емкости, 329, 335, 368, 370, 386
крутизны, 288
побочных реакций, 80, 85
поглощения, 153, 222, 223
массовый, 166, 175
молярный, 218, 220, 221
разделения, 100, 110
распределения, 100, 103, 105, 110, 328, 339, 352, 379, 382, 386
рассеяния, 223
селективности, 37, 109, 330, 335, 368, 370, 391
потенциометрический, 295
удерживания (R_f), 385
относительный, 387
чувствительности, 31, 32, 36
экстракции, 100
Крейга процесс, 325
кривая титрования
амперометрического, 317
кислотно-основного, 58
комплексонометрического, 84
окислительно-восстановительного, 93
осадительного, 75
кристалл-анализатор, 170, 172
Кубелки–Мунка функция, 208, 222, 387
кулонометрия, 31, 273, 321, 483
гальваностатическая, 323
детектирование в ВЭЖХ, 364
потенциостатическая, 321
кюветы, 134, 208, 215, 217, 440
для ИК-спектроскопии, 192

лабораторный робот, 448
лазер, 127, 187, 196, 197, 258, 487
Ламберта–Бера закон, 144, 153, 208, 220–222, 227, 427, 462
лампа
вольфрамовая, 191, 215
галогеновая, 215
дейтериевая, 215
разрядная безэлектродная, 146, 154
ртутная, 191, 197
с полым катодом, 144, 145, 152, 154, 156, 160
Левича уравнение, 310
летучесть, 340
линия спектральная, 142
«последняя», 165
интенсивность, 142, 174, 182
почернение, 164
уширение
доплеровское, 153
естественное, 145
логарифмические диаграммы, 52
Льюиса уравнение, 68
Лютера правило, 95

магнитный момент ядерный, 231
масс-спектрометр, 248, 400
квадрупольный, 253, 401, 404
с двойной фокусировкой, 251
с фурье-преобразованием, 254
масс-спектрометрия, 248, 350, 400, 481, 488
в тлеющем разряде, 490
вещественный анализ, 264
времяпролетная, 253
вторичных ионов, 265, 486, 487, 489
ионизация
химическая, 257
распыленных нейтральных частиц, 490
сочетание с хроматографией, 253, 264
тандемная, 265, 405
математическое моделирование, 424
матрица
расстояний, 432
пробы, 29, 32
матричные эффекты, 175
Маттауха–Герцога геометрия масс-анализатора, 252, 265
межлабораторные испытания, 35, 507
мембрана
газопроницаемая, 315, 452
ионселективная, 287, 455, 463
полупроницаемая, 316, 440
«мертвое» время, 329
металлоиндикаторы, 85, 86
метиловый оранжевый, 65
метод *ближайших соседей*, 435
методика анализа стандартная, 22
механизация лабораторий, 436

миграция, 279, 392
Миллера индекс, 172
Михаэлиса – Ментен теория ферментативных реакций, 497
Мозли закон, 171
молекулярная эксклюзия, 378
молекулярно-массовое распределение, 381
монохроматор, 130, 144, 146, 152, 228
  Литтрова, 195
  Пашена–Рунге, 161
  Черни–Тернера, 160
  Эберта, 160
  в ИК-спектроскопии, 194
  дисперсия, 133
  разрешающая способность, 133

напряженность электрического поля, 280
нейтронно-активационный анализ, 270
неподвижная фаза, 325, 340, 342, 345, 348, 353, 366, 378, 379, 383, 390, 477
  нормальная, 368
  носители, 346
  обращенная, 366
  химически закрепленная, 366
  химически привитая, 348
  хиральная, 372
непрерывный проточный анализ, 442
Нернста
  закон распределения, 41, 98
  уравнение, 88, 275, 277, 286, 290, 306, 452, 456
  штифт, 191
нефелометрия, 223
Никольского уравнение, 295
Нира–Джонса геометрия масс-анализатора, 252

образец сравнения, 337, 506
одноименный ион, эффект, 70
оже-эффект, 168, 267, 491
окислительно-восстановительные реакции, 87
октановое число, измерение, 473
оптическая плотность, 153, 217
«оптический насос», 128
оптроды, 461
  ионселективные, 463
осаждение, 28, 80
  применение для разделения, 73
Оствальда закон разбавления, 42, 47
отбор пробы, 22, 23
отгонка, 28
отражение света
  диффузное, 222
  зеркальное, 222
  полное, 125

Паули принцип, 225
перенапряжение, 302, 304
период полураспада, 268
плазма
  индуктивно связанная, 158, 163
  как источник атомизации, 166
  микроволновая, 158, 159
  постоянного тока, 158, 159
пламенно-инжекционная техника, 151
пламя как источник атомизации, 143, 147, 156
Планка
  закон излучения, 191
  постоянная, 126
плотность вероятности, 408
поверхностные
  акустические волны, 467
  световые волны, 464
поглощение фоновое, 154–155
погрешность, 33
  закон распространения, 34
  кислотная, 288
  общая, 34
  систематическая, 33
  случайная, 33, 36
  щелочная, 288
подвижная фаза, 325, 338, 355, 358, 368, 370, 376, 380, 383, 388, 390
подвижность ионов, 280, 392
показатель
  преломления, 124
  титрования, 62
полевой транзистор, 454
поляризация
  света, 187
  электродов, 284, 302, 473
поляризуемость молекулы, 187
полярографическая волна, 305
  кислорода, 308
полярографические максимумы, 308
полярография, 305
  импульсная, 311
  качественный анализ, 306
  количественный анализ, 307
  практическое применение, 309
  селективность, 309
  чувствительность, 309
постоянная

Фарадея, 303, 307, 321
решетки, 172
ячейки, 284
потенциал
асимметрии, 288
пика, 312
полуволны, 306, 312
электродный
равновесный, 89
стандартный, 89, 306
потенциометрия, 95, 286, 477
погрешность, 299
прямая, 287
правила отбора
в спектроскопии ЯМР, 233
вращательные переходы, 182
колебательно-вращательные переходы, 185
колебательные переходы, 185
электронные переходы, 139, 142, 210
правильность, 33, 35, 506
предел обнаружения, 18, 36, 506
предельный диффузионный ток, 306, 307, 310, 315, 317, 364
предколонка (в ВЭЖХ), 357, 368, 477
преломление света, 124
преобразование Адамара, 424
преобразование Фурье, 235, 242, 245, 404, 421
дискретное, 422
обратное, 423
прецессия ядерная, 235
приборы
с зарядовой связью, 162, 166
с переносом заряда, 136
призмы, 132, 194
признак классификационный, 429
пробоподготовка, 26, 92, 445, 469
произведение растворимости, 41, 67, 72, 297
концентрационное, 68
термодинамическое, 67
условное, 80
пропорциональный счетчик, 173, 410
проточно-инжекционный анализ, 443, 470
Пуассона закон распределения, 268

рабочий диапазон, 25, 506
равновесные концентрации, зависимость от pH, 51
радиоактивность, 265, 503
естественная, измерение, 269
радионуклид, 266, 269
разделение, 28, 97
процесс Крейга, 102
электрофоретическое, 50
разрешение, 37, 250, 259, 421
геометрическое, 486
распознавание образов, 428
распределение случайной величины, 407–412
распределительная диаграмма, 58
Рассела–Саундерса связь, 142
рассеяние света, 125, 129, 222
раствор сравнения, 217
растворимость, 69–72
расчет pH, 47–50, 54
Рауля закон, 339
регрессионный анализ, 425
резонанс магнитный, 233, 237
релаксация ядерная, 234
Релея
закон, 153
эффект, 186
Рендлса–Шевчика уравнение, 313
рентгеновская спектроскопия, 166
детекторы, 172
качественный анализ, 174
количественный анализ, 175
рентгеновская
трубка, 170, 492
флуоресценция, 168
эмиссия, 168
рентгеновское излучение, 166, 267, 488
рентгенодифракционный анализ, 179
рентгеноструктурный анализ, 179
рефрактометрия, 125, 474
Роуланда круг, 160
ряд напряжений металлов, 89

самопоглощение, 228
сверхкритическое (флюидное) состояние, 388
световод, 459
светопоглощение, измерение, 215
в отраженном свете, 216
светофильтр, 130, 215
сдвиг полос поглощения
батохромный, 212, 214
гипсохромный, 212
селективность, 36
селективный мониторинг ионов, 401, 481
сепаратор, 400, 402
сечения захвата нейтронов, 270
сигнал фона, 268, 421
сигнал–шум отношение, 234
скорость счета, 175, 268, 271, 492

соосаждение, 28
сопротивление
  массопереносу, 333
  электрическое, 279
сорбция, 29
спад свободной индукции, 235, 247
спектральная ширина, 134
спектрометр
  ЯМР, 242
  атомно-абсорбционный, 144
  для атомной спектроскопии, 160
  инфракрасный, 191
  комбинационного рассеяния, 197
  микроволновый, 183
  рентгеновский, 170
  флуоресцентный, 228
  фосфоресцентный, 228
  электронный, 491
спектроскопия
  атомная, 40
  атомно-абсорбционная
    гидридная техника, 405
  атомно-эмиссионная, 400
  атомно-абсорбционная, 144, 488
    источники излучения, 144
  атомно-эмиссионная, 156
    детектирование сигнала, 162
    качественный анализ, 165
    количественный анализ, 163
    с ИСП, 470
  оже-электронная, 494
  оптическая, 126
    источники излучения, 127
  УФ-видимая, 400
  фотоэлектронная, 490
  электронная, 486, 490
  ЯМР, 224
    двойной резонанс, 245
    двумерная, 247
    импульсная, 242, 247, 422
    количественный анализ, 244
    развязка от протонов, 245
    ядерный эффект Оверхаузера, 246
спектры молекул
  электронные, 209
  ЯМР, 242
  атомные, 138
    серийная структура, 138
  вращательные, 180
  колебательно-вращательные, 185
  колебательные, 183
    обертон, 190
  линейчатые, 138, 145
  непрерывные, 138, 144
  полосатые, 138
спин ядерный, 231
спин-спиновое взаимодействие, 239, 240, 243, 245, 247
среднее значение, 33, 408
  сравнение, 415
стандартное отклонение, 34, 408, 506
  методики, 34
  относительное, 34
  среднее, 415
стандартные образцы, 35, 177, 507
стандартные растворы, 64, 74
степени свободы движения, 189
степень диссоциации, 42, 99, 281, 283, 285
  в пламени, 148
  кислот и оснований, 47
Стокса закон, 281
Стьюдента коэффициент, 35, 508

терм
  вращательный, 181
  колебательно-вращательный, 185
  колебательный, 184
термогравиметрия, 117
тест статистический, 412
  согласия, 426
  Стьюдента
    простой, 412
    расширенный, 414
  Фишера, 415, 417
тест-методы, 479
Тиндаля эффект, 186
титриметрия, 31
титрование
  амперометрическое, 317
  биамперометрическое, 318
  вольтаметрическое, 320
  заместительное, 87
  кислотно-основное, 483
  кислотно-основное, 58, 285
    в неводных растворителях, 66
  комплексометрическое, 76, 83, 87, 278
  кондуктометрическое, 284
  кулонометрическое, 323, 484
  окислительно-восстановительное, 93
  осадительное, 67, 74, 285
  по Фишеру, 320

потенциометрическое, 298
тлеющий разряд, 160, 265
ток
емкостный, 309
каталитический, 309
обмена, 301
остаточный, 309, 312, 316
тормозное излучение, 138, 171
точка эквивалентности, 58

удерживаемый объем, 338, 352, 379, 381
исправленный, 338, 350
удельный, 339
чистый, 339
уровень значимости, 413
уширение хроматографических пиков, 328, 330, 332, 347, 391
УФ-видимая спектрометрия, 209
качественный анализ, 224
количественный анализ, 217
многокомпонентный анализ, 221
отражательная, 222
погрешность измерения концентрации, 215
реагенты, 219
селективность, 220
чувствительность, 219

Фарадея закон, 321
Фика закон, 279, 303
ферменты, 115, 117, 453, 496
фильтрация данных, 419
метод Савицкого-Голея, 420
метод скользящего среднего, 419
рекурсивная, 420
с предварительным преобразованием, 421
с фурье-преобразованием, 423
Фишера реактив, 320
флюидная фаза (флюид), 388
фотодиод, 135, 215
фотометр, 459, 470, 474
фотопластинки, 162, 164
фотоэлектронные умножители (ФЭУ), 135, 144, 152, 163, 215
фотоэлемент, 135, 215
фотоэффект, 135
фрагментация, 258, 255, 259, 260
Франка–Кондона принцип, 211
Фурье преобразование, 196

Шредингера уравнение, 184

характеристическое рентгеновское излучение, 171
хелаты, 104, 106
хемилюминесценция, 224, 230
хемирезистор, 458
хемометрика, 208, 407
многомерные методы, 424
хеморецептор, 459, 461
химическая реакция
гетерогенная, 41
гомогеная, 40
использование в анализе, 38
каталитическая, 115
кинетические уравнения, 112
скорость, 39, 111, 116
ферментативная, 112
энтальпия, 118, 119
химический сдвиг, 236, 243, 246, 247, 493
химическое равновесие, 38, 111
ионного обмена, 109
кислотно-основное, 71
комплексообразование, 78, 92
константа, 39
окислительно-восстановительное, 90
осаждения, 67
протолитическое (кислотно-основное), 44
хромато-масс-спектрометрия, 249, 401, 470
интерфейс
ионизация при атмосферном давлении, 403
струйный, 402
термораспыление, 403
электрораспыление, 403
ионизация химическая, 402
хроматограмма, 328
внешняя, 325
внутренняя, 325, 337, 383, 385
хроматограф
газовый, 340
жидкостный высокоэффективный, 357, 443
насосы, 359
хроматографические параметры, 328
хроматографический анализ
качественный, 336
количественный, 337
хроматография, 29, 97, 325
адсорбционная, 326, 376
бумажная, 383
газо-адсорбционная, 338, 342
газоадсорбционная, 353

газовая, 40, 159, 326, 337, 338, 400, 448, 470
капиллярная, 400, 481
сочетание с ИК-спектроскопией, 404
сочетание с масс-спектроскопией, 400
газожидкостная, 338
гель-, 356, 378, 391, 480
детекторы, 159
жидкостная, 284, 326, 332, 337, 355, 400
адсорбционная, 373
высокоэффективная (ВЭЖХ), 224, 356, 478, 485
классическая, 356, 366
сочетание с масс-спектрометрией, 402
ион-парная, 371
ионная, 284, 356, 374, 375
ионообменная, 221, 356, 374
классическая, 374
мицеллярная электрокинетическая, 398
нормально-фазовая, 356, 366
нормально-фазовая, 371–373, 402
обращенно-фазовая, 356, 366, 371, 402, 403
обращенно-фазовая, 372
плоскостная, 325, 383
производственная, 477
распределительная, 326, 365, 371
сочетание со спектроскопией, 399
теория, 330
тонкослойная, 374, 383
флюидная, 326, 387
элюативная, 326, 374

частота ларморова, 233
частоты колебаний характеристические, 197

экстракт, 98
экстракционные системы, 103
экстракция, 29, 97, 221, 480
жидкостная, 98
изотерма, 98
ионных ассоциатов, 106
комплексов, 104
многократная, 100
сверхкритическая флюидная, 389
сольватов, 107
твердофазная, 98
электрическое сопротивление, 290
электрогравиметрия, 273
электрод
вспомогательный, 315, 321
второго рода, 276, 305
индикаторный, 275, 286
ионселективные, 288
ионселективный, 449, 451–453
каломельный, 275, 277, 286, 305
поляризуемые, 303
поляризуемый, 318, 320
рабочий, 303, 315, 321
ртутный, 304
сравнения, 275, 286, 290, 303, 321, 452
стандартный водородный, 275
стеклянный, 287, 289
хлоридсеребряный, 275, 277, 286, 305, 315
электродвижущая сила, 275
электродная реакция, 274
электродный потенциал, 275
электролиз, 273, 284
электролитическое выделение, 29
электролиты, 41, 279
слабые, 282
электромагнитный спектр, 122
возбуждения флуоресценции, 228
флуоресценции, 226, 228
электронная конверсия, 226, 227
электронно-зондовый микроанализ, 488
электронные переходы молекул, 210–226
электроосмотический поток, 397
электропроводность, 42, 280, 283, 458, 472
электрофорез, 387, 392
зонный, 393
капиллярный, 395
ввод пробы, 396
детектирование, 396
классический, 392
на носителе, 393
фронтальный, 393
электрохимическая ячейка, 274, 286, 321, 452
элюент, 328, 376
элюотропный ряд растворителей, 369
энергия активации, 114, 115
энергия связи электрона, 168
энергоанализатор, 492

Яблонского диаграмма, 225, 227
ядерные реакции, 265
ядерный
магнитный резонанс (ЯМР), 19, 230
распад
классификация, 266
скорость, 267
реактор, 270

Заявки на книги присылайте по адресу:
125319 Москва, а/я 91
Издательство «Техносфера»
e-mail: knigi@technosphera.ru
sales@technosphera.ru
факс: (495) 956 33 46

В заявке обязательно указывайте
свой почтовый адрес!

Подробная информация о книгах на сайте
http://www.technosphera.ru

М. Отто
Современные методы аналитической химии
3-е издание

Перевод – А.В. Гармаш
Компьютерная верстка – С.А. Кулешов
Дизайн – И.А. Куколева
Дизайн книжных серий – С.Ю. Биричев
Корректор – Г.В. Ляшенко
Выпускающий редактор – О.Н. Кулешова
Ответственный за выпуск – О.А. Казанцева

Формат 70 x100/16. Печать офсетная
Гарнитура Computer modern LaTeX
Печ.л 34. Тираж 3000 экз. (1-й завод 1500 экз.) Зак. № 3406.
Бумага офсет №1, плотность 65 г/м^2

Издательство «Техносфера»
Москва, ул. Краснопролетарская, д. 16, стр.2

Диапозитивы изготовлены ООО «Европолиграфик»

Отпечатано в ООО ПФ «Полиграф- Книга»
160001, г. Вологда, ул. Челюскинцев, дом 3

мир
химии

М. ОТТО
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ
АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ
3-Е ИЗДАНИЕ



МАТТИАС ОТТО – ПРОФЕССОР ТЕХНИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ГОРНОЙ АКАДЕМИИ ФРАЙБЕРГА (ГЕРМАНИЯ)

ТРЕТЬЕ ИЗДАНИЕ ИЗВЕСТНОГО УЧЕБНИКА – ПУТЕВОДИТЕЛЬ ПО МЕТОДАМ ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

интернет-магазин
OZON.ru
30472933

ISBN 978-5-94836-192-5
9 785948 361925

ТЕХНОСФЕРА