

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
Высшего профессионального образования  
**Воронежский государственный аграрный университет  
им. императора Петра I**

*О. В. Перегончая, С. А. Соколова*

# **АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

## **ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ**

### **МЕТОДЫ АНАЛИЗА**

#### **Учебное пособие**

для студентов *факультета технологии и товароведения*, обучающихся по направлениям:

110900.62 «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции»,

260100.62 «Производство продуктов питания из растительного сырья»,

100800.62 «Товароведение»;

а также для студентов *факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства*, обучающихся по специальности

111801.65 «Ветеринария»

и по направлениям:

111100.62 «Зоотехния»,

111900.62 «Ветеринарно-санитарная экспертиза».

**ВОРОНЕЖ**  
**2013**

Печатается по решению редакционно-издательского совета ФГБОУ ВПО  
«Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I»

УДК 543 (075)  
ББК 24.4я73  
П 27

Перегончая О.В., Соколова С.А. Аналитическая химия. Инструментальные методы анализа: учебное пособие. – Воронеж: ФГБОУ ВПО ВГАУ, 2013. – 122с.

Рецензенты:

доцент кафедры аналитической химии ВГУ, канд. хим. наук Т. В. Елисеева;  
профессор кафедры физики ВГАУ, доктор физ.-мат. наук А. Ф. Клинских.

Настоящее пособие предназначено для студентов факультета технологии и товароведения, а также факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства.

В учебном пособии представлена классификация современных методов инструментального анализа, их краткая характеристика и основные области применения. Даны необходимые сведения о метрологических характеристиках и математической обработке результатов анализа. Изложены теоретические основы принципов работы современных приборов, что позволяет студентам сформировать целостную картину возможностей аналитической химии при определении качественного и количественного состава природных объектов и технологических смесей.

Материал изложен в соответствии с последовательностью работ, представленных в лабораторном практикуме. В конце каждого тематического раздела сформулированы контрольные вопросы и упражнения, что позволяет студентам закрепить теоретический материал. Выполнение данных заданий, а также тестов итогового контроля, приведённых в конце пособия, способствует прочному усвоению материала, развивает самостоятельные навыки работы студентов.

Табл. 5. Ил. 26. Библиогр.: 11 назв.

© Перегончая О.В., Соколова С.А., 2013  
© ФГБОУ ВПО ВГАУ им. императора Петра I

## Предисловие

Настоящее пособие предназначено для студентов факультета технологии и товароведения, обучающихся по направлениям: 110900.62 «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции», 260100.62 «Производство продуктов питания из растительного сырья», 100800.62 «Товароведение», а также для студентов факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства, обучающихся по специальности 111801.65 «Ветеринария» и по направлениям: 111100.62 «Зоотехния», 111900.62 «Ветеринарно-санитарная экспертиза».

Современное развитие аналитических методов определения веществ и анализа природных и технологических смесей происходит в направлении автоматизации и компьютеризации аналитических операций. Подобные тенденции требуют подготовки специалистов, хорошо ориентирующихся в основных принципах идентификации и количественного определения соединений и возможностях практического применения тех или иных методов инструментального анализа. Цель данного издания заключается в том, чтобы познакомить читателей с разнообразием существующих физических и физико-химических методов анализа и их применением на практике.

В учебном пособии представлена классификация современных методов инструментального анализа, их краткая характеристика и основные области применения. Даны необходимые сведения о метрологических характеристиках в количественном анализе и математической обработке результатов измерений. Изложены теоретические основы принципов работы современной аппаратуры. Все это позволяет студентам сформировать целостную картину возможностей аналитической химии при определении качественного и количественного состава природных объектов и технологических смесей.

Материал изложен в соответствии с последовательностью работ, представленных в лабораторном практикуме. В конце каждого тематического раздела сформулированы контрольные вопросы и упражнения, что позволяет студентам закрепить теоретический материал. Выполнение данных заданий, а также тестов итогового контроля, приведённых в конце пособия, способствует прочному усвоению материала, развивает самостоятельные навыки работы студентов. На последних страницах приводится литература, а также ссылки на интернет-ресурсы, использованные при подготовке данного издания.

*Авторы выражают особую благодарность доценту кафедры аналитической химии ВГУ к.х.н. Елисейевой Татьяне Викторовне за ценные советы и конструктивное обсуждение материала.*

# 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

*Аналитическая химия* – наука о принципах и методах определения состава объектов, а также их структуры.

Основными задачами анализа является установление *качественного* (обнаружение отдельных компонентов и идентификация соединений) и *количественного* (определение концентрации или массы компонентов) состава исследуемого образца. Некоторые методы позволяют одновременно проводить как качественные, так и количественные определения. Например, снятие спектральной характеристики пробы образца позволяет по положению пиков поглощения (или эмиссии) идентифицировать состав пробы, а высота пика пропорциональна количеству соответствующего компонента в пробе.

В зависимости от природы определяемого компонента различают *элементный, функциональный, молекулярный, фазовый* и другие виды анализа.

При количественном определении в зависимости от массы анализируемого образца выделяют *макрометоды* (масса пробы более 0,1 г), *полумикрометоды* (0,01-0,1 г), *микрометоды* (0,001-0,01 г), *субмикрометоды* (0,1-1 мг), *ультрамикрометоды* (менее 0,1 мг). Компоненты анализируемого образца по их относительному, содержанию условно делят на *основные* (составляют 1-100% по массе), *неосновные* (0,01-1% по массе) и *следовые*, или *примесные* (менее 0,01% по массе).

При выполнении анализа экспериментатор нередко сталкивается с необходимостью разделения анализируемой смеси, удаления мешающих компонентов и концентрирования определяемого вещества. С этой целью в аналитической химии применяют методы *экстракции, диализа, электрофореза, ионного обмена* и др.

Для классификации методов анализа могут быть выбраны самые разные критерии. Например, по типу анализируемых веществ различают анализ металлов, анализ воды, газовый анализ, силикатный анализ и т.д.

Все методы аналитической химии основаны на измерении физического свойства системы, зависящего от состава пробы. Подобное измеряемое свойство называют *аналитическим сигналом*.

*Аналитический сигнал* – это значение физической величины, которое функционально связано с содержанием определяемого

**компонента.** При количественных определениях используют зависимость величины аналитического сигнала от концентрации вещества, называемую *уравнением связи*. В общем виде уравнение связи имеет вид:  $P = f(c)$ , где  $P$  – измеряемое свойство;  $c$  – концентрация. Явный вид функциональной зависимости может быть линейным, логарифмическим и т.д.; в качестве уравнения связи могут быть использованы как теоретически обоснованные соотношения, так и эмпирически найденные зависимости между аналитическим сигналом и концентрацией определяемого компонента.

Наиболее общий характер классификации методов анализа основан на природе изучаемых свойств вещества. Различают *физические*, *физико-химические* и *химические* методы анализа. Физические и физико-химические методы нередко называют *инструментальными* методами анализа, из-за того, что при выполнении измерений обязательно используется специальная аппаратура.

### 1.1. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ В КОЛИЧЕСТВЕННОМ АНАЛИЗЕ

Основной задачей количественного анализа является получение точных и достоверных результатов. Разнообразие методов, приёмов и способов аналитических определений приводит к необходимости сравнения данных, получаемых разными методиками. В данном разделе приводятся определения основных метрологических характеристик, применяемых для сравнения точности и достоверности методов анализа.

Основная особенность аналитических определений состоит в том, что их результат зависит от общего химического состава и физических свойств анализируемого объекта (так называемый матричный эффект). Поэтому, например, методику определения меди в стали нельзя использовать для определения меди в руде. Кроме того, анализ, как правило, многостадийный процесс. Сначала обычно отбирают пробу, часто эту пробу разлагают (вскрывают), затем иногда следует разделение компонентов, концентрирование и другие операции. Заключительная стадия анализа включает измерения аналитического сигнала – физической величины (например, интенсивности спектральных линий, силы электрического тока), с которой корреляционно связано содержание определяемого компонента, и расчёт – переход от значения сигнала к содержанию. Каждая из стадий характеризуется своей погрешностью, которая входит в общую погрешность

анализа.

Для оценки погрешности измерения используют абсолютную и относительную ошибки. Абсолютную ошибку находят как разность между истинным значением измеряемой величины ( $\mu$ ) и результатом измерения ( $x$ ):  $\Delta x = |\mu - x|$ . Она характеризует погрешность метода, который был выбран для измерения.

Относительную ошибку ( $\varepsilon$ ) вычисляют как отношение абсолютной ошибки к истинному значению величины, выражая в долях или в процентах:

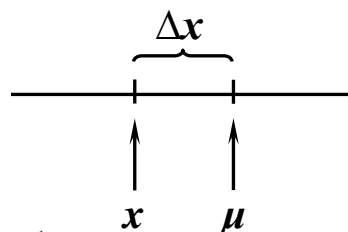
$$\varepsilon = \frac{|\mu - x|}{\mu} \cdot 100\%$$

Относительная ошибка характеризует качество измерений.

Основной причиной возникновения погрешностей являются, грубые, систематические и случайные ошибки.

*Грубые ошибки (промахи)* возникают при резком нарушении условий измерений. Это ошибки, связанные с поломкой прибора, грубым просчетом экспериментатора, каким-либо посторонним вмешательством. Промахи появляются обычно не более чем в одном-двух измерениях и резко отличаются по величине от прочих ошибок. Чтобы избежать или максимально уменьшить число промахов необходимо точно следовать указаниям методики и аккуратно выполнять каждую операцию анализа.

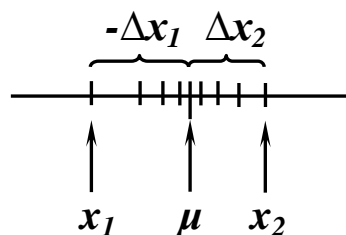
*Систематической ошибкой* называют составляющую погрешности анализа, остающуюся постоянной при повторных измерениях одной и той же величины.



Систематическая ошибка вызывается определёнными причинами, связанными с: 1) неточностью аппаратуры (*приборная ошибка*), например, смещение нуля шкалы прибора или неравномерность сечения измерительного сосуда и т.д., 2) несовершенством методики измерений, например, реальная установка в чем-то отличается от идеальной или не совсем верна теория явления, т.е. не учтены какие-то эффекты.

Полностью устранить систематическую ошибку нельзя, но для её выявления и уменьшения можно использовать следующие приёмы: 1) учет класса точности используемой аппаратуры, 2) введение поправок, которые устанавливаются другим способом, 3) дополнительные исследования, путём проведения измерений совсем другим методом и в других условиях.

*Случайной ошибкой* называют составляющую погрешности, возникающую в результате случайных причин: незначительного изменения температуры, движения воздуха, сотрясения фундамента здания, случайного колебания стрелки прибора и т.п. Случайные ошибки возникают в результате одновременного влияния многих источников, каждый из которых сам по себе оказывает ничтожное влияние на результат измерений, но суммарное воздействие всех источников может оказаться достаточно сильным. В результате при проведении с одинаковой тщательностью и в одинаковых условиях повторных измерений одной и той же величины мы получаем результаты, одни из которых отличаются друг от друга, а другие совпадают. Эти отклонения относительного истинного значения могут быть как в большую, так и в меньшую сторону.



Исключить случайные погрешности отдельных измерений невозможно, но математическая теория случайных явлений позволяет уменьшить влияние этих погрешностей на окончательный результат измерений. Для этого необходимо произвести не одно, а несколько измерений, причем, чем меньшее значение погрешности мы хотим получить, тем больше измерений нужно провести.

Следует иметь в виду, что если случайная погрешность, полученная из данных измерений, окажется значительно меньше погрешности, определяемой точностью прибора, то, очевидно, нет смысла пытаться ещё уменьшить величину случайной погрешности – всё равно результаты измерений не станут от этого точнее. Наоборот, если случайная погрешность больше приборной (систематической), то измерение следует провести несколько раз, чтобы уменьшить значение погрешности для данной серии измерений и сделать эту погреш-

ность меньше или одного порядка с погрешностью прибора.

В большинстве случаев случайные ошибки подчиняются нормальному закону распределения, установленному Гауссом. Графически его можно представить так: по оси абсцисс откладывают значения случайной ошибки определяемой величины ( $\Delta x$ ), а по оси ординат – вероятности получения их при измерениях  $y$  (рис.1).

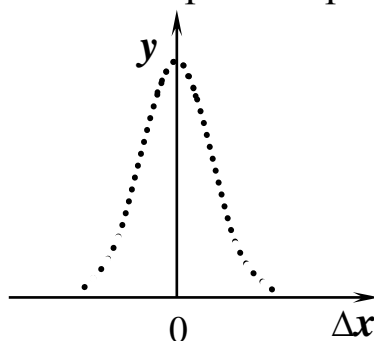


Рисунок 1. Нормальное распределение случайных ошибок

Как видно из рис.1, функция имеет максимальное значение при  $\Delta x = 0$ . Поскольку кривая распределена симметрично относительно оси ординат, можно утверждать, что равные по величине, но противоположные по знаку ошибки равновероятны. Кроме того, появление малых отклонений от истинного значения более вероятно. Это дает возможность в качестве истинного результата измерений использовать среднее значение всех параллельных определений:

$$\mu \cong \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad , \quad (1.1)$$

где  $n$  – число измерений.

Итак, если в одних и тех же условиях проделано  $n$  измерений, то наиболее вероятным значением измеряемой величины будет её среднее значение (арифметическое). Величина  $\bar{x}$  стремится к истинному значению  $\mu$  измеряемой величины при  $n \rightarrow \infty$ .

Для количественной оценки *точности* данной методики существуют такие метрологические характеристики как *воспроизводимость* и *правильность* получаемых результатов.

**Воспроизводимость** характеризует случайное рассеяние результатов относительно истинного (среднего) значения. Иногда, в случае рассеяния результатов, полученных по данной методике в максимально близких условиях, например при параллельных опреде-



лениях, когда интервал времени получения результатов соизмерим с длительностью единичного определения, используют термин «*сходимость*». Для характеристики близости результатов анализа, полученных в разных условиях (различные исполнители, аппаратура, разные периоды времени и т. д.), – термин «*воспроизводимость*». Рассеяние результатов анализа, полученных в разных лабораториях, характеризуется межлабораторной воспроизводимостью.

Количественно воспроизводимость оценивают при помощи *стандартного (среднеквадратичного) отклонения*  $S$  или *дисперсии*  $V$  измеряемой величины ( $V = S^2$ ). При сравнении погрешностей различных методик часто пользуются *относительным стандартным отклонением*  $S_r$  (в долях единицы или процентах). Значение  $S$  и  $S_r$  заметно изменяются при изменении содержания компонента в широком диапазоне. В технической документации стандартное отклонение нормируют в зависимости от содержания обычно в виде таблиц, разбивая весь диапазон определяемых содержаний на небольшие интервалы.

Для сопоставления характеристик воспроизводимости результатов анализа, полученных по разным методикам, пользуются  $F$ -распределением. Если найденное из эксперимента значение  $F$  не превышает табличное, различие сравниваемых дисперсий считают незначительным. Это значит, что результаты разных выборок определены с соизмеримой погрешностью и их можно объединять или сравнивать.

При условии соблюдения закона Гаусса и распределения результатов в рассматриваемой совокупности измерений, экспериментально найденное стандартное отклонение отражает точность анализа в виде *доверительного интервала* для условно принимаемой *доверительной вероятности*  $\beta$  (обычно  $\beta = 0,95$ ), т. е. интервала, в котором с данной вероятностью находится истинное значение определяемой величины  $x$ .

**Правильность** характеризует систематическую погрешность – систематическое смещение результатов от действительного (истинного) значения. Для оценки правильности используют разные способы (анализ образца различными методами, межлабораторный анализ, теоретический расчёт и др.).

Таким образом, в целом **точность** измерения характеризуется близостью результатов к истинному значению (правильностью) и случайным рассеиванием результатов относительно среднего ариф-

метического значения – воспроизводимостью.

Потенциальные возможности применения метода анализа данного вещества выражают с помощью **чувствительности** методики, для характеристики которой используют такие параметры как *нижняя граница определяемых содержаний* и *предел обнаружения*. Нижнюю границу определяемых содержаний можно рассчитать, зная экспериментально установленную зависимость относительного стандартного отклонения от концентрации (как концентрацию, соответствующую предельному значению  $S_r$ ). Подобные оценки достаточно просты только для линейных градуировочных функций. В других случаях необходим более сложный расчет погрешностей косвенных измерений.

Потенциальные возможности определения по данной методике минимальных содержаний компонентов характеризуют пределом обнаружения – наименьшей концентрацией  $c_{мин}$  (относительный предел обнаружения) или наименьшей массой  $q_{мин}$  (абсолютный) компонента, при которой его можно обнаружить с заданной доверительной вероятностью.

Автоматизация анализа и широкое использование компьютерной техники позволяют улучшить метрологические характеристики химического анализа, так как повышается единообразие дозировок, смешения, титрования, фотометрирования и т.п., что приводит к снижению случайных погрешностей анализа. Кроме того, автоматизация обычно повышает скорость выполнения определений и может привести к уменьшению их доверительных интервалов, позволяя увеличить число параллельных определений, выполняемых за фиксированный промежуток времени. При использовании некоторых методов математического моделирования с применением компьютерных программ можно получать более правильную градуировочную характеристику, в значительной мере учесть матричный эффект, воспроизвести действительную форму уравнения связи и обеспечить более высокое разрешение результатов, в результате чего повысить точность анализа, а порой снизить предел обнаружения.

**При обработке результатов прямых измерений по правилам математической статистики предлагается следующий порядок операций:**

1. В измерениях получают ряд значений величины  $x$  – выборку результатов:

$$x_1, x_2, x_3, \dots, x_n,$$

где  $n$  - число измерений.

2. Исключают грубые ошибки с помощью  $Q$  - критерия:

$$Q = \frac{x_1 - x_2}{x_{\max} - x_{\min}},$$

где  $x_1, x_2$  – соседние измерения, одно из которых сомнительно. Если рассчитанное значение  $Q$  больше табличного при заданной доверительной вероятности  $\beta$ , сомнительная величина исключается.

Таблица 1.1 Значения  $Q$  - критерия

$n$	3	4	5	6	7	8	9	10
$\beta = 0,95$	0,94	0,77	0,64	0,56	0,51	0,48	0,46	0,45
$\beta = 0,99$	0,99	0,89	0,76	0,70	0,64	0,58	0,53	0,48

3. Вычисляют среднее арифметическое выборки, исключив грубые ошибки:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n}.$$

4. Находят погрешность отдельного измерения:  $\Delta x_n = \bar{x} - x_n$ , затем вычисляют квадраты погрешностей отдельных измерений и их сумму, заполняя таблицу:

Выборка результатов:	Погрешность отдельного измерения:	Квадраты погрешностей отдельных измерений:
$x_1$	$\Delta x_1$	$(\Delta x_1)^2$
$x_2$	$\Delta x_2$	$(\Delta x_2)^2$
$x_3$	$\Delta x_3$	$(\Delta x_3)^2$
....	....	....
$x_n$	$\Delta x_n$	$(\Delta x_n)^2$
Сумма квадратов погрешностей отдельных измерений:		
$\sum_{i=1}^{i=n} (\Delta x_i)^2 = (\Delta x_1)^2 + (\Delta x_2)^2 + (\Delta x_3)^2 + \dots + (\Delta x_n)^2$		

5. Вычисляют дисперсию  $V$  измеряемой величины для данной выборки

$$V = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} (\Delta x_i)^2}{n-1} .$$

6. Для характеристики воспроизводимости результатов находят стандартное отклонение отдельного измерения  $S = \sqrt{V}$  и относитель-

ное стандартное отклонение  $S_r = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100\%$  .

7. Точность анализа характеризуют доверительным интервалом, для вычисления которого определяют среднеквадратичное отклонение от среднего арифметического

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (\Delta x_i)^2}{n(n-1)}} = \frac{S}{\sqrt{n}} .$$

При заданной доверительной вероятности  $\beta$  по таблице 2 определяют коэффициент Стьюдента  $t$  и рассчитывают полуширину доверительного интервала  $\Delta x = S_{\bar{x}} \cdot t$  (абсолютную погрешность).

Таблица 1.2 Коэффициенты Стьюдента

Число измерений $n$	Значения доверительной вероятности $\beta$			
	0,60	0,80	0,95	0,99
2	1,376	3,078	12,706	63,657
3	1,061	1,886	4,303	9,925
4	0,978	1,638	3,182	5,841
5	0,941	1,533	2,776	4,604
6	0,920	1,476	2,571	4,032
7	0,906	1,440	2,447	3,707
8	0,896	1,415	2,365	3,499
9	0,889	1,397	2,306	3,355
10	0,883	1,383	2,262	3,250

Если величина погрешности результата измерения  $\Delta x$  окажется сравнимой с величиной погрешности прибора  $\delta$ , то в качестве полу-

ширины доверительного интервала вычисляют:

$$\Delta x = \sqrt{(S_{\bar{x}} \cdot t)^2 + \delta^2}$$

8. Окончательный результат записывают в виде:

$$x = \bar{x} \pm \Delta x .$$

9. Оценивают относительную погрешность измерений:

$$\varepsilon = \frac{\Delta x}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

10. При сопоставлении данных, полученных в различных сериях опытов с различной дисперсией, используют  $F$ -критерий (Фишера). Критерий Фишера позволяет сравнивать величины выборочных дисперсий двух рядов наблюдений. Для вычисления нужно найти отношение дисперсий двух выборок, причем так, чтобы бóльшая по величине дисперсия находилась бы в числителе, а мёньшая – в знаменателе:

$$F = \frac{V_1}{V_2} .$$

Таблица 1.3. Значения критерия  $F$  для различных серий опытов с разным числом измерений  $n$

Число измерений $n$	Число серий опытов						
	2	3	4	5	6	8	10
3	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,37	19,39
4	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,84	8,78
5	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,04	5,91
6	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,82	4,68
7	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,15	4,00
9	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,44	3,28
11	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,07	2,91

Если величина  $F$ , рассчитанная для двух сравниваемых серий опытов, не превышает табличное значение, то результаты опытов можно отнести к одной совокупности, т. е. полученные данные можно объединить.

## 1.2. КЛАССИФИКАЦИЯ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

Развитие технологий получения чистых и сверхчистых материалов, необходимость контроля уровня загрязнения окружающей среды, развитие других областей науки и техники приводят к необходимости снижения порога обнаружения до  $10^{-5}$ - $10^{-10}$  % масс. Определение столь малых содержаний веществ классическими методами анализа невозможно. Поэтому примерно с середины XX века быстрыми темпами стали развиваться существовавшие к тому времени (эмиссионная спектроскопия, потенциометрия) и формироваться новые физико-химические и физические методы анализа. Они отличаются экспрессностью, в некоторых случаях возможностью выполнять анализ без разрушения образца и проводить анализ на расстоянии.

Большинство современных измерительных приборов позволяют стандартизировать условия измерений, за счёт чего повышается чувствительность метода анализа. Современная аппаратура, как правило, совмещена с компьютером, благодаря чему существует возможность обрабатывать получаемые результаты с помощью пакета компьютерных программ в процессе анализа, что повышает точность измерений. Тем не менее, почти все инструментальные методы анализа являются относительными, так как требуются стандартные образцы или эталоны. Зачастую недостатком инструментальных методов анализа является их более высокая погрешность измерений (до 10%), что значительно выше погрешности классических химических методов анализа. Однако в области содержаний менее  $10^{-3}$ % масс. классические методы анализа вообще непригодны.

В аналитической практике химические и физико-химические методы часто взаимно дополняют друг друга. Химические методы анализа используют при определении больших и средних содержаний, а физико-химические – для анализа малых и исчезающе малых концентраций. Абсолютные химические методы анализа часто используют для приготовления эталонов, т.е. стандартных образцов, в которых содержание определяемых компонентов устанавливаются с высокой точностью.

Физические и физико-химические методы анализа основаны на зависимости физических свойств вещества от его природы, причём

аналитический сигнал представляет собой величину физического свойства (интенсивности излучения, силы тока, электропроводности, разности потенциалов и др.), функционально связанную с концентрацией или массой определяемого компонента.

В зависимости от природы анализируемых свойств объекта среди инструментальных методов анализа выделяют **спектральные, электрохимические, термические, масс-спектральные, хроматографические, радиометрические методы анализа**, а также методы, основанные на явлениях **магнитного резонанса**.

К спектральным методам анализа относятся: *спектроскопия*, основанная на исследовании испускания и поглощения веществом электромагнитного излучения в различных областях спектра (*рентгеновская и УФ-спектроскопия, фотокolorиметрия, спектрофотометрия, ИК-спектроскопия*); оптические методы анализа: *нефелометрия, турбидиметрия, рефрактометрия, поляриметрия* и др. Развитие спектроскопии магнитного резонанса в конце XX века привело к возникновению методов *ядерного магнитного резонанса (ЯМР)* и *электронного парамагнитного резонанса (ЭПР)*.

К важным физико-химическим методам анализа принадлежат электрохимические методы, использующие измерение электрических свойств веществ (*потенциометрия, кондуктометрия, кулонометрия, вольтамперометрия*).

Успешно развиваются методы, основанные на измерении тепловых эффектов реакций или физических процессов (*термогравиметрия, термический и дифференциальный термический анализ, термометрическое титрование, энтальпиметрия, дилатометрия, катарометрия*).

Основным методом определения изотопного состава элементов и измерения их атомных масс является *масс-спектрометрия*, основанная на ионизации атомов и молекул вещества с последующим разделением ионов в магнитном поле.

Весьма разнообразны хроматографические методы анализа, применяемые для разделения и анализа смесей. В основе хроматографического разделения лежит различная сорбируемость компонентов смеси на неподвижном носителе – *сорбенте*. В процессе хроматографирования так называемая подвижная фаза (*элюент*), содержащая анализируемую пробу, перемещается по сорбенту. В зависимости от агрегатного состояния пробы, элюента и сорбента различают *газовую и жидкостную хроматографию*. По геометрии сорбционного слоя

различают *колоночную хроматографию* и *плоскостную*, частным случаем последней является *бумажная хроматография*. По механизму разделения различают *ионообменную, эксклюзионную, осадочную, адсорбционную и распределительную хроматографии*. В названии методов часто сочетаются различные классификационные признаки хроматографического разделения. Анализ смеси после её разделения на компоненты проводится химическим или физико-химическим методом в зависимости от природы определяемого вещества или используемой аппаратуры.

Почти во всех инструментальных методах анализа применяют два основных приёма: **методы прямых** и **косвенных измерений**.

В прямых методах используют зависимость аналитического сигнала от природы анализируемого вещества и его концентрации. Зависимость сигнала от природы вещества – основа качественного анализа (напр. потенциал полуволны в полярографии и т.д.), а зависимость величины аналитического сигнала от содержания компонента – основа количественного анализа. В некоторых методах связь аналитического сигнала с природой и концентрацией вещества установлена строго теоретически, в других уравнение связи носит эмпирический характер.

К методам **прямых** измерений относятся:

1) *Метод градуировочного графика*, который заключается в измерении интенсивности аналитического сигнала для нескольких стандартных образцов или стандартных растворов с известным содержанием определяемого компонента и построении градуировочного графика в координатах  $P = f(c)$  или  $P = f(\lg c)$ , где  $c$  – концентрация компонента в стандартных растворах или образцах.

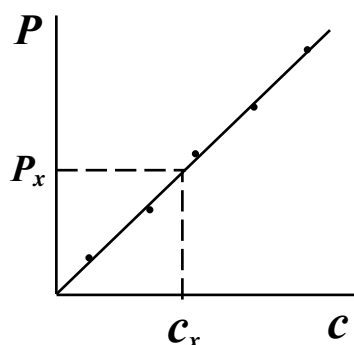


Рисунок 1.1. Вид градуировочной зависимости

В тех же условиях измеряют интенсивность сигнала у анализируемой пробы  $P_x$  и по градуировочному (калибровочному) графику находят концентрацию  $c_x$ . Данный метод применим в случае линейности



уравнения связи.

2) *Метод молярного свойства* или *метод сравнения* применяют в тех случаях, когда уравнение связи имеет линейный вид:  $P=b \cdot c$  и соблюдается достаточно строго. Измеряют аналитический сигнал  $P_{ст}$  у нескольких стандартных образцов или растворов и рассчитывают коэффициент пропорциональности  $b=P_{ст} / c_{ст}$ . Затем в тех же условиях измеряют интенсивность сигнала у анализируемой пробы  $P_x$  и по соотношениям:  $c_x = P_x / b$  или  $c_x = c_{ст} \cdot P_x / P_{ст}$  рассчитывают искоемую концентрацию.

3) *Метод добавок* основан на измерении интенсивности аналитического сигнала пробы  $P_x$  и интенсивности сигнала пробы с известной добавкой стандартного раствора  $P_{x+ст}$ . Концентрацию вещества в пробе рассчитывают по соотношению:  $c_x = c_{ст} P_x / (P_{x+ст} - P_x)$ .

**Косвенными** методами измерения можно считать методы титрования, основанные на измерении физической характеристики системы в процессе проведения аналитической реакции. Интенсивность измеряемого аналитического сигнала  $P$  в зависимости от объёма  $V$  добавленного титранта меняется. По кривой титрования, представляющей собой зависимость  $P=f(V)$ , находят конечную точку титрования и рассчитывают результат по обычным формулам титриметрического анализа.

В настоящее время инструментальные методы анализа развиваются в направлении поиска новых химико-аналитических свойств веществ, увеличения точности анализа, конструирования новых прецизионных аналитических приборов, совершенствования существующих методик и автоматизации анализа. Интенсивно развивается в последнее время *проточно-инжекционный анализ* - один из наиболее универсальных вариантов автоматизированного анализа, основанный на дискретном введении микрообъёмов анализируемого раствора в поток жидкого носителя с реагентом и последующем детектировании смеси тем или иным физико-химическим методом.

### **Контрольные вопросы и задачи:**

1. Чем элементный анализ отличается от молекулярного анализа?
2. Какова масса пробы для анализа образца микрометодом?

3. Чем инструментальные методы анализа отличаются от химических? Каковы преимущества и недостатки инструментальных методов анализа?
4. Перечислите причины возникновения систематических ошибок. Как уменьшить влияние систематической ошибки на результат?
5. Чем грубая ошибка отличается от случайной? Каковы причины случайных ошибок и можно ли их избежать?
6. Какие метрологические характеристики позволяют оценить погрешность результатов анализа?
7. Оцените воспроизводимость (относительное стандартное отклонение  $S_r$ ) и точность (относительную погрешность  $\varepsilon$ ) измерений общей жесткости воды, если студент, проводя титрование, получил следующие результаты: 5,55; 5,35; 5,40; 5,38; 5,43; 5,40; 5,33; 5,45 ммоль/л.
8. Сравните воспроизводимость и точность результатов, полученных студентами разных специальностей при измерении оптической плотности растворов:

№ опыта	1	2	3	4	5	6
D <sub>1</sub> (агрохимик)	0,37	0,35	0,33	0,40	0,30	0,35
D <sub>2</sub> (технолог)	0,35	0,32	0,38	0,40	0,35	0,32

9. Лаборант биохимической лаборатории, оценивая точность измерения глюкозы крови на новом приборе, провёл пять измерений в первый день и пять измерений во второй. Можно ли объединить все данные в одну совокупность измерений? Для ответа на вопрос сравните дисперсии результатов для разных дней по  $F$ - критерию.

№ опыта	1	2	3	4	5
1-й день, ммоль/л	4,37	4,55	4,33	4,70	4,40
2-й день, ммоль/л	4,63	4,82	4,63	5,00	4,75

Оцените точность анализа в разные дни.

10. Назовите методы прямых и косвенных измерений. Как Вы думаете, на результаты каких измерений (прямых или косвенных) большее влияние оказывает приборная ошибка?

## 2. СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

К спектроскопическим методам анализа относят физические методы, основанные на взаимодействии электромагнитного излучения с веществом. Аналитическим сигналом в спектральных методах анализа служит параметр электромагнитного излучения, величина которого зависит от концентрации определяемого компонента – интенсивность излучения, длина или частота характеристической волны, показатель преломления, угол вращения плоскости поляризации света и так далее.

В зависимости от используемой в анализе области электромагнитного излучения спектроскопические методы анализа подразделяют на: **рентгеновские методы анализа, УФ-спектральные, оптические (видимый свет), ИК-спектральные, радиочастотные (ЯМР, ЭПР)**. Поскольку используемые на практике приборы позволяют работать в разных диапазонах спектра четкую границу между УФ-, ИК- и оптической спектроскопией не выделяют:

Длина волны	Диапазон спектра	Методы анализа
0,01 – 100 нм	рентгеновское излучение	Рентгеновская спектроскопия
100 – 200 нм	ультрафиолетовое излучение	Оптические методы анализа
200 – 800 нм	видимый свет	
1000 – 10 000 нм	инфракрасное излучение	
~ 100 000 нм	радиоволны	ЯМР- и ЭПР-спектроскопия

Взаимодействие вещества с электромагнитным излучением приводит к различным энергетическим переходам атомов или молекул. Поглощение энергии происходит при возбуждении элементарной (атомной или молекулярной) системы и приводит к переходу её с более низкого на более высокий энергетический уровень. При переходе элементарной системы из более высокого энергетического состояния в более низкое, часть поглощенной энергии излучается в виде света. Атомы и молекулы могут быть переведены в возбуждённое состояние путём облучения электромагнитным излучением различной частоты, термическим путем, посредством химических реакций, электронного удара и т.д.

Анализируя **электромагнитный спектр вещества** (спектральную характеристику), **представляющий собой функциональную зависимость измеряемой оптической характеристики** (*светопро-*

пускания  $T$  или оптической плотности  $D$ ) от длины волны  $\lambda$  (или частоты  $\nu$ ) электромагнитного излучения (рис.2.1), можно выделить наиболее характерные для данного соединения или вида атомов длины волн – **спектральные линии** (полосы поглощения или испускания).

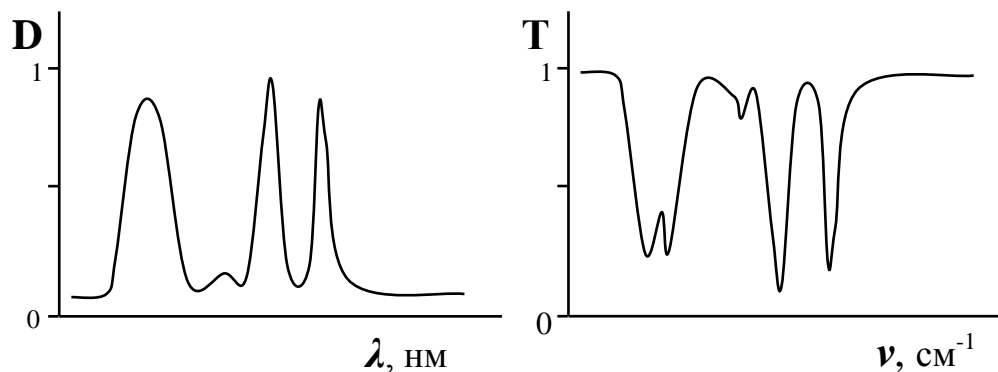


Рисунок 2.1. Вид спектральной характеристики

Наличие в спектре образца характерных спектральных линий свидетельствует о присутствии компонента в пробе, а интенсивность полосы о его количественном содержании. Атомные спектры имеют линейчатый характер и поэтому достаточно селективны. Молекулярный спектр – широкий и слабо структурированный. Это различие определяет разные возможности использования и применения **атомной** и **молекулярной спектроскопии** в аналитической практике.

Спектроскопические методы анализа, основанные на изучении спектров поглощения веществ, называются **абсорбционной спектроскопией**. Методы, основанные на изучении спектров испускания – **эмиссионной спектроскопией**.

## 2.1. АБСОРБЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ

Идентификация определяемых компонентов пробы в абсорбционной спектроскопии основана на сравнении получаемой спектральной характеристики с известными справочными данными. Существуют сводные таблицы и атласы, содержащие информацию о характеристических полосах поглощения или испускания для различных атомов, молекул, функциональных групп и других анализируемых объектов.

Количественная абсорбционная спектроскопия основана на выполнении **основного закона светопоглощения**, или **закона Бугера-Ламберта-Бера**: интенсивность света  $I$ , прошедшего через поглощающую среду, прямо пропорциональна начальной интенсивности

светового потока  $I_0$ , а также зависит от длины волны падающего света, толщины слоя  $l$ , природы и содержания (концентрации  $c$ ) светопоглощающего компонента в растворе:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon \cdot l \cdot c} \quad (2.1)$$

где  $\varepsilon$  – молярный коэффициент светопоглощения, зависящий от природы вещества, длины волны падающего света, температуры и т.д. Экспериментально закон был открыт в 1729г. П. Бугером, теоретически выведен И. Г. Ламбертом (1760г.), для растворов исследован А. Бером в 1852г.

Преобразуя и логарифмируя зависимость 2.1, получаем соотношение:

$$\lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

Величину  $\lg(I_0 / I)$  называют *оптической плотностью раствора* и обозначают  $D$ :

$$D = \varepsilon \cdot l \cdot c \quad (2.2)$$

Таким образом, оптическая плотность раствора зависит только от молярного коэффициента поглощения, толщины слоя раствора и концентрации вещества.

Отношение  $(I/I_0)$  называют *светопропусканием* и обозначают  $T$ :

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{или} \quad T_{\%} = \frac{I}{I_0} \cdot 100\% \quad (2.3)$$

Между оптической плотностью и светопропусканием существует математическая связь:  $D = -\lg T$ . Величина светопропускания  $T$  изменяется от 0 до 1 (или от 0% до 100%), а величина  $D$  – от 0 до  $\infty$  (наиболее достоверными измеряемыми значениями является интервал от 0,1 до 1,0).

Большое значение в спектрофотометрии имеет **закон аддитивности оптических плотностей**. Если закон поглощения света (2.1) строго выполняется, то оптическая плотность смеси ( $D_{см}$ ) нескольких веществ в растворе при заданной длине волны ( $\lambda$ ) складывается из оптических плотностей каждого компонента смеси:

$$D_{см} = D_1 + D_2 + D_3 + \dots + D_n \quad (2.4)$$

где  $D_1, D_2, D_3, \dots, D_n$  – оптические плотности компонентов.

Однако для этого необходимо, чтобы отсутствовало какое-либо взаимодействие между отдельными компонентами смеси, в результате которого возможно изменение их индивидуальных поглощающих

свойств.

**Молекулярная абсорбционная спектроскопия** применяется при анализе сложных веществ, молекулы или группы атомов которых способны к поглощению в различных спектральных диапазонах. В зависимости от конструктивных особенностей и возможностей используемых приборов (*фотометров*) различают методы фотоэлектродиметрии, спектрофотометрии, ИК-спектроскопии, УФ-спектроскопии и т.д.

Методы анализа, использующие излучение в УФ- и видимой областях спектра, обычно называют **спектрофотометрией**. Этот вид анализа основан на измерении поглощения *монохроматического* излучения раствором, находящимся в *кювете* – сосуде с плоскими параллельными прозрачными гранями. Монохроматическим называется световой поток, образованный электромагнитными колебаниями одной длины волны (или частоты). Разновидностью спектрофотометрии, использующей видимую часть спектра в качестве источника света, можно считать **фотоэлектродиметрию**.

На рисунке 2.2 показана принципиальная схема однолучевого фотометра. В качестве источников излучения в фотометрах применяют ксеноновые, водородные или вольфрамовые лампы. Для монохроматизации света используются стеклянные светофильтры, кварцевые или стеклянные призмы. Анализируемая проба в виде поглощающего раствора в кварцевой кювете помещается на пути прохождения монохроматического луча света. Интенсивность светового потока регистрируется с помощью детекторов на основе фотоэлементов.

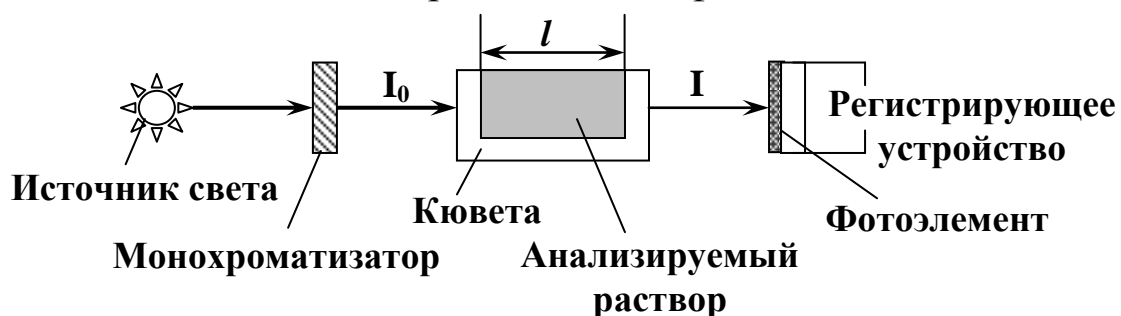


Рисунок 2.2. Принципиальная схема однолучевого фотометра.

$I_0$  – интенсивность падающего света,  $I$  – интенсивность прошедшего через раствор светового потока,  $l$  – толщина слоя раствора.

Изменение интенсивности света при прохождении света через образец вызывается не только поглощением определяемого ве-

щества, но и других компонентов (например, растворителя), а также рассеянием, отражением и т.д. Фотометрированию подвергаются только прозрачные растворы, для которых светорассеяние минимально. Прочие эффекты можно скомпенсировать, используя раствор сравнения в качестве эталона. В простейшем случае им является чистый растворитель или раствор, содержащий все компоненты кроме определяемого. Образец и эталон, относительно которого производится измерение, в случае однолучевых приборов последовательно вводятся в световой пучок. Отсчёт показаний оптической плотности или светопропускания снимается визуально по стрелочному или цифровому прибору. Величина измеряемой оптической плотности  $D$  в соответствии с основным законом светопоглощения (урав. 2.1) прямо пропорциональна толщине раствора  $l$  и концентрации вещества  $c$ . При измерениях пользуются методами прямых измерений, а также в некоторых случаях используют приём титрования.

**Фотоэлектроколориметрия** – наиболее распространенный метод, применяемый при анализе окрашенных растворов в видимом диапазоне спектра (400нм ÷ 700нм). Источником излучения является вольфрамовая лампа накаливания. Строго говоря, этот метод не относится к спектральным, так как фотоэлектроколориметры обладают достаточно ограниченным набором широкополосных (20 нм и больше) стеклянных светофильтров Враттена, применяемых для видимой и ближней ультрафиолетовой области спектра. Измерения с помощью колориметра отличаются простотой и быстротой проведения определения. Точность их во многих случаях не уступает точности других, более сложных методов химического анализа. Нижние границы определяемых концентраций в зависимости от рода вещества составляют от  $10^{-3}$  до  $10^{-8}$  моль/л.

Наибольшее распространение получили фотоэлектрические колориметры (фотоколориметры) обеспечивающие большую точность измерений, чем визуальные. На практике используют приборы различных марок отечественного и импортного производства. В зависимости от разнообразия задач определения на практике используются однопараметровые и многопараметровые фотоколориметры, рассчитанные на один или несколько видов анализа. Существуют стационарные и переносные приборы, рассчитанные на применение в конкретной области деятельности, например, для анализа питательных сред в гидропонике, для анализа мёда, экологического анализа, контроля городских сточных вод и т.д.

**Спектрофотометрия** отличается применением более совершенных приборов. Спектрофотометры имеют более точную систему монохроматизации (дифракционные решетки, призмы, интерференционные светофильтры) и позволяют проводить анализ в УФ- (190нм ÷ 400нм), видимой и ближней ИК-области спектра (700нм ÷ 2000нм). Такой диапазон варьирования длин волн становится возможным благодаря применению двух видов источников излучения (водородной и вольфрамовой ламп), что позволяет расширить область применения спектрофотометрического анализа. Объектами спектрофотометрического анализа являются прозрачные растворы, поэтому анализируемое вещество предварительно переводят в растворимое состояние. Минимальное значение определяемых концентраций составляет –  $10^{-7}$  моль/л (в большинстве случаев определяют  $10^{-6}$ – $10^{-4}$  М, или 0,1 – 1 мкг/мл). Спектрофотометрический метод относится к среднечувствительным.

Однолучевые приборы наиболее пригодны для аналитических измерений, выполняемых при одной длине волны, так как при переходе с одной длины волны на другую выходной сигнал прибора следует каждый раз нормировать по эталонному раствору. В спектрофотометрах помимо однолучевой нередко применяют двухлучевую оптическую схему, что позволяет повысить точность анализа и минимизировать систематическую ошибку при использовании эталонного раствора. Двухлучевые приборы желательнее применять для измерения спектра поглощения образца. В двухлучевых приборах поток от источника света разделяется на два – основной и поток сравнения. При регистрации сигнала ослабление интенсивности основного луча, проходящего через анализируемый раствор, автоматически компенсируется в луче сравнения до установления баланса двух потоков. Компенсация происходит либо за счет смещения оптического клина, либо сравнение потоков происходит в электрической части регистрирующего устройства. Диапазон компенсации сигнала согласуется со шкалой.

Спектрофотометры используют в различных отраслях промышленности при контроле качества готовой продукции, контроле продукции по ходу технологического процесса, в лабораториях научно-исследовательских институтов, пищевых предприятий, медицинских учреждений. Существуют одно- и двухлучевые модели, совместимые с компьютером. Из-за простоты аппаратного оформления спектрофотометрические детекторы используют в хроматографии и проточно-инжекционных методах анализа.



**ИК-спектроскопия** основана на регистрации молекулярных спектров поглощения в ИК-области спектра (от 700 до 10 000 нм) и позволяет идентифицировать химические связи, функциональные группы и связи межмолекулярного характера.

Поглощение веществом в ИК-области излучения происходит за счёт колебаний атомов в молекулах. Колебания подразделяются на *валентные* (когда в ходе колебания изменяются расстояния между атомами) и *деформационные* (когда в ходе колебания изменяются углы между связями). Переходы между различными колебательными состояниями в молекулах квантованы, благодаря чему поглощение в ИК-области имеет форму спектра, где каждому колебанию соответствует своя длина волны. Понятно, что длина волны для каждого колебания зависит от того, какие атомы в нём участвуют и, кроме того, она мало зависит от их окружения. То есть, для каждой функциональной группы (C=O, O-H, -CH<sub>2</sub>- и др.) характерны колебания определённой длины волны, точнее говоря, даже для каждой группы характерен ряд колебаний (соответственно и полос в ИК-спектре). Именно на этих свойствах ИК-спектров основана идентификация соединений по спектральным данным.

Колебательные спектры обладают высокой специфичностью – каждому веществу присущ свойственный только ему набор полос поглощения. В настоящее время имеются атласы ИК-спектров для различных классов органических, элементоорганических и неорганических веществ, в которых указаны условия подготовки образцов и регистрации спектров, а также модели спектрометров. Идентификация вещества по ИК-спектру заключается в сопоставлении его спектра с эталонным, приведенным в атласе.

Источником излучения в ИК-спектрометре служат лампа Нернста или нихромовая проволока. В качестве монохроматизаторов используются призмы из хлорида натрия или бромида калия, а также дифракционные решетки. Анализируемая проба закрепляется в специальных держателях в виде твердых брикетированных образцов, либо в виде раствора в специальной кювете. Детекторами ИК-излучения чаще всего являются термодпары. Для увеличения разрешающей силы в современных спектрометрах используют фурье-преобразователи, позволяющие повысить чувствительность прибора в 10-100 раз.

ИК-спектрометры применяют в различных областях: в фармацевтической промышленности и биотехнологии, криминалистике, пищевой и парфюмерной промышленности, на химических произ-

водствах, а также в экологическом контроле.

**Атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС)** основана на поглощении излучения оптического диапазона невозбужденными свободными атомами. Отличительная особенность ААС заключается в необходимости предварительной атомизации пробы.

При проведении анализа на атомно-абсорбционном спектрометре пробу переводят в растворимое состояние и в виде аэрозоля впрыскивают в пламя горелки с целью получения светопоглощающего атомарного пара. В качестве атомизаторов применяют пламена и электротермические атомизаторы. Пламенный атомизатор представляет собой щелевую горелку, в которой пламя имеет форму вытянутой узкой щели с шириной  $b$ . В зависимости от состава газовой смеси температура пламени составляет от 1500 до 3000°C. Атомный пар, образующийся в пламени, облучается источником света с заданной длиной волны, соответствующей полосе поглощения определяемого компонента. В качестве источников излучения используются разрядные лампы (лампы с полым катодом или безэлектродные разрядные лампы). Каждая разрядная лампа пригодна для определения только одного элемента. Атомарный газ, содержащий определяемый элемент, поглощает монохроматическое излучение разрядной лампы, в результате интенсивность светового потока падает. Луч света попадает на фотоэлемент и регистрируется прибором. На рисунке 2.3 показана принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра.

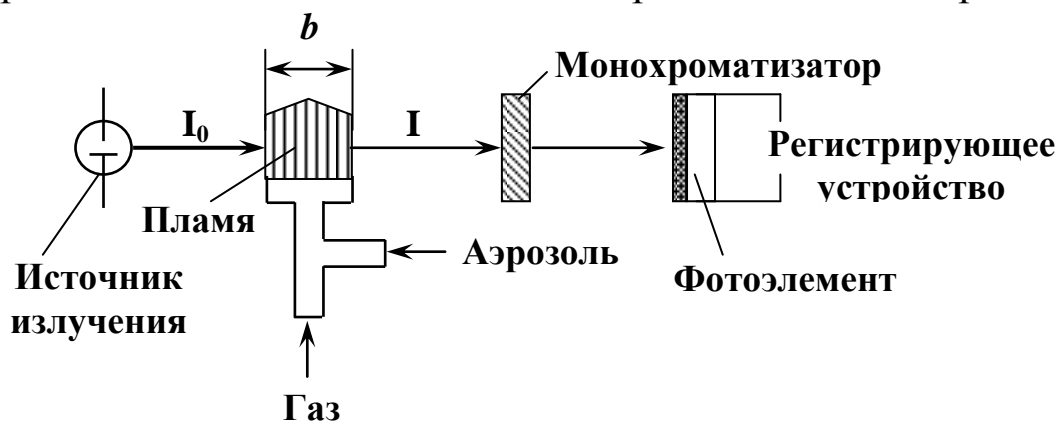


Рисунок 2.3. Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра

$I_0$  – интенсивность падающего света,  $I$  – интенсивность светового потока, прошедшего через пламя

Изменение интенсивности светового потока  $I$ , выраженное в единицах оптической плотности ( $D$ ) или светопропускания ( $T$ ), будет

пропорционально толщине пламени ( $b$ ) и концентрации определяемого компонента ( $c$ ):

$$D = -\lg T = k \cdot b \cdot c \quad (2.5)$$

где  $k$  – коэффициент поглощения. При количественном определении содержания компонента применяют метод градуировочного графика или метод добавок.

Наряду с атомами определяемого компонента в атомизаторе присутствуют и другие частицы (атомы, молекулы, свободные радикалы). При высокой температуре они способны поглощать, а также возбуждаться и испускать излучение в оптическом диапазоне. Это излучение называется *фоновым*. Возникающие в процессе измерения оптические помехи (излучение и поглощение фонового излучения) устраняются при помощи модуляторов, позволяющих учесть при регистрации сигнал фона, и дейтериевых ламп, компенсирующих поглощение фонового излучения.

ААС анализ позволяет идентифицировать и определять содержание в пробе атомов элементов, в основном – тяжелых металлов (Ag, Al, As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, Sr, V, Zn) и неметаллов (As, Se, Te, P). Атомно-абсорбционные спектрометры применимы к широкому кругу объектов: различным типам вод (питьевые, природные, сточные, морские), атмосферному воздуху, почвам, донным отложениям и осадкам сточных вод, пищевым продуктам и сырью (в том числе напиткам), биологическим тканям и жидкостям (кровь, моча), продуктам нефтехимического производства, а также металлам и сплавам и иным объектам. Это один из наиболее чувствительных ( $\sim 10^{-9}$ – $10^{-7}$  % масс.) и удобных методов одноэлементных определений для большинства металлов.

**В рентгеновском абсорбционном анализе** для возбуждения образца используют рентгеновское излучение, генерируемое рентгеновской трубкой. При прохождении рентгеновского излучения через образец оно ослабляется вследствие его поглощения. Анализ абсорбционных спектров позволяет проводить качественный и количественный анализ методом сравнения. Метод не нашел широкого аналитического применения из-за его невысокой избирательности, несмотря на небольшое стандартное отклонение 0,01-0,05, хотя в медицинской практике рентгеновская абсорбция широко используется в рентгенографических и флюорографических исследованиях.

Рентгеноспектральный анализ может быть использован для качественного и количественного определения элементов от  $Mg^{12}$  до  $U^{92}$  в материалах сложного химического состава – в металлах и сплавах, минералах, стекле, керамике, цементах, пластмассах, абразивах, пыли и различных продуктах химических технологий. Наиболее широко рентгеноспектральный анализ применяют в металлургии и геологии для определения макро- и микрокомпонентов. Иногда для повышения чувствительности рентгеноспектрального анализа его комбинируют с химическими и радиометрическими методами. Предельная чувствительность рентгеноспектрального анализа зависит от атомного номера определяемого элемента и среднего атомного номера определяемого образца. Оптимальные условия реализуются при определении тяжёлых элементов на фоне матрицы, образованной легкими элементами.

## 2.2. ЭМИССИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ

**Метод атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС)** основан на термическом возбуждении свободных атомов или одноатомных ионов и регистрации оптического спектра испускания возбуждённых атомов. Интенсивность излучения при этом прямо пропорциональна числу возбуждённых частиц. Важнейшей характеристикой любого атомизатора является его температура. Пламя – самый низкотемпературный источник атомизации и возбуждения, используемый в атомно-эмиссионной спектроскопии. В зависимости от состава горючей смеси температура пламени может составлять от 1500 до 3000°C. Кроме пламени в качестве источника атомизации и возбуждения атомов используют электрическую дугу (3000 – 7000°C), электрическую искру (10000 – 12000°C), индуктивно связанную плазму (6000 – 10000°C). На рисунке 2.4 представлена принципиальная схема пламенного фотометра.

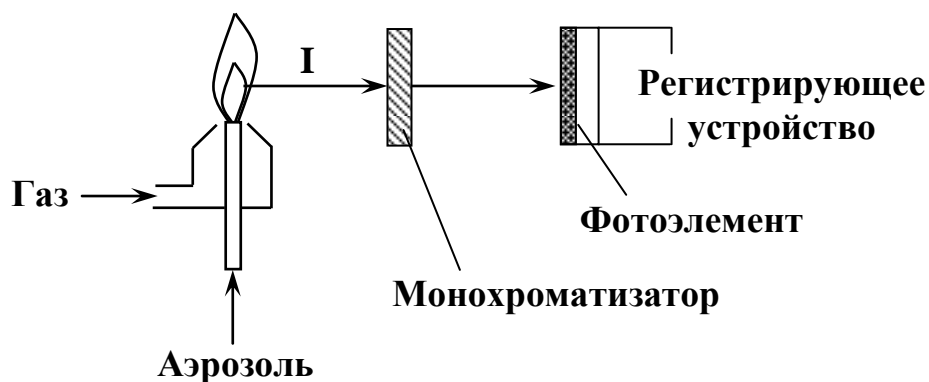


Рисунок 2.4. Принципиальная схема пламенного фотометра.

$I$  – интенсивность эмиссионного светового потока

При получении эмиссионного спектра вещество переводят в растворимое состояние. Полученный раствор (аликвоту) в виде аэрозоля впрыскивают в пламя газовой горелки. Происходит атомизация и переход атомов в возбуждённое состояние, который сопровождается переходом электронов на более высокий энергетический уровень. В возбуждённом состоянии атом не может находиться долго ( $\sim 10^{-8}$  с), поэтому при возвращении атома в основное состояние происходит излучение светового потока с характерной для данного вида атомов длиной волны. Выделение характеристических линий спектра позволяет проводить качественный анализ. Число возбуждённых атомов в пламени пропорционально общему числу частиц, а значит концентрации определяемого элемента в пробе. Поэтому между интенсивностью испускания и концентрацией определяемого элемента существует прямо пропорциональная зависимость:

$$I = a \cdot c. \quad (2.6)$$

Коэффициент  $a$  в уравнении является эмпирическим, зависящим от условий процесса. Таким образом, интенсивность эмиссионной спектральной линии может быть использована в качестве аналитического сигнала для определения концентрации элемента. Регистрация интенсивности светового потока производится с помощью фотоэлемента (рис. 2.4) и фиксируется прибором в единицах оптической плотности или светопропускания. При количественном определении содержания компонента применяют метод калибровочного графика или метод добавок.

В реальных условиях атомно-эмиссионного анализа линейная зависимость между интенсивностью светового потока и концентрацией часто нарушается из-за побочных эффектов как спектральной, так и физико-химической природы. Примером спектральных помех может служить самопоглощение – явление частичного поглощения излучения возбуждаемых атомов невозбуждёнными атомами того же элемента, находящимися в периферийной части атомизатора. Степень поглощения во многом определяется геометрией атомизатора. Для учёта влияния самопоглощения предложено эмпирическое уравнение Ломакина – Шайбе:  $I = a \cdot c^b$ , где  $b$  – параметр, характеризующий степень самопоглощения. Помимо самопоглощения мешающее влияние на результаты оказывает излучение и поглощение фона. Кроме того, спектр испускания каждого элемента состоит из большого числа линий, поэтому в АЭС достаточно велика вероятность наложения спектральных линий

различных элементов друг на друга. Для анализа следует выбирать полосы спектра свободные от наложения.

Физико-химические помехи, влияющие на величину аналитического сигнала в АЭС, связаны, прежде всего, с температурой атомизатора. Чем выше температура, тем выше доля возбуждённых частиц. Кроме того, от температуры зависит полнота атомизации пробы и степень ионизации определяемого элемента.

Вариант АЭС с атомизацией в пламени называют **методом эмиссионной фотометрии пламени**, или **пламенной фотометрией**. Температура пламени оптимальна для обнаружения лишь наиболее легко атомизируемых и возбуждаемых элементов – щелочных и щелочноземельных металлов. Фотометрия пламени является одним из самых чувствительных методов анализа Li, K, Na, Rb, Cs, Ca, Ba (предел обнаружения  $10^{-7}$  % масс.).

Температура дугового разряда существенно выше, чем температура пламени, что позволяет проводить анализ трудновозбудимых элементов, например, галогенов. Однако воспроизводимость результатов для дуговых атомизаторов невелика и основной областью их применения является качественный анализ на основе обзорного спектра. Искровой разряд существенно стабильнее дугового, и воспроизводимость результатов существенно выше. Особенность дуговых и искровых атомизаторов заключается в том, что с их помощью анализируют в основном твердые образцы. Проба помещается в специальное углубление одного из графитовых электродов, между которыми пропускают электрический разряд.

Приборы, оснащённые набором дуговых и искровых атомизаторов, позволяют проводить анализ примесей в чистых металлах (Al, Cu, Ag, Au, Ni); цветных сплавов (алюминиевых, магниевых, титановых, медных, цинковых и др.); углеродистых и среднелегированных сталей и чугунов – на все легирующие элементы и примеси (кроме серы); порошков (чистых материалов, оксидов, ферросплавов, шлаков). Подобные приборы применяются для сертификации металлопродукции и контроля технологических процессов в металлургии, машиностроении, в сертификационных центрах.

Наиболее современным источником атомизации, обладающим по целому ряду показателей наилучшими аналитическими возможностями и метрологическими характеристиками, является индуктивно связанная плазма (ИСП). Метод ИСП характеризуется универсальностью (при столь высоких температурах возбуждается большинство элементов),

высокой чувствительностью (обнаруживаемый минимум до  $10^{-8}\%$  масс.), хорошей воспроизводимостью и широким диапазоном определяемых концентраций. Основным фактором, сдерживающим применение ИСП, – высокая стоимость оборудования и расходных материалов.

**Метод молекулярной люминесцентной (флуоресцентной) спектроскопии** основан на регистрации спектров излучения молекул при их переходе из возбужденного в основное состояние. В качестве источника возбуждения может выступать электромагнитное излучение в видимой области спектра, УФ-излучение (*фотолюминесценция*), энергия химических реакций (*хемилюминесценция*), поток электронов, рентгеновское или радиоактивное излучение и т.д. Наиболее часто в аналитической практике используют фотолюминесценцию и хемилюминесценцию.

По характеру люминесцентного свечения различают *фосфоресценцию* – свечение, продолжающееся более или менее длительное время после удаления источника возбуждения свечения, и *флуоресценцию* – свечение, прекращающееся сразу же после удаления источника возбуждения. Для аналитических целей используется главным образом явление флуоресценции определённых частиц.

Количественный анализ основан на прямой пропорциональной зависимости интенсивности флуоресценции  $I_{fl}$  от концентрации раствора:  $I_{fl} = k \cdot c$ , где  $k$  – эмпирический коэффициент, зависящий от интенсивности возбуждающего излучения, природы флуоресцирующих молекул и толщины кюветы. Отклонение от линейности обусловлены, главным образом, эффектами внутреннего фильтра и перепоглощения излучения.

Приборы, предназначенные для измерения интенсивности флуоресценции, называются *флуориметры*. На рисунке 2.5 представлена принципиальная схема прибора. Чаще всего устройство для регистрации флуоресцентного светового потока расположено под углом по отношению к направлению распространения возбуждающего излучения. Это позволяет уменьшить влияние перепоглощения излучения.

Флуориметры применяют при анализе природных, питьевых и сточных вод для определения нефтепродуктов, фенолов, анионо- и катионоактивных поверхностно-активных веществ (ПАВ), формальдегида, нитритов, сульфидов, бора, алюминия, железа (общее содержание), меди, олова, бенз( $\alpha$ )пирена, свинца, урана и т.д. Флуориметрический анализ находит применение не только в экологических и

санитарных исследованиях, но также в геологии при исследовании гидрогеологических процессов методом «флуоресцирующей метки»; в медицине при выполнении рутинных анализов биологических сред; для контроля пищевых продуктов на содержание витаминов В1, В2, С; для анализа ПАВ.

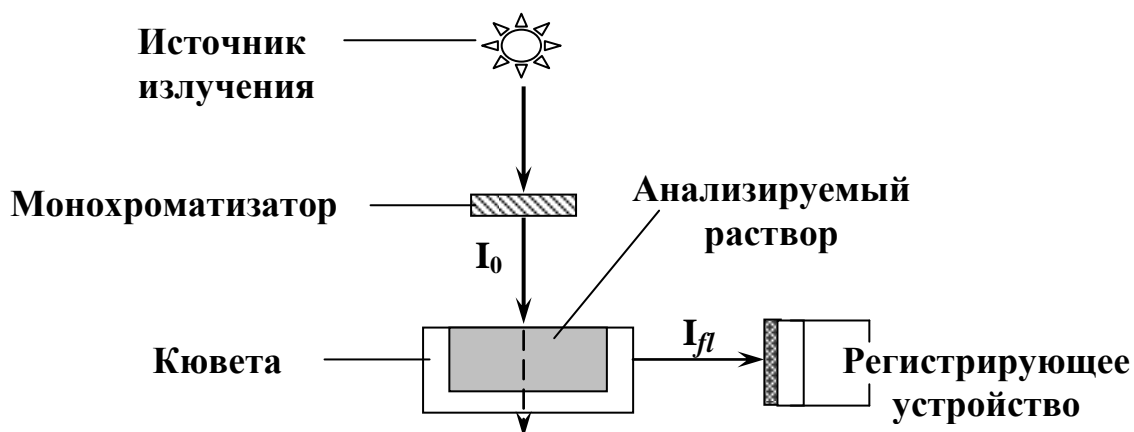


Рисунок 2.5. Принципиальная схема флуориметра.

$I_{фл}$  – интенсивность флуоресцентного светового потока

Изучение спектров флуоресценции позволяет проводить качественный анализ для большинства элементов и многих органических молекул. Люминесцентный анализ широко применяется в сортовом анализе, при оценке свежести семян гороха и фасоли, для диагностики заражённости семян пшеницы.

В неорганическом анализе наиболее распространены методы хемилюминесценции с использованием органических реагентов, таких как 8-оксихинолин и его производные (при определении Li, Ca, Mg, Ba, Sc, Al, In, Ga), полиоксифлавоны (Zr, Hf, Sn, Th, Al), родаминовые красители (Au, In, Ga, Hg, B, Te) и др. Люминесцентные методы определения лантаноидов – одни из наиболее чувствительных и селективных в аналитической химии (предел обнаружения  $10^{-5}$  мкг/мл). Молекулярная люминесценция отличается, прежде всего, высокой чувствительностью. Для большинства соединений, определяемых этим методом, пределы обнаружения не превышают  $10^{-3}$  мкг/мл, что на два порядка ниже, чем в абсорбционной спектроскопии.

**Рентгеновская спектроскопия** – раздел атомной спектроскопии, исследующий эмиссионные, флуоресцентные и абсорбционные спектры рентгеновского излучения (0,01 ÷ 100нм), возникающие в результате взаимодействия вещества с потоком электронов или рентгеновскими лучами.



В качестве источников рентгеновского излучения используют рентгеновские трубки, в которых вещество анода бомбардируют электронами, генерируемыми термоэмиссионным катодом. При столкновении электронов с атомами облучаемого вещества с одной из внутренних (*K*-, *L*- или *M*-) оболочек атома вылетает электрон и образуется вакансия, которую заполняет электрон с другой (внутренней или внешней) оболочки. При этом атом испускает (или поглощает) квант рентгеновского излучения, называемого *характеристическим*, так как энергия (или длина волны) испускаемого кванта будет определяться строением электронной оболочки возбуждаемого атома. Энергия электрона, бомбардирующего излучающий атом, должна быть больше энергии, необходимой для вырывания электрона из определенной внутренней оболочки атома. Помимо характеристического рентгеновская трубка является источником излучения, возникающего в результате неупругого рассеяния и торможения первичных электронов в материале анода. Это излучение имеет сплошной спектр и называется *тормозным*. Обычно рентгеновские трубки комплектуют металлическим фильтром, позволяющим вырезать из спектра эмиссии трубки ту или иную составляющую.

Распределение интенсивности испускаемого образцом или прошедшего через него рентгеновского излучения от энергии (или длины волны) падающего на вещество пучка излучения называется *рентгеновским спектром*. Как правило, рентгеновский спектр содержит небольшое число спектральных линий, что обусловлено ограниченным числом возможных электронных переходов.

**В рентгеновской эмиссионной спектроскопии (РЭС)** анализируемый образец помещают непосредственно на анод рентгеновской трубки и в результате прямого возбуждения пучком электронов регистрируют *первичный* характеристический спектр образца. Положение линий в эмиссионном спектре позволяет определять качественный элементный состав. Метод РЭС позволяет проводить одновременный многоэлементный качественный и количественный анализ твердых образцов. Количественные определения проводят методом градуировочного графика или методом сравнения. Предел обнаружения  $10^{-3}\%$  масс. Относительное стандартное отклонение 0,15-0,20.

Так как пучок электронов легко фокусируется, первичные рентгеновские спектры широко используют в различных *электронно-зондовых методах* (электронная микроскопия, рентгеновский микроанализ, катодолюминесцентный микроанализ, электронно-зондовая

масс-спектрометрия, оже-спектроскопия) для исследования топографии поверхности и кристаллической структуры, а также электрофизических характеристик и электронной структуры твёрдых тел. Важной областью применения рентгеноспектрального анализа является определение толщины защитных покрытий без нарушения поверхности изделий.

***Контрольные вопросы и задачи:***

1. Какие методы спектрального анализа основаны на явлениях светопоглощения и эмиссии света?
2. Сформулируйте основной закон светопоглощения. Какие факторы влияют на интенсивность света, проходящего через раствор?
3. Вычислите молярный коэффициент поглощения вещества ( $\epsilon$ ), если при фотометрировании раствора толщиной 1 см с молярной концентрацией 0,01 моль/л оптическая плотность ( $D$ ) составляет 0,17. Светопоглощением растворителя пренебречь.
4. Чем фотоэлектроколориметры отличаются от спектрофотометров? Какие объекты можно анализировать этими методами?
5. В чем особенности метода атомно-абсорбционного анализа? Какие элементы можно определять данным методом?
6. Опишите, что происходит с пробой в процессе измерений методом племенной фотометрии. Какие элементы лучше всего определять с помощью метода фотометрии пламени?
7. Какой способ атомизации пробы обладает наилучшими аналитическими характеристиками?
8. Чем флуоресценция отличается от фосфоресценции?
9. Какие вещества можно определять флуориметрически?
10. Какие методы рентгеновской спектроскопии находят наибольшее применение в практике?

## 2.3. ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

### 2.3.1. Нефелометрия и турбидиметрия

При взаимодействии светового потока с непрозрачным или мутным веществом наблюдаются разнообразные явления, описываемые термином *рассеяние*, под которым подразумевают изменение направления распространения падающего света. Рассеяние зависит от длины волны излучения, размера и формы рассеивающих частиц, а также их расположения в пространстве.

В зависимости от размера рассеивающих частиц различают *рэлеевское рассеяние* (при котором размер частиц сравним с длиной волны) и *рассеяние Тиндаля* (для крупных частиц).

Большинство аналитических измерений связано с использованием видимой части спектра. Пробу освещают световым потоком, а затем, как в спектрофотометрии, измеряют интенсивность прошедшего излучения (**турбидиметрия**) или интенсивность излучения рассеянного под определенным углом (**нефелометрия**). Для разбавленных мутных растворов нефелометрический способ измерений оказывается более чувствительным.

При турбидиметрических определениях измеряемую величину оптической плотности называют *мутностью*, которая может быть определена из соотношения, аналогичного основному закону светопоглощения:

$$S = \lg\left(\frac{I_0}{I}\right) = k \cdot b \cdot N, \quad (2.7)$$

где  $S$  – мутность;  $k$  – коэффициент пропорциональности, называемый *коэффициентом мутности*;  $b$  – толщина кюветы;  $N$  – число рассеивающих частиц в миллилитре.

При измерении мутности можно использовать любой фотометр или спектрофотометр. Так как наибольшее светорассеяние наблюдается в коротковолновой части спектра, максимальная чувствительность достигается при использовании голубой и ближней УФ-области.

В нефелометрии интенсивность излучения, рассеянного под определенным углом, связана с концентрацией соотношением:

$$I = K_{\alpha} \cdot c \cdot I_0, \quad (2.8)$$

где  $K_\alpha$  – эмпирическая константа системы ( $\alpha$  – угол, под которым проводят измерения);  $c$  – концентрация.

Конструкции приборов для нефелометрических и люминесцентных измерений идентичны, поэтому любой флуориметр можно использовать в качестве нефелометра.

Турбидиметрия и нефелометрия применяются для определения труднорастворимых веществ, образующихся при протекании селективных аналитических реакций. Важным условием является устойчивость образующейся суспензии, примерно одинаковый размер частиц. Поэтому необходимо строгое соблюдение условий осадкообразования при построении градуировочного графика. Методы светорассеяния могут применяться для определения средней молекулярной массы полимеров в растворе. Ввиду сложности воспроизведения постоянных условий, описанные методы применяются в тех случаях, когда нельзя применять другие методы (определение фосфатов, хлоридов и сульфатов).

### 2.3.2. Рефрактометрический анализ

Явление изменения пути следования светового луча, возникающее на границе раздела двух прозрачных сред называют *преломлением*, или *рефракцией*. Преломление характерно для многих видов излучения различной природы, например, электромагнитных или звуковых волн. Оно возникает, когда скорость движения волн в контактирующих средах различается. В веществе скорость света меньше, чем в вакууме. Отношение скорости света в вакууме к его скорости в данной среде называют *абсолютным показателем преломления*.

Показатель преломления любого газа, в том числе воздуха, при обычных условиях много меньше, чем показатели преломления жидкостей или твердых тел, поэтому обычно показатели преломления конденсированных сред определяют по отношению к воздуху и называют просто «показатель преломления» обозначая буквой  $n$ .

При переходе луча света из оптически более плотной среды в среду менее плотную угол преломления ( $\angle\beta$  на рис. 2.6 а) больше угла падения ( $\angle\alpha$  на рис. 2.6 а). Преломление света на границе двух сред описывает закон Снелла, согласно которому *отношение синуса угла падения к синусу угла преломления является постоянной величиной для двух данных сред и представляет собой относительный показатель преломления второй среды относительно первой  $n_{21}$* .

$$n_{21} = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{n_2}{n_1} = \frac{v_1}{v_2}, \quad (2.9)$$

где  $n_1$  и  $n_2$  – абсолютные показатели преломления первой и второй сред, а  $v_1$  и  $v_2$  – скорости распространения света в первой и второй средах соответственно.

Согласно волновым представлениям физический смысл относительного показателя преломления – это отношение скорости распространения волн в первой среде к скорости их распространения во второй среде.

Показатель преломления зависит от природы вещества, длины волны света, температуры. Поэтому если определение проводится при дневном свете или с помощью лампы накаливания, приборы снабжаются компенсаторами дисперсии, которые компенсируют разложение белого света призмой и посылают световой поток в направлении жёлтого луча. Такой показатель преломления совпадает с показателем преломления, измеренным в жёлтом свете. Приборы, используемые для определения показателя преломления веществ, называют *рефрактометрами*. Современные модели рефрактометров оснащены монохроматизаторами. Для стандартизации измерения проводят при постоянной температуре.

Для жидких растворов существует зависимость показателя преломления от концентрации веществ. В тех случаях, когда эта закономерность имеет линейный вид:

$$n = n_0 + k \cdot c, \quad (2.10)$$

ее можно использовать в количественном анализе. В уравнении 2.10:  $n$  – показатель преломления раствора,  $n_0$  – показатель преломления растворителя,  $k$  – эмпирический коэффициент,  $c$  – концентрация растворённого вещества.

Метод, основанный на определении концентрации веществ по показателю преломления, называется **рефрактометрическим**.

В основу работы рефрактометра положено явление *полного внутреннего отражения*, наблюдаемое на границе: анализируемый раствор – стекло. Сущность этого явления заключается в следующем.

Если луч света из среды с большим показателем преломления ( $n_1$ ) попадает в среду с меньшим показателем преломления ( $n_2$ ), то угол преломления луча  $\beta_1$  больше угла падения  $\alpha_1$  (рис. 2.6 а). Зависимость между ними можно выразить в виде уравнения:

$$n_1 \cdot \sin \alpha = n_2 \cdot \sin \beta. \quad (2.11)$$

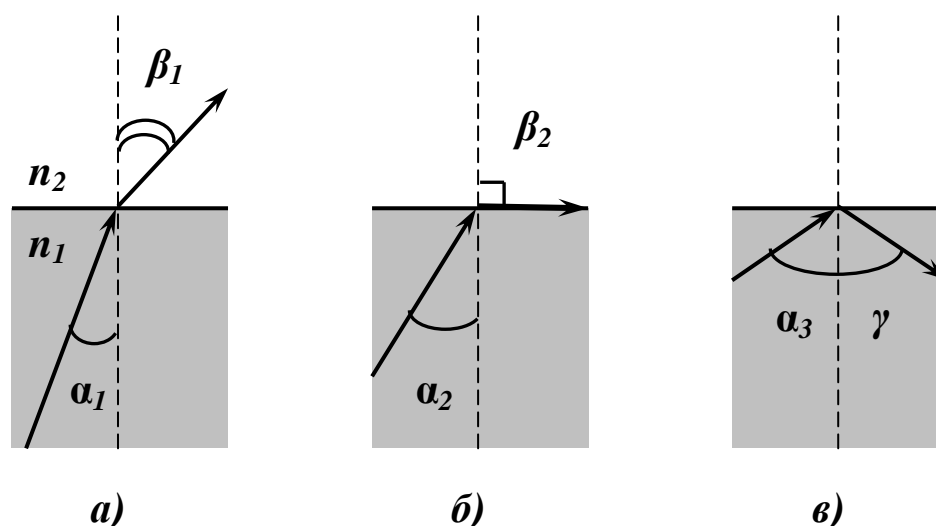


Рисунок 2.6. Явления преломления (а), полного внутреннего отражения (б) и отражения света (в) на границе раздела двух сред.

С увеличением угла падения до  $\alpha_2$  (рис. 2.6 б) постепенно увеличивается угол преломления и наступает момент, когда его значение достигает  $90^\circ$ . Луч света уже не входит во вторую среду, а только скользит по поверхности раздела сред. Это явление называется **полным внутренним отражением**. Угол падения луча, при котором оно наблюдается, называют *углом полного внутреннего отражения*, или *предельным углом* ( $\alpha_2$  рис. 2.6 б). Если превысить этот угол  $\alpha_3 > \alpha_2$ , то лучи не выйдут из первой среды, будет наблюдаться только явление отражения света от границы раздела двух сред (рис. 2.6 в).

Поскольку предельному углу соответствует угол падения луча, равный  $90^\circ$ , то  $\sin \beta = 1$  и уравнение 2.11 приобретает вид:

$$n_2 = n_1 \sin \alpha_2 . \quad (2.12)$$

Зная показатель преломления одной среды  $n_1$  и измерив предельный угол полного внутреннего отражения  $\alpha_2$ , можно определить величину показателя преломления другой среды  $n_2$ , например раствора, анализируемого на содержание растворённого в нем вещества. Этот принцип используют в рефрактометрах многих конструкций, где средой с известным (высоким) показателем преломления служат призмы из специальных сортов стекла, на которые и наносят анализируемый раствор.

Рефрактометры применяются в медицинских учреждениях при выполнении различных анализов, в фармацевтической промышленности для исследования водных растворов лекарственных препаратов, в качестве детекторов в высокоэффективной жидкостной хроматографии. Рефрактометрический анализ может использоваться в ла-

бораториях санитарно-эпидемиологического контроля, ветеринарных лечебницах, лабораториях медицинских учреждений, а также метрологического контроля.

Рефрактометрия – это экспресс-метод анализа содержания сахаров в плодах и овощах, поступающих для переработки на фабрики и консервные заводы (виноград, яблоки и груши, свекла, арбузы, дыни, томаты, морковь). При определении качества плодов и овощей предварительно находят коэффициенты пересчета количества растворимых в воде сухих веществ на содержание сахарозы.

Рефрактометрия незаменима также при анализах жирности молока, молочных продуктов, сливочного масла, в основе которых лежат измерения показателя преломления жидкостей рефрактометрами. Такие анализы отличаются простотой, удобством, надёжностью, минимальным расходом определяемых веществ, быстротой выполнения.

### 2.3.3. Поляриметрический анализ

Свет представляет собой поперечные электромагнитные колебания, распространяющиеся от источника возбуждения во все стороны вдоль прямых линий. Векторы напряжённостей электрического  $E$  и магнитного  $H$  полей волны взаимно перпендикулярны и колеблются перпендикулярно направлению распространения волны (перпендикулярно лучу). Поэтому для описания закономерностей поляризации света достаточно знать поведение лишь одного из векторов. Обычно все рассуждения ведутся относительно светового вектора – вектора напряжённости  $E$  электрического поля (это название обусловлено тем, что при действии света на вещество основное значение имеет электрическая составляющая поля волны, действующая на электроны в атомах вещества).

Атомы излучают световые волны независимо друг от друга, поэтому световая волна, излучаемая телом в целом, характеризуется всевозможными равновероятными колебаниями светового вектора (рис. 2.7 а; луч перпендикулярен плоскости рисунка). В данном случае равномерное распределение векторов  $E$  объясняется большим числом атомарных излучателей, а равенство амплитудных значений векторов  $E$  – одинаковой (в среднем) интенсивностью излучения каждого из атомов. Свет со всевозможными равновероятными ориентациями вектора  $E$  (и, следовательно,  $H$ ) называется *естественным*.

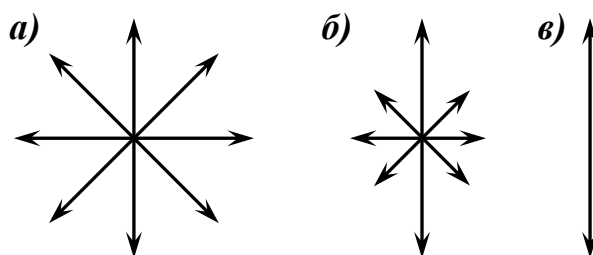


Рисунок 2.7. Направление колебаний светового вектора для естественного (а), частично поляризованного (б) и плоскополяризованного (в) луча света

Если в результате каких-либо внешних воздействий появляется преимущественное направление колебаний вектора  $E$  (рис. 2.7 б), то имеем дело с *частично поляризованным* светом. Свет, в котором вектор  $E$  колеблется только в одном направлении, перпендикулярном лучу (рис. 2.7 в), называется *плоскополяризованным*. Естественный свет можно преобразовать в плоскополяризованный, используя так называемые *поляризаторы*, пропускающие колебания только определенного направления. В качестве поляризаторов могут быть использованы кристаллы. Например, при пропускании светового потока через кристаллы турмалина или исландского шпата можно получить свет, у которого все волновые колебания расположены в одной плоскости. Данная плоскость называется *плоскостью колебаний*, а перпендикулярная к ней – *плоскостью поляризации*.

Некоторые вещества, называемые *оптически активными*, обладают способностью вращать плоскость поляризации. При прохождении плоскополяризованного луча света через растворы веществ, обладающих оптической активностью, плоскость световых колебаний поворачивается на угол, называемый *углом вращения плоскости поляризации* света. Оптическая активность обусловлена строением молекулы вещества, не имеющей центра и плоскости симметрии. Это, прежде всего, органические соединения: углеводы (глюкоза, сахароза, мальтоза, лактоза), гликозиды, карбоновые кислоты (винная кислота, молочная кислота), алкалоиды (морфин, никотин), белки, нуклеиновые кислоты, антибиотики.

**Поляриметрический анализ** основан на измерении угла вращения плоскости поляризации света, проходящего через раствор оптически активных веществ. Угол вращения плоскости поляризации луча света  $\beta$  (в круговых градусах) раствором в слое определённой толщины зависит от концентрации раствора. На этой зависимости ос-



нована работа *поляриметра* – прибора для измерения угла поворота плоскости поляризации:

$$\beta = \alpha \cdot c \cdot l, \quad (2.13)$$

где  $\alpha$  – удельное вращение плоскости поляризации, характеризующее природу растворённого вещества,  $c$  – концентрация растворённого вещества в г/мл,  $l$  – толщина слоя или длина поляриметрической трубки в дм.

Для получения поляризованного света применяют *поляризационные призмы*, пропускающие лишь световые колебания, лежащие в одной определённой плоскости. В качестве поляризаторов света используют призму Николя (или николю), которая состоит из двух половинок исландского шпата, склеенных под углом  $22^\circ$ , или специальные пластинки, вырезанные из других минералов. Когда свет проходит через две поляризационные призмы, расположенные одна за другой, наблюдается изменение интенсивности луча света, зависящее от взаимного расположения этих призм. Например, если поляризационные призмы поставлены так, что плоскость колебаний пропускаемых лучей первой призмы совпадает с плоскостью колебаний пропускаемых лучей второй призмы, то лучи пройдут беспрепятственно через обе призмы. Если вторую поляризационную призму повернуть на  $90^\circ$  относительно первой, то свет потухнет, т.к. вторая призма его не пропустит. Таким образом, вторая поляризационная призма позволяет выяснить, в каком направлении поляризован падающий на неё свет. Первая, ближайшая к источнику света призма выполняет функцию *поляризатора*, а вторая – *анализатора*.

В поляриметрах, построенных по схеме полутеневых приборов (рис. 2.8), плоскость поляризации луча плоскополяризованного света, проходя через раствор оптически активного вещества в кювете, поворачивается на угол  $\beta$  и разделяется на две половинки. Одна часть луча, проходя через анализатор, теряет свою интенсивность. Вторая – остается без изменений. Измерение сводится к визуальному уравниванию яркостей двух половин поля зрения прибора, сопровождающему поворотом призмы анализатора, и последующему считыванию показаний по шкале вращений.

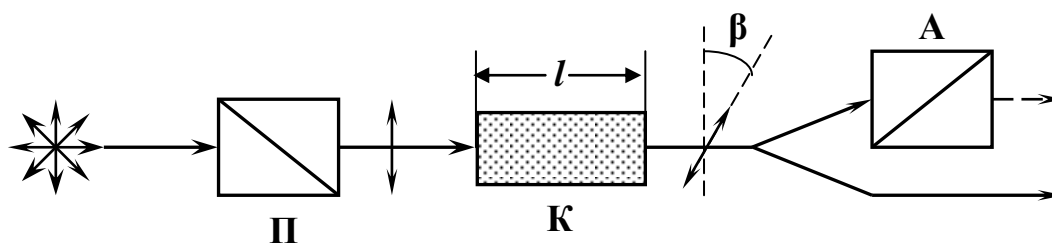


Рисунок 2.8. Принципиальная схема поляриметра.

П – поляризатор, А – анализатор, К – кювета с анализируемым раствором,  $l$  – толщина кюветы,  $\beta$  – угол вращения плоскости поляризации света

Эту методику, несмотря на ее принципиальную простоту, отличает достаточно высокая для многих целей точность измерений, что обусловило широкое применение полутеневых поляриметров. Однако более распространены автоматические поляриметры с фотоэлектрической регистрацией, в которых та же задача сопоставления двух интенсивностей решается поляризационной модуляцией светового потока и выделением на выходе приемника света сигнала основной частоты. Современные автоматические поляриметры позволяют измерять углы оптического вращения с точностью  $\sim 0,0002^\circ$

Поляриметры широко и эффективно применяются для изучения структуры и свойств веществ, контроля качества фармацевтических препаратов, количественного анализа сахаров, определения оптически активных соединений, в качестве детекторов в высокоэффективной жидкостной хроматографии, а также для других научных исследований и решения технических задач. В частности, измерения степени циркулярной поляризации излучения космических объектов позволяют обнаруживать сильные магнитные поля во Вселенной.

### **Контрольные вопросы и задачи:**

1. Какие физические явления лежат в основе методов рентгеноструктурного анализа, турбидиметрии, нефелометрии, рефрактометрии, поляриметрии?
2. Какие из данных методов анализа наиболее селективны?
3. Какие свойства образца можно исследовать с помощью рентгеноструктурного анализа?
4. В чём разница между турбидиметрией и нефелометрией? В чём

особенность смесей, анализируемых этими методами?

5. Какую область спектра используют при исследовании светорассеивания?

6. Что такое рефракция? Опишите, в чём заключается явление полного внутреннего отражения света.

7. Пользуясь уравнением 2.10, вычислите значение показателя преломления растворителя ( $n_0$ ), если при концентрации  $\omega = 0,1$  показатель преломления раствора составляет 1,34, а при  $\omega = 0,2$   $n = 1,35$ .

8. Приведите примеры веществ, которые можно определять рефрактометрически.

9. Что такое оптическая активность вещества? Приведите примеры соединений, обладающих оптической активностью.

10. Вычислите концентрацию (в % масс.) раствора сахарозы, если при полярировании в кювете длиной 1 дм и удельном вращении угла поляризации  $+66,5$  измеренный угол вращения плоскости поляризации света  $\beta$  составляет  $3,325^\circ$ .

## 2.4. МЕТОДЫ МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА

Развитие спектроскопии магнитного резонанса (радиоспектроскопии) является важным достижением в области химической физики второй половины XX столетия. По сравнению со многими другими видами спектроскопического анализа методы магнитного резонанса дают возможность получать не только подробную информацию о строении молекул, но и о происходящих в них процессах.

Метод **ядерного магнитного резонанса (ЯМР)** широко используется в органической химии с целью идентификации и выявления строения органических молекул. Помимо структурных исследований и количественного анализа, спектроскопия ЯМР дает информацию о конформационных равновесиях, диффузии атомов и молекул в твердых телах, водородных связях и ассоциации молекул в жидкостях, кето-енольной таутомерии, упорядоченности и распределении звеньев в полимерных цепях, адсорбции веществ, электронной структуре жидких кристаллов и др. Спектроскопия ЯМР – источник информации о строении биополимеров, в т. ч. белковых молекул в растворах.

Приложения ЯМР в структурной неорганической химии пока не

столь всеобъемлющи, тем не менее, их роль постоянно возрастает. С 80-х гг. XX в. методы спектроскопии и томографии ЯМР внедрены в медицину для диагностики сложных заболеваний.

Исследования ионов переходных металлов методом **электронного парамагнитного резонанса (ЭПР)** позволяют получить информацию об электронной структуре этих элементов и их соединений. Фотохимия, радиационная химия, исследования быстрых процессов в настоящее время невозможны без использования методов магнитного резонанса.

### 2.4.1. Ядерный магнитный резонанс

#### Основные понятия

Явление ЯМР в конденсированной фазе было открыто в 1946 г. американскими физиками Ф. Блохом и Е. Перселом и представляет собой *резонансное поглощение радиочастотной электромагнитной энергии веществом с ненулевыми магнитными моментами ядер, находящимся во внешнем постоянном магнитном поле.*

Ненулевым ядерным магнитным моментом обладают ядра  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{Li}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{31}\text{P}$  и др. ЯМР обычно наблюдается в однородном постоянном магнитном поле  $H_0$  ( $\sim 1\text{Tл}$ ), на которое накладывается слабое радиочастотное поле  $H$  перпендикулярное полю  $H_0$  ( $H/H_0 \approx 10^{-3}$ ). Для элементов, у которых ядерный спин  $I = 1/2$  ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{31}\text{P}$  и др.), в поле  $H_0$  возможны две ориентации магнитного дипольного момента ядра  $\mu$ : «по полю» (состояние с меньшей энергией,  $m_I = +1/2$ ) и «против поля» (состояние с более высокой энергией,  $m_I = -1/2$ ), рисунок 2.9. Возникающие два уровня энергии  $E$  за счет взаимодействия магнитного момента ядра с полем  $H_0$  разделены интервалом:

$$\Delta E = 2 \mu H_0. \quad (2.14)$$

Чтобы вызвать переход с одного энергетического уровня на другой, необходимо воздействовать на систему переменным радиочастотным электромагнитным полем. При условии совпадения энергии внешнего поля с величиной  $\Delta E$ :

$$h\nu = \Delta E \quad \text{или} \quad \omega = \gamma H_0, \quad (2.15)$$

наблюдается *резонансное поглощение энергии поля  $H$* , названное **ЯМР**, которое и сопровождается переходом ядра с нижнего энергетического уровня на более высокий. Частоту  $\nu$  (или  $\omega$ ) радиочастотного

поля  $H$  называют *резонансной*. В приведённых формулах  $h$  – постоянная Планка, равная  $6,62 \cdot 10^{-34}$  Дж·с;  $\nu$  – частота радиоволнового излучения, Гц;  $\omega$  – круговая частота, рад/с;  $\gamma$  – коэффициент пропорциональности, называемый *гиромагнитным* отношением. Величина  $\gamma$  является характерной для каждого типа ядер и представляет собой отношение полного спинового магнитного момента ядра к его полному моменту импульса, например, для  $^1\text{H}$   $\gamma$  составляет  $2,675 \cdot 10^8$  рад/(Тл·с), для  $^{13}\text{C}$  –  $0,673 \cdot 10^8$  рад/(Тл·с).

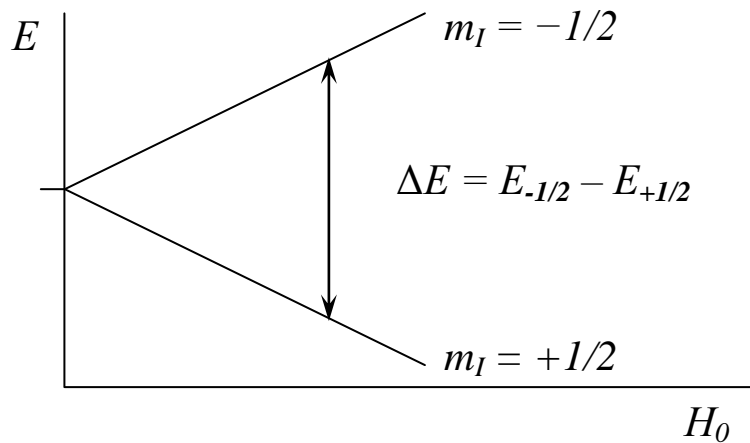


Рисунок 2.9. Расщепление энергетических уровней ( $E$ ) ядра со спином  $1/2$  в магнитном поле ( $H_0$ ),  $m_I$  – ядерное спиновое квантовое число

Уравнения 2.15 показывают, что наблюдать ядерное резонансное поглощение можно, изменяя либо напряжённость магнитного поля  $H_0$ , либо частоту  $\nu$ . Технически удобнее проводить эксперимент при постоянной частоте, изменяя магнитное поле. Таким образом получают зависимость поглощенной энергии радиочастотного поля от величины постоянного магнитного поля.

Из возбужденного состояния в нормальное ядра могут возвращаться, передавая энергию окружающей среде – «решетке», под которой понимают электроны или атомы другого сорта, чем исследуемые. Данный механизм передачи энергии называют *спин-решеточной релаксацией* и характеризуют временем  $T_1$ . Возбужденное ядро может также передать энергию ядру такого же сорта, находящемуся в низшем энергетическом состоянии. Этот процесс называют *спин-спиновой релаксацией* и характеризуют временем  $T_2$ .

Зависимость интенсивности поглощения от напряженности магнитного поля (или частоты), называют *спектром ЯМР*. Основными его характеристиками являются высота (максимальная интенсив-

ность) и ширина, измеренная на половине максимальной высоты сигнала. Конечная ширина сигнала ЯМР показывает, что резонансное поглощение происходит в интервале частот  $\Delta\nu$ , и зависит от индивидуальных особенностей вещества, его структуры, агрегатного состояния и других факторов. Ширина сигнала связана со временами спин-решеточной и спин-спиновой релаксации следующим соотношением:

$$\Delta\nu = \frac{1}{2\pi T_1} + \frac{1}{2\pi T_2} \quad (2.16)$$

### Виды ЯМР-исследований

Линии поглощения в спектрах ЯМР твердых тел имеют довольно большую ширину. Эту область применения магнитного резонанса обычно называют **ЯМР широких линий** и используют для определения межъядерных расстояний и других параметров кристаллов.

Спектры ЯМР жидких систем состоят из очень узких линий, что позволяет наблюдать весьма слабые магнитные взаимодействия, обусловленные химическим окружением ядер. Ядра одного и того же элемента, входящие в состав разных молекул или функциональных групп, при наложении одной и той же частоты  $\nu$  обнаруживают резонансное поглощение при различной напряженности поля  $H$ . В данном случае справедливо соотношение:

$$h\nu = 2\mu H_0 = 2\mu H(1 - \sigma), \quad (2.17)$$

где  $\sigma$  – константа экранирования, характеризующая сдвиг резонансной частоты или поля, вызванный ближайшим окружением ядра, который измеряют по отношению к некоторому стандарту.

Пусть  $H_x$  и  $H_{ст}$  – напряженности поля, при которых происходит резонансное поглощение ядрами исследуемого и стандартного веществ соответственно, тогда:

$$H_0 = H_x(1 - \sigma_x), \quad (2.18)$$

$$H_0 = H_{ст}(1 - \sigma_{ст}). \quad (2.19)$$

Проведя почленное деление этих уравнений и учитывая, что  $\sigma_x \ll 1$ , после небольших преобразований получим:

$$\sigma_x - \sigma_{ст} = \delta = \frac{H_x - H_{ст}}{H_{ст}}. \quad (2.20)$$

Величину  $\delta$  обычно называют *химическим сдвигом* и выражают

в условных единицах – миллионных долях (м.д.) магнитного поля, умножая  $\frac{H_x - H_{ст}}{H_{ст}}$  на  $10^6$ , т. е.

$$\delta = \frac{H_x - H_{ст}}{H_{ст}} 10^6 \text{ м.д.} \quad (2.21)$$

Если измеряемым параметром является частота, уравнение приобретает вид

$$\delta = \frac{\nu_x - \nu_{ст}}{\nu_{ст}} 10^6 \text{ м.д.}, \quad (2.22)$$

где  $\nu_x$  и  $\nu_{ст}$  - резонансные частоты исследуемого образца и стандарта соответственно.

На измерении величин химических сдвигов основан метод **ЯМР высокого разрешения**, широко применяющийся в структурном химическом анализе. Наиболее востребован ЯМР протонов  $^1H$ , входящих в различные соединения, – *протонный магнитный резонанс (ПМР)*.

Для качественного и количественного определения, а также структурных исследований методом ЯМР используют анализ спектров (рис. 2.10), основанный на следующих закономерностях:

- сигналы ядер атомов, входящих в определенные функциональные группы, лежат в строго определенных участках спектра;
- интегральная площадь, ограниченная пиком, строго пропорциональна количеству резонирующих ядер атомов;
- ядра, лежащие через 1-4 связи, способны давать мультиплетные<sup>1</sup> сигналы в результате так называемого расщепления друг на друге.

В качестве стандарта в ЯМР  $^1H$  и  $^{13}C$  применяют тетраметилсилан  $Si(CH_3)_4$  (ТМС), для которого  $\Delta\nu = 0$ , следовательно,  $\delta = 0$ . Таким образом, по табличным значениям резонансных сдвигов или по данным предварительной калибровки можно установить наличие тех или иных атомных группировок в исследуемой молекуле, т. е. получить информацию о ее структуре, а по площади пика определить число ядер.

Количественный анализ органических соединений методом ЯМР основан, прежде всего, на измерении площади или высоты пика как меры концентрации. При этом используют метод градуировочного графика или метод добавок. Известны также методики, в которых

<sup>1</sup> МУЛЬТИПЛЕТНЫЙ СИГНАЛ в спектроскопии - ряд близко расположенных друг к другу спектральных линий, появляющихся в результате расщепления одной.

<sup>2</sup> СИНГЛЕТ (от англ. single - одиночный) - в спектроскопии - одиночные спектральные линии.

градуировочный график отражает концентрационную зависимость химического сдвига. Таким образом, ЯМР высокого разрешения – это один из основных методов исследования, а также качественного и количественного анализа в органической химии.

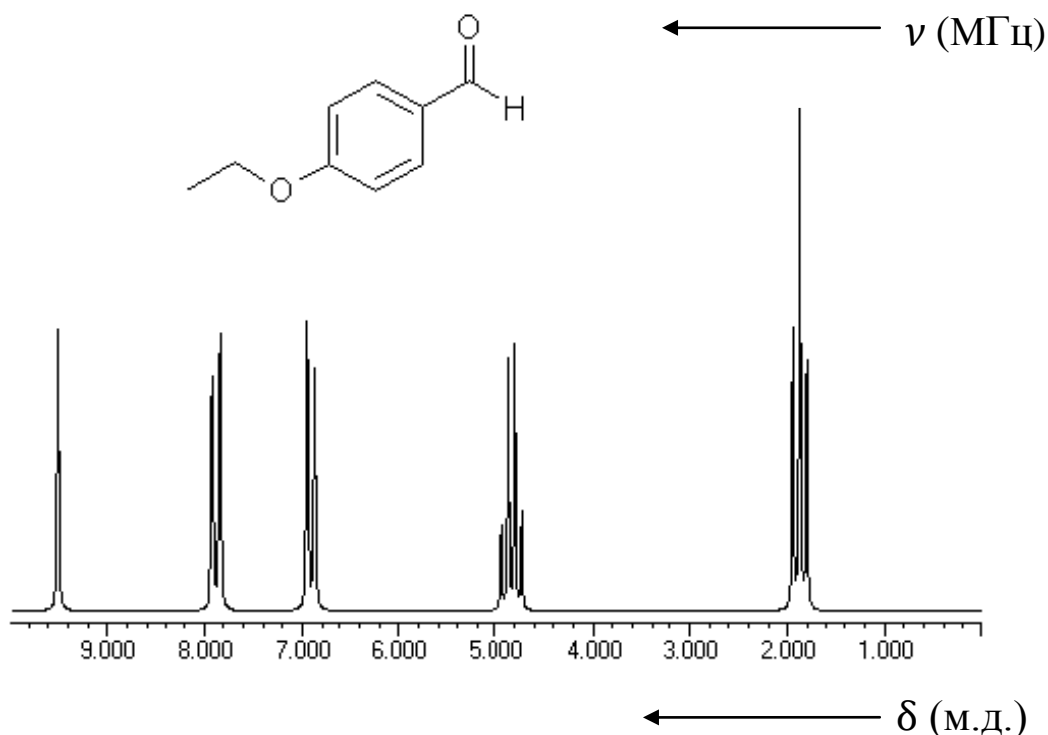


Рисунок 2.10. Спектр  $^1\text{H}$  4-этоксibenзальдегида.

В слабом поле (синглет<sup>2</sup> ~9,25 м.д) сигнал протона альдегидной группы, в сильном (триплет<sup>3</sup> ~1,85-2 м.д.) – протонов метила этоксильной ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ –) группы

Надежным и универсальным является импульсный вариант метода ЯМР, или, как его обычно называют, **метод спинового эха**.

**Спиновое эхо** – это спонтанное возникновение сигналов магнитного резонанса через некоторое время после подачи на образец последовательности импульсов радиочастотного поля  $H$ . Данное явление обнаружено американскими физиками: в ЯМР – Э. Л. Ханом (1950), в ЭПР – А. Килем и В. Б. Минсом (1967). Находясь в поле  $H_0$ , спиновая система ядер создает макроскопическую намагниченность, характеризующуюся вектором  $M$ , направленным вдоль этого поля. Импульс поля  $H$  отклоняет вектор намагниченности  $M$  от направления  $H_0$  на

<sup>2</sup> **СИНГЛЕТ** (от англ. single - одиночный) - в спектроскопии - одиночные спектральные линии.

<sup>3</sup> **ТРИПЛЕТ**- общепринятое в спектроскопии ЯМР название – сигнал, состоящий из 3 линий.



угол, пропорциональный длительности импульса. Если за время действия поля  $H$  вектор  $M$  поворачивается на  $90^\circ$ , то такой импульс называется 90-градусным, если поворот осуществляется на  $180^\circ$  – это 180-градусный импульс. После воздействия импульса  $H$  этот угол убывает со скоростью, определяемой временем спин-спиновой релаксации  $T_2$  и неоднородностью поля  $H_0$  в образце. При измерениях на исследуемый образец в магнитном поле через определенные промежутки времени накладывают кратковременные радиочастотные импульсы в области резонансного поглощения. В результате в приемной катушке появляется сигнал спинового эха, максимальная амплитуда которого зависит от времени релаксации. Если включить два коротких импульса, следующих друг за другом с интервалом  $\tau$  (*последовательность Хана: 90- $\tau$ -180-эхо*), возникающее спиновое эхо даёт возможность измерять время спин-спиновой релаксации. Зависимость амплитуды спинового эха от интервала  $\tau$  в последовательности Хана описывается выражением:

$$A = A_0 \exp\left(-\frac{2\tau}{T_2}\right), \quad (2.23)$$

где  $A_0$  – начальная амплитуда;  $A$  – амплитуда спинового эха,  $\tau$  – интервал времени между 90- и 180-градусными импульсами.

Метод Хана позволяет определить значение  $T_2$  только в том случае, когда за время  $2\tau$  молекулы не перемещаются. Однако молекулы в жидкости находятся в состоянии непрерывного теплового движения. Такое движение молекул называется *самодиффузией* и характеризуется коэффициентом самодиффузии  $D_s$ . Для уменьшения влияния самодиффузии Карр и Парселл модифицировали последовательность Хана в многоимпульсную последовательность 90- $\tau$ -180- $2\tau$ -180- $2\tau$ -180-... (последовательность Карра-Парселла), которая позволяет получить спиновое эхо, амплитуда которого определяется лишь процессами спин-спиновой релаксации.

Из выше сказанного следует, что метод импульсного ЯМР пригоден и для измерения коэффициентов самодиффузии малых молекул (вода, спирты и др.) в индивидуальных жидкостях, растворах, полимерных системах и твердых телах. С этой целью наряду с последовательностью Хана используют последовательность "*стимулированного эха*", которая включает три радиочастотных импульсных градиента, поворачивающих вектор намагниченности

$M$  на  $90^\circ$ ,  $(90(gd)\tau-90-\tau_1-90-(gd)\tau$ -эхо). Значения коэффициентов самодиффузии  $D_{si}$  и относительных долей диффундирующих частиц  $p_i$  определяют из анализа *диффузионного затухания* – зависимости амплитуды сигнала спинового эха от величины квадрата градиента ( $g^2$ ) магнитного поля  $H$ :

$$\frac{A}{A_0} = \sum_i^N p_i \exp\left(-\gamma^2 d^2 g^2 t_d D_{si}\right) \quad (2.24)$$

В приведенной формуле  $A$ ,  $A_0$  – амплитуды сигналов спинового эха при включенном и выключенном градиенте соответственно,  $g$  – амплитуда импульсов градиента магнитного поля,  $d$  – длительность импульсов градиента магнитного поля,  $\gamma$  – гиромагнитное отношение резонирующих ядер,  $t_d = \Delta d/3$  – время диффузии, где  $\Delta$  – интервал между импульсами градиента магнитного поля,  $N$  – число фаз, если система неоднородна.

Данный метод позволяет определять коэффициенты самодиффузии малых молекул в фазе полимеров и мембран в широких пространственных масштабах от  $10^{-4}$  до  $10^{-8}$  м. Это достигается варьированием времени диффузии от  $10^{-3}$  до 1с, с учетом изменения коэффициентов самодиффузии воды в этих системах от  $10^{-13}$  до  $10^{-9}$  м<sup>2</sup>/с. При этом может быть получена информация о структуре транспортных каналов для переноса малых молекул через полимерные мембраны.

Импульсный ЯМР нашел широкое применение в аналитическом контроле качества пищевых продуктов. С его помощью в настоящее время решаются следующие задачи:

- определение содержания влаги, жира, белков и сахаристости;*
- анализ спиртового состава алкогольной продукции;*
- определение содержания твердого жира (SFC) и жидкой части пищевых компонентов;*
- определение масличности и влажности семян;*
- изучение распределения воды в пористой системе пищевых продуктов;*
- определение содержания влаги в зернах кофе;*
- контроль качества алкогольной продукции;*
- определение содержания казеина в молоке;*
- определение содержания различных пищевых добавок в молочных продуктах.*

Неорганический количественный анализ методом ЯМР основан на том, что в присутствии парамагнитных веществ происходит возрастание скорости ядерной релаксации в соответствии с уравнениями:

$$v_1 = k_1 c; v_2 = k_2 c, \quad (2.25)$$

где  $v_1$  и  $v_2$  – скорости спин-решеточной и спин-спиновой релаксации данных ядер соответственно;  $k_1$  и  $k_2$  – коэффициенты релаксационной эффективности парамагнитных частиц по отношению к данным ядрам,  $c$  – концентрация парамагнитных частиц в растворе. Коэффициенты  $k_1$  и  $k_2$  зависят от природы анализируемых парамагнитных частиц и изучаемых ядер, от природы растворителя, температуры и некоторых других факторов. Численные значения обоих коэффициентов изменяются от нескольких десятков до  $10^4$ . Температурная зависимость коэффициентов релаксационной эффективности невелика и в области температур 15-30°C не превышает 1-2 % на градус. Присутствие в растворе диамагнитных примесей также существенно не влияет на величины  $k_1$  и  $k_2$ . Все это значительно упрощает разработку аналитических методик. Для проведения количественного анализа определяют не абсолютные значения скоростей релаксации, а пропорциональные им величины, например времена релаксации или амплитуды сигналов резонансного поглощения. С помощью импульсного ЯМР можно находить значения времени релаксации от  $10^{-5}$  до 100 с, что позволяет определять концентрацию раствора от 1-2 до  $10^{-6}$ - $10^{-7}$  моль/л с погрешностью 3-5%. Наиболее часто используемым аналитическим приемом является метод градуировочного графика.

Метод ЯМР применим также для косвенных определений – **магнитно-релаксационного титрования**. В данной методике используют линейную зависимость скорости магнитной релаксации ядер от концентрации парамагнитного вещества в растворе. Кривая титрования (рис. 2.11) представляет собой зависимость скорости релаксации ядер (в условных единицах) от объёма добавленного титранта. Конечная точка титрования соответствует излому на кривой титрования. Кривая 1 отражает изменение скорости релаксации в результате осаждения купферроном<sup>4</sup> парамагнитного иона  $Cu^{2+}$  с образованием диамагнитного соединения в ходе реакции. Кривая 2 показывает возрастание скорости релаксации в результате образования

<sup>4</sup> Купферрон – аммонийная соль *N*-нитрозофенилгидроксиламина,  $C_6H_5N(NO)ONH_4$ . Применяется как реактив для осаждения некоторых металлов в сильноокислом растворе.

ионов  $Fe^{3+}$  и  $Mn^{2+}$ , обладающих более высокими коэффициентами эффективности, чем ионы  $Fe^{2+}$ , вступающие в реакцию

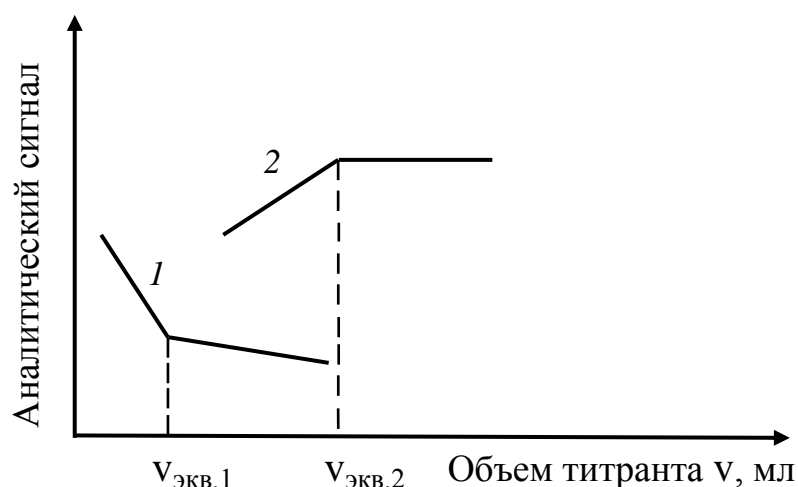
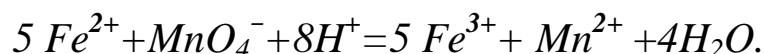


Рисунок 2.11. Типы кривых магнитно-релаксационного титрования: 1 – титрование иона меди  $Cu^{2+}$  купферроном; 2 – перманганатометрическое определение  $Fe^{2+}$

Основными достоинствами косвенных методов ЯМР являются:

- 1) возможность определять концентрации в широком диапазоне от  $10^{-5}$ – $10^{-6}$  до 1–2 моль/л и выше, используя для анализа небольшие объемы раствора (0,1 – 0,5 мл);
- 2) отсутствие каких-либо датчиков, погружаемых в раствор;
- 3) контроль концентрации неустойчивых парамагнитных частиц в растворе, образующихся в результате какого-либо взаимодействия;
- 4) возможность анализа интенсивно окрашенных и мутных растворов в присутствии кислот, щелочей, поверхностно-активных веществ.

**ЯМР-томография.** В 1973 году профессор химии Пол Латербур (США) предложил проводить ЯМР-исследования, помещая образец в магнитное поле, меняющееся от точки к точке. В данном случае резонансная частота для исследуемых ядер также изменяется от точки к точке, что позволяет судить об их пространственном расположении. Поскольку интенсивность сигнала от определенной области пространства пропорциональна числу атомов водорода в этой области, можно получить информацию о распределении плотности вещества в пространстве. Измеряя радиочастотные спектры ЯМР и зная величины градиентов магнитного поля вдоль координат, можно создать

трехмерную картину распределения плотности водорода в исследуемой системе. В этом и заключается принцип техники *ЯМР-томографии*. Математические алгоритмы получения изображения усовершенствовал Питер Мэнсфилд (Великобритания). Закончив накопление данных сканирования, компьютер посредством весьма быстрых алгоритмов начинает «обработку» сигналов и устанавливает связь между интенсивностью измеренных сигналов при определенной частоте и плотностью резонирующих атомов в данной точке тела. В конце этой процедуры компьютер визуализирует на своем экране двумерное (или трехмерное) «изображение» определенного органа или части тела пациента (рис.2.12).

В 1986 году термин «*ЯМР-томография*» был заменён на «*магнитно-резонансная томография (МРТ)*» в связи с развитием радиофобии у людей после Чернобыльской катастрофы. В новом термине исчезло слово «ядерный», указывающее на происхождение метода, что и позволило ему достаточно широко войти в повседневную медицинскую практику. Первоначальное название по-прежнему используется особенно среди ученых, работающих в области ЯМР-исследований.



*Рисунок 2.12.* Изображения черепа и позвоночного столба на ЯМР-томографе, которые в зависимости от контраста показывают белую или серую ткань мозга, позвоночник и спинномозговую жидкость

За изобретение метода МРТ в 2003 Питер Мэнсфилд и Пол Лотербур получили Нобелевскую премию в области медицины. Однако известен такой факт, что ЯМР-томографию изобрёл в 1960 г. наш соотечественник В. А. Иванов (и способ, и устройство), что удостовере-

но патентом СССР с такой датой приоритета. В создание магнитно-резонансной томографии известный вклад внёс также Реймонд Дамадьян (США), один из первых исследователей принципов МРТ, держатель патента на МРТ и создатель первого коммерческого МРТ-сканера.

### Техника ЯМР-измерений

Ампулу с исследуемым образцом помещают в катушку радиочастотного генератора, которая располагается между полюсами электромагнита. В приборах со стабилизированной частотой и переменным магнитным полем изменение магнитной индукции осуществляется генератором. При создании условий ЯМР детектор регистрирует некоторое изменение напряжения в контуре, которое наблюдается в виде сигнала ЯМР на экране осциллографа или мониторе компьютера. Спектрометр ЯМР содержит сложный набор электронных устройств, предназначенных для обеспечения высокой стабильности и точности задаваемых параметров поля. Для успешной работы прибора необходимо поддерживать частоту и напряженность магнитного поля с погрешностью порядка  $10^{-6}$ - $10^{-7}\%$ .

#### 2.4.2. Электронный парамагнитный резонанс

Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР) открыт в 1944 г. советским физиком Е. К. Завойским. Суть явления ЭПР заключается *в резонансном поглощении электромагнитного излучения неспаренными электронами*. Электрон имеет спин  $s = 1/2$  и ассоциированный с ним магнитный момент. Магнитное поле электрона примерно на три порядка превышает поле ядра. При наложении на образец внешнего магнитного поля  $H_0$  появляются два энергетических уровня: верхний  $m_s = +1/2$ , и нижний  $m_s = -1/2$ , где  $m_s$  – электронное спиновое квантовое число. Разность энергий этих состояний составляет

$$\Delta E = g\beta H_0, \quad (2.26)$$

где  $g$  – фактор спектроскопического расщепления, называемый обычно  $g$ -фактором,  $\beta$  – магнетон Бора, равный  $e\hbar/2mc$  ( $e$  и  $m$  – заряд и масса электрона;  $\hbar$  – постоянная Планка, деленная на  $2\pi$ ;  $c$  – скорость света),  $H_0$  – напряженность магнитного поля.

Если на электрон, помещенный в постоянное магнитное поле, воздействовать переменным радиочастотным магнитным полем  $H$  с

частотой  $\nu$ , удовлетворяющей условию

$$h\nu = g\beta H_0, \quad (2.27)$$

происходит *резонансное поглощение энергии радиочастотного поля*, названное *ЭПР*, и электроны с нижнего уровня будут переходить на верхний. В настоящее время в спектрометрах *ЭПР* чаще всего используют источники электромагнитного излучения в интервале длин волн 1-2 мм – 10 см, соответствующего диапазону сверхвысоких частот (СВЧ). Из возбужденного состояния в основное электрон переходит за счет релаксационных процессов: спин-решёточной и спин-спиновой релаксации. Время спин-решёточной релаксации  $T_1$  является мерой взаимодействия неспаренного электрона с его окружением.

Экспериментально подобрать условия парамагнитного резонанса можно двумя способами. Поместив образец в постоянное магнитное поле  $H_0$ , можно затем постепенно изменять частоту электромагнитного излучения. По достижении резонансной частоты образец начнет поглощать энергию. Именно так были устроены самые первые спектрометры *ЭПР*. Однако изменять частоту микроволнового излучения в широком диапазоне весьма непросто. Поэтому в дальнейшем стали использовать другой, технически гораздо более простой и удобный способ, когда при постоянном значении частоты  $\nu$  переменного поля медленно изменяют магнитное поле, добиваясь тем самым выполнения условия резонанса  $h\nu = g\beta H_0$ .

Спектр *ЭПР* представляет собой зависимость интенсивности поглощения или производных поглощения по напряженности от напряженности магнитного поля (рис. 2.13). Дифференциальный метод дает более четкое представление о спектре, положении максимума и полуширине полосы.

Взаимодействие спинов электрона и ядра вызывает так называемое *сверхтонкое расщепление* спектра *ЭПР* на отдельные компоненты, обусловленное этим взаимодействием. Сверхтонкое расщепление дает очень ценную информацию о природе химической связи, электронной структуре, о положении отдельных ядер, например, протонов, в молекуле, на основе чего можно судить о строении и симметрии молекул, и т. д.

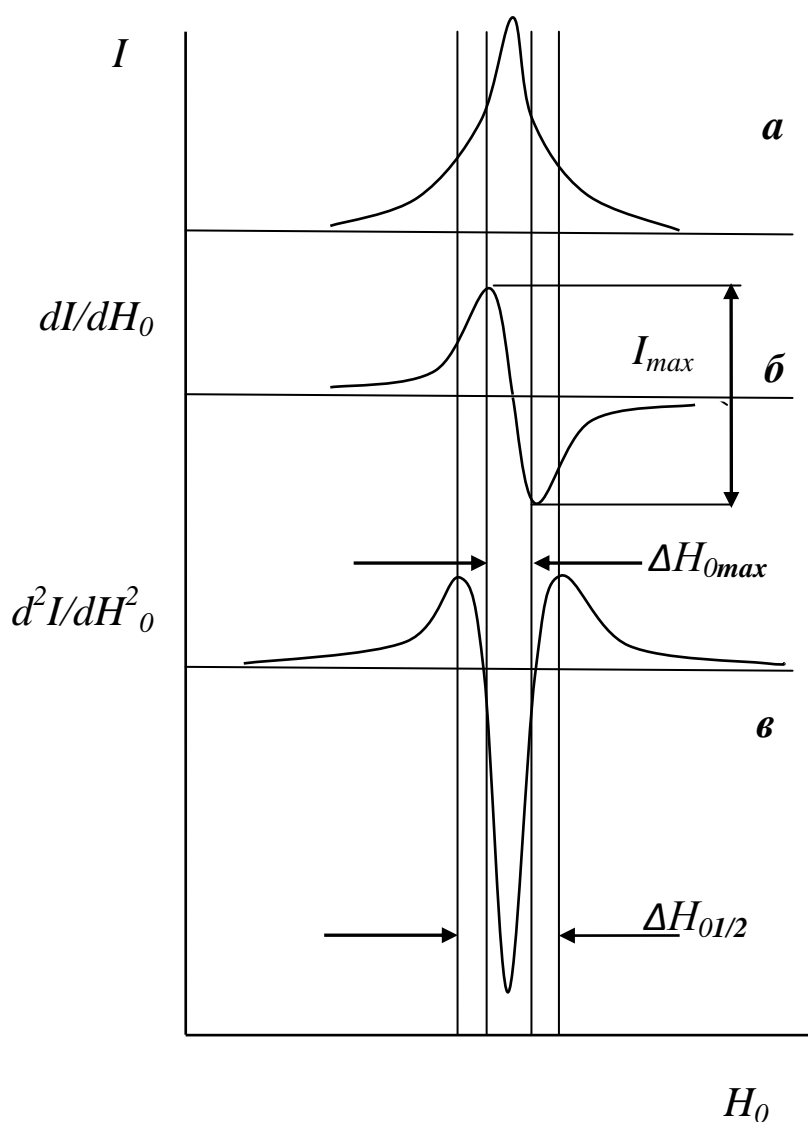


Рисунок 2.13. Зависимость интенсивности поглощения электромагнитного поля и производных поглощения по напряженности от напряженности магнитного поля: ***a*** – кривая поглощения ЭПР, ***б*** – первая производная поглощения, ***в*** – вторая производная поглощения;  $\Delta H_{01/2}$  – ширина линии на полувисоте кривой поглощения;  $\Delta H_{0max}$  и  $I_{max}$  – соответственно ширина и интенсивность линии между точками максимального наклона

Чувствительность спектров ЭПР очень высока – до  $10^{-12}$  г вещества и до  $10^{-9}$  моль/л примесей в растворе. Это характеризует метод ЭПР как весьма перспективный для аналитических определений. Однако его применение в количественном анализе пока невелико. ЭПР является уникальным методом исследования кинетики и механизма реакций, протекающих с участием парамагнитных веществ и радикалов, используется для изучения процессов комплексообразования в растворах, строения комплексных соединений.



**Контрольные вопросы:**

1. В чем суть явления ядерного магнитного резонанса?
2. Почему методы магнитного резонанса относятся к радиоспектроскопическим?
3. Какие виды ЯМР-исследований вам известны?
4. Что называют спектром ЯМР? Какую информацию о веществе можно получить по ЯМР-спектрам?
5. Что называют химическим сдвигом? Какое вещество используют в качестве эталона при качественном анализе органических веществ в методе ЯМР высокого разрешения?
6. В чем сущность магнитно-релаксационного титрования? Является ли данный метод ЯМР прямым или косвенным?
7. В чем заключаются особенности метода спинового эха? Какие физические характеристики можно измерить, изменяя импульсные последовательности?
8. Каковы области применения импульсного ЯМР в аналитическом контроле пищевых продуктов?
9. В чём состоит принцип ЯМР-томографии? Где он используется?
10. В чём заключается суть явления электронного парамагнитного резонанса? В какой области аналитической химии его применяют?

### **3. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА**

В электрохимическом анализе в качестве аналитического сигнала служит электрический параметр системы, величина которого зависит от концентрации и природы определяемого компонента – разность потенциалов, сила тока, количество электричества, омическое сопротивление, электрическая ёмкость и т.д.

#### **3.1. ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ**

**Потенциометрия** представляет собой метод определения концентраций веществ, а также различных физико-химических величин, основанный на измерении *потенциалов электродов* в равновесных ус-

ловиях.

Возникновение электродного потенциала на поверхности электрода происходит в результате протекания электрохимических реакций. Особенностью электрохимических превращений является перенос электронов от восстановленной формы вещества к окисленной при наличии токопроводящих фаз (металлов или растворов электролитов), которые обеспечивают возможность протекания электрического тока в системе. По сути, электрохимические реакции являются частным случаем окислительно-восстановительных превращений. Например, при погружении металлического электрода в раствор, содержащий ионы этого металла, между твёрдой и жидкой фазами устанавливается равновесие:



При этом фаза металла, как правило, приобретает отрицательный заряд, а приэлектродный слой раствора обогащается положительно заряженными ионами. Величина электродного потенциала, возникающая на границе металл-раствор, называется *равновесным потенциалом электрода* и зависит от природы металла, температуры, а также от состава и концентрации исследуемого раствора. Математическим выражением данной зависимости является *уравнение Нернста*:

$$\varphi = \varphi^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{Ox}}{a_{Red}} \quad (3.1)$$

или при 25°C:

$$\varphi = \varphi^0 + \frac{0,059}{n} \lg \frac{a_{Ox}}{a_{Red}}, \quad (3.2)$$

где  $\varphi$  – равновесный электродный потенциал, В;  $\varphi^0$  – стандартный окислительно-восстановительный потенциал, В;  $R$  – универсальная газовая постоянная, равная 8,314 Дж/моль·К;  $T$  – абсолютная температура, К;  $n$  – число электронов, участвующих в реакции;  $F$  – число Фарадея, составляющее 96 500 Кл/моль;  $a_{Ox}$  и  $a_{Red}$  – активности окисленной и восстановленной формы соответственно, моль/л.

Потенциал электрода, погруженного в однонормальный раствор соответствующей соли, измеренный относительно стандартного водородного электрода, называется *стандартным электродным потенциалом* и обозначается буквой  $\varphi^0$ . Величины стандартных электродных потенциалов в водных растворах при 25°C приведены в специальных таблицах.

Под *активностью иона* ( $a_i$ ) подразумевают реальную концен-

трацию частиц, способных участвовать в химических и физико-химических процессах. Согласно теории сильных электролитов, чем выше концентрация, тем меньше активность данного вида ионов. Активность рассчитывают с учетом ион-ионного взаимодействия всех заряженных частиц в растворе. Для этого используют понятие ионной силы раствора<sup>5</sup>. В разбавленных растворах (менее 0,01 моль/л) активность и концентрация ионов мало отличаются.

Уравнение Нернста устанавливает функциональную зависимость величины потенциала электрода от активности (концентрации) потенциалопределяющих ионов. При этом в зависимости от типа электродной реакции вид уравнения преобразуется, а электроды относят к электродам I рода, II рода, окислительно-восстановительным и мембранным электродам.

Прямое измерение величины равновесного потенциала неосуществимо. Для получения численных значений используется косвенный путь, основанный на определении величины потенциала одного электрода относительно потенциала другого электрода.

Два разных электрода, погружённые в растворы, содержащие потенциалопределяющие ионы, образуют *гальванический элемент*, напряжение которого равно алгебраической разности равновесных электродных потенциалов и называется *электродвижущей силой* (ЭДС) элемента. Гальванический элемент служит источником электрического тока, возникающего в цепи в результате протекания электродных реакций. В дальнейшем, под величиной электродного потенциала ( $E$ ) мы будем подразумевать ЭДС гальванической пары электродов. При этом один из электродов обладает потенциалом, зависящим от концентрации определяемого иона в соответствии с уравнением Нернста, и называется *индикаторным*, а второй электрод в условиях определения сохраняет потенциал постоянным и называется *электродом сравнения*.

### Индикаторные электроды

1. *Электронообменные* электроды, на межфазных границах которых протекают реакции с участием электронов. К электронообменным в основном относятся активные металлические электроды I рода (серебряный, медный, кадмиевый), а также инертные электроды (платиновый, золотой). Электронообменные (металлические) элек-

<sup>5</sup> **Ионная сила раствора  $\mu$**  характеризует интенсивность электрического поля ионов в растворе и равна полусумме произведений молярных концентраций всех присутствующих ионов на квадраты их зарядов:  $\mu = 1/2 \sum c_i n_i^2$ .

троды изготавливают из плоской металлической пластинки, скрученной проволоки или металлизированного стекла. Потенциал, возникающий на инертном металлическом электроде, зависит от отношения концентраций окисленной и восстановленной форм веществ реагирующих в растворе. Поэтому металлические электроды используют в окислительно-восстановительных процессах. Обычно при погружении в раствор электронообменного электрода равновесие устанавливается достаточно быстро.

2. *Ионообменные* электроды, на межфазных границах которых протекают реакции обмена ионами. Такие электроды называют также *мембранными* или *ионоселективными* (ИСЭ). Важнейшей составной частью таких электродов является *полупроницаемая мембрана* – тонкая плёнка, отделяющая внутреннюю часть электрода (внутренний раствор) от анализируемой системы (внешнего раствора) и обладающая способностью пропускать преимущественно ионы только одного вида. ИСЭ делятся на следующие группы: 1) стеклянные электроды; 2) твёрдые электроды с гомогенной или гетерогенной мембраной; 3) жидкостные электроды на основе ионных ассоциатов, хелатных комплексов металлов или нейтральных лигандов; 4) газовые электроды; 5) ферментные электроды. Каждый тип ИСЭ обладает своими особенностями эксплуатации и применения.

### Электроды сравнения

При измерении ЭДС обратимых гальванических элементов необходим электрод, потенциал которого был бы известен, постоянен и не зависел бы от состава изучаемого раствора – электрод сравнения. Так как стандартный водородный электрод, являясь газовым электродом, малопригоден в обычных условиях работы, то на практике часто используют электроды II рода, потенциал которых зависит от концентрации анионов, образующих с материалом электрода труднорастворимые соединения. Конструктивно электрод сравнения представляет собой ионоселективный электрод, погруженный в электролит постоянного состава. Контакт с анализируемым раствором осуществляется через специальный барьер (волокно, пористая керамика, шлиф и т.д.), препятствующий смешиванию этих двух жидкостей. Для заполнения электродов сравнения должны применяться строго определенные электролиты. Наиболее распространен *хлоридсеребряный* электрод сравнения.

Различают **прямую** (*ионометрию*) и **косвенную** (*потенциомет-*

рическое титрование) потенциометрию.

### 3.1.1. Ионметрия

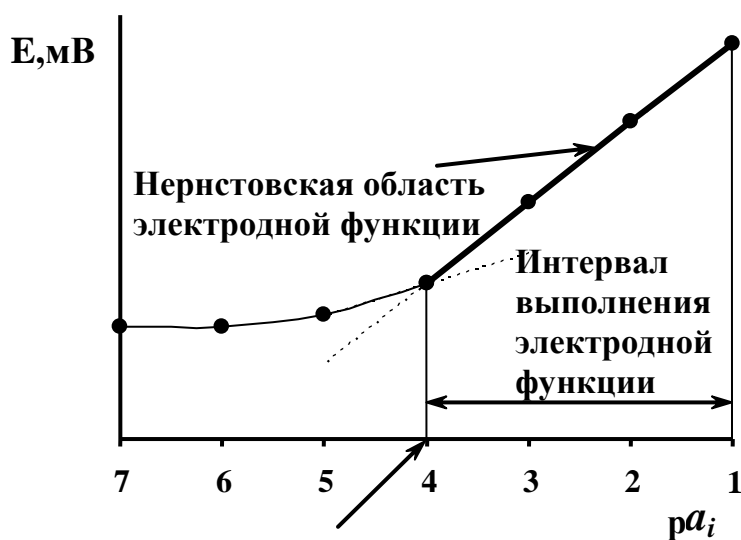
В **прямой потенциометрии** для нахождения концентрации или активности участника электродной реакции по экспериментально измеренной ЭДС гальванического элемента или потенциалу электрода используют уравнение Нернста. Поскольку ионная сила анализируемого раствора, как правило, неизвестна, расчет концентрации или активности иона с использованием уравнения Нернста не всегда можно провести с необходимой точностью. Поэтому на практике пользуются методами градуировочного графика и добавок.

Возможности применения ионметрии определяются главным образом природой и свойствами индикаторных электродов. Процедура градуировки (настройки) прибора производится также с целью определения электрохимических характеристик индикаторного электрода.

1. *Нернстовская область электродной функции* представляет собой интервал прямолинейной зависимости потенциала от активности или концентрации анализируемых ионов (интервал выполнения электродной функции на рисунке 2.9). Протяженность данного интервала зависит от природы индикаторного электрода. Для некоторых электродов данная прямолинейная зависимость (нернстовская область) может доходить до значений  $pa_i = 5 \div 6$ , что соответствует  $10^{-5} \div 10^{-6}$  М раствору.

2. *Крутизна электродной функции  $S$*  – угловой коэффициент – тангенс угла наклона нернстовской области градуировочного графика  $E-pa_i$  (рис. 3.1). Зависимость  $E$  от  $pa_i$  в соответствии с уравнением Нернста линейна и имеет угловой коэффициент  $0,059/n_i$  (где  $n_i$  – заряд ионов  $i$ ) при  $25^\circ\text{C}$ .

3. *Предел обнаружения* потенциалопределяющего иона – минимальное значение концентрации (активности) анализируемого иона, которое может быть определено с помощью данного электрода. Для нахождения предела обнаружения экстраполируют прямолинейные участки зависимости  $E - pa_i$  и находят точку их пересечения, затем опускают перпендикуляр на ось абсцисс, полученное значение соответствует минимальной величине  $pa_i$ , активность рассчитывают по формуле:  $a = 10^{-pa_i}$



Предел обнаружения  $i$ -го компонента

Рисунок 3.1. Градуировочная зависимость величины потенциала индикаторного электрода ( $E$ , В) от активности определяемого иона ( $a_i$ , моль/л)

3. *Время отклика индикаторного электрода* – время, за которое устанавливается постоянное значение потенциала, определяют, используя зависимость величины потенциала от времени с момента погружения электрода в анализируемый раствор. В зависимости от природы электродного процесса время отклика может колебаться от нескольких секунд до нескольких минут. Время достижения постоянного значения потенциала также зависит от выбранной методики: переносят ли электрод из более концентрированного раствора в более разбавленный, или наоборот. Для большинства электродов потенциал достигает 90% от максимального значения примерно за 1 минуту. При непрерывных измерениях в потоке, а также при автоматизированных процессах время отклика должно быть минимальным.

4. *Селективность электрода* относительно определяемого иона в присутствии посторонних определяется величиной  $k_{i/n}$ , которая отражает влияние определяемого иона  $i$  и мешающего иона  $n$  на величину потенциала и характеризует способность электрода различать эти ионы. Величина  $k_{i/n}$  показывает, на какое число необходимо умножить активность мешающего иона, чтобы получить на индикаторном электроде такое же изменение потенциала, как и для определяемого иона при одинаковом значении активности мешающего и определяемого ионов. Если  $k_{i/n} < 1$ , то электрод селективен по отношению к ионам  $i$ . Чем меньше значение  $k_{i/n}$ , тем выше селективность электрода к ионам вида  $i$ .

Для определения величины  $k_{i/n}$  наиболее часто применяют метод смешанных растворов, основанный на измерении потенциала электрода в растворах с постоянной концентрацией мешающего иона и переменной концентрацией определяемого.

**Применение ионометрических определений.** Потенциометрическое определение кислотности растворов – рН-метрия, один из самых распространенных видов анализа. Выпускается огромное количество модификаций рН-электродов. По материалу рабочей мембраны серийные рН-электроды подразделяются на стеклянные, металлоксидные и пленочные с поливинилхлоридной (ПВХ) мембраной. Металлоксидные и пленочные электроды имеют ограниченную область применения, т.к. проигрывают стеклянным по всем основным параметрам.

Стеклянные ионоселективные электроды обладают наилучшими эксплуатационными характеристиками. Применение стеклянных электродов невозможно в растворах, содержащих плавиковую кислоту или ее соли. Наиболее часто применяемыми электродами из этой группы являются  $\text{Na}^+$ -селективные. Стеклянные  $\text{K}^+$ - и  $\text{Li}^+$ -селективные электроды имеют ограниченную область применения, поскольку они обладают равной чувствительностью к ионам  $\text{Na}^+$ .

$\text{F}^-$ -селективный электрод является одним из самых высокоселективных электродов – единственным мешающим ионом является ион  $\text{OH}^-$ , поэтому измерения рекомендуется проводить при рН 5,5–6,5. Материал чувствительной мембраны – монокристалл  $\text{LaF}_3$  обладает высокой химической стойкостью и долговечностью, что обеспечивает значительный ресурс работы электрода.

$\text{Ag}^+$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Pb}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Cl}^-$ -,  $\text{Br}^-$ -,  $\text{I}^-$ -селективные электроды выполнены по стандартной технологии. Материалом мембраны является прессованный порошок  $\text{Ag}_2\text{S}$  с добавлением соответствующего галогенида серебра. Нижний предел диапазона измерения определяется растворимостью материала мембраны. Например, произведение растворимости  $\text{AgCl}$  равно  $1,8 \cdot 10^{-10}$ , следовательно, в приэлектродном слое концентрация ионов  $\text{Cl}^-$  составляет величину  $1,3 \cdot 10^{-5}$  моль/л, это и есть естественный предел обнаружения хлоридов. При определении серебра следует применять двухключевой электрод сравнения, заполненный раствором  $\text{KNO}_3$  вместо  $\text{KCl}$ , т.к. малорастворимая соль  $\text{AgCl}$  может забивать электролитический ключ.

Электроды с ПВХ-мембраной. Материал мембраны выполнен с добавлением специальных веществ – переносчиков. Мембрана требу-

ет бережного обращения, ее нельзя тереть или механически чистить. При работе с этими электродами не допускается присутствие веществ, растворяющих или разрушающих ПВХ. К подобным электродам относят  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{NH}_4^+$ -селективные электроды, а также  $\text{NO}_3^-$ -селективный электрод.

Измерение нитратов достаточно широко применяется в аналитической практике для анализа сельскохозяйственной продукции, природных вод и почв при экологическом мониторинге. Следует иметь в виду то, что для каждого объекта исследований требуется своя методика пробоподготовки. Методика анализа твердых материалов, например, овощной продукции, обычно включает в себя: измельчение, экстракцию раствором алюмокалиевых квасцов и потенциометрическое исследование полученного раствора. При окончательном расчёте содержания нитратов применяются специальные коэффициенты, учитывающие массу пробы, объём экстрагирующего раствора, разбавление, полноту извлечения и т.д. Эти коэффициенты устанавливаются на этапе разработки методики.

Для работы с ионоселективными электродами, при прямой потенциометрии, в качестве измерительного прибора используют *иономер* или *потенциометр*. Как правило эти приборы позволяют измерять не только величины  $\text{pX} = \text{p}a_i = -\lg a_i$ , но и значение ЭДС гальванического элемента в милливольтках при различных температурах. Кроме того, с развитием микропроцессорной техники появились измерительные приборы, реализующие различные методики измерения. Например, существуют приборы, в программы которых заложены методы добавок или титрование по методу Грана.

Точность метода зависит, в первую очередь, от типа измерительного электрода. Так, для рН-электродов достижима точность 0,01 рН и выше, а для ионоселективных электродов принято оценивать погрешность величиной 4% для однозарядных ионов и 8% для двухзарядных. Точность измерений также заметно зависит от степени отклонения крутизны электродной функции от теоретического значения. Поэтому крутизна электродной функции является показателем качества электрода. Реальная крутизна электродной функции обычно равна или несколько ниже теоретического значения, превышение ее над теоретической величиной чаще всего говорит об ошибке эксперимента. Следует помнить, что со временем, по мере выработки ресурса электрода, крутизна снижается, и погрешности измерений возрастают.



Достоинством и недостатком метода одновременно является то, что измеряемый потенциал зависит от активности. Это единственный метод прямого определения активности ионов в растворах. Но с другой стороны аналитиков чаще интересует концентрация, а пересчет активности ионов в концентрацию с применением эмпирических коэффициентов активности вызывает некоторую дополнительную погрешность.

Прямая потенциометрия обладает важными достоинствами. В процессе измерений состав анализируемого раствора не меняется. При этом, как правило, не требуется предварительного отделения определяемого вещества. Метод можно легко автоматизировать, что позволяет использовать его для непрерывного контроля технологических процессов. Потенциометрический метод часто используется при детектировании в хроматографии.

### 3.1.2. Потенциометрическое титрование

При проведении **потенциометрического титрования** осуществляется измерение потенциала в процессе химической реакции между определяемым веществом и титрантом. Конечную точку титрования находят по скачку потенциала, отвечающему моменту завершения реакции. В косвенных методах используют кислотно-основные, окислительно-восстановительные реакции, процессы осаждения и комплексообразования.

Потенциометрическое титрование основано на измерении потенциала индикаторного электрода в процессе проведения титриметрического анализа. Протекание химической реакции между потенциалопределяющим компонентом и титрантом приводит к изменению величины потенциала индикаторного электрода. В момент завершения реакции (в точке эквивалентности (т.э.)) происходит скачок потенциала, так как один из участников реакции полностью расходуется. Объём титранта, зафиксированный в данный момент, используется для расчёта концентрации определяемого вещества по формулам титриметрического анализа. По сравнению с использованием в титровании цветных индикаторов косвенная потенциометрия имеет ряд преимуществ:

1) инструментальный метод исключает субъективные ошибки, связанные с визуальным установлением конечной точки титрования (к.т.т.);

- 2) при одинаковой ошибке измерения предел определяемых концентраций существенно ниже, т. е. метод более чувствителен;
- 3) титрование можно проводить в мутных и окрашенных средах;
- 4) возможно последовательное определение нескольких компонентов, находящихся в одном растворе;
- 5) процесс титрования может быть автоматизирован.

Для определения компонентов в системах с обратимыми процессами применяют классическую потенциометрию в отсутствие тока в цепи. Для необратимых систем более приемлемой является потенциометрия с контролируемым током. В этом случае электрохимическая ячейка включает третий поляризуемый электрод.

*Определение конечной точки титрования в косвенной потенциометрии чаще всего осуществляют графическими методами, некоторые из которых приведены ниже.*

1. Кривые титрования в обратимых системах симметричны. Строят график зависимости измеренного потенциала ( $E$ , мВ) от объёма добавленного титранта ( $V$ , мл). Для нахождения к. т. т. , как точки перегиба на *интегральной кривой титрования* (рис. 3.2а), проводят две параллельные касательные к нижней и верхней части кривой и соединяют их прямой, совпадающей с областью скачка на кривой титрования, таким образом, чтобы точка пересечения с восходящей или нисходящей ветвью делила бы эту прямую на две равные части (точка А рис. 3.2а). Точка пересечения с осью абсцисс перпендикуляра, опущенного из А, показывает объём титранта ( $V_{ЭКВ}$ ), соответствующий конечной точке титрования.

2. Более точным методом определения к. т. т. является графическое изображение данных потенциометрического титрования в виде *дифференциальных кривых первого порядка*. Производят расчёт и строят график зависимости  $\Delta E/\Delta V$  от объёма титранта ( $V$ , мл) (рис. 3.2б). Данным методом пользуются в случае, когда скачок потенциала вблизи т. э. слабо выражен, или титруемые системы относятся к необратимым (интегральная кривая несимметрична). Дифференциальная кривая по первой производной имеет максимум, из которого опускают перпендикуляр на ось абсцисс и находят объём титранта ( $V_{ЭКВ}$ ), соответствующий конечной точке титрования.

3. В некоторых случаях более приемлем метод графического представления данных в форме зависимости второй производной  $\Delta^2 E/\Delta V^2$  от объёма титранта ( $V$ , мл) (рис. 3.2в). Для нахождения к.т.т. по *дифференциальной кривой второго порядка* соединяют концы

обеих ветвей, которые находятся по разным сторонам от оси абсцисс. Точка пересечения полученной прямой с осью абсцисс соответствует объёму титранта ( $V_{\text{ЭКВ}}$ ) в конечной точке титрования (рис. 3.2в).

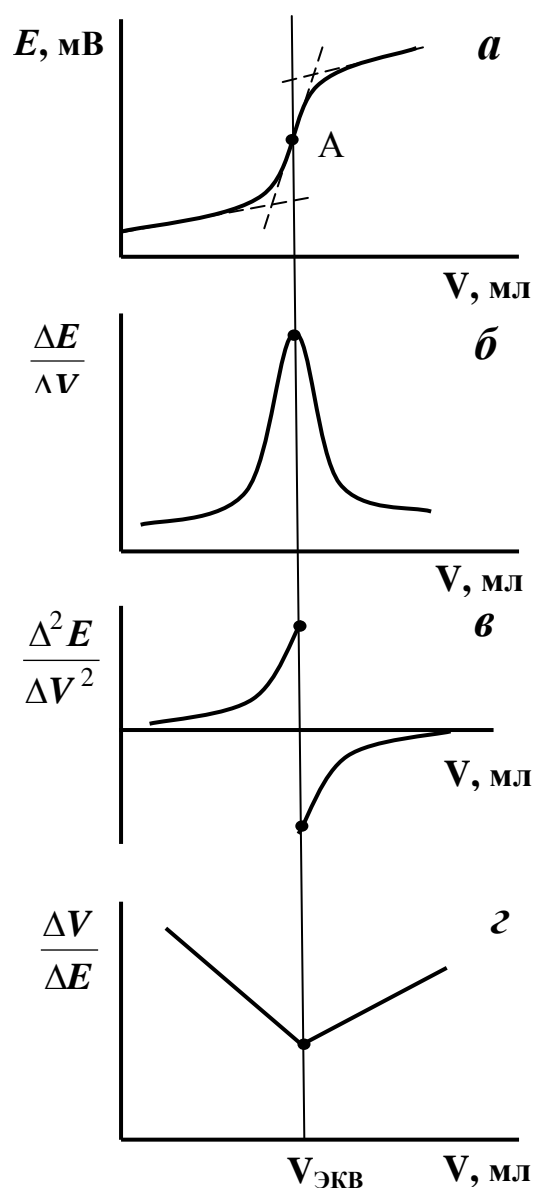


Рисунок 3.2. Кривые потенциометрического титрования: интегральная форма (а), дифференциальная кривая по первой производной (б), дифференциальная кривая по второй производной (в), кривая Грана (г)

**Применение потенциометрического титрования.** В обоих вариантах потенциометрического анализа применяются одни и те же электроды, те же схемы измерений. Однако для потенциометрического титрования не требуется такая высокая точность измерения потенциалов, как для прямой потенциометрии. Ведь конечную точку тит-

рования устанавливают не по абсолютным значениям потенциала электрода, а по его изменениям в ходе реакции. Таким образом, для потенциометрического титрования можно использовать упрощённые приборы и, тем не менее, получать более точные результаты анализа. Погрешность при потенциометрическом титровании около 1%. Не требуются в этом случае эталонные растворы определяемых веществ. Важным преимуществом потенциометрического титрования по сравнению с прямой потенциометрией (ионометрией) является и более широкий круг определяемых веществ, так, можно анализировать и те вещества, для которых еще не созданы подходящие индикаторные электроды.

4. В методе Грана к. т. т. определяют по графику в координатах  $\Delta V/\Delta E - V$  (рис. 3.2г). Перед конечной точкой титрования и после неё кривая Грана линейна, поэтому к. т. т. находят, опуская перпендикуляр на ось абсцисс из точки пересечения двух прямых. Достоинства и удобства метода Грана особенно заметны при анализе разбавленных растворов, так как можно определить конечную точку титрования с достаточной точностью вследствие линейности графика.

Потенциометрический контроль может быть использован в любом варианте титриметрического анализа. Надо только правильно выбрать индикаторный электрод: его потенциал должен быть линейно связан с логарифмом концентрации титруемого вещества или титранта. Для кислотно-основного титрования обычно применяют стеклянный электрод, в аргентометрии – серебряный, в редоксметрических методах – индифферентные электроды (обычно платиновый), в комплексонометрии – различные ИСЭ. Электродами сравнения, как и в прямой потенциометрии, служат электроды II рода – хлоридсеребряный или каломельный.

На практике потенциометрическое титрование широко применяют при определении содержания кислот, оснований, солей в водных растворах. Титрование можно проводить в неводных растворах, например, при определении серы и ее соединений в нефтепродуктах и горных породах, а также в анализе технологических растворов, объектов окружающей среды, лекарственных препаратов и биообъектов.

Потенциометрическое титрование возможно даже в очень разбавленных растворах. Таким методом можно анализировать смеси сложного состава, отдельно определяя в них содержание каждого компонента. Например, в одной пробе можно отдельно определить

содержание хлоридов, бромидов и иодидов (на кривой аргентометрического титрования смеси отчетливо видны три скачка потенциала).

**Контрольные вопросы:**

1. Какие факторы влияют на величину электродного потенциала? Приведите уравнение Нернста.
2. Как измеряют электродный потенциал? Чем индикаторный электрод отличается от электрода сравнения?
3. Какими электрохимическими характеристиками должен обладать идеально работающий индикаторный электрод? При ответе охарактеризуйте: нернстовскую область и крутизну электродной функции, предел обнаружения, время отклика и селективность индикаторного электрода.
4. В каких областях аналитической практики используется прямая потенциометрия?
5. Сравните достоинства и недостатки ионометрии и потенциометрического титрования.
6. В чём заключаются преимущества потенциометрического метода определения конечной точки титрования?
7. Какие графические способы обработки результатов потенциометрического титрования Вы знаете?
8. Назовите области применения потенциометрического титрования.

### 3.2. КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Кондуктометрические методы анализа основаны на измерении *электропроводности* исследуемых растворов.

Растворы электролитов, являясь проводниками с ионной проводимостью, подчиняются закону Ома. По аналогии с сопротивлением проводников с электронной проводимостью (металлов) сопротивление раствора  $R$  прямо пропорционально расстоянию между электродами  $l$  и обратно пропорционально площади их поверхности  $S$ :

$$R = \rho \frac{l}{S} , \quad (3.2)$$

где  $\rho$  – удельное сопротивление (Ом·см), представляющее собой сопротивление  $1\text{ см}^3$  раствора при  $l = 1\text{ см}$  и  $S = 1\text{ см}^2$ .

Величину обратную сопротивлению раствора называют *электропроводностью* и измеряют в См или Ом<sup>-1</sup>. В измерениях удобнее пользоваться параметром, не зависящим от геометрии измерительной ячейки (площади электродов и расстояния между ними), поэтому на практике используют величину, обратную удельному сопротивлению, называемую *удельной электропроводностью*  $\kappa$  (по греч. *каппа*) и измеряемую в Ом<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup> или См·см<sup>-1</sup>.

$$\kappa = \frac{1}{\rho} = \frac{l}{R \cdot S} \quad (3.3)$$

Удельная электропроводность разбавленных растворов электролитов зависит от числа ионов в растворе (от концентрации электролита), числа элементарных зарядов, переносимых каждым ионом (от заряда иона) и от скорости движения одинаково заряженных ионов в электрическом поле (от природы иона). Так как температура влияет на абсолютные скорости движения ионов, электропроводность зависит также от температуры. В разбавленных растворах удельная электропроводность является линейной функцией концентрации ионов электролитов. Следовательно, измерения удельной электропроводности можно использовать для определения суммарного содержания различных веществ-электролитов.

Для характеристики проводящих свойств растворов используют также понятие *молярной* или *эквивалентной электропроводности*, представляющей собой отношение удельной электропроводности к молярной концентрации эквивалента вещества:

$$\lambda = \frac{\kappa}{c} \quad (3.4)$$

В отличие от удельной молярная электропроводность зависит только от природы ионов и температуры раствора.

Существует несколько методов кондуктометрического анализа:

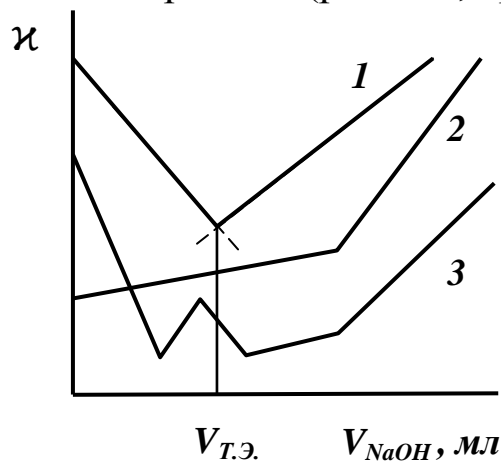
**Прямая кондуктометрия** – метод, позволяющий непосредственно определять концентрацию электролита путем измерения электропроводности раствора с известным качественным составом. Обычно используют градуировочный метод определения.

Прямые кондуктометрические измерения мало применяются в аналитической химии. Причина этого в том, что электропроводность является величиной аддитивной и определяется присутствием всех ио-

нов в растворе. Прямая кондуктометрия используется для контроля качества воды при оценке суммарного содержания в ней электролитов. Установки для перегонки и деминерализации воды оснащают кондуктометрами для измерения удельной электропроводности растворов. В ионной хроматографии применяются детекторы по электропроводности.

**Кондуктометрическое титрование** – метод анализа, основанный на определении содержания вещества по излому кривой титрования. Кривую строят по измерениям удельной электропроводности анализируемого раствора, меняющейся в результате химических реакций в процессе титрования.

Кондуктометрическое титрование может быть основано на реакциях комплексообразования, осаждения и кислотно-основного взаимодействия. Кривые титрования, представляющие собой зависимость удельной электропроводности от количества (объёма) прибавленного реагента (титранта), имеют излом в точке эквивалентности. Форма кривых может быть разной (рис. 3.3). При титровании смесей электролитов число изломов равно числу определяемых компонентов, взаимодействующих с титрантом (рис. 3.3, кривая 3).



*Рисунок 3.3.* Кривые кондуктометрического титрования в контактной ячейке раствором NaOH: 1 – соляной кислоты; 2 – уксусной кислоты; 3 – трехкомпонентной смеси сильной и слабых кислот

При титровании сильными основаниями сильных или слабых кислот величина электропроводности до точки эквивалентности соответственно понижается (так как высокоподвижные ионы  $H^+$  заменяются менее подвижными катионами титранта) или увеличивается (в результате диссоциации соли). При избытке сильного основания после точки эквивалентности электропроводность резко возрастает

(рис. 3.3, кривые 1 и 2). Разработаны методы определения в воде кислот и оснований, солей слабых кислот или оснований.

При кондуктометрическом титровании, основанном на комплексообразовании, катионы (например,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ) титруют этилендиаминтетраацетатом натрия, а также тартрат-, оксалат-, цитрат-, цианид-ионами и др.

Реакции осаждения применяют для кондуктометрического определения как анионов, так и катионов. Например, раствором нитрата серебра оттитровывают  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{CN}^-$ ; раствором ацетата или хлорида бария –  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CrO}_4^{2-}$ ; раствором нитрата тория –  $\text{F}^-$ ,  $\text{SiF}_6^{2-}$ ; раствором селенита натрия –  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ .

**Хронокондуктометрическое титрование** – основано на определении содержания вещества по затраченному на титрование времени, автоматически фиксируемого на диаграммной ленте регистратора кривой титрования.

При хронокондуктометрическом титровании раствор титранта подается в реакционной сосуд (электрохимическую ячейку) с постоянной скоростью так, что время титрования пропорционально количеству прибавленного титранта. Концентрации веществ определяют по кривым «электропроводность раствора – время титрования». Обычно осуществляется автоматическая запись кривых. Все определения, проводимые обычным кондуктометрическим титрованием, могут быть осуществлены хронокондуктометрически.

К достоинствам метода кондуктометрического титрования относится возможность высокоточных (общая погрешность около 2%) измерений даже в разбавленных растворах ( $C_{\text{мин}} \sim 10^{-4}$  моль/л). Контактные методы кондуктометрии применяются не только для химического анализа, но и для изучения кинетики реакций, определения констант диссоциации электролитов, растворимости осадков, коэффициентов диффузии и т.д.

### 3.3. КУЛОНОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

В основе кулонометрических методов анализа лежит явление электролиза, количественно описываемое объединённым законом Фарадея:

*Количество электричества  $Q$ , пропущенное через раствор, пропорционально количеству вещества, разрядившегося на элек-*



*т*роде.

$$Q = \frac{m \cdot F}{M_{\text{Э}}}, \quad (3.5)$$

где  $m$  – масса вещества, разрядившегося на электроде, г;  $M_{\text{Э}}$  – молярная масса эквивалента (эквивалентная масса) вещества (г/моль), для нахождения которой необходимо молярную массу вещества разделить на число электронов, принимающих участие в электродном процессе;  $F$  – число Фарадея.

Количество электричества легко учесть, зная силу тока  $I$  и время электролиза  $\tau$ :  $Q = I \cdot \tau$ . Если механизм и стехиометрия электродных процессов известны, можно использовать закон Фарадея в аналитической практике для определения массы вещества, выделившегося на электроде при известных значениях силы тока и времени электролиза или контроля за количеством пропущенного через раствор электричества по массе выделившегося на электроде вещества. Кулонометрия – единственный физико-химический метод анализа, в котором не требуются стандартные образцы.

Электролиз в кулонометрической ячейке можно проводить либо при постоянной силе тока (*гальваностатическая кулонометрия*), либо при постоянном потенциале (*потенциостатическая кулонометрия*). Применение закона Фарадея возможно при выполнении следующих условий определения: 1) электрохимическое превращение вещества должно протекать со 100%-ным выходом по току, т.е. должны отсутствовать побочные электрохимические и химические процессы; 2) нужны надежные способы определения количества электричества и установления момента завершения электрохимической или химической реакции. Для контроля за количеством пропущенного электричества используют кулонометры или электронные интеграторы.

Установки для кулонометрического анализа состоят из потенциостата или гальваностата, регистрирующего потенциометра или интегратора тока, электролизной ячейки (электролизера) и индикационной системы для установления конца химической реакции в кулонометрическом титровании. Приборы для кулонометрии легко автоматизируются. Электролизеры представляют собой, как правило, стеклянные сосуды, катодные и анодные камеры в которых разделены диафрагмой (например, из пористого стекла). В качестве рабочих и вспомогательных (замыкающих цепь электролиза) электродов используют благородные металлы (Pt, Au), электроды второго рода и,

реже, углеродные материалы (графит, стеклоуглерод и др.). Раствор, в который погружен рабочий электрод, перемешивают обычно магнитной мешалкой; при необходимости эксперимент проводят в атмосфере инертного газа.

Выполнение кулонометрических измерений возможно **прямым** и **косвенным** способом (кулонометрическое титрование).

Метод **прямой кулонометрии** пригоден для анализа электроактивных веществ, так как в основе определения лежит контроль за электрохимической реакцией на поверхности электрода. Прямые кулонометрические измерения можно проводить, поддерживая постоянной либо силу тока, либо потенциал рабочего электрода. Для реализации первого варианта используют *гальваностат*, второго – *потенциостат*.

При использовании *прямой кулонометрии в гальваностатическом режиме* определяемое вещество предварительно осаждают на рабочий электрод в виде металла или оксида. В процессе электролиза определяемое вещество растворяется с поверхности электрода. Как только весь определяемый металл будет удален, произойдет скачок потенциала рабочего электрода, свидетельствующий об окончании электрохимического процесса. Массу определяемого металла находят, измеряя время до скачка потенциала. Применение этого метода наиболее оправдано при определении толщины электродных покрытий. Кулонометрия в гальваностатическом режиме отличается сравнительно низкой погрешностью 0,1-0,3%.

Чаще применяют *прямую кулонометрию в потенциостатическом режиме*. Вероятность протекания тех или иных электрохимических превращений зависит от величины электродного потенциала, поэтому предварительно следует изучить поляризационные кривые в предполагаемых системах и условиях проведения эксперимента. При постоянном потенциале по мере протекания электродного процесса сила тока в ячейке уменьшается в соответствии с уменьшением концентрации электроактивного компонента. Окончание электрохимической реакции сопровождается установлением постоянного остаточного значения силы тока, которое определяется точностью измерения. Функциональную зависимость силы тока от времени используют для нахождения количества пропущенного электричества и массы электроактивного вещества в соответствии с законом Фарадея. Погрешность прямой кулонометрии в потенциостатическом режиме обычно 0,5-1%.

**Кулонометрическое титрование** выполняется методом титрования заместителя и основано на том, что электрохимически получаемый реагент тут же в растворе химически взаимодействует с определяемым веществом ("оттитровывает" определяемое вещество). Следовательно, при кулонометрическом титровании в анализируемый раствор должно быть добавлено вещество, из которого за счет протекания соответствующей электрохимической реакции получается реагент. Кулонометрическое титрование проводится обычно при заданной постоянной силе тока. Количество вещества, из которого электрохимически получается реагент, должно быть в избытке. Тогда изменение его концентрации при анализе будет незначительным, а, следовательно, и изменение потенциала электрода будет невелико, так что можно не опасаться возможности протекания других электрохимических превращений.

Окончание кулонометрического титрования можно фиксировать разными методами: с помощью индикатора, т.е. по изменению окраски в точке эквивалентности, или же приборно – амперометрически или потенциометрически. Зная стехиометрию химической реакции титрования в растворе и электрохимической реакции получения титранта на электроде, легко рассчитать концентрацию определяемого вещества по количеству электричества, затраченному на получение необходимого количества титранта.

Как при прямой кулонометрии, так и при кулонометрическом титровании, вспомогательный электрод должен быть отделен от анализируемого раствора полупроницаемой мембраной. Она препятствует смешиванию продуктов катодного восстановления и анодного окисления и их химическому взаимодействию, а также участию их в электрохимических реакциях на электродах, которые искажают результаты анализа.

Чувствительность кулонометрических методов определяется в основном способами установления момента завершения электрохимической или химической реакции и составляет  $10^{-8}$ - $10^{-9}$  моль/л. Использование неводных и водно-органических сред расширяет область потенциалов, в которой протекают электрохимические и химические реакции, и, таким образом, увеличивает круг веществ, анализируемых данным методом. Кулонометрию применяют для анализа многих неорганических (практически все металлы, галогены, сера и др.) и органических веществ (ароматические амины, нитро- и нитрозо-соединения, фенолы, азокрасители, алифатические амиды и др.); оп-

ределения воды в органических веществах; установления толщины и анализа металлических покрытий; изучения процессов коррозии; исследования кинетики и механизма химических реакций (в т.ч. каталитических); определения констант равновесия реакций; установления числа электронов, участвующих в электрохимических и химических взаимодействиях, и т.д. Кулонометрические детекторы широко используются в проточно-инжекционном анализе и хроматографии.

### 3.4. ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Электрохимические методы, использующие зависимость силы тока, протекающего через раствор, от величины приложенного к электродам напряжения, называют *вольтамперометрическими*. Исторически первым таким методом стала *полярография*. Так называют вольтамперометрический метод, в котором рабочим является ртутный капающий электрод. Полярография была создана в 1922 г. чешским ученым Ярославом Гейровским и завоевала особую популярность в 30-е годы XX века. Позднее возникли и другие вольтамперометрические методы, более чувствительные или более селективные. Классическую полярографию в аналитических лабораториях теперь используют реже, чем новые методы, но вольтамперометрические методы в целом легче понять именно на примере полярографии.

#### **Классическая полярография. Аппаратура и принцип метода**

Ртутный капающий электрод (РКЭ) представляет собой капилляр, соединенный с резервуаром, наполненным ртутью (рис. 3.4). Под действием силы тяжести ртуть по каплям вытекает из капилляра, следовательно, рабочая поверхность электрода постоянно обновляется. Второй электрод – ртуть, находящаяся на дне электрохимической ячейки. На электроды от внешнего источника подают постоянное по знаку, но постепенно увеличивающееся по величине напряжение. В полярографической ячейке, представленной на рис. 3.4, РКЭ является катодом (1), а донная ртуть (2) – анодом. В процессе измерения через ячейку с исследуемым раствором проходит постоянный ток от внешнего источника питания (Б). Зависимость измеряемой гальванометром (Г) силы тока от величины приложенного напряжения называют вольтамперной кривой, или полярограммой. Если бы на поверхности электродов не шли окислительно-восстановительные реакции, вольтамперная кривая представляла бы собой прямую линию (в соответствии с законом Ома). Но на реальных вольтамперных кривых Гейров-

ский обнаружил ступени (*полярографические волны*). Положение и высота каждой волны хорошо воспроизводились при повторении опытов и зависели от состава раствора.

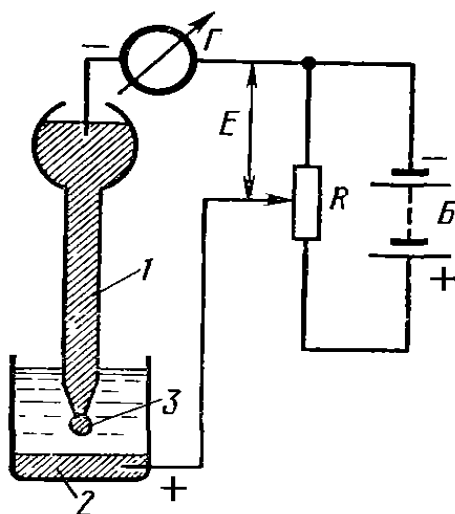


Рисунок 3.4. Схема полярографических измерений: 1 – ртутный каплющий электрод, 2 – донная ртуть, 3 – капля ртути, Г – гальванометр, Б – внешний источник питания, R – переменное сопротивление.

Гейровский установил, что каждая из полярографических волн соответствует восстановлению одного из растворенных веществ-окислителей. Такие вещества были названы *деполяризаторами*. Ими могли быть катионы металлов или водорода, некоторые органические вещества, растворенный кислород, а также молекулы воды. Если в растворе есть несколько деполяризаторов-окислителей с разными потенциалами восстановления, то при постепенном увеличении напряжения, подаваемого на ячейку, они будут восстанавливаться последовательно, и на кривой зависимости силы тока от напряжения появятся не одна, а несколько волн.

**Вольтамперные кривые.** Рассмотрим вольтамперную кривую раствора (рис. 3.5), содержащего один деполяризатор, например, ионы  $\text{Cd}^{2+}$ .

Высота волны, отрезок BC, зависит от концентрации ионов в растворе, а величина *потенциала полуволны* –  $E_{1/2}$  является качественной характеристикой, которая зависит только от природы иона. Таким образом, по величине  $E_{1/2}$  можно провести качественный анализ, т.е., установить, какие ионы присутствуют в растворе, а по высоте волны, представляющей собой величину *предельного диффузионного тока* ( $I_D$ ) – узнать, какова их концентрация. Для нахождения концентрации

иона в исследуемом растворе предварительно строят градуировочный график по ряду стандартных растворов с точно известными концентрациями (рис. 3.6).

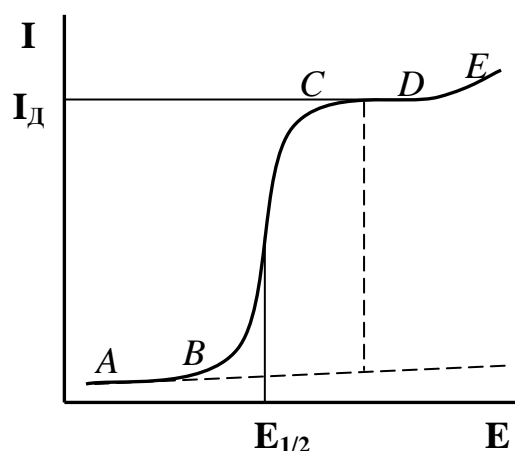


Рисунок 3.5. Полярограмма раствора  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$

Для стандартных условий значения  $E_{1/2}$  разных депполяризаторов приведены в справочной литературе. Эти данные можно использовать в качественном анализе для идентификации депполяризаторов. Значения  $E_{1/2}$  также используют, чтобы оценить возможность раздельного определения нескольких депполяризаторов.

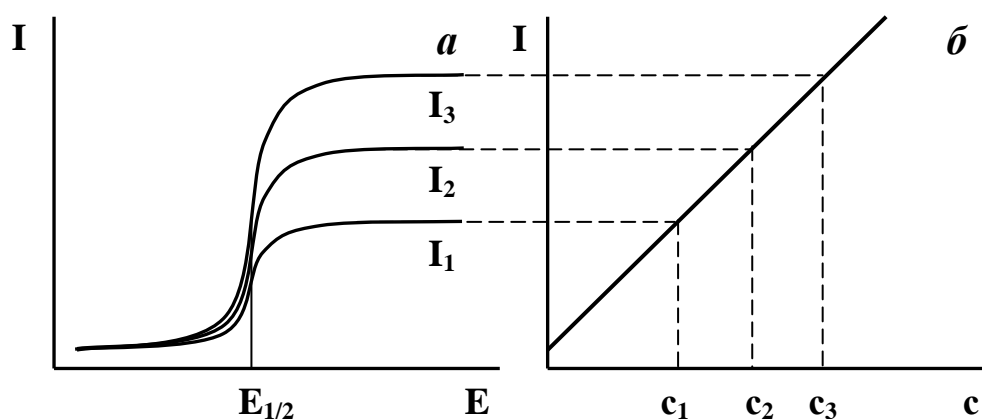


Рисунок 3.6. Полярограммы растворов  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  разной концентрации (а) и градуировочный график для определения ионов  $\text{Cd}^{2+}$  (б).

Например, в нейтральной среде потенциалы полуволн цинка и никеля почти совпадают; значит, раздельное определение этих ионов в их смеси невозможно (на полярограмме смеси будет лишь одна волна, соответствующая суммарной концентрации катионов никеля и цинка). А вот в среде аммиачного буферного раствора потенциалы полуволн тех же ионов различаются почти на 0,4 В, так как процесс

восстановления  $Zn^{2+}$  из-за комплексообразования смещается в более отрицательную область. В этих условиях на вольтамперной кривой будут наблюдаться две волны, раздельное определение цинка и никеля окажется вполне возможным.

**Применение полярографии в анализе. Достоинства и недостатки полярографии как аналитического метода.** Еще в 1925 году Гейровский и Шиката сконструировали самопишущий полярограф, и этот прибор сразу же стал применяться в аналитических лабораториях, преимущественно для определения малых количеств меди, свинца, кадмия, цинка и других металлов в сплавах и минералах. Длительные и трудоемкие операции предварительного разделения компонентов теперь не требовались. Можно было порознь определять различные формы одного и того же элемента (например,  $Cr^{3+}$  и  $CrO_4^{2-}$ ). Позднее полярографию стали использовать еще шире – для определения неметаллов и органических веществ. Метод вызвал всеобщий интерес, ведь полярограф был первым автоматизированным аналитическим прибором, пригодным для многоэлементного анализа – как качественного, так и количественного – самых разных объектов. Классическая полярография давала очень высокую сходимость результатов. Метод был селективным, чувствительным (нижняя граница определяемых концентраций –  $10^{-5}$ - $10^{-6}$  М) и глубоко обоснованным в теоретическом отношении.

Современные полярографы имеют гораздо бóльшие возможности, чем полярограф Гейровского. В частности, кроме обычных вольтамперных кривых, они позволяют регистрировать производные

этих кривых, например, в координатах  $\frac{dI}{dE} - f(E)$ . В этом случае на полярограмме смеси деполяризаторов наблюдается ряд пиков. Положение каждого пика совпадает с потенциалом полуволны на обычной полярограмме, а высота пика пропорциональна концентрации соответствующего деполяризатора. При таком способе регистрации повышается селективность анализа – можно идентифицировать и раздельно определять компоненты, потенциалы полуволн которых отличаются всего на 0,06 В. Что касается правильности и сходимости, то эти параметры остаются примерно такими же, как и в классическом варианте полярографии.

В 50-х годах XX века практически одновременно возникло несколько «неклассических» вольтамперметрических методов. От

обычной полярографии они отличались и по виду рабочего электрода, и по способу измерения аналитического сигнала. К их числу относят амперометрическое титрование, биамперометрию, дифференциальную и осциллографическую полярографию, инверсионную вольт-амперометрию, переменноточковую вольтамперометрию и некоторые другие методы. Наиболее широко в исследовательских и контрольно-аналитических лабораториях применяют амперометрическое титрование и инверсионную вольтамперометрию (ИВА).

### Амперометрическое титрование

Этот метод, разработанный известным американским аналитиком И. Кольтгофом, обеспечивает высокую точность анализа. В анализируемый раствор помещают два электрода и подают на них напряжение, вызывающее появление предельного диффузионного тока.

На рис. 3.7 представлены кривые амперометрического титрования, демонстрирующие характер изменения тока в ходе электролиза. На рабочем электроде происходит восстановление (либо окисление) определяемого компонента, но так как сила тока невелика, заметного снижения концентрации компонента за счет электрохимического процесса не происходит. Затем в раствор начинают вводить подходящий титрант, который реагирует с определяемым веществом. Предельный диффузионный ток при этом снижается, вплоть до достижения точки эквивалентности (т.э.). После т.э. ток, протекающий через ячейку, уже не меняется (рис. 3.7 *a*). По перегибу кривой амперометрического титрования находят положение конечной точки титрования, а затем рассчитывают результат определения по обычным формулам титриметрического анализа с использованием эквивалентного объема титранта ( $V_{ЭКВ}$ ).

Создавать аналитический сигнал, меняющийся в ходе титрования, может как определяемое вещество, так и титрант, а также продукт взаимодействия титранта с определяемым компонентом. В этих случаях также будут наблюдаться линейные участки на кривых титрования, но форма зависимости будет иной (рис. 3.7, *b* и *c*).

В некоторых случаях аналитический сигнал могут создавать сразу два участника основной реакции. Например, на электроде могут окисляться и определяемое вещество, и титрант. Тогда кривая титрования будет соответствовать кривой на рис. 3.7 *г*.



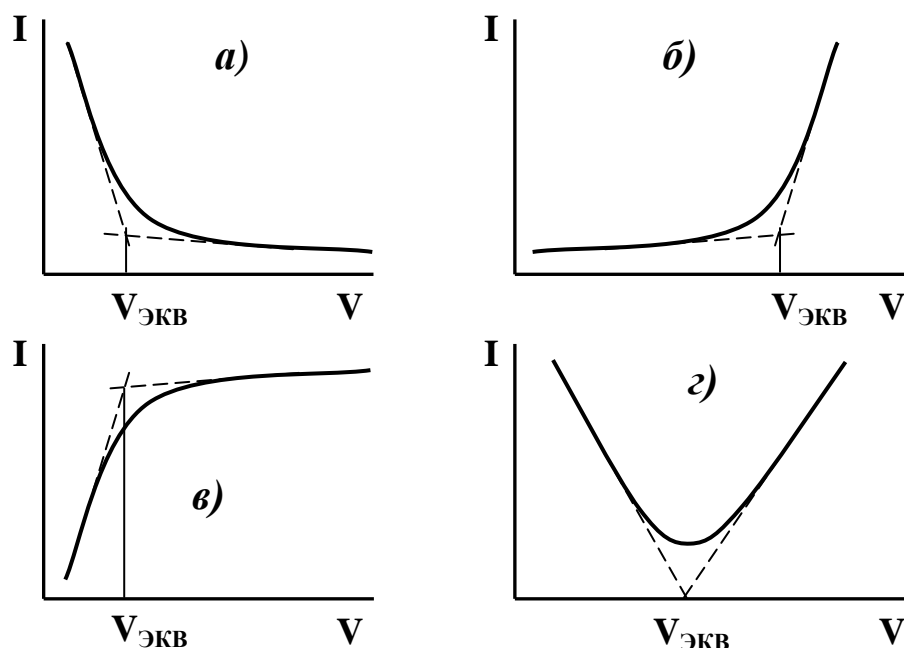


Рисунок 3.7. Кривые амперометрического титрования

Амперометрическое титрование – более простой и универсальный метод, чем классическая полярография. Таким способом можно определять даже те вещества, которые не окисляются и не восстанавливаются на электродах. Метод весьма селективен. Высокая точность при измерении предельного диффузионного тока не требуется, важен лишь характер его изменения в ходе титрования. Тем не менее, амперометрическое титрование как метод анализа дает высокую точность, но чувствительность этого метода не выше, чем у классической полярографии.

### Инверсионная вольтамперометрия (ИВА)

Этот метод детально разработан советскими электрохимиками-аналитиками, в частности А.Г. Стромбергом и его учениками. Так как метод ИВА не требует применения больших количеств ртути, он сравнительно безопасен. ИВА включает операцию предварительного концентрирования определяемого элемента (как правило, металла). Поэтому нижняя граница определяемых содержаний в этом методе составляет  $10^{-9}$ - $10^{-10}$ М, что на несколько порядков ниже, чем в классической полярографии.

Чтобы провести анализ, пробу переводят в раствор, а затем при постоянном перемешивании ведут электролиз этого раствора. В качестве катода при этом используют неподвижную каплю ртути. В простейшем случае продолжительность электролиза выбирают так, что-

бы все катионы определяемого металла успели восстановиться на катоде и накопиться на нем в виде амальгамы. Затем полярность электродов меняют, капля ртути становится анодом, начинается быстрый процесс анодного растворения накопившегося металла. Возникает ток растворения, который и является аналитическим сигналом. Его величина пропорциональна концентрации металла в капле. Так как объём капли во много раз меньше объёма исходного раствора, концентрация определяемого металла в капле во много раз больше начальной. Во столько же раз усиливается аналитический сигнал.

Кроме высокой чувствительности, метод ИВА обладает и другими достоинствами. Можно одновременно накопить на катоде (в капле ртути) сразу несколько металлов, а затем отдельно регистрировать токи их анодного растворения (на полярограмме наблюдают несколько пиков при разных потенциалах). По положению пиков можно опознать соответствующие металлы, а по высоте или площади пиков – рассчитать содержание каждого металла в исходной пробе. Такой способ анализа обычно применяют для селективного определения следовых количеств токсичных тяжелых металлов (свинец, кадмий и др.) в воде и пищевых продуктах, а также для контроля микропримесей в химических реактивах и полупроводниковых материалах. Точность инверсионной вольтамперометрии немного уступает точности классической полярографии, но вполне достаточна для решения многих химико-аналитических задач.

***Контрольные вопросы:***

1. Какие электрические характеристики используются в качестве аналитического сигнала в кондуктометрии, кулонометрии, полярографии?
2. Какой из методов прямая кондуктометрия или кондуктометрическое титрование обладает большей селективностью?
3. Что такое электролиз? Сформулируйте объединенный закон Фарадея.
4. Какие разновидности кулонометрического анализа Вы знаете, и где они применяются?
5. Какую зависимость называют полярограммой и как её получают?
6. Какие параметры полярограммы используют при характеристике

качественного состава раствора и при определении концентрации компонентов?

7. В чём особенности амперометрического титрования?

8. Назовите достоинства метода инверсионной вольтамперометрии.

#### 4. ТЕРМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Термические методы анализа основаны на взаимодействии вещества с тепловой энергией. Термические эффекты могут наблюдаться при протекании, как химических реакций, так и физических процессов (переход вещества из одной модификации в другую, изменение агрегатного состояния, растворение). К наиболее распространенным методам термического анализа относят термогравиметрию, термический и дифференциальный термический анализ, термометрическое титрование, энтальпиметрию, дилатометрию, катарометрию.

**Термогравиметрия** – метод, основанный на измерении потери массы пробы при изменении температуры. Компоненты пробы при повышении температуры могут подвергаться физическим (испарение) и химическим (термическое разложение) превращениям. Кривые изменения массы образца  $\Delta m$  по мере увеличения температуры  $T$  – термогравиграммы (ТГ) – позволяют проследить за превращениями, происходящими с пробой при нагревании. Часто используют дифференциальную форму термогравиграмм (ДТГ)  $\frac{\Delta m}{\Delta T} = f(T)$  (рис. 4.1).

Термогравиграммы в интегральной и дифференциальной форме можно использовать для решения следующих задач:

1. Нахождение содержания компонента, удаляемого из образца при нагревании, по изменению массы пробы.

2. Изучение состава веществ на разных стадиях их разложения, возможно при условии идентификации продуктов реакции каким-либо другим способом. Например, метод можно использовать для определения влаги в пробах, причем по характеристическим температурам, соответствующим площадкам на термогравиграммах. удастся различать адсорбционную и кристаллизационную воду.

3. Определение интервалов температур устойчивости разных форм вещества.

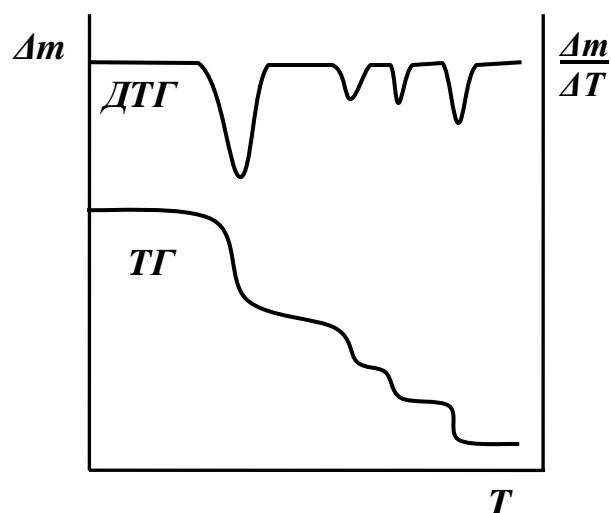


Рисунок 4.1. Термогравиметрическая (ТГ) и соответствующая ей дифференциальная термогравиметрическая (ДТГ) кривые.

Для регистрации термогравиметрических кривых необходимы односторонние аналитические весы с автоматической регулировкой температуры – термовесы. На вид термогравиметрической кривой сильное влияние оказывают скорость нагревания, масса осадка, скорость и механизм протекания термических превращений, наличие посторонних веществ. Это следует учитывать при проведении термогравиметрических исследований.

**Термический анализ и дифференциальный термический анализ** основаны на измерении температуры пробы во времени при ее нагревании или охлаждении. Поглощение теплоты образцом при нагревании приводит к инициации физических и химических превращений, которые в свою очередь сопровождаются тепловыми эффектами. При протекании эндотермических реакций в образце его температура уменьшается, экзотермические реакции вызывают повышение температуры образца. В результате линейная зависимость температуры от времени нарушается (рис. 4.2 а).

В случае большого интервала исследуемых температур и при невысокой чувствительности приборов на термоаналитической кривой  $T - t$  небольшие тепловые эффекты плохо заметны, поэтому для расшифровки результатов строят дифференциальные зависимости  $\frac{dT}{dt} - t$  (рис. 4.2 б). Идентификация тепловых эффектов по таким кривым усложняется из-за того, что по окончании термического процесса системе необходимо определенное время для нагревания (или охлаждения) и возврата к исходной скорости развертки температуры.

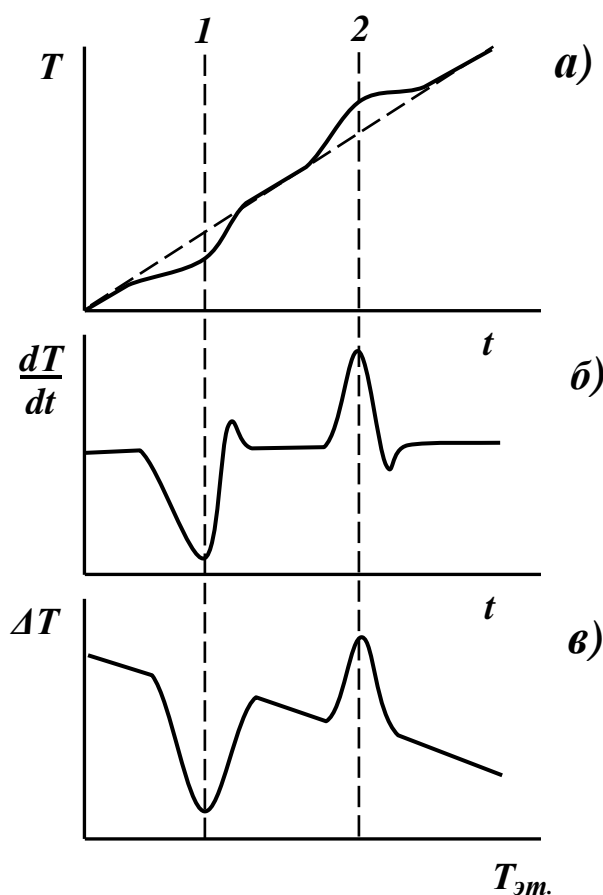


Рисунок 4.2. Кривые термического анализа для эндотермического (1) и экзотермического (2) процессов.  $T$  – температура образца,  $T_{\text{эталон}}$  – температура эталона,  $t$  – время термолиза

В методе дифференциального термического анализа (ДТА) измерение температуры образца проводят относительно температуры инертного материала (эталона). В качестве эталона можно использовать термически инертное в исследуемом температурном промежутке вещество. Для этих целей часто используют оксид алюминия. Кривые  $\Delta T - T_{\text{эталон}}$ , представленные на рис. 4.2в, можно использовать для качественной характеристики тепловых процессов.

Положение экстремумов на кривых ДТА соответствует температурам фазовых и химических превращений. Площадь, ограниченная пиком на кривой, пропорциональна тепловому эффекту реакции, а также количеству вступающего в реакцию вещества. Однако форма пика сильно зависит от условий термолиза (скорости изменения температуры, теплоемкости исследуемого образца, массы навески и т.д.), что ограничивает использование ДТА для количественных определений.

Использование дифференциального сканирующего калориметра (ДСК) позволяет проводить калориметрические измерения с достаточной точностью. Его особенностью является наличие калориметра

изотермического типа, который уменьшает влияние различий в теплопроводности и теплоемкости исследуемого образца и эталона. Сканирующий калориметр удобен для определения следов примесей в высокочистых органических соединениях.

**Термотитриметрия** – метод титрования, в котором изучается зависимость температуры анализируемой системы от объёма добавленного титранта.

Для титрования используют автоматические бюретки, для измерения температуры – чувствительные термопары и термисторы, показания регистрируют с помощью самописца. В настоящее время применяют автоматические термотитраторы, измеряющие температуру с точностью до  $\pm 0.0002^\circ$ ; погрешность составляет  $\pm 1\%$ .

Термометрические кривые в координатах температура – объем похожи на кривые титрования в других титриметрических методах.

Метод термометрического титрования может быть использован при проведении самых разных реакций титрования. Можно титровать как в водных, так и в неводных растворах. Для уменьшения погрешности титрования следует соблюдать ряд условий. Реакции должны протекать быстро. Концентрация анализируемого раствора должна быть не менее  $10^{-3}$  М, поскольку при работе с разбавленными растворами выделяющейся теплоты недостаточно, чтобы вызвать большие изменения температуры. Растворы титранта наоборот должны быть концентрированными, чтобы эффекты разбавления не влияли на результаты измерения температуры.

**Энтальпиметрия** основана на определении количества вещества по разностям температур, соответствующим изменениям энтальпии  $\Delta H$ . Основным калориметрическим уравнением является

$$\Delta H = \frac{k \cdot \Delta t}{\nu}, \quad (4.1)$$

где  $\Delta H$  – тепловой эффект реакции (изменение энтальпии системы), кДж/моль;  $\Delta t$  – изменение температуры в результате реакции,  $^\circ\text{C}$ ;  $\nu$  – количество вещества, моль;  $k$  – постоянная калориметра, то есть количество тепла, которое нужно сообщить калориметру, чтобы изменить температуру всех его частей на один градус. Постоянную калориметра ( $k$ ) определяют по известному изменению энтальпии ( $\Delta H$ ), сопровождающему растворение соли.

Изменение энтальпии реакции для одного моля вещества представляет собой стандартную величину  $\Delta H^\circ$ . Если в реакцию вступает  $\nu$

молей, то будет выделяться  $\Delta H = \nu \cdot \Delta H^\circ$  теплоты. При известной теплоемкости системы, зная значение стандартной энтальпии реакции и измерив изменение температуры в результате протекания реакции, можно найти количество вещества. Наоборот, зная  $\nu$ , можно найти  $\Delta H$ .

Энтальпиметрию применяют при определении тепловых эффектов химических реакций, процессов растворения, гидратации, адсорбции, кристаллизации. Этот метод обладает высокой чувствительностью. Например, можно определить  $3 \cdot 10^{-9}$  М нитрит-иона с погрешностью 5% по реакции с сульфаминовой кислотой.

**Дилатометрия** – метод, в основе которого лежит изменение линейных или объемных размеров в зависимости от температуры. Это термический метод анализа, с помощью которого можно определять преимущественно структурные изменения. При фазовых переходах меняется коэффициент линейного расширения и вследствие этого относительное увеличение объема или длины.

Дилатометрия применяется главным образом для исследования полимеров и дает информацию о тепловом расширении, степени полимеризации и степени их кристалличности.

**Катарометрия** основана на измерении теплопроводности газовых смесей как функции их состава. В присутствии различных газообразных веществ в потоке газа теплопроводность смеси отличается от теплопроводности чистого газа-носителя. Если на пути потока газа поместить нагретую проволоку, то степень ее охлаждения будет зависеть от состава газовой смеси. Используя температурную зависимость сопротивления можно анализировать состав газовой смеси. Вместо металлических сопротивлений чаще используют чувствительные термисторы. Катарометрия широко применяется для анализа технических газовых смесей, например газов, выбрасываемых трубами предприятий. Кроме того, катарометры являются наиболее употребительными детекторами в газовой хроматографии.

## 5. ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Ферментативные методы анализа, основаны на использовании химических реакций с участием ферментов. Определяемые компоненты – вещества, превращение которых катализирует фермент, называют *субстратами*. Для протекания ферментативной реакции требуется присутствие *коферментов* — соединений, необходимых для осуществления каталитического действия фермента, и *эффекторов* – веществ,

влияющих на каталитическую активность фермента, активируя или замедляя её.

О содержании определяемого компонента судят либо по количеству конечного продукта ферментативной реакции, либо, чаще, по начальной скорости процесса, положенного в основу методики определения.

Для наблюдения за скоростью ферментативной реакции применяют обычно инструментальные методы, чаще других — люминесцентные, спектрофотометрические, электрохимические. Так, например, для определения глюкозы применяют реакцию её окисления кислородом воздуха до глюконовой кислоты и перекиси водорода, катализируемую ферментом — глюкозооксидазой. Для контроля за скоростью этого процесса используют электрохимические методы, наблюдая за уменьшением количества кислорода в растворе с помощью  $O_2$ -чувствительного электрода Кларка или измеряя рН раствора. Минимальное содержание глюкозы, которое можно определять этими способами детекции 0,01-0,03 ммоль/л.

В ферментативных методах анализа часто используют системы, состоящие из нескольких сопряжённых реакций, катализируемых различными ферментами. Продукты первой ферментативной реакции являются субстратами для второй ферментативной реакции (индикаторной), что позволяет повысить чувствительность определения того или иного соединения и при необходимости изменить способ детекции. Так, например, применяют биферментативные сопряжённые реакции для определения глюкозы. Выделяющийся в реакции глюкозы с кислородом пероксид водорода определяют по реакции его окисления в присутствии другого фермента — пероксидазы о-дианизидина (3,3'-диметоксибензидина) с образованием окрашенного или люминесцирующего вещества. Спектрофотометрический или люминесцентный методы контроля позволяют определять содержание глюкозы соответственно 2 мкмоль/л и 20 нмоль/л.

Предел обнаружения, нижняя и верхняя границы определяемых содержаний компонентов зависят от кинетических характеристик используемой индикаторной ферментативной реакции и, прежде всего, каталитической активности фермента. Достоинством ферментативных методов анализа является высокая чувствительность, обусловленная активностью ферментов, природой индикаторных реакций и способами детекции аналитического сигнала, а также высокая селективность и мягкие условия проведения анализа. Высокая селективность фермен-



тативных методов анализа обусловлена образованием фермент-субстратного комплекса в процессе каталитического акта, требующего структурного соответствия активного центра фермента и субстрата. Поэтому большинство ферментов активно только в реакциях с субстратом одного определённого типа или с группой субстратов, имеющих общие структурные группы.

### **Использование иммобилизованных ферментов**

Недостатки ферментативных методов анализа обусловлены рядом особенностей ферментов:

- потерей функциональной активности и стабильности ферментов под воздействием различных факторов;
- высокой стоимостью из-за невозможности многократного использования растворимых ферментов и трудности их выделения и очистки.

Применение *иммобилизованных ферментов* (привитых к поверхности или закреплённых в объёме инертного вещества) расширило возможности ферментативных методов анализа. Более высокая стабильность и возможность многократного использования иммобилизованных ферментов позволили снизить стоимость анализов, повысить экспрессность, проводить химический анализ в потоке и автоматизировать ферментативные методы.

Впервые иммобилизованные ферменты в химическом анализе применили в середине 60-х гг. XX в. Так, для обнаружения фосфорсодержащих пестицидов в воздухе используют холинэстеразу, включённую в крахмальный гель, нанесённый на полиуретановую пластинку. С помощью глюкозооксидазы или лактатдегидрогеназы, включённых в полиакриламидный гель, определяют соответственно глюкозу или молочную кислоту.

Помимо единичных иммобилизованных ферментов, в химическом анализе используют соиммобилизованные ферментные системы, позволяющие повышать чувствительность и селективность определения. При этом все чаще применяют *иммобилизованные клетки микроорганизмов*, содержащие естественный набор ферментов. Преимущество такой иммобилизации состоит в том, что исключаются стадии выделения, очистки и иммобилизации ферментов, увеличивается их стабильность. Иммобилизацию используют не только для ферментов, но и для субстратов, коферментов и эффекторов.

Предложены разнообразные *реакторы с иммобилизованными ферментами* – колонки, трубки, полые нити. Для заполнения колонок

применяют обычно ферменты, ковалентно связанные с аминированным стеклом, акриловыми полимерами, агарозой, сефарозой, найлоновым порошком, силикагелем и т. д. В трубчатых реакторах фермент ковалентно иммобилизуется на внутренней поверхности найлоновой трубки, длина которой варьирует от 1 до 3 м. С помощью таких реакторов, прокачивая через них анализируемый раствор, определяют, например, в сыворотке крови: мочевины, мочевую кислоту, аминокислоты, глюкозу, лактозу, мальтозу, пенициллин.

Разработан метод включения ферментов внутрь полых волокон триацетатцеллюлозы в момент их формования. Фермент оказывается включённым во внутреннюю полость, куда могут проникать только низкомолекулярные субстраты. Эти нити наматывают в виде катушек, заключают в стеклянную оболочку и через такой бобинный ферментный реактор пропускают анализируемую смесь, например, при определении пенициллина, мочевины или глюкозы.

Скорость пропускания потока смеси растворов, содержащих анализируемую пробу и реагенты, через реакторы устанавливают такой, что после прохождения через ферментный реактор реакция либо заканчивается (при анализе по конечному продукту), либо протекает до определенной глубины (скорость обычно определяют способом фиксированного времени).

### **Разновидности ферментативных методов анализа**

Среди наиболее чувствительных ферментативных методов анализа особое место занимают *биолюминесцентные методы* (см. Люминесцентный анализ). Чаще других используют процессы, катализируемые ферментом люциферазой светлячков. Система включает люциферин, который в присутствии АТФ подвергается катализируемому люциферазой окислению кислородом с образованием люминесцирующего вещества. Высокий квантовый выход биолюминесценции, применение полиферментных сопряженных реакций позволяет определять некоторые соединения при концентрации 0,001-0,1 пМ.

Один из важных ферментативных методов анализа – *анализ с использованием ферментных электродов*, которые сочетают высокую селективность биокатализа и совершенную технику электрохимических методов. В простейшем варианте растворимый фермент помещают между двумя полупроницаемыми мембранами; одна отделяет раствор фермента от электродного датчика, другая – от анализируемого раствора. Однако чаще ферменты иммобилизуют, включая их в по-

лимерные или гелевые пленки альбумина, желатина, агар-агара, коллагена, гидроксида алюминия или ковалентно присоединяя к поверхности стеклянных дисков, полупроницаемых мембран (целлюлозных, поликарбонатных). Пленки прикрепляют к поверхности электрода. Часто такую пленку (мембрану) готовят непосредственно на поверхности электрода. Субстрат диффундирует через слой, содержащий фермент, образуя электроактивное вещество, детектируемое при помощи потенциометрического или амперометрического датчика.

На основе использования ферментов созданы различные *экспресс-тесты*. Многие из них чрезвычайно просты. Например, тест-устройство для определения токсичных фосфорсодержащих пестицидов в продуктах питания представляет собой бумажную полоску, один конец которой пропитан раствором хромогенного субстрата, а второй содержит иммобилизованную холинэстеразу. При анализе концы полоски совмещают и обмакивают в воду, выжатый из фруктов или овощей сок и т. д. Так как пестициды в больших, чем ПДК, количествах ингибируют холинэстеразу, то отсутствие окраски свидетельствует о превышении ПДК пестицидов. Появление окраски бумажки свидетельствует об отсутствии пестицидов в пробе. Аналогичные бумажные тесты предложены для определения глюкозы в моче и крови, ртути в воде и т. д.

Широкое распространение получают *иммуноферментные методы* – разновидность иммунных методов анализа (радиоактивная или флуоресцентная метка заменяется ферментом). Их используют для определения иммуноглобулинов, гормонов, стероидов, лекарственных средств, пестицидов и др. Эти методы обладают исключительно высокой чувствительностью и селективностью.

**Основные области применения ферментативных методов анализа** – клиническая медицина и биохимия. С помощью ферментов в крови, моче, тканях и других биологических объектах определяют малые количества физиологически активных веществ, метаболитов, ферментов, мутагенов, канцерогенов, лекарственных препаратов. Ферментативные методы используют также в пищевой и фармакологической промышленности, при контроле загрязнений окружающей среды. Так, например, разработаны и применяются ферментативные методы определения фосфорсодержащих пестицидов, фенолов, аминов, ионов тяжелых металлов в природных и сточных водах.

## 6. РАДИОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

**Радиометрический анализ**, метод анализа химического состава веществ, основанный на использовании радиоактивных изотопов и ядерных излучений. В радиометрическом анализе для качественного и количественного определения состава веществ используют радиометрические приборы: газо-ионизационные датчики, сцинтилляционные счетчики и полупроводниковые датчики. Различают несколько способов радиометрического анализа.

*Прямое радиометрическое определение* основано на осаждении определяемого иона в виде нерастворимого осадка избытком реагента известной концентрации, содержащего радиоактивный изотоп с известной удельной активностью. После осаждения устанавливают радиоактивность осадка или избытка реагента.

*Радиометрическое титрование* основано на том, что определяемый в растворе ион образует с реагентом малорастворимое или легкоэкстрагируемое соединение. Индикатором при титровании служит изменение радиоактивности, по мере введения реагента: 1) радиоактивности раствора; 2) раствора или экстракта. Конечная точка титрования определяется по излому кривой титрования, выражающей зависимость между радиоактивностью титруемого раствора (или осадка) и объёмом введённого реагента. Радиоактивный изотоп может быть введён в реагент или определяемое вещество, а также в реагент и определяемое вещество. *Метод изотопного разбавления* основан на тождественности химических реакций изотопов данного элемента. Для его осуществления к анализируемой смеси добавляют некоторое количество определяемого вещества  $m_0$ , содержащего в своём составе радиоактивный изотоп с известной радиоактивностью  $I_0$ . Затем выделяют любым доступным способом (например, осаждением, экстракцией, электролизом) часть определяемого вещества в чистом состоянии и измеряют массу  $m_1$  и радиоактивность  $I_1$  выделенной порции вещества. Общее содержание искомого элемента в анализируемом объекте находят из равенства отношений радиоактивности выделенной пробы к радиоактивности введённого вещества и массы выделенного вещества к сумме масс введённого вещества и находящегося в анализируемой

$$\text{смеси: } \frac{I_1}{m_1} = \frac{I_0}{m + m_0}, \text{ откуда } m = \frac{I_0}{I_1} m_1 - m_0.$$

При *активационном анализе* исследуемое вещество облучают (активируют) ядерными частицами или жёсткими  $\gamma$ -лучами, а затем определяют активность образующихся радиоактивных изотопов, которая пропорциональна числу атомов определяемого элемента, содержанию активируемого изотопа, интенсивности потока ядерных частиц или фотонов и сечению ядерной реакции образования радиоактивного изотопа. Идентификацию нуклидов проводят по величине периода их полураспада.

*Фотонейтронный метод* основан на испускании нейтронов при действии фотонов высокой энергии ( $\gamma$ -квантов) на ядра атомов химических элементов. Количество нейтронов, определяемое нейтронными детекторами, пропорционально содержанию анализируемого элемента. Эта энергия фотонов должна превышать энергию связи нуклонов в ядре, которая для большинства элементов составляет  $\sim 8$  МэВ (лишь для бериллия и дейтерия она равна соответственно 1.666 МэВ и 2.226 МэВ; при использовании в качестве источника  $\gamma$ -квантов изотопа  $^{124}\text{Sb}$ , с  $E^\gamma=1.7$  и 2.1 МэВ, можно определять бериллий на фоне всех др. элементов).

В радиометрическом анализе применяются также методы, основанные на поглощении нейтронов,  $\gamma$ -лучей,  $\beta$ -частиц и квантов характеристического рентгеновского излучения радиоактивных изотопов. В методе анализа, основанном на отражении электронов или позитронов, измеряется интенсивность отражённого потока. Энергия частиц, отражённых от лёгких элементов, во много раз меньше энергии частиц, отражённых от тяжёлых элементов, что позволяет определять содержание тяжёлых элементов в их сплавах с лёгкими элементами и в рудах.

## 7. МАСС-СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

**Масс-спектроскопия** (масс-спектрометрия) – метод анализа, основанный на ионизации атомов и молекул вещества с последующим разделением образующихся ионов в пространстве и детектированием. Существенное отличие масс-спектрометрии от других аналитических физико-химических методов состоит в том, что оптические, рентгеновские и некоторые другие методы детектируют излучение или поглощение энергии молекулами или атомами, а масс-спектрометрия непосредственно детектирует сами частицы вещества. Масс-спектрометрия измеряет их массы, вернее отношение массы к заряду. Для этого используются законы движения заряженных частиц

материи в магнитном или электрическом поле. Масс-спектр – это рассортировка заряженных частиц по их массам (точнее отношениям массы к заряду).

Принципиальная схема масс-спектрометра представлена на рис. 7.1. Газообразная или жидкая проба вводится в устройство, в котором вещество испаряется и создается необходимое для работы *ионного источника* давление.

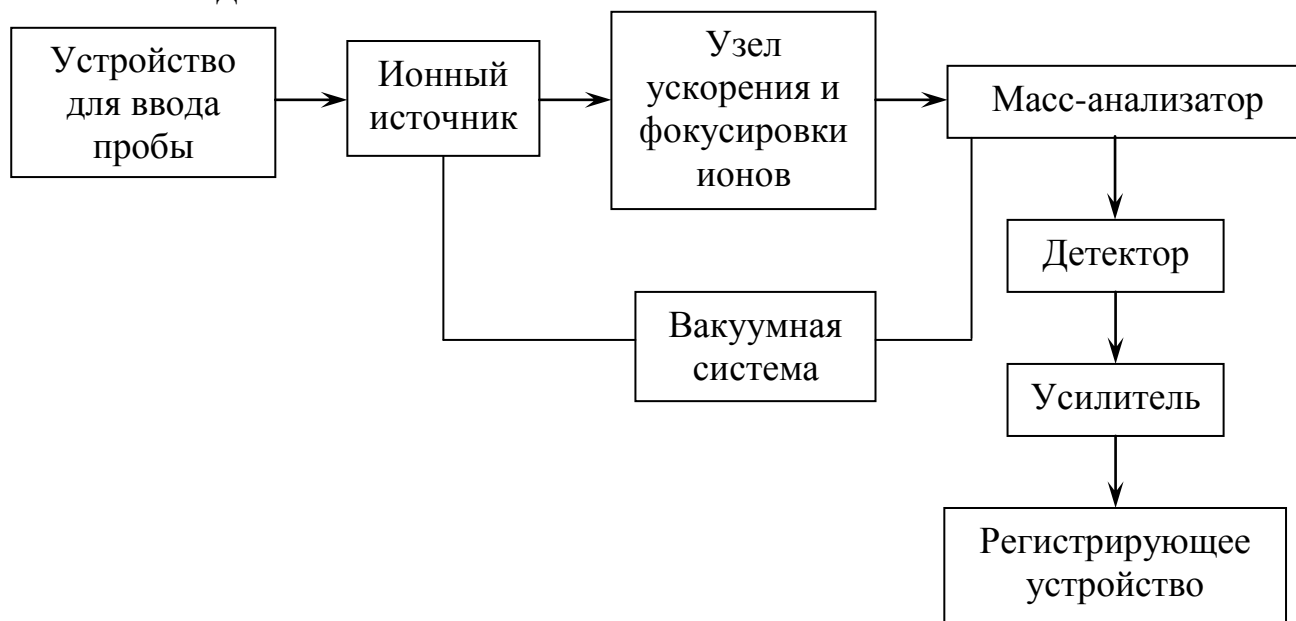


Рисунок 7.1. Принципиальная схема масс-спектрометра.

Ионизация молекул и атомов в ионном источнике может осуществляться различными методами: электронным ударом, химической ионизацией, искровым разрядом, лазерным излучением, бомбардировкой пучком ионов. Используемый способ определяется природой анализируемых веществ. При анализе органических соединений наиболее широко применяют более «мягкие» способы ионизации: электронный удар и химическую ионизацию. Для ионизации неорганических материалов (металлы, сплавы, горные породы и т.д.) требуется использование других методов. Энергии связи атомов в твердом теле гораздо больше и поэтому необходимо использовать значительно более жесткие методы для того, чтобы разорвать эти связи и получить ионы. Образующиеся ионы при выходе из ионизатора ускоряются электрическим полем и одновременно фокусируются в пучок. Нейтральные молекулы удаляются вакуумным насосом. Все узлы прибора находятся под высоким вакуумом, который обеспечивает необходимую длину пробега ионов.

Поток ускоренных ионов попадает в *масс-анализатор*, где происходит их сортировка по массам (точнее по отношению массы к за-

ряду, или  $m/z$ ). Масс-спектрометры различают по типу масс-анализаторов: магнитные, квадрупольные, а также масс-анализаторы работающие по принципу «ионной ловушки» и использующие для разделения ионов время их пролета.

В *магнитном масс-анализаторе* разделение ионов происходит в однородном магнитном поле. Согласно физическим законам траектория заряженных частиц в магнитном поле искривляется, а радиус кривизны зависит от массы частиц. Магнитные масс-спектрометры имеют высокое разрешение и могут использоваться со всеми видами ионизации. Несмотря на значительные преимущества современных магнитных масс-анализаторов перед остальными (рекордная чувствительность, однозначность идентификации, большой рабочий диапазон масс), они требуют использования высоких напряжений (тысячи вольт) и обладают двумя основными "недостатками" – эти приборы большие как по размерам, так и по стоимости.

В *квадрупольных масс-анализаторах* разделение ионов осуществляется при прохождении пучка ионов через квадруполь – четыре стержня, к которым попарно в противоположной полярности подается определенная комбинация постоянного и переменного высокочастотного напряжений. Ионы, влетающие параллельно оси этих стержней, попадают в гиперболическое поле и, в зависимости от соотношения  $m/z$  и частоты переменного напряжения, пропускаются этим полем или не пропускаются дальше. Таким образом, ионы с разной массой регистрируются при разных значениях частоты переменного поля. Создание квадрупольных масс-анализаторов стало революцией в масс-спектрометрии, так как в масс-анализаторе уже не требуется создание высоких напряжений, и это упрощает его конструкцию, меньшие размеры вакуумной части упрощают систему создания вакуума. Масс-спектрометры уменьшились в размерах, стали проще в эксплуатации и, что самое главное, намного дешевле, что открыло возможность использовать этот аналитический метод многим тысячам пользователей.

Во *время-пролетном масс-анализаторе* ионы из источника разгоняются электрическим полем, приобретая достаточно большую кинетическую энергию, и вылетают в бесполевое пространство. На входе в это пространство все ионы имеют одинаковую кинетическую энергию. В зависимости от массы ионы будут двигаться с разными скоростями и, соответственно, в разное время достигнут детектора, расположенного в конце трубы их пролета. Зарегистрировав их и из-

мерив время, можно посчитать и их массу. Все процессы происходят за миллионные доли секунды. То есть, этот масс-анализатор очень "быстрый". Время-пролетные анализаторы оказались очень выигрышными при измерении масс огромных молекул (с массами в десятки и сотни тысяч атомных единиц).

Последним элементом описываемого нами упрощённого масс-спектрометра, является *детектор* заряженных частиц, где ионный ток преобразуется в электрический сигнал, который усиливается и регистрируется. Первые масс-спектрографы использовали в качестве детектора фотопластинку. Сейчас используются диодные вторично-электронные умножители, в которых ион, попадая на первый диод, выбивает из него пучок электронов, которые в свою очередь, попадая на следующий диод, выбивают из него еще большее количество электронов и т.д. Другой вариант – фотоумножители, регистрирующие свечение, возникающее при бомбардировке ионами люминофора. Кроме того, используются микроканальные умножители, системы типа диодных матриц и коллекторы, собирающие все ионы, попавшие в данную точку пространства (коллекторы Фарадея).

Масс-спектрометры используются для анализа органических и неорганических соединений. Пробы органического происхождения в большинстве случаев представляют собой многокомпонентные смеси индивидуальных веществ. Задача аналитики состоит в том, чтобы определить, сколько компонентов составляют смесь, узнать какие это компоненты и сколько каждого соединения содержится в смеси. Для этого идеальным является сочетание хроматографии с масс-спектрометрией. Приборы, в которых масс-спектрометрический детектор скомбинирован с газовым или жидкостным хроматографом, называются *хромато-масс-спектрометрами*. Типичная величина порога обнаружения хорошего хромато-масс-спектрометра, используемого для анализа органических соединений, составляет 1 пикограмм при вводе 1 микролитра жидкости.

Масс-спектрометрия используется в таких областях как разработка новых лекарственных средств, геновая инженерия и биохимия. С ее помощью можно идентифицировать белки, определять какие изменения произошли с их структурой вследствие различных взаимодействий, при их воспроизводстве, определить пути метаболизма различных лекарственных средств и других соединений и идентифицировать метаболиты, разрабатывать новые целевые лекарственные средства. Масс-спектрометрия – единственный метод, решающий все



эти и многие другие задачи аналитической биохимии.

Без масс-спектрометрии немислим контроль над незаконным распространением наркотических и психотропных средств, криминалистический и клинический анализ токсичных препаратов, анализ взрывчатых веществ. Экономическая безопасность страны более надежна, если таможенные службы могут не только подтверждать анализами в сомнительных случаях страну происхождения товара, но и его соответствие заявленному виду и качеству. Без этого метода не может обходиться и контроль качества производимых лекарств и выявления такого распространенного явления как их фальсификация.

Масс-спектрометрия находит применение в следующих областях: биохимия, клиническая химия, общая химия и органическая химия, фармацевтика, косметика, парфюмерия, пищевая промышленность, химический синтез, нефтехимия и нефтепереработка, контроль окружающей среды, производство полимеров и пластиков, медицина и токсикология, криминалистика, допинговый контроль, контроль наркотических средств, контроль алкогольных напитков, геохимия, геология, гидрология, петрография, минералогия, геохронология, археология, ядерная промышленность и энергетика, полупроводниковая промышленность, металлургия.

### ***Контрольные вопросы:***

1. Какие задачи исследования можно решать в рамках термогравиметрического анализа?
2. Какую информацию о свойствах образца можно получить используя методы термического анализа и энтальпиметрию?
3. В каких областях применяют дилатометрию и катарометрию?
4. Сформулируйте, в чём заключаются достоинства и недостатки ферментативных методов анализа?
5. Назовите разновидности ферментативных методов анализа. В каких областях они используются?
6. Что такое изотопы? С помощью, каких приборов можно измерить радиоактивность?
7. В чём особенности радиометрического титрования?

8. Как выполняют анализ методом изотопного разбавления?
9. В чём особенности активационного анализа?
10. Какой принцип лежит в основе масс-спектропии? Что такое масс-спектр?
11. Назовите основные узлы масс-спектрометра? Какие функции они выполняют?
12. В чём заключаются преимущества масс-спектрального анализа?

## 8. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

**Хроматография** – это метод разделения, обнаружения и определения веществ, основанный на различии их поведения в системе из двух несмешивающихся фаз – подвижной и неподвижной. Разделение сложных смесей хроматографическим способом основано главным образом на различной *сорбируемости* компонентов смеси. Немаловажное значение имеют также различия в *растворимости, диффузии* и других *физико-химических свойствах*. При хроматографировании так называемая подвижная фаза, содержащая анализируемую пробу, перемещается через неподвижную фазу.

Метод хроматографии был впервые применён русским учёным-ботаником Михаилом Семеновичем Цветом в 1900 году. Он использовал колонку, заполненную карбонатом кальция для разделения пигментов растительного происхождения (хлорофиллов). В 1907 году М.С. Цвет впервые продемонстрировал Немецкому Ботаническому обществу образец *хроматографа* – прибора для осуществления процесса хроматографии. Однако практического применения этот прибор сразу не нашёл, и с 1910 по 1930 годы метод был незаслуженно забыт и практически не развивался. В 1952 году Дж. Мартину и Р. Синджу была присуждена Нобелевская премия по химии за создание метода распределительной хроматографии. В предложенном ими методе разделение происходит за счет разной растворимости веществ в неподвижной фазе, как правило, химически привитой к поверхности неподвижного носителя, и в подвижной фазе – растворителе.

С середины XX века и до наших дней хроматография интенсивно развивалась и стала одним из наиболее широко применяемых аналитических методов. Это наиболее распространённый, надёжный и

универсальный приём разделения самых разнообразных смесей. Поскольку хроматографические процессы зависят также от природы и концентрации веществ, хроматография является важным методом их идентификации и определения.

Хроматографические системы – многокомпонентны и эта особенность требует расшифровать некоторые применяемые в хроматографии термины.

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

*Адсорбент* (неподвижная фаза) – твердый сорбент, концентрирующий на своей поверхности газы, пары или растворенные вещества. Адсорбентом заполнена хроматографическая колонка, в которой происходит разделение смеси веществ на отдельные компоненты.

*Адсорбат* – компонент пробы, индивидуальное соединение, введённое в хроматографическую колонку.

*Элюат* – раствор, выходящий из хроматографической колонки.

*Элюент* (подвижная фаза) – растворитель или смесь растворителей, предназначенная для прокачки анализируемой смеси через хроматографическую колонку.

*Селективность* – это способность хроматографической системы (сорбента и элюента) разделить данную пару соединений. В общем случае такая способность является результатом межмолекулярных взаимодействий в хроматографической системе.

Процессы разделения веществ в хроматографической системе могут протекать между веществами в различных агрегатных состояниях, могут быть основаны на явлениях различной природы, могут отличаться методикой проведения эксперимента. Этим объясняется разнообразие методов хроматографического анализа. Различные методы хроматографии можно классифицировать по агрегатному состоянию фаз, методике эксперимента и механизмам разделения.

## 8.1. КЛАССИФИКАЦИЯ ВИДОВ ХРОМАТОГРАФИИ

### По агрегатному состоянию фаз:

1. *Газовая хроматография* подразумевает нахождение элюента в газообразном состоянии. Неподвижная фаза может быть жидкой или твердой в соответствии с этим различают два вида *газо-жидкостную* и *газо-твёрдофазную* хроматографии. Газовая хроматография применяется для разделения газов, определения примесей вредных веществ

в воздухе, воде, почве, промышленных продуктах; определения состава продуктов основного органического и нефтехимического синтеза, выхлопных газов, лекарственных препаратов, а также в криминалистике и т.д.

2. *Жидкостная хроматография* подразумевает нахождение элюента в жидком состоянии. Неподвижная фаза может быть жидкой, твердой или находиться в гелеобразном состоянии в соответствии с этим различают три вида *жидкостно-жидкостную*, *жидкостно-твёрдофазную* и *жидкостно-гелевую* хроматографии. Жидкостная хроматография используется для анализа, разделения и очистки синтетических полимеров, лекарственных препаратов, детергентов, белков, гормонов и др. биологически важных соединений. Использование высокочувствительных детекторов позволяет работать с очень малыми количествами веществ ( $10^{-11}$ - $10^{-9}$  г), что исключительно важно в биологических исследованиях.

3. *Сверхкритическая флюидная хроматография* основана на использовании в качестве подвижной фазы газы, сжатые до сверхкритического состояния (флюиды). *Сверхкритическим флюидом* (СКФ) – называют состояние вещества, при котором исчезает различие между жидкой и газовой фазой. Любое вещество, находящееся при температуре и давлении выше критической точки является сверхкритическим флюидом. Свойства вещества в сверхкритическом состоянии промежуточные между его свойствами в газовой и жидкой фазе. Растворяющая способность флюида сопоставима с растворяющей способностью подвижной фазы в жидкостной хроматографии, а значение коэффициента диффузии растворенных во флюиде веществ на 2-3 порядка выше, чем в жидкостной хроматографии. Это свойство флюида в сочетании с относительно низкой его вязкостью позволяет увеличить эффективность разделения. Наибольший интерес и распространение в связи с определёнными свойствами получили сверхкритическая вода и сверхкритический диоксид углерода.

### **По расположению неподвижной фазы:**

1. *Колоночная хроматография*. В колоночной хроматографии сорбентом заполняют специальные трубки – колонки, а подвижная фаза (газ или жидкость) движется внутри колонки благодаря перепаду давления. Именно в колонке происходит разделение компонентов исследуемой смеси. Анализировать можно как расположение зон распределения компонентов в сорбенте, так и последовательность и концентрацию компонентов в элюате на выходе из колонки. В последнем

случае хроматограмма представляет собой зависимость аналитического сигнала, регистрируемого детектором, от времени элюирования.

Различают *набивные* (диаметром более 2 мм) и *капиллярные* (диаметром менее 0,1 мм) колонки. В капиллярной хроматографии тонкий слой сорбента наносится на внутренние стенки капиллярной трубки. Колонка характеризуется несколькими параметрами: эффективностью, селективностью и ёмкостью. *Эффективность* является мерой концентрирования вещества в определенной области пространства при его движении вдоль колонки и тесно связана с числом теоретических тарелок – воображаемых участков по длине колонки, в каждом из которых как бы достигается термодинамическое равновесие фаз. Кроме того, на неё влияют такие факторы, как вихревая диффузия, продольная молекулярная диффузия и сопротивление массопереносу. Чем меньше диаметр колонки, тем меньше размытие пиков в результате диффузии и, соответственно, тем выше эффективность. Как правило, число теоретических тарелок в современных капиллярных колонках очень велико – несколько десятков тысяч. Это позволяет, при правильном подборе селективности неподвижной фазы, в подавляющем большинстве случаев разделить все индивидуальные компоненты любой, даже самой сложной, смеси.

*Селективность* характеризует степень удерживания веществ разной природы на неподвижной фазе. Обычно её выражают через относительное удерживание пары критически важных компонентов пробы (отношение их приведённых времён удерживания). Если это отношение больше 1, то пики могут быть разделены. Селективность колонки зависит от характера взаимодействия определяемого вещества и неподвижной фазы.

Ёмкость колонки связана с ее физическими размерами и определяет максимальный объем пробы, который можно ввести в колонку без ее «перегрузки». Ёмкость набивных колонок значительно больше, чем капиллярных.

2. Плоскостная хроматография. Плоскостная хроматография подразделяется на тонкослойную и бумажную. В тонкослойной хроматографии тонкий слой гранулированного сорбента или пористая плёнка наносится на стеклянную или металлическую пластинки; в случае бумажной хроматографии используют специальную хроматографическую бумагу. В плоскостной хроматографии перемещение подвижной фазы (чаще всего жидкости) происходит благодаря капиллярным силам. Хроматограммой является расположение зон на

хроматографическом носителе после завершения разделения.

### По механизму взаимодействия сорбента и сорбата:

1. *Адсорбционная хроматография* основана на способности твёрдого адсорбента – неподвижной фазы – сорбировать вещества, находящиеся в подвижной фазе. В зависимости от агрегатного состояния элюента различают газовую и жидкостную адсорбционную хроматографию. Сорбция осуществляется за счет дисперсионных сил (сил Ван-дер-Ваальса), электростатического притяжения и может сопровождаться не только физическим, но и химическим взаимодействием веществ с неподвижной фазой. Адсорбент в адсорбционной хроматографии может наполнять колонку или представлять собой тонкий слой, как в плоскостной хроматографии.

2. *Распределительная хроматография* основана на разной растворимости компонентов смеси в неподвижной фазе – высококипящей жидкости, нанесённой на твёрдый макропористый носитель, и элюенте. В основе разделения лежит различие не в адсорбционном средстве компонентов разделяемой смеси, а их коэффициенты распределения между двумя несмешивающимися жидкостями. При распределительном механизме разделения на перемещение зон компонентов частичное влияние оказывает и адсорбционное взаимодействие анализируемых компонентов с твёрдым сорбентом.

3. *Ионообменная хроматография* основана на использовании ионообменных процессов, протекающих между подвижными ионами адсорбента и ионами электролита при пропускании раствора анализируемого вещества через колонку, заполненную ионообменным веществом (*ионитом*). Иониты представляют собой нерастворимые неорганические или органические высокомолекулярные соединения, содержащие в своей структуре полимерную матрицу с фиксированными ионообменными группами. Существуют также жидкие органические ионообменники – несмешивающиеся с водой жидкости, физически нанесённые на пористые или поверхностно-пористые материалы. В качестве ионитов применяют окись алюминия, пермутит, сульфуголь и разнообразные синтетические органические ионообменные вещества – *ионообменные смолы*. В зависимости от вида сорбируемого иона иониты делят на *катиониты* и *аниониты*. Катионный обмен на катионите протекает по схеме:



анионный обмен на анионите, соответственно:



где  $R$  – полимерная матрица;  $An^-$ ,  $Kt^+$  – фиксированные отрицательно и положительно заряженные ионы. Подвижные ионы ( $A$  и  $B$ ), способные к ионному обмену, называют *противоионами*. Ионообменная хроматография представляет собой разновидность жидкостной хроматографии, так как в качестве подвижной фазы используют ионные растворы (водные растворы солей, кислот и оснований), т.е. системы растворителей, имеющих высокое значение диэлектрической проницаемости и способность ионизировать соединения.

Ионообменная хроматография целесообразна при разделении неорганических соединений с ионным и ковалентным полярным типом связи, а также высокополярных органических веществ, которые без перевода в производные не могут быть проанализированы методом газо-жидкостной хроматографии. К таким соединениям относятся неорганические *кислоты, соли, щёлочи, аминокислоты, пептиды, гетероциклические основания, углеводы*.

4. *Эксклюзионная (молекулярно-ситовая) хроматография* основана на разной проницаемости молекул компонентов в неподвижную фазу (высокопористый неионогенный гель). Эксклюзионная хроматография подразделяется на *гель-проникающую (ГПХ)*, в которой элюент – неводный растворитель, и *гель-фильтрацию*, где элюент – вода.

*Гель-хроматография* (гель-фильтрация) – метод разделения смесей веществ с различными молекулярными массами путем фильтрации анализируемого раствора через поперечно-сшитые ячеистые гели. Разделение смеси веществ происходит в том случае, если размеры молекул различны, а диаметр пор зерен геля постоянен и может пропускать лишь те молекулы, размеры которых меньше диаметра отверстий пор геля. При фильтровании раствора анализируемой смеси более мелкие молекулы, проникая в поры геля, задерживаются в растворителе, содержащимся в этих порах, и движутся вдоль слоя геля медленнее, чем крупные молекулы, не способные проникнуть в поры. Таким образом, гель-хроматография позволяет разделять смесь веществ в зависимости от размеров и молекулярной массы частиц.

Основное назначение гель-хроматографии – разделение смесей высокомолекулярных соединений и определение молекулярномассового распределения полимеров (углеводов, белков и т.д.). Гель-хроматография применяется для разделения смеси веществ средней молекулярной массы и даже низкомолекулярных соединений, а также в том случае, когда молекулярные массы анализируемых веществ очень близки или даже равны. В этом случае используется взаимо-

действие растворенных веществ с гелем. Если природа взаимодействия с гелем для разных веществ неодинакова, это различие можно использовать для разделения интересующей смеси. Примером может служить применение гель-хроматографии для диагностики заболеваний щитовидной железы. Диагноз устанавливают по количеству йода, определенному в ходе анализа.

5. *Осадочная хроматография* основана на различной растворимости осадков, образующихся при взаимодействии компонентов анализируемой смеси в подвижной фазе с реагентом-осадителем, который в смеси с носителем составляет неподвижную фазу. Осадочная хроматография представляет собой разновидность жидкостной хроматографии. Разделение смеси происходит в результате многократного повторения актов образования и растворения осадков; скорость перемещения осадков пропорциональна их растворимости в данном элюенте и определяется произведением активностей образующихся малорастворимых соединений.

Различают колоночную и плоскостную осадочную хроматографию. В первом случае анализируемый раствор вводят в колонку, наполненную смесью носителя и осадителя. К плоскостной осадочной хроматографии относят бумажную и тонкослойную. В бумажной хроматографии используют пропитанную осадителем фильтровальную бумагу, в тонкослойной – суспензией носителя и осадителя покрывают стеклянную или металлическую пластинку; полученный слой высушивают на воздухе или в сушильном шкафу. На пластинку или фильтровальную бумагу наносят каплю анализируемого раствора; край пластинки (бумаги) погружают в растворитель, который перемещается вдоль неподвижной фазы под действием капиллярных сил. Хроматограммой в осадочной хроматографии называют картину распределения хроматографических зон по слою неподвижной фазы после завершения разделения.

Осадочную хроматографию применяют для анализа неорганических (в том числе катионов переходных, редкоземельных и рассеянных элементов, галогенидов, роданидов) и органических веществ, образующих с осадителем или элюентом осадки различной растворимости, а также для определения растворимости веществ в различных средах.

### **По способу ввода пробы:**

1. *Элюентная хроматография* (проявительная). Наиболее часто используемый вариант проведения аналитической хроматографии. Колонку с сорбентом промывают элюентом, затем пробу анализи-



руемой смеси вводят в поток элюента в виде импульса. В колонке смесь разделяется на отдельные компоненты. На выходе из колонки в потоке элюента сначала появляется менее сорбируемый компонент, а затем по мере усиления взаимодействия сорбата и сорбента вымываются все остальные компоненты смеси.

2. *Фронтальная хроматография.* Смесь непрерывно подают в колонку, при этом на выходе из колонки только первый, наименее удерживаемый компонент можно выделить в чистом виде. Остальные порции элюата содержат 2 и более компонентов. Родственный метод – твёрдофазная экстракция (сорбционное концентрирование).

3. *Вытеснительная хроматография.* В колонку после подачи разделяемой смеси вводят специальное вещество-вытеснитель, которое удерживается сильнее любого из компонентов смеси. В сорбенте образуются примыкающие друг к другу зоны разделяемых веществ.

## 8.2. ХРОМАТОГРАФЫ

Получение картины хроматографического разделения и анализ отдельных компонентов пробы – отдельные, порой трудоемкие процедуры. Каждый из этапов хроматографирования требует выполнения определенных условий, обеспечивающих наиболее эффективные результаты. Наиболее достоверные и точные результаты хроматографического анализа получаются при соблюдении всех условий разделения и детектирования, что при выполнении определения вручную замедляет ход анализа. Часто на первом месте оказывается скорость выполнения анализа, что приводит к необходимости автоматизации проведения определений.

**Хроматограф** – прибор или установка для хроматографического разделения и анализа смесей веществ. Хроматографы используют в своей работе колоночный или капиллярный принцип разделения. В подавляющем числе хроматографов реализуется проявительный вариант хроматографии. В соответствии с агрегатным состоянием используемой подвижной фазы существуют *газовые* и *жидкостные* хроматографы.

На рис. 8.1 представлена принципиальная схема хроматографа. Любой хроматограф состоит из следующих частей: 1 – насос, 2 – узел ввода пробы, 3 – хроматографическая колонка, 4 – детектор, 5 – регистратор (самописец, интегратор или компьютер); 6 – термостат колонок, 7 – узел подготовки элюента с ёмкостями, 8 – слив элюата или коллектор фракций.

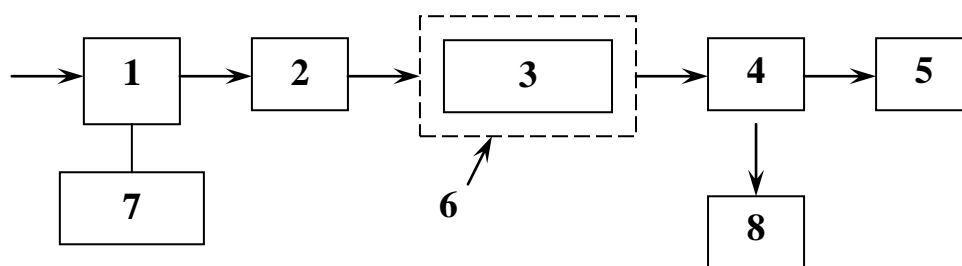


Рисунок 8.1. Блок-схема жидкостного хроматографа

Принцип действия хроматографа заключается в следующем: раствор анализируемой смеси с помощью *узла ввода пробы* вводится в верхнюю часть *хроматографической колонки*. С помощью *насоса* анализируемая смесь прокачивается *элюентом* (подвижная фаза) через *хроматографическую колонку*, в которой происходит разделение смеси на отдельные вещества (компоненты). Вытекающий из колонки *элюат*, содержащий отдельные компоненты разделяемой смеси, анализируется *детектором*, показания которого в виде *хроматограммы* выводятся на *регистратор* (самописец, интегратор или компьютер).

Результаты разделения и анализа отражаются на хроматограмме. Основными характеристиками хроматограммы являются: время удерживания вещества, площадь пиков аналитического сигнала, каждый из которых соответствует определенному компоненту, разрешение пиков.

*Хроматограмма* – кривая, описывающая зависимость аналитического сигнала, функционально связанного с концентрацией анализируемых веществ в элюате, от времени элюирования (рис. 8.2). Хроматограммой (с точки зрения аппаратного оформления) можно назвать зависимость отклика детектора хроматографа от времени прохождения элюата через ячейку детектора. Хроматограмма состоит из ряда пиков, каждый из которых при полном разделении соответствует одному компоненту анализируемой пробы. Площадь ( $d$ ) или высота пика ( $h$ ) пропорциональны концентрации компонента в элюате.

*Время удерживания компонента* ( $\tau$ ) – промежуток времени от момента ввода пробы до момента появления пика на хроматограмме. ( $\tau_1$  или  $\tau_2$  на рис. 8.2). Каждое вещество при одних и тех же хроматографических условиях имеет свое время удерживания. Это положение является основой идентификации (качественного анализа) компонентов разделяемой смеси по временам удерживания при жестком соблюдении постоянства условий эксперимента.

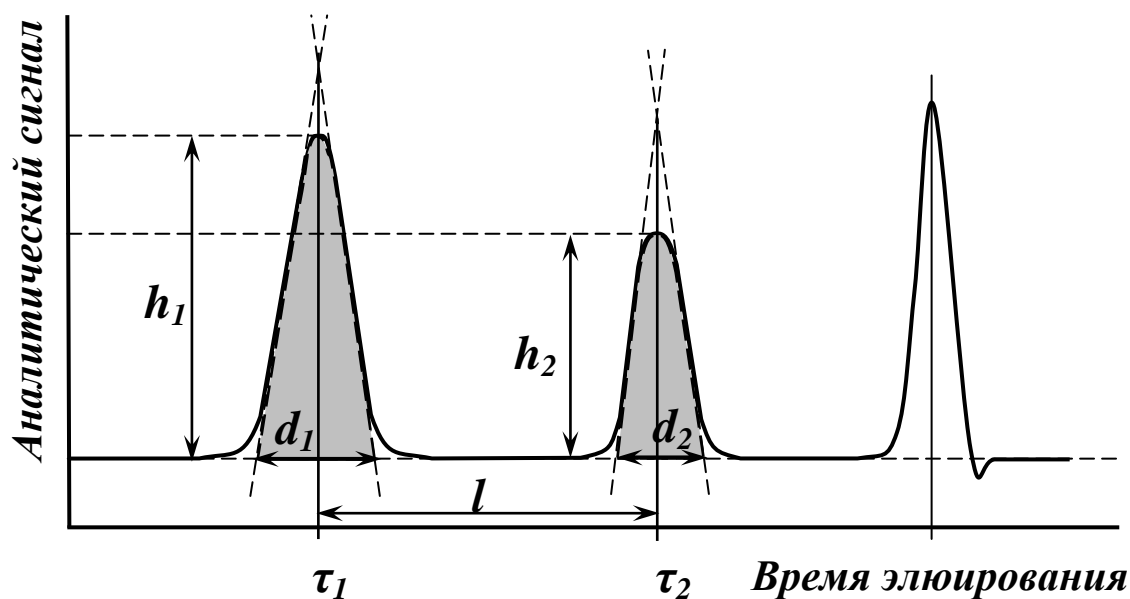


Рисунок 8.2. Вид хроматограммы

*Разрешением* ( $R$ ) называется отношение расстояния между соседними максимумами ( $l$ ) к средней арифметической ширине обоих пиков у основания ( $d_1, d_2$  на рис. 8.2). Для количественного анализа достаточно разрешения  $R = 1$ , так как в этом случае перекрываются только около 2% площади пиков.

*Хроматографические условия* включают тип и марку используемого хроматографа, размеры хроматографической колонки и марку используемого в ней адсорбента, состав и расход элюента, тип элюирования (изократический или градиентный), объем пробы, тип детектора и условия детектирования, температуру окружающей среды или термостата колонок.

**Особенности хроматографических условий в газовых хроматографах.** В газовом хроматографе газ-носитель (гелий, азот, водород, аргон, воздух) из баллона через регуляторы расхода и давления непрерывно с постоянной или переменной скоростью подается в хроматографическую колонку-трубку (диаметром 2-5 мм и длиной 1-10 м), заполненную сорбентом и помещенную в термостат, позволяющий поддерживать заданную температуру (вплоть до 500 °С). Ввод газообразной пробы (1-50 см<sup>3</sup>) и жидкой (несколько мкл) осуществляется либо вручную (газовым шприцем или микрошприцем), либо автоматически — при помощи микродозаторов (автосемплеров). В хроматографической колонке происходит разделение исходной многокомпонентной смеси на ряд бинарных смесей, состоящих из газ-носителя и одного из анализируемых компонентов. Бинарные сме-

си в определённой последовательности, зависящей от сорбируемости компонентов, поступают в детектор. В результате происходящих в детекторе процессов (изменения теплопроводности, ионизационного тока и др.) фиксируется изменение концентрации выходящих компонентов; преобразованные в электрический сигнал, эти процессы записываются в виде выходной кривой.

Хроматографические колонки весьма различны по форме, размерам и конструкционным материалам. Применяются прямые, спиральные и другие колонки длиной от 1-2 м до нескольких десятков метров, внутренний диаметр колонок составляет обычно несколько миллиметров. В зависимости от свойств анализируемой системы в качестве конструкционных материалов для колонок используют сталь, латунь, стекло и др. В качестве сорбента в колонках используют твердые носители: силикагель, уголь, оксид алюминия; а также жидкости, нанесенные на поверхность инертного носителя. Разделение основано на различиях в летучести и растворимости компонентов разделяемой смеси. Большое влияние на сорбируемость газа оказывает температура, поэтому хроматографические колонки, как правило, термостатируют, нередко при температурах значительно ниже  $0^{\circ}\text{C}$ , что необходимо, например, для эффективного разделения низкокипящих газов.

Наиболее распространённые детекторы (табл. 8.1.) газовых хроматографов – термокондуктометрические и ионизационные. Типичным примером первых является детектор по теплопроводности (катаромметр). Такой детектор позволяет определять концентрации веществ в пределах  $10^{-1}$ - $10^{-2}\%$ . Главной частью ионизационных детекторов является ионизационная камера, где происходит ионизация молекул, попадающих в неё с потоком газа-носителя из хроматографической колонки. Ионы под воздействием приложенного напряжения перемещаются в ионизационной камере, что приводит к образованию электрического тока. Ионизационные детекторы позволяют определять концентрации веществ в пределах  $10^{-4}$ - $10^{-7}\%$ .

Термокондуктометрические и ионизационные детекторы характеризуются высокой чувствительностью (минимально определяемая концентрация вещества) и селективностью (способность избирательно определять в смеси отдельные компоненты), прямой зависимостью сигнала от концентрации.

**Таблица 8.1 Основные характеристики детекторов газовой хроматографии**

Детектор	Предел обнаружения *, г/мл	Область применения
Пламенно-ионизационный	$2 \cdot 10^{-12}$	Органические соединения, содержащие группы С-Н
Термоионный	$1 \cdot 10^{-13}$ (по азоту) $5 \cdot 10^{-14}$ (по фосфору)	Селективное определение азот-, фосфор- и галогенсодержащих соединений
Фотоионизационный	$2 \cdot 10^{-13}$	Различные классы органических соединений, в т.ч. алифатические углеводороды
Электрозахватный	$5 \cdot 10^{-14}$	Вещества с сильным сродством к электрону, в частности полигалогенсодержащие соединения, в т.ч. пестициды, полихлорированные бифенилы; полиароматические металлоорганические и серосодержащие соединения, нитрилы.
Пламенно-фотометрический	$1 \cdot 10^{-11}$ (по сере) $1 \cdot 10^{-12}$ (по фосфору)	Серо- и фосфорсодержащие органические соединения и некоторые другие элементы
Катарометр	$2 \cdot 10^{-7}$	Органические соединения и неорганические газы
ИК-спектрометр с фурье-преобразователем	200пг - 40нг	Исследование смесей неизвестного состава
Хромато-масс-спектрометр	10пг	Исследование смесей неизвестного состава

\* Предел обнаружения – минимальная концентрация вещества, которую можно обнаружить.

**Особенности хроматографических условий в жидкостных хроматографах.** В жидкостном хроматографе элюент-носитель (водно-органические буферные растворы: ацетонитрил, этанол, вода, гексан, их смеси), играющий роль растворителя, закачивается в систему

при помощи беспульсационных систем (давление до 50 МН/м<sup>2</sup>), а ввод пробы осуществляется микрошприцем или микродозатором (автосемплером). Затем жидкость попадает в термостатируемую хроматографическую колонку, набивную или капиллярную, которая заполнена твердым наполнителем (силикагели, цеолиты, сополимеры стирола и дивинилбензола). В некоторых случаях на поверхность колонки наносятся пленки жидких сорбентов (полиэтиленгликоли, силиконовые масла, эфиры гликолей). Длина хроматографической колонки не превышает 1 м. Разделенные компоненты поступают в детектор (спектрофотометрический, флуориметрический, УФ-фотометрический, рефрактометрический, поляриметрический, кондуктометрический, потенциометрический, полярографический и др.). Детекторы жидкостных хроматографов обладают существенно меньшей чувствительностью (примерно на 2 порядка), чем детекторы газовых. Для точного измерения концентраций веществ детекторы калибруют по смесям известного состава. Ниже в таблице 8.2 приводятся характеристики некоторых детекторов жидкостной хроматографии.

**Таблица 8.2 Основные характеристики детекторов жидкостной хроматографии**

Детектор	Предел обнаружения, г/мл	Область применения
УФ-фотометрический	$1 \cdot 10^{-10}$	Вещества, поглощающие в УФ-области спектра
Рефрактометрический	$1 \cdot 10^{-7}$	Универсальный
Кондуктометрический	$5 \cdot 10^{-9}$	Кислоты, основания, соли, а также нитропроизводные органических соединений, галогенопроизводные ароматических соединений и сульфамиды при содержании их в анализируемой пробе 0.2-10 нг.
Полярографический	$1 \cdot 10^{-12}$	Электроактивные соединения

Для жидкостных хроматографов в отличие от газовых предусмотрены коллекторы фракций. Коллектор фракций – это прибор, предназначенный для разделения поступающего с колонки элюата на

фракции запрограммированного объёма (массы). В зависимости от цели хроматографического разделения данные приборы подразделяются на аналитические, полупрепаративные, препаративные и промышленные. Их принципиальное отличие заключается в максимальном объёме собираемых фракций, что влечет за собой принципиальные отличия в конструкции.

В зависимости от конструкционных особенностей основных узлов хроматографов различают разные варианты жидкостной хроматографии. При использовании мелкодисперсных сорбентов и высоких давлений прокачивания элюента эффективность разделения резко возрастает. Такой вариант хроматографии носит название *высокоэффективной жидкостной хроматографии* (ВЭЖХ).

ВЭЖХ реализуется в двух вариантах: нормально-фазовом (НФ) и обращённо-фазовом (ОФ). В НФ ВЭЖХ используют полярный адсорбент и неполярный (или слабополярный) элюент. Понятие «полярный» подразумевает наличие у адсорбента поверхностных групп, имеющих постоянный дипольный момент, или существование постоянного некомпенсированного поверхностного заряда. Наиболее распространённым полярным адсорбентом является силикагель, который представляет собой неорганический полимер состава  $mSiO \cdot nH_2O$  с гидроксильными группами на поверхности. *ОН*-группы имеют собственный дипольный момент и могут образовывать водородные связи; у поверхности силикагеля существует также некомпенсированный поверхностный заряд. В качестве неполярного элюента применяются жидкие углеводороды или смеси растворителей, где основой являются также углеводороды, а плавное увеличение элюирующей силы достигается добавкой таких веществ как, например, этилацетат, диэтиламин, ацетонитрил, тетрахлорметан, этиленгликоль и др. Разделяемые вещества при этом полярные.

В ОФ ВЭЖХ используется неполярный адсорбент и полярный элюент. В качестве адсорбентов обычно применяются силикагели, на поверхности которых привиты нормальные углеводородные цепочки с 8, 16 и 18 углеродными атомами. В обращённо-фазовом варианте ВЭЖХ применяются в основном водно-метанольные, водно-ацетонитрильные или водно-ацетонитрило-метанольные элюенты, реже используются тетрагидрофуран и хлороформ. Разделяемые вещества при этом могут быть как полярными, так и неполярными.

Модифицированным вариантом ионообменной хроматографии, применяемым для анализа органических и неорганических ионов, не

поглощающих в УФ свете, является *ионная хроматография (ИХ)*. В этом методе ионообменное разделение ионов сочетают с кондуктометрическим детектированием. Различают два основных варианта ионной хроматографии: одноколоночный и двухколоночный. При использовании одноколоночного варианта элюат из колонки непосредственно поступает в кондуктометрический детектор. Детектирование происходит на фоне относительно высокой фоновой электропроводности элюента. Во втором варианте фоновую электропроводность подвижной фазы подавляют пропусканием её через специальные системы подавления фоновой электропроводности с образованием мало-диссоциирующих соединений. В самом простом варианте система подавления фоновой электропроводности элюента представляет собой подавительную колонку, заполненную ионообменником большой обменной ёмкости. В последнее время всё большее распространение приобретают системы капиллярного мембранного подавления фоновой электропроводности.

### ***Основные области применения хроматографии***

Диапазон применения хроматографических методов огромен: от анализа атмосферы планет Солнечной системы до полного анализа содержимого одной живой клетки. Исключительную роль хроматография играет в химической, нефтехимической, газовой, пищевой, целлюлозно-бумажной и многих других отраслях промышленности. Прежде всего, ее роль важна в технологическом контроле и поддержании оптимального режима производства, в контроле исходного сырья и качества готовой продукции, анализе газовых и водных сбросов производства. Газовые, жидкостные и ионные хроматографы эксплуатируются в лабораториях Госсанэпиднадзора, экологических центрах, токсикологических лабораториях, учреждениях Водоканала, лабораториях Госкомгидромета, ветеринарных лабораториях, на станциях защиты растений, в лабораториях судебной и судебно-медицинской экспертизы.

В биотехнологии хроматография является основным процессом выделения вирусов гриппа, энцефалита, бешенства и ящура, очистки вакцин, промышленного производства инсулина, других белков и полипептидов. На промышленную основу поставлено хроматографическое выделение фуллеренов, сапонинов, интерлейкина-2 человека, гистонов, плазмидов, ДНК, антибиотиков и многих других ценнейших природных и синтезируемых веществ.



Велико значение хроматографических методов в геологоразведке, в частности, в поиске газоносных и нефтеносных регионов как на суше, так и в морях, месторождений полезных ископаемых. Все чаще используется хроматография в энергетике для анализов воды на ТЭЦ и АЭС, для определения теплотворной способности природного газа. И наконец, хроматография находит применение в археологии и в искусстве при изучении старых красок, лаков, покрытий, бальзамов. Относительно новое приложение хроматографии в археологии и геологии – датирование органических останков и донных отложений путём энантиомерного анализа аминокислот. Этот метод позволяет заглянуть в прошлое на 1млн лет, то есть глубже, чем радиоуглеродный метод, так как многие аминокислоты рацемизируются значительно медленнее, чем распадается углерод  $^{14}\text{C}$ .

Хроматографические методы незаменимы в контроле качества пищевых продуктов. Пищевую ценность продуктов определяют, анализируя аминокислотный состав белков, изомерный состав жирных кислот и глицеридов в жирах, углеводы, органические кислоты и витамины. В последние годы многие из этих анализов выполняются с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для оценки безопасности продуктов в них выявляют пищевые добавки (консерванты, антиоксиданты, подслащивающие вещества, красители и др.), определяют свежесть продуктов, устанавливают ранние стадии порчи и допустимые сроки хранения.

В пищевых продуктах методами хроматографии можно обнаружить такие загрязняющие вещества, как пестициды, нитрозамины, микотоксины (афлатоксины, охратоксин А, зеараленон и др.), полиядерные ароматические соединения, биогенные амины, нитраты и др. Загрязнение пищевых продуктов возможно и вследствие проникновения вредных веществ из материалов упаковки, в частности, хлористого винила, бензола, пластификаторов и др. В мясных продуктах определяют анаболические стероиды, гормоны и другие типы фармацевтических препаратов, злоупотребление которыми характерно для интенсивного животноводства. Отдельная область применения газовой хроматографии – анализ состава аромата пищевых продуктов. Обнаружены тысячи летучих компонентов, из которых лишь несколько десятков определяют характер запаха, остальные придают запаху и вкусу продукта индивидуальность.

В последние годы возникло новое направление – энантиоселективный анализ компонентов пищи. По соотношению оптических

изомеров аминокислот, оксикислот и некоторых иных соединений можно однозначно установить, является ли данный продукт натуральным или содержит синтетические имитаторы и добавки.

В природных жирах преобладают цис-изомеры жирных кислот. Недавно обнаружено, что транс-изомеры повышают содержание липопротеинов низкой плотности и уменьшают концентрацию липопротеинов высокой плотности в крови, что может способствовать развитию атеросклероза. Разработка методики газохроматографического разделения и анализа всех изомеров жирных кислот заставила производителей в несколько раз снизить содержание транс-изомеров ненасыщенных кислот в маргарине.

Методом газовой хроматографии в некоторых сырах выявлено много нежелательных физиологически активных биогенных аминов, и эти сорта сыра были запрещены. В Японии в пищевых продуктах используется L-триптофан, полученный с помощью генной инженерии и биотехнологии. Когда у тысяч людей обнаружили неизвестное ранее заболевание, и десятки заболевших умерли, хроматографическими методами было установлено, что эти трагические последствия вызваны наличием токсичных загрязнений в триптофане (выявлено 60 примесей). Газохроматографическому анализу подвергаются вина, коньяки и другая спиртосодержащая продукция. В 1997 г. в России вышел ГОСТ по определению методом газовой хроматографии микропримесей в водке и пищевом этиловом спирте.

Хроматография активно используется для диагностики заболеваний. Хроматографический контроль биохимических маркеров и метаболитов применяется для скрининга населения и выявления опасных заболеваний, подтверждения специфических заболеваний, мониторинга эффективности терапии или появления противопоказаний, предсказания прогноза лечения, определения рецидивов заболевания. В одних случаях для надежной диагностики заболевания достаточно оценить уровень нескольких биохимических маркеров, в других – определяется метаболический профиль многих компонентов.

### ***Контрольные вопросы:***

1. Является ли хроматография только методом анализа веществ? Какое свойство веществ лежит в основе хроматографических методов?
2. Приведите определения основных хроматографических терминов.

3. Какие виды хроматографии выделяют в зависимости от агрегатного состояния подвижной и неподвижной фаз? В чём специфика сверхкритической флюидной хроматографии?
4. Чем колоночная хроматография отличается от плоскостной? От чего зависят селективность и ёмкость хроматографической колонки?
5. На какие группы подразделяют хроматографические методы анализа по механизму взаимодействия сорбата и сорбента?
6. В каком агрегатном состоянии находится неподвижная фаза сорбента в адсорбционной хроматографии? В чём разница между механизмом разделения в адсорбционной и распределительной хроматографии?
7. Что такое иониты? В чём заключается процесс ионного обмена? Составьте схемы ионного обмена для катионообменника в водородной форме ( $R-SO_3^- H^+$ ) и анионообменника в гидроксильной форме ( $R-NH^+ OH^-$ ) с раствором хлорида натрия.
8. Какие вещества можно разделить с помощью ионообменной хроматографии?
9. В чём особенности эксклюзионной хроматографии? Где применяют гель-хроматографию?
10. Какой принцип разделения лежит в основе осадочной хроматографии?
11. Какие существуют виды хроматографии по способу ввода пробы?
12. Назовите основные узлы хроматографа. В чём разница между газовым и жидкостным хроматографом?
13. Что собой представляет хроматограмма? Каковы её основные характеристики?
14. Какие детекторы используют в газовых хроматографах, а какие в жидкостных?
15. Назовите основные области применения хроматографии.

## Использованная литература

1. Основы аналитической химии. Кн. 2. Методы химического анализа: Учеб. для вузов / Ю.А. Золотов, Е.Н. Дорохова, В.И. Фадеева и др. Под ред. Ю.А.Золотова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш.шк., 2002. – 494с.
2. Васильев В. П. Аналитическая химия, книга 2 – Физико-химические методы анализа, 3 изд. – М.: Дрофа, 2003.
3. Аналитическая химия. Лабораторный практикум: Пособие для вузов / В.П. Васильев, Р.П. Морозова, Л.А. Кочергина; Под ред. В.П. Васильева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа, 2004. – 416с.
4. Основы аналитической химии. Практическое руководство: учеб. пособие для вузов / В.И. Фадеева [и др.]; под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Высш. шк., 2001. – 463 с.
5. Кулис Ю. Ю. Аналитические системы на основе иммобилизованных ферментов. – Вильнюс: Мокслас, 1981. – 200с.
6. Угарова Н. Н. Билюминесценция и билюминесцентный анализ / Н. Н. Угарова, Л. Ю. Бровко. – М., Изд. МГУ. 1981. – 138с.
7. Крешков А. П. Основы аналитической химии, книга 3 — Физико-химические (инструментальные) методы анализа, 3 изд., М., 1970.
8. Несмеянов А.Н. Радиохимия. – М.: Химия, 1972. – 592 с.
9. Керрингтон А. Магнитный резонанс и его применение в химии / А. Керрингтон, Э. Мак-Лечлан; пер. с англ. И. Н. Марова; под ред. А. Н. Ермакова. - М.: Мир, 1970.
10. Маклаков А. И. Самодиффузия в растворах и расплавах полимеров / А. И. Маклаков, В. Д. Скирда, Н. Ф. Фаткуллин – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1987.
11. Соколова С. А. Исследование сорбции и самодиффузии воды и этанола в первапорационных мембранах и материалах различного типа / С. А. Соколова, О. В. Дьяконова, В. В.Котов, В. И. Волков. - Сорбционные и хроматографические процессы.- 2001.- Т.1. Вып. 3.- С.424-430.
12. Интернет-сайты: [www.xumuk.ru](http://www.xumuk.ru); [ru.wikipedia.org](http://ru.wikipedia.org); [www.chemport.ru](http://www.chemport.ru)

## ИТОГОВЫЙ ТЕСТ

<b>Вопросы</b>	<b>Варианты ответов</b>
1. Физические методы анализа основаны на взаимодействии определяемого вещества с ...	а) электромагнитным излучением б) количеством электричества в) внешним напряжением г) внешним давлением
2. Зависимость величины оптической плотности от концентрации вещества в растворе называется законом...	а) Фарадея б) Снелла в) Бугера-Ламберта-Бера г) Нернста
3. При соблюдении основного закона светопоглощения на величину оптической плотности светопоглощающего раствора влияют ...	<i>Укажите не менее двух вариантов ответа:</i> а) концентрация вещества б) объём раствора в) длина волны падающего света
4. Физический метод анализа, основанный на изучении спектров испускания, называется ...	а) спектрофотометрическим б) атомно-абсорбционным в) эмиссионным г) рентгенографическим
5. Процесс перевода вещества в атомарное состояние называется ...	а) распылением б) ионизацией в) эмиссией г) атомизацией
6. Перевод вещества в атомарное состояние чаще всего осуществляется с использованием ...	а) высокого давления б) пламени в) ультразвука г) радиочастоты
7. Методом фотометрии пламени чаще определяют ...	а) анионы кислот б) катионы водорода в) катионы тяжёлых металлов г) катионы щелочных металлов
8. Физический метод анализа, в основе которого используется способность электромагнитного излучения вызывать свечение ис-	а) фотоколориметрическим б) эмиссионным в) люминесцентным г) атомно-абсорбционным

следуемого объекта, называется ...	
9. Методом люминесценции (флуориметрии) чаще других определяют сложные ...	а) органические вещества б) неорганические ионы в) лиганды г) катализаторы
10. В рефрактометрическом анализе концентрация определяемого вещества пропорциональна ...	а) оптической плотности б) углу вращения плоскости поляризации в) интенсивности светового потока, возникающего при эмиссии г) показателю преломления
11. В основе нефелометрии лежит измерение ...	а) длины волны падающего света б) плотности раствора в) интенсивности падающего света г) интенсивности светорассеивания
12. С помощью метода нефелометрии можно определить ... крупной частицы.	а) заряд б) состав в) размер г) плотность
13. При количественном определении веществ методом прямой потенциометрии используют зависимость ...	а) потенциала индикаторного электрода от объёма прилитого титранта б) силы тока от концентрации определяемого вещества в) силы тока от потенциала г) потенциала индикаторного электрода от концентрации определяемого вещества
14. Прямая потенциометрия основана на законе ...	а) Фарадея б) Снелла

	<p>в) Бугера-Ламберта-Бера г) Нернста</p>
<p>15. Факторами, от которых зависит величина скачка на кривой потенциометрического комплексометрического титрования, являются ...</p>	<p><i>Укажите не менее двух вариантов ответа:</i></p> <p>а) концентрация определяемого вещества б) выбор электрода сравнения в) устойчивость комплекса</p>
<p>16. Метод, основанный на измерении электропроводности растворов или расплавов электролитов, называется ...</p>	<p>а) спектрометрией б) кондуктометрией в) кулонометрией г) вольтамперометрией</p>
<p>17. Метод кулонометрии основан на зависимости количества выделившегося на электродах вещества от ...</p>	<p>а) длины волны излучения б) количества электричества в) показателя преломления г) потенциала электрода</p>
<p>18. Аналитическим сигналом при проведении количественного анализа методом полярографии является ...</p>	<p>а) скачок потенциала б) время электролиза в) величина предельного тока г) величина приложенного потенциала</p>
<p>19. Для определения глюкозы применяют реакцию её окисления кислородом воздуха, катализируемую ферментом ...</p>	<p>а) глюкозооксидазой б) холинэстеразой в) амилазой г) люциферазой</p>
<p>20. Идентификация нуклидов в методе активационного анализа обычно основана на различных значениях ...</p>	<p>а) молярных масс б) температур испарения в) периодов полураспада г) времени полного разложения</p>
<p>21. Явление ядерного магнитного резонанса возникает в результате воздействия на объект волн ... диапазона спектра</p>	<p>а) ультрафиолетового б) радиочастотного в) рентгеновского г) инфракрасного</p>
<p>22. На различной адсорбционной способности веществ основан ме-</p>	<p>а) хроматографией б) голографией</p>

тод качественного и количественного анализа, который называется	в) полярографией г) флюорографией
23. Хроматографический метод разделения веществ, основанный на различной растворимости осадков компонентов смеси с реагентом на носителе, называется ... хроматографией	а) вытеснительной б) ионообменной в) осадочной г) адсорбционной
24. Ионообменный метод разделения катионов основан на реакции ...	а) $RAn^-H^+ + Me^+ = RAn^-Me^+ + H^+$ б) $RAn^-H^+ + An^- = RAn^- + HAn$ в) $RKt^+OH^- + An^- = RKt^+An^- + OH^-$ г) $RKt^+OH^- + Me^+ = RKt^+ + MeOH$
25. Устройство для непрерывной регистрации концентрации компонентов, выходящих из колонки, называется ...	а) пирометром б) ареометром в) вольтметром г) детектором



## Содержание

Предисловие.....	3
1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА .....	4
1.1. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ...В КОЛИЧЕСТВЕННОМ АНАЛИЗЕ.....	5
1.2. КЛАССИФИКАЦИЯ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА .....	14
2. СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА .....	19
2.1. АБСОРБЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ.....	20
2.2. ЭМИССИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ.....	28
2.3. ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА.....	35
2.4. МЕТОДЫ МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА.....	43
3. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА .....	57
3.1. ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ.....	57
3.2. КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ .....	69
3.4. ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ .....	76
5. ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА .....	87
6. РАДИОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА .....	91
7. МАСС-СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА.....	93
8. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ .....	98
8.1. КЛАССИФИКАЦИЯ ВИДОВ ХРОМАТОГРАФИИ .....	99
8.2. ХРОМАТОГРАФЫ .....	105
Использованная литература .....	116
ИТОГОВЫЙ ТЕСТ.....	117

Учебное издание

*Перегончая Ольга Владимировна*

*Соколова Светлана Анатольевна*

## **Аналитическая химия**

### **Инструментальные методы анализа**

**Учебное пособие**



Компьютерная верстка О. В. Перегончая, С. А. Соколова  
Издается в авторской редакции

Подписано в печать 28.01.2013 г. Формат 60×84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>  
Бумага кн.-журн. П. л. 7,63. Гарнитура Таймс.  
Тираж 340 экз. Заказ № 7202

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I»  
Типография ФГБОУ ВПО Воронежский ГАУ. 394087, Воронеж, ул. Мичурина, 1  
Информационная поддержка: <http://tipograf.vsau.ru>

---

Отпечатано с оригинал-макета заказчика. Ответственность за содержание  
предоставленного оригинал-макета типография не несет.  
Требования и пожелания излагайте авторам данного издания