

Спектроскопические и оптические методы исследования



Спектроскопические и оптические методы исследования

Наиболее распространенные спектроскопические методы анализа:

- * атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС);
- * атомно-эмиссионная спектроскопия (АЭС);
- * электронная спектроскопия в видимом и ультрафиолетовом (УФ) диапазонах;
- * инфракрасная (ИК) спектроскопия;
- * ¹H-ЯМР-спектроскопия;
- * масс-спектрометрия.

Спектроскопические и оптические методы исследования

В основе всех спектроскопических методов лежит **взаимодействие электромагнитного излучения с веществом**, точнее со структурными элементами образующих его молекул:

- * атомами,
- * молекулами или определенными группами молекул,
- * ионов
- * электронов.

Спектроскопия — это наука о взаимодействии веществ с **электромагнитным излучением** (исключением является метод масс-спектрометрия (МС), в котором молекулы разделяют в зависимости от их масс и зарядов)

Спектроскопические и оптические методы исследования

Общим для всех спектроскопических методов анализа является то, что результат измерения представляет собой спектр.



Большинство спектров отображают в двумерной системе координат. При этом по оси x (абсцисс) откладывают энергию электромагнитного излучения, которое взаимодействует с веществом, а по оси y (ординат) — интенсивность поглощенного или испускаемого излучения, чья величина зависит от соответствующей энергии

Электромагнитный спектр

- * Электромагнитное излучение представляет собой вид энергии, чье распространение в пространстве может носить как волновую, так и корпускулярную природу.
- * В вакууме скорость распространения излучения составляет около $c = 300\,000$ км/с.
- * В спектре электромагнитного излучения различают радио- и микроволны, а также инфракрасное (тепловое), видимое, ультрафиолетовое, рентгеновское и γ -излучения



Рис. 3.2. Электромагнитный спектр

Электромагнитный спектр

Соотнесение наиболее распространенных спектроскопических методов анализа соответствующим им областям спектра электромагнитного излучения

<i>Вид излучения</i>	<i>Спектральная область</i>
Гамма	50-140 пм
Рентгеновское	0,01-10 нм
Ультрафиолетовое	180-400 нм
Видимое	400-780 нм
Ближнее ИК-	780-2500 нм
излучение ИК-спектроскопия	2500-25 000 нм
Микроволновое	1-4 мм
Радиоволновое	0,5-10 м

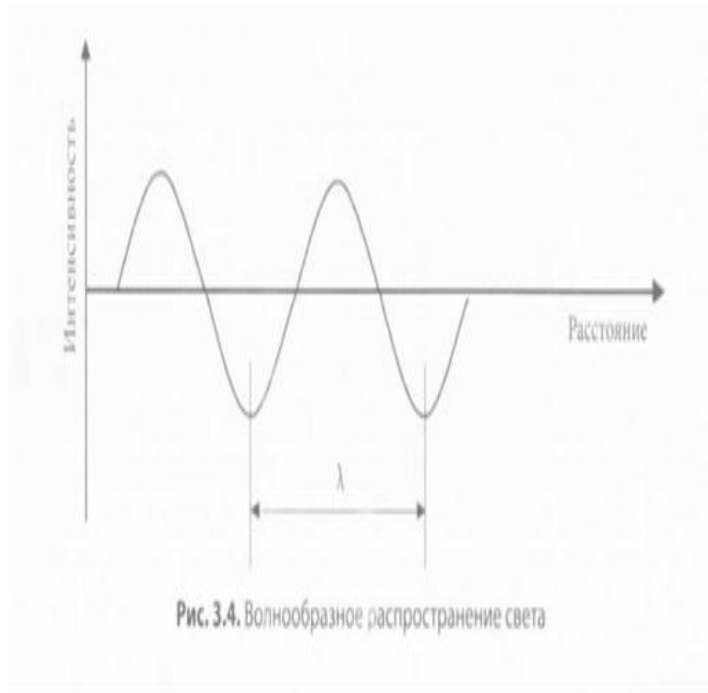
Примечание. *Расшифровка приведенных единиц измерения: пм — пикометры (10^{-12} м); нм — нанометры (10^{-9} м); мм — миллиметры (10^{-3} м).*

Электромагнитный спектр

- * Спектроскопические методы анализа можно разделить в зависимости того, **абсорбирует (поглощает) или же эмитирует (испускает) молекула аналита электромагнитное излучение.**
- * Если молекулы вещества **поглощают излучение**, то такой метод анализа называют **абсорбционной спектроскопией**,
- * а если **испускает**, — **эмиссионной спектроскопией**



Длина волны, волновое число, частота и энергия



- * Электромагнитное излучение характеризуется периодом T , частотой ν , длиной волны λ и волновым числом $\underline{\nu}$.
- * Зависимость между длиной волны λ и периодом T электромагнитного излучения приведена на рис. 3.4.
- * Длина волны λ характеризует расстояние между двумя точками, которое охватывает полное колебание (т. е. гребень волны и ложбину (впадину) волны), распространяющееся в пространстве в форме синусоиды. Следовательно, единицей измерения длины волны является метр (м), причем из практических соображений ее часто выражают в мм (10^{-3} м), мкм (10^{-6} м) или нм (10^{-9} м).
- * Амплитуда волны в направлении оси y (высота гребня волны) не влияет на длину волны λ . Размер амплитуды связан с интенсивностью света, причем эти характеристики прямо пропорциональны друг другу.

Длина волны, волновое число, частота и энергия

- * величиной, обратной длине волны λ , согласно (3.1) является волновое число $\underline{\nu}$. $1/\text{м}$ ($1/\text{м} = \text{м}^{-1}$).

$$\underline{\nu} = \frac{1}{\lambda}$$

(3.1)

- * Общепринято, что волновое число $\underline{\nu}$ используется в ИК-спектроскопии для характеристики величины энергии испускаемого излучения.
- * Волновое число характеризует количество волн, состоящих из гребня и впадины волны, которые располагаются на определенном расстоянии.
- * В ИК-спектроскопии такое расстояние составляет 1 см;
- * при этом, например, величина 1700 см^{-1} означает, что диапазон в 1 см содержит 1700 волн

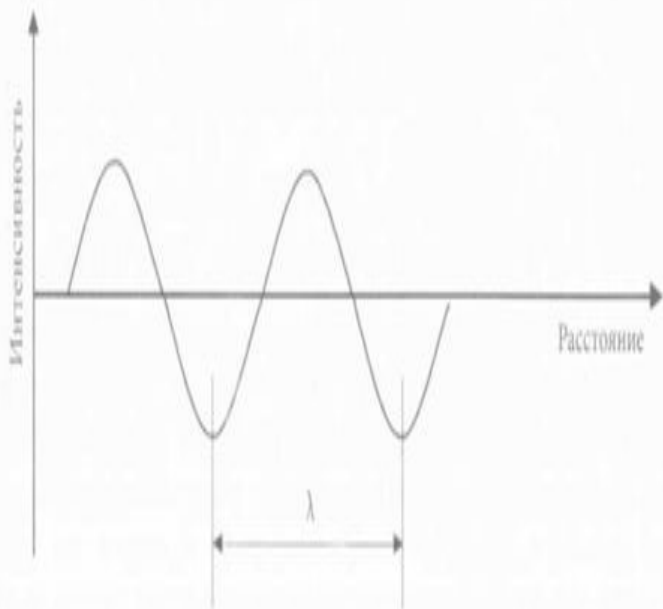


Рис. 3.4. Волнообразное распространение света

$$v = \frac{c}{\lambda},$$

(3.3)

Длина волны, волновое число, частота и энергия

- * Период T представляет собой промежуток времени, который соответствует одному полному колебанию волны (т. е. волна распространяется на расстояние λ).
- * Единицей измерения T является секунда (с).
- * В свою очередь, частота ν характеризует количество колебаний, которое совершает одна волна за секунду.
- * Частота является величиной, обратной периоду T (3.2). Единицей ν является $1/\text{с}$ ($1/\text{с} = \text{с}^{-1} = 1 \text{ Гц}$).

$$\nu = \frac{1}{T}.$$

(3.2)

- * Обе величины, длина волны λ и частота ν , связаны между собой с помощью скорости света c

$$\nu = \frac{c}{\lambda},$$

(3.3)

- * где ν — частота излучения, Гц; c — скорость света в вакууме, м/с; λ — длина волны излучения, м.

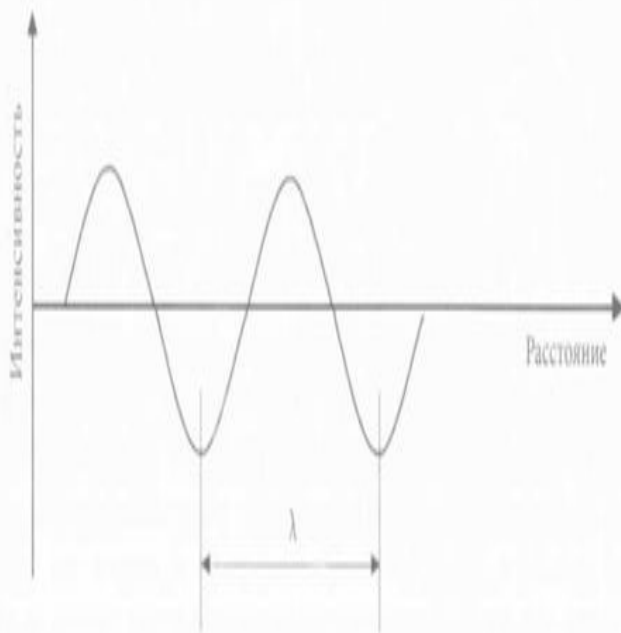


Рис. 3.4. Волнообразное распространение света

Длина волны, волновое число, частота и энергия

С помощью трех величин:

- *длины волны λ ,
- *волнового числа $\underline{\nu}$
- *частоты ν

можно охарактеризовать величину энергии электромагнитного излучения.

Физик Макс Планк установил зависимость между энергией E электромагнитного излучения и частотой ν .

Такая зависимость представлена выражением

$$E = h \cdot \nu \quad (3.4)$$

Где, E – энергия электромагнитного излучения, Дж;

h – $6,6256 \cdot 10^{-34}$ Дж·с, постоянная Планка (квант действия Планка),

ν – частота электромагнитного излучения, Гц.

Длина волны, волновое число, частота и энергия

Согласно (3,4) энергия излучения **E** прямо пропорциональна его частоте **v**, которая рассчитывается следующим образом

$$v = c / \lambda \quad (3.5)$$

Если объединить выражения (3.4) и (3.5). можно получить прямую зависимость между энергией **E** и длиной волны **λ**:

$$E = h \cdot v = h \cdot \frac{c}{\lambda}$$

Из уравнения (3.6) видно, что энергия **E** света обратно пропорциональна длине волны **λ**.

Чем меньше значение λ, тем больше энергия электромагнитного излучения.

Таким образом, энергия УФ-излучения больше, чем энергия ИК-излучения, длина волны которого больше.

Абсорбция и эмиссия электромагнитного излучения

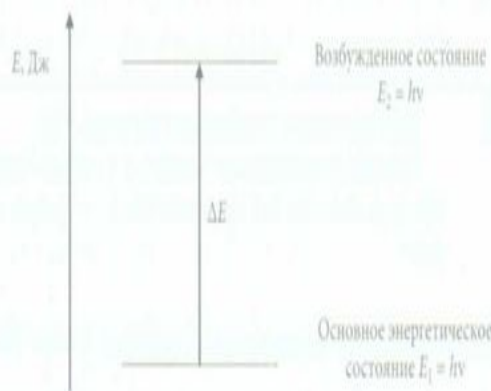


Рис. 3.5. Схема процесса абсорбции излучения при поглощении энергии $E_2 - E_1 = \Delta E = h\nu$



Рис. 3.6. Схематическое изображение процесса эмиссии энергии ΔE

Передача энергии при воздействии электромагнитного излучения на частицы вещества (атомы, молекулы или ионы) возможна только в том случае, если энергия воздействующего излучения имеет строго определенную величину, которую такие частицы способны поглотить.

Подвергшаяся воздействию излучения частица переходит из основного энергетического состояния в возбужденное. При этом она поглощает излучение, величина которого соответствует разности энергий $\Delta E = h\nu$ между этими двумя энергетическими уровнями. Процесс поглощения энергии называется **абсорбцией** (рис. 3.5).

Он характеризуется тем, что частота ν падающего электромагнитного излучения находится в резонансе с абсорбирующей системой.

Абсорбция и эмиссия электромагнитного излучения



Рис. 3.5. Схема процесса абсорбции излучения при поглощении энергии $E_2 - E_1 = \Delta E = h\nu$

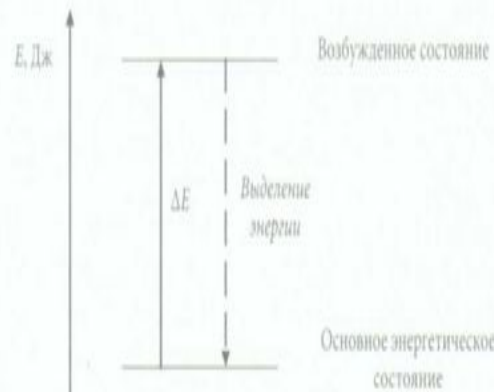


Рис. 3.6. Схематическое изображение процесса эмиссии энергии ΔE

- * Квантовая механика является наукой, которая описывает процессы взаимодействия электромагнитного излучения на атомном уровне. Ее важнейшим постулатом является дискретный характер передачи энергии (т. е. энергия передается не в любом количестве, а в виде отдельных дискретных порций (квантов) определенной величины).
- * Если порции (кванты) энергии излучения в точности не соответствуют расстоянию между двумя энергетическими уровнями в частице, то взаимодействия между частицей и излучением не происходит и, соответственно, частица не поглощает электромагнитное излучение.
- * После поглощения энергии частица находится в возбужденном состоянии, как правило, только в течение непродолжительного времени ($\sim 10^{-9} \text{ с}$). Вслед за выделением избыточной энергии частицы снова возвращаются в основное состояние. При этом они испускают излучение, величина которого в точности соответствует величине поглощенной ранее энергии. Такой процесс называют **эмиссией**

Абсорбция и эмиссия электромагнитного излучения



Рис. 3.7. Схематическое изображение процесса флуоресценции или фосфоресценции

- * Кроме того, частицы, находясь в возбужденном состоянии, могут совершать **безызлучательные переходы**; при этом часть энергии выделяется в **окружающую среду (например, в растворитель или воздух) в форме тепла**. При выделении тепла частица возвращается в основное состояние.
- * Если параллельно с этим избыточная энергия выделяется в виде эмиссии излучения, то **энергия испускаемого излучения будет меньше энергии поглощенного**, вследствие чего **частота ν испускаемого излучения будет меньше частоты абсорбированного излучения** (рис. 3.7).
- * Такое явление носит название **флуоресценции** или **фосфоресценции**. Терминологическая разница здесь **определяется длительностью свечения**: если при фосфоресценции излучение может иметь место в течение достаточно длительного времени, то флуоресценция тут же прекращается с удалением источника излучения.

Перевод электронов в атомах в возбужденное состояние

На орбитальной модели атома отрицательно заряженные электроны вращаются вокруг положительно заряженного ядра.

Для преодоления сил притяжения между двумя частицами и отделения электрона от ядра атома требуется приложить дополнительную энергию.

Электроны движутся вокруг ядра не произвольным образом, а по определенным орбитам (орбиталям).

На каждой орбитали электрон характеризуется некоторым значением энергии. Например, **для перемещения электрона на более удаленный от ядра энергетический уровень необходимо, чтобы, квант энергии излучения, воздействующего на атом, в точности соответствовал разности энергий между этими двумя орбиталями.** Вследствие этого атом переходит из основного энергетического в возбужденное состояние.

Однако если энергия, воздействующая на атом, слишком высока и соответствует «энергии ионизации», то электрон может полностью удаляться из атома. В таком случае происходит ионизация атомов, что приводит к образованию ионов.

Для возбуждения валентных электронов в атомах (электронов на внешних «орбитах» или орбиталях, энергетических уровнях) достаточно использовать излучение видимого или УФ-диапазона спектра, однако для возбуждения электронов на внутренних энергетических уровнях требуется более высокоэнергетическое излучение, например рентгеновское.

Явление возбуждения валентных электронов используется в атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС), атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС) и спектроскопии видимого и УФ-диапазонов.

Перевод электронов в молекулах в возбужденное состояние

Подобно тому как электроны в атомах локализованы на атомных орбиталях, электроны в молекулах также находятся на определенных орбиталях, которые называют молекулярными.

Схожим образом, **возбуждение электронов на более высоких молекулярных орбиталях может быть осуществлено воздействием электромагнитного излучения видимого и УФ-диапазонов.**

При этом в возбужденное состояние переходят прежде всего те электроны, которые **участвуют в образовании кратных связей либо являются «неспаренными» в качестве так называемых «свободных электронных пар»**

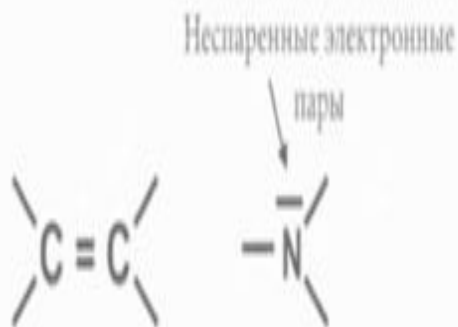
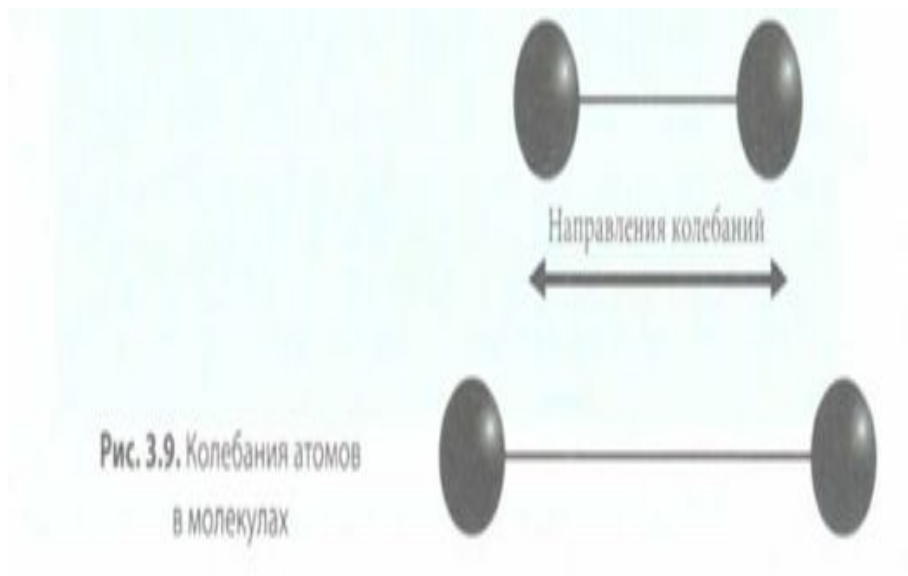


Рис. 3.8. Кратная связь и неспаренные электронные пары

Возбуждение колебаний в молекулах



- * Для возбуждения колебаний атомов в молекулах требуется воздействие энергии гораздо меньшей интенсивности, чем для перевода электронов на более высокие энергетические уровни.
 - * Поэтому достаточно воздействовать на молекулу **ИК-излучением**, энергия которого существенно ниже
- Типичные направления колебаний представлены на рис. 3.9

Закон Ламберта — Бера при адсорбции электромагнитного излучения

Если световой луч с первоначальной интенсивностью I_0 проходит через однородную среду, то вследствие взаимодействия между электромагнитным излучением и молекулами образца часть излучения может поглощаться. После прохождения излучения через вещество его интенсивность уменьшается и составляет величину I .

$$T = \frac{I}{I_0} \text{ или } T = \frac{I}{I_0} 100\% \quad (3.7)$$

Ослабление интенсивности излучения описывают с помощью величины трансмиссии T (пропускания), характеризующей ту часть излучения, которая поглощается средой:

Если излучение полностью проходит через пробу, то величина пропускания составляет $T = 100\%$. Напротив, если излучение полностью поглощается пробой, то $T = 0\%$.

Поглощение электромагнитного излучения зависит от толщины поглощающего слоя и количества молекул (концентрации) и соответствует закону Ламберта — Бера.

В большинстве случаев закон Ламберта — Бера представляют в логарифмической форме:

где I_0 — интенсивность излучения до прохождения через пробу;

I — интенсивность излучения после прохождения через пробу;

c — молярная концентрация вещества, моль/л;

d — толщина поглощающего слоя, см;

$\epsilon(\lambda)$ — молярный коэффициент экстинкции (постоянная величина для вещества), л/(моль · см).

$$-\lg \left(\frac{I}{I_0} \right) = \epsilon(\lambda) c d, \quad (3.8)$$

Закон Ламберта — Бера при адсорбции электромагнитного излучения

Следует учитывать, что закон Ламберта — Бера можно применять лишь в том случае, если ослабление света происходит только **за счет абсорбции** излучения в среде пробы. Выполнение такого условия предполагает:

- * **прозрачность раствора** и отсутствие помутнений, которые могут рассеивать свет, вызывая искажение результатов;
- * **значительное разбавление раствора** (слишком концентрированные растворы поглощают излучение очень интенсивно, вследствие чего закон Ламберта — Бера не выполняется);
- * **использование монохроматического излучения** (излучения с одинаковой длиной волны), так как постоянная вещества, коэффициент экстинкции $\epsilon(\lambda)$, зависит от длины волны λ .
- * **Левую часть уравнения (3.8) называют оптической плотностью E** . Между оптической плотностью и пропусканием существует зависимость:

$$E = -\lg T = -\lg \left(\frac{I}{I_0} \right), \quad (3.9)$$

Закон Ламберта — Бера при адсорбции электромагнитного излучения

$$E = \varepsilon(\lambda)cd, \quad (3.10)$$

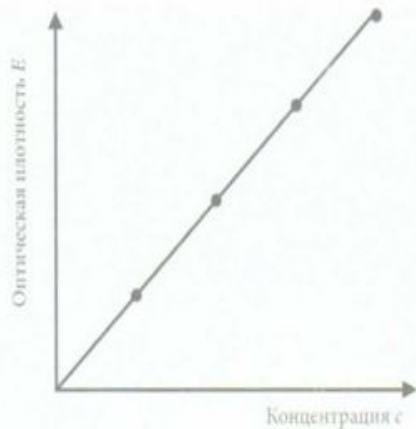


Рис. 3.12. Зависимость оптической плотности от концентрации

$$c = \frac{E}{\varepsilon(\lambda)d}, \quad (3.11)$$

Оптическая плотность является безразмерной величиной, и ее значение может составлять от 0 (соответствует стопроцентному пропусканию) до ∞ (соответствует нулевому пропусканию). Иной формой записи закона Ламберта — Бера является уравнение:

Оптическая плотность E прямо пропорциональна концентрации c пробы и толщине поглощающего слоя d . Молярный коэффициент экстинкции $\varepsilon(\lambda)$ является коэффициентом пропорциональности. Он соответствует углу наклона прямой на графике зависимости E от c (рис. 3.12).

Таким образом, $\varepsilon(\lambda)$ представляет собой константу для каждого отдельного вещества, величина которой зависит от длины волны λ подающего излучения (значение λ принято указывать в скобках).

Если значение E было определено экспериментально и известно значение $\varepsilon(\lambda)$ для определенной длины волны λ , а также толщина поглощающего слоя d , то с помощью закона Ламберта — Бера можно рассчитать концентрацию c :

Закон Ламберта — Бера при адсорбции электромагнитного излучения

- * Как и многие другие законы химии, закон Ламберта — Бера действует только в определенном диапазоне концентраций аналитов.
- * При превышении предельной концентрации, характерной для данного вещества, зависимость величины оптической плотности от концентрации перестает быть линейной.
- * При количественном определении следует следить за тем, чтобы **измеренное поглощение находилось в диапазоне**

$$E \sim 0.1-1,0.$$

- * На рис. 3.13 поясняется область линейности закона.

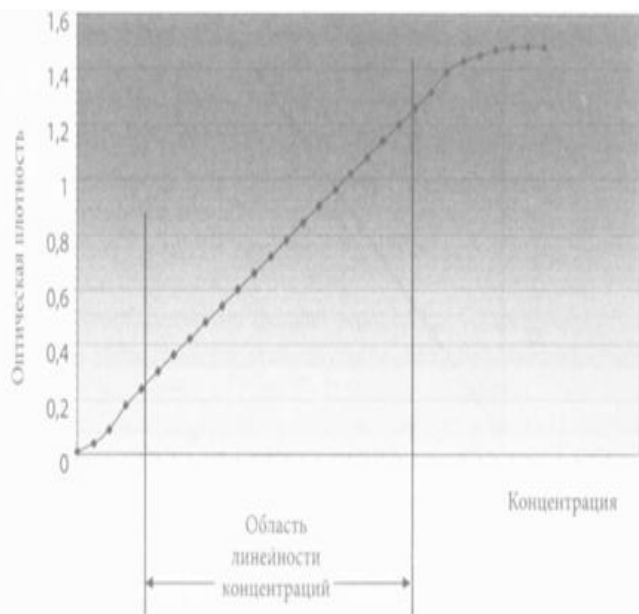


Рис. 3.13. Область применения закона Ламберта — Бера

Спектроскопия в видимом и ультрафиолетовом диапазонах

- * Спектроскопия видимого и **УФ**-диапазонов основана на принципе абсорбции. Абсорбция электромагнитного излучения происходит при возбуждении молекул, т. е. переходе электронов на вышележащие энергетические уровни.
- * В спектроскопии видимого и **УФ**-диапазонов **анализируемые молекулы находятся в растворе.**
- * Повторное испускание излучения в большинстве случаев осуществляется за счет преобразования энергии возбуждения в тепловую, однако она имеет настолько низкое значение, что ее наличие трудно определить.
- * Измерения в видимом и **УФ**-диапазонах проводят в пределах длин волн $\lambda = 200\text{-}800\text{ нм}$.
Человеческий глаз способен различить только часть этого диапазона
- * **(400-800нм), который называют видимым излучением,**

Спектроскопия в видимом и ультрафиолетовом диапазонах

Длины волн λ видимого излучения		
Длина волны λ , нм	Видимый цвет	
400-435	Фиолетовый	
435-480	Голубой	
480-490	Зелено-голубой	
490-500	Голубой с зеленым	
500-560	Зеленый	
560-580	Желто-зеленый	
580-595	Желтый	
595-610	Оранжевый	
610-750	Красный	

Цвета, соответствующие поглощенные дополнительные цвета и длины их волн λ		
Цвет	Дополнительный поглощенный цвет	Длина волны λ , нм
Желто-зеленый	Фиолетовый	400-435
Желтый	Голубой	435-480
Оранжевый	Зелено-голубой	480-490
Красный	Голубой с зеленым	490-500
Пурпурный	Зеленый	500-560
Фиолетовый	Желто-зеленый	560-580
Голубой	Желтый	580-595
Зелено-голубой	Оранжевый	595-610
Голубой с зеленым	Красный	610-750

Спектроскопия в видимом и ультрафиолетовом диапазонах

Если вещество отражает весь диапазон длин волн $\lambda = 400-800$ нм (абсорбция ~ 0), то наблюдатель видит предмет белого цвета. Если весь диапазон длин волн поглощается, то тело имеет черный цвет.

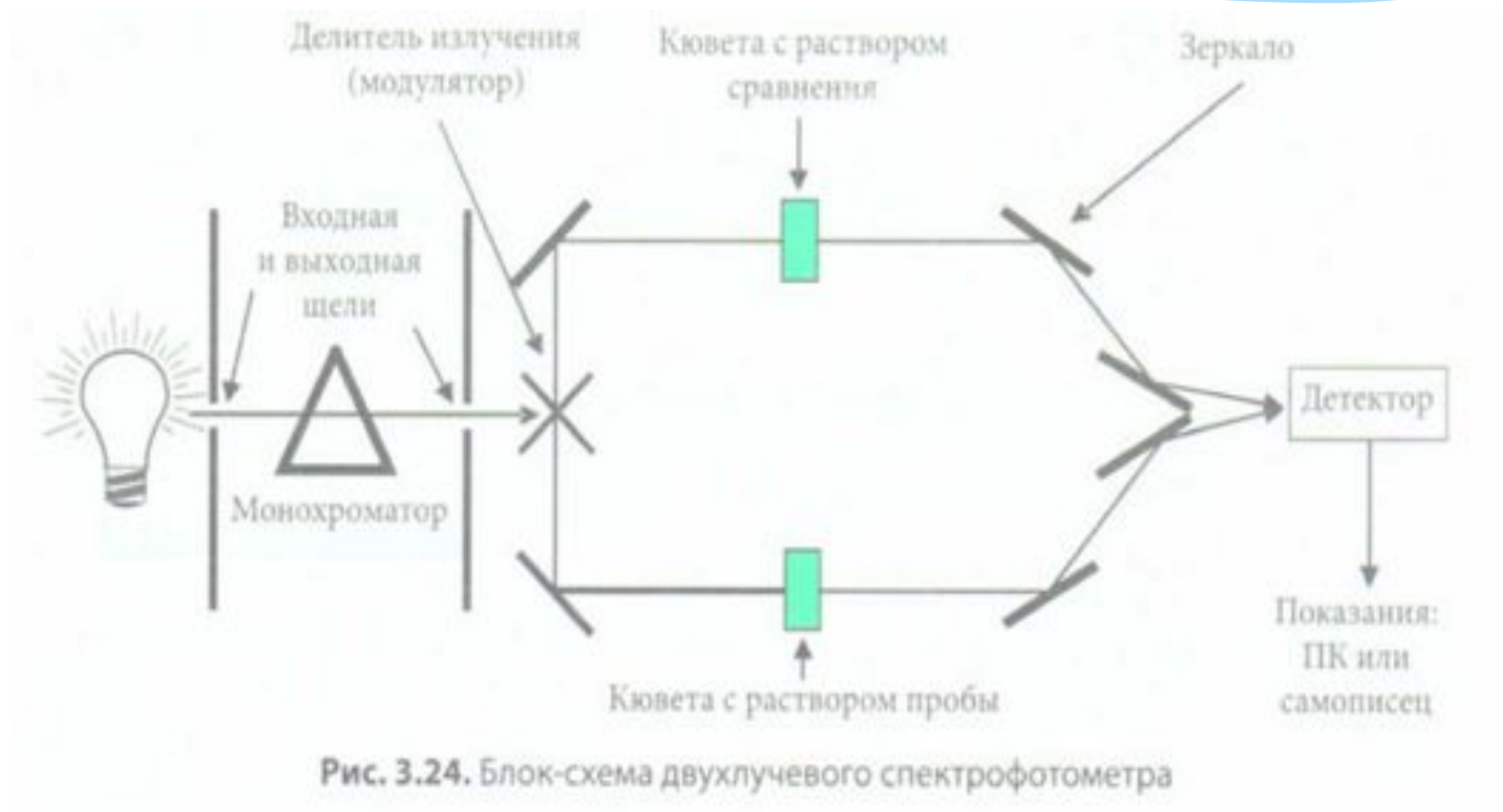
Если речь идет о бесцветном веществе, например толуоле или растворенной в метаноле ацетилсалициловой кислоте, то для возбуждения электронов на внешних молекулярных орбиталях необходимо высокоэнергетическое УФ-излучение ($\lambda = 200-400$ нм).

Диапазон длин волн от 10 до 400 нм соответствует УФ-излучению, недоступному для восприятия человеческого глаза. Однако в УФ-спектроскопии используется только часть УФ-диапазона от приблизительно **180 до 400 нм**.

Многочисленные неорганические комплексные соединения и органические молекулы абсорбируют излучение видимого или УФ-диапазона электромагнитного спектра. Это делает возможным количественное и качественное определение большого количества аналитов с помощью спектроскопии видимого и УФ-диапазонов.

Для поглощения видимого излучения с длинами волн **от 400 до 800 нм** абсорбирующие молекулы должны быть окрашены или же превращены перед анализом в окрашенные производные с использованием соответствующих химических реактивов.

Спектрофотометры видимого и ультрафиолетового диапазонов



Спектрофотометры видимого и ультрафиолетового диапазонов

- * Для измерения абсорбции излучения в зависимости от длины волны падающего света в настоящее время обычно применяют двухлучевые спектрофотометры (рис. 3.24). Из испускаемого полихроматического излучения (непрерывного спектра в широком диапазоне длин волн) с помощью монохроматора выделяют излучение только с определенной длиной волны λ (монохроматическое излучение) и интенсивностью I_0 , после чего специальными приспособлениями направляют его на образец.
- * Образец при этом помещают в маленькую емкость, кювету. В этом растворе излучение частично поглощается, а интенсивность излучения I , прошедшего через раствор, регистрируется детектором. На регистрирующее устройство передается значение величины оптической плотности, которое по закону Ламберта — Бера пропорционально концентрации аналита.

Источники излучения, применяемые в современных спектрофотометрах

В качестве источников излучения в современных спектрофотометрах, как правило, используют две разновидности ламп:

- *газоразрядную дейтериевую лампу, используемую для излучения **УФ-диапазона**

(дейтерий D_2 ; **длины волн между 180 и 370 нм**);

- *галогенную вольфрамовую лампу, испускающую излучение **видимого диапазона ($\lambda = 360-800$ нм)**.

В зависимости от положения зеркала на пробу подается излучение либо видимого, либо УФ-диапазона.

Монохроматоры

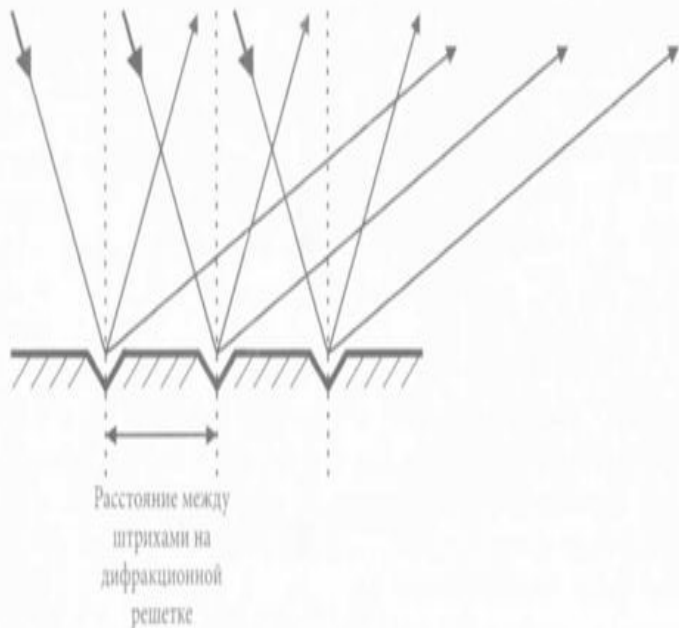


Рис. 3.25. Принцип действия дифракционной решетки

Задачей монохроматоров является выделение определенной длины волны монохроматического или узкого диапазона длин волн из излучения, испускаемого источником.

Спектральное разложение как видимого, так и УФ-излучения осуществляют при помощи современных аппаратов с отражательной дифракционной решеткой с нанесенными мелкими штрихами.

Они обладают более высоким разрешением, чем используемые ранее призмы, и, кроме того, отличаются невысокой ценой. **Дифракционные решетки в видимом и УФ-диапазонах содержат 1200-1500 штрихов/мм.** Их устанавливают на подвижной основе, которая оснащена двигателем, смещающим решетку относительно падающего луча света. Подобный прием позволяет в зависимости от положения решетки выделять излучение только с определенной длиной волны λ , которое выходит через выходную щель (рис. 3.25).

Разделение излучения на рабочий луч и луч сравнения

Выделенное монохроматором излучение через выходную щель поступает в оптическую систему. При прохождении через выходную щель оно попадает на быстро вращающийся участок зеркала — *модулятор*, разделяющий падающее излучение на маленькие порции. Одна половина излучения через зеркало поступает в кювету, содержащую раствор пробы (рабочий луч), вторая — на кювету с раствором сравнения без аналитов (луч сравнения). При прохождении излучения через обе кюветы его интенсивность снижается в различной степени. Затем оба луча объединяют и подают на детектор, который преобразует излучение в измеряемый электрический сигнал.

Используют и *однолучевые фотометры*, при которых разделения излучения на рабочий луч и луч сравнения не происходит. Их применение требует дополнительного определения оптической плотности раствора сравнения с сохранением полученного значения в собственной памяти. Затем измеряется поглощение раствора пробы на той же длине волны λ . Из полученной величины оптической плотности E вычитают сохраненное значение оптической плотности раствора сравнения и получают величину оптической плотности пробы. Однако между двумя измерениями проходит определенное время, а это значит, что проба (как и интенсивность излучения лампы) может измениться. Поэтому однолучевой фотометр является более дешевым и менее точным, чем двухлучевые разновидности.

Кюветы, применяемые в спектроскопии видимого и ультрафиолетового диапазонов

Так как в спектроскопии видимого и УФ-диапазонов проводят анализ только жидких проб, то для последних требуются специальные емкости — кюветы. Их изготавливают из материала, который не поглощает излучение в исследуемом диапазоне длин волн.

- * Кюветы, изготовленные из полимерных материалов и стекла, можно использовать в диапазоне длин волн $\lambda > 350$ нм (видимый диапазон).
- * В УФ-диапазоне ($\lambda = 200-400$ нм) следует использовать кварцевые кюветы, так как обычное оконное стекло или органические полимеры обладают слишком высокой собственной абсорбцией.
- * Специальные полимерные кюветы можно использовать в диапазоне длин волн от $\lambda = 220$ нм.

Кюветы являются составной частью оптической системы и требуют крайне бережного обращения (впрочем, как и любые другие элементы оптической системы).

Детекторы

- * Детекторы предназначены для измерения интенсивности поступающего излучения.
- * В спектроскопии видимого и УФ-диапазонов в их качестве чаще всего выступают **фотоэлектронные умножители** (также называемые вторичными электронными умножителями (ВЭУ) и **фотодиоды**.
- * Современные технологии позволяют производить очень компактные фотодиоды, что делает возможным изготовление фотодиодной матрицы. Так, в настоящее время один конструктивный элемент может содержать от 64 до 4096 фотодиодов. Поскольку каждый фотодиод способен измерять интенсивность / определенных длин волн λ , то при использовании фотодиодной матрицы можно одновременно определять интенсивности большого количества длин волн.

Растворители, применяемые в спектроскопии видимого и ультрафиолетового диапазонов

Растворители для спектроскопии видимого и УФ-диапазонов (нижнее значение длины волны)

Растворитель		Наименьшее значение длины волны λ в нм	
Вода			190
Этанол (неденатурированный)			210
и-Гексан			195
Диэтиловый эфир			215
Ацетон			330
1,4-Диоксан			220
Метанол			205
Ацетонитрил			190
Хлороформ			240

Как правило, для проведения анализа определяемое вещество растворяют в подходящем растворителе.

Растворители, применяемые в спектроскопии видимого и УФ-диапазонов, должны отвечать следующим требованиям:

- * не содержать взвесей во избежание рассеивания излучения на частицах;
- * не поглощать слишком сильно излучение в диапазоне измерений.
- * К сожалению, большинство растворителей сильно поглощают излучение в коротковолновом УФ-диапазоне (табл. 3.12). Приведенные в таблице растворители не могут быть использованы при длинах волн излучения, меньших некоторого предельного значения, поскольку в этих пределах они обладают слишком интенсивной собственной абсорбцией.

Спектрофотометры видимого и ультрафиолетового диапазонов

Спектрофотометрия используется для:

- * идентификации соединений,
- * исследования состава,
- * исследования строения,
- * количественного анализа индивидуальных веществ и многокомпонентных систем.
- * Кривая зависимости поглощения (функция поглощения) от длины волны или волнового числа называется **спектром поглощения** вещества и является **специфической характеристикой** данного вещества

Спектрофотометры видимого и ультрафиолетового диапазонов

Однако главным достоинством спектрофотометра является возможность сканировать полный диапазон длин волн в УФ и видимой области и получать спектры поглощения.

Спектры отражают зависимость поглощения от длины волны.

Спектры поглощения – это результат определенных электронных переходов. Чаще всего это π -электроны, участвующие в образовании двойных связей углерод-углерод, а также электроны неподеленных электронных пар азота и кислорода.

Длина волны поглощаемого света определяется соответствующими электронными переходами, поэтому **специфические пики поглощения можно связать с известными молекулярными фрагментами**

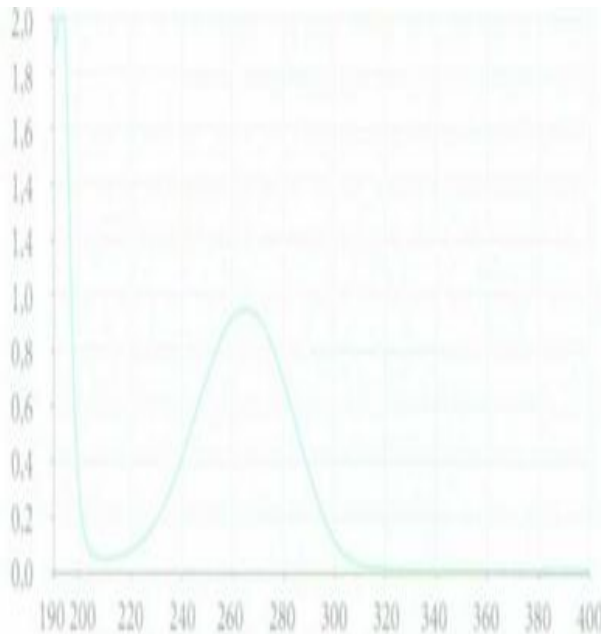


Рис. 3.22. УФ-спектр ацетона

Спектрофотометры видимого и ультрафиолетового диапазонов

Термин **хромофор** применяют для обозначения отдельной группы, которая имеет характерный спектр поглощения. Сопряжение двойных связей приводит к снижению энергии (частоты), необходимой для осуществления электронных переходов, и, следовательно, приводит к увеличению длины волны, при которой поглощает хромофор. Данное явление называется **батохромным сдвигом**.

Например, протонирование азота в ароматическом кольце, при котором происходит снижение степени сопряжения, вызывает **гипсохромный сдвиг в сторону коротких длин волн**. Гиперхромный эффект соответствует увеличению высоты пика, а гипохромный – ее уменьшению.

Таблица 1

Хромофорные группы с $n \rightarrow \pi^*$ - и $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходами

Хромофор	Переход	Длина волны λ , нм
-C=C-	$\pi \rightarrow \pi^*$	190
-C $\equiv$ C-	То же	173
-C=O	$\pi \rightarrow \pi^*$ и $n \rightarrow \pi^*$	180 и 280
-O-	$n \rightarrow \sigma^*$	180
-N=N-	$n \rightarrow \pi^*$	350
-N=O	То же	300 и 600
-Cl	"	170
-Br	"	204
-I	"	250

Количественное определение содержания веществ методом спектроскопии видимого и ультрафиолетового диапазонов

Спектроскопия видимого и УФ-диапазонов позволяет осуществлять определение содержания большого количества компонентов жидких проб.

В основе количественной оценки лежит уравнение Ламберта — Бера

$$E = \varepsilon(\lambda)c.d.$$

В простейшем случае при определении концентрации **C** целевого компонента в пробе известны значение молярного коэффициента экстинкции **ε** и толщина поглощающего слоя **d** кюветы (чаще всего равная 1 см); при этом величину оптической плотности **E** необходимо определить экспериментальным путем. Затем с помощью закона Ламберта — Бера можно рассчитать концентрацию пробы **C**:

$$c = \frac{E}{\varepsilon(\lambda)d} \quad (3.19)$$

Количественное определение содержания веществ методом спектроскопии видимого и ультрафиолетового диапазонов

- * Однако в большинстве случаев значение молярного коэффициента экстинкции ϵ неизвестно. Поэтому для определения содержания пробы необходимо провести либо одноточечную, либо многоточечную калибровку. Независимо от выбора метода важно проводить определение содержания пробы при такой длине волны, при которой наблюдается максимальное поглощение излучения раствором **аналита** (λ_{max}).
- * Для установления значения λ_{max} записывают обзорный спектр аналита и раствора сравнения (λ -сканирование, или сканирование длины волны), после чего выбирают длины волн, при которых наблюдаются максимумы поглощения.
- * Измерение оптической плотности E в максимумах поглощения обеспечивает наибольшую чувствительность при дальнейшем определении концентрации

Количественное определение содержания веществ методом спектроскопии видимого и ультрафиолетового диапазонов

Далее следует следить за тем, чтобы измеренное значение **E** составляло от **0,1 до 1,0**.

Ниже $E = 0,1$ погрешность измерения является недопустимо высокой, так как фоновые шумы прибора будут слишком большими по отношению к полезному сигналу.

Выше $E = 1,0$ закон Ламберта — Бера в большинстве случаев работать не будет

$$c_{PL} = \frac{E_{KL}}{c_{KL} E_{PL}}, \quad (3.20)$$

Одноточечная калибровка

В основе метода одноточечной калибровки лежит экспериментальное определение оптической плотности E_{KL} с помощью калибровочного раствора, содержащего известное количество аналита.

Затем проводят измерение величины оптической плотности раствора пробы E_{PL} с неизвестным содержанием аналита. Концентрация пробы может быть рассчитана с помощью формулы

$$c_{PL} = \frac{E_{KL}}{c_{KL} E_{PL}}, \quad (3.20)$$

*где c_{PL} — молярная концентрация пробы, моль/л; c_{KL} — молярная концентрация калибровочного раствора, моль/л; E_{KL} — оптическая плотность калибровочного раствора; E_{PL} — оптическая плотность раствора пробы.

Условием использования этого метода является отсутствие существенного поглощения раствора сравнения и «линейность» зависимости величины оптической плотности E от молярной концентрации. **Преимуществом одноточечной калибровки является быстрота проведения анализа.**

Многоточечная калибровка

Чтобы повысить точность метода, в большинстве случаев применяют **метод многоточечной калибровки**.

При этом проводят последовательное определение оптической плотности как минимум пяти калибровочных растворов с различными концентрациями, приготовленных независимо друг от друга, по отношению к раствору сравнения.

Интервалы между концентрациями отдельных растворов должны быть одинаковыми (равноотстоящими), а величина E находится в пределах **от 0,1 до 1,0**. Анализ раствора пробы следует проводить в тех же условиях, что и анализ калибровочных растворов. В идеале его разбавляют до тех пор, пока величина его оптической плотности не попадет в середину рабочего диапазона оптических плотностей. После этого неизвестное содержание аналита может быть определено либо по графику, построенному на миллиметровой бумаге (устаревшая рекомендация), либо применением метода «наименьших квадратов» (с учетом предварительно вычисленных параметров уравнения линейной регрессии). При получении конечного результата следует принять во внимание возможное разбавление пробы.

Многоточечная калибровка

- * Как уже было отмечено, не имеющие окраски аналиты могут быть превращены в окрашенные производные с использованием соответствующих реагентов, в том числе за счет комплексообразования с некоторыми красителями. Вследствие этого поглощающая способность аналитов существенно повышается.
- * В табл. 3.13 приводятся типичные красители и аналиты, которые могут быть окрашены с их помощью

Выбор органических красителей для спектроскопии видимого диапазона

Краситель	Аналит
1,10-фенантролин	Fe^{2+} , Cu^{2+}
Ализарин S	A^{3+}
Дитизон	Bi^{3+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Ag^{+} ,
8Гидроксихинолин (оксин)	Fe^{3+} , Mo(VI) , V(V)
Пиридил(азо-)резорцинол (ПАР)	Fe^{3+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zr , W(V)
БЦО	Cu

Приготовление калибровочных растворов

Для получения пяти калибровочных растворов сначала готовят основной (исходный) раствор, который затем разбавляют до получения калибровочных растворов нужной концентрации. Подготовку калибровочных растворов проводят в следующих условиях: Из ампулы фиксанала готовят раствор, который содержит $\beta = 1,000$ г/л меди; при этом навеску взвешивают точно. Часть этого раствора (10,0 мл) снова разбавляют до 1000 мл (т. е. 1 мл этого раствора содержит 0,01 мг меди). Такой раствор называют «исходным». При использовании бюретки (объемом 25 мл) последовательно отбирают 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0 мл исходного раствора. Отобранные аликвоты помещают в мерную колбу на 100 мл, доводят до метки (после добавления БЦО-раствора и буферного раствора) и получают пять калибровочных растворов необходимой концентрации (0,050; 0,075; 0,100; 0,125; 0,150 мг меди на 100 мл раствора).

Раствор пробы

Раствор пробы следует готовить таким образом, чтобы величина его оптической плотности попадала в середину измерительного диапазона. Это значение составляет около 0,1 мг на 100 мл меди. Анализируемая вода в процессе содержит приблизительно 5 мг меди на 1000 мл воды ($P = 0,5$ мг/100 мл). К образцу анализируемой воды добавляют раствор БЦО и буферный раствор, доводя его объем до 100 мл.