

Высшее образование

БАКАЛАВРИАТ

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

В двух томах

Под редакцией профессора А. А. ИЩЕНКО

Том 2

Рекомендовано

Государственным образовательным учреждением высшего профессионального образования «Казанский государственный технологический университет» в качестве учебника для студентов высших учебных заведений, обучающихся по химико-технологическим направлениям

Регистрационный номер рецензии 390 от 20 ноября 2008 г. ФГУ «ФИРО»

3-е издание, стереотипное



Москва
Издательский центр «Академия»
2014

УДК 543(075.8)
ББК 24.4.я73
А64

Авторы:

Н. В. Алов (гл. 15), *И. А. Василенко* (гл. 10), *М. А. Гольдштрах* (гл. 8), *Л. А. Грибов* (гл. 19),
В. И. Дворкин (гл. 21), *Ю. М. Дедков* (гл. 20), *Е. В. Ерохин* (гл. 9), *Ю. А. Ефимова* (гл. 12, 13),
А. А. Ищенко (гл. 8, 10, 17), *В. П. Колотов* (гл. 14), *А. Е. Лукьянов* (гл. 16), *А. А. Перов* (гл. 9),
М. А. Проскурин (гл. 18), *Н. М. Сергеев* (гл. 10), *Г. В. Фетисов* (гл. 11)

Рецензенты:

заслуженный деятель науки Российской Федерации, зав. сектором химического анализа
Института геологии рудных месторождений, петрографии, минералогии и геохимии РАН,
профессор, д-р хим. наук *Н. Н. Басаргин*;
зав. кафедрой общей и неорганической химии Российского государственного
университета нефти и газа им. И. М. Губкина, чл.-корр. РАН *А. Г. Дедов*

Аналитическая химия и физико-химические методы анализа. В 2 т. Т. 2 :
А64 учеб. для студ. учреждений высш. образования / [Н. В. Алов и др.] ; под
ред. А. А. Ищенко. — 3-е изд., стер. — М. : Издательский центр «Акаде-
мия», 2014. — 416 с. — (Сер. Бакалавриат).

ISBN 978-5-4468-1316-2

Учебник создан в соответствии с Федеральным государственным стандартом по на-
правлению подготовки «Химическая и биотехнология» (квалификация «бакалавр»).

В двух томах учебника представлены важнейшие разделы современной аналитиче-
ской химии. Во втором томе рассмотрены теоретические основы физико-химических
методов анализа: атомной и молекулярной спектрометрии, рентгеновских, ядерно-фи-
зических и кинетических методов. Охарактеризованы особенности технического произ-
водственного контроля. Особое внимание уделено новым направлениям в аналитиче-
ской химии: портативным аналитическим системам, спектральному анализу без исполь-
зования стандартных образцов состава, методам локального анализа и анализа поверх-
ности. Подробно описано применение статистических методов при обработке аналити-
ческого сигнала.

Для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по химико-техно-
логическим направлениям. Может быть полезен аспирантам, преподавателям и науч-
ным работникам.

УДК 543(075.8)
ББК 24.4.я73

*Оригинал-макет данного издания является собственностью
Издательского центра «Академия», и его воспроизведение любым способом
без согласия правообладателя запрещается*

© Коллектив авторов, 2010
© Коллектив авторов, 2012, с изменениями
© Образовательно-издательский центр «Академия», 2012
© Оформление. Издательский центр «Академия», 2012

ISBN 978-5-4468-1316-2 (т. 2)
ISBN 978-5-4468-1314-8

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

8.1. Общая характеристика и классификация спектроскопических методов

Спектральный анализ — совокупность методов качественного и количественного определения состава веществ, основанных на исследовании спектров испускания, поглощения, люминесценции, отражения и рассеяния электромагнитного излучения. Различают *атомный* и *молекулярный* спектральный анализ; задача этих методов заключается в определении соответственно элементного и молекулярного состава вещества. *Эмиссионный* спектральный анализ проводят по спектрам испускания атомов, ионов или молекул, возбужденных различными способами. *Абсорбционный* спектральный анализ основывается на спектрах поглощения электромагнитного излучения анализируемыми объектами.

В зависимости от цели исследования, свойств анализируемого вещества, специфики спектров, области длин волн и других факторов ход анализа, аппаратура, способы измерения спектров и метрологические характеристики результатов сильно различаются. В соответствии с этим спектральный анализ подразделяют на ряд самостоятельных методов, в частности на атомно-абсорбционный анализ, атомно-флуоресцентный анализ, люминесцентный анализ, инфракрасную (ИК) спектроскопию, спектроскопию комбинационного рассеяния (КР), молекулярную оптическую спектроскопию, спектроскопию отражения, спектрофотометрию, ультрафиолетовую (УФ) спектроскопию, фотометрический анализ, фурье-спектроскопию, рентгеновский спектральный анализ.

В основе спектроскопических методов (или спектрального анализа) лежат следующие основные процессы:

- взаимодействие исследуемого вещества с внешним (диагностирующим) электромагнитным излучением, приводящее к частичному поглощению последнего, — *абсорбция*;
- возбуждение частиц исследуемого вещества внешним излучением и последующее испускание квантов излучения с другой длиной волны — *люминесценция*;
- самопроизвольная *эмиссия* (испускание) излучения анализируемым веществом, находящимся в состоянии плазмы: в пламени горелки, в электрическом разряде — дуговом, искровом или высокочастотном;
- *рассеяние* падающего на образец электромагнитного излучения анализируемым веществом.

Методы анализа, основанные на явлении излучения электромагнитных волн предварительно возбужденными атомами, ионами или молекулами, называют *эмиссионными*.

Люминесцентные (флуоресцентные) методы (или спектроскопия люминесценции) также основаны на анализе излучения вещества, которое предварительно возбуждают (в отличие от эмиссионных методов) излучением мощных ламп, лазера или в результате химической реакции (хемилюминесценция).

Взаимодействие электромагнитного излучения с веществом может быть упругим или неупругим. При *упругом* взаимодействии электромагнитной волны с частицей исследуемого вещества энергия волны остается неизменной, меняется только направление ее распространения. К числу спектроскопических методов, основанных на упругом взаимодействии, относят *рефрактометрические* методы анализа.

При *неупругом* взаимодействии происходит обмен энергией между излучающими частицами вещества и внешним (диагностирующим) электромагнитным излучением. При этом изменяется как внутреннее состояние анализируемых частиц, так и энергия (длина волны) излучения.

Различают атомный и молекулярный спектральный анализ. Задачей *атомного* спектрального анализа является установление элементного состава вещества. Одним из наиболее мощных методов элементного анализа является *атомно-эмиссионный* спектральный анализ, изучающий спектры испускания свободных атомов и ионов в газовой фазе. *Молекулярный* спектральный анализ предполагает идентификацию данного вещества и (или) определение его количества (концентрации, массы).

Совокупность спектральных методов качественного и количественного анализа, основанных на изучении спектров поглощения электромагнитного излучения исследуемым веществом, называют *спектроскопией поглощения*, или *абсорбционной спектроскопией*. Абсорбционные методы основаны на измерении интенсивности поглощения излучения анализируемым веществом при неупругом взаимодействии.

Фотометрический анализ — одна из разновидностей молекулярного абсорбционного спектрального анализа. Здесь регистрируют поглощение излучения в видимой, ИК и УФ областях спектра молекулами определяемого компонента (или его соединениями с подходящим реагентом). Фотометрический анализ включает визуальную фотометрию, или колориметрический анализ, спектрофотометрию и фотоколориметрию.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрии тем, что поглощение света измеряют обычно в видимой области спектра, реже — в ближних УФ и ИК областях (длины волн $\lambda = 315—980$ нм). Инструментальное отличие этих методов состоит также в том, что для выделения нужного участка спектра (обычно шириной 10—100 нм) в фотоколориметрическом методе используют узкополосные светофильтры, тогда как в спектрофотометрии применяют монокроматоры, что повышает точность метода.

Спектроскопические методы можно классифицировать и в соответствии с областью электромагнитного излучения, используемого при анализе. Эти области включают:

- 1) диапазон γ -излучения (длины волн $\lambda \sim 0,001—0,1$ нм); электромагнитное излучение, испускаемое возбужденными ядрами атомов;
- 2) рентгеновский диапазон (длины волн $\lambda \sim 10^{-10}$ м $\equiv 0,1$ нм), соответствующий энергии электронных переходов во внутренних электронных оболочках атомов;

3) УФ диапазон (180—400 нм), относящийся к энергетическим переходам внешних электронов;

4) видимый диапазон (400—780 нм), связанный с энергетическими переходами внешних электронов;

5) ближняя ИК область (0,78—2,5 мкм), связанная с переходами между колебательными уровнями энергии;

6) дальняя ИК область (2,5—50 мкм), связанная с переходами между колебательными уровнями;

7) микроволновый диапазон (50 мкм—1 см), относящийся к переходам между вращательными состояниями молекул;

8) диапазон радиоволн, используемых в электронном парамагнитном резонансе (~3 см), который соответствует переходам неспаренных электронов в магнитном поле;

9) диапазон радиоволн, используемых в ядерном магнитном резонансе (0,6—10 м), относящихся к ядерным спинам в магнитном поле.

Ранние спектроскопические методы, начиная от первых исследований Р. В. Бунзена и Г. Р. Кирхгофа, выполненных в 1860-е гг., использовали только излучение в видимой области и поэтому назывались *оптическими*.

В процессе спектрального анализа получают аналитический сигнал, положение которого в регистрируемом спектре зависит от энергии, частоты излучения, длины волны или волнового числа.

Спектральные методы анализа в сочетании с методами разделения и концентрирования изучаемого вещества — интенсивно развивающаяся область инструментальных методов анализа. Они позволяют проводить экспрессное детектирование ультрамикрочастиц вещества (вплоть до одиночных атомов и молекул).

8.2. Излучение и его взаимодействие с веществом

Многие свойства электромагнитного излучения описываются представлениями об электромагнитной волне. *Электромагнитная волна* — это электромагнитное колебание, распространяющееся в пространстве с конечной скоростью. *Электромагнитные колебания* — это взаимосвязанные колебания электрического и магнитного полей, составляющих единое электромагнитное поле.

Волна характеризуется определенной скоростью распространения ν , амплитудой A , частотой ν , фазой φ . Направление распространения электромагнитной волны и направление осцилляций электрического и магнитного полей в ней перпендикулярны друг другу.

Уравнение для электрической составляющей, вносящей доминирующий вклад во взаимодействие с веществом, может быть записано в виде

$$E = A \cos(2\pi \nu t + \varphi), \quad (8.1)$$

где E — напряженность электрического поля, В · м⁻¹; A — амплитуда колебаний электрического поля, В · м⁻¹; ν — частота колебаний источника излучения (остается постоянной вне зависимости от среды, через которую проходит

излучение), с^{-1} (Гц); t — время, с; φ — фазовая постоянная (или фаза колебания).

Часто значение φ нас не интересует, и мы можем «перевести часы» так, чтобы $\varphi = 0$. Величину, обратную частоте, называют *периодом колебаний* T :

$$T = \nu^{-1}. \quad (8.2)$$

В отличие от других волновых процессов, например звуковой волны, электромагнитная волна не требует материальной среды для своего распространения и может распространяться в вакууме. Однако скорость распространения волны ν зависит от природы среды. Скорость ν , частота ν и длина волны λ связаны соотношением

$$\nu = \lambda \nu. \quad (8.3)$$

В вакууме скорость распространения волны $\nu = c = 2,9979 \cdot 10^8 \text{ м} \cdot \text{с}^{-1} \approx 3 \cdot 10^8 \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$. Чуть меньше скорость волны в воздухе: при прохождении электромагнитной волны в среде $\nu < c$, так как световая волна взаимодействует со средой, в которой она распространяется.

Поскольку частота $\nu = \text{const}$ (определяется источником света), из соотношения (8.3) видно, что длина волны λ уменьшается при переходе из вакуума в среду. Например, при переходе из вакуума в стекло длина волны изменяется почти на 30 %. Таким образом, если в вакууме (или воздухе) длина волны была равна 500 нм и соответствовала зеленой линии спектра, то в стекле она уменьшится приблизительно до 330 нм и будет находиться уже в УФ области. Увидеть такое изменение глазом, конечно, невозможно, ведь среда предполагается однородной, а при обратном переходе волны из среды в вакуум (или воздух) длина волны восстанавливается.

В спектроскопических методах довольно часто для представления спектров вместо длины волны или частоты используют величину, обратную длине волны λ , — *волновое число* $\bar{\nu}$ (м^{-1}):

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}. \quad (8.4)$$

Волновое число* — это число волн в единице длины, например в 1 м. Наиболее часто понятие волнового числа используют в ИК-спектроскопии и спектроскопии комбинационного рассеяния.

*Энергия волны*** E связана с частотой *формулой Планка*:

$$E = h\nu, \quad (8.5)$$

где $h = 6,6262 \cdot 10^{-34} \approx 6,63 \cdot 10^{-34} \text{ Дж} \cdot \text{с}$ — постоянная Планка.

Из соотношения (8.3) следует: в вакууме частота колебаний $\nu = c/\lambda$. Поэтому энергия фотона с частотой ν пропорциональна не только частоте, но и волновому числу $\bar{\nu}$:

$$E = h\nu = h \frac{c}{\lambda} = hc\bar{\nu}. \quad (8.6)$$

* Не путайте волновое число $\bar{\nu}$ (м^{-1}) с частотой ν (с^{-1} ; Гц)!

** Не путайте энергию волны E (Дж) с напряженностью электрического поля E ($\text{В} \cdot \text{м}^{-1}$)!

Мощность излучения P (Вт) определяется энергией излучения, которое попадает на данную площадь в единицу времени:

$$P = \frac{E}{t}, \text{ точнее } P = \frac{dE}{dt}. \quad (8.7)$$

Интенсивность излучения I (Вт · ср⁻¹) определяется мощностью, отнесенной к телесному углу* Ω , в котором распространяется излучение:

$$I = \frac{P}{\Omega} = \frac{E}{\Omega t}, \quad (8.8)$$

точнее

$$I = \frac{dP}{d\Omega}.$$

Мощность и интенсивность излучения пропорциональны квадрату амплитуды A световой волны:

$$P \propto A^2; I \propto A^2. \quad (8.9)$$

Часто понятия мощности и интенсивности используют как синонимы, хотя это не корректно.

Показатель преломления n (или *индекс рефракции* среды) показывает, во сколько раз световая волна движется быстрее в вакууме, чем в данной среде:

$$n = c/v \geq 1. \quad (8.10)$$

Показатель преломления является безразмерной величиной. Например, скорость распространения световой волны в воде $v \approx 2,26 \cdot 10^8$ м · с⁻¹ и показатель преломления воды $n \approx 1,33$. На измерении показателя преломления основан метод *рефрактометрии*.

Рассмотрим подробнее, какую информацию о свойствах анализируемого вещества можно получить, исследуя электромагнитное излучение и обратный излучению процесс поглощения электромагнитного излучения веществом. Количественными характеристиками этих процессов являются спектры испускания и спектры поглощения исследуемых веществ.

Спектром испускания тела называют распределение интенсивности излучения тела по частотам этого излучения, *спектром поглощения* — распределение по частотам интенсивности поглощаемого излучения. Вид спектров испускания и спектров поглощения тел зависит от многих факторов. Так, спектр испускания определяется составом излучающего вещества, его агрегатным состоянием, температурой, концентрацией. Спектр поглощения зависит от состава и концентрации исследуемого вещества, его агрегатного состояния и температуры, толщины поглощающего слоя.

При изучении спектров испускания и спектров поглощения была обнаружена неожиданная закономерность. Оказалось, что атомные спектры — *линейчатые* (или *дискретные*): распределение интенсивности по частоте $I(\nu)$ как испускаемого, так и поглощаемого излучения представляет собой набор пиков высокой интенсивности, между которыми находятся пики с малой интенсивностью. Эти пики называют *спектральными линиями*. Часто используют термин «расположение спектральных линий в спектре». Расположение линий определяется частотой, которой соответствует данный пик в спектре.

* Размерность телесного угла в Международной системе единиц (СИ) — стерадиан (ср).

Линейчатые спектры имеют следующие свойства:

1) для одного и того же химического элемента расположение спектральных линий одинаково для спектров испускания и спектров поглощения и не зависит от температуры;

2) относительная интенсивность различных линий зависит от температуры, а для спектров поглощения также от спектрального состава поглощаемого излучения;

3) расположение спектральных линий в спектрах разных элементов различно;

4) положение спектральных линий изменяется при соединении атомов в молекулы;

5) переход вещества в конденсированное состояние сопровождается превращением линейчатых спектров в непрерывные.

Спектры испускания и спектры поглощения каждого химического элемента имеют очень много линий, в расположении которых, на первый взгляд, не видно никакого порядка. Однако в результате многочисленных наблюдений удалось установить, что частоты всех линий спектра испускания или спектра поглощения простейшего из атомов — атома водорода — описываются *формулой Бальмера*:

$$\nu = R \left(\frac{1}{n_1^2} - \frac{1}{n_2^2} \right), \quad (8.11)$$

где ν — частота излучения; $R = me^4/(8\epsilon_0^2 h^3) \approx 3,2921 \cdot 10^{15} \text{ с}^{-1}$ — постоянная Ридберга (m , e — соответственно масса и заряд электрона; ϵ_0 — диэлектрическая постоянная вакуума); n_1 , n_2 — целые числа ($n_1 = 1, 2, 3, \dots$; $n_2 = n_1 + 1, n_1 + 2, n_1 + 3, \dots$).

Если $n_1 = 1$ (минимальное значение n_1 , соответствующее минимальной возможной энергии электрона в атоме водорода), то обозначив $n_2 = n = 2, 3, 4, \dots$, получим

$$\nu = \nu_n = R \left(1 - \frac{1}{n^2} \right). \quad (8.12)$$

Тогда формулу (8.11) можно представить в виде

$$\nu = \nu_{n_2, n_1} \equiv \nu_{n_2} - \nu_{n_1}, \quad (8.13)$$

т. е. каждую спектральную частоту атома водорода можно представить как разность двух частот из набора ν_n , соответствующего формуле (8.12).

Дальнейшие исследования показали, что соотношение типа (8.11) справедливо для спектров любых атомов. Для спектра испускания или поглощения любого атома можно подобрать такой набор частот ν_1, ν_2 , что частота каждой спектральной линии оказывается равной разности двух частот из этого набора. В этом заключается комбинационный *принцип Ритца*. Частоты $\nu_1, \nu_2, \dots$ называют *спектральными термами* (иногда спектральными термами называют соответствующие волновые числа $\bar{\nu}_1, \bar{\nu}_2, \dots$).

Из принципа Ритца следуют простые связи между наблюдаемыми спектральными частотами, например:

$$\nu_{31} \equiv \nu_3 - \nu_1 \equiv (\nu_3 - \nu_2) + (\nu_2 - \nu_1) = \nu_{32} + \nu_{21}. \quad (8.14)$$

Эти связи имели место во всех изученных атомных спектрах.

Происхождение принципа Ритца было непонятно и находилось в противоречии с классической физикой. Согласно классическим представлениям вращающиеся вокруг ядра электроны должны излучать на всех частотах, т.е. испускать электромагнитные волны с непрерывным, а не дискретным спектральным составом. Объяснил физическую суть принципа Ритца в 1913 г. Н. Бор, объединив представления о квантах электромагнитного излучения с энергетическим спектром атома.

Энергетическим спектром физической системы называют совокупность всех возможных значений энергии, которую может иметь система. Если спектр дискретен, то каждое значение энергии в нем называют *энергетическим уровнем*, или просто уровнем системы. Низший уровень называют *основным*, а все остальные — *возбужденными*.

Н. Бор связал с каждым спектральным термом ν_n энергию E_n , воспользовавшись формулой Планка (8.5):

$$E_n = h\nu_n = \frac{h}{2\pi} \omega_n \equiv \hbar\omega_n, \quad (8.15)$$

где $\omega_n = 2\pi\nu_n$ — угловая частота.

Он предположил, что энергетический спектр атома состоит только из этих значений энергии: атом возбуждается только скачкообразно, причем любое допустимое значение энергии возбуждения пропорционально разности двух спектральных термов атома с коэффициентом пропорциональности, равным постоянной Планка.

С принятием идеи Бора и факта существования квантов излучения (*фотонов*) принцип Ритца, сформулированный как результат обобщения опытных данных о спектрах испускания и поглощения атомов, становится простым следствием закона сохранения энергии.

Действительно, умножив соотношение (8.13) на постоянную Планка h , заменив в левой части $E_n = h\nu_n$ и обозначив $n = n_2$, $m = n_1$, получим *формулу Бора* для квантов энергии испускания или поглощения атома:

$$E_n - E_m = h\nu_n - h\nu_m, \quad (8.16)$$

т.е. при переходе с уровня E_n на уровень $E_m < E_n$ атом испускает фотон с частотой ν . При обратном переходе атом поглощает фотон.

Формула (8.16) содержит два фундаментальных утверждения:

- 1) энергетический спектр атома дискретен;
- 2) частоты атомного излучения связаны с атомными энергетическими уровнями.

На рис. 8.1 приведена энергетическая диаграмма в ИК, видимой и УФ областях.

Энергетические уровни изображают горизонтальными линиями (см. рис. 8.1). Расстояние между любыми двумя линиями пропорционально энергии возбуждения. Стрелками показаны возможные направления энергетических переходов, соответствующие возбуждению. Обратное направление стрелки будет соответствовать испусканию кванта электромагнитного излучения. Значения энергии E_0 , E_1 , E_2 соответствуют основному и возбужденным электронным

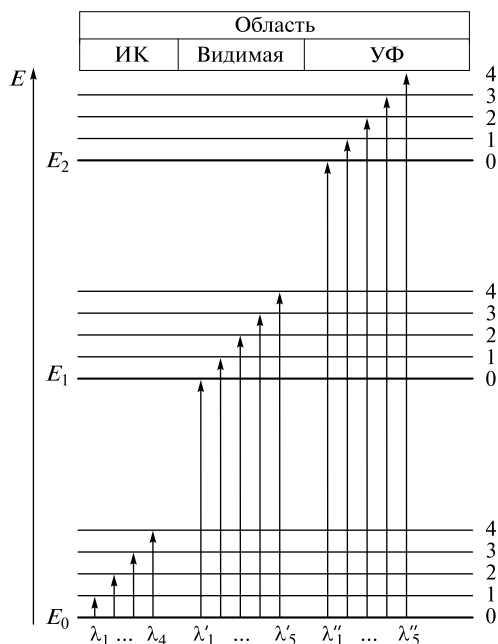


Рис. 8.1. Энергетическая диаграмма

уровням. Уровни, обозначенные цифрами 0, 1, 2, 3, 4, отвечают колебательным уровням энергии; $\lambda_1 - \lambda_4$ — длины волн переходов между колебательными уровнями основного электронного состояния; $\lambda'_1 - \lambda'_5$ — длины волн переходов из основного электронного уровня и нулевого колебательного уровня на первое возбужденное электронное состояние E_1 и его последовательно возбужденные колебательные состояния; $\lambda''_1 - \lambda''_5$ — длины волн переходов из основного электронного уровня и нулевого колебательного уровня на второе возбужденное электронное состояние E_2 и его последовательно возбужденные колебательные состояния. В ИК, видимой и УФ областях наблюдаются переходы между колебательными и электронными (электронно-колебательными) состояниями.

Дискретный спектр возникает только в пространственно ограниченной системе. Спектр электрона, покинувшего атом, становится непрерывным: для свободного электрона возможны любые значения энергии. После отрыва электрона изменяется также спектр образовавшегося из атома положительно заряженного иона по сравнению со спектром нейтрального атома данного элемента.

Если атомы могут взаимодействовать и образуют, скажем, двухатомную молекулу, то в этой пространственно ограниченной системе появляются два дополнительных вида движений. Это — колебания ядер и вращение молекулы. Электронное состояние молекулы также изменяется по сравнению с электронным состоянием каждого из отдельных атомов, ее образующих.

Полную внутреннюю энергию E такой молекулярной системы можно представить в виде суммы энергий трех видов движения — электронного $E_{эл}$, колебательного $E_{кол}$ и вращательного $E_{вр}$:

$$E = E_{\text{эл}} + E_{\text{кол}} + E_{\text{вр}}. \quad (8.17)$$

Это приближенное разделение внутренней энергии возможно вследствие того, что энергии различных типов значительно отличаются, примерно на два порядка:

$$E_{\text{эл}} : E_{\text{кол}} : E_{\text{вр}} \approx 10^4 : 10^2 : 1. \quad (8.18)$$

Таким образом, после образования молекулы возникают еще два вида дискретных спектров — *колебательный* и *вращательный*. Энергия колебательных переходов, обусловленная движением ядер молекулы в эффективном потенциале, создаваемом электронной подсистемой, значительно меньше энергии переходов между электронными уровнями. Такие переходы соответствуют ИК области спектра. В свою очередь энергии вращательных переходов лежат в микроволновой области.

Приближенное разделение энергии молекулы на электронную, колебательную и вращательную составляющие называют *приближением Борна — Оппенгеймера*, по имени исследователей, которые ввели такое разделение энергии в 1927 г. для описания спектров двухатомных молекул.

8.3. Приборы для спектрального анализа

Большинство спектральных аналитических приборов содержат пять основных блоков, изображенных на рис. 8.2. Блоки 3—5 спектральных приборов подобны для различных методов спектрального анализа. Внешний источник излучения с определенной длиной волны используют для измерения спектров поглощения или люминесценции. При измерении спектра поглощения луч от источника проходит через образец в селектор длины волны. Спектр люминесцентного излучения измеряют обычно под углом 90° относительно возбуждающего пучка.

Для получения эмиссионных спектров не нужен внешний возбуждающий источник излучения: образец сам является эмиттером излучения. В эмиссионной спектроскопии образец подвергается действию электрической дуги, искрового разряда, высокочастотного индукционного разряда или пламени, которое переводит образец в состояние низкотемпературной плазмы. Таким образом, источник одновременно содержит образец и возбуждает эмиссию его характеристического излучения.

Прозрачность оптических материалов. Кюветы, окна для ввода излучения, линзы, светофильтры и другие оптические элементы спектральных приборов должны быть прозрачны в нужной области длин волн, для чего используют специальные оптические материалы. Так, силикатное стекло прозрачно в видимой области спектра. Однако для измерения в УФ области излучения требуются оптические элементы, изготовленные, например, из плавленого кварца или фторида лития. Для ИК диапазона оптические элементы изготавливают из галогенидов NaCl, AgCl, KBr и некоторых других специальных материалов.

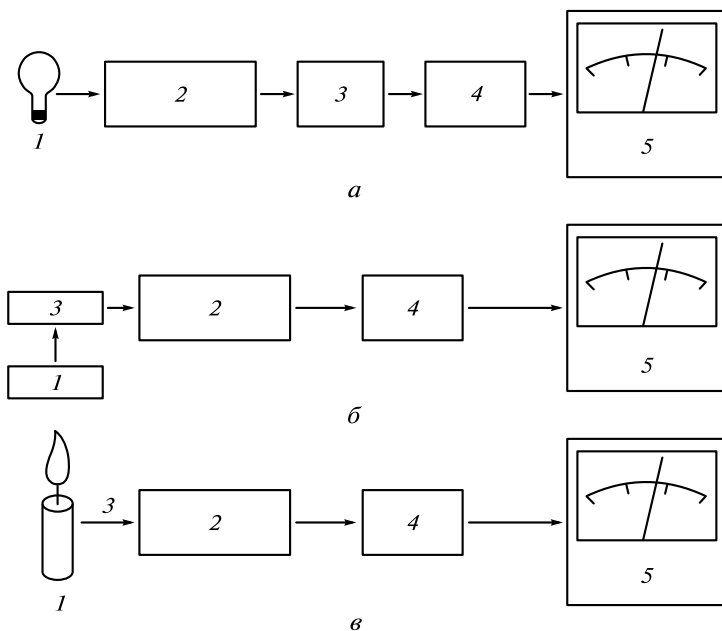


Рис. 8.2. Основные блоки приборов для спектроскопии поглощения (а), люминесцентной спектроскопии и рефрактометрии (б) и эмиссионной спектроскопии (в):

1 — стабильный источник излучения; 2 — система выделения необходимой длины волны (монохроматор, фильтр); 3 — образец вещества в кювете; 4 — детектор излучения, преобразующий энергию излучения в измеряемый сигнал (обычно электрический); 5 — процессор, обрабатывающий сигнал (осциллограф, числовой анализатор или другое записывающее устройство)

Источники излучения. Прежде всего для облегчения измерения полезного сигнала применяют источники значительной мощности. С этой целью во многих современных приборах используют лазеры, дающие стабильное и монохроматическое излучение. Дешевле применять различные типы ламп. Некоторые из этих источников приведены в табл. 8.1.

Таблица 8.1

Источники излучения, используемые в спектральном анализе

Источник излучения	Длина волны, нм	Метод
Ксеноновые лампы	250—600	Люминесцентная спектроскопия
Противиевые, дейтериевые лампы	160—380	Спектроскопия в УФ области
Система W/I ₂	240—2 500	Спектроскопия в УФ, видимой и ИК области
Вольфрам	350—2 200	Спектроскопия в видимой и ИК области
Система Ni/Cr	750—20 000	ИК-спектроскопия
Глобар (globar)	1 200—40 000	ИК-спектроскопия

Для выделения нужных длин волн используют светофильтры, монохроматоры, дифракционные решетки. Монохроматоры и дифракционные решетки улучшают разрешающую способность $\mathfrak{X}$ спектральных приборов:

$$\mathfrak{X} = \frac{\lambda}{\Delta\lambda}, \quad (8.19)$$

где λ — длина волны внешнего источника излучения; $\Delta\lambda$ — полуширина линии.

Это иллюстрирует рис. 8.3, где представлена функция распределения мощности (или интенсивности) излучения на выходе из монохроматора по длинам волн при равномерном освещении входной щели монохроматическим излучением (так называемая «аппаратная функция»).

Детекторы излучения. Для детектирования излучения обычно используют фотоумножители, фотодиодные кремниевые линейки, тепловые детекторы, двумерные анализаторы — приборы с зарядовой связью (или CCD-камера — Charge Coupled Device). За исключением фотоумножителей эти устройства являются многоканальными детекторами, снабженными, как правило, системой сбора и анализа информации многоканальными анализаторами. Для вы-

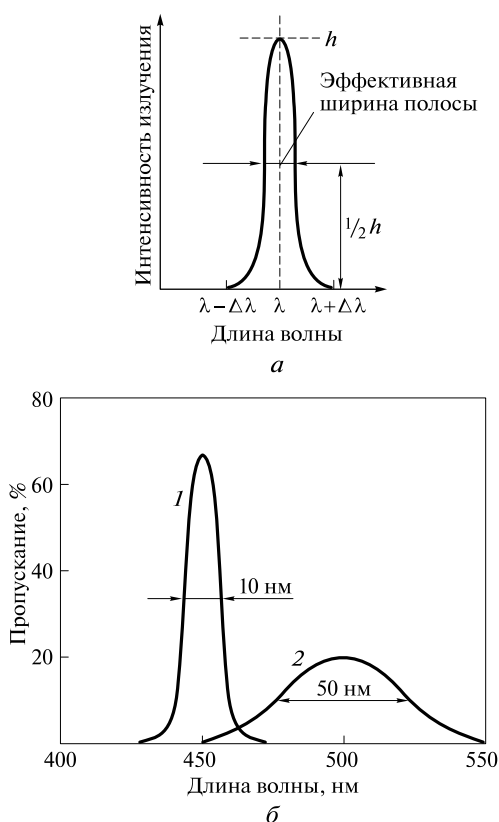


Рис. 8.3. Аппаратная функция монохроматора:

a — общий случай; b — 1 — интерференционный фильтр (эффективная ширина полосы ~ 10 нм); 2 — светофильтр (~ 50 нм)

деления полезного сигнала и его дополнительной обработки (улучшения отношения сигнал : шум) обычно применяют сопряженный с прибором компьютер.

Характеристикой качества детектируемого сигнала P_s , определяющей погрешность измерения спектра, является отношение средней амплитуды сигнала (S) к среднему значению амплитуды шума (N):

$$P_s = \frac{S}{N}. \quad (8.20)$$

Качество сигнала зависит от времени его накопления и определяет точность измерения спектра.

8.4. Атомные спектральные методы

8.4.1. Основные принципы атомного спектрального анализа

Аналитическая атомная спектроскопия охватывает совокупность методов элементного анализа, основанных на преобразовании анализируемых проб в состояние отдельных свободных атомов, концентрации которых затем измеряют спектроскопически. Можно выделить четыре основные ветви атомной спектromетрии: абсорбционная, эмиссионная, флуоресцентная и ионизационная. Первые две наиболее распространенные и универсальные.

Главные задачи аналитической атомной спектromетрии состоят в достижении наиболее низких пределов обнаружения (вплоть до единичных атомов) и наиболее широкого динамического диапазона (в пределе — от единичных атомов примесей до 100%-го содержания), уменьшении влияния состава основы, максимально полном устранении спектральных наложений, минимизации временных и трудовых затрат на пробоподготовку и переходе от многостадийных методов к прямым. Продолжаются также фундаментальные работы по созданию методов абсолютного и безэталоного анализа, чтобы избавиться от необходимости градуировки по стандартным образцам. Все большую роль играет разработка программного обеспечения, что в ряде случаев существенно облегчает задачу учета сложных составляющих фона, обеспечивает возможности цифровой обработки (усреднения) шумов и повышает точность анализа за счет использования корреляционных моделей и нейросетевых алгоритмов (см. гл. 19).

В настоящее время наибольшую популярность завоевали спектрометры на основе индуктивно связанной плазмы (ИСП) с масс-спектрометрическим или атомно-эмиссионным способом детектирования. Это связано с тем, что при концентрации электронов $\sim 10^{15} \text{ см}^{-3}$ индуктивная плазма в аргоне, разогретая до 6 000 — 10 000 К, является практически идеально линейным (т. е. мало зависящим от состава образца и обеспечивающим линейную пропорциональность между концентрацией определяемого элемента и аналитическим сигналом) атомизатором и ионизатором. Фактически любая требуемая чувствительность в подавляющем большинстве практических задач может быть обеспечена при помощи серийных коммерческих приборов, в частности ИСП-масс-спектро-

метров (ИСП-МС). В особо сложных случаях используют спектрометры высокого разрешения с двойной фокусировкой ионов.

Атомно-абсорбционные, дуговые и искровые эмиссионные спектрометры остаются более дешевой альтернативой ИСП-МС-спектрометрам и ИСП-атомно-эмиссионным (ИСП-АЭС) спектрометрам. Более того, по практическому применению лидирующее положение в течение многих десятилетий занимают атомно-абсорбционные спектрометры. В самое последнее время по распространенности к ним начинают приближаться ИСП-АЭС-спектрометры.

Производительность анализаторов достигла достаточно высокого уровня, в результате аналитик нередко способен проводить тысячи рутинных анализов в день. Основная тенденция сейчас заключается в том, чтобы меньшими ресурсами делать больше и быстрее, используя современные аналитические приборы.

Дальнейшее развитие метода ИСП-АЭС идет по пути упрощения пробоподготовки и улучшения способа введения пробы, общего удешевления, насыщения программным обеспечением для автоматизации процедуры анализа и обработки результатов, увеличения скорости (продуктивности) анализа и уменьшения габаритов аппаратуры.

Атомные спектры возникают при испускании или поглощении электромагнитного излучения свободными атомами. Эти спектры являются линейчатыми, т.е. состоят из отдельных линий, соответствующих квантовому переходу между дискретными энергетическими уровнями атома E_m и E_n :

$$\bar{\nu}_{mn} \equiv \frac{1}{\lambda} = \frac{1}{hc}(E_m - E_n) \equiv \frac{\Delta E_{mn}}{hc}, \quad (8.21)$$

где, как и ранее, знак тождества ($\equiv$) введен для обозначения равенства одинаковых величин, отличающихся лишь обозначениями.

В атомной спектроскопии величину $\Delta E_{mn}/(hc) = \bar{\nu}_{mn}$ называют *разностью термов* и часто обозначают ΔF_{mn} :

$$\bar{\nu}_{mn} = \frac{\Delta E_{mn}}{hc} = \Delta F_{mn}. \quad (8.22)$$

Атомные спектры наблюдаются в видимой, УФ и ближней ИК областях спектра. Эмиссионные спектры атомов получают при их возбуждении различными способами, например нагреванием в пламени, возбуждением в электрическом разряде, электронным ударом, действием мощного лазерного излучения, приводящим к образованию плазмы.

Атомные спектры обладают ярко выраженной индивидуальностью, обусловленной характеристичностью энергетических переходов для каждого элемента. Атом каждого элемента имеет свой спектр. Образующиеся из данного элемента при его последовательной ионизации положительно заряженные ионы также имеют свой характеристический, индивидуальный спектр. Линии в этих спектрах обозначают римскими цифрами. Так, линиям Fe, Fe⁺, Fe²⁺ в спектрах железа соответствуют обозначения FeI, FeII, FeIII.

Спектральная линия характеризуется тремя основными параметрами: положением, интенсивностью и шириной.

Положение спектральной линии определяется возможными квантовыми переходами в атоме или ионе. Из квантовой механики известно, что для

описания возможных квантовых переходов используют четыре квантовых числа:

- 1) *главное* — $n = 1, 2, 3, \dots$ (квантование энергии электрона в атоме);
- 2) *орбитальное* — $l = 0, 1, 2, \dots, n - 1$ (квантование импульса);
- 3) *магнитное* — $m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots, \pm l$ (квантование вектора момента импульса электрона во внешнем магнитном поле);
- 4) *спиновое* — $s = \pm 1/2$.

В атоме не могут находиться два электрона с четырьмя одинаковыми квантовыми числами (*принцип Паули*), т.е. на одном энергетическом уровне с одинаковыми значениями n, l, m могут быть всего лишь два электрона, но с разными значениями s . Следовательно, максимальное число электронов на энергетическом уровне с фиксированным главным квантовым числом n равно $2n^2$.

Для удобства вычислений в спектроскопии вводят также квантовое число полного углового момента электрона $j = l + s$ и суммарные числа с учетом всех электронов в атоме (суммирование проводят для всех возможных значений индекса k):

$$L = \sum l_k, \quad J = \sum j_k, \quad S = \sum s_k.$$

Оказывается, что в атомных спектрах проявляются не все возможные квантовые переходы, а лишь разрешенные так называемыми «правилами отбора»: при излучении или поглощении фотона возможны не любые изменения квантовых чисел. Правила отбора определяют наиболее вероятные энергетические переходы среди всех возможных комбинаций атомных термов. Например, в атоме с одним внешним электроном разрешенными являются переходы между такими уровнями, для которых орбитальное квантовое число l изменяется на единицу, т.е. $\Delta l = \pm 1$. Поэтому возможны переходы между s -уровнями, для которых $l = 0$, и p -уровнями ($l = 1$). Возможны также переходы между p -уровнями ($l = 1$) и d -уровнями ($l = 2$). Переходы между s - и d -уровнями или p - и f -уровнями запрещены правилами отбора, т.е. они маловероятны и интенсивность соответствующих этим переходам спектральных линий низкая.

Энергетические состояния атома обычно обозначают таким образом:

$$L = 0 (S), 1 (P), 2 (D), 3 (F), 4 (G), 5 (H), \dots$$

Использование буквы S для обозначения состояния $L = 0$ и квантового числа неудачно, однако на практике редко вызывает какие-либо затруднения. Приводя полное обозначение состояния, указывают также полный спин, но не в виде значения S . Чаще используют ряд значений M_S , который называют *спиновой мультиплетностью*. Таким образом, для состояния $S = 1$ спиновая мультиплетность $M_S = 3$, так как существует три значения M_S : 1, 0, -1. Спиновую мультиплетность, равную $(2S + 1)$, указывают в виде верхнего индекса слева от буквы, обозначающей состояние.

В качестве примера приведем обозначения для некоторых состояний:

L	4	2	0
S	$1/2$	$3/2$	1
Обозначение	${}^2G$	${}^4D$	${}^3S$

Полный угловой момент J равен сумме: $J = L + S$.

Как правило, полный угловой момент указывают в виде нижнего индекса справа от буквы, обозначающей состояние.

Состояния со спиновой мультиплетностью S имеют определенные названия:

- $S = 1$ — синглет (синглетное состояние);
- $S = 2$ — дублет (дублетное);
- $S = 3$ — триплет (триплетное);
- $S = 4$ — квартет (квартетное);
- $S = 5$ — квинтет (квинтетное) и т.д.

Пример. Требуется найти возможные состояния ${}^4D$.

Решение. Поскольку состояние обозначено ${}^4D$, значит $L = 2$. Определим полный угловой момент $J = L + S = 2 + S$. Известно, что $2S + 1 = 4$, тогда $S = 3/2$. Следовательно, $J = 2 + 3/2 = 7/2$ и полный угловой момент может принимать следующие значения: $7/2, 5/2, 3/2, 1/2$.

Таким образом, состояния ${}^4D$ описываются следующим образом:

L	2	2	2	2
M_S	$3/2$	$1/2$	$-1/2$	$-3/2$
J	$7/2$	$5/2$	$3/2$	$1/2$
${}^{2S+1}D_J$	${}^4D_{7/2}$	${}^4D_{5/2}$	${}^4D_{3/2}$	${}^4D_{1/2}$

Интенсивность спектральной линии $I(\bar{\nu})$ определяется не только вероятностью энергетического перехода, но и заселенностью уровня E_i , т.е. числом атомов или ионов с энергией E_i . Заселенность энергетического уровня N_i можно рассчитать по *формуле Больцмана*:

$$N_i = N_0 \exp\left(-\frac{E_i}{kT}\right), \quad (8.23)$$

где N_0 — общее число частиц; $k = 1,3806222 \cdot 10^{-23} \text{ Дж} \cdot \text{К}^{-1}$ — константа Больцмана; T — абсолютная температура, К.

Сумма заселенностей всех энергетических уровней равна общему числу частиц N_0 в системе. В соответствии с распределением Больцмана в основном состоянии с минимальной энергией E_0 находится наибольшее число частиц. Заселенности верхних возбужденных энергетических уровней уменьшаются с ростом энергии E_i по экспоненциальному закону.

Уровни с одинаковой энергией E_i называют *вырожденными*. Символом g_i принято обозначать *кратность вырождения* уровня (число уровней с одинаковой энергией).

Поскольку сумма заселенностей всех энергетических уровней равна общему числу частиц N_0 в системе, отношение заселенностей двух энергетических уровней, скажем E_0 и E_1 , будет определяться соотношением

$$\frac{N_1}{N_0} = \frac{g_1}{g_0} \exp\left(-\frac{E_1 - E_0}{kT}\right), \quad (8.24)$$

где g_1, g_0 — кратность вырождения уровня E_1 и E_0 соответственно.

Как видно из формулы (8.24), отношение заселенностей при данной температуре T определяется энергетическим интервалом $\Delta E = E_1 - E_0$, и с ростом температуры доля возбужденных частиц с энергией E_1 возрастает. При $T \rightarrow \infty$ имеем $N_1 \rightarrow N_0$, если $g_1 = g_0$.

Форма спектральной линии отличается от бесконечно узкой линии, которую можно было бы ожидать в соответствии с формулой Бора (8.16). Если бы энергии E_m и E_n имели строго определенные значения, то спектры соответствовали бы монохроматическому излучению (ширина линии $\Delta\lambda \rightarrow 0$). В действительности энергии E_m и E_n не строго фиксированы: из-за различных воздействий (возмущений) они в той или иной степени «размыты». Поэтому спектральная линия имеет некоторую ширину $\Delta\lambda$ (или $\delta\nu$ на шкале частот), определяемую степенью «размытости» — неопределенностью положения соответствующей пары энергетических уровней. Такое явление называют *уширением* спектральной линии. Основными причинами уширения спектральных линий являются:

- 1) естественное или радиационное уширение;
- 2) уширение за счет теплового движения (или так называемое *доплеровское уширение*);
- 3) уширение спектральных линий вследствие взаимодействия излучающего атома с частицами окружающей среды.

Естественная ширина спектральных линий связана с неопределенностью энергии стационарных состояний атома. Энергия системы E может быть известна лишь с точностью δE , связанной с временем жизни состояния τ (временем излучения фотона). Это фундаментальный закон — *принцип неопределенности Гейзенберга*. Для излучения его можно записать в виде

$$\delta E \tau \geq \frac{h}{2\pi} = \hbar. \quad (8.25)$$

Поскольку в соответствии с формулой Планка (8.5):

$$\delta E = h\Delta\nu, \quad (8.26)$$

для естественного уширения линии $\delta\nu_{nat}$ получаем

$$\delta\nu_{nat} = \frac{1}{2\pi\tau}. \quad (8.27)$$

Для видимой области спектра время излучательного перехода $\tau \sim 10^{-8}$ с. Следовательно, в шкале длин волн естественное уширение линии $\delta\lambda_{nat} \sim 10^{-5}$ нм весьма мало по сравнению с наблюдаемой шириной линий (она больше по крайней мере в 100 раз). Таким образом, уширение спектральных линий обусловлено другими причинами.

Прежде всего уширение линии обусловлено тепловым движением излучающих частиц из-за *эффекта Доплера*. Тепловое движение излучающих атомов или ионов относительно детектирующего устройства приводит к изменению частоты излучения в соответствии с эффектом Доплера на величину

$$\delta\nu_D = \frac{u}{c} \nu, \quad (8.28)$$

где $u \ll c$ — проекция скорости движения излучающего атома или иона на ось, вдоль которой ориентирован детектор.

В газе частицы движутся по всем направлениям, поэтому доплеровский сдвиг $\delta\nu_D$ для каждой из них различен. При тепловом равновесии все направления движения равновероятны и распределение скоростей частиц изотропно. Наиболее вероятная скорость частиц массой M при температуре газа T соответствует максимуму функции распределения скоростей:

$$\bar{u} = \sqrt{\frac{2kT}{M}}. \quad (8.29)$$

Поэтому доплеровское уширение спектральной линии с учетом уравнений (8.28), (8.29) равно

$$\delta\nu_D = \frac{1}{c} \sqrt{\frac{2kT}{M}} v \approx 7,16 \cdot 10^{-7} v \sqrt{\frac{T}{M}}. \quad (8.30)$$

Доплеровское уширение является серьезным препятствием для измерения спектральных характеристик близко расположенных оптических переходов.

Пример. Рассмотрим спектр атома натрия, имеющего электронную конфигурацию $1s^2 2s^2 2p^6 3s^1$ с легко возбуждаемым внешним электроном $3s$. Переходу этого электрона из состояния $3s$ в состояние $3p$ соответствует желтая линия — дублет с $\lambda = 589$ нм (переход $3^2S_{1/2} \rightarrow 3^2P_{3/2}$) и дублет с $\lambda = 589,6$ нм (переход $3^2S_{1/2} \rightarrow 3^2P_{1/2}$). Линии имеют дублетную структуру за счет сверхтонкого расщепления основного состояния на $\sim 0,002$ нм. Это наиболее яркие линии, с которых начинается главная серия в спектре атома натрия (рис. 8.4). Доплеровское уширение резонансных линий превышает расщепление, равное $0,002$ нм, для каждой из линий дублета уже при температуре $T > 500$ К:

$$\delta\nu_D = 7,16 \cdot 10^{-7} \cdot 589 \sqrt{\frac{500}{22,99}} \approx 2 \cdot 10^{-3} \text{ нм.}$$

При повышении плотности газа, состоящего из излучающих атомов, ионов и молекул, уже невозможно пренебречь их взаимодействиями. На атомы воздействуют поля окружающих атомов, молекул, электронов и ионов. Вследствие столкновений излучающего атома с другими нейтральными и заряженными частицами в разряде время жизни атома τ в возбужденном состоянии сокращается. Это ведет к дополнительному уширению линии, так как ширина линии обратно пропорциональна времени жизни атома в возбужденном состоянии в соответствии с уравнением (8.27).

Лоренцевское уширение линии $\delta\lambda_L$ обусловлено столкновениями излучающего атома с другими нейтральными или заряженными частицами среды. Его можно определить из уравнения (8.27), приравняв время жизни атома τ среднему времени $\tau_{\text{ст}}$ между столкновениями частиц (среднему времени свободного пробега частиц).

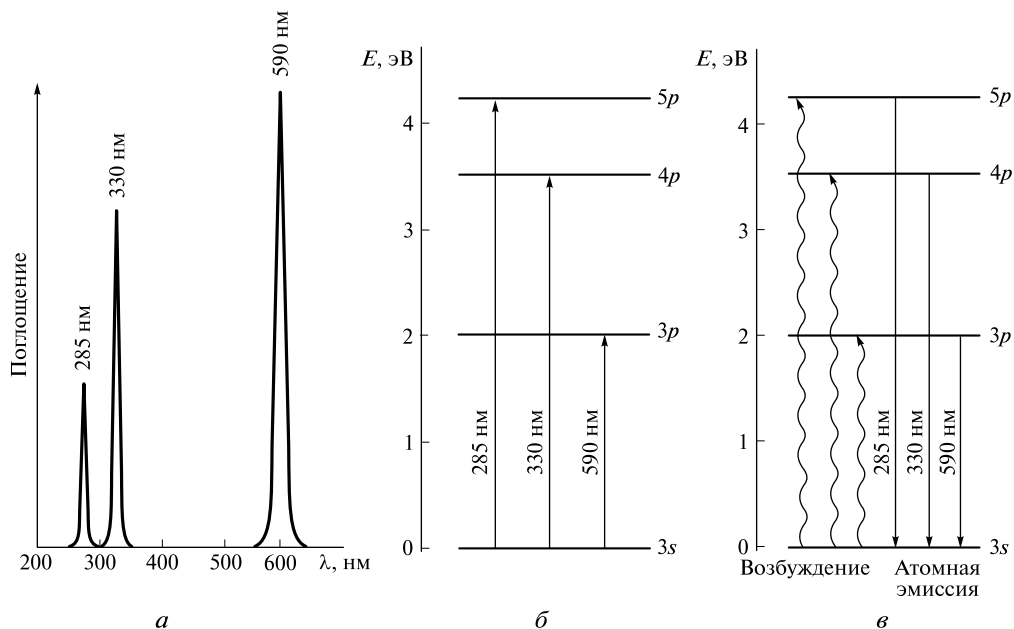


Рис. 8.4. Происхождение трех эмиссионных линий в спектре натрия (*а*); часть спектра поглощения паров натрия (*б*); электронные переходы (*в*), соответствующие линиям в части (*б*) спектра (возбуждение происходит в пламени или под действием электрического разряда)

В соответствии с газокинетической теорией средняя относительная скорость $\bar{v}$ сталкивающихся частиц определяется их температурой и массой:

$$\bar{v} = \sqrt{\frac{8RT}{\pi\mu}}, \quad (8.31)$$

где μ — приведенная масса сталкивающихся частиц массой M_1 и M_2 :

$$\mu = \frac{M_1 M_2}{M_1 + M_2}. \quad (8.32)$$

Средняя длина свободного (без столкновений) пробега $\bar{L}$ определяется суммой радиусов сталкивающихся частиц ρ_0 и концентрацией частиц n_a в единице объема:

$$\bar{L} = \frac{1}{\sqrt{2}\pi\rho_0^2 n_a}. \quad (8.33)$$

Таким образом, среднее время свободного пробега частиц составляет

$$\tau_{\text{ст}} = \frac{\bar{L}}{\bar{v}} = \frac{1}{\sqrt{2}S n_a \bar{v}} = \frac{1}{\sqrt{2}\pi\rho_0^2 n_a \bar{v}} = \frac{1}{4\rho_0^2 n_a} \sqrt{\frac{\mu}{\pi RT}}, \quad (8.34)$$

где $S = \pi\rho_0^2$ — эффективная площадь (сечение) столкновений.

Используя уравнение (8.27), найдем лоренцевское уширение линии:

$$\delta\nu_L = \frac{1}{2\pi\tau_{\text{ст}}} = 2\rho_0^2 n_a \sqrt{\frac{RT}{\pi\mu}}. \quad (8.35)$$

Из соотношения (8.35) видно, что увеличение температуры приводит к дополнительному (кроме доплеровского) уширению линий. Однако в отличие от доплеровского уширения, которое не зависит от концентрации частиц (давления), лоренцевское уширение прямо пропорционально концентрации частиц n_a в единице объема.

Можно показать, что лоренцевское уширение (его также называют ударным уширением) прямо пропорционально давлению газа p :

$$p = n_a RT. \quad (8.36)$$

Подставляя выражение n_a из (8.36) в уравнение (8.35), получим лоренцевское уширение линий:

$$\delta\nu_L = 2\rho_0^2 \frac{p}{RT} \sqrt{\frac{RT}{\pi\mu}} \approx 1,33 \cdot 10^{21} \rho_0^2 \frac{p}{\sqrt{\mu T}}, \quad (8.37)$$

где p — давление излучающего газа, Па.

Пример. При давлении $p = 1 \cdot 10^2$ Па, температуре $T = 1\,000$ К, $\mu = 30$, $\rho_0 = 5 \cdot 10^{-10}$ м лоренцевское уширение линии составляет $\delta\lambda_L \sim 10^{-6}$ нм, т.е. на порядок меньше естественного уширения линии. При давлении $p = 1$ атм имеем $\delta\lambda_L \sim 10^{-3}$ нм, т.е. лоренцевское уширение сравнимо с доплеровским уширением уже при средних температурах.

Экспериментально наблюдаемая ширина линии $\delta\nu_\Sigma$ приблизительно равна сумме рассмотренных выше вкладов, а также разных инструментальных факторов, совокупность которых обозначим $\delta\nu_{\text{inst}}$:

$$\delta\nu_\Sigma \approx \delta\nu_{\text{nat}} + \delta\nu_D + \delta\nu_L + \delta\nu_{\text{inst}}. \quad (8.38)$$

Влияние этих факторов неодинаково в различных методах анализа. Понимание причин уширения спектральных линий необходимо для выбора оптимальных условий измерения аналитического сигнала и идентификации спектров.

Большую ценность для спектрометрических целей представляет чрезвычайно узкая спектральная ширина линии излучения диодных лазеров (обычно $\sim 10^{-5}$ нм). Лазерное излучение можно сканировать по всем длинам волн линии поглощения. Тем самым определяют фоновое неселективное поглощение на обоих краях линии поглощения, т.е. отпадает необходимость градуировки по опорному лучу. Регистрировать сигнал можно непосредственно фотодиодом без использования дисперсионных оптических приборов (монокроматоров, спектрометров), при этом высокая разрешающая способность определяется узостью спектральной линии лазера. Кроме того, спектральное разрешение диодных лазеров достаточно для прямой селекции изотопов легких (Li) и тяжелых (U) элементов.

8.4.2. Атомно-эмиссионная спектроскопия

8.4.2.1. Основные понятия

Атомно-эмиссионная спектроскопия (АЭС) — метод элементного анализа, основанный на изучении спектров испускания свободных атомов и ионов в газовой фазе в области длин волн 150—800 нм. Пробу исследуемого вещества вводят в источник излучения, где происходит испарение пробы, диссоциация молекул и возбуждение образовавшихся атомов (ионов). Последние испускают характеристическое излучение, которое поступает в регистрирующее устройство спектрального прибора.

При качественном анализе методом АЭС спектры проб сравнивают со спектрами известных элементов, приведенными в соответствующих атласах и таблицах спектральных линий, и таким образом устанавливают элементный состав анализируемого вещества.

При количественном анализе определяют количество (концентрацию) искомого элемента в анализируемом веществе по зависимости аналитического сигнала искомого элемента от его содержания в пробе. Эта зависимость сложным образом определяется многими трудно контролируруемыми факторами (например, составом проб, их структурой, дисперсностью, параметрами источника возбуждения спектров, нестабильностью регистрирующих устройств). Поэтому, как правило, для ее установления используют набор образцов для градуировки, которые по составу и структуре как можно более близки к анализируемому веществу и содержат известные количества определяемых элементов. Такими образцами могут служить специально приготовленные металлические сплавы, смеси веществ, растворы, в том числе и стандартные образцы, выпускаемые промышленно.

Для устранения влияния на результаты анализа неизбежного различия свойств анализируемого и стандартных образцов используют разные приемы. Например, сравнивают спектральные линии определяемого элемента и так называемого элемента сравнения, близкого по химическим и физическим свойствам к определяемому. При анализе однотипных материалов можно применять одни и те же градуировочные зависимости, которые периодически корректируют по поверочным образцам.

Чувствительность и точность анализа методом АЭС зависят главным образом от физических характеристик источников излучения (возбуждения спектров) — температуры, концентрации электронов, времени пребывания атомов в зоне возбуждения спектров, стабильности режима источника. Для решения конкретной аналитической задачи необходимо выбрать подходящий источник излучения, добиться оптимизации его характеристик с помощью различных приемов: использования инертной атмосферы, наложения магнитного поля, введения специальных веществ, стабилизирующих температуру разряда, степень ионизации атомов, диффузионные процессы на оптимальном уровне. Ввиду многообразия взаимно влияющих факторов при этом часто используют методы математического планирования экспериментов.

При анализе твердых веществ наиболее часто применяют дуговые (постоянного и переменного тока) и искровые разряды, питаемые от специально сконструированных стабилизирующих генераторов (часто с электронным уп-

равлением). Созданы также универсальные генераторы, с помощью которых получают разряды разных типов с переменными параметрами, влияющими на эффективность процессов возбуждения исследуемых образцов. Твердая электропроводящая проба непосредственно может служить электродом дуги или искры; не проводящие ток твердые пробы и порошки помещают в углубления угольных электродов той или иной конфигурации. В этом случае осуществляют как полное испарение (распыление) анализируемого вещества, так и фракционное испарение последнего и возбуждение компонентов пробы в соответствии с их физическими и химическими свойствами, что позволяет повысить чувствительность и точность анализа. Для усиления эффекта фракционирования испарения широко применяют добавки к анализируемому веществу реагентов, способствующих образованию в условиях высокотемпературной $((5 - 7) \cdot 10^3 \text{ K})$ угольной дуги легколетучих соединений (фторидов, хлоридов, сульфидов и др.) определяемых элементов.

Для анализа геологических проб в виде порошков широко применяют способ просыпки или вдувания проб в зону разряда угольной дуги. При анализе в металлургии наряду с искровыми разрядами разных типов используют также источники света тлеющего разряда (лампы Грима, разряд в полой катод). Разработаны комбинированные автоматизированные источники, в которых для испарения или распыления используют лампы тлеющего разряда или электротермические анализаторы, а для получения спектров, например, высокочастотные плазматроны. При этом удается оптимизировать условия испарения и возбуждения определяемых элементов.

При анализе жидких проб (растворов) наилучшие результаты получают при использовании высокочастотных (ВЧ) и сверхвысокочастотных (СВЧ) плазматронов, работающих в инертной атмосфере, а также при пламенно-фотометрическом анализе. Для стабилизации температуры плазмы разряда на оптимальном уровне вводят добавки легко ионизируемых веществ, например щелочных металлов. В зону возбуждения пробы вводят с помощью пневматических или (реже) ультразвуковых распылителей. При анализе с применением ВЧ и СВЧ плазматронов и фотометрии пламени относительное стандартное отклонение $S_r \sim 0,01 - 0,03$, что в ряде случаев позволяет применять АЭС вместо точных, но более трудоемких и продолжительных химических методов анализа. Для анализа газовых смесей необходимы специальные вакуумные установки. Спектры возбуждают с помощью ВЧ и СВЧ разрядов. В связи с развитием газовой хроматографии эти методы применяют редко.

При анализе веществ высокой чистоты, когда требуется определять элементы, содержание которых менее $10^{-5} \%$, а также при анализе токсичных и радиоактивных веществ пробы предварительно обрабатывают; например, частично или полностью отделяют определяемые элементы от основы и переводят их в раствор меньшего объема.

Для разделения компонентов пробы применяют фракционную отгонку основы (реже — примесей), адсорбцию, осаждение, экстракцию, хроматографию, ионный обмен. Метод АЭС с использованием перечисленных химических способов концентрирования пробы, как правило, называют *химико-спектральным анализом*. Дополнительные операции разделения и концентрирования определяемых элементов не только заметно повышают трудоемкость и продолжительность анализа и ухудшают его точность (относительное стан-

дартное отклонение S_r достигает $\sim 0,2—0,3$), но и снижают пределы обнаружения в $10—100$ раз.

Специфической областью применения метода АЭС является *микроспектральный (локальный) анализ*. При этом микрообъем вещества (глубина кратера $10^0—10^1$ мкм) испаряют обычно лазерным импульсом, действующим на участок поверхности образца диаметром несколько десятков микрон. Для возбуждения спектров чаще всего используют импульсный искровой разряд, синхронизованный с лазерным импульсом. Метод применяют при исследовании минералов, в металловедении (см. гл. 17).

Спектры регистрируют с помощью спектрографов и спектрометров (квантометров). Имеется много типов этих приборов, отличающихся светосилой, дисперсией, разрешающей способностью, рабочей областью спектра. Большая светосила необходима для регистрации слабых излучений, большая дисперсия — для разделения спектральных линий с близкими длинами волн при анализе веществ с многолинейчатыми спектрами, а также для повышения чувствительности анализа. В качестве устройств, диспергирующих свет, используют дифракционные решетки (плоские, вогнутые, нарезные, голографические, профилированные), имеющие от сотен до тысяч штрихов на миллиметр, значительно реже — кварцевые или стеклянные призмы. При качественном анализе методом АЭС предпочтительнее спектрографы, так как они позволяют изучать сразу весь спектр образца (в рабочей области прибора); однако их используют и для количественного анализа вследствие сравнительной дешевизны, доступности и простоты обслуживания. Использование при этом ЭВМ или микропроцессоров обеспечивает автоматический режим измерений, обработку их результатов и выдачу конечных результатов анализа.

В спектрометрах осуществляется фотоэлектрическая регистрация аналитических сигналов с помощью фотоэлектронных умножителей (ФЭУ) с автоматической обработкой данных на ЭВМ. Фотоэлектрические многоканальные полихроматоры в квантометрах позволяют одновременно регистрировать аналитические линии всех предусмотренных программой определяемых элементов. При использовании сканирующих монохроматоров многоэлементный анализ обеспечивается высокой скоростью сканирования по спектру в соответствии с заданной программой.

Для определения элементов (C, S, P, As и др.), наиболее интенсивные аналитические линии которых расположены в УФ области спектра при длинах волн менее $180—200$ нм, применяют вакуумные спектрометры. При использовании квантометров длительность анализа в значительной мере определяется процедурами подготовки исходного вещества к анализу. Существенное сокращение времени пробоподготовки достигается автоматизацией наиболее длительных этапов — растворения, приведения растворов к стандартному составу, окисления металлов, растирания и смешения порошков, отбора проб заданной массы. Во многих случаях многоэлементный анализ методом АЭС выполняется в течение нескольких минут, например при анализе растворов с использованием автоматизированных фотоэлектрических спектрометров с ВЧ плазматронами или при анализе металлов в процессе плавки с автоматической подачей проб в источник излучения.

В черной и цветной металлургии распространены экспрессные полуколичественные (относительное стандартное отклонение $S_r \approx 0,3—0,5$ и более)

методики определения содержания основных или наиболее характерных компонентов сплавов, например при их маркировке, сортировке металлолома для его утилизации. Для этого применяют простые, компактные и дешевые визуальные и фотоэлектрические приборы (стилоскопы и стилометры) в сочетании с искровыми генераторами. Диапазон определяемых содержаний элементов — от десятых долей процента до десятков процентов.

Метод АЭС применяют в научных исследованиях. С помощью этого метода были открыты некоторые химические элементы, исследованы археологические объекты, установлен состав небесных тел.

Метод АЭС широко применяют для контроля технологических процессов, в частности для установления состава исходного сырья и готовых продуктов, исследования объектов окружающей среды. С помощью метода АЭС можно определять практически все элементы Периодической системы в весьма широком диапазоне содержаний — от 10^{-7} до $10^1\%$. Достоинства метода АЭС — возможность одновременного определения в малой навеске вещества большого числа (40 и более) элементов с достаточно высокой точностью, универсальность методических приемов при анализе различных веществ, экспрессность, сравнительная простота, доступность и дешевизна аппаратуры. Высокий уровень автоматизации метода АЭС позволяет включать его в автоматизированные системы аналитического контроля и управления технологическими процессами.

8.4.2.2. Элементы теории и разновидности метода АЭС

При температуре 25°C почти все атомы в образце, состоящем из любых известных химических элементов, находятся в основном электронном состоянии. Например, единственный внешний электрон атома натрия занимает $3s$ -орбиталь. Для возбуждения этого электрона на более высокие уровни требуется значительная энергия, которая может быть обеспечена, например, при нагревании образца в пламени, электрической дуге или электрической искре. Время жизни возбужденного состояния мало, и атом возвращается в основное состояние в течение $\sim 10^{-8}$ с, испуская фотон характеристического излучения.

Рисунок 8.4 иллюстрирует некоторые из наиболее интенсивных резонансных переходов между энергетическими уровнями атома натрия и соответствующие им спектральные полосы. Наиболее интенсивными при обычных условиях возбуждения атома натрия являются две линии с максимумами при $\lambda_1 = 589,0$ нм и $\lambda_2 = 589,6$ нм. Именно эти линии используют в аналитических целях. Существенно меньше интенсивность линии $\lambda_3 = 570,0$ нм. Фактически это неразрешенный дублет, соответствующий двум энергетическим переходам $4d \rightarrow 3p$. Спектральные линии, полученные методом АЭС, достаточно узкие. Рассмотренные выше эффекты уширения обычно обуславливают ширину линии $\delta\lambda \sim (2-5) \cdot 10^{-3}$ нм.

Интенсивность спектральных линий определяется заселенностью возбужденного состояния N^* в ансамбле атомов анализируемого вещества. Величину N^* можно найти, используя распределение Больцмана (8.23):

$$N^* = N_0 \frac{g^*}{g_0} \exp\left(-\frac{E^* - E_0}{kT}\right) = N_0 \frac{g^*}{g_0} \exp\left(-\frac{T^*}{T}\right), \quad (8.39)$$

где N_0 — число атомов в основном состоянии; g^* , g_0 — степень вырождения возбужденного и основного состояния соответственно; E^* , E_0 — энергия возбужденного и основного состояния соответственно; k — постоянная Больцмана; $T^* = (E^* - E_0)/k = \Delta E/k$ — параметр, который определяет длину волны или частоту излученного или поглощенного фотона.

Доля возбужденных состояний N^* определяется превышением энергии возбужденного состояния над основным, т. е. разностью $(E^* - E_0)$ и температурой T частиц. Как следует из уравнения (8.39), при увеличении температуры доля возбужденных частиц возрастает.

Пример. Требуется найти отношение числа атомов натрия в возбужденном $3p$ -состоянии к числу атомов в основном состоянии при температуре $T_1 = 2\,000$ К и $T_2 = 3\,000$ К, если наблюдаемая линия в спектре, соответствующая переходу $3p \rightarrow 3s$, имеет максимум при $589,3$ нм. Те же расчеты нужно выполнить для значений $T_1 = 2\,500$ К и $T_2 = 2\,510$ К (пламя $H_2 + O_2$), а также для $T_1 = 1\,750$ К и $T_2 = 1\,850$ К (пламя — природный газ + воздух).

Решение. Разность энергий перехода $3p \rightarrow 3s$ соответствует наблюдаемой в эмиссионном спектре натрия резонансной линии $\lambda \approx 589,3$ нм. Используя формулы (8.21) и (8.39), получим

$$T^* = \frac{E^* - E_0}{k} = \frac{hc}{\lambda k} \approx \frac{6,6262 \cdot 10^{-34} \text{ Дж} \cdot \text{с} \cdot 2,9979 \cdot 10^8 \text{ м/с}}{589,3 \cdot 10^{-9} \text{ м} \cdot 1,3806 \cdot 10^{-23} \text{ Дж/К}} = 24,42 \cdot 10^3 \text{ К}.$$

Для того чтобы рассчитать заселенность возбужденного электронного состояния при температуре T по формуле (8.39), нужно определить входящие в нее статистические веса состояний (уровней энергии). Поскольку состояние $3s$ можно осуществить двумя способами, оно вырождено и кратность вырождения $g_0 = 2$. Состояние $3p$ также вырождено и для него $g^* = 6$. Используя найденный параметр T^* (соответствующий переходу $E^* \rightleftharpoons E_0$), из формулы (8.39) получим:

- при $T_1 = 2\,000$ К

$$\frac{N_1^*}{N_0} = \frac{g^*}{g_0} \exp\left(-\frac{T^*}{T}\right) = \frac{6}{2} \exp\left(-\frac{24,42 \cdot 10^3}{2 \cdot 10^3}\right) \approx 1,50 \cdot 10^{-5};$$

- при $T_2 = 3\,000$ К

$$\frac{N_2^*}{N_0} = \frac{6}{2} \exp\left(-\frac{24,42 \cdot 10^3}{3 \cdot 10^3}\right) \approx 8,76 \cdot 10^{-4};$$

$$\frac{N_2^*}{N_1^*} \approx 60.$$

Таким образом, при увеличении температуры от $2\,000$ до $3\,000$ К (в $1,5$ раза) заселенность возбужденного уровня возрастает в 60 раз (!).

Для пламени $H_2 + O_2$ получим:

- при $T_1 = 2\,500$ К

$$\frac{N_1^*}{N_0} \approx 1,72 \cdot 10^{-4};$$

- при $T_2 = 2510 \text{ K}$

$$\frac{N_2^*}{N_0} \approx 1,79 \cdot 10^{-4}.$$

При возрастании температуры от 2500 до 2510 K (всего на 10 K, т.е. 0,4 %) заселенность возбужденного уровня возрастает примерно на 4 %.

Для пламени природный газ + воздух находим:

- при $T_1 = 1750 \text{ K}$

$$\frac{N_1^*}{N_0} \approx 2,62 \cdot 10^{-6};$$

- при $T_2 = 1850 \text{ K}$

$$\frac{N_2^*}{N_0} \approx 5,56 \cdot 10^{-6};$$

$$\frac{N_2^*}{N_1^*} \approx 2,12.$$

При увеличении температуры от 1750 до 1850 K (на 100 K и менее чем на 6 %) заселенность возбужденного уровня возрастет более чем вдвое, что приведет к резкому изменению интенсивности спектральных линий.

Таким образом, если нужна не качественная оценка, а точное измерение состава образца, то в методе АЭС необходимо очень точно (с точностью порядка 0,1 %) контролировать температуру пламени. При температуре более 2000 K это очень сложная задача.

Из проведенных расчетов также видно, что доля возбужденных атомов весьма мала. Например, даже при температуре $T = 3000 \text{ K}$ доля возбужденных атомов натрия составляет лишь около 0,088 %. Именно эта доля вещества в АЭС определяет аналитический сигнал. Тем не менее доля возбужденных молекул при данной температуре взаимно однозначно связана с общим количеством анализируемого вещества, находящегося в зоне возбуждения.

Следовательно, существует и взаимно однозначное соответствие между концентрацией введенного вещества и аналитическим сигналом — интенсивностью излучения на данной частоте (длине волны, волновом числе). Поскольку интенсивность излучения на данной длине волны прямо пропорциональна числу излучающих частиц, интенсивность спектральной линии пропорциональна концентрации C определяемого элемента в пробе:

$$I(\lambda) = a(\lambda) C. \quad (8.40)$$

В соотношении (8.40) множитель $a(\lambda)$ зависит от многих условий. Его можно определить в результате серии измерений для различных концентраций данного вещества.

При увеличении концентрации исследуемого вещества в паре (плазме) могут происходить физико-химические процессы, приводящие к отклонениям от прямо пропорциональной зависимости интенсивности аналитического сигнала от концентрации. Например, это может быть неполное испарение пробы анализируемого вещества или поглощение части излучения возбужденных атомов невозбужденными атомами того же элемента (самопоглощение).

Кроме возбуждения может происходить ионизация атомов определяемого элемента, приводящая к уменьшению доли возбужденных атомов и к снижению интенсивности излучения. Возможны также различные химические взаимодействия частиц в объеме анализируемого вещества. Например, образуются термически устойчивые оксиды таких металлов, как магний, цинк, хром и др.

Для учета влияния этих процессов используют эмпирические соотношения с дополнительными параметрами. Одно из таких удобных эмпирических соотношений — двухпараметрическое *уравнение Ломакина—Шайбе*:

$$I(\lambda) = a(\lambda) C^{b(C)}, \quad (8.41)$$

где параметр $b(C)$ зависит от концентрации C .

Однако при работе в узком диапазоне концентраций параметр $b(C)$ можно считать практически постоянным. Тогда зависимость логарифма интенсивности от концентрации является линейной функцией:

$$\lg I(\lambda) = \lg a(\lambda) + b \lg C. \quad (8.42)$$

Для проведения анализа методом АЭС проба исследуемого образца должна быть атомизирована, т.е. приведена в состояние плазмы, состоящей из свободных атомов, ионов и электронов. Существует несколько способов атомизации, по которым обычно классифицируют различные варианты метода АЭС.

Наиболее распространенным среди них является *метод эмиссионной фотометрии пламени*. В этом методе анализируемую пробу в виде раствора с помощью форсунки распыляют в окислительную, наиболее высокотемпературную зону пламени. Температура и состав этой зоны пламени зависят от соотношения горючего газа и окислителя в напускаемой смеси. Например, температура пламени в зависимости от состава горючей смеси изменяется от ~ 1 700 К (природный газ + воздух) до ~ 3 200 К (ацетилен C_2H_2 + оксид азота(I) N_2O). При таких температурах, как видно из приведенного выше примера, возможен анализ элементов с относительно небольшими энергиями перехода из основного в возбужденное состояние. К числу этих элементов относятся щелочные металлы, щелочноземельные металлы (Ca, Sr, Ba), железо, никель. Для них эмиссионная фотометрия пламени — один из самых чувствительных методов: предел обнаружения $C_{\min} \sim 10^{-7}$ мас. %.

Автоматизированные пламенные фотометры используют для одновременного определения содержания ионов Na^+ и K^+ в плазме крови и в других биологических жидкостях. Метод имеет высокую стабильность и достаточно хорошую воспроизводимость результатов измерений ($S_r = 0,01 - 0,05$).

На рис. 8.5 схематически представлен один из вариантов автоматического трехканального пламенного фотометра для определения ионов Na^+ и K^+ в сыворотке крови (используется в клинических лабораторных испытаниях).

Прибор включает три независимых фотометра: два из них для независимого определения ионов Na^+ и K^+ и один — для определения ионов Li^+ , последний является так называемым внутренним стандартом для данной аналитической процедуры. Каждый фотометр имеет свой интерференционный фильтр, пропускающий эмиссионную линию только одного из элементов: $\lambda(Na^+) \sim 589$ нм, $\lambda(Li^+) \sim 671$ нм и $\lambda(K^+) \sim 766$ нм.

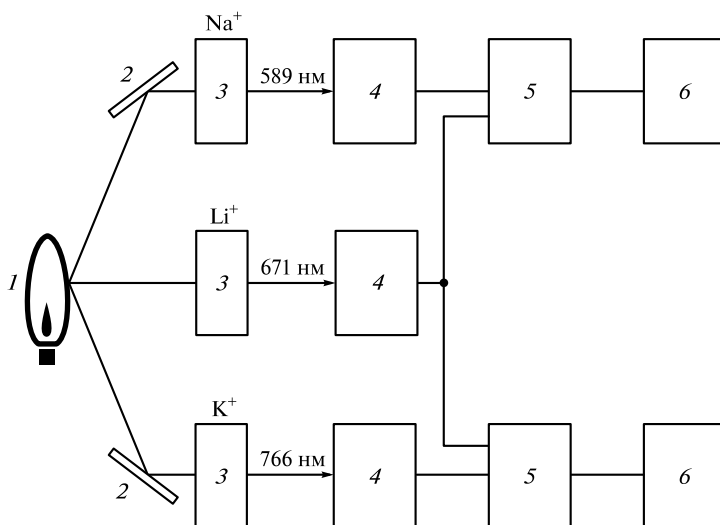


Рис. 8.5. Схема пламенного атомно-эмиссионного трехканального фотометра для определения ионов Na^+ и K^+ в плазме крови:

1 — пламя; 2 — зеркала; 3 — интерференционные фильтры; 4 — детекторы; 5 — усилители разностного сигнала; 6 — регистрирующие устройства (датчики)

Строго определенное количество ионов Li^+ добавляют в каждый из стандартных образцов и в анализируемую пробу, что позволяет получить отсчетный (опорный) сигнал внутреннего стандарта. Каждую из амплитуд сигналов, поступающих от датчиков фотометров ионов Na^+ и K^+ , затем нормируют на амплитуду сигнала, поступающего от датчика фотометра ионов Li^+ .

Такая схема повышает точность анализа, поскольку на интенсивности спектральных линий всех трех элементов одинаково влияют экспериментальные условия: температура пламени, скорость подачи топлива, фон постороннего излучения и др. Методика работает только в том случае, если в исследуемом образце отсутствуют ионы Li^+ за исключением того количества, которое было введено как внутренний стандарт. Приборы обычно автоматизированы, что позволяет проводить около 100 одновременных определений ионов Na^+ и K^+ в течение 1 ч. Применение внутреннего стандарта обеспечивает очень высокую точность и воспроизводимость результатов.

8.4.2.3. Метрологические характеристики метода АЭС

Для анализа твердых образцов, содержащих элементы, электронное возбуждение атомов которых достигается при больших температурах, используют атомизацию в *электрической дуге* постоянного или переменного тока ($\sim 4\,000$ — $8\,000$ К). Этот метод успешно применяют для анализа таких элементов как Mn, Cr, Si, Zn и др. Энергетические параметры дуги менее стабильны, чем пламени, поэтому предел обнаружения почти на два порядка ниже, чем в эмиссионной фотометрии пламени: $C_{\min} \approx 10^{-4}$ — 10^{-2} мас. %. Воспроизводимость результатов также примерно на порядок ниже и составляет $S_r \sim 0,1$ — $0,2$.

Для анализа трудно возбудимых элементов (Cl, B, I, P и др.) используют *искровой атомизатор*, предназначенный в первую очередь для анализа твердых образцов. Процессы в искровом разряде термодинамически неравновесны, поэтому, строго говоря, мы не можем для их анализа использовать понятие «температура». Зная среднюю энергию искрового разряда $\bar{E}$, можно вычислить лишь «эффективную температуру»:

$$T_{\text{эф}} = \frac{2}{3} \frac{\bar{E}}{k} \sim 10\,000 - 20\,000 \text{ К.}$$

Искровой разряд существенно стабильнее дугового, поэтому воспроизводимость результатов выше, чем при атомизации в дуге ($S_r \sim 0,05 - 0,10$). Минимальная определяемая концентрация $C_{\text{min}} \sim 10^{-3} - 10^{-1}$ мас. %.

С начала 1980-х гг. промышленность выпускает приборы для атомно-эмиссионного анализа. В них атомизация исследуемого вещества происходит в низкотемпературной плазме высокочастотного индукционного разряда (рис. 8.6). Подобно плазме электрической дуги плазма высокочастотного индукционного разряда термодинамически равновесна при температуре $T \sim 8\,000 - 11\,000 \text{ К.}$

Безэлектродный высокочастотный разряд обычно зажигают внутри диэлектрической трубки, по которой проходит поток аргона высокой чистоты. Эта трубка вставлена в катушку, по которой пропускают высокочастотный ток. Переменное продольное магнитное поле этого тока индуцирует в разрядной плазме кольцевое замкнутое электрическое поле и связанные с ним индукционные токи. Для инициирования образования плазмы используют искровой разряд, который вызывает ионизацию аргона в проходящем потоке. Внутри индукционной катушки образуется низкотемпературная плазма, состоящая преимущественно из атомов Ag, ионов Ag^+ , электронов и исследуемого вещества в атомизированном состоянии. Анализируемое вещество подают в атомизатор вместе с аргоном по центральной трубке. Пробу вещества вводят в виде аэрозоля, пара или тонко измельченного порошка. Условия возбуждения в данном методе отличаются высокой стабильностью. Пределы обнаружения метода при тщательной подготовке исследуемых образцов достигают $10^{-6} - 10^{-4}$ мас. %, стандартное отклонение составляет $S_r \sim 0,01 - 0,02$. Спектроскопический метод с высокочастотным возбуждением паров исследуемого вещества обычно называют атомно-эмиссионной спектроскопией индуктивно связанной плазмы.

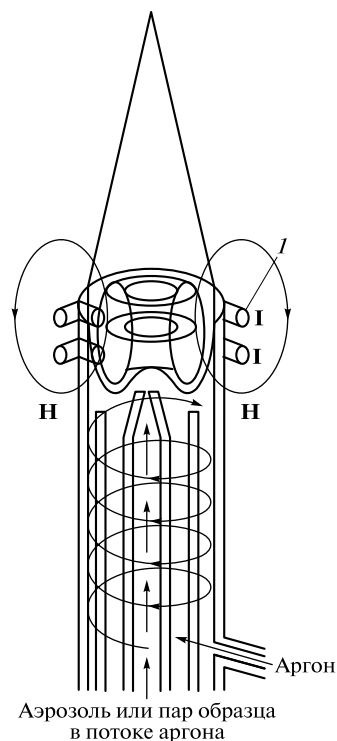


Рис. 8.6. Источник индуктивно связанной плазмы в методе ИСП-АЭС (I — радиочастотная индукционная катушка; H — вектор напряженности магнитного поля; I — поток индукции)

Современные спектрофотометрические приборы ИСП-АЭС с компьютерным управлением и обработкой полученных данных позволяют определять одновременно до 30 элементов. При измерениях концентраций линейное соотношение между интенсивностью каждого регистрируемого аналитического сигнала и концентрацией определяемого элемента в исследуемой пробе образца сохраняется при изменении концентрации этого элемента на несколько порядков, что очень важно для многих практических приложений.

8.4.3. Атомно-абсорбционная спектроскопия

8.4.3.1. Основные понятия

Атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС) — метод количественного элементного анализа, основанный на регистрации поглощения электромагнитного излучения атомами анализируемого вещества. Из-за неупругого взаимодействия с атомами образца часть внешнего (диагностирующего) излучения поглощается, и интенсивность прошедшего сквозь слой вещества излучения уменьшается.

В результате поглощения излучения атомы переходят в возбужденные энергетические состояния. Таким переходам в атомных спектрах поглощения соответствуют так называемые *резонансные линии*. Энергии резонансных переходов и соответствующие им частоты поглощения строго специфичны для атомов каждого химического элемента. От энергии фотонов диагностирующего излучения, используемого в атомно-абсорбционной спектроскопии, зависит возбуждение внешних электронов в атомах анализируемого вещества (переход на более высокие энергетические уровни).

Для изучения поглощения используют оптические приборы — спектрофотометры, состоящие из источника света, камеры для образца, монохроматора и детектора излучения. Аналитический сигнал прибора — это интенсивность поглощения $I(\bar{\nu})$ или $I(\lambda)$, т. е. функция от волнового числа или длины волны соответственно.

Применение атомно-абсорбционной спектроскопии в количественном химическом анализе основано на существовании взаимно однозначного соответствия между поглощением и концентрацией атомов анализируемого вещества. Это соотношение определяется рядом законов светопоглощения.

1. *Закон Бера*: каждая частица (атом или молекула) поглощает одну и ту же долю энергии излучения. Коэффициент поглощения K зависит от длины волны λ и пропорционален количеству поглощающих частиц, т. е. концентрации C анализируемого вещества:

$$K(\lambda) = \alpha(\lambda) C. \quad (8.43)$$

Параметр $\alpha(\lambda)$ зависит от длины волны падающего излучения (энергии электронного возбуждения) и вероятности переходов между электронными уровнями. Переходы создают спектр поглощения $I(\bar{\nu})$, $I(\lambda)$.

Закон Бера (8.43) справедлив лишь для идентичных частиц поглощающей среды. Если, например, при взаимодействии атомов А среды образуются димеры A_2 , ионизируются атомы, возникают молекулы (при взаимодействии с

молекулами или атомами среды), то количество поглощающих частиц уменьшается. Это приводит к кажущемуся отклонению от закона Бера.

2. *Закон Бугера—Ламберта*: если среда однородна и слой вещества перпендикулярен падающему параллельному (коллимированному) световому потоку, то интенсивность поглощения $I(\lambda)$ уменьшается с увеличением толщины поглощающего слоя l по экспоненциальному закону:

$$I = I_0 \exp(-Kl), \quad (8.44)$$

где I_0 , I — интенсивность соответственно падающего и прошедшего излучения; l — толщина исследуемого слоя.

Отклонения от закона Бугера—Ламберта известны только для световых потоков очень большой интенсивности, например мощного лазерного излучения. Для источников света, используемых в аналитических приборах ААС, данный закон выполняется с достаточной точностью.

Объединяя уравнения (8.43) и (8.44), получим основной закон поглощения света — *закон Бугера—Ламберта—Бера*:

$$I = I_0 \exp(-\alpha Cl). \quad (8.45)$$

В спектральном анализе используют величину — *относительное пропускание света* T :

$$T = \frac{I}{I_0} = \exp(-\alpha Cl). \quad (8.46)$$

Это безразмерная величина, ее часто выражают в процентах.

Линейное соотношение между концентрацией и поглощением можно получить, если ввести безразмерную величину A :

$$A = -\lg T = -\lg \frac{I}{I_0} = \lg \frac{I_0}{I}, \quad (8.47)$$

которую называют *абсорбцией поглощающего слоя*.

Тогда

$$A = -\lg \frac{I}{I_0} = \lg [\exp(\alpha Cl)] = \alpha Cl \lg e \approx 0,4343 \alpha Cl = \varepsilon Cl, \quad (8.48)$$

где

$$\varepsilon \approx 0,4343 \alpha. \quad (8.49)$$

Если концентрация выражена в молях на литр, то величину ε называют *коэффициентом молярного поглощения* (моль⁻¹ · л · см⁻¹).

Как следует из формулы (8.48), градуировочный график $A = f(C)$ — прямая, проходящая через начало координат.

Чувствительность S не зависит от концентрации и определяется молярным поглощением $\varepsilon(\lambda)$:

$$S = \frac{dA}{dC} = \varepsilon(\lambda)l. \quad (8.50)$$

Очевидно, анализ следует проводить при длине волны $\lambda_{\max}$ излучения, соответствующей максимуму $\varepsilon(\lambda)$.

Так же как и в методе атомно-эмиссионной спектроскопии, в методе ААС анализируемое вещество должно находиться в атомизированном состоянии. Однако в отличие от метода АЭС не нужны высокие температуры, приводящие к электронному возбуждению атомов анализируемого вещества с последующей спонтанной эмиссией излучения. Напротив, в методе ААС диагностирующее излучение вызывает резонансное электронное возбуждение свободных атомов, находящихся в основном состоянии. Как следует из распределения Больцмана (8.23) и приведенных в подразд. 8.4.1 примеров, доля атомов, находящихся в основном состоянии, выше.

При неизменных условиях атомизации исследуемого вещества концентрация атомов в атомизаторе пропорциональна истинной концентрации определяемого элемента в пробе, тогда абсорбция A поглощающего слоя может быть рассчитана по формуле

$$A = K/C, \quad (8.51)$$

где коэффициент K включает коэффициент молярного поглощения $\epsilon(\lambda)$ (8.48) и коэффициент перехода от истинной концентрации определяемого элемента в пробе к его концентрации в атомизаторе. Таким образом, так же как и в методе АЭС, коэффициент K в формуле (8.51) находят опытным путем после обработки серии измерений для стандартных образцов исследуемого вещества.

8.4.3.2. Способы атомизации, селекции и детектирования

В методе ААС основная функция атомизатора — перевод пробы в атомарное состояние. В обычном диапазоне температур 1 100—3 200 К атомизация осуществляется в пламени или в электротермических нагревателях. В отличие от метода АЭС пламя имеет узкую вытянутую форму. Это обеспечивает достаточную длину l оптического пути диагностического излучения и в соответствии с формулой (8.51) приводит к росту аналитического сигнала.

Наиболее распространены горючие смеси следующего состава: пропан + бутан + воздух (температура ~ 1 800—2 100 К); ацетилен + воздух (температура ~ 2 500—2 800 К); ацетилен + оксид азота(I) (температура ~ 2 900—3 200 К). Пламенные атомизаторы обеспечивают достаточно высокую стабильность работы прибора. Однако поскольку пробу подают в атомизатор в виде раствора с большой скоростью, атомизируемое вещество находится в пламени короткое время. Это приводит к невысокой эффективности пламенного атомизатора: не полностью реализуется потенциально заложенная в методе ААС высокая чувствительность.

8.4.3.3. Метрологические характеристики метода ААС

Для большинства элементов в пламенной ААС предел обнаружения составляет 10^{-6} — 10^{-4} мас. %.

Существенное увеличение чувствительности метода ААС достигается в случае использования электротермического атомизатора: предел обнаруже-

ния 10^{-9} — 10^{-7} мас. %. Электротермический атомизатор в методе ААС был предложен в 1950-е гг. Б. В. Львовым. Такой атомизатор представляет собой графитовую трубку, нагреваемую импульсным током. Чаще всего проба испаряется с внутренней поверхности графитовой трубки. Предварительно микропипеткой или микрошприцем в электротермический атомизатор вводят 5—50 мкл пробы анализируемого вещества, затем его высушивают на внутренней поверхности трубки при температуре ~ 400 К. Изменяя ток нагревателя, можно увеличивать температуру атомизатора до $\sim 3\,200$ К. Эффективность атомизации пробы существенно повышается вследствие длительного пребывания пара исследуемого вещества в атомизаторе и его достаточно полного испарения.

В качестве внешнего источника излучения в методе ААС используют лампы с полым катодом, заполненные инертным газом — неоном или аргоном при низком (100—700 Па) давлении. Материалом катода служит тот же металл, который предполагают определять в пробе исследуемого образца.

При электрическом разряде, возникающем в лампе с полым катодом (напряжение ~ 300 В), происходит ионизация инертного газа-наполнителя, приводящая к образованию ионов Ag^+ (или Ne^+). Положительные ионы инертного газа, ускоренные в электрическом поле катода, «бомбардируют» внутреннюю полость катода, выбивая электронно-возбужденные атомы металла, из которого изготовлен катод. При переходе этих атомов в основное состояние возникает излучение с длиной волны, соответствующей резонансному поглощению атомов определяемого элемента. Именно по этой причине полый катод нужно изготавливать из того же металла или его поверхность покрывать слоем того же металла, который предполагают определять в пробе анализируемого образца.

В настоящее время промышленность выпускает лампы с полым катодом для определения около 40 различных элементов. Некоторые из таких ламп снабжены катодом, содержащим более одного элемента, и их можно использовать для определения нескольких элементов.

В количественном методе ААС обычно используют калибровочные кривые, которые, как следует из уравнения (8.51), представляют собой линейную зависимость аналитического сигнала $I(\bar{\nu})$ от концентрации C . Однако в процессе атомизации анализируемого вещества из-за излучения и поглощения фонового излучения возникают трудно контролируемые помехи. Для уменьшения ошибок, вносимых в метод ААС такими помехами, широко используют обычный способ стандартных добавок.

Относительная ошибка определения большинства элементов методом ААС составляет 1—2 %. Метод отличается высокой селективностью и чувствительностью, поэтому его применяют для анализа следов неорганических веществ. Метод ААС широко используют в судебно-медицинской и клинической практике, при анализе окружающей среды и пищевых продуктов.

8.4.4. Атомно-флуоресцентная спектрометрия

8.4.4.1. Основные понятия

Атомно-флуоресцентная спектрометрия (АФС) — метод количественного элементного анализа по атомным спектрам флуоресценции. Пробу ана-

лизируемого вещества превращают в атомный пар и облучают для возбуждения флуоресценции таким излучением, которое поглощают атомы только определяемого элемента: длина волны излучения соответствует энергии электронных переходов этих атомов. Часть возбужденных атомов излучает свет — аналитический сигнал, регистрируемый спектрофотометрами.

Обычно используют *резонансную флуоресценцию*, при которой длины волн поглощенного и излученного света одинаковы. Для атомизации растворов применяют пламя, индуктивно связанную плазму или электротермические атомизаторы (нагреваемые электрическим током графитовые трубки, нити, стержни, тигли). Атомизацию порошкообразных проб осуществляют в графитовых тиглях или капсулах, которые иногда вносят в пламя для дополнительного нагрева паров пробы. Химический состав пламени выбирают так, чтобы выход флуоресценции (т.е. доля поглощенной энергии, излучаемой в виде флуоресценции) и степень атомизации были максимальны. С целью увеличения выхода электротермические атомизаторы обычно помещают в атмосферу аргона. Для возбуждения флуоресценции используют интенсивные лампы с линейчатым или непрерывным спектром, а также лазеры с перестраиваемой длиной волны.

В основе количественного анализа методом АФС лежит соотношение

$$I = I_0 \varepsilon \Omega [1 - \exp(kC)] / (4\pi),$$

где I , I_0 — интенсивность соответственно аналитического сигнала и источника возбуждения; ε — энергетический выход; Ω — телесный угол сбора флуоресценции; k — коэффициент, характеризующий поглощение света; C — концентрация элемента.

С помощью стандартных образцов (не менее трех) строят градуировочный график в логарифмических координатах: $\lg I = f(\lg C)$. Обычно графики линейны в области до двух порядков величины концентраций определяемого элемента.

Аналитический сигнал в методе АФС формируется на фоне шумов регистрирующей схемы и рассеянного света. Последний возникает в результате рассеяния излучения источника возбуждения на оптических неоднородностях паров и на частицах пробы в атомизаторах. При больших интенсивностях рассеянного света выделение из шума сигнала резонансной флуоресценции затруднено, поскольку длина волны аналитической линии совпадает с длиной волны рассеянного света. Для подавления влияния шума макрокомпоненты пробы отделяют и анализируют концентрат микроэлементов.

Применяют также *нерезонансную флуоресценцию*, при которой длины волн возбуждающего и рассеянного света не совпадают с длиной волны флуоресценции. В этом случае эффективное возбуждение достигается только с использованием лазеров.

Для регистрации спектра флуоресценции применяют светосильные спектрофотометры с большим углом. Измеряют интенсивность излучения, распространяющегося под прямым углом к возбуждающему излучению. В этом направлении интенсивность рассеянного света обычно минимальна.

Методом АФС можно определять около 65 элементов; пределы обнаружения достигают 10^{-8} — $10^{-6}\%$ (в порошках) и 10^{-12} г/мл (в растворах). Высокая селективность метода, обусловленная очень узкими линиями атомной флуо-

ресценции, позволяет определять одновременно несколько элементов. Для этого вокруг атомизатора устанавливают соответствующее число светосильных спектрофотометров.

Метод АФС легко поддается автоматизации, стоимость аппаратуры относительно невысока. Метод применяют для анализа пород (земных и лунных), почв, природных и сточных вод, сталей, сплавов, нефти, пищевых продуктов, биологических объектов (крови, мочи), различных химических соединений. Метод АФС применяют также для дистанционного определения элементов в верхних слоях атмосферы.

В настоящее время метод АФС играет сравнительно небольшую роль в элементном анализе. Привлекательная особенность флуоресцентных методов состоит в принципиальной возможности одновременно сочетать достоинства абсорбционной и эмиссионной спектрометрии. В теории аналитический сигнал пропорционален концентрации атомов в основном (наиболее заселенном) состоянии (как и при поглощении), но измеряется он на «нулевом» или слабом фоне (как в эмиссионной спектрометрии). Селективность атомной флуоресценции очень высока, поскольку оба процесса — поглощение и испускание фотонов — являются дискретно-квантовыми. Возбуждение лишь определенных атомов на их характеристических спектральных линиях и экранирование детектора от прямых лучей источника света позволяют регистрировать флуоресценцию без использования каких-либо дисперсионных оптических приборов. Кроме того, можно модулировать возбуждающее излучение для более полного отсеечения посторонних фоновых засветок.

Перечисленные достоинства определяют область применения метода АФС. В основном развиваются два направления. Когда необходима высокая селективность и высокая чувствительность анализа, не достижимая другими методами, применяют лазерное (чаще всего импульсное) возбуждение флуоресценции и ее регистрацию с использованием оптических и электронных схем, оптимизированных для вычитания неселективного фона, снижения влияния спектральных наложений и уменьшения шумов. В тех случаях, когда достаточно удовлетворительной чувствительности при простоте и экспрессности анализа и низкой стоимости аппаратуры, используют простые оптические фильтры (вместо дисперсионных спектрометров) и традиционные источники света, например лампы с полым катодом или высокочастотные безэлектродные лампы. Конечно, при слабых источниках и ненасыщенной флуоресценции возможен целый ряд недостатков, включая неселективное поглощение излучения в атомизаторе.

В связи с развитием химии стабильных и нестабильных легколетучих соединений растет интерес к простейшему варианту АФС с непрерывным вводом пробы в виде паров или легколетучих гидридов и их низкотемпературной атомизацией.

Высокая селективность метода позволяет анализировать образцы весьма сложного химического состава с хорошей чувствительностью. В современных коммерческих атомно-флуоресцентных анализаторах используют лампы с полым катодом, графитовый атомизатор и непрерывную подачу пробы в виде летучих соединений. Пределы определения часто оказываются ниже $10^{-7}\%$. Применять такие соединения удобнее именно в сочетании с флуоресцентным или абсорбционным детектированием, но не с эмиссионным, поскольку вве-

дение больших количеств легколетучих соединений в плазму почти всегда вызывает нестабильность разряда.

В США выпускали промышленные спектрометры на основе индуктивно связанной плазмы с атомно-флуоресцентным способом детектирования на лампах с полым катодом и со стандартным аэрозольным вводом пробы. Эти приборы использовали для определения некоторых металлов, эмиссионные спектры которых слабые, но хорошо возбуждаются спектры флуоресценции. Плазму зажигали в относительно «прохладном» режиме, чтобы лишь атомизировать пробу, но не генерировать слишком большой эмиссионный фон. Дальнейшее развитие метода связано с применением новых источников света с большой спектральной яркостью излучения, а именно диодных лазеров или узкополосных светодиодов. Эти источники также способны улучшить характеристики простейших флуоресцентных анализаторов с вводом пробы в виде паров или легколетучих соединений.

Одним из главных преимуществ лазерного возбуждения флуоресценции является возможность реализовать режим насыщения (просветления) оптических переходов, добиваясь тем самым максимального уровня аналитического сигнала и одновременно уменьшая влияние тушения флуоресценции и ее зависимость от флуктуации возбуждающего излучения. Лазеры на красителях практически невозможно переключать в реальном времени с одного элемента на другой. Именно в одноэлементном анализе и заключается основной недостаток их применения в аналитических целях (хотя по отдельности более 40 элементов определяли при помощи метода АФС с возбуждением лазерами на красителях).

8.4.4.2. Метрологические характеристики метода АФС

Динамический диапазон лазерной атомно-флуоресцентной спектрометрии может достигать 7 порядков (намного шире, чем в методе ААС). Кроме того, лазерная АФС характеризуется лучшей линейностью по сравнению с методом ААС. Рекордно низкие пределы определения в лазерной АФС находятся на уровне $\sim 10^{-18}$ г при анализе идеальных водных растворов в электротермическом атомизаторе. Для трудноиспаряемых элементов (Eu, Y, Tm) лучшие результаты были получены при атомизации в тлеющем разряде.

При анализе газов плазму используют для предварительного заселения метастабильных состояний, из которых проводят дальнейшее лазерное возбуждение флуоресценции.

Использование твердотельных лазерных источников — оптических параметрических осцилляторов (ОПО) с перестраиваемым излучением, которое можно просканировать по всему спектру от 220 до 2000 нм за 20 мин (такие источники ранее называли параметрическими генераторами света), открывает новые возможности применения метода АФС. Используя современное программное обеспечение, можно сканировать излучение ОПО дискретно — прыжками с одной полезной линии на следующую, т.е. сократить время сканирования (точно так же, как это делается в новейших аналитических масс-спектрометрах; см. гл. 9). Очевидно, что высокая эффективность ОПО открывает перспективы для развития многоэлементной лазерной АФС.

При практически одинаково высокой чувствительности масс-спектрометрии и лазерной АФС селективность метода АФС выше, чем масс-спектрометров высокого разрешения, и намного выше, чем квадрупольных или времяпролетных масс-спектрометров. Кроме того, теоретически чувствительность метода АФС должна быть выше, чем масс-спектрометрии, поскольку каждый атом порождает лишь один ион, но может излучать $\sim 10^8$ фотонов в секунду.

Новые возможности для лазерной АФС открываются в связи с прогрессом в разработках магнитооптических (лазерных) ловушек для нейтральных атомов. Единичные атомы, в том числе их определенные изотопы, могут быть захвачены в ловушке, и резонансная флуоресценция от каждого индивидуального атома может быть надежно зарегистрирована. Таким способом определяют редкие изотопы ^{81}Kr и ^{85}Kr , естественное содержание которых находится на уровне 10^{-11} и $10^{-9}\%$ соответственно. Предел определения изотопа ^{41}Ca в биологических образцах при атомизации в печи составил менее $10^{-7}\%$ по отношению к распространенному ^{40}Ca . Столь низкие содержания редких изотопов до сих пор удавалось определять лишь с помощью высокоэнергетической масс-спектрометрии на ускорителях частиц.

Можно надеяться, что дальнейшее развитие атомно-абсорбционных методов с использованием диодных лазеров будет также способствовать их применению в методе АФС. Высокая спектральная яркость (вследствие очень узкой линии излучения) диодных лазеров при их типичной оптической мощности ~ 1 мВт и фокусировке луча в зону диаметром ~ 1 мм позволяет достигать полного насыщения флуоресценции на сильных переходах, если ее тушение не очень существенно.

Как и в адсорбционной спектрометрии, в лазерной (насыщенной) АФС существует принципиальная возможность абсолютного анализа. Эта возможность обусловлена простой теоретической зависимостью интенсивности насыщенной флуоресценции от концентрации атомов определяемых элементов и надежным знанием практической эффективности регистрации фотонов.

Измерение неселективного фона проводится отстройкой лазера с линии поглощения. Если же мощность источника возбуждения не является насыщающей, то интенсивность флуоресценции обычно зависит от многих трудно учитываемых факторов, которые вынуждают проводить градуировку по эталонам для количественного анализа.

На данном этапе практическое применение лазерной АФС в основном ограничено кругом задач, где требуются очень высокая чувствительность и селективность анализа. Приготовление, хранение и использование стандартных (эталонных) растворов для градуировки аппаратуры в диапазоне крайне низких концентраций элементов связаны с серьезными трудностями и требует предосторожностей из-за большой вероятности внесения случайных загрязнений на любом из этапов градуировки. В связи с этим разработка методов абсолютного (даже полуколичественного) анализа приобретает принципиально важное значение. Идея абсолютного метода АФС тем более привлекательна, что в этом методе зависимость аналитического сигнала от концентрации определяемого элемента обычно имеет высокую степень линейности.

8.5. Молекулярные спектральные методы

8.5.1. Молекулярно-абсорбционный анализ в ультрафиолетовой и видимой областях спектра

8.5.1.1. Основные понятия

Молекулярные спектральные методы, как и атомные спектральные методы, основаны на том, что каждое индивидуальное анализируемое соединение способно поглощать или испускать характеристическое электромагнитное излучение.

В молекулярной спектроскопии исследуют спектры поглощения, испускания и отражения электромагнитных волн, а также спектры люминесценции в диапазоне от дальней УФ области ($\lambda \sim 180$ нм) до дальней ИК области ($\lambda \sim 0,1$ см). Молекулярный спектральный анализ — это спектроскопия в видимой, УФ областях (спектрофотометрия, фотометрический анализ), ИК-спектроскопия и спектроскопия комбинационного рассеяния.

В УФ и видимой областях спектры возникают в результате переходов, вовлекающих электронные, колебательные и вращательные уровни энергии молекулы (рис. 8.7). В ИК-спектроскопии спектр обусловлен переходами между колебательными и вращательными уровнями энергии.

Качественный анализ в УФ и видимой спектроскопии затруднен тем, что спектр анализируемого вещества в растворе имеет одну или несколько полос

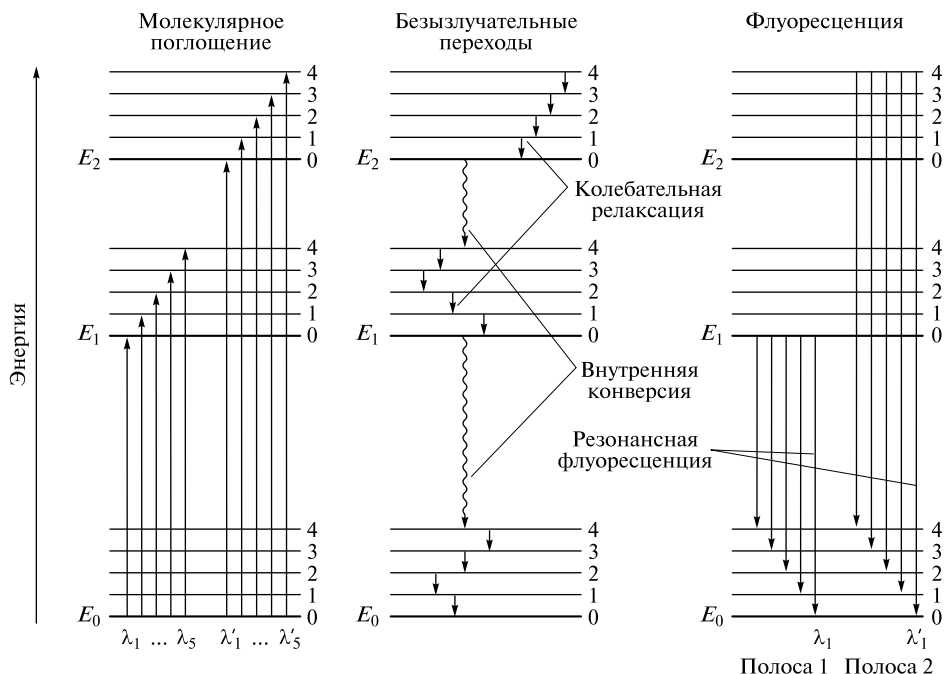


Рис. 8.7. Электронные и колебательные уровни энергии молекулы и переходы между ними

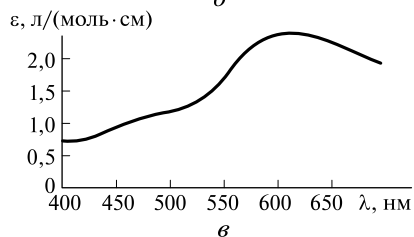
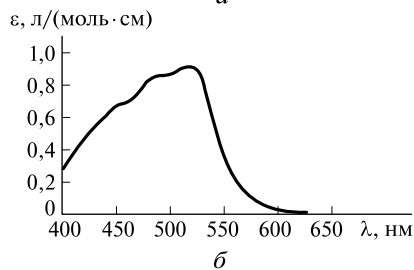
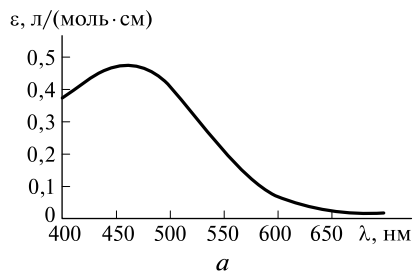


Рис. 8.8. Электронные спектры с переносом заряда:

a — $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$; *б* — $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ (phen — фенантролин); *в* — комплекс иода I_3^- с крахмалом

поглощения. Обычно это бесструктурные широкие пики (рис. 8.8), поэтому однозначная идентификация соединения практически невозможна.

Тем не менее молекулярная абсорбционная спектроскопия в видимой и УФ областях — один из часто используемых количественных методов анализа. Его обычно называют *спектрофотометрией* и широко применяют в анализе как неорганических, так и органических или биохимических систем. Метод характеризуется весьма высокой чувствительностью (предел обнаружения $\sim 10^{-7} - 10^{-4}$ моль/л), высокой селективностью (избирательностью), а также высокой точностью ($\sim 1 - 3\%$). Современные

спектрометры позволяют достигать точности измерения $\sim 0,1\%$.

Аналитический сигнал в методе молекулярной абсорбционной спектроскопии — это поглощение A внешнего излучения (или пропускание T), связанное с концентрацией C и длиной l поглощающего слоя вещества законом Бугера — Ламберта — Бера (8.45).

Анализируемое вещество находится в кювете — сосуде из прозрачного материала с плоскопараллельными гранями. При прохождении излучения через кювету возникают трудно контролируемые потери вследствие рассеяния света в растворителе, рассеяния и отражения света на стенках кюветы. Эти потери весьма существенны. Например, установлено, что при прохождении желтого света через стеклянную кювету с водой теряется $\sim 8,5\%$ излучения. Однако закон Бугера — Ламберта — Бера справедлив лишь для однородной и изотропной среды, через которую проходит излучение.

Следовательно, любые неоднородности, возникающие в растворе, например из-за различий температуры в объеме кюветы, приводят к кажущимся отклонениям от основного закона светопоглощения. Поэтому в спектрофотометрии используют сравнительный метод: интенсивность пучка света, прошедшего через кювету с раствором анализируемого вещества, сравнивают с интенсивностью пучка, прошедшего через чистый растворитель.

Измерения проводят при одинаковых условиях: идентичные кюветы, температура, источник излучения и т. п. Лишь тогда экспериментально определяемый аналитический сигнал (поглощение A или пропускание T) близок к истинному значению:

$$A = -\lg T = \lg \frac{I_0}{I}, \quad (8.52)$$

где I_0 , I — поглощение растворителя и раствора соответственно.

Как следует из формулы (8.52), поглощение A меняется в пределах $0 \leq A < \infty$, что соответствует области изменений пропускания $0 \leq T \leq 1$. При $I = I_0$ имеем $A = 0$, $T = 1$; при $I \rightarrow 0$ имеем $A \rightarrow \infty$, $T \rightarrow 0$.

Для установления связи между измеряемым поглощением A , которое также называют *оптической плотностью*, и концентрацией C определяемого вещества используют закон Бугера — Ламберта — Бера:

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) Cl, \quad (8.53)$$

где $\varepsilon(\lambda)$ — коэффициент молярного поглощения, который определяет чувствительность метода.

Максимальное значение $\varepsilon(\lambda_{\max}) \sim 10^5 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Пример. Для раствора перманганата калия концентрацией $C = 3,20 \cdot 10^{-5}$ моль/л пропускание $T = 66,7\%$ при измерении в кювете длиной 1,00 см при длине волны 523,5 нм. Определите поглощение A раствора и коэффициент молярного поглощения $\varepsilon_{\text{KMnO}_4}(\lambda = 523,5 \text{ нм})$.

Решение. Используя формулу (8.52), получим

$$A = -\lg T = -\lg 0,667 = -(-0,1759) \approx 0,18,$$

$$\varepsilon = \frac{A}{lC} = \frac{0,1759}{1,00 \cdot 3,20 \cdot 10^{-5}} = 5,50 \cdot 10^3 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}.$$

Измерение интенсивности излучения часто включает абсолютную погрешность, независимую от значения интенсивности (см. уравнение (8.52)). Вследствие этого измерение величины I/I_0 (т.е. пропускания) сопровождается постоянной абсолютной ошибкой в значительной области спектра. Чтобы проследить влияние этой постоянной ошибки при измерении пропускания на результаты анализа, запишем уравнение Бугера — Ламберта — Бера в виде

$$-\lg T = \varepsilon Cl. \quad (8.54)$$

Переходя к натуральным логарифмам и продифференцировав приведенное соотношение, получим

$$-0,434 \frac{dT}{T} = \varepsilon Cl dC. \quad (8.55)$$

Разделив уравнение (8.55) на (8.54), получим уравнение в дифференциальной форме:

$$\frac{dC}{C} = 0,434 \frac{dT}{T \lg T},$$

которое можно записать через конечные приращения ΔC и ΔT в виде

$$\frac{\Delta C}{C} = 0,434 \frac{\Delta T}{T \lg T}. \quad (8.56)$$

Величина $\Delta C/C$ есть мера относительной ошибки при измерении концентрации, обусловленная абсолютной ошибкой ΔT измерения T или I/I_0 . Отметим, что, как следует из уравнения (8.56), относительная ошибка определения концентрации является функцией величины T . Приравняв производную оптической плотности нулю, можно показать, что относительная ошибка определения концентрации проходит через минимум при пропускании, равном 0,368, или оптической плотности, равной 0,434. Случайные ошибки измерения пропускания на спектрофотометрах по абсолютной величине обычно лежат в интервале 0,001—0,002. Таким образом, если измеряемая оптическая плотность лежит в интервале 0,15—1,0, большинству абсорбционных методов определения концентрации присуща относительная ошибка 1—2 %. Более высокой ошибки, обусловленной сильным поглощением образца, как правило, можно избежать соответствующим разбавлением перед измерением. Однако если оптическая плотность менее 0,1, неизбежна относительная ошибка более 2 %. Важно отметить, что эти выводы базируются на допущении независимости постоянной фотометрической ошибки ΔT , определяющей погрешность анализа, от пропускания. Конечно, всегда возможны и другие типы ошибок, которые могут изменяться в зависимости от концентрации. Примерами служат ошибки, возникающие при подготовке пробы, вследствие наличия дефектов кюветы, неточности определения длины волны и флуктуаций источника излучения.

Закон Бугера — Ламберта — Бера может быть применен для нескольких поглощающих веществ в растворе. Если вещества, находящиеся в растворе, химически не взаимодействуют, либо установилось равновесие в системе взаимодействующих частиц при некоторой температуре, то общее поглощение $A_{\text{общ}}$ может быть представлено как сумма поглощений (*закон аддитивности*):

$$A_{\text{общ}} = A_1 + \dots + A_n = (\varepsilon_1 C_1 + \dots + \varepsilon_n C_n) l = \left(\sum_{i=1}^n \varepsilon_i C_i \right) l. \quad (8.57)$$

Закон аддитивности (суммы составляющих) оптических плотностей (8.57) позволяет анализировать многокомпонентные смеси. Например, если смесь состоит из двух поглощающих веществ М и N с различными коэффициентами молярного поглощения $\varepsilon_M(\lambda_1)$ и $\varepsilon_N(\lambda_2)$ при длинах волн λ_1 и λ_2 соответственно, то, измерив поглощение для длин волн λ_1 и λ_2 , получим систему уравнений

$$A(\lambda_1) = \varepsilon_M(\lambda_1) l C_M + \varepsilon_N(\lambda_1) l C_N,$$

$$A(\lambda_2) = \varepsilon_M(\lambda_2) l C_M + \varepsilon_N(\lambda_2) l C_N.$$

Если детерминант системы линейных уравнений не равен нулю

$$\det(\varepsilon) = \varepsilon_M(\lambda_1)\varepsilon_N(\lambda_2) - \varepsilon_M(\lambda_2)\varepsilon_N(\lambda_1) \neq 0, \quad (8.58)$$

то система имеет единственное решение:

$$C_M = \frac{1}{l} \frac{A(\lambda_1)\varepsilon_N(\lambda_2) - A(\lambda_2)\varepsilon_N(\lambda_1)}{\varepsilon_M(\lambda_1)\varepsilon_N(\lambda_2) - \varepsilon_M(\lambda_2)\varepsilon_N(\lambda_1)},$$

$$C_N = \frac{1}{l} \frac{A(\lambda_1)\varepsilon_M(\lambda_2) - A(\lambda_2)\varepsilon_M(\lambda_1)}{\varepsilon_M(\lambda_1)\varepsilon_N(\lambda_2) - \varepsilon_M(\lambda_2)\varepsilon_N(\lambda_1)}.$$

Из условия (8.58) следует, что для совместного определения двух компонентов смеси нужно измерять поглощения $A(\lambda_1)$ и $A(\lambda_2)$ на таких длинах волн, чтобы выполнялось условие:

$$\frac{\varepsilon_M(\lambda_1)}{\varepsilon_M(\lambda_2)} \neq \frac{\varepsilon_N(\lambda_1)}{\varepsilon_N(\lambda_2)}. \quad (8.59)$$

Как следует из условия (8.59), для анализа необходимо выбирать такие участки спектров, где ход поглощения компонентов анализируемой смеси наиболее различен. При использовании современных вычислительных методов можно одновременно определять даже 5—6 компонентов.

Для повышения точности, как и в методе ААС, широко используют обычный метод стандартных добавок. Серия измерений со стандартными добавками позволяет компенсировать многие систематические ошибки измерений.

К числу основных источников систематических ошибок измерений в методе спектрофотометрии относятся:

- немонохроматичность излучения;
- слишком высокая мощность источника излучения;
- высокая концентрация анализируемого раствора (обычно при $C > 0,01$ М);
- межмолекулярные взаимодействия, приводящие к ассоциации молекул, в частности при образовании водородной связи;
- химические взаимодействия в анализируемой пробе, например процессы, связанные с изменением химического состава в растворе пробы при изменении pH раствора.

Подобные изменения протекают в системе $\text{CrO}_4^{2-} + \text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$:



Максимумы поглощения ионами CrO_4^{2-} и $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ соответствуют разным длинам волн λ . При постоянном значении pH увеличение концентрации ионов CrO_4^{2-} в растворе, как следует из уравнения (8.60), приводит к росту концентрации ионов $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Поэтому аналитический сигнал (поглощение) не будет линейной функцией концентрации C . Коэффициенты молярного поглощения $\varepsilon_{\text{CrO}_4^{2-}}$ и $\varepsilon_{\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}}$ по-разному зависят от длины волны, следовательно, систематическое отклонение от закона Бугера—Ламберта—Бера тоже зависит от длины волны, на которой проводят измерения. Получают либо систематически заниженные, либо систематически завышенные значения концентрации. Такие отклонения от основного закона светопоглощения — кажущиеся, т.е. при корректном учете химических процессов в пробе исследуемого образца систематические отклонения от закона Бугера—Ламберта—Бера можно устранить.

8.5.1.2. Спектрофотометрия неорганических и органических соединений

Неорганические и координационные соединения. Растворы неорганических соединений элементов первых периодов Периодической системы, как правило, не поглощают излучение в видимой и УФ областях спектра. Аквакомплексы катионов этих элементов обычно не имеют полос поглощения в области 180—800 нм. Некоторые анионы, например Cl^- , Br^- , I^- , OH^- , SH^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, NO_2^- ,

NO_3^- , ClO_4^- , имеют широкие полосы поглощения в УФ области. Интенсивные полосы простых галогенид-анионов Cl^- , Br^- , I^- (в водных растворах) обусловлены переносом заряда при электронном возбуждении этих анионов.

Переход, при котором электрон переносится с одного атома или группы атомов в молекуле на другой атом или группу, называют *электронным переходом с переносом заряда*. Результат такого перехода — очень интенсивная полоса поглощения с коэффициентом молярного поглощения $\epsilon(\lambda_{\text{max}}) \sim 10^4$ и выше. Обычно эти линии лежат в УФ области. Очень интенсивными полосами характеризуется поглощение анионов ClO_4^- и SO_4^{2-} .

Окраска аквакомплексов катионов тяжелых металлов связана с заполнением *d*-оболочек. При полностью занятых *d*-уровнях (например, ионы Zn^{2+} и Cd^{2+}) растворы солей бесцветны. При незаполненных *d*- и *f*-орбиталях (например, в случае ионов Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} и ионов других *d*- и *f*-элементов) аквакомплексы, как правило, окрашены. Цвет раствора соединений этих элементов является дополнительным к цвету поглощенного излучения (табл. 8.2).

Положение максимума интенсивности поглощения света $\epsilon(\lambda_{\text{max}})$ характеризует спектральный цвет и является мерой энергии возбуждения, а величина ϵ_{max} характеризует интенсивность окраски и является мерой вероятности электронного перехода.

С уменьшением энергии возбуждения значение λ_{max} смещается в длинноволновую часть спектра. При этом окраска изменяется от желтой к оранжевой, красной и т.д. Такое изменение цвета называют его *углублением*, или *батохромным сдвигом* (греч. *bathos* — глубина, *chroma* — цвет). Увеличение энергии возбуждения, приводящее к смещению значения λ_{max} в коротковолновую область и изменению окраски в обратной последовательности, называют *повышением цвета*, или *гипсохромным сдвигом* (греч. *hypsos* — высота, *chroma* — цвет).

Таблица 8.2

Примерные границы основных цветов спектра

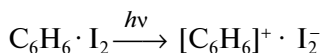
Длина волны, нм	Спектральный цвет	Дополнительный цвет
400 — 435	Фиолетовый	Зеленовато-желтый
435 — 480	Синий	Желтый
480 — 490	Зеленовато-синий*	Оранжевый
490 — 500	Синевато-зеленый*	Красный
500 — 560	Зеленый	Пурпурный
560 — 580	Желтовато-зеленый	Фиолетовый
580 — 595	Желтый	Синий
595 — 605	Оранжевый	Зеленовато-синий*
605 — 730	Красный	Синевато-зеленый*
730 — 760	Пурпурный	Зеленый

* Голубой.

Первостепенное значение в процессах поглощения света молекулами органических соединений имеет разность энергий их граничных молекулярных орбиталей — высшей занятой (ВЗМО) и низшей свободной (НСМО), так как переход электронов с одной орбитали на другую обычно обуславливает длинноволновую полосу поглощения, лежащую в видимой части спектра и определяющую цвет соединения. Уровни НСМО и ВЗМО зависят от характера электронов, входящих в состав молекулы.

Интенсивную окраску ионов MnO_4^- , CrO_4^{2-} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ можно объяснить электронным переходом с переносом заряда p -электронов атома кислорода на атом марганца или хрома. Этот процесс приводит к восстановлению металлов в электронно-возбужденном состоянии.

Молекулярный иод также склонен образовывать комплексы с переносом заряда, выступая в качестве акцептора электронов:



Большой интерес представляют спектры поглощения $4f$ - и $5f$ -элементов. Эти сложные спектры связаны с наличием заполняющихся f -подуровней при

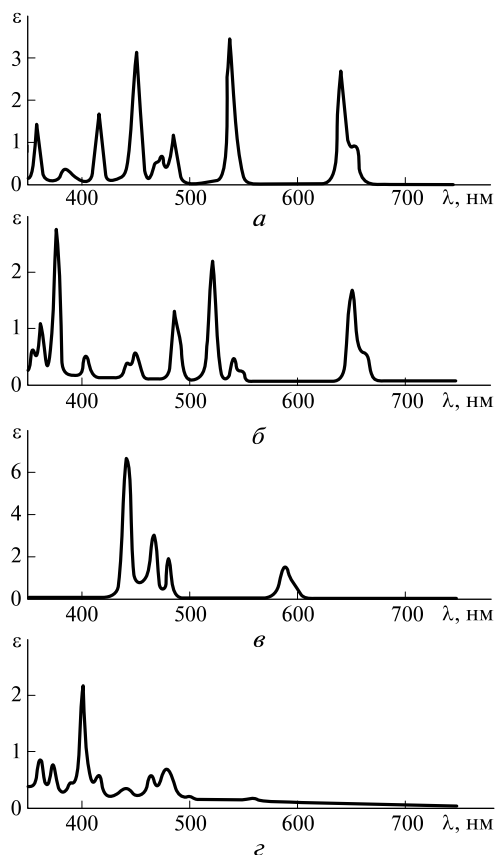


Рис. 8.9. Спектры поглощения водных растворов ионов некоторых редкоземельных металлов:

a — Ho^{3+} ; $б$ — Er^{3+} ; $в$ — Pr^{3+} ; $г$ — Sm^{3+}

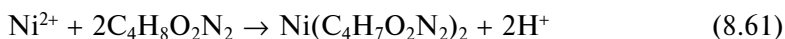
занятых более высоких *s*- и *p*-подуровнях (рис. 8.9) и имеют дискретную структуру, характерную для спектров атомов.

Различия электронных конфигураций катионов (обычно M^{3+}) этих элементов обуславливают высокую характеристичность спектров растворов их солей. Однако обычно чувствительность спектрофотометрического метода определения весьма мала, так как коэффициент молярного поглощения аквакомплексов обычно не выше 10^2 .

Увеличения чувствительности спектрофотометрического метода можно добиться при использовании реагентов, переводящих вещества в соединения, имеющие сильное поглощение в определенном участке измеряемого спектра.

Одними из важнейших реакций такого рода являются реакции комплексообразования с органическими или неорганическими реагентами. Комплексные соединения ионов металлов с органическими лигандами обычно растворимы в воде и характеризуются весьма высокими значениями коэффициентов молярного поглощения $\epsilon \sim 10^4 - 10^5$. Им соответствуют интенсивные полосы поглощения в измеряемом спектре. Важное и неизменное требование, которое предъявляют к таким реакциям, состоит в том, чтобы процесс комплексообразования проходил практически до конца.

Примером одного из комплексообразующих органических реагентов, используемых при спектрофотометрическом определении переходных элементов, является диметилглиоксим. Реакция диметилглиоксима $C_4H_8O_2N_2$ с ионами Ni^{2+} :



приводит к образованию окрашенного в красный цвет хелатного комплекса.

Поскольку стехиометрия реакции (8.61) образования хелатного комплекса (греч. *chele* — клешня) известна и реакция протекает практически до конца, ее удобно использовать при спектрофотометрическом определении никеля.

К многочисленным неорганическим фотометрическим реагентам относятся: тиоцианаты (SCN^-), которые используют для определения $Fe(III)$, $Mo(V)$, $W(V)$, $Nb(V)$, $Co(II)$; пероксид водорода H_2O_2 — его используют для определения $Ti(IV)$, $V(III)$, $Nb(V)$, $Ta(V)$; аммиак NH_3 — при определении $Cu(II)$.

Ряд аквакомплексов также окрашены, хотя коэффициенты молярного поглощения их невелики ($\epsilon \sim 10^2$). К числу таких комплексов относятся гидратные соединения $Cu(II)$, $Co(II)$, $Fe(III)$ и некоторых других переходных металлов.

В ряде случаев изменение степени окисления первоначальной формы определяемого элемента может привести к образованию интенсивно окрашенного соединения, например: $Mn(II) \rightarrow Mn(VII)$, $Cr(III) \rightarrow Cr(VI)$.

Органические соединения. Многочисленные экспериментальные исследования показали, что для определенных рядов органических соединений, имеющих одни и те же структурные фрагменты, наблюдаются полосы поглощения приблизительно в одной и той же области и с близкой интенсивностью. Эти наблюдения привели к возникновению *концепции хромофорных групп* (или *хромофоров*) — фрагментов молекулы или группировок атомов с сохраняющимся электронным спектром.

Хромофорами, ответственными за поглощение в УФ и видимой областях (180—800 нм), являются разнообразные группы, содержащие изолированные и сопряженные кратные связи, атомы и радикалы с неподеленными элект-

Абсорбционные характеристики некоторых органических хромофоров

Хромофорная группа	Пример	Растворитель	$\lambda_{\max}$, нм	$\epsilon_{\max}$, л · моль ⁻¹ · см ⁻¹
Двойная связь	$C_6H_{13}-CH=CH_2$	<i>n</i> -Гептан	177	13 000
Сопряженные двойные связи	$CH_2=CH-CH=CH_2$	<i>n</i> -Гептан	217	21 000
Тройная связь	$C_5H_{11}-C\equiv C-CH_3$	<i>n</i> -Гептан	178	10 000
Карбонильная группа	$RR'C=O$	<i>n</i> -Гексан	180	1 000
Карбоксильная группа	$RCOOH$	Этанол	204	41
Нитрогруппа	CH_3NO_2	Изооктан	280	22
Нитратогруппа	$C_2H_5ONO_2$	Диоксан	270	12
Бензольная группа	C_6H_6	<i>n</i> -Гексан	204	7 900
Нафталиновая группа	$C_{10}H_8$	Этанол	375	5 560

ронными парами, циклические ароматические соединения, а также ряд других соединений.

Сведения о разнообразных хромофорных группах содержатся в справочной литературе по электронной спектроскопии, а также в компьютерных базах данных.

Таблица 8.3 представляет области поглощения и коэффициенты молярного поглощения хромофорных групп некоторых органических соединений.

8.5.1.3. Фотометрическое титрование

Титрование с применением спектрофотометрического метода позволяет определить точку эквивалентности гораздо точнее, чем обычными методами количественного анализа. Такое титрование предполагает, что одно (или более) из определяемых веществ или продуктов реакции имеет достаточно высокое поглощение в той или иной области спектра либо титрование проводят в присутствии индикатора, дающего спектр поглощения.

При фотометрическом титровании измеряют поглощение A как функцию объема V_T добавляемого титранта известной концентрации при определенной длине волны λ :

$$A_{\lambda} = f(V_T). \quad (8.62)$$

Примеры кривых фотометрического титрования приведены на рис. 8.10. Конечную точку титрования определяют по излому кривой титрования.

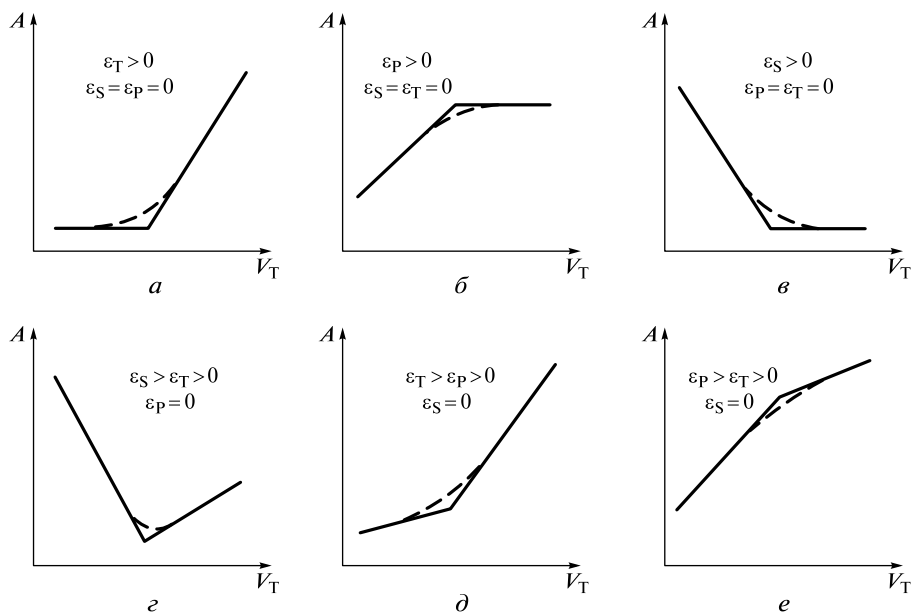


Рис. 8.10. Кривые (а—е) фотометрического титрования (A — поглощение; V_T — объем титранта; ε_S , ε_P , ε_T — коэффициент молярного поглощения титруемого вещества, продукта реакции и титранта соответственно)

По расходу титранта, соответствующему точке излома кривой титрования, вычисляют содержание определяемого вещества по формулам титриметрического анализа.

При фотометрическом титровании можно работать с растворами меньшей концентрации, чем при обычном титровании. Этим методом с удовлетворительной воспроизводимостью и высокой чувствительностью определяют малые количества вещества в сильно разбавленных растворах — вплоть до 10^{-6} — 10^{-5} моль/л.

При фотометрическом титровании не обязательно точно определять точку эквивалентности в процессе измерения, что очень удобно, если процесс установления равновесия требует длительного времени. Точка эквивалентности может быть получена экстраполяцией смежных областей фотометрических кривых титрования.

Спектрофотометрическое титрование можно проводить в присутствии некоторого окрашенного вещества в растворе, если это вещество не поглощает в рабочем интервале длин волн, используемых для титрования.

8.5.2. Молекулярно-абсорбционный анализ в инфракрасной области

8.5.2.1. Основные понятия

Инфракрасные спектры получают и исследуют, в принципе, теми же методами, что и соответствующие спектры в видимой и ультрафиолетовой облас-

тах. Метод ИК-спектроскопии используют преимущественно для изучения спектров молекул, поскольку именно в ИК области расположено большинство энергетических переходов между колебательными и вращательными уровнями молекулярных систем.

Наиболее широко применяют метод абсорбционной инфракрасной спектроскопии, поскольку для получения ИК спектра поглощения требуется небольшое количество вещества. Вещество можно исследовать в различных агрегатных состояниях при разных температурах и давлениях в растворах и твердом состоянии. Молекулярно-абсорбционный анализ методом ИК-спектроскопии позволяет исследовать спектры окрашенных и непрозрачных в видимой области веществ.

Инфракрасные спектры поглощения возникают в результате селективного поглощения излучения, когда его частота совпадает с некоторыми частотами собственных колебаний атомов в молекуле или кристаллической решетки в твердом теле. В результате селективного поглощения в непрерывном спектре ИК излучения, прошедшего через вещество, образуются «провалы» — полосы поглощения.

Сколько полос поглощения даст молекула, состоящая из N атомов? Каждый атом при движении в пространстве имеет 3 степени свободы, поэтому N атомов будут иметь $3N$ степеней свободы. Некоторые комбинации этих индивидуальных степеней свободы соответствуют поступательному движению молекулы как целого, что соответствует 3 степеням свободы. «Нелинейная» молекула имеет еще три комбинации координат, которые соответствуют вращению молекулы вокруг ее главных осей, что дает еще 3 степени свободы. Для «линейной» молекулы (все атомы расположены вдоль одной линии) главных осей только две.

Таким образом, общее число колебаний, которое соответствует внутренним степеням свободы нелинейной молекулы (внутримолекулярным колебаниям ядер), равно:

$$N_v = 3N - 3 \text{ (вращение)} - 3 \text{ (поступательное движение)} = 3N - 6.$$

Для линейной молекулы получаем

$$N_v = 3N - 2 \text{ (вращение)} - 3 \text{ (поступательное движение)} = 3N - 5.$$

В общем случае это правило записывают следующим образом:

$$N_v = 3N - 6, \tag{8.63}$$

для линейной молекулы

$$N_v = 3N - 5.$$

Таким образом, в молекуле осуществляется $3N - 6$ ($3N - 5$) *независимых колебаний*. Эти колебания приводят к изменению длин связей в молекуле и (или) валентных углов между связями; их называют *нормальными колебаниями*. Рисунок 8.11 иллюстрирует нормальные колебания молекул SO_2 (нелинейная молекула) и CO_2 (линейная молекула).

Нормальные колебания представляют собой независимые повторяющиеся движения молекулы. Положение центра масс молекулы и ее угловой момент не меняются при нормальных колебаниях. Каждое из таких колебаний харак-

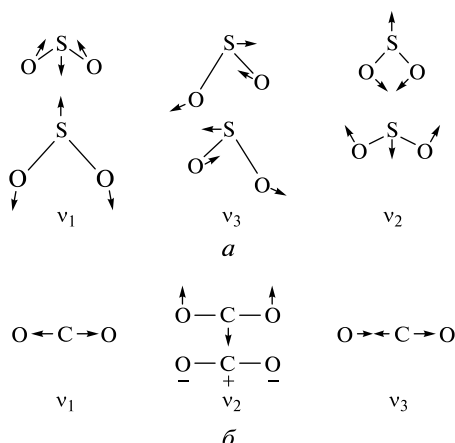


Рис. 8.11. Колебания молекулы диоксида серы SO₂ (а) и молекулы диоксида углерода CO₂ (б) (v₁, v₃ — соответственно симметричное и антисимметричное валентное колебание; v₂ — деформационное колебание)

теризуется своей частотой ν или волновым числом $\bar{\nu}$ (последнее в ИК-спектроскопии принято выражать в обратных сантиметрах (см⁻¹)).

Некоторые из нормальных колебаний могут иметь одну и ту же частоту, например, вследствие высокой симметрии молекулы. Такие колебания называют *вырожденными*, и в ИК спектре поглощения им будет соответствовать одна полоса. Например, в молекуле CH₄ или CX₄ (где X = F, Cl, Br, I), имеющей тетраэдрическое расположение атомов H или X с атомом углерода в центре тетраэдра, возможны $3N - 6 = 3 \cdot 5 - 6 = 9$ нормальных колебаний. Из них одно колебание имеет степень вырождения 2 (дважды вырожденное колебание) и два колебания имеют степень вырождения 3 (трижды вырожденное колебание). Таким образом, число колебаний, имеющих различные частоты, можно легко вычислить:

$$9 - 1 \text{ (дважды вырожденное колебание)} - \\ - 2 \cdot 2 \text{ (два трижды вырожденных колебания)} = 4.$$

Однако не все возможные колебания будут проявляться в ИК спектре, поскольку взаимодействие электромагнитного излучения в ИК диапазоне с молекулой, приводящее к поглощению излучения, является неупругим процессом.

При взаимодействии ИК излучения с молекулой осциллирующая электрическая компонента поля взаимодействует с осциллирующим при колебаниях дипольным моментом молекулы. Дипольный момент молекулы μ обусловлен несимметричным распределением заряда в молекуле и равен произведению заряда q на вектор $\mathbf{R}$ от положительного до отрицательного заряда в молекуле:

$$\mu = q\mathbf{R}. \quad (8.64)$$

В молекулярном масштабе заряды находятся на расстоянии порядка 0,1 нм = 10⁻¹⁰ м. Минимальный заряд — заряд электрона, равный ~ 1,6 · 10⁻¹⁹ Кл.

Поэтому примерное значение дипольного момента $\mu \sim 10^{-29}$ Кл·м. Внесистемная единица дипольного момента — дебай (Д): $1 \text{ Д} = 3,33564 \cdot 10^{-30}$ Кл·м.

Очевидно, равен нулю дипольный момент симметричных двухатомных молекул, таких как H_2 , F_2 , N_2 , O_2 , и симметричных молекул типа CO_2 , CH_4 , CX_4 , SF_6 , UF_6 . Для двухатомных молекул, состоящих из разных атомов, дипольный момент не равен нулю. Если при колебаниях молекулы ее дипольный момент остается неизменным, то молекула не будет поглощать энергию ИК излучения.

Вводя обозначение для координаты нормального колебания Q_i ($i = 1, 2, \dots, 3N - 6(5)$), получим условие, при котором данное колебание проявляется в ИК спектре:

$$\frac{d\mu}{dQ_i} \neq 0. \quad (8.65)$$

Следовательно, колебания двухатомных гомоядерных молекул не должны приводить к поглощению ИК излучения; симметричное колебание ν_1 в молекуле CO_2 (см. рис. 8.11) также не дает поглощения в ИК спектре. То же относится и к симметричному растяжению-сжатию связей в молекулах CH_4 и CX_4 , SF_6 , UF_6 и т.п.

Примерами колебаний, которые приводят к изменению направления вектора дипольного момента, являются деформационное колебание ν_2 молекулы CO_2 , антисимметричное колебание ν_3 молекулы CO_2 и все нормальные колебания молекулы SO_2 (см. рис. 8.11).

Колебательные спектры являются уникальной физической характеристикой вещества, поскольку они обладают высокой характеристичностью. Поэтому ИК спектры широко используют для идентификации химических соединений и примесей в индивидуальных соединениях, для исследования механизмов химических реакций.

Каждому индивидуальному соединению соответствует свой спектр, и нет двух таких веществ, которые имели бы идентичные ИК спектры. Более того, даже очень мало отличающиеся друг от друга по свойствам изомеры имеют различные спектры. Поэтому оптический спектр сравнивают с дактилоскопическим отпечатком.

Объяснение чрезвычайно высокой характеристичности ИК спектров можно получить на основе модели молекулярных колебаний. В основе этой модели лежит понятие о потенциальной функции взаимодействия ядер молекулы в эффективном поле, создаваемом электронной подсистемой. Такое приближение возможно потому, что (как отмечалось выше) энергия электронного движения существенно больше энергии колебательного движения ядер в молекуле.

Качественно легко представить вид потенциальной функции для простейшего случая двухатомной молекулы. Действительно, при сильном сближении одноименно заряженные ядра атомов, образующих молекулу, будут сильно отталкиваться, соответственно их потенциальная энергия $U(r)$ будет возрастать (r — межъядерное расстояние).

При сильном удалении ядер друг от друга молекула распадается на атомы — диссоциирует, и при значительном удалении друг от друга разделяющиеся

атомы перестают «чувствовать» друг друга, а их энергия остается неизменной, равной энергии диссоциации молекулы.

В своем «нормальном» состоянии ядра атомов совершают колебания относительно некоторого положения равновесия, которое принято называть *равновесным межъядерным расстоянием* (r_e).

Примерный вид функции потенциальной энергии двухатомной молекулы и положения колебательных уровней показаны на рис. 8.12.

Зависимость потенциальной энергии U от межъядерного расстояния r можно представить в виде

$$U(r) = D_e \{1 - \exp[-a_M(r - r_e)]\}^2, \quad (8.66)$$

где D_e — энергия диссоциации; a_M — константа Морзе (для многих молекул $a_M = (1,5 - 2,5) \cdot 10^{10} \text{ м}^{-1}$).

Зависимость (8.66) широко используется при описании спектров двухатомных молекул и носит имя предложившего ее исследователя — *функция Морзе*.

Потенциальная функция однозначно определяет спектр молекулы. Вследствие того, что потенциальная функция является уникальной характеристикой данной молекулы, такой же уникальной характеристикой является и ее спектр.

Относительное отклонение ядер атомов от положения равновесия, как видно из рис. 8.12, увеличивается при возрастании энергии колебательного уровня молекулы, например из-за роста температуры. Количественно это описывает распределение Больцмана (см. формулы (8.23), (8.24)).

Используя формулу (8.24), можно рассчитать долю N_1/N_0 возбужденных колебательных состояний молекулы (относительную заселенность). При волновых числах $\bar{\nu} \leq 100 \text{ см}^{-1}$ доля возбужденных колебательных состояний молекулы уже при комнатной температуре ($T \sim 300 \text{ К}$) отнюдь не мала: $N_1/N_0 = 0,62$. Обычная область валентных колебаний различных молекул соответствует диапазону волновых чисел $\bar{\nu} \sim 700 - 1900 \text{ см}^{-1}$, поэтому при комнатной температуре подавляющая часть молекул находится в самом низком — основном колебательном состоянии. В таком состоянии весьма мало среднее отклонение ядер от положения равновесия: $\Delta \bar{r} = \bar{r} - r_e \approx 0,05 \cdot 10^{-10} \text{ м}$.

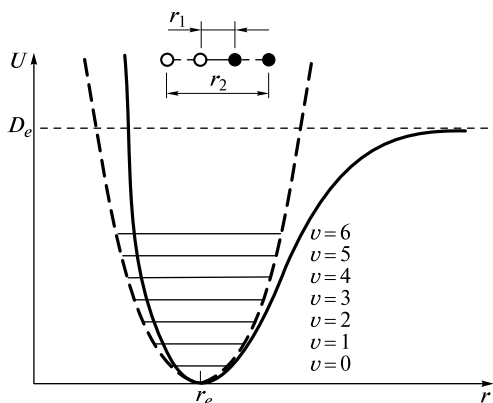


Рис. 8.12. Функция потенциальной энергии $U(r)$ (сплошная жирная линия) двухатомной молекулы (пунктирная жирная линия соответствует аппроксимации функции $U(r)$ параболой; $v = 0, 1, \dots, 6$ — номер колебательного уровня)

Если учесть, что $a_M \approx (1,5 - 2,5) \cdot 10^{10} \text{ м}^{-1}$, то произведение составит

$$a_M \Delta \bar{r} \sim 0,05 \cdot 2,0 = 0,1.$$

С учетом малости этого параметра можно разложить в ряд экспоненту $\exp[-a_M(r - r_e)]$ в формуле (8.66) и взять два первых члена:

$$\exp[-a_M(r - r_e)] \approx 1 - a_M(r - r_e).$$

В этом приближении функция Морзе — просто парабола:

$$U(r) = D_e \{1 - \exp[-a_M(r - r_e)]\}^2 \approx D_e \{1 - [1 - a_M(r - r_e)]\}^2 = D_e [a_M(r - r_e)]^2. \quad (8.67)$$

Обычно вместо двух констант D_e , a_M используют их произведение $K_e = 2D_e a_M^2$ и представляют потенциальную функцию в виде

$$U(r) \approx \frac{1}{2} K_e (r - r_e)^2 = \frac{1}{2} K_e (\Delta r)^2. \quad (8.68)$$

Отклонения ядер от положения равновесия в простом параболическом приближении потенциальной функции (8.68) происходили бы симметрично относительно положения равновесия r_e . Такие колебания называют *гармоническими*. Однако реальные колебания более точно описываются кривой Морзе (8.66) и происходят асимметрично относительно положения r_e . Степень асимметрии реальных колебаний определяется константой Морзе. Такие колебания принято называть *ангармоническими*, а константу Морзе a_M — *постоянной ангармоничности*. Она определяет уменьшение энергии колебательного перехода при увеличении номера колебательного уровня (см. рис. 8.12). В спектре этому будет соответствовать «сгущение» полос перехода.

Для гармонического осциллятора с потенциальной функцией вида (8.68) колебательные уровни расположены *эквидистантно* — равноудалены друг относительно друга. Частота перехода, следовательно, не изменяется при варьировании номера уровня. Она определяется массами M_A и M_B колеблющихся ядер атомов в молекуле АВ и постоянной $K_e = 2D_e a_M^2$ в уравнении (8.68). Постоянную K_e , определяющую кривизну графика потенциальной функции и меру взаимодействия атомов А и В молекулы АВ, называют по аналогии с механической моделью *упругой постоянной*, поскольку потенциальная энергия сжатой пружины также представима в виде формулы (8.68).

Если обозначить буквой μ так называемую *приведенную массу* двухатомной системы:

$$\mu = \frac{M_A M_B}{M_A + M_B}, \quad (8.69)$$

то частоту колебаний ν можно определить по формуле:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K_e}{\mu}}. \quad (8.70)$$

Пример. Вычислите частоту колебаний (волновое число) молекулы $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$ с упругой постоянной $K_e = 1,902 \cdot 10^3 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-1}$.

Решение. Определим приведенную массу μ молекулы $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$, состоящей из двух изотопов молярной массой $M(\text{C}) = 12 \text{ г/моль}$ и $M(\text{O}) = 16 \text{ г/моль}$:

$$\mu = \frac{12 \cdot 16}{12 + 16} \approx 6,857 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}; \quad \frac{6,857 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}}{6,022 \cdot 10^{23} \text{ моль}^{-1}} \approx 1,139 \cdot 10^{-23} \text{ г}.$$

Волновое число составит

$$\bar{\nu} = \frac{\nu}{c} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{K_e}{\mu}} \approx \frac{1}{2\pi \cdot 3 \cdot 10^{10}} \sqrt{\frac{1,902 \cdot 10^3}{1,139 \cdot 10^{-26}}} \approx 2\,168 \text{ см}^{-1}.$$

В молекулах органических соединений колебание группы $>\text{C}=\text{O}$ обычно лежит в области $1\,500 - 1\,900 \text{ см}^{-1}$.

Как видно из формулы (8.70), частоты колебаний для изотопов с разными массами будут различаться. Найдем отношение частот:

$$\frac{\nu_1}{\nu_2} = \left(\frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K_e}{\mu_1}} \right) / \left(\frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K_e}{\mu_2}} \right) = \frac{\sqrt{\mu_2}}{\sqrt{\mu_1}}, \quad (8.71)$$

$$\nu_1 \sqrt{\mu_1} = \nu_2 \sqrt{\mu_2}. \quad (8.72)$$

Для протия H и дейтерия D находим:

$$\frac{\nu_{\text{H}}}{\nu_{\text{D}}} = \sqrt{\frac{2/N_A}{1/N_A}} = \sqrt{2} \approx 1,41,$$

где $N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \text{ моль}^{-1}$ — число Авогадро.

Таким образом, меняя изотопный состав различных групп молекулы, можно получить дополнительную аналитическую информацию об исследуемом соединении по изменению положения соответствующей полосы поглощения в ИК спектре. Этот прием, называемый *изотопозамещением*, широко применяют при анализе ИК спектров.

Часто как «область отпечатков пальцев» выделяют частоты поглощения в ИК спектре от 100 см^{-1} до $1\,500 \text{ см}^{-1}$. В этой области картина спектра наиболее чувствительна к малейшим изменениям в структуре индивидуальной молекулы и вещества в различных агрегатных состояниях.

8.5.2.2. Фурье-спектроскопия

Фурье-спектроскопия исследует спектры в ИК, субмиллиметровом и других диапазонах длин волн. Спектр вычисляют путем фурье-анализа интерферограммы, получаемой с помощью интерферометра Майкельсона, изобретенного в 1880 г. Сложность получения спектра компенсируется многими преимуществами фурье-спектроскопии над другими спектральными методами, среди которых уменьшение времени регистрации спектра, улучшение отношения сигнал : шум, более высокое разрешение.

Для регистрации спектров используют *фурье-спектрометр* — спектральный прибор, в котором искомый спектр получают в два приема: сначала регистрируют интерферограмму исследуемого излучения, затем путем фурье-преоб-

разования вычисляют искомый спектр. Интерферограмма зависит от оптической разности хода двух лучей и представляет собой фурье-образ спектра, т.е. функции распределения энергии излучения по частотам. Основной блок фурье-спектрометра (рис. 8.13) — интерферометр Майкельсона. Интерферометр содержит два взаимно перпендикулярных зеркала — неподвижное 1 и подвижное 2 — и полупрозрачную светоделительную пластину 3, расположенную в месте пересечения падающих пучков излучения и пучков, отраженных от обоих зеркал. Пучок излучения от источника 4, попадая на пластину 3, разделяется на два пучка. Один из них направляется на неподвижное зеркало 1, второй — на подвижное зеркало 2; затем оба пучка, отразившись от зеркал, выходят через светоделитель из интерферометра в одном и том же направлении. Далее излучение фокусируется на образце 5 и поступает на детектор излучения 6. Два пучка отличаются друг от друга оптической разностью хода, которая меняется в зависимости от положения подвижного зеркала. В результате интерференции пучков интенсивность результирующего потока $I(x)$ периодически меняется (модулируется). Частота модуляции зависит от частоты ν падающего излучения и смещения x подвижного зеркала. В результирующей интерферограмме выделяется так называемая *точка нулевой разности хода*, или *точка белого света*. В этой точке для всех частот наблюдается максимум; от нее ведут отсчет смещения подвижного зеркала. Для градуировки перемещений последнего часто используют интерферограмму монохроматического излучения от лазера (обычно гелий-неонового лазера), введенного в фурье-спектрометр.

При поглощении образцом излучения с какой-либо частотой наблюдается уменьшение интенсивности интерферограммы, соответствующей этой частоте. После проведения фурье-преобразования в полученном спектре наблюдается полоса поглощения образца. Преобразование Фурье переводит интенсивность результирующего потока $I(x)$ в интенсивность сигнала $I(\nu)$:

$$I(\nu) = \int I(x) \cos(2\pi x \nu) dx. \quad (8.73)$$

Преобразование осуществляют на компьютере, управляющем спектрометром.

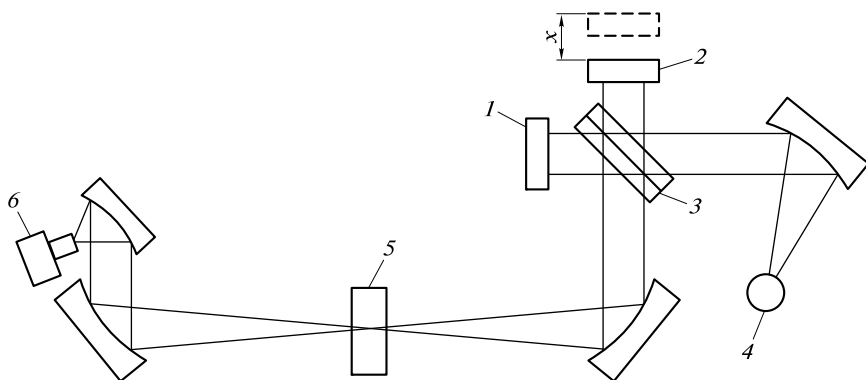


Рис. 8.13. Оптическая схема фурье-спектрометра:

1 — неподвижное зеркало интерферометра; 2 — подвижное зеркало; 3 — светоделительная пластинка; 4 — источник излучения; 5 — исследуемый образец; 6 — детектор излучения

Быстрое развитие и широкое применение фурье-спектроскопии обусловлены рядом преимуществ фурье-спектрометра по сравнению с дисперсионными приборами. Так называемый *выигрыш Фелжета*, или *мультиплекс-фактор*, связан с тем, что любая точка интерферограммы содержит информацию всей исследуемой спектральной области. На детектор в каждый момент поступают сигналы, соответствующие всем частотам.

За одно сканирование в течение времени t_1 регистрируют спектр с таким же отношением сигнал (S) : шум (N) — $(S/N)_{t_1}$, как и для дисперсионного спектрометра за время t_2 , на несколько порядков большее, чем t_1 . Если для получения спектра на фурье-спектрометре затратить время t_2 , то отношение сигнал : шум возрастает во много раз в соответствии с уравнением

$$(S/N)_{t_2} / (S/N)_{t_1} = (t_2/t_1)^{1/2}. \quad (8.74)$$

Другое важное преимущество фурье-спектрометра — *выигрыш Жакино*, или *геометрический фактор*, который определяется отсутствием диафрагм, задерживающих в дисперсионных спектрометрах до 99,9 % излучения, что дает значительный выигрыш в светосиле ($\sim$ в 100 — 200 раз). Это позволяет уменьшить время регистрации спектров и отношение сигнал : шум, а также повысить разрешение и уменьшить габариты прибора. Вследствие того, что интерферометр модулирует каждую частоту излучения различным образом, отсутствует влияние рассеянного излучения. Это обеспечивает высокую точность измерений даже большой оптической плотности. Любое излучение, исходящее из образца, не модулируется и не детектируется, так что в спектре отсутствуют ложные сигналы. Наличие сопряженного компьютера позволяет кроме вычисления спектра проводить и другие операции по обработке полученных экспериментальных данных, а также осуществлять управление и контроль за работой самого прибора. Имеются фурье-спектрометры для получения спектров в различных областях — от нескольких до десятков тысяч обратных сантиметров, в том числе спектров комбинационного рассеяния. На ИК фурье-спектрометрах достигнуто разрешение до $1,3 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$, точность определения волнового числа до 10^{-4} см^{-1} . Созданы приборы для видимой и УФ областей, для которых получают, в частности, эмиссионные спектры ряда элементов (U, Np, Pd, Ho и др.) с воспроизводимостью волновых чисел $\sim 10^{-6} \text{ см}^{-1}$ при отношениях $S/N > 10^3$.

Чувствительность аналитических определений на фурье-спектрометре обычно в 100 — 1 000 раз выше, производительность в сотни раз больше, погрешности измерений на порядок меньше, чем в случае использования дисперсионных приборов. Пределы обнаружения ряда веществ достигают 10^{-10} — 10^{-9} г , а использование микроскопа позволяет анализировать включения в образцах размерами $10 \times 10 \text{ мкм}^2$. С помощью фурье-спектроскопии можно изучать кинетику реакций, протекающих за время $\sim 1 \text{ мс}$.

Наибольшее применение фурье-спектроскопия нашла в тех исследованиях, для которых обычные методы малоэффективны или совсем неприменимы. С помощью фурье-спектроскопии были получены спектры планет в ближней ИК области в течение нескольких часов. В последние годы фурье-спектроскопия позволила получать не только спектры поглощения и люминесценции, но и спектры комбинационного рассеяния света, возбуждаемые в ближней ИК

области спектра. Фурье-спектроскопия широко применяется в химии, физике, биологии, в современных технологиях и для контроля окружающей среды.

8.5.2.3. Качественный анализ методом ИК-спектроскопии

Идентификацию неизвестного соединения по ИК спектрам, если такое соединение было получено ранее, можно осуществить, сравнивая его спектр с эталонным спектром. Для этого создают обширные картотеки спектров, компьютерные банки данных. Чрезвычайно важно при сравнении спектров обеспечить стандартность условий регистрации спектров. Как для эталонных спектров, которые могут иметь разный класс точности, так и для любых других спектров нужно обязательно указать марку спектрометра, условия регистрации спектра, способ подготовки пробы и другие важные параметры: степень чистоты, растворитель, агрегатное состояние, температуру измерения.

В настоящее время известно более 10 миллионов химических соединений и единой библиотеки для всех соединений нет. На практике создаются информационно-поисковые системы для различных областей химии, например элементоорганические соединения, геохимия, биохимия и т. п.

Идентификация вещества по ИК спектру является полностью достоверной только при точном совпадении со спектром эталона по частоте, форме и относительной интенсивности всех полос, т.е. всей спектральной кривой. Наличие в спектре идентифицируемого вещества большего числа полос по сравнению со спектром эталона может быть вызвано как различием веществ, спектры которых сравнивают, так и загрязнениями, примесями, зависящими от «истории» получения вещества и его очистки. Отсутствие же каких-либо полос в спектре, сравниваемом с эталонным, однозначно указывает — соединения не идентичны.

Кроме того, следует иметь в виду, что спектры, полученные на различных спектральных приборах или при разных условиях регистрации, могут существенно различаться. ИК спектры зависят от температуры, концентрации анализируемого вещества, растворителя и особенно от агрегатного состояния исследуемого вещества.

Одной из наиболее сложных задач анализа методом ИК-спектроскопии поглощения является идентификация неизвестных и ранее неизученных веществ. В то же время это одна из наиболее актуальных задач, поскольку в настоящее время ежегодно синтезируют ~ 100 000 новых веществ, каждое из которых требует идентификации.

Первый качественный анализ можно сделать на основании так называемых карт Колтупа, предложенных в 1950 г. В этих картах указаны спектральные области появления многих характеристических частот и возможные источники их появления.

Характеристическими называют одинаковые или мало отличающиеся друг от друга частоты колебаний определенных групп атомов в различных молекулах. Они соответствуют определенным типам химических связей: C—H, C—C, C=C, C≡C, C≡N, C=O и т. п.

Несмотря на то что при нормальном колебании в динамическом процессе участвуют все атомы молекулы, приближенно можно выделить различные груп-

пы или участки молекулы, движения в которых можно отделить друг от друга. Устойчивость характеристических частот связана с сохранением динамических свойств одинаковых групп атомов в разных молекулах. Интенсивности спектральных линий, соответствующих характеристическим частотам одинаковых групп в различных молекулах, часто имеют довольно близкие значения. Примеры некоторых характеристических частот поглощения в ИК спектрах приведены в табл. 8.4.

Следует еще раз подчеркнуть, что выделение характеристических частот является приближенным. Часто колебания различных групп молекулы перекрываются и, соответственно, данное приближение не выполняется. В таком случае нужны дополнительные расчеты молекулярных колебаний на основе предполагаемой модели молекулы и использование других физико-химических методов анализа, дающих дополнительную информацию для идентификации анализируемого вещества.

Не менее важна задача идентификации неизвестных примесей и загрязнений как в продукции различных производств химической, пищевой, медицинской промышленности, так и в окружающей среде. Часто использование только одного метода ИК-спектроскопии не позволяет однозначно идентифицировать неизвестное соединение. В этом случае существенно более эффективно комплексное исследование одного и того же соединения различными физико-химическими методами.

Для такого комплексного анализа в настоящее время разработано новое направление, которое называют *методом искусственного интеллекта* в аналитической спектроскопии. При этом подходе используют методы математической логики, теории графов, теории распознавания образов и вычислительную технику для моделирования способа рассуждения специалиста при иден-

Таблица 8.4

Характеристические частоты колебаний

Группа атомов	Колебания	Частота, см ⁻¹
C—H	Валентные	2 850 — 2 960
C—H	Деформационные	1 340 — 1 465
C—C	Деформационные и валентные	700 — 1 250
C=C	Валентные	1 620 — 1 680
C≡C	»	2 100 — 2 260
O—H	»	3 590 — 3 650
C—Cl	»	600 — 800
C—Br	»	500 — 600
C—I	»	400 — 500
CO ₃ ²⁻	»	1 410 — 1 450
NO ₃ ⁻	»	1 350 — 1 420
SO ₄ ²⁻	»	1 080 — 1 130

тификации вещества на основе корреляции: состав — структура — спектр (см. гл. 19).

Методы ИК-спектроскопии весьма эффективны для качественного анализа смесей частично известного состава или полностью неизвестного состава. Например, если известен основной компонент и нужно определить примеси, то можно использовать двухлучевой ИК-спектрометр, поместив в канал сравнения кювету с изменяемой толщиной и известным компонентом. Регулируя толщину слоя, можно скомпенсировать поглощение этого компонента в образце. При наличии в смеси нескольких известных или предполагаемых компонентов можно использовать разностный метод, вычитая из спектра смеси спектры известных компонентов.

Количественный анализ ИК-спектров затруднителен вследствие неточности определения абсолютной интенсивности линий, определяющих характеристическое поглощение аналита, а также тем, что соответствующие линии достаточно узки.

Одно из важнейших применений метода — анализ примесей вредных газов в атмосфере. Основные газы атмосферы O_2 и N_2 не дают ИК спектров, поэтому возможен дистанционный анализ загрязнений воздуха такими вредными газами, как SO_2 , CO , или парами ядовитых веществ (например, CH_3OH , $CH_3C(O)CH_3$, $CH_3C(O)C_2H_5$, $CHCl_3$ и др.) с характеристическими частотами в ИК спектре. Эти примеси можно определить с высокой степенью точности даже при относительно малых концентрациях.

Поскольку коэффициенты молярного поглощения ИК излучения сравнительно невелики ($\epsilon \leq 10^3$), пределы обнаружения составляют $10^{-1} - 10^0$ мас. % при стандартном отклонении $S_r \sim 0,05 - 0,20$, т.е. точность количественного определения соединений методом ИК-спектроскопии невелика. Поэтому в аналитической химии метод ИК-спектроскопии применяют преимущественно с целью идентификации соединений.

8.5.3. Спектроскопия комбинационного рассеяния

8.5.3.1. Основные понятия

В основе *спектроскопии комбинационного рассеяния* (КР) лежит явление неупругого рассеяния: квант света, падающий на образец, несколько изменяет свою энергию, а следовательно и частоту; это небольшое изменение связано с исследуемыми уровнями энергии. Поскольку этот процесс нерезонансный, обычно он проявляется очень слабо.

Комбинационное рассеяние света впервые было теоретически предсказано А. Смекалом в 1923 г. Экспериментально эффект комбинационного рассеяния света был открыт в 1928 г. Л. И. Мандельштамом и Г. С. Ландсбергом (СССР) для кристаллов и независимо от них Ч. В. Раманом и К. С. Кришнаном (Индия) для жидкостей.

Процесс комбинационного рассеяния можно описать следующим образом: при облучении образца монохроматическим светом, например от мощной ртутной лампы, наблюдается слабое рассеяние падающего излучения. Рассеяние обусловлено частицами пыли или неоднородностями среды (*тиндалевское*

рассеяние) и в меньшей степени — поляризуемостью среды (*рэлеевское рассеяние*). Как в том, так и в другом случае рассеянное излучение имеет ту же частоту, что и падающее. Однако помимо этих процессов имеет место еще и третий вид рассеяния — с частотами, отличающимися от частоты источника.

В классической модели принимают, что вещество содержит заряды, которые могут быть разделены, но удерживаются вместе некоторыми силами, действующими наряду с чистым кулоновским притяжением, природа которых не уточняется. Появление волны электромагнитного излучения на границе с веществом вызывает осциллирующее разделение этих зарядов, т.е. появляется осциллирующий электрический диполь, который излучает на частоте осцилляции; это излучение есть, вообще говоря, рассеяние. Рассеяние далеко отстоящими друг от друга частицами гораздо меньшего размера, чем длина волны излучения (как это имеет место в случае видимого света и разреженного газа), называют *единичным рассеянием*. Его критерием служит то, что рассеяние на одной частице не зависит от рассеяния на другой. В этом случае большая часть излучения проходит прямо через образец, а небольшая его часть рассеивается в другом направлении. Будем считать, что частица обладает поляризуемостью α , связывающей напряженность приложенного поля $\mathbf{E}$ с наведенным дипольным моментом $\boldsymbol{\mu}$ уравнением

$$\boldsymbol{\mu} = \alpha \mathbf{E} = \alpha A \cos(2\pi \mathbf{v}_0 t), \quad (8.75)$$

где A — амплитуда; $\mathbf{v}_0$ — частота; t — время.

В общем случае поляризуемость зависит от частоты поля $\mathbf{v}_0$, поэтому не следует ожидать, что для электромагнитного излучения и для статического поля она будет одинаковой. Диполь излучает согласно классическим законам. Если исходное излучение поляризовано, то и рассеяние может быть поляризовано, поскольку частицы изотропны, и направления векторов $\boldsymbol{\mu}$ и $\mathbf{E}$ совпадают; это и есть *рэлеевское рассеяние*, его интенсивность пропорциональна среднеквадратичному значению $\boldsymbol{\mu}$.

Облучаемая светом частица сама может испытывать некоторые периодические изменения (например, за счет теплового возбуждения), природа которых иная, чем в случае индуцированной осцилляции зарядов, о которой говорилось выше. Рассмотрим, например, колебание двухатомной молекулы, которое происходит с частотой ν . Ясно, что колебание будет влиять на поляризуемость; последняя в приближении гармонического осциллятора будет равна

$$\alpha(t) = \alpha[1 + b \cos(2\pi \nu t)], \quad (8.76)$$

где b — коэффициент, пропорциональный изменению поляризуемости молекулы в зависимости от межъядерного расстояния r , связанного с колебанием двухатомной молекулы:

$$b \propto d\alpha/dr.$$

Коэффициент b определяет интенсивность рассеяния.

Используя формулу (8.75), получим

$$\boldsymbol{\mu} = \alpha A \cos(2\pi \mathbf{v}_0 t) + \alpha A b \cos(2\pi \mathbf{v}_0 t) \cos(2\pi \nu t). \quad (8.77)$$

Применив известное тригонометрическое тождество:

$$\cos x \cos y = \frac{1}{2} [\cos(x + y) + \cos(x - y)],$$

второе слагаемое правой части уравнения (8.77) можно представить в виде

$$\alpha A b \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu t) = \frac{1}{2} \alpha A b \{ \cos[2\pi(\nu + \nu_0)t] + \cos[2\pi(\nu - \nu_0)t] \}. \quad (8.78)$$

Именно эти две частоты биения — $(\nu + \nu_0)$ и $(\nu - \nu_0)$, хотя и слабо, но проявляются в рассеянном излучении. В этом и состоит явление комбинационного рассеяния.

Если осветить жидкий хлор светом ртутной лампы длиной волны 546,1 нм и проанализировать рассеянный свет с помощью спектрографа, то можно обнаружить в спектре три линии с длинами волн 530,0, 546,1 и 563,2 нм. Интенсивности этих линий относятся примерно как 1 : 1000 : 2, т.е. излучение с длинноволновой стороны от линии источника излучения интенсивнее, чем с коротковолновой относительно линии рэлеевского рассеяния. Если перевести значения длин волн в волновые числа (см. уравнение (8.6)), то оказывается, что две слабые линии КР симметрично отстоят от линии рэлеевского рассеяния (линии источника) на расстоянии $+556 \text{ см}^{-1}$ и -556 см^{-1} соответственно, т.е. на частоту колебания молекулы хлора. В отличие от спектров КР колебания молекулы хлора не проявляются в ИК спектре. Таким образом, правила отбора в ИК-спектроскопии (см. уравнение (8.65)) отличаются от правил отбора для спектроскопии КР.

Колебания многоатомных молекул в общем случае также приводят к комбинационному рассеянию; при этом если молекула обладает некоторой симметрией, то действуют правила отбора. Для того чтобы колебание проявлялось в спектре КР, необходимо выполнение условия

$$d\alpha/dQ_i \neq 0 \quad (8.79)$$

для данного нормального колебания, описываемого координатой Q_i . Сопоставляя условие проявления данного колебания в ИК спектре (уравнение (8.65)) и условие (8.79), можно сделать вывод, что информация, которую дает ИК-спектроскопия, и информация, которую можно извлечь из спектров КР, дополняют друг друга при анализе данного вещества. Таким образом, ИК-спектроскопия и спектроскопия КР являются дополнительными (комплементарными) методами. Другие явления, относящиеся к комбинационному рассеянию, в частности вращательное и электронное комбинационное рассеяние, легче понять исходя из квантово-механических представлений.

Квантование различным образом сказывается на картине рассеяния. При единичном рэлеевском рассеянии рассматривают случайные соударения фотонов с частицами вещества. За соударением следует рассеяние фотона как целого; направление и поляризация этого фотона в среднем задаются классическим распределением. С помощью квантово-механического подхода можно глубже понять поляризуемость частицы. Примем, что частицы состоят из атомов. Поскольку электроны гораздо легче ядер, можно заключить, что поляризуемость обусловлена деформацией электронной оболочки. Используя язык квантовой механики, возможно описать такие деформации, как возмущения электронной волновой функции, включая все другие возможные электронные волновые функции системы.

Спектроскопия комбинационного рассеяния, или рамановская спектроскопия (Raman-Spectroscopy) — раздел оптической спектроскопии, изучающий взаимодействие монохроматического излучения с веществом, сопровождаю-

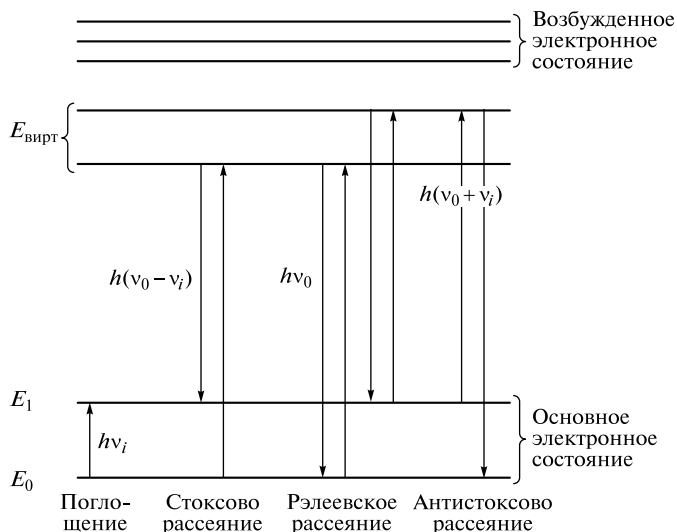


Рис. 8.14. Схема энергетических уровней, иллюстрирующая основные принципы комбинационного рассеяния (E_0 — основное состояние; E_1 — первое возбужденное колебательное состояние; $E_{\text{вирт}}$ — виртуальное электронное состояние)

щееся изменением энергии рассеянного излучения по сравнению с энергией падающего на объект (возбуждающего) излучения.

Как отмечалось, комбинационное рассеяние обусловлено неупругими столкновениями фотонов с молекулами (или ионами), в ходе которых они обмениваются энергией. По изменению энергии фотона можно судить об изменении энергии молекулы, т.е. о переходе ее на новый энергетический уровень. Схематически эти переходы показаны на рис. 8.14. Молекула, находящаяся в невозбужденном состоянии с энергией E_0 , под действием кванта с энергией $h\nu_0$ (h — постоянная Планка, ν_0 — частота падающего кванта) возбуждается в промежуточное (виртуальное) состояние с энергией $E_{\text{вирт}}$, откуда может либо вернуться в исходное состояние, испустив квант $h\nu_0$ (рэлеевское рассеяние), либо перейти в состояние E_i , испустив квант $h(\nu_0 - \nu_i)$, что приводит к появлению в спектре рассеянного излучения линий с частотами $(\nu_0 - \nu_i)$ — так называемые *стоксовы линии*. Если до поглощения фотона молекула находилась в возбужденном состоянии с энергией E_i , то после рассеяния света она может перейти как в исходное, так и в основное состояние E_0 ; тогда энергия возбуждающего света — $h\nu_0$, линии КР имеют частоты ν_0 и ν_i . Энергия рассеянного света возрастает, составляя $h(\nu_0 + \nu_i)$, что приводит к появлению в спектре линий с частотами $(\nu_0 + \nu_i)$ — так называемые *антистоксовы линии*.

Энергетическое состояние вещества характеризует разность энергий возбуждающего и рассеянного света $E_i + h\nu_i$, т.е. важнейшей характеристикой спектров КР являются не сами частоты, а их сдвиг относительно частоты рэлеевской линии. Стоксовы и антистоксовы линии располагаются симметрично относительно рэлеевской линии и образуют спектр КР; при этом сдвиги частот ν_i имеют значения $10\text{—}4000\text{ см}^{-1}$ и совпадают с частотами молекул,

наблюдаемыми в ИК спектрах поглощения. Спектр КР, как правило, представляет собой колебательный спектр. В области малых значений ν_i могут проявляться переходы между вращательными уровнями (вращательные спектры КР), реже — электронные переходы (электронные спектры КР). Таким образом, частоты рассеянного света являются комбинациями частоты возбуждающего света и колебательных и вращательных частот молекул. При обычной температуре стоксовы линии значительно интенсивнее антистоксовых, поскольку большая часть молекул находится в невозбужденном состоянии. При повышении температуры интенсивность антистоксовых линий растет из-за частичного теплового заселения возбужденных колебательных состояний E_i . Интенсивность стоксовых линий КР пропорциональна $(\nu_0 - \nu_i)^4$ при $\nu_0 \ll \nu_{эл}$ ($\nu_{эл}$ — частота электронного перехода), а при $\nu_0 = \nu_{эл}$ — резко возрастает (резонансное КР).

Для каждой конкретной линии КР интенсивность — функция поляризуемости молекул α в отличие от ИК поглощения, где интенсивность — функция дипольного момента молекулы μ . Значение наведенного дипольного момента определяется выражением

$$\mu = \alpha E + \frac{1}{2}\beta E^2 + \frac{1}{6}\gamma E^3 + \dots,$$

где E — напряженность электрического поля световой волны; α , β , γ — поляризуемость соответственно I, II, III порядка.

В случае обычного КР вторым и остальными членами разложения можно пренебречь, однако при больших интенсивностях возбуждающего света они дают существенный вклад.

Как отмечалось, различия в физической природе процессов рассеяния и поглощения света характеризуют разные правила отбора, т.е. одни и те же колебания проявляются либо в ИК спектрах, либо в спектрах КР, либо имеют разную интенсивность. Например, для молекул, обладающих центром симметрии, активные в спектре КР колебания не проявляются в ИК спектре, и наоборот (*правило альтернативного запрета*); колебательные и вращательные частоты простых бездипольных молекул (H_2 , O_2 , N_2 и др.), активные

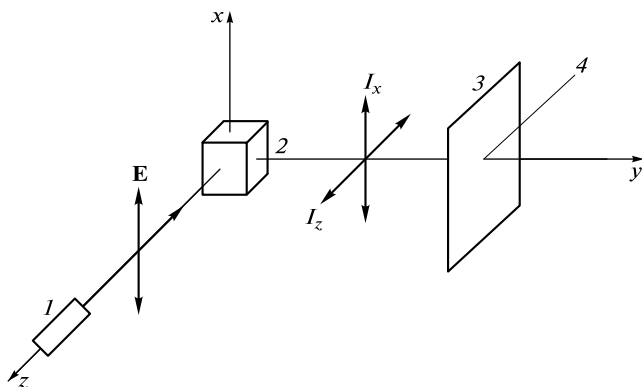


Рис. 8.15. Наблюдение спектра комбинационного рассеяния под углом 90° при возбуждении поляризованным светом:

1 — лазер; 2 — образец; 3 — анализатор; 4 — входная щель спектрометра

в спектрах КР, в ИК спектрах отсутствуют. Таким образом, спектры ИК и КР дополняют друг друга.

При комбинационном рассеянии происходит изменение поляризации света, характеризующееся *степенью деполяризации* ρ . При использовании для возбуждения лазера (рис. 8.15), излучение которого поляризовано в плоскости xz , имеем $\rho = I_z/I_x$, где I_z , I_x — интенсивность компоненты рассеянного света, поляризованного в направлении оси z и x соответственно. Для неплоскопараллельных колебаний (хаотически ориентированных молекул в газе или жидкой фазе) $\rho = 0,75$ (наблюдаются деполяризованные линии в спектре). Для плоскопараллельных колебаний $0 < \rho < 0,75$ (в спектре КР наблюдаются поляризованные линии), что позволяет использовать величину ρ для установления симметрии молекул. При возбуждении неполяризованным светом для неплоскопараллельных колебаний $\rho = 0,86$.

8.5.3.2. Качественный анализ методом спектроскопии комбинационного рассеяния

Комбинационное рассеяние света применяют для изучения органических и неорганических веществ в любых агрегатных состояниях, за исключением черных и глубоко окрашенных образцов и соединений, обладающих сильной флуоресценцией в видимой области спектра. По сравнению с ИК спектрами спектры КР имеют преимущества при исследовании водных растворов, тонких волокон, микрообъектов, при изучении низкочастотных колебаний.

Комбинационное рассеяние света позволяет идентифицировать вещества, определять отдельные химические связи и группы в молекулах, исследовать внутри- и межмолекулярные взаимодействия, различные виды изомерии, фазовые переходы, водородные связи, адсорбированные молекулы и катализаторы, обнаруживать микропримеси веществ, загрязняющих окружающую среду.

Использование лазеров значительно расширило границы применения комбинационного рассеяния света и привело к развитию ряда новых методов в спектроскопии КР. Возможность изменения длины волны возбуждения путем замены лазеров или с помощью лазера с перестраиваемой частотой привела к развитию спектроскопии резонансного КР, которое возникает, когда частота возбуждающего света попадает в область поглощения вещества. Этот метод позволяет определять низкие концентрации веществ, что особенно важно для биологии и биохимии. При возбуждении спектров КР лазерами большой мощности наблюдаются новые эффекты, обусловленные нелинейными членами в разложении (8.79). Гиперкомбинационное рассеяние связано с гиперполяризуемостью β и наблюдается в области частот $2(\nu_0 - \nu_i)$; позволяет измерять частоты колебаний, запрещенных и в спектрах КР, и в ИК спектрах; кроме того, в гиперкомбинационном рассеянии проявляются все активные в ИК спектрах колебания, которые могут быть легко идентифицированы, так как они поляризованы.

Когерентное антистоксово рассеяние света (Coherent Anti-Stokes Raman Scattering — CARS) связано с третьим членом в разложении (8.79), содержащим поляризуемость третьего порядка γ . При одновременном облучении образца двумя лазерами с частотами ν_1 и ν_2 , направленными под небольшим

углом, если разность $\nu_1 - \nu_2 = \nu_i$ совпадает с одной из внутримолекулярных частот, на частоте $2(\nu_1 - \nu_2)$ возникает направленное лазероподобное излучение, интенсивность которого значительно выше интенсивности обычного КР. Плавное изменение частоты ν_2 , можно получить весь спектр. Этот метод может быть использован для анализа веществ при высокой температуре. Под действием мощных лазеров может возникнуть также вынужденное комбинационное рассеяние, при котором рассеянные фотоны стимулируют (вынуждают) дальнейший процесс рассеяния. Интенсивность отдельных линий при этом резко возрастает и становится сравнимой с интенсивностью возбуждающего света.

При одновременном облучении образца интенсивным лазерным пучком частотой ν_0 и непрерывным белым излучением с частотами в интервале от ν_0 до $\nu_0 + 4000 \text{ см}^{-1}$ возникает спектр инверсного КР. При этом в спектрах поглощения наблюдаются частоты, активные в спектрах КР.

Новые возможности для исследования структуры оптически активных молекул в области колебательных переходов открывает спектр *кругового дихроизма* КР, представляющий собой разность спектров, полученных при возбуждении КР излучением, поляризованным по кругу вправо и влево.

Обнаружение резкого усиления (до 100 раз) интенсивности КР молекул на поверхности некоторых металлов (Ag, Au, Cu), так называемое гигантское КР, позволяет исследовать процессы адсорбции и гетерогенного катализа. В настоящее время выпускают спектрометры, которые регистрируют спектры КР бесцветных и окрашенных образцов в количествах до 10^{-4} г (10^{-4} мл).

Разработаны скоростные спектрометры с использованием импульсных лазеров до $\sim 10^{-14} \text{ с}$, а также приборы, которые сочетают лазер с микроскопом и позволяют получать спектры КР объектов размером порядка 1 мкм.

8.5.4. Люминесцентный анализ

8.5.4.1. Основные понятия

Люминесценция (лат. *lumen* — свет; *escent* — суффикс, означающий слабое действие) — один из видов излучения вещества, избыточного над тепловым излучением тела при данной температуре. Излучение наблюдается вследствие перехода электронно-возбужденных атомов, молекул, радикалов, ионов — так называемых *центров люминесценции* — в основное состояние. По длительности процесса излучения различают кратковременную люминесценцию, называемую *флуоресценцией* (время излучения от 10^{-13} до 10^{-7} с), и медленную люминесценцию, называемую *фосфоресценцией* (время излучения до нескольких минут). В 1852 г. Дж. Г. Стокс установил, что длина волны фотолюминесценции больше длины волны возбуждающего света (*правило Стокса*). В 1864 г. он предложил использовать явление люминесценции для качественного анализа органических веществ. Широкое применение люминесцентные методы анализа получили в 1930-е гг. благодаря работам С. И. Вавилова и его школы.

Процесс люминесценции может происходить в различных веществах, находящихся в разных агрегатных состояниях. Люминесцентными центрами могут быть атомы, молекулы, радикалы, ионы, эксимеры (от английского — *excited dimer*) и эксиплексы (от английского — *excited complex*) — молекулы и их соединения, устойчивые только в электронно-возбужденном состоянии. При

переходе в основное электронное состояние эксимеры и эксиплексы распадаются, испуская при этом квант электромагнитного излучения. Особенности излучения различных люминесцентных центров могут быть использованы в аналитических целях.

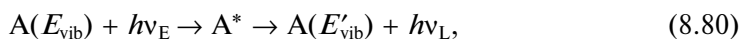
Для возбуждения люминесцентного центра могут быть использованы различные источники. Необходимое условие их эффективности — энергия излучения должна быть достаточна для возбуждения электронного перехода в исследуемом веществе. Возбуждение квантами света приводит к явлению *фотолюминесценции*. Если вещество возбуждается потоком электронов определенной энергии (длины волны), наблюдается *катодолюминесценция*. С помощью рентгеновского излучения можно возбудить *рентгенолюминесценцию*. На этом основан метод *рентгенофлуоресцентного анализа*. Под действием ионизирующего излучения возникает *радиолюминесценция*, или *сцинтилляция*. Воздействие электрического поля на исследуемое вещество приводит к *электролюминесценции*. Под действием трения возникает *триболюминесценция*. Ультразвуковое воздействие приводит к *сонолюминесценции*. Энергия, выделяемая в результате химической реакции, может быть источником *хемилюминесценции*. При адсорбции вещества на поверхности может выделяться энергия, достаточная для возбуждения люминесценции. Это явление называют *адсорболоминесценцией*, или *гетерохемилюминесценцией*. Разные виды люминесценции находят применение в различных вариантах метода люминесцентного анализа.

Наиболее универсальный метод возбуждения люминесценции — фотовозбуждение исследуемого вещества. Он используется чаще всего в атомных и молекулярных методах анализа. При фотовозбуждении легко регулировать длину волны возбуждающего излучения, его интенсивность и поляризацию. При анализе многокомпонентной смеси удастся возбудить электронный переход, сопровождающийся люминесценцией только одного из компонентов смеси. Таким образом можно проводить избирательный (селективный) анализ смеси веществ.

Процесс электронного возбуждения протекает очень быстро и характеризуется временем порядка 10^{-14} с — период колебания используемых электромагнитных волн. Электронное возбуждение сопровождается процессом внутримолекулярного колебательного перераспределения энергии — *колебательной релаксации* (Intramolecular Vibrational Relaxation — IVR), который протекает за время порядка 10^{-14} — 10^{-9} с.

Наиболее широкое применение в аналитических целях имеет молекулярная фотолюминесценция для веществ, находящихся в растворе.

Схематически процесс возбуждения и сопровождающий его процесс люминесценции возможно представить следующим образом:



где $A(E_{\text{vib}})$, $A(E'_{\text{vib}})$ — основное состояние центра люминесценции A соответственно до поглощения излучения и после испускания кванта люминесценции; E_{vib} , E'_{vib} — колебательная энергия основного состояния соответственно до поглощения излучения и после люминесценции соответственно; A^* — возбужденное состояние; $h\nu_{\text{E}}$ — энергия кванта фотовозбуждения; $h\nu_{\text{L}}$ — энергия кванта люминесценции.

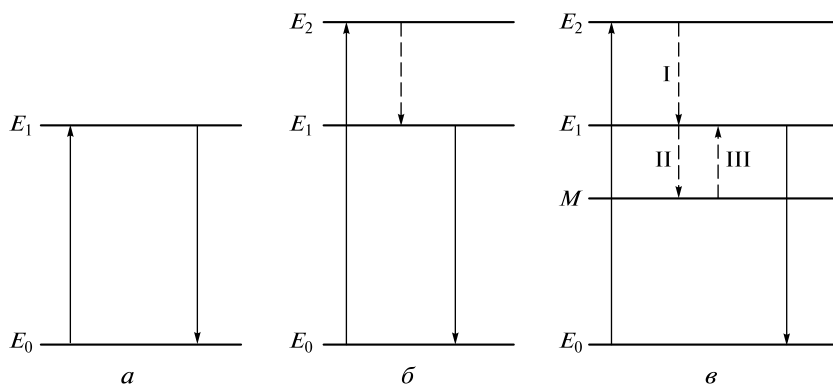


Рис. 8.16. Схема возникновения резонансной спонтанной (а), нерезонансной спонтанной (б) и вынужденной (в) люминесценции (E_0 — основное состояние; E_1 , E_2 — возбужденные состояния; M — метастабильное состояние люминесцентного центра; пунктирные стрелки I, II показывают безызлучательные переходы, III — термический переход люминесцентного центра из метастабильного состояния M в возбужденное состояние E_1 с последующим спонтанным излучательным переходом в основное состояние E_0)

Различают спонтанную и вынужденную люминесценцию возбужденного состояния A^* . *Спонтанная люминесценция* сопровождается разрешенным правилами отбора электронным переходом возбужденного центра люминесценции $A^* \rightarrow A$ в уравнении (8.80). Если энергия возбуждающего кванта $h\nu_E$ равна энергии электронного перехода, сопровождающего последующий процесс люминесценции, то наблюдается *резонансная люминесценция*. Вероятность такого перехода не зависит от температуры, определяющей распределение по колебательным уровням основного и электронно-возбужденного состояний центра люминесценции, и определяется только правилами отбора электронных переходов. Спектры спонтанной люминесценции наблюдаются для паров металлов и ряда сложных органических молекул, находящихся в растворах.

В ряде случаев прямой переход из возбужденного электронного состояния в основное мало вероятен вследствие запрета по правилам отбора. Тогда, например при повышении температуры, можно достичь возбужденного состояния, для которого спонтанный переход в основное состояние разрешен правилами отбора (рис. 8.16). Такому переходу соответствует спектр *вынужденной люминесценции*. Вынужденная люминесценция наблюдается в растворах сложных органических молекул при низких температурах, а также для соединений, локализованных в полимерных пленках, стекле и т. п.

8.5.4.2. Теоретические основы люминесценции

Механизм и особенности люминесценции. Классификация электронных состояний молекулы может быть проведена в соответствии с различными характеристиками, например по мультиплетности электронных состояний, типу химической связи — номенклатура Куша (Каша), свойствам симметрии молекулы.

В 1935 г. польский физик А. Яблонский для объяснения явлений флуоресценции и фосфоресценции предложил схему электронных переходов, в которой учитывался переход из возбужденного электронного уровня на промежуточный метастабильный уровень, на котором электрон, имеющий избыток энергии, может некоторое время удерживаться. Избыток энергии затем относительно медленно «высвечивается», и этим объясняется явление фосфоресценции. Тип метастабильного состояния А. Яблонский не конкретизировал. Им была также предложена схема, наглядно поясняющая ряд процессов, происходящих при возбуждении молекулы и последующем ее переходе в основное состояние. Схема учитывает различную мультиплетность основного и возбужденных электронных состояний. Диаграмма приведена на рис. 8.17.

В 1943 г. А. Н. Теренин выдвинул и обосновал положение о том, что метастабильные состояния являются триплетными, т.е. бирадикальными. Эти работы открыли новое направление в спектроскопии и люминесцентном анализе, связанное с изучением переходов между триплетными уровнями сложных органических и биоорганических молекул.

В основном электронном состоянии молекулярные орбитали большинства соединений заполнены парами электронов. Такое состояние называют *синглетным* и обозначают символом S_0 . В соответствии с принципом Паули электроны, заполняющие одну и ту же орбиталь, должны иметь противоположно направленные спины. Таким образом, спиновое квантовое число в основном

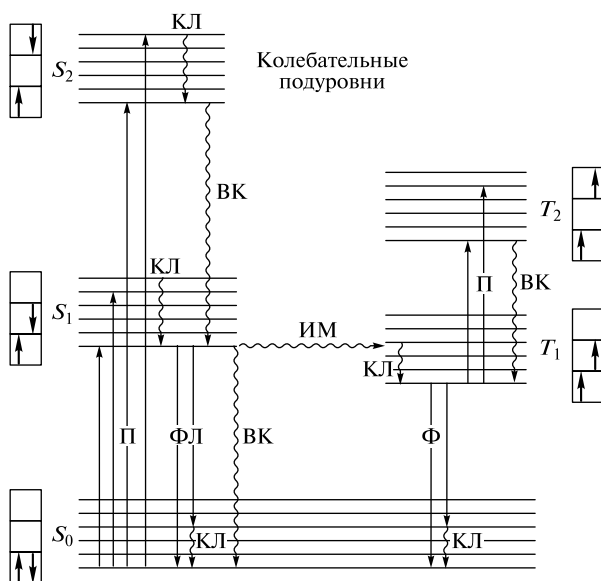


Рис. 8.17. Схема процессов электронно-колебательного возбуждения и дезактивации многоатомной молекулы (диаграмма Яблонского—Теренина) (S_0 — основное синглетное электронное состояние; S_1 , S_2 — возбужденные синглетные электронные состояния; T_1 , T_2 — возбужденные триплетные электронные состояния; П — поглощение; ФЛ — флуоресценция; Ф — фосфоресценция; КЛ — колебательная релаксация; ВК — внутренняя конверсия; ИМ — интеркомбинационная конверсия; прямыми стрелками показаны излучательные процессы, волнистыми — безызлучательные)

состоянии равно нулю. Мультиплетность состояния J равна единице в соответствии с названием — синглетное состояние (singlet state — S): $J = 2S + 1 = 1$. При электронном возбуждении противоположная ориентация спинов может сохраниться, и система снова окажется в синглетном состоянии — $S_1, S_2, \dots$. Переход $S_0 \rightarrow S_1, S_2, \dots$ в соответствии с принципами квантовой механики имеет наибольшую вероятность и называется *разрешенным*, что соответствует правилу отбора для электронных переходов:

$$\Delta J = 0 \Rightarrow \Delta S = 0. \quad (8.81)$$

Если при электронном возбуждении перешедший на верхнюю молекулярную орбиталь электрон ориентирован в том же направлении, что и электрон в основном состоянии S_0 , то результирующее квантовое число будет равно единице: $S = (+1/2) + (+1/2) = 1$; мультиплетность $J = 2S + 1 = 3$. Такая мультиплетность может быть и у молекул в основном состоянии. Примером является молекула кислорода O_2 .

При орбитальном движении электрона создается магнитное поле. В соответствии с принципами квантовой механики проекция спина электрона, находящегося в состоянии S , на ось, коллинеарную направлению магнитного поля электрона, может принимать три значения: $+1, 0, -1$. Такое состояние называют *триплетным* и обозначают буквой T (triplet state). Его энергия меньше энергии соответствующего возбужденного синглетного состояния — *правило Гунда*. Качественно это соответствует наименьшей энергии кулоновского отталкивания электронов, если они находятся на разных, ортогонально расположенных орбиталях. Правила отбора (8.81) для перехода $S_0 \rightarrow T$ не выполняются, поскольку $\Delta J \neq 0$. Следовательно, вероятность такого перехода мала. Существенную заселенность триплетного состояния можно создать при использовании источников излучения большой интенсивности, например импульсных ламп или импульсных лазеров.

Процесс излучения, обусловленный переходом между состояниями одинаковой мультиплетности, например $S_1 \rightarrow S_0$ или $T_1 \rightarrow T_0$, называют *флуоресценцией*; это быстрый процесс, характеризующийся временами порядка $10^{-13} - 10^{-7}$ с. Излучение света в результате перехода между электронными состояниями разной мультиплетности, например $T_1 \rightarrow S_0$ или $S_1 \rightarrow T_0$, называют *фосфоресценцией*. Вероятность этого процесса существенно ниже, чем флуоресценции, что определяет относительно большую длительность процесса фосфоресценции.

Деактивация электронно-возбужденного состояния молекулы может проходить в результате излучательного процесса (прямые стрелки на рис. 8.17) или безызлучательного процесса (волнистые стрелки на рис. 8.17). Безызлучательным процессом деактивации возбужденного состояния может быть внутренняя конверсия энергии возбуждающего излучения, интеркомбинационная конверсия или колебательная релаксация. Схематически эти процессы показаны на рис. 8.17.

Принцип Франка — Кондона. Рассмотрим одну из простейших молекулярных систем — двухатомную молекулу. Кривые потенциальной энергии основного и первого возбужденного электронного состояния этой молекулы представлены на рис. 8.18. Минимуму потенциальной энергии основного синглетного состояния S_0 соответствует равновесное межъядерное расстояние $r_e(S_0)$.

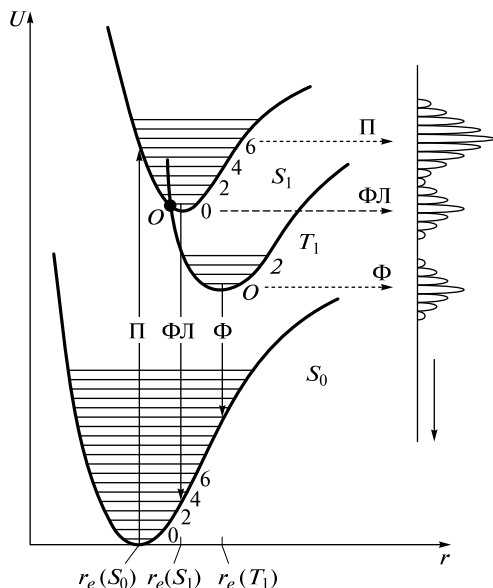


Рис. 8.18. Функции потенциальной энергии $U(r)$ двухатомной молекулы в основном S_0 и возбужденных S_1 и T_1 электронных состояниях (O — точка безызлучательного синглет-триплетного перехода; П — поглощение; ФЛ — флуоресценция; Ф — фосфоресценция; указаны колебательные квантовые числа $\nu = 0, 1, 2, \dots$, соответствующие колебательным энергетическим уровням)

В первом возбужденном синглетном состоянии S_1 равновесное межъядерное расстояние $r_e(S_1) > r_e(S_0)$. Электронный переход $S_0 \rightarrow S_1$ происходит за время $\sim 10^{-14}$ с. Принимая во внимание, что масса ядер молекулы водорода примерно в 1836 раз больше массы электронной подсистемы молекулы ($m_p/m_e = 1836,1515$), смещением ядер в процессе электронного перехода можно пренебречь.

Принцип Франка—Кондона утверждает, что наиболее вероятным является переход из основного в возбужденное электронное состояние с сохранением межъядерных расстояний и скоростей ядер основного состояния. Принцип Франка—Кондона соответствует адиабатическому приближению или приближению Борна—Оппенгеймера и основан на приближенном разделении полной энергии молекулы на электронную энергию и энергию движения ядер — колебательную и вращательную (см. подразд. 8.2). Впервые принцип Франка—Кондона был сформулирован в 1925 г. Дж. Франком на основе полуклассических представлений, а Э. Кондон в 1926 г. дал его квантовомеханическую трактовку, включающую правило распределения интенсивности электронных спектров.

Наиболее вероятному взаимному положению ядер двухатомной молекулы в основном электронном состоянии соответствует значение межъядерного расстояния, близкое к равновесному $r_e(S_0)$. Таким образом, при электронном переходе в возбужденное состояние это расстояние сохранится (вертикальная стрелка на рис. 8.18). В возбужденном электронном состоянии S_1 при межъядерном расстоянии $r_e(S_0)$ молекула будет находиться в возбуж-

денном колебательном состоянии ($\nu' > 0$). Возбужденная молекула может передать часть колебательной энергии при столкновении с окружающими невозбужденными молекулами. Для многоатомной молекулы избыточная колебательная энергия в одном (или группе) колебании может перераспределиться по всем $3N - 6$ ($3N - 5$) нормальным колебаниям. Таким образом, часть энергии электронного возбуждения перейдет в колебательную (и вращательную) энергию. Следовательно, в общем случае при переходе в основное состояние S_0 энергия излучаемого кванта будет меньше энергии кванта возбуждения:

$$h\nu_E > h\nu_L, \text{ т. е. } \nu_E > \nu_L \text{ или } \lambda_E < \lambda_L. \quad (8.82)$$

Соотношение (8.82) объясняет известное эмпирическое *правило Стокса — Ломмеля*: спектр люминесценции всегда сдвинут в сторону длинных волн по сравнению со спектром поглощения данной молекулы.

Вследствие конечной ширины спектра возбуждающего излучения происходит одновременное увеличение заселенности нескольких колебательных состояний электронно-возбужденной молекулы.

Например, $S_0(\nu_0 = 0) \rightarrow S_1(\nu'_1 < n)$; $n = 1, 2, \dots, n_{\max}$ — максимальное значение существенно заселенного колебательного уровня; ν_0, ν'_1 — колебательные квантовые числа электронных состояний S_0 и S_1 соответственно.

Последующий процесс, сопровождающийся переходами между различными возбужденными и невозбужденными колебательными состояниями, приводит к формированию равновесного колебательного распределения для данной температуры окружающей среды; этот процесс называют *колебательной релаксацией*. Его характеристическое время для люминесцентных центров, находящихся в растворе, составляет $\sim 10^{-12}$ с. Например, для низких температур, когда преимущественно заселен только нулевой колебательный уровень ($\nu_0 = 0$), этот процесс можно представить схематически:

$$S_1(\nu'_1 \leq n) \rightarrow S_1(\nu_0 = 0).$$

В возбужденной молекуле возможен также безызлучательный переход между двумя электронными состояниями без изменения мультиплетности:

$$S_2(\nu_2'') \rightarrow S_1(\nu_1')$$

или

$$T_2(\nu_2'') \rightarrow T_1(\nu_1'),$$

где ν'_1, ν_2'' — колебательные квантовые числа, соответствующие некоторым колебательным распределениям в электронных состояниях S_1, T_1 и S_2, T_2 соответственно.

Этот процесс называют *внутренней конверсией*. Он осуществляется между достаточно близкими по энергии состояниями. Безызлучательный переход может также осуществляться между близкими по энергии электронными состояниями различной мультиплетности, например: $S_1 \rightarrow T_1$ или $T_1 \rightarrow S_1$. Такой процесс называют *интеркомбинационной конверсией*. Все эти процессы могут конкурировать между собой. Тогда общая кинетика безызлучательных переходов будет определяться соответствующими константами скоростей процессов, их характеристическими временами, определяемыми составом и структурой возбуждаемого люминесцентного центра и уровнем его возбуждения.

Энергетический и квантовый выход люминесценции. Количественными характеристиками люминесценции являются:

- **абсолютный энергетический выход** $\Phi_{\text{ЭН}}$ (или **энергетический выход**); определяется отношением излучаемой энергии E_L к энергии, поглощаемой при возбуждении излучения E_A :

$$\Phi_{\text{ЭН}} = \frac{E_L}{E_A} = \frac{N_L h \langle \nu_L \rangle}{N_A h \langle \nu_A \rangle} = \frac{N_L \langle \nu_L \rangle}{N_A \langle \nu_A \rangle}, \quad (8.83)$$

где N_L , N_A — число квантов люминесценции и поглощенного излучения соответственно; h — постоянная Планка; $\langle \nu_L \rangle$, $\langle \nu_A \rangle$ — среднее значение частоты излучения и поглощения соответственно;

- **квантовый выход люминесценции** $\Phi_{\text{КВ}}$ определяется отношением числа излучаемых квантов к числу поглощенных:

$$\Phi_{\text{КВ}} = \frac{N_L}{N_A}. \quad (8.84)$$

Таким образом, из соотношений (8.83), (8.84) следует, что энергетический и квантовый выходы люминесценции связаны между собой простым соотношением

$$\Phi_{\text{ЭН}} = \Phi_{\text{КВ}} \frac{\langle \nu_L \rangle}{\langle \nu_A \rangle}. \quad (8.85)$$

Из уравнения (8.85) видно, что если $\langle \nu_L \rangle < \langle \nu_A \rangle$, то $\Phi_{\text{ЭН}} < \Phi_{\text{КВ}}$.

Вероятности излучательных α и безызлучательных β переходов могут существенно различаться. Если N — общее число возбужденных молекул, то число квантов люминесценции равно

$$N_L = N\alpha.$$

Число поглощенных квантов составит

$$N_A = N\alpha + N\beta = N(\alpha + \beta).$$

Тогда, принимая во внимание определение (8.84), получим

$$\Phi_{\text{КВ}} = \frac{\alpha}{\alpha + \beta}. \quad (8.86)$$

Вследствие многочисленности безызлучательных процессов вероятность β сравнима с вероятностью излучательных процессов α или существенно больше ее, поэтому $\Phi_{\text{КВ}} \ll 1$. Квантовый выход зависит от состава и структуры центра люминесценции, природы растворителя, температуры, наличия посторонних примесей.

Для всех частот, определяющих спектр возбуждения молекулы, находящейся в растворе, вероятности излучательных α и безызлучательных β переходов равны. Это объясняется тем, что процессы колебательной релаксации происходят очень быстро: за время порядка 10^{-12} с молекулы приобретают температуру окружения (среды). Вследствие этого выполняется **закон С. И. Вавилова**: квантовый выход люминесценции в растворах не зависит от длины волны возбуждающего излучения для любого ее значения в области полосы поглощения. Если при

фотовозбуждении молекулы переходят в разные электронные состояния, то квантовый выход может меняться, и закон С. И. Вавилова не будет выполняться. Неселективное и не возбуждающее люминесценцию поглощение примесями или основным веществом оказывается больше возбуждающего люминесценцию, что приводит к уменьшению доли возбуждающих люминесценцию квантов из всех поглощенных, т. е. к падению выхода люминесценции.

В газовой фазе или парах при увеличении энергии возбуждающего кванта (уменьшении длины волны возбуждающего излучения) растет вероятность процессов безызлучательной дезактивации β . Вследствие этого с уменьшением длины волны возбуждающего излучения в соответствии с уравнением (8.86) квантовый выход уменьшается.

Измерение абсолютных значений квантовых выходов $\Phi_{\text{ЭН}}$ и $\Phi_{\text{КВ}}$ представляет достаточно сложную задачу. Поэтому в практике аналитических исследований измеряют так называемый *относительный выход люминесценции* ϕ путем измерения интенсивности люминесценции I_L в зависимости от концентрации C при неизменных условиях возбуждения.

При непрерывном возбуждении образца (и отсутствии тушения люминесценции) интенсивность люминесценции пропорциональна числу испускаемых квантов:

$$I_L = \chi_1 N_L = \chi_1 \Phi_{\text{КВ}} N_A, \quad (8.87)$$

где χ_1 — коэффициент пропорциональности.

Число поглощенных квантов N_A пропорционально интенсивности поглощенного света:

$$N_A = \chi_2 (I_0 - I), \quad (8.88)$$

где I_0 — интенсивность падающего излучения; I — интенсивность света, прошедшего через раствор; χ_2 — коэффициент пропорциональности.

Объединяя соотношения (8.87) и (8.88), получим выражение, позволяющее определять относительный квантовый выход:

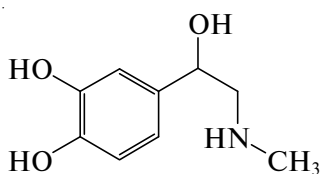
$$\phi = [\chi_1 \chi_2 (I_0 - I)]^{-1} I_L. \quad (8.89)$$

Если в течение всей серии измерений количество поглощенной энергии не меняется, то изменение интенсивности люминесценции I_L дает изменение относительного квантового выхода, поскольку коэффициент $[\chi_1 \chi_2 (I_0 - I)]$ в уравнении (8.89) остается постоянным.

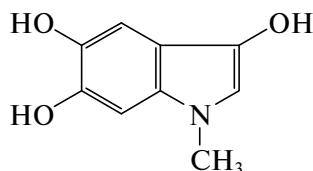
Тушение люминесценции. Из уравнения (8.86) следует, что увеличение вероятности β безызлучательных переходов приводит к уменьшению квантового выхода люминесценции. *Тушением люминесценции* называют процессы, приводящие к безызлучательным переходам энергии, поглощенной центром люминесценции. Как отмечалось выше, основные пути физической безызлучательной дезактивации возбужденного состояния связаны с внутримолекулярными релаксационными процессами: колебательной релаксацией, внутренней конверсией и интеркомбинационной конверсией (см. диаграмму Яблонского — Теренина; рис. 8.17). При этом избыточная энергия молекулы переходит в тепловую энергию.

Внутримолекулярные процессы безызлучательной дезактивации являются одним из главных каналов перехода поглощенной энергии. В предельном слу-

чае вся поглощенная энергия расходуется в этом процессе: квантовый выход люминесценции равен нулю. С этим связано одно из ограничений метода люминесцентного анализа — он не столь универсален, как фотометрические методы, основанные на поглощении излучения. Наибольшей способностью к люминесценции обладают симметричные молекулы с протяженной системой сопряженных связей, склонные к образованию *орто*- и *пара*-хиноидных колец. Наиболее важным фактором, обуславливающим люминесценцию молекул, является жесткая плоская структура молекулы. Жесткой плоской структуре молекул способствует образование новых хелатных циклов или появление внутримолекулярных водородных связей. Например, известный гормон адреналин не люминесцирует, но при окислении превращается в ярко люминесцирующий триоксидон, бициклическая молекула которого имеет жесткую систему сопряженных связей:

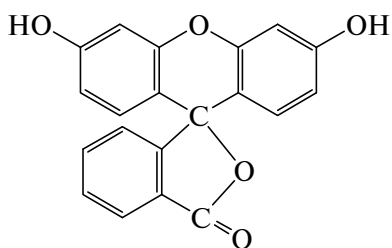


Адреналин

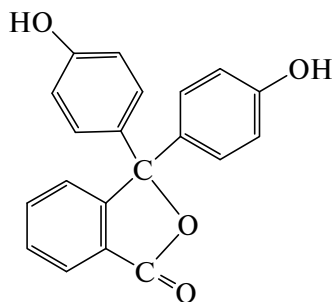


Триоксидон

Люминесцирующий флуоресцеин отличается от нелюминесцирующего фенолфталейна только тем, что кислородный мостик в молекуле флуоресцеина жестко удерживает два кольца в одной плоскости, что способствует взаимодействию систем электронов этих колец:



Флуоресцеин



Фенолфталейн

Электронодонорные заместители в большинстве случаев уменьшают вероятность безызлучательных процессов, а электроноакцепторные, за исключением группы $-\text{CN}$, увеличивают. Их взаимное расположение также влияет на вероятность каналов дезактивации возбуждения.

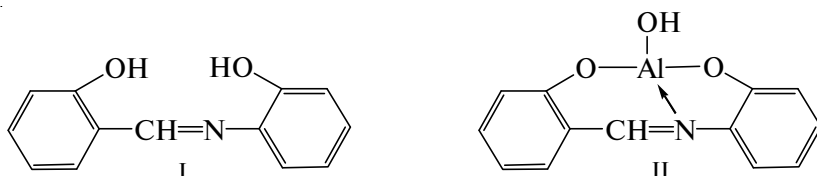
Для нежестких структур, например молекул, в которых возможно внутреннее вращение и для которых характерны низкие энергетические барьеры перехода между различными конформациями, возрастает вероятность безызлучательной дезактивации.

Кроме того, тушение люминесценции может происходить при межмолекулярном процессе передачи энергии возбуждения окружающим молекулам растворителя или примесей. При увеличении концентрации определяемого вещества возрастает вероятность передачи части энергии возбуждения невозбужденным молекулам этого соединения. Проявление такого процесса, называемого *концентрационным тушением люминесценции*, усиливается при увеличении концентрации $C > 10^{-3}$ моль/л.

Возможно также протекание разнообразных фотохимических процессов с участием центра люминесценции. Примерами являются мономолекулярные реакции фотовозбужденных молекул — фотодиссоциация и фотоизомеризация. Возбуждающее излучение может также инициировать различные бимолекулярные реакции, например реакции люминесцентного центра с молекулой — тушителем люминесценции. Для уменьшения вероятности процессов внутреннего тушения люминесценции и, соответственно, повышения квантового выхода люминесценции в аналитической практике используют различные способы, которые придают структуре молекулы жесткость или создают вокруг молекулы или иона, находящегося в конденсированном состоянии, жесткое окружение — матрицу.

Для этого используют следующие методы:

- замораживание раствора;
- адсорбцию или абсорбцию анализируемого вещества из раствора;
- диффузионное внедрение ионов при повышенной температуре в кристаллическую решетку, приводящее к образованию кристаллофосфоров;
- химическую модификацию с использованием реакций комплексообразования или окисления-восстановления, приводящую к образованию жестких структур; примером может служить реакция лиганда (2-гидроксифенил)-[(2-гидроксифенил)имино]метана (I) с ионами Al^{3+} с образованием хелатного комплекса (II), молекула которого интенсивно флуоресцирует в отличие от исходного лиганда:



В большинстве случаев увеличение квантового выхода люминесценции наблюдается при уменьшении ионного радиуса элемента-комплексообразователя, при увеличении его заряда и константы связывания.

Кинетика затухания люминесценции. В отсутствие безызлучательных процессов дезактивации скорость уменьшения числа возбужденных люминесцентных центров пропорциональна их количеству:

$$-dn/dt = k_1 n, \quad (8.90)$$

где n — число возбужденных центров люминесценции; t — время; k_1 — константа скорости процесса излучения.

Проводя интегрирование в уравнении (8.90) с учетом того, что в начальный момент времени ($t = 0$) после возбуждения имеется n_0 возбужденных центров люминесценции, получим

$$n = n_0 \exp(-k_1 t). \quad (8.91)$$

Обратим внимание на аналогию уравнения (8.91) и уравнения, описывающего радиоактивный распад (см. гл. 14).

Мощность люминесценции P_L определяется скоростью испускания квантов излучения. Используя уравнение (8.91), получим

$$P_L = -dn/dt = k_1 n_0 \exp(-k_1 t) = P_{L0} \exp(-k_1 t), \quad (8.92)$$

где P_{L0} — мощность излучения в начальный момент времени.

Поскольку интенсивность излучения I_L определяется отношением мощности P_L к пространственному углу Ω (см. подразд. 8.2), имеем

$$I_L = P_L/\Omega = (P_{L0}/\Omega) \exp(-k_1 t) = I_{L0} \exp(-k_1 t), \quad (8.93)$$

где I_{L0} — интенсивность излучения в начальный момент времени.

Среднее время жизни τ_0 возбужденного люминесцентного центра определяется как интервал времени, за которое интенсивность излучения уменьшается в e раз. Таким образом, имеем

$$I_L/I_{L0} = \exp(-1) = \exp(-k_1 \tau_0), \quad (8.94)$$

тогда $k_1 \tau_0 = 1$, или

$$\tau_0 = 1/k_1. \quad (8.95)$$

Для оценки порядка величины τ_0 можно принять $k_1 \sim 10^4 \epsilon(\lambda_{\max})$ (с^{-1}), где $\epsilon(\lambda_{\max})$ — максимальное значение коэффициента молярного поглощения. Для многих хорошо поглощающих веществ, например ряда красителей, $\epsilon(\lambda_{\max}) \sim 10^5 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Следовательно, время жизни возбужденного центра имеет порядок $\tau_0 \sim 10^{-9} \text{ с}$.

Как отмечалось выше, процесс излучения конкурирует с мономолекулярными процессами дезактивации (внутреннего тушения) и межмолекулярными процессами взаимодействия центра люминесценции с молекулами окружения. В этом случае время жизни возбужденного состояния τ_E определяется всеми отмеченными выше процессами и уменьшается по сравнению с τ_0 :

$$\tau_E = 1/(k_1 + k_2 + k_3), \quad (8.96)$$

где k_2 — константа скорости мономолекулярного безызлучательного процесса (внутреннего тушения); k_3 — константа скорости бимолекулярного процесса дезактивации центра люминесценции.

Спектр возбуждения и спектр люминесценции. *Спектр возбуждения* представляет собой распределение интенсивности излучения исследуемого образца, измеренной при данной фиксированной длине волны λ_L (или частоте ν_L), по длинам волн λ_E или частотам ν_E возбуждающего света.

Спектр люминесценции представляет собой распределение интенсивности излучения исследуемого образца по длинам волн λ_L (или частотам ν_L). В обычных измерениях спектры люминесценции регистрируют при фиксированной длине волны возбуждающего излучения λ_E (или частоте ν_E).

При пересчете спектра возбуждения люминесценции в значения оптической плотности $A = \lg(I_0/I)$ получаем спектр поглощения, характеризующий зависимость коэффициента молярного поглощения $\varepsilon(\lambda_E)$ от длины волны λ_E (или частоты возбуждающего излучения ν_E).

Спектры люминесценции и спектры поглощения сложных молекул имеют слабо разрешенную («размытую») колебательную структуру либо вообще не имеют колебательной структуры. Они представляют собой широкую (несколько десятков нанометров) сплошную полосу с единичными экстремумами (рис. 8.19). Длинноволновая часть спектра испускания и коротковолновая часть спектра поглощения в частотных координатах являются взаимным зеркальным отображением, если соответствующие спектры нормированы.

Эта особенность отражает так называемое *правило зеркальной симметрии Лёвшина*.

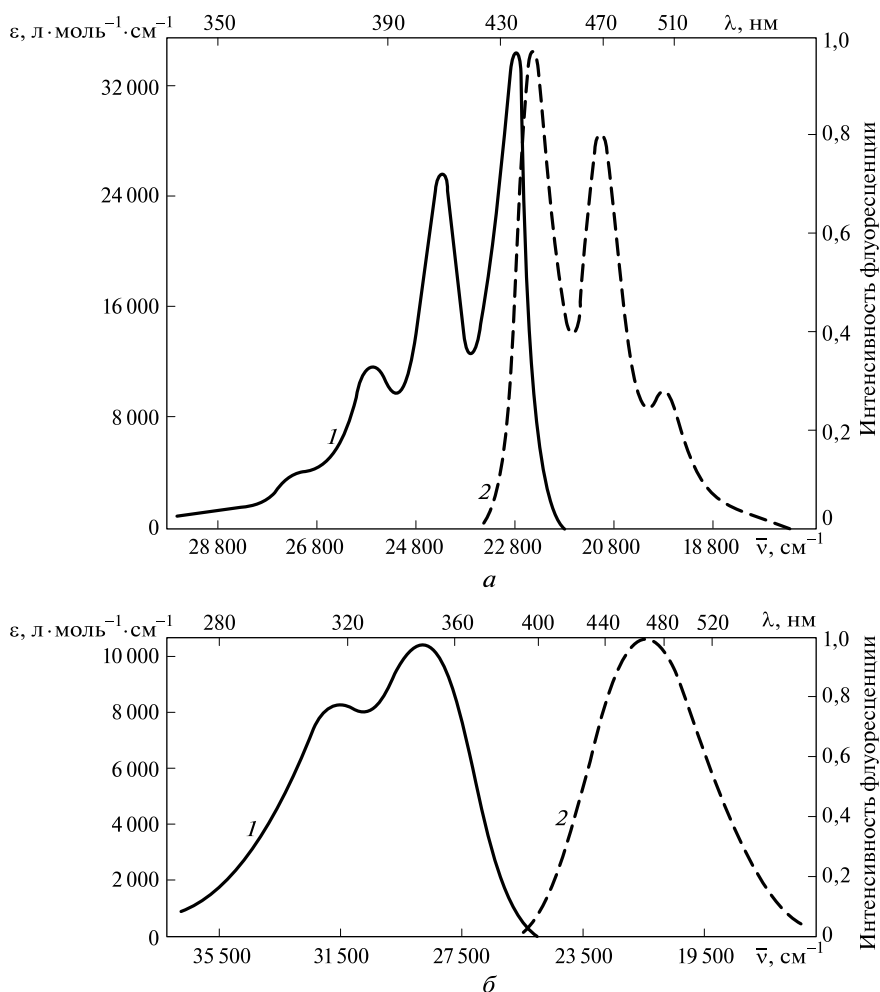


Рис. 8.19. Спектры поглощения (1) и флуоресценции (2) перилена в бензоле (а) и хининбисульфата в 1 М растворе H_2SO_4 (б)

Положение оси симметрии соответствует энергии чисто электронного перехода, например $S_0(v=0) \rightarrow S_1(v=0)$. Расстояние от оси симметрии до максимумов полос поглощения и люминесценции дает наиболее вероятное значение избытка колебательной энергии, сообщаемой молекуле при возбуждении. Зеркальная симметрия спектров наблюдается только тогда, когда распределение колебательной энергии в основном и возбужденном состояниях тождественно и электронные переходы, сопровождающиеся одинаковым возрастанием колебательной энергии, имеют одинаковую относительную вероятность. При различных внешних воздействиях (например, нагревании, замене растворителя) зеркальная симметрия будет сохраняться лишь в тех случаях, когда влияние этих воздействий на основное состояние молекулы одинаково. Однако на практике это условие соблюдается очень редко. Это относится как к спектрам флуоресценции, так и к спектрам фосфоресценции.

Особенность спектров фосфоресценции состоит в том, что они смещены в более длинноволновую область по сравнению со спектром флуоресценции, поскольку фосфоресценции соответствует переход с более низко расположенного уровня T_1 (см. рис. 8.17). Например, если значение $\lambda_{\max}$ в спектре флуоресценции бензола, нафталина и антрацена составляет 262, 320 и 379 нм соответственно, то в спектре флуоресценции — 339, 470 и 670 нм.

Спектры различных молекул, имеющие вид широких бесструктурных полос, могут отличаться друг от друга лишь положением максимума, а по форме быть сходными. Невысокая характеристичность спектров люминесценции сложных молекул заметно снижает избирательность (селективность) люминесцентных методов анализа.

Электронная структура молекул и спектры люминесценции. Для соединений, содержащих только s - и p -элементы, для описания основных электронных переходов в молекуле можно использовать достаточно эффективную классификацию Куша по молекулярным орбиталям (МО). В рамках такой упрощенной классификации различают три основных типа МО, соответствующих трем состояниям электронов в молекулах: σ , π , n .

σ -Электроны участвуют в образовании одинарной связи при максимальном перекрывании атомных орбиталей на оси, соединяющей ядра связанных атомов. Образование такой связи может происходить в результате взаимодействия s -, p -, sp -, sp^2 - и sp^3 -электронов.

π -Электроны участвуют в образовании двойной связи. Одна пара электронов образует σ -связь, другая пара — π -связь при боковом перекрывании атомных орбиталей с максимумом перекрывания в плоскости, перпендикулярной оси, соединяющей ядра связанных атомов.

n -Электроны представляют собой неподеленную пару электронов атомов O, N, S и других локализованных на этом атоме и не участвующих в образовании химической связи.

Схема расположения МО σ , π , n приведена на рис. 8.20, где также показаны типы основных электронных переходов между различными орбиталями при поглощении молекулой квантов электромагнитного излучения различной энергии.

Как видно на рис. 8.20, переход $\sigma \rightarrow \sigma^*$ требует наибольшей энергии. Он наблюдается при возбуждении УФ излучением длиной волны менее 180 нм.

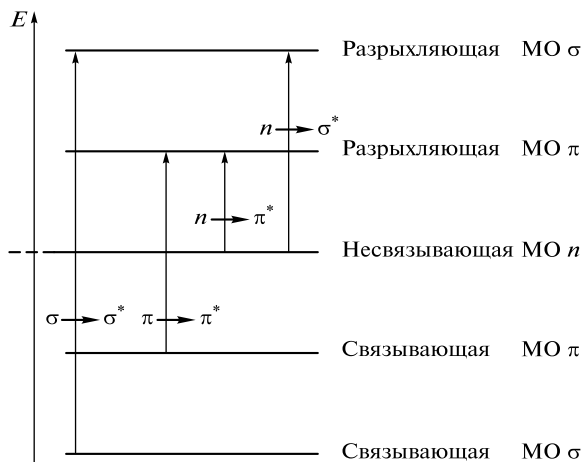


Рис. 8.20. Типы основных электронных переходов (согласно классификации Куша по молекулярным орбиталям (МО))

Например, для карбонильной группы в молекуле формальдегида $\text{H}_2\text{C}=\text{O}$ соответствующий переход наблюдается при $\lambda_{\text{max}} = 167 \text{ нм}$. Переход $\pi \rightarrow \pi^*$ происходит при поглощении кванта света существенно меньшей энергии (ближняя УФ или видимая область спектра). Если переходы $\pi \rightarrow \pi^*$ не запрещены по симметрии, они имеют значительную интенсивность, им соответствуют значения $\epsilon(\lambda_{\text{max}}) \sim 10^3 - 10^5 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Часто именно эти переходы обуславливают флуоресценцию молекул. Поэтому наличие системы двойных связей в молекуле является существенной предпосылкой появления люминесценции. Молекулы, имеющие только σ -связи, лишь в редких случаях дают спектры флуоресценции. Полосы поглощения, соответствующие переходу $n \rightarrow \sigma^*$, расположены обычно в УФ области, полосы поглощения $n \rightarrow \pi^*$ — в ближней УФ и видимой областях спектра (табл. 8.5). В незамещенных ароматических углеводородах, которые обычно дают спектр флуоресценции, энергия синглет-синглетного перехода $\pi \rightarrow \pi^*$ ($S_0 \rightarrow S_1$) уменьшается с ростом числа сопряженных связей. В результате бензол флуоресцирует в УФ области, антрацен — в синей, а пентацен — в красной области спектра.

Введение в молекулу ароматического соединения даже одной функциональной группы, взаимодействующей с системой сопряженных связей, вызы-

Таблица 8.5

Некоторые характеристики синглетных состояний n , π^* и π , π^*

Состояние	$\epsilon(\lambda_{\text{max}}), \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$	$\tau_0, \text{ с}$	Разность энергий состояний S_1 и T_1	Скорость процесса интеркомбинационной конверсии $S_1 \rightarrow T_1$
n, π^*	$10^1 - 10^3$	$10^{-7} - 10^{-5}$	Мала	Больше, чем для флуоресценции
π, π^*	$10^3 - 10^5$	$10^{-9} - 10^{-7}$	Велика	Имеет тот же порядок, что и для флуоресценции

вает смещение спектров в длинноволновую область — батохромный сдвиг. При этом может изменяться соотношение интенсивностей флуоресценции и фосфоресценции. Этот эффект наблюдается при введении как электронодонорных ($-\text{NH}_2$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OH}$, $-\text{CH}_3$), так и электроноакцепторных ($-\text{CN}$, $-\text{COOH}$, $-(\text{CO})\text{CH}_3$, $-\text{NO}_2$) групп (табл. 8.6).

Способность к люминесценции обнаруживают очень многие органические красители. Наиболее значительным фактором, обуславливающим их флуоресценцию, является наличие жесткой плоской структуры и системы сопряженных связей.

Влияние внешних факторов на люминесцентные характеристики молекул.

Как отмечалось, способность к фотолюминесценции многоатомных молекул и характер их спектров возбуждения и люминесценции во многом определяются их структурой. Однако такие внешние факторы, как природа растворителя, примеси, температура могут существенно влиять на люминесцентные характеристики.

При всем многообразии влияния внешних факторов можно выделить два основных проявления:

- 1) изменение положения максимумов и формы полос поглощения излучения;
- 2) изменение квантовых выходов флуоресценции и фосфоресценции.

Изменение квантовых выходов люминесценции связано с изменением соотношения скоростей различных процессов дезактивации возбужденных состояний центров люминесценции в зависимости от растворителя, наличия примесей, концентрации молекул определяемого вещества, а также изменения интенсивности теплового движения при нагревании или охлаждении системы.

Изменение спектральных характеристик обусловлено прежде всего изменением энергии основного и возбужденного состояний люминесцирующей молекулы под действием внешнего окружения, примесей, температуры. Например, примесное вещество может взаимодействовать с невозбужденными

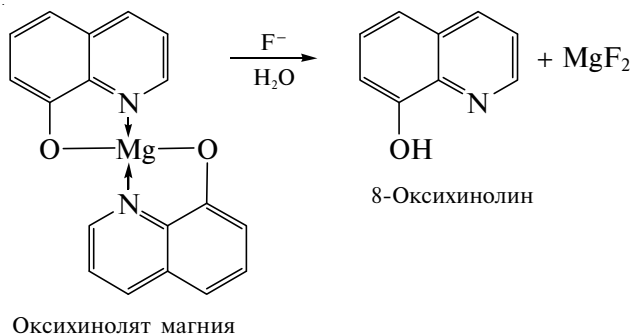
Таблица 8.6

Влияние заместителей на флуоресценцию ароматических соединений

Заместитель	Изменение λ_{max} в спектре флуоресценции	Изменение интенсивности флуоресценции
Алкильные группы	Не происходит	Очень слабое увеличение или (чаще) уменьшение
$\text{HO}-$, $\text{CH}_3\text{O}-$	Увеличение	Увеличение
HCO_2-	«	Существенное уменьшение
NO_2- , $\text{NO}-$	Существенное увеличение	То же
NH_2- , $\text{NHR}-$, NR_2-	Увеличение	Увеличение
$\text{CN}-$	Не происходит	«
$\text{SH}-$	Увеличение	Уменьшение
$\text{F}-$, $\text{Cl}-$, $\text{Br}-$, $\text{I}-$	«	«
HSO_3-	Не происходит	Не происходит

центрами люминесценции, образуя продукты взаимодействия, которые либо вообще не люминесцируют, либо люминесцируют в другой части спектра и, вообще говоря, с другим квантовым выходом. Таким образом, фактически уменьшается число молекул, способных люминесцировать в данной области спектра. Описанное влияние примесей называют *статическим тушением люминесценции*.

Образование новых продуктов при статическом тушении может быть подтверждено соответствующими изменениями в спектре поглощения раствора. Введенная примесь может, например, разрушить центр люминесценции, изменить степень его ионизации, образовать с ним комплексное соединение, адсорбировать его из раствора. Так, при добавлении к люминесцирующему раствору оксихинолята магния фторид-ионов F^- образуется нелюминесцирующее соединение — 8-оксихинолин:



В электронно-возбужденном состоянии существенно изменяются физико-химические характеристики молекулы: структура, дипольный момент, кислотно-основные и окислительно-восстановительные свойства. Может повышаться реакционная способность молекулы к определенным соединениям. Тогда в электронно-возбужденном состоянии центр люминесценции может вступить во взаимодействие с примесью. Если примесные молекулы или ионы сами способны люминесцировать, может наблюдаться их спектр люминесценции в результате передачи энергии от возбужденной молекулы определяемого вещества. Это явление так называемой люминесценции акцептора, сенсibilизированного донором, или *сенсibilизированная люминесценция*. При протекании одного из этих процессов или их совокупности скорость дезактивации анализируемого вещества определяется не только его собственной константой скорости излучения k_1 , но и константами сопутствующих процессов взаимодействия k_2 , k_3 (см. уравнение (8.96)). В результате скорость дезактивации возбужденных центров увеличивается, а интенсивность люминесценции уменьшается, поскольку часть возбужденных центров вступает во взаимодействие с тушителем до испускания кванта излучения. Описанный механизм уменьшения интенсивности люминесценции вследствие взаимодействия возбужденных центров с молекулами или ионами примеси называют *динамическим тушением люминесценции*. В отличие от статического тушения молекулы определяемого вещества, находящиеся в основном электронном состоянии, не участвуют в этом процессе. Поэтому спектры поглощения при динамическом тушении остаются неизменными.

Поскольку при динамическом тушении должно произойти столкновение возбужденной молекулы с примесью до ее излучательной дезактивации, эффективность динамического тушения уменьшается с увеличением вязкости раствора. Однако передача энергии от возбужденного центра к примеси может также произойти в результате диполь-дипольного взаимодействия, что позволяет наблюдать динамическое тушение люминесценции в твердых телах.

Высокой эффективностью динамического тушения люминесценции обладают частицы O_2 , NO, I_2 , I, Br, ионы d - и f -металлов, например Cu, Fe, Mn, Co, Ni, Ag, Hg, Ti, легко изменяющих степень окисления. К числу эффективных динамических тушителей люминесценции относят также органические нитро-, amino-, галогено- и серасодержащие соединения.

8.5.4.3. Количественный и качественный люминесцентный анализ

При непрерывном возбуждении образца (и отсутствии тушения люминесценции) интенсивность люминесценции пропорциональна числу испускаемых квантов:

$$I_L = \chi_1 N_L = \chi_1 \Phi_{\text{кв}} N_A,$$

где χ_1 — коэффициент пропорциональности.

Число поглощенных квантов N_A пропорционально интенсивности поглощенного света:

$$N_A = \chi_2 (I_0 - I),$$

где I_0 — интенсивность падающего излучения; I — интенсивность света, прошедшего через раствор; χ_2 — коэффициент пропорциональности.

Величины I_0 , I связаны законом Бугера — Ламберта — Бера (уравнение (8.45)), которое здесь запишем в виде

$$I(\lambda) = I_0 10^{-\epsilon(\lambda)IC},$$

где $\epsilon(\lambda)$ — коэффициент молярного поглощения исследуемого вещества, $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$; I — толщина слоя раствора, см; C — концентрация вещества в растворе, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$.

Учитывая эти соотношения, получаем

$$I_L = \chi \Phi_{\text{кв}} I_0 (1 - 10^{-\epsilon(\lambda)IC}), \quad (8.97)$$

где χ — коэффициент пропорциональности, учитывающий приборный фактор.

Из формулы (8.97) видно, что в области достаточно больших концентраций интенсивность люминесценции I_L практически не зависит от концентрации. Кроме того, вследствие концентрационного тушения люминесценции может наблюдаться даже уменьшение интенсивности люминесценции. Поэтому количественный люминесцентный анализ проводится для малых концентраций. В этом случае в хорошем приближении возможно представить

величину $10^{-\epsilon(\lambda)/C}$ в виде ряда $(-\epsilon(\lambda)/C)$ по степеням, ограничиваясь только линейным членом. Тогда уравнение (8.96) можно записать в виде

$$I_L = 2,303\chi\varphi_{\text{кв}}I_0\epsilon(\lambda)lC = kC, \quad (8.98)$$

где

$$k = 2,303\chi\varphi_{\text{кв}}I_0\epsilon(\lambda)l.$$

Количественный люминесцентный анализ основан на определении интенсивности люминесценции анализируемого образца. Обычно значение $\epsilon(\lambda)$ находится в пределах 10^3 — 10^4 . Тогда для $l = 1$ см условие $\epsilon(\lambda)lC < 10^{-2}$, при котором можно использовать линейное приближение для интенсивности (8.98), будет выполняться при концентрациях определяемого компонента в диапазоне 10^{-6} — 10^{-5} моль/л. Из уравнения (8.98) видно, что минимальная определяемая концентрация $C_{\min}$ для люминесцентного анализа лимитируется лишь чувствительностью детектора, с помощью которого регистрируют интенсивность люминесценции I_L . В условиях отсутствия фона и тушителей значение $C_{\min}$ может достигать 10^{-12} моль/л. Из-за наличия фонового излучения это значение повышается до 10^{-8} — 10^{-7} моль/л и остается, как правило, на два порядка ниже, чем в фотометрических методах.

Для определения концентрации анализируемого вещества непосредственно по интенсивности люминесценции применяют различные методы количественной обработки результатов измерения. К числу наиболее эффективных относятся метод градуировочного графика, метод сравнения со стандартом, метод добавок и метод внутреннего стандарта.

Наибольшее распространение получил люминесцентный анализ, основанный на фотолюминесценции исследуемого вещества, возбуждаемого УФ излучением. Источниками УФ излучения служат кварцевые газоразрядные ртутные или ксеноновые лампы и УФ лазеры. Регистрируют люминесценцию визуально, фотографически или фотоэлектрически с помощью спектрографов, фотометров и спектрофотометров. Люминесцентный анализ подразделяют на качественный и количественный.

Качественный люминесцентный анализ проводят по спектрам люминесценции. Его используют, например, для обнаружения битумов в породах, следов люминесцирующих органических веществ и неорганических веществ в различных объектах. Разновидность качественного люминесцентного анализа — *сортной анализ*, который позволяет обнаруживать невидимые при обычном освещении различия в исследуемых объектах и используется для установления сортности и качества стекол, семян, сельскохозяйственной продукции, для определения минералов в породах, поверхностных и сквозных дефектов, выявления подделок, в криминалистике и т. д.

Количественный люминесцентный анализ основан на зависимости интенсивности люминесценции от количества люминесцирующего вещества. Различают флуоресцентный, фосфоресцентный и хемилюминесцентный анализ.

Флуоресцентный анализ основан на образовании люминесцирующих комплексных соединений элементов с органическими реагентами, например гидроксипроизводными флавона (морин, кверцетин), производными тригидроксифлуорона и гидроксидантрахинона, 8-оксихинолином, родаминами и др. Этот метод мало селективен, большинство реагентов — групповые, лишь люмогаллион специфичен для определения галлия и люмомагнезон —

магния. Для увеличения селективности используют экстракционно-флуоресцентный анализ — предварительное разделение анализируемой смеси методом экстракции, а также охлаждение растворов до азотных и гелиевых температур. В последнем случае может возникнуть фосфоресценция.

Фосфоресцентный анализ обладает большой селективностью, так как лишь немногие катионы образуют с органическими реагентами фосфоресцирующие комплексы, сами же реагенты не фосфоресцируют. Для регистрации спектров и интенсивности фосфоресценции используют фосфороскоп; при этом флуоресценция не регистрируется.

Хемилюминесцентный анализ основан на свечении, возникающем в результате окислительно-восстановительных реакций органических веществ, например люминола, люцигенина, с катионами переходных металлов, например Fe(III), Co(II), Cu(II), Ni(II), Mn(II) и других, концентрацию последних определяют по изменению интенсивности свечения. Предел обнаружения — $5 \cdot 10^{-7} \%$. По собственной люминесценции определяют уран, *d*- и *f*-элементы с большой селективностью, так как их спектры в ряде случаев характеризуются выраженной структурой. Например, пределы обнаружения урана в водах и геологических объектах при применении кристаллофосфоров — $5 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-8} \%$, редкоземельных элементов при использовании органических реагентов — $10^{-4} - 10^{-3} \%$, в кристаллофосфорах — $10^{-6} - 10^{-5} \%$, переходных элементов (в том числе и платиновых) в кристаллофосфорах — $10^{-6} - 10^{-5} \%$.

Ионы, изоэлектронные Hg^{2+} : Tl^+ , Pb^{2+} , Bi^{3+} , можно определять по люминесценции замороженных растворов их солей или в кристаллофосфорах с пределом обнаружения $10^{-7} - 10^{-4} \%$. Применение лазеров позволяет снизить пределы обнаружения некоторых элементов до $10^{-13} \%$.

Люминесцентный анализ органических соединений затруднен, так как их спектры люминесценции, как правило, неспецифичны. Однако предложены методы количественного определения порфиринов, витаминов, антибиотиков, хлорофилла и других веществ, в спектрах которых имеются характеристичные полосы. При использовании лазеров пределы обнаружения достигают $10^{-11} - 10^{-7} \%$. Ароматические соединения в замороженных растворах алифатических углеводов при температуре 77 К дают характерные для каждого соединения квазилинейчатые спектры люминесценции (*эффект Шпольского*). Этот метод используют для определения полициклических ароматических углеводов в экстрактах растений, почв, продуктов питания, горных пород с пределом обнаружения $10^{-8} - 10^{-7} \%$, а также для определения бензола, его гомологов и производных, ароматических аминокислот при температурах жидкого воздуха, азота, гелия в водно-солевой матрице с пределом обнаружения $10^{-6} - 10^{-4} \%$.

Люминесценцию используют в иммуноферментном анализе (см. гл. 13) для определения антител, гормонов, лекарственных препаратов, вирусных и бактериальных антигенов по концентрации комплекса антиген—антитело. При этом в иммунном флуоресцентном анализе к антителу непосредственно присоединяют флуоресцирующие вещества, например *4f*-элементы, флуоресцирующие красители (чувствительность метода — 10^{-14} моль/л), а в иммуноферментном анализе к антителу присоединяют фермент и в результате ферментативной реакции, сопровождаемой биолюминесценцией, определяют ферментативную активность (чувствительность метода — 10^{-11} моль/л).

8.6. Рентгеновский спектральный анализ

Рентгеновский спектральный анализ (РСА) основан на изучении рентгеновских характеристических спектров веществ. Высокая производительность метода, универсальность, широкий аналитический диапазон концентраций, простота подготовки проб и другие факторы способствовали его широкому внедрению в аналитическую практику на производстве и в ходе исследовательских разработок.

Рентгеновский спектральный анализ нашел широкое применение в металлургической промышленности при анализе руд, концентратов, легированных сталей и сплавов, промышленных отходов, а также при проведении анализов, связанных с охраной окружающей среды.

Методом РСА определяют большинство элементов Периодической системы Д. И. Менделеева (практически от натрия до урана), предел обнаружения составляет 10^{-4} — 10^{-1} мас. %. Анализируемые пробы могут представлять собой пленки, осадки после выпаривания, порошки, массивные образцы, слитки, жидкости. В ходе РСА какие-либо изменения в пробах ничтожны, поэтому он является методом неразрушающего контроля. Метод РСА особенно эффективен при анализе проб, содержащих химически сходные элементы.

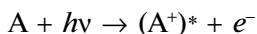
Достоинства метода делают его особенно ценным там, где необходим непрерывный контроль состава продуктов. Метод РСА позволяет внести существенный вклад в комплексную автоматизацию технологических процессов. Например, на предприятиях черной и цветной металлургии активно внедряют автоматизированные системы аналитического контроля на базе рентгеновских спектрометров.

Метод РСА основан на изучении положения и интенсивности линий электромагнитного спектра в диапазоне длин волн 10^{-2} — 10^1 нм.

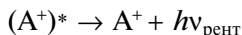
Как и в других методах прикладной спектроскопии, по положению линий устанавливают качественный элементный состав анализируемых проб, а по относительной интенсивности линий — количественное содержание определяемых элементов.

Для осуществления РСА необходимо генерировать рентгеновское излучение в анализируемой пробе, разложить выходящее из образца излучение в спектр, зарегистрировать энергетическое положение и интенсивность отдельных линий спектра и с помощью расчетных или экспериментальных градуировочных характеристик определить состав пробы.

При облучении пробы достаточно жестким рентгеновским излучением (а также электронами, ионами, γ -излучением) возможна ионизация атома за счет удаления электронов с ближайших к ядру уровней. Если энергия квантов возбуждающего излучения больше соответствующего потенциала ионизации атома, то избыточная энергия высвобождается в виде кинетической энергии фотоэлектрона:



Образовавшийся возбужденный ион $(A^+)^*$ релаксирует, а избыточная энергия может выделяться в виде рентгеновского кванта $h\nu_{\text{рент}}$:



Интенсивность рентгеновского излучения $h\nu_{\text{рент}}$ является аналитическим сигналом элемента.

Возможна также безызлучательная релаксация возбужденного иона. Вероятность релаксации по излучательному или безызлучательному механизму характеризуется параметром, который назван *выходом флуоресценции* $\phi_{\text{кв}}$ (см. уравнение (8.84)).

Выход флуоресценции возрастает с увеличением порядкового номера элемента Z . Поэтому РСА предпочтительно использовать для элементов с большим Z .

В результате электронных переходов, заполняющих вакансии на K -уровне, образуется K -серия рентгеновского спектра, который называют характеристическим, так как каждому переходу соответствует вполне определенная, характерная только для этого перехода энергия. При заполнении вакансий на L -уровне образуется L -серия спектра и т.д.

В отличие от оптической спектроскопии, где спектр достаточно сложен и теоретически рассчитать положение спектральных линий в большинстве случаев также весьма сложно, положение линий в характеристическом рентгеновском спектре может быть рассчитано по *закону Мозли*:

$$\frac{1}{\lambda} = R(Z - \sigma)^2 \left(\frac{1}{n_1^2} - \frac{1}{n_2^2} \right),$$

где λ — длина волны рентгеновского излучения; R — константа Ридберга (связанная с массой покоя и зарядом электрона); Z — атомный номер; σ — константа экранирования; n_1, n_2 — главные квантовые числа, соответствующие начальному и конечному энергетическим состояниям.

В упрощенном виде закон Мозли можно представить в виде

$$\frac{1}{\lambda} = k(Z - \sigma)^2.$$

Из закона Мозли следует, что в первом приближении длины волн рентгеновских линий обратно пропорциональны квадрату атомного номера Z элемента.

Классификацию различных вариантов РСА чаще всего проводят по способу возбуждения характеристического излучения:

- *рентгенофлуоресцентный анализ* (РФА) — возбуждение рентгеновского характеристического излучения осуществляют рентгеновским излучением от спектрального источника — рентгеновской трубки, ускорителей заряженных частиц (синхротронное излучение) и т.д.;

- *рентгенорадиометрический анализ* (РРА) — возбуждение осуществляют с помощью излучения радиоактивных изотопов;

- *рентгеноспектральный анализ по первичным спектрам* — возбуждение характеристического излучения в пробе осуществляют с помощью пучков заряженных частиц соответствующей энергии (электроны, позитроны, ионы); этот способ возбуждения в настоящее время находит широкое применение в методах локального анализа и анализа поверхности (см. гл. 17).

Один из наиболее распространенных в настоящее время способов количественного локального анализа — *рентгеноспектральный микроанализ*

(РСМА), в котором возбуждение аналитического сигнала осуществляют электронным зондом, сфокусированным до диаметра в доли микрона.

С точки зрения генерации характеристического рентгеновского излучения все эти методы идентичны. Однако они резко различаются по пределам обнаружения элементов, которые определяются соотношением полезного сигнала и фона, и по локальности, которая определяется зоной генерации рентгеновского излучения в пробе. Фон в разных вариантах РСА обусловлен различными процессами взаимодействия электромагнитного излучения или потоков заряженных частиц с пробой.

В двух наиболее распространенных вариантах рентгеноспектрального анализа — РФА и РСМА — фон различается на два порядка (во втором случае он выше).

Поскольку фон в РСМА существенно выше, чем в РФА, это сказывается на пределах обнаружения, которые в РФА в среднем на два порядка ниже. Однако из-за высокой интенсивности характеристического излучения в РСМА удастся определять более легкие элементы (вплоть до лития $Z = 3$), тогда как в РФА, как правило, определяют элементы с $Z > 9$ (фтор).

В последние годы интенсивно развивается метод РСА с ионным возбуждением, где фон очень низок и пределы обнаружения достигают $10^{-5}\%$.

Зона генерации рентгеновского излучения в РФА и РРА достигает по поверхности анализируемой пробы 1—10 см, тогда как в РСМА — 1—10 мкм. Поэтому первые два метода используют в основном для определения суммарного содержания элементов в пробе, тогда как РСМА используют для локального анализа (см. гл. 17).

Используют два принципа разложения (или дисперсии) генерированного рентгеновского излучения в спектр — волновую и энергетическую дисперсию.

Для осуществления *волновой дисперсии* используют рентгеновские спектрометры, в состав которых входят кристаллы-анализаторы с подходящими межплоскостными расстояниями, упруго рассеивающие рентгеновское излучение под определенным углом, если выполняется *закон Вульфа—Брэгга* $n\lambda = 2d\sin\theta$ (см. гл. 11), где, как указывалось при рассмотрении рентгенофазового анализа, n — целое число (1, 2, 3, ...), называемое *порядком отражения*, θ — угол (Брэгга) между падающим излучением и атомными плоскостями отражающего кристалла, d — межплоскостное расстояние в отражающем кристалле.

Используя набор кристаллов-анализаторов с разными значениями d , можно определять длины волн генерированного рентгеновского излучения в широком спектральном диапазоне.

Примеры некоторых кристаллов-анализаторов, полученных из природных материалов или синтезированных искусственно, и области их применения приведены в табл. 8.7.

Используя набор, например трех кристаллов — LiF, PET и TAP, можно перекрыть практически весь диапазон определяемых элементов.

Для массового многоэлементного анализа используют многоканальные приборы, так называемые квантометры, с жестко фиксированными значениями углов θ в каждом канале. При этом возможен количественный экспресс-анализ с использованием одновременно до нескольких десятков каналов.

Кристаллы-анализаторы для рентгеновского спектрального анализа

Кристалл-анализатор	Химическая формула	d , нм	Атомные номера определяемых элементов Z
Фторид лития	LiF	0,4029	19—59
Кварц	SiO ₂	0,6886	15—46
Пентаэритрит (РЕТ)	C(CH ₂ OH) ₄	0,8742	13—41
Гидрофталат таллия (ТАР)	HOOC—C ₆ H ₄ COOTl	2,590	9—23
Гидрофталат калия (КАР)	HOOC—C ₆ H ₄ COOK	2,663	8—23

Такие приборы получили широкое распространение в металлургии, особенно в практике заводского контроля сырья и продукции.

В качестве детекторов в спектрометрах с волновой дисперсией используют, главным образом, пропорциональные и сцинтилляционные счетчики.

Разрешающая способность рентгеновских спектрометров с волновой дисперсией составляет в среднем 20—30 эВ. При регистрации рентгеновского излучения в спектрометрах с волновой дисперсией следует учитывать возможность наложения на выбранные аналитические линии линий других элементов. Его можно устранить, используя энергетическую дисперсию рентгеновских квантов.

Для осуществления *энергетической дисперсии* используют либо специальные электронные дискриминаторы в сочетании с детекторами волновой дисперсии, либо полупроводниковые детекторы (ППД). Последние служат одновременно анализаторами и детекторами рентгеновских квантов. Однако их разрешающая способность, достигающая 150 эВ, все же существенно ниже, чем у спектрометров с волновой дисперсией. Однако благодаря гораздо большей светосиле этих детекторов их можно использовать для регистрации гораздо более слабых сигналов, что привело к их широкому распространению как в РФА, так и в РСМА. Особенно распространены кремниевые детекторы, легированные литием, с ультратонкими входными бериллиевыми окнами, позволяющие определять все элементы с $Z > 11$ (натрий). Для получения более высокого разрешения ППД в большинстве случаев охлаждают жидким азотом. На выходе ППД устанавливают многоканальный анализатор в сочетании с компьютером.

Для проведения РСА может быть использован либо спектрометр с энергетической дисперсией (что существенно быстрее, так как не требует смены кристаллов-анализаторов и идентификации линий разных порядков отражения), либо спектрометр с волновой дисперсией (если требуется более высокое разрешение, чем в ППД).

Для проведения РСА необходимо в первую очередь правильно подготовить анализируемые пробы и образцы сравнения. Для проведения анализа методом РФА подготовка жидких проб заключается лишь в получении форм определяемых элементов, устойчивых в нейтральных средах, зачастую путем использования различных комплексообразующих реагентов.

Подготовка твердых проб (порошков, стружки, монокристаллических пластин и т. п.) может быть проведена разными способами. Во всех случаях необходимо обеспечить представительность пробы, отобранной для анализа, ее однородность по составу, плотность, близкую к теоретической, плоскую поверхность твердого излучателя и требуемые геометрические размеры. Для обеспечения указанных требований проводят:

- 1) растворение твердых проб с получением устойчивых растворов в средах, близких к нейтральным;
- 2) прессование предварительно измельченных проб или исходных порошков;
- 3) сплавление твердых проб с различными реагентами типа боратов, персульфатов с получением однородных стекол.

Еще одним вариантом гомогенизации является растворение металлических проб в никелевом расплаве, но его применение в РФА ограничено.

Наиболее простым вариантом подготовки проб является прессование порошков, наиболее перспективным — получение стекол.

Большое значение для проведения количественного РФА имеет также правильный подбор условий проведения анализа. Точность методики зависит от выбора анода (хром, медь, молибден, вольфрам, палладий, родий) рентгеновской трубки и аналитических линий. Метрологические характеристики зависят также от выбора кристалла-анализатора, напряжения на рентгеновской трубке, способа регистрации фона, способа построения градуировочной характеристики и обработки результатов измерений. Все указанные условия оговаривают в конкретных методиках анализа.

Сумма случайных и систематических погрешностей при анализе различных проб не превышает, как правило, 1 %. Учитывая высокую производительность и высокую точность РФА, этот метод активно внедряют в автоматизированные системы аналитического контроля металлургических производств. Поскольку пределы обнаружения элементов этим методом довольно высоки ($\sim 10^{-4}$ — $10^{-2}\%$), его применяют для определения состава шихтовых материалов, легирующих добавок в чугунах и сталях, вторичного сырья, различных сплавов, некоторых экологических объектов и технологических растворов.

В последние годы РФА пытаются использовать для аналитического контроля непосредственно в ходе технологических процессов. Предпринимаются попытки проведения непрерывного анализа металла непосредственно в печи. Наибольшие успехи здесь достигнуты для процесса электроннолучевой плавки тугоплавких металлов, где электронная пушка, применяемая для плавления, одновременно служит и для генерации рентгеновского излучения.

8.7. Рефрактометрический анализ

Рефрактометрический анализ, или *рефрактометрия* (лат. *refractus* — преломленный; греч. *metreo* — измеряю) — определение показателя преломления (коэффициента рефракции) и некоторых его функций. В отличие от спектральных методов, рассмотренных выше, рефрактометрия основана на

упругом взаимодействии электромагнитного излучения с анализируемым веществом.

При прохождении излучения через прозрачную среду электрическая компонента электромагнитной волны взаимодействует с электронной системой частиц в среде. Вследствие этого скорость v распространения света в среде уменьшается по сравнению со скоростью c света в вакууме. Скорость распространения света в среде и показатель преломления n зависят от длины волны λ :

$$n(\lambda) = \frac{c}{v(\lambda)}. \quad (8.99)$$

Показатель преломления n для большинства жидкостей находится в пределах 1,3—1,8, а для твердых тел — 1,3—2,5.

Зависимость показателя преломления от длины волны называют *дисперсией*. Если измерение показателя преломления проводится на длине волны, существенно смещенной от области поглощения излучения, то наблюдаемая дисперсия называется *нормальной*. При совпадении длины волны излучения с областью поглощения наблюдается *аномальная дисперсия*. В рефрактометрии используют область длин волн, соответствующую нормальной дисперсии.

Показатель преломления анализируемого вещества обычно определяют, измеряя угол преломления (рефракции) коллимированного пучка света при его прохождении из одной среды в другую. *Закон преломления Снеллиуса* можно записать в инвариантном виде:

$$n_1 \sin \vartheta_1 = n_2 \sin \vartheta_2, \quad (8.100)$$

где n_1, n_2 — показатели преломления сред; ϑ_1, ϑ_2 — углы падающего и преломленного лучей с перпендикуляром к плоскости раздела двух сред.

Если первая среда — вакуум, где показатель преломления $n_1 = 1$, то показатель преломления второй среды n_2 относительно вакуума равен

$$n_2 = \frac{c}{v_2} = \frac{\sin \vartheta_1}{\sin \vartheta_2}. \quad (8.101)$$

Конечно, намного удобнее измерять показатель преломления относительно некоторой среды, чем относительно вакуума, например относительно воздуха. Большинство значений показателей преломления для различных жидкостей и твердых тел, имеющих в справочной литературе, приведено относительно воздуха при комнатной температуре и обычном давлении.

Изменение давления, приводящее к изменению плотности вещества, оказывает влияние на коэффициент преломления. Существование взаимосвязи между показателем преломления и плотностью вещества, по-видимому, впервые было отмечено еще И. Ньютоном в конце XVII в.

Впоследствии уже в 1880—1910 гг. стало понятно, что зависимость показателя преломления от плотности вещества связана с влиянием электронов на прохождение электромагнитной волны в среде. Было установлено существование определенного соотношения между показателем преломления, плотностью среды и агрегатным состоянием вещества. Ввели обобщенный параметр, который (как и показатель преломления) характеризует способность вещества преломлять свет. Это так называемая *молярная рефракция* R ($\text{м}^3 \cdot \text{моль}^{-1}$):

$$R = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \frac{M}{\rho}, \quad (8.102)$$

где M — молярная масса вещества, $\text{кг} \cdot \text{моль}^{-1}$; ρ — плотность вещества, $\text{кг} \cdot \text{м}^{-3}$.

Молярная рефракция пропорциональна поляризуемости атомов, ионов или молекул, составляющих исследуемое вещество:

$$R = \frac{4}{3} \pi N_A \alpha, \quad (8.103)$$

где α — поляризуемость, м^3 ; N_A — число Авогадро.

Поляризуемость характеризует способность частиц вещества приобретать дипольный момент μ в электрическом поле с напряженностью E :

$$\mu = \alpha E. \quad (8.104)$$

Молярная рефракция почти не зависит от температуры и ее часто можно представить как сумму «рефракций» атомов или групп атомов, составляющих молекулу сложного вещества, или их связей в молекуле. Например, рефракцию предельного углеводорода $C_n H_{2n+2}$ можно вычислить через атомные рефракции атомов углерода $R(C)$ и атомов водорода $R(H)$:

$$R(C_n H_{2n+2}) = n R(C) + (2n + 2) R(H). \quad (8.105)$$

Это важное свойство молярной рефракции, называемое *аддитивностью*, позволяет успешно применять рефрактометрические методы для идентификации веществ и определения состава сложных смесей в аналитической химии. Вместе с молярной рефракцией R (8.102) используют также понятие *удельной рефракции*:

$$r = \frac{R}{M} = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \frac{1}{\rho}. \quad (8.106)$$

Удельная рефракция и молярная рефракция являются очень полезными величинами в практике анализа, поскольку, как было установлено, они закономерно изменяются в гомологических рядах различных соединений.

Показатель преломления n и плотность вещества ρ относятся к так называемым «неспецифическим» величинам, которые могут быть близкими у нескольких соединений. Однако значения n и ρ можно довольно точно измерить, поэтому их используют для идентификации веществ и испытания на чистоту. Обычно показатель преломления жидких и твердых тел определяют с точностью до 10^{-4} на рефрактометрах, с помощью которых измеряют предельные углы полного внутреннего отражения. Максимальная точность абсолютных измерений составляет примерно $10^{-7} - 10^{-6}$.

Измерение показателя преломления осуществляют в приборах, реализующих метод рефрактометрии и называемых рефрактометрами. Существует несколько видов рефрактометров для измерения показателей преломления жидких, твердых и газообразных образцов. В этих приборах используют как методы прямого измерения углов преломления света при прохождении им границы раздела двух сред, так и методы, основанные на полном внутреннем отражении или интерференции света.

Для жидкостей и твердых тел показатель преломления определяют, как правило, относительно воздуха, для газов — относительно вакуума. Значения показателя преломления зависят от длины волны света и температуры, которые в литературе указывают в подстрочном и надстрочном индексах соответственно. Например, часто используемое обозначение n_D^{20} показывает, что показатель преломления измерен при температуре 20 °С и длине волны D -линии спектра атома натрия ($\lambda = 589$ нм).

Если известны показатели преломления двух веществ n_A и n_B , составляющих смесь, то можно провести количественное определение состава двухкомпонентной смеси. Для этого следует дополнительно измерить показатель преломления смеси n_C и вычислить удельную рефракцию смеси r_C . Тогда, используя свойство аддитивности для молярной рефракции $R = Mr$, получим систему уравнений:

$$\begin{cases} m_C r_C = m_A r_A + m_B r_B \\ m_C = m_A + m_B. \end{cases} \quad (8.107)$$

Решая эту систему относительно, например, m_A , получим

$$m_A = m_C \frac{r_C - r_B}{r_A - r_B}. \quad (8.108)$$

Для систем, состоящих из большего числа компонентов, необходимо одновременно определять дополнительные величины. Так делают, например, при анализе трехкомпонентных растворов, основанном на одновременном измерении их показателей преломления и плотностей (или вязкостей). Эти способы применяют при контроле нефтепродуктов, фармацевтических препаратов и др.

Идентификацию органических соединений, минералов, лекарственных веществ осуществляют по таблицам показателей преломления, которые можно найти в справочной литературе. Для рефрактометрического анализа растворов в широких диапазонах концентраций пользуются справочными таблицами или эмпирическими формулами, важнейшие из которых (например, для растворов сахарозы, этанола и т. д.) утверждаются международными соглашениями и лежат в основе построения узко специализированных рефрактометров для анализа промышленной и сельскохозяйственной продукции.

Метод рефрактометрии используют также для контроля содержания метана в воздухе рудников, а также для обнаружения скопления газа в сетях бытового газоснабжения.

Для контроля и управления технологическим процессом, например таким как ректификация, используют автоматические рефрактометры для непрерывной регистрации показателя преломления в потоках жидкостей. Аналогичные приборы могут служить универсальными детекторами жидкостных хроматографов.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Перечислите основные процессы, лежащие в основе используемых в химическом анализе спектральных методов.

2. Укажите отличия упругого и неупругого взаимодействия электромагнитного излучения с веществом.
3. Сформулируйте задачи атомного и молекулярного спектрального анализа.
4. Перечислите разновидности молекулярного абсорбционного спектрального анализа.
5. Дайте классификацию спектральных методов анализа в соответствии с областью используемого электромагнитного излучения.
6. Дайте определение электромагнитной волны.
7. Перечислите наиболее важные параметры электромагнитного излучения.
8. Сформулируйте соотношение между энергией световой волны и ее частотой, длиной волны, волновым числом.
9. Дайте определение мощности и интенсивности излучения, приведите единицы их измерения.
10. Приведите соотношение Бора для спектральных термов.
11. Какие виды движения и соответствующие им спектры возникают при образовании из двух атомов А и В молекулы АВ?
12. Как соотносятся значения энергий электронных, колебательных и вращательных переходов?
13. Какие основные блоки содержатся в спектральных аналитических приборах?
14. Перечислите материалы, используемые для изготовления оптических элементов спектральных приборов в УФ, видимой и ИК областях спектра.
15. Назовите основные источники излучения для УФ, видимой и ИК областей спектра.
16. Охарактеризуйте разрешающую способность спектральных приборов.
17. Что такое аппаратная функция монохроматора?
18. Что является характеристикой качества детектируемого сигнала при измерении спектра?
19. Как связаны интенсивность спектральной линии и заселенность энергетического уровня?
20. Какие причины вызывают уширение спектральной линии?
21. Какие процессы лежат в основе возникновения аналитического сигнала в методе атомно-эмиссионной спектроскопии?
22. Почему метод АЭС требует точного контроля температуры пламени?
23. Опишите метод внутреннего стандарта в АЭС и приведите его метрологические характеристики.
24. Какими преимуществами обладает метод АЭС с использованием индуктивно связанной плазмы?
25. Какие процессы лежат в основе возникновения аналитического сигнала в методе атомно-абсорбционной спектроскопии?
26. Сформулируйте закон Бугера — Ламберта — Бера.
27. Каковы причины кажущихся отклонений от закона Бугера — Ламберта — Бера?
28. Приведите способы атомизации, селекции и детектирования в методе ААС.
29. Перечислите метрологические характеристики метода ААС.
30. Какие процессы лежат в основе возникновения аналитического сигнала в методе молекулярно-абсорбционного анализа в УФ и видимой областях спектра?
31. При каких условиях возможен анализ смеси веществ методом молекулярно-абсорбционного анализа в УФ и видимой областях спектра?
32. Сформулируйте концепцию хромофорных групп. Опишите метрологические характеристики метода молекулярно-абсорбционного анализа в УФ и видимой областях спектра.
33. Дайте характеристику спектрофотометрии и фотометрического титрования. Что позволяет повысить точность титрования в методе спектрофотометрии по сравнению с химическими методами количественного анализа?

34. Какие процессы обеспечивают возникновение аналитического сигнала в методе молекулярно-абсорбционного анализа в ИК области спектра?
35. Как связаны число атомов в молекуле и число независимых внутримолекулярных колебаний?
36. Какие колебания проявляются в ИК спектре поглощения молекулы?
37. Что определяет потенциальную функцию молекулы?
38. Как потенциальная функция молекулы связана с ее спектром?
39. Дайте понятие о характеристических частотах колебаний. Какие особенности внутримолекулярных движений не учитывает приближение характеристических частот?
40. Дайте определение люминесценции.
41. Приведите классификацию люминесцентных методов по способу (источнику) возбуждения.
42. Объясните с использованием диаграммы Яблонского — Теренина возникновение флуоресценции и фосфоресценции.
43. Дайте определение следующих терминов: флуоресценция, фосфоресценция, внутренняя конверсия, интеркомбинационная конверсия, колебательная релаксация, синглетное и триплетное состояния.
44. Сформулируйте принцип Франка — Кондона.
45. Сформулируйте правило Стокса — Ломмеля и объясните причины появления антистоксовой области в спектрах.
46. Как зависит от длины волны возбуждающего света: а) квантовый выход люминесценции; б) энергетический выход люминесценции? Ответ иллюстрируйте графически.
47. Что такое тушение люминесценции? Назовите виды тушения.
48. Сформулируйте правило зеркальной симметрии (правило Левшина).
49. Приведите уравнение связи в люминесцентном анализе.
50. Приведите примеры использования люминесцентного анализа.
51. В чем заключается сущность рентгеновского спектрального анализа?
52. Опишите способы возбуждения рентгеновских характеристических спектров элементов.
53. Сформулируйте закон Мозли.
54. Охарактеризуйте предел обнаружения элементов методом РСА.
55. Приведите способы разложения рентгеновского излучения в спектр.
56. Опишите подготовку проб к РСА.
57. Приведите принципиальную схему рентгеновского спектрометра.
58. Какие детекторы используют в рентгеновских спектрометрах?
59. Что такое локальный микроанализ?
60. Укажите диапазон длин волн электромагнитного излучения, относящийся к рентгеновскому диапазону.
61. Дайте определение показателя преломления. Какой метод физико-химического анализа основан на его измерении?
62. Что такое нормальная и аномальная дисперсия света? В какой области проводят измерения в методе рефрактометрии?
63. Поясните понятия молярной и удельной рефракции. Какая связь существует между этими параметрами, как они в свою очередь связаны с коэффициентом преломления и плотностью вещества?
64. Можно ли провести анализ смеси веществ методом рефрактометрии?
65. Приведите метрологические характеристики метода рефрактометрии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто, М. Видмера. — М. : Мир, 2004.

Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа / под ред. О.М. Петрухина. — М. : Химия, 2001.

Бучаченко А.Л. Спектроскопия и химия единичных молекул. — www.chem.msu.ru/rus/teaching/buchachenko/06.html

Васильев В.П. Аналитическая химия : в 2 кн. Кн. 2. Физико-химические методы анализа / В.П. Васильев. — М. : Дрофа, 2002.

Головина А.П. Химический люминесцентный анализ неорганических веществ / А.П. Головина, Л.В. Левшин. — М. : Химия, 1978.

Гришаева Т.И. Методы люминесцентного анализа : учеб. пособие для вузов / Т.И. Гришаева. — СПб. : Профессионал, 2003.

Карпов Ю.А. Аналитический контроль в металлургическом производстве / Ю.А. Карпов, А.П. Савостин, В.Д. Сальников. — М. : Академкнига, 2006.

Основы аналитической химии : в 2 т. / под ред. Ю.А. Золотова. — М. : Издательский центр «Академия», 2010.

Отто М. Современные методы аналитической химии / М.Отто. — М. : Техносфера, 2006.

Паркер С. Фотолюминесценция растворов / С.Паркер. — М. : Мир, 1972.

Пентин Ю.А. Физические методы исследования в химии / Ю.А. Пентин, Л.В. Вилков. — М. : Мир, 2003.

Пилипенко А.Т. Аналитическая химия / А.Т. Пилипенко, И.В. Пятницкий. — М. : Химия, 1990.

Филиппов М.Н. Определение микроколичеств вещества. Современные методы локального анализа и анализа поверхности // Мир измерений. — 2001. — № 6. — С. 21—33.

9.1. Основные понятия

В масс-спектрометрических приборах происходит разделение ионов с разным отношением массы m к заряду z (m/z) и определение масс этих ионов. Заряд иона z измеряется в единицах элементарного заряда e , равного заряду электрона $1,6021892 \cdot 10^{-19}$ Кл.

Масс-спектрометрия появилась более 100 лет назад в 1901 г., когда немецкий физик В. Кауфман создал прототип параболического масс-спектрографа для изучения «катодных лучей». В 1907 г. Дж. Дж. Томсон получил спектр изотопов неона, а в 1918 г. А. Демпстер сконструировал первый магнитный масс-спектрометр с источником для электронной и термической ионизации. Нобелевская премия по химии в 1922 г. присуждена Ф. У. Астону за изобретение масс-спектрографа и открытие с его помощью изотопов большого числа нерадиоактивных элементов. (Масс-спектрограф — это масс-спектрометр с регистрацией ионов на фотопластинке.)

В дальнейшем масс-спектрометрия развивалась по пути определения различных характеристик элементов, атомов и молекул (энергий ионизации, энергий разрыва связей в молекулах, точных масс элементов, природной распространенности их изотопов). Стали производить масс-спектрометрические приборы, предназначенные для решения специфических задач, например приборы для анализа концентрации изотопов элементов (чему в немалой степени способствовало развитие атомной промышленности) и приборы для химического анализа.

Возникла органическая масс-спектрометрия, которая используется для решения проблемы идентификации веществ и изучения фрагментации молекулярных ионов органических соединений в газовой фазе. Совмещение масс-спектрометра с газовым или жидкостным хроматографом значительно увеличило возможности метода и расширило круг изучаемых объектов.

В последние годы были разработаны новые методы ионизации, такие как электроспрей — ионизация электрораспылением (Electrospray Ionization — ESI) и матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization — MALDI), что позволило работать со сложнейшими биоорганическими соединениями: полипептидами, белками, полисахаридами, нуклеиновыми кислотами, молекулярная масса которых составляет миллионы атомных единиц массы. Масс-спектрометрия используется в органической и биоорганической химии для установления строения соединений. Хромато-масс-спектрометрия в настоящее время является основным методом количественного и качественного определения различных загрязнений в объек-

тах окружающей среды. Этот метод необходим в криминалистических исследованиях и при проведении допинг-контроля на спортивных соревнованиях. Одним словом, масс-спектрометрия играет важную роль в развитии современной науки и имеет широкое практическое применение, что и было отмечено присуждением в 2002 г. Нобелевской премии создателям новых методов ионизации ESI и MALDI Дж. Фенну и К. Танаке.

9.2. Принцип работы масс-спектрометра

Масс-спектрометр — это прибор для проведения анализа вещества посредством разделения ионов с разным отношением массы m к заряду z иона, а также для измерения масс ионов и их количества. Масс-спектрометры позволяют установить, из каких молекул состоит вещество, какова их молекулярная масса, к какому классу химических соединений они относятся, какие атомы их составляют. Таким образом, с помощью масс-спектрометров проводят химический, элементный и изотопный анализ вещества.

Для проведения масс-спектрометрического анализа молекулы образца каким-либо образом переводят в ионизированную форму. После этого тем или иным способом проводят разделение полученных ионов по массам и затем регистрацию этих ионов; последние могут быть как положительными, так и отрицательными. Образуется масс-спектр, на основании которого можно делать выводы о составе образца и строении его молекул, а по силе тока соответствующих ионов можно делать заключение о числе атомов и молекул различных веществ, присутствующих в образце. Масс-спектр обычно изображают в виде графика или таблицы. На графике по оси абсцисс откладывают отношение массы иона к его заряду m/z , по оси ординат — интенсивность, которая характеризует относительное количество ионов данного вида. Интенсивность выражают в процентах по отношению к полному ионному току (суммарной интенсивности всех ионов в масс-спектре) или по отношению к линии максимальной интенсивности в масс-спектре.

В масс-спектрометрии массу измеряют в атомных единицах массы (а. е. м.) или дальтонах (Да): $1 \text{ Да} = 1 \text{ а. е. м.} = 1,660541 \cdot 10^{-27} \text{ кг}$, что равно $1/12$ массы изотопа углерода с массовым числом 12. Таким образом, масса основного изотопа углерода ^{12}C выражается целым числом и равна 12,000000 Да. Массы всех

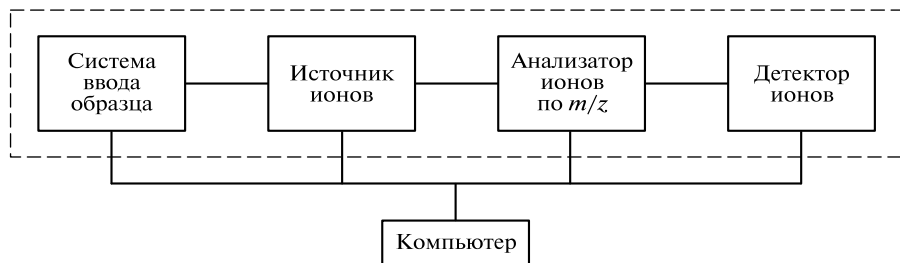


Рис. 9.1. Блок-схема масс-спектрометра (пунктиром показаны блоки, работающие в условиях вакуума)

изотопов любых других элементов будут выражаться не целыми числами. Так, масса основного изотопа водорода ^1H равна 1,007825 Да (массовое число 1), кислорода ^{16}O — 15,994915 Да (массовое число 16) и т.д. На масс-спектре линии (или пики) с определенным значением m/z , соответствующие молекулярным фрагментам, т.е. группам атомов, также обозначают целым числом, полученным при округлении точного значения m/z .

На рис. 9.1 представлены основные узлы масс-спектрометра, которые имеются в любом приборе независимо от принципа разделения ионов по значениям m/z .

Система ввода образца

Масс-спектрометр — прибор, который работает в условиях высокого вакуума. Давление в ионном источнике обычно составляет 10^{-4} — 10^{-3} Па (10^{-6} — 10^{-5} мм рт. ст.) Система ввода образца должна обеспечить необходимые условия при вводе молекул образца. Газообразные образцы вводят в баллон напуска до давления примерно 1 Па, и из этого баллона через специальный дозирующий вентиль или диафрагму они поступают в ионный источник. В современных приборах для анализа органических соединений в основном используют систему прямого ввода образца в область ионизации в ионном источнике.

Твердый образец помещают в тигель, который может быть изготовлен из различных материалов: кварца, керамики, графита или металла. Тигель штокком через специальную шлюзовую камеру и вакуумное уплотнение вводят в ионный источник, где при программируемом нагреве тигля до температуры 400—500 °С происходит испарение образца непосредственно в область ионизации. Такой способ ввода значительно увеличивает число веществ, доступных масс-спектрометрическому анализу.

Еще одним способом является мембранный ввод. Мембраны изготавливают из органического материала; они пропускают в ионный источник соединения, растворимые или адсорбируемые материалом мембраны и имеющие высокий коэффициент диффузии в нем.

При соединении газового или жидкостного хроматографа с масс-спектрометром системами ввода образца являются соответствующие соединительные узлы (интерфейсы).

Ионный источник и способы ионизации

Ионный источник предназначен для превращения атомов и молекул анализируемого образца в положительные или отрицательные ионы и формирования из них пучка или пакета ускоренных ионов, поступающего в масс-анализатор. Конструкция ионного источника зависит от способа ионизации, что в свою очередь определяется тем, в каком виде находится образец для анализа: твердом, жидком или газообразном. Существующие в настоящее время приборы позволяют анализировать вещества в любом агрегатном состоянии.

Ионные источники могут быть непрерывного или импульсного действия. Они могут работать как в условиях вакуума, так и при атмосферном давлении.

Выбор того или иного типа ионного источника определяется характером проводимого анализа.

Ионизация электронами. Наиболее широко распространен метод ионизации с помощью электронов — *электронная ионизация* (Electron Ionization — EI). Существующие компьютерные библиотеки масс-спектров содержат именно масс-спектры электронной ионизации. В этом методе с помощью раскаленного катода, изготовленного обычно из вольфрамовой или ренийевой проволоки или пластины, генерируют пучок электронов; последние затем ускоряют разностью потенциалов 10—100 В по направлению к аноду, которым служит ионизационная камера (рис. 9.2).

Для увеличения эффективности ионизации молекул газа в источнике используют магнитное поле, силовые линии которого направлены вдоль пучка электронов. Это приводит к тому, что электроны в пучке, имеющие составляющую скорости, перпендикулярную силовым линиям магнитного поля, будут двигаться по спирали. Таким образом, увеличивается их путь внутри ионизационной камеры, что и приводит к росту эффективности ионизации. Ускоренные электроны в камере взаимодействуют в газовой фазе с атомами и молекулами вещества, поступающими при давлении 10^{-4} — 10^{-3} Па. В результате образуются ионы, которые могут быть одно- и многозарядными. Эффективность ионизации в таком источнике невысока и составляет примерно один ион на 10^4 молекул.

Отдельные атомы и молекулы, характеризуются *энергией ионизации* — минимальной энергией, необходимой для отрыва электрона и образования катион-радикалов. В масс-спектрометрии энергию ионизации измеряют в электрон-вольтах (эВ): 1 эВ — это энергия, приобретаемая электроном под действием разности потенциалов 1 В; $1 \text{ эВ} = 1,60218 \cdot 10^{-19} \text{ Дж}$. Среди всех элемен-

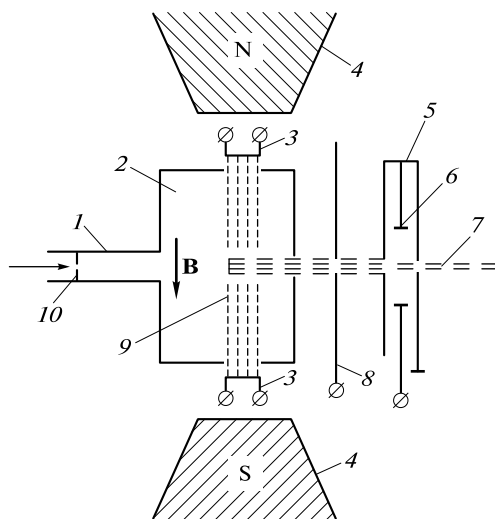


Рис. 9.2. Схема ионного источника с электронной ионизацией:

1 — трубка напуска анализируемого газа; 2 — ионизационная камера; 3 — катоды; 4 — фокусирующий магнит; 5 — ускоряющий электрод; 6 — отклоняющие пластины; 7 — ионный пучок; 8 — вытягивающий электрод; 9 — электронный пучок; 10 — диафрагма напуска

тов наибольшими энергиями ионизации обладают благородные газы: He (24,56 эВ), Ne (21,559 эВ) и Ar (15,755 эВ), наименьшими — такие элементы, как Cs (3,893 эВ), K (4,339 эВ), Ba (5,20 эВ), Na (5,138 эВ). Энергии ионизации большинства молекул находятся в диапазоне 7—15 эВ.

Если ионизирующий электрон имеет энергию, равную энергии ионизации, то ионизация может произойти, но вероятность этого процесса будет очень низкой. Вероятность ионизации характеризуют *эффективным поперечным сечением ионизации*, или просто — *сечением ионизации*, измеряемым в квадратных сантиметрах. Сечение ионизации увеличивается с ростом энергии ионизирующих электронов, достигает максимума и далее монотонно уменьшается. Из благородных газов наименьшее сечение ионизации в максимуме имеет гелий ($0,102 \cdot 10^{-16} \text{ см}^2$), наибольшее — ксенон ($6,42 \cdot 10^{-16} \text{ см}^2$), из других элементов большие сечения имеют металлы Cs ($11,64 \cdot 10^{-16} \text{ см}^2$), Ba ($11,94 \cdot 10^{-16} \text{ см}^2$).

Сечения ионизации молекул изменяются в широком диапазоне. Чем больше сечение ионизации, тем больше ионов образуется в процессе электронной ионизации. Максимум сечения ионизации для различных атомов и молекул достигается при разных энергиях ионизирующих электронов. Однако обычно в ионном источнике с электронной ионизацией электроны ускоряются до энергии 70 эВ. Эта энергия превышает энергию ионизации атомов и молекул любых веществ, и в то же время эффективность ионизации при этой энергии для различных веществ близка к максимальной.

Ионизирующий электрон может передать молекуле энергии больше, чем необходимо для ее ионизации. При этом образуется возбужденный молекулярный ион, который может распадаться на отдельные ионизированные и нейтральные фрагменты. Минимальную энергию ионизирующих электронов, при которой в масс-спектре появляется ион-фрагмент, называют *энергией появления*.

Процесс передачи той или иной энергии от ионизирующего электрона исходной молекуле характеризуется определенной вероятностью, которая зависит от электронного строения молекулы и энергии ионизирующих электронов. В результате взаимодействия пучка ионизирующих электронов с молекулами образуется набор молекулярных ионов с различными энергиями возбуждения, которые, распадаясь в ионизационной камере, образуют различные осколочные ионы-фрагменты. Эти ионы затем вытягивают из камеры и с помощью ионно-оптической системы направляют в анализатор, где происходит их разделение по значениям m/z . Далее происходит регистрация в детекторе ионов (см. рис. 9.1) и получение масс-спектра.

Характер распада возбужденного молекулярного иона определяется его структурой (и тем самым структурой исходных молекул), а также энергией его возбуждения, т.е. по полученному масс-спектру с помощью компьютерного каталога масс-спектров можно идентифицировать исследуемое соединение. На рис. 9.3 приведен масс-спектр этилена, полученный при электронной ионизации.

В масс-спектре присутствует молекулярный ион C_2H_4^+ , образованный простым отрывом электрона от исходной молекулы этилена. По этому иону можно легко идентифицировать анализируемое соединение. Однако молекулярный ион может отсутствовать в масс-спектре, если он является нестабильным

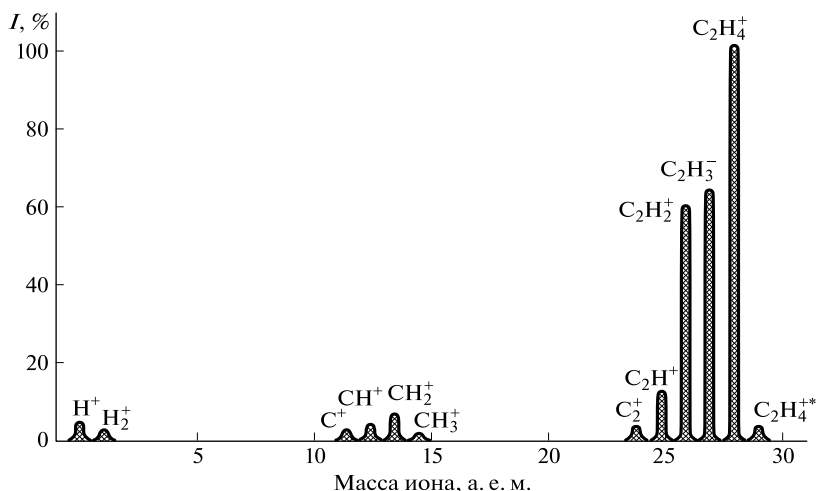


Рис. 9.3. Масс-спектр этилена, полученный при ионизации электронами энергией 70 эВ (частица $C_2H_4^+$ массой 29 — ион этилена, содержащий один атом изотопа ^{13}C)

и полностью распадается на фрагменты. Отсутствие молекулярного иона в масс-спектрах электронной ионизации ряда соединений является недостатком этого метода.

Кроме положительных ионов при электронном ударе могут образовываться и отрицательные ионы — анион-радикалы. Эффективное образование отрицательных ионов наблюдается при использовании электронов с небольшими энергиями, так называемый резонансный захват электрона молекулой образца. При этом образуется возбужденный молекулярный анион-радикал, который распадается на нейтральные и отрицательно заряженные фрагменты. По полученному масс-спектру отрицательных ионов можно сделать заключение о структуре исходной молекулы.

Помимо электронной ионизации в масс-спектрометрии используют другие способы ионизации и другие конструкции ионных источников.

Фотоионизация. При поглощении молекулой фотона с энергией $E_{\text{ф}}$, превышающей ее энергию ионизации $E_{\text{и}}$, из молекулы удаляется электрон и образуется катион-радикал с энергией возбуждения $E_{\text{в}}$ равной:

$$E_{\text{в}} = E_{\text{ф}} - E_{\text{и}} - E_{\text{к}}, \quad (9.1)$$

где $E_{\text{к}}$ — кинетическая энергия удаленного электрона.

Получить монохроматический пучок фотонов можно с помощью газоразрядных трубок, наполненных инертными газами. Метод фотоионизации (Photoionization — PI) полезен при определении энергетических характеристик молекул, радикалов и ионов, таких как энергия ионизации и энергия появления. Однако этот метод используется в настоящее время достаточно редко из-за экспериментальных сложностей, малой фрагментации и необходимости перевода образца в газовую фазу.

Химическая ионизация. В методе химической ионизации (Chemical Ionization — CI) ионизация происходит в основном за счет ионно-молекулярных реакций. В отличие от электронного удара химическая ионизация протекает

при значительно более высоком (до 100 Па) давлении в ионизационной камере, которое создают за счет газа-реагента. В качестве такого газа могут служить различные вещества: метан, аммиак и т.д. Под действием электронов образуются ионы газа-реагента, а в источнике — плазма с преобладанием ионов определенного типа, которые являются ионами-реагентами. Реакции между ионами-реагентами и молекулами образца приводят к образованию характерных для данного образца ионов катион-радикалов. Это — химическая ионизация положительных ионов.

Поскольку в плазме, образующейся в условиях химической ионизации, присутствуют низкоэнергетические электроны (с тепловыми энергиями), из молекул газа-реагента, которые могут захватывать электроны, образуются отрицательные ионы. Молекулы образца могут захватывать электроны или вступать в реакции с отрицательными ионами-реагентами, образуя анион-радикалы. Это — химическая ионизация отрицательных ионов.

Для химической ионизации необходим перевод образца в газовую фазу, что не позволяет анализировать малолетучие и термолabile соединения.

Полевая ионизация и полевая десорбция. Для уменьшения фрагментации и получения интенсивного пика молекулярного иона можно использовать метод «мягкой ионизации», при которой образующийся молекулярный ион имеет небольшую энергию внутреннего возбуждения. Метод реализуют с помощью *полевой ионизации* (Field Ionization — FI), которая происходит при использовании специального эмиттера. Эмиттер изготавливают из вольфрамовой проволоки диаметром 5—10 мкм. С помощью определенной процедуры на поверхности проволоки формируют углеродные микроиглы длиной до 50 мкм. На эмиттер подают высокое (8—10 кВ) напряжение. Из-за малого радиуса кривизны на концах микроигл создается высокая (до 10^8 В/см) напряженность электрического поля. Молекулы образца в таком поле ионизируются за счет туннелирования электрона из них на эмиттер. Образовавшийся ион имеет существенно более низкую (доли электрон-вольта) энергию возбуждения, чем при химической ионизации, и поэтому не распадается. Высокий положительный потенциал выталкивает ион из источника. Для полевой ионизации необходим перевод образца в газовую фазу.

Чтобы существенно расширить круг анализируемых соединений, был предложен метод *полевой десорбции* (Field Desorption — FD), который технически не отличается от метода полевой ионизации кроме того, что образец из раствора наносят прямо на эмиттер. После испарения растворителя эмиттер помещают в ионный источник. При подаче на него высокого напряжения ион образуется непосредственно в конденсированной фазе, а при нагреве эмиттера переходит в газовую фазу и вытягивается из ионного источника.

Метод дает хорошие результаты при анализе сахаров, пептидов, нуклеотидов, солей, кислот и синтетических неполярных полимеров. Ввиду низкой эффективности ионизации для получения стабильных масс-спектров необходимо многократное сканирование внутри заданного диапазона масс с последующим интегрированием.

Бомбардировка быстрыми атомами. Согласно этому методу при ионизации проводят бомбардировку образца энергетическими частицами — быстрыми атомами (Fast Atom Bombardment — FAB). Пучок ускоренных атомов (обычно инертных газов) бомбардирует раствор вещества, нанесенный на металличе-

скую подложку на конце штока для прямого ввода. В результате интенсивного локального разогрева молекулы из поверхностных слоев отрываются в виде плотного газа, содержащего ионы обоих знаков и нейтральные частицы, которые также могут ионизироваться над поверхностью образца. Ускоренные атомы инертного газа получают из соответствующих ионов, ускоренных до энергии 6—8 кэВ, при их перезарядке на атомах газа, которая протекает без какого-либо существенного изменения энергии. Ионы, которые не превратились в нейтральные атомы, отклоняются специальной линзой, а атомы с энергией 6—8 кэВ направляются под углом 60—70° на поверхность образца. Выход ионов анализируемого образца тем больше, чем больше масса ускоренных атомов. Вещество наносится на бомбардируемую поверхность в жидкой матрице (растворителе). Это делается для того, чтобы обеспечить постоянную концентрацию образца на поверхности. Пополнение поверхности молекулами образца происходит за счет диффузии, которая в жидкости протекает достаточно быстро. В качестве растворителя чаще всего используют глицерин.

Вторично-ионная масс-спектрометрия. Метод вторично-ионной масс-спектрометрии (Secondary-Ion Mass Spectrometry — SIMS) давно используется в неорганической химии для элементного анализа поверхности. Здесь также осуществляют бомбардировку образца, но не атомами, а ускоренными ионами, в частности ионами Cs⁺. Механизм образования ионов в данном случае такой же, как при бомбардировке быстрыми атомами. Метод можно использовать для анализа в органической химии, если растворить образец в жидкой матрице. При этом качество масс-спектров оказывается не хуже, чем при бомбардировке быстрыми атомами. Вместо атомов или ионов бомбардировку можно проводить тяжелыми сложными ионами. Использование кластеров увеличивает чувствительность анализа.

Химическая ионизация при атмосферном давлении. Метод химической ионизации при атмосферном давлении (Atmospheric Pressure Chemical Ionization — APCI) используют при совмещении жидкостного хроматографа с масс-спектрометром. Поток образца направляют в распылитель, где он превращается в мелкодисперсный аэрозоль под действием нагретого газа (азота). Происходит термораспыление, образование термоспрея. После испарения растворителя из капелек аэрозоля поток поступает в область ионизации. Поскольку в области ионного источника поддерживается атмосферное давление, для ионизации используют коронный разряд либо высокоэнергетические электроны, испускаемые изотопом ⁶³Ni.

Химическую ионизацию при атмосферном давлении применяют при анализе пестицидов, стероидов, лекарств.

Ионизация электрораспылением. Метод ионизации электрораспылением, или электроспрей, существенно расширяет круг анализируемых в масс-спектрометрии молекул, так как позволяет определять кроме органических и биоорганические молекулы. В электроспрее поток из жидкостного хроматографа направляют в трубку внутренним диаметром 0,1 мм, которая находится под высоким (около 6 кВ) потенциалом по отношению к противоэлектроду, который заземлен. На выходе из нее образуется аэрозоль из заряженных капель, имеющих высокий поверхностный заряд. Эти капли движутся по направлению к противоэлектроду. По мере движения капель из них испаряется растворитель, они уменьшаются в размере, кулоновское отталкивание возрастает и,

в конечном счете, когда оно превысит силы поверхностного натяжения, при определенном критическом размере капли происходит «кулоновский взрыв», и капля распадается на более мелкие капли. Этот процесс повторяется, и, в конце концов, образуется микрокапля, содержащая одну заряженную частицу. Заряженная молекула может также выбрасываться с поверхности одноименно заряженной капли.

Так или иначе в газовой фазе оказываются несольватированные молекулы анализируемого вещества, которые затем анализируются масс-анализатором. Для улучшения распыления потока жидкости между противоэлектродом и сепаратором подают поток азота.

Метод электроспрея обладает очень высокой чувствительностью: качественный масс-спектр можно получить при вводе в прибор всего 10^{-18} моля вещества. Метод позволяет работать с лабильными и нелетучими соединениями и анализировать высокомолекулярные соединения молекулярной массой более миллиона дальтон. Это происходит потому, что масс-анализатор прибора делит ионы по отношению массы к заряду (m/z), так что ион массой 100 000 Да и зарядом 100 регистрируется как однозарядный ион массой 1 000. С помощью этого метода были достигнуты большие успехи в установлении структуры полипептидов, белков, нуклеиновых кислот.

Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация. С помощью метода MALDI можно анализировать сложнейшие биоорганические молекулы. Образец облучают короткими лазерными импульсами. Образцом является твердый раствор анализируемого соединения в органической матрице, которую выбирают так, чтобы ее молекулы хорошо поглощали фотоны, эмиттируемые лазером.

В результате взаимодействия лазерного излучения с образцом над его поверхностью возникает плотная высокотемпературная плазма, в которой кроме ионов и молекул матрицы присутствуют молекулы анализируемого соединения. Эти молекулы ионизируются, поглощая фотоны или участвуя в ионно-молекулярных реакциях. В результате образуются положительные и отрицательные ионы, которые вытягиваются из области ионизации и поступают во времяпролетный анализатор.

С помощью метода MALDI можно анализировать наиболее термолабильные труднолетучие высокомолекулярные соединения: полипептиды, белки, нуклеотиды, полисахариды, синтетические полимеры, фуллерены, органические комплексные соединения и т. п.

Наиболее широко используют азотный лазер с длиной волны излучения 337 нм и продолжительностью импульса от 0,1 до нескольких наносекунд и лазер на CO_2 с длиной волны 10,6 мкм и продолжительностью импульса 0,1—1,0 мкс. Применяют также другие импульсные лазеры.

Разделение ионов по m/z . Масс-анализаторы

После образования ионов в ионном источнике из них с помощью ионно-оптической системы формируют пучок ионов, который поступает в масс-анализатор. В масс-анализаторе происходит разделение ионов по значениям m/z . Масс-анализаторы бывают статические и динамические.

В *статических* масс-анализаторах для разделения ионов используют постоянные магнитные и электрические поля. В *динамических* масс-анализаторах разделяющим фактором является время пролета либо частота переменного поля.

Магнитный масс-анализатор. Впервые разделение ионов по значениям m/z проведено в магнитном поле (рис. 9.4). Ионы с помощью ионно-оптической системы вытягивают из ионного источника, ускоряют и через щель отправляют в область магнитного поля, которое направлено перпендикулярно плоскости, в которой расположены траектории ионов. Под действием силы Лоренца ионы отклоняются от прямолинейной траектории, причем угол отклонения может быть различным. Это определяется длиной участка траектории ионов, проходящего в магнитном поле.

Таким образом, при движении в магнитном поле на ион будет действовать сила Лоренца:

$$F_L = Bzv, \quad (9.2)$$

где B — магнитная индукция; v — скорость иона.

Кроме того, на ион будет действовать центробежная сила:

$$F_{ц} = mv^2/r, \quad (9.3)$$

где r — радиус траектории иона.

Радиус r траектории иона определяется из равенства F_L и $F_{ц}$:

$$Bzv = mv^2/r \quad (9.4)$$

или

$$Bzr = mv. \quad (9.5)$$

Из уравнения (9.5) видно, что магнитное поле делит ионы по импульсам. После ускорения кинетическая энергия иона равна

$$mv^2/2 = zU, \quad (9.6)$$

где U — ускоряющее напряжение.

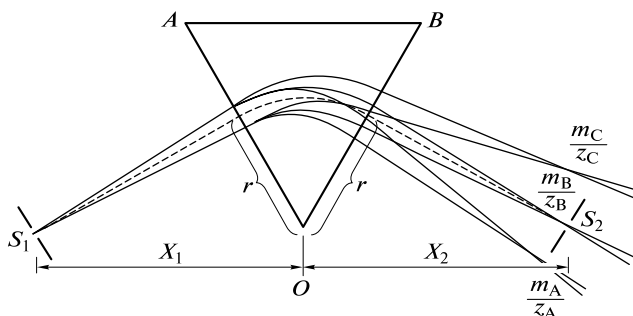


Рис. 9.4. Схема статического магнитного анализатора с однородным магнитным полем (S_1 , S_2 — щели источника и приемника ионов соответственно; OAB — область однородного магнитного поля $\mathbf{B}$, перпендикулярного плоскости рисунка; сплошные линии — границы пучков ионов с разными значениями m/z ; r — радиус центральной траектории ионов)

Подставляя значение скорости из уравнения (9.5) в (9.6), получим основное уравнение для магнитного анализатора:

$$m/z = B^2 r^2 / (2U). \quad (9.7)$$

Важнейшей характеристикой анализатора и всего масс-спектрометра является *разрешающая способность* R , которая определяет свойство масс-спектрометра разделять близкие по массам ионы:

$$R = m/\Delta m, \quad (9.8)$$

где $m = 0,5(m_1 + m_2)$ — среднее значение массы соседних регистрируемых ионов; $\Delta m = m_2 - m_1$.

Очевидно, что требуемая разрешающая способность не зависит от заряда иона. Получение масс-спектра происходит при сканировании напряженности магнитного поля, при этом регистрируют пики, каждый из которых соответствует определенному значению m/z . Магнитный анализатор фокусирует ионы по направлениям так, что в идеале в фокальной плоскости должно получиться изображение выходной щели ионного источника. Реальные пики имеют форму кривой Гаусса.

Разрешающую способность можно определить, измеряя ширину пика Δm на определенной высоте, обычно 10 или 50 % максимума. Тогда говорят, что разрешающая способность $R = m/\Delta m$ составляет определенное значение на выбранной высоте пика. Разрешающая способность секторных магнитных анализаторов может достигать 1 200 на высоте 10 %.

Ионы, выходящие из источника ионов, имеют некоторый разброс по кинетическим энергиям и, следовательно, импульсам, а так как магнитное поле осуществляет разделение по импульсам, это приводит к уширению изображения щели источника и тем самым к ухудшению разрешающей способности. Для того чтобы избавиться от этого недостатка, были разработаны приборы с двойной фокусировкой (по направлению и энергии), в которых на пути ионного пучка ставят секторный электростатический анализатор, разделяющий ионы по кинетическим энергиям. Существуют различные ионно-оптические схемы таких приборов.

Электростатический анализатор может находиться перед или после магнитного анализатора; это приборы с так называемой прямой и обращенной геометрией. Масс-спектрометры с двойной фокусировкой имеют разрешающую способность до 120 000 на высоте 10 %, диапазон регистрируемых масс — до 20 000 Да. Эти приборы обладают высокой чувствительностью и высокой точностью измерения масс, однако они являются достаточно дорогими и могут занимать много места в лаборатории.

Чтобы показать роль разрешающей способности в масс-спектрометрии, рассмотрим пик с приближенной целочисленной массой 28 Да. Этот пик очень часто присутствует в масс-спектрометрах в «фоновом» масс-спектре, т. е. масс-спектре, регистрируемом без ввода образца. При низком (300) разрешении с этой массой в виде одного пика будут регистрироваться три соединения: азот N_2 , монооксид углерода CO и этилен C_2H_4 . При разрешающей способности 3 000 вместо одного пика будет регистрироваться триплет: CO , N_2 , C_2H_4 в порядке возрастания значений точных масс — 27,9949, 28,0061, 28,0313 Да соответственно. Измерение точной массы (4—6 знаков после запятой) иона

однозначно определяет его элементный и изотопный состав. Такие измерения проводят с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения.

Другой важной характеристикой масс-спектрометра является чувствительность: абсолютная и относительная. *Абсолютная чувствительность* характеризует минимальное количество вещества в граммах или молях, необходимое для получения масс-спектра, *относительная чувствительность* — способность прибора определять данный компонент в смеси. Чувствительность измеряют в процентах или в единицах, обозначаемых ppm, ppb, ppt, ppq (part per million — 10^{-6} , part per billion — 10^{-9} , part per trillion — 10^{-12} , part per quadrillion — 10^{-15}). Абсолютная чувствительность современных масс-спектрометров составляет 10^{-14} — 10^{-12} г, в некоторых случаях этот показатель может быть еще меньше. Так, при использовании ионизации электрораспылением качественный масс-спектр можно получить при наличии всего 10^{-18} моля вещества. Относительная чувствительность составляет 10^{-14} — 10^{-9} .

Квадрупольный масс-анализатор. Для разделения ионов по массам используют комбинацию высокочастотного и постоянного электрических полей с определенной системой электродов. Квадрупольный масс-анализатор — система из четырех параллельных стержней гиперболического или круглого сечения (рис. 9.5).

Противоположные стержни электрически соединены. На одну пару стержней подается напряжение U вида:

$$U = U_0 + u \cos \omega t, \quad (9.9)$$

где U_0 — постоянное напряжение; u , ω — соответственно амплитуда и частота переменного напряжения.

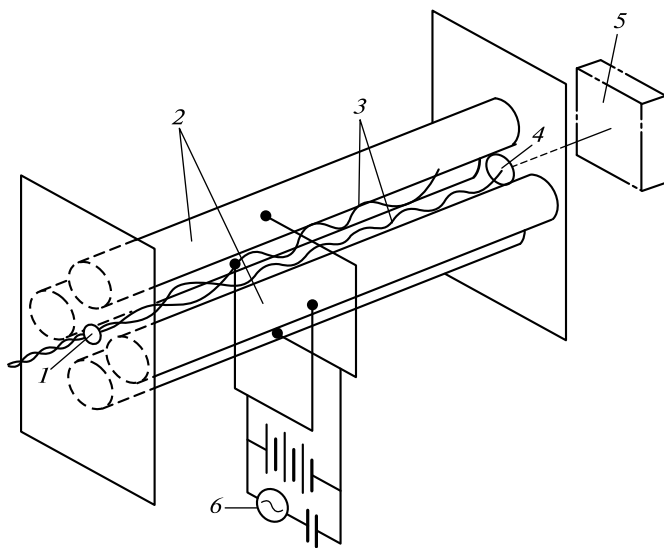


Рис. 9.5. Схема квадрупольного масс-анализатора:

1 — входное отверстие анализатора; 2 — квадруполь; 3 — траектории ионов; 4 — выходное отверстие анализатора; 5 — коллектор ионов; 6 — генератор высокочастотного напряжения

На другую пару стержней подается такое же напряжение, но с противоположным знаком. Ионы, поступающие в анализатор при небольшом ускоряющем напряжении, совершают под действием переменного электрического поля колебательное движение в направлении осей x и y . Однако ионы с данной массой при определенных значениях U_0 , u , ω будут иметь стабильные траектории и проходить через анализатор.

Развертка массового спектра в квадрупольном масс-анализаторе может осуществляться двумя способами: одновременным изменением значений U_0 , u , так что $2U_0/u = \text{const}$, и изменением частоты ω . Обычно применяют развертку первого вида. В квадрупольном анализаторе можно определять и отрицательные ионы без какой-либо модификации.

Квадрупольный масс-анализатор имеет небольшие размеры, позволяет проводить быстрое сканирование по массам и может работать при повышенном (до $5 \cdot 10^{-3}$ Па) давлении. Диапазон значений m/z достигает 4 000 с примерно такой же разрешающей способностью. Квадрупольные масс-анализаторы в настоящее время широко распространены и используются для проведения самых разнообразных анализов, как в качестве обычных газоанализаторов атмосферы, так и в целях анализа биомолекул с использованием метода электророспрея. Они легко сочетаются с различными системами ввода образца.

Времяпролетный анализатор. Во времяпролетном анализаторе разделение ионов по массам происходит благодаря тому, что ионы с одинаковой кинетической энергией $mv^2/2 = zU$ (U — ускоряющее напряжение), но с разными массами будут иметь разные скорости и соответственно разные времена пролета t определенного расстояния d в полой дрейфовой трубе:

$$t = d \sqrt{\frac{m}{2zU}},$$

откуда следует

$$\frac{m}{z} = \frac{2Ut^2}{d^2}.$$

Этот прибор является импульсным. Вначале формируется импульс электронного пучка, который ионизует газ. Вместо электронов это может быть лазерный импульс. Отсчет времени начинается с момента подачи импульса, выталкивающего ионы из области ионизации. В существующих приборах весь масс-спектр в диапазоне масс 50—500 Да можно зарегистрировать примерно за 10 мкс.

Времяпролетные анализаторы имеют следующие достоинства:

- регистрация масс-спектров происходит очень быстро — за десятки микросекунд;
- диапазон масс исследуемых ионов неограничен;
- возможен панорамный обзор как всего масс-спектра, так и отдельных участков.

Существенным недостатком этих анализаторов была низкая разрешающая способность, связанная с разбросом ионов по энергиям. Этот недостаток позволили преодолеть работы Б.А. Мамырина. Он сконструировал так называемый масс-рефлектор, в дрейфовой трубе которого был установлен отража-

тель для ионов с определенным распределением электростатического поля (ионное зеркало), благодаря чему была достигнута фокусировка ионов с различными энергиями по времени пролета и более чем на порядок увеличена разрешающая способность. Для современных приборов с времяпролетным анализатором разрешающая способность может достигать 30 000 при небольших размерах всего прибора. Кроме того, эти приборы имеют более высокую чувствительность по сравнению со сканирующими масс-спектрометрами и могут работать с различными источниками ионов.

Приборы ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье. Работа всех рассмотренных выше масс-анализаторов основана на пространственном разделении ионов благодаря зависящим от массы особенностям их движения в магнитных и электрических полях. При этом ионы разных масс отдельно поступают на детектор. В приборах ионно-циклотронного резонанса (ИЦР) ионы определяют без разделения перед их попаданием на детектор. Ионы регистрируют за счет поглощения и испускания радиочастотного излучения при характерных зависящих от массы циклотронных частотах. Действие этих приборов основано на том, что ион, движущийся в магнитном поле, описывает окружность, радиус r которой определяется из выражения

$$mv^2/r = zvB.$$

Отсюда угловая скорость, или циклотронная частота ω_c , с которой ион вращается по окружности, будет равна

$$\omega_c = zB/m.$$

Циклотронная частота ν_c , выраженная в герцах, равна $\nu_c = \omega_c/(2\pi)$.

Отсюда следует:

$$m/z = B/(2\pi\nu_c).$$

Магнитное поле в масс-спектрометрах с преобразованием Фурье не меняется, и масса иона определяется по его циклотронной частоте, которая зависит от величины магнитного поля и не зависит от скорости иона. Благодаря этому здесь можно получать очень высокую (до сотен миллионов) разрешающую способность. Однако она падает с увеличением массы иона и для тяжелых ионов может уступать разрешающей способности магнитных масс-спектрометров с двойной фокусировкой.

Конструктивно масс-спектрометр ИЦР представляет собой ячейку небольших размеров, которая может иметь разную форму, например форму куба ребром 2—3 см. На рис. 9.6 показана кубическая ячейка для прибора ИЦР с электронным пучком вдоль направления магнитного поля. Ионы образуются при ионизации электронами непосредственно в самой ячейке. Удерживающие пластины находятся слева и справа. Высокочастотное напряжение, возбуждающее движение ионов, прикладывается между передней и задней пластинами. Наведенный сигнал от ионов, пролетающих вблизи, регистрируется между верхней и нижней пластинами. Ион в ячейке, как показано, совершает циклотронное движение большой амплитуды и осциллирует вдоль оси z в электростатической потенциальной яме.

Ячейку помещают между полюсами сверхпроводящего магнита, создающего напряженность магнитного поля 3—9 Т (1 Т = 10 000 Гс). Ионы, образова-

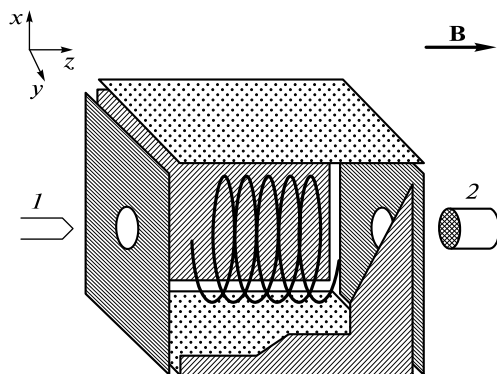


Рис. 9.6. Схема ячейки для масс-спектрометра ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье:

1 — электронная пушка; 2 — коллектор электронов

ные любым известным способом, направляют в ячейку, где их подвергают активации переменным электрическим полем и детектируют. Генерация ионов может происходить и непосредственно в ячейке.

Ионы, находящиеся в ячейке, могут существовать длительное время при условии соблюдения высокого (10^{-10} — 10^{-8} Па) вакуума. Они удерживаются в ячейке с помощью пары противоположных задерживающих пластин, установленных перпендикулярно силовым линиям магнитного поля, на которые подают небольшое напряжение, положительное или отрицательное в зависимости от знака заряда иона. Для возбуждения и детектирования ионов на пару противоположных пластин, расположенных параллельно силовым линиям магнитного поля, подают высокочастотное напряжение с переменной частотой. Когда частота поля находится в резонансе с циклотронной частотой иона, он поглощает энергию, и радиус его траектории увеличивается. Поскольку при этом синхронно увеличивается и его скорость, угловая скорость не меняется ($\omega = v/r$) и ион остается в резонансе. При достаточно длительном возбуждении ион может достигнуть одной из пары боковых пластин и быть удаленным из ячейки. Детектирование ионов, находящихся в резонансе с возбуждающим полем, происходит по наведенному току в цепи боковых пластин, который возникает из-за наведенного заряда в металлической пластине при прохождении иона вблизи нее. При этом ион не удаляется из ячейки. В приборах с преобразованием Фурье для возбуждения ионов подают импульс с широким частотным диапазоном — от 10 кГц до 1 МГц длительностью 1 мс. Временной сигнал от наведенного тока затем с помощью преобразования Фурье представляют в виде спектра частот и, таким образом, в виде спектра масс в соответствии с выражением $m/z = B/(2\pi v_c)$.

Сверхвысокое разрешение метода позволяет устанавливать массы ионов с точностью до 10^{-9} Да. Именно на приборе ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье и электроспектроскопией была определена масса ионов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) — $1,1 \cdot 10^8$ Да.

Ионная ловушка. Этот прибор представляет собой систему из трех электродов: два концевых электрода гиперболической формы и один кольцевой элек-

трод, расположенный между ними. Концевые электроды обычно заземлены, а на промежуточный электрод подают высокочастотное напряжение мегагерцового диапазона. Ионы, образованные в такой ловушке с помощью импульсного пучка электронов, могут удерживаться достаточно долгое время. Сканирование по значениям m/z происходит при изменении амплитуды высокочастотного напряжения. В обычном режиме работы можно регистрировать ионы массой до 650 Да. В режиме так называемого резонансного детектирования можно регистрировать ионы массой до 70 000 Да. На ионной ловушке было достигнуто разрешение до 25 000. Ионные ловушки имеют небольшие размеры и самую низкую среди масс-спектрометров стоимость. Однако в ионных ловушках могут протекать ионно-молекулярные реакции, что приводит к искажениям масс-спектра.

Регистрация ионов

Сила токов, создаваемых ионами с определенным значением m/z после прохождения масс-анализатора, составляет 10^{-18} — 10^{-7} А. Такие токи можно регистрировать с помощью специальных измерительных устройств. Для токов в диапазоне 10^{-14} — 10^{-7} А ионы можно собирать в коллекторе, выполненном в виде металлического цилиндра (цилиндр Фарадея), и измерять их усилителем постоянного тока (электрометрическим усилителем). В настоящее время наиболее широко для регистрации ионных токов используют вторично-электронные умножители с дискретными или непрерывными динодами (вторично-электродными катодами). В таких умножителях происходит усиление электронного тока. Коэффициент усиления зависит от напряжения на умножителе и его конструкции и обычно составляет 10^5 — 10^8 . Коэффициент вторичной эмиссии зависит от массы и скорости иона и его химических свойств. Эта зависимость учитывается при определении коэффициентов чувствительности масс-спектрометра по отношению к различным веществам.

9.3. Тандемная масс-спектрометрия

Тандемная масс-спектрометрия (ее еще называют масс-спектрометрия масс-спектрометрии) широко используется в настоящее время и особенно эффективна при анализе смесей. Смесь, вводимую в ионный источник, подвергают ионизации одним из «мягких» методов, когда в основном образуются молекулярные ионы с небольшой энергией возбуждения. После прохождения первого масс-анализатора эти ионы каким-либо образом дополнительно возбуждают (активируют), вследствие чего они распадаются на фрагменты, которые проходят через другой масс-анализатор и дают масс-спектр индивидуального соединения. Для активации ионов используют различные методы: столкновение ускоренных молекулярных ионов с атомами инертных газов в специальной камере соударений, расположенной после первого анализатора; возбуждение ионов фотонами, электронами и столкновение их с поверхностью. Наиболее широко используют первый способ активации. В тандемной масс-спектрометрии используют все виды масс-анализаторов и их комбинации.

9.4. Хромато-масс-спектрометрия

Высокая эффективность и возможность выделения большого числа индивидуальных веществ из очень сложных смесей с помощью хроматографии предопределили ее продвижение в области анализа пищевых продуктов, лекарств, загрязнений окружающей среды, клинического анализа и судебной медицины. В то же время масс-спектрометрия позволяет провести надежную идентификацию соединений очень сложного строения. Поэтому было естественно использовать масс-спектрометр в качестве детектора для хроматографа. Таким образом возник метод *хромато-масс-спектрометрии*, который позволяет надежно идентифицировать примеси, содержание которых в смеси составляет до 0,0001 %.

Анализируемая смесь, попадая в хромато-масс-спектрометр, проходит следующие стадии: ее вводят в испаритель хроматографа, где она испаряется, а пары, смешиваясь с газом-носителем, под давлением поступают в колонку. Здесь происходит разделение смеси, и каждый компонент в токе газа-носителя по мере элюирования из колонки поступает в молекулярный сепаратор. В сепараторе газ-носитель в основном удаляется, и обогащенный органическим веществом газовый поток поступает в ионный источник масс-спектрометра, где молекулы ионизируются. С помощью установленного в масс-спектрометре датчика, измеряющего полный ионный ток, записывают хроматограммы. Таким образом, масс-спектрометр можно рассматривать как универсальный детектор к хроматографу. Одновременно с записью хроматограммы в любой ее точке, обычно на вершине хроматографического пика, может быть зарегистрирован масс-спектр, позволяющий судить о строении анализируемого вещества.

Чувствительность хромато-масс-спектрометра составляет 10^{-9} — 10^{-6} г и определяется чувствительностью детектора масс-спектрометра. Более чувствительная (10^{-15} — 10^{-12} г) разновидность хромато-масс-спектрометрии — *масс-фрагментография*, которую называют также *селективным ионным* (или *многоионным*) *детектированием*. Суть ее состоит в том, что запись хроматограмм осуществляют не по полному ионному току, а по наиболее характерным для данного вещества ионам. Этот вид хромато-масс-спектрометрии используют для поиска, идентификации и количественного анализа вещества с известным масс-спектром в составе сложной смеси, например при количественном определении следов веществ в больших объемах биологических жидкостей (медицина, фармакология, токсикология, допинг-контроль, биохимия). Анализ проводят с применением внутреннего стандарта, в качестве которого часто используют аналог искомого вещества, меченного стабильными изотопами.

Сочетание высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии позволяет анализировать смеси труднолетучих, полярных веществ, не поддающихся анализу методом газожидкостной хроматографии.

9.5. Масс-спектрометры для элементного и изотопного анализа с ионизацией в плазме

Анализ элементного состава вещества — важная проблема для многих областей науки и производства, и существуют различные методы такого анали-

за. Масс-спектрометрический метод обладает уникальной возможностью одновременного определения не только элементного состава образца, но и его изотопного состава. Однако требования, предъявляемые к аппаратуре, определяются конкретными задачами. Как показывает практика, для точного изотопного анализа применяют специализированные масс-спектрометры, которые принято называть изотопными.

Для определения элементного и изотопного состава, когда к точности измерения изотопных отношений не предъявляют специальных требований, принято использовать масс-спектрометры другой группы, которая наиболее близка к интересам аналитической химии. Это — масс-спектрометры для элементного анализа. В настоящее время в таких приборах в качестве источника ионов широко используют индуктивно связанную плазму, которая возникает при безэлектродном разряде в газе, возбуждаемом с помощью индукционной катушки, в которую вставлена разрядная трубка.

Схематично устройство масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой показано на рис. 9.7. В качестве газа-носителя используется аргон очень высокой чистоты. Аэрозоль образца находится в газе-носителе. Радиочастотное напряжение, прикладываемое к катушке, вызывает образование и разо-

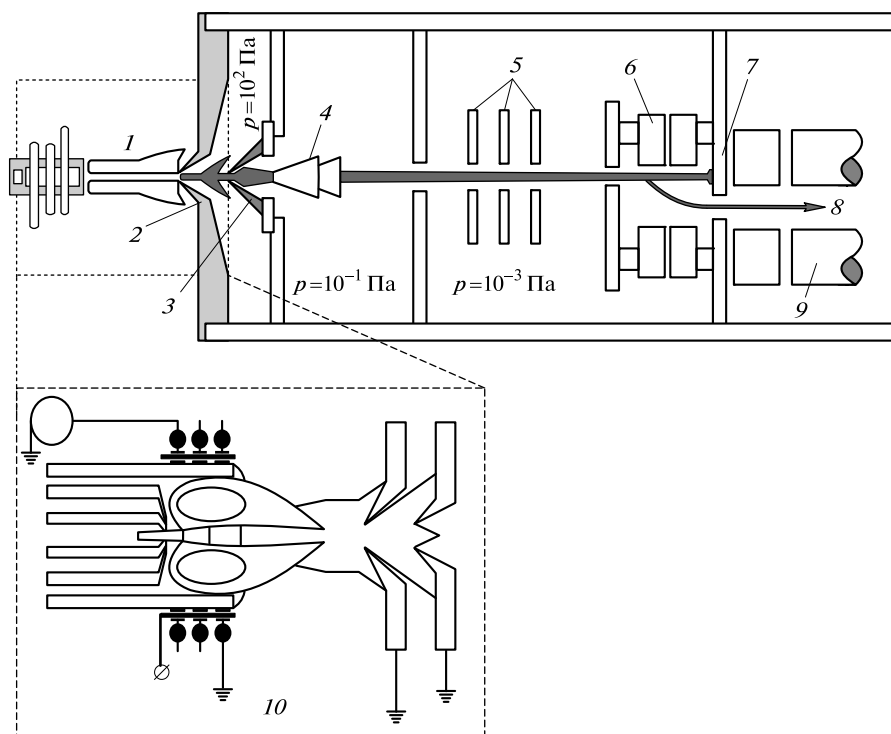


Рис. 9.7. Схема масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой «Agilent 7500»: 1 — плазма аргоновая; 2, 3 — входные скиммеры (Ni, Pt); 4 — «экстрагирующие» линзы; 5 — фокусирующие линзы; 6 — система «омега-линз»; 7 — экран, останавливающий фотоны; 8 — поток ионов к детектору; 9 — квадруполь; 10 — схема плазменного источника ионов (дана в увеличенном виде)

грев плазмы. Образуются ионы образца, которые поступают в масс-анализатор. Плазма является источником ионов и фотонов. В масс-спектрометре под действием системы электростатических линз поток ионов претерпевает изгиб и направляется в квадруполь, в то время как фотоны задерживаются экраном. Такая уникальная конструкция позволяет избегать расфокусирования пучка ионов и связанной с этим потери чувствительности. Применение системы дополнительного экранирования плазмы «сглаживает» пульсации напряженности индукционного поля, что приводит к общему увеличению чувствительности прибора примерно на порядок за счет уменьшения фона.

Исследуемый образец в виде газа, пара или аэрозоля подают по трубке из диэлектрического материала (чаще всего из кварца) в область высокочастотного индукционного разряда, который возникает в газе под действием поля внутри индукционной катушки. Катушка расположена на другой коаксиальной большего диаметра трубке из диэлектрического материала, внутри которой проходит поток аргона высокой чистоты. Таким образом, пространство внутри индукционной катушки заполнено исследуемым образцом в смеси с аргоном при давлении, близком к атмосферному. Под действием высокочастотного поля возникает низкотемпературная плазма, состоящая из электронов, различных ионов и возбужденных нейтральных частиц.

Ионы далее поступают в анализатор масс-спектрометра. Анализатор, куда должны быть направлены полученные ионы, требует рабочего давления около 10^{-5} Па, тогда как плазма находится при атмосферном давлении. Эта проблема решается с помощью интерфейса, который состоит из конусов с отверстиями в вершинах этих конусов (так называемых скиммеров), через которые ионы из источника индуктивно связанной плазмы проходят в анализатор и которые обеспечивают ступенчатое понижение давления от атмосферного в источнике индуктивно связанной плазмы до рабочего давления в анализаторе при помощи системы вакуумных насосов.

В качестве анализаторов в масс-спектрометрах с индуктивно связанной плазмой часто используют квадрупольные как более дешевые и дающие достаточную для элементного анализа разрешающую способность и достаточный диапазон масс. Существуют приборы, где используют анализаторы с двойной фокусировкой и разрешающей способностью до 10 000, которые позволяют проводить элементный анализ практически всех элементов Периодической системы и одновременно изотопный анализ с точностью измерения изотопных отношений порядка $\sim 0,02$ %. Относительная чувствительность масс-спектрометров с индуктивно связанной плазмой в зависимости от определяемого элемента составляет $10^{-15} - 10^{-9}$.

9.6. Количественный и качественный анализ методом масс-спектрометрии

В табл. 9.1 приведены основные области применения масс-спектрометрии.

Наиболее широко масс-спектрометрия используется в органической химии и прежде всего для идентификации веществ. Задача в этом случае ставится следующим образом: имеется некоторое органическое соединение и необ-

Области применения масс-спектрометрии

Метод	Приборы	Область применения
Химический и структурный анализ	Хромато-масс-спектрометры с газохроматографическими и жидкостно-хроматографическими системами	Биохимия. Протеомика. Клиническая химия. Косметика. Допинги, наркотики. Контроль окружающей среды. Пищевые продукты. Сельское хозяйство. Криминалистика. Органическая химия. Парфюмерия и ароматизаторы. Нефтехимия. Фармацевтика. Полимеры. Токсикология
Изотопный анализ	Масс-спектрометры для анализа стабильных изотопов в газовой фазе	Сельское хозяйство. Климатические исследования. Клиническая химия. Медицинская диагностика. Пищевые продукты. Ароматические вещества. Алкогольные напитки. Допинг-контроль. Геология. Гидрология. Петрография и минералогия. Нефть. Криминалистика
	Термоионизационные масс-спектрометры	Геохронология. Контроль окружающей среды. Ядерная энергетика
Элементный анализ	Масс-спектрометры с индуктивно связанной плазмой	Археология. Косметика. Экология. Общая химия. Металлургия. Ядерная энергетика. Геохимия. Продукты питания. Медицинская токсикология. Фармацевтика. Полупроводниковая промышленность. Криминалистика. Нефть и нефтепродукты

ходимо установить, к какому классу оно относится, определить его структуру и элементный состав. С этой целью изучают масс-спектр соединения и сравнивают его с масс-спектрами, собранными в компьютерных библиотеках масс-спектров. Имеется две такие основные библиотеки: Wiley и NIST. Эти библиотеки содержат масс-спектры большого числа органических веществ, полученные только при ионизации электронным ударом. Следует отметить, что в настоящее время подавляющее число соединений анализировались и анализируются именно при ионизации электронным ударом. Это связано прежде всего с тем, что масс-спектры электронного удара содержат, как правило, значительно больше пиков фрагментов, чем при других способах ионизации (химическая ионизация, полевая ионизация и десорбция). Благодаря этому можно более надежно проводить сравнение масс-спектров. Кроме того, все спектры регистрируют при стандартных условиях (энергия электронов 70 эВ, давление 10^{-4} — 10^{-3} Па) и, несмотря на то что они получены на различных приборах с разными масс-анализаторами, оказываются близкими и подлежат сравнению.

Важную информацию об образце можно получить, если в масс-спектре присутствует молекулярный ион, который образуется путем простого отрыва одного электрона от исходной молекулы под действием налетающего электрона. Молекулярный ион имеет в масс-спектре самую большую массу, равную массе исходной молекулы, и является нечетноэлектронным.

Определение элементного состава иона по изотопным пикам в масс-спектре. Точный элементный состав иона можно установить с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения, когда массу иона определяют с точностью до трех-четырех знаков после запятой. Затем с помощью компьютера перебирают различные комбинации элементов до получения массы, совпадающей с экспериментально полученной. Однако часто работают на приборах с низким разрешением, но и здесь можно приближенно определить элементный состав по изотопным пикам. Поскольку большинство химических элементов имеет несколько стабильных изотопов, молекулярный ион будет иметь так называемые изотопные пики. Будем называть *молекулярным* ион, который содержит изотопы с наибольшей природной распространенностью. В табл. 9.2 приведена природная распространенность изотопов ряда элементов, важных для органической химии.

Интенсивность изотопных пиков рассчитывают по формуле бинома Ньютона:

$$(a + b)^m = \sum_{k=0}^m C_m^k a^{m-k} b^k, \quad C_m^k = \frac{m!}{k!(m-k)!}, \quad (9.10)$$

где a , b — распространенность соответствующих изотопов элемента (в данном случае элемент имеет два изотопа); $k = 0, \dots, m$ — число атомов данного элемента в молекуле (молекула не содержит больше никаких элементов).

Например, для молекулы Cl_2 молекулярный ион массой 70 Да (далее будем приводить округленное значение массы) будет иметь в спектре два пика: $^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ — 72 Да и $^{37}\text{Cl}_2$ — 74 Да. Интенсивности пиков молекулярного иона и изотопных ионов, рассчитанные по формуле (9.10), равны (см. табл. 9.2): $(0,754 + 0,246)^2 = 0,5685 + 0,371 + 0,0605$ или при нормировке на максимальный пик (в процентах): 100, 65,3, 10,6 соответственно. Если элемент имеет

Таблица 9.2

Распространенность изотопов некоторых элементов

Элемент	Изотоп	Распространенность, %
Водород	^1H	99,985
	^2D	0,015
Углерод	^{12}C	98,89
	^{13}C	1,11
Азот	^{14}N	99,64
	^{15}N	0,36
Кислород	^{16}O	99,76
	^{17}O	0,04
	^{18}O	0,20
Фтор	^{19}F	100,00
Кремний	^{28}Si	92,17
	^{29}Si	4,71
	^{30}Si	3,12
Фосфор	^{31}P	100,00
Сера	^{32}S	95,03
	^{33}S	0,75
	^{34}S	4,21
	^{36}S	0,11
Хлор	^{35}Cl	75,40
	^{37}Cl	24,60
Бром	^{79}Br	50,57
	^{81}Br	49,43
Иод	^{127}I	100,00

несколько изотопов, то в формуле (9.10) слева будет стоять сумма природных распространенностей всех изотопов.

Углерод и водород являются важными для органической химии элементами. Если молекула содержит атомы углерода и (или) атомы водорода, то молекулярный ион массой M будет иметь изотопный пик массой $M + 1$. Его интенсивность I (%) будет составлять (см. табл. 9.2) либо $100 C_{m1} \cdot 0,011 = 1,1m_1$, либо $0,015m_2$, либо $1,1m_1 + 0,015m_2$, где m_1 , m_2 — число атомов углерода и водорода в молекуле соответственно.

Вкладом в интенсивность изотопного пика $M + 1$ от изотопа водорода ^2D можно пренебречь. Он может быть существенным лишь при очень больших

значениях m_2 . Вклад от атома углерода в этот пик важен даже для молекулы с одним атомом углерода, например для метана. Интенсивность (%) пика $M + 1$, обусловленного наличием в ионе одного атома изотопа углерода ^{13}C , рассчитывают по формуле

$$I = 100 C_m \cdot 0,011 = 1,1m, \quad (9.11)$$

где m — число атомов углерода в ионе.

По мере роста числа атомов углерода в молекуле кроме изотопного пика $M + 1$ заметную интенсивность будут иметь изотопные пики, обусловленные наличием в молекуле двух, трех и более атомов изотопа ^{13}C , т.е. пики $M + 2$, $M + 3$ и т.д. Для молекулы фуллерена C_{60} интенсивности пика молекулярного иона и изотопных пиков массой 720, 721, 722, 723, 724, 725, рассчитанные по формуле (9.10) в процентах относительно максимального пика, составляют 100, 66,0, 21,4, 4,55, 0,71, 0,09 соответственно.

Когда молекулярный ион содержит атомы хлора, брома, серы и кремния, то в зависимости от числа атомов будет характерное соотношение между интенсивностями изотопных пиков, по которому можно определить наличие или отсутствие соответствующего элемента. Если интенсивность пика $M + 2$ составляет менее 3 % интенсивности пика M , то соединение не содержит атомов хлора, брома, серы и кремния. Таким образом, анализируя соотношение между интенсивностями изотопных пиков в молекулярном ионе, можно приблизительно определять элементный состав соединения.

Отнесение органического соединения по его масс-спектру к определенному классу соединений является хорошо разработанной областью органической масс-спектрометрии.

Количественный анализ. Рассмотрим некоторые методы количественного анализа в масс-спектрометрии. Масс-спектрометры используют для определения состава газов (газоанализаторы) в различных областях: металлургическом производстве, при анализе атмосферы на содержание вредных промышленных выбросов и т.д. При таком применении масс-спектрометра требуется его калибровка, т.е. определение коэффициентов чувствительности прибора к различным компонентам газовой смеси. Ее проводят с использованием эталонной газовой смеси с известным содержанием компонентов.

Количественный анализ при определении загрязнений окружающей среды, при допинг-контроле или вообще при анализе смесей органических соединений проводят методом хромато-масс-спектрометрии. По площади хроматографического пика, получаемого при регистрации полного ионного тока, можно оценить количество соединения в пробе, а по масс-спектру — идентифицировать соединение. Для проведения количественного анализа в хромато-масс-спектрометрии используют методы масс-хроматографии и масс-фрагментографии.

В масс-хроматографии с помощью компьютера строят хроматограммы по току характеристических для данного соединения ионов.

В масс-фрагментографии развертку масс-спектра не проводят, а с самого начала регистрируют хроматограмму для определенных ионов, характерных для искомого соединения, т.е. проводят мониторинг заданных ионов. В этом случае за время регистрации детектируют все ионы заданного типа. При ска-

нировании же всего масс-спектра в некотором диапазоне масс регистрация ионов заданного типа происходит только за время прохождения этого пика при сканировании. Время регистрации в первом случае может на 2—3 порядка превосходить время регистрации во втором. Соответственно полное число зарегистрированных ионов в первом случае будет примерно во столько же раз больше, чем во втором. Это позволяет существенно уменьшить нижний предел обнаружения искомого соединения в образце.

Элементный анализ с помощью масс-спектрометров с индуктивно связанной плазмой используют в различных аналитических измерениях и особенно широко в таких областях, как анализ окружающей среды, анализ пищи, в сельском хозяйстве, полупроводниковой промышленности, медицине и фармацевтике, геологии, атомной промышленности, криминалистике и нефтехимии. В частности, одним из важных применений масс-спектрометров с индуктивно связанной плазмой является анализ различных объектов на наличие тяжелых металлов. В качестве примера использования масс-спектрометрии в анализе пищевых продуктов, демонстрирующего высокую чувствительность метода масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, приведем масс-спектр экстракта из семян корицы, в котором были обнаружены следовые примеси свинца. Измерения были проведены на приборе «Agilent 7500».

В табл. 9.3 приведен неполный элементный состав указанного образца. Для определения относительного содержания элемента необходимо построить калибровочную прямую, дающую зависимость интенсивности пика в масс-спектре от концентрации этого элемента в образце.

Ионы массой 204—208 Да соответствуют изотопам свинца, которые могут быть зарегистрированы масс-спектрометром с индуктивно связанной плазмой, их содержание в данном образце составляет около 10 ppb. Интервал изменения ионных токов в современных приборах, называемый линейным динамическим диапазоном, может превышать 9 порядков.

Таблица 9.3

**Анализ примеси свинца с помощью масс-спектрометра
с индуктивно связанной плазмой**

Элемент	Масса иона, Да	Ток ионов, имп/с	Элемент	Масса иона, Да	Ток ионов, имп/с
C	12	$1,7 \cdot 10^5$	Fe	56	$2,23 \cdot 10^5$
N	14	$> 5,0 \cdot 10^5$	Ba	134	$3,0 \cdot 10^3$
Na	23	$6,0 \cdot 10^4$	Ba	135	$9,0 \cdot 10^3$
Mg	24	$2,5 \cdot 10^5$	Ba	136	$1,1 \cdot 10^4$
Mg	25	$4,0 \cdot 10^4$	Ba	137	$1,6 \cdot 10^4$
Mg	26	$6,0 \cdot 10^4$	Ba	138	$1,02 \cdot 10^5$
S	32	$> 5,0 \cdot 10^5$	Pb	204	80
K	39	$> 5,0 \cdot 10^5$	Pb	206	$1,3 \cdot 10^3$
K	41	$3,0 \cdot 10^4$	Pb	207	$1,2 \cdot 10^3$
Mn	55	$3,8 \cdot 10^5$	Pb	208	$3,0 \cdot 10^3$

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Какую физическую характеристику атомов и молекул определяют с помощью масс-спектрометра?
2. В каких единицах измеряют массу атомов и молекул в масс-спектрометрии?
3. Назовите стабильные изотопы углерода.
4. Охарактеризуйте основные элементы принципиальной блок-схемы масс-спектрометра.
5. Какую функцию выполняет система напуска в масс-спектрометре?
6. Какие способы ионизации атомов и молекул вещества используют в масс-спектрометрии?
7. Как работает ионный источник с электронным ударом?
8. Охарактеризуйте понятия «энергия ионизации» и «энергия появления».
9. Каким образом образуется пучок электронов в источнике с электронным ударом?
10. В чем заключается химическая ионизация?
11. В чем заключается фотоионизация?
12. Где применяют химическую ионизацию при атмосферном давлении?
13. Что такое электроспрей?
14. Что такое «кулоновский взрыв»?
15. Как происходит образование ионов в методе MALDI?
16. Как происходит разделение ионов по значениям m/z в магнитном масс-анализаторе?
17. Дайте определение разрешающей способности масс-спектрометра.
18. Поясните особенности масс-спектрометрии высокого разрешения.
19. Что такое квадрупольный масс-анализатор?
20. Что такое циклотронная частота?
21. Как происходит регистрация ионов в масс-спектрометрах ИЦР?
22. Как рассчитать интенсивность изотопных пиков?
23. В чем принципиальное отличие разделения ионов в приборах ИЦР от других масс-анализаторов?
24. Что такое масс-рефлектор?
25. Опишите принцип работы прибора ИЦР с преобразованием Фурье.
26. Что такое тандемная масс-спектрометрия?
27. Как происходит соединение хроматографа с масс-спектрометром?
28. Что такое масс-фрагментография?
29. Поясните принцип работы интерфейса между хроматографом и масс-спектрометром.
30. Что такое индуктивно связанная плазма?
31. Для чего предназначены приборы с индуктивно связанной плазмой?
32. Как работает источник ионов в приборах с индуктивно связанной плазмой?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бейнон Дж. Масс-спектрометрия и ее применение в органической химии / Дж. Бейнон. — М. : Мир, 1964.

Лебедев А. Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А. Т. Лебедев. — М. : Бином. Лаборатория знаний, 2003.

Масс-спектрометрический метод определения следов / пер. с англ. под ред. М. С. Чупахина. — М. : Мир, 1975.

Основы вакуумной техники / [Б. И. Королев, В. И. Кузнецов, А. И. Пипко, В. Я. Плисковский]. — М. : Энергия, 1975.

Полякова А.А. Молекулярный масс-спектральный анализ органических соединений / А.А.Полякова. — М. : Химия, 1983.

Слободенюк Г.И. Квадрупольные масс-спектрометры / Г.И.Слободенюк. — М. : Атомиздат, 1974.

Сысоев А.А. Физика и техника масс-спектрометрических приборов и электромагнитных установок / А.А.Сысоев. — М. : Энергоатомиздат, 1983.

Чепмен Дж. Практическая органическая масс-спектрометрия / Дж.Чепмен. — М. : Мир, 1988.

Хмельницкий Р.А. Масс-спектрометрия загрязнений окружающей среды / Р.А.Хмельницкий, Е.С.Бродский. — М. : Химия, 1990.

Хмельницкий Р.А. Хромато-масс-спектрометрия / Р.А.Хмельницкий, Е.С.Бродский. — М. : Химия, 1984.

Bowers M. T. Mass Spectrometry : Recent Advances and Future Directions / M. T. Bowers, A. G. Marshall, F. W. McLafferty // J. Phys. Chem. — 1996. — V. 100. — P. 12897—12910.

Busch K. L. Mass Spectrometry // Mass Spectrometry. Techniques and Application of Tandem Mass Spectrometry / K. L. Busch, G. L. Glish, S. A. McLuckey. — N. Y. : VCH Publ., 1988.

FT-ICR/MS : Analytical Application of Fourier Transform Ion Cyclotronresonance Mass Spectrometry / ed. B. Acamoto. — N. Y. : VCH, 1991.

www.textronica.com.

СПЕКТРОСКОПИЯ ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА

10.1. Основные понятия

Явление ядерного магнитного резонанса (ЯМР) в конденсированной фазе было открыто в 1946 г. Ф. Блохом (F. Bloch) и Э. Пёрселлом (E. Purcell) — исследователями из США*. В 1950-е гг. были разработаны методы наблюдения ЯМР в растворах и началось бурное развитие этого вида спектроскопии в применении к исследованию структуры молекул. С начала 1970-х гг. интенсивно разрабатывались методы импульсной фурье-спектроскопии ЯМР.

Метод ЯМР, так же как и спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), относится к радиоспектроскопии и основан на поглощении радиоволн веществами, помещенными в магнитное поле. Электронный парамагнитный резонанс — поглощение радиоволн парамагнетиками, помещенными в магнитное поле, был открыт в 1944 г. Е. К. Завойским (Казанский университет).

В данной главе наибольшее внимание будет уделено спектроскопии ЯМР в растворах, имеющей многочисленные применения в анализе веществ.

В методе ЯМР используется явление резонансного поглощения электромагнитного излучения радиочастотного диапазона веществом, содержащим атомы с ненулевыми магнитными моментами ядер и находящимся во внешнем магнитном поле.

Поглощение радиоволн веществами, обусловленное ядерным парамагнетизмом, является частным случаем явления магнитного резонанса.

Ядерный магнитный резонанс наблюдается в сильном постоянном магнитном поле $\mathbf{B}_0$ при одновременном воздействии на образец слабого радиочастотного магнитного поля, перпендикулярного $\mathbf{B}_0$. Ядерный магнитный резонанс обусловлен наличием магнитных моментов у ядер и соответствующих им моментов количества движения $\mathbf{J} = \hbar \mathbf{I}$ ($\hbar$ — постоянная Планка; $\mathbf{I}$ — спиновое квантовое число, или просто — спин ядра). Спины ядер, обладающих нечетным массовым числом M (общее число протонов и нейтронов), имеют полуцелые значения. Ядра с четным M либо вообще не имеют спина ($\mathbf{I} = 0$), если

* Метод спектроскопии ЯМР отмечен наибольшим числом высших научных наград. В 1952 г. была присуждена Нобелевская премия по физике Ф. Блоху и Э. Пёрселлу «За развитие новых методов для точных ядерных магнитных измерений и связанные с этим открытия». Нобелевская премия по химии за 1991 г. была присуждена Р. Эрнсту «За вклад в развитие методологии ядерной магнитной резонансной спектроскопии высокого разрешения». Нобелевская премия по химии за 2002 г. ($1/2$ часть) была присуждена К. Вютриху «За разработку применения спектроскопии ЯМР для определения трехмерной структуры биологических макромолекул в растворе». Нобелевская премия по физиологии и медицине за 2003 г. была присуждена П. Лотербуру, П. Мэнсфилду «За изобретение метода магнитно-резонансной томографии».

заряд ядра Z (число протонов) четный, либо имеют целочисленные значения спина (1, 2, 3, ...).

Для простоты рассмотрим один тип ядер, спиновое квантовое число которых не равно нулю. Ядро можно рассматривать как микроскопический магнит. Если оно находится вне магнитного поля, то любые ориентации магнитного момента ядра в пространстве имеют одинаковую энергию, т.е. все его энергетические уровни вырождены. Поместив ядро во внешнее магнитное поле $\mathbf{B}_0$, мы снимаем это вырождение. Пусть поле $\mathbf{B}_0$ направлено по оси z в системе координат (рис. 10.1).

Магнитный момент ядра $\boldsymbol{\mu}$ взаимодействует с внешним магнитным полем $\mathbf{B}_0$. В классической физике энергия взаимодействия магнитного момента с магнитным полем $\mathbf{E}$ определяется скалярным произведением векторов $\boldsymbol{\mu}$ и $\mathbf{B}_0$ и выражается *формулой Зеемана*:

$$E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B}_0 = -|\boldsymbol{\mu}||\mathbf{B}_0|\cos\theta. \quad (10.1)$$

Вектор магнитного момента ядра может оказаться под некоторым углом θ к направлению внешнего магнитного поля. При этом вектор магнитного момента ядра вращается (прецессирует) вокруг направления магнитного поля, сохраняя угол θ . Подобным образом ведет себя вращающийся волчок во внешнем гравитационном поле Земли. Если волчок вращается и находится в равновесии, то его ось вращения ориентирована вдоль силовых линий гравитационного поля. Если щелкнуть по оси волчка, то его ось вращения отклонится от направления силовых линий гравитационного поля и сама начнет вращаться (прецессировать) вокруг направления силовых линий гравитационного поля.

Угловая частота прецессии ω_0 (рад/с) вектора магнитного момента ядра во внешнем магнитном поле $\mathbf{B}_0$ определяется уравнением

$$\omega_0 = \gamma B_0, \quad (10.2)$$

где γ — гиромагнитное (точнее — магнетомеханическое) отношение (т.е. отношение магнитного момента ядра к его механическому моменту), являющееся фундаментальной характеристикой ядра и имеющее определенное значение для каждого ядра.

Размерность гиромагнитного отношения — $\text{Тл}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ (Тл — тесла). Например, для внешнего магнитного поля 9,4 Тл угловая частота прецессии для протона будет составлять 400 МГц ($4 \cdot 10^8$ Гц). В том же поле для ядер ^{13}C угловая частота прецессии будет составлять 100,6 МГц.

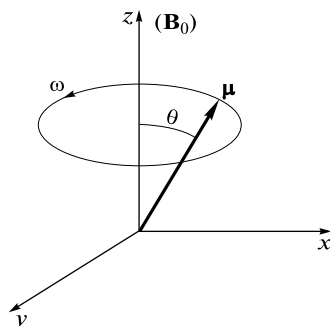


Рис. 10.1. Векторная диаграмма, иллюстрирующая поведение магнитного момента ядра $\boldsymbol{\mu}$ в трехмерной системе координат (ω — угловая частота прецессии магнитного момента ядра вокруг силовых линий магнитного поля; θ — угол ориентации магнитного момента ядра по отношению к направлению силовых линий внешнего магнитного поля $\mathbf{B}_0$)

Угловая частота ω_0 связана с частотой ν_0 соотношением: $\omega_0 = 2\pi\nu_0$.

Соотношение (10.2) называют *уравнением Лармора*, а прецессию магнитного момента ядра во внешнем поле называют *ларморовой прецессией*. Согласно законам квантовой механики магнитный момент ядра не может быть ориентирован под любым углом θ . Угол θ дискретен и зависит от значений спинового квантового числа ядра I . В поле $\mathbf{B}_0$ состояния ядерного спина квантованы, т.е. его проекция m_I на направление поля может принимать только одно из значений: $-I, -(I-1), -(I-2), \dots, 0, +1, +2, \dots, +I$; всего $2I+1$ значений. В простейшем случае изолированных, не взаимодействующих друг с другом ядер в поле $\mathbf{B}_0$ возникает система из $2I+1$ эквидистантных энергетических уровней:

$$E = -\frac{h}{2\pi} \gamma B_0 m_I. \quad (10.3)$$

Расстояние между уровнями равно

$$\Delta E = \frac{h}{2\pi} \gamma B_0. \quad (10.4)$$

Переменное электромагнитное поле может вызывать переходы между этими уровнями в соответствии с правилами отбора: $\Delta m_I = \pm 1$. Поэтому при наличии поперечного осциллирующего магнитного поля с частотой, совпадающей с частотой Лармора (частотой прецессии ядра), возникают условия для резонансного поглощения электромагнитной энергии:

$$\Delta E = \frac{h}{2\pi} \gamma B_0 = g\beta B_0 = \frac{h}{2\pi} \omega_0. \quad (10.5)$$

где γ — гиромагнитное отношение; g — ядерный фактор спектроскопического расщепления уровней энергии (фактор Ланде); $\beta = eh/(4\pi Mc)$ — так называемый ядерный магнетон.

Уравнение (10.5) дает условие *ядерного магнитного резонанса*:

$$\omega_0 = 2\pi\nu_0 = \gamma B_0. \quad (10.6)$$

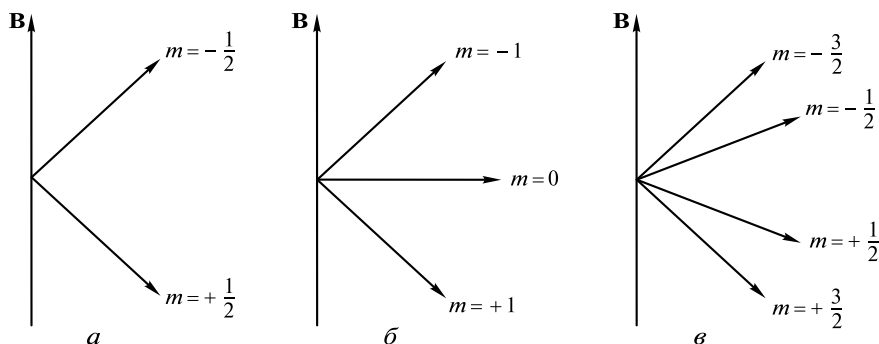
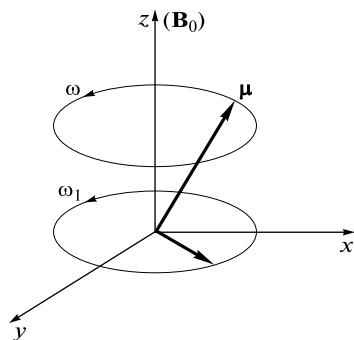


Рис. 10.2. Возможные ориентации магнитных моментов ядер с разными значениями спинового квантового числа по отношению к направлению силовых линий внешнего магнитного поля $\mathbf{B}$:

a — $I = 1/2$ (^1H , ^{31}P , ^{13}C , ^{19}F); $б$ — $I = 1$ (^2H); $в$ — $I = 3/2$ (^{11}B)

Рис. 10.3. Векторная диаграмма, иллюстрирующая прецессию магнитного момента ядра μ во внешнем магнитном поле $\mathbf{B}_0$ с частотой ω и движение вектора электромагнитных колебаний в плоскости xy с частотой ω_1



Из уравнений (10.5), (10.6) видно, что изменение резонансной частоты ω_0 (или ν_0) позволяет определить значения γ , g и, следовательно, идентифицировать исследуемые ядра.

Так, например, магнитные моменты ядер со спиновым квантовым числом $1/2$ (^1H , ^{31}P , ^{13}C , ^{19}F) ориентируются во внешнем магнитном поле по полю (нижний энергетический уровень) и против поля (верхний энергетический уровень) (рис. 10.2, а). Для магнитных ядер со спиновым квантовым числом 1 (^2H , ^{14}N) возможны три ориентации относительно поля: по полю, перпендикулярно полю (нулевое положение) и против поля (рис. 10.2, б). Для магнитных ядер со спиновым квантовым числом $3/2$ (^{11}B) возможны четыре ориентации по отношению к полю (рис. 10.2, в).

Если воздействовать на систему ядерных спинов в постоянном поле $\mathbf{B}_0$ радиочастотным полем $\mathbf{B}_1$, то при равенстве частот $\omega_0 = \omega_1$ наблюдается поглощение энергии спиновой системой. Захватывая радиочастотный квант, ядро меняет ориентацию магнитного момента — он ориентируется против поля. Это и есть условие резонанса (рис. 10.3).

В реальном образце присутствует большое число ядер (например, ^1H), часть магнитных моментов ядер ориентирована по полю, часть — против. При тепловом равновесии нижний уровень E_1 более заселен, чем верхний уровень E_2 , в соответствии с распределением Больцмана:

$$N_2 = N_1 \exp\left[-\frac{E_2 - E_1}{kT}\right] = N_1 \exp\left[-\frac{\Delta E_{12}}{kT}\right] = N_1 \exp\left[-\frac{g\beta B_0}{kT}\right], \quad (10.7)$$

где N_1 , N_2 — заселенность нижнего и верхнего уровня соответственно при температуре T ; k — постоянная Больцмана, равная $1,380662(44) \cdot 10^{-23}$ Дж/К.

Вследствие этого в поле $\mathbf{B}_0$ создается макроскопическая намагниченность, вектор которой, представляющий векторную сумму моментов ядер, ориентирован вдоль приложенного поля (рис. 10.4).

Поглощение энергии электромагнитного поля при резонансных переходах происходит в том случае, если число индуцированных радиочастотным полем переходов с нижнего уровня на верхний превышает число переходов в обратном направлении. Значения магнитных моментов ядер очень малы, поэтому частоты квантов переходов соответствуют диапазону метровых радиоволн для достижимых в настоящее время напряженностей магнитного поля (≤ 19 Тл). Энергия таких квантов на несколько порядков ниже тепловой энергии kT в уравнении (10.7). Соответственно очень малы значения разности заселенностей $\Delta N_{12} = N_2 - N_1$. Например, при $T = 300$ К и напряженности магнитного поля 5 Тл отношение $N_2/N_1 \sim 10^{-5}$. Характерный диапазон частот, используемый для наблюдения спектров ЯМР, составляет 3—900 МГц.

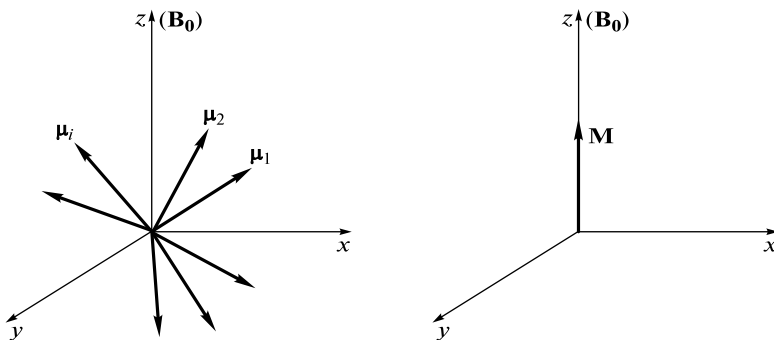


Рис. 10.4. Векторные диаграммы, иллюстрирующие формирование макроскопической намагниченности образца $\mathbf{M}$ как суммы векторов магнитных моментов ядер $\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_i$ ($\mathbf{B}_0$ — внешнее магнитное поле)

Разность заселенностей уровней определяется величиной $\Delta E_{12} = E_2 - E_1$, которая пропорциональна напряженности внешнего магнитного поля (см. уравнение (10.5)). Таким образом, чем больше напряженность внешнего магнитного поля, тем выше чувствительность метода.

При непрерывном воздействии резонансным радиочастотным полем значения N_1 и N_2 могут выравниваться и резонансное поглощение может прекратиться. Наступает явление насыщения, когда заселенности энергетических уровней выравниваются. Однако наряду с выравниванием заселенностей уровней при резонансном поглощении энергии имеют место релаксационные процессы взаимодействия спиновой системы со всей совокупностью окружающих ее частиц.

Система магнитных моментов ядер (так называемая *спиновая система*) релаксирует и возвращается в равновесное состояние вследствие обмена энергией с окружающей средой (последнюю в ЯМР называют *решеткой*) либо путем обмена энергией с окружающими магнитными моментами ядер (спинами).

Первый вариант механизма релаксации называют *спин-решеточной релаксацией* и характеризуют временем, которое обычно обозначают T_1 . Вторым вариантом механизма релаксации называют *спин-спиновую релаксацию* и характеризуют временем T_2 .

10.2. Параметры спектров ЯМР

10.2.1. Ширина линий

Сигнал ЯМР имеет вид колоколообразной линии, максимум которой отвечает частоте резонанса. Ширина сигнала зависит от продолжительности процессов затухания сигнала ЯМР, которая определяется процессами релаксации в исследуемой системе. Существует два типа релаксационных явлений: продольная релаксация (релаксация вдоль поля $\mathbf{B}_0$), называемая также спин-ре-

шеточной релаксацией (характеристическое время T_1), и поперечная релаксация (релаксация перпендикулярно оси $\mathbf{B}_0$), называемая также спин-спиновой релаксацией (характеристическое время T_2). Чем быстрее спин-спиновая релаксация, тем шире сигнал ЯМР. Чем медленнее спин-решеточная релаксация, тем проще достигается насыщение сигнала ЯМР.

Если обратиться к уравнению Лармора (10.2), то разброс в резонансных частотах ω ядер данного типа должен определяться в первую очередь однородностью внешнего магнитного поля, а также механизмом энергетического перехода. Однородность внешнего магнитного поля зависит от качества магнита, настройки его однородности с использованием специальных устройств, однородности образца, определяемой качеством ампулы, в которую помещают образец, и однородности раствора.

Полная ширина линии на половине ее высоты ($\Delta\nu_{1/2}$) в спектроскопии ЯМР определяется несколькими факторами:

$$\Delta\nu_{1/2} = \Delta\nu_{\text{рел}} + \Delta\nu_{\text{неодн}} + \Delta\nu_{\text{обм}}, \quad (10.8)$$

где $\Delta\nu_{\text{рел}}$ — релаксационная ширина линии, связанная со временем спин-спиновой релаксации: $\Delta\nu_{\text{рел}} = 1/(\pi T_2)$; $\Delta\nu_{\text{неодн}}$ — уширение, связанное с неоднородностью магнитного поля в объеме образца; $\Delta\nu_{\text{обм}}$ — дополнительное уширение, связанное с участием данного ядра в процессах химического обмена.

Важной особенностью спектров ЯМР невязких жидкостей являются большие времена спин-спиновой релаксации (порядка 1—10 с). Таким образом, релаксационный вклад в ширину линии может составлять 10^{-1} — 10^0 Гц. При удачной настройке однородности магнитного поля и отсутствии химического обмена линии в спектрах ЯМР оказываются очень узкими, что позволяет наблюдать химическую специфику отдельных групп ядер (химический сдвиг; см. подразд. 10.2.2). Следует отметить, что для вязких систем, а также при наличии в образце парамагнитных примесей (например, растворенного кислорода) время релаксации T_2 сокращается и ширина сигналов возрастает. В твердом теле из-за резкого уменьшения времени T_2 ширина линий может достигать 10^3 — 10^4 Гц.

10.2.2. Химический сдвиг

Резонансная частота ω_0 согласно уравнению Лармора (10.2) зависит от напряженности магнитного поля в той точке, где находится ядро. Она не равна напряженности поля $\mathbf{B}_0$, создаваемого магнитом прибора, вследствие экранирования ядра электронной подсистемой молекулы. Таким образом, эффективное поле $\mathbf{B}'$, действующее на ядро в молекуле, обычно оказывается меньше напряженности внешнего магнитного поля $\mathbf{B}_0$:

$$\mathbf{B}' = \mathbf{B}_0(1 - \sigma), \quad (10.9)$$

где σ — константа экранирования (как правило, это небольшая величина, измеряемая в миллионных долях (м. д.), в англоязычной литературе — ppm).

Константы экранирования для атомов одного сорта, занимающих разные структурные положения в молекуле, отличаются из-за различия распределения и величины электронной плотности на данном атоме в молекуле. Кон-

станты экранирования для разных ядер сильно отличаются по диапазону возможных значений; например, для протонов ^1H этот диапазон составляет около 10 м. д., для ядер ^{13}C — около 200 м. д., для ядер ^{19}F — 1 000 м. д.

Конфигурация и плотность электронного облака вокруг ядра зависят от структуры молекулы. Сдвиг резонансной частоты ядра в зависимости от химического окружения называют *химическим сдвигом*. Эффективность экранирования зависит от того, как ориентирована молекула по отношению к внешнему магнитному полю. Плотность электронного облака вокруг ядра неоднородна (анизотропна), и эффект экранирования электронным облаком молекулы, закрепленной в пространстве, будет различным в направлении осей x , y , z . Если молекула находится в растворе, то ее реориентация за счет броуновского движения при комнатной температуре для соединений средних молекулярных масс осуществляется за время порядка 10^{-11} с, что является быстрым процессом по временной шкале ЯМР (10^{-6} — 10^{-4} с) и в свою очередь приводит к усреднению анизотропии экранирования. Таким образом, для невязких систем константы экранирования изотропны.

Константы экранирования можно выражать в относительных единицах (м. д.) или в абсолютных единицах (Гц). Константы экранирования, выраженные в миллионных долях, не зависят от напряженности магнитного поля; константы экранирования в герцах пропорциональны напряженности магнитного поля. Так, 1 м. д. для резонансной частоты 100 МГц эквивалентна 100 Гц, а для частоты 400 МГц — 400 Гц.

Химический сдвиг измеряют относительно нулевой отметки шкалы отсчета. В качестве такой нулевой отметки используют сигнал внутреннего эталона, дающего определенную узкую линию в спектре ЯМР. На практике в качестве внутреннего эталона химического сдвига в спектрах ЯМР ^1H часто используют тетраметилсилан (ТМС) $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$. Небольшое количество этого вещества дает характерный сигнал (как правило, в правой части спектра). Для определения значений химического сдвига используют безразмерную величину $\delta_{\text{отн}}$, рассчитываемую по формуле

$$\delta_{\text{отн}} = \frac{\nu_{\text{эт}} - \nu_{\text{X}}}{\nu_{\text{эт}}}, \quad (10.10)$$

где $\nu_{\text{эт}}$, ν_{X} — резонансная частота эталона и анализируемого образца соответственно.

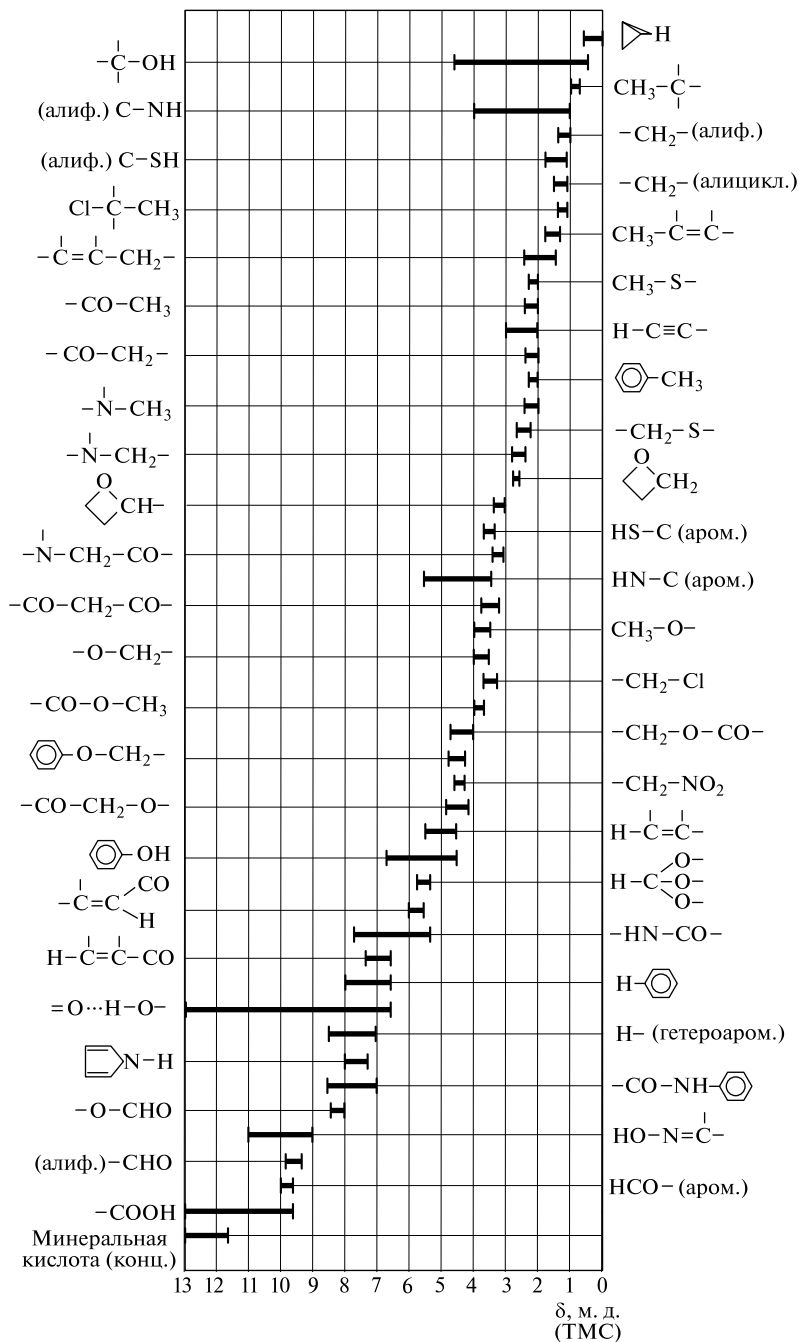
Резонансные частоты современных приборов очень велики ($> 10^6$ Гц) по сравнению с разностью $(\nu_{\text{эт}} - \nu_{\text{X}})$, а частота генератора ν_0 мало отличается от резонансной частоты эталона $\nu_{\text{эт}}$, поэтому в знаменателе формулы (10.10) в хорошем приближении можно заменить величину $\nu_{\text{эт}}$ на ν_0 . Тогда окончательно для химического сдвига, измеряемого в миллионных долях, имеем

$$\delta = \frac{\nu_{\text{эт}} - \nu_{\text{X}}}{\nu_0} 10^6. \quad (10.11)$$

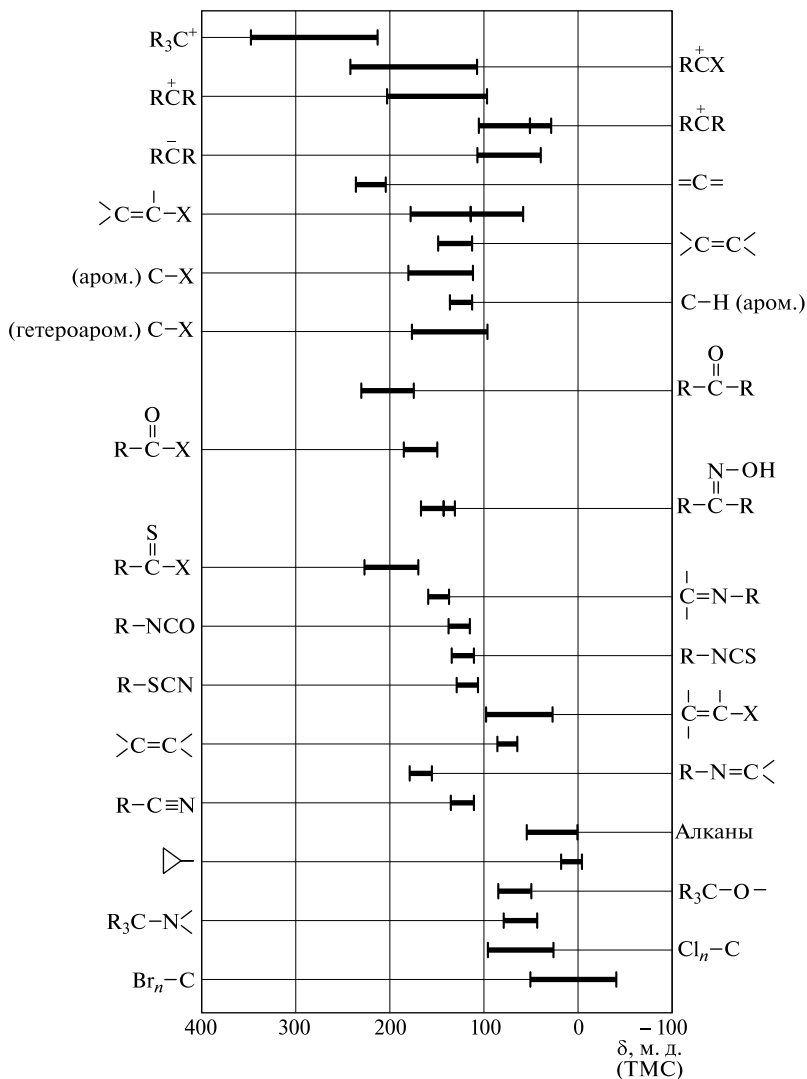
Коэффициент 10^6 введен для удобства работы с значениями δ .

Зависимость химического сдвига сигнала ядра от химического окружения позволяет проводить корреляцию: химическая структура вещества — спектральные свойства. Важно отметить, что химические сдвиги ядер в одинаковых

Типичные значения химических сдвигов ядер ^1H в различных структурных фрагментах органических молекул



Типичные значения химических сдвигов ядер ^{13}C в различных структурных фрагментах органических молекул



структурных фрагментах разных молекул оказываются очень близкими. На основании обобщения большого числа экспериментальных данных созданы корреляционные таблицы (табл. 10.1, 10.2)*, которые аналогичны корреляционным таблицам в ИК-спектроскопии (см. гл. 8).

* В табл. 10.1, 10.2 использованы следующие сокращения: (алиф.) — алифатический углеводород; (алицикл.) — алициклический углеводород; (аром.) — ароматическое соединение; (гетероаром.) — гетероароматическое соединение; (конц.) — концентрированная.

10.2.3. Константы спин-спинового взаимодействия

На значение напряженности внешнего магнитного поля в месте расположения ядра влияет магнитное поле, создаваемое магнитными моментами соседних ядер (спинов). Это влияние можно описать следующим образом: пусть в разных структурных положениях молекулы имеются два близко расположенных магнитных ядра А и В со спинами $1/2$ и 1 соответственно. Магнитный момент ядра А может быть ориентирован двумя способами: либо по полю $\mathbf{B}_0$, либо против поля $\mathbf{B}_0$. Разные ориентации ядра А приведут к разным значениям внутренних магнитных полей на ядре В, а значит, к двум энергетическим состояниям для ядра В. Это обуславливает возникновение двух линий (дублета) для ядра В. Соответственно ядро В со спином 1 может находиться в трех возможных ориентациях относительно магнитного поля (см. рис. 10.2, б), что приведет к возникновению трех линий одинаковой интенсивности (триплет 1 : 1 : 1) на ядре А.

Теоретически возникновение спиновых расщеплений обусловлено наличием так называемого косвенного спин-спинового взаимодействия ядер с энергией, определяемой произведением спинов ядер А и В: $E = hJ I_A I_B$, где J — константа спин-спинового взаимодействия, измеряемая в герцах. Косвенное спин-спиновое взаимодействие не следует путать с прямым спин-спиновым (или диполь-дипольным) взаимодействием, которое всегда существует в молекулах, так как возникает прямое магнитное поле магнитного диполя ядра μ по закону:

$$B = \frac{\mu}{r^3} (3 \cos^2 \theta - 1),$$

где r — расстояние от магнитного момента ядра А до данной точки (например, до второго ядра В); θ — угол между направлением внешнего магнитного поля и радиус-вектором, соединяющим ядра А и В.

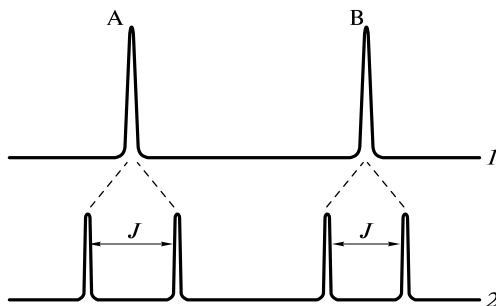


Рис. 10.5. Спектры двухспиновых систем:

1 — спектр системы из двух невзаимодействующих ядер А и В (два синглета); 2 — спектр системы из двух взаимодействующих ядер (два дублета с одинаковыми расщеплениями J); между сигналами А и В имеется разрыв в шкале частот резонанса (шкала абсцисс), это указывает на большую величину химического сдвига между сигналами А и В ($\Delta\nu = \nu_A - \nu_B$); таким образом, выполняется условие $\Delta\nu \gg J$, что позволяет рассматривать этот спектр в рамках спектров первого порядка

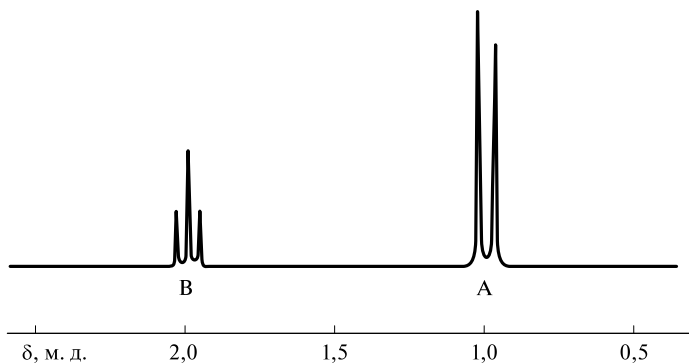


Рис. 10.6. Гипотетический спектр системы $\text{CHCl}_2\text{—CH}_2\text{Cl}$. В слабых полях — триплет 1 : 2 : 1 группы CHCl_2 (сигнал В с химическим сдвигом при 2,0 м. д.). В более сильных полях — дублет группы CH_2Cl (сигнал А с химическим сдвигом при 1,0 м. д.). Спектр получен с помощью симуляционной программы Mestре_С. Интенсивности слабо возмущены за счет «эффекта крыши» (внутренние линии более интенсивные, чем внешние)

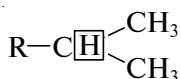
К счастью для спектроскопии ЯМР невязких изотропных систем, эти мощные прямые магнитные поля усредняются до нуля вследствие быстрой реориентации молекул (рис. 10.5).

В качестве более сложного примера рассмотрим молекулу $\text{CHCl}_2\text{—CH}_2\text{Cl}$. На протоны группы CH_2Cl оказывает влияние единственный протон соседней группы CHCl_2 . В результате влияния этого протона сигнал протонов группы CH_2Cl расщепляется в дублет. На протон группы CHCl_2 оказывают влияние расположенные по соседству два протона группы CH_2Cl . Эти два протона эквивалентны, и для пары эквивалентных протонов возможны три типа ориентации относительно внешнего магнитного поля: 1) оба протона ориентированы по полю, суммарная проекция спина равна +1; 2) оба протона ориентированы против поля, суммарная проекция спина равна -1; 3) возможна ориентация с противоположно направленными спинами (по полю, против поля) и (против поля, по полю). Для этих ориентаций суммарная проекция спина равна нулю. Таким образом, проекции +1, 0, -1 встречаются с относительными вероятностями 1 : 2 : 1. Именно так будут распределены интенсивности в триплете линий для группы CHCl_2 (рис. 10.6).

В общем, при условии, что резонансные частоты соседних ядер сильно отличаются (см. далее), число линий в мультиплете ядра А, имеющего по соседству N ядер со спином S , определяется соотношением

$$n = 2S(N + 1). \quad (10.12)$$

Например, для протона третичного атома углерода в молекуле



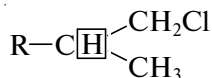
мультиплетность сигнала согласно уравнению (10.12) будет равна семи.

Если у ядра А имеются две разные соседние группы магнитных ядер, все имеющие спин S и содержащие N и M ядер в этих двух группах, то число линий в мультиплете сигнала ядра А составит

$$n = 2S(N + 1) \cdot 2S(M + 1) = 4S^2(N + 1)(M + 1). \quad (10.13)$$

Для случая спина $S = 1/2$ получим формулу: $n = (N + 1)(M + 1)$.

Например, для молекулы



в мультиплете протона третичного атома углерода можно было бы ожидать появления 12 линий. Поскольку частоты некоторых линий совпадают, происходит их наложение, и мультиплетность оказывается меньше предельно возможной.

Константы спин-спинового взаимодействия J , характеризующие возникающие при этом расщепления, не зависят от напряженности внешнего магнитного поля $\mathbf{B}_0$, они являются характеристиками структурных фрагментов. В простых спектрах их можно определить (но отнюдь не всегда), измеряя расстояние между линиями в мультиплете.

Абсолютная величина константы спин-спинового взаимодействия J зависит:

- от числа связей между взаимодействующими сигналами; например, для молекулы CH_3F константа спин-спинового взаимодействия $J(\text{H} \cdots \text{F})$ (константа через две связи между протоном и ядром ^{19}F) составляет около 300 Гц; для

группы $\begin{array}{c} \text{H} \quad \quad \quad | \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} = \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \quad \quad \quad \text{H} \end{array}$ константа $J(\text{H}-\text{C}=\text{C}-\text{H})$ изменяется в интервале от 6 до 20 Гц;

- от конфигурации двойной связи; например, константа спин-спинового взаимодействия между протонами двойной связи группы $-\text{HC}=\text{CH}-$ для *цис*-конфигурации составляет 6—12 Гц, для *транс*-конфигурации — 12—20 Гц;

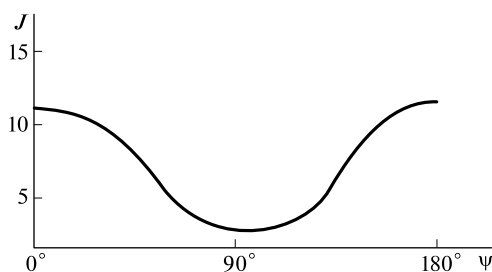
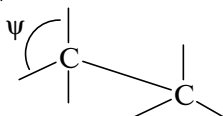


Рис. 10.7. Константы вицинального* взаимодействия J для разных значений двугранного угла ψ (кривая Карплуса)

* Если две одинаковые группы связаны с соседними атомами углерода, то говорят о *вицинальном* (лат. *vicinus* — соседний) расположении, или *виц*-расположении. Если две одинаковые группы связаны с одним атомом углерода, то говорят о *геминальном* (лат. *geminus* — близнецы) расположении, или *гем*-расположении.

- от двугранного угла ψ :

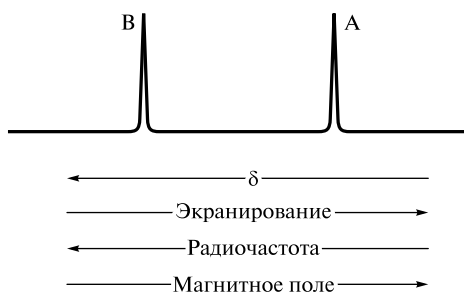


константы взаимодействия $\text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{H}$ зависят особым образом; эту зависимость можно описать кривой Карплуса (рис. 10.7). Константы взаимодействия максимальны для $\psi = 0^\circ$ и 180° и минимальны для $\psi = 90^\circ$.

10.3. Регистрация спектров ЯМР

Из уравнения Лармора (10.2) следует, что добиться условий резонанса можно, варьируя либо частоту ω , либо напряженность внешнего магнитного поля $\mathbf{B}_0$. В приборах первого поколения спектр обычно записывали с «разверткой» поля: по оси ординат фиксировали интенсивность I сигнала, по оси абсцисс — напряженность поля $\mathbf{B}_0$. При этом было сразу принято, что на спектрах напряженность поля увеличивается слева направо. Поэтому левую часть спектра до сих пор называют *областью слабого поля*, правую — *областью сильного поля*.

Спектры обычно приводят так, что ядра с большими константами экранирования оказываются справа. Таким образом, сигнал А имеет большую константу экранирования, поэтому он находится справа. Однако в литературе общепринята δ -шкала химических сдвигов, при этом крайний правый сигнал относится к сигналу протонов тетраметилсилана. Магнитное поле (при постоянной частоте) растет слева направо (от В к А), а частота сигнала растет в противоположном направлении — от А к В:



Для получения спектра высокого качества необходимо использовать малые напряженности радиочастотного поля $\mathbf{B}_1$ и проводить развертку медленно (режим медленного прохождения), поэтому регистрация спектров ЯМР ^1H обычно занимает десятки минут.

Можно существенно сократить время регистрации спектра, применив импульсную методику. В импульсном эксперименте на образец, находящийся в радиочастотном контуре в зазоре магнита, воздействуют коротким мощным радиочастотным импульсом на частоте наблюдаемого ядра. Если мощность

импульса достаточно велика, то он переводит часть ядер данного типа на верхний уровень, так что на нем создается их значительный избыток.

Представленная на рис. 10.8 векторная диаграмма иллюстрирует воздействие так называемого 90° -го импульса на вектор намагниченности. Этот импульс ориентирует вектор намагниченности $\mathbf{M}$ (направленный по оси z) вдоль оси x , поворачивая вектор $\mathbf{M}$ вокруг оси y . Стремясь вернуться на нижний уровень за счет релаксации, ядра избавляются от избытка энергии, излучая радиочастотные кванты. Каждое ядро излучает на своей резонансной частоте. Это излучение, которое имеет вид спадающей во времени экспоненты (рис. 10.9, *а*), можно зарегистрировать в виде сигнала — *сигнала спада свободной индукции* — и записать в память компьютера. Если в системе содержатся ядра только одного сорта (с одной частотой резонанса), то кривая спада свободной индукции имеет вид постепенно затухающей синусоиды (см. рис. 10.9, *а*). Частота колебаний соответствует разности частоты резонанса и несущей частоты, а постепенное затухание отражает процесс спин-спиновой релаксации.

В том случае, если излучают ядра нескольких типов, на кривой появляются биения. Возникающую интерферограмму можно подвергнуть преобразованию Фурье, которое функцию времени $f(t)$ преобразует в функцию частоты $F(\omega)$:

$$F(\omega) = \int f(t) \cos \omega t dt, \quad (10.14)$$

и получить обычный спектр ЯМР в координатах «частота — интенсивность сигнала» (рис. 10.9, *б*).

Блок-схема импульсного спектрометра ЯМР представлена на рис. 10.10. Отметим, что важным элементом спектрометра является канал стабилизации спектрометра (стабилизация отношения магнитное поле : резонансная частота). Для этого используется канал автоматической подстройки этого отношения, осуществляемой в режиме захвата (или режиме лока, см. далее).

Время регистрации спектра и его обработки в импульсном эксперименте составляет несколько секунд. Этот эксперимент можно повторить многократно, каждый раз суммируя результирующий сигнал в памяти компьютера. Поскольку интенсивность регулярного сигнала при этом растет пропорционально числу проходов N , а интенсивность нерегулярных шумов растет пропорционально корню квадратному из числа проходов $\sqrt{N}$, в результате такого накопления сигнала достигается выигрыш в соотношении сигнал : шум (S/N), пропорциональный значению $\sqrt{N}$. Например, чтобы повысить значе-

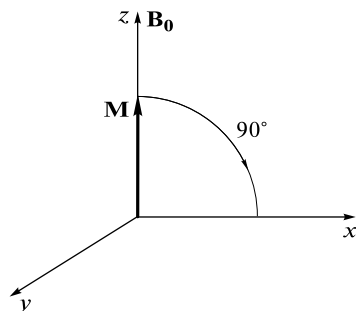


Рис. 10.8. Векторная диаграмма, иллюстрирующая воздействие радиочастотного импульса на макроскопическую намагниченность образца ($\mathbf{M}$ — вектор макроскопической намагниченности образца; $\mathbf{B}_0$ — направление внешнего магнитного поля)

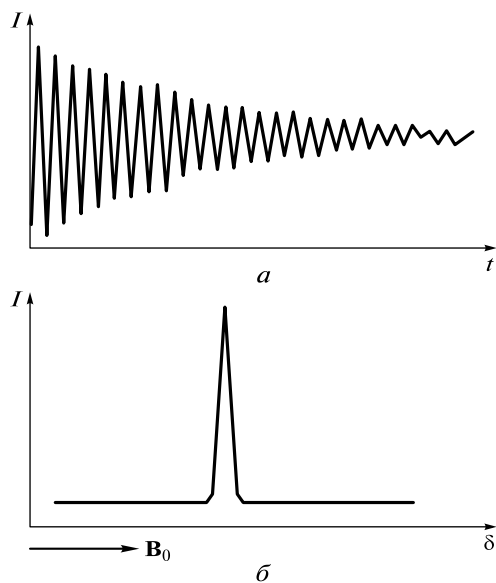


Рис. 10.9. Спад свободной индукции (а) для системы с одним типом ядер; спектр (б), полученный после проведения преобразования Фурье (10.14)

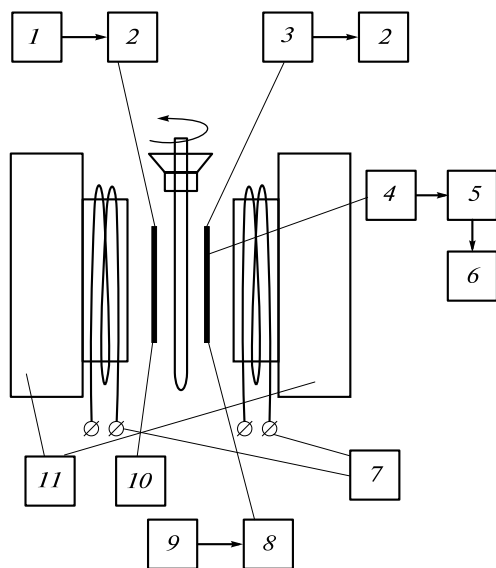


Рис. 10.10. Блок-схема ЯМР-спектрометра:

1 — генератор импульсов лок-канала; 2 — усилитель лок-канала; 3 — приемник лок-канала; 4 — приемник аналитического канала; 5 — аналогово-цифровой преобразователь; 6 — ЭВМ; 7 — система подстройки однородности поля; 8 — усилитель аналитического канала; 9 — генератор аналитического канала; 10 — передатчик для проведения экспериментов по двойному резонансу; 11 — силовые катушки магнита

ние S/N в 10 раз, необходимо сделать 100 повторов эксперимента по записи спектра.

Использование импульсной методики решило проблему регистрации спектров ядер с низким природным содержанием и (или) малым значением магнитного момента. Накопление сигнала в современных импульсных экспериментах часто проводится в течение нескольких часов (до сотен тысяч прохождений). Однако этим достоинства импульсного эксперимента не исчерпываются. Сигнал спада свободной индукции в компьютере можно подвергнуть разным видам математической обработки, которые позволяют существенно улучшить качество спектров. Можно использовать для воздействия на образец несколько импульсов разной длительности, мощности и формы (импульсную последовательность) и при этом получить большой объем дополнительной информации. Такие эксперименты и специальные методы математической обработки подробно рассматриваются в специальных курсах по спектроскопии ЯМР. В последние годы импульсная техника ЯМР с преобразованием Фурье полностью вытеснила метод непрерывной развертки.

При исследовании структуры веществ помимо ЯМР на ядрах протонов большой популярностью пользуются спектры ЯМР на ядрах ^{13}C (табл. 10.3). Особенности регистрации спектров ЯМР ^{13}C связаны в первую очередь с низким изотопным содержанием в природе ядра ^{13}C (1,14 %) и его малой относительной чувствительностью.

Как для ЯМР на ядрах ^1H , так и для ЯМР на ядрах ^{13}C в качестве нулевой точки был выбран сигнал тетраметилсилана. Значения химических сдвигов увеличиваются справа налево. Положительная область химических сдвигов слева от сигналов тетраметилсилана, отрицательная — справа. Так же как и для расшифровки спектров ЯМР ^1H , созданы корреляционные таблицы, позволяющие установить структуру вещества по его спектру. Из-за большого диапазона химических сдвигов малейшие изменения в химическом окружении ядер ^{13}C приводят к тому, что различные ядра дают сигналы, отличающиеся химическим сдвигом. Например, в молекуле, содержащей до 20—25 атомов углерода, отличающихся различным химическим окружением, в спектре

Таблица 10.3

Характеристики спектров ЯМР для различных ядер

Изотоп	Спин	Природное содержание изотопа, %	Относительная интенсивность сигнала ЯМР*	Частота ЯМР в поле 11,74 Тл, МГц
^1H	$1/2$	99,98	1	500
^2H	1	0,015	$1,45 \cdot 10^{-6}$	76,753
^{11}B	$3/2$	80,42	0,13	160,413
^{13}C	$1/2$	1,108	$1,76 \cdot 10^{-4}$	125,721
^{19}F	$1/2$	100	0,83	470,385
^{31}P	$1/2$	100	$6,63 \cdot 10^{-2}$	202,404

* С учетом природного содержания.

можно визуально пересчитать сигнал каждого ядра, что компенсирует ограничения из-за невозможности использования интегральной интенсивности сигнала в спектрах ЯМР ^{13}C .

10.4. Принцип работы импульсного спектрометра ЯМР

В современных спектрометрах ЯМР для создания мощных и однородных поляризующих полей B_0 чаще всего используют сверхпроводящие соленоиды, с помощью которых можно создавать поля напряженностью до 21,5 Тл, что соответствует резонансной частоте для протонов ~ 900 МГц. Современный прибор (рис. 10.11) представляет собой сложный измерительно-вычислительный комплекс, в который кроме криогенного магнита, охлаждаемого двумя рубашками с жидким азотом (внешняя) и жидким гелием (внутренняя), входят два или три быстродействующих компьютера, которые не только обеспечивают автоматическое поддержание условий эксперимента и его выполнение, но и позволяют в режиме *on line* проводить сбор и обработку данных, а также поддерживать связь с сетью для дистанционного управления экспериментами, передачи информации (режим удаленного доступа), проводить необходимые расчеты и связываться с банками данных для сравнения регистрируемого спектра с уже известными.

Важной системой прибора является система настройки и поддержания однородности поля B_0 . Для этой цели в зазор магнита помещают специальную систему катушек, создающих магнитные поля разной конфигурации. Управляя токами, подаваемыми в эти катушки, что делает компьютер по специальной программе, можно компенсировать остаточную неоднородность поля маг-



Рис. 10.11. Общий вид спектрометра ЯМР производства фирмы «Bruker Avance III-600» (рабочая частота ^1H 600 МГц)

нита и достичь высокой однородности (до $10^{-10} B_0$), что соответствует ширине линий ЯМР до сотых долей герца. Для дополнительного повышения однородности ампулу с образцом, которая обычно представляет собой тонкостенную стеклянную трубку, вращают в датчике с частотой 20—25 Гц.

Наиболее трудная техническая задача состоит в том, чтобы обеспечить долговременную стабильность напряженности поля, которая может изменяться (дрейфовать) во времени вследствие изменения температуры в помещении, а также появления нерегулярных магнитных и электрических помех.

Задачу обеспечения стабильности поля решают изящным и оригинальным способом. В прибор вводят еще один радиочастотный канал — канал стабилизации резонансных условий (называемый также каналом лока). Чаще всего он настроен на резонансную частоту дейтерия так, чтобы для сигнала вещества, содержащего этот изотоп в образце (например, это может быть сигнал дейтерированного растворителя), всегда строго выполнялись условия резонанса. Если за счет дрейфа поля это условие нарушается, то в системе появляется сигнал ошибки, который передается в специальную систему коррекции, которая немедленно подстраивает поле до резонансного значения. Благодаря такой автоматической подстройке удастся исключительно точно поддерживать постоянными условия эксперимента в течение нескольких часов и даже суток.

Датчик спектрометра оснащен системой радиочастотных катушек, обеспечивающей облучение выделенной радиочастотой, улавливание сигнала образца, выделение и усиление сигнала. Спектрометр также имеет специальные устройства для термостатирования образца в интервале от -150 до $+200$ °С.

Радиочастотная часть спектрометра состоит из импульсных генераторов частоты, усилителей, детекторов и аналогово-цифровых преобразователей (АЦП). Все эти блоки управляются компьютером прибора. Основной компьютер спектрометра осуществляет управление экспериментом, проводит обработку сигнала и его фурье-преобразование.

10.5. Методы двойного резонанса в спектроскопии ЯМР

Использование двойного резонанса в спектроскопии ЯМР значительно расширяет возможности метода. Сущность метода заключается в том, что за счет использования дополнительного генератора радиочастоты достигают насыщения заселенности энергетических уровней магнитных моментов ядер одного типа. Это приводит к упрощению характера спектра, изменению интенсивностей сигналов и получению, в результате, дополнительной информации.

Наиболее часто эксперименты по двойному резонансу используют при регистрации спектров ЯМР ^{13}C . Большое число протонов, окружающих ядра углерода в химических соединениях, приводит к тому, что спектры ЯМР ^{13}C усложняются из-за спин-спинового взаимодействия ядер ^{13}C и ^1H (константы $J(^{13}\text{C}-^1\text{H})$). Для упрощения вида спектров обычно используют режим двойного резонанса $^{13}\text{C}-\{^1\text{H}\}$ (ядра ^{13}C наблюдают, а протоны облучают мощным полем). Этот режим называют *развязкой от протонов*, при этом все расщепления, вызванные взаимодействиями ядер ^{13}C и ^1H , исчезают (коллапсируют),

и спектр состоит из синглетов, соответствующих отдельным неэквивалентным атомам углерода. Это обстоятельство сильно упрощает интерпретацию спектра.

При насыщении заселенности энергетических уровней магнитных моментов протонов увеличивается заселенность верхних энергетических уровней для спиновой системы протонов. Одновременно возрастает заселенность нижних энергетических уровней другой спиновой системы — ^{13}C . Это приводит к увеличению вероятности квантового события — перехода магнитных моментов ядер ^{13}C на более высокие энергетические уровни, в итоге — к увеличению интенсивности сигналов в спектре ЯМР ^{13}C . Это явление носит название *ядерный эффект Оверхаузера*. Увеличение интенсивности сигнала в зависимости от числа протонов, окружающих ядра ^{13}C , и от структуры молекулы может составлять от 1 до 3.

В спектроскопии на ядрах протонов используют избирательное (селективное) подавление сигналов, при этом добиваются упрощения спектров и получают информацию о спин-спиновом взаимодействии между соседними ядрами.

Рассмотрим спектр этанола (рис. 10.12, *а*). В качестве стандарта использован тетраметилсилан. Химический сдвиг протонов тетраметилсилана принят за нуль. Сигнал метильной группы CH_3 проявляется в виде триплета с соотношением интенсивностей 1 : 2 : 1, сигнал группы CH_2 — в виде квартета с соотношением интенсивностей пиков в мультиплете 1 : 3 : 3 : 1. Интегральная интенсивность сигналов протонов CH_3 , CH_2 , OH , выраженная в относительных единицах, составляет 3 : 2 : 1.

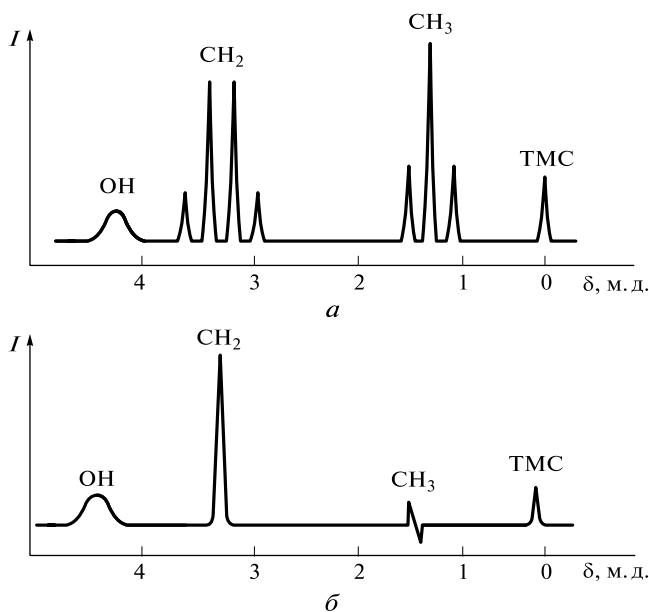


Рис. 10.12. Спектр ЯМР ^1H этанола до (*а*) и после (*б*) проведения процедуры двойного резонанса с развязкой от метильной группы (исчезло спин-спиновое взаимодействие группы CH_2 , и кватет 1 : 3 : 3 : 1 превратился в синглет)

Для доказательства того, что описанная группа сигналов относится к взаимодействующим соседним ядрам, насытим сигнал метильной группы. Этого можно добиться введением в систему дополнительного генератора электромагнитных излучений, работающего на резонансной частоте протонов метильной группы. При достаточной мощности и продолжительности работы дополнительного генератора происходит насыщение заселенности энергетических уровней магнитных моментов протонов метильной группы. Взаимодействие протонов метильной группы исчезает, это приводит к тому, что в спектре изменяется форма сигнала группы CH_2 — он превращается в синглет (рис. 10.12, б).

10.6. Характеристики спиновых систем

Косвенные спин-спиновые взаимодействия между химически эквивалентными ядрами, резонансные частоты которых совпадают, не проявляются в спектре в виде расщепления сигналов. Поэтому спектры ЯМР ^1H таких веществ, как 1,2-дихлорэтан, бензол, диоксан, этилен содержат только узкие синглеты. Если разности резонансных частот ядер, связанных спин-спиновым взаимодействием, существенно больше, чем константы спин-спинового взаимодействия между ними ($\Delta\nu \geq (6-10)J$), то в таких случаях возникают *спектры первого порядка*. Вид спиновых мультиплетов в них оказывается достаточно простым и подчиняется определенным правилам.

Группы ядер с сильно различающимися химическими сдвигами обозначают латинскими буквами, далеко отстоящими в алфавите; например, система двух ядер AX или система трех ядер AX_2 (в частности, для системы протонов в молекуле $\text{CHCl}_2-\text{CH}_2\text{Cl}$). Существуют системы с несколькими группами ядер, например система AX_2M_3 — шесть ядер разделяются на три группы: A (одно ядро), X_2 (два ядра) и M_3 (три ядра). Такая спиновая система имеет место для этилового спирта $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$.

Спектры гетероядерных спиновых систем являются спектрами первого порядка. Отклонения возникают в двух основных случаях. Во-первых, если не выполняется условие $\Delta\nu \geq (6-10)J$ и разности резонансных частот оказываются близкими к значениям J , происходит искажение распределения интенсивностей линий в мультиплетах. Интенсивность внешних линий уменьшается, а внутренних увеличивается (эффект «крыши»). На рис. 10.13 показано, как меняется спектр AX при уменьшении разности резонансных частот ядер A и X . Во-вторых, в более сложных спиновых системах, содержащих три и большее число взаимодействующих ядер, при нарушении условия $\Delta\nu \geq (6-10)J$ проявляются дополнительные линии, соответствующие так называемым комбинационным переходам. При обозначении таких спиновых систем «не первого порядка» обычно используют близко расположенные буквы латинского алфавита для тех ядер, которые имеют близкие резонансные частоты. В качестве примера на рис. 10.13 показаны спектр системы AX из двух ядер с сильно различающимися резонансными частотами и спектр системы AB с двумя ядрами, близкими по частотам.

Поскольку разность резонансных частот растет пропорционально рабочей частоте спектрометра, а значения J от нее не зависят, легко упростить такие

спектры, измерив их на приборе с большей рабочей частотой. В качестве примера на рис. 10.14 показаны спектры 1,2-дихлорбензола, зарегистрированные на спектрометрах с частотами 80 и 200 МГц.

Однако существуют спиновые системы, спектры которых не подчиняются правилам первого порядка даже в том случае, если условие $\Delta\nu \geq (6 - 10)J$ выполняется. Это относится к системам с магнитно неэквивалентными ядрами. Рассмотрим молекулу 1,2-дихлорбензола, спектр ЯМР ^1H которой показан на рис. 10.14. В ней присутствуют два типа химически эквивалентных протонов — два протона, отмеченные индексом А, в *орто*-положении к атомам хлора и два протона, отмеченные индексом Х, в *мета*-положении к ним. Хотя разность их резонансных частот достаточно велика, спектр имеет сложный вид. Это связано с тем, что протоны в парах А и Х магнитно не эквивалентны.

Два ядра одного типа являются *магнитно эквивалентными* (это требуется для соблюдения правил первого порядка) в том случае, если их резонансные частоты совпадают и совпадают их константы спин-спинового взаимодействия с любым третьим ядром в системе. Химически эквивалентные, но магнитно неэквивалентные ядра обозначают одинаковыми буквами латинского алфавита, но для одного из них добавляют штрих в верхнем индексе.

Спиновую систему 1,2-дихлорбензола обозначают следующим образом: АА'ХХ'. В том, что это именно такая система, легко убедиться, так как константы J_{AB} и $J_{\text{AB'}}$ не равны друг другу (константа J_{AB} — это константа через три

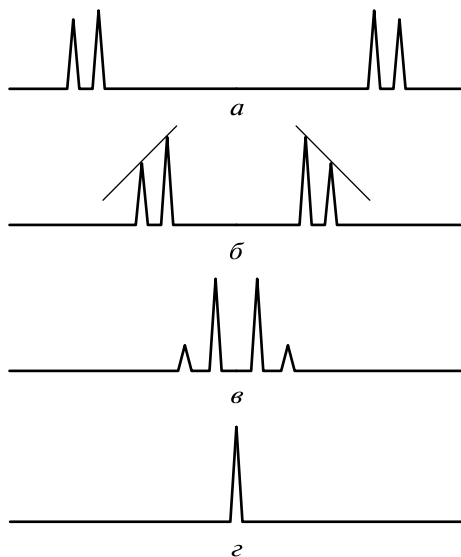


Рис. 10.13. Спектры спиновых систем при различных значениях отношения $\Delta\delta/J$ ($\Delta\delta$ — разность химических сдвигов):

а — $\Delta\delta/J > 10$, наблюдаются два дублета с почти равными интенсивностями (система АХ); б — $\Delta\delta/J \approx 5$, наблюдаются искажения линий — эффект «крыши» (система АХ); в — $\Delta\delta/J \approx 1,5$, наблюдаются сильные искажения линий и химические сдвиги двух ядер не совпадают с центрами дублетов (система АВ); г — $\Delta\delta/J = 0$, два ядра химически эквивалентны, в результате вырождения четыре линии коллапсируют в одну

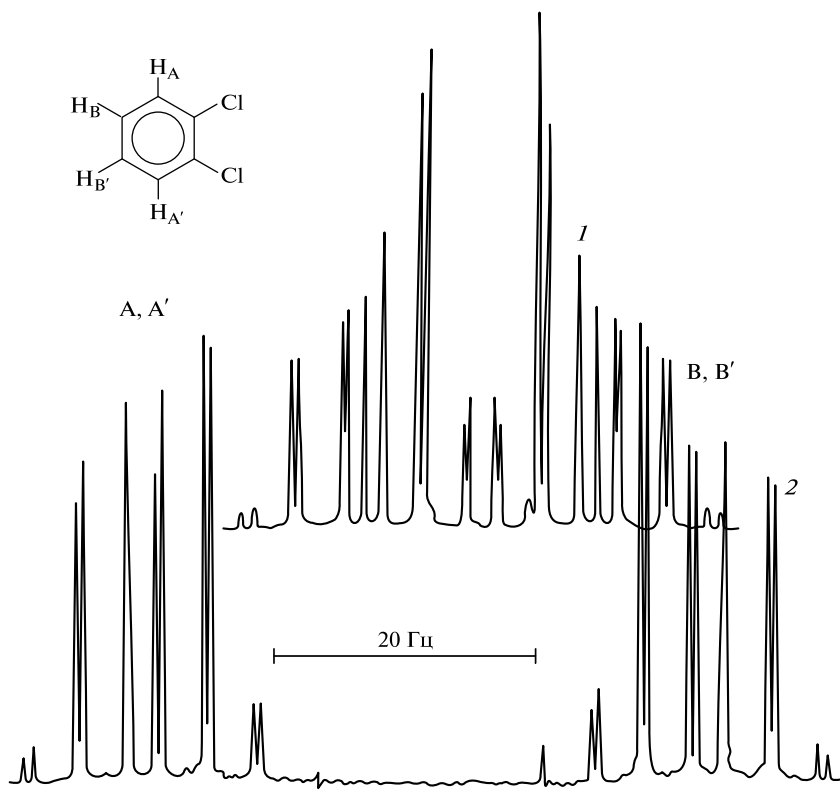


Рис. 10.14. Спектры системы магнитно неэквивалентных протонов 1,2-дихлорбензола при 80 (1) и 200 (2) МГц

связи для вицинальных ядер, обозначается $^3J_{AB}$; константа $J_{AB'}$ — это константа через четыре связи, обозначается $^4J_{AB'}$.

Спектры не первого порядка дают также все *пара*-дизамещенные бензола с различными заместителями X и Y в кольце. Их также нельзя анализировать по правилам первого порядка. Расстояния между линиями мультиплетов в спектрах не первого порядка не равны значениям констант спин-спинового взаимодействия. Для получения этих значений необходимо проводить анализ таких спектров с помощью специальных компьютерных программ. Методы такого анализа отлично отработаны, а программы общедоступны.

10.7. Динамические эффекты в спектроскопии ЯМР

К числу наиболее характерных особенностей и преимуществ ЯМР относится то, что можно исследовать кинетику обменных процессов непосредственно из экспериментальных данных, например из температурных зависимостей спектров.

Динамические процессы, оказывающие влияние на характер спектров, позволяют изучать динамику молекул и химических реакций, внутримолекуляр-

ные процессы (например, заторможенное внутреннее вращение, инверсию циклов, инверсию у атома азота, *син-анти*-изомерию, таутомерные превращения), межмолекулярные реакции (например, протонный обмен, лигандный обмен, биохимические процессы взаимодействия фермент — субстрат).

В кинетических исследованиях такого типа временная шкала эксперимента определяется значениями химических сдвигов и констант спин-спинового взаимодействия.

Обменные процессы при определенных условиях могут влиять на форму резонансных сигналов. Степень этого влияния можно оценить из *принципа неопределенности Гейзенберга*:

$$\Delta E \Delta t = h/(2\pi). \quad (10.15)$$

Поскольку $\Delta E = h\nu$, а величину Δt можно отождествить со средним временем жизни τ магнитного ядра в одном из обменивающихся состояний, то для рассматриваемого случая принцип неопределенности принимает вид

$$\Delta\nu\tau = 1/(2\pi), \quad (10.16)$$

где $\Delta\nu$ — разность химических сдвигов или констант спин-спинового взаимодействия обменивающихся состояний.

Величина τ непосредственно связана с константой скорости реакции. Для реакций первого порядка константа скорости реакции K равна

$$K = 1/\tau.$$

Рассмотрим влияние обменного процесса на вид спектра ЯМР для случая обмена между двумя равнозаселенными состояниями. При $K \ll 1 \text{ с}^{-1}$ вклад обменного процесса в ширину линии пренебрежимо мал, и обмен между состояниями не обнаруживается. В области медленного обмена каждая из спектральных компонент уширяется и смещается к центру спектра. В области промежуточных скоростей обмена происходит слияние сигналов. При дальней-

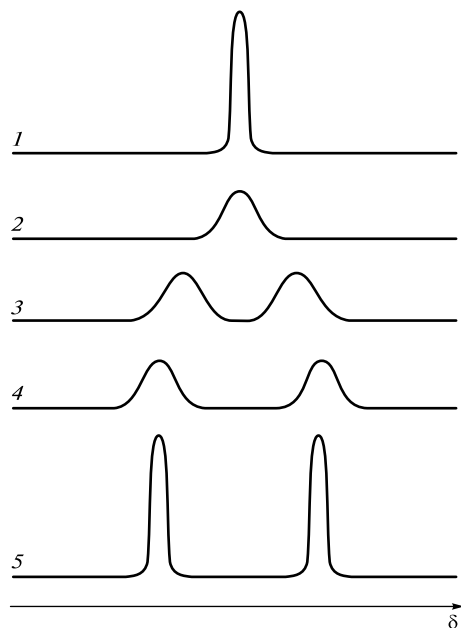


Рис. 10.15. Зависимость формы сигнала ЯМР от температуры для случая обмена между двумя состояниями:

1 — обмен медленный ($K \ll 1 \text{ с}^{-1}$), наблюдаются две линии, соответствующие двум состояниям с разными химическими сдвигами; 2 — температура повышена, скорость обмена порядка обратной ширины линии ($K \approx 1/\Delta\nu$); 3 — дальнейшее повышение температуры, линии уширяются и сближаются; 4 — образовалась одна линия (эта температура называется точкой коллапса, наблюдается при $K = 1/\Delta\delta$, где $\Delta\delta$ — разность химических сдвигов, Гц); 5 — высокая скорость обмена ($K \gg 1/\Delta\delta$), наблюдается одна узкая линия

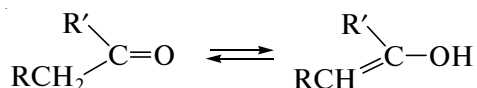
шем увеличении скорости обмена линия сужается. В области быстрого обмена (при $K > 10^5 \text{ с}^{-1}$ для протонов) в спектре наблюдается узкая одиночная линия. В этом случае уширение сигнала настолько мало, что обменный процесс надежно зарегистрировать нельзя (рис. 10.15).

В настоящее время достаточно хорошо развит теоретический аппарат для расчета констант экранирования и констант спин-спинового взаимодействия методами квантовой химии, и эти параметры можно рассчитывать с точностью, допускающей прямое сопоставление с экспериментом.

10.8. Изотопный обмен

Протоны, связанные с атомом кислорода, азота или серы, легко обмениваются на дейтерий. Это свойство используют в спектроскопии ЯМР для обнаружения соответствующих функциональных групп и для того, чтобы обнаружить под сигналами таких групп другие перекрывающиеся с ними сигналы. Для этого сначала регистрируют спектр ЯМР исходного вещества, затем к пробе добавляют небольшое количество тяжелой воды D_2O , образец несколько раз встряхивают и регистрируют спектр вторично. В качестве примера на рис. 10.16 показан спектр ЯМР ^1H уксусной кислоты. Как видно, после обработки раствора тяжелой водой D_2O исчезает сигнал протона карбоксильной группы.

Аналогично могут обмениваться на дейтерий и протоны в карбонильных и 1,3-дикарбонильных соединениях. В простых альдегидах и кетонах такой обмен протекает через их таутомеры енольной формы, которые присутствуют в растворе в малых концентрациях. Этот обмен протекает медленно. По его скорости можно судить о концентрации енолов:



Если в молекуле имеется несколько различных групп с подвижными протонами (например, спиртовые группы $-\text{OH}$ и карбоксильные группы $-\text{COOH}$), то быстрый обмен между ними часто приводит к появлению в спектре одного широкого сигнала с усредненным химическим сдвигом.

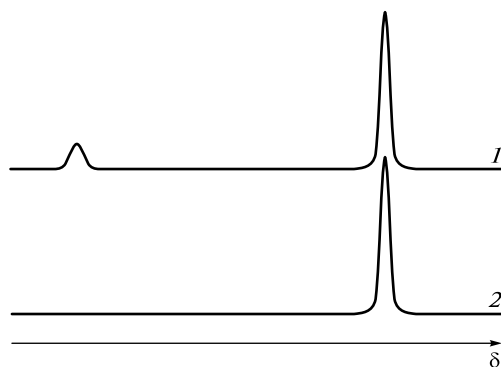


Рис. 10.16. Спектр уксусной кислоты:
1 — спектр, зарегистрированный в безводных условиях; 2 — спектр после добавления D_2O

10.9. Использование импульсных последовательностей в спектроскопии ЯМР

Выше были рассмотрены эксперименты, в которых равновесную спиновую систему облучали одиночным радиочастотным импульсом с последующей регистрацией спада свободной индукции и преобразованием Фурье, переводящим функцию времени $f(t)$ в функцию частоты $F(\omega)$ (уравнение (10.14)). Спектры, получаемые в результате такого одноимпульсного эксперимента, ничем не отличаются от спектров, получаемых в экспериментах, использующих разворачивание (сканирование по полю). Импульсная техника позволяет улучшить качество спектра, уменьшить время сбора информации. При использовании многоимпульсных последовательностей в экспериментах можно получить принципиально новую информацию, которая недоступна при использовании стационарного ЯМР.

Измерение времени спин-решеточной релаксации

Наиболее распространенный метод измерения спин-решеточной релаксации представляет собой довольно простую последовательность, включающую инверсию вектора макроскопической намагниченности от значений $+M_0$ до $-M_0$, при использовании 180° -го импульса (π -импульса). Импульсная последовательность включает следующие операции (рис. 10.17):

- 1) 180° -й импульс;
- 2) задержка между импульсами в течение времени τ , контролируемая оператором;
- 3) 90° -й импульс;
- 4) AQ — сбор информации, регистрация сигнала спада свободной индукции.

После воздействия 180° -м импульсом макроскопическая намагниченность изменяет свое значение от $+M_0$ до $-M_0$ и в течение времени τ возвращается в равновесное состояние за счет процесса спин-решеточной релаксации. Если время τ достаточно велико (больше времени спин-решеточной релаксации T_1), спиновая система полностью возвращается в равновесное состояние. После 90° -го импульса регистрируется сигнал спада свободной индукции и далее после фурье-преобразования записывают спектр.

На рис. 10.18 представлена векторная диаграмма, иллюстрирующая эволюцию вектора макроскопической намагниченности $\mathbf{M}$. Если система вернулась в равновесное состояние, интенсивность сигнала в спектре максимальна. Уменьшение задержки между импульсами τ до значений, когда макроскопическая

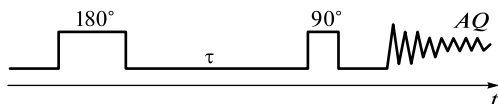
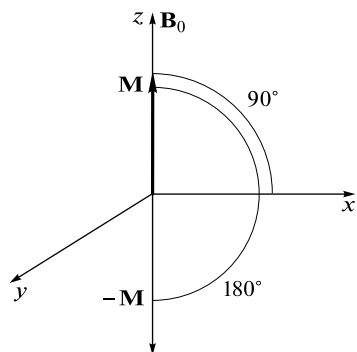


Рис. 10.17. Последовательность операций в эксперименте по измерению времени спин-решеточной релаксации

Рис. 10.18. Векторная диаграмма, иллюстрирующая эволюцию вектора макроскопической намагниченности $\mathbf{M}$ в системе координат xzy при измерении времени спин-решеточной релаксации ($\mathbf{B}_0$ — внешнее магнитное поле)



намагниченность не успевает вернуться в исходное состояние, приводит к уменьшению интенсивности сигнала в спектре. Последовательное уменьшение задержки между импульсами приводит сначала к уменьшению сигнала до нуля, а затем к его обращению на 180° (рис. 10.19).

Тангенс угла наклона касательной экспоненты в точке пересечения ее нулевой линии дает значение времени спин-решеточной релаксации T_1 .

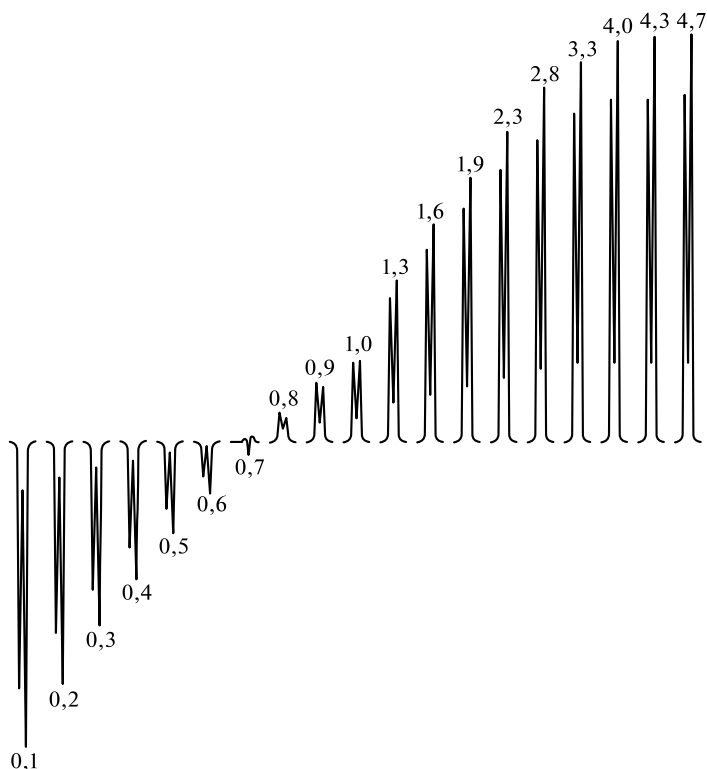


Рис. 10.19. Обращение сигнала в спектре ЯМР при проведении эксперимента по измерению времени спин-решеточной релаксации при изменении задержки τ между импульсами (значения 0,1 — 4,7 соответствуют изменению времени задержки τ между импульсами)

Обычно в одноимпульсных экспериментах регистрируют изменение намагниченности в плоскости xy . Если провести следующий эксперимент: развернуть вектор макроскопической намагниченности $\mathbf{M}$ 90° -м импульсом в направлении x и выждать некоторое время τ , то происходит расфазировка макроскопической намагниченности $\mathbf{M}$, так как $\mathbf{M}$ представляет собой сумму магнитных моментов различных по свойствам ядер. Спиновая динамика расфазировки $\mathbf{M}$ содержит полезную информацию о структуре вещества. Если затем воздействовать на спиновую систему 180° -м импульсом, то через некоторое время τ_D наблюдается спиновое эхо. Импульсная последовательность по измерению спинового эха включает последовательность событий, представленных на рис. 10.20, а на рис. 10.21 приведена векторная диаграмма, иллюстрирующая эволюцию вектора $\mathbf{M}$ при измерении спинового эха.

Импульсная последовательность включает следующие операции (см. рис. 10.20):

- 1) 90° -й импульс;
- 2) задержка между импульсами на время τ_D , в течение которого происходит расфазировка вектора $\mathbf{M}$ в плоскости xy ;
- 3) 180° -й импульс;
- 4) наблюдение спинового эха.

Представить процесс расфазировки вектора $\mathbf{M}$ и его «схлопывание» — формирование «эха» — можно как следующее спортивное мероприятие: на старте стометровой дистанции представлены бегуны-профессионалы и новички. После старта состав забега в зависимости от квалификации бегунов распределяется по дистанции; после повторного сигнала через 10 с бегуны разворачиваются на 180° , бегут в противоположную сторону и дружно встречаются на линии

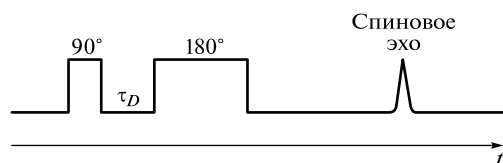


Рис. 10.20. Последовательность операций в эксперименте по измерению спинового эха

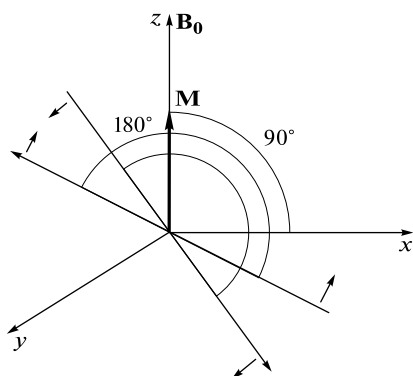


Рис. 10.21. Векторная диаграмма, иллюстрирующая эволюцию вектора макроскопической намагниченности $\mathbf{M}$ в системе координат xyz при измерении спинового эха ($\mathbf{B}_0$ — внешнее магнитное поле)

старта, так же как и расфазированные спины фокусируются в сигнале спин-эха. В пике эха ни один эффект неоднородности образца и магнитного поля не проявляется. Существенное влияние оказывает скорость диффузии молекул анализируемого вещества в используемом растворителе.

10.10. Второе измерение в спектроскопии ЯМР

В многочисленных экспериментах обычно выделяют стадии подготовки образца, его эволюции и стадии детектирования. Характер спектра, детектируемого в результате эксперимента, зависит от длительности стадий подготовки и эволюции образца. Таким образом, имеются два совершенно различных воздействия на макроскопическую намагниченность: 1) воздействие за время эволюции образца; 2) воздействие за время сбора информации при возвращении макроскопической намагниченности в равновесное состояние.

В двумерной спектроскопии ЯМР одно частотное измерение регистрируют после преобразования Фурье временной функции спада свободной индукции; другое — после трансформации временной зависимости процесса эволюции спиновой системы в другую частоту, что приводит к упрощению спектров и более наглядной демонстрации спектральной информации.

Один из первых экспериментов по регистрации двумерных спектров, ставшей через десять лет вполне рутинной процедурой, относится к 1971 г. В настоящее время наиболее часто используют импульсную последовательность, называемую COSY (Correlated Spectroscopy).

Импульсная последовательность COSY представлена на рис. 10.22. На спиновую систему подают первый 90° -й импульс. Вектор макроскопической намагниченности отклоняется на 90° . Затем в течение времени τ спиновая система подвергается расфазировке (происходит процесс эволюции спиновой системы). Затем подают второй 90° -й импульс и регистрируют сигнал спада свободной индукции. Варьируемое значение τ и есть второе измерение. За время второго 90° -го импульса вектор макроскопической намагниченности ориентируется в направлении оси z . Это относится к магнитным моментам ядер, которые находятся друг с другом во взаимодействии — спарены. В результате получают двумерный спектр без проведения экспериментов по распариванию спиновой системы (проведение экспериментов по двойному резонансу). В двумерном спектре пики, расположенные по диагонали (рис. 10.23), относятся к спиновым системам, взаимодействующим между собой.

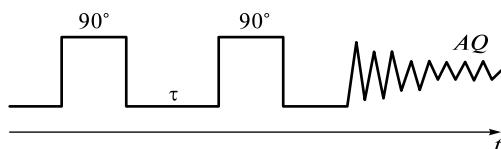


Рис. 10.22. Последовательность операций в эксперименте по регистрации двумерного спектра (импульсная последовательность COSY)

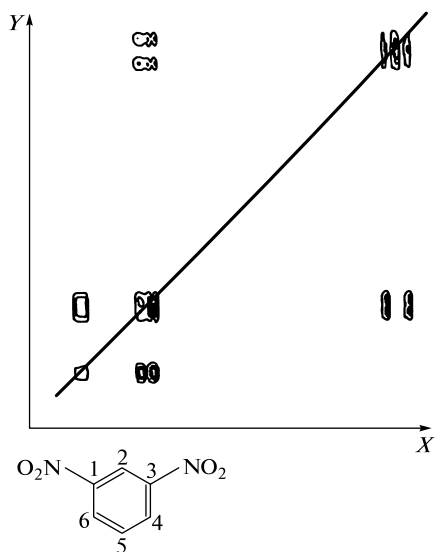


Рис. 10.23. Пример двумерного спектра (COSY) 1,3-динитробензола (пики, расположенные по диагонали, относятся к спиновым системам, взаимодействующим между собой; X — частотная функция — химический сдвиг; Y — частотная функция, отражающая спин-спиновое взаимодействие)

Для получения двумерного спектра необходимо варьировать значение τ несколько тысяч раз, т.е. проводить съемку и преобразование Фурье сигналов спада свободной индукции, полученных обычно для 4—6 тысяч различных значений.

Время сбора и обработки информации при записи двумерных спектров даже при современном развитии вычислительной техники занимает несколько часов (для сравнения: регистрация, запись, фурье-преобразование сигналов спада свободной индукции, обработка и распечатывание одномерного спектра занимает ~1 мин для спектров ЯМР ^1H и ~10—15 мин для спектров ЯМР ^{13}C).

10.11. Применение спектроскопии ЯМР

Спектроскопия ЯМР относится к неразрушающим методам анализа. Современная импульсная ЯМР-фурье-спектроскопия позволяет проводить анализ по 84 магнитным ядрам. Спектроскопия ЯМР — один из основных физико-химических методов анализа (см. гл. 19).

Спектроскопия ЯМР широко используется в химии, материаловедении, медицине, биологии, биохимии. Можно выделить следующие области применения ЯМР:

- анализ вещества, изучение строения молекул;
- анализ динамических явлений в растворах;
- изучение релаксационных процессов;
- изучение динамики молекул в твердых образцах;
- получение изображения объектов (ЯМР-томография).

Данные спектроскопии ЯМР используют для однозначной идентификации как промежуточных продуктов химических реакций, так и целевых веществ.

Помимо структурных отнесений и количественного анализа спектроскопия ЯМР дает информацию о конформационных равновесиях, диффузии атомов и молекул в твердых телах, внутримолекулярных движениях, водородных связях и ассоциации молекул в жидкостях, кето-енольной таутомерии, металло- и рототропии, упорядоченности и распределении звеньев в полимерных цепях, адсорбции веществ, электронной структуре ионных, жидких кристаллов и др. Спектроскопия ЯМР — источник информации о структуре биополимеров, в том числе белковых молекул в растворах, сопоставимой по достоверности с данными рентгеноструктурного анализа. В 1980-е гг. началось бурное внедрение методов спектроскопии и томографии ЯМР в медицину для диагностики сложных заболеваний и при диспансеризации населения.

Число и положение линий в спектрах ЯМР однозначно характеризует все фракции сырой нефти, синтетические каучуки, пластмассы, сланцы, угли, лекарственные препараты, продукцию химической и фармацевтической промышленности и др.

Интенсивность и ширина линий ЯМР воды или масла позволяет с высокой точностью измерять влажность и масличность семян, сохранность зерна. При подавлении сигналов воды можно регистрировать содержание клейковины в каждом зерне, что, так же как и анализ масличности, позволяет вести ускоренную селекцию сельскохозяйственных культур.

Применение все более сильных (до 19 Тл) магнитных полей в серийных приборах обеспечивает возможность полного определения структуры белковых молекул в растворах, экспресс-анализа биологических жидкостей (концентрации эндогенных метаболитов в крови, моче, лимфе, спинномозговой жидкости), контроля качества новых полимерных материалов. При этом применяют многочисленные варианты многоквантовых и многомерных фурье-спектроскопических методик.

Метод ЯМР используют в экспертных системах химического анализа (см. гл. 19).

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Что изучает спектроскопия ЯМР?
2. Опишите механизм поглощения веществом электромагнитных волн.
3. Охарактеризуйте понятия: макроскопическая намагниченность образца, время спин-решеточной релаксации, время спин-спиновой релаксации, химический сдвиг.
4. Какую информацию в спектре ЯМР несет химический сдвиг сигнала?
5. Дайте определение константы спин-спинового взаимодействия.
6. Какую информацию о структуре молекулы дает константа спин-спинового взаимодействия?
7. Какими особенностями характеризуется проведение экспериментов по регистрации спектров ЯМР ^{13}C ?
8. В чем заключается необходимость проведения экспериментов по двойному резонансу в спектроскопии ЯМР?
9. Дайте описание эксперимента по измерению времени спин-решеточной релаксации.
10. Опишите эксперимент по регистрации спинового эха в спектроскопии ЯМР.
11. В чем заключаются динамические эффекты в спектроскопии ЯМР?
12. Опишите эксперимент по регистрации двумерных спектров ЯМР.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аналитическая химия. Проблемы и подходы / под ред. Р. Кельнер, Ж. М. Мерме, М. Отто, М. Андмер. — М. : Мир, 2004.

Дероум Э. Современные методы ЯМР для химических исследований / Э. Дероум. — М. : Мир, 1992.

Гюнтер Х. Введение в курс спектроскопии ЯМР / Х. Гюнтер ; пер. с англ. — М. : Мир, 1984.

Ионин Б. И. ЯМР спектроскопия в органической химии / Б. И. Ионин, Б. А. Ершов, А. И. Кольцов. — М. : Химия, 1983.

Калабин Г. А. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки / Г. А. Калабин, Л. В. Каницкая, Д. Ф. Кушнарев. — М. : Химия, 2000.

Колоколова Т. Н. Метаболический анализ биологических жидкостей человека с использованием спектроскопии ЯМР ^1H / Т. Н. Колоколова, О. Ю. Савельев, Н. М. Сергеев // Журн. аналит. химии. — 2008. — Т. 63. — № 2. — С. 118—136.

Сергеев Н. М. Спектроскопия ЯМР для химиков-органиков / Н. М. Сергеев. — М. : Изд-во МГУ, 1981.

Эмсли Дж. Спектроскопия ЯМР высокого разрешения : в 2 т. / Дж. Эмсли, Д. Финой, Л. Сатклиф. — М. : Мир, 1968—1969.

Эрнст Р. ЯМР в одном и двух измерениях / Р. Эрнст, Дж. Боденхаузен, А. Вокаун ; пер. с англ. под ред. К. М. Салихова. — М. : Мир, 1990.

Юинг Г. Инструментальные методы анализа / Г. Юинг. — М. : Мир, 1989.

Abraham R. J. Proton and Carbon-13 NMR Spectroscopy. An Integrated Approach / R. J. Abraham, P. Lottus. — N.Y. : Wiley, 1983.

Sanders J. K. M. Modern NMR Spectroscopy. A Guide for Chemists / J. K. M. Sanders, B. K. Hunter. — Oxford : University Press, 1992.

11.1. Основные понятия

Благодаря сопоставимости размеров атомов с длиной волны рентгеновских лучей и периодичности кристаллических структур рентгеновские лучи «воспринимают» кристаллы как трехмерные дифракционные решетки. При прохождении лучей через кристаллы возникает интерференция волн, рассеянных на атомах. Характер интерференционных картин (угловое расположение линий интерференции), как и в случае обычных дифракционных решеток, зависит от периода решетки, которым в случае дифракции рентгеновских лучей является период d кристаллической решетки. Связь геометрии получаемых интерференционных картин с геометрией кристаллической решетки и интенсивности интерференций с кристаллической структурой (типом и расположением атомов в элементарной ячейке) служит основой для экспериментального исследования кристаллов с помощью дифракции рентгеновских лучей.

Рентгеновским фазовым анализом называют метод идентификации фаз кристаллических веществ и определения доли каждой из фаз в составе многофазной системы по рентгеновской дифрактограмме поликристаллического образца. При этом процедуру идентификации фаз называют *качественным фазовым анализом*, а определение количества (доли) фазы в составе образца — *количественным фазовым анализом*. Основой для фазового анализа служит особенность кристаллической структуры веществ.

Под *фазой* здесь понимают однородную часть твердотельной системы (как термодинамически стабильной, так и метастабильной), отделенную от других частей (фаз) поверхностью раздела (границей), при переходе через которую химический состав, физико-химические свойства или структура вещества изменяются скачком. Рентгеновский фазовый анализ нацелен главным образом на анализ кристаллических фаз, хотя существует потенциальная возможность анализа и аморфных фаз в составе кристаллической смеси.

Геометрия дифрактограмм. *Геометрия дифрактограмм* определяется условием возникновения интерференционного максимума при дифракции рентгеновских лучей с длиной волны λ на отдельном кристалле (рис. 11.1, а). Это условие выражается *формулой Вульфа—Брэгга*, полученной из анализа процесса дифракции плоской монохроматической волны, проходящей сквозь стопку параллельных узловых плоскостей (hkl) кристаллической решетки:

$$n\lambda = 2d_{hkl}\sin\theta_{hkl}. \quad (11.1)$$

Угол θ_{hkl} направления первичного луча к системе плоскостей (hkl), при котором может наблюдаться интерференционный максимум, называется *брэгг-*

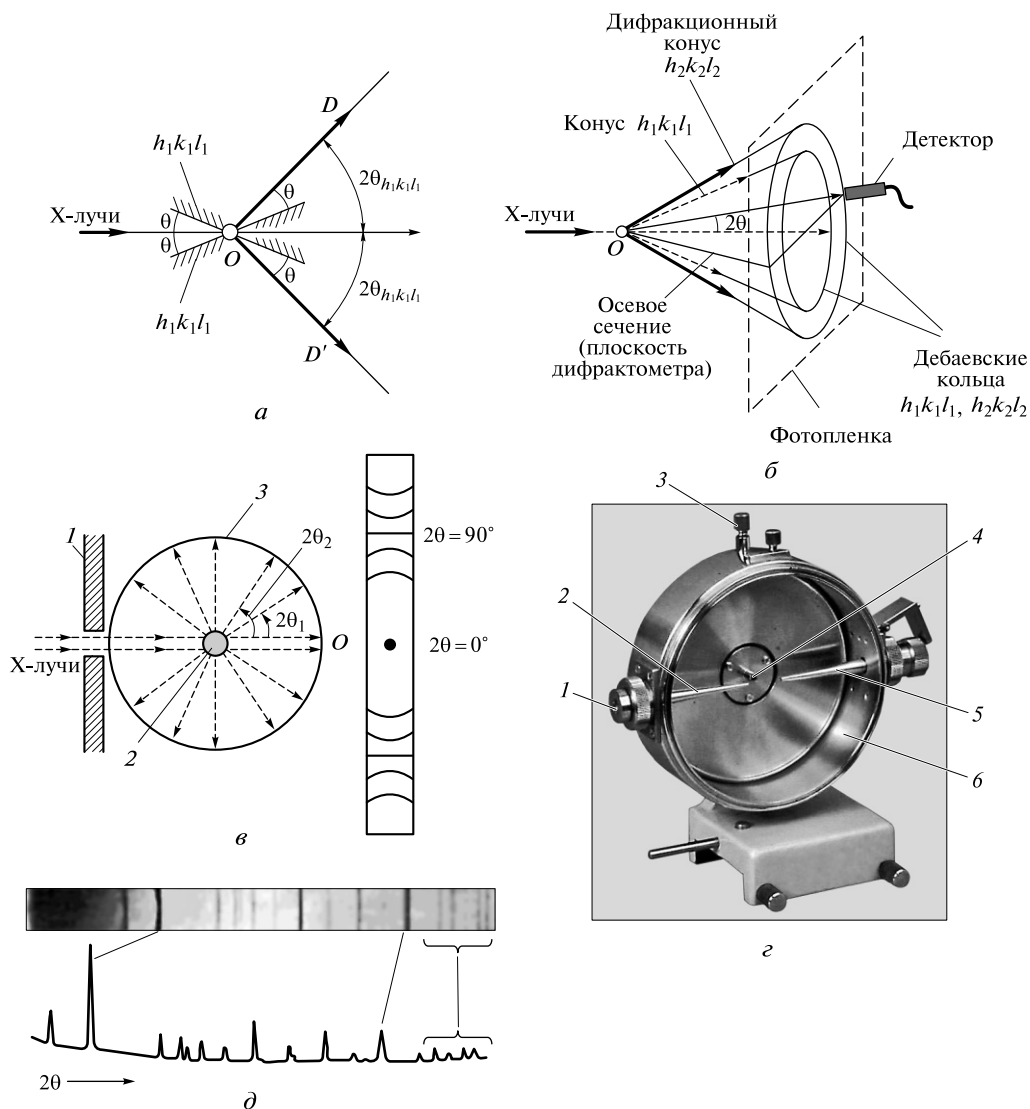


Рис. 11.1. Схема формирования брэгговского отражения от поликристаллического (порошкового) образца:

a — отражение от системы параллельных плоскостей ($h_1k_1l_1$) двух кристаллитов порошкового образца *O*, ориентированных симметрично относительно первичного рентгеновского луча; *б* — трехмерная схема формирования дифракционных конусов лучей и дифракционных линий от двух систем плоскостей (hkl) порошкового образца *O* и способы их регистрации на плоскую пленку или рентгеновским детектором; *в* — схема регистрации на цилиндрическую фотопленку дифракционной картины от цилиндрического порошкового образца в пучке параллельных лучей (метод Дебая — Шеррера); справа схематически представлен результат измерений на развернутой пленке, где указаны зарегистрированные части интерференционных дебаевских колец (дифракционные линии) (*1* — входная щель; *2* — образец; *3* — фотопленка); *г* — устройство рентгеновской камеры для измерений методом Дебая — Шеррера (*1* — входная щель; *2* — коллиматор пучка; *3* — устройство для регулировки положения образца; *4* — держатель образца; *5* — ловушка пучка; *6* — камера); *д* — дебаграмма порошка кварца (половина пленки) и соответствующая кривая ее фотометрирования (показано соответствие между характерными линиями дебаграммы и плотностью почернения)

говским углом (или углом брэгговского отражения) и измеряется половиной дифракционного угла 2θ — угла между направлениями первичного и дифрагированного лучей. При выполнении условия (11.1) углы между направлениями падающего и отраженного лучей и узловой плоскостью равны θ_{hkl} . Положительный целочисленный коэффициент n называют *порядком отражения*; он определяет число длин волн, укладывающихся на длине разности хода лучей, отраженных двумя соседними плоскостями (hkl) системы.

В дифракционных исследованиях для фазового анализа обычно используют образцы порошка материала с зернами размером 10^{-4} — 10^{-3} мм, каждая частица которого представляет 1—2 монокристалла, и все частицы хаотически ориентированы в пространстве. Даже при объеме 1 мм^3 подобный образец содержит миллионы кристаллитов. Если на него направить пучок параллельных монохроматических рентгеновских лучей, то практически всегда найдутся монокристаллические частицы с любой возможной для их структуры кристаллографической плоскостью (hkl), ориентированной под брэгговским углом θ_{hkl} к направлению падающего пучка, т. е. удовлетворяющие условию (11.1). В результате под разными углами 2θ к оси первичного луча одновременно возникнут все возможные для данного кристалла и данной длины волны рентгеновских лучей интерференционные максимумы — *брэгговские отражения*. Лучи, образованные интерференциями на одной системе плоскостей (hkl) множества хаотически ориентированных кристаллитов, из-за постоянства для них угла θ_{hkl} располагаются конусом вокруг оси первичного луча (рис. 11.1, б).

Все множество конусов интерференции от разных систем (hkl) можно наблюдать с помощью, например, простой фотокамеры, называемой *рентгеновской камерой Дебая—Шеррера*, показанной на рис. 11.1, г. Пересечение дифракционных конусов рентгеновских лучей создает на фотопленке резкие линии с формой, характерной для пересечений конуса с цилиндром. Дифрактограммы, полученные таким образом, часто называют *дебаеграммами*, а линии на них — *дифракционными*, или *дебаевскими*, *линиями*.

Измерив на фотопленке расстояние между парами дебаевских линий, расположенных симметрично относительно следа пучка (т. е. измерив диаметры *дебаевских колец*), и зная радиус камеры, можно определить брэгговские углы для всех дифракционных линий, по которым при известной длине волны λ с помощью формулы (11.1) легко рассчитать соответствующие межплоскостные расстояния d_{hkl} . Если дебаеграмму отфотометрировать, то по высоте пиков и плотности почернения можно с хорошей точностью определить интенсивность дифракционных линий (рис. 11.1, д).

Интенсивность дифракционных линий. Каждый брэгговский пик на дифрактограмме типа показанной на рис. 11.1, д, измеренной при строго монохроматическом излучении, имеет вид, схематически изображенный на рис. 11.2.

Фон на дифрактограмме обусловлен экспериментальными шумами, не связанными с дифракцией, и обычно имеет форму плавной кривой, которую можно аппроксимировать гладкими функциями, а в пределах брэгговских пиков, ширина которых по 2θ не превышает одного градуса и в лучших случаях может составлять $0,3^\circ$, — даже прямой линией.

Интенсивность брэгговского отражения, в принципе, можно характеризовать высотой пика от максимума до линии фона, однако такое измерение

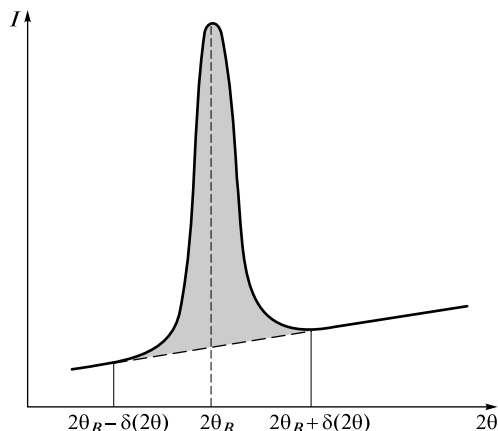


Рис. 11.2. Профиль интенсивности брэгговской дифракционной линии, измеренной при монохроматическом излучении ($2\theta_B$ — точное положение брэгговского пика; точки $2\theta_B \pm \delta(2\theta)$ определяют область существования брэгговского отражения и служат точками для прямолинейной аппроксимации фона; затемненная область представляет интегральную брэгговскую интенсивность пика I_B ; незатемненная область под пиком, ограниченная вертикальными линиями, представляет интегральную интенсивность фона I_b)

часто оказывается неверным, поскольку значительная доля интенсивности дифрагированных лучей распределена в некоторой области около точного брэгговского положения пика $2\theta_B$ из-за ряда причин, связанных с инструментальными факторами и со структурой самого образца. Надежнее характеризовать интенсивность брэгговского отражения *интегральной интенсивностью* пика — суммарным числом фотонов, зарегистрированных на участке от $2\theta_B - \delta(2\theta)$ до $2\theta_B + \delta(2\theta)$, т.е. площадью области между профилем пика и линией фона

$$I_B = I_m - I_b,$$

где I_B — брэгговская интенсивность; I_m — измеренная интенсивность; I_b — суммарная интенсивность фона под пиком.

Связь интегральной интенсивности пика с кристаллической структурой описывается формулами, выведенными в теории дифракции рентгеновских лучей. Экспериментально измеренная интегральная интенсивность I_m брэгговской дифракционной линии кроме фона содержит информацию еще о ряде физических эффектов, проявляющихся в процессе измерений, что учитывает описывающая ее формула

$$I_m(hkl) = I_0 Q(hkl) A(\mu) \Delta V y + I_b, \quad (11.2)$$

где I_0 — интенсивность падающего пучка рентгеновских лучей; $Q(hkl)$ — брэгговская удельная отражательная способность однофазного материала, т.е. отражательная способность единичного объема однофазного образца; $A(\mu)$ — фактор прозрачности образца, который зависит от коэффициента поглощения рентгеновских лучей и длины пути лучей в материале образца в процессе дифракции; ΔV — рассеивающий объем образца; y — экстинкционный

множитель, который учитывает изменения интенсивности из-за взаимодействия между электромагнитными волнами первичного пучка и дифрагированными волнами.

Формальное выражение для удельной отражательной способности $Q(hkl)$ в случае дифракции монохроматических неполяризованных рентгеновских лучей на однофазном порошковом образце имеет вид

$$Q(hkl) = \frac{\lambda^3}{32\pi R_g} r_e^2 \frac{m(hkl)}{V_{\text{яч}}^2} |F(hkl)|^2 \left(\frac{1 + \cos^2(2\theta_{hkl})}{\sin^2 \theta_{hkl} \cos \theta_{hkl}} \right), \quad (11.3)$$

где индексы hkl указывают, что отмеченные ими величины относятся к данному конкретному брэгговскому отражению hkl ; R_g — расстояние от образца до точки измерения интенсивности (радиус рентгеновского гониометра); r_e — классический радиус электрона, равный $2,818 \cdot 10^{-15}$ м; $m(hkl)$ — множитель повторяемости, или кратность рефлекса, который определяет число возможных эквивалентных систем кристаллографических плоскостей, дающих вклад в интенсивность $I(hkl)$ одного дебаевского кольца; зависит от симметрии элементарной ячейки кристалла; $V_{\text{яч}}$ — объем элементарной ячейки кристаллитов порошка; θ_{hkl} — брэгговский угол дифракционной линии hkl .

Тригонометрическое выражение в скобках представляет собой произведение поляризационного фактора P , обусловленного поляризацией рентгеновских лучей при рассеянии образцом, и множителя Лоренца L , называемого также множителем интегральности, поскольку он определяет способ измерения интегральной интенсивности. График функции LP имеет U-образную форму с ветвями, почти вертикально уходящими в бесконечность при 2θ , близких к 0° и 180° , поэтому произведение LP сильно влияет на интенсивность высокоугловых и низкоугловых дифракционных линий.

В формуле (11.3) учтен тот факт, что при дифрактометрии порошков измеряют не полную мощность отражения, распределенную по дебаевскому кольцу, а лишь часть кольца, захватываемую приемным окном рентгеновского счетчика. Поэтому данное выражение описывает брэгговскую удельную отражательную способность для единицы длины дебаевского кольца.

Комплексная величина $F(hkl)$ в формуле (11.3) называется структурным фактором, который представляет векторную сумму дифракционных волн от всех атомов и устанавливает связь между интенсивностью брэгговского отражения $I(hkl)$ и кристаллической структурой рассеивающего кристалла в виде

$$F(hkl) = \sum_{j=1}^N f_j \exp[2\pi i(hx_j + ky_j + lz_j)], \quad (11.4)$$

где суммирование ведется по всем N атомам элементарной ячейки, которые обозначены номерами j и могут иметь разные (как целочисленные, так и дробные) координаты x, y, z . В выражение (11.4) входят атомные факторы рассеяния f_j для всех атомов элементарной ячейки, определяющие рассеивающую способность каждого атома.

Корректное выражение для атомного фактора рассеяния должно учитывать тепловые колебания атомов и зависимость от длины волны λ и угла θ :

$$f_j = f_j^0 \exp(-B_j \sin^2 \theta / \lambda^2),$$

где B_j — температурный фактор Дебая-Уоллера для атома j .

При рентгеновском фазовом анализе чаще всего применяют метод измерения на плоских бесконечно толстых для рентгеновских лучей образцах (обычно толщиной 5 и более длин поглощения) в симметричной геометрии съемки, когда первичный и дифрагированный пучки составляют одинаковые углы с плоскостью образца (см. далее о дифрактометре Брэгга — Брентано). При этих условиях объем образца ΔV , дающий вклад в интенсивность брэгговского отражения, определяется линейным коэффициентом поглощения μ образца и площадью сечения S первичного пучка рентгеновских лучей и равен $S/(2\mu)$. Для данного случая в уравнении (11.2) чистая интегральная интенсивность $I(hkl) = I_0 Q(hkl) A(\mu) \Delta V$ брэгговской линии на единицу длины дебаевского кольца (без учета экстинкции и фона) выражается формулой

$$I(hkl) = P_0 \frac{\lambda^3}{32\pi R_g} r_e^2 \frac{m(hkl)}{V_{яч}^2} |F(hkl)|^2 \left(\frac{1 + \cos^2(2\theta_{hkl})}{\sin^2 \theta_{hkl} \cos \theta_{hkl}} \right) \frac{1}{2\mu}, \quad (11.5)$$

где $P_0 = SI_0$ — мощность излучения в первичном пучке сечения S .

11.2. Техника рентгеновского фазового анализа

11.2.1. Рентгеновский дифрактометр

Главным инструментом для рентгеновского фазового анализа является порошковый дифрактометр с рентгеновской трубкой. Современные рентгеновские дифракционные измерения для фазового анализа проводят на рентгеновских дифрактометрах, действующих по принципу рентгеновской камеры (см. рис. 11.1, в, г), но регистрация на фотопленку в них заменена на измерение рентгеновским счетчиком, называемым также рентгеновским детектором, движущимся по кругу камеры.

Из широкого набора существующих сегодня рентгеновских детекторов в рентгеновских дифрактометрах для фазового анализа чаще всего используют точечные (проводящие измерение в одной «точке» пространства) сцинтилляционные счетчики с рентгеночувствительным кристалл-сцинтиллятором NaI(Tl).

Эти детекторы способны измерять интенсивности потоков рентгеновских фотонов в диапазоне 10^0 — 10^6 фотонов в секунду, обладают малым мертвым временем и практически 100%-й эффективностью регистрации для всех длин волн рентгеновских лучей, применяемых в лабораторных рентгеновских дифрактометрах.

Современные дифракционные исследования поликристаллов обычно проводят с помощью автоматических рентгеновских дифрактометров, которые в результате измерений выдают на компьютер набор интенсивностей I_i , рассеянных образцом, и значения дифракционных углов $2\theta_i$, при которых эти интенсивности зарегистрированы.

Простые дифрактометры, построенные по принципу рентгеновской камеры (см. рис. 11.1, в, г, метод параллельного пучка), для рентгеновского фазового анализа не годятся из-за малого размера образца, от которого зависит

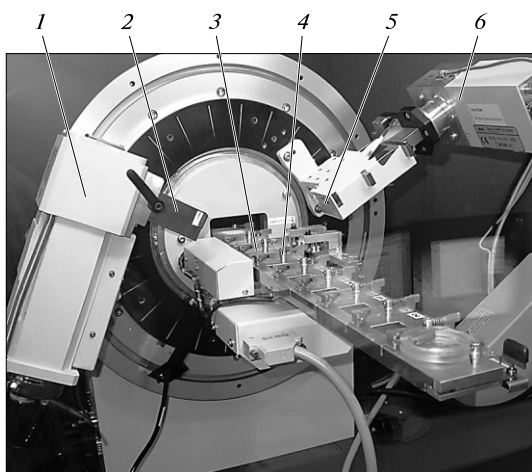
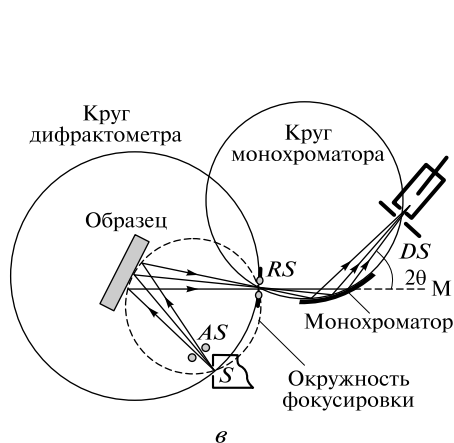
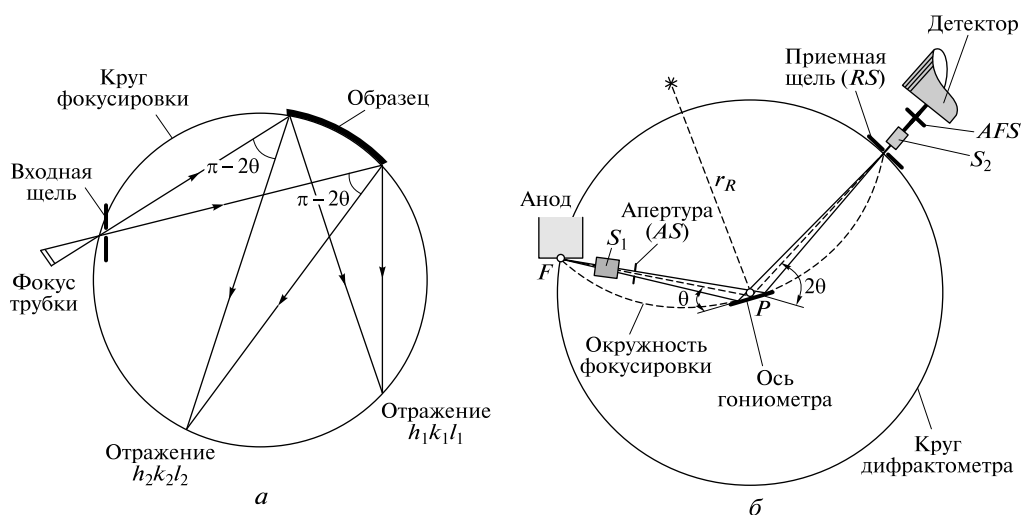
интенсивность брэгговских отражений, характеризующих кристаллические фазы. Эта интенсивность будет особенно мала от фазы, занимающей малую долю общего объема образца (см. уравнения (11.2) — (11.5)). Таким образом, метод Дебая — Шеррера обладает низкой аналитической чувствительностью. Увеличить объем образца путем увеличения его диаметра в этом методе тоже нельзя, потому что снизится угловое разрешение дифрактограммы, поскольку ширина линий на ней не может быть меньше диаметра образца. Поэтому для измерений в рентгеновском фазовом анализе чаще всего используют не метод параллельного пучка, а фокусирующую съемку плоских образцов в расходящемся пучке, которая позволяет многократно повысить рассеивающий объем образца без потери разрешения линий. Большинство используемых сегодня в лабораториях рентгеновских порошковых дифрактометров построено на основе фокусирующей геометрии Брэгга — Брентано (рис. 11.3).

Дифрактометр Брэгга — Брентано представляет собой двухосный гониометр, обе оси которого соосны, а их геометрическая ось проходит через центр круга гониометра перпендикулярно его плоскости (рис. 11.3, б). Одна из физических осей предназначена для поворота счетчика рентгеновских лучей, сканирующего дифракционные углы 2θ и измеряющего рассеянное образцом излучение, другая — для поворота исследуемого образца. Источник рентгеновских лучей (ось линейного фокуса F рентгеновской трубки) и приемная щель детектора располагаются точно на окружности гониометра радиусом R_g . Плоский образец устанавливают в центре круга гониометра перпендикулярно его плоскости, причем так, чтобы поверхность образца касалась геометрической оси гониометра. Главной изюминкой геометрии дифрактометра Брэгга — Брентано является выполнение условия, что нормаль к поверхности образца всегда делит пополам угол между направлениями из центра гониометра на источник рентгеновских лучей и на середину приемной щели детектора. Из-за этого съемка всегда оказывается симметричной, а результаты измерения интенсивности описываются формулой (11.5). Брэгговские отражения в этой геометрии получаются только от кристаллитов, кристаллографическая плоскость (hkl) которых расположена параллельно поверхности образца.

Большим достоинством симметричной съемки плоского образца в дифрактометре Брэгга — Брентано является возможность вращения образца вокруг перпендикулярной его поверхности оси без нарушения фокусировки. Практически во всех дифрактометрах этого типа предусмотрен механизм, позволяющий путем вращения образца в процессе съемки минимизировать отрицательные эффекты, связанные с неомогенностью образца, грубозернистостью порошка и преимущественной ориентацией частиц в нем.

В рентгеновских порошковых дифрактометрах используют гониометры как с горизонтальной установкой, когда плоскость круга дифрактометра расположена горизонтально, так и с вертикальной установкой, когда эта плоскость расположена вертикально, а ось горизонтально. Для рентгеновского фазового анализа мелких порошков предпочтительнее второй вариант, поскольку рассыпавшийся порошок из образца не попадает в прецизионные механизмы гониометра. Внешний вид типичного $\theta/2\theta$ гониометра с вертикальной установкой показан на рис. 11.3, г. Обычно в дифрактометрах гониометр устанавливают на столе, внутри которого располагают высоковольтный источник питания рентгеновской трубки (напряжение до 60 кВ), системы питания де-

тектора, электродвигателей гониометра, микропроцессоры и электронику управления и контроля. Сверху стол с гониометром закрыт кожухом для защиты персонала от воздействия рассеянного рентгеновского излучения, который



2

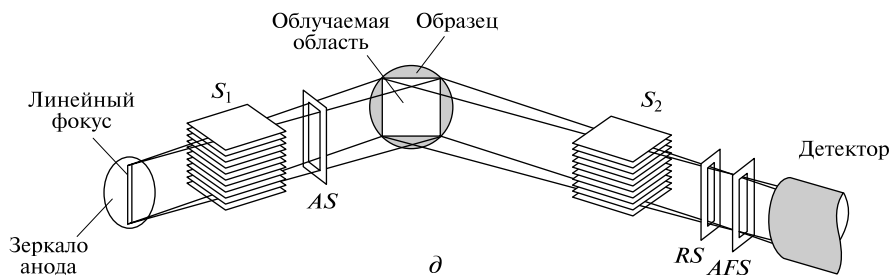


Рис. 11.3. Порошковый дифрактометр Брэгга — Брентано:

a — камера Зеемана—Болина, фокусирующая лучи отражения hkl , выходящие под одинаковым углом θ_{hkl} к поверхности образца и опирающиеся на одну дугу окружности фокусировки; *b* — дифрактометр Брэгга—Брентано, вариант геометрии Зеемана—Болина с переменным радиусом r_R окружности фокусировки и постоянным радиусом R_g круга дифрактометра; *в* — геометрия Брэгга—Брентано с монокристалльным монохроматором на дифрагированном пучке; *г* — один из современных рентгеновских гониометров Брэгга—Брентано в вертикальной установке (1 — рентгеновская трубка; 2 — коллиматор пучка; 3 — образец; 4 — держатель образца; 5 — приемные щели; 6 — детектор); *д* — рентгеновская оптика и ход лучей в дифрактометре Брэгга—Брентано



имеет блокировки против случайного открытия и сигнализацию включения рентгеновского излучения.

Рентгеновский дифрактометр является прецизионным устройством и при его конструировании учитывают большинство требований геометрии фокусировки. Однако рентгеновский дифрактометр, удовлетворяющий всем условиям фокусировки, изготовить невозможно, поэтому многие требования фокусировки должны выполняться путем юстировки дифрактометра в лаборатории. К таким регулируемым параметрам относятся, например, положение фокуса рентгеновской трубки и положение поверхности образца, а также физический нуль шкалы дифракционных углов 2θ .

При юстировке порошкового дифрактометра очень важно точно установить и совместить нулевые положения образца и детектора. В нулевом положении ось пучка первичных рентгеновских лучей должна проходить через центр гониометра и попадать в центр приемной щели детектора, а плоскость поверхности образца должна делить пучок на две равные части. Погрешность x механического нуля будет создавать эквивалентную ошибку x во всех измеряемых значениях 2θ . Результаты юстировки обычно проверяют измерением эталонов — стандартных порошковых образцов с точно известными параметрами.

11.2.2. Образцы для рентгеновской дифрактометрии и фазового анализа

Для дифракционных измерений на дифрактометрах Брэгга—Брентано плоские образцы готовят упаковкой порошка в специальные кюветы, изготовленные из материала, слабо рассеивающего рентгеновские лучи (обычно это кюветы из аморфного плавленого кварца), которые поставляют в комплекте с дифрактометром. Толщину образца регулируют выбором глубины кюветы из соображения, чтобы она была не менее 5, а лучше 7 длин поглощения рентгеновских лучей исследуемым материалом (для большинства материалов с высоким и средним коэффициентом поглощения минимальная толщина образца составляет 0,5—0,8 мм). Порошок засыпают в кювету и сверху прессуют плоским предметом, например плоской стеклянной пластинкой, до касания верхнего края кюветы. Поверхность полученного образца должна быть гладкой и плоской. Любые неровности проявятся в виде смещения и уширения наблюдаемых дифракционных пиков.

Смещение поверхности образца относительно верхнего края кюветы (неполное заполнение кюветы) является наиболее частой ошибкой подготовки порошковых образцов. Это приводит к тому, что после установки кюветы в держатель на дифрактометре поверхность образца оказывается смещенной от центра гониометра, и обуславливает систематическую ошибку $\Delta 2\theta$ в определении положения дифракционных линий. Ошибка зависит от величины смещения S как

$$\delta 2\theta = -2S \cos \theta / R_g,$$

где значение $\Delta 2\theta$ измеряют в радианах, а линейные размеры смещения S и радиуса гониометра R_g — в миллиметрах.

Смещение поверхности образца от оси гониометра всего на 50 мкм на обычном дифрактометре приведет к занижению углового положения дифракционной линии, наблюдаемой под дифракционным углом 20° , примерно на $0,03^\circ$.

Высокая прозрачность образца и глубокое проникновение в него рентгеновских лучей дает такой же эффект, что и смещение поверхности образца, и может приводить к угловым ошибкам определения положений дифракционных линий, составляющим десятые доли градуса. Поэтому часто образцы материалов с низким коэффициентом поглощения готовят в виде тонких пленок и закрепляют их на держателе, не дающем фона, чтобы уменьшить ошибку из-за глубокого проникновения рентгеновских лучей в образец.

Один из самых неприятных эффектов, которых можно ожидать от неправильного приготовления образца, — микропоглощение (контраст поглощения между фазами). Микропоглощение возникает, когда главным образом крупные кристаллики фазы с высоким массовым коэффициентом поглощения взаимодействуют с пучком рентгеновских лучей, создавая при этом аномально высокое поглощение и приводя к искажению интенсивности пиков до такой степени, что она перестает отражать реальную пропорцию фаз в смеси. Микропоглощение обычно возникает в грубозернистых порошках, состоящих из фаз с сильно различающимися коэффициентами поглощения. Этот эффект приводит к недооценке содержания компонента с высоким коэффициентом поглощения, и с ним очень трудно бороться. Его обычно пытаются снизить путем уменьшения размеров частиц порошка в образце до критического, когда поглощение частицами с высоким коэффициентом поглощения оказывается равным поглощению частицами других фаз. Поскольку коэффициент поглощения зависит от длины волны, порошки, измельченные до критического размера, определяемого наиболее поглощающей фазой, оказываются пригодными для съемки без микропоглощения на одном излучении, но могут быть непригодны для измерений на более длинноволновом излучении.

Хороший образец для фазового анализа должен состоять из частиц или кристаллических зерен размером менее 20 мкм с монокристаллическими доменами размером более 0,1 мкм (100 нм), причем частицы должны быть распределены в образце без преимущественной ориентировки кристаллографических плоскостей и не должны иметь внутренних деформаций. При меньших размерах монокристаллических доменов происходит уширение дифракционных линий. Наличие деформаций и дефектов в монокристаллических доменах вызывает искажение профиля и изменение интенсивности дифракционных линий. Кристаллографическая текстура образца приводит к неравномерному распределению интенсивности по дебаевскому кольцу, причем разного

характера для разных колец, в результате чего измерение дифракционной картины в одной плоскости сечения дифракционных конусов (как это происходит на дифрактометре) дает дифрактограмму с искаженными относительными интенсивностями пиков.

Образец, удовлетворяющий указанным требованиям, получить нелегко, но нужно к этому стремиться, поскольку природа большинства последующих экспериментальных трудностей связана с отклонением от этих требований.

11.2.3. Инструментальные ошибки дифракционного эксперимента

Как и в любых методах измерений, в рентгеновской дифрактометрии неизбежно присутствуют случайные и систематические ошибки, с которыми приходится бороться как на стадии проведения измерений, так и при обработке экспериментальных результатов.

Случайные ошибки эксперимента влияют на прецизионность экспериментальных данных, т. е. на их воспроизводимость в повторных измерениях. Естественно, что они сказываются и на точности и надежности фазового анализа. Случайные ошибки можно обнаружить при повторных измерениях, и обычно они свойственны измерениям интенсивности. Эти ошибки связаны со статистикой счета и случайными кратковременными изменениями интенсивности первичного пучка, например, из-за сильных колебаний напряжения в электрической сети. Одним из методов минимизации случайных ошибок является многократное повторение измерений и последующая статистическая обработка данных. Увеличение экспозиции при измерениях интенсивности также способствует уменьшению случайных ошибок. Деградацию рентгеновской трубки и снижение интенсивности первичного пучка со временем нельзя считать случайной ошибкой, это ошибка систематическая, которая поддается коррекции. Для устранения этой ошибки необходим периодический контроль интенсивности первичного пучка и введение поправок, если интенсивность меняется.

Случайные ошибки практически отсутствуют в измерениях дифракционных углов, где основную роль играют систематические ошибки, источниками которых являются главным образом геометрические несовершенства рентгеновской оптической системы и целый ряд причин, связанных с исследуемым образцом (его прозрачностью, толщиной и точностью установки на гониометре).

Инструментальные систематические ошибки сказываются на точности определения межплоскостных расстояний d_{hkl} и значений интенсивности I_{hkl} брэгговских рефлексов и искажают набор относительных интенсивностей I_{hkl}^{rel} , которыми характеризуется экспериментальная дифрактограмма, используемая для фазового анализа. Игнорирование этих ошибок может сделать результаты анализа вообще ложными.

11.2.4. Эталоны для рентгеновской дифрактометрии и фазового анализа

Для достижения высокой точности дифракционных данных необходимо устранять или минимизировать систематические экспериментальные ошибки. На этом пути есть ряд шагов, наиболее важным из которых является тща-

тельная наладка измерительного оборудования. Общим методом коррекции систематических ошибок экспериментальных данных является включение в состав образца известной фазы и ее использование для калибровки результатов измерения (*метод внутреннего стандарта*). Использование внутреннего стандарта позволяет скорректировать все систематические ошибки разом.

В рентгеновских дифракционных исследованиях выделяют три основные области, где применяют специальные эталоны:

- эталоны для межплоскостных расстояний d ;
- эталоны для определения интенсивностей;
- эталоны для оценки формы профиля дифракционных линий.

Для коррекции ошибок измерения порошок эталонного вещества с известными значениями межплоскостных расстояний в небольшом количестве подмешивают в порошок исследуемого вещества. После получения дифрактограммы измеряют положения его дифракционных линий $2\theta(hkl)_{sm}$ и с помощью формулы (11.1) по паспортным значениям межплоскостных расстояний рассчитывают эталонные значения углов $2\theta(hkl)_{sc}$. Разность этих значений

$$\Delta 2\theta(hkl) = 2\theta(hkl)_{sm} - 2\theta(hkl)_{sc}$$

дает систематическую погрешность измерения углов на данном дифрактометре для конкретного образца*. График зависимости $\Delta 2\theta(hkl)$ от 2θ позволяет вычесть систематические ошибки из измеренных значений углов $2\theta(hkl)$ дифракционных линий образца.

На интенсивность экспериментально измеряемых дифракционных линий влияет большое число различных физических факторов. Часто бывает довольно трудно ввести поправки, необходимые для коррекции этих влияний. Вместо введения поправок на каждый из этих эффектов можно использовать эталоны, позволяющие определить интегральный коэффициент, учитывающий все эффекты сразу. Метод стандартов часто применяют для приведения множества рентгенограмм к единой шкале, позволяющей проводить их сравнение (о чем будет подробнее сказано при рассмотрении методов количественного анализа).

Обычно в качестве калибровочных эталонов используют порошки Si, W, Ag, CaF_2 , MgAl_2O_4 , SiO_2 , фторфлогопит (синтетическая слюда $\text{KMg}_3\text{AlSi}_3\text{O}_{10}\text{F}_2$; $\rho = (2,87 - 2,90) \cdot 10^3 \text{ г/см}^3$) и LaB_6 . Эти материалы хороши своей устойчивостью к деформациям при измельчении в мелкий порошок. Для проведения ответственных исследований обычно используют сертифицированные эталоны, которые поставляются специальными организациями, занимающимися стандартизацией и оценкой эталонов. Признанными во всем мире эталонами для калибровки порошковых дифрактометров являются порошки кремния, фторфлогопита и гексаборида лантана LaB_6 , которые поставляет Национальный институт стандартов и технологии США. В качестве эталонов могут использоваться другие материалы, в том числе приготовленные самостоятельно. Однако любые эталоны, приготовленные самостоятельно, нужно калибровать по сертифицированным стандартным эталонам и уточнять скорректированные значения d , полученные из измерений.

* Другие образцы могут иметь иной коэффициент поглощения или могут быть смещены относительно оси гониометра, и для них погрешность будет другой.

Не следует, однако, полагаться на компенсацию ошибок юстировки дифрактометра поправками по дифрактограмме эталонного образца. Плохую юстировку не скомпенсируют никакие поправки.

11.2.5. Обработка результатов измерения

Автоматические рентгеновские порошковые дифрактометры управляются компьютером и имеют специальные программы для проведения измерений, выдачи файла данных с результатами измерений, их предварительной обработки и корректировки. Обычно программное обеспечение современных автоматических порошковых дифрактометров содержит базу дифракционных данных PDF-2 (см. подразд. 11.4.5), программы предварительной обработки экспериментальных данных и пакет программ для фазового анализа.

В большинстве случаев измерения проводят методом шагового сканирования заданного оператором диапазона дифракционных углов 2θ , при котором на каждом i -м шаге с заданной экспозицией измеряют интенсивность I_i рассеянного образцом излучения и абсолютное значение угла $2\theta_i$. Результат измерения сохраняют (например, на жестком диске) в виде таблицы набора данных $I_i - 2\theta_i$, которую впоследствии используют в качестве исходных экспериментальных данных для анализа.

Шаг сканирования определяет разрешение, с которым будет измерена дифрактограмма. Учитывая, что ширина дифракционных пиков хороших образцов может составлять $0,3^\circ$ и пики могут располагаться очень тесно, при фазовом и рентгеноструктурном анализе измерения рекомендуют проводить с шагом не более $0,02^\circ$. Экспозиция на каждом шаге определяет точность измерения и чувствительность фазового анализа (см. подразд. 11.7). Высокая чувствительность обычно обеспечивается при экспозиции порядка 10 с и падает примерно пропорционально уменьшению времени экспозиции. Результаты удовлетворительного качества можно получить при измерениях с экспозицией порядка 2—5 с. Все зависит главным образом от образца, типа и массовых долей фаз, входящих в его состав.

Диапазон измерений по 2θ зависит от решаемой задачи. При идентификации фаз в неизвестных материалах диапазон должен быть как можно более широким. Для решения таких задач съемку обычно проводят от $2\theta = 10^\circ$ и до максимально возможного на данном дифрактометре угла (обычно $164 - 165^\circ$). При количественном фазовом анализе по отдельным дифракционным линиям съемку можно проводить в пределах $\pm 3^\circ$ от положения 2θ используемой аналитической линии брэгговского отражения. При полнопрофильном количественном анализе дифрактограмму измеряют так же, как и для идентификации неизвестных фаз.

Предварительная обработка набора данных, полученного с дифрактометра, и подготовка его к фазовому анализу осложняется тем, что все бета-фильтры и большинство монокристалльных монохроматоров, применяемых в лабораторных порошковых дифрактометрах для очистки спектра рентгеновской трубки, пропускают K_{α} -дублет, состоящий из линий $K_{\alpha 1}$ и $K_{\alpha 2}$, спектральное разрешение между которыми составляет около 0,25—0,3 %. Из-за естественной угловой дисперсии, которая приводит к тому, что при увеличении дифракци-

онного угла 2θ угловое расстояние $\Delta 2\theta$ между этими спектральными линиями растет как

$$\Delta(2\theta) = \frac{\lambda_{\alpha 2} - \lambda_{\alpha 1}}{\bar{\lambda}} \operatorname{tg} \theta,$$

дифракционные линии, наблюдаемые при высоких углах 2θ , становятся «двугорбыми» (расщепляются). Для анализа дифракционного спектра однофазного образца это не представляет большой проблемы, потому что все линии принадлежат одной фазе и можно рассматривать их как измеренные на одной средневзвешенной для дублета длине волны $\bar{\lambda}$, а положение линий определять по центру тяжести интенсивности наблюдаемой дублетной линии.

Задача резко усложняется при исследовании неизвестных многофазных смесей, в дифракционных спектрах которых линии могут располагаться очень тесно и перекрываться между собой. Чтобы избавиться от этого, обычно проводят аналитическое разделение спектральных линий $K_{\alpha 1}$ и $K_{\alpha 2}$, основываясь на том экспериментальном факте, что их интенсивности различаются приблизительно в два раза, а форма профиля интенсивности у них должна быть одинаковой. На этом основании строят дифракционный спектр, относящийся к линии $K_{\alpha 2}$, и вычитают его из экспериментальной дифрактограммы. Полученный очищенный дифракционный спектр сильно облегчает последующий качественный фазовый анализ (идентификацию фаз в смеси). Но он чреват систематическими ошибками в количественном фазовом анализе (определении процентного содержания фаз), главным образом из-за ошибок в интенсивности очищенных низкоугловых рефлексов, которые в большинстве методов используются в качестве аналитических. Лучший способ избежать таких ошибок — использовать для измерений одну линию $K_{\alpha 1}$, которую можно выделить с помощью монохроматора с совершенным кристаллом. Недостатком этого метода является резкое снижение интенсивности и, как следствие, увеличение времени измерений.

Программа предварительной обработки данных $I_i - 2\theta_i$, полученных с помощью дифрактометра, сглаживает экспериментальные шумы в дифракционном спектре с помощью специальных сглаживающих функций (сплайнов) и вычитает из спектра фон. После этого к оставшейся очищенной дифрактограмме применяют один из математических методов локализации пиков. Обычно локализацию пиков проводят по результатам расчета второй производной, отрицательные области значений которой аппроксимируют параболой и рассчитывают положение ее минимума. Затем может быть проведено математическое разделение дублета характеристического K_{α} -излучения и удаление из дифракционного спектра данных, относящихся к линии $K_{\alpha 2}$. К полученным результатам потом можно применить калибровку либо по линиям внутреннего стандарта, измеренного одновременно с образцом, либо используя внешнюю калибровочную кривую для углов и интенсивностей, имеющуюся для данного дифрактометра. Наконец, полученные данные пересчитывают в значения межплоскостных расстояний d и оценивают их значимость. Приведенная схема используется практически во всех программах обработки дифракционных данных, хотя методы локализации положения пиков в них могут быть разными. Интенсивность локализованных пиков определяют как сумму ординат по всей ширине пика, в результате чего получают интегральную интенсивность.

При измерениях на дифрактометрах разных типов и при разных режимах съемки абсолютные значения интенсивностей дифракционных линий могут меняться более чем на порядок. Поэтому в дифрактометрии для фазового анализа прибегают к относительным интенсивностям I^{rel} , а не пользуются абсолютными интенсивностями I . Для этого на дифрактограмме находят самую сильную линию, и ее интенсивность принимают за 100 единиц. Затем все остальные линии масштабируют по этой линии. Таким образом удастся избавиться от зависимости интенсивности пиков на дифрактограмме от интенсивности первичного пучка. Однако и в относительных интенсивностях остаются ошибки, связанные с образцом (эффекты преимущественной ориентации зерен) и изменением рассеивающего объема образца при измерениях, например из-за неверного выбора ширины апертурной щели дифрактометра. Остаются и ошибки из-за мертвого времени детектора, если они не скорректированы в процессе измерения.

Подготовленные таким образом экспериментальные данные, представленные в виде таблицы межплоскостных расстояний d_i и соответствующих им интенсивностей I_i^{rel} , готовы для фазового анализа. Часто их для наглядности представляют в виде штрих-диаграмм $I_i^{rel} - d_i$, которые можно увидеть в карточках чистых фаз при работе с базами порошковых дифракционных данных ICDD-PDF.

11.3. Принципы рентгеновского фазового анализа материалов

Основой для фазового анализа служит особенность кристаллической структуры веществ. Кристаллическая решетка каждой фазы описывается параметрами элементарной ячейки, которой свойственен определенный набор систем кристаллографических плоскостей, характеризующихся кроме индексов Миллера (hkl) еще и межплоскостными расстояниями $d(hkl)$, связанными формулой Вульфа — Брэгга (11.1) с брэгговскими углами θ_{hkl} , измеряемыми в рентгеновской дифрактометрии.

Для разных кристаллических материалов, за исключением изоструктурных, значения $d(hkl)$ различны, но постоянны для каждой данной фазы с неизменным химическим составом. Поэтому каждая фаза дает свойственный только ей набор линий под брэгговскими углами θ_{hkl} . Атомная структура элементарной ячейки каждого вещества, характеризующаяся параметрами кристаллической структуры — набором атомов и их координатами в элементарной ячейке, уникальна. Именно атомная структура элементарной ячейки определяет интенсивности $I(hkl)$ рентгеновских дифракционных линий от кристаллического вещества. Таким образом, дифрактограмма любой неизменной по составу кристаллической фазы дает свойственный только ей набор рентгеновских дифракционных линий hkl , характеризующийся брэгговскими углами θ_{hkl} и интенсивностями $I(hkl)$. Отсюда следуют два постулата, являющихся основой рентгеновского фазового анализа:

1) рентгеновская дифрактограмма, имеющая специфический набор линий, характеризующийся их числом, положением (углами 2θ) и относительной

интенсивностью I^{rel} , является уникальной характеристикой фазы кристаллического вещества;

2) рентгеновская дифрактограмма многофазной системы состоит из взвешенных сумм дифрактограмм отдельных фаз, образующих эту систему.

Второй постулат является главным для качественного и количественного анализа многофазных систем. Он означает, что для смеси фаз известного состава можно получить полную рентгеновскую дифрактограмму путем суммирования дифрактограмм чистых фаз, входящих в данную многофазную систему. Весом вклада дифрактограммы каждой J -й фазы, если все дифрактограммы приведены к единому масштабу относительных интенсивностей дифракционных линий, является массовая доля X_J этой фазы в смеси.

Благодаря приведенным постулатам идентификация фаз, входящих в состав неизвестного поликристаллического материала, сводится к технической процедуре поиска соответствия между экспериментально измеренной рентгеновской дифрактограммой материала и одной или несколькими дифрактограммами известных веществ.

Понятно, что для подобной идентификации необходимо иметь экспериментально измеренную при определенных условиях рентгеновскую дифрактограмму неизвестного материала, а также библиотеку эталонных дифрактограмм известных однофазных материалов, в которой присутствуют фазы, входящие в состав исследуемого образца. К счастью, сегодня имеются многочисленные банки данных, где можно найти дифракционные, кристаллографические и структурные данные, на основе которых можно рассчитать рентгеновские порошковые дифрактограммы почти для всех известных кристаллических веществ.

Также технической процедурой, в которой используют известные формулы для расчета и стандартное измерительное оборудование, является рентгеновский количественный фазовый анализ, основанный на связи интенсивности дифракционных линий фазы с массовой долей фазы в материале.

Экспериментальные данные как для количественного, так и для качественного анализа получают из рентгеновских дифракционных измерений порошков анализируемых многофазных веществ.

Из рентгеновской дифрактограммы кристаллического порошка извлекают три основных типа данных:

1) угловые положения дифракционных линий, которые зависят от геометрии элементарной ячейки;

2) интенсивности дифракционных линий, которые зависят главным образом от кристаллической структуры, расположения и ориентации частиц, а также от содержания анализируемой фазы в образце;

3) форму дифракционных линий, которая зависит от инструментального уширения, размера частиц в образце и их деформации.

В рентгеновском фазовом анализе основной информацией являются данные о положении и интенсивности дифракционных линий, т.е. наборы пар значений $I_{hkl}—d_{hkl}$, но в некоторых новейших методах анализа существенное значение имеет и форма профиля дифракционных линий. Для получения хороших наборов данных для фазового анализа первостепенную важность имеет правильная подготовка и проведение эксперимента по сбору дифракционных данных и лишь потом следует сам анализ.

11.4. Базы данных для рентгеновского фазового анализа

11.4.1. База данных PDF

На сегодняшний день наиболее полной и часто используемой при рентгеновском фазовом анализе является база данных, которая называется «файл порошковых дифракционных данных» (Powder Diffraction File™ — PDF). Эта база данных постоянно пополняется и распространяется Международным центром по дифракционным данным (The International Centre for Diffraction Data — ICDD), самую свежую и подробную информацию о котором можно получить из Интернета (<http://www.icdd.com/>). Эта база содержит рентгеновские дифракционные данные более чем для полумиллиона неорганических и органических веществ, включая минералы.

История развития базы PDF насчитывает почти 70 лет. Годом ее рождения считается 1941, хотя за время своего существования и развития она несколько раз меняла название. В 1941 г. корпорация «Американское общество по исследованиям и материалам» (American Society for Testing and Materials — ASTM) опубликовала первую картотеку систематизированных эталонных рентгеновских порошковых дифракционных данных, содержащую карточки примерно на 1 300 веществ. Эта картотека, известная под названием «картотека ASTM», состояла из картонных карточек размером 3×5 дюймов ($7,6 \times 12,7$ см), на которых были приведены таблицы значений межплоскостных расстояний d и относительных интенсивностей I для всех наблюдаемых линий однофазного вещества, его название и химическая формула, а также номер карточки в картотеке. Картотека порошковых дифракционных данных постоянно пополнялась (со скоростью 1,5—2 тысяч карточек в год). Данные для нее собирали из научных публикаций всего мира, проверяли и редактировали ведущие специалисты и организации, занимающиеся разработкой стандартов и эталонов. В настоящее время эта картотека продолжает развиваться и совершенствоваться в виде компьютерной базы данных ICDD-PDF Международным центром ICDD в тесном контакте с Международным союзом кристаллографов.

С 2006 г. Международный центр ICDD распространяет два варианта этой базы данных: самую полную в мире базу порошковых дифракционных данных PDF-4+ и ее урезанный вариант PDF-2. Эти базы данных созданы совместными усилиями Международного центра ICDD, Национального института стандартов и технологии США (National Institute of Standards and Technology — NIST) и Центра научной информации (Fachinformationszentrum — FIZ) Карлсруэ, Германия.

Благодаря современному уровню развития вычислительной техники, а также теории и техники рентгеноструктурного анализа появилась возможность проводить полную расшифровку атомной структуры кристаллических материалов по порошковым дифрактограммам и, наоборот, по структурным данным составлять с высокой точностью модель порошковой дифрактограммы. Это позволило получать для базы данных дифрактограммы, рассчитанные по кристаллографическим данным. Поэтому для пополнения новейшей базы PDF-4+ кроме экспериментальных данных, которые имелись в собственной базе ICDD-PDF, в качестве источников были использованы еще и базы данных, содержащих структурную информацию, полученную методами монокри-

стального структурного анализа: банк данных по свойствам неорганических материалов, собранный в NIST; собранная Центром FIZ база данных по структурам неорганических кристаллов (Inorganic Crystal Structure Database — ICSD); Кембриджская база структурных данных (The Cambridge Structural Database — CSD), откуда были взяты данные по органическим материалам, а также новейшая база данных для неорганических кристаллических материалов «Файл Лайнуса Полинга» (LPF), созданная совместными усилиями научных организаций из Швейцарии, Голландии, Японии и Великобритании, откуда были заимствованы данные по металлам, сплавам и интерметаллическим соединениям.

Следует отметить, что при создании электронной базы данных была в значительной степени сохранена философия, заложенная еще разработчиками картотеки ASTM. Все записи базы данных, которые по традиции продолжают называть карточками, распределены по сетам (колодам или коробкам), соответствующим году поступления данных в базу; нумерация карточек включает номер сета и порядковый номер карточки в нем; информация сопровождается алфавитным и систематическими каталогами для поиска. Однако кроме значений $d(hkl)$ — $I(hkl)$, названия, формулы вещества и условий измерения в электронные карточки включено во много раз больше дополнительной информации о каждом веществе, которая может оказаться необходимой при фазовом анализе.

Все новые базы данных ICDD-PDF, начиная с 2005 г., составлены в табличном формате системы управления реляционными базами данных SYBASE. Для работы с полной базой данных нужен компьютер с тактовой частотой процессора ≥ 2 ГГц, оперативной памятью ≥ 1 Гб, объемом жесткого диска ≥ 20 Гб и операционной системой Windows, начиная от версии 2000 г. Для базы данных PDF-2 достаточно персонального компьютера с оперативной памятью ≥ 512 Мб и объемом жесткого диска $\geq 2,5$ Гб.

11.4.2. Систематизация записей (карточек) в базах данных ICDD-PDF

С 2003 г. карточки в электронных базах данных ICDD-PDF стали обозначать не двумя, как раньше, а тремя группами цифр. В новой нумерации карточек:

1) первая группа из двух цифр служит для обозначения источников данных:

00 — экспериментальные данные из собственной базы ICDD;

01 — данные, рассчитанные по базе ICSD-FIZ;

02 — данные, рассчитанные по монокристалльным данным из базы CSD (такие карточки есть в полной базе данных, но их нет в базе PDF-2);

03 — данные, рассчитанные по базе NIST;

04 — данные, рассчитанные по базе LPF (таких карточек нет в базе PDF-2);

2) вторая группа из трех цифр обозначает колоду (сет) карточек, т. е. группу записей, совпадающую с исторической нумерацией сетов, но с добавлением нуля впереди;

3) третья группа цифр указывает порядковый номер записи в сете, все предыдущие номера карточек при этом остаются неизменными.

Новая нумерация записей в базе данных непосредственно связана с традиционной нумерацией карточек в старых картотеках ASTM и JCPDS, например старый номер карточки 46-1212 в новой нумерации представлен в виде 00-046-1212; а номер карточки 65-0001 стал 03-065-0001.

11.4.3. Система обозначений качества карточек в базах ICDD-PDF

Для количественной оценки качества данных в записях баз данных ICDD-PDF используют численный критерий, предложенный Г. С. Смитом и Р. Л. Снайдером, называемый коэффициентом качества FOM (Figure of Merit), который вычисляют по специальной формуле. На основании значения этого критерия редакция ICDD присваивает записи тот или иной индекс, указывающий на надежность и точность приводимых эталонных данных.

В последних выпусках баз данных ICDD-PDF карточкам присваивают следующие *индексы качества*, именуемые на карточках буквами QM (Quality Mark):

В — данные имеют *низкое* качество; этот индекс качества обычно бывает у старых карточек, полученных фотометодом и не прошедших процедуру обработки данных; он часто сопровождается показателем статуса **D**, т.е. карточка будет удалена, но пока остается в базе данных;

0 (нуль) — данные *сомнительного* качества; измерения проведены, как правило, качественно, но кристаллографические параметры определены недостаточно точно;

I (Indexed) — качество данных *хорошее*, все дифракционные линии проиндексированы (т.е. для них известны индексы Миллера) по надежно определенным кристаллографическим данным, полуширина пиков интенсивности не превышает 0,6°;

S (Star) — данные *отличного* качества; это экспериментальные данные, в которых полуширина дифракционных пиков не более 0,3°;

R (Rietveld) — экспериментальные данные хорошего качества; положение дифракционных пиков определено подгонкой по методу Ритвелда;

C (Calculated) — порошковые дифракционные данные вычислены по структурным данным и имеют *высокое* качество (в редких случаях этот индекс качества может указывать на то, что экспериментальные данные в старой карточке обработаны более совершенным методом).

Кроме одного из рассмотренных выше индексов качества на карточке указывают ее статус (состояние в базе данных), обозначаемый следующим образом:

D (Deleted) — в базе данных есть еще одна карточка (более новая) для данного материала, а карточка с индексом **D** является устаревшей, но пока остается в базе;

P (Primary) — карточка считается основной (если есть несколько карточек, в том числе устаревших с индексом **D**, для одной и той же кристаллической фазы);

A (Alternate) — карточка считается одной из лучших; когда в базе есть много идентичных данных для одного вещества (дублированные данные), дублирующие карточки могут оставаться в базе данных в качестве альтернативы для сравнения.

11.4.4. База данных PDF-4+

Крупнейшая в мире база порошковых дифракционных данных PDF-4+ на начало 2007 г. содержала более 550 тысяч записей. Эта база дает исчерпывающую информацию по неорганическим материалам, низкомолекулярным органическим и металлоорганическим соединениям. Она включает все данные базы PDF-2 и еще больше данных, взятых непосредственно или рассчитанных из других баз. Кроме того, в ее карточки в дополнение к той информации, которую содержат карточки PDF-2, было решено вставить полные дифрактограммы фаз (если они есть или их можно построить теоретически) в форме таблиц $I - 2\theta$, а также полные кристаллические структуры фаз, включая координаты всех атомов. Эти дополнительные данные позволяют использовать базу данных PDF-4+ не только как эффективный инструмент для идентификации неизвестных фаз (*качественный анализ*), в том числе методом сложения или вычитания дифрактограмм, но и проводить с ее помощью безэталонный *количественный фазовый анализ* любым из трех методов:

1) *метод эталонных относительных интенсивностей*, или метод корундовых чисел (Reference Intensity Ratio — RIR); в базе данных содержится более 150 тысяч карточек с коэффициентами I/I_c ;

2) *метод Ритвелда*; имеется около 100 тысяч карточек с полными структурными данными, включая координаты атомов;

3) *метод полнопрофильного анализа*; имеется более 250 тысяч полных оцифрованных дифрактограмм, которые можно автоматически модифицировать для любой длины волны, разных условий измерения, разных характеристик образца (например, моделировать профиль дифрактограммы для частиц порошка разного размера).

База данных PDF-4+ содержит несколько таблиц интегральных факторов рассеяния, которые вместе с координатами атомов в кристаллической структуре веществ позволяют проводить ряд вычислений на основе физики рассеяния и дифракции, в том числе преобразовывать дифрактограммы в электронограммы и нейтронограммы. Эти процедуры проводятся автоматически программным обеспечением базы данных.

Вся база разделена на три части и распространяется потребителям отдельными модулями (на трех отдельных компакт-дисках), которые могут использоваться вместе или раздельно. Это — основной раздел PDF-4+, а также разделы PDF-4+/Minerals и PDF-4+/Organics, содержащие данные по минералам и органическим соединениям. Все три раздела базы обслуживаются одним и тем же программным обеспечением. На отдельном компакт-диске поставляются программы обслуживания базы и автоматического фазового анализа (для PDF-4+ это — пакеты программ DDView+ и SLeve+).

11.4.5. Новая база данных PDF-2

База данных PDF-2 традиционно предназначена для проведения качественного фазового анализа неорганических материалов при работе с автоматическими порошковыми дифрактометрами (хотя это не мешает использовать ее в автономном режиме в качестве электронного справочника). Поэтому она пред-

ставляет облегченный и слегка урезанный вариант основного раздела базы PDF-4+. В частности, в ней отсутствует подробная структурная информация и полные дифрактограммы соединений, также она не содержит карточек по сплавам и интерметаллидам из базы данных LPF. Естественно, в ней отсутствуют данные по органическим материалам из базы CSD, хотя она содержит более 28 тысяч карточек низкомолекулярных органических веществ, которые могут присутствовать в неорганических материалах в качестве примесей или вносятся в образцы при их приготовлении. В базе PDF-2 выпуска 2007 г. содержится около 200 тысяч записей (карточек).

Новая база данных PDF-2, как и все базы данных ICDD с 2006 г., составлена в формате системы SYBASE и обслуживается программным обеспечением, похожим на то, с которым работает база PDF-4+, но с частично отключенными функциями. Поставляется база на одном компакт-диске, с которого ее можно установить на обычный персональный компьютер. Обслуживающие программы поставляются на отдельном диске.

11.5. Рентгеновский количественный фазовый анализ

11.5.1. Общая характеристика

Рентгеновским количественным фазовым анализом (РКФА) обычно называют количественное определение содержания разных фаз в многофазных образцах по рентгеновским дифракционным данным. В основе всех методов количественного анализа лежат два уже упомянутых нами постулата, хорошо проверенных теоретически и экспериментально:

1) дифрактограмма смеси является суммой взвешенных дифрактограмм всех фаз, составляющих эту смесь;

2) интегральные интенсивности линий каждой из фаз смеси на экспериментальной дифрактограмме пропорциональны объемным долям фаз в образце (правда, с поправками на эффект поглощения рентгеновских лучей другими фазами смеси).

Принято делить все известные методы РКФА на два класса: 1) методы анализа с использованием эталонов; 2) безэталонные методы.

Однако все методы РКФА, за исключением, может быть, метода Ритвелда, в котором анализ можно проводить, основываясь лишь на знании химического состава образца, в действительности используют эталоны, только одни прямо, а другие косвенно. Поэтому разделим методы РКФА следующим образом:

- методы анализа по отдельным дифракционным линиям;
- методы анализа по всей дифрактограмме (методы полнопрофильного анализа).

11.5.2. Методы рентгеновского количественного фазового анализа по отдельным линиям дифрактограммы

Рентгеновский количественный фазовый анализ возможен как в случае, когда все фазы или анализируемая фаза многофазной смеси идентифицирова-

ны, т. е. на дифрактограмме определены и проиндцированы линии фаз, так и при неидентифицированных фазах, но когда точно известно, что выбранная в качестве аналитической дифракционная линия относится к анализируемой фазе.

Основным уравнением для всех методов рентгеновского количественного фазового анализа является

$$I_{ij} = \frac{K_{ij} X_J}{\rho_J \mu^*}, \quad (11.6)$$

где I_{ij} — интенсивность i -й линии J -й фазы многофазной системы; X_J — массовая доля J -й фазы; ρ_J — плотность J -й фазы; μ^* — массовый коэффициент поглощения; $i = 1, 2, \dots$ — номер линии; $J = 1, 2, \dots$ — номер фазы многофазной системы.

Массовый коэффициент поглощения μ^* равен суммарному коэффициенту поглощения всеми компонентами смеси. Формула (11.6) фактически представляет формулу (11.5) для интегральной интенсивности дифракционной линии, записанную для одной из фаз многофазного образца, измеренной на дифрактометре Брэгга — Брентано. При этом учтено, что интенсивность пропорциональна объемной доле фазы, которая здесь выражена с помощью плотности фазы через массовую долю. Все остальные члены формулы (11.6), которые либо являются константами эксперимента, либо могут быть легко вычислены, для краткости обозначены через K_{ij} .

Уравнения (11.6) было бы вполне достаточно, чтобы по точно измеренной интегральной интенсивности дифракционной линии фазы J определить X_J , если бы не величина μ^* , которая для образца (многофазной системы) точно неизвестна, поскольку, как правило, неизвестен его точный химический состав, и даже если бы состав был известен, то неизвестна плотность порошкового образца. Для преодоления этой трудности и решения уравнения (11.6) разработан ряд способов, использующих эталоны.

Методы внутреннего стандарта. Методы этой группы, успешно эксплуатируемые уже более полувека в количественном фазовом анализе и остающиеся до сих пор основными методами РКФА, используют для определения фазового состава интенсивности характерных линий дифрактограммы (но, как правило, после того как создан калибровочный набор образцов, похожих на смесь). Идея метода внутреннего стандарта состоит в исключении коэффициента поглощения образца μ^* из расчетов массовой доли анализируемой фазы. Для этого вычисляют отношение $I_{i\alpha}/I_{j\beta}$ интенсивности i -й линии анализируемой фазы α к интенсивности j -й линии известной эталонной фазы β , гомогенно подмешанной в известном процентном отношении к порошку исследуемого образца. Для анализируемой и эталонной фаз записывают уравнения типа (11.6) и делят их друг на друга, в результате чего получают линейное уравнение для массовой доли фазы α , не содержащее коэффициента поглощения образцом:

$$\frac{I_{i\alpha}}{I_{j\beta}} = K \frac{X_\alpha}{X_\beta}. \quad (11.7)$$

Это уравнение позволяет анализировать образцы с добавкой любого точно известного количества эталонной фазы. Величина K является калибровочной

константой, которую определяют экспериментально из графика зависимости отношения I_{α}/I_{β} от отношения концентраций фазы и эталона X_{α}/X_{β} . Для этого готовят ряд образцов исследуемой смеси с добавкой разных известных количеств эталонной фазы β , для них проводят измерение интенсивностей I_{α} и I_{β} и вычисляют отношения I_{α}/I_{β} , график которых в зависимости от X_{α}/X_{β} представляет собой прямую линию с тангенсом угла наклона, равным K .

Следует понимать, что величина X_{α} в уравнении (11.7) для многофазной смеси является массовой долей фазы α после разбавления исходного образца добавкой эталонного вещества. Массовую долю фазы α в исходном образце до его разбавления (X'_{α}) вычисляют как

$$X'_{\alpha} = \frac{X_{\alpha}}{1 - X_{\beta}}. \quad (11.8)$$

Достоинством метода внутреннего стандарта является возможность установления содержания определенной фазы независимо от содержания других фаз в образце, недостатком — необходимость подготовки серии калибровочных образцов с разным содержанием эталонной фазы β и их измерения для корректного определения калибровочной константы K .

При постоянно проводимых лабораторией анализах для упрощения работы массовую долю внутреннего стандарта предписывают методикой анализа (обычно в анализируемую смесь добавляют 0,1 — 0,9 г эталонного вещества). В том случае если массовая доля эталона строго фиксирована методикой, величины X_{β} и $(1 - X_{\beta})$ оказываются константами в процессе анализа, а уравнение (11.8) упрощается:

$$I_{\alpha}/I_{\beta} = K'X_{\alpha}. \quad (11.9)$$

Имея предварительно построенный для выбранного фиксированного значения X_{β} график этой зависимости, по нему после измерения значений I_{α} и I_{β} сразу можно определить массовую долю анализируемой фазы в смеси.

Используя этот метод, необходимо тщательно подбирать эталоны; желательно выбирать материалы с простыми дифракционными картинками (например, структуры с гранцентрированной кубической решеткой) и узкими дифракционными пиками, которые не перекрываются с дифракционными пиками анализируемой фазы. Очень важно, чтобы размер зерен порошка в образце и эталоне был одинаковым; лучше всего, если он в обоих случаях будет порядка 1 мкм.

Метод эталонных относительных интенсивностей. Дифрактограмма любой кристаллической фазы J является ее физической характеристикой. Однако экспериментально измеренные абсолютные интенсивности линий I_{ij} , характеризующие отражательную способность фазы, согласно формуле (11.5) зависят от интенсивности I_0 первичного пучка в дифрактометре, на котором проведены измерения. Для исключения этой зависимости дифрактограммы обычно переводят в относительную процентную шкалу, где интенсивность I_i^{rel} каждой линии выражают в процентах от интенсивности самой сильной линии. Такой способ представления дифрактограммы не позволяет сравнивать отражательные способности разных фаз, поскольку неизвестно, как соотносятся 100 % на одной дифрактограмме со 100 % на другой, т.е. они имеют разный масштаб.

Для приведения всех дифрактограмм, представленных в относительных интенсивностях линий, к единой (абсолютной) шкале относительных интенсивностей было предложено соотносить интенсивность самой сильной линии дифрактограммы фазы I_{ij}^0 с интенсивностью самой сильной линии $I_{j\beta}^0$ какого-либо общего для всех фаз эталона β , за который по международной договоренности был выбран корунд. Зная коэффициенты приведения относительных интенсивностей к единой шкале для разных кристаллических фаз, можно сказать, чего стоят 100 % интенсивности любой дифрактограммы из относительных интенсивностей по сравнению со 100%-й интенсивностью на дифрактограммах других веществ.

С середины 1960-х гг. для каждой фазы J , включаемой в базу PDF, стали указывать этот коэффициент приведения к единой шкале

$$\left(\frac{I}{I_c} \right)_J = \frac{I_{ij}}{I_{jc}}, \quad (11.10)$$

измеренный на излучении CuK_α для сильнейшей дифракционной линии i фазы и сильнейшей линии j ($hkl = 113$) корунда, используемого в качестве эталона в смеси с анализируемой фазой в соотношении 1 : 1. Очевидно, что для самого эталона (корунда) значение этого коэффициента должно равняться единице. К настоящему времени центром ICDD в базе PDF собраны значения отношения I/I_c , называемого иногда *корундовым числом*, для более 150 тысяч разных фаз.

Из сравнения коэффициента приведения относительных интенсивностей к единой шкале, данного формулой (11.10), с уравнением (11.7) понятно, что отношение I/I_c является константой K , измеренной для смеси фаз α и β в пропорции 1 : 1, где корунд принят за эталон β . В принципе, выбор корунда в качестве эталона для масштабирования дифрактограмм произволен и сделан по договоренности. Также произволен и выбор сильнейших линий для определения масштабного множителя I/I_c . В действительности такой масштабный множитель может быть определен с использованием любой эталонной фазы и любой дифракционной линии, причем соотношение объемных долей фаз может быть любым, поскольку коэффициент K в формуле (11.7) одинаков для всех X_α/X_β . В таком общем случае выбора эталона β для масштабирования дифрактограммы фазы α обобщенное определение для масштабного множителя выражается формулой

$$K = \left(\frac{I_{i\alpha}}{I_{j\beta}} \right) \left(\frac{I_{j\beta}^{rel}}{I_{i\alpha}^{rel}} \right) \left(\frac{X_\beta}{X_\alpha} \right) = \text{RIR}_{\alpha,\beta}. \quad (11.11)$$

Обозначение I^{rel} указывает, что речь идет об относительных интенсивностях дифракционных линий, измеряемых в 100%-й шкале каждой из дифрактограмм, тогда как значения I экспериментально измерены в единой для обеих фаз шкале дифрактометра. Если использовать в качестве эталона корунд в пропорции 1 : 1 с анализируемой фазой и подставить в формулу (11.11) 100%-е интенсивности образца и эталона, то величины во второй и третьей скобках будут равны единице, а $K = \text{RIR}_{\alpha,c} = (I/I_c)_\alpha$ превратится в корундовое число для фазы α .

Коэффициент K приведения относительных интенсивностей на дифрактограммах разных веществ к единой шкале, определяемый формулой (11.11), называют *эталонной относительной интенсивностью* — RIR . Для того чтобы указать, к какой фазе и к какому внутреннему стандарту относится величина RIR , обычно используют пару индексов (α , β).

В идеальном случае наличие значений RIR относительно корунда I/I_c в базе данных PDF для многих десятков тысяч известных кристаллических фаз позволяет быстро проводить количественную оценку содержания фаз в смесях с помощью формулы (11.7), имея лишь один образец смеси с подмешанным в него известным количеством порошка корунда. В реальности такой анализ является в лучшем случае полуколичественным, а часто может быть просто неверным. Во-первых, нет гарантии, что приведенные в базе данных или каких-либо публикациях значения I/I_c являются верными; во-вторых, анализируемый образец может обладать преимущественной ориентацией зерен, неомогенностью или переменной кристалличностью. Эти эффекты могут вносить большие ошибки в значения I/I_c . Поэтому аналитик для своих анализов должен сам точно определять эталонные относительные интенсивности.

Из определения для коэффициентов RIR (уравнение (11.11)) ясно, что эту величину можно измерить для любого вещества по любым дифракционным линиям анализируемой фазы и внутреннего стандарта, которым может быть любой подходящий однофазный материал. Обычно в качестве эталонов в РКФА используют либо корунд Al_2O_3 , либо кварц SiO_2 . Часто используют и оксид цинка ZnO , который дает очень хорошие пики.

Для получения точных значений RIR при измерениях должны быть выполнены следующие условия:

- в образце не должно быть преимущественной ориентации зерен, экстинкции и микропоглощения;
- облучаемый первичным пучком рентгеновских лучей объем образца должен быть постоянным и не зависящим от дифракционного угла;
- измеряться должны интегральные интенсивности (а не высота пиков).

Само собой разумеется, что калибровочный образец должен быть подробно охарактеризован химически, а также должен быть репрезентативным образцом анализируемого материала. Для получения коэффициентов $RIR_{\alpha,\beta}$ совсем необязательно использовать для калибровки чистую фазу α ; в калибровочном образце могут присутствовать другие кристаллические фазы, дифрактограммы которых не сливаются с дифрактограммой фазы α , и даже аморфные вещества, но при этом концентрации фазы α и эталонной фазы β в образце должны быть точно известны.

Если коэффициент RIR измерен точно, то он является правильной константой и позволяет сравнивать абсолютные интенсивности дифракционных линий одного материала с интенсивностью линий другого материала. С помощью коэффициентов RIR можно проводить количественный фазовый анализ многими способами.

Из уравнения (11.11) можно легко получить формулу

$$X_{\alpha} = \frac{I_{i\alpha} \frac{I_{j\beta}^{rel}}{I_{i\alpha}^{rel}} X_{\beta}}{I_{j\beta} \frac{I_{i\alpha}^{rel}}{I_{j\beta}^{rel}} RIR_{\alpha,\beta}}. \quad (11.12)$$

Коэффициент RIR в формуле (11.12) может быть получен путем тщательной калибровки, определения тангенса угла наклона графика внутреннего стандарта или из других значений RIR по формуле

$$RIR_{\alpha,\beta} = \frac{RIR_{\alpha,\gamma}}{RIR_{\beta,\gamma}}. \quad (11.13)$$

Уравнение (11.13) позволяет использовать любое найденное значение RIR , в том числе и отношение I/I_c , если оно известно для обеих фаз смеси. Комбинируя значения I/I_c для фаз α и β , можно получить эталонную интенсивность фазы α относительно фазы β .

Обобщенный метод RIR . С учетом (11.13) уравнение (11.12) можно записать в виде

$$X_\alpha = \frac{I_{i\alpha}}{I_{j\beta}} \frac{I_{j\beta}^{rel}}{I_{i\alpha}^{rel}} \frac{RIR_{\beta,c}}{RIR_{\alpha,c}} X_\beta. \quad (11.14)$$

Уравнение (11.14) является достаточно общим, поэтому оно позволяет анализировать любую кристаллическую фазу с известным значением RIR в неизвестной смеси. Для анализа нужен всего один эталон, которым может быть любой известный материал, добавленный в известной массовой пропорции в качестве внутреннего стандарта к исследуемой смеси. Более того, если в многофазной смеси точно определено (например, измерено методом внутреннего стандарта или известно из технологии) содержание одной из фаз (которую всегда можно принять за β), то по формуле (11.14) легко определить содержание любых других фаз без добавления эталонного вещества. Иногда этот метод называют *методом Чанга*.

Следует подчеркнуть, что уравнение (11.14) справедливо даже для сложных многофазных смесей, в которых содержатся неидентифицированные фазы, аморфные фазы или идентифицированные фазы с неизвестными значениями RIR , поскольку количество каждой фазы определяется в этом методе независимо от других.

Метод нормированных коэффициентов RIR . Этот метод иногда называют *нормированным (нормализованным) или безэталонным методом Чанга*. Основную формулу этого метода получают из уравнения (11.14), записанного для отношений массовых долей всех фаз к массовой доле фазы β , которая является одной из фаз смеси, но в формуле (11.14) играет роль внутреннего эталона, предполагая, что в многофазной смеси, состоящей из N фаз, сумма массовых долей всех фаз равна единице. Таким образом, с помощью этой формулы записывают $(N - 1)$ линейных уравнений для отношений

$$\frac{X_{J=1}}{X_\beta}, \frac{X_{J=2}}{X_\beta}, \dots, \frac{X_{J=N-1}}{X_\beta}$$

и к ним добавляют нормировочное условие $\sum_{J=1}^N X_J = 1$.

Решение полученной системы N уравнений для массовой доли любой фазы смеси (обозначим ее α) выражается формулой

$$X_{\alpha} = \frac{I_{i\alpha}}{\text{RIR}_{\alpha} I_{i\alpha}^{\text{rel}}} \left[\frac{1}{\sum_{j=1}^N (I_{jj} / \text{RIR}_j I_{jj}^{\text{rel}})} \right]. \quad (11.15)$$

Здесь индекс корунда у коэффициентов RIR для краткости записи не указан, хотя имеются в виду корундовые числа фаз. В формуле (11.15) не присутствует интенсивность линии корунда, поэтому с ее помощью можно проводить «количественные» расчеты без использования внутреннего стандарта. Для расчетов этим методом все фазы смеси должны быть идентифицированы и для каждой из них должны быть известны значения RIR.

Для анализа можно измерить интегральные интенсивности дифракционных линий всех фаз (по одной линии для каждой фазы) и попытаться провести полный безэталонный анализ смеси, взяв корундовые числа и значения I^{rel} для измеренных линий фаз из базы данных PDF. Однако аналитик должен противиться такому желанию!

Присутствие в смеси хотя бы одной неидентифицированной фазы или аморфной фазы делает уравнение (11.15) неверным, а применение нормализованного метода Чанга неправомерным. Этот метод неприменим, например, для анализа геологических пород, так как во всех скальных породах есть фазы, которые не обнаруживаются фазовым анализом.

11.5.3. Методы полнопрофильного рентгеновского количественного фазового анализа

Самые надежные и точные данные РКФА получают из анализа всей дифрактограммы — *полнопрофильный анализ*. Методы полнопрофильного анализа стали использовать в РКФА только благодаря появлению автоматических дифрактометров и мощных персональных компьютеров и современному развитию рентгеноструктурного анализа. Получаемые корректным применением этих методов результаты анализа менее подвержены грубым ошибкам, которые могут возникать при работе с одной или несколькими линиями дифрактограммы из-за особенностей строения образца.

Существует два принципиально разных подхода к РКФА по полному профилю дифрактограммы, которые сегодня, как и база данных PDF-2, являются неотъемлемой частью программного обеспечения большинства современных рентгеновских порошковых дифрактометров.

Рентгеновский количественный фазовый анализ методом разложения дифрактограммы. При использовании этого метода все фазы смеси должны быть сначала идентифицированы (но необязательно проиндексированы). Экспериментальная дифрактограмма согласно постулатам фазового анализа считается суммой фона и дифрактограмм отдельных фаз с весовыми коэффициентами, равными массовым долям фаз X_i в смеси. Далее каждую из складываемых дифрактограмм без физических расчетов описывают какими-либо математическими функциями как непрерывный профиль с пиками определенной формы, похожей на форму пиков экспериментальной ди-

фрактограммы. В качестве аппроксимирующих кривых можно использовать также эталонные экспериментальные дифрактограммы чистых фаз, хранящиеся, например, в базе данных PDF или полученные экспериментатором самостоятельно, даже если они не описаны аналитически, а заданы в численном виде.

Когда функции, описывающие форму дифрактограммы, выбраны, полученную теоретическую дифрактограмму можно «натягивать» на экспериментальную дифрактограмму путем простого масштабирования, подбирая наиболее подходящие масштабные множители. Главная задача метода разложения дифрактограммы заключается в подборе наилучших функций для аппроксимации дифрактограмм и определении весовых коэффициентов, приводящих модельную дифрактограмму в согласие с экспериментальной дифрактограммой смеси.

Теоретически этим методом можно анализировать материалы, кристаллическая структура которых неизвестна, что часто случается при анализе геологических пород и образцов, содержащих аморфные фазы; кроме того, при использовании этого метода не требуется глубокое знание и понимание ни теории дифракции и возникновения дифракционных рефлексов, ни кристаллографии и кристаллической структуры анализируемых фаз.

Рентгеновский количественный фазовый анализ методом Ритвелда. Метод полнопрофильного анализа, разработанный Х.Ритвелдом, состоит в синтезе теоретической дифрактограммы на основе физических принципов ее формирования с учетом возмущений, вносимых в дифрактограмму процессом измерения. При синтезе используют полное уравнение (11.2) с учетом ряда других физических эффектов, которые для упрощения записи в этой формуле не были показаны, а также параметров, описывающих особенности каждого конкретного образца, и инструментальной функции дифрактометра. Тем самым синтетическая дифрактограмма в методе Ритвелда стремится к наиболее полному описанию физики формирования и измерения дифрактограммы. В этом главное и существенное отличие метода Ритвелда от полнопрофильного анализа методом разложения дифрактограммы, где при синтезе теоретической дифрактограммы главное внимание уделяется ее форме, а не содержанию.

Более того, при рентгеновском количественном фазовом анализе методом Ритвелда не важны интегральные интенсивности отдельных линий дифрактограммы сами по себе, так как в процессе расчетов подбирают множество физических параметров для всей синтетической дифрактограммы в целом, стараясь добиться для нее наилучшего соответствия с экспериментальной дифрактограммой, в том числе в процессе расчетов для всей дифрактограммы уточняют весовые коэффициенты, среди которых есть и массовые доли фаз, входящих в многофазную смесь, которой соответствует экспериментальная дифрактограмма.

Используя этот метод в фазовом анализе, прежде чем приступить к расчетам, следует подумать об обоснованной модели анализируемой фазы, чтобы правильно подобрать для нее исходные значения параметров; кроме того, требуется знание кристаллографии. Однако с помощью этого метода можно определить и содержание аморфной фазы — степень кристалличности материала.

11.6. Рентгеновский качественный фазовый анализ

11.6.1. Идентификация неизвестных фаз

Идентификация фаз, входящих в состав неизвестного поликристаллического материала, состоит в поиске среди дифрактограмм известных однофазных веществ, которые будут сходны по дифракционным линиям с экспериментальной дифрактограммой исследуемого материала. Для идентификации используют эталонные дифрактограммы однофазных веществ из баз данных порошковых дифрактограмм, наиболее полной из которых является база ICDD-PDF.

Для поиска эталонов по базе данных, как и по предшествующим ей картотекам, служат специальные каталоги (указатели), в которых содержатся все вещества, имеющиеся в базе данных, и лишь небольшое число их характерных параметров, по которым проводят предварительный поиск. Указатели составлены либо по алфавиту (по названиям соединений), либо по характерным дифракционным линиям. Техника работы с указателями в электронной базе данных точно такая же, как в бумажной картотеке, только несравненно быстрее и легче. Эту работу выполняет компьютер автоматически, основываясь на введенных в него данных для поиска.

Алфавитный каталог картотеки всегда был обязательным, таким остается и в электронной базе данных. Этот указатель полезен для идентификации фаз, когда известны химические соединения, входящие в состав исследуемого образца. В этом случае по алфавитному указателю находят название соединения (на английском языке), рядом с которым приведены номера относящихся к нему карточек. Для одного соединения может быть несколько карточек, поскольку, во-первых, бывают соединения с полиморфными превращениями (которые могут существовать в нескольких разных кристаллических формах), во-вторых, картотека может содержать несколько карточек для одного соединения, данные для которого получены при разных условиях или разными методами. В найденных записях каталога проверяют совпадение указанных межплоскостных расстояний с тремя наиболее интенсивными линиями дифрактограммы анализируемого образца*. Если такое совпадение с одной из записей найдено, то по указанному в записи номеру извлекают карточку с полными данными и проверяют совпадение межплоскостных расстояний для всех наблюдаемых линий дифрактограммы. Совпадение эталонной и экспериментальной дифрактограмм считается хорошим, если совпадают межплоскостные расстояния для всех сильных линий (интенсивностью более 40 % интенсивности самой сильной линии, так как они исчезают последними при разбавлении фазы).

Кроме поиска по алфавитному каталогу в порошковом дифракционном файле изначально использовали алгоритмы поиска по характерным — *реперным* — линиям дифрактограммы. Из них наиболее интересны и эффективны три алгоритма поиска:

* Обычно в рентгеновском качественном фазовом анализе принято считать линии совпадающими, если отвечающие им значения d отличаются не более чем на $\pm 0,001$ нм.

- 1) по трем наиболее сильным линиям дифрактограммы — *алгоритм Хана-волта*;
- 2) по восьми наиболее сильным линиям — *алгоритм Финка*;
- 3) по восьми наиболее низкоугловым линиям дифрактограммы — *алгоритм Long-8*.

Все алгоритмы реализованы в поисковой компьютерной программе *Sieve*, обслуживающей базу данных ICDD-PDF. Эти способы очень хороши для идентификации неизвестных однофазных веществ, но почти бесполезны при идентификации сложных многофазных систем по огромной базе данных. Идентификация в таких случаях вручную вообще чрезвычайно трудоемка и дает положительный результат лишь при большой удаче. Реально идентификация неизвестных фаз в сложных системах стала возможна только благодаря компьютерам, которые неустоимы, сравнивая цифры, и делают это очень быстро.

11.6.2. Анализ многофазных систем

Для автоматической идентификации неизвестных фаз в смеси компьютеру проще и эффективнее проводить сравнение не реперных линий экспериментальной дифрактограммы с линиями каталогов, как это делается при ручной идентификации, а в обратном порядке — проводить сравнение каждой эталонной дифрактограммы из базы данных с линиями экспериментальной штрих-диаграммы, вычисляя для каждого случая оценку совпадения. В принципе, современному компьютеру требуется разумное время для перебора всего полумиллиона карточек базы данных.

Если при первом проходе перебора ограничить интервал совпадения межплоскостных расстояний d эталонных дифрактограмм с линиями экспериментальной дифрактограммы величиной $\pm 3\Delta d$, где Δd — максимальная погрешность измерения d в эксперименте, то почти со 100%-й вероятностью потенциальные кандидаты на то, чтобы быть фазами анализируемой смеси, попадут в выборку, хотя в ней, наверняка, окажется много фаз, которые к данному образцу отношения не имеют. Чтобы ускорить анализ и не рассматривать слишком большое число не имеющих смысла результатов, прежде чем приступать к идентификации, нужно провести сортировку (фильтрацию) базы данных, удалив из нее те вещества, которых не может быть в исследуемом материале (создать «подбазу» для анализа). Для этого можно использовать фильтрацию по химическому составу и другим характерным признакам, о которых говорилось выше. В случае баз данных ICDD-PDF предварительную сортировку можно проводить с помощью программы *DDView* по большому числу критериев. Последующую работу уже проводят с полученной отфильтрованной выборкой из базы данных.

Идентификация фаз в многофазных материалах с помощью полученной отфильтрованной подбазы заключается в сравнении всех эталонных дифрактограмм с экспериментальными. На этом этапе все эталоны, не выдержавшие проверки, исключают из дальнейшего процесса идентификации. В результате получают выборку вероятных претендентов на подробное сравнение. При малой доле фазы в смеси ее слабые линии могут отсутствовать на дифрактограмме, поэтому трудно ожидать, что для всех линий эталона найдутся соответствую-

щие линии на экспериментальной дифрактограмме. Однако не менее 80 % линий должны присутствовать и хорошо совпадать, чтобы идентификацию можно было считать успешной. Для количественной оценки степени сходства используют различные вероятностные функции, называемые *критериями соответствия*. Задача поисковой программы (в базе PDF-2 таковой является SLeve) состоит в определении критерия соответствия для каждой подобранной в базе фазы. Затем все найденные дифрактограммы выдаются в порядке убывания их критериев соответствия, чтобы экспериментатор мог принять решение, какую из найденных фаз можно выбрать в качестве наиболее подходящей для исследуемого материала.

Окончательное решение об истинном фазовом составе должен принять исследователь, проводящий анализ. Для этого из предложенной программой выборки вероятных фаз на основе дополнительных знаний об исследуемой системе могут быть составлены различные комбинации, дающие модельные многокомпонентные дифрактограммы (суммарные штрих-диаграммы). Эти модели можно на экране компьютера визуальнo сравнить с дифрактограммой (либо штрих-диаграммой) исследуемого образца на предмет сходства. В дополнение к визуальному сравнению программа идентификации вычисляет количественный показатель сходства дифрактограмм.

Основной проблемой при идентификации неизвестных фаз оказывается степень точности как экспериментальных, так и эталонных данных из базы, а также степень сходства образцов, для которых получены эталонные данные и данные для фазового анализа.

Идентификация фаз в многофазных смесях может оказаться очень сложной задачей, если количество фазы в образце мало и она слабо выражена на экспериментальной дифрактограмме. В этом случае аналитика может выручить логика и дополнительная информация, например химические или оптические данные.

11.7. Чувствительность и точность рентгеновского фазового анализа

От точности измерения интенсивности зависит успех качественного анализа и особенно точность количественного фазового анализа. Если отсутствуют систематические ошибки, то точность измерения интенсивности зависит только от статистики счета и фона на дифрактограмме. Фон дифрактограммы также ограничивает чувствительность методов фазового анализа.

Дискретные процессы генерирования и детектирования рентгеновских фотонов являются вероятностными статистическими процессами, описываемыми распределением Пуассона. Характерная особенность этого распределения вероятностей состоит в равенстве дисперсии $\sigma^2(I)$ и математического ожидания $M(I)$ измеряемой величины I . Откуда следует, что абсолютная ошибка измерения интенсивности составляет $\sigma(I) = \sqrt{I}$, а относительная ошибка, определяемая отношением абсолютной ошибки к измеренному значению, равна $\epsilon(I) = 1/\sqrt{I}$. Интенсивность брэгговского отражения I_B равна измеренной ин-

тенсивности I_m за вычетом интенсивности фона I_b . Согласно закону распространения ошибок, дисперсии двух измеряемых несвязанных процессов складываются независимо от того, складываются или вычитаются эти процессы между собой. Поэтому относительная ошибка определения брэгговской интенсивности дифракционного пика выражается формулой

$$\varepsilon(I_B) = \frac{100\% \sqrt{I_m + I_b}}{I_m - I_b}. \quad (11.16)$$

Видно, что относительная ошибка стремится к бесконечности, когда разность $(I_m - I_b)$ приближается к нулю, т.е. погрешность больше при высоком фоне. Измеряемая детектором интенсивность представляет собой суммарное число зарегистрированных фотонов за промежуток времени (экспозицию) t . При постоянной скорости счета R (при постоянном потоке фотонов и стабильно работающем детекторе) имеем $I = Rt$. Подставив это выражение в формулу (11.16), получим

$$\varepsilon(I_B) = \frac{100\% \sqrt{R_m + R_b}}{(R_m - R_b) \sqrt{t}}. \quad (11.17)$$

Откуда следует, что относительная погрешность, хоть и медленно, но уменьшается с увеличением времени измерения (т.е. экспозиции).

Чувствительность (предел обнаружения) зависит от числа фотонов дифракционного излучения, получаемого от анализируемой фазы; последнее в свою очередь сильно зависит от отражательной способности фазы и фона на рентгенограмме. При низком фоне путем увеличения длительности измерений предел обнаружения можно довести до 0,01—0,02 %.

Многочисленная статистика и специальные исследования показывают, что при хороших образцах воспроизводимость результатов РКФА, получаемых методом внутреннего стандарта, обычно составляет около $\pm 5\%$.

К сожалению, в рентгеновском фазовом анализе инструментальные ошибки играют существенную, но не определяющую роль. Большая часть погрешностей метода связана с образцом. При этом их довольно сложно не только оценить, но и выявить. Наиболее успешно количественный анализ может быть проведен на материалах с однородными частицами, когда размер этих частиц мал и известен. Когда размер кристаллитов порошка в анализируемом образце варьирует в широких пределах, нужно проявлять особую осторожность и набирать статистику, проводя повторные измерения и оценивая воспроизводимость результатов.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Охарактеризуйте понятие «фазы в твердотельной системе». Почему для идентификации и анализа фаз используют дифракцию рентгеновских лучей?
2. Каковы основные постулаты фазового анализа? На чем они основаны?
3. Почему рентгеновская дифрактограмма порошка является «паспортом» фазы?
4. На чем основано определение фазового состава рентгеновским методом?
5. Каким требованиям должен удовлетворять образец для фазового анализа?
6. Перечислите основные параметры образца, влияющие на точность и качество фазового анализа.

7. Как устроен дифрактометр Брэгга—Брентано? Зачем вращают образец при измерениях?
8. Как определяют положение и интенсивность дифракционных линий?
9. От чего зависит чувствительность рентгеновского фазового анализа?
10. На чем основан рентгеновский количественный фазовый анализ?
11. Какие методы рентгеновского количественного фазового анализа вы знаете? Каковы области их применения?
12. С какой целью вводят понятие «относительные интенсивности»? Как их определяют?
13. Дайте характеристику понятия «корундовое число». С какой целью его вводят?
14. Какие методы анализа с помощью корундовых чисел и эталонных относительных интенсивностей вы знаете?
15. Охарактеризуйте базу дифракционных порошковых данных PDF. Как она устроена?
16. Почему в базах данных PDF приведены не углы дифракции, а межплоскостные расстояния?
17. В каких единицах в базе порошковых дифракционных данных приводят интенсивности дифракционных линий? Почему?
18. В чем состоит процедура качественного фазового анализа многофазных смесей?
19. Какие методы полнопрофильного фазового анализа вы знаете? В чем их достоинство?
20. Для чего предназначены эталоны в рентгеновском фазовом анализе? Приведите примеры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бурова Е. М.* Математически корректная постановка задачи рентгеновского фазового анализа порошковых материалов / Е. М. Бурова, Б. М. Щедрин // Прикладная математика и информатика. — М. : Изд-во факультета ВМиК МГУ. — 2004. — № 19. — С. 56—68.
- Липсон Г.* Интерпретация порошковых рентгенограмм / Г. Липсон, Г. Стипл. — М. : Мир, 1972.
- Русаков А. А.* Рентгенография металлов / А. А. Русаков. — М. : Атомиздат, 1977.
- Фетисов Г. В.* Синхротронное излучение. Методы исследования структуры веществ / Г. В. Фетисов. — М. : ФИЗМАТЛИТ, 2007.
- Чернышев В. В.* Определение кристаллических структур методами порошковой дифрактометрии // Известия Академии наук. Серия химическая. — 2001. — № 12. — С. 2171—2190.
- Modern Powder Diffraction. Reviews in Mineralogy. V. 20 / eds D. L. Bish, J. E. Post. — Washington : The Mineralogical Society of America, 1989.
- Pecharsky V. K.* Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of Materials / V. K. Pecharsky, P. Y. Zavalij. — N.Y. : Springer, 2005.

12.1. Основные понятия

Кинетические методы анализа основаны на использовании зависимости скорости химической реакции от концентрации реагирующих веществ, а в случае каталитических реакций — и от концентрации катализатора. Определить можно один из реагентов (*некаталитические методы*) или катализатор и взаимодействующие с ним вещества (*каталитические методы*, или *каталиметрия*).

Пусть реакция



протекает необратимо и нацело слева направо. Здесь А, В — реагирующие вещества; Р — продукт реакции; a , b , p — соответствующие стехиометрические коэффициенты; k_T — константа скорости реакции.

Скорость реакции v можно выразить через концентрации участников:

$$v = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \frac{1}{p} \frac{d[P]}{dt} = k_T [A]^a [B]^b. \quad (12.2)$$

Определить скорость реакции можно, измеряя как концентрации исходных веществ, так и продуктов. Скорость реакции зависит от константы скорости k_T , концентраций реагирующих веществ, температуры, природы растворителя, ионной силы, наличия катализатора. Константа скорости реакции в свою очередь зависит от температуры и представляет собой скорость реакции при концентрациях компонентов, равных единице.

Кинетические уравнения отражают характер зависимости скорости реакции от концентраций ее участников. В общем случае можно записать:

$$v = k_T [A]^a [B]^b.$$

Сумма $n = a + b$ называется *общим порядком реакции*, который представляет собой сумму показателей степеней при концентрациях, входящих в кинетическое уравнение. Так, порядок реакции: $A + B \rightarrow P$ со скоростью $v = k_T [A][B]$ равен двум ($n = 1 + 1$), и данная реакция является реакцией второго порядка.

Кроме того, можно говорить о *частном порядке реакции* по отношению к какому-либо ее участнику. Частный порядок определяется показателем степени при соответствующей концентрации в кинетическом уравнении. Например, в реакции (12.1) порядок реакции по веществу А равен a , по веществу В — b , по веществу Р — p .

Частные порядки сложных реакций, проходящих более чем в одну стадию, могут не совпадать со стехиометрическими коэффициентами.

Для простоты далее будем полагать, что все стехиометрические коэффициенты в уравнении реакции (12.1) равны единице.

12.2. Реакции нулевого порядка

Скорость реакций нулевого порядка не зависит от концентраций реагирующих веществ:

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = k_T. \quad (12.3)$$

Если проинтегрировать это уравнение в пределах от $t = 0$ до t , то получим

$$[A] = [A]_0 - k_T t, \quad (12.4)$$

где $[A]_0$ — концентрация А в начальный момент реакции при $t = 0$.

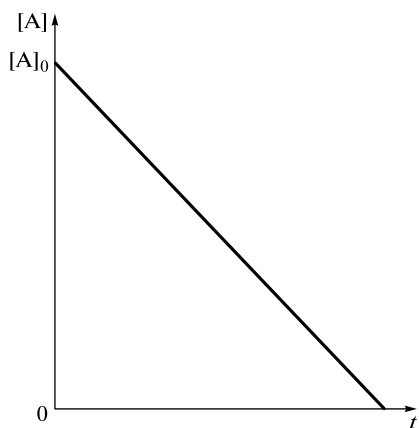


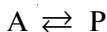
Рис. 12.1. Изменение концентрации реагента А во времени для реакции нулевого порядка

Зависимость концентрации А от времени t , описываемая уравнением (12.4), представлена на рис. 12.1.

Нулевым порядком могут иметь ферментативные реакции в случае насыщения субстратом, т.е. реакции, где один из реагентов находится в большом избытке, его концентрация за время реакции меняется пренебрежительно мало и ее можно включить в значение константы скорости k_T .

12.3. Реакции первого порядка

Кинетическое уравнение для реакции первого порядка:



имеет вид

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = k_T [A]. \quad (12.5)$$

При интегрировании уравнения (12.5) от $t = 0$ до t получаем

$$[A] = [A]_0 e^{-k_T t}, \quad (12.6)$$

где $[A]_0$ — концентрация вещества А в начальный момент реакции при $t = 0$.

Если же рассматривать изменение концентрации не исходных веществ А и В, а продукта Р, то можно записать следующие уравнения:

$$\begin{aligned} [A] &= [A]_0 - [P], \\ [P] &= [A]_0 - [A] = [A]_0 - [A]_0 e^{-k_T t} = [A]_0 (1 - e^{-k_T t}). \end{aligned} \quad (12.7)$$

Зависимость, описываемая уравнением (12.7), представлена на рис. 12.2.

Кинетические уравнения могут быть и более сложными, но в аналитической химии стараются использовать реакции, описываемые кинетическими уравнениями возможно более простого вида. Реакции первого порядка представляют наибольший интерес для аналитической химии. Их легко осуществить, используя избыток всех реагентов за исключением одного, чтобы скорость реакции определялась только этим реагентом. Относительно этого реагента реакция будет иметь псевдопервый порядок.

Концентрации, входящие в кинетическое уравнение, можно заменить любыми измеряемыми параметрами, прямо пропорциональными концентрации.

Таким образом, за изменениями концентрации реагента или продукта можно следить аналитическими методами.

Скорость реакции проще измерить, если ограничиться изучением лишь ее начального участка. Начальная скорость реакции v_0 зависит только от исход-

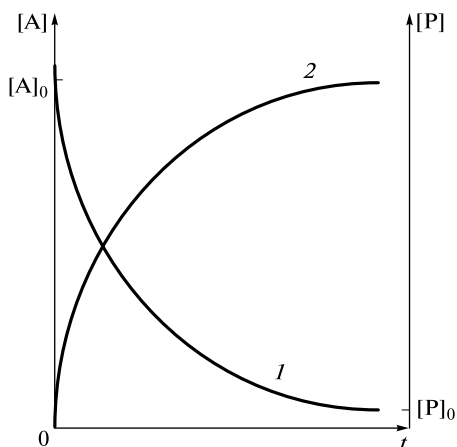


Рис. 12.2. Изменение во времени концентрации компонентов А (1) и Р (2) для реакции первого порядка ($[A]_0$, $[P]_0$ — концентрация реагента А и продукта Р в начальный момент времени $t = 0$)

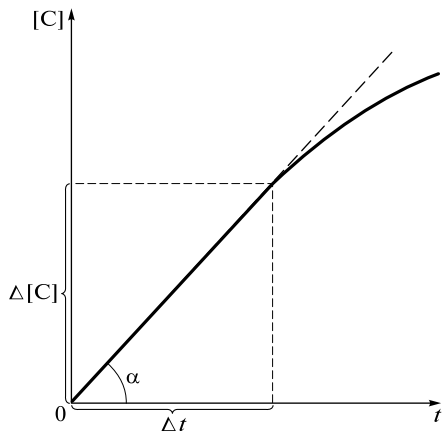


Рис. 12.3. Определение начальной скорости реакции

ных концентраций ее участников. Например, для реакции второго порядка имеем

$$\nu_0 = -\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[C]}{dt} = k_T [A]_0 [B]_0. \quad (12.8)$$

Начальную скорость реакции можно определить графически по тангенсу угла α наклона начального участка зависимости концентрации от времени ($\operatorname{tg} \alpha = \Delta[C]/\Delta t$) (рис. 12.3). Зависимость концентрации от времени практически линейная вплоть до степени превращения, равной $\sim 10\%$.

12.4. Применение кинетических методов в аналитической химии

Аналитическим сигналом в кинетических методах является скорость процесса или пропорциональная ей величина.

Реакцию, скорость которой измеряют, называют *индикаторной*, а вещество, по изменению концентрации которого судят о скорости процесса, — *индикаторным*.

Индикаторные реакции могут быть основаны на катализе окислительно-восстановительных реакций, реакций замещения в координационной сфере ионов металлов, реакций гидролиза и декарбоксилирования органических соединений. Наиболее чувствительны и сравнительно просто выполнимы окислительно-восстановительные каталитические реакции. Их чаще всего используют в анализе неорганических веществ. Кроме каталитических реакций в кинетических методах используют и некаталитические реакции окисления-восстановления, разложения, осаждения.

К индикаторной реакции предъявляют ряд требований:

- концентрация определяемого компонента за время наблюдения практически не должна меняться, катализатор в ходе реакции не расходуется, если же определяемым является одно из реагирующих веществ (некаталитический вариант метода), то с достаточной точностью его можно определять в начальный период, когда его концентрация изменяется не более чем на 5% ;
- необходимо наличие быстрого, простого и доступного метода наблюдения за скоростью индикаторной реакции, т.е. за изменением концентрации индикаторного вещества во времени;
- скорость индикаторной реакции должна находиться в определенных пределах; оптимальное время наблюдения за скоростью индикаторной реакции — $5-15$ мин; однако с развитием методов изучения быстрых процессов все чаще используют реакции, протекающие с большой скоростью.

Существуют два варианта кинетических методов.

В *каталитическом варианте* кинетического метода (каталиметрии) определяемый компонент или связанные с ним соединения являются катализатором индикаторной реакции.

В *некаталитическом варианте* кинетического метода определяемым компонентом является одно из реагирующих веществ в некаталитической или каталитической индикаторной реакции.

Каталитические методы отличаются от других химических методов анализа высокой чувствительностью, некаталитические — высокой селективностью.

Возможны различные способы определения неизвестной концентрации вещества по данным кинетических измерений. Если индикаторным веществом является продукт реакции, то скорость реакции можно выразить следующим образом:

$$\frac{d[P]}{dt} = k_T C_A^a C_B^b. \quad (12.9)$$

На начальной стадии реакции концентрации определяемого вещества В и реагента А могут практически не изменяться за время наблюдения за скоростью процесса. Тогда, проинтегрировав уравнение (12.9), получим

$$[P] = k_T C_A^a C_B^b t, \quad (12.10)$$

т. е. наблюдается линейная зависимость концентрации индикаторного вещества от времени. Кинетический метод, основанный на использовании этого уравнения, называют *дифференциальным*.

Если концентрация хотя бы одного из реагирующих веществ за время наблюдения за скоростью реакции заметно (более чем на 10 %) меняется, то между концентрацией индикаторного вещества и временем существует более сложная (например, логарифмическая, обратная и т. д.) зависимость. Такой кинетический метод называют *интегральным*. В интегральном варианте часто применяют построение зависимостей концентрации индикаторного вещества от времени в полулогарифмических, обратных или других координатах, так как для расчета неизвестной концентрации определяемого компонента удобнее использовать линейные участки кинетических кривых.

Характер кинетических кривых, а следовательно, и использование дифференциального или интегрального варианта кинетических методов анализа определяются типом индикаторной реакции, ее механизмом.

В настоящее время наиболее распространенными являются три основных метода определения неизвестной концентрации по данным кинетических измерений. Это метод тангенсов, метод фиксированного времени, метод фиксированной концентрации. Рассмотрим их применительно к дифференциальному варианту кинетического метода анализа.

Метод тангенсов основан на определении тангенса угла наклона $\operatorname{tg} \alpha$ кинетических кривых при известных концентрациях определяемого вещества. При этом значение $\operatorname{tg} \alpha$ характеризует скорость индикаторной реакции и зависит от концентрации определяемого вещества. Градуировочный график строят в координатах: концентрация определяемого соединения — $\operatorname{tg} \alpha$ (рис. 12.4, а).

Метод фиксированного времени — при строго определенном (фиксированном) интервале времени протекания реакции измеряют концентрацию индикаторного вещества в пробах с известными концентрациями определяемого компонента. Градуировочный график строят в координатах: концентрация определяемого вещества — концентрация индикаторного вещества при фиксированном времени t^* протекания реакции (рис. 12.4, б). Часто при проведении анализа этим методом индикаторную реакцию останавливают в момент времени t^* путем резкого охлаждения, изменения кислотности раствора, добавления ингибиторов.

Метод фиксированной концентрации — в отдельных пробах с известными концентрациями определяемого вещества проводят индикаторную реакцию до строго определенной (фиксированной) концентрации x^* индикаторного вещества и измеряют время достижения этой концентрации. Градуировочный график строят в координатах: концентрация определяемого компонента — величина, обратная времени достижения фиксированной концентрации x^* (рис. 12.4, в).

В интегральном варианте все методы определения неизвестной концентрации аналогичны, лишь между временем реакции и концентрацией индикаторного вещества существует более сложная функциональная зависимость. В этом случае находят функции концентрации индикаторного вещества, линейно изменяющиеся во времени (логарифмическая, обратная и т.д.).

Концентрацию катализатора можно определять по длительности индукционного периода $t_{\text{инд}}$, по истечении которого скорость реакции становится заметной. Этот метод является разновидностью метода фиксированной концентрации.

Аналитические характеристики некаталитических и каталитических методов кинетического анализа различны (табл. 12.1).

Среди каталитических методов высокую чувствительность и селективность имеют *ферментативные методы*, основанные на использовании реакций,

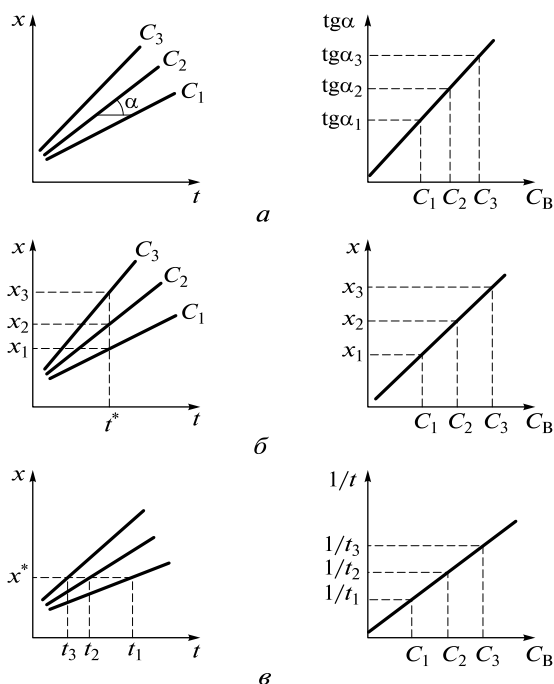


Рис. 12.4. Методы определения неизвестной концентрации по данным кинетических измерений:

а — метод тангенсов; *б* — метод фиксированного времени; *в* — метод фиксированной концентрации (x — концентрация индикаторного вещества; t — время; $C_1 < C_2 < C_3$ — концентрации определяемого вещества В)

Характеристика каталитических и некаталитических кинетических методов анализа

Характеристика	Кинетические методы	
	каталитические	некаталитические
Минимально определяемое количество вещества	10^{-12} — 10^{-10} моль/л (10^{-6} — 10^{-5} мкг/мл)	10^{-6} — 10^{-4} моль/л (10^{-2} — 10^{-1} мкг/мл)
Селективность	Как правило, необходимо предварительное отделение вещества-катализатора от веществ, влияющих на скорость реакции	Позволяют определить индивидуальное вещество в смеси близких по свойствам соединений без предварительного разделения
Типы наиболее часто используемых индикаторных реакций	Каталитические реакции окисления-восстановления; реакции, в результате которых появляются каталитические полярографические токи; ферментативные процессы	Реакции превращения органических соединений; ферментативные процессы; реакции замещения во внутренней сфере комплексных соединений, в том числе быстрые реакции
Методы наблюдения за изменением концентрации индикаторного вещества	Любые быстрые и точные физико-химические методы, чаще всего оптические и электрохимические	Любые быстрые и точные физико-химические методы, чаще всего оптические и электрохимические. В случае быстрых реакций — струйные и релаксационные методы с оптической регистрацией
Определяемые вещества	Катализаторы гомогенных процессов — чаще всего ионы переходных металлов; активаторы и ингибиторы — органические соединения	Органические соединения; компоненты смеси близких по свойствам элементов (щелочноземельные, редкоземельные, платиновые металлы)

катализируемых ферментами. Ферментативными методами определяют субстраты, сами ферменты и эффекторы ферментов (соединения, мешающие активности ферментов). Методы определения субстратов — веществ, на которые действуют ферменты, — высокоселективны и даже специфичны, что позволяет определять субстраты непосредственно в матрице сложных объектов (кровь, биомассы и биожидкости, многокомпонентные технологические растворы). Чувствительность определения при этом обусловлена методом, выбранным для контроля за скоростью процессов. Часто в этих случаях используют ферментные электроды.

Нижняя граница концентраций, определяемых каталитическими методами, для большинства элементов составляет 10^{-9} — 10^{-8} моль/л (10^{-4} — 10^{-3} мкг/мл), т.е. на 1—2 порядка ниже, чем методами спектрофотометрии, полярографии и пламенного варианта атомно-абсорбционной спектроскопии.

Скорость конкретной индикаторной реакции зависит от многих параметров: температуры, ионной силы раствора, концентрации мешающих компонентов, наличия ингибиторов и активаторов. Все эти параметры в кинетических методах анализа необходимо строго контролировать и поддерживать постоянными для получения надежной аналитической информации.

Кинетическим определениям могут мешать посторонние ионы и соединения, обладающие каталитической активностью, снижающие скорость каталитической реакции или изменяющие направление ее отдельных стадий.

Мешающее влияние оказывают окислители и восстановители, взаимодействующие с реагентами индикаторной реакции и катализатором: Mn(VII) , Cr(VI) , I_2 , NO_2^- , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, HS^- ; анионы и соединения, образующие с катализатором каталитически неактивные комплексы: F^- , PO_4^{3-} , NH_3 , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, ЭДТА; ионы d -элементов, проявляющие каталитическую активность: Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ti^{4+} , Co^{3+} ; ионы металлов, образующие комплексы с реагентами и продуктами реакции: Al^{3+} , Bi^{3+} , Zr^{4+} , Ti^{4+} и другие; ингибиторы и активаторы — в основном органические вещества, взаимодействующие с промежуточными продуктами реакции или с катализатором: оксалаты, фенолы, нафтолы, амины; инертные электролиты (например, нитраты и перхлораты щелочных металлов) и вещества, обладающие буферным действием.

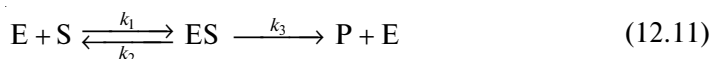
Для устранения мешающего влияния посторонних компонентов применяют традиционные для аналитической химии приемы отделения или маскирования мешающих примесей.

Кинетические методы (в том числе и ферментативные) при условии строгого соблюдения условий проведения анализа не уступают другим методам в точности, достаточно экспрессны, легко поддаются автоматизации. В практике аналитической химии эти методы применяют:

- при анализе смесей близких по свойствам органических соединений (некаталитический вариант);
- определении микроколичеств ионов $3d$ -элементов, группы платиновых металлов, галогенид-ионов и органических веществ в природных и промышленных объектах;
- определении токсичных и лекарственных препаратов, физиологически активных соединений в биологических объектах и объектах окружающей среды (ферментативные методы).

12.5. Особенности ферментативных каталитических реакций

Ферментативные каталитические реакции представляют собой особый тип каталитических реакций, где катализатором является фермент. Механизм ферментативных реакций был предложен Л. Михаэлисом и М. Ментен. В простейшем случае для одностадийных реакций имеем



где E — фермент; S — субстрат; ES — промежуточный комплекс; P — продукт; k_1 — k_3 — константы скоростей реакций.

Кинетическое уравнение образования промежуточного комплекса ES имеет вид

$$\nu_{\text{обр}} = k_1([E]_0 - [ES])[S], \quad (12.12)$$

где $[E]_0 - [ES]$ — концентрация фермента в данный момент времени; $[S]$ — концентрация субстрата в данный момент времени.

Скорость распада комплекса ES на E и S описывается уравнением

$$\nu_{\text{расп}} = k_2[ES], \quad (12.13)$$

скорость образования продуктов реакции:

$$\nu_{\text{прод}} = k_3[ES]. \quad (12.14)$$

Скорость образования комплекса ES должна быть равна общей скорости его распада:

$$\nu_{\text{обр}} = \nu_{\text{расп}} + \nu_{\text{прод}}, \quad (12.15)$$

$$k_1([E]_0 - [ES])[S] = k_2[ES] + k_3[ES], \quad (12.16)$$

$$k_1[E]_0[S] - k_1[ES][S] = k_2[ES] + k_3[ES], \quad (12.17)$$

$$k_1[E]_0[S] = k_1[ES][S] + k_2[ES] + k_3[ES], \quad (12.18)$$

$$k_1[E]_0[S] = [ES](k_1[S] + k_2 + k_3), \quad (12.19)$$

$$[ES] = \frac{k_1[E]_0[S]}{k_1[S] + k_2 + k_3} = \frac{[E]_0[S]}{[S] + \frac{k_2 + k_3}{k_1}}. \quad (12.20)$$

Отношение $(k_2 + k_3)/k_1 = k_M$ называют *константой Михаэлиса*. Тогда получим

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{[S] + k_M}. \quad (12.21)$$

Чтобы получить скорость образования продуктов ферментативной реакции, подставим в уравнение (12.14) выражение для $[ES]$ согласно (12.21):

$$\nu_{\text{прод}} = k_3[E]_0 \frac{[S]}{k_M + [S]}, \quad (12.22)$$

$$k_3[E]_0 = \nu_{\text{max}}, \quad (12.23)$$

где ν_{max} — максимальная скорость реакции.

Следовательно, находим

$$\nu_{\text{прод}} = \nu_{\text{max}} \frac{[S]}{k_M + [S]}. \quad (12.24)$$

Таким образом, в простейшем случае односубстратных ферментативных реакций, подчиняющихся кинетике Михаэлиса — Ментен, зависимость начальной скорости от концентрации субстрата и фермента в стационарном режиме будет описываться уравнением

$$v = \frac{v_{\max} [S]_0}{k_M + [S]_0} = \frac{k_{\text{кат}} [E]_0 [S]_0}{k_M + [S]_0}, \quad (12.25)$$

где $v_{\max}$ — максимальная скорость реакции; $[S]_0$ — начальная концентрация субстрата; k_M — константа Михаэлиса; $k_{\text{кат}}$ — константа скорости каталитической реакции; $[E]_0$ — начальная концентрация фермента.

Чтобы снизить ошибку при определении скорости ферментативной реакции, реакцию обычно проводят в условиях, когда начальная концентрация субстрата много больше константы Михаэлиса ($[S]_0 \gg k_M$), т.е. определяют максимальную скорость ферментативной реакции.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. В чем сущность кинетических методов анализа?
2. Какую реакцию называют индикаторной?
3. Перечислите требования, предъявляемые к индикаторным реакциям.
4. Назовите наиболее распространенные способы измерения скорости химической реакции, используемые в кинетических методах анализа.
5. Охарактеризуйте основные приемы кинетических методов анализа: метод тангенсов, метод фиксированной концентрации, метод фиксированного времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р.Кельнера, Ж.-М.Мерме, М.Отто, М.Видмера. — М. : Мир, 2004.

Основы аналитической химии : в 2 т. / под ред. Ю.А.Золотова. — М. : Издательский центр «Академия», 2010.

Отто М. Современные методы аналитической химии / М.Отто. — М. : Техносфера, 2006.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

13.1. Иммунохимические методы

Для анализа сверхнизких ($\sim 10^{-15} — 10^{-11}$ моль/л) концентраций биологического материала традиционные химические методы оказываются непригодными. Только применение иммунологических методов дает возможность анализировать минимальные количества биологических объектов в сложных смесях.

Одним из наиболее широко применяемых в настоящее время иммунохимических методов является иммуноферментный анализ (ИФА). Его основные достоинства — универсальность, простота, стабильность реагентов и очень высокая чувствительность. В связи с этим метод иммуноферментного анализа постепенно занимает одно из ведущих мест в практике лабораторных медико-биологических и клинических исследований. Особый интерес привлекло во всем мире использование иммуноферментного анализа в диагностике вируса иммунодефицита человека (ВИЧ).

Иммуноферментный анализ возник как сочетание ферментативных кинетических и иммунологических методов анализа, в которых антитело выступает в качестве специфического детектора определяемого вещества, а фермент — в качестве маркера (метки) иммунохимической реакции, с помощью которого визуализируют образование комплекса антиген — антитело.

Чтобы понять принципы иммуноферментного анализа, необходимо в первую очередь получить представление об иммунологической системе и основанных на иммунной реакции иммунохимических методах анализа.

Иммунологическая система. Генетически чужеродные вещества, называемые *антигенами* (Ag), попадая в организмы высших животных и человека, способны вызывать в них ряд процессов, направленных на удаление антигенов из организма. Система организма, выполняющая эту функцию, называется *иммунной*. В ответ на введение антигена в организм человека или животного вырабатываются специфические сывороточные белки крови — *антитела* (At), называемые *иммуноглобулинами*.

К антигенам относят белки, полисахариды, липополисахариды, нуклеиновые кислоты как в очищенном виде, так и в виде структурных компонентов различных биологических структур (клеток, тканей, вирусов и т.д.). На поверхности молекулы сложного антигена можно выявить функциональные группы или остатки, обуславливающие антигенную специфичность, называемые *антигенными детерминантами*; их число на поверхности молекулы определяет валентность антигена. Понятие «антигенная детерминанта» включает последовательность образующих ее химических функциональных групп и их про-

странственное расположение. Например, в молекулах белков антигенная детерминанта образована совокупностью (от 5 до 20) аминокислотных остатков.

Термин «специфичность антигена» означает:

- способность избирательно реагировать со специфическими антителами;
- набор определенных антигенных детерминант для поливалентных антигенов.

Гаптен — вещество, которое само не может вызывать синтез антитела, но способно реагировать со специфическим к нему антителом. Большинство гаптен-ов представляют собой молекулы с низкой (менее 1 000 а. е. м.) молекулярной массой. К ним относят многие лекарственные вещества, гормоны, наркотики. Поэтому количественный анализ гаптен-ов представляет огромный интерес.

Антитела (иммуноглобулины) в организме выполняют две основные функции: 1) распознавание и специфическое связывание соответствующих антигенов; 2) инициирование важнейших физиологических процессов, направленных на уничтожение антигенов (например, стимуляция специализированных иммунокомпетентных клеток, выделение фармакологически активных веществ и т.д.).

Иммуноглобулины по химической структуре относятся к большому классу природных соединений — гликопротеидам, высокомолекулярным соединениям, состоящим из последовательности L-аминокислот, соединенных между собой пептидными связями. Несмотря на огромное разнообразие антител, все они обладают некоторыми общими структурными элементами, обеспечивающими выполнение их основных функций.

Иммуноглобулины (Ig) могут быть отделены от других фракций сыворотки с помощью электрофореза и разделены на разные классы по антигенным, эффекторным свойствам и структурным особенностям. Иммуноглобулины подразделяют на пять основных классов: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD. Молекулы антител принадлежат, главным образом, классу IgG, который составляет около 80 % фракции иммуноглобулинов в сыворотке.

Общей структурной единицей всех иммуноглобулинов является комплекс из четырех полипептидных цепей — двух легких цепей, состоящих из 215 аминокислот молекулярной массой 23 000 а. е. м. каждая (*L*-цепи; от английского — light), и двух тяжелых цепей из 450 аминокислот молекулярной массой 53 000 а. е. м. каждая (*H*-цепи; от английского — heavy).

Каждая из легких цепей прочно соединена с концевыми NH_2 -участками тяжелых цепей благодаря наличию межцепочечных дисульфидных связей и множеству слабых гидрофобных, электростатических и других межатомных взаимодействий. Аналогичные связи существуют и между свободными участками тяжелых цепей. Из-за наличия дисульфидных связей структура антител напоминает латинскую букву Y или T (характерна для иммуноглобулинов класса IgG, IgE, IgD) (рис. 13.1).

При действии протеолитического фермента папаина молекула IgG распадается на три фрагмента, два из которых идентичны и сохраняют способность связывать антигены (Fab-фрагменты; от английского — fragment antigen binding), а третий способен к кристаллизации (Fc-фрагмент; от английского — fragment crystalline); Fc-фрагмент отвечает за функцию связывания белка.

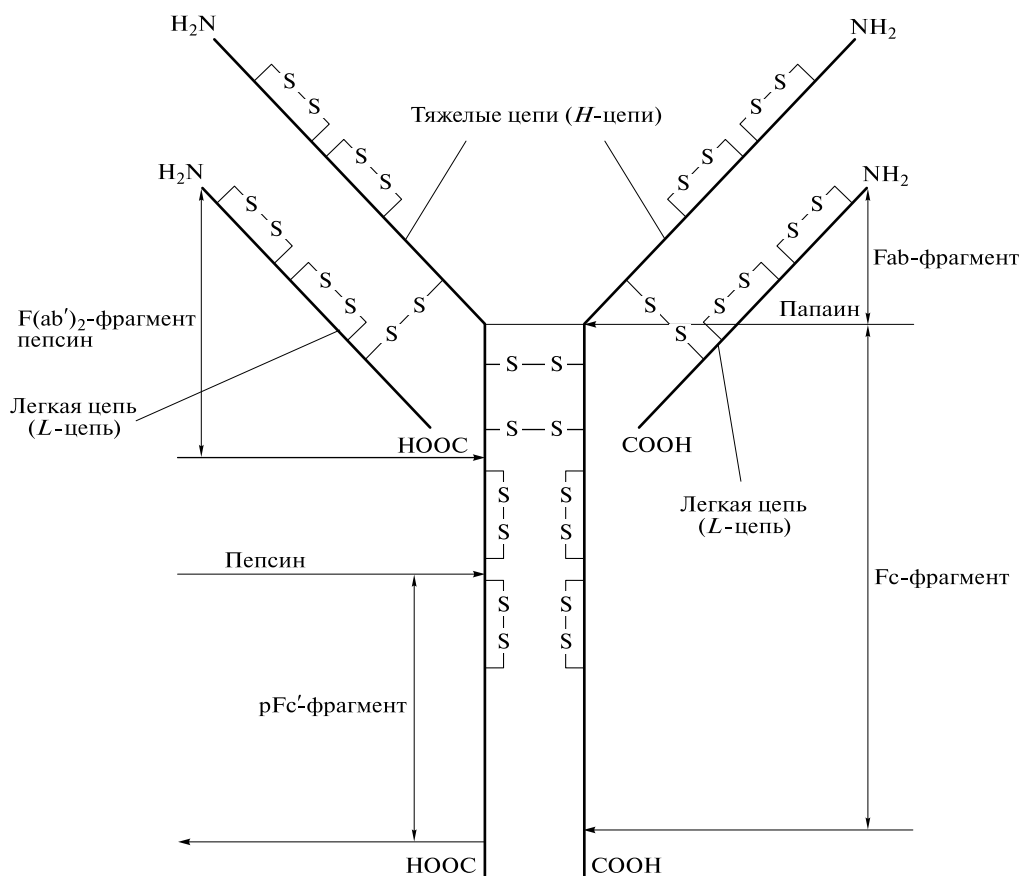


Рис. 13.1. Структура молекул иммуноглобулинов

Другой протеолитический фермент — пепсин разрывает пептидную связь, расположенную ближе к COOH-концу цепи. В результате образуются так называемый pFc'-фрагмент, представляющий собой остатки тяжелых цепей, и соединенные дисульфидными связями два Fab-фрагмента, обозначаемые F(ab')₂. Последние также сохраняют способность к связыванию антигенов.

Таким образом, только небольшая часть всей молекулы антитела несет ответственность за его специфичность. Каждая молекула IgG, а также F(ab')₂-фрагменты содержат по два антигенсвязывающих центра, а Fab-фрагмент — один.

Главным условием использования антител в иммуноферментном анализе является сохранение их способности специфически взаимодействовать с соответствующими антигенами. Поэтому часто используют не целые молекулы антител, а только их фрагменты Fab и F(ab')₂, полностью сохраняющие эту способность. Это позволяет в некоторых случаях устранить неспецифические реакции, обусловленные, например, взаимодействием Fc-фрагмента антител с поверхностями носителей.

Структура иммуноглобулинов разных классов обусловлена числом и расположением S—S-связей в молекулах, а также числом четырехцепочечных

элементов. Область S—S-связей показывает, что молекула антитела не имеет фиксированной структуры, а может вращаться около этой части молекулы. Эта подвижность имеет огромное значение при связывании антигена.

Антигенсвязывающий центр расположен в NH_2 -концевых частях *H*- и *L*-цепей. Этот участок называют *варибельным регионом* (здесь аминокислотная последовательность подвергается вариации в зависимости от взаимодействующего антигена).

Например, варибельная область *H*-цепей в NH_2 -концевой части длиннее соответствующей области *L*-цепей и включает 118—124 аминокислотных остатка; гиперварибельными участками являются четыре аминокислотные последовательности: 31—37, 51—68, 84—91, 101—110, также непосредственно контактирующие с антигеном в антигенсвязывающем центре.

Антитело, получаемое против вещества X, которое может быть как антигеном, так и гаптеном, обычно называют анти-X.

Полученные в организме одних животных антитела, будучи белками, проявляют антигенные свойства в организме других животных. Например, антитело, полученное из кроличьей сыворотки, при введении в тело ослы вызывает образование антитела. Антитело ослы не реагирует с антигеном, который вызвал образование антитела кролика, однако реагирует с антителом кролика; его обычно называют антителом ослы против антитела кролика, или *вторичным антителом* (рис. 13.2).

Рассмотрим пример использования вторичного антитела в иммуноферментном анализе: определение гормона роста человека hGH. Для этого получают вначале специфичное первичное антитело, например выделенное у кролика, которому вводили несколько раз гормон роста человека (рис. 13.3). Антитела кролика реагируют с гормоном роста человека, образуя комплекс, в который входят Fab-цепочки (рис. 13.4).

Вторичное антитело, которое добавляют для осаждения комплекса антиген — первичное антитело, получают следующим образом: обезьяне, овце или козе вводят IgG кролика или Fc-фрагмент. Животное реагирует, выделяя вторичные антитела на IgG кролика, которые взаимодействуют с растворимым комплексом антиген — первичное антитело в области Fc-фрагмента молекулы.

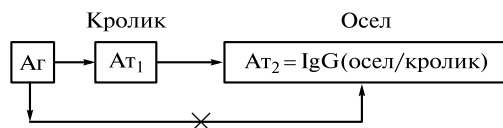


Рис. 13.2. Схема получения вторичного антитела

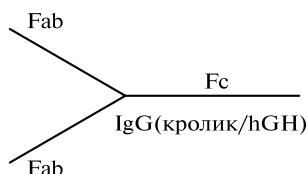


Рис. 13.3. Антитело кролика на гормон роста человека

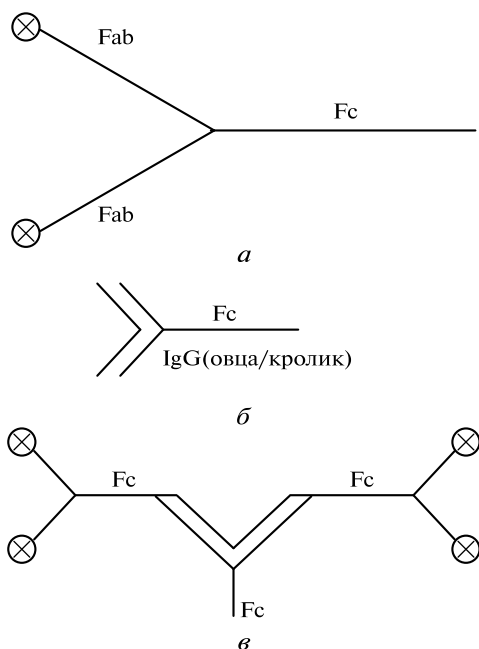


Рис. 13.4. Взаимодействие вторичного антитела с первичными антителами:

a — комплекс первичного антитела с гормоном роста человека; *б* — вторичное антитело овцы против кролика; *в* — комплекс вторичного и первичных антител (⊗ — гормон роста человека)

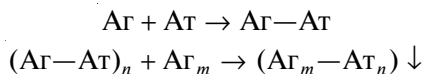
Реакция антигена с антителом. Антитело, образующееся при воздействии антигена, обладает важным свойством специфически реагировать с антигеном, который стимулирует его образование, но не с большинством других антигенов. Аналогичным образом антиген не способен реагировать с любым другим антителом кроме того, образование которого он вызвал.

Из этого следует, что антитело представляет собой специфический индикатор чуждых организму клеток или веществ (антигенов). Как только в организм попадает чужеродное вещество (антиген), в нем как бы «зажигается лампочка», сигнализирующая о проникновении антигена: иммунная система, распознав антиген, незамедлительно вырабатывает против данного антигена свои специфические антитела.

Таким образом, высокоспецифическая реакция взаимодействия (комплексобразования) антитела с антигеном, обозначаемая обычно $At - Ag$, и лежит в основе иммунохимических методов анализа.

Реакция $At - Ag$ в растворе протекает в две стадии:

- 1) первичная реакция — получение комплекса $At - Ag$;
- 2) вторичная реакция — агрегация комплексов с образованием осадка:



Прочность взаимодействия $Ag - At$ характеризуется *константой связывания (аффинности)*. Чем больше константа связывания, тем выше чувствительность соответствующего метода иммунохимического анализа.

Чтобы с успехом использовать реакцию взаимодействия $Ag-Ar$ в аналитических целях, необходимо решить две основные проблемы:

1) предотвратить агрегацию комплексов $Ag-Ar$ (нужна стехиометрическая реакция комплексообразования) и разделить компоненты, т. е. отделить образовавшийся специфический комплекс $Ag-Ar$ от непрореагировавших Ag и Ar ;

2) каким-либо способом провести индикацию образовавшегося комплекса, так как при крайне низких концентрациях компонентов образование простого бинарного комплекса $Ag-Ar$ не может быть зарегистрировано ни визуально, ни простыми инструментальными методами, что вызывает необходимость усложнения аналитической системы.

Агрегацию комплексов $Ag-Ar$ можно предотвратить и решить проблему разделения компонентов, если одного из участников иммунологической реакции (Ag или Ar) иммобилизовать (удержать за счет, например, сил адсорбции) на нерастворимой матрице.

Вторая проблема — индикация образовавшегося комплекса $Ag-Ar$ — может быть решена, если в один из компонентов системы ввести маркер (метку), который детектируется высокочувствительным физико-химическим методом в концентрациях, сопоставимых с определяемой концентрацией анализируемого соединения.

Основные типы маркеров:

- флуоресцентные метки (например, красители, гемин);
- радиоактивные изотопы (например, ^{125}I , $^3H \equiv T$);
- ферменты;
- коллоидные частицы (например, латекс, эритроциты);
- хемилюминесцентные и биолюминесцентные метки (например, изолюминол, эфир акридина и др.).

Обычно в качестве маркеров для визуализации образовавшегося специфического комплекса $Ag-Ar$ в иммуноферментном анализе используют ферменты или биолюминесцентные метки.

Получение антител. Поскольку антитела вырабатываются в крови животных в ответ на введение чужеродного вещества, их можно получать из крови животных, которым несколько раз вводили один и тот же антиген или гаптен. Процесс введения животному антигена по разработанной схеме называют *иммунизацией*. Условия получения иммунных сывороток подбирают эмпирически, так как это зависит от структуры антигена, вида животного и т. д. Однако существуют и общие закономерности, позволяющие выбирать условия получения высокоактивных антисывороток.

Иммуногенность антигена — это способность вызывать в организме иммунизированного животного образование антител. Иммуногенность веществ сильно зависит от их молекулярной массы: чем выше молекулярная масса, тем выше иммуногенность. Поэтому получение антител против гаптенов требует специальных методов. Поскольку сам гаптен не иммуногенен, его связывают со слабо иммуногенными молекулами, такими как альбумин бычьей сыворотки или некоторые синтетические полипептиды, и после этого уже в виде конъюгата вводят в тело животного.

На введение чужеродного вещества животное отвечает образованием антител нескольких типов, способных узнавать этот «чужой» антиген. Даже если

антиген очень прост по строению и практически полностью гомогенен (простое химическое вещество), все равно в сыворотке крови животного можно обнаружить по меньшей мере 5—10 различных типов антител, способных связываться с таким антигеном. Эти антитела обладают разной специфичностью по отношению к данному антигену, поэтому он будет образовывать как специфические комплексы Аг—Ат, так и неспецифические, что может исказить результаты анализа. Образование как можно большего количества именно специфических комплексов Аг—Ат достигается в том случае, если удастся получить моноклональные антитела к специфическому антигену. *Моноклональные антитела* — антитела, синтезируемые потомками одной клетки В-лимфоцита. Характеризуются физико-химической идентичностью и одинаковой иммунологической специфичностью. Получение моноклональных антител является очень сложной задачей, поэтому специфичность — всегда проблема номер один в иммуноферментном анализе.

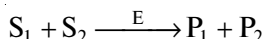
13.2. Ферменты в иммунологическом анализе

Ферменты представляют собой белки, катализирующие реакции, протекающие в живых организмах; они могут быть использованы в качестве маркеров в иммуноферментном анализе, так как легко детектируются высокочувствительными кинетическими методами анализа.

В активном центре фермента, образованном определенным образом ориентированными в пространстве участками полипептидной цепи, происходит связывание субстрата и его химическое превращение. Иногда в состав таких центров входят так называемые *кофакторы* — низкомолекулярные органические вещества довольно сложного строения или неорганические ионы. Кофактор, прочно связанный с белковой глобулой (*апоферментом*) и оставшийся в неизменном состоянии после каталитического акта, называют *простатической группой*, например молекула гема, принимающая участие в катализе пероксидазой. Поскольку наиболее хорошо изученным и часто применяемым в иммуноферментном анализе в качестве метки ферментом является пероксидаза хрена, рассмотрим свойства ферментов на ее примере.

Пероксидаза хрена представляет собой глобулярный белок молекулярной массой 40 000, диаметр молекулы приблизительно 5 нм. Молекула состоит из апофермента (белковой части, содержащей 18 % нейтральных и углеводных остатков) и простетической группы (гемина). В состав активного центра молекулы пероксидазы хрена входит феррипротопорфирин IX (гемин), образующий с апоферментом очень прочный комплекс. Строение активного центра пероксидазы представлено на рис. 13.5.

Запишем ферментативную реакцию в общем виде



где S_1 , S_2 — субстраты; P_1 , P_2 — продукты реакции; E — фермент (энзим).

За единицу каталитической активности любого фермента принимают такое его количество, которое катализирует превращение одного моля субстрата в одну секунду в реакционной системе при определенных условиях.

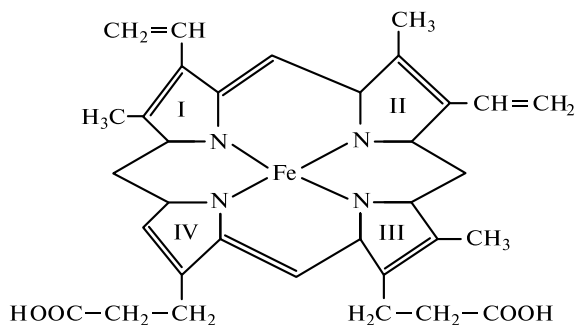
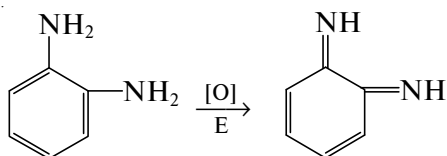


Рис. 13.5. Активный центр пероксидазы

Каталитическая активность не тождественна понятию «скорость ферментативной реакции»; последняя определяется как количество субстрата, превращаемого ферментом за единицу времени в единице объема системы, в которой протекает реакция.

Рассмотрим каталитические свойства пероксидазы хрена. Она катализирует двухсубстратные реакции с участием пероксида водорода (реже — органических гидропероксидов).

Пероксидаза хрена обладает широкой специфичностью ко второму субстрату и способна окислять замещенные фенолы, анилины, *орто*-фенилендиамин, *орто*-дианизидин, люминол и т.д. В качестве второго субстрата чаще всего используют *орто*-фенилендиамин. Пероксидаза хрена значительно ускоряет реакцию окисления *орто*-фенилендиамина. Окрашенный продукт окисления имеет максимум в спектре поглощения при 435 нм:



Механизм ферментативных реакций описан в гл. 12.

На практике при проведении ферментативной реакции на последней стадии иммуноферментного анализа обычно измеряют не скорость ферментативной реакции, а оптическую плотность или флуоресценцию продукта через определенный фиксированный промежуток времени (метод фиксированного времени). Строго определенная продолжительность реакции достигается путем прекращения ее в заданный момент времени (чаще всего останавливают реакцию добавлением 4 М раствора серной кислоты, разрушающей фермент) либо путем проведения реакции до конца. При этом максимум в спектре поглощения сдвигается в длинноволновую область и становится равным 492 нм.

Выше отмечалось основное требование, которому должна отвечать метка (маркер): легко детектироваться в концентрациях, сопоставимых с определяемой концентрацией анализируемого соединения.

Возможность использования ферментов в качестве метки в иммунологическом анализе обусловлена прежде всего высокой каталитической активнос-

тью ферментов, позволяющей с помощью соответствующих субстратных систем определять концентрации фермента в растворе $\sim 10^{-13}$ моль/л (и ниже). Используя одну молекулу фермента в качестве маркера, можно получить количество молекул цветного субстрата, достаточное для детектирования ферментативной реакции.

Предел обнаружения ферментативной метки можно легко оценить, воспользовавшись выражением для максимальной скорости ферментативной реакции:

$$v_{\max} = \frac{d[P]}{d\tau} = k_{\text{кат}} [E]_0.$$

За время $\Delta\tau$ концентрация образовавшегося продукта составит

$$[P] = k_{\text{кат}} [E]_0 \Delta\tau,$$

где константа скорости каталитической реакции $k_{\text{кат}} \sim 10^3 \text{ с}^{-1}$ (для многих ферментов она значительно больше); $\tau \sim 10^3 \text{ с}$.

Спектрофотометрически можно зарегистрировать концентрацию образовавшегося продукта $10^{-7} - 10^{-6}$ моль/л, а используя люминесцентный метод — $10^{-10} - 10^{-8}$ моль/л. Следовательно, для спектрофотометрии

$$[E]_0 = \frac{10^{-7}}{10^3 \cdot 10^3} \approx 10^{-13} \text{ моль/л},$$

для люминесцентного анализа

$$[E]_0 = \frac{10^{-9}}{10^3 \cdot 10^3} \approx 10^{-15} \text{ моль/л}.$$

13.3. Иммуноферментный анализ

13.3.1. Классификация методов иммуноферментного анализа

Теперь, имея представление об основных участниках иммунохимической реакции и свойствах ферментных меток, можно более подробно остановиться на основных методах ИФА. Все методы ИФА включают три общие стадии.

Первой стадией ИФА и любого другого иммунохимического анализа является стадия «узнавания» анализируемого соединения специфическим к нему антителом. Как отмечалось выше, чтобы зарегистрировать образование комплекса $\text{Аг} - \text{Ат}$, используют меченые соединения, в которых метка может легко и быстро детектироваться в концентрациях, сопоставимых с определяемой концентрацией анализируемого соединения.

Второй стадией любого метода ИФА является формирование связи меченого ферментом соединения со специфическим комплексом или свободными центрами связывания. В некоторых схемах (конкурентный анализ) образование комплекса с меченым ферментом соединением может проходить одно-

временно с первой стадией «узнавания» антителами специфических антигенов.

Третьей стадией ИФА является «трансформация» ферментной метки в соответствующий сигнал, измеряемый различными физико-химическими методами (спектрофотометрическим, люминесцентным и т.д.), что достигается путем проведения реакции фермента с субстратами.

Во всех методах ИФА измеряют ферментативную активность меченого соединения, находящегося в специфическом иммунном комплексе или в комплексе со свободными, не вступившими в реакцию центрами связывания. Именно этот принцип может быть положен в основу классификации всех методов ИФА.

В первой группе методов ИФА (тип I) ферментная метка находится в образовавшемся специфическом комплексе анализируемого антигена с антителом, поэтому очевидно, что возрастание концентрации определяемого соединения (C_{Ag}) будет сопровождаться увеличением концентрации образующегося специфического иммунохимического комплекса, а следовательно, и большей величиной регистрируемого сигнала (рис. 13.6).

Во второй группе методов ИФА (тип II) ферментная метка находится в комплексе со свободными, не вступившими в реакцию центрами связывания антител, поэтому возрастание концентрации определяемого соединения (Ag) будет сопровождаться уменьшением концентрации комплексов со свободными антителами, а следовательно, и уменьшением регистрируемого сигнала (рис. 13.7).

Принцип классификации методов ИФА — разделение по типу проводимых на каждой из иммунохимических стадий реакций. В соответствии с этим все методы можно разделить на две группы: гомогенные и гетерогенные. Если в ходе выполнения анализа все реакции, включая ферментативную стадию, протекают в растворе, то метод является *гомогенным* (Enzyme Multiplay Immuno-technique — ЕМІТ). *Гетерогенный ИФА* объединяет методы, в которых анализ проводится в двухфазной системе, при этом разделение на фазы может происходить на любой стадии определения. Если на первой стадии антиген или антитело используют в иммобилизованном состоянии, т.е. формирова-

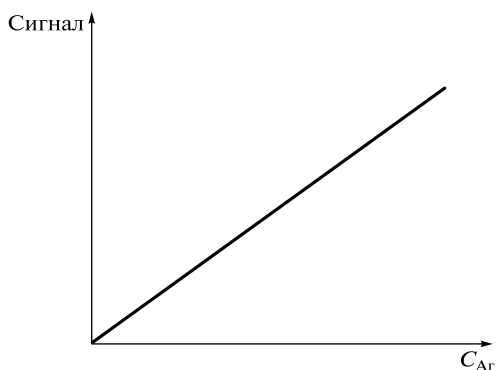


Рис. 13.6. Градуировочная кривая для первой группы методов ИФА (тип I)

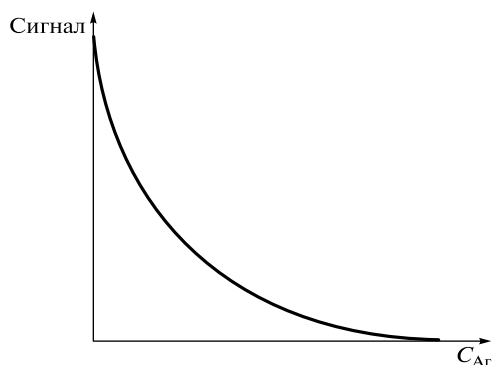


Рис. 13.7. Градуировочная кривая для второй группы методов ИФА (тип II)

ние специфического иммунокомплекса проходит на твердой фазе, то метод относят к *твердофазным гетерогенным методам* (Enzyme Linked Immunosorbent Assay — ELISA).

В настоящее время благодаря ряду преимуществ гомогенный метод ИФА привлек к себе большое внимание; разрабатываются новые схемы анализа. Однако наиболее хорошо изученными и широко применяемыми на практике являются гетерогенные твердофазные методы ИФА (ELISA). В связи с этим остановимся более детально на различных схемах гетерогенного твердофазного анализа.

13.3.2. Твердофазный гетерогенный иммуноферментный анализ

Многообразие методов твердофазного гетерогенного анализа обусловлено возможностью введения ферментной метки как в молекулу антигена, так и в молекулу антитела. Кроме того, для конкретной схемы анализа определяющим является то, какой из реагентов — антиген или антитело — использован в иммобилизованном виде для разделения иммунохимических комплексов и не-связывающихся компонентов (рис. 13.8).

В качестве ферментов в методе ELISA чаще всего используют пероксидазу, β -галактозидазу, щелочную фосфатазу.

Наибольшее распространение получили методы введения ферментной метки, основанные на образовании ковалентной связи между молекулами антитела (антигена) и фермента. Выбор реакции связывания определяется типом доступных функциональных групп в данных белковых молекулах. В большинстве методов используют нуклеофильные свойства аминогруппы, сульфогидрильной, гидроксильной и имидазольной групп, а также реакции, основанные на электрофильной атаке реакционноспособных ароматических групп молекул белка.

Иммобилизация антигенов и антител на нерастворимых носителях. С 1971 г. в практику ИФА вошел метод физической адсорбции антигенов и антител на поверхности пробирок и микроплат из непористых полимеров — полистирола, поливинилхлорида, акрилекса, полиметилметакрилата. Связь белка с матрицей из непористого оптически прозрачного полимера осуществляется в основном за счет гидрофобных и электростатических взаимодействий; эта связь более лабильна, чем ковалентная. Наиболее интенсивно применяют микроплаты (планшеты) с 96 лунками из оптически прозрачного полистирола, поз-

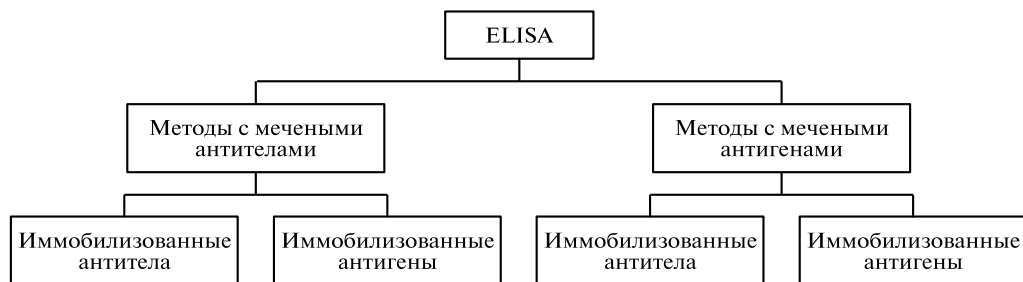


Рис. 13.8. Варианты методов твердофазного иммуноферментного анализа

воляющие проводить весь цикл анализа от стадии иммобилизации до измерения ферментативной активности в каждой из лунок.

Прочно удерживаемые на поверхности полимеров за счет сил адсорбции частицы антигенов или антител теряют подвижность — иммобилизуются. Это главный эффект, на котором основан анализ. Антитела, прочно сцепленные с поверхностью, и вступившие с ними во взаимодействие антигены при промывке ячейки останутся в ней, а все другие вещества, не принявшие участие в реакции и свободно плавающие в растворе, будут легко отделены. Именно такая простота разделения продуктов реакции обеспечила этому методу широкое применение.

Количественное определение биологически активных веществ методами ELISA. Остановимся лишь на некоторых наиболее часто встречающихся на практике методах. К носителю с иммобилизованными антителами добавляют раствор, содержащий анализируемый антиген (рис. 13.9, *а*). В процессе инкубации на первой стадии на твердой фазе образуется комплекс антиген — антитело. Затем носитель отмывают от несвязавшихся антигенов и добавляют меченые ферментом антитела. После вторичной инкубации и удаления избытка конъюгата антитела с ферментом определяют ферментативную активность на носителе, которая будет пропорциональна начальной концентрации исследуемого антигена.

Антиген в этом случае как бы зажат между молекулами иммобилизованных и меченых ферментом антител, поэтому этот метод получил название «сэндвич-метод». Он широко распространен на практике. Очевидно, что метод может быть использован для анализа только тех антигенов, на поверхности которых существуют, по крайней мере, две антигенные детерминанты, т. е. для анализа поливалентных антигенов, а для анализа большого числа моновалентных антигенов (например, стероидных гормонов, лекарственных соединений, пестицидов) он непригоден.

Методы с использованием меченых вторичных антител и иммобилизованных антигенов. К иммобилизованному антигену добавляют исследуемую сыворотку, выявление иммунокомплексов проводят с помощью меченых ферментом вторичных антител. Измеряемое на носителе содержание ферментной метки пропорционально концентрации специфических антител в сыворотке (рис. 13.9, *б*).

Какой-либо универсальной схемы анализа не существует. Выбор схемы анализа зависит от многих факторов, в первую очередь от того, куда удастся ввести ферментную метку: в антиген или в антитело. Наличие меченого антигена позволяет проводить анализ, используя малостадийные конкурентные схемы, что значительно упрощает проведение определения. Однако из-за разнообразного строения и различных физико-химических свойств антигенов синтез большинства конъюгатов антигенов с ферментами представляет собой сложную самостоятельную задачу, единую методику синтеза конъюгата предложить невозможно.

Получение меченых антител для анализа методически более просто, так как методы синтеза и очистки конъюгатов различных ферментов иммуноглобулинами хорошо разработаны и унифицированы. Однако многообразие антигенов затрудняет получение меченых специфических антител в количествах, обеспечивающих потребности массовых анализов.

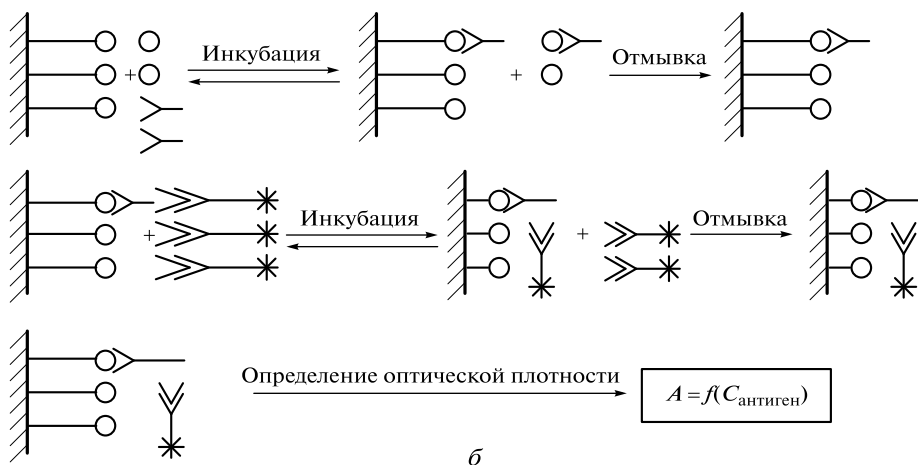
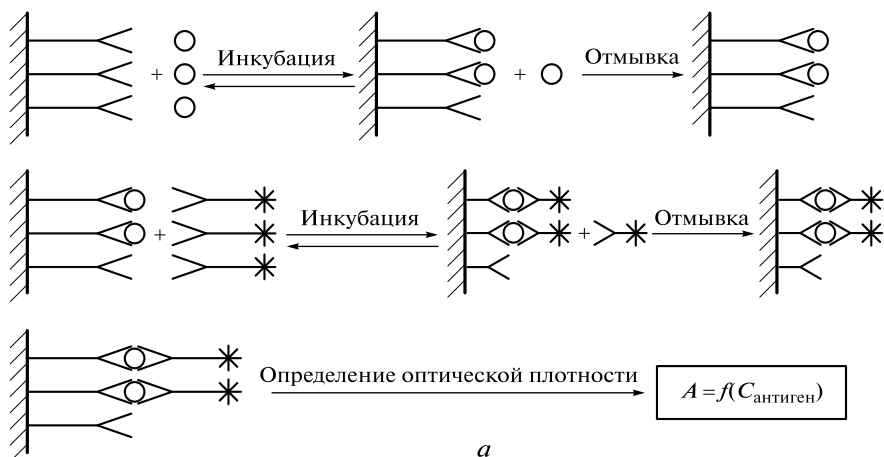


Рис. 13.9. Схема взаимодействия:

a — меченых антител и иммобилизованных антител; *б* — меченых вторичных антител и иммобилизованных антигенов (○ антиген; >— антитело; >>— антивидовое (вторичное) антитело (антитело против антитела); * фермент; ○—* >—* >>—* компонент (антиген или антитело), в который введена ферментная метка (конъюгат); |||—○—* иммобилизованный компонент)

В связи с этим применение в анализе меченых вторичных антител упрощает процедуру получения реагентов для анализа, так как позволяет, используя одни и те же конъюгаты, осуществлять определение различных антигенов и антител. Кроме того, чувствительность анализа ряда антигенов в этом случае может быть выше, чем при применении меченых специфических антител, за счет возможности связывания не одной, а нескольких меченых молекул. В целом использование при анализе меченых антител или вторичных антител усложняет его, так как вводятся дополнительные стадии

инкубации и промывки носителя, а каждая дополнительная стадия увеличивает ошибку анализа.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Как провести иммуноферментный анализ, если не удалось присоединить ферментную метку ни к антителу, ни к антигену? Приведите возможную схему анализа.

2. Предложите вариант метода с использованием меченого антигена и иммобилизованных вторичных антител.

3. Предложите вариант метода с использованием меченых вторичных антител и иммобилизованного антигена.

4. Изобразите символами схему анализа антигена:

1) иммобилизируют IgG(осел/антиген);

2) приливают сыворотку крови, содержащую определенный антиген;

3) инкубируют;

4) промывают;

5) прибавляют IgG(кролик/антиген);

6) инкубируют;

7) промывают;

8) прибавляют конъюгат IgG(овца/кролик) — пероксидаза хрена;

9) инкубируют;

10) промывают;

11) определяют оптическую плотность.

5. Предложите схему иммуноферментного анализа гормона, если используют иммобилизованные антигены и конъюгаты вторичных антител с пероксидазой хрена.

6. Определение гормона проводят сэндвич-методом со спектрофотометрическим окончанием анализа. Содержание гормона в комплексе антиген — антитело, меченое ферментом пероксидаза хрена, составляет 10^{-13} — 10^{-11} моль/л. Можно ли использовать вариант, когда метка определяется в количествах, несопоставимых с ее содержанием в комплексе антиген — антитело. Как будет выглядеть зависимость сигнала от концентрации антигена, если метка определяется в концентрации: а) 10^{-9} — 10^{-8} моль/л; б) 10^{-12} — 10^{-10} моль/л; в) 10^{-15} — 10^{-13} моль/л.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бендер М. Биоорганическая химия ферментативного катализа / М. Бендер, Р. Бергерон, М. Комияма. — М. : Мир, 1987.

Егоров А. Н. Теория и практика иммуноферментного анализа / А. Н. Егоров, А. П. Осипов, Б. Б. Дзантиев. — М. : Высш. шк., 1991.

Егоров Н. С. Биотехнология. Проблемы и перспективы / Н. С. Егоров, А. В. Олескин, В. Д. Сануилов. — М. : Высш. шк., 1987.

Иммунологические методы / под. ред. Г. Фримеля. — М. : Медицина, 1987.

Основы аналитической химии : в 2 т. / под ред. Ю. А. Золотова. — М. : Издательский центр «Академия», 2010.

ЯДЕРНО-ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

14.1. Основные понятия

Ядерно-физические методы анализа — это комплекс методов, основанных на использовании ядерных излучений (нейтронов, протонов, высокоэнергетичных гамма-квантов и др.) для качественного или количественного определения химических элементов в различных материалах. Среди них можно выделить две группы методов. Методы первой группы основаны на измерении параметров наведенной радиоактивности, возникающей в результате ядерных реакций при облучении анализируемых проб (различные варианты *активационного анализа*). В основе методов второй группы лежат другие (*не активационные*) процессы, например рассеивание ядерных частиц, возбуждение рентгеновского излучения и др. В основном ядерно-физические методы используют для определения в образцах суммарного содержания элементов, но некоторые из них обеспечивают и локальное определение элементов.

Для проведения анализа ядерно-физическим методом требуется источник ядерного излучения, воздействующего на анализируемый образец (источник нейтронов, ускоритель частиц и др.), и аппаратура, способная измерить отклик, например наведенную радиоактивность, которая обычно пропорциональна концентрации соответствующего элемента.

Ядерно-физические методы анализа входят в группу *радиоаналитических методов*, которая включает также методы изотопного разбавления, радиометрического титрования, концентрационно-зависимого распределения, радиоиммунного анализа и другие, основанные на использовании радиоактивных изотопов (радионуклидов) определяемых элементов в качестве радиоактивных индикаторов. В этом случае радионуклид вводят в анализируемый раствор и проводят количественную аналитическую химическую реакцию, обычно гетерофазную, с последующим определением распределения элемента измерением радиоактивности в фазах и расчетом его концентрации в зависимости от особенностей метода. Основой методов является то, что химические свойства изотопов, в том числе и радиоактивных, одного и того же элемента практически одинаковы, а измерять распределение элемента по радиоактивности гораздо проще, чем определять концентрацию элемента (особенно низкую) каким-либо прямым методом. Часть методов этой группы потеряла свою значимость и практически вышла из употребления.

Активность некоторых радиоактивных нуклидов в природных образцах (воздух, вода, почва, биологические материалы и т.д.), например изотопов ^{40}K , ^{137}Cs , может быть определена непосредственным измерением (метод прямой радиометрии). Обычно же необходимо проводить концентрирование опреде-

ляемых радионуклидов в радиохимически чистом виде. Такие задачи относятся скорее к области радиохимии, нежели к аналитической химии, хотя конечная цель одна и та же — проведение анализа. Большой вклад в развитие методов определения радиоактивных элементов (в том числе и трансурановых) внесли работы академика Б. Ф. Мясоедова и его научной школы.

Радиоактивность — это свойство изотопа подвергаться спонтанным ядерным превращениям (распаду) с испусканием излучения. Это может быть α -излучение (ядра гелия), β -излучение (электроны и позитроны) и γ -излучение (высокоэнергетичное электромагнитное).

Закон радиоактивного распада имеет статистическую природу и представляет собой экспоненциальную зависимость числа распавшихся ядер радионуклида от времени:

$$N = N_0 \exp(-\lambda t), \quad (14.1)$$

где N_0 , N — число соответственно исходных и оставшихся спустя время t ядер радионуклида; λ — постоянная распада, характеризующая скорость радиоактивного распада.

Часто используется понятие *период полураспада* ($T_{1/2}$) — интервал времени, в течение которого распадается половина всех ядер данного радионуклида. Период полураспада связан с постоянной распада λ соотношением

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda}.$$

Радиоактивность измеряют в беккерелях (Бк). Один беккерель равен одному распаду в секунду. Часто используют и внесистемную единицу — кюри (Ку): $1 \text{ Ку} = 3,7 \cdot 10^{10} \text{ Бк}$. Для измерения радиоактивности используют либо интегральные счетчики (для измерения суммарной радиоактивности всего образца по определенному типу излучения), либо гораздо более селективные спектрометры (обычно для гамма- или альфа-излучения). При использовании интегрального счета в случае несложной смеси изотопов можно проводить анализ кривой распада для оценки активности тех или иных радионуклидов в смеси, но сейчас эта методика используется сравнительно редко.

Гамма-спектрометрия позволяет определять большую часть радионуклидов и является ведущим методом измерения в ядерно-физических методах анализа. Спектрометры обеспечивают измерение радионуклидов в смеси по характеристическим энергиям гамма-излучения, сопровождающим переход с одного ядерного уровня на другой. На спектрограмме характеристическое гамма-излучение представлено в виде пиков полного поглощения (гауссоподобное распределение). Положение пиков определяется энергией перехода между уровнями ядра. Энергия измеряется в электрон-вольтах (эВ): $1 \text{ эВ} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ Дж}$, а чаще в килоэлектрон-вольтах ($1 \text{ кэВ} = 10^3 \text{ эВ}$) или мегаэлектрон-вольтах ($1 \text{ МэВ} = 10^6 \text{ эВ}$). Наличие линии или линий определенной энергии позволяет качественно идентифицировать присутствие соответствующего радионуклида, а интенсивность (площадь) пика пропорциональна радиоактивности радионуклида. Типичный гамма-спектр представлен на рис. 14.1.

Гамма-спектрометр состоит из детектора и системы регистрации (анализатора). Детектор обычно изготовлен из монокристалла особо чистого германия (в ряде случаев кремния) и требует охлаждения жидким азотом для достиже-

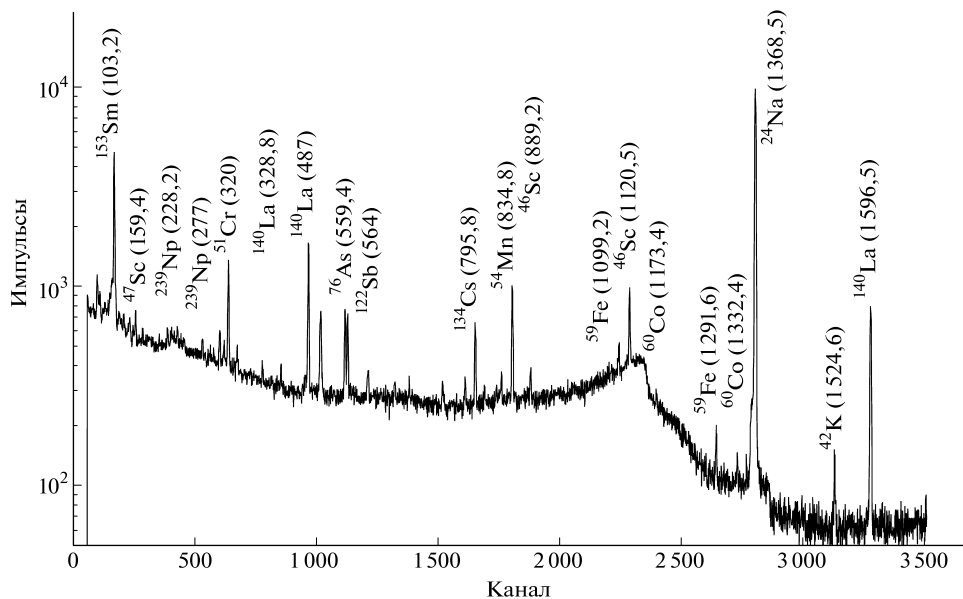


Рис. 14.1. Гамма-спектр стандартного образца летучей золы, облученного нейтронами ядерного реактора (коаксиальный германиевый детектор); в скобках указаны значения характеристической энергии гамма-излучения (кэВ) соответствующих нуклидов

ния максимального энергетического разрешения, которое обычно измеряется в килоэлектрон-вольтах и равно значению полуширины пика на его полувысоте. Имеется несколько основных типов детекторов: coaxial, coaxial с колодцем и planar. Наиболее распространены детекторы coaxial типа (кристалл детектора представляет собой объемный цилиндр). Обычное разрешение coaxial детектора составляет 1,8 кэВ по линии 1 332 кэВ радионуклида ^{60}Co .

Гамма-квант, попадая в детектор, взаимодействует с материалом детектора, полностью или частично теряя энергию. Поглощенную энергию в виде зарядов собирают, и электроника детектора (предусилитель) выдает на обработку суммарный электрический импульс, амплитуда которого пропорциональна поглощенной энергии. Далее сигнал обрабатывают с помощью многоканального анализатора импульсов. На первом этапе происходит формирование импульса и его усиление. Далее амплитудно-цифровой преобразователь (АЦП) переводит амплитуду импульса в число (канал спектрометра) и, наконец, к содержимому канала прибавляют единицу, что означает окончание регистрации импульса.

Стандартный анализатор обычно имеет 8—16 тысяч каналов емкостью до 10^6 импульсов, что обеспечивает хранение полупроводниковых спектров проб с достаточно высокой радиоактивностью. Пропускная способность гамма-спектрометра (т. е. максимально возможная скорость счета без искажения спектра) определяется скоростью сбора заряда в детекторе и быстродействием электроники (обычно это доли микросекунды). Однако при высоких нагрузках измерительной системы ($\sim 10^4$ имп/с) разрешение гамма-спектрометрической си-

стемы ухудшается за счет эффекта наложения импульсов (из-за регистрации суммарного импульса полного или частичного поглощения нескольких гамма-квантов, одновременно попавших в детектор). Кроме того, в этих условиях нужно учитывать мертвое время анализатора (время, необходимое для обработки отдельного импульса, когда вход анализатора закрыт).

Современный многоканальный анализатор представляет собой компактный одноблочный интеллектуальный прибор, включающий все необходимые функции и подсоединяемый к компьютеру по различным интерфейсам. Традиционные системы на основе отдельных блоков усилителя, АЦП в формате NIM или CAMAC используются реже. Распространены анализаторы, выполненные на интегрированной плате, которая может быть вставлена в слот материнской платы компьютера, превращая обычный компьютер в гамма-спектрометр.

Измеряемый образец размещают непосредственно на детекторе или на некотором расстоянии от него при высокой активности, а сам детектор обычно окружен свинцовой защитой для снижения уровня естественного радиоактивного фона. Иногда для гамма-спектрометрии используют сцинтилляционные детекторы, изготовленные из монокристалла иодида натрия, которые не требуют охлаждения. Эти детекторы отличаются высокой эффективностью регистрации, но на порядок более низким энергетическим разрешением, что делает их пригодными для измерения относительно простых смесей радионуклидов.

Результирующие спектры хранят в компьютере и обрабатывают специальными программами. Любая программа обеспечивает проведение всех необходимых градуировок измерительной системы. Обычно программа способна автоматически обнаружить пики в спектре, определить их площадь, обработать налагающиеся пики (мультиплеты), провести радионуклидную идентификацию по всем пикам и рассчитать активность радионуклида или концентрацию элемента, а также предел обнаружения.

Энергетическая градуировка соотносит положение пика в канальной шкале с соответствующей энергией (обычно такая градуировка представлена линейной зависимостью).

Градуировка по эффективности регистрации пика полного поглощения представляет собой зависимость абсолютной эффективности регистрации пика полного поглощения (ϵ_γ) от энергии (E_γ). Эффективность регистрации радиоактивности для определенной геометрии измерения представляет собой отношение площади пика к числу гамма-квантов данной энергии, испущенных при распаде (геометрия измерения определяется геометрической формой и положением радиоактивного источника относительно детектора, а также его химическим составом и плотностью). Число испущенных гамма-квантов не трудно рассчитать, зная радиоактивность радионуклида, выход линии (Y_γ) и продолжительность измерения. *Выход линии* представляет собой число гамма-квантов данной энергии, испускаемых при распаде ядра (обычно значение нормировано к 100 актам распада ядер исходного радионуклида). В справочной литературе и в Интернете* можно найти подробные таблицы по схемам и другим константам распада всех известных радионуклидов.

* См.: http://www-nds.iaea.org/indg_nsdd.html

Типичная кривая градуировки эффективности регистрации пика полного поглощения для германиевого детектора приведена на рис. 14.2. Экспериментальные точки на графике соответствуют основным гамма-линиям градуировочных точечных источников с известной радиоактивностью (^{241}Am , ^{109}Cd , ^{57}Co , ^{139}Ce , ^{203}Hg , ^{113}Sn , ^{137}Cs , ^{54}Mn , ^{65}Zn), измеренных на поверхности детектора. Таким образом, зная абсолютную эффективность регистрации пика полного поглощения (ϵ_γ), выход линии (Y_γ), измеренную площадь пика (S_γ) и продолжительность измерения ($t_{\text{изм}}$) нетрудно рассчитать абсолютную активность радионуклида:

$$A = 100S_\gamma / (t_{\text{изм}} Y_\gamma \epsilon_\gamma). \quad (14.2)$$

Современная полупроводниковая гамма-спектрометрия отличается высокой селективностью детектирования за счет высокого разрешения и низким пределом обнаружения вследствие высокой эффективности регистрации (десять процентов при использовании детекторов колодезного типа).

На рис. 14.3, *а*, *б* представлены упрощенная схема распада и реальный гамма-спектр радионуклида ^{60}Co . Из схемы распада следует, что имеется два ядерных уровня и три характеристических перехода с различным выходом. Спектр ^{60}Co состоит из пиков полного поглощения с энергиями 1 173,2 и 1 332,5 кэВ (характеристические гамма-кванты были полностью поглощены детектором), слабого суммарного пика 2 505,7 кэВ, пика 1 460,7 кэВ, принадлежащего природному изотопу ^{40}K , и двух широких пиков обратного рассеяния. Гамма-линии расположены на фоне, плавно снижающемся к высокоэнергетической части. Фон обусловлен различными эффектами (фотоэффект, эффект Комптона, образование пары электрон—позитрон) при взаимодействии излучения с материалом детектора и пробы. На рис. 14.3, *в* показан в увеличении пик 1 173,2 кэВ, включая фоновый пьедестал.

При проведении гамма-спектрометрического анализа следует иметь в виду и возможные трудности, в частности наложение линий из-за близости энергий регистрируемых гамма-квантов.

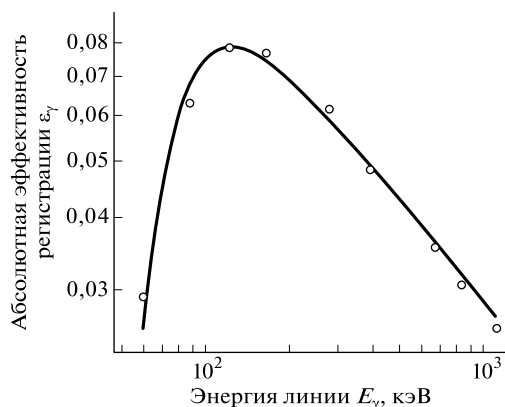


Рис. 14.2. Кривая градуировки детектора по эффективности регистрации. Паспортная эффективность детектора составляет 100 % (относительно $3'' \times 3''$ сцинтилляционного детектора); аппроксимирующая кривая эффективности представлена зависимостью $\ln \epsilon_\gamma = 0,40 - 0,57 \ln E_\gamma - 3,64 \cdot 10^3 / E_\gamma^3$

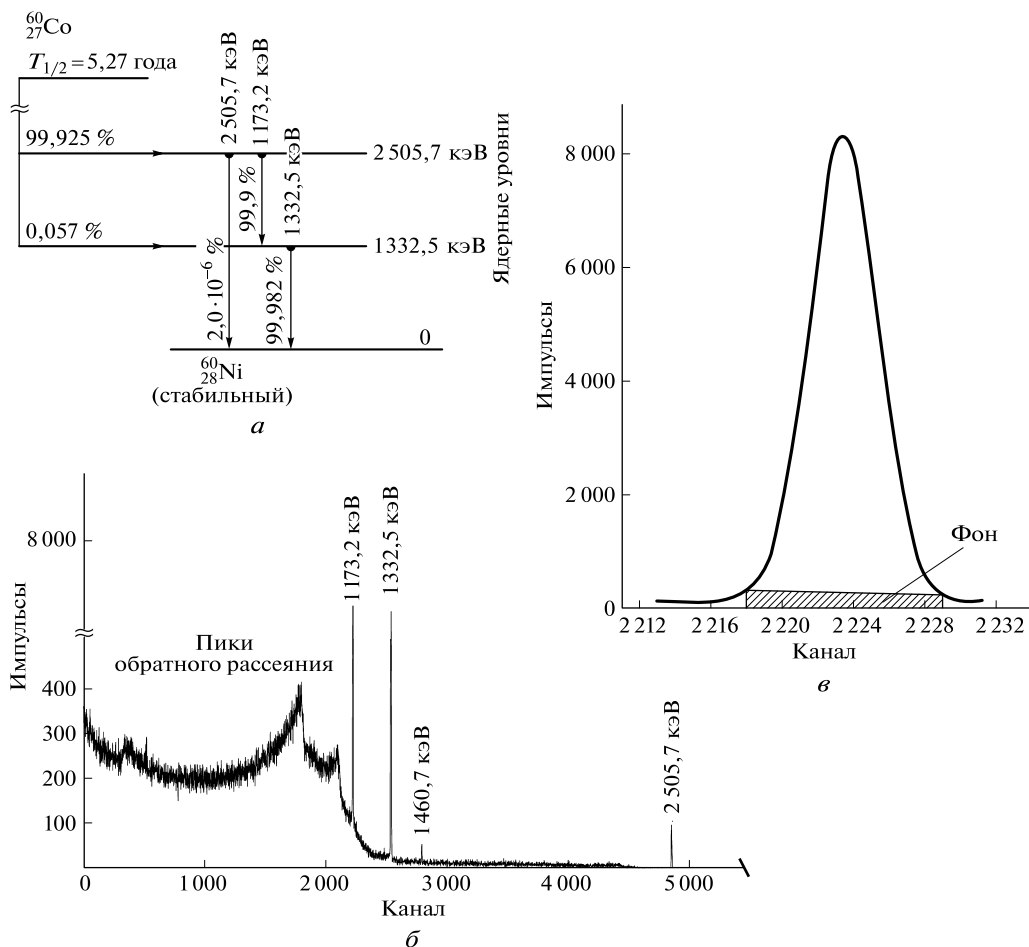


Рис. 14.3. Упрощенная схема распада (а); гамма-спектр радионуклида ^{60}Co (б); увеличенный пик 1173,2 кэВ (в). Гамма-спектр измерен на детекторе из особоочищенного германия (100%-я относительная эффективность) в течение 1 ч; геометрия измерения — точечный источник на поверхности детектора; приведены значения выхода линии Y_i (%) и характеристической энергии E_i (кэВ)

Например, радионуклид ^{203}Hg может быть измерен по линии 279,2 кэВ, но присутствие ^{75}Se заметно затрудняет анализ, так как его линия 279,5 кэВ перекрывает линию ртути. Поскольку в случае ^{75}Se имеются другие «сильные» линии в спектре, программа изотопной идентификации способна учесть вклад этого радионуклида в суммарный пик, но лишь в случае доминирования вклада ^{203}Hg , иначе погрешность определения ртути либо очень высока, либо определение вообще невозможно.

При измерении каскадных излучателей (например, ^{60}Co), когда переходы с одного ядерного уровня на другой следуют друг за другом практически мгновенно (в каскаде), возможна систематическая погрешность, связанная как с выбыванием импульсов из пика (недоопределение), так и с суммированием импульсов, что ведет к увеличению площади пика (переопределение). Наблю-

даемый эффект определяется эффективностью регистрации пика полного поглощения и общей эффективностью детектора. При измерениях вблизи детектора систематическая погрешность измерения площади пиков может достигать десятков процентов.

Серьезной проблемой может стать измерение небольших активностей одного радионуклида на фоне относительно высокой радиоактивности других радионуклидов. В этом случае необходимо обнаружить и выделить пик определяемого радионуклида среди осцилляций фона и оценить его площадь, включая погрешность*.

Пример. Рассчитайте абсолютную радиоактивность точечного источника ^{60}Co , спектр которого приведен на рис. 14.3. Площадь пика 1 173,2 кэВ за вычетом фона составила 39 758 имп. Используйте также данные, относящиеся к рис. 14.2, 14.3.

Решение. Абсолютную активность радионуклида ^{60}Co можно рассчитать по уравнению (14.2). Вначале вычислим эффективность регистрации пика 1 173,2 кэВ (по рис. 14.2): $\varepsilon_\gamma = 0,0266$.

Далее подставим параметры в уравнение (14.2):

$$A = 100 \cdot 39\,758 : (3\,600 \cdot 99,9 \cdot 0,0266) = 415,6 \text{ Бк.}$$

14.2. Активационные ядерно-физические методы

14.2.1. Теоретические основы

Активационный (радиоактивационный) анализ основан на измерении радиоактивности, наведенной в анализируемом образце в результате ядерных реакций изотопов определяемых элементов с ядерными частицами или высокоэнергетичным γ -излучением. История активационного анализа тесно связана с открытиями в области ядерной физики. В 1934 г. И. Кюри и Ф. Жолио-Кюри открыли способ получения искусственных радионуклидов. При облучении бора и алюминия альфа-частицами, испускаемыми ядрами полония, они наблюдали образование радиоактивных изотопов азота ^{13}N и фосфора ^{30}P в результате ядерных реакций. К этому времени уже был открыт нейтрон (1932 г.).

За несколько лет разными исследователями было получено более 200 искусственных изотопов. На этом фоне Г. Хевеши и Х. Леви в 1936 г. впервые показали возможность определения примеси диспрозия в образцах иттрия при облучении последних нейтронами источника $\text{Ra} - \text{Be}$. Однако метод стал интенсивно развиваться лишь после появления мощных источников активации, таких как ядерные реакторы и различные ускорители (1940—1950-е гг.).

В нашей стране первые работы по нейтронно-активационному анализу были поставлены в начале 1950-х гг. в Институте геохимии и аналитической химии

* *Curie L.A.* Detection and quantification limits: origin and historical overview // *Anal. Chim. Acta.* — 1999. — V. 391. — P. 127—139.

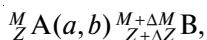
им. В. И. Вернадского АН СССР под руководством академика И. П. Алимарина*.

Радиоактивационный анализ, несомненно, является основным ядерно-физическим методом анализа, сыгравшим определяющую роль в развитии аналитической химии ультранизких концентраций элементов. Были развиты научные основы этого направления, найдено понимание специфических особенностей анализа следовых количеств элементов, обеспечен прогресс в развитии других методов анализа следов элементов благодаря созданию многочисленных стандартных образцов сравнения и использованию радиоактивационного анализа в качестве арбитражного метода анализа (см. гл. 21).

Активация — это получение радиоактивного изотопа В в результате ядерной реакции, протекающей на природном (стабильном) изотопе А определяемого элемента при облучении последнего нейтронами, протонами, гамма-квантами и другим ядерным излучением.

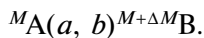
Ядерные реакции. Известны десятки различных ядерных реакций, многие из которых используют в активационном анализе. Ядерная реакция протекает на изотопе химического элемента. Каждый изотоп может быть однозначно определен зарядом ядра Z и массовым числом M . Например, химический элемент марганец ($Z = 25$) состоит из единственного изотопа с массовым числом 55: ${}^{55}_{25}\text{Mn}$. Ядерная реакция в активационном анализе связана с взаимодействием активирующего излучения (a) с ядром мишени, что обычно ведет к образованию составного возбужденного ядра и его последующему распаду в течение очень короткого (менее 10^{-16} с) времени с испусканием ядерного излучения (b) — ядерной частицы или гамма-кванта. Очевидно, что это может приводить к изменению как заряда, так и массы изотопа.

Ядерную реакцию можно записать в следующем виде:



где ΔZ , ΔM определяются разностью масс и зарядов изотопов А, В; А — изотоп исходного элемента; В — изотоп продукта реакции.

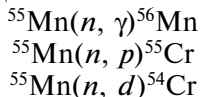
Поскольку заряд ядра однозначно идентифицирует химический элемент, обычной формой записи ядерной реакции является:



В табл. 14.1 представлены ядерные реакции, протекающие при облучении нейтронами. Из данных таблицы легко понять принцип расчета ΔZ и ΔM . Поэтому применить его для любых других ядерных реакций не составит труда.

Пример. Напишите ядерные реакции, протекающие при облучении марганца нейтронами (используйте первые три реакции табл. 14.1).

Решение. Поскольку марганец состоит из одного изотопа ${}^{55}\text{Mn}$, возможны следующие ядерные реакции:



* Колотов В.П., Мясоедов Б.Ф. И.П.Алимарин и становление активационного анализа. Развитие метода в ГЕОХИ // Журн. аналит. химии. — 1994. — Т. 49. — № 1. — С. 5—11.

Характеристики некоторых ядерных реакций, протекающих при облучении нейтронами*

Ядерная реакция	ΔM	ΔZ	Ядерная реакция	ΔM	ΔZ
(n, γ)	1	0	$(n, {}^3\text{He})$	-2	-2
(n, p)	0	-1	(n, t)	-2	-1
(n, d)	-1	-1	$(n, 2p)$	-1	-2
$(n, 2n)$	-1	0	(n, He)	-3	-2
$(n, 3n)$	-2	0	$(n, f)**$	—	—

* Обозначения: n — нейтрон, γ — гамма-квант, p — протон, d — ядро дейтерия ${}^2\text{H}$ (дейтрон), t — ядро трития ${}^3\text{H}$ (трифон), He — ядро изотопа гелия ${}^4\text{He}$ (альфа-частица), ${}^3\text{He}$ — ядро изотопа гелия ${}^3\text{He}$.

** Происходит деление ядра, образуется смесь различных радионуклидов.

Реакции, в которых испускаются заряженные частицы, требуют достаточно высокой энергии налетающего нейтрона, чтобы позволить вылетающей частице преодолеть энергию ядерных связей (такие реакции называют *пороговыми*).

При облучении одновременно протекает множество ядерных реакций, вероятность которых определяется сечением реакции. Сечение ядерной реакции (активации) обычно измеряют в квадратных сантиметрах, а единицей измерения служит барн: $1 \text{ барн} = 10^{-24} \text{ см}^2$. Реакции, отличающиеся высоким сечением и приводящие к образованию радионуклида с характеристиками, удобными для регистрации (подходящий период полураспада, возможность гамма-спектрометрического детектирования), обычно рассматривают как аналитические. Тогда побочные реакции часто являются мешающими (интерферирующими). Например, при нейтронно-активационном определении марганца в железе аналитическая реакция следующая: ${}^{55}\text{Mn}(n, \gamma){}^{56}\text{Mn}$. Вместе с тем аналитический радионуклид образуется из изотопа матрицы ${}^{56}\text{Fe}(n, p){}^{56}\text{Mn}$, давая кажущуюся концентрацию марганца на уровне нескольких микрограммов на один грамм облученного железа. Мешающие реакции в значительной мере ограничивают предел обнаружения микропримесей.

Процесс активации. Данный процесс включает как образование ядер радиоактивного изотопа, так и их распад во время облучения. Связь между числом ядер исходного изотопа N_A и радиоактивного продукта N_B можно представить в виде дифференциального уравнения

$$\frac{dN_B}{dt} = N_A \phi \sigma - N_B \lambda_B, \quad (14.3)$$

где ϕ , σ — плотность потока активирующих частиц и сечение ядерной реакции соответственно; λ_B — постоянная распада; плотность потока обычно выражают как число частиц на 1 см^2 в 1 с .

В общем случае сечение реакции σ зависит от энергии активирующего излучения E (эта зависимость представлена дифференциальными сечениями $\sigma(E)$),

но для большинства используемых полей облучения, имеющих предопределенное распределение активирующих частиц по энергии, рассчитаны и табулированы интегральные сечения σ , которыми будем оперировать в последующих выкладках, называя их сечениями реакций.

Интегрирование уравнения (14.3) с учетом того, что изначально радиоактивный продукт в системе отсутствовал, дает следующее выражение:

$$N_B = \frac{N_A \phi \sigma}{\lambda_B} [1 - \exp(-\lambda_B t_{\text{обл}})]. \quad (14.4)$$

Радиоактивность A_0 радионуклида В на момент окончания облучения $t_{\text{обл}}$ в распадах в секунду может быть легко рассчитана с использованием постоянной распада λ_B :

$$A_0 = N_B \lambda_B. \quad (14.5)$$

Число атомов N_A исходного изотопа может быть рассчитано по уравнению

$$N_A = \frac{m_A A_N \Theta}{M_A}, \quad (14.6)$$

где m_A — масса элемента А; A_N — число Авогадро; Θ — природная распространенность исходного изотопа (доля в природной смеси изотопов); M_A — атомная масса изотопа.

Учитывая уравнения (14.4) — (14.6), *наведенную радиоактивность* можно представить в следующем виде:

$$A_0 = \frac{m_A A_N \Theta}{M_A} \phi \sigma [1 - \exp(-\lambda_B t_{\text{обл}})]. \quad (14.7)$$

Если провести расчеты активации по уравнению (14.4), то можно заметить, что через какое-то время после начала облучения рост наведенной радиоактивности прекращается (кривая активации выходит на насыщение; рис. 14.4). Это объясняется тем, что наступает равновесие и число образующихся радионуклидов становится равным числу распадающихся. Время выхода на насыщение зависит от периода полураспада: чем он меньше, тем быстрее кривая активации выходит на плато. Очевидно, что такая особенность поведения кривой активации определяется членом уравнения (14.7), приведенным в квадратных скобках, который обычно называют *фактором насыщения S*:

$$S = 1 - \exp(-\lambda_B t_{\text{обл}}).$$

Радиоактивные («горячие») образцы могут выдерживаться («охлаждаться») некоторое время ($t_{\text{охл}}$) после окончания облучения до начала измерения. В это время протекает распад наведенных радиоактивных изотопов в соответствии с экспоненциальным законом (уравнение (14.1)). Наведенная радиоактивность на конец охлаждения $A_{\text{изм}}$ (начало измерения) может быть получена путем введения дополнительного множителя — *фактора распада* $D = \exp(-\lambda_B t_{\text{охл}})$ в уравнение (14.7):

$$A_{\text{изм}} = \frac{m_A A_N \Theta}{M_A} \phi \sigma [1 - \exp(-\lambda_B t_{\text{обл}})] \exp(-\lambda_B t_{\text{охл}}). \quad (14.8)$$

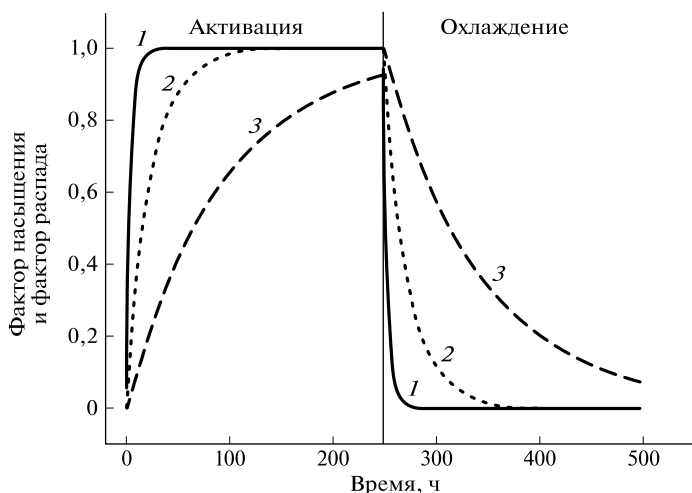


Рис. 14.4. Расчетные кривые динамики роста активности при облучении (активация) и распада по окончании облучения (охлаждение) для изотопов с различным периодом полураспада:

1 — ^{56}Mn ($T_{1/2} = 2,58$ ч); 2 — ^{24}Na ($T_{1/2} = 15$ ч); 3 — ^{198}Au ($T_{1/2} = 2,69$ сут)

В некоторых случаях требуется учитывать распад радионуклида в процессе измерения его активности. В этом случае в уравнение (14.8) следует добавить следующий множитель:

$$C = \frac{1 - \exp(-\lambda_{\text{В}} t_{\text{изм}})}{\lambda_{\text{В}} t_{\text{изм}}}. \quad (14.9)$$

Соответствующие зависимости динамики роста наведенной активности от продолжительности облучения и ее спада по окончании облучения для трех изотопов с различными периодами полураспада приведены на рис. 14.4. Видно, что чем меньше период полураспада, тем быстрее активность при облучении выходит на плато (насыщение) и в то же время тем быстрее она падает по окончании облучения. Следует иметь в виду, что здесь рассмотрен простой случай распада. В ряде случаев следует учитывать специфику более сложных схем распада (материнско-дочерние равновесия), детальное рассмотрение таких случаев можно найти в специальной литературе.

Таким образом, получено уравнение активационного анализа (14.8), связывающее измеряемую наведенную активность $A_{\text{изм}}$ с массой облученного элемента $m_{\text{А}}$. Все остальные переменные этого уравнения известны, так как представляют собой либо ядерно-физические данные, либо условия облучения.

14.2.2. Нейтронно-активационный анализ

Нейтронно-активационный анализ — наиболее распространенный вариант активационного анализа. В распоряжении аналитиков имеется несколько источников нейтронов, каждый из которых имеет свои особенности в отношении круга решаемых задач и областей применения (табл. 14.2).

Источники активации в нейтронно-активационном анализе

Источник нейтронов	Происхождение нейтронов	Тип нейтронов	Поток (плотность потока) нейтронов	Аналитические ядерные реакции
Ядерный реактор	Деление ^{235}U и замедление нейтронов	Тепловые (0,025 эВ), эпитепловые	$(10^{12} - 10^{15} \text{ см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1})$	(n, γ)
Нейтронный генератор	Ядерная реакция ускоренных ионов дейтерия с тритиевой мишенью: $\text{D} + \text{T} \rightarrow {}^3\text{He} + n$	Быстрые моноэнергетичные (14 МэВ)	$10^8 - 10^{12} \text{ с}^{-1}$	$(n, \gamma),$ $(n, p),$ $(n, d),$ $(n, 2n),$ (n, He)
Изотопный источник (^{252}Cf или $^{238}\text{Pu} - \text{Be}$ и др.)	Спонтанное деление ^{252}Cf или ядерная реакция (α, n)	Нейтроны деления или сплошной спектр	$10^6 - 10^8 \text{ с}^{-1}$ $(10^4 - 10^6 \text{ см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1})$	$(n, \gamma),$ $(n, p),$ $(n, d),$ $(n, 2n),$ (n, He)

Реакторный нейтронно-активационный анализ. Типичный спектр нейтронов ядерного реактора приведен на рис. 14.5, а. Выделяют три основные группы нейтронов. Большую часть составляют тепловые нейтроны (0,025 эВ), заметный вклад в активацию вносят так называемые эпитепловые (или резонансные) нейтроны. В спектре также присутствуют нейтроны деления. Нейтроны называют резонансными, так как дифференциальные сечения реакции (n, γ) для большинства элементов имеют в этой области энергий высокие резонансные пики (десятки-сотни барн).

На рис. 14.5, б показано дифференциальное сечение активации нуклида ^{58}Fe , на котором видны упомянутые резонансы.

Соотношение потоков разных групп нейтронов сильно зависит от типа реактора, например реакторы, использующие тяжелую воду в качестве замедлителя нейтронов, отличаются более высокой термализацией нейтронов по сравнению с реакторами на обычной воде. Если в качестве грубой оценки плотность потока тепловых нейтронов принять за единицу, то плотность потока резонансных нейтронов ниже примерно на один-два порядка, а плотность нейтронов деления — ниже на два-три порядка.

Для суммарного учета активации тепловыми и резонансными нейтронами общую формулу активации (уравнение (14.8)) следует модифицировать, заменив произведение $\phi\sigma$ на $(\phi_{\text{тепл}}\sigma_{\text{тепл}} + \phi_{\text{рез}}\sigma_{\text{рез}})$:

$$A_{\text{изм}} = \frac{m_A A_N \Theta}{M_A} (\phi_{\text{тепл}} \sigma_{\text{тепл}} + \phi_{\text{рез}} \sigma_{\text{рез}}) [1 - \exp(-\lambda_V t_{\text{обл}})] \exp(-\lambda_V t_{\text{охл}}), \quad (14.10)$$

где $\sigma_{\text{тепл}}$, $\sigma_{\text{рез}}$ — интегральное сечение реакции (n, γ) на тепловых и резонансных нейтронах соответственно; $\phi_{\text{тепл}}$, $\phi_{\text{рез}}$ — поток соответственно тепловых и резонансных нейтронов.

Часто интегральное сечение на резонансных нейтронах ($\sigma_{\text{рез}}$) называют *резонансным интегралом* и обозначают буквой I .

Тепловые нейтроны можно полностью поглотить фильтром из кадмия толщиной 1 мм. Тогда активация пробы будет проводиться резонансными нейтронами. А поскольку различные элементы по-разному активируются этими группами нейтронов, можно получить заметный рост селективности определения одних элементов на фоне других. Например, определение элементов, имеющих высокое значение отношения $I/\sigma_{\text{тепл}}$ (> 10), таких как Zr, U, Sn, Mo, Lu, Ta, Sb, Gd, Pd, Ba, Mo, Au, Th, Cs и другие, позволяет снизить предел обнаружения и погрешность определения их в геологических и биологических материалах. Это объясняется подавлением активации натрия ($I/\sigma_{\text{тепл}} = 0,59$), содержащегося в высоких концентрациях в этих материалах. Использование активации резонансными нейтронами является одним из важнейших способов воздействия на селективность активационного анализа. Активация

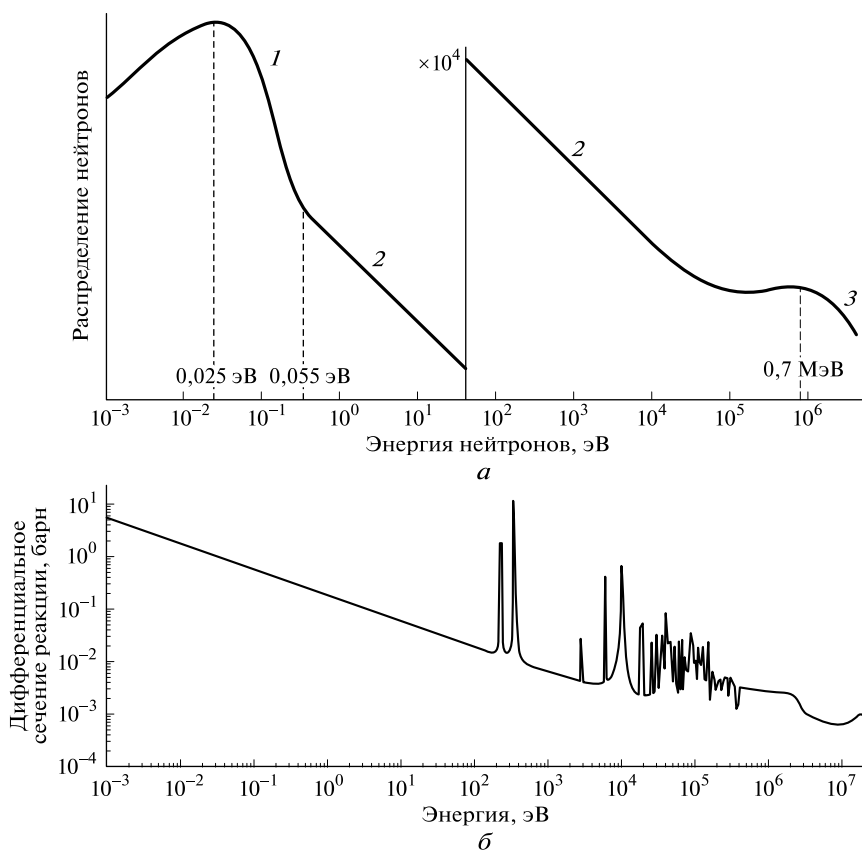


Рис. 14.5. Типичный спектр (а) нейтронов ядерного реактора (1 — тепловые нейтроны (распределение Максвелла — Больцмана); 2 — эпитепловые (резонансные) нейтроны; 3 — нейтроны деления); дифференциальное сечение (б) реакции $\text{Fe}^{58}(n, \gamma)\text{Fe}^{59}$

нейтронами деления относительно невелика и определяет в основном выход мешающих радионуклидов, часто образующихся по пороговым реакциям.

Известны случаи, когда уравнение (14.10) не выполняется. Прежде всего это касается анализа веществ, матрица которых содержит нейтронозахватные элементы (например, кадмий, бор и др.), в результате чего возникает заметный градиент нейтронного поля внутри образца и неравномерная активация определяемых элементов.

Высокие сечения активации широкого круга элементов на тепловых и резонансных нейтронах ($10^0 - 10^2$ барн), высокая проникающая способность активирующих нейтронов и регистрируемого гамма-излучения позволяют одновременно и без разрушения (химического разложения) образца определять валовое содержание следовых (до 10^{-10} мас. %) количеств большого числа элементов в образцах различной массы: от 10^{-4} до 10^3 г (табл. 14.3). Такой вид активационного анализа называют *инструментальным*. На сегодняшний день это ведущий вариант активационного анализа, обладающий высокой производительностью и рядом заметных достоинств среди других методов аналитической химии.

При анализе твердых монолитных проб (сплавов, кристаллов и т. п.) метод свободен от необходимости введения поправки на холостой опыт, так как поверхностные загрязнения могут быть удалены травлением облученной пробы перед регистрацией гамма-спектра. Для других типов проб (например, порошковых) поправка на холостой опыт также не требуется, но при этом следует избегать возможных загрязнений при отборе пробы и ее упаковке до облучения и переупаковке после облучения. Эта особенность активационного анализа позволяет отнести его к наиболее надежным методам определения сверхнизких концентраций элементов в самых разнообразных объектах. При этом точность получаемых результатов достаточно высока, и погрешность в большинстве случаев находится в интервале 5—15 %. Поэтому его часто рассматривают как арбитражный метод анализа (см. гл. 21).

Реакторный нейтронно-активационный анализ сыграл большую роль в развитии аналитической химии следовых концентраций. С использованием этого метода разработаны технологии получения специальных материалов для ядерной промышленности, например конструкций, размещенных в активной

Таблица 14.3

**Предел обнаружения химических элементов
методом нейтронно-активационного анализа (на 1 г пробы)**

Элемент	Предел обнаружения, мас. %
Sc, Mn, Cu, As, In, La, Pr, Sm, Eu, Tb, Dy, Ho, Tm, Yb, Lu, W, Re, Ir, Au	$10^{-10} - 10^{-8}$
Na, P, Cl, Ar, V, Cr, Co, Ga, Br, Sr, Y, Rh, Pd, Sb, I, Cs, Gd, Er, Hf, Ta, Os, Th, U	$10^{-8} - 10^{-7}$
Al, K, Ni, Zn, Ge, Kr, Rb, Nb, Mo, Ru, As, Cd, Sn, Te, Ba, Ce, Nd, Pt, Hg	$10^{-7} - 10^{-6}$
F, Mg, Si, S, Ca, Ti, Fe, Se, Zr, Tl, Bi	$10^{-6} - 10^{-5}$

зоне реактора (Zr, Al, Be и др.). Задача состояла в том, чтобы снизить концентрацию «вредных», прежде всего нейтронозахватных, элементов до 10^{-6} — $10^{-4}\%$. В последующие годы с помощью нейтронно-активационного анализа были разработаны способы получения сверхчистых полупроводниковых материалов (прежде всего кремния и германия) с гораздо более высокой степенью чистоты (10^{-8} — $10^{-6}\%$), что было необходимо для прогресса микроэлектроники. Впервые был исследован микроэлементный состав ряда веществ (например, лунного грунта, метеоритов и др.).

В 1960—1970-е гг. метод широко использовали в анализе объектов окружающей среды и медико-биологических исследованиях, где его применение привело к пониманию важной роли микроэлементов в процессах жизнедеятельности*.

Давно известен и активно применяется до сих пор инструментальный нейтронно-активационный анализ по измерению «мгновенного» высокоэнергетичного ($\sim 10^6$ эВ) гамма-излучения, возникающего при распаде составного возбужденного ядра (см. выше). Активационный анализ по мгновенному излучению проводят на выводных пучках тепловых нейтронов ядерного реактора. Метод исключительно селективен для определения низких количеств (< 10 нг) бора, кадмия, самария, европия и гадолиния, а также обеспечивает определение других элементов с более высоким пределом обнаружения.

Радиохимический активационный анализ. Часто при проведении активационного анализа высокая активация основных (матричных) элементов пробы не позволяет проводить инструментальный активационный анализ. В этом случае требуется либо растворение анализируемого образца и проведение химических операций для удаления мешающих элементов основы, либо выделение определяемых элементов для их последующего анализа с использованием гамма-спектрометрии. Например, облучение полупроводника CdHgTe ведет к образованию высокоактивной смеси радионуклидов кадмия, индия (образуется при распаде кадмия), теллура, иода (образуется при распаде теллура) и ртути. Инструментальное определение микропримесей невозможно. Для анализа столь сложной матрицы была разработана радиохимическая методика последовательного удаления радионуклидов, образующихся из основы, с использованием анионообменной хроматографии и экстракционной хроматографии (трибутилфосфат (ТБФ), нанесенный на фторопласт; рис. 14.6)**.

Перед хроматографическим разделением проводят растворение основы в азотной кислоте с одновременной дистилляцией большей части радионуклида ^{131}I .

Химические операции над облученной пробой проводят с помощью обычных аналитических реагентов, при этом содержащиеся в них нерадиоактивные примеси не оказывают влияния на результаты анализа (в отличие от любых других методов анализа, использующих химические процедуры растворения, разделения и т. д.). Очевидно, что единственную опасность представляют радиоактивные загрязнения, но при соблюдении достаточно простых правил

* Куст А.А. Феноменология биогеохимии и бионеорганической химии. — Ташкент: Фан, 1986.

** Neutron Activation Analysis of Cd_xHg_{1-x}Te / Yu.V.Yakovlev, V. K. Karandashev, S. S. Grazhulene, V. P. Kolotov // J. Radioanal. Nucl. Chem. (Letters). — 1985. — V. 95. — N 6. — P. 367—377.

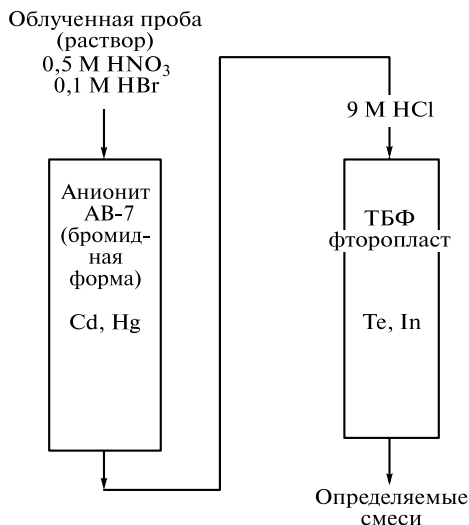


Рис. 14.6. Схема радиохимической методики для хроматографического отделения мешающих радионуклидов кадмия, ртути, теллура и индия от суммы определяемых примесей

работы в радиохимической лаборатории и контроле радиохимической чистоты посуды, рабочего места она вполне преодолима.

Стандартизация в нейтронно-активационном анализе. Расчетный способ (его иногда называют параметрическим) определения массы анализируемого элемента по уравнению активации (14.10) практически не используется. Это объясняется тем, что правильность результатов анализа не всегда удовлетворительна: погрешность может составлять десятки и даже сотни относительных процентов из-за того, что ряд параметров (характеристики нейтронного потока, ядерно-физические константы) не известны с высокой точностью.

Обычным методом стандартизации в активационном анализе является *относительный метод*. Этот метод состоит в том, что одновременно с анализируемым образцом облучают образец сравнения, содержащий известное количество определяемого элемента ($m_{o.c.}$). Измеряют площадь пика аналитического радионуклида в анализируемом образце (P_x) и образце сравнения ($P_{o.c.}$). Далее, зная массу образца (W), рассчитывают концентрацию C_x определяемого элемента по формуле (нормируя площадь пика на время измерения $t_{изм}$ спектра соответствующего образца):

$$C_x = \frac{(P_x/t_{x,изм})m_{o.c.}}{(P_{o.c.}/t_{o.c,изм})W} 100 \%. \quad (14.11)$$

В нейтронно-активационном анализе в качестве образцов сравнения в простейшем случае служат полоски фильтровальной бумаги с известным содержанием элементов, полученные путем нанесения растворов соединений элементов или их смесей. Часто используют синтетические смолы (в виде прессованных таблеток) с введенными смесями элементов в оптимальных соотношениях.

Для проверки правильности анализов, проводимых в лаборатории, периодически используют и стандартные образцы известного состава. Как правило, это реальные образцы (биологические и растительные материалы, металлы и сплавы, горные породы, почвы и др.), состав которых сертифицирован (см. гл. 21).

Метод компараторной стандартизации* разработан как реальная альтернатива безэталонному (параметрическому) варианту нейтронно-активационного анализа. Концепция компараторной стандартизации подразумевает совместную активацию анализируемых проб и компаратора, представляющего собой образец, содержащий подходящий элемент с известной концентрацией. С использованием ядерно-физических данных, параметров нейтронного спектра и результатов гамма-спектрометрии можно рассчитать содержание любого элемента в анализируемой пробе через этот элемент-компаратор. В методе компараторной стандартизации не требуется использование многоэлементных образцов сравнения, разрешается задача проведения панорамного анализа благодаря определению всех возможных элементов, а не только тех, которые присутствуют в образце(х) сравнения. Метод обеспечивает погрешность анализа обычно не хуже, чем относительный вариант.

Активационный анализ с использованием нейтронного генератора. Нейтронные генераторы являются компактными, относительно простыми в эксплуатации источниками так называемых быстрых моноэнергетических (14 МэВ) нейтронов. Для получения нейтронов поток ускоренных до ~ 100 кэВ ионов дейтерия направляют на титановую мишень, содержащую сорбированный тритий. В результате ядерной реакции ${}^3\text{H}(d, n){}^4\text{He}$ и образуются быстрые нейтроны. Из-за использования сфокусированного пучка дейтронов распределение нейтронов характеризуется заметным градиентом, в связи с чем активация объемных образцов протекает неравномерно. Для устранения последствий неравномерного облучения используют вращение пробы и другие приемы.

Нейтронно-активационный анализ на быстрых нейтронах обычно применяют для активации короткоживущих радионуклидов с периодом полураспада, равным нескольким минутам (секундам). Метод особенно эффективен для инструментального определения кислорода (до $10^{-5}\%$), а также экспрессного инструментального определения других элементов с пределом обнаружения до $10^{-5} - 10^{-3}\%$.

Разработаны портативные нейтронные генераторы и системы детектирования для дистанционного нейтронно-активационного анализа на месте (*in situ*) сложных объектов большого размера (бочки, ящики, чемоданы и т. д.) с целью обнаружения или анализа отравляющих или взрывчатых веществ. Метод основан на определении соотношения характерных (основных) элементов, таких как азот, кислород, мышьяк, фосфор и другие, для соответствующих веществ.

Активационный анализ с использованием изотопного источника. Изотопные источники обеспечивают выход нейтронов в результате спонтанного деления некоторых трансурановых элементов (прежде всего ${}^{252}\text{Cf}$) или протекания ядерной реакции ${}^9\text{Be}(\alpha, n){}^{12}\text{C}$ (при смешивании порошкообразных проб бериллия

* De Corte F., Simonits A. k_0 -Measurements and related nuclear data compilation for (n, γ) reactor neutron activation analysis // J. Radioanal. Nucl. Chem. Art. — 1989. — V. 133. — P. 43.

с альфа-излучателем, например ^{244}Cm , ^{210}Po и др.). Источник запаивают в кварцевую ампулу и помещают в сравнительно компактный контейнер, обеспечивающий биологическую защиту. Из-за малой плотности потока нейтронов радиоизотопные источники использовали для активационного анализа геологических проб в полевых условиях, экспедициях (в том числе морских) для экспрессного и неdestructивного определения относительно больших количеств (до 0,01 %) ряда элементов.

Особый интерес представляет использование таких источников для активационного каротажа скважин (определение породообразующих элементов непосредственно в скважине при ее бурении для идентификации пройденных пластов). Разработаны системы для проведения на месте дистанционного инструментального нейтронно-активационного анализа взрывчатых и отравляющих веществ непосредственно в таре, снарядах и т.д. (аналогично методикам с использованием нейтронного генератора, см. выше).

14.2.3. Гамма-активационный анализ

В *гамма-активационном*, или *фотоактивационном*, анализе пробу активируют тормозным гамма-излучением (20 — 30 МэВ), которое образуется при прохождении пучка ускоренных электронов через мишень, например пластину вольфрама. Электроны претерпевают торможение, при котором образуется поток гамма-квантов с непрерывным распределением по энергии. Во многих лабораториях для гамма-активационного анализа используют *микротрон* — компактный и эффективный ускоритель электронов до энергий 10^7 эВ, а также линейные ускорители.

Основной аналитической реакцией является (γ , n). Метод обеспечивает определение суммарного содержания примесей (10^{-7} — 10^{-3} %) в образцах массой до нескольких граммов.

В виде автоматизированных комплексов гамма-активационный анализ был адаптирован для золотодобывающей промышленности с целью экспрессного определения золота в породе (для отделения пустой породы).

Метод показал также высокую эффективность для высокочувствительного (до 10^{-8} г/г) определения газообразующих элементов (N, C, O) в различных образцах (особочистые материалы, геологические образцы). Поскольку аналитические радионуклиды этих элементов имеют небольшие периоды полураспада (для ^{13}N период полураспада составляет ~ 10 мин, ^{11}C — 20 мин, ^{15}O — 2 мин), а их регистрация требует выделения в радиохимически чистом виде, для них были разработаны соответствующие экспрессные методики. Схема одной из них представлена на рис. 14.7*.

Методика заключается в высокотемпературной экстракции азота путем нагревания пробы в индукционной печи при пропускании аргона и последующей очистке азота от сопутствующих паров и газов: вымораживание паров воды, окисление CO до CO_2 над оксидом меди(II) и последующее поглощение

* Gamma-activation analysis of nitrogen solubility in aluminosilicates at high pressure and temperature / Yu. M. Tsipenyuk, B. A. Chapyzhnikov, V. P. Kolotov et al // J. Radioanal. Nucl. Chem. — 1997. — V. 217. — N 2. — P. 261 — 265.

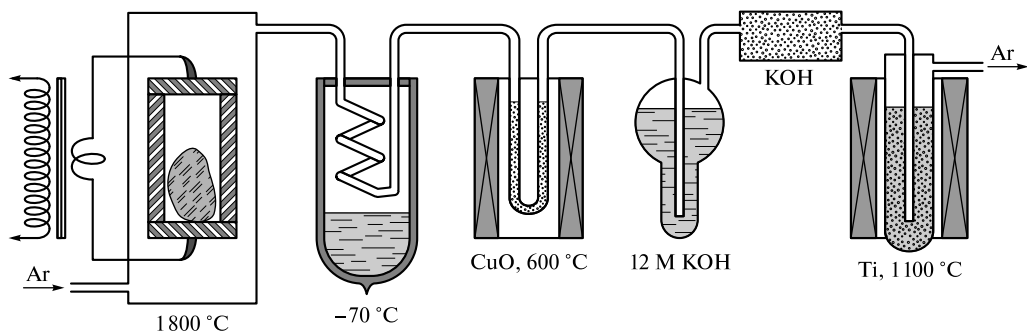


Рис. 14.7. Схема радиохимической методики быстрого выделения короткоживущего радионуклида ^{13}N с использованием высокотемпературной экстракции

CO_2 (раствор и твердая щелочь), адсорбция азота губчатым титаном — и в заключение измерение наведенной радиоактивности высокоэффективным детектором. Метод был, в частности, применен для исследования растворимости азота в силикатах при моделировании процессов дегазации мантии Земли и образования атмосферы, а также при анализе различных высокочистых веществ. Важно отметить, что присутствующий в атмосфере, сорбированный на поверхности образца азот не мешает, так как после облучения поверхность образца подвергается травлению.

14.2.4. Активационный анализ на заряженных частицах

Поток заряженных частиц (ядра изотопов водорода и гелия реже — тяжелых ионов) получают на ускорителях (например, циклотроне или электростатическом ускорителе ван де Граафа).

Ядерные реакции на заряженных частицах имеют пороговый характер (необходимо преодоление кулоновского барьера ядра для взаимодействия), поэтому энергия ускоренных частиц обычно составляет более 2 МэВ. Кроме того, вследствие быстрой потери энергии при прохождении вещества пробег заряженных частиц ограничен (10^{-5} — 10^{-4} м) в зависимости от типа, энергии частиц и химического состава материала. Поэтому активационный анализ на заряженных частицах обеспечивает локальное (в поверхностных слоях пробы) определение элементов.

Протекают различные ядерные реакции на протонах: (p, γ) , (p, n) , $(p, 2n)$, (p, α) и другие, на дейтронах и ядрах ^3He : (x, p) , (x, n) , $(x, 2n)$, (x, α) и другие (x — дейтрон или ядро гелия). Хотя метод обеспечивает определение довольно широкого круга элементов, наиболее ценные результаты были получены при определении легких элементов (В, С, О, N). Это объясняется тем, что метод дает возможность определять такие элементы в очень низких ($< 10^{-7}$ мас. %) концентрациях, обычно недостижимых другими методами. Причем при использовании достаточно сфокусированных ($\sim 10^{-6}$ м) пучков удалось исследовать распределение кислорода, углерода и других элементов как по поверхности, так и по глубине твердых образцов (особочистые материалы, силикаты).

14.3. Активационная автораддиография

Автораддиография — метод регистрации ионизирующего излучения (обычно бета-, альфа- или рентгеновского излучения) радионуклида с помощью фотографических или иных детекторов. *Автораддиограмма* — это видимая картина распределения накопленной дозы от радионуклидов, находящихся в поверхностном слое образца, т. е. это один из способов локального анализа (см. также гл. 17).

Выпускают специальные фотографические материалы (детекторы) для регистрации излучения или «визуализирующие» пластины (компания «FujiFilm») для регистрации изображения без использования «мокрого» фотографического способа. В последнем случае для сохранения информации о дозовых полях используют эффект «запаздывающей» люминесценции на высокодиспергированных кристаллах люминофора (флуоресцирующего галогенида бария, легированного европием). Визуализацию полей проводят путем сканирования таких пластин лазерным лучом, вызывающим люминесценцию.

Разработаны варианты метода автораддиографии с высокочувствительной регистрацией треков α -частиц или осколков деления (например, для определения урана и тория). Радионуклиды могут быть введены в изучаемый образец путем его активации.

Широкое применение нашел метод нейтронно-активационной автораддиографии, например для определения золота и ряда других элементов.

Однако метод гамма-активационной автораддиографии обладает более широкими возможностями в части детектирования микровключений благородных элементов, играющих важную роль при исследовании различных геохимических процессов. Для достижения максимального разрешения (до нескольких микрон) поверхность образца должна быть полированной для обеспечения максимально плотного контакта образца с детектором. В случае геологических образцов это обычно тщательно полированный аншлиф (плоскопараллельная пластина образца толщиной несколько миллиметров). На рис. 14.8 представлены две автораддиограммы аншлифа шпинели (Cr_2O_3 — 50,3 %, Al_2O_3 — 7,2 %, MgO — 11,7 %, FeO — 30,2 %), которые показывают, что даже в «горячих» (практически сразу после облучения) образцах детектирование включе-

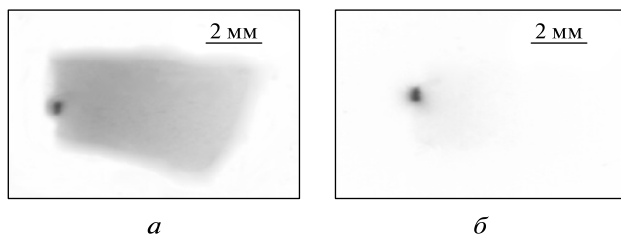


Рис. 14.8. Автораддиограмма полированного аншлифа шпинели, содержащей включение платины (темное пятно в левой области); облучение 30 мин тормозным излучением микротрона:

a — выдержка после облучения 1,5 ч, экспонирование 2 ч; *б* — выдержка после облучения 72 ч, экспонирование 71 ч

ния не представляет проблемы*. А после трехдневного охлаждения фон матрицы практически не мешает. Предел обнаружения платины (а также некоторых других благородных элементов) методом гамма-активационной авторадииграфии составляет $\sim 10^{-10}$ г, пространственное разрешение около 5 мкм.

14.4. Неактивационные ядерно-физические методы

В группе неактивационных ядерно-физических методов можно выделить два основных метода, которые активно развиваются и во многих случаях отвечают потребностям современной науки. Это метод возбуждения характеристического рентгеновского излучения при облучении пучком протонов и спектрометрия обратного резерфордовского рассеяния. Часто их объединяют под общим названием — *ядерный микрозонд*.

Данные методы основаны на использовании тонкосфокусированных (доли микрона) пучков ускоренных протонов или ядер гелия ($\sim 10^6$ эВ), включая устройства для сканирования образца на площади 1—5 мм². Предел обнаружения методом возбуждения характеристического рентгеновского излучения при облучении пучком протонов составляет 10^{-6} — 10^{-4} % при погрешности анализа < 10 % и очень высокой локальности. К тому же метод обеспечивает анализ на контролируруемую глубину (до 100 мкм) образца.

Схема спектрометрии обратного резерфордовского рассеяния достаточно проста: ускоренные ионы гелия (более 2 МэВ) претерпевают на ядрах анализируемого вещества упругое рассеяние (рис. 14.9).

Рассеянные ионы регистрируют твердотельным детектором, расположенным под углом 150—170° к пучку, получая спектр. Компьютерный анализ характеристик спектра позволяет определить как химический состав пробы, так и профиль концентрации элементов по глубине с высоким (до 10 нм) пространственным разрешением. Метод обеспечивает прямой анализ без использования образцов сравнения и работает для элементов, присутствующих в пробе в сравнительно высоких (до долей процента) концентрациях.

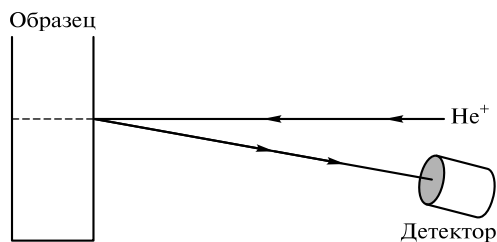


Рис. 14.9. Схема спектрометрии обратного резерфордовского рассеяния

* Development of digital autoradiography technique for the determination of the platinum-group elements in geological samples / V.P.Kolotov, S.N.Shilobreeva, A.Yu.Andriyanov et al // Radiochim. Acta. — 2001. — V. 89. — P. 765 —769.

Таким образом, первый метод отличается высокой локальностью и низким пределом обнаружения, второй метод обеспечивает высокое разрешение при определении профиля концентраций по глубине образца (см. также гл. 17). Оба метода дополняют друг друга и пригодны для анализа некоторых наноструктур.

Как правило, перечисленные методы требуют применения уникальных установок, включающих наряду с ускорителем системы фокусировок, сканирования и детектирования. Однако получаемые результаты уникальны и весьма востребованы современными исследователями.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Перечислите основные ядерно-физические методы анализа.
2. Охарактеризуйте принцип активационного анализа.
3. Перечислите этапы активационного анализа.
4. Какие варианты активационного анализа вы знаете?
5. Как осуществляют стандартизацию при проведении количественного нейтронно-активационного анализа?
6. Чем определяется селективность нейтронно-активационного анализа?
7. Какие методы активационного анализа пригодны для определения легких (газообразующих) элементов, а какие могут быть использованы для других элементов?
8. Какие методы ядерно-физического анализа могут быть использованы для локального определения? Приведите их характеристики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вандекастеле К.* Активационный анализ с использованием заряженных частиц / К. Вандекастеле. — М. : Мир, 1991.
- Волков Н. Г.* Методы ядерной спектрометрии / Н. Г. Волков, В. А. Христофоров, Н. П. Ушакова. — М. : Энергоатомиздат, 1990.
- Дутов А. Г.* Активационный анализ в науке и технике / А. Г. Дутов, Г. В. Левушкина, В. А. Комар. — Минск : Наука и техника, 1984.
- Иванов И. Н.* Активационный анализ по короткоживущим радионуклидам / И. Н. Иванов, О. К. Николаенко. — М. : Энергоатомиздат, 1987.
- Кузнецов Р. А.* Активационный анализ / Р. А. Кузнецов. — М. : Атомиздат, 1974.
- Сапожников Ю. А.* Радиоактивность окружающей среды / Ю. А. Сапожников, Р. А. Алиев, С. Н. Калмыков. — М. : Бином. Лаборатория знаний, 2006.
- Фридлендер Г.* Ядерная химия и радиохимия / Г. Фридлендер, Дж. Кеннеди, Дж. Миллер. — М. : Мир, 1967.
- Якубович А. Л.* Ядерно-физические методы анализа горных пород / А. Л. Якубович, Е. И. Зайцев, С. М. Пржиялговский. — М. : Энергоиздат, 1982.
- Radioanalytical Chemistry / ed. B.Kahn. — N.Y. : Springer Science + Business Media, 2007.

РЕНТГЕНОВСКАЯ ФОТОЭЛЕКТРОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ

15.1. Основные понятия

Метод *рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии* (РФЭС) основан на взаимодействии рентгеновского излучения с поверхностью твердого тела, в результате происходит эмиссия фотоэлектронов — *фотоэффект*. Фотоэффект был открыт в 1887 г. известным немецким физиком Г. Герцем. Экспериментальные законы фотоэффекта были установлены в 1888—1890 гг. профессором Московского университета А. Г. Столетовым. Теоретическое объяснение фотоэффекта предложено в 1905 г. А. Эйнштейном. В последующие несколько десятилетий происходило интенсивное развитие приборной базы для регистрации фотоэлектронных спектров и техники высокого вакуума.

В середине 1950-х гг. группа шведских ученых под руководством профессора Упсальского университета К. Зигбана создала первый электронный спектрометр высокого разрешения для анализа медленных электронов, образующихся при облучении поверхности твердого тела рентгеновским излучением. С помощью этого спектрометра К. Зигбан с сотрудниками впервые наблюдали отдельные характеристические пики в энергетическом спектре рентгеновских фотоэлектронов. Было установлено, что метод обладает очень малой глубиной (3—5 нм) отбора аналитической информации и может быть с успехом применен для определения элементного состава поверхности твердого тела. Этой же группой ученых впервые были обнаружены энергетические сдвиги внутренних уровней в рентгеновских фотоэлектронных спектрах оксидов меди, получившие название химических сдвигов. Впоследствии было показано, что они могут быть использованы для определения химического состава поверхности твердого тела. За создание метода РФЭС профессор К. Зигбан в 1981 г. был удостоен Нобелевской премии по физике.

Поверхностью твердого тела называют границу раздела двух фаз (например, твердое тело — газ) или двух материалов, обладающих различными физико-химическими свойствами (например, металл — оксид или полупроводник — диэлектрик). В первом случае речь идет о внешней поверхности, во втором — о внутренней. Характерный размер поверхности составляет всего лишь несколько атомных слоев или несколько нанометров. Кроме того, имеется большое число важных в технологическом аспекте объектов, обладающих как внешней, так и внутренней поверхностью. Это — тонкие пленки, покрытия и многослойные структуры.

Что же представляет собой поверхность твердого тела с физической точки зрения? Это трехмерная область, потенциалы атомов которой отличаются от потенциалов атомов, расположенных в глубине твердого тела. Она включает

адсорбированные чужеродные атомы и молекулы, а также совокупность атомов поверхности, имеющую иную кристаллическую структуру, нежели объемные. Процесс образования поверхности приводит к появлению новых электронных состояний, имеющих энергетические уровни, отличные от тех, которые присущи объему твердого тела. Физические и химические свойства поверхности определяются пространственным распределением заряда и энергетическим спектром валентных электронов атомов поверхности. Таким образом, поверхность твердого тела — это область резкой неоднородности элементного и химического состава и структуры, обладающая присущими лишь ей физико-химическими свойствами.

Очевидно, что для анализа поверхности необходимы специальные методы, обладающие очень малой глубиной отбора аналитической информации. В настоящее время основным методом является рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия.

Рентгеновский фотоэлектронный спектр — это распределение фотоэлектронов по кинетическим энергиям или энергиям связи. Он состоит из характеристических линий, образующихся в результате эмиссии фотоэлектронов с внутренних электронных уровней атома, и фона, формируемого неупруго рассеянными электронами. Пример рентгеновского фотоэлектронного спектра поверхности молибдена приведен на рис. 15.1.

Для обозначения фотоэлектронных линий используют набор символов, характеризующих энергетическое состояние соответствующего электрона в атоме, например:

$$\text{Mo}3d_{5/2},$$

где Mo — символ элемента; 3 — главное квантовое число уровня n , с которого произошла эмиссия фотоэлектрона; d — обозначение орбитального квантового числа l ; $5/2$ — полное квантовое число j ($j = l + s$, где s — спиновое квантовое число, равное $\pm 1/2$).

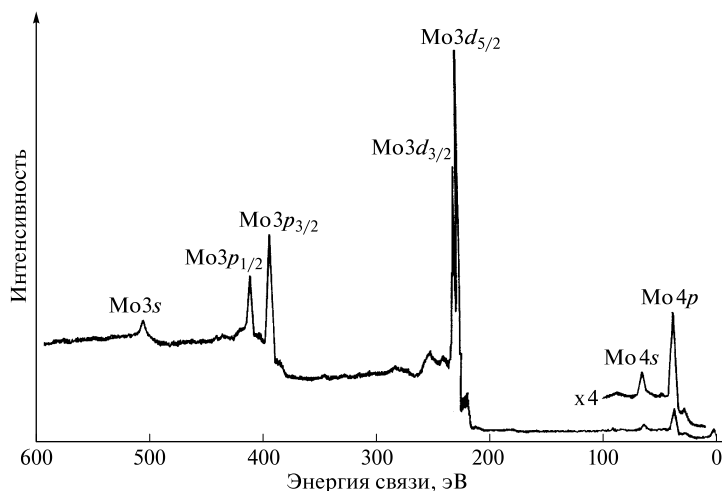


Рис. 15.1. Рентгеновский фотоэлектронный спектр поверхности молибдена

Параметры спин-орбитального расщепления

Подоболочка	j	Отношение площадей пиков
s	$1/2$	—
p	$1/2, 3/2$	1 : 2
d	$3/2, 5/2$	2 : 3
f	$5/2, 7/2$	3 : 4

Отметим, что все уровни s ($l = 0$) являются синглетными, а уровни p ($l = 1$), d ($l = 2$), f ($l = 3$) — дублетными. Дублеты возникают благодаря спин-орбитальному взаимодействию. Разность энергий этих двух состояний соответствует «параллельному» и «антипараллельному» расположению векторов спина и орбитального углового момента электрона. Спин-орбитальное расщепление может составлять несколько электрон-вольт и увеличивается для данной оболочки с ростом атомного номера элемента, а также с уменьшением значения l при постоянном значении n . Относительная интенсивность пиков в дублете определяется отношением их степеней вырождения ($2j + 1$). В табл. 15.1 представлены отношения площадей пиков и обозначения пиков для спин-орбитальных дублетов.

Поскольку глубина проникновения рентгеновского излучения в методе РФЭС много больше глубины выхода эмиттированных электронов, эффективная глубина отбора аналитической информации определяется последним фактором. Критерием в данном случае служит средняя длина свободного пробега λ (СДСП) фотоэлектрона. *Средняя длина свободного пробега* — это расстояние, при прохождении которого пучком электронов в твердом теле число электронов с данной энергией в этом пучке уменьшается в e раз. Средняя

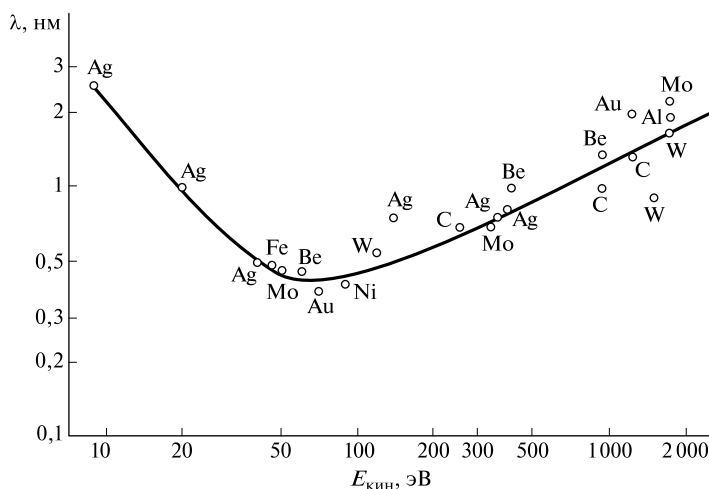


Рис. 15.2. Эмпирическая зависимость средней длины свободного пробега λ фотоэлектрона в металлах от его кинетической энергии $E_{\text{кин}}$

длина свободного пробега фотоэлектрона сложным образом зависит от природы материала, его химического состава и структуры. Эмпирическая зависимость СДСП фотоэлектрона в металлах от его кинетической энергии приведена на рис. 15.2. Для большинства материалов в рабочем диапазоне энергий метода РФЭС 200—1 500 эВ значение λ пропорционально $\sqrt{E_{\text{кин}}}$. До 99 % фотоэлектронов выходит из поверхностного слоя толщиной 3λ .

Для металлов и сплавов глубина отбора аналитической информации составляет 2—3 нм, для оксидов и полимеров — 5—10 нм. Столь малое значение глубины отбора информации обуславливает высокую чувствительность метода РФЭС к состоянию поверхности образца: распределению элементов по глубине, наличию загрязнений, шероховатости поверхности. Интенсивность электронной линии в спектре растет с увеличением значения λ .

15.2. Техника рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии

Получение чистой поверхности в сверхвысоком вакууме. Анализ поверхности твердого тела всегда проводят в сверхвысоком вакууме ($p = 10^{-9}—10^{-7}$ Па). Условия сверхвысокого вакуума необходимы по двум причинам. Во-первых, вероятность рассеяния вторичных электронов, эмиттируемых поверхностью образца, на молекулах остаточного газа в камере анализа должна быть ничтожно мала. Во-вторых, при исследовании образцов с чистой поверхностью скорость ее загрязнения при адсорбции молекул остаточного газа должна быть невелика (обычно один монослой за 30 мин).

Чистой поверхностью называют такую поверхность, на которой с помощью метода РФЭС (или другого метода анализа поверхности) на пределе чувствительности обнаружения регистрируются спектральные линии только тех элементов, из которых состоит исследуемый образец. Существует несколько эффективных способов получения чистой поверхности в условиях сверхвысокого вакуума. К ним относятся ионное травление, нагрев, механическое скребление и вакуумный скол. Каждый из них имеет свои преимущества и недостатки. Выбор способа определяется прежде всего типом исследуемой поверхности и должен сопровождаться ее минимальной деструкцией. Наиболее эффективным и часто используемым способом является ионное травление поверхности путем бомбардировки ионами инертных газов энергией 1—5 кэВ. Однако следует иметь в виду, что при ионном травлении может происходить преимущественное распыление поверхности многокомпонентных материалов и, соответственно, обеднение поверхности легколетучим компонентом, восстановление поверхности химических соединений или вбивание примесей (углерода, кислорода) в поверхностные слои. Нагрев может приводить к нежелательной поверхностной сегрегации примесей (в первую очередь серы, кислорода и углерода) из объема образца. В особых случаях применяют другие способы получения чистой поверхности. Например, пластичные металлы (свинец, индий и олово) можно очистить с помощью механического скребления поверхности в сверхвысоком вакууме. Для получения чистой поверхности

щелочногалоидных кристаллов, кристаллов кремния и германия применяют вакуумный скот. В ряде случаев весьма эффективны комбинированные способы получения чистой поверхности, например циклическая очистка с помощью ионного травления и нагрева.

Электронный спектрометр. Основными узлами современного электронного спектрометра являются источник возбуждения, устройство крепления и ввода образца, энергоанализатор и детектор электронов, находящиеся в камере, в которой поддерживают сверхвысокий вакуум (рис. 15.3).

Для возбуждения электронного спектра в РФЭС используют «мягкое» (1 — 3 кэВ) характеристическое рентгеновское излучение. Источником излучения служит рентгеновская трубка, которая состоит из термоэмиссионного катода и анода (мишени). Электроны, эмиттируемые катодом, ускоряются в направлении анода постоянным напряжением, подаваемым на анод и катод. Электронная бомбардировка анода вызывает эмиссию рентгеновских лучей со сплошным спектром тормозного излучения, на который накладываются дискретные линии характеристического излучения. Обычно используют характеристическое излучение MgK_{α} (1 253,6 эВ) и AlK_{α} (1 486,6 эВ), что обусловлено относительно малой (0,70 и 0,85 эВ соответственно) спектральной шириной этих линий и энергией, достаточной для возбуждения глубоких электронных уровней в атоме.

При уменьшении спектральной ширины возбуждающего рентгеновского излучения уменьшается энергетическая ширина фотоэлектронных линий. Поэтому важной задачей является повышение монохроматичности источника излучения. Наиболее эффективный способ монохроматизации излучения — применение дифракции рентгеновского излучения в кристалле.

Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия является методом интегрального анализа, поскольку диаметр рентгеновского пучка составляет примерно 0,2—0,3 см. Современные электронные спектрометры комплектуют острофокусными рентгеновскими трубками с диаметром пучка 100 — 500 мкм, что дает возможность применять РФЭС для локального анализа.

Главным узлом любого электронного спектрометра является энергоанализатор, с помощью которого электроны с разными кинетическими энергиями последовательно направляют на детектор. В основе работы энергоанализатора лежит зависимость кривизны траектории движения электрона в электромагнитном поле от его кинетической энергии. В методе РФЭС обычно используют электростатический полусферический энергоанализатор, обладающий достаточно высоким спектральным разрешением (рис. 15.4).

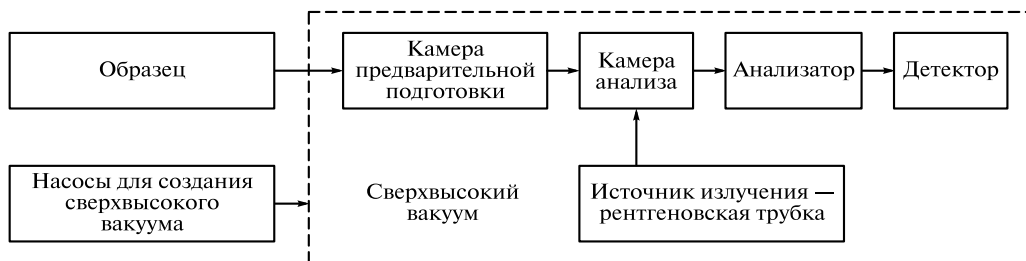


Рис. 15.3. Схема электронного спектрометра

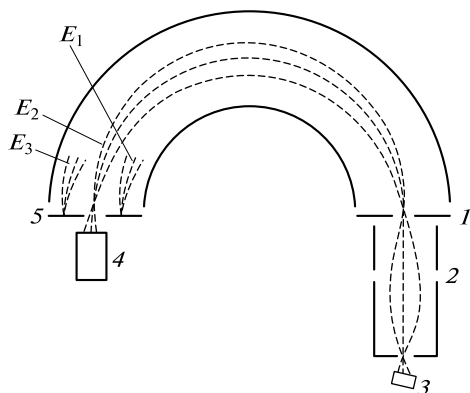


Рис. 15.4. Схема электростатического полусферического энергоанализатора:

1 — входная щель; 2 — линзы, формирующие тормозящее поле; 3 — образец; 4 — детектор;
5 — выходная щель

Электростатический полусферический энергоанализатор аналогичен оптической системе с призмой и линзой. Электроны с различной кинетической энергией разделяются при прохождении через область электрического поля. Электроны же с одинаковой энергией, входящие в анализатор под разными углами, фокусируются на выходной щели. В силу симметрии такой энергоанализатор является пространственно фокусирующим: точечный источник электронов изображается в виде точки на выходе анализатора.

Спектр фотоэлектронов регистрируют, изменяя напряжение на сферических электродах анализатора таким образом, чтобы через выходную щель на детектор последовательно проходили электроны с разной энергией. При этом сохраняется постоянное относительное разрешение. Возможен и другой способ, при котором на анализатор подают постоянное напряжение, а изменяют тормозящее поле. Фотоэлектроны замедляются в этом поле, и в детектор попадают только электроны со скоростями, соответствующими напряжению на секторах анализатора. При этом сохраняется постоянное абсолютное разрешение. Каждый из способов имеет свои достоинства и недостатки. При использовании второго способа легче провести последующую количественную обработку результатов, так как абсолютное разрешение будет одним и тем же во всех частях спектра, но при этом ухудшается отношение сигнала к шуму с уменьшением энергии. При использовании первого способа труднее провести количественную обработку, однако небольшие пики при низких энергиях легко детектируются.

Абсолютное разрешение энергоанализатора ΔE — это полная ширина на половине высоты пика. *Относительное разрешение* определяется как

$$R = \Delta E / E_0,$$

где E_0 — кинетическая энергия электронов при данном положении пика.

Относительное разрешение также выражают через *разрешающую способность*, которая является величиной, обратной R :

$$\rho = 1/R = E_0/\Delta E.$$

Таким образом, абсолютное разрешение может быть получено независимо от положения пика в спектре, а относительное — только по отношению к определенной кинетической энергии.

В методе РФЭС для определения возможных различий в химическом состоянии элементов необходимо иметь одно и то же абсолютное разрешение для любого фотоэлектронного пика в спектре, т.е. для любой кинетической энергии.

Ширина естественных линий источников мягкого рентгеновского излучения равна 0,70 эВ для MgK_{α} и 0,85 эВ для AlK_{α} . Чтобы абсолютное разрешение соответствовало такой ширине линий при максимально возможных энергиях фотоэлектронов (т.е. 1 253,6 эВ в случае Mg и 1 486,6 эВ в случае Al), необходимо относительное разрешение $\sim 6 \cdot 10^{-4}$ (или разрешающая способность $\sim 1\,700$). Такое относительное разрешение несложно получить, но это будет сопровождаться неизбежными потерями интенсивности линий. Кроме того, если требуется использовать монохроматическое излучение, то необходимому абсолютному разрешению $\sim 0,2$ эВ будет соответствовать относительное разрешение $\sim 10^{-4}$ (разрешающая способность 10 000); такое относительное разрешение очень трудно получить, не используя очень большой и дорогой анализатор.

По указанным причинам фотоэлектроны замедляют либо до выбранной энергии анализатора, называемой энергией пропускания, либо в определенное число раз. В обоих случаях эти параметры имеют постоянное значение в процессе измерения одного спектра. Таким образом, если фотоэлектроны замедляют до энергии пропускания 50 эВ, то при абсолютном разрешении 0,7 эВ требуется относительное разрешение всего $\sim 10^{-2}$. Следовательно, торможение дает возможность получать такое же абсолютное разрешение при более низком относительном разрешении.

В качестве детектора в методе РФЭС используют вторичноэлектронный умножитель, который является пропорциональным счетчиком электронов и усиливает сигнал до 10^6 — 10^7 раз.

Важной рабочей характеристикой электронного спектрометра является *аппаратная функция* $A(E_{\text{кин}})$ — произведение функции пропускания электронно-оптической системы спектрометра, энергоанализатора и эффективности детектирования электронов. Интенсивность электронной линии в спектре растет с увеличением значения аппаратной функции.

15.3. Качественное определение элементного состава поверхности

Основой качественного элементного анализа поверхности твердого тела методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии является *закон фотозффекта*, установленный А. Эйнштейном:

$$h\nu = E_{\text{кин}} + E_{\text{св}}, \quad (15.1)$$

где $h\nu$ — энергия кванта рентгеновского излучения; $E_{\text{кин}}$ — кинетическая энергия фотоэлектрона; $E_{\text{св}}$ — энергия связи электрона в атоме.

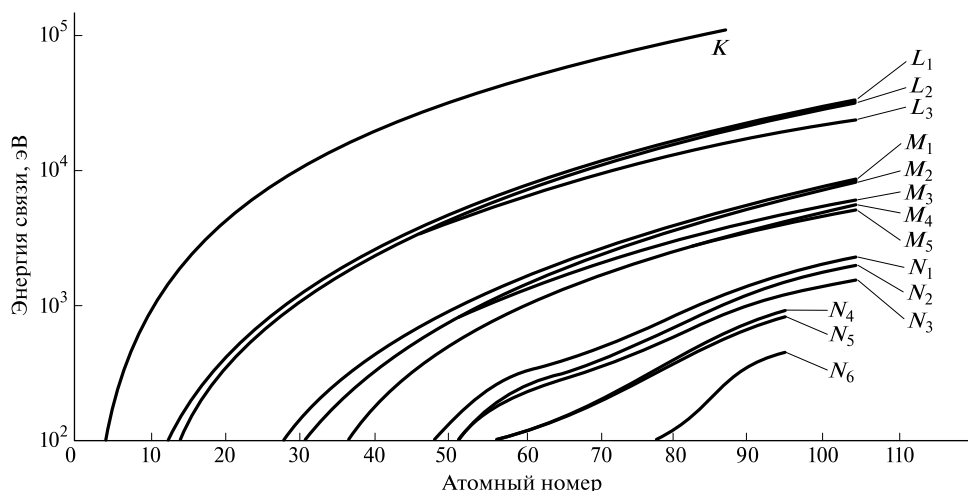


Рис. 15.5. Зависимость энергии связи электронов от атомного номера элемента

В результате облучения поверхности образца характеристическим рентгеновским излучением энергией $h\nu$ атомы поглощают фотоны, и это поглощение является причиной фотоэмиссии. Электроны возбуждаются со всех уровней атома, на которых энергия связи меньше $h\nu$, но с разной вероятностью, поэтому линии в спектре имеют различную интенсивность. Если значение $h\nu$ известно, а значение $E_{\text{кин}}$ измерено с помощью электронного спектрометра, то можно определить энергию связи электрона на том или ином уровне в атоме.

Все элементы Периодической системы Д. И. Менделеева различаются строением атома, поэтому, измеряя положение одной или нескольких линий в фотоэлектронном спектре, можно легко идентифицировать элемент, находящийся на поверхности образца. На рис. 15.5 показана зависимость энергии связи электронов от атомного номера. Как видно, энергия связи заметно возрастает с увеличением атомного номера.

Пример. В рентгеновском фотоэлектронном спектре поверхности металлического сплава обнаружены три спектральные линии, для которых значения $E_{\text{кин}}$ равны 232,1, 321,2, 401,3 эВ. В качестве источника возбуждения использована рентгеновская трубка с магниевым анодом ($h\nu = 1\,253,6$ эВ). Определите, из каких элементов состоит исследуемый сплав; установите тип этого сплава.

Решение. С помощью уравнения (15.1) рассчитаем значения $E_{\text{св}}$, они будут равны 1 021,5, 932,4, 852,3 эВ соответственно. Согласно справочным данным* эти значения $E_{\text{св}}$ соответствуют спектральным линиям уровня $2p_{3/2}$ Zn, Cu, Ni. Исследуемый сплав состоит из цинка, меди и никеля и по своему элементному составу может быть отнесен к сплавам типа нейзильбер.

* См., например: Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy / [C.D.Wagner et al]. — Eden Prairie: Perkin-Elmer Corp., Phys. Electronics Division, 1979; *Нефедов В.И.* Рентгеноэлектронная спектроскопия химических соединений: справочник. — М.: Химия, 1984.

15.4. Количественное определение элементного состава поверхности

Интенсивность I фотоэлектронной линии равна числу электронов, попадающих в детектор за единицу времени. Она зависит от ряда параметров электронного спектрометра и анализируемого образца, таких как поток возбуждающего рентгеновского излучения F , аппаратная функция электронного спектрометра A , средняя длина свободного пробега фотоэлектрона λ , сечение фотоионизации электронного уровня σ , содержание n определяемого элемента.

Вычислить абсолютное содержание элемента на поверхности произвольного материала нельзя, поскольку отдельные фундаментальные параметры очень трудно, а иногда и невозможно, определить с достаточной точностью теоретически или экспериментально. Поэтому обычно проводят относительный анализ, позволяющий определить долю каждого элемента, присутствующего на поверхности образца. В этом случае исключают из расчетной формулы параметры и коэффициенты, значение которых неизвестно и не зависит от положения линии в электронном спектре. Для выполнения рутинного анализа используют формулу

$$n_i = \frac{\frac{I_i \sqrt{E_{\text{кин},i}}}{\sigma_i}}{\sum_{i=1}^m \frac{I_i \sqrt{E_{\text{кин},i}}}{\sigma_i}} 100 \%, \quad (15.2)$$

где n_i — содержание i -го элемента; I_i — интенсивность фотоэлектронной линии i -го элемента; $E_{\text{кин},i}$ — кинетическая энергия фотоэлектрона i -го элемента; σ_i — сечение фотоионизации электронного уровня i -го определяемого элемента; m — общее число элементов.

Для близких по энергиям фотоэлектронных линий вместо формулы (15.2) обычно используют упрощенную формулу

$$n_i = \left(\frac{I_i}{\sigma_i} \middle/ \sum_{i=1}^m \frac{I_i}{\sigma_i} \right) 100 \%. \quad (15.3)$$

Основным параметром, который определяет относительные интенсивности пиков в рентгеновском фотоэлектронном спектре, является сечение фотоионизации σ электронного уровня. Теоретическая зависимость сечения фотоионизации от атомного номера показана на рис. 15.6. Как видно, сечения фотоионизации наиболее часто используемых в методе РФЭС электронных уровней $1s$, $2p$, $3d$, $4f$ заметно возрастают с увеличением атомного номера.

Пример. В результате анализа поверхности металлического сплава методом РФЭС было установлено, что он состоит из цинка, меди и никеля. Интенсивность спектральных линий уровня $2p_{3/2}$ Zn, Cu, Ni равна $2,2 \cdot 10^4$, $19 \cdot 10^4$, $2,8 \cdot 10^4$ имп/с соответственно. Сечение фотоионизации уровня $2p_{3/2}$ Zn, Cu, Ni при возбуждении излучением $\text{Mg}K_{\alpha}$ равно 18,0, 15,9, 13,9

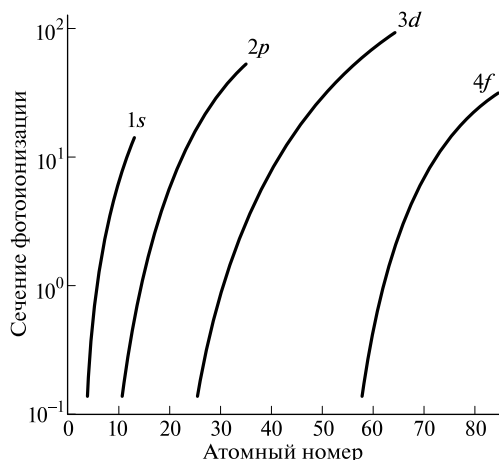


Рис. 15.6. Теоретическая зависимость сечения фотоионизации электронного уровня от атомного номера для характеристического рентгеновского излучения AlK_{α} (сечение фотоионизации уровня $C1s$ принято за единицу)

соответственно. Определите содержание элементов в сплаве и установите тип сплава.

Решение. Поскольку фотоэлектронные линии Zn, Cu, Ni близки по энергиям, для расчета содержания можно воспользоваться упрощенной формулой (15.3). Подставляя в нее значения интенсивностей и сечений фотоионизации, получаем, что содержание Zn, Cu, Ni в исследуемом сплаве составляет 7,9, 78,9, 13,2 % соответственно. Установленное содержание элементов подтверждает, что исследуемый сплав относится к сплавам типа нейзильбер.

15.5. Качественное и количественное определение химического состава поверхности

Известно, что при образовании химической связи между атомами происходит перераспределение электронной плотности в соответствии с относительными значениями их электроотрицательности. Это приводит к характеристическому изменению энергий связи электронов в атоме и сдвигу фотоэлектронных линий в спектре, так называемому *химическому сдвигу*. По величине этого сдвига можно судить о химическом окружении атомов определяемого элемента.

Квантовомеханические расчеты показывают, что потенциальная энергия внутреннего электрона зависит от эффективного заряда данного атома (потенциала валентных орбиталей) и от зарядов, создаваемых окружающими атомами. Расчетные значения химического сдвига обычно отличаются от экспериментальных на несколько электрон-вольт в сторону завышения. Это говорит о том, что в расчетах необходимо учитывать *энергию релаксации*, которая описывает взаимодействие вакансии на внутреннем уровне с электронами дан-

ного атома (*внутриатомная релаксация*) и взаимодействие вакансии на внутреннем уровне с электронами окружающих атомов (*межатомная релаксация*).

На практике интерпретацию химических сдвигов проводят с использованием трех эмпирических правил. Согласно *первому правилу*: изменение степени окисления элемента на единицу в ряду соединений с близким окружением приводит к изменению энергии связи примерно на 1 эВ. Согласно *второму правилу*: повышение ионности связи (при сохранении степени окисления) вызывает положительные химические сдвиги, а рост ковалентности связи сопровождается отрицательными химическими сдвигами. Наконец, *третье правило* гласит, что общий химический сдвиг является аддитивной характеристикой сдвигов, вызванных определенными группами атомов.

На рис. 15.7 представлены характерные примеры определения химического состава поверхности различных материалов в результате измерения химических сдвигов фотоэлектронных линий внутренних уровней. Так, при переходе от кремния к диоксиду кремния наблюдается химический сдвиг уровня $\text{Si}2p$ на 4 эВ в сторону больших энергий связи (см. рис. 15.7, *а*). Каждый атом углерода в этилтрифторацетате имеет различное химическое окружение и ему соответствует своя спектральная линия уровня $\text{C}1s$, причем химический сдвиг находится в пределах 8 эВ (см. рис. 15.7, *б*).

На рис. 15.8 показано изменение энергии связи уровня $\text{C}1s$ атома углерода в молекулах фторполимеров в зависимости от рассчитанных значений электроотрицательности по Полингу для групп, замещающих водород. Видно, что увеличение электроотрицательности в ряду фторполимеров приводит к заметному химическому сдвигу уровня $\text{C}1s$ в сторону больших энергий связи.

На рис. 15.9 показаны рентгеновские фотоэлектронные спектры чистой поверхности ванадия и поверхности ванадия после окисления в результате бомбардировки ионами кислорода в сверхвысоком вакууме. Химические сдвиги уровня $\text{V}2p$ свидетельствуют о том, что тонкая оксидная пленка, образующая-

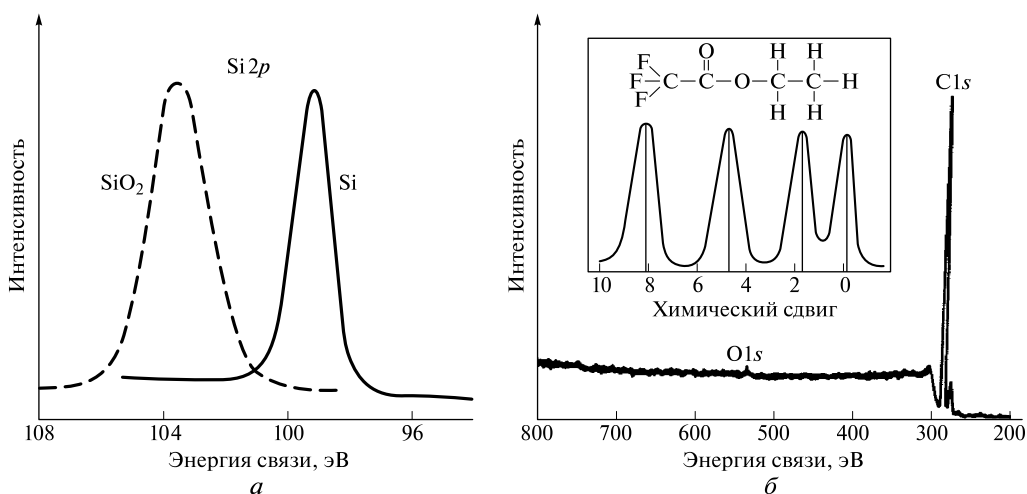


Рис. 15.7. Рентгеновские фотоэлектронные спектры поверхности кремния и диоксида кремния (*а*) и этилтрифторацетата (*б*)

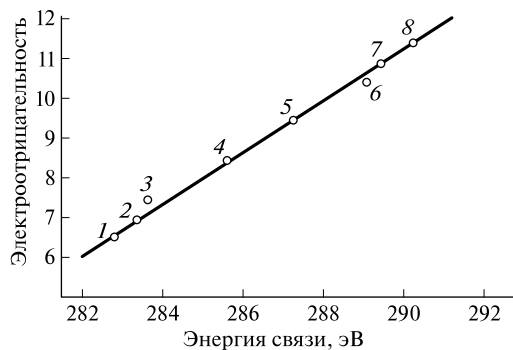


Рис. 15.8. Зависимость энергии связи уровня $\text{C}1s$ атома углерода (показан жирным шрифтом) в молекулах фторполимеров от электроотрицательности групп, замещающих атом водорода:

1 – $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-)_n$; 2 – $(-\text{CH}_2-\text{CHF}-)_n$; 3 – $(-\text{CH}_2-\text{CF}_2-)_n$; 4 – $(-\text{CH}_2-\text{CHF}-)_n$; 5 – $(-\text{CF}_2-\text{CHF}-)_n$; 6 – $(\text{CF}_2-\text{CH}_2-)_n$; 7 – $(-\text{CF}_2-\text{CHF}-)_n$; 8 – $(-\text{CF}_2-\text{CF}_2-)_n$

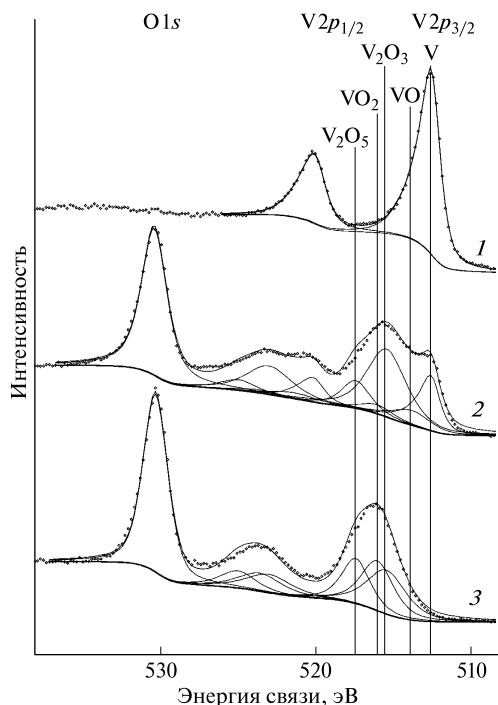


Рис. 15.9. Рентгеновские фотоэлектронные спектры чистой поверхности ванадия (1) и поверхности ванадия после ионно-лучевого окисления (энергия ионов кислорода 6 кэВ, доза облучения $1 \cdot 10^{15}$ (2) и $2 \cdot 10^{17}$ (3) см^{-2}) в сверхвысоком вакууме. Сплошными тонкими линиями показано разложение сложного спектра на составляющие с помощью смешанной функции Гаусса — Лоренца

ся на поверхности ванадия, имеет сложный химический состав и состоит из оксидов VO , V_2O_3 , VO_2 , V_2O_5 . Содержание оксидов заметно изменяется с увеличением дозы облучения поверхности ванадия ионами кислорода (см. рис. 15.9, кривые 2, 3).

15.6. Аналитические характеристики и применение метода РФЭС

Метод РФЭС позволяет проводить одновременный многоэлементный анализ поверхности твердого тела и тонких пленок. Определять можно любые элементы от лития до урана. По положению линий в электронном спектре однозначно идентифицируют элементы, а по интенсивности линий определяют их содержание. При этом глубина отбора аналитической информации составляет всего несколько нанометров. В большинстве случаев анализ поверхности является неразрушающим. Наряду с определением элементного состава с помощью метода РФЭС можно устанавливать химический состав поверхности, а в ряде случаев проводить диагностику электрических и магнитных свойств поверхности.

Для метода РФЭС нижняя граница определяемых концентраций составляет 10^{-3} — 10^{-1} ат. % (в абсолютных единицах — 1—10 нг или 0,01—0,05 моно-слоя). Относительное стандартное отклонение результатов анализа, как правило, не превышает 0,15—0,2.

С помощью метода РФЭС можно проводить послойный анализ, т.е. изучать распределение элементов по глубине образца с шагом 0,5—1,0 нм. Для этого используют спектрометры с угловым разрешением. Они позволяют детектировать электроны, выходящие с поверхности образца под разными углами и, соответственно, с разных глубин. Другой способ основан на применении ионного распыления поверхности. Поверхностные слои образца стравливают с постоянной скоростью *in situ* низкоэнергетическим пучком ионов инертного газа (обычно аргона) и таким образом устанавливают распределение содержания элементов по глубине образца.

Методом РФЭС исследуют поверхности самых разных неорганических и органических материалов: металлов, сплавов, керамики, полимеров. Сегодня метод РФЭС широко применяют для решения актуальных задач микро- и нанoeлектроники, гетерогенного катализа, для контроля качества материалов высоких технологий.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Какова глубина отбора аналитической информации в методе РФЭС?
2. Почему анализ поверхности твердого тела методом РФЭС проводят в условиях сверхвысокого вакуума?
3. Какими способами получают чистую поверхность?
4. Каково устройство современного электронного спектрометра?
5. Как определить элементный состав поверхности методом РФЭС?
6. Как определить содержание элементов на поверхности по данным РФЭС?
7. Какова природа химического сдвига фотоэлектронной линии?
8. Можно ли методом РФЭС анализировать тонкие оксидные пленки?
9. Как метод РФЭС применяют для послойного анализа?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Алов Н. В. 50 лет рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии // Журн. аналит. химии. — 2005. — Т. 60. — № 3. — С. 331—334.

Анализ поверхности методами оже- и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии / под ред. Д. Бриггса, М.П. Сиха. — М. : Мир, 1987.

Вертхайм Г. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия твердых тел // Электронная и ионная спектроскопия твердых тел / под ред. Л. Фирмэнса. — М. : Мир, 1981. — С. 195—235.

Вудраф Д. Современные методы исследования поверхности / Д. Вудраф, Т. Делчар. — М. : Мир, 1989.

Карлсон Т.А. Фотоэлектронная и оже-электронная спектроскопия / Т.А. Карлсон. — Л. : Машиностроение, 1981.

Миначев Х.М. Фотоэлектронная спектроскопия и ее применение в катализе / Х.М. Миначев, Г.В. Антошин, Е.С. Шпиро. — М. : Наука, 1981.

Немошкаленко В.В. Электронная спектроскопия кристаллов / В.В. Немошкаленко, В.Г. Алешин. — Киев : Наук. думка, 1983.

Нефедов В.И. Рентгеноэлектронная спектроскопия химических соединений : справочник / В.И. Нефедов. — М. : Химия, 1984.

Нефедов В.И. Физические методы исследования поверхности твердых тел / В.И. Нефедов, В.Т. Черепин. — М. : Наука, 1983.

Риггс В. Анализ поверхности методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии / В. Риггс, М. Паркер // Методы анализа поверхностей / под ред. А. Зандерны. — М. : Мир, 1979. — С. 137—199.

Фелдман Л. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия / Л. Фелдман, Д. Майер // Основы анализа поверхности и тонких пленок. — М. : Мир, 1989. — С. 211—227.

Электронная спектроскопия / [К. Зигбан и др.]. — М. : Мир, 1971.

Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy / [C.D. Wagner et al]. — Eden Prairie : Perkin-Elmer Corp., Phys. Electronics Division, 1979.

XPS study of vanadium surface oxidation by oxygen ion bombardment / [N. Alov et al] // Surface Science. — 2006. — V. 600. — N 8. — P. 1628—1631.

16.1. Основные понятия

В электронной микроскопии для формирования изображений используют не световые пучки, как в оптической микроскопии, а сфокусированные электронные пучки.

Электронная микроскопия в химии дает возможность изучать структуру, рельеф, состав и взаимодействие веществ вплоть до атомно-молекулярного уровня, т. е. с пространственным разрешением порядка десятых долей нанометра в микро- или даже в нанобъемах (объемах $\sim 1 \text{ нм}^3$).

Помимо широко распространенных методов оптической и электронной микроскопии существует много других микроскопических методов: микроскопия ионная (в частности, протонная), акустическая, позитронная, нейтронная, сверхвысокочастотная, атомно-зондовая, атомно-силовая туннельная — и другие менее распространенные методы.

В каждом из методов какую-либо новую полезную информацию о структуре, составе, микронеоднородностях образца, характере межмолекулярных взаимодействий получают благодаря специфичности взаимодействий пучка облучающих исследуемый образец частиц (или фотонов) с молекулами (атомами) образца. Например, медленные нейтроны (в нейтронной микроскопии и спектроскопии) практически не взаимодействуют с электронами и эффективно взаимодействуют с ядрами атомов.

Существует два основных метода получения изображений в классической микроскопии:

1) «на просвет» — образец просвечивают пучком света, пучком электронов (или других частиц) и с помощью линз из прошедшего пучка формируют изображение внутренних частей образца (на экране или в регистраторе);

2) «на отражение» — улавливают отраженный от образца пучок и формируют изображение поверхности образца (и его тонкой приповерхностной области).

Очевидно, что световой пучок пройдет не сквозь всякий образец, поэтому в световой оптике «на просвет» исследуют достаточно тонкие (обычно толщиной менее 1 мм) образцы. В электронной микроскопии ситуация еще хуже, так как электроны гораздо сильнее, чем световое излучение, взаимодействуют (поглощаются и рассеиваются) с образцом. Поэтому «на просвет» — в просвечивающей электронной микроскопии — можно получать изображения только очень тонких срезов (их получают с помощью специальных ультрамикротомов) или пленок толщиной гораздо меньше 1 мкм (обычно толщина исследуемых пленок — порядка нескольких десятков нанометров).

Существует два разных способа регистрации изображений:

1) «все сразу» — весь образец целиком облучают световым или электронным пучком и регистрируют сразу весь прошедший или отраженный пучок (например, получают фотографию на пленке, пластинке, фоточувствительном регистраторе типа цифрового фотоаппарата);

2) сканируют образец пучком, сфокусированным в пятно малого диаметра, и получают картинку (изображение) «точка за точкой» — это так называемая сканирующая (или растровая) микроскопия.

16.2. Просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия

В обычной *сканирующей микроскопии* (Scanning Microscopy) изображение формируют с помощью пучка заряженных частиц или квантов излучения, сфокусированных в зонд малого диаметра. Этот зонд перемещают по поверхности исследуемого объекта последовательно, «точка за точкой» (принцип работы такой же, как в обычном телевизоре). Сигнал любой физической природы из каждой такой «точки» (в частности, отраженные частицы, кванты излучения) детектируют, усиливают и используют, например, для модуляции тока электронного пучка в электронно-лучевой трубке (ЭЛТ) или для модуляции яркости каждой светящейся «точки» в жидкокристаллическом мониторе — дисплее.

С помощью сканирующих микроскопов очень удобно исследовать морфологию и геометрический рельеф поверхности разнообразных объектов, исследовать элементный состав, изучать и измерять электрические и магнитные поля в микрообъемах (так называемые «микрополя»), измерять электрофизические параметры различных полупроводниковых кристаллов (например, время жизни и диффузионную длину носителей заряда) и других твердых тел.

Развертка электронного пучка в ЭЛТ синхронна с разверткой зонда на образце. Благодаря этому изображение подобно обычному телевизионному — «растровая» картина. *Растровое изображение* состоит из отдельных малых «точек» — «пикселей» (pixels), яркость и цвет которых определяет «видеосигнал», сформированный после усиления сигнала от образца (например, тока вторичных электронов). Таким образом, элементы изображения появляются последовательно один за другим (как будто водят пальцем по буквам, читая книгу), а не все сразу, как в обычном оптическом или просвечивающем электронном микроскопе. Это «поточечное» отображение исследуемого объекта существенно облегчает обработку и интерпретацию изображений.

Принятый в электронной микроскопии (особенно в растровой) термин «видеосигнал» — это аналог общепринятого в аналитической химии термина «аналитический сигнал».

В *просвечивающем* электронном микроскопе электроны «просвечивают» очень тонкий образец, т.е. проходят сквозь него, и с помощью электростатических или магнитных линз формируют изображение образца на люминесцентном экране или другом регистраторе. В 1931 г. первый такой прибор продемонстрировали М. Кноль и Э. Руска. Они получили изображение металлической сетки в проходящем электронном пучке с помощью особой «брониро-

ванной» магнитной электронной осесимметричной линзы (катушка с током в ферромагнитном экране с узким кольцевым зазором и резким «всплеском» магнитного поля на оси). Первый промышленный просвечивающий электронный микроскоп разработан и выпущен фирмой «Siemens» в 1939 г. под руководством Э.Руска, получившего в 1986 г. за изобретение электронного микроскопа Нобелевскую премию по физике.

Просвечивающий электронный микроскоп (ПЭМ) предназначен для исследования весьма тонких (толщиной 10—100 нм) образцов при ускоряющих электронах напряжениях до 100 кВ. Оптическая система его аналогична оптической системе обычного светового микроскопа, создающего изображение прозрачного образца в проходящем сквозь него световом пучке. Основные узлы просвечивающего электронного микроскопа показаны на рис. 16.1.

Просвечивающий электронный микроскоп состоит из электронной пушки и системы электромагнитных линз. На рис. 16.1 показан ход лучей в микроскопе с тремя ступенями увеличения и с одной конденсорной линзой (эта

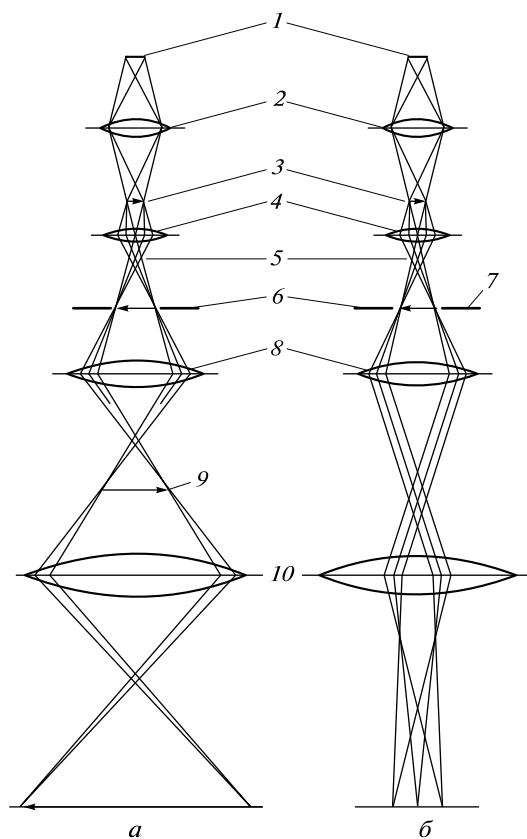


Рис. 16.1. Ход лучей и режимы просвечивающего электронного микроскопа:

а — наблюдение структуры образца; *б* — дифракционная картина; 1 — источник электронов; 2 — конденсорная линза; 3 — объект; 4 — объективная линза; 5 — фокальная плоскость объективной линзы; 6 — первое промежуточное изображение; 7 — селекторная диафрагма; 8 — промежуточная линза; 9 — второе промежуточное изображение; 10 — проекционная линза

линза служит для предварительной фокусировки электронного пучка). Проиллюстрированы два обычных режима работы микроскопа: либо получение изображений, либо регистрация картин микродифракции.

В первом случае (получение изображения) плоскостью, сопряженной с экраном, является плоскость объекта (предполагают, что объект имеет очень малую толщину по сравнению с фокусным расстоянием формирующей изображение объективной линзы). Во втором случае с объектом наблюдения сопряжена задняя фокальная плоскость объективной линзы, где распределение амплитуд продифрагировавшего на исследуемом образце электронного пучка соответствует картине дифракции Фраунгофера, т.е. дифракционной картине на бесконечно удаленном экране (обычное название этой картины — электронограмма). Расшифровывая электронограммы, можно определить состав образца.

Термин «микродифракция» означает, что регистрируют дифракционную картину небольшого участка образца, выбор которого осуществляют либо специальной селекторной диафрагмой, устанавливаемой в плоскости первого промежуточного изображения (см. рис. 16.1), либо облучением нужного участка образца хорошо сфокусированным (диаметром порядка 1 мкм) электронным пучком.

В режиме получения изображения для ограничения угла раскрытия конуса вышедших из объекта лучей (так называемой апертуры пучка) и, следовательно, для ограничения сферической аберрации (основной погрешности при попытке получить из «точки» предмета соответствующую «точку» на изображении) в фокальной плоскости объектива устанавливают так называемую апертурную диафрагму.

На рис. 16.1 изображен однолинзовый (одна конденсорная линза) конденсор. Современные микроскопы обычно снабжены двухлинзовым конденсором, основное достоинство которого — высокая интенсивность облучения на небольшой (диаметром 1—5 мкм) площади объекта. Тем самым исключают рост пленок углеводородных загрязнений из-за полимеризации паров масла при электронной бомбардировке ненаблюдаемых участков объекта (если колонну микроскопа откачивают паромасляными диффузионными насосами).

«Стандартных» просвечивающих микроскопов с ускоряющими напряжениями до 80—100 кВ изготовлено десятки тысяч. Для исследования более толстых (толщиной до 10 мкм) объектов выпущено несколько сот приборов с ускоряющими напряжениями 200—500 кВ и несколько десятков с напряжениями 1,0—3,5 МВ.

16.3. Электронные и ионные микроскопы

Для изучения так называемых массивных (толщиной более 1 мкм) объектов был сконструирован *отражательный* электронный микроскоп. В нем пучок «скользит» по поверхности образца почти параллельно ей (угол скольжения — несколько градусов). Неровности исследуемой поверхности на пути пучка создают тени — это основная причина формирования контраста (перепада яркости) изображения. Очевидно, что разрешение такого микроскопа в

направлении скольжения падающего пучка гораздо хуже (не более 20 нм), чем просвечивающего, но благодаря высокой чувствительности к малейшим неровностям поверхности (микрорельефу) с его помощью можно обнаружить даже монокристаллические ступеньки высотой порядка 0,1 нм. Поэтому в последние годы отражательный микроскоп вновь используют в различных комбинированных сверхвысоковакуумных установках.

В микроскопах-проекторах используют явление полевой (автоэлектронной и автоионной) эмиссии. Изображение образца (обычно отображается кончик очень острой иглы) формируется на люминесцентном экране методом проекции без каких-либо линз. Автоэлектронный микроскоп-проектор был изобретен в 1930-е гг.; с его помощью получают изображение поверхности образца-иглы благодаря полевой эмиссии электронов из образца в сильном электрическом поле (разность потенциалов между катодом-образцом и кольцевым анодом порядка 10 кВ, напряженность электрического поля на образце до 50 МВ/см).

Характерная особенность проекторов — отсутствие линз: изображение формируется как прямая проекция вершины (кончика) иглы с радиусом закругления менее 100 нм на плоский или полусферический люминесцентный экран. Увеличение (в 10^6 раз) примерно равно отношению радиусов экрана и острия. Разрешение автоэлектронного проектора менее 1 нм, с его помощью можно исследовать только металлы, сплавы, полупроводники.

Автоионный проектор разработан гораздо позднее (Э. Мюллер, 1951 г.). В нем также используют игольчатый образец, на который подают положительное напряжение, а вакуумный объем заполняют гелием (давление $\sim 10^{-3}$ мм рт. ст.). В очень сильном электрическом поле (напряженность до 500 МВ/см) вблизи вершины иглы-образца происходит полевая ионизация атомов гелия; образовавшиеся ионы гелия движутся почти прямолинейно от вершины иглы до экрана, на котором формируется изображение. Разрешение такого полевого ионного микроскопа достигает почти 0,1 нм: в нем можно различить даже отдельные молекулы. Повышая напряженность поля, можно даже «сорвать» с вершины иглы выбранный отдельный атом и проанализировать его с помощью масс-спектрометра (так называемая *атомно-зондовая микроскопия*).

16.4. Современные сканирующие (растровые) электронные микроскопы

Немецкий ученый М. фон Арденне — изобретатель первого растрового электронного микроскопа (РЭМ), работавшего в режиме сбора прошедших сквозь очень тонкий образец электронов первичного пучка, назвал этот новый прибор по-немецки Rasterelektronenmikroskop (*растровый электронный микроскоп*). Английский термин Scanning Electron Microscope (SEM) — *сканирующий электронный микроскоп* — теперь более распространен.

Эксперименты с первым растровым электронным микроскопом были описаны М. фон Арденне в 1937 г. Этот растровый прибор работал «на просвет»: сфокусированный электронный пучок сканировал тонкопленочный образец, а в качестве видеосигнала (аналитического сигнала) использовали ток прошедших сквозь образец электронов.

В конце 1950-х гг. были разработаны растровые микроскопы для наблюдения массивных образцов в отраженных от исследуемой поверхности электронах. Эти приборы начали серийно выпускать в 1960-е гг., и в настоящее время десятки фирм во многих странах мира конструируют и выпускают растровые и комбинированные с растровыми электронные микроскопы. В СССР три фирмы выпускали растровые электронные микроскопы и рентгеновские микроанализаторы.

Такие микроскопы незаменимы при исследовании разнообразных массивных объектов (образцов толщиной $\gg 1$ мкм) в физике твердого тела, полупроводниковой электронике, микро- и нанoeлектронике, химии, биологии, медицине, геологии, материаловедении и других областях науки и техники.

Особенно привлекают исследователей простота интерпретации полученных изображений (по сравнению с изображениями в обычных просвечивающих электронных микроскопах), а также возможность получать в растровых микроскопах стереоскопические изображения. Растровые микроскопы дают около 20(!) разнообразных полезных (аналитических) сигналов, несущих информацию о многих свойствах исследуемого образца. Это сигналы вторичных электронов, рентгеновского излучения, катодолюминесценция, генерация носителей тока в полупроводниковых образцах, термоакустические волны и др.

Блок-схема современного типичного растрового электронного микроскопа, работающего в режиме сбора выбитых из образца вторичных электронов или отраженных от этого образца электронов первичного пучка, собираемых детектором (коллектором) этих электронов, приведена на рис. 16.2.

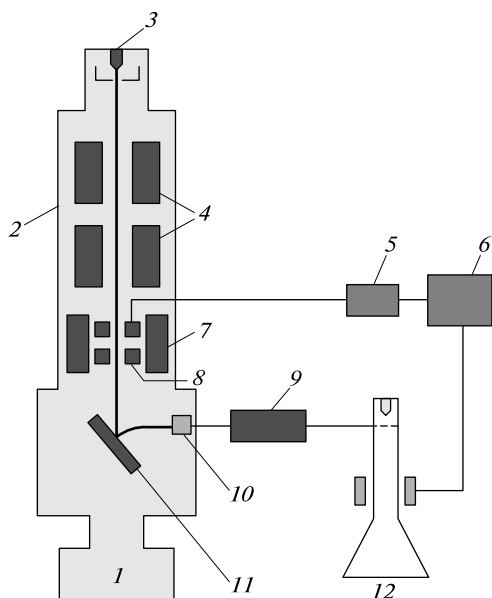


Рис. 16.2. Блок-схема растрового электронного микроскопа:

1 — вакуумная система; 2 — электронно-оптическая колонна; 3 — электронная пушка; 4 — конденсорные линзы; 5 — регулятор увеличения; 6 — генератор развертки; 7 — объективная линза; 8 — отклоняющие катушки; 9 — усилитель; 10 — детекторы вторичных сигналов; 11 — объект; 12 — синхронно сканируемая электронно-лучевая трубка (монитор)

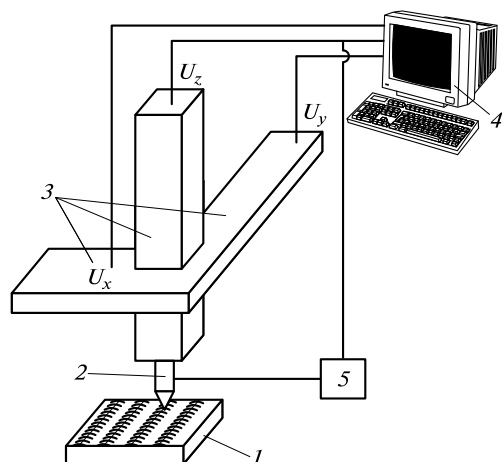


Рис. 16.3. Блок-схема сканирующего туннельного микроскопа:

1 — изучаемый объект; 2 — зонд; 3 — пьезоэлектрические стержни-манипуляторы; 4 — дисплей; 5 — система обратной связи

Электронная пушка РЭМ формирует пучок электронов с током в диапазоне $10^{-6}—10^{-3}$ А и кроссовером (минимальным сечением пучка) порядка 10 мкм. Затем этот пучок фокусирует первая — конденсорная — линза, разворачивает в растр отклоняющая система (две магнитные катушки) и окончательно фокусирует на образец вторая — объективная — линза. По образцу сканирует электронный зонд диаметром обычно менее 10 нм и током в диапазоне $10^{-12}—10^{-9}$ м (в рентгеновском микроанализе — до 1 мкА).

Выбитые из образца вторичные электроны собирает коллектор, этот сигнал после усиления модулирует пучок в электронно-лучевой трубке (или в жидкокристаллическом мониторе) с синхронной разверткой, и на экране такого дисплея формируется растровое изображение исследуемой поверхности образца.

Этот тип сканирующих микроскопов в конце XX в. был дополнен новым классом приборов — *сканирующими зондовыми микроскопами*. В отличие от сканирующего электронного микроскопа в них очень близко от поверхности образца сканирует микродатчик, фиксирующий заданные характеристики образца в той «точке», над которой этот датчик находится. Этими характеристиками могут быть, например, температура (если датчик — микротермопара), топографический рельеф, локальное магнитное поле, силы Ван-дер-Ваальса и т.д. Пространственное разрешение прибора зависит от размеров микродатчика и может быть доведено до атомных размеров в сканирующем туннельном или атомно-силовом микроскопе.

Блок-схема *сканирующего туннельного микроскопа* приведена на рис. 16.3. Три стержня-манипулятора благодаря пьезоэффекту позволяют передвигать острие-зонд по растру над поверхностью объекта (используют управляющие напряжения U_x , U_y , U_z). Если система обратной связи поддерживает полезный сигнал практически постоянным, то сохраняется неизменным и расстояние между зондом и поверхностью, поэтому напряжение U_z служит удобной мерой высоты рельефа.

Необходимо подчеркнуть важность компьютерного управления работой туннельного микроскопа, поскольку высоту иглы над образцом следует контролировать с точностью до 10^{-11} м. Например, при изменении расстояния от иглы-зонда до поверхности образца всего на 0,1 нм туннельный ток между образцом и иглой может измениться на порядок.

В *атомно-силовом микроскопе* датчиком полезного сигнала служит микропластинка, изгибающаяся под действием межмолекулярных сил. Его можно применять для исследования не только проводников, но и диэлектриков.

Основные характеристики *ионно-оптических* приборов (в том числе микроскопов) весьма схожи с электронно-оптическими. Поэтому многие закономерности электронной оптики выполняются и в оптике ионной. Важные отличия следующие:

1) масса ионов и их инерционность гораздо больше (на три с лишним порядка), поэтому ими обычно труднее управлять, особенно с помощью магнитных полей;

2) яркость ионных источников меньше, а разброс по энергиям эмиттированных ионов больше, что затрудняет фокусировку пучков в зонд малого диаметра;

3) ионы гораздо сильнее взаимодействуют не только с объектом изучения, но и с ионно-оптическими элементами (формирующими изображения), разрушая их со временем (явление «ионного распыления»).

16.5. Теоретические основы метода

В отличие от химических взаимодействий с участием связанных (валентных) электронов с энергией порядка 10^{-1} эВ в электронной микроскопии используют свободные электроны с гораздо большими энергиями. Для интерпретации изображений в электронных микроскопах или хотя бы для понимания особенностей таких изображений полезно знать основные закономерности поведения таких электронов в электромагнитных полях и характеристики их взаимодействия с различными твердыми телами.

Свободный электрон в вакууме проявляет свойства как частицы, так и волны. Поэтому для описания его движения можно использовать понятия как геометрической (электрон — «луч»), так и волновой оптики. Пройдя разность потенциалов U (В) в вакууме, электрон приобретает энергию (согласно *формуле Эйнштейна*):

$$mc^2 = m_0c^2 + eU, \quad (16.1)$$

где m — масса электрона, кг; c — скорость света в вакууме ($c = 2,9979246 \cdot 10^8$ м/с); m_0 — масса покоящегося электрона ($m_0 = 0,910939 \cdot 10^{-30}$ кг); e — заряд электрона ($e = 1,60218 \cdot 10^{-19}$ Кл).

Масса электрона возрастает с ростом его скорости v (м/с):

$$m = m_0\gamma, \quad \gamma = \frac{1}{\sqrt{1 - \frac{v^2}{c^2}}}. \quad (16.2)$$

Из приведенных формул можно точно найти скорость электрона при заданном ускоряющем напряжении. Для разгона его до скорости v нужна разность потенциалов

$$U = \frac{\gamma - 1}{2\xi}, \quad 2\xi = \frac{e}{m_0 c^2}. \quad (16.3)$$

Грубая оценка скорости v (м/с) при $U < 10\,000$ В дает

$$v \approx 6 \cdot 10^5 \sqrt{U}. \quad (16.4)$$

Поэтому электрон, прошедший разность потенциалов 1 В, приобретает скорость примерно 600 км/с. При ускоряющих напряжениях $U \ll 100$ кВ изменением массы электрона можно пренебречь.

Классический радиус r электрона-частицы можно оценить, приравняв электростатическую энергию заряженного шарика радиусом r обычной энергии тела массой m_0 :

$$m_0 c^2 = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 r}, \quad (16.5)$$

где ϵ_0 — диэлектрическая постоянная ($\epsilon_0 = 8,85419 \cdot 10^{-12}$ Ф/м).

Далее получим

$$r = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 m_0 c^2} \approx 2,8 \cdot 10^{-15} \text{ м}. \quad (16.6)$$

Длина волны λ электрона с импульсом p может быть найдена по *формуле де Бройля*:

$$\lambda = \frac{h}{p} = \frac{h}{m_0 v \gamma}, \quad (16.7)$$

где h — постоянная Планка, равная $6,62608 \cdot 10^{-34}$ Дж · с.

При малых значениях U грубая оценка длины волны (нм) дает

$$\lambda = \frac{1}{\sqrt{U}}. \quad (16.8)$$

Почти при любых реально достижимых энергиях длина волны λ электрона гораздо больше его классического радиуса r , так как $r \approx \lambda/4$ только при $U \approx 10^{18}$ В.

Для стандартного просвечивающего электронного микроскопа при ускоряющем напряжении $U = 100$ кВ длина волны электрона $\lambda = 0,0037$ нм, т.е. гораздо меньше диаметра атома водорода (равного примерно 0,1 нм). Если бы разрешение электронного микроскопа было порядка длины волны электрона (аналогично световому микроскопу), то можно было бы легко наблюдать любые атомные частицы. В действительности же наблюдать отдельные атомы — чрезвычайно сложная задача, так как качество электронных линз по сравнению со светооптическими линзами гораздо хуже: при одинаковых угловых размерах светового и электронного пучков электронные линзы создают почти на два порядка больше аберраций — искажений изображения.

При энергии 100 эВ длина волны электрона $\lambda \approx 0,1$ нм, т. е. порядка атомных размеров. Электроны таких энергий сильно дифрагируют на атомной решетке. Это свойство используют в методе дифракции медленных электронов для изучения структуры и состава поверхностных и приповерхностных слоев (глубина проникновения электронов с такой энергией очень мала).

Предельное ограничение на точность и чувствительность всех электронно-оптических систем, приборов и измерений (как и вообще на точность любых физико-химических измерений) накладывает *соотношение Гейзенберга*: среднеквадратичные величины неопределенностей проекции на ось x импульса Δp_x и координаты Δx связаны соотношением

$$\Delta p_x \Delta x \geq \frac{\hbar}{2}. \quad (16.9)$$

Для многих электронно-оптических систем (но не для электронных микроскопов) это не слишком жесткое ограничение. Для электронно-лучевых трубок чаще всего достаточна точность измерений координаты $\Delta x = 1$ мкм. Тогда относительная точность измерения скорости электронов энергией 100 эВ исходя из приведенных выше формул составит

$$\frac{\Delta v}{v} = \frac{h}{2\Delta x \sqrt{2em_0 U}} \leq 10^{-4} = 0,01\%. \quad (16.10)$$

Это довольно высокая точность, поэтому для решения задач электронной оптики (изучения движения электронов) в таких случаях можно применять законы классической механики — рассматривать траектории электронов.

Ход «лучей» (траекторий электронов) в электронных линзах отличается от хода световых лучей тем, что изменение наклона траектории к оптической оси z происходит не скачком (как преломление светового пучка на границе воздух — стекло), а более или менее плавно в той области, где градиент электрического или магнитного поля не равен нулю.

Эта область на рис. 16.4 обозначена L (линза). Такая электростатическая или магнитная линза создает изображение Y_1 предмета Y_0 . Увеличение при этом, как обычно, равно $M = Y_1/Y_0$.

Роль линзы играет ограниченный по оси z участок с сосредоточенным аксиально-симметричным (осесимметричным) электростатическим или магнитным полем. Чем меньше область, занятая таким полем, и чем больше напряженность этого поля, тем меньше фокусное расстояние линзы и больше так называемая оптическая сила.

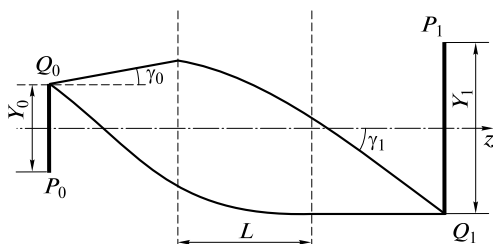


Рис. 16.4. Изображение в линзе

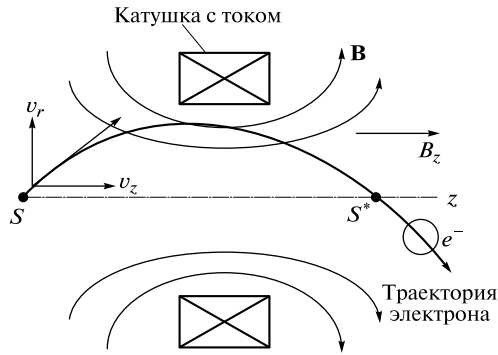


Рис. 16.5. Катушка-линза

Для сосредоточения магнитного поля на малом участке оптической оси используют так называемые бронированные линзы с полюсными наконечниками (дополнительными цилиндрическими вставками из ферромагнитного материала — концентраторами магнитного поля). Таким способом удастся получить минимальное фокусное расстояние магнитной линзы около 1 мм и полезное увеличение примерно в 300 раз при длине участка колонны с такой линзой около 30 см. Изобретение бронированной магнитной линзы — одна из главных заслуг Нобелевского лауреата Э. Руска.

Простейшая линза — это виток (или катушка), по которому течет ток (рис. 16.5). Пусть слева вдоль оси z в меридиональной плоскости (плоскости чертежа) в такую катушку влетает электрон. Его скорость можно разложить на осевую v_z и радиальную v_r компоненты. Взаимодействие радиальной компоненты магнитного поля B_r с осевой компонентой скорости v_z обуславливает вращение электрона в азимутальной (перпендикулярной плоскости чертежа) плоскости со скоростью v_ψ (т.е. $[v_z \times B_r] \Rightarrow v_\psi$), а взаимодействие этой азимутальной скорости и продольной компоненты поля B_z обеспечивает появление радиальной компоненты скорости ($[v_\psi \times B_z] \Rightarrow v_r$), т.е. фокусировку пучка.

Именно продольная компонента магнитного поля B_z (Гс) определяет фокусное расстояние f (м) осесимметричной линзы, ее оптическую силу D и угол поворота изображения относительно предмета $\Delta\psi$ (рад). Формулы для расчета фокусного расстояния и поворота изображения, созданного электронами с ускоренным напряжением $e\Phi$ (В):

$$D = \frac{1}{f} = \frac{220}{\Phi} \int_{-\infty}^{+\infty} B_z^2(z) dz, \quad \Delta\psi = \frac{14,8}{\sqrt{\Phi}} \int_{-\infty}^{+\infty} B_z(z) dz. \quad (16.11)$$

Приближенное построение и расчет изображения для тонкой линзы можно осуществить, используя метод и формулу Ньютона (рис. 16.6). Из подобия треугольников следует:

$$M = \frac{Y_1}{Y_0} = \frac{f}{Z_0} = \frac{Z_1}{f}, \quad Z_0 Z_1 = f^2. \quad (16.12)$$

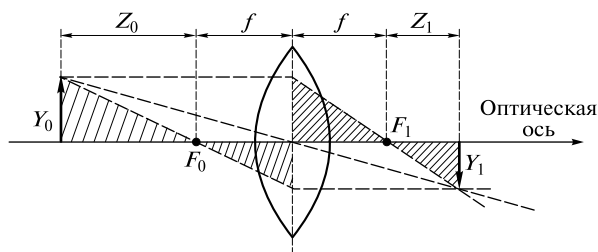


Рис. 16.6. Вывод формулы Ньютона

Если отсчитывать положения предмета и изображения от соответствующих фокальных точек, то формула Ньютона для заданных линзы и предмета Z_0 позволяет легко определить положение изображения Z_1 и его увеличение M .

Для формирования изображений в электронной микроскопии используют так называемые *параксиальные пучки*: траектории электронов в таких пучках близки к оси и идут под малыми углами к оси (апертурные углы пучков порядка долей градуса или менее сотой доли радиана). Параксиальный пучок формирует *стигматическое изображение*: обеспечивается взаимно однозначное соответствие «точка пространства предметов» $\Leftrightarrow$ «точка пространства изображений». Однако из-за малого телесного угла раскрытия пучков (малого плоского апертурного угла при вершине конуса пучка, исходящего из точки предмета) яркость изображения невелика. К тому же параксиальные пучки — приосевые, т.е. ограничено поле зрения предмета и поле изображения. Чтобы увеличить апертурные углы изображающих пучков, придется отказаться от условия параксиальности. Однако при этом неизбежно возникнут aberrации.

Аберрации возникают даже при использовании параксиальных пучков:

- 1) в результате дифракции электронов на ограничивающих пучок диафрагмах;
- 2) вследствие так называемой хроматической аберрации (зависимости фокусного расстояния линзы от энергии электронов);
- 3) в результате влияния пространственного заряда на движение электронов (при больших токах пучка);
- 4) вследствие приосевого астигматизма — искажения изображения из-за нарушения строгой аксиальной симметрии формирующих изображение полей.

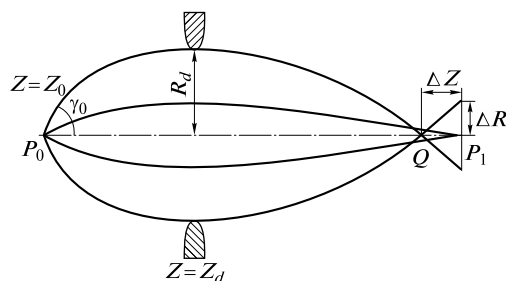


Рис. 16.7. Сферическая аберрация

Практически невозможно изготовить круглые отверстия с допуском на эллиптичность менее 1 мкм, поэтому приосевой астигматизм существует всегда. Его компенсируют с помощью стигматоров — неосесимметричных систем (например, четырех- или восьмиполюсных магнитов для компенсации астигматизма магнитных линз).

Самая важная и почти неустранимая aberrация — сферическая, она превращает изображение «точки» предмета в кружок, даже если точка предмета лежит на оси линзы. На рис. 16.7 показаны точка предмета P_0 и точка изображения P_1 , сформированная параксиальным пучком.

Если пучок заполняет все отверстие ограничивающей диафрагмы радиусом R_d (апертурный угол γ_0 велик), то появляется сферическая aberrация: продольная ΔZ и поперечная ΔR . Крайние «лучи» пересекают ось раньше (в точке Q), чем параксиальные. Поэтому вместо «точки» P_1 в плоскости изображения возникает кружок рассеяния, радиус которого пропорционален кубу апертурного угла γ_0 .

16.6. Рентгеновский микроанализ

Регистрация и анализ рентгеновского излучения — это обычно основной метод определения состава микрообъемов ($\sim 10^{-18}$ м³) образца, исследуемого в растровом электронном микроскопе с приставкой для детектирования рентгеновского излучения (так называемый *рентгеновский микроанализ*). Поэтому важно знать основные закономерности не только возникновения, но и регистрации такого излучения.

Чаще всего в качестве длины пробега электронов в образце используют глубину проникновения R_e электронов. Для расчета глубины проникновения (мкм) предложена формула

$$R_e = \frac{0,0276A}{\rho Z^{0,889}} E_0^{1,67}, \quad (16.13)$$

где A — атомная масса, а. е. м.; ρ — плотность вещества, г/см³; Z — атомный номер; E_0 — энергия первичного электрона, кэВ.

Расчетная зависимость R_e от энергии падающих электронов E_0 для различных веществ представлена на рис. 16.8.

Во всей области потерь энергии (в результате неупругого рассеяния) протекают разнообразные вторичные процессы: могут генерироваться вторичные электроны, фононы, кванты излучения, причем размер области генерации в каждом конкретном случае определяется энергией активации рассматриваемого процесса. Например, размер (объем) области генерации квантов рентгеновского излучения будет существенно меньше размера области генерации квантов светового излучения, так как энергетический порог генерации рентгеновского излучения обычно более 1 кэВ, а для генерации светового кванта достаточно энергии первичного или рассеянного внутри образца электрона, т. е. несколько электрон-вольт.

Размеры области генерации нужно знать прежде всего для того, чтобы оценить локальность (или разрешение) при исследовании заданного образца с

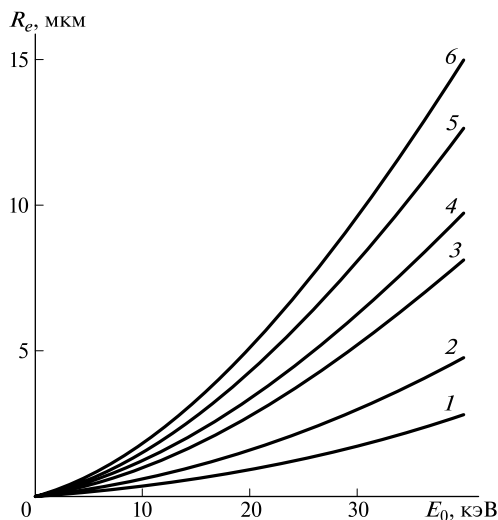


Рис. 16.8. Глубина проникновения (R_e) электронов в образец в зависимости от их энергии (E_0) для разных веществ:

1 — Au; 2 — Cu; 3 — GaAs; 4 — ZnS; 5 — Al; 6 — Si

регистрацией аналитического сигнала определенного вида. Чтобы оценить размер области генерации, вводят понятие *пробег* — длина пути электронов в веществе до их полной остановки. Пробег определяют различными способами.

Рентгеновское излучение возникает при неупругом рассеянии электронов в образце (рассеяние с потерей энергии) из-за двух разных процессов. Во-первых, торможение электрона в кулоновском поле ядра сопровождается генерацией непрерывного (тормозного) рентгеновского излучения с энергией квантов в интервале от нуля до E_0 , т.е. почти до энергии электронов первичного пучка, причем большинство электронов пучка теряют энергию различными порциями за несколько актов взаимодействия с атомами образца.

Связь энергии рентгеновского кванта E (кэВ) с длиной его волны λ (нм) такова:

$$\lambda = hc/E \approx 1,2399/E. \quad (16.14)$$

Для анализа состава образцов приходится использовать спектрометры рентгеновского излучения с дисперсией как по энергии, так и по длине волны. Энергия рентгеновского кванта максимальна, если вся энергия первичного электрона поглощается за одно соударение. При этом длина волны минимальна — это так называемый коротковолновый предел ($\lambda_{\min}$).

Регистрируя непрерывное излучение, можно судить о вариациях среднего атомного номера в исследуемом образце, поскольку при изменении атомного номера меняется интенсивность на всех длинах волн, но этим способом нельзя определить точное значение Z (и соответственно элементный состав образца). Непрерывный спектр возникает при электронном облучении любого образца, и при рентгеновском микроанализе состава этот спектр нужно учитывать как фон, определяющий предельную чувствительность метода (при регистрации

характеристического излучения с целью обнаружения заданного элемента в образце).

Характеристическое рентгеновское излучение возникает из-за взаимодействия электронов пучка с электронами внутренних оболочек атомов образца. При достаточно большой энергии электрон пучка может выбить электрон из внутренних K -, L -, M -оболочек, и атом переходит в возбужденное или ионизированное состояние. Возвращаясь в исходное невозбужденное состояние благодаря переходу внешнего электрона на появившуюся вакансию, атом испускает либо фотон характеристического рентгеновского излучения, либо электрон внутренней конверсии — так называемый *оже-электрон* (рис. 16.9).

Энергия фотона равна разности энергий атома до и после процесса испускания; она однозначно связана с атомным номером, поэтому характеристическое излучение позволяет идентифицировать данный элемент в образце.

Обычные обозначения характеристического излучения, возникающего из-за электронных переходов между различными оболочками, следующие: K_α — при переходе с оболочки L на оболочку K ; K_β — с оболочки M на K ; L_α — с оболочки M на L . При этом энергия фотонов равна

$$E_{K_\alpha} = E_K - E_L, \quad E_{K_\beta} = E_K - E_M, \quad E_{L_\alpha} = E_L - E_M.$$

Поскольку $E_K > E_L > E_M$, то электрон с энергией $E > E_K$ может выбить электроны из любых оболочек, и, казалось бы, спектр должен содержать все линии для каждого элемента, однако в действительности спектр гораздо проще из-за ограничения числа возможных переходов правилами отбора, известными из квантовой механики. Энергия электрона на каждой оболочке однозначно определена, поэтому четко определена и минимальная энергия, необходимая для генерации вакансии на этой оболочке, — *критическая энергия ионизации* ($E_{кр}$).

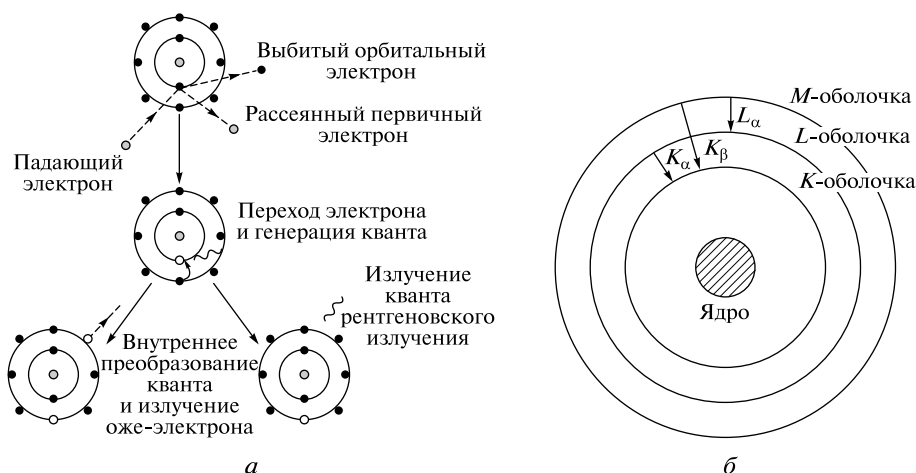


Рис. 16.9. Генерация характеристического рентгеновского излучения и оже-электронов:

a — схемы процессов возбуждения; b — электронные переходы в атоме

Относительную интенсивность рентгеновского излучения (*выход флуоресценции*) обычно обозначают ω . Для каждой оболочки выход флуоресценции зависит от отношения числа рентгеновских фотонов (в этой серии), испущенных за некоторое время, к числу образовавшихся за это же время вакансий в этой оболочке. Выход флуоресценции возрастает для каждой оболочки с ростом атомного номера (рис. 16.10).

Энергетические уровни оболочек меняются дискретно при переходе от одного элемента к другому. Длина волны λ возбужденного характеристического рентгеновского излучения уменьшается с увеличением атомного номера Z в соответствии с *законом Мозли*:

$$\lambda = K/(Z - \sigma)^2. \quad (16.15)$$

где K, σ — постоянные в пределах одной серии величины.

На рис. 16.11 показан вариант использования разных линий для идентификации элементов. Например, для анализа элементов от бериллия ($Z = 4$) до германия ($Z = 32$) обычно используют линии серии K_α , для более тяжелых — линии L_α .

Интенсивность любой спектральной линии характеристического излучения (как и тормозного) пропорциональна току пучка i :

$$I_m \propto i(E_0/E_{кр} - 1)^n, \quad (16.16)$$

где $n = 1,4 - 1,7$ (по разным экспериментальным данным) для массивных образцов.

Видно, что интенсивность рентгеновского излучения зависит от параметра $U_x = E_0/E_{кр}$, называемого *перенапряжением*. Достаточная интенсивность излучения достигается при $U_x \geq 2$.

В спектральном анализе очень важен показатель — отношение интенсивности спектральной линии к интенсивности линии фона I_m/I_λ . Это отношение не зависит от тока пучка:

$$I_m/I_\lambda = \frac{(E_0/E_{кр} - 1)^n}{Z(E_0/E - 1)}. \quad (16.17)$$

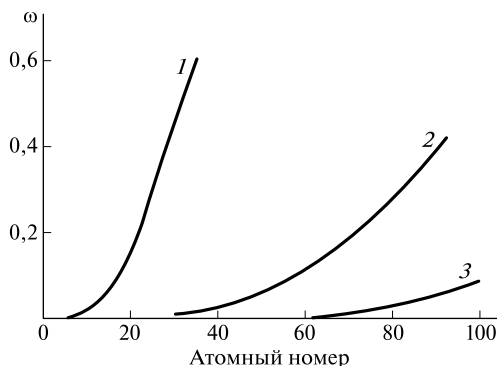


Рис. 16.10. Зависимость выхода флуоресценции от атомного номера для оболочки K (1), L (2), M (3)

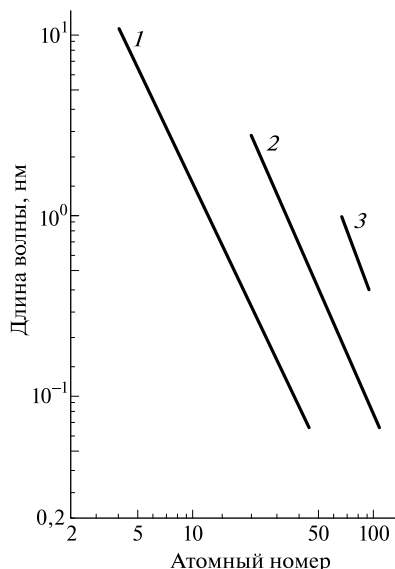


Рис. 16.11. Закон Мозли для характеристических линий $K_{\alpha 1}$ (1), $L_{\alpha 1}$ (2), M_{α} (3)

Полагая, что энергия характеристической линии близка к критической $E \approx E_{\text{кр}}$, получаем

$$I_m/I_\lambda \propto \frac{(E_0/E_{\text{кр}} - 1)^{n-1}}{Z} = \frac{(U_x - 1)^{n-1}}{Z}. \quad (16.18)$$

Это отношение возрастает при увеличении перенапряжения и, казалось бы, выгодно использовать большие перенапряжения. Однако при возрастании энергии электроны глубже проникают в образец, увеличивается размер области генерации излучения, и оно сильнее поглощается при выходе, т.е. уменьшаются полезный сигнал и чувствительность. Поэтому нужно подбирать оптимальное значение $U_x = E_0/E_{\text{кр}}$.

16.7. Аналитическая электронная микроскопия

Основные задачи так называемой аналитической электронной микроскопии — получение качественной и количественной информации о важнейших химических процессах на поверхности исследуемых веществ: физической и химической адсорбции, окислении, коррозии, пассивации, диффузии, сегрегации, реакционной способности и др. Такая информация очень важна для разработки и производства новых катализаторов, тонкопленочных структур и приборов, миниатюрных датчиков для газоанализаторов, композиционных материалов и т.д.

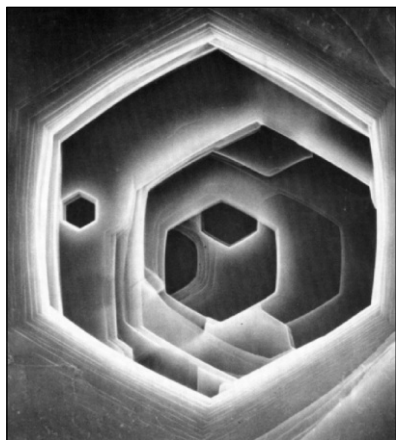
Обычно нужно определить топологию и морфологию поверхности образца или межфазных границ, элементный состав, структуру как геометрическую, так и электронную, химические связи и динамику их развития (исследования



а



б



в

Рис. 16.12. Изображения, полученные с помощью растрового электронного микроскопа:

а — каолин ($\times 10\,000$); *б* — кристаллы оксида меди(II), полученные методом химического газозаимного осаждения ($\times 160$); *в* — пиролизный графит ($\times 1\,000$)

in situ). Поскольку в одном атомном слое содержится около 10^{15} атомов на 1 см^2 , то в аналитической области площадью 1 мкм^2 будет всего лишь $\sim 10^7$ атомов или молекул. Если требуется определить компонент с содержанием 0,1 %, то в такой аналитической области будет около 10 000 нужных атомов. При этом ожидаемая точность определения будет порядка 1 % (из-за статистического шума, даже если измерения проводить с помощью идеального прибора). Поэтому для таких исследований нужны весьма сложные и дорогие приборы, тщательно отработанные физико-химические методы и очень опытные операторы-исследователи.

В аналитических исследованиях такого рода используют более 30 методов. Помимо электронной микроскопии это — вторично-ионная масс-спектрометрия, инфракрасная спектроскопия, спектроскопия комбинационного (рамановского) рассеяния, оже-спектроскопия и т. д.

В аналитической электронной микроскопии используют изложенные выше методы просвечивающей и растровой электронной микроскопии, отражательной электронной микроскопии, дифракцию быстрых (энергией более 10 кэВ)

и медленных (менее 1 кэВ) электронов, спектроскопию энергетических потерь прошедших (сквозь тонкопленочный образец) или отраженных электронов, рентгеновский микроанализ.

Пределы обнаружения нужного элемента в лучшем случае могут составлять 10^{-20} г. Пространственное разрешение для тонкопленочных образцов при этом может быть порядка 10 нм.

Используют также методы послойного анализа: образец облучают ионным пучком, выбивающим атомы (молекулы) из поверхностного слоя образца, и исследуют поверхность после удаления (распыления) каждого монослоя.

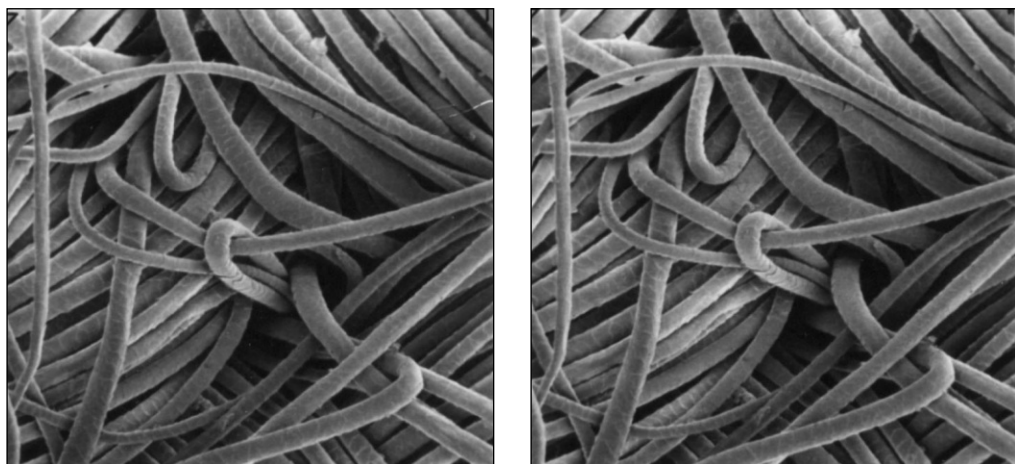


Рис. 16.13. Стереоскопическое изображение пучка волокон, полученное с помощью растрового электронного микроскопа ($\times 100$)

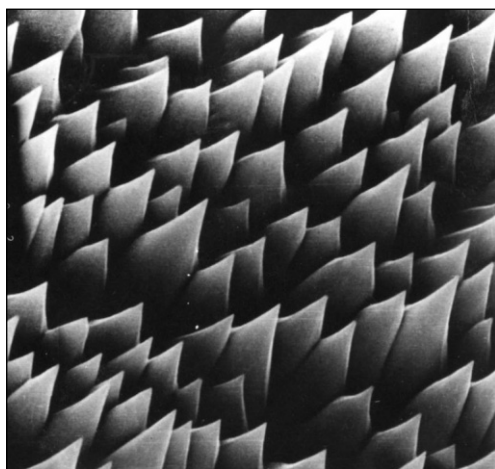


Рис. 16.14. Изображение полированного монокристалла меди после обработки пучком ионов аргона, полученное с помощью растрового электронного микроскопа ($\times 1\,000$); метод обработки разработан Л. Б. Шелякиным

При этом нужно учитывать артефакты (новообразования), возникающие из-за взаимодействия пучка с образцом.

На рис. 16.12—16.14 приведены электронно-микроскопические изображения, полученные с помощью растрового электронного микроскопа.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Каков порядок величины объема, массы и концентрации веществ, с которыми работают в различных методах аналитической микроскопии?
2. Чем отличаются образцы для исследований в просвечивающей и растровой электронной микроскопии?
3. В какой области и почему для исследований нужны тонкие образцы?
4. Чем отличаются туннельная и атомно-силовая микроскопия?
5. В чем заключается рентгеновский микроанализ? Каковы его основные характеристики?
6. Приведите и объясните формулу Ньютона для расчета положения изображения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Миронов В. Основы сканирующей зондовой микроскопии / В.Миронов. — М. : Техносфера, 2004.

Петров В. И. Просвечивающая электронная микроскопия / В. И. Петров, А. Е. Лукьянов. — М. : Изд-во МГУ, 2002.

Петров В. И. Сканирующая микроскопия / В. И. Петров, А. Е. Лукьянов. — М. : Изд-во МГУ, 2001.

Практическая растровая электронная микроскопия / под ред. Дж.Гоулдстейна, Х.Яковица ; пер. с англ. — М. : Мир, 1978.

Хокс П. Электронная оптика и электронная микроскопия / П.Хокс ; пер. с англ. — М. : Мир, 1974.

МЕТОДЫ ЛОКАЛЬНОГО АНАЛИЗА И АНАЛИЗА ПОВЕРХНОСТИ

17.1. Основные понятия

Необходимость развития новейших технологий обусловила актуальность методов анализа поверхности и межфазных границ (внутренних поверхностей). Роль анализа поверхности и межфазных границ в современной аналитической химии велика, поскольку он позволяет получить информацию о фундаментальных химических процессах, происходящих на поверхности: коррозии, адсорбции, хемосорбции, окислении, пассивации, диффузии, сегрегации, а также о реакционной способности веществ.

Анализ поверхностей и межфазных границ наиболее важен для материаловедения, особенно для разработки и производства катализаторов, полупроводников, устройств микроэлектроники, металлов, керамик, стекол, тонкопленочных структур, полимеров и композиционных материалов. Для решения различных задач материаловедения необходим анализ поверхностных слоев толщиной от долей одного атомного слоя до нескольких микрометров (последнюю задачу часто называют анализом тонких пленок).

Для практических целей удобно разделить понятия *физической поверхности* — крайнего слоя (слоев) материала, термодинамические свойства которого отличаются от свойств вещества в объеме, и *технической поверхности* — внешних зон материала, обладающих свойствами, отличными от свойств материала во внутренних областях (рис. 17.1). Поверхности и межфазные границы существенным образом определяют свойства материалов.

Особые свойства физической поверхности обусловлены тем фактом, что химические взаимодействия атомов во внешнем слое не скомпенсированы, поэтому эти атомы испытывают структурную перестройку (релаксацию, перегруппировки) и обладают высокой реакционной активностью. Физическая поверхность в существенной степени определяет поверхностную реакционную способность материала.

Поверхностные реакции, подобные коррозионным процессам, могут проникать далеко в глубь материала. В материале возникают определенные структуры, выходящие за рамки размерностей физической поверхности. Они обуславливают специфические механические, оптические и электрические свойства материала. Поэтому исследование таких систем не ограничивается анализом только внешнего атомного слоя, но требует также анализа приповерхностных зон гораздо большей толщины.

Не только поверхности отличаются по своим свойствам от вещества в объеме, но и различные межфазные границы, определяемые как границы раздела двух конденсированных фаз. В науках о материалах в основном изучают границы

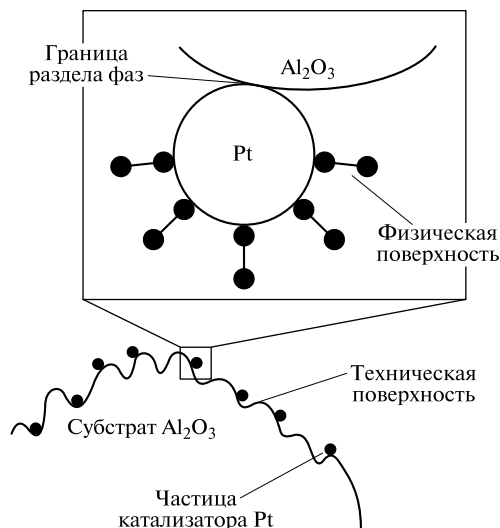


Рис. 17.1. Схема поверхности и границы раздела фаз (физическая поверхность — внешний слой материала; техническая поверхность — совокупность внешних зон материала)

между двумя твердыми фазами и иногда, в частности в электрохимии, между жидкой и твердой фазами.

Межфазные границы представляют собой «внутренние» поверхности, определяющие многие свойства материалов, такие как коррозионный потенциал и механическая прочность. Анализ межфазных границ тесно связан с анализом поверхности. В некоторой степени для анализа межфазных границ используют те же методы, что и для анализа поверхности. Однако в первом случае дополнительно требуется высокое пространственное разрешение (локальность) методов (на уровне 10^{-9} — 10^{-6} м), основанных на тех же или подобных процессах генерации сигналов, которые используют и при анализе поверхности.

При выборе метода анализа поверхности или межфазных границ следует учитывать не только тип требуемой информации, но и специфические свойства малой пространственной области, которую нужно исследовать.

Обычно свойства поверхностей и межфазных границ определяются следующими факторами:

- топология, морфология;
- элементный состав;
- химические связи;
- структура (геометрическая и электронная).

Эту информацию требуется получить из малых пространственных областей: единиц атомного слоя — при определении параметров физической поверхности, нанометровых участков — при анализе межфазных границ, участков с нанометровыми продольными и поперечными размерами — при анализе технических поверхностей (тонких пленок). Следовательно, исследуемое число атомов или молекул очень мало: в одном атомном слое содержится

порядка 10^{15} атомов на 1 см^2 . В аналитической области такого слоя размером, например, 1 мкм^2 число атомов или молекул составляет порядка 10^7 . Кроме того, следует учесть, что часто необходимо определять микроколичества элементов на поверхности.

Значит, при определении компонента концентрацией $10^{-3}\%$ на участке 1 мкм^2 одного атомного слоя будет находиться всего около 100 атомов или молекул исследуемого вещества. Только обладающие уникальными аналитическими характеристиками физические методы могут соответствовать высоким требованиям анализа поверхности и межфазных границ.

Этим требованиям — широкому объему получаемой информации, высокой локальности и низким абсолютным и относительным пределам обнаружения — могут соответствовать только физико-химические и физические методы, основанные на взаимодействии фотонов, электронов, ионов и электромагнитных полей с изучаемым материалом. Химические методы используют довольно редко, в частности для травления поверхностей.

В результате взаимодействия вещества с указанными физическими агентами генерируются различные аналитические сигналы, содержащие химическую информацию о поверхностях и межфазных границах.

Для получения необходимой химической информации из малой пространственной области образца и из еще меньшего количества вещества требуется значительное число методов и подходов, поскольку каждый из них обладает своими специфическими возможностями и недостатками. Вследствие сильно различающихся требований к анализу необходимо большое число разнообразных методов с различными возможностями и характеристиками.

В настоящее время для анализа поверхности и межфазных границ реально используют более 30 методов, около 15 из них считаются основными. Наиболее значимыми методами, широко используемыми в промышленности, являются рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (см. гл. 15), электронная оже-спектроскопия (см. гл. 16), масс-спектрометрия вторичных ионов (см. гл. 9) и спектроскопия Резерфордского обратного рассеяния, используемые для анализа состава поверхности, растровая электронная микроскопия (см. гл. 9) для исследования морфологии поверхности, аналитическая электронная микроскопия (см. гл. 9) для анализа межфазных границ, ИК и КР спектроскопия (см. гл. 8) для молекулярного поверхностного и межфазного анализа.

Соответствующая группа методов исследования получила название «методы локального анализа и анализа поверхности» (МЛААП).

Как определить химический состав выбранного микрообъема исследуемого объекта? Поскольку примесная неоднородность характерна только для твердых объектов, подавляющее большинство МЛААП — это методы анализа твердых проб. Главная проблема МЛААП — достижение локальности определений.

Все существующие способы достижения локальности можно разделить на две группы. Первую группу составляют способы достижения локальности, основанные на взаимодействии потоков заряженных частиц и электромагнитного излучения с веществом пробы, не вызывающие изменений в облучаемом объеме пробы. Соответствующие методы локального анализа и анализа поверхности называют *неразрушающими*. После анализа проба остается в неизменном виде. Вторая группа способов достижения локальности представляет собой, по существу, локальный пробоотбор, т. е. локальный микрообъем либо

выделяют из пробы, либо переводят в другую аналитическую форму — раствор, атомный пар, плазму и т.п. Методы локального анализа и анализа поверхности, использующие эти способы, называют *разрушающими*.

17.2. Неразрушающие методы

Большинство неразрушающих методов локального анализа и анализа поверхности основано на возбуждении аналитического сигнала концентрированными потоками заряженных частиц или электромагнитного излучения. Общая схема аппаратной реализации подобных методов показана на рис. 17.2. Для возбуждения аналитического сигнала используют заряженные элементарные частицы (чаще всего электроны) или ионы легких атомов (водорода, гелия).

Наиболее разработанными как в аппаратном, так и в методическом отношении являются неразрушающие МЛААП, основанные на использовании пучков электронов средних (5—50 кэВ) энергий. В этом случае в камере 6 (см. рис. 17.2) должен быть достаточно высокий (от 10^{-9} до 10^{-5} мм рт. ст.) вакуум, возбуждающее излучение 2 представляет собой поток электронов. Локальность возбуждения аналитического сигнала обусловлена тем, что размер области, в которой первичные электроны тормозятся до тепловых скоростей, составляет 10^{-7} — 10^{-5} м в зависимости от состава исследуемого объекта 3. Взаимодействуя с веществом объекта, первичные электроны вызывают целый ряд вторичных процессов. На рис. 17.3 приведена схема основных вторичных процессов, возникающих при электронном облучении.

Упругие взаимодействия лежат в основе методов исследования кристаллической структуры объекта (см. гл. 11). Методы определения химического состава основаны на регистрации характеристик некоторых процессов неупругого характера, например, вызванного облучением испускания квантов электромагнитного излучения различных диапазонов (см. гл. 8) или эмиссии вторичных электронов (см. гл. 15, 16). Существенной особенностью процессов, возникающих в результате электронного облучения, является то, что все они

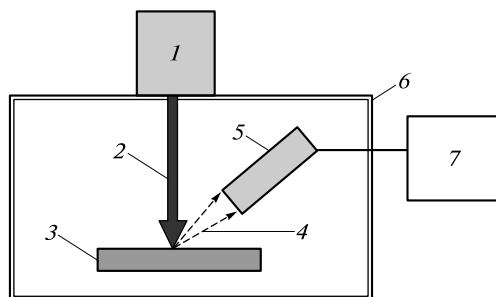


Рис. 17.2. Схема прибора для локального анализа и анализа поверхности:

1 — источник первичного излучения; 2 — пучок первичного излучения; 3 — исследуемый объект; 4 — вторичные излучения; 5 — детектор (спектрометр) вторичных излучений; 6 — камера образцов; 7 — устройство сбора и обработки информации (в зависимости от конкретного метода, давление в камере образцов может изменяться от атмосферного до 10^{-9} мм рт. ст.)

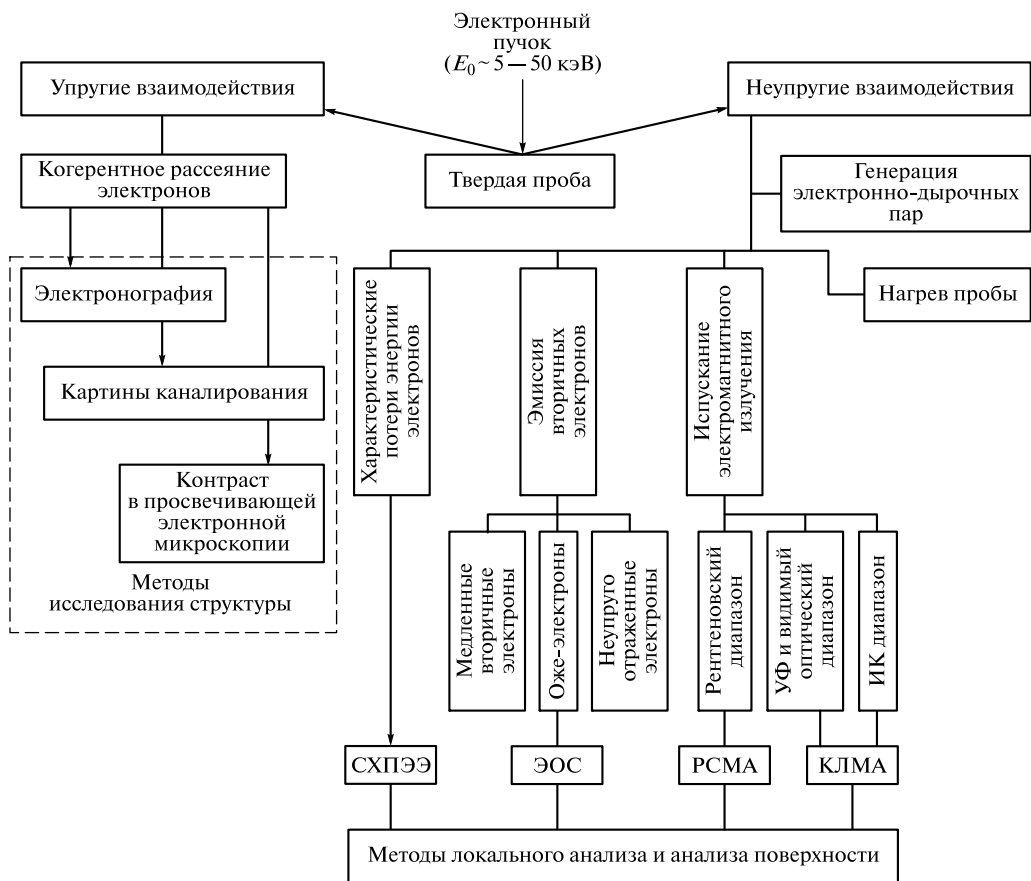


Рис. 17.3. Процессы, возникающие в твердой пробе при облучении электронами средних (5—50 кэВ) энергий (СХПЭЭ — спектроскопия характеристических потерь энергии электронов; ЭОС — электронная оже-спектроскопия; РСМА — рентгеноспектральный микроанализ; КЛМА — катодолуминесцентный микроанализ)

происходят параллельно, только с различной вероятностью. Это позволяет, меняя детектор 5 (см. рис. 17.2), проводить анализ различными методами. На практике в камере устанавливают несколько детекторов, предназначенных для регистрации характеристик различных процессов. Так, если детектор 5 является рентгеновским спектрометром, то возможен рентгеноспектральный микроанализ. Устанавливая электронный спектрометр, получают возможность проводить анализ методом электронной оже-спектроскопии. Применяя оптический спектрометр видимого и (или) ближнего инфракрасного диапазона, можно реализовать катодолуминесцентный микроанализ.

В качестве количественной характеристики МЛААП используют специальную величину, в отечественной литературе получившую название «локальность». В общем случае под *локальностью* понимают линейный размер микрообъема, из которого с заданной вероятностью регистрируется $(1 - S_r) 100\%$ аналитического сигнала, где S_r — относительное стандартное отклонение измеренной величины аналитического сигнала. Подобное определение локаль-

ности связано с тем, что в неразрушающих МЛААП границы области, из которой регистрируется аналитический сигнал, являются размытыми и требуется определенное соглашение.

Поскольку часто размер анализируемого микрообъема различен в направлении возбуждающего пучка и перпендикулярном к нему, для более детального описания размеров анализируемого микрообъема используют две величины: *продольную локальность* — размер анализируемого микрообъема в направлении возбуждающего пучка и *латеральную* (или *поперечную*) *локальность* — размер этого микрообъема в перпендикулярном пучку направлении. Если пучок падает на плоский исследуемый объект под прямым углом (чаще всего именно такая схема реализуется в приборах), то продольная локальность характеризует анализируемый объем в направлении в глубь образца, а поперечная — в плоскости, параллельной его поверхности.

Рассмотрим эти величины на примере рентгеноспектрального микроанализа и электронной оже-спектроскопии (рис. 17.4). Размер области *I* торможения пучка первичных электронов в веществе пробы определяется энергией электронов зонда E_0 и средним атомным номером вещества пробы, т.е. ее химическим составом. Характеристическое рентгеновское излучение данного элемента возбуждается только электронами, энергия которых превосходит потенциал ионизации соответствующей внутренней электронной оболочки атома — так называемый критический потенциал ионизации ($E_{кр}$). Например,

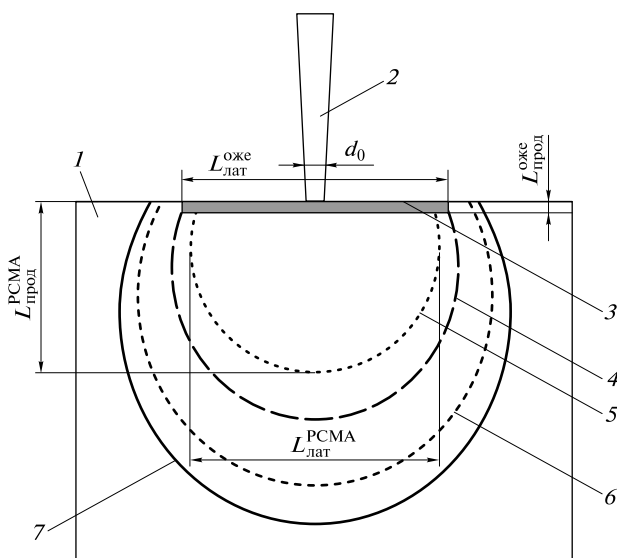


Рис. 17.4. К понятию «локальность определения»:

I — исследуемый образец; 2 — электронный зонд; 3 — область, выходящие из которой в направлении спектрометра оже-электроны дают вклад в аналитический сигнал; 4 — граница области генерации характеристического рентгеновского излучения элемента; 5 — граница области, из которой характеристическое рентгеновское излучение определяемого элемента может быть зарегистрировано; 6 — область, в которой возникают оже-электроны определяемого элемента; 7 — граница области торможения первичных электронов (d_0 — эффективный диаметр электронного зонда; показаны продольная и латеральная локальности для рентгеноспектрального микроанализа ($L_{прод}^{PCMA}$, $L_{лат}^{PCMA}$) и электронной оже-спектроскопии ($L_{прод}^{оже}$, $L_{лат}^{оже}$))

для излучения K -серии меди имеем $E_{кр} \approx 8$ кэВ. Поэтому размер области, в которой возбуждается характеристическое рентгеновское излучение, будет меньше, чем размер области торможения. На рис. 17.4 граница этой области обозначена линией 4. На пути от места генерации внутри области 4 к поверхности образца излучение ослабляется. Поэтому кванты, рожденные в наиболее удаленных от поверхности частях области 4, могут не достигнуть детектора. В результате этого размер области, из которой регистрируется сигнал, в общем случае будет меньше размера области, в которой он генерируется (на рис. 17.4 граница области, из которой регистрируется аналитический сигнал, обозначена линией 5). Именно размеры этой области определяют продольную $L_{\text{прод}}^{\text{PCMA}}$ и латеральную $L_{\text{лат}}^{\text{PCMA}}$ локальности рентгеноспектрального микроанализа. Например, для линии K_{α} железа при $E_0 = 20$ кэВ имеем $L_{\text{прод}}^{\text{PCMA}} \approx L_{\text{лат}}^{\text{PCMA}} \approx \approx 2,4$ мкм, если эффективный диаметр зонда d_0 пренебрежимо мал по сравнению с этим значением, например $d_0 = 0,1$ мкм. Рассмотренный пример демонстрирует важную особенность неразрушающих МЛААП: локальность зависит не от параметров прибора, а от характеристик процессов взаимодействия первичного и вторичного излучений с веществом пробы.

Аналогичная ситуация будет наблюдаться и в случае электронной оже-спектроскопии. На рис. 17.4 линией 6 обозначена граница области, в которой генерируются оже-электроны определяемого элемента. Оже-электроны при распространении в веществе взаимодействуют с электронными оболочками атомов неупругим образом, т.е. при этом изменяется их энергия. Поскольку именно их энергия является единственным характеристическим параметром, позволяющим идентифицировать химические элементы в составе пробы, то такой электрон с измененной энергией уже неотличим от других электронов, образовавшихся в результате иных процессов вторичной эмиссии. Если электронный спектрометр настроен на линию, соответствующую оже-переходу определяемого элемента, то электрон, испытавший даже однократное взаимодействие с атомами пробы, если и вылетит из образца в пределах угла сбора спектрометра, то не даст вклада в сигнал. Поэтому аналитический сигнал в электронной оже-спектроскопии будет регистрироваться только из тонкого слоя, который на рис. 17.4 обозначен линией 3. В этом случае продольная локальность $L_{\text{прод}}^{\text{оже}}$ определяется толщиной этого слоя и составляет 10^{-9} м вне зависимости от энергии первичного пучка электронов. Латеральная локальность $L_{\text{лат}}^{\text{оже}}$ определяется размером области рассеяния первичных электронов в направлении, параллельном поверхности в пределах слоя 6. По этой причине даже при идеально сфокусированном электронном зонде (оже-микрозонде) $L_{\text{прод}}^{\text{оже}} < L_{\text{лат}}^{\text{оже}}$. В этом случае латеральная локальность может составлять 10^{-3} м, а продольная локальность остается неизменной. Аналогичная ситуация имеет место в рентгенофотозлектронной спектроскопии.

17.3. Разрушающие методы

В разрушающих методах локального анализа и анализа поверхности реализована идея локального пробоотбора. Основным «инструментом» чаще всего

является селективное травление. В качестве примера рассмотрим прием, называемый *разложением в газовой фазе*. В настоящее время он широко используется для исследования поверхностных загрязнений кремниевых пластин в микроэлектронике. Скорость травления поверхности диоксида кремния в плавиковой кислоте превосходит скорость травления монокристаллического кремния примерно в 2000 раз. Учитывая реальную толщину (около 5 нм) образца диоксида кремния, можно утверждать, что за время полного травливания SiO_2 практически не происходит травления самого кремния. Из-за высокой стоимости пластины и последующих технологических операций необходим контроль качества исходной пластины. После контроля она должна быть пригодна для дальнейших технологических операций. Схема метода представлена на рис. 17.5.

Кремниевая пластина, покрытая диоксидом кремния, помещается в атмосферу паров плавиковой кислоты. В результате взаимодействия с диоксидом кремния кислота конденсируется на поверхности пластины, растворяя SiO_2 вместе с загрязнениями. На следующем этапе растворенный диоксид кремния собирают микрокаплей, содержащей плавиковую кислоту, перекись водорода и воду. Затем капля высыхает непосредственно на пластине, после чего осадок может быть проанализирован различными методами: как МЛААП, так и методами объемного анализа.

Описанная процедура может быть полностью автоматизирована и совмещена с аналитическим прибором. Таким способом возможно определение 30—40 элементов в слоях SiO_2 и Si_3N_4 .

Более универсальным приемом является использование ионного травления. Ионы с энергией $\sim 10^4$ эВ разрушают поверхностный слой твердой пробы, выбивая атомы пробы (явление *катодного распыления*). Поскольку пробег ионов таких энергий в веществе пробы сопоставим с межатомными расстояниями, процесс травления приводит к послойному распылению атомов пробы. При этом большая часть атомов пробы выходит в виде нейтральных частиц, меньшая оказывается ионизированной. Последнее обстоятельство лежит в основе одного из наиболее распространенных разрушающих МЛААП — *масс-спектрометрии вторичных ионов*. В этом методе в качестве первичного пучка (см. рис. 17.4) используют ионы аргона, кислорода или цезия, а в качестве детектора 5 — масс-спектрометр. Масс-спектры вторичных ионов

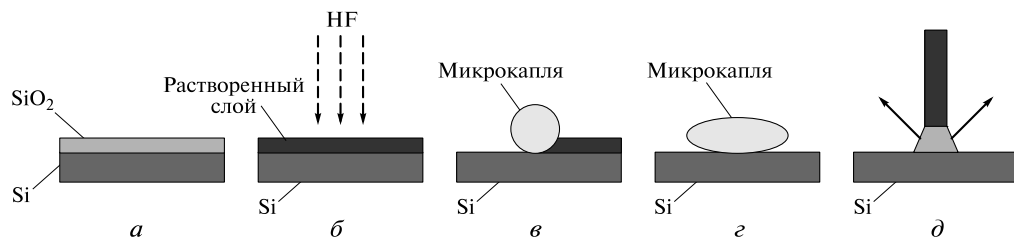


Рис. 17.5. Схема процесса разложения диоксида кремния в паровой фазе:

а — исходная пластина кремния со слоем оксида кремния SiO_2 ; *б* — травление в паровой фазе (конденсация паров HF на пластине, растворение оксидного слоя); *в* — сбор загрязнений с помощью микрокапли объемом 10^{-4} л, содержащей HF , H_2O_2 и H_2O ; *г* — сушка микрокапли при давлении 10^4 Па и температуре 50°C ; *д* — анализ методами РФЭС, ЭОС и др.

Характеристики некоторых современных методов объемного анализа

Метод*	$V_{\text{пр}}, \text{см}^3$	$C_{\text{min}}, \%$	$m_{\text{min}}, \text{г}$
ИСП-АЭС	10^{-1}	10^{-6}	10^{-9}
ААС	10^{-1}	10^{-6}	10^{-9}
ИСП-МС	10^{-1}	10^{-8}	10^{-11}
ИНАА	10^{-1}	10^{-7}	10^{-10}
Искровая масс-спектрометрия	10^{-3}	10^{-7}	10^{-11}

* ИСП-АЭС — атомно-эмиссионный анализ с индуктивно связанной плазмой; ААС — атомно-абсорбционный анализ с электротермической ионизацией; ИСП-МС — масс-спектральный анализ с индуктивно связанной плазмой; ИНАА — инструментальный нейтронно-активационный анализ.

регистрируют по мере травления, получая профили распределения концентрации примеси по глубине образца. Предел обнаружения по концентрации соответствует масс-спектральным методам и составляет менее 1 ppm. Продольная локальность лимитируется процессами ионного перемешивания при травлении и составляет около 10^{-9} м. Максимальная глубина профиля не превышает 10^{-3} м. Предел обнаружения по массе для этого метода — до 10^{-17} г.

В последние годы получил широкое распространение другой подход, основанный на ионном травлении, — использование сфокусированных пучков быстрых ионов для «вырезания» микроучастка из структуры с последующим анализом его состава. Этим путем в отдельных случаях достигнут рекордный предел обнаружения по массе — до 10^{-20} г.

Сопоставим возможности МЛААП с некоторыми распространенными методами определения объемного содержания микропримесей. В табл. 17.1 приведены некоторые характеристики (требуемый для анализа объем пробы $V_{\text{пр}}$, предел обнаружения по концентрации C_{min} , предел обнаружения по массе m_{min}) современных методов объемного анализа, в табл. 17.2 — аналогичные характеристики для наиболее разработанных МЛААП.

Таблица 17.2

Характеристики некоторых распространенных МЛААП

Метод*	Локальность, нм		$V_{\text{пр}}, \text{см}^3$	$C_{\text{min}}, \%$	$m_{\text{min}}, \text{г}$
	$L_{\text{лат}}$	$L_{\text{прод}}$			
РСМА	10^3	10^3	10^{-12}	10^{-1}	10^{-15}
ЭОС	50	$10^0 - 10^1$	10^{-16}	10^{-1}	10^{-19}
ВИМС	10^4	10^1	10^{-12}	10^{-4}	10^{-17}
РФЭС	—	10^0	10^{-9}	10^{-1}	10^{-11}

* РСМА — рентгеноспектральный микроанализ; ЭОС — электронная оже-спектроскопия с электронным микрозондом; ВИМС — масс-спектрометрия вторичных ионов; РФЭС — рентгенофотозлектронная спектроскопия.

Сравнивая пределы обнаружения по концентрации для методов объемного анализа и МЛААП, видим, что для первых этот показатель значительно лучше. В то же время различие по требуемому для анализа объему пробы составляет 10 порядков в пользу МЛААП. Предел обнаружения по массе в случае МЛААП также лучше на 4—10 порядков. Если расположить все существующие методы анализа по пределу обнаружения по массе, то МЛААП и методы объемного анализа образуют согласованный комплекс, перекрывая диапазон определяемых содержаний в 10 порядков.

17.4. Перспективы и проблемы МЛААП

Методы локального анализа и анализа поверхности — молодой раздел химического анализа. Однако к настоящему времени уже достигнуты большие успехи. Рекордные показатели предела обнаружения по массе вещества соответствуют нескольким сотням атомов определяемого элемента. Какие проблемы стоят перед МЛААП сегодня и что ждет эти методы в будущем? Главное — это проблема улучшения локальности. Возможно, после всего сказанного это звучит странно, поскольку именно МЛААП демонстрируют рекордные показатели. Однако потребности практики сегодня опережают даже лучшие возможности локального анализа. В 1997 г. в США был опубликован документ «The National Technology Roadmap for Semiconductors», представляющий, по существу, программу развития микроэлектроники до 2012 г. В этом документе дан комплексный анализ как сегодняшнего состояния МЛААП, так и потребностей промышленности исходя из тенденции развития производства сверхбольших интегральных схем. Некоторые результаты этого анализа приведены в табл. 17.3.

В качестве параметра, характеризующего технологическое поколение, взят минимальный размер элемента микросхемы. Видно, что самые большие проблемы с локальностью распределительного анализа — двух- и трехмерными профилями концентрации. На сегодняшний день нет методов, обладающих требуемыми для контроля технологии характеристиками. Аналогичная проблема в ближайшие годы возникнет и при анализе частиц.

Категория «решение неизвестно» означает, что совершенствованием существующих методов такие показатели обеспечить нельзя. Причина этой ситуации становится понятной, если обратить внимание на то, что современная микроэлектроника в последнее десятилетие стала использовать для создания микроструктур те же самые физические явления, что и МЛААП. Микроэлектроника предыдущих десятилетий — это микроэлектроника фотолитографии. Сегодня активно используются электронная и ионная литография. Естественно, МЛААП больше не имеют запаса по локальности. Выход здесь — использование новых для химического анализа физических явлений, новых аналитических сигналов, ранее не применявшихся. Известно, что многие электрические сигналы весьма чувствительны к минимальным, находящимся за пределами возможностей современных методов концентрациям примеси. Сегодня известны работы по определению примеси железа в кремнии на уровне 10^{-12} % по измерению поверхностной фотоэлектродвижущей силы. Сложность состо-

**Требуемые метрологические характеристики методов локального анализа
и анализа поверхностей на перспективу до 2012 г.**

Характеристика	2001 г.	2003 г.	2006 г.	2009 г.	2012 г.
Технологическое поколение (минимальный размер элемента микро-схемы, нм)	150	130	100	70	50
Размер анализируемых частиц, нм	50	45	35	25	15
Предел обнаружения Al, Ti, Zn, см ⁻²	$2 \cdot 10^9$	$1,5 \cdot 10^9$	$1 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^8$	$\leq 5 \cdot 10^8$
Предел обнаружения Ni, Fe, Cu, Na, Ca, см ⁻²	$3 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^8$	$1 \cdot 10^8$	$\leq 10^8$	$\leq 10^8$
Локальность двух- и трехмерных профилей концентрации, нм	3	2	1,5	1	0,8—0,6
Воспроизводимость определения легирующей примеси, %	4	4	3	2	2

Примечание. ☐ Решение есть ☐ Решение ожидается ☐ Решение неизвестно

ит в том, что большинство таких методов неселективны. Определенные надежды вселяют методы локального пробоотбора, например метод разложения в паровой фазе.

Проблемы, аналогичные описанным, возникают также в нанохимии и нанотехнологии, где актуальными становятся проблемы определения состава частиц, состоящих буквально из нескольких тысяч атомов. Создание адекватных методов анализа в этой области — задача ближайшего будущего.

До физического предела локальности анализа, определяемого статистикой единичных атомов в анализируемом микрообъеме, еще остается два-три порядка. Методы локального анализа и анализа поверхности имеют шанс в XXI в. приблизиться к этим границам.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Перечислите некоторые аспекты анализа поверхности, важные в различных областях науки и технологии.
2. Перечислите критерии выбора метода анализа поверхности при решении конкретной задачи.
3. Каковы типичные объемы, массы и концентрации веществ, с которыми работают при использовании методов анализа поверхности?

4. Приведите основные приложения метода РФЭС. Какие особенности этого метода обусловили их область применения?
5. Перечислите различные физические процессы, используемые в аналитической электронной микроскопии и родственных аналитических методах.
6. Почему для исследования методом аналитической электронной микроскопии необходимы тонкие образцы?
7. Какие аналитические характеристики являются уникальными для спектрометрии РМИ? Почему?
8. Что определяет выбор первичных ионов в экспериментах при масс-спектрометрии вторичных ионов?
9. Почему количественный анализ данных, полученных методом масс-спектрометрии вторичных ионов, не является прямым? Что это означает для задач, обычно решаемых методом масс-спектрометрии вторичных ионов?
10. Перечислите основные характеристики методов сканирующей зондовой микроскопии.
11. Какой тип информации предоставляют фотографии, полученные методом масс-спектрометрии вторичных ионов?
12. Какие интересные характеристики обусловили важность метода сканирующей туннельной микроскопии в анализе поверхности? Какие существуют проблемы, связанные с интерпретацией изображений, особенно при атомном разрешении?
13. Какие меры следует принимать при проведении исследования методом атомно-силовой микроскопии для уменьшения воздействия сил на поверхность образца?
14. Приведите аналитические характеристики (например, объем образца, разрешение, абсолютные и относительные пределы обнаружения, динамический диапазон, аспекты количественного анализа, возможные артефакты и т.д.) для разных методов, описанных в гл. 17, и сравните их. Сделайте выводы о применимости отдельных методов для решения различных аналитических задач.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто, М. Видмера. — М. : Мир, 2004.
- Брандон Д.* Микроструктура материалов. Методы исследования и контроля / Д. Брандон, У. Каплан. — М. : Техносфера, 2004.
- Бриггс Д.* Анализ поверхности методами оже- и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии / Д. Бриггс, М. Сих. — М. : Мир, 1987.
- Вудраф Д.* Современные методы исследования поверхности / Д. Вудраф, Т. Делчар. — М. : Мир, 1989.
- Киттель Ч.* Введение в физику твердого тела / Ч. Киттель. — М. : Наука, 1978.
- Нанотехнология в ближайшем десятилетии. Прогноз направлений исследований / под ред. М. К. Роко, Р. С. Уильямса, П. Аливисатоса. — М. : Мир, 2002.
- Пиментел Дж. К.* Возможности химии сегодня и завтра / Дж. К. Пиментел, Дж. Кунрад. — М. : Мир, 1992.
- Праттон М.* Введение в физику поверхности / М. Праттон. — Ижевск : НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2000.
- Фельдман Л.* Основы анализа поверхности и тонких пленок / Л. Фельдман, Д. Майер. — М. : Мир, 1989.
- Филиппов М. Н.* Определение микроколичеств вещества. Современные методы локального анализа и анализа поверхности // Мир измерений. — 2001. — № 6. — С. 21 — 33.
- Электронная спектроскопия / [К. Зигбан и др.]. — М. : Мир, 1971.

ПОРТАТИВНЫЕ АНАЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

**18.1. Принципы создания
миниатюризованных систем**

В последнее десятилетие одним из основных направлений развития инструментальной аналитической химии является *миниатюризация* приборов (или хотя бы основных их блоков) и средств химического анализа. Речь идет, конечно, о принципиальном уменьшении размера приборов, что позволяет их использовать как переносные или мобильные устройства. При этом управление таким прибором упрощается, а ценность аналитической информации (достоверность качественного анализа, селективность и чувствительность количественного анализа) остается высокой.

Второе генеральное направление — *автоматизация* анализа, перевод наиболее длительных, трудоемких и «механических» этапов анализа в простую автоматизированную форму. Автоматизированные системы рассматривались при описании современных методов разделения (см. гл. 5).

Наконец, третья важная тенденция заключается в объединении (интеграции) как можно большего числа стадий анализа (пробоотбор, пробоподготовка, разделение, концентрирование, проведение аналитической реакции и измерение аналитического сигнала) в одном устройстве, желательно малого ($< 10^{-2}$ м) размера. Эта тенденция также проявляется в быстром развитии средств (индикаторных бумаг, трубок и т. п.)

Формально название данной главы предполагает пристальное внимание только к первому из перечисленных направлений. Однако это было бы не совсем правильным. Во-первых, потому что многие портативные приборы не расширяют возможности метода, а только придают ему мобильность. Во-вторых, нельзя забывать о том, что аналитическая химия — это не просто и не только приборы, но и мощная база химических знаний, которая требует детального рассмотрения, постоянно развивается и совершенствуется (кинетические методы анализа, иммуноферментный анализ, проточный анализ). И здесь интерес к химическим реакциям в микропространстве становится определяющим.

В настоящей главе описано современное состояние в совершенно новой области — сверхпортативных микроаналитических устройств или систем, в которых сливаются воедино как миниатюризация, интеграция и автоматизация приборов, так и возможность химического взаимодействия в микропространстве.

Для микроустройств, объединяющих несколько стадий химического анализа, часто выполненных в виде тонких пластин из разных материалов, имеющих размер, близкий к электронным микросхемам — микрочипам, по ана-

логии с последними используют термин «микрофлюидный чип» (microfluidic chip). Для наиболее сложных микроаналитических систем, где объединены практически все этапы химического анализа, используют термин «микросистема полного химического анализа» (micro-Total Analysis System — μ -TAS). Сразу подчеркнем, что из-за новизны и быстрого прогресса в этой области терминология здесь не устоялась, и в литературе можно встретить иные термины или другую их трактовку. Перед тем как рассмотреть микроаналитические системы в деталях, суммируем то, что уже привнесло в аналитическую химию использование таких систем.

1. Сочетание миниатюризации систем аналитического определения и их включение в одно малое устройство приводит к снижению объема пробы до 10^{-10} л. Это также приводит к возможности определения очень малых количеств определяемых веществ, вплоть до единичных молекул.

2. Снижается (до 10^{-10} — 10^{-6} л) расход реагентов, растворителей и отходов, что делает анализ существенно дешевле.

3. Существенно снижается время анализа по сравнению с традиционными приборами за счет более быстрой диффузии, смешения, миграции, нагрева и т.п. Можно считать, что сокращение времени анализа пропорционально снижению рабочего объема системы.

4. Размеры (10^{-9} — 10^{-4} м) каналов и скорости (0,01—100 мкл/мин) потоков, обычно используемые в микрофлюидных системах, обуславливают протекание исключительно ламинарных потоков. В результате не происходит размывания зон веществ при хроматографическом разделении, воспроизводимость измерений при помощи многих детекторов также возрастает.

5. В случае электромиграционных методов эффект электротермического нагрева ниже вследствие эффективного рассеяния энергии в микроструктурах. Это обеспечивает использование больших разностей потенциалов, т.е. более высоких скоростей разделения веществ без потери эффективности разделения.

6. Малые размеры всех блоков микрофлюидных систем позволяют одновременно использовать несколько детекторов, т.е. получать существенно больший объем информации и расширять возможности комбинированных и гибридных методов анализа.

7. Другие условия массо- и теплопереноса, экстракционного и сорбционного разделения в микроканалах позволяют разрабатывать принципиально новые и уникальные приборы и методики.

Сейчас основными направлениями использования микрофлюидных аналитических систем в аналитической химии являются иммуноферментные методы анализа, капиллярный электрофорез, проточно-инжекционный анализ (который часто называют микропроточно-инжекционным анализом — μ -ПИА), проточная экстракция, ферментативные каталитические методы анализа, а также биохимические исследования (на основе полимеразной цепной реакции). Кроме того, портативные микрофлюидные системы широко используют в синтетической химии и микрохимической технологии (что, конечно, выходит за рамки данного учебника), для особо тонкого химического синтеза (высокоочищенные сильнодействующие лекарственные препараты, синтез веществ из сверхредких или очень дорогих реагентов) и исследованиях в области биохимии клетки.

В данной главе мы рассмотрим, что представляют собой микрофлюидные системы, каковы их возможности и преимущества использования в аналитической химии, а также что нового дает сочетание микрофлюидных технологий с современными методами разделения и детектирования.

Рассмотрим вначале принципы, на которых базируется построение микроаналитических систем. К ним относятся как выбор материала для создания микрофлюидных чипов и соответствующая материалу техника создания систем на их основе, так и основные блоки, из которых создается микроаналитическая система.

18.2. Материалы и техника создания микроаналитических систем

Все материалы, используемые для создания микрофлюидных чипов, по степени распространенности в области микроаналитической химии можно разбить на три большие группы. К первой группе относятся кремний и пластмассы как стандартные для современной технологии материалы, которые могут быть использованы для решения большого числа микроаналитических задач; ко второй — стекла и кварц, как стандартные материалы для оптических систем; наконец, к третьей — металлические и керамические микрофлюидные чипы, наиболее сложные в изготовлении, но обладающие рядом важных преимуществ.

Самые распространенные методы обработки при получении микрочипов из кремния, кварца и стекла — это химическое травление (Chemical Etching), глубокое реактивно-ионное травление (Deep Reactive Ion Etching — DRIE), электрохимическое травление (Electrochemical Etching), лазерная абляция (Laser Ablation), а также микромеханическая обработка (micromachining).

Наиболее широко распространено химическое травление из-за надежности и простоты. Как следует из названия, травление заключается в обработке незащищенных частей пластины будущего микрочипа различными химическими реагентами, часто в сочетании с нагревом. В случае кремния используют обработку горячими растворами щелочей, при этом монокристалл кремния сохраняет свою кристаллическую решетку $\langle 100 \rangle$, что и приводит к совершенно четким углам каналов. Поскольку травление идет в соответствии с анизотропией кристаллической решетки, такой тип травления называют *анизотропным*. Напротив, травление аморфных материалов смесью концентрированных кислот (чаще всего серной и плавиковой) приводит к равномерному вытравливанию материала пластины и в общем случае дает закругленные углы и полуэллиптические профили каналов и называется *изотропным*. Естественно, что перед травлением необходимо нанести маску, соответствующую будущим каналам (фоторезист), и защитить поверхность, которая не должна подвергнуться травлению.

В случае ионного травления поверхность бомбардируют ионами, которые уносят материал пластины, при этом формируются каналы любой конфигурации даже в кристаллическом кремнии. Это крайне важно для создания, например, капиллярных колонок для газовой хроматографии, где «угловатость»

недопустима. На последнем этапе спекают и склеивают полученную основную пластину с покровной, что позволяет получить готовый к применению микрочип.

Для пластмасс используют формовку (штамповку с металлических или других форм), литье (в формы), фотополимеризацию под действием УФ источников света, а также лазерную абляцию (для наиболее тонких элементов схем). Все эти процессы существенно дешевле, чем те, которые применяют для изготовления кремниевых и стеклянных чипов, что позволяет делать одноразовые пластмассовые микрочипы.

18.3. Основные блоки микроаналитических систем

Поскольку микрочип объединяет определенные стадии химического анализа, выполняемые в микропотоке, он должен содержать микроаналоги лабораторной посуды и устройств, которые используются в «большой» лаборатории. Схема микрочипа включает емкости для реагентов, реакционные спирали или микрососуды, микроколоники или капилляры, коммуникации для их соединения с линейными размерами 10^{-9} — 10^{-4} м. Помимо этого в микрочипе могут находиться и более сложные устройства — микронасосы, источники напряжения, микроэлектроды и др. В целом микрофлюидная система, объединяющая все необходимые аналитические стадии, такие как подготовка пробы, разделение и детектирование определяемых веществ, включает следующие элементы:

- собственно микрочип с системой микроканалов различной геометрии;
- блок создания потоков жидкостей (газов) и управления потоками;
- блок детектирования;
- интерфейс (электромеханический и др.) микрочипа с внешним миром;
- систему приема и обработки информации (чаще всего специализированное программное обеспечение, установленное на персональном компьютере).

Кратко рассмотрим эти основные «строительные блоки» микрофлюидной системы. Взаимное расположение этих блоков и соединительных каналов (коммуникаций), а также их размеры и другие геометрические и проточные параметры, называют *топологией* (архитектурой) микрочипа.

Помимо собственно аналитической задачи топология микрофлюидных чипов определяется методом разделения, свойствами потока и растворителя, необходимостью связать микрочип с внешними устройствами ввода/вывода и детекторами.

Прежде всего микроканалы соединяют все основные функциональные блоки системы и часто сами служат такими блоками. Ширина и глубина канала в большинстве случаев взаимосвязаны, их стараются делать как можно меньшими для уменьшения времени диффузии и снижения объемов жидкости. Однако очень сильное снижение размеров может привести к нежелательным последствиям, например ухудшению параметров электрофоретического разделения или чувствительности детектирования. В результате наиболее характерные размеры ширины и глубины каналов в большинстве микрофлюидных систем лежат в области 20 — 100 мкм.

Прямые каналы (длиной 0,1 — 5,0 см) служат разделительными каналами в капиллярном электрофорезе или проточными реакторами в проточно-инжекционном анализе. Заполнение таких каналов различными сорбентами приводит к созданию хроматографических колонок или адсорбционных патронов; модифицирование поверхности канала позволяет проводить газохроматографический анализ или электрофоретическое разделение. Линейные размеры микрофлюидного чипа ограничены, а часто необходимо расположить каналы большой длины. В этом случае разделительные каналы делают в виде плоских спиралей, зигзагов, при этом форма углов играет большую роль в зависимости от того, должны ли они способствовать смещению (реакторы) или, наоборот, разделению (электрофоретическое разделение).

Преимуществом каналов в микрофлюидных системах по сравнению с обычными колонками или капиллярами является то, что достаточно большие участки их оставляют пригодными для оптического детектирования. В отличие от большинства традиционных вариантов детектирования в микрофлюидных системах распространено детектирование по всему разделительному каналу, реактору или колонке.

Помимо формы и размера реакторы часто сочетают с различными нагревателями, поскольку температура проведения аналитической реакции имеет важное (проточно-инжекционный анализ) или попросту ключевое (полимеразная цепная реакция) значение. В качестве источников теплоты чаще всего используют электротермические нагреватели (разогрев проводников при пропускании через них электрического тока, джоулева теплота). Их достоинствами являются легкость изготовления и достаточно высокие температуры и скорости нагревания. Для низких температур используют элементы Пельтье, а также микровентиляторы и радиаторы (те же, что и для охлаждения электронных микросхем).

В связи с большой распространенностью электромиграционных методов в микрофлюидных системах и удобством электрохимических методов детектирования весьма характерным элементом микрофлюидных систем являются различные встроенные электроды. Чаще всего такие электроды просты и представляют собой пластины или нити из инертных металлов (платины, золота) или графита.

К активным элементам, которые все чаще встраивают в микрофлюидные чипы, относятся различные клапаны и насосы. В микрофлюидных системах очень важно обеспечить малую инерционность их работы, так как в противном случае появляются большие участки развития и постепенной остановки потока, на которых трудно контролировать аналитические параметры. Помимо управления этими устройствами при помощи электроники или внешних полей все шире используют насосы и клапаны с обратной связью. Так, например, ширину и глубину канала можно менять в зависимости от pH раствора за счет изменения конформации полимера, привитого к поверхности микроканала.

Поскольку оптические методы занимают центральное место при детектировании, в последнее время появляется много новых разработок для интегрирования в микрочип оптических элементов. В основном развитие происходит в двух направлениях — внедрение *активной оптики*, т.е. встроенных источников света и детекторов малых размеров, и *пассивной оптики*, представлен-

ной планарными волноводами, встроенными микролинзами и светофильтрами. Как и в современной фототехнике, все большее значение в качестве приемника излучения приобретают многоканальные (матричные) детекторы на основе матриц — приборов с зарядовой связью (Charge Coupled Device — CCD).

18.4. Методы разделения в микрофлюидных системах

Естественно, когда говорят об интеграции нескольких стадий в одну микросистему, то в той или иной степени подразумевают разделение исходных смесей (на этапе пробоподготовки, при помощи проточных вариантов адсорбции, экстракции, хроматографических или электромиграционных методов). Неслучайно, что именно по основному методу разделения, реализованному в микроаналитической системе (а их может быть и несколько), и классифицируют микроаналитические системы.

Далее будут кратко охарактеризованы основные методы разделения, уже нашедшие свое применение в микрофлюидных системах, и рассмотрены основные отличия от их реализации в традиционной аналитической химии, описанной в предыдущих главах.

Капиллярный электрофорез

Капиллярный электрофорез стал одним из первых аналитических методов, реализованных на микрочипах. Этот метод остается наиболее успешной, самой распространенной и интенсивно развивающейся областью химического и биохимического микрофлюидного анализа. Следует отметить, что в названии «капиллярный электрофорез» есть терминологическая двусмысленность. Дело в том, что при использовании термина «капиллярный электрофорез» понимают электрофоретическое разделение веществ в капиллярах, в то время как в микроаналитических системах проводят электрофоретическое разделение в каналах различной формы, для которых понятие капилляра не всегда приемлемо. В настоящее время этот термин применительно к микрофлюидным системам все чаще вытесняется термином «микрочиповый электрофорез» (microchip electrophoresis), однако далее будет использовано традиционное название, так как, по сути, речь идет об одном и том же методе разделения. Тем более что в отличие от других аналитических методов (хроматографии и масс-спектрометрии) электрофоретическое разделение в капиллярах и микрофлюидных системах происходит на одинаковом уровне количеств и объемов, и важным является именно интегрированность разделения и других аналитических операций на микрочипах.

Основная причина доминирующей роли электрофоретического разделения в микрофлюидных системах заключается в природе электроосмотического потока, обеспечивающего плоский профиль потока жидкости. Другая причина — возможность получения малых объемов инъекции благодаря технологиям производства микрочипов. Основными достоинствами электрофоретического разделения на микрофлюидном чипе являются:

- высокая эффективность разделения веществ за счет создания плоского профиля жидкостного потока в микроканале;
- эффективная диссипация теплоты (отвод джоулевой теплоты) за счет высокого соотношения площади сечения канала разделения к тепловой массе микрочипа, что позволяет использовать высокие (более 2 кВ/см) напряжения;
- точная, быстрая и воспроизводимая дозировка малых (до 10^{-12} л) объемов анализируемых проб благодаря точно выдержанным геометрическим параметрам каналов, что приводит к ускорению разделения;
- снижение времен разделения до нескольких секунд за счет малых объемов инжектирования, высокого напряжения и малой (1 — 5 см) длины разделения;
- возможность регулирования всех потоков в микрофлюидной системе без насосов, что делает микрофлюидное электрофоретическое разделение достаточно дешевым.

Большинство современных микрочипов $((4-5) \times (1-2) \times 0,1$ см) для электрофореза представляют собой систему каналов ввода пробы в виде так называемого инъекционного креста. На микрочипе расположены четыре жидкостных порта (если в схему включены внешние емкости с реагентами) или резервуара (т. е. емкости интегрированы в микрофлюидный чип): порт пробы, порт сброса пробы и два порта (резервуара) для разделительного буферного раствора (рис. 18.1). В эти порты помещают внешние микроэлектроды (чаще всего платиновые). В последнее время эти электроды встраивают в микрочип уже на этапе его изготовления. Управление направлением и скоростью потоков, как и в традиционном капиллярном электрофорезе, осуществляют приложением разности потенциалов между соответствующими резервуарами микроканалов. Кроме того, для этого можно использовать и изменение заряда поверхности микроканала под воздействием потенциала, приложенного поперек него. В целом такой способ управления потоками имеет несколько достоинств: простота изготовления чипов (даже в наиболее сложном варианте требуется изготовить только интегрированные электроды); компактность и низкая потребляемая мощность блоков питания; высокая точность и малая инерционность подачи жидкости. Для одновременного анализа большого числа образцов создают мультиканальные микрочипы разнообразного дизайна.

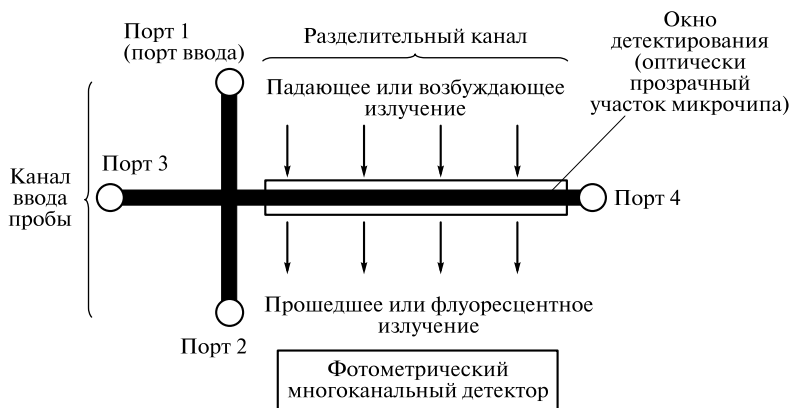


Рис. 18.1. Схема микрочипа для проведения электрофореза и общая схема оптического, фотометрического и флуоресцентного (на просвет) детектирования

Еще одно отличие микрочипового от капиллярного электрофореза состоит в том, что в микрофлюидных системах часто используют многоканальные системы оптического детектирования (фотодиодные матрицы). Это дает возможность непрерывно проводить измерение аналитического сигнала по всей длине разделительного канала (окна детектирования) в течение всего процесса разделения и, таким образом, видеть динамическое развитие электрофореграммы. Это крайне важно вследствие существенно меньшего времени разделения.

Ввод пробы также имеет несколько особенностей. В отличие от традиционного капиллярного электрофореза в микрофлюидных чипах почти исключительно доминирует электрокинетическая инжекция анализируемого раствора. Это связано с тем, что капилляр представляет собой одномерную систему (вход и выход), поэтому инжекция всегда приводит к заполнению начального участка капилляра. В микрочипе же есть целая система связанных каналов, т.е. ввод пробы насосом неизбежно приводит к неконтролируемому проникновению раствора анализируемой пробы во все каналы и соответственно к невозможному разделению. Электрокинетический ввод пробы позволяет защитить каналы от нежелательного проникновения раствора пробы за счет правильного подбора геометрии каналов и напряжений на электродах.

На сегодняшний день в микрочиповом варианте реализованы практически все разновидности капиллярного электрофореза: капиллярный зонный электрофорез, мицеллярная электрокинетическая хроматография, изотахофорез.

Проточный анализ

Проточный анализ является одним из главных направлений развития микрофлюидных технологий и их использования в аналитической химии. Если характеризовать проточный анализ в целом, то можно говорить о любом разделении, концентрировании или определении в потоке за исключением хроматографических или электромиграционных методов. Фактически под термином «проточный анализ» скрываются сразу несколько различных методов, а именно непрерывный проточный анализ, сегментированный проточный анализ и проточно-инжекционный анализ. Последний получил широкое распространение вследствие своих аналитических параметров.

Проточно-инжекционный анализ заключается в непрерывной подаче насосом растворителя и реагента, в поток которого периодически инжектируют небольшой объем анализируемой жидкой пробы. При необходимости пробу концентрируют, и в специальном проточном реакторе в потоке после смешивания реагента и определяемого компонента происходит аналитическая реакция.

Наиболее распространен проточно-инжекционный анализ с фотометрическим детектированием. В этом случае используют фотометрические реакции. Окрашенные продукты реакции проходят через проточную спектрофотометрическую кювету, где их детектируют. Аналогично можно осуществить флуориметрическое или амперометрическое детектирование. Проведение анализа в потоке по заданной схеме дает возможность проводить большое число анализов за короткое время (40—80 анализов в час).

На первый взгляд, принцип проточно-инжекционного анализа имеет аналогию со спектрофотометрией (флуориметрией, амперометрией и т.п.) в потоке. Однако поскольку для проточно-инжекционного анализа важна экспрессность, на первый план выходит кинетика аналитической реакции, и в некоторых монографиях проточно-инжекционный анализ даже рассматривают как один из вариантов кинетических методов анализа. Это вызвано тем, что при постоянной скорости потока время от смешивания реагентов (начала реакции) до детектора строго фиксировано, т.е. фактически проводят кинетические измерения по методу фиксированного времени.

В результате очень важным является быстрота и эффективность каждой из стадий проточного анализа, смешивания реагентов и собственно аналитической реакции. Поскольку скорость реакции зависит от температуры, проточный реактор термостатируют при высоких температурах. Также необходима оптимизация стадии концентрирования, соотношения скоростей потоков анализируемой пробы, реагентов, устройства детектора и т.д. Все это делает проточно-инжекционный анализ методом, в котором очень важна химическая составляющая, но и крайне насыщенным и разнообразным с точки зрения инструментальных особенностей и аппаратного оформления.

При проведении проточно-инжекционного анализа определяют один из компонентов смеси (селективная реакция) либо простые (2—4-компонентные) смеси. В последнем случае либо проводят параллельные или последовательные селективные реакции, либо используют индикаторные (обычно некаталитические) системы, где несколько гомологов ряда (фенолов, ароматических аминов) характеризуются существенно различающимися скоростями реакции.

Легко видеть, что принципы проточно-инжекционного анализа: автоматизация большого числа стадий аналитического цикла, четкость по времени проведения этого цикла, которое определяется скоростью потока, и взаимосвязь химической составляющей анализа (аналитической реакции) и ее инструментальной части (детектирования) — практически совпадают с принципами создания микроаналитических систем.

Безусловно, при появлении микроаналитических систем проточно-инжекционный анализ занял одно из главных мест в их разработке. При этом, с одной стороны, практически все элементы проточного анализа (инжектор, нагреватели, реакторы) достаточно легко сделать на микрофлюидном чипе. С другой стороны, ускорение всех процессов в малых объемах позволяет улучшить аналитические параметры определения по сравнению с обычным проточно-инжекционным анализом. Иными словами, за то же время реакция проходит более полно, т.е. образуется больше продуктов и возрастает чувствительность определения. Обычно достаточная для проточно-инжекционного анализа степень завершенности реакции, равная 95 %, достигается в микрофлюидных системах за 10—20 мс.

Сейчас в микрофлюидных системах реализованы практически все методики проточно-инжекционного анализа, разработанные для металлов (включая элементы платиновой группы и редкоземельные элементы), сложных органических соединений (лекарственных веществ), простых смесей (фенолов, пищевых и синтетических красителей и т.п.). Кроме того, широко применяют не только классические кинетические и каталитические методы, но и совре-

менные ферментативные методы (для определения глюкозы и других сахаров, белков и пептидов).

Микропроточно-инжекционный анализ характеризуется и принципиально новыми решениями, которые по разным причинам невозможно реализовать в традиционном варианте. Прежде всего речь идет об иммуноферментном анализе, который используют для прямого анализа крови с определением следов ее компонентов на уровне 10^{-10} моль/л. Другим решением является использование микропроточно-инжекционного анализа для биофотометрии. Этот метод представляет собой полный аналог спектрофотометрии, но основой является селективная реакция не молекулы определяемого соединения с фотометрическим реагентом, а микроорганизма или высокомолекулярного соединения — продукта его распада или жизнедеятельности — со специальным агентом, дающим характеристическую окраску. В традиционном проточно-инжекционном анализе этот метод крайне дорог. Но он существенно чувствительнее традиционных методов визуального подсчета или выращивания культур, поэтому развитие микрофлюидных систем дало резкий толчок развитию этой области биоаналитической химии.

Наконец, в микрофлюидных системах проточный анализ применяют и при реализации других стадий анализа. Например, широко распространяется использование специального микрочипа для проведения послекOLONОчных реакций в жидкостной хроматографии, для проведения пробоподготовки в потоке, а также при концентрировании смесей на специальных патронах. Также очень распространены проточные системы с двумя несмешивающимися фазами.

Хроматография

Хроматографический анализ был фактически первым полноценным аналитическим приложением, реализованным на микрочипе (в 1979 г.), поэтому в этой области существует большое число разных решений как технических, так и химико-аналитических. Как и в макроварианте хроматографии, газовый и жидкостный варианты микрохроматографии отличаются принципиально, поэтому есть смысл рассмотреть их особенности отдельно.

Микрогазовая хроматография. Долгое время основной проблемой микрогазовой хроматографии была невозможность технологически создать на микрочипе колонки с хорошими параметрами неподвижной фазы. В последнее время ситуация кардинально изменилась в связи с появлением технологии сублимации монослоев и плазменного нанесения тонких слоев (чаще всего аминокислот) на поверхности. Такие капиллярные колонки делают на кремниевых пластинах при помощи глубокого реактивного ионного травления (необходима колонка произвольной формы, часто в виде спирали, что в настоящее время недостижимо другими способами обработки кварца). Колонки имеют длину 300—800 мкм при диаметре 5—10 мкм (мертвый объем 10—20 нл!), при этом сам процесс разделения на такой колонке проходит всего за 0,4—1,0 с (рис. 18.2)*.

* См.: Terry S. C., Jerman J. H., Angell J. B. A gas chromatograph air analyser fabricated on a silicon wafer // IEEE Trans. Electron Devices. — 1979. — V. ED-26. — P. 1880—1886.

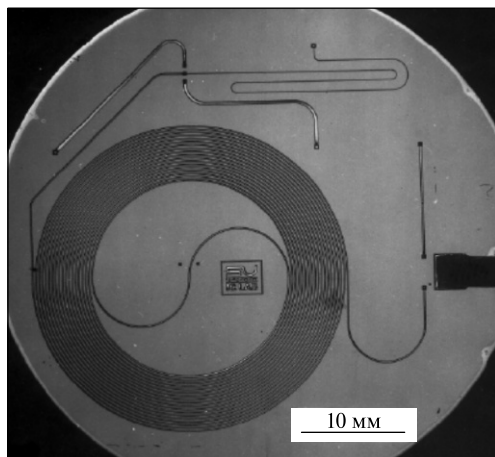


Рис. 18.2. Газовый хроматограф с детектором по теплопроводности, реализованный на кварцевом микрочипе

Таким образом, при реализации газовой хроматографии на микрочипе существенно увеличивается эффективность разделения (за счет снижения как вихревой, так и продольной диффузии; см. гл. 6, уравнение ван Деемтера) и на несколько порядков снижается время анализа.

Кроме того, наиболее широко распространенные детекторы для газовой хроматографии, прежде всего детектор по теплопроводности и пламенно-ионизационный детектор, достаточно легко выполнить на микрочипе. Малый размер таких детекторов позволяет легко реализовывать мультidetекторные системы, а при необходимости присоединять выход такой микроаналитической хроматографической системы к масс-спектрометру.

Наиболее технически сложной, но решаемой задачей является создание микродозаторов газовых проб на микрочипах. Для этого используют микромембранные клапаны или импульсный генератор плазмы. В этом случае при включении источника ионизации генератор плазмы работает как детектор, давая информацию об интегральном составе пробы, а при выключении источника ионизации газовый образец попадает в газохроматографическую систему, где разделяется и детектируется. Можно сказать, что микрочиповый газовый хроматограф является характерным примером систем полного микроанализа, которые более подробно рассмотрены в конце главы.

Микрожидкостная хроматография. В отличие от газовой хроматографии, где создание капиллярной колонки относительно просто, а главной проблемой является создание микроразмерного блока ввода пробы, жидкостная хроматография предъявляет серьезные требования именно к плотности и воспроизводимости наполнения набивной колонки. В результате «классический» вариант жидкостной хроматографии на микрочипах не получил пока широкого развития из-за низкой эффективности разделения. Наиболее распространенным решением является жидкостная хроматография в открытых колонках. Такие колонки (длиной от нескольких миллиметров до 1—2 см) используют либо для разделения, чаще всего в режиме обращенно-фазовой хроматографии, либо для микропрепаративной хроматографии.

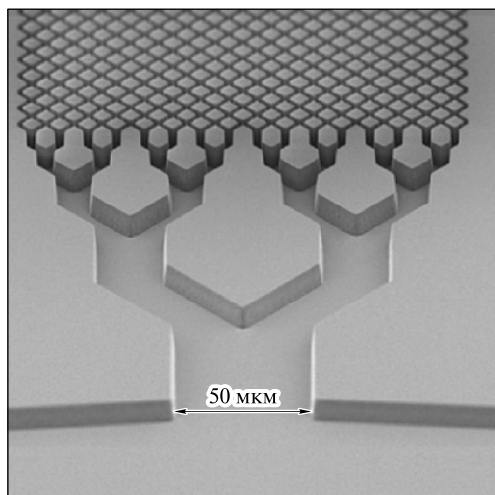


Рис. 18.3. Электронная микрофотография монолитной разделительной колонки. Размер параллелепипедов неподвижной фазы $5 \times 5 \times 10$ мкм, ширина канала 1,5 мкм

Другим вариантом реализации хроматографического разделения на микрофлюидных чипах является создание монолитных колонок, т. е. колонок, в которых неподвижная фаза является частью самой колонки. На рис. 18.3 изображена монолитная колонка, полученная микрообработкой кварцевой подложки*. Очевидно, что в этом случае достигается как равномерность и одинаковость «элементов» неподвижной фазы, так и равномерность и одинаковость каналов между ними, по которым протекает подвижная фаза. В настоящее время методами микрообработки или направленной полимеризации можно создать гораздо более сложные (и тем не менее регулярные) монолитные разделительные колонки. Такие колонки обеспечивают разделение (чаще всего аминокислот, пептидов, белков) с очень высокой экспрессностью (время анализа — от нескольких секунд до 1 мин) и высокой эффективностью (до 10^6 теоретических тарелок на 1 м).

Другим решением является использование различных электромиграционных хроматографических методов, таких как электрохроматография, мицеллярная электрокинетическая хроматография и т. п. Эти методы сочетают удобство и многообразие способов реализации электромиграционных методов на микрофлюидных чипах (отсутствие пульсаций системы подачи элюента, низкая стоимость создания разделительной системы) и возможности хроматографического разделения. В качестве материалов для такого рода систем используют кремний, пластмассы, а в последнее время все чаще алмаз, поскольку он имеет контролируемую электропроводность, высокую теплопроводность и оптически прозрачен в широком диапазоне длин волн. Такие варианты хроматографического анализа находят все большее применение в реальных системах экспресс-анализа. Так, определение наркотических средств

* He B., Tait N., Regnier F. Fabrication of nanocolumns of liquid chromatography // Anal. Chem. — 1998. — V. 70. — N 18. — P. 3790 — 3797.

(амфетаминов, кокаина, героина) при помощи мицеллярной электрохроматографии на микрофлюидных чипах с монолитными неподвижными фазами и флуоресцентным детектированием благодаря высокой чувствительности и экспрессности очень хорошо подходит для мобильных лабораторий и экспресс-тестов.

18.5. Методы детектирования аналитического сигнала

Рассмотрим методы, которые используют для детектирования в микрочипах. Безусловно, все сказанное выше о методах разделения показывает, что принципы выбора детектора для хроматографического или электрофоретического разделения (чувствительность, селективность и т.п.) также важны. Однако вследствие того, что миниатюризация (и по размерам, и по массе) предъявляет большие требования к системам детектирования, здесь относительное распространение современных аналитических методов существенно отличается от «обычных» приборов. В частности, доля масс-спектрометрических детекторов (из-за крайней сложности создания миниатюрных приборов) пока существенно меньше, чем в целом в хроматографии (см. гл. 6), а гораздо большую роль играют лазерные оптические методы. Так, лазерно-индуцированная флуоресценция практически доминирует среди всех методов детектирования. Наиболее важные особенности рассмотренных методов приведены в табл. 18.1.

Спектроскопические методы анализа

Спектроскопические методы анализа благодаря своей универсальности и, чаще всего, неdestructивности являются одними из самых востребованных и распространенных в микрофлюидных системах. Важным отличием является то, что микрофлюидные системы гораздо чаще служат целям молекулярного, а не атомного анализа, поэтому и доля методов молекулярной спектроскопии существенно выше. Тем не менее можно сказать, что все достоинства и недостатки спектроскопических методов анализа (см. гл. 8) и систем детектирования на их основе справедливы и для микрофлюидных систем.

Люминесцентная спектроскопия. В силу своих особенностей, рассмотренных в гл. 8, люминесцентная спектроскопия является одним из лучших методов детектирования в микрофлюидных системах. Перечислим эти особенности.

1. Люминесценция может быть вызвана различными процессами: оптическим поглощением, протеканием химической реакции и др.

2. Люминесцентная спектроскопия является силовым методом, т.е. интенсивность источника энергии определяет чувствительность метода. В микрофлюидных системах этот фактор становится одним из главных.

3. В микрофлюидных системах очень важно проводить микроскопическое детектирование (из объемов $\sim 10^{-15} - 10^{-9}$ л). Люминесцентная спектроскопия гораздо легче других методов может быть реализована как микроскопия.

Методы детектирования в микрофлюидных аналитических системах

Метод	Особенность	Типичные пределы обнаружения	Определяемые соединения	Объекты анализа и области применения
Лазерно-индуцируемая флуоресценция	Высокая чувствительность	10^{-12} моль/л (одиночные молекулы)	Белки, ДНК, флавины	Биохимический анализ: клеточный анализ, определение одиночных молекул
Хемилюминесценция	Не требует источника света	$10^{-12} - 10^{-7}$ моль/л	Катионы, глюкоза, кофеин, ДНК	Объекты окружающей среды
Калориметрическая микроскопия	Чувствительность и универсальность применения	10^{-12} моль/л	Переходные металлы, биологически активные соединения	Биохимические исследования; неинвазивные методы изучения жизнедеятельности клетки; объекты окружающей среды
Амперометрия	Возможность интегрирования электродов и детекторов в микрочип	10^{-9} моль/л	Допамины	Нейрохимия; иммунный и ферментативный каталитический анализ; клиническая диагностика; объекты окружающей среды
Кондуктометрия	—	10^{-7} моль/л	Ионы, белки, пептиды, аминокислоты, сахара	Фармацевтические препараты
Потенциометрия	—	10^{-8} моль/л	Неорганические ионы	Анализ пищевых продуктов
Масс-спектрометрия	Быстрый анализ макромолекул	1 — 50 Да	Биологические макромолекулы: белки, ДНК	Объекты окружающей среды, органический анализ

4. В соответствии с законами люминесценции один высокоэнергетический (коротковолновый) и высокоинтенсивный источник излучения может обеспечивать высокие квантовые выходы большого числа различных веществ.

5. В микрофлюидных чипах широко используются сложные органические и биологические системы, а среди последних очень высока доля природных люминофоров.

Следовательно, оптимальным решением является использование лазеров как источников излучения. Сегодня среди всех методов детектирования в микроканалах самым чувствительным и наиболее часто используемым методом является *лазерно-индуцированная флуоресценция* (Laser Induced Fluorescence — LIF).

Детектирование флуоресценции осуществляется при помощи либо оптического микроскопа, расположенного над микрочипом (*флуоресцентная микроскопия*), либо многоканального детектора аналогично спектрофотометрическому определению (см. рис. 18.1). Микроскопия позволяет проводить детектирование на уровне 10^{-13} — 10^{-12} моль/л. С другой стороны, многоканальное детектирование, особенно с использованием видеодетекторов, позволяет получить очень большой объем информации как при разделении, так и при реакции в потоке, сопровождающейся образованием люминофоров.

Лазерно-индуцированная флуоресценция является наиболее распространенным методом при биохимических исследованиях в микроаналитических системах. Метод хорошо зарекомендовал себя при детектировании белков, а также соединений, которые могут быть легко превращены в производные с высокими выходами флуоресценции, например ДНК. Определение ДНК, как правило, сопровождается селективной реакцией с флуоресцирующим красителем — вставочным агентом — и благодаря широкому выбору таких реагентов не вызывает трудностей. Такой анализ проводят как в различных растворах, так и непосредственно в клеточных препаратах.

Благодаря тому что флуоресцентная спектроскопия является силовым методом, флуоресцентная микроскопия в случае высоких квантовых выходов может обеспечить чувствительность определения на уровне единичных молекул, что пока недостижимо для других методов. В этом случае, конечно, речь идет не о некотором интегральном сигнале флуоресценции (интенсивности), а наблюдении отдельных фотонов. Таким образом, в качестве детекторов необходимо использовать счетчики фотонов, а единицей измерения становится число отсчетов в единицу времени, т.е. их частота. И хотя полностью эта задача еще не решена, но уже сейчас аналитическое применение детектирования отдельных молекул возможно. Это и является ключевым моментом использования лазерно-индуцированной флуоресценции при электрофоретическом разделении биологических образцов в микрочипах (рис. 18.4)*.

Хемилюминесцентная спектроскопия. Среди спектральных методов анализа, используемых для детектирования после электрофоретического разделения в микрочипах, по распространенности за лазерно-индуцированной флуоресценцией следует *хемилюминесцентная спектроскопия*. Этот метод, как и

* Counting single chromophore molecules for ultrasensitive analysis and separations on microchip devices / J. C. Fister, S. C. Jacobson, L. M. Davis, J. M. Ramsey // Anal. Chem. — 1998. — V. 70. — N 3. — P. 431—437.

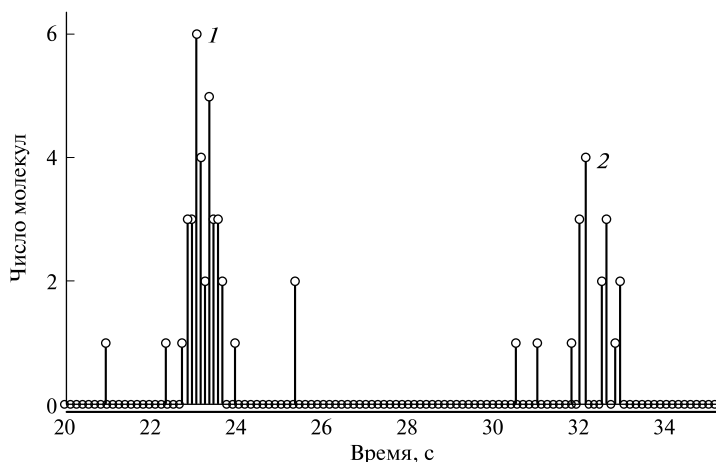


Рис. 18.4. Электрофоретическое разделение родаминов в канале длиной 13,5 мм (10×40 мкм) с детектированием единичных молекул при помощи счетчика фотонов: 1 — родамин 6Ж ($1,5 \cdot 10^{-11}$ моль/л); 2 — родамин В ($3,0 \cdot 10^{-11}$ моль/л)

метод лазерно-индуцированной флуоресценции, позволяет достичь высокой (до уровня детектирования единичных молекул) чувствительности определения при электрофоретическом разделении, а также имеет широкий диапазон линейности сигнала.

Наиболее выгодной характеристикой, отличающей детектирование методом хемилюминесцентной спектроскопии в микрочипах (как и в других методах), является простота прибора: нет необходимости включать источник света с определенными параметрами. Хемилюминесцентное детектирование проводят для большого числа различных по природе веществ на уровне субмикромолярных концентраций. Помимо электрофореза хемилюминесцентное детектирование используют в микрофлюидных ферментных биосенсорах (иммуносенсорах), чаще всего на основе пероксидаз, катализирующих хемилюминесцентное окисление люминола.

Спектрофотометрия. Спектрофотометрическое детектирование в микрофлюидных системах наименее отличается от своего аналога в хроматографии и электрофорезе, и все достоинства метода (дешевизна, простота аппаратного оформления) и его недостатки (неселективность как метода детектирования, относительно низкая чувствительность) справедливы и для микрофлюидных систем. Наиболее характерно использование спектрофотометрического детектирования в УФ области в капиллярном электрофорезе органических смесей и на основе проточных фотометрических реакций (проточно-инжекционный анализ), особенно с использованием светодиодов (низкая стоимость) либо многоканального детектирования. Предложены методы определения ионов натрия, калия, кальция, железа(III) и органических соединений (мочевины, глюкозы, белков, катехоламинов и т. п.) в моче и крови для клинической практики. Пределы обнаружения — 10^{-5} — 10^{-4} моль/л, диапазоны определяемых концентраций составляют три порядка. Однако во многих случаях флуориметрическое детектирование благодаря своей высокой чувствительности ощутимо выгоднее.

Лазерная калориметрическая спектроскопия. Калориметрическая спектроскопия, к которой относятся *термооптическая* и *фотоакустическая спектроскопия*, не является широко распространенной областью аналитической спектроскопии, однако ее достоинства (высокая чувствительность и локальность) делают ее крайне привлекательной для микроаналитических систем. Калориметрическая спектроскопия фактически дополняет молекулярно-абсорбционный анализ. В спектрофотометрии и ИК-спектроскопии измеряют пропускание электромагнитного излучения.

Калориметрические методы исследуют возбужденные молекулы (переход внутренней энергии молекул в тепловую) после поглощения электромагнитного излучения по сопутствующим ему явлениям: изменению плотности (фотоакустическая спектроскопия) или показателя преломления (термооптическая спектроскопия). Поскольку основным процессом является поглощение электромагнитного излучения частицами объекта, в основе калориметрического анализа лежит основной закон светопоглощения.

Важно, что калориметрический сигнал прямо пропорционален интенсивности излучения, которое вызывает нагрев раствора, т.е. калориметрическая спектроскопия подобно люминесцентной спектроскопии является силовым методом, т.е. потенциально обеспечивают очень высокую чувствительность детектирования. Для микроаналитических систем это важно, поскольку длина оптического пути в них мала, что ограничивает применение спектрофотометрии. С другой стороны, силовой вариант молекулярно-абсорбционного анализа позволяет добиться чувствительности, сравнимой с лазерно-индуцированной флуоресценцией, но для нефлуоресцирующих молекул. Наиболее распространено сочетание калориметрического детектирования с микропроточно-инжекционным анализом и электрофоретическим детектированием. Как и в спектрофотометрическом детектировании, используют в основном стеклянные и пластмассовые чипы. Калориметрическую спектроскопию используют для определения биологически активных веществ (витаминов, каротиноидов, катехоламинов и др.) в варианте микропроточно-инжекционного анализа на уровне 10^{-7} моль/л в моче, крови и фармацевтических препаратах. Среди других биологических приложений калориметрической спектроскопии в микросистемах можно выделить разработку прибора, включающего сканирующий микроскоп (см. гл. 16), для исследования поглощения клеточных структур. Этот вариант исследований процессов в клетке *in vivo* может быть применен к нефлуоресцирующим препаратам и не требует маркеров. Пространственное разрешение прибора до 1 мкм, минимальное абсолютное количество определяемого соединения — 10^{-22} моль.

Электрохимические методы

Использование электрохимических методов анализа в целом совпадает с детектированием в хроматографии и капиллярном электрофорезе: наиболее распространено кондуктометрическое и амперометрическое детектирование.

Потенциометрия. В случае потенциометрического определения рабочие электроды обычно встраивают в химический микрочип на этапе его производства. На сегодняшний день наиболее характерным является применение

инертных электродов в качестве как индикаторных, так и электродов сравнения. Менее распространены работы по использованию поверхностно-модифицированных и ионоселективных электродов. Поскольку часто речь идет о детектировании веществ в смесях, для ионоселективных электродов (в основном с твердыми мембранами) используют мембраны, селективные не на индивидуальный ион, а на группу ионов для расширения круга определяемых веществ. Основные определяемые вещества — биологически активные соединения. Чувствительность определения совпадает с чувствительностью при традиционном использовании потенциометрии (см. гл. 7).

Амперометрия. В последнее время амперометрия завоевывает позиции как очень чувствительный и надежный метод детектирования в хроматографии и капиллярном электрофорезе. Естественно, что такая же картина наблюдается при использовании микроаналитических систем. В методах разделения на микрочипах амперометрия уступает по распространенности только лазерно-индуцированной флуоресценции. Наиболее распространенным вариантом является использование встроенных золотых или платиновых электродов. С их помощью детектируют различные биологически активные соединения. В последнее время благодаря новым технологическим решениям получили распространение графитовые электроды, которые позволяют реализовать большое число различных реакций в широком диапазоне анодных потенциалов.

Кондуктометрия. Кондуктометрическое детектирование очень распространено в микрофлюидных системах вследствие простоты, достаточно высокой чувствительности, пригодности для определения большого круга соединений и использования разных методов разделения. Кроме того, включение электродов в систему химической микрофлюидной системы — одна из самых технологически простых задач (см. подразд. 18.1), что делает такой тип детектирования очень привлекательным для массового анализа. Недостатком, как и в хроматографическом анализе, и капиллярном электрофорезе, являются ограничения по чувствительности и возможность протекания побочных процессов на электродах.

Последнее устраняют при помощи бесконтактного кондуктометрического детектирования, широко распространенного в капиллярном электрофорезе. Бесконтактный кондуктометрический детектор можно перемещать вдоль разделительного канала в любую его точку. Это дает возможность для каждой исследуемой смеси оптимизировать условия разделения, наблюдая за условиями буквально в каждой точке канала. Быстрое перемещение детектора в начало канала (разделения нет) позволяет измерять суммарное количество веществ в смеси, а размещение детектора в конце разделительного канала дает электрофореграмму (хроматограмму) с максимальным разрешением. Поскольку детектор может передвигаться вдоль микрочипа автоматически, становится возможным существенное сокращение общего времени анализа: вначале детектор ставят далеко от инжектора и детектируют быстро элюируемые вещества с высоким разрешением, затем детектор перемещают ближе к началу канала, где детектируют медленно элюируемые ионы.

Масс-спектрометрия

В случае масс-спектрометрии наблюдается самая сложная ситуация, связанная с миниатюризацией и интеграцией в аналитической химии. Метод



Рис. 18.5. Миниатюрный квадрупольный масс-спектрометр (линейные размеры $5 \times 5 \times 5$ см; масса 2 кг)

крайне важен и востребован в аналитической химии и химическом анализе, но весьма дорог и сложен с инструментальной точки зрения. В результате одной из важных задач является миниатюризация и удешевление приборного парка, чтобы метод стал массовым. Существенного прогресса можно достичь при миниатюризации даже одного из блоков масс-спектрометра, в том числе с использованием микрофлюидных технологий.

Аналогично газовой, жидкостной хроматографии и капиллярному электрофорезу, которые при сочетании с масс-спектрометром создают фактически самостоятельные гибридные методы с уникальными аналитическими характеристиками (гл. 9), сочетание методов разделения в микрофлюидных системах с масс-спектрометрическим детектированием приводит к существенному расширению возможностей методов и их гибридизации.

Миниатюрные масс-спектрометры. В настоящее время миниатюрные масс-спектрометры можно создавать стандартными методами, используемыми в микроэлектронике. Микромасс-спектрометры очень востребованы для анализа, например, в полевых условиях, на космических кораблях и станциях. Существуют миниатюрные лазерные времяпролетные масс-спектрометры для элементного, изотопного и органического анализа образцов почвы без пробоподготовки. Миниатюрный квадрупольный масс-спектрометр (и газовый хроматограф) используют для определения азота, кислорода, гидразина и аммиака в атмосфере планет при помощи автоматических спускаемых аппаратов (рис. 18.5)*.

Миниатюризация узлов масс-спектрометров. Чаше всего речь идет о миниатюризации узлов ввода пробы в масс-спектрометр. Так, микрофлюидные чипы успешно используют для масс-спектрометров с электрораспылением. После движения по каналу проба попадает к распылительной игле, диаметр которой $\sim 10^{-9}$ м, и далее к масс-спектрометру, что позволяет проводить автоматизированный анализ множества проб. В этом случае большую роль играет малое время (10^{-3} с) анализа, обеспечиваемое микрочипами при анализе систем с концентрацией 10^{-7} моль/л.

Сочетание масс-спектрометрии с микроаналитическими системами. Наиболее распространено сочетание масс-спектрометрии с электрофоретическим или хроматографическим разделением. В принципе, здесь справедливо все, изложенное в подразд. 9.8. Важной особенностью является то, что на одном мик-

* *Madou M.J.* Fundamentals of Microfabrication: The Science of Miniaturisation. — London: CRC, 2002; Microfluidics: History, Treory and Applications / ed. W.B.J. Zimmerman. — Berlin: Springer, 2006.

рочипе можно создать множество независимых систем каналов и добиться высокоэффективного разделения за небольшое (~1 мин) время. Например, для неорганического анализа методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой применяют стеклянные микрофлюидные чипы, которые позволяют определять неорганические ионы всего за 30 с.

Другой часто используемый вариант сочетания масс-спектрометрического анализа с микрофлюидными системами — пробоподготовка для масс-спектрометров на микрочипах. Помимо разделения она может заключаться в предварительном концентрировании, например при помощи сорбирующих патронов или жидкостной проточной экстракции, а также выделения определяемых соединений из исходных смесей.

18.6. Микросистемы полного химического анализа

Микросистемы полного химического анализа, или «лаборатория на микрочипе» (Lab-on-a-Chip), представляют собой наиболее полную реализацию принципов миниатюризации и интеграции (а подчас и автоматизации) в современной аналитической химии.

Проведение полного цикла химического анализа в микроаналитических системах рассматривалось как одно из основных преимуществ с самого начала возникновения этого направления.

Фактически они представляют собой либо полностью функциональный аналитический прибор размером несколько сантиметров (или меньше), либо микрофлюидную систему, в которой реализованы все стадии химического анализа:

- 1) пробоотбор;
- 2) пробоподготовка;
- 3) разделение и (или) концентрирование;
- 4) проведение аналитических реакций;
- 5) детектирование.

Такая микрофлюидная система, естественно, дополняется прибором для ее использования. Подобные системы анализа должны быть дешевыми и легко сменяемыми, а соответствующие им приборы — компактными, относительно дешевыми и по возможности универсальными. Очень хороший и близкий аналог этому — компакт-диск как источник информации и компактный проигрыватель для его использования. В аналитических приборах такого класса имеются либо насос, либо блок питания для электромиграционных методов. Другим базовым элементом является детектор (лампа, или лазер с фотодиодом, или фотоэлектронный умножитель для оптических методов, или электрохимический детектор).

Системы полного химического анализа служат для решения трех основных задач:

- 1) проведение экспресс-анализов для мобильного анализа, при скрининге и т.п.; основная задача таких систем — экспрессность анализа;
- 2) обеспечение инструментальных тестов, как можно более простых решений для неквалифицированных пользователей; аналог такой задачи для хими-

ческих методов — разработка тест-методов в виде индикаторных бумаг, тест-трубок;

3) автоматизация многостадийных и сложных методик анализа, особенно параллельных и биологических тестов.

Естественно, что одно устройство может решать не одну, а две или все три задачи, например при анализе биологических жидкостей на содержание наркотических или лекарственных веществ.

Экспрессность анализа обычно обеспечивается созданием систем полного химического анализа на основе хроматографического или электрофоретического разделения с простым методом детектирования (по теплопроводности, кондуктометрическим или флуориметрическим методом), поскольку очень часто задача быстрого определения сопровождается необходимостью скрининга большого числа проб. Достоинство систем полного химического анализа в том, что к выходу такой системы можно подсоединить более мощный и чувствительный прибор, например масс-спектрометр, для более детального анализа пробы.

Основными потребителями упрощенных методик являются клинические и криминологические лаборатории. Задачи анализа часто связаны с проведением сложных реакций: гибридизации ДНК, взаимодействия белков с рецепторами и особенно полимеразной цепной реакции, прямым методом анализа ДНК (РНК), лежащим в основе генодиагностики. Проведение полимеразной цепной реакции в системе полного химического анализа позволяет существенно снизить (от 3—5 ч до нескольких минут) время анализа, обеспечить непрерывное предварительное разделение исходных проб, термоциклирование и последующее электрофоретическое разделение. Для этого разработаны микрочипы для капиллярного электрофореза.

Задача автоматизации тесно связана с предыдущей задачей и вызвана необходимостью быстрого получения большого объема сложной аналитической информации.

В традиционном варианте аналитической химии это неизбежно ведет к большим затратам времени и большой численности персонала, а также к использованию большого числа приборов.

Применение систем полного химического анализа на микрофлюидных чипах позволяет потенциально интегрировать аналитические методики любой сложности в компактный прибор, способный к одновременному анализу большого числа образцов.

Помимо химических и биохимических анализов системы полного химического анализа используют для микросинтеза с одновременным детектированием его результатов. Микровариант синтеза, как и в случае систем анализа, позволяет резко сократить количество дорогостоящих реагентов и повысить выход реакций, что крайне важно для синтеза, например, лекарственных препаратов, где существенны как доступность лекарства, так и его цена.

Безусловно, сейчас эта молодая и перспективная область аналитической химии находится в стадии развития. Ряд принципиально новых решений и подходов, которые описаны выше и находятся в стадии разработки в исследовательских лабораториях, могут изменить как области использования, так и сам облик химико-аналитической лаборатории.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Какие достоинства микропотоков вызвали бурное развитие микроаналитических систем?
2. Назовите основные элементы микроаналитических систем.
3. Оцените, во сколько раз снизится время анализа, если оно определяется диффузионными процессами, при уменьшении линейных размеров от 10 мм до 100 мкм.
4. Почему капиллярный электрофорез является самым распространенным методом разделения в микрофлюидных системах?
5. Назовите основные методы детектирования в микрофлюидных системах и их достоинства.
6. Какие основные задачи решают при миниатюризации масс-спектрометрического анализа?
7. Кратко опишите основные задачи, решаемые при помощи систем полного химического анализа.
8. Какие объекты анализа наиболее распространены в микроаналитической химии? Почему?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Буляница А. Л.* Математическое моделирование в микрофлюидике : основные положения // Научное приборостроение. — 2005. — Т. 15. — № 2. — С. 51—66.
- Демонстрация возможности определения низкомолекулярных веществ (урацила и хромат-ионов) на приборе для электрофореза на микрочипах Shimadzu MCE-2010 / [М. А. Проскурнин и др.] // Научное приборостроение. — 2005. — Т. 15. — № 2. — С. 5—10.
- Лучинин В. В.* Конструкторско-технологические основы жидкостных аналитико-технологических микросистем / В. В. Лучинин, Е. В. Крапивина // Датчики и системы. — 2002. — Т. 9. — С. 17—23.
- Микрофлюидные аналитические системы / [Б. Г. Беленький и др.] // Научное приборостроение. — 2000. — Т. 10. — № 2. — С. 57—64.
- Микрочиповая мультиреакторная система для биохимического анализа / [М. Н. Сляднев и др.] // Научное приборостроение. — 2005. — Т. 15. — № 3. — С. 42.
- Поздняков А. О.* Микрофлюидные устройства с точки зрения технологии полимерных композитов / А. О. Поздняков, А. А. Евстапов, И. В. Лишевич // Научное приборостроение. — 2005. — Т. 15. — № 1. — С. 67—71.
- Проскурнин М. А.* Современная аналитическая термооптическая спектроскопия / М. А. Проскурнин, М. Ю. Кононец // Успехи химии. — 2004. — Т. 73. — № 12. — С. 1235—1268.
- Сравнение возможностей термолинзового детектирования в капиллярах и микрофлюидных чипах / [М. А. Проскурнин и др.] // Журн. аналит. химии. — 2004. — Т. 59. — № 9. — С. 923—928.
- Bruin G. J. M.* Recent developments in electrokinetically driven analysis on microfabricated devices // Electrophoresis. — 2000. — V. 21. — N 18. — P. 3931—3951.
- Chakrabarty K.* Digital Microfluidic Biochips : Synthesis, Testing, and Reconfiguration Techniques / K. Chakrabarty, F. Su. — London : CRC, 2006.
- Chemical processing on microchips for analysis, synthesis, and bioassay / [M. Tokeshi et al] // Electrophoresis. — 2003. — V. 24. — N 21. — P. 3583—3594.
- Integrated microfluidic system enabling (bio) chemical reactions with on-line MALDI-TOF mass spectrometry / [M. Brivio et al] // Anal. Chem. — 2002. — V. 74. — N 16. — P. 3972—3976.

Kutter J. P. Current developments in electrophoretic and chromatographic separation methods on microfabricated devices // Trends Anal. Chem. — 2000. — V. 19. — N 6. — P. 352—363.

Kutter J. P. Separation Methods in Microanalytical Systems / J. P. Kutter, Y. Fintschenko. — London : CRC, 2005.

Li P. C. H. Microfluidic Lab-on-a-Chip for Chemical and Biological Analysis and Discovery / P. C. H. Li. — London : CRC, 2006.

Madou M. J. Fundamentals of Microfabrication : The Science of Miniaturisation / M. J. Madou. — London : CRC, 2002.

Microfluidics : History, Theory and Applications / ed. W. B. J. Zimmerman. — Berlin : Springer, 2006.

Mogensen K. B. Recent developments in detection for microfluidic systems / K. B. Mogensen, H. Klank, J. P. Kutter // Electrophoresis. — 2004. — V. 25. — N 21—22. — P. 3498—3512.

Moore A. W. Microchip separations of neutral species via micellar electrokinetic capillary chromatography / A. W. Moore, S. C. Jacobson, J. M. Ramsey // Anal. Chem. — 1995. — V. 67. — N 22. — P. 4184—4189.

Oosterbroek R. E. Lab-on-a-Chip : Miniaturized Systems for (Bio) Chemical Analysis and Synthesis / R. E. Oosterbroek, A. J. van den Berg. — Amsterdam : Elsevier. — 2003.

Orient O. J. A compact high-resolution Paul ion trap mass spectrometer with electron-impact ionization / O. J. Orient, A. Chutjian // Rev. Sci. Instrum. — 2002. — V. 73. — P. 2157—2160.

Orient O. J. Miniature, high-resolution, quadrupole mass-spectrometer array // O. J. Orient, A. Chutjian, V. Garkanian // Rev. Sci. Instrum. — 1997. — V. 68. — P. 1393—1397.

Rai-Choudhury P. Handbook of Microlithography, Micromachining and Microfabrication / P. Rai-Choudhury. — Bellingham : SPIE, 1997.

Stone B. M. Life, the Universe and Microfluidics / B. M. Stone, A. J. de Mello // Lab Chip. — 2002. — V. 2. — P. 58N—64N.

Thermal Lens Microscopy and Microchip Chemistry / [T. Kitamori et al] // Anal. Chem. — 2004. — V. 76. — N 3. — P. 52a—60a.

Vilkner T. Micro Total Analysis Systems. Recent Developments / T. Vilkner, D. Janasek, A. Manz // Anal. Chem. — 2004. — V. 76. — N 12. — P. 3373—3386.

ЭКСПЕРТНЫЕ СИСТЕМЫ И СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТАНДАРТНЫХ ОБРАЗЦОВ СОСТАВА

19.1. Общие сведения

В последние 50 лет спектральные методы получили широкое распространение в аналитической химии, существенно изменив ее облик. Не будет преувеличением отметить, что методы ИК-спектроскопии (см. гл. 8), спектроскопии ЯМР (см. гл. 10) и масс-спектрометрии (см. гл. 9) произвели революцию в методологии химического исследования и «химического» мышления, став основным источником структурной информации. Неоспоримые достоинства спектральных методов состоят в том, что они универсальны, экспрессны, компьютеризируемы и опираются на хорошо разработанные теории. Именно это обстоятельство, а также накопление обширных сведений об эмпирических спектро-структурных корреляциях послужили стимулом для начала исследований по применению искусственного интеллекта в аналитической химии.

Для формализации процесса установления структуры молекул потребовалось найти математический аппарат, адекватный природе объекта исследования, которым является система молекула—спектр. Поскольку молекула по природе дискретна и обладает дискретными уровнями энергии, в качестве такого аппарата вполне закономерно была выбрана дискретная математика — математическая логика, теория графов и комбинаторика.

«Математический» синтез структур из атомов и фрагментов на первых порах казался всего лишь одним из этапов в процессе идентификации органических соединений, однако вскоре стало ясно, что его значение выходит далеко за рамки рассматриваемой задачи. В самом деле, множество органических молекул, конструируемых генератором структур, можно интерпретировать как перечисление логических следствий из системы аксиом, которые лежат в основе теории строения молекул. В то же время одно только знание структурной формулы соединения дает возможность предсказывать целый ряд его важных свойств. Это позволило поставить вопрос о разработке математических методов прогнозирования структур с желаемыми свойствами и предсказания свойств по заданной структуре. Богатый опыт, накопленный химией, показывает, что большинство предсказаний классической теории о возможности существования в природе и синтетического получения неизвестных пока соединений оказываются действительными, причем доля неверных предсказаний относительно невелика. Важным результатом работ по применению искусственного интеллекта в молекулярной спектроскопии явился и тот факт, что впервые удалось формализовать процесс химического исследования на базе интеграции многих наук.

Формирование концепции и выработка методологического подхода в этой новой области в целом завершилась в 1990-е гг. в основном благодаря вкладу российских ученых — члена-корреспондента РАН профессора Л. А. Грибова и его ученика — профессора М. Е. Еляшберга и их сотрудников.

В результате последующих исследований, выполненных целым рядом групп в разных странах, были установлены общие принципы построения систем искусственного интеллекта, которые в настоящее время называют *экспертными системами*, а также разработаны соответствующие алгоритмы, которые прошли испытания на большом числе задач.

Экспертные системы имитируют рассуждения эксперта-спектроскописта при решении им задач идентификации неизвестного соединения. Этот мыслительный процесс складывается из трех основных этапов, каждый из которых может быть смоделирован соответствующим блоком экспертной системы:

- структурно-групповой анализ неизвестного вещества;
- построение возможных структурных формул из обнаруженных наборов фрагментов;
- проверка структурных формул на соответствие экспериментальным спектрам и дополнительной информации с использованием прогнозирования спектров предполагаемых структур.

Все эти перечисленные блоки являются относительно независимыми, а выполняемые ими функции обычно реализуются на базе разных математических методов. Можно утверждать, что методы выявления фрагментов, генерации структур и предсказания их спектров практически превратились в самостоятельные разделы компьютерной спектроскопии и математической химии.

Уже сама сложность современных спектральных экспериментов требует предварительной оценки возможности решения с помощью тех или иных их разновидностей поставленной аналитической проблемы. Это возможно только на основе соответствующих теоретических оценок. Можно указать также на многие конкретные ситуации, когда использование стандартных образцов состава просто невозможно. Приведем примеры:

- вещество очень токсично, готовить искусственные смеси опасно для здоровья;
- вещество взрывоопасно, возможен, например, взрыв в момент растирания образца в вазелиновом масле для съемки ИК спектра;
- вещество в чистом виде выделить не удастся, так как оно образует азеотропную смесь;
- вещество не стойко, быстро реагирует с влагой воздуха или полимеризуется;
- вещество представляет собой промежуточный продукт реакции и появляется в какой-то момент, а затем исчезает;
- синтез вещества для получения эталона либо очень сложен, либо очистка очень трудоемка, либо вообще отсутствуют исходные реагенты;
- анализируемое вещество существует только в особых условиях, например в газовой струе, при очень низкой температуре и т. д.;
- в газожидкостной хроматографии, совмещенной с ИК-спектроскопией, не разделяется пик хроматограммы и требуется найти соотношение компонентов по ИК спектру этого пика;
- вещество разлагается в хроматографе.

Возможны и различные комбинации перечисленных ситуаций.

Прием формально-логического анализа впервые был применен для идентификации структурных группировок в сложных органических молекулах по данным их ИК спектров. В дальнейшем этот подход лег в основу первого программного блока экспертной системы (РАСТР) для обработки данных молекулярной спектроскопии. Затем эта система была значительно усовершенствована, и был создан прототип системы, базирующейся на более сложном математическом аппарате, — логике предикатов и нечетких множеств. Разумеется, этот аппарат, который позволяет работать с величинами, заданными в виде интервалов с нечеткими границами, открывает значительно большие возможности и для других задач аналитической химии.

Очевидно, на этих принципах могут быть созданы программные комплексы для обработки данных различных видов хроматографии, эмиссионной спектроскопии и т. д. Методы математической логики применимы также для автоматического прогноза методик спектрального определения элементов в условиях их сильного взаимного влияния и для решения других аналитических задач. Конечно, чтобы это стало возможным, нужно провести очень большую работу по формализации накопленных в разных областях аналитической химии знаний и представлению их в виде компьютерных баз данных. Опыт формализации данных для целей молекулярного спектрального анализа показывает, что эта работа требует больших усилий, не только по подбору таких данных и их классификации, но и по преодолению традиционного стиля мышления специалистов и выработке привычки излагать свои мысли так, чтобы они могли быть понятно сформулированы для компьютера.

Аналитическая химия как синтетическая наука для своего успешного развития нуждается в применении широчайшего спектра самых разнообразных математических методов.

Первые экспертные системы не только в аналитической химии, но и в химии вообще появились как результат развития компьютерных методов идентификации и анализа строения органических соединений по их спектрам. Повидимому, это было связано как со сложностью самой задачи, явно не решаемой без широкого использования вычислительных средств, так и с известной подготовленностью для рассмотрения такой проблемы специалистов в области теории строения и спектров сложных молекул.

Чтобы была понятна общая логика исследования структуры с помощью экспертных систем, обратимся сначала к анализу молекул по их спектрам на базе информационно-поисковых систем (ИПС). Идея такого анализа (но не реальное воплощение!) очень проста и полностью отвечает принципу «отпечатков пальцев». Экспериментальные спектры предъявляются программе и по разным признакам сличаются компьютером с теми, которые уже хранятся в его памяти.

Сильной стороной ИПС является способность получать достаточно достоверные ответы (хотя нередко ИПС выдают не один, а несколько альтернативных вариантов) за сравнительно короткий промежуток времени по одному предъявленному спектру и без знания брутто-формулы вещества. Однако слишком большая конкретизация «знаний» (четко оговоренный способ представления спектров и фиксированные спектральные интервалы — обычно 500—4 000 см⁻¹ для ИК спектров, стандартные условия регистрации и др.) приводит

к тому, что ИПС эффективно работают только в достаточно узкой области, например при диагностике соединений, типичных в данной отрасли промышленности. Информационно-поисковая система допускает анализ веществ, спектры которых отсутствуют в банке данных. Но это достигается благодаря тому, что в данном варианте ИПС дополнена блоками, которые являются типичными для экспертных систем.

«Чистые» ИПС, однако, находят ограниченное применение при анализе неизвестных соединений, т. е. при решении тех задач, с которыми постоянно сталкиваются лаборатории, которые синтезируют новые вещества или выделяют их из природных объектов, контролируют изменяющиеся во времени загрязнения окружающей среды и т. д.

От недостатков, характерных для ИПС, как раз свободны экспертные системы, существенной особенностью которых является то, что их «знания» гораздо более фундаментальны и поэтому могут быть применены для получения заключения и в новых ситуациях, т. е. для диагностики соединений, которых нет в банке данных.

Созданные для идентификации многоатомных молекул по их спектрам экспертные системы также диагностируют вещество, сопоставляя его экспериментальные спектры с компьютерными. Принципиальная разница между ИПС и экспертными системами состоит в том, что эти спектры не хранятся с самого начала в памяти ЭВМ, а генерируются в процессе поиска решения на основе первоначальных гипотез о возможной структуре изучаемой молекулы, причем эти гипотезы формируются автоматически.

19.2. Молекулярно-структурный анализ как обратная задача

Рассмотрим общую взаимосвязь между структурой неизвестного органического вещества и его молекулярной массой, элементарным составом и спектрами с позиций теории информации. До тех пор, пока перечисленные основные характеристики анализируемой молекулы не измерены, число возможных структурных формул практически бесконечно. Если номинальная молекулярная масса определена и постулированы допустимые типы химических элементов, входящих в молекулу, то с помощью соответствующей программы можно сгенерировать исчерпывающее множество всех потенциально возможных молекулярных формул данного соединения. Существенно, что это множество конечно и сформировано в соответствии с теми ограничениями, которые накладываются молекулярной массой и элементарным составом.

Например, если вещество относится к классу CHNO и имеет молекулярную массу $M = 100$, то для этой молекулярной массы может быть сгенерировано 16 молекулярных формул, содержащих хотя бы один атом углерода: CN_4O_2 , CH_4N_6 , $\text{C}_2\text{N}_2\text{O}_3$, C_3O_4 , C_6N_2 , C_7O , $\text{C}_2\text{H}_4\text{ON}_4$, $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2\text{N}_2$, $\text{C}_3\text{H}_8\text{N}_4$, $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_3$, $\text{C}_4\text{H}_8\text{ON}_2$, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$, C_7H_{16} , C_8H_4 , $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$, $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2$.

Среди них могут присутствовать молекулярные формулы несуществующих соединений, в нашем случае к ним относятся следующие атомные комбинации: CN_4O_2 , CH_4N_6 , $\text{C}_2\text{N}_2\text{O}_3$, C_3O_4 , C_6N_2 , C_7O . Такие формулы должны быть исключены из списка.

В общем случае после исключения формул несуществующих соединений получим множество молекулярных формул F_r . Для простоты будем считать, что значение M невелико и позволяет выполнить исчерпывающую генерацию всех топологически возможных изомеров, отвечающих каждому элементу множества F_r . Обозначим S_i — множество изомеров, сгенерированных из элементного состава исследуемого вещества. Наложив второе ограничение — требование, чтобы каждая структура отвечала валентности входящих в нее атомов, — получаем исчерпывающее конечное множество вероятных структурных формул. Далее следует учесть тот факт, что не все сгенерированные изомеры могут существовать в обычных условиях. Требование стабильности изомеров является очередным ограничением, приводящим к дальнейшему сокращению числа возможных структур. Молекулярная масса и молекулярная формула являются носителями структурной информации.

Дальнейшее ограничение числа возможных изомеров достигается при использовании физико-химических параметров молекулы, из которых важнейшими являются спектры ЯМР, масс-спектры и ИК спектры. При полном совпадении экспериментального спектра со спектром эталона, находящегося в спектральном атласе или компьютерной базе данных, обычно делают заключение об однозначной идентификации неизвестного вещества. В этом случае происходит максимальное извлечение структурной информации, носителем которой является спектр. При отсутствии стандартного образца состава определение структуры молекулы обычно проводят по характеристическим спектральным признакам молекулярных фрагментов, и в этом процессе число возможных изомеров сокращается по мере выявления фрагментов. Если же выявление структуры выполняется на основании данных двумерной спектроскопии ЯМР (см. гл. 9), то в качестве ограничений на структуры выступают так называемые связности (см. далее).

Из всего сказанного можно сделать вывод, что сущность методологии без-эталонного решения структурной задачи сводится к наложению ограничений на возможные комбинации атомов в структуре молекулы. Как будет показано далее, такой подход во многих случаях позволяет получить однозначный ответ в результате отсева за счет ограничений миллионов и миллиардов структур, не удовлетворяющих налагаемым ограничениям. Описанный способ поиска решения типичен для большого класса задач, которые принято называть *обратными*. Рассмотрим далее некоторые общие характерные черты задачи установления структуры как частного случая обратной задачи.

Очевидно, задачу молекулярно-структурного анализа, как и задачи, в которых устанавливают те или иные характеристики молекул на основании измеренных спектров, следует отнести к категории обратных задач.

Можно считать, что идентификация молекул по их спектрам возможна в следующих случаях:

- 1) спектр данной молекулы имеется в атласе (на бумажном или магнитном носителе), и дело сводится к сравнению наблюдаемого спектра и справочных данных;
- 2) молекула содержит структурные группировки, обладающие характерными спектральными признаками;
- 3) используется определенная комбинация двумерных спектров ядерного магнитного резонанса.

Первый подход в чистом виде реализуется в информационно-поисковых системах и базируется на использовании конечного числа эталонных спектров, внесенных в базу данных. Однако современные ИПС, содержащие, как правило, структурные формулы химических соединений вместе с их спектрами, позволяют, в принципе, проводить полную или частичную идентификацию веществ, отсутствующих в атласе, для чего используются соответствующие алгоритмы.

Второй подход связан с существованием характеристических спектральных признаков функциональных групп в спектрах разной природы (ИК, КР, УФ, ЯМР). Будем исходить из предположения о том, что между отдельными функциональными группами и характерными для них спектральными признаками (например, частотами колебаний, параметрами сигналов в спектрах ЯМР) существуют вполне детерминированные соотношения. Эти соотношения составляют содержание многочисленных эмпирических таблиц спектроструктурных корреляций, описанных в литературе (см. гл. 8).

Наконец, третий подход — двумерная спектроскопия ЯМР (см. гл. 10), которая в настоящее время является наиболее мощным методом; с ее помощью во многих случаях установление структуры оказывается возможным из одних только спектроскопических данных, т.е. как бы *ab initio*.

С точки зрения формальной логики спектроструктурные корреляции и структурные ограничения (связанности), получаемые из данных двумерной спектроскопии ЯМР, следует рассматривать как систему аксиом, которую можно анализировать методами математической логики. Для формализации задачи выявления структуры требуется предположить, что используемые в дальнейшем аксиомы истинны и непротиворечивы. Это основное условие чаще всего действительно выполняется на практике. Однако одной этой информации недостаточно для построения структурной формулы соединения, так как пользуясь спектроструктурными корреляциями можно установить только наличие тех или иных функциональных групп, но не их число. Поэтому повторением этих группировок можно, вообще говоря, построить бесконечное число молекул, обладающих теми же характеристическими спектральными признаками. В этом смысле можно говорить о полной неопределенности решения рассматриваемой обратной спектральной задачи. Как указывалось выше, это обстоятельство является типичным для класса некорректно поставленных обратных задач. Единственное и правильное решение может быть получено только при наложении дополнительных условий, не связанных с уже использованными аксиомами.

Естественным дополнительным условием, необходимым для получения конечного решения, является требование удовлетворения брутто-составу идентифицируемой молекулы. Эта информация не может быть получена напрямую средствами оптической или резонансной спектроскопии и должна обеспечиваться независимым экспериментом (обычно это масс-спектр высокого разрешения или сочетание масс-спектра низкого разрешения с данными элементного анализа). Применительно к ИК-спектроскопии необходимость введения этого дополнительного признака диктуется, в частности, следующими соображениями. Все множество колебательных частот молекулы может быть разделено на две совокупности: характеристические для отдельных функциональных группировок и нехарактеристические (см. гл. 8). Известно, что даже те группировки, которые по своему химическому строению являются доста-

точно замкнутыми, могут тем не менее не обладать характерными спектральными признаками. Такие группировки, в принципе, не могут быть обнаружены на этапе использования спектроструктурных корреляций в ИК спектрах. С другой стороны, по спектрам ЯМР на ядрах ^1H и ^{13}C , включая и двумерную спектроскопию ЯМР, не удастся выявить все типы гетероатомов, присутствующих в молекуле и определить их число. Это не позволяет построить структурную формулу анализируемого соединения. В лучшем случае может быть выявлен его класс.

Требование удовлетворения брутто-формуле сразу же приводит к конечному, хотя иногда и очень большому, набору структур, существование которых не противоречит наличию введенных в рассмотрение спектральных признаков; последние поэтому следует признать равновероятными.

Другим важным ограничением является требование удовлетворения полученных молекулярных структур основным химическим закономерностям: правилам валентности, допустимым и недопустимым сочетаниям атомов и т. д.

Стадия построения структурных формул является своеобразным фильтром, ограничивающим произвол решения обратной задачи и позволяющим перейти собственно к идентификации соединения.

Наложение дополнительных условий существенно понижает число альтернативных вариантов, однако лишь в отдельных случаях приводит к однозначному решению. Это связано с тем, что сравнительно небольшое число функциональных группировок однозначно идентифицируется с помощью спектроструктурных корреляций, причем эти группировки обычно имеют незначительное число атомов.

Для уменьшения числа альтернативных вариантов приходится включать еще один шаг, на котором проводится сравнение предсказанных спектров гипотетических структур с экспериментальными. Необходимость включения этой процедуры связана с тем, что в процессе генерации молекулярных структур вполне вероятно образование новых сочетаний структурных элементов, которым соответствуют свои характеристические признаки. Проверка наличия или отсутствия этих спектральных признаков в экспериментальном спектре позволяет дополнительно отсеять ложные структуры. Такое сравнение гипотетических и экспериментальных спектров создает дополнительный фильтр, нередко позволяющий выделить единственное решение.

Таким образом, решение обратной задачи идентификации структуры молекул требует наложения ряда дополнительных условий, реализация каждого из которых представляет самостоятельную сложную задачу.

19.3. Экспертные и информационно-поисковые системы

19.3.1. Основные этапы работы экспертных систем

Остановимся несколько подробнее на основных этапах работы экспертной системы, основанной на спектроструктурных корреляциях.

На *первом этапе* на базе банка данных о спектроструктурных корреляциях решается задача структурно-группового анализа. Используя методы матема-

тической логики, программа определяет возможное наличие в молекуле тех или иных относительно замкнутых атомных группировок, причем идентифицируется, как правило, не весь структурно-групповой состав соединения, а только отдельные фрагменты.

На *втором этапе* происходит генерация возможных молекулярных структур, удовлетворяющих введенной с самого начала молекулярной формуле и содержащих все (или часть) отобранные на первом этапе атомные группировки. Ограничение по молекулярным формулам характерно для всех современных экспертных систем, которые служат для диагностики молекул с помощью эмпирических корреляций. В процессе генерации используют правила валентности, а также некоторые знания из области структурной химии и стереохимии. В результате на втором этапе получают набор гипотетических структур, которые и предстоит проверять на соответствие эксперименту.

Для такой проверки на *третьем этапе* проводят грубое моделирование спектров на уровне возможных спектральных интервалов, где должны появиться спектральные признаки гипотетической структуры. Для этого используют гипотетические структурные формулы и библиотеки фрагментов с интервалами изменения их спектральных признаков. Сравнение таких приближенных спектров с экспериментальным позволяет, как показывает практика, отфильтровать подавляющее число ложных структур. Если в результате не получают однозначного ответа, то применяют более точное моделирование спектров.

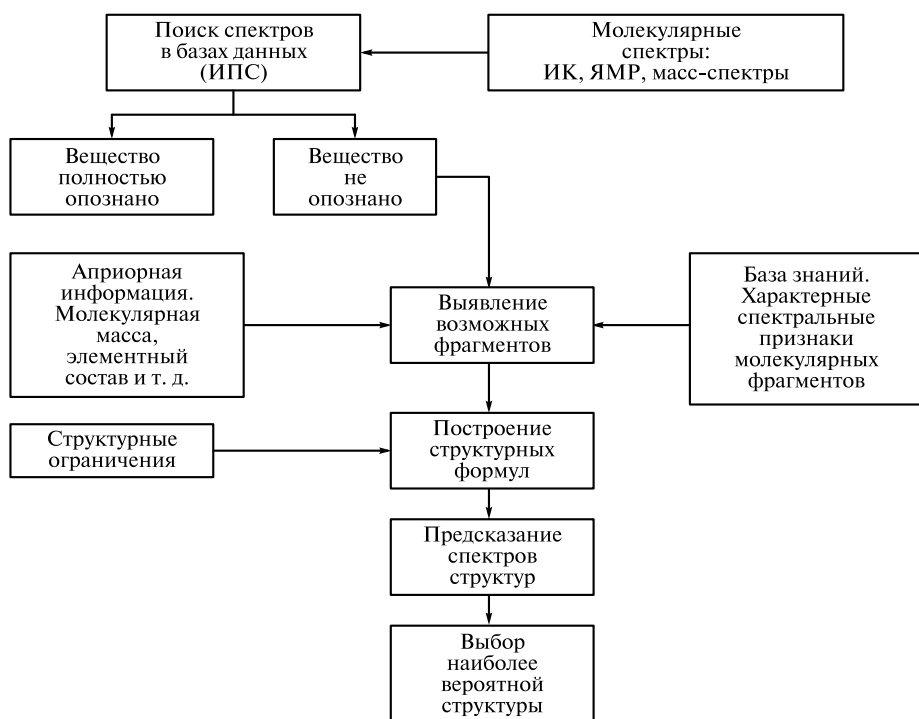


Рис. 19.1. Стратегия распознавания структуры молекул при совместном использовании информационно-поисковых и экспертных систем

Наибольшей дискриминирующей способностью обладает предсказание спектров ЯМР на ядрах ^{13}C , но в ряде случаев может оказаться весьма полезным расчет ИК спектров.

Дальнейшее применение вычислительных методов теоретической спектроскопии может привести не только к уверенной идентификации структуры молекулы, но и к получению разного рода дополнительных сведений о ней (потенциальная поверхность молекулы, распределение электронной плотности и т. д.).

Общая схема идентификации органических веществ с помощью ИПС и экспертных систем показана на рис. 19.1.

Экспертные системы весьма сложны, но, как это будет видно из материала данной главы, реально исполнимы. Это подтверждается опытом эксплуатации таких систем, например системы РАСТР и построенной в России на ее основе дружелюбной системы X-PERT, а также Structure Elucidator. Затраты на создание таких систем окупаются широким полем их применения. Поскольку эти системы базируются на фундаментальных знаниях, они сравнительно мало подвержены «старению», достаточно легко дорабатываются и приспособляются к нуждам той или иной лаборатории, их распознавательная способность не сильно зависит от условий эксперимента (последнее не относится к экспертным системам, использующим данные двумерной спектроскопии ЯМР).

Принципы, заложенные в экспертные системы для молекулярной спектроскопии, могут быть использованы при создании аналогичных систем для обработки данных других видов спектроскопии.

19.3.2. Элементы теории структурно-группового анализа по молекулярным спектрам

К настоящему времени накоплено достаточно большое количество эмпирических данных о характеристичных признаках функциональных групп в спектрах органических соединений. Эта информация, разбросанная по многочисленным журнальным статьям, обобщена в ряде монографий, где она наглядно представлена в виде корреляционных таблиц и диаграмм. Корреляционные таблицы являются основным источником сведений о взаимосвязи спектров со строением молекул при качественном структурно-групповом анализе. Однако при пользовании ими специалисты сталкиваются с рядом существенных трудностей. Укажем на некоторые из них.

Как известно, установление строения молекул по их спектрам основано на логическом сопоставлении спектров исследуемых соединений с ранее выявленными зависимостями между структурными элементами и их спектральными признаками. Однако такие зависимости нередко оказываются весьма сложными, многоступенчатыми и включают большое число логических связей, словесная формулировка которых может быть расплывчатой, неоднозначной.

Удержать в памяти эти связи, промежуточные выводы и умозаключения на всех стадиях анализа оказывается для специалиста весьма сложной, а зачастую и непосильной задачей. Следствием этого является существенная зависимость

результатов логического анализа спектральных данных от опыта и интуиции специалиста, что в свою очередь приводит к отсутствию объективной меры вероятности обнаружения в образце данного структурного элемента. Заслуживает внимания также проблема установления признаков, характеристических для определенных молекулярных фрагментов. Если исследуемые соединения представляют собой впервые синтезированные сложные вещества, содержащие такие структурные элементы и функциональные группы, которые еще не описаны в корреляционных таблицах, то выделение характеристичных частот становится весьма трудной задачей, требующей сложного логического анализа с перебором многих вариантов. При этом важно учесть все гипотезы, объясняющие экспериментальные факты, а из допустимых гипотез выделить наиболее значимые. Этот процесс дополнительно усложняется в связи с неполнотой данных о строении новых соединений и перекрыванием полос в спектре.

Оказалось, что исследования подобного рода можно облегчить путем формализации их на основе применения специального математического аппарата, позволяющего заменить рассуждения специалиста строгими вычислениями, выполняемыми на компьютере. Как отмечалось выше, указанным требованиям отвечает аппарат математической логики — науки о дискретном структурном моделировании дискретных конечных систем. Использование математической логики оказывается наиболее плодотворным при исследовании сложных объектов, имеющих дискретную природу.

То обстоятельство, что молекула как совокупность структурных элементов и ее спектры являются дискретными по природе объектами, дает основание полагать, что математическая логика является наиболее естественным математическим аппаратом для описания взаимосвязи спектра со строением молекулы, которое в этом случае рассматривается как «черный ящик».

Действительно, молекула как совокупность атомов и атомных групп по своей природе дискретна. Спектр как результат переходов между дискретными уровнями энергии также имеет дискретную природу. Между элементами этих двух множеств — атомов или функциональных групп и спектральных признаков (полос поглощения) — существуют определенные связи и отношения, которые обнаруживаются дискретным индикатором. Таким индикатором является наличие или отсутствие в спектре совокупности характеристических спектральных признаков в зависимости от наличия или отсутствия в молекуле соответствующих структурных групп. Поэтому применение математической логики при исследованиях взаимосвязи спектра со строением вещества естественно вытекает из самой природы изучаемого объекта.

Спектрохимические знания можно разделить на *факты* (выражения, содержащие константы) и *закономерности* (выражения, содержащие хотя бы одну логическую переменную). Со знаниями удобно оперировать, если они структурированы. Для структуризации знаний выделяют класс общих закономерностей, справедливых для большинства органических молекул (например, «малые циклы с тройной связью не встречаются в органической химии»). В качестве единиц структурирования остальных знаний принимают основные функциональные группы, обладающие характеристическими спектральными признаками ($C-C$, $C=C$, $C=O$, $C=N$, $O-N$ и т.д.). Молекулярный фраг-

мент описывается его ядром ($C=C$, $C=O$ и т.д.), к которому последовательно присоединяются атомы окружения, образуя соответственно фрагменты первого, второго, третьего, ... уровней. Образующаяся иерархия знаний представляет собой граф в виде дерева, называемый *сетью декларативных знаний*. Описание узла сети содержит структуру фрагмента, возможные типы его колебаний, закономерности и факты, характерные для данного фрагмента.

Эта формализованная информация составляет систему аксиом, из которых может быть сформирована база знаний экспертной системы. Тогда задачи качественного молекулярного спектрального анализа представляются утверждениями (теоремами), которые необходимо доказать или опровергнуть.

Система позволяет решать задачи интерпретации и прогнозирования ИК спектров по спектроструктурным корреляциям, данным структурно-группового анализа, причем с количественной оценкой достоверности получаемых структур. Характерно, что при интерпретации ИК спектра проводится отнесение каждой частоты к определенному типу колебаний соответствующих группировок с указанием истинности именно такого отнесения, а прогнозирование спектров заканчивается выдачей модельных графиков.

19.3.3. Представление молекулярных структур в экспертных системах

Большинство экспертных систем работает со структурами органических молекул, которые описываются классической теорией строения. В рамках этой теории *молекулой* принято называть электрически нейтральное образование из атомов, между которыми существует химическая связь. Такое определение представляется очевидным на интуитивном уровне и позволяет химикам в большинстве случаев хорошо понимать друг друга. Схему, показывающую связь между элементами некоторой системы, называют *структурой*. Поэтому для описания взаимосвязи атомов в молекуле используют *структурные формулы*, с помощью которых становится возможным однозначное отображение огромного числа органических веществ.

Таким образом, структурная формула представляет собой простейшую модель органической молекулы. Тем не менее эта простейшая модель, как показывает весь опыт развития химии, является уникальным по емкости носителем химической информации. Оказалось, что знание структурной формулы вещества позволяет не только качественно прогнозировать его химические свойства, но и количественно предсказывать многие физико-химические характеристики (температуру кипения, теплоту сгорания, плотность, биологическую активность и т.д.). Благодаря структурным формулам стало возможным создание гигантских компьютерных баз данных, в которых хранятся знания, добытые многими поколениями химиков. При этом поиск необходимой информации осуществляется за несколько секунд.

Это оказалось возможным потому, что структурная формула с точки зрения математики представляет собой объект, абстрактные свойства которого изучает раздел математики, называемый *теорией графов*. Теория графов является одним из наиболее широко применяемых инструментов исследования молекулярных структур.

19.3.4. Особенности использования спектров ЯМР в экспертных системах

В современных экспертных системах среди методов, применяемых для распознавания молекулярных структур, главенствующую роль играет спектроскопия ЯМР (см. гл. 10). Наиболее широкое распространение в лабораторной практике имеют спектры ЯМР на ядрах ^1H и ^{13}C .

Важной особенностью спектров ЯМР ^1H является тот факт, что площадь под линией резонансного сигнала пропорциональна числу протонов, дающих этот сигнал. Площадь можно измерить путем интегрирования и использовать полученное значение для определения числа протонов в сигналах спектра. Для некоторых сигналов в спектре ЯМР наблюдается характерное расщепление, которое имеет форму дублетов, триплетов, квартетов и т.д. Участки спектра с четко выраженной мультиплетностью сигналов называют *спектрами первого порядка*. Расщепление сигналов является следствием спин-спинового взаимодействия одного ядра с другим или сразу с несколькими ядрами, имеющими ненулевые магнитные моменты. Спин-спиновое взаимодействие дает возможность определять положение ядер относительно друг друга, так как величина этого взаимодействия (константа спин-спинового взаимодействия J) зависит от числа и типа связей, разделяющих ядра. Мультиплетность резонансных сигналов и распределение интенсивностей внутри мультиплетов в спектрах первого порядка строго определяются числом протонов в соседних группировках. Основу применения спектроскопии ЯМР для определения структуры неизвестных веществ составляют эмпирически найденные корреляции между спектральными параметрами (химическим сдвигом, мультиплетностью, константой спин-спинового взаимодействия), с одной стороны, и строением молекулы образца, с другой. По значению химического сдвига можно судить о химическом окружении ядра, дающего данный резонансный сигнал, а интегрирование спектра позволяет сделать выводы об относительных количествах присутствующих ядер. Примеры эмпирических корреляций для ядер ^1H и ^{13}C приведены в табл. 19.1, 19.2.

Таблица 19.1

Интервалы химических сдвигов в спектрах ЯМР ^1H

Функциональная группа*	Интервал химического сдвига, м.д.	Функциональная группа*	Интервал химического сдвига, м.д.
$\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—}$	0,5—1,6	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—}$	0,9—2,1
$\text{CH}_3\text{—C}\equiv\text{C—}$	1,6—2,6	$\text{—CH}_2\text{—C}\equiv\text{C—}$	1,9—3,0
$\begin{array}{c} \\ \text{CH}_3\text{—C=O} \end{array}$	1,7—2,7	$\begin{array}{c} \\ \text{—CH}_2\text{—C=O} \end{array}$	2,2—3,5
$\text{CH}_3\text{—C}_6\text{H}_5$	1,9—2,8	$\text{—CH}_2\text{—C}_6\text{H}_5$	2,4—3,0
$\text{CH}_3\text{—N=}$	2,2—3,2	$\text{—CH}_2\text{—N=}$	2,4—3,8
$\text{CH}_3\text{—O—}$	3,1—4,1	$\text{—CH}_2\text{—O—}$	3,3—4,3

* Выделена жирным шрифтом.

Интервалы химических сдвигов в спектрах ЯМР ^{13}C

Функциональная группа*	Интервал химического сдвига, м. д.	Функциональная группа*	Интервал химического сдвига, м. д.
$\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—}$	7—31	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—}$	17—53
$\text{CH}_3\text{—O—}$	42—60	$\text{—CH}_2\text{—O—}$	40—70
$\text{CH}_3\text{—N=}$	30—47	$\text{—CH}_2\text{—N=}$	37—60
$\text{CH}_3\text{—}\overset{\text{C}}{\overset{\text{O}}{\parallel}}\text{=}$	20—30	$\text{—CH}_2\text{—}\overset{\text{C}}{\overset{\text{O}}{\parallel}}\text{=}$	25—48
>C^{**}	30—40	>C=C<	102—122
=N—C^{**}	50—70	$\text{=}\overset{\text{C}}{\overset{\text{C}}{\parallel}}\text{=}$	75—90
$\text{O=}\overset{\text{C}}{\overset{\text{C}^{**}}{\parallel}}\text{=}$	36—46	$\text{—}\overset{\text{C}}{\overset{\text{C}}{\parallel}}\text{=O—}$	80—97
—O—C^{**}	67—85	$\text{—C}\equiv\text{C—}$	64—77
O=C<	160—220	$\text{—C}\equiv\text{N}$	113—123

* Выделена жирным шрифтом.

** Четвертичный атом углерода.

За последние 20 лет широкое развитие получили методы двумерной спектроскопии ЯМР (см. гл. 10). В двумерных спектрах ЯМР удастся наблюдать полную картину спин-спиновых взаимодействий каждого магнитного ядра со всеми остальными магнитными ядрами. Поскольку наибольшие значения констант J в этом случае проявляются, как правило, от взаимодействий с ядрами, находящимися на расстоянии 1—3 связей от данного ядра, последовательное обнаружение соседних атомов углерода (а также групп XH_n , где X — гетероатом) в скелете молекулы позволяет устанавливать ее строение, даже не прибегая к использованию спектроструктурных корреляций.

Чаще всего для установления структуры используют следующие виды двумерных экспериментов:

- Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence (HMQC) $^1\text{H—}^{13}\text{C}$;
- Heteronuclear Single-Quantum Coherence (HSQC) $^1\text{H—}^{13}\text{C}$;
- Homonuclear Correlation Spectroscopy (COSY) $^1\text{H—}^1\text{H}$;
- Heteronuclear Multiple-Bond Correlation (HMBC) $^1\text{H—}^{13}\text{C}$.

В спектрах HMQC и HSQC проявляются спин-спиновые взаимодействия между атомом углерода группы CH_n ($n = 1—3$) и присоединенными к нему протонами. Каждому химическому сдвигу атомов углерода группы CH_n в спектре ЯМР ^{13}C сопоставляется сигнал в спектре ЯМР ^1H от протонов, присоединенных к данному атому. В спектрах COSY $^1\text{H—}^1\text{H}$ проявляются взаимодействия между протонами, находящимися на расстоянии 2—3 связей друг от друга.

Этим сигналам отвечают константы спин-спинового взаимодействия $^2J_{\text{HH}}$ (геминальное* взаимодействие в группе CH_2) и $^3J_{\text{HH}}$ (вицинальное* взаимодействие во фрагменте $\text{CH}—\text{CH}$). Очевидно, что полезную структурную информацию дают корреляционные пики, зарегистрированные от вицинальных атомов водорода. Если из двумерного спектра ЯМР установлено наличие вицинального взаимодействия протонов, то говорят, что между соответствующими атомами углерода существует связанность длиной в одну связь $\text{C}—\text{C}$. Следует заметить, что по причинам, о которых будет сказано далее, в спектрах COSY проявляются далеко не все теоретически возможные корреляционные пики.

Наиболее полную структурную информацию несут спектры НМВС. В этих спектрах наблюдаются спин-спиновые взаимодействия между протонами и ядрами ^{13}C , удаленными на расстояние 2—3 связей.

В общем случае чем больше связанностей COSY и НМВС удастся обнаружить в результате обработки двумерных спектров ЯМР, тем больше структурной информации извлекают из двумерных спектров.

Помимо упомянутых выше видов экспериментов существует ряд других техник двумерной спектроскопии ЯМР, с помощью которых обнаруживают дальние взаимодействия протонов, что позволяет делать заключения о стереохимии молекулы.

19.4. Спектральный анализ с помощью экспертных систем

В общих чертах выше была рассмотрена теоретическая база решения задачи идентификации сложных соединений по совокупности их спектров и дополнительной информации без применения стандартных спектров, заложенных с самого начала в идентифицирующую систему, т.е. без использования стандартных образцов состава.

В целом задача оказывается очень сложной и не может быть сведена, например, к решению привычных систем уравнений, вычислению интегралов и т.д. Возникающие математические проблемы и их оформление относятся к качественно другой категории. Поиск решения требует выполнения большого числа как логических, так и вычислительных операций и последовательного действия различных программных блоков, реализующих решающие алгоритмы. В процессе создания все более сложных версий экспертных систем выяснилась их принципиальная особенность: невозможность создать эффективно действующую систему, которая работала бы полностью в автоматическом режиме без участия оператора.

Не имея возможности подробно рассмотреть этот вопрос, укажем лишь, что отмеченный факт является одним из проявлений принципа дополнительности Н.Бора. Именно поэтому решение по-настоящему сложных задач доступно лишь тандему человек — компьютер.

Человек нужен, чтобы принять на себя риск решения в тех случаях, когда полная формализация невозможна. Это вызвано тем, что исследователь всегда имеет дело с нечеткой информацией. Переработка же огромного объема логи-

* См. сноску на с. 133.

ческих связей физически недоступна человеку и может быть выполнена только компьютером.

Современные экспертные системы очень сложны с точки зрения программной реализации. Эти программы непрерывно дополняются по мере появления все новых и новых выдвигаемых практикой задач. Именно в процессе их решения обнаруживаются недостатки существующих версий экспертных систем и необходимость использования новых подходов и программных реализаций. Усложняется и процесс взаимодействия оператора (обычно это квалифицированный химик) с компьютером. Хотя общая архитектура экспертных систем более или менее установилась, однако детали все время изменяются, нередко принципиально. Теорию экспертных систем нельзя сформулировать просто в виде набора решающих правил. Поэтому невозможно и понять, как они работают в сложных ситуациях, не прибегая к анализу отдельных примеров и базовых версий экспертных систем.

В начале 1990-х гг. стало очевидно, что экспертные системы имеют шанс быть принятыми химиками-органиками как рабочий инструмент аналитической химии. Блок-схема системы X-PERT представлена на рис. 19.2.

Так, ввод данных может быть осуществлен как в ручном режиме пользователем, так и непосредственно с ИК- и ЯМР-спектрометров. В экспертной системе X-PERT задание точной молекулярной формулы не является обязательным. Если брутто-формула анализируемого вещества неизвестна, а указан лишь качественный элементный состав и молекулярная масса, то программа генерирует все возможные брутто-формулы, удовлетворяющие спектральным данным, а выбор истинной брутто-формулы осуществляется средствами самой системы. На основании анализа исходных данных система способна оценить сложность задачи и по запросу специалиста выдать некоторые рекомендации по методу ее решения.

Система X-PERT обладает высокоразвитыми графическими средствами представления спектроструктурной информации, что обеспечивает быстрое восприятие текущей ситуации специалистом и принятие соответствующего решения.

При разработке системы особое внимание было уделено созданию средств, помогающих пользователю преодолевать «аварийные» ситуации. К ним относятся такие условия, возникающие в процессе решения задач, когда не отображено ни одного фрагмента, не сформировано ни одного набора или все сгенерированные структуры отброшены при фильтрации и т.д. При возникновении подобных ситуаций пользователь получает от системы объяснение возможных причин срыва решения и рекомендации по их выявлению и устранению.

Благодаря широкому набору опций и регулируемых параметров достигается возможность выбора режима работы и изменения характера накладываемых спектральных и структурных ограничений. Для выбора наиболее правдоподобной структуры проводится автоматическое предсказание спектров ЯМР ^{13}C для всех структур, входящих в ответный файл. Программа ранжирует структуры ответного файла по убыванию сходства расчетных и экспериментальных спектров, так что первая структура в списке принимается за наиболее вероятную.

Приведем два примера распознавания структуры молекул с помощью системы X-PERT.

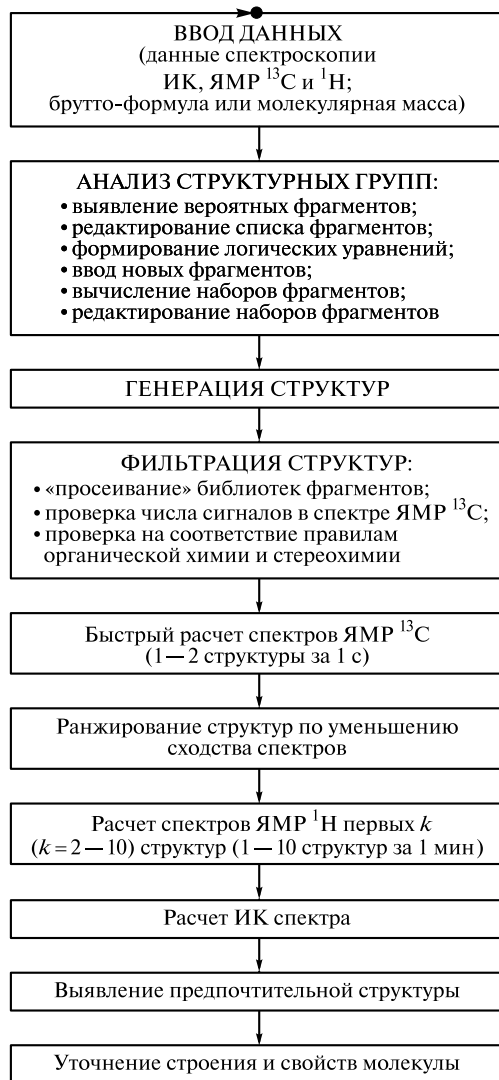


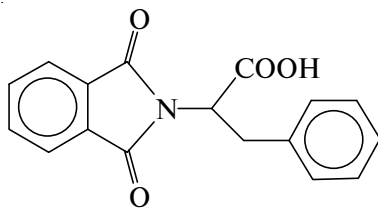
Рис. 19.2. Блок-схема экспертной системы X-PERT

Пример. Неизвестное соединение характеризуется качественным составом $C_{1-50}H_{0-120}N_{0-30}O_{0-30}$ и молекулярной массой $M = 295$. Зарегистрированы спектры ИК и ЯМР.

Для указанных экспериментальных данных программа сгенерировала 197 возможных брутто-формул, из которых в результате спектральной фильтрации выделила одну формулу, удовлетворяющую спектрам ИК и ЯМР: $C_{17}H_{13}NO_4$.

Решение логических уравнений привело к формированию двух наборов фрагментов: 1) $HO-C=O$, Ar-1, Ar-1,2, CH_2-CH ; 2) $HO-C=O$, Ar-1,

Ar-1,3, CH₂—CH (Ar — ароматический фрагмент), из которых сгенерировано 42 858 структур. В результате фильтрации этих изомеров через систему фильтров и предсказания спектров ЯМР ¹³C установлено, что молекула имеет следующую структурную формулу:



Пример. Необходимо установить по спектрам ИК и ЯМР структуру неизвестного соединения состава C₁₃H₁₄N₂O₈ с молекулярной массой $M = 326$.

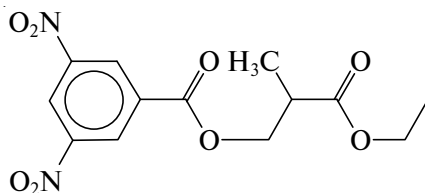
В результате структурно-группового анализа было сформировано три набора фрагментов:

1) Ar-1,2,3, C=O, NO₂, NO₂, O—C=O, CH₃, CH₂CH₃, CH₂;

2) Ar-1,2,4, C=O, NO₂, NO₂, O—C=O, CH₃, CH₂CH₃, CH₂;

3) Ar-1,2,5, C=O, NO₂, NO₂, O—C=O, CH₃, CH₂CH₃, CH₂,

из которых программа сгенерировала 34 400 структур. В результате фильтрации и предсказания спектров ЯМР ¹³C было установлено, что предпочтительной является следующая структура:



19.5. Анализ веществ методами ультрафиолетовой и видимой спектроскопии без использования стандартных образцов состава

Абсорбционная спектрофотометрия и флуоресцентный анализ в видимой и УФ областях спектра стали уже классическими аналитическими методами органической химии (см. гл. 8).

Преимущества методов оптической спектроскопии хорошо известны и заключаются в их высокой чувствительности и избирательности, что позволяет регистрировать спектры при весьма малой концентрации (вплоть до одной молекулы) используемых веществ. Это особенно важно при экологическом мониторинге, при анализе сред в различных агрегатных состояниях (газов, жидкостей, кристаллов, замороженных матриц, пленок, поверхностей и т.д.), при использовании спектров разных типов (одно-, многофотонных, поляризованных/неполяризованных, спектров поглощения, излучения, рассеяния и т.д.) в разных диапазонах излучения, что существенно повышает информа-

тивность спектрального анализа. Эффективность этих методов во многом определяется качеством экспериментальных спектров.

Традиционные спектры флуоресценции и поглощения больших органических молекул в растворах при комнатной температуре малоструктурны из-за большого уширения ($\sim 100\text{--}1\,000\text{ см}^{-1}$; рис. 19.3) линий колебательной структуры. Но уже такой «широкополосный» эксперимент, несмотря на его очевидные недостатки (неконтрастность, малая селективность, в частности из-за перекрывания полос различных компонент смесей и др.) позволяет получать важную для аналитических целей информацию. Огромное количество информации о молекулярной структуре, содержащейся в этом спектре, оказывается недоступным для анализа в силу теплового и неоднородного уширения электронно-колебательных линий. Это хорошо видно на рис. 19.3, где для сравнения приведены спектры той же молекулы, но полученные с помощью другой более современной экспериментальной техники с высоким разрешением электронно-колебательных компонент полосы поглощения (линии 2, 3). Поэтому одна из главных целей развития экспериментальных методов в данной области спектроскопии заключается именно в выявлении этой тонкой структуры спектров поглощения и испускания сложных молекул.

Первым и существенным достижением в этой области стали хорошо известные спектры Шпольского, когда за счет снижения температуры и соответствующего подбора растворителя удалось увеличить разрешение, повысить структурность спектров. На рис. 19.3 приведены характерные примеры таких спектров. Использование эффекта Шпольского в качестве аналитической техники позволило значительно увеличить эффективность методов качественно-

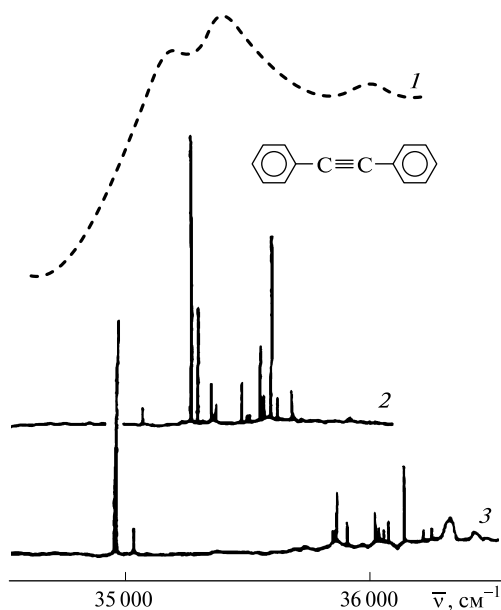


Рис. 19.3. Спектры дифенилацетилена:

1 — поглощение при комнатной температуре; 2 — возбуждение флуоресценции; 3 — двухфотонное поглощение в сверхзвуковой струе

го анализа химических соединений, причем для очень малых концентраций, в ряде случаев вплоть до следов исследуемого вещества в растворителе. Однако повышение разрешающей способности спектров Шпольского ограничено возможностями выбора подходящего растворителя и трудностями в дальнейшем снижении температуры (обычно $T = 4 - 77$ К) раствора.

В последнее время произошел качественный скачок — появились наряду с традиционными новые методы, позволяющие получать весьма информативные тонкоструктурные спектры больших молекул, а именно методы *спектроскопии сверхзвуковых струй*. Идея метода крайне проста и заключается в следующем: образец, содержащий исследуемое вещество (твердое, жидкое, кристаллическое, адсорбированное на некоторой поверхности и т.д.) и помещенный в специальную камеру, нагревают для получения пара, который смешивается с инертным газом (как правило, аргон) и выходит, адиабатически расширяясь, из камеры через малое отверстие или щель в виде осесимметричной или «плоской» сверхзвуковой струи. Эта сверхзвуковая струя инертного газа содержит исследуемое вещество в виде «изолированных» весьма эффективно внутренне охлажденных молекул (колебательная температура 30 К, вращательная — 5—10 К), спектры которых регистрируют, например, методами лазерно-индуцированной флуоресценции (рис. 19.4, 19.5).

Уменьшение ширины линий спектра от $\sim 10^3$ см⁻¹ (растворы, высокотемпературные газы) до ~ 1 см⁻¹ (сверхзвуковая струя) позволяет увеличить спектральное разрешение методов лазерно-индуцированной флуоресценции сверхзвуковых струй по сравнению с традиционными приблизительно на 3 порядка и зарегистрировать тонкую колебательную структуру электронных спектров. Такая спектральная техника (сейчас уже типичная) не только широко приме-

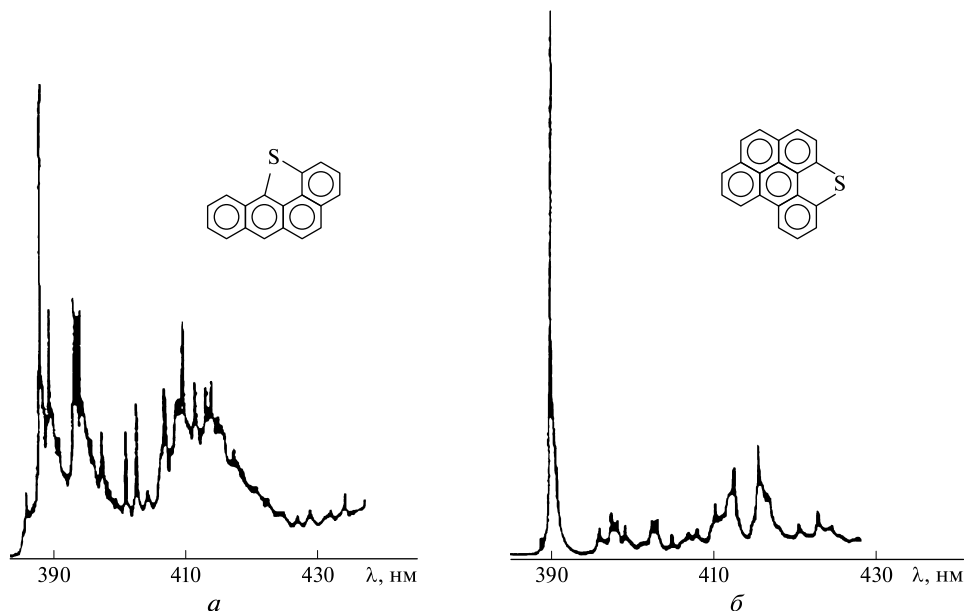


Рис. 19.4. Спектры флуоресценции 1,12-эпитиобензоантрацена (а) и 1,12-эпитиобензопирена (б) при температуре 63 К (раствор в *n*-гексане)

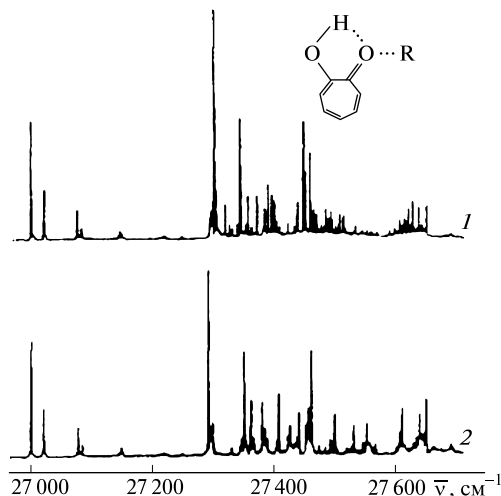


Рис. 19.5. Спектры возбуждения флуоресценции комплексов трополон · R:
1 — R = CH₃OH; 2 — R = H₂O

няется для исследования структуры и динамики возбужденных состояний сложных молекул, но и существенно расширяет аналитические возможности. Она позволяет использовать для анализа кроме положения полос поглощения и излучения (как обычно делается, например, в теории органических реагентов, в экспертных системах аналитической химии и др.) еще и форму контура полосы, ее тонкую структуру.

Среди аналитических применений метода лазерно-индуцированной флуоресценции сверхзвуковых струй можно выделить следующие: идентификация больших молекул и их изомеров, детектирование органических примесей, анализ органических загрязнителей и др. При этом достигаются очень высокие селективность и чувствительность метода, позволяющие детектировать незначительные (по концентрации) следы органических примесей: давление примесей молекул $\sim 10^{-7}$ мм рт. ст. (10^{-10} атм), концентрация примесей $\sim 10^{-4}\%$, необходимое для анализа количество вещества ~ 1 мг (и менее), причем необходимое давление пара может быть получено при умеренно низком нагреве твердого образца ($< 200^\circ\text{C}$) и низком давлении ($< 0,1$ атм) инертного газа.

Важно, что возможно получение широкого набора вариантов тонкоструктурных электронно-колебательных спектров сложных молекул при использовании различных методов регистрации спектров сверхзвуковых струй: флуоресценция резонансно возбужденных одиночных электронно-колебательных уровней, резонансная многофотонная ионизация, спектроскопия фотоэлектронов с нулевой кинетической энергией и др. Этим существенно повышается информативность спектрального анализа. Наряду с высокой структурностью получаемых спектров и чувствительностью экспериментальных методов принципиально важное значение приобретает возможность регистрации оптических спектров в абсолютной шкале интенсивностей, которые при сопоставлении (сравнении) с данными, полученными теоретическими методами количественного анализа (и предсказания), позволяют определить искомые концентрации.

Общая идея использования теоретических и экспериментальных методов ИК-спектроскопии для количественного молекулярного анализа без использования стандартных образцов состава была рассмотрена выше. Она весьма проста по своей сути и заключается в сравнении интегральных оптических плотностей отдельных полос измеренных ИК спектров поглощения (или всего спектра) с рассчитанными абсолютными интенсивностями этих полос. Решение соответствующих систем уравнений позволяет определить искомые концентрации. Была показана не только возможность практической реализации такого метода, но и его весьма высокая эффективность (например, погрешность определения концентраций компонентов многокомпонентной смеси не превышает ~10 %).

19.6. Качественный и количественный анализ веществ методами спектроскопии с временным разрешением без использования стандартных образцов состава

Выше были рассмотрены возможности создания оптических методов анализа в различных спектральных диапазонах без использования стандартных образцов состава. При этом сами спектры получали в стационарных условиях (непрерывное облучение и длительное наблюдение), так что во времени спектральная картина не менялась. Конечно, это не исключает применения тех же подходов к анализу медленно протекающих реакций, когда можно измерить спектры для отдельных интервалов, считая их мало меняющимися за относительно малые промежутки времени.

Имеющийся опыт анализа относится к традиционной оптической спектроскопии. Современной особенностью развития экспериментальной спектральной техники является то, что наряду со ставшими уже традиционными методами, позволяющими получать высокоинформативные тонкоструктурные спектры с шириной линий до 1 см^{-1} , появились и интенсивно развиваются методы регистрации спектров сложных молекул с временным разрешением. Это существенно расширяет аналитические возможности за счет использования для анализа, кроме положения полос поглощения и излучения, формы контура и ее тонкой структуры, еще и временной зависимости интенсивностей линий излучения.

Метод наблюдения молекулярных спектров люминесценции с временным разрешением схематически проиллюстрирован на рис. 19.6. Он заключается в резонансном (или узкополосном) возбуждении молекул короткими ($\Delta t \sim 10^{-15} - 10^{-9}\text{ с}$) импульсами света и последующей регистрацией либо полного спектра люминесценции с высоким временным разрешением (трехмерный спектр), либо различных его сечений (например, изменение во времени интенсивности люминесценции при фиксированных длинах волн; спектры люминесценции в фиксированные моменты времени после возбуждения). Примеры таких экспериментальных спектров приведены на рис. 19.6—19.8. Тем самым качественно меняется ситуация, поскольку наблюдение релаксационных процессов дает возможность непосредственно по спектрам определять экспериментальные вероятности переходов.

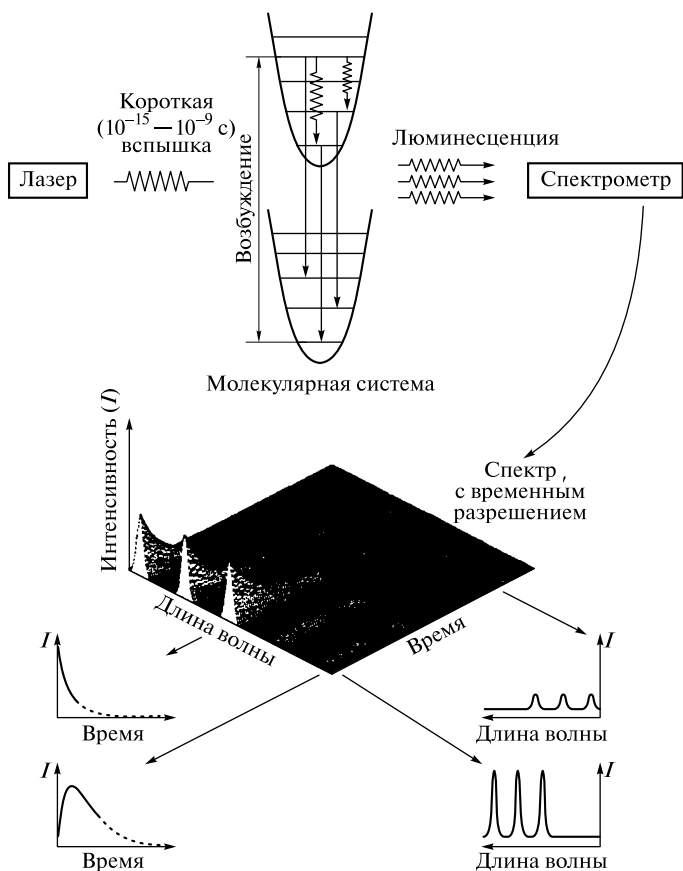


Рис. 19.6. Регистрация спектров люминесценции с временным разрешением

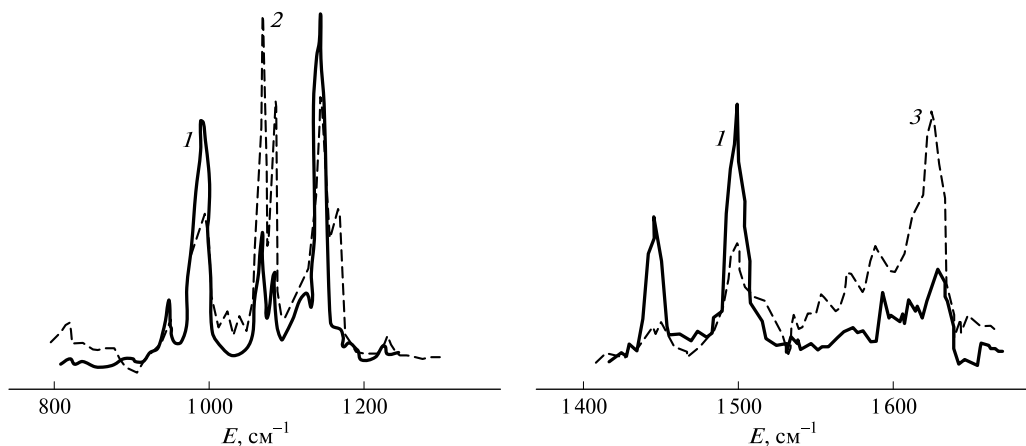


Рис. 19.7. Динамика фотоэлектронных спектров аценафтена (а) и флуорена (б):
1 — исходный спектр; 2 — спектр через $1,25 \cdot 10^{-10}$ с; 3 — спектр через $6,7 \cdot 10^{-11}$ с

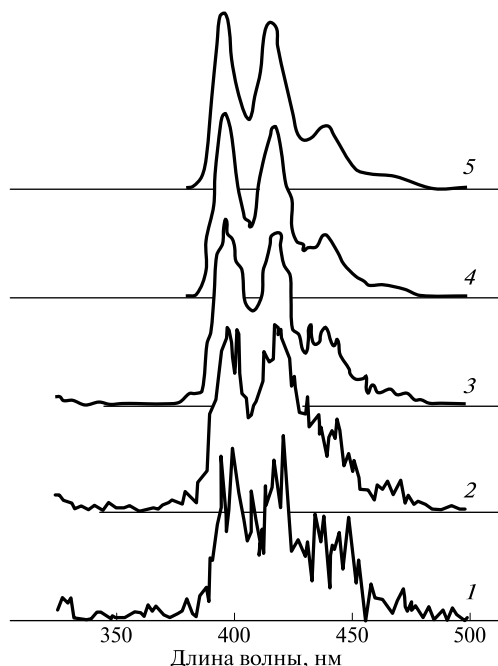


Рис. 19.8. Разрешенный во времени спектр флуоресценции антрилпропилнафталина $C_{14}H_9-(CH_2)_3-C_{10}H_7$:
 1 — через $-10,6 \dots -5,3$ пс; 2 — $0-5,3$ пс; 3 — $10,6-15,9$ пс; 4 — $52,8-66,1$ пс; 5 — $2,21-2,41$ нс

Появляется перспектива проведения количественного анализа без использования стандартных образцов состава на базе только экспериментальных спектральных данных, причем для спектров излучения, а не только спектров поглощения. При соответствующем развитии методов молекулярного моделирования, использующих специализированные банки данных, можно одновременно проводить и количественный, и качественный анализ вещества на основе одного и того же вида спектрального эксперимента с временным разрешением. Основой для этого может служить полуэмпирический параметрический метод моделирования трехмерных спектров поглощения и флуоресценции многоатомных молекул. Главная идея этого метода заключается в использовании фрагментарного подхода при формировании молекулярных моделей для возбужденных электронных состояний и параметризации этих молекулярных фрагментов, полученной при моделировании традиционных (одномерных) спектров поглощения и флуоресценции многоатомных молекул. Проведенные компьютерные эксперименты показали возможность моделирования трехмерных спектров данным методом в масштабе реального времени для сложных молекул, содержащих несколько десятков атомов. Использование методов временной электронно-колебательной спектроскопии весьма эффективно при молекулярном моделировании и решении спектроскопических задач для различных изомерных и замещенных форм сложных соединений, особенно когда традиционные подходы дают практически неразличимые спектральные отображения.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Сколько молекулярных формул может быть получено для вещества, имеющего общую валовую формулу $C_kH_lN_mO_n$ и молекулярную массу 100 а. е. м.?
2. Какие данные позволяют ограничить возможное число изомеров анализируемого соединения?
3. Сформулируйте основные принципы методологии решения структурной проблемы без использования стандартных образцов состава.
4. При каких условиях возможно решение задачи идентификации молекул по их спектрам?
5. Как используется теория химического строения при выборе ограничений построения молекулярной структуры?
6. Какие основные информационные блоки должны быть заложены в экспертную систему анализа без использования стандартных образцов состава?
7. На чем основано установление структуры молекулы по спектрам ИК и КР?
8. Приведите характеристические частоты колебаний в молекулах.
9. Какие методы используют для построения алгоритма распознавания структур? Как они дополняют друг друга?
10. Какие возможности для определения структуры дают константы спин-спинового взаимодействия ядер в молекуле?
11. Что составляет основу применения ЯМР для определения структуры неизвестного вещества?
12. Какую информацию дает двумерный спектр ЯМР?
13. Какие основные блоки содержит система X-PERT?
14. Какие данные необходимо иметь для распознавания структуры молекулы с помощью системы X-PERT?
15. Каким образом можно существенно увеличить информативность электронно-колебательных спектров анализируемого вещества?
16. Какую дополнительную аналитическую информацию можно получить при использовании спектроскопии с временным разрешением?
17. Назовите принципы метода лазерно-индуцированной флуоресценции с временным разрешением.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Грибов Л.А.* Безэталонный молекулярный спектральный анализ. Теоретические основы / Л.А. Грибов, В.И. Баранов, М.Е. Эляшберг. — М. : УРСС, 2002.
- Грибов Л.А.* Теория и методы расчета молекулярных процессов. Спектры, химические превращения и молекулярная логика / Л.А. Грибов, В.И. Баранов. — М. : УРСС, 2006.
- Грибов Л.А.* Электронно-колебательные спектры многоатомных молекул. Теория и методы расчета / Л.А. Грибов, В.И. Баранов, Д.Ю. Зеленцов. — М. : Наука, 1997.
- Эляшберг М.Е.* Экспертные системы для установления структуры органических молекул спектральными методами // Успехи химии. — 1999. — Т. 68. — № 7. — С. 579—601.

ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ

20.1. Особенности производственного технического контроля

Производственный аналитический контроль выполняется, главным образом, с целью сертификации продукции по химическому составу. При этом исследуют пробы массой несколько граммов, а на основании полученных результатов делают вывод о химическом составе всей партии продукта, т.е. осуществляют переход от партии продукта к *пробе* — представительной части исследуемого объекта, которую непосредственно анализируют. Проба должна адекватно отражать общий состав *объекта анализа* (предмета исследования в аналитической химии) с учетом особенностей распределения всех компонентов. Переход от партии продукта к пробе представляет собой обязательный и достаточно сложный этап производственного контроля и включает этапы *пробоотбора* (операции, при которой происходит отбор достаточного количества представительной части исследуемого материала, состав и свойства которой идентичны составу и свойствам материала как целого) и подготовки пробы к химическому анализу — *пробоподготовки* (переведение пробы в состояние, пригодное для получения аналитического сигнала).

Уровень производства и, в конечном счете, качество продукции зависят от качества производственного контроля. К *производственному техническому контролю* относят как анализ сырья и готовой продукции, так и собственно контроль за технологическими процессами. Эти направления контроля достаточно сильно различаются как по целям, так и по способам осуществления. Анализ сырья и особенно готовой продукции может быть в некоторых случаях непрерывным, но обычно является дискретным. Текущий же технический контроль должен выполняться в масштабе реального времени, быть оперативным, по возможности автоматизированным. Несмотря на указанные выше различия направлений контроля, у них много общего, особенно в плане получения аналитического сигнала.

Объекты технического контроля. Объектами контроля могут быть:

- образцы сырья и готовой продукции на производстве (в том числе химическом);
- образцы почвы для решения вопроса о необходимости применения удобрений;
- пробы природной воды для оценки степени загрязнения;
- пробы питьевой воды для сертификации ее чистоты;
- пробы руд для оценки содержания элементов и в результате коммерческой ценности руд;
- биологические образцы (кровь, моча, ткани и т.д.).

Задачи, решаемые техническим контролем, весьма разнообразны.

В этой области сформировалась своя терминология. Напомним некоторые важнейшие термины.

Определяемые в ходе анализа соединения или элементы, входящие в состав пробы, называют *компонентами* (или *аналитами*). Аналиты находятся в *матрице* образца, которая сама по себе не является предметом изучения аналитика, но может повлиять на результаты анализа. Такое влияние называют *матричным эффектом*. Для получения достоверных данных результаты анализа необходимо сравнить с результатом контрольного опыта.

Одной из особенностей технического контроля является то, что в ряде случаев это могут быть не результаты прямого определения содержания компонента (или компонентов), а некоторые побочные характеристики системы, позволяющие судить о качестве исследуемого объекта. Так, иногда концентрацию компонентов оценивают по кислотному числу, содержанию в воде растворенного органического углерода, скорости фильтрации и т. п.

В судебной практике часто требуется установить наличие или отсутствие определенного вещества. В материаловедении основной интерес может представлять не суммарное содержание компонента, а его локальное или поверхностное распределение либо содержание в некоторых особых точках образца.

Цель технического контроля. Приступая к анализу любого объекта, химик должен четко понимать цель анализа. Если речь идет об оценке качества продукции, то задачи исследования обычно определяют заказчики, как правило, в виде нормативной документации. Однако в других случаях задача часто бывает сформулирована не на языке аналитической химии (включаящем такие понятия, как общий состав материала, содержание определяемого компонента или его строение), и тогда необходим диалог между заказчиком и аналитиком с целью согласования постановки задачи.

Существенный аспект производственного аналитического контроля — его экономика. Стоимость аналитического контроля обычно невелика. В металлургии, например, она не превышает 1 % стоимости продукции, а чаще всего составляет 0,3—0,7 %. Дополнительные затраты на химический контроль окупаются повышением качества продукции, достижением большей стабильности технологических процессов. Особую роль играет качество анализа. По оценкам в 1988 г. в США ежедневно выполнялось около 250 млн химических анализов. Порядка 10 % из них оказывались низкого качества и нуждались в повторном выполнении, что в годовом исчислении составило 5 млрд долл. дополнительных затрат. В некоторых отраслях (например, электронной промышленности), где требования к составу продукции особенно жесткие, в повторных анализах нуждались до 30 % образцов. Аналогичные выводы сделаны и на основании исследований в рамках общеевропейской программы по испытаниям и измерениям: не менее 5 % валового внутреннего продукта развитых стран Западной Европы составляют измерения. Согласно оценке в 1982 г. на повторение химических анализов неудовлетворительного качества было затрачено до 12 млрд немецких марок.

Эти данные не отражают побочные экономические и социальные последствия ошибочных анализов. Их невозможно непосредственно охарактеризовать в виде бюджетных цифр, но масштаб становится понятным, если учесть,

что на результатах химического анализа основываются законодательные и экономические решения, такие как:

- крупные штрафные санкции;
- закрытие предприятий;
- мероприятия по охране труда;
- меры по складированию и утилизации отходов;
- выбраковка продукции;
- гуманитарные последствия, возникающие в результате тяжелейших техногенных аварий.

Все это свидетельствует не только о важности химических измерений самих по себе, но и о необходимости получения и доведения до потребителя высококачественных результатов.

На обеспечение качества результатов аналитического контроля направлены все планируемые и систематически предпринимаемые действия, необходимые для гарантии того, что продукт, процесс контроля и аналитическая служба отвечают заданным требованиям и включают все действия, предпринимаемые для правильного планирования химического анализа.

Качество аналитической службы — совокупность ее свойств и характеристик, определяющая способность удовлетворять заданным или подразумеваемым нуждам производства. Оно достигается только проведением большого числа заранее запланированных мероприятий.

Контроль качества аналитической службы — технические и организационные средства, используемые для достижения требований качества.

Обеспечение и контроль качества являются составными частями *системы качества* — организационной структуры, включающей процедуры и ресурсы для осуществления управления качеством.

Управление качеством — составная часть общего управленческого процесса, которая определяет и проводит в жизнь политику качества.

Политика качества — совокупность официально установленных руководством направлений организационной работы, касающихся качества.

Система обеспечения качества призвана гарантировать, что приняты все необходимые меры по контролю качества и тем самым, что весь «цикл качества» находится под контролем. Если на заключительной стадии исследования выясняется, что удовлетворительное решение не может быть получено по причине непредвиденных обстоятельств, то весь цикл следует повторить. При этом обычно за счет использования информации, полученной в результате первой попытки, удастся подойти ближе к правильному ответу. В некоторых наиболее сложных ситуациях для достижения удовлетворительных результатов требуется повторение нескольких таких кругов. Однако по экономическим соображениям аналитик должен стремиться к тому, чтобы их было как можно меньше.

Любое аналитическое исследование включает четыре этапа:

- 1) пробоотбор;
- 2) пробоподготовка;
- 3) собственно химический анализ (измерение аналитического сигнала как функции содержания в пробе интересующих компонентов);
- 4) метрологическая обработка результатов исследования и формирование конечного анализа.

При этом этап пробоподготовки делится на две стадии. На первой (предварительной) стадии получают пробу определенной массы и гранулометрического состава; основные операции на этой стадии — измельчение пробы и ее сокращение. Вторая (заключительная) стадия пробоподготовки — перевод пробы в состояние, требующееся для анализа при помощи данной методики выполнения измерения; включает следующие операции: вскрытие пробы, разделение и концентрирование компонентов.

Все эти этапы равнозначны и каждый из них несет объективные и субъективные источники неопределенности.

Этапы технического контроля. В техническом контроле различают контроль технологических процессов и контроль качества сырья и готовой продукции.

Контроль технологических процессов должен быть достаточно оперативным, часто непрерывным, желательно автоматизированным. Контроль качества сырья и готовой продукции, будучи иногда непрерывным, обычно все же дискретный, но во многих случаях требует достаточно высокой точности и определения нескольких компонентов и чаще выполняется в лаборатории.

Контроль технологических процессов желательно вести в масштабе реального времени. Измерения в масштабе реального времени необходимы для того, чтобы технологи имели возможность оптимизировать и контролировать технологический процесс в ходе его осуществления.

Промышленные химические анализы можно разделить на констатирующие и оперативные. Результаты *констатирующих* анализов не предназначены для непосредственной корректировки технологического процесса, хотя и могут позволить выявить дефекты технологии. Эти результаты можно хранить, обрабатывать, перепроверять. Результаты *оперативного* анализа должны быть получены быстро, чтобы в случае, если это необходимо, их можно было использовать при корректировке технологического процесса.

Отличие технического контроля от лабораторного анализа. Лабораторное оборудование работает при строго контролируемых условиях. Образцы могут быть предварительно обработаны для обеспечения лучших по селективности или чувствительности измерений. Аппаратура для лабораторного анализа чаще всего ориентирована на проведение прецизионных измерений. Эксплуатация этой аппаратуры зачастую сложна и предъявляет высокие требования к квалификации персонала.

Технологические анализаторы могут быть автоматизированными и должны быть приспособлены для проведения длительных измерений в жестких внешних условиях производства (изменение температуры, давления и влажности в очень широком диапазоне, агрессивная среда и т.д.). Желательно, чтобы все операции аналитического цикла (пробоотбор, предварительная обработка пробы, измерения, сбор и обработка результатов измерений) выполнялись автоматически. Разумная автоматизация — серьезнейшая задача технического контроля, особенно оперативного.

Аппаратура (и прежде всего автоматическая) должна работать автономно в течение нескольких суток или даже недель, оставаясь в этот период в откалиброванном состоянии, желательно допуская возможность автоматической калибровки. Она должна быть способна к проведению быстрых измерений, чтобы следить за процессом в масштабе реального времени.

Промышленные анализаторы в отличие от лабораторной аппаратуры в целом являются монофункциональными и направлены на проведение с высокой надежностью отдельных измерений. Их конструкция предусматривает использование надежных деталей и узлов, не требующих частого ремонта и обслуживания.

Виды измерений в техническом контроле. В промышленном анализе могут реализовываться несколько типов измерений.

Режим off-line предусматривает перенос проб для измерений из производства в лабораторию. Позволяет применять сложную аппаратуру и использовать для проведения измерений квалифицированный персонал. Однако сам перенос и особенно пробоподготовка обычно являются наиболее медленными стадиями, занимающими от нескольких часов до нескольких суток. Как следствие, результаты анализа не позволяют оперативно влиять на технологический процесс и не могут быть использованы для оперативного регулирования технологического цикла. К тому же они предполагают наличие квалифицированного персонала. Следовательно, контроль off-line целесообразно применять для контроля качества продукции и использовать для ответа на вопрос: соответствует ли продукт определенным техническим требованиям.

При измерениях в режиме at-line средство измерения находится на производстве. Поэтому данный режим является более эффективным в плане экспрессности получения ответа. Но этим отличие методов at-line от методов off-line исчерпывается. Измерения в режиме at-line также основаны на методах лабораторного анализа, предполагают наличие квалифицированного персонала и не обеспечивают необходимой для осуществления контроля за ходом процесса скорости.

Режим in-line, при котором измерительные средства встраиваются в технологическую цепочку, наиболее удобен для реализации автоматического пробоотбора и измерений. Требования, предъявляемые к измерительной системе, отличаются от требований к лабораторному оборудованию, выполняющему аналогичные функции. Например, при использовании ионоселективных электродов конструкция сенсора in-line должна защитить его от разрушительного воздействия технологической среды. Число типов сенсоров, обладающих требуемой селективностью в присутствии технологической среды, крайне ограничено.

Аппаратура в режиме on-line работает в рамках периодического отбора и подготовки проб к измерениям аналитического сигнала. Обычно пробоотбор заключается в отводе небольших количеств реакционной смеси в побочный поток, так называемый *тест-поток*, в котором реактивы могут соединяться и смешиваться с ним. До того как проба вводится в измерительную аппаратуру, она может подвергаться предварительной фильтрации, разбавлению или концентрированию, нагреванию или охлаждению.

Среди первых аналитических устройств, использованных для целей непрерывного промышленного анализа в 1940—1950-е гг., были pH-сенсоры. Вслед за ними в конце 1960-х—начале 1970-х гг. стали использовать методы газовой хроматографии и химические методы анализа, такие как титрование. В дальнейшем развитие промышленного анализа шло по пути более широкого применения имеющихся средств и увеличения числа используемых методик.

В некоторых случаях возможно проведение бесконтактных измерений (например, по окраске реакционной смеси).

Методы технического контроля. Традиционно выполняемые технологические измерения включают измерение физических параметров (температуры, давления, показателя преломления, плотности, мутности, температуры кипения, температуры вспышки, точки помутнения и текучести жидкости), влияющих на течение процесса или отражающих его общий ход. Однако они практически не дают прямой информации о протекании конкретного химического процесса и не могут использоваться для детального контроля за его ходом. Информацию о ходе процесса, его эффективности и выходе продукта дает химический анализ реактивов, промежуточных веществ и продуктов. Эти результаты можно использовать для достижения максимального выхода продукта и его чистоты. Поскольку рН влияет на многие реакции, измерение рН реакционной среды является обычным методом контроля.

В зависимости от требуемой информации и типа измерительных систем измерения могут быть *непрерывными* или *периодическими*. Частота проведения измерений зависит от кинетики процесса и определяется временем процесса, которое может быть равно нескольким минутам (и более).

Например, в непрерывном проточном реакторе, в котором исходные компоненты движутся в реактор, а продукты реакции его покидают, средняя продолжительность (τ) пребывания веществ в реакторе (время задержки) определяется выражением

$$\tau = \frac{V}{u},$$

где V — объем аппарата; u — объемная скорость потока.

Например, для реактора объемом 1 л, в котором скорость потока равна 100 мл/мин, средняя продолжительность пребывания вещества составляет 10 мин.

Время измерения аналитического сигнала в потоке должно быть достаточно мало по сравнению со временем, необходимым для контроля стационарных процессов, но существенно большим характерного периода шумовой компоненты для данного процесса. Обычно измерения усредняют, причем минимальное число измерений должно быть не меньше двух (чаще усредняют по четырем измерениям). Очень часто времена задержки равны нескольким минутам и более. В этом случае достаточно проводить измерения каждые несколько минут.

Методика анализа. *Методика анализа* — последовательность действий, с помощью которых аналитик получает необходимую информацию. Методика должна быть полностью адаптирована к поставленной задаче.

Аналитик должен не только выбрать подходящую методику, но и выявить все возможные источники погрешностей. Такое исследование называют *аттестацией* методики анализа; оно включает процедуру, позволяющую продемонстрировать, являются ли результаты достоверными и воспроизводимыми, а сама методика пригодной для решения поставленной задачи.

Выбор подходящего метода и методики анализа нередко представляет собой трудную задачу, требующую большого опыта и хорошей интуиции аналитика. В настоящее время в нашем распоряжении имеется широкий круг средств, единственного для всех случаев метода и методики анализа не существует.

Каждая конкретная проблема требует своего подхода. Поэтому необходимо освоить систематический подход к выбору методики, основанный на понимании сущности наиболее важных аналитических методов.

Прежде всего должна быть четко поставлена *общая задача*. Она должна быть сформулирована в терминах требуемых аналитических характеристик, являющихся объективными показателями возможностей методики. На практике важную роль играют и дополнительные ограничения: доступность оборудования, необходимость проведения экспертизы, экспрессность, наличие подготовленного персонала и т. п. Оптимальным является метод анализа, способный обеспечить необходимые аналитические характеристики с учетом возможных ограничений.

Целесообразно разбить всю процедуру химического анализа на отдельные блоки — единичные операции, которые объединяют при необходимости в единичные процедуры; комбинируя их, можно составить всю методику с желаемыми характеристиками. Такой подход позволяет получить большое разнообразие методик из унифицированных приемов анализа. Если будет установлено, что применительно к решаемой задаче или определенному компоненту отдельные блоки дают правильные результаты, то с высокой вероятностью можно предположить, что и вся методика будет правильной.

При разработке стандартной рабочей методики необходимо иметь в виду два обстоятельства. Во-первых, все лабораторные процедуры должны выполняться разными исполнителями в разных лабораториях и в разное время с одинаковым результатом (*воспроизводимость* результатов). Во-вторых, должна существовать возможность оценки характеристик каждого модуля методики, как бы давно ни были получены результаты, и возможность проследить весь непрерывный ход операций с пробой (надежная *прослеживаемость* методики).

Общую схему процесса анализа можно представить в виде табл. 20.1, в которой подчеркнута роль взаимодействия между аналитиком и заказчиком. Все этапы, указанные в табл. 20.1, влияют на конечный результат.

Любая методика анализа может быть усовершенствована и очень важно, чтобы любая стандартная рабочая методика не рассматривалась как утвержденная раз и навсегда. Даже в случае отработанной методики тщательное ее рассмотрение может привести к выводу о возможности или необходимости улучшения (с точки зрения трудоемкости, экономии материалов, стоимости, сокращения объема отходов и т. д.). Однако результаты в этом случае должны удовлетворять требованиям к методике и желательно быть не хуже, чем при использовании традиционной методики.

Построение методик анализа. Описанный выше общий подход к построению методики анализа предусматривает разбиение ее на ряд более или менее тесно связанных этапов. Естественными границами между этапами могут служить этапы, на которых выполнение методики может быть прервано, а проба может храниться длительное время без последствий для результатов анализа.

Общая постановка задачи. Точную формулировку вопроса, на который необходимо дать ответ с помощью химического анализа, следует определить путем соглашения между заказчиком и аналитиком.

Квалифицированный аналитик может понять общую концепцию каждой конкретной методики и принять необходимые меры, чтобы избежать невер-

Общая схема полного аналитического процесса «Оценка степени загрязнения нефтью приповерхностного слоя почвы в городском сквере»

Задача	Постановка задачи	Исполнитель
Общая постановка задачи	Оценка степени загрязнения нефтью приповерхностного слоя почвы в городском сквере	Заказчик
Постановка конкретной аналитической задачи	Оценка площади загрязнения	Заказчик $\rightleftharpoons$ аналитик
Выбор методики	Оценка методики экстракции, отделения и определения нефти	Аналитик
Пробоотбор	Отбор проб (~ 100 г), проверка их на представительность	Заказчик + аналитик
Пробоподготовка	Гомогенизация, сокращение пробы, экстракция тетрахлорметаном	Аналитик
Измерение	Газохроматографический анализ аликвотной части экстракта	Аналитик
Обработка результатов	Идентификация хроматографических пиков, определение содержания компонентов	Аналитик
Выводы	Сопоставление полученных значений с предельно допустимыми	Аналитик
Отчет	Составление рекомендаций дальнейших действий по решению проблемы	Аналитик $\rightleftharpoons$ заказчик

ной постановки задачи. На этой стадии можно разработать предварительный план анализа в виде комбинации отдельных блоков, включая условия отбора, хранения и подготовки пробы. В окончательном виде аналитическая задача должна включать требуемые характеристики правильности и воспроизводимости, а также возможность сопоставления с другими данными, что необходимо для правильной интерпретации результатов.

Постановка конкретной аналитической задачи. На этом этапе следует решить, что необходимо и что возможно определить. Желательно получить ответы на вопросы:

- что представляет собой объект анализа или образец;
- какой анализ требуется: качественный или количественный;
- что требуется определить — молекулярный, элементный или фазовый состав, функциональные группы;
- какие характеристики точности (правильности и воспроизводимости) требуются при выполнении количественного анализа;
- какое количество материала доступно для анализа;
- каково примерное содержание определяемого компонента;

- что представляет собой матрица образца;
- какой требуется анализ — однокомпонентный или многокомпонентный;
- в какие сроки должен быть проведен анализ;
- предполагается ли повторный анализ подобных образцов и если требуется, то с какой периодичностью;
- требуется ли непрерывный контроль системы, автоматизированный анализ;
- допустимо или недопустимо разрушение образца в ходе анализа.

Список вопросов может быть дополнен в соответствии с потребностями контроля конкретного технологического процесса.

Для получения надежных и правильных результатов, которые можно будет сопоставлять с данными других аналитиков и близких по профилю лабораторий, следует составить *технические условия*, т.е. четко оговорить все требования (необходимые характеристики точности, включая правильность и воспроизводимость, форму представления, допускающую в случае необходимости сопоставление с результатами других испытаний). Это первое условие для правильной интерпретации данных.

Выбор метода и методики анализа. Этап выбора метода и методики анализа имеет решающее значение. Он определяет качество анализа и общие затраты на его выполнение.

Разработка методики анализа обычно начинается с изучения научной литературы. Как уже говорилось, любая аналитическая методика включает отбор и хранение представительной пробы, пробоподготовку, собственно определение, расчеты и представление результатов.

Ключевой этап методики — перевод образца в аналитическую форму, обеспечивающую получение правильных результатов и совместимую с выбранным способом измерения. Разработка методики включает не только выбор отдельных взаимно согласованных операций (блоков), но и разработку средств контроля, позволяющих убедиться, что при последовательном выполнении этих операций вся методика в целом дает надежные результаты. В общем случае качество методики анализа описывается с помощью следующих аналитических характеристик:

- относительное стандартное отклонение;
- правильность;
- воспроизводимость (или сходимостъ);
- чувствительность (характеризующаяся коэффициентом чувствительности — тангенсом угла наклона градуировочной функции, нижней границей определяемых содержаний и др.);
- селективность;
- диапазон линейности аналитического сигнала (рабочий диапазон);
- устойчивость результатов.

Селективность методики призвана гарантировать тот факт, что величина сигнала действительно определяется именно содержанием представляющего интерес компонента. При недостаточной селективности на величину сигнала влияют посторонние вещества.

Чувствительность — часто основной ограничивающий фактор при определении следовых содержаний. Если чувствительность методики оказывается недостаточной, можно:

- изменить способ регистрации сигнала;
- увеличить размер пробы, соответственно изменив стадию пробоподготовки;
- ввести дополнительную стадию концентрирования определяемого компонента.

Аттестация методики анализа. Это процедура, позволяющая продемонстрировать, являются ли результаты достоверными и воспроизводимыми, а сама методика пригодной для решения поставленной задачи.

Для аттестации методики аналитик должен установить, устранить или сделать легко учитываемыми все возможные источники погрешностей. Решение этой задачи возможно только в рамках соответствующих лабораторных структур, при наличии подготовленного и заинтересованного персонала и подходящего, поддерживаемого в рабочем состоянии оборудования.

1. Персонал. Химические анализы, особенно в исследовательских лабораториях, должны выполняться высококвалифицированными и опытными специалистами (или под их руководством), имеющими соответствующий и документально подтвержденный уровень профессиональной квалификации. Полная система управления качеством должна обеспечить постоянное переобучение и повышение квалификации в условиях стремительно изменяющихся измерительных технологий.

2. Лабораторные условия. Качество лаборатории. Система полного контроля и управления качеством также предъявляет строгие требования к условиям работы лабораторий с точки зрения чистоты, безопасности и надежности. В некоторых помещениях допускается работа только определенного круга лиц. Режим работы таких помещений должен быть соответствующим образом документирован.

3. Проверка оборудования, компьютеров и программного обеспечения. Все оборудование, используемое в лаборатории, должно по своим характеристикам (проверенным с помощью установленных процедур) удовлетворять требованиям, необходимым для решения поставленных задач. В соответствии с предназначением оборудования следует постоянно принимать меры по уходу за ним, контролю его характеристик, поверке лабораторных приборов и периодической калибровке.

4. Реактивы. Квалификация реактивов, используемых для химических анализов, должна быть достаточной для решения поставленных задач. Особое внимание качеству реактивов следует уделять при определении следовых содержаний. Реактивы независимо от их квалификации перед использованием следует дополнительно очищать рекомендованными методами (перегонкой, перекристаллизацией, переосаждением, возгонкой и т.п.).

5. Стандартные образцы. *Образец сравнения* — однородный материал или вещество, одна или несколько характеристик которого установлены достаточно надежно для того, чтобы использовать их для градуировки, контроля измерительных процедур и определения характеристик других материалов.

Стандартный образец — образец сравнения, для которого одна или несколько характеристик аттестованы в соответствии с официальной процедурой, о чем имеется соответствующий документ (аттестат или паспорт). Каждое аттестованное значение сопровождается указанием его неопределенности при указанной доверительной вероятности. Анализ стандартных образцов

является простейшим способом доказательства правильности методики анализа. Главная сфера применения стандартных образцов — доказательство того, что результаты, получаемые с помощью некоторой методики в данной лаборатории, правильные и, таким образом, могут быть использованы повсеместно.

Если по тем или иным причинам такая аттестация невозможна, то наилучшим выходом из положения является проверка на применимость к решению тех или иных задач каждого отдельного этапа. Еще и поэтому модульный принцип построения методик является весьма эффективным.

20.2. Пробоотбор

20.2.1. Общие сведения

Любое аналитическое определение включает несколько этапов. Технологический контроль начинается с отбора проб.

Необходимость пробоотбора объясняется тем, что в производственных процессах обычно участвуют большие партии материалов, а для химического анализа используется не более нескольких граммов. Возникает необходимость во взятии из исследуемого объекта небольшого его количества (пробы), адекватно представляющего его состав и свойства, для проведения химического определения.

Рассмотрим виды проб.

Точечная проба — часть партии (сырья или готового продукта), которую отбирают за одну операцию из разных точек партии и из разных по глубине слоев в определенный момент времени. Она характеризует качество опробуемого материала в одном месте или на определенном уровне. Это наиболее трудоемкая и сложная часть процесса пробоотбора.

Из отобранных в необходимом количестве точечных проб путем их усреднения составляют *генеральную пробу*, характеризующую данную партию. По содержанию компонентов, распределению частиц и степени дисперсности генеральная проба должна соответствовать всей анализируемой партии материала. Она должна быть тем больше, чем больше масса исследуемого материала, менее однороден его состав и выше содержание определяемого компонента при неравномерном его распределении.

Отобранная генеральная проба, как правило, бывает значительной, ее подвергают разделке (дроблению, перемешиванию, сокращению) по определенным правилам.

При использовании одного или нескольких циклов разделки получают промежуточные *средние пробы*, которые разделяют так же, как и генеральную пробу, в результате чего масса средних проб последовательно уменьшается до тех пор, пока не будет получена *средняя сокращенная проба*.

Путем сокращения средней пробы получают *лабораторную пробу*, предназначенную для проведения всех видов лабораторных испытаний, и *контрольную (арбитражную, архивную) пробу*, которую хранят на случай проведения повторных, арбитражных или других контрольных испытаний.

Лабораторная проба — конечная проба, поступающая в лабораторию для анализа. Состав ее должен быть тождествен среднему составу всех промежуточных и генеральной проб и всей партии опробуемого материала.

Из лабораторной пробы готовят *аналитическую пробу* в количестве, достаточном для определения всех контролируемых компонентов. Для этого лабораторную пробу подсушивают, измельчают до требуемого размера частиц, перемешивают и сокращают до тех пор, пока не достигнут минимально необходимой при данном измельчении массы, которая определяется по специальным таблицам или рассчитывается по приближенным формулам. Обычно масса аналитической пробы составляет 10—20 г. Измельчение проводят в стальной, фарфоровой, яшмовой или агатовой ступке с последующим просеиванием порошка через набор сит с постепенно уменьшающимися размерами отверстий.

Измельченную лабораторную пробу сокращают методом *квадратования*. Для этого пробу высыпают на лист плотной бумаги и после тщательного перемешивания расплющивают вещество на бумаге, придавая форму прямоугольника. Последний делят взаимно перпендикулярными линиями на 15—20 равных квадратов со стороной 50 мм, после чего из середины квадратов отбирают плоским шпателем в шахматном порядке порции по всей глубине слоя. Отобранные порции объединяют, перемешивают и вновь сокращают тем же методом, пока не достигнут необходимой массы пробы.

Качество пробы зависит от состава и гомогенности объекта, размеров объекта и пробы, выбранного метода пробоотбора, числа отобранных проб, разложения или загрязнения проб, метода пробоподготовки, условий хранения и правильной маркировки проб. Проба должна сохранить свойства объекта, которые тот имел в момент отбора или имеет в момент начала исследования.

При неправильно проведенном пробоотборе результат анализа может быть отнесен только к анализируемой части пробы, а не ко всей массе исследуемого материала. В результате создается ошибочное представление о его химическом составе.

Методы отбора проб весьма разнообразны и зависят от агрегатного состояния (сыпучий или кусковой), характера и степени однородности материала, от того, поступает он без упаковки или в таре. Операции пробоотбора существенно различаются для расплавленного и застывшего материала, для материалов, находящихся в движении (перемещаемых на ленте транспортера, перевозимых в вагонах или баржах, поступающих по трубам или желобам) и неподвижных (в штабелях, отвалах, в вагонах или собранных в отстойник). Методика пробоотбора диктуется также задачей анализа, которая может состоять в определении среднего содержания одного или нескольких компонентов в объеме объекта, установлении распределения компонентов в пространстве (в частности, по глубине слоя) или во времени (например, в ходе технологического процесса в реакторе). При взятии пробы необходим учет всех этих факторов. Поэтому для каждого конкретного материала разработана специальная нормативная документация.

При отборе и хранении проб возможно изменение компонентного состава материала. Так, при хранении растворов возможна сорбция компонентов стенками сосуда, а также протекание в растворе процессов гидролиза, образования малорастворимых соединений или биологического разложения органи-

ческих компонентов. Для предотвращения этого пробы консервируют — подкисляют, добавляют комплексоны или дезинфицирующие вещества (разумеется, они не должны мешать последующему анализу). Биологические материалы (кровь, ткани, моча) и скоропортящиеся продукты, если их анализируют не сразу, хранят в холодильнике.

Пробы газов не хранят.

Каждый сосуд с пробой маркируют — снабжают этикеткой, где указывают наименование продукта, его сорт или марку, наименование предприятия-изготовителя, с которого отпущен продукт, номер партии с указанием места взятия пробы, дату отбора пробы, фамилию и подпись лица, отобравшего пробу.

20.2.2. Пробоотбор твердых материалов

Сыпучие материалы могут быть весьма неоднородными: определяемые вещества могут механически смешиваться с другими (например, с пустой породой). Крупные и мелкие куски сыпучих материалов могут иметь неодинаковый состав, может происходить сегрегация материала по степени дисперсности вследствие тряски при транспортировке. Неоднородность материала может возникнуть в результате физико-химических процессов, происходящих при застывании и кристаллизации жидкого металла (ликвация, сегрегация, дендритная химическая неоднородность), а также иногда и вследствие термической и химико-термической обработки (обезуглеоживание, обессеривание, цементация, азотирование и т.д.). Кристаллизация сплавов в отличие от чистых металлов происходит не при определенной температуре, а в некотором интервале температур. Поэтому металл затвердевает сначала снаружи и состав пробы неодинаков по глубине слитка. Степень химической неоднородности сплава по различным элементам неодинакова.

Химическая неоднородность твердого материала при хранении может развиваться в результате химических изменений вещества под действием внешних факторов (окисление кислородом, поглощение углекислого газа, изменение температуры и пр.).

Неоднородность шлака также зависит от физико-химических процессов, сопровождающих его застывание.

Для определения числа необходимых точечных проб, отбираемых от большой партии материала, часто используют эмпирические формулы, например:

$$N = C\sqrt{Q},$$

где N — число точечных проб; C — коэффициент однородности материала, зависящий от разброса по содержанию основного компонента в точечных пробах ($C = 1,5 - 3,0$); Q — масса партии, кг.

Для отбора проб мелкозернистых и порошкообразных материалов, находящихся в таре или без упаковки в вагонах (навалом), применяют щупы, представляющие собой железный или медный узкий желоб, заостренный с одного конца и имеющий рукоятку на другом конце. Щуп вдвигают в тару на всю ее глубину в вертикальном или горизонтальном положении, при этом в прорезь

желоба насыпается материал. При движении назад прорезь закрывается и шуп извлекается вместе с пробой.

Любой метод пробоотбора должен обеспечивать случайность выборки, т.е. одинаковую вероятность попадания в пробу любого компонента анализируемого материала с целью получения достаточно представительной пробы.

Для предварительного расчета массы генеральной пробы предложены формулы, в которых учтено число наиболее крупных кусков, их размер, плотность частиц наиболее богатого минерала, содержание в нем определяемого компонента, допустимая погрешность опробования, равная погрешности химического анализа. Например, в случае руд широко применяют *формулу Демонда—Хальфердаля*:

$$Q = kd^a,$$

где Q — масса пробы, кг; k — коэффициент пропорциональности, зависящий от однородности и ценности (степени обогащения) материала (руды); d — диаметр куска максимального размера, мм (определяется ситовым анализом).

Для очень бедных и весьма однородных руд — $k = 0,2$, для бедных и однородных — $k = 0,7$, для средних (в частности, полиметаллических) — $k = 1,6—3,5$, для богатых и неоднородных — $k = 9$. Постоянная a зависит от равномерности распределения определяемого компонента, принимая для руд различного типа и состава значение $1,5—2,6$. Приведенную формулу можно использовать в более удобном виде (уравнение прямой):

$$\lg Q = \lg k + a \lg d.$$

Для каждого типа объектов значения k , d , a определяют экспериментально.

При подготовке проб к анализу необходимо выполнить по крайней мере четыре операции:

- 1) измельчение пробы;
- 2) перемешивание;
- 3) сокращение;
- 4) сушка.

Эти операции проводят в несколько стадий через ряд промежуточных проб вплоть до получения необходимого количества лабораторной пробы.

Измельчение проб проводят дроблением с предварительным грохочением.

Дробление бывает сухим и мокрым (с использованием воды для уменьшения пылеобразования). Если же пробы очень влажные, то перед дроблением их подсушивают.

Грохочение — подготовительная операция, целью которой является разделение сыпучих материалов на классы (два и более) крупности, которые перерабатывают отдельно.

Измельченные пробы для их усреднения перемешивают (в механическом смесителе или вручную). Перемешанный тем или иным способом материал сокращают. *Сокращение* представляет собой по существу отбор пробы от пробы. Суть операции ясна из следующего примера: для сокращения сыпучих проб с частицами максимального размера 10 мм используют желобчатые сократители (делители) с четным числом (не менее 10) желобков. После высыпания сокращаемого материала на делитель отбирают материал только из четных

или нечетных желобков, уменьшая таким образом размер пробы в два раза. Проба может быть пропущена через делитель несколько раз, давая возможность отобрать $1/4$, $1/8$, $1/16$ долю всей пробы.

В настоящее время разработаны многоступенчатые полностью автоматизированные высокопроизводительные агрегаты, снабженные устройствами для одновременного отбора, измельчения и сокращения проб руд, концентратов, углей и т. п.

Общее правило сокращения — чем меньше масса отбираемой при сокращении пробы, тем меньше должны быть размеры частиц.

Пробоотбор металлов, шлаков и технологических растворов. Пробоотбор металлов и сплавов имеет некоторые особенности. Классический способ отбора пробы высокотемпературных жидких металлов в настоящее время интенсивно вытесняется автоматизированными способами. Твердый металл, подлежащий анализу, может быть представлен в виде изделия или в виде слитков. Поскольку металл может быть неоднородным в результате ликвации, пробу нужно отбирать не только от отдельных слитков или изделий, но и из разных их мест на разной глубине.

Лабораторные пробы для химического анализа мягких материалов отбирают в виде стружки, а твердых или хрупких материалов — в виде крупки или порошка. Перед отбором пробы поверхность очищают от механических загрязнений. Если анализу подвергают именно поверхностный слой отливки, то такая очистка недопустима или должна проводиться с особой осторожностью.

Пробоотбор твердого топлива. Твердое топливо (уголь, сланцы, торф) в значительной мере неоднородно и вследствие этого отбор проб для анализа вызывает затруднения. Пробы топлива отбирают по общим правилам отбора проб сыпучих тел.

Пробоотбор почв. Отбор проб почв проводят в соответствии с нормативной документацией, учитывающей структуру почвы, неоднородность почвенного покрова, рельеф местности и местный климат, а также особенности загрязняющих веществ или организмов. Его проводят на «пробных» площадках (часть исследуемой территории, характеризующаяся сходными условиями), закладываемых так, чтобы исключить искажение результатов анализов под влиянием окружающей среды.

Обычно отбор проб проводят с одной либо двух-трех площадок размером 25 м^2 каждая. С каждой площадки отбирают по пять точечных проб по типу конверта (по углам и в центре). Поскольку почвы состоят из трех разных слоев, называемых горизонтами, отличающихся по концентрации определяемых веществ, отбор проводят на разных глубинах (0—20, 20—40, 40—60 см) в зависимости от поставленной цели (определение степени загрязнения поверхностного слоя, миграции химического вещества по профилю почвы и др.). Объединенная проба, состоящая из смеси не менее двух точечных проб, отобранных с разных слоев, должна иметь массу не менее 1 кг.

Пробы, предназначенные для анализа на содержание летучих химических веществ, помещают в стеклянные банки с притертыми пробками. Если пробу анализируют на наличие патогенных организмов и вирусов, то упаковку, транспортировку и хранение проводят в стерильных емкостях, защищая пробы от действия света.

Анализ проб допускается в течение 1—2 сут при условии, что температура их хранения не превышает 4 °С.

Пробоотбор растений. Пробы растений отбирают на тех же участках, что и пробы почвы, перед уборкой урожая, отдельно основную и побочную продукцию. Для получения объединенной пробы растений массой 0,5—1,0 кг натуральной влажности рекомендуется отбирать не менее 8—10 точечных проб. Последние отбирают с пробных площадок с типичным состоянием растений, закладываемых по маршруту отбора проб почвы.

В зависимости от вида сельскохозяйственных культур размер пробных площадок может быть $1 \times 1 \text{ м}^2$ (культура сплошного сева) или $1 \times 2 \text{ м}^2$ (пропашные культуры).

Для определения содержания тех или иных элементов в тканях растений почву необходимо удалить промыванием водой, однако при этом существует опасность выщелачивания растительных элементов.

Пробоотбор пищевых продуктов и биологических материалов. Анализ пищевых продуктов и биологических материалов обычно проводят без измельчения. Но если оно все же необходимо, то их охлаждают до температуры сухого льда или жидкого азота; при этом образцы становятся хрупкими и легко превращаются в порошок.

Пробоотбор пыли. Бытовую пыль, состоящую из волокон ковров, постели, одежды, волос, отбирают фильтрованием. Перед определением компонентов пыль просеивают для удаления крупных составляющих, в частности волос и волокон пуха. Остаток дробят, после чего разлагают смесью азотной и хлорной кислот.

Пробоотбор индустриальной пыли проводят, как в случае взвесей в воздухе.

Пробоотбор с транспортной ленты лучше всего проводить с помощью щетки с жестким волосом и совка для мусора. Оборудование должно быть изготовлено из пластмассовых материалов, не содержащих тяжелых металлов.

Пробоотбор бытовых и индустриальных отходов. К этим отходам относят бумагу, ткани, металлические предметы и т.д. Из-за неоднородности состава провести эффективный пробоотбор очень трудно, особенно если токсичные компоненты локализованы в ограниченном объеме. После отделения явно неоднородных материалов сухой остаток размалывают, измельченные пробы переводят в раствор обработкой кислотами или их смесями, отфильтровывают от суспендированных в растворе пластмасс, устойчивых к действию кислот, после чего анализируют.

20.2.3. Пробоотбор газов

Пробы газа для анализа обычно берут из газопроводов, иногда из реакционных аппаратов. При пробоотборе из газопровода в газоход вставляют газотборную трубку, которая должна входить в газоход на глубину одной трети диаметра труб газопровода. К газотборной трубке присоединяют с помощью отрезка резинового шланга либо непосредственно аппарат для анализа (газоанализатор), либо сосуд, в который отбирают пробу.

Для отбора больших проб газа, например при анализе атмосферы, в тех случаях, когда определяемый компонент содержится в небольшом количе-

стве, применяют газометры или аспираторы. Для отбора небольших (250—500 мл) проб газа используют трубку с кранами (газовую пипетку), которую присоединяют к водоструйному насосу, и через трубку некоторое время прокачивают испытуемый газ, затем краны перекрывают.

Отбор проб в эвакуированные сосуды. Приемники для отбора пробы газа, известные под названием эвакуированных сосудов, представляют собой баллоны вместимостью 0,5—10,0 л, снабженные краном.

Перед отбором пробы насосом выкачивают воздух из баллона до требуемого разрежения (~ 40 мм рт. ст. $\approx 5,3$ кПа), кран закрывают, баллон взвешивают и переносят к месту отбора пробы. Трубку баллона присоединяют к газоотборной трубке и кран открывают. После отбора газа кран закрывают и баллон вновь взвешивают, массу взятой пробы находят по разности.

Эвакуированные сосуды применяют при анализе на содержание ядовитых газов или паров в воздухе производственных помещений.

Небольшие (до 1 л) объемы газа хранят в газовых пипетках или бутылках, несколько литров — в аспираторе, десятки литров — в газометрах или лабораторных газгольдерах. Большие количества газа в сжатом состоянии хранят и транспортируют в стальных баллонах.

Пробоотбор воздуха. Необходимо принимать во внимание формы нахождения токсичных примесей в воздухе в момент отбора пробы, физико-химические свойства улавливаемых примесей, зависимость состава применяемого поглотительного раствора и чувствительности применяемой реакции от скорости отбираемого воздуха и его объема. Микропримеси вредных веществ в воздухе могут находиться в виде газов (NH_3 , O_3 , дивинил и др.), паров жидкостей (преимущественно с температурой кипения до 230—250 °С), а также твердых частиц в случае работы с легкосублимирующими веществами (иод, нафталин, фенол).

При отборе пробы в течение длительного времени результаты усредняют во времени, а «выбросы» сглаживают. При отборе пробы в течение короткого времени «выбросы» проявляются, и для исключения случайностей требуются повторные исследования. В отобранной пробе сразу же идут процессы релаксации. Возможно также изменение компонентного и фазового состава пробы вследствие химического взаимодействия ее компонентов и сорбции примесей на стенках сосуда.

Отбор проб воздуха осуществляют в непрерывном или разовом режимах. Второй способ называют также *точечным пробоотбором*.

При анализе атмосферного воздуха стремятся отобрать как можно больший объем пробы для накопления микропримесей в количестве, достаточном для последующего определения. При анализе производственной воздушной среды больший интерес представляет отбор малых объемов воздуха.

Для отбора проб воздуха преимущественно используют аспирационный и вакуумный методы. *Аспирационный метод* основан на прокачивании известного объема воздуха через поглотительную среду (жидкая поглотительная среда, твердые сорбенты, фильтрующие материалы). Его применяют в основном для определения малых концентраций токсичного вещества и при оценке длительных стадий технологического процесса. Операцию осуществляют в автоматическом режиме.

Для отбора проб воздуха, содержащего нестабильные и реакционноспособные соединения, его пропускают со скоростью не более 1 л/мин через охлаждаемую ловушку с большой поверхностью, например через трубки, заполненные инертным материалом (стекловатой, стеклянными шариками и др.). В качестве хладагентов используют смеси лед — вода (0 °С), лед — NaCl (–16 °С), твердый CO₂ — ацетон (–80 °С), а также сжиженный воздух (примерно –190 °С) и жидкий азот (–195,8 °С).

20.2.4. Пробоотбор жидкостей

Жидкости отличаются большей гомогенностью, чем твердые вещества, поэтому отбор проб жидкости проще. Если жидкость однородна, то достаточно зачерпнуть небольшое ее количество в любом месте, чтобы получить среднюю пробу. Однако обычно среднюю пробу готовят путем отбора нескольких точечных проб из разных мест и на разной глубине объекта: во-первых, трудно ожидать абсолютной гомогенности в большом объеме жидкости или водотоке; во-вторых, в жидкости могут присутствовать мелкодиспергированные твердые вещества или эмульгированные жидкости.

Приборы для отбора проб жидкостей перед работой промывают водой, этанолом или бензином, сушат или обмывают отбираемым продуктом.

Для приготовления средней пробы жидкости все точечные пробы сливают в общий сосуд, емкость которого должна быть в 1,5 — 2,0 раза больше суммарного объема отобранных проб. Сосуд закрывают, жидкость перемешивают и пробу сокращают до установленного объема. После этого жидкость разливают в две склянки, перенося в каждую склянку равные объемы. Склянки плотно закрывают, сверху завертывают в бумагу и обвязывают бечевкой. Пробы, предназначенные для контрольных или арбитражных анализов, поверх пробок закрывают сургучом или мастикой и опечатывают.

Если жидкие продукты кристаллизуются при температуре окружающей среды, то перед отбором проб их расплавляют. Ампулы с продуктом, отобранные в качестве пробы, хранят в запаянном виде и вскрывают непосредственно перед анализом.

Пробоотбор полужидких материалов. К полужидким материалам относятся мази, смолы, шламы, пульпа и т.п. Отбор средних проб этих материалов затруднен в силу их неоднородности. Полужидкая масса может находиться в покое в сосуде большой или малой вместимости либо в движении (пульпа). Отбор проводят вручную при помощи пробоотборников различной конструкции.

Пробы мазиобразных продуктов отбирают шупом.

Пробы твердых плавких продуктов отбирают с помощью нагретого ножа. Отобранные из различных слоев пробы смешивают, сокращают, получают среднюю пробу.

Пробоотбор природных и сточных вод. Воды в экологическом анализе условно подразделяют на подземные, поверхностные и сточные. Они различаются как по количеству и природе примесей, так и по своему назначению. Поэтому условия отбора проб здесь весьма разнообразны и регламентируются соответствующими нормативными документами. При отборе проб вод разных типов следует соблюдать определенные правила:

- проба воды, взятая для анализа, должна отражать условия и место ее отбора;
- отбор пробы, хранение, транспортировка и работа с ней должны проводиться так, чтобы не изменилось содержание определяемых компонентов или свойств воды;
- объем пробы должен быть достаточным и должен соответствовать применяемой методике анализа.

Установлены определенные виды отбора проб воды.

При *разовом отборе* пробу берут один раз в определенном месте на определенной глубине. Каждая проба характеризует качество воды лишь в данное время и в данном месте.

Вследствие изменчивости состава воды разовый отбор пробы недостаточен и применяют *периодический отбор*, при котором пробы берут либо через определенные промежутки времени, либо на определенных участках течения реки, либо из различных глубин водохранилища, озера, пруда и т. д. Обычно отбирают ряд проб для определения сезонных или суточных изменений качества воды с интервалами времени в месяцы, сутки или часы. Нередко применяют метод отбора через каждые 1—3 ч в течение суток. Результаты анализа при периодическом отборе проб являются более правильными по сравнению с результатами разового отбора.

Можно получать простые или смешанные пробы. *Простая проба* характеризует состав воды в данный момент времени в данном месте. Ее получают разовым отбором требуемого количества воды. Чаще используют *смешанную пробу*, характеризующую средний состав воды исследуемого объекта, средний состав за определенный промежуток времени или средний состав с учетом как места, так и времени. Ее получают смешиванием простых проб, взятых одновременно в различных местах (усреднение по объему) или в одном и том же месте через определенные промежутки (усреднение по времени).

При проведении массовых анализов различают среднесменную, среднесуточную и среднепропорциональную смешанные пробы. *Среднесменную и среднесуточную пробы* готовят путем смешивания равных по объему проб, отобранных через равные промежутки времени. Однако этот простой способ пригоден только в том случае, если все точки исследуемого объекта равноценны или если в месте отбора проб имеется постоянный расход воды. Если это не так, то готовят *среднепропорциональную пробу* из различных объемов проб, пропорциональных расходу, взятых через равные интервалы времени, или из равных объемов проб, взятых через различные интервалы времени таким образом, чтобы их объем или число соответствовали местным колебаниям или изменениям расхода.

Наилучший результат можно получить, применяя автоматический непрерывный отбор проб.

Частота отбора проб сточных вод определяется целью исследования. Срок отбора проб должен быть установлен с учетом реального расхода и состава сточных вод данного производства. На время возникновения необычных условий (ремонт и запуск очистных сооружений, аварийные ситуации и т. п.) частоту отбора увеличивают.

Количество пробы, которое необходимо отобрать для анализа, зависит от числа определяемых компонентов и применяемых методов анализа. Обычно

достаточно отобрать 1 л воды. Для более подробного анализа следует брать 2 л; для полного анализа или для определения компонентов, которых очень мало в воде, требуется еще больший (до 10 л) объем проб.

Приспособления для отбора проб. Устройства для отбора проб воды, содержащей взвешенные вещества, называют *батометрами*. Они различны по конструкции, емкости и габаритам (вместимость 1—4 л; масса 2,5—30,0 кг).

Тип пробоотборника выбирают в каждом конкретном случае в зависимости от предъявляемых требований и местных условий. Морской батометр предназначен для отбора проб воды с различных глубин при одновременном измерении температуры исследуемого слоя. Из мелкого водоема или недоступного для отбора места пробу откачивают насосом с ручным приводом или мотором.

Главное требование к пробоотборным устройствам — они должны обеспечивать сохранение химического состава исследуемой воды и гарантировать исключение элементов случайности при отборе пробы (попадание механических примесей, недостаточное опорожнение в пробоотборнике), а также исключать загрязнения за счет коррозии и сорбции на стенках пробоотборного устройства. В процессе отбора проб, легко подвергающихся изменениям (содержащих растворенные газы, соединения железа(II) и т. п.), необходимо избегать контакта анализируемой воды с воздухом.

В качестве материала пробоотборных сосудов используют химически стойкие к исследуемой воде стеклянные, фарфоровые или пластмассовые сосуды с притертыми или завинчивающимися пробками. Выбор материала сосуда зависит от природы определяемых примесей. Так, питьевую воду можно отбирать как в стеклянные, так и в полиэтиленовые сосуды, если они разрешены для контакта с водой; пробы, предназначенные для анализа на содержание органических веществ, отбирают только в стеклянные сосуды с притертыми пробками. Вместимость сосудов должна обеспечивать определение всех запланированных компонентов.

Желательно, чтобы вода была проанализирована в день отбора.

Установить единые требования к хранению проб невозможно. Сроки хранения, материал сосуда и другие условия зависят не только от определяемых компонентов, но и от природы пробы и аналитических методов, которые будут применяться. Обычно пробы поверхностных и подземных вод более стабильны при хранении, чем сточные воды.

В качестве метода консервирования вод широко используют глубокое охлаждение или замораживание на неопределенный период. Этот метод особенно эффективен, если его применять сразу после отбора проб. Но долго хранить охлажденные пробы нельзя. В стеклянных сосудах пробы не замораживают.

20.2.5. Пробоотбор реактивов и особо чистых веществ

Химические реактивы и особо чистые вещества (далее — реактивы) принимают для отбора проб партиями. В *партию* входит реактив, полученный в одном технологическом цикле и имеющий оформленный документ о качестве. В случае непрерывного производственного процесса партией считается суточная выработка. Партия продукта должна быть однородной по качеству.

Пробы отбирают из установленного числа упаковок в соответствии со схемой:

<i>Число упаковок в партии, шт.</i>	<i>Число упаковок, из которых отбирают пробы, шт.</i>
1	1
2 — 10	2
10 — 50	3
50 — 100	4
100 — 500	5
500 — 700	6
700 — 1 000	7
> 1 000	1 %

При получении неудовлетворительных результатов анализа хотя бы по одному из показателей проводят повторный анализ по всем показателям удвоенного числа упаковок, отобранных из той же партии. Результаты повторных анализов являются окончательными и распространяются на всю партию. Выбор упаковок для отбора проб проводят произвольно.

Пробоотборники для реактивов должны быть изготовлены из материала, не загрязняющего продукт и не взаимодействующего с ним. Пробы жидких продуктов отбирают с помощью толстостенной стеклянной трубки со всасывающим устройством. Отбор проб горючих жидких продуктов проводят пробоотборником, изготовленным из неискрящего материала.

Отбор проб твердых продуктов проводят пробоотборником трубчатой формы требуемой длины, изготовленным из полимерного материала или нержавеющей стали; нижний конец пробоотборника должен быть сухим.

Из отобранных упаковок отбирают разовые пробы из разных уровней первичной тары. Число разовых проб для твердых продуктов должно быть не менее трех (сверху, из середины и снизу). В случае жидких продуктов отбирают не менее двух разовых проб (из середины и снизу) при объеме менее 5 л и не менее трех (сверху, из середины и снизу) при объеме более 5 л.

Разовые пробы объединяют, перемешивают и получают единичную пробу данной упаковки.

Из соединенных и тщательно перемешанных единичных проб составляют общую пробу, последнюю сокращают до размеров средней пробы.

Если продукт обладает ядовитыми, огнеопасными и взрывоопасными свойствами, то на тару с пробкой должна быть наклеена отдельная этикетка с соответствующими предупредительными надписями и условными обозначениями.

20.3. Пробоподготовка

20.3.1. Методы вскрытия проб

Целью пробоподготовки является перевод пробы в состояние, пригодное для получения аналитического сигнала.

Обязательным этапом любого метода химического анализа является предварительная подготовка пробы: ее вскрытие (разложение), переводение определяемых компонентов в аналитическую форму, разделение и концентрирование определяемых компонентов. Стадия пробоподготовки — одна из наиболее трудоемких и ответственных стадий анализа в целом. Во многих случаях она вносит вклад в контрольный опыт и ограничивает эффективность использования инструментальных методов анализа. Поэтому пробоподготовка постоянно совершенствуется.

Основными приемами интенсификации процессов вскрытия проб являются использование высокоагрессивных агентов и сред, работа при повышенных температурах и давлениях, воздействие ультразвука, магнитного, электромагнитного и электрического полей (в том числе СВЧ, УФ излучением, γ -квантами, рентгеновскими лучами, искровым или дуговым разрядом, лазерным излучением, плазменной деструкцией и др.).

Вскрытие пробы основано на разрушении структуры образца в результате взаимодействия его компонентов со специально подобранными реактивами. Вскрытие может выполняться при температуре окружающей среды и нормальном давлении, но чаще всего проводится при нагревании, а иногда и повышенном давлении. Вскрытие пробы имеет целью переводение ее в раствор.

Методов переведения проб анализируемых материалов в раствор очень много и выбор их зависит как от самого материала, так и последующего хода анализа.

Обязательным требованием к методу переведения пробы в раствор является полнота вскрытия. Необходимо соблюдать требования, предъявляемые к анализируемым растворам: ограниченный солевой состав, использование неагрессивных сред. Так, в методах атомно-абсорбционной спектроскопии и атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой концентрация солей в конечном растворе обычно не должна превышать 5—10 мг/мл. Концентрация растворов соляной, серной и азотной кислот должна быть менее 1 моль/л. Для выполнения этих требований необходимы дополнительные операции.

Правильно выбранные условия разложения пробы анализируемого материала могут позволить не только перевести определяемый компонент в раствор, но и отделить его от мешающих элементов. При разработке методики вскрытия во избежание полных или частичных потерь должно быть учтено возможное образование летучих соединений.

20.3.2. Методы разложения проб

Получить раствор пробы твердого вещества можно, разложив пробу «мокрым» (растворами кислот, солей и щелочей) или «сухим» (сплавлением или спеканием с различными плавнями) способами, а также путем использования некоторых специальных методов. Общих правил в плане выбора способа разложения не существует, и способ вскрытия определяется в каждом конкретном случае.

Наиболее быстрым способом разложения, приводящим к получению наиболее чистого раствора, чаще всего является непосредственное растворение

анализируемой пробы в кислоте (или в смеси кислот). Важно, что практически все применяющиеся кислоты легко поддаются очистке перегонкой. При кислотном разложении проб существенно легче подобрать солевой состав раствора, обеспечивающий нормальную работу прибора в методах пламенной и плазменной спектроскопии.

Перед разложением пробы часто необходимо получить воздушно-сухую пробу анализируемого образца. Поэтому пробы многих руд перед вскрытием высушивают для удаления гигроскопической влаги.

В пробах многих руд могут содержаться органические примеси. Эти примеси при растворении пробы могут образовывать углеводороды или нерастворимый серовато-черный остаток. Поэтому пробу руды перед вскрытием подвергают обжигу для разрушения органических примесей, который проводят в фарфоровом тигле в течение 15—20 мин, используя пламя горелки или помещая тигель в электрическую тигельную печь.

«Мокрые» способы разложения

Реактивами для «мокрого» разложения проб могут быть растворы индивидуальных минеральных (HCl , HBr , HI , HF , HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4 , H_3PO_4) и органических (уксусная, щавелевая, винная, реже трихлоруксусная, лимонная, муравьиная и др.) кислот, а также их смесей: HCl (H_2SO_4 , HNO_3) + H_2O_2 ; HCl + HF ; HCl + H_2SO_4 ; HCl + H_2SO_4 + HClO_4 ; HNO_3 + H_2SO_4 ; HNO_3 + HClO_4 ; HNO_3 + H_3PO_4 ; H_2SO_4 + HBr ; H_2SO_4 + HClO_4 ; H_2SO_4 + H_3PO_4 ; HClO_4 + H_3PO_4 ; H_3PO_4 + H_2O_2 ; H_3PO_4 + H_2SiF_6 ; HNO_3 + концентрированная HCl (1 : 3) (царская водка); концентрированная HNO_3 + концентрированная HCl (3 : 1) (лефтортова кислота или обратная царская водка) и др. Реже в качестве реактивов используют растворы солей и оснований (щелочей).

Обработка минеральными кислотами. Минеральные кислоты, используемые для перевода анализируемой пробы в раствор, разделяют на две основные группы.

1. Кислоты, не оказывающие окислительного действия (HCl , разбавленные H_2SO_4 , HClO_4 , H_3PO_4). Этими кислотами, иногда в присутствии восстановителя, разлагают окислители. Концентрированная HCl — отличный растворитель для оксидов многих металлов, а также для металлов, окисляющихся легче водорода. С ее помощью растворяют щелочноземельные металлы, Zn , Be , Al , Sn , Ti , Ce , Th , U , Cr , Fe , Co . Аналогично ведут себя разбавленные H_2SO_4 и HClO_4 .

2. Кислоты — сильные окислители (HNO_3 , H_2SO_4 , горячая концентрированная HClO_4), растворяющие Ag , As , Bi , B , Cd , Cu , Ga , In , Ge , Mn , Hg , Mo , Ni , Pb , Se , Te , Tl , V . Минералы группы сульфидов, арсенидов, фосфатов разлагаются при действии концентрированной HNO_3 (одной или с добавлением Br_2). Горячая концентрированная HNO_3 растворяет все металлы за исключением Al и Cr . При действии концентрированной HNO_3 на Sn , W , Sb образуются малорастворимые кислоты, что позволяет отделить эти металлы фильтрованием или центрифугированием сразу после растворения сплавов.

Эффективность воздействия горячей концентрированной H_2SO_4 отчасти обусловлена ее высокой температурой кипения (~ 340 °C). Многие вещества

при этом быстро разлагаются и окисляются, поэтому она служит для удаления из анализируемого образца органических соединений. Под действием горячей H_2SO_4 разлагается большинство металлов и многие сплавы, в частности сплавы Sn, Sb, Pb.

Если к смеси добавить сульфат щелочного металла, то температура кипения H_2SO_4 повышается и растворение ускоряется. Этот прием используют для растворения нитридов Al, B, Cr, Mo, Ni, Nb, Ta, Ti, W, V, Zr в присутствии катализатора (CuSO_4 , Se).

Концентрированная HClO_4 при температуре $\sim 200^\circ\text{C}$ — очень энергичный окислитель, разрушающий ряд сплавов и нержавеющие стали, не разлагаемые другими минеральными кислотами (при работе с хлорной кислотой следует соблюдать осторожность, поскольку она и ее соли могут взрываться, особенно при контакте с органическими или легко окисляющимися неорганическими веществами).

Применяют также смеси кислот (HCl или H_2SO_4) с окислителями. Например, в HCl в присутствии H_2O_2 или Br_2 можно растворить почти все металлы, в том числе Rh, Ir, In, Sb. Серная кислота с добавкой кристаллического KMnO_4 энергично растворяет киноварь и металлическую ртуть. Очень сильным окислителем является царская водка, разлагающая практически все сульфиды, селениды, теллуриды и арсениды металлов, полиметаллические, железные и марганцевые руды.

Разложению твердых веществ способствует образование комплексов. Выбор комплексанта определяется прочностью образующихся комплексов и растворимостью солей элементов, входящих в состав анализируемого материала. Комплексант вводят либо непосредственно при вскрытии пробы, либо после ее растворения для обеспечения устойчивости растворов. Наиболее часто в качестве комплексанта используют H_2O_2 и гидроксикислоты (винную, лимонную, щавелевую). Например, сплавы Sb—Sn легко растворяются в HNO_3 в присутствии винной кислоты (в ее отсутствие образуются осадки соответственно метасурьмяной и оловянной кислот).

Золото и платину растворяют в царской водке, которая действует как окислитель и как комплексант (образуются хлорокомплексы этих металлов); вольфрамовые сплавы, Mo, Nb, Ta, Si, Zr, ферросилиций, ферромolibден растворяют в смеси HNO_3 и HF (образуются фторокомплексы). Титановые сплавы разлагают в аналогичных условиях, но с добавлением H_2SO_4 : в присутствии последней образуется сульфатотитанатный комплекс и этим устраняются потери титана в виде летучего TiCl_4 . Сплавы титана с оловом растворяют в смеси кислот H_2SO_4 и HBF_4 .

Золото растворяется в цианидных средах в присутствии кислорода воздуха с образованием цианоаурата(III).

Кремниевая кислота, кремний, горные породы и другие силикаты разлагают в присутствии HF с образованием SiF_4 , улетучивающегося при нагревании и таким образом отделяющегося. Образующиеся прочные фторидные комплексы металлов можно разрушить, отгоняя HF выпариванием с нелетучей кислотой (например, H_2SO_4). При растворении проб можно также применять нелетучую щавелевую кислоту, легко разрушающуюся при нагревании. В отдельных случаях по окончании растворения образца в плавиковой кислоте в раствор добавляют H_3BO_3 , связывая HF в HBF_4 .

Обработка органическими кислотами. Органические кислоты применяют при разложении минерального сырья в редких случаях, главным образом в фазовом анализе. Наиболее часто для растворения минералов (кальцита CaCO_3 , гипса $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, некоторых силикатов) используют уксусную кислоту. Разложение ведут при нагревании. Если флюорит содержит сульфиды (галенит PbS , сфалерит ZnS), то их окисляют 10%-м раствором брома Br_2 в ледяной уксусной кислоте.

Обработка водными растворами солей и оснований. Для выщелачивания сульфатов при анализе цинкового концентрата применяют водные растворы карбоната натрия. Раствором карбоната аммония можно извлечь сульфаты из криолита, а также растворить окисленные минералы молибдена.

Известняк растворяется при кипячении с 15%-м раствором хлорида аммония.

«Сухие» способы разложения

В тех случаях, когда растворение не приводит к достаточному для проведения анализа разложению материала (т.е. не обеспечивает полное вскрытие), применяют сплавление пробы (или образовавшегося при разложении кислотами нерастворимого остатка) с соответствующими плавнями.

Сплавление является глубоким и энергичным средством воздействия на структуру анализируемого материала. Оно может привести не только к получению растворимых в воде продуктов. В результате такой обработки образуются также плохо растворимые в воде соединения (однако обычно легко растворяющиеся в кислотах). Таким образом, при сплавлении одновременно с разложением пробы обычно происходит разделение некоторых элементов. При ультразвуковой обработке сплав легче отделяется от тигля, благодаря чему время растворения сплава в растворе кислот иногда сокращается в десятки раз.

Большая эффективность сплавления по сравнению с «мокрым» разложением объясняется использованием более высоких температур, при которых гетерогенные реакции протекают значительно быстрее. Скорость разложения увеличивается при измельчении сплавленияемого материала. Сплавление можно проводить на горелках и в муфельных печах. Целесообразный выбор плавня для каждого отдельного случая зависит от основной аналитической цели. Иногда используют несколько плавней.

Обычно в качестве плавней применяют соединения щелочных металлов, например карбонаты, бораты, гидроксиды (щелочные плавни) или бисульфаты, пиросульфаты, бифториды (кислые плавни). При сплавлении могут происходить процессы окисления или восстановления.

Основным недостатком вскрытия сплавлением является применение значительного (по сравнению с массой пробы) избытка плавня. При последующем растворении плава получают растворы с высокой концентрацией солей, что нежелательно при проведении дальнейшего анализа некоторыми спектральными методами. Поэтому чаще образцы, содержащие труднорастворимый материал, растворяют сначала в жидком реагенте, а сплавляют (с относительно небольшим количеством подходящего плавня) только нерастворившийся остаток.

Сплавление с щелочными плавнями. Как правило, сплавление ведут с применением карбонатов, причем не имеет значения, карбонат какого щелочного металла (натрия или калия) взят для сплавления, но безводный Na_2CO_3 — наиболее часто используемый пламень (температура плавления 850°C). Его используют для разложения силикатов, амфотерных оксидов, нерастворимых сульфатов, фосфатов, минералов окисленных форм молибдена и вольфрама. При сплавлении металлические компоненты превращаются обычно в растворимые в кислотах карбонаты или оксиды, а неметаллические компоненты — в растворимые в воде соли натрия. Сплавление проводят в течение 15—20 мин при температуре $1\,100^\circ\text{C}$ в платиновых, никелевых или железных тиглях с 5—8-кратным по отношению к навеске количеством плавления.

Сплавление с кислотными плавнями. В качестве кислотных плавней обычно используют KHSO_4 (температура плавления 214°C), NaHSO_4 (185°C), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$ (414°C), $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_7$ (400°C). Наиболее часто используемыми плавнями являются пиросульфаты; плавление с их участием проходит более спокойно (при сплавлении с бисульфатами выделяются водяные пары, и реакционная смесь вспенивается и разбрызгивается).

Основное действующее вещество бисульфатных плавней — выделяющийся SO_3 , обладающий при температуре сплавления значительной реакционной способностью. Сплавление с пиросульфатами происходит при очень высоких температурах.

Разложение спеканием. Разложение сплавлением — универсальный способ вскрытия минерального сырья. Трудности могут возникать вследствие коррозии в этих условиях материала применяемой посуды и загрязнения им плава. Поэтому достаточно часто сплавление заменяют более простым и экспрессным спеканием с щелочными плавнями.

При спекании пламень берут в минимальном количестве, поэтому реакционная смесь не плавится, а лишь спекается (образуется спек), и коррозии стенок тигля не происходит. При выполнении массовых определений без ущерба для качества получаемых результатов спекание проводят в фарфоровых тиглях.

Вскрытие проб спеканием основано на высоком химическом сродстве компонентов пробы к введенным реагентам, на процессах диффузии и реакциях двойного обмена. Реакционная способность системы зависит от количества взятых для спекания реактивов, степени их измельчения, длительности процесса.

Реакции спекания относятся к твердофазным процессам и принципиально отличаются от реакций в газовой фазе или растворе. Наиболее распространенными реагентами для спекания являются Na_2O_2 и безводный Na_2CO_3 , к которому добавлены оксиды металлов (цинка, железа, магния), щавелевая кислота, нитрат калия и др.

Термическое разложение. Этот способ наиболее часто используют в анализе минерального сырья с целью выделения некоторых компонентов (CO_2 , H_2O), ускорения растворения и упрощения дальнейшего хода анализа. Его проводят нагреванием вещества на воздухе в инертной, окислительной или восстановительной атмосфере, либо в присутствии других веществ, способствующих разрушению кристаллической решетки анализируемого материала.

Помимо определения и удаления CO_2 и H_2O термическая обработка проб целесообразна для удаления сульфидной серы. Метод термического разложе-

ния лежит в основе методики определения серы: пробы прокаливают в токе кислорода или воздуха при температуре 1 000—1 300 °С и образующийся SO_2 поглощают раствором I_2 .

Сжигание пробы в токе кислорода нашло применение и в случае определения и удаления органических примесей в минеральном сырье. Определение основано на количественном переведении углерода в CO_2 сжиганием в присутствии катализатора. Образующийся CO_2 поглощают натронной известью, аскаритом, хлоридом кальция или ангидроном.

К термическому разложению в окислительной атмосфере относится нагревание в присутствии галогенирующих реагентов, обладающих большой эффективностью и реакционной способностью. При использовании газообразных реагентов галогенирование ведут в открытых системах, пропуская поток газа над нагретой пробой, помещенной в лодочку. Разложение неорганических веществ в токе газа является весьма удобным методом химического анализа, поскольку реагирующий газ поступает в достаточно чистом виде, не внося в пробу загрязнения.

Ускорить вскрытие трудно разлагаемых в обычных условиях проб и сократить количество применяемых для их разложения реактивов (и тем самым снизить поправки контрольного опыта) можно, используя аналитические автоклавы — герметично замкнутые химические реакторы, в которых реакции разложения протекают при повышенных давлениях и температурах (150—200 °С). Автоклавы применяют при анализе тугоплавких металлов и их соединений, тяжелых и цветных металлов, керамических материалов, когда требуется перевести все компоненты аналитической пробы в раствор или осуществить твердо- и жидкофазное селективное разделение компонентов.

Автоклав представляет собой тефлоновую реакционную камеру, заключенную в небольшой металлический (обычно стальной) корпус с резьбой.

Пробу помещают в камеру, добавляют растворяющие агенты (обычно смеси кислот, часто в присутствии окислителей), закрывают камеру тефлоновой крышкой, герметизируют в металлическом корпусе, помещают в электронагреватель и выдерживают необходимое время при выбранном температурном режиме. По охлаждению до комнатной температуры автоклав разгерметизируют и полученный раствор анализируют.

Особенностью разложения кислотами в автоклавах является возможность использовать почти стехиометрические соотношения концентраций элемента и реактива, в то время как в открытых системах разложение ведется в большом избытке последнего. Это позволяет существенно снизить уровень загрязнения пробы вводимыми реактивами. Время разложения пробы сокращается в несколько раз по сравнению с разложением ее в открытой системе.

Новым эффективным способом разложения проб является использование микроволновых полей, осуществляемое в специальных устройствах (микроволновые печи или печи СВЧ). Для разложения используют HCl , HNO_3 , H_2F_2 , H_3PO_4 , жидкий бром Br_2 , воду. Для предотвращения коррозии внутренних деталей самой печи парами минеральных кислот внутрь ее помещают ящик из органического стекла или используют принудительную вентиляцию печи. В этих случаях наиболее приемлемы навески проб 5—300 мг, оптимальный объем реакционной смеси 10—15 мл. Эффективное разложение проб наблюдается

при постадийном нагревании печи (2—3 стадии по 3—5 мин каждая) и значениях мощности 600, 450, 300 Вт.

В микроволновых печах успешно разлагаются медь-, молибден- и золото-содержащие концентраты, продукты их переработки, шлаки металлургического производства. Эти печи хорошо зарекомендовали себя при разложении биологических материалов и некоторых объектов окружающей среды.

Вся процедура разложения труднорастворимых продуктов занимает 3—5 мин, дальнейшая обработка растворов — еще 5—15 мин. Таким образом, использование микроволновой печи позволяет сократить длительность пробоподготовки от нескольких часов до 30 мин и на практике реализовать экспрессность многих инструментальных методов анализа. В отличие от, например, сплавления солевой фон в данном случае обусловлен только составом образцов и реакционной смеси, а не всеми компонентами, входящими в состав плавней.

20.3.3. Разрушение органических веществ (минерализация пробы)

Определение различных элементов, входящих в состав органических соединений (или неорганических соединений, но смешанных в пробе с органическими), часто требует полного разрушения органических компонентов пробы. В этих целях могут быть предложены различные методы, ни один из которых, однако, не является универсальным, пригодным для всех случаев анализа. Большинство методов минерализации основано на окислении органического вещества тем или иным способом.

«Сухие» способы минерализации. Известно довольно много методов «сухого» разложения проб. Наиболее ранний метод разрушения органических веществ — прокаливание пробы на воздухе. Прокаливание проводят в фарфоровой, кварцевой или платиновой чашке, сначала осторожно до удаления основной массы воды, после чего температуру повышают до 500 °С. Золу, получаемую после прокаливания и содержащую образовавшиеся нелетучие неорганические вещества, переводят в раствор одним из описанных выше методов.

Метод сжигания в токе кислорода отличается от сжигания на воздухе лишь тем, что чашечку (лодочку) с веществом помещают в нагреваемую трубку, через которую пропускают кислород. Этот метод более эффективен, чем сжигание на воздухе. Иногда сжигание проводят в закрытых сосудах (бомбах), чтобы можно было проанализировать газовую фазу.

Иногда для облегчения последующего анализа используют сочетание прокаливания со спеканием. Для этого к пробе перед прокаливанием добавляют различные плавни: $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, смесь $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ и KClO_3 , NaOH , MgO , смесь CaO с KMnO_4 .

Можно применять также сплавление, но обязательно с добавлением окислителя. При сплавлении добавляют различные вещества: смесь NaOH с KNO_3 (в серебряном тигле), Na_2O_2 (сплавление проводят в никелевом или железном тигле).

Высокоинтенсивным методом разрушения органических компонентов и проб является фотохимическое разложение (фотолиз). Благодаря воздействию мощ-

ного УФ облучения (ртутные и ксеноновые лампы) разрушаются даже комплексы металлов с гуминовыми и фульвокислотами в природных водах. Продолжительность фотолиза колеблется от нескольких секунд до нескольких минут.

«Сухую» минерализацию органических или металлоорганических соединений можно осуществить в условиях плазменной деструкции (низкотемпературная кислородная или аммиачная плазма).

Для разложения миллиграммовых навесок органических соединений в низкотемпературной (100 °С) кислородной плазме высокочастотного разряда требуется не более 3—10 мин.

Для быстрого озонения биологических материалов перспективно использование лазерного излучения.

«Мокрые» способы минерализации. «Мокрые» способы применяют главным образом в тех случаях, когда «сухие» оказываются неподходящими. Они не требуют высоких температур и поэтому не сопряжены с большими потерями летучих веществ. Недостатки связаны с большими временными затратами и необходимостью введения большого количества реагента-окислителя, который может быть источником загрязнений. Операцию разложения обычно проводят в платиновых, фарфоровых или кварцевых чашках.

Обработка HNO_3 (метод Кариуса). Это наиболее старый способ. Пробу обрабатывают при нагревании до 250 °С дымящей HNO_3 в запаянной трубке. В ряде случаев разложение проводят азотной кислотой, содержащей в качестве катализатора $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$.

Обработка серной кислотой (метод Кьельдаля), или «мокрое сжигание». Окисление пробы можно провести при кипячении ее с концентрированной H_2SO_4 с добавлением катализаторов или без них.

Обработка смесью H_2SO_4 и HNO_3 (метод Дениже). Разложение проводят при соотношении кислот 1 : 2,5 при нагревании в конической колбе. Во избежание потери азотной кислоты нагревание ведут сначала слабо, а затем при температуре кипения серной кислоты до обесцвечивания раствора. После охлаждения колбы и добавления воды раствор вновь нагревают до начала выделения паров серной кислоты. Повторное нагревание необходимо для разрушения образовавшейся в процессе реакции нитрозилсерной кислоты, являющейся сильным окислителем. Разложение часто заканчивают добавлением HClO_4 и повторным нагреванием до кипения H_2SO_4 .

Окисление пероксидом водорода или перманганатом калия. Для разрушения следов органических веществ, остающихся после обработки смесью кислот, а также одной из кислот-окислителей, часто после кислотного окисления добавляют H_2O_2 или KMnO_4 . В отдельных случаях применяют такие окислители, как смеси H_2SO_4 и $\text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, H_2SO_4 и H_2O_2 (1 : 1), KClO_4 в солянокислой среде, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ в щелочной среде (разложение соединений иода), KMnO_4 в кислой и щелочной средах, соли $\text{Ce}(\text{IV})$ в среде HClO_4 и т. д.

Восстановительная обработка. В некоторых случаях разложение может быть проведено путем обработки пробы металлическим натрием в жидком аммиаке, абсолютном этаноле и других растворителях (метод Степанова), а также металлическим калием или нагреванием в токе водорода. В результате такого разложения галогены переходят в соответствующие галогениды, сера — в сульфид.

20.4. Методы разделения и концентрирования в техническом анализе

20.4.1. Общие положения

Далеко не все применяемые в техническом контроле методы аналитической химии обладают достаточной для непосредственного определения того или иного компонента специфичностью и чувствительностью.

Сопутствующие элементы могут оказывать влияние на аналитический сигнал, увеличивая его вследствие недостаточной избирательности метода или приводя к изменению поведения определяемого элемента, потере им индивидуальных свойств.

Требования к чувствительности методики анализа могут быть весьма жесткими, особенно при определении следовых количеств, как это имеет место, например, в случае анализа чистых и особо чистых веществ и объектов экологического анализа.

Выше уже отмечались особенности промышленного химического анализа, связанные с желательностью получения результатов в режиме реального времени. Это подразумевает максимально широкое использование инструментальных методов анализа, что в свою очередь предъявляет особые требования к составу образца, приготовленного непосредственно для измерения. В методах спектрального анализа, например, не всегда допустим высокий солевой фон, в газохроматографических и других методах анализа органических фракций трудности может вызвать наличие в образце воды.

Прямые инструментальные методы часто не могут быть использованы при анализе многих сложных объектов либо из-за недостаточной чувствительности и избирательности, либо вследствие неомогенного распределения компонентов в образце, либо в связи с трудностями градуировки, когда отсутствуют стандартные образцы известного состава. В таких случаях прибегают к концентрированию микрокомпонентов, т. е. к отделению подходящим способом основной массы макрокомпонента, либо выделению элементов-примесей с последующим анализом полученного концентрата микрокомпонентов подходящими методами.

В основе операций разделения и концентрирования лежат одни и те же процессы, отличающиеся лишь концентрациями разделяемых компонентов.

Разделение — процесс, в результате которого компоненты, составляющие исходную смесь, отделяют один от другого, причем их концентрации могут не отличаться либо мало отличаться друг от друга.

Концентрирование — процесс, в результате которого повышается отношение концентрации или количества компонентов (примесей) к концентрации или количеству основного компонента (макрокомпонента).

Для разделения и концентрирования используют чаще всего одни и те же методы, основанные на различии химических и физических свойств разделяемых компонентов. Это могут быть растворимость, сорбционные и электрохимические характеристики, температура кипения, температура сублимации, агрегатное состояние, размеры ионов, заряды, массы и др. Как для концентрирования, так и для разделения компонентов пригодны жидкость-жидко-

стная экстракция, ионная хроматография, осаждение, но отдельные методы больше пригодны для разделения компонентов (например, бумажная и тонкослойная хроматография); другие же методы (например, пробирную плавку) применяют исключительно для концентрирования.

В качестве основного признака классификации методов концентрирования используют природу процесса и различают:

- 1) химические и физико-химические методы;
- 2) физические методы.

К первой группе методов относятся отгонка после химических превращений, осаждение и соосаждение, пробирная плавка, жидкостная экстракция, ионный обмен, сорбция, флотация, химические транспортные реакции, частичное растворение матрицы, электрохимические методы (электролиз, электродиализ, инверсионная вольтамперометрия).

Вторая группа включает зонную плавку, испарение и сублимацию в вакууме, магнитную сепарацию ионов, дистилляцию, кристаллизацию, фильтрацию, гель-фильтрацию, ультрацентрифугирование.

Химические методы концентрирования просты, но имеют ряд недостатков:

- всегда существует риск потери некоторого количества определяемого элемента;
- при проведении химических операций всегда имеется опасность внесения загрязнений; источники загрязнений весьма разнообразны: реагенты, посуда, аппаратура, воздух лабораторных помещений; избежать загрязнений редкими элементами довольно легко, но в случае широко распространенных (тривиальных) элементов (Fe, Al, Ca, Mg, Si, P, Cu) эта задача достаточно сложна; большая поправка на холостой опыт, зачастую превышающая количество определяемого элемента, ограничивает чувствительность методик определения.

Тем не менее благодаря постоянно растущему числу химических реакций, используемых в процессах концентрирования, новым температурным режимам, новой аппаратуре с применением таких перспективных материалов, как стеклогуглерод, фторопласт, высокотемпературная керамика и других, химические методы концентрирования не утрачивают своего значения.

Для физических методов концентрирования микропримесей характерной особенностью является отсутствие или очень малая поправка на холостой опыт.

Чаще методы разделения и концентрирования классифицируют на основе числа и характера фаз, принимающих участие в этих процессах. Наибольшее значение имеют методы, основанные на распределении вещества между двумя фазами таким образом, что одна из фаз становится концентратом микрокомпонентов.

Вещество может существовать в трех состояниях: твердое, жидкое и газообразное. Поэтому различают три основные группы методов разделения и концентрирования: выделение одного или нескольких компонентов в твердую, жидкую и газообразную фазу.

Среди методов разделения, основанных на равновесии между твердой и жидкой фазами, наиболее известны и часто применяются осаждение и соосаждение, а также адсорбционная и ионообменная хроматография, электролиз на твердых электродах и метод зонной плавки. Из методов разделения, основанных на равновесии между двумя жидкими фазами, наиболее часто

используют экстракцию органическими растворителями, распределительную хроматографию и электролиз на ртутном катоде. Методы разделения, основанные на удалении одного из компонентов в виде газа, имеют ограниченное, но важное значение. К ним относятся определение влаги в различных материалах, карбонатов отгонкой CO_2 , отделение кремния в виде фторида и др.

Каждая из названных групп методов может включать как химические, так и физические методы концентрирования.

Известны также методы, основанные на разделении компонентов в одной фазе: электродиализ, электрофорез, диффузионные и термодиффузионные методы. Эти методы не вполне подходят под данную классификацию. Но если представить себе, что компоненты системы под воздействием приложенной извне энергии разделяются на две части, которые могут быть изолированы, например с помощью полупроницаемой мембраны при диализе, то и здесь можно условно говорить о распределении компонентов между двумя фазами.

Иногда встречаются и более сложные системы. Например, при экстракционном концентрировании микрокомпонентов может произойти расслаивание экстракта на две фазы с образованием трехфазной системы.

20.4.2. Индивидуальное и групповое концентрирование

Во многих случаях необходимо проводить многоэлементные определения (примеси тяжелых металлов в объектах окружающей среды, определение микрокомпонентов в почвах, растениях, определение вредных примесей и легирующих микрокомпонентов в электронных материалах). Перед таким определением необходимо сконцентрировать сразу группу определяемых элементов.

Кристаллизационные методы. Эти методы включают направленную кристаллизацию и зонную плавку и относятся к числу безреактивных методов концентрирования примесей и очистки веществ. Суть методов заключается в расплавлении с последующей кристаллизацией узкой зоны исследуемого твердого образца (*зонная плавка*) или постепенном замораживании анализируемой жидкой фазы, сопровождающемся ростом кристаллов матрицы (лучше — монокристаллов) в определенном направлении (*направленная кристаллизация*). В первом случае зону высокой температуры постепенно продвигают вдоль бруска образца, небольшое количество расплава постепенно проходит через весь брусок и в результате многократного распределения примесей между твердой и жидкой фазами растворимые в жидкой фазе примеси концентрируются в ней и перемещаются к одному из концов бруска; во втором — матрицу в твердом виде отделяют от жидкой фазы, в которой остаются примесные компоненты. При анализе растворов в этом случае примеси концентрируются в жидкой фазе, при анализе расплавленных металлов — в той части слитка, которая затвердевает в последнюю очередь.

Зонную плавку применяют для концентрирования примесей ряда металлов (Ag, Cd, Cu, Ni, Al, Ca и др.) перед, например, атомно-эмиссионным или вольтамперометрическим анализом высокочистых свинца и висмута. Пределы обнаружения примесей составляют 10^{-7} — $10^{-4}\%$, а их коэффициенты концентрирования достигают 20 — 30.

Вариант метода направленной кристаллизации под названием «направленное вымораживание» применяют при концентрировании примесей в анализе вод. Пробирку с исследуемым образцом постепенно погружают в охлаждающую смесь температурой -12°C , и вода постепенно кристаллизуется, образуя монокристалл льда.

Однако с помощью этих методов трудно добиться коэффициентов концентрирования порядка 10^2 и выше.

Флотация. *Флотация* — метод концентрирования и разделения смесей твердых частиц веществ, основанный на различии в смачиваемости. Флотируемые вещества должны быть гидрофобными. В результате флотации над поверхностью суспензии образуется устойчивый слой пены, обогащенной извлекаемыми микрокомпонентами (хотя флотация может применяться и для выделения матрицы). Продукты флотации после их отделения анализируют.

Концентрирование флотацией широко используют при анализе вод (пресных, морских, сточных), содержащих микропримеси на уровне 10^{-9} — 10^{-6} г/л. Коэффициент концентрирования достигает при этом 10^1 — 10^2 . При анализе морской воды удается отделить микрокомпоненты от щелочных и щелочноземельных элементов.

Флотацию с использованием в качестве коллектора осадка гидроксида индия(III) применяют для группового концентрирования тяжелых металлов, адсорбированных или окклюдированных суспендированными в воде частицами, связанных в комплексные соединения с гуминовыми кислотами или присутствующих в пресных водах в виде неорганических коллоидных частиц и ионов.

Фильтрация. *Фильтрация* — процесс движения жидкости или газа через пористую среду, сопровождающийся отделением взвешенных частиц. Метод используют для концентрирования твердых частиц, содержащихся в атмосферном воздухе и воздушной среде промышленных помещений. В качестве материала фильтрующих элементов применяют бумагу, графит, пористое стекло, стекловолокно, синтетические материалы. Методика определения микрокомпонентов в воздухе включает отбор пробы, совмещенный со стадией концентрирования (путем пропускания определенного объема воздуха через фильтрующий элемент), отбор частиц с фильтрующего элемента и собственно определение. Например, по этой схеме примеси As, Co, Cr, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, Sr, Ti, V, Zn и Zr в атмосферной пыли определяют методом атомно-эмиссионной спектроскопии с пределом обнаружения 10^{-7} — $10^{-6}\%$.

Разделение высоко- и низкомолекулярных соединений в жидкой фазе проводят ультрафильтрацией, основанной на использовании селективных мембран с порами размером 10^{-2} — 10^{-1} мкм, пропускающих только низкомолекулярные соединения. Метод применяют преимущественно при проведении медико-биологических аналитических исследований.

В ряде случаев для концентрирования микрокомпонентов используют инертную полимерную мембрану. Ионы металлов, не образующих комплексов с водорастворимыми полимерами, проходят через мембрану, а те из них, которые связаны в комплексные соединения, концентрируются в растворе над матрицей. Фильтрацию осуществляют под давлением.

Диффузия и термодиффузия. Для разделения газообразных веществ может быть использовано различие в скоростях диффузии через пористые перего-

родки. По одну сторону перегородки концентрируются газы, обладающие большей скоростью диффузии, по другую — меньшей. Многократное повторение этого процесса в камере, снабженной большим числом пористых перегородок, позволяет достичь высокой степени разделения газов. Чем больше молекулярная масса газа, тем он медленнее диффундирует через пористую перегородку и тем меньше его концентрация за перегородкой.

Той же цели может служить и термическая диффузия, основанная на возникновении градиента концентрации в двухкомпонентной газовой или жидкой смеси при создании в ней температурного градиента. Если сосуд с газовой смесью подогревать с одного конца и охлаждать с другого, то через некоторое время состав смеси в горячей и холодной частях будет отличаться. Отличие тем значительнее, чем больше разность температур. В горячей части смеси содержится больше того компонента, который обладает меньшей молекулярной массой.

Разделение и очистка в гравитационном поле. К способам разделения, основанным на использовании гравитационных сил, можно отнести фильтрацию и центрифугирование.

20.4.3. Выбор методов разделения и концентрирования

При многообразии методов разделения и концентрирования трудно решить, какому из них следует отдать предпочтение. Универсального метода разделения или концентрирования не существует. Каждый метод имеет свою сферу применения в зависимости от поставленных перед химиком-аналитиком задач, свои достоинства и ограничения. Успех применения каждого метода зависит от того, насколько правильно выбраны условия, обеспечивающие количественный переход нужного (или мешающего) компонента в одну из фаз либо, если это гомогенная система, накопление компонента в определенной части системы.

Выбор метода концентрирования определяется нормативными документами, учитывающими:

- конкретную практическую задачу, т. е. природу объекта анализа, перечень микрокомпонентов, которые следует определять, требуемые метрологические параметры рабочей методики (достижимые коэффициенты концентрирования, а следовательно, пределы обнаружения), степень извлечения, воспроизводимость получаемых результатов;

- происхождение и предысторию объекта анализа (прежде всего это относится к веществам и материалам промышленного изготовления, когда простой доступный способ разделения уже был использован технологом или синтетиком и процесс не должен повторяться); например, отгонка — классический метод концентрирования при анализе высокочистых соединений As, Sb, Ti, Zr, V; однако дистилляционные методы применяют для очистки галогенидов этих элементов; вещество прошло n ступеней очистки в технологическом цикле, метод концентрирования будет всего лишь $(n + 1)$ -й ступенью «очистки», и едва ли концентрирование окажется в этом случае эффективным;

- сочетаемость выбранного метода концентрирования и метода последующего определения микрокомпонентов в концентрате;

- универсальность, простота, доступность, время на выполнение операции;
- оснащенность головной лаборатории (предприятия разработчика) и тех лабораторий, которые используют метод для рутинного анализа (возможность автоматизации);
- специализацию и квалификацию исследователя, разрабатывающего методику, его приверженность тому или иному методу, а также специализацию и квалификацию аналитиков производственных лабораторий, которые будут методику использовать;
- необходимость обеспечения безопасных условий работы;
- возможность четкого разделения макро- и микрокомпонентов;
- форму существования микрокомпонентов, присутствующих в пробе, их состояние окисления, равномерность распределения по объему, состояние их в растворах (ионное или коллоидное); это важно, хотя концентрирование и переводит компоненты в однородное состояние независимо от первоначальной формы.

В дистилляционных методах следует учитывать, например, возможность образования азеотропных смесей, при осаждении — соосаждение, при экстракции — соэкстракцию. Выбор метода предварительного концентрирования определяется и агрегатным состоянием анализируемого объекта. Для газообразных и парообразных форм удобны фильтрация, сорбция, соосаждение; для анализа жидких проб — различные виды экстракции, соосаждение, сорбция.

Техническое оформление концентрирования разнообразно. Применение находят периодические и непрерывные, одноступенчатые и многоступенчатые процессы. Выбор зависит от того, какая цель поставлена перед аналитиком и насколько различаются свойства макро- и микрокомпонентов. Для индивидуального концентрирования, как уже говорилось, удобны многоступенчатые методы, например хроматографические. Если коэффициент концентрирования равен 30—50 (и более), то можно остановиться на одноступенчатом варианте процесса.

Методы концентрирования различаются по степени использования. Наибольшее распространение получили экстракция и экстракционная хроматография, соосаждение, дистилляционные методы (отгонка, фракционное испарение, сублимация), адсорбционная, распределительная, осадочная хроматография и ионный обмен, электрохимические методы (электроосаждение, электродиализ, цементация, ионофорез), зонная плавка, озоление. Известны и другие методы — ультрацентрифугирование, диализ, диффузия и термодиффузия, электродиффузия, флотация.

Для каждой сферы приложения аналитической химии характерен свой набор методов: в нефтехимической промышленности отдают предпочтение хроматографическим методам, в токсикологической химии — экстракции и хроматографии, в электронной промышленности — дистилляции и экстракции и т.д.

Предварительное концентрирование микрокомпонентов расширяет круг объектов, которые можно анализировать выбранным методом. Так, применение эмиссионного спектрального анализа для определения микрокомпонентов в матрице, дающей многолинейчатый спектр (лантаноиды, актиноиды, железо, молибден), осложняется наложением линий макрокомпонента на линии определяемых микрокомпонентов. Искровая масс-спектрометрия позво-

ляет анализировать электропроводящие вещества, но не диэлектрики и изоляторы. Нейтронно-активационный анализ материалов, содержащих сильно активирующуюся основу, затруднен из-за ее высокой радиоактивности. Предварительное концентрирование микрокомпонентов, удаление основы снимают подобные затруднения. Концентрирование с полным отделением матрицы особенно полезно при анализе токсичных, радиоактивных и дорогостоящих веществ.

Концентрирование эффективно, когда необходимо применять стандартные образцы с известным содержанием компонентов, а анализировать придется разнообразные по природе объекты. Предварительное концентрирование с удалением матрицы позволяет проводить анализ с привлечением унифицированных стандартных образцов на единой основе.

На стадии концентрирования удобно вводить внутренние стандарты, если они нужны, или дозированные количества микрокомпонентов, если количественный анализ осуществляется с использованием метода добавок.

Концентрированию присущи и недостатки: в большинстве случаев оно удлиняет анализ, а также часто усложняет его; для осуществления концентрирования нужны реактивы высокой чистоты.

Однако достоинства концентрирования перекрывают его недостатки.

20.5. Методы технического контроля

В производственном техническом контроле обычно применяют высокочувствительные и селективные методы анализа. Несмотря на развитие и широкое внедрение в практику методов, пригодных для прямого анализа, таких как нейтронно-активационный, атомно-абсорбционный, атомно-флуоресцентный, различные варианты масс-спектрометрии и некоторых других, характеризующихся низкими пределами обнаружения, не только не снизилась значимость предварительного концентрирования, а, наоборот, выявились его новые возможности, возросла его роль. В частности, в тесном сочетании разделения, концентрирования и последующего определения возникла новая группа перспективных методов, которые весьма интенсивно разрабатываются и реализуются, нередко в виде устройств, пригодных к автоматизации.

Использование в практике аналитического контроля высокочувствительных инструментальных методов способствовало повышению роли предварительного концентрирования при анализе сложных объектов. Возникли комбинированные методы, в которых разделение смесей, концентрирование микрокомпонентов, идентификация компонентов и определение их содержания стало частями целого, а не разобщенными, изолированными стадиями процесса анализа, как было раньше. В комбинированных методах появляются специфические сочетания, поскольку свойства концентрата оказывают существенное влияние на последующее определение. Например, если при пламенном атомно-абсорбционном анализе водных растворов не очень существенно, каким методом проводилось выделение определяемых элементов, то при том же методе анализа органических экстрактов появляются важные особенности, связанные с иной вязкостью органических растворителей по сравнению с во-

дой и их горючестью. Преимущество этого метода по сравнению с атомно-абсорбционным определением элементов в водном растворе заключается в снижении предела обнаружения (вследствие роста температуры пламени из-за горючести растворителя), ускорении и упрощении анализа. Исключаются операции упаривания экстрактов, реэкстракции и другие, приводящие к увеличению поправки на холостой опыт при определении тривиальных элементов.

Примерно такая же картина наблюдается при сочетании экстракции с фотометрическим определением, если последнее проводится непосредственно в органической фазе.

Большое значение концентрирование имеет для спектрального анализа. Если матрица мешает определению микрокомпонентов, то ее целесообразно отделять полностью, переводя концентрат в форму, удобную для непосредственного возбуждения спектра микрокомпонентов. Хорошим коллектором в этом случае является графитовый порошок, часто с добавкой хлорида натрия.

В рентгеноспектральном анализе используют групповое, реже индивидуальное концентрирование. Концентрат в этом случае должен получаться по возможности в виде твердого образца, который можно непосредственно анализировать. Если же используют экстракцию, то после нее органическую фазу разрушают и микрокомпоненты сорбируют на порошке целлюлозы или на силикагеле. Удобно проводить экстракцию легкоплавкими экстрагентами при повышенной температуре: в этом случае концентрат сразу можно запрессовать в таблетку и подвергнуть анализу.

В искровой масс-спектрометрии микрокомпоненты после отделения от матрицы путем экстракции наносят на коллектор, в качестве которого служит оксид алюминия высокой чистоты.

В электрохимических методах анализа предварительное концентрирование используют в двух основных направлениях: первое — инверсионная вольтамперометрия, когда микрокомпоненты предварительно электрохимически концентрируют на твердом или ртутном электроде, затем определяют при анодном растворении; второе — полярография экстрактов, содержащих микрокомпоненты. В экстракт перед полярографированием вводят фоновый электролит и растворитель-гомогенизатор, например метанол. Такая комбинация ускоряет анализ, так как устраняет необходимость разлагать экстракт или проводить реэкстракцию.

Концентрирование имеет применение и в активационном анализе. Оно может проводиться как до облучения, так и после.

Методы, сочетающие концентрирование микрокомпонентов с последующим их определением, нередко могут быть реализованы в виде автоматизированного приборного устройства. Разработка автоматизированных комплексов, охватывающих весь процесс анализа — от пробоотбора и пробоподготовки (включая концентрирование микрокомпонентов) до выдачи результатов — является тенденцией сегодняшнего дня и ближайшего будущего.

В дальнейшем следует ожидать еще более интенсивного развития комбинированных методов, создания новых комбинаций, включающих сочетание эффективного разделения и концентрирования как с селективными, так и неселективными методами конечного определения. Роль таких методов окажется особенно важной в анализе многокомпонентных веществ и материалов,

новой нестандартной продукции, в аналитическом контроле высокочистых веществ и других важных областях современной науки и техники.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. В чем заключается роль химика-аналитика?
2. Кто определяет стратегию анализа?
3. В чем заключается обеспечение качества и контроль качества?
4. Чем определяется способ отбора и размер пробы?
5. Приведите примеры способов отбора пробы в потоке жидкости и газа.
6. Каковы особенности отбора пробы твердых веществ?
7. Назовите способы гомогенизации и усреднения пробы.
8. Каким образом можно учесть содержание воды в анализируемой пробе?
9. Какие факторы определяют способ переведения анализируемой пробы в раствор?
10. Какими свойствами должен обладать растворитель, используемый для растворения пробы?
11. Приведите примеры щелочных, кислых и окислительных плавней.
12. Укажите различия между направленной кристаллизацией и зонной плавкой.
13. Зачем и когда необходимо поверять оборудование?
14. Каковы основные и вторичные характеристики качества аналитической методики?
15. Что включает в себя проверка методики анализа?
16. Как проверить стадию предварительной обработки пробы?
17. Что такое образцы сравнения? Для чего их применяют?
18. Каковы основные характеристики и свойства образцов сравнения? Как их готовят?
19. Дайте определение понятия «стандартный образец». Для каких целей используют стандартные образцы?
20. Обеспечение качества — это роскошь или экономическая необходимость?
21. Для того чтобы потребитель смог сделать осмысленные выводы из результатов анализа, достаточно ли, чтобы они были правильными? Достаточно ли в этом случае хорошей воспроизводимости?
22. Можете ли вы указать общественные и экономические ситуации, в которых для решения поставленных задач необходима высокая точность результатов анализа?
23. На какие основные классы (с точки зрения особенностей измерительной процедуры) подразделяют методы анализа?
24. Какими свойствами должен обладать растворитель, используемый для растворения пробы?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аналитическая химия. Проблемы и подходы : в 2 т. / под ред. Р. Кельнера, Ж. -Ж. Мери-ме, М. Отто, Г. М. Видмера. — М. : Мир, 2004.

Карпов Ю.А. Методы пробоотбора и пробоподготовки / Ю.А. Карпов, А.П. Савостин. — М. : Бином. Лаборатория знаний, 2003.

Кузьмин Н.М. Концентрирование следов элементов / Н.М. Кузьмин, Ю.А. Золотов. — М. : Наука, 1988.

Москвин Л.Н. Методы разделения и концентрирования в аналитической химии / Л.Н. Москвин, Л.Г. Царицына. — Л. : Химия, 1991.

Основы аналитической химии : в 2 т. / под ред. Ю.А. Золотова. — М. : Издательский центр «Академия», 2010.

21.1. Основные понятия

Роль *метрологии* — науки об измерениях — в аналитической химии и химической технологии постоянно растет. Настоящая глава содержит сведения о метрологии вообще и метрологии химического анализа в частности, необходимые химикам-аналитикам. В гл. 2 были даны необходимые для решения метрологических задач сведения из математической статистики.

Измерения постоянно встречаются в лабораторной практике. Выделяют «классические» измерения физических величин (длины, массы, времени и пр.) и химический анализ — специфическую разновидность измерений.

Измерение — это получение значений физической величины опытным путем с помощью специальных технических устройств.

При выполнении измерений проводят сравнение измеряемой опытным путем величины с другой, подобной ей и принятой за единицу, и оценивают величину в виде некоторого числа принятых для нее единиц, которое называют значением (см. далее).

Метрология — наука об измерениях, методах и средствах обеспечения единства измерений и способах достижения требуемой точности измерений.

В определении метрологии использованы понятия единства измерений и точности.

Единство измерений — состояние измерений, при котором их результаты выражены в узаконенных единицах и погрешности измерений не выходят за установленные границы с заданной вероятностью.

Точность измерений — качество измерений, отражающее близость их результатов к истинному значению измеряемой величины.

Отметим, что реально единство измерений обеспечивается не всегда. В частности, это справедливо для количественного химического анализа.

Характеристику исследуемого объекта, которую измеряют, называют *размером* (например, длина стола или температура водяной бани). Размер существует объективно, независимо от того, как его измеряют, и независимо от используемых единиц измерения.

Каждому размеру Q можно приписать положительное число q , которое показывает, во сколько раз размер Q больше размера физической величины $|Q|$, принятого за единицу (метра, килограмма, моля и т. д.). Величину q называют *числовым значением* величины Q , а ее количественное выражение

$$Q = q|Q| \quad (21.1)$$

называют *значением физической величины*.

Часто тот или иной раздел метрологии называют по отрасли, в которой он применяется. Так, метрологию применительно к химии называют химической метрологией и т.д.

Химическая метрология — раздел метрологии, занимающийся измерениями в химии, главным образом аналитической. Необходимость выделения химической метрологии в отдельную область обусловлена тем, что измерения в химии (химический анализ) имеют существенные особенности. Они рассмотрены далее.

Отметим здесь, что термин «стандарт» не должен применяться по отношению к веществу или изделию. Стандарт — это документ.

21.2. Аксиомы метрологии

Как любая точная наука метрология имеет свою аксиматику.

Аксиома 1. Без априорной информации измерение невозможно.

Эта аксиома относится к ситуации до измерения и говорит о том, что мы не можем ничего узнать об интересующем нас свойстве, ничего не зная о нем заранее. Необходимость в измерении обусловлена дефицитом количественной информации об изучаемом свойстве объекта или явления и направлена на его уменьшение (ясно, что если о свойстве известно все, измерять ничего не нужно).

Аксиома 2. Измерение есть не что иное, как сравнение.

Это констатация того, что единственным способом получения информации о каких-либо размерах является сравнение их между собой. Следствием этой аксиомы является необходимость существования эталонов физических величин и системы передачи их размера образцовым и рабочим средствам измерений.

Аксиома 3. Результат измерения является случайным.

Данная аксиома относится к ситуации после измерения и отражает тот факт, что результат измерения всегда зависит от множества факторов, в том числе и случайных, точный учет которых невозможен. Отсюда вытекает, что при описании результатов измерений в полной мере должен применяться аппарат математической статистики.

21.3. Основные вопросы теории измерений

21.3.1. Классификация измерений

Измерения классифицируют разными способами.

1. По характеру зависимости измеряемой величины от времени измерения могут быть:

- *статические* — измеряемая величина постоянна в течение всего времени измерений;
- *динамические* — измеряемая величина изменяется во времени.

Примеры статических измерений — измерение длины или массы твердого тела, динамических — измерение скорости автомобиля. Ясно, что химический анализ в большинстве случаев — статическое измерение, поскольку концентрация определяемых веществ в пробе в ходе анализа практически постоянна.

2. По способу получения результатов измерения делят:

- на *прямые*, при которых искомое значение измеряемой величины находят непосредственно из опытных данных;

- *косвенные*, при которых значение величины находят на основании известной зависимости между этой величиной и величинами, получаемыми прямыми измерениями; при косвенных измерениях искомую величину рассчитывают по формуле

$$Q = f(X_1, X_2, \dots, X_n),$$

где Q — искомое значение; $X_1, X_2, \dots, X_n$ — значения величин, измеренных прямым способом; f — знак функциональной зависимости; вид функции $f(X_1, X_2, \dots, X_n)$ либо заведомо известен (например, это какой-либо физический закон), либо его находят экспериментально до выполнения измерения; в последнем случае зависимость $Q = f(X_1, X_2, \dots, X_n)$ называют *градуировочной*, а процесс ее получения — построением градуировочной зависимости, или просто *градуировкой*.

Выделяют и другие менее распространенные виды измерений. Большинство измерений в аналитической химии — косвенные.

21.3.2. Принципы, методы и методики измерений

Принцип измерения — совокупность физических явлений, положенных в основу измерения. Например, явление поглощения монохроматического излучения лежит в основе спектрофотометрического и атомно-абсорбционного метода измерения концентрации вещества; эффект силы тяжести — в основе измерения массы вещества взвешиванием и т. д.

Метод измерений — прием или совокупность приемов сравнения измеряемой физической величины с ее единицей в соответствии с реализованным принципом измерений. Метод измерений обусловлен устройством используемых средств измерений.

Методики выполнения измерений — совокупность операций и правил, выполнение которых обеспечивает получение результатов с известной погрешностью. Обычно методика выполнения измерений регламентируется соответствующим нормативно-техническим документом, предусматривающим требования к выбору средств измерений, процедуру подготовки средств измерений к работе, требования к условиям измерений, проведение измерений с указанием их числа, последовательности, обработку результатов измерений, включая вычисление и введение поправок и способы выражения погрешностей («унифицированные методики»). Термин «методики выполнения измерений» распространяется и на методики количественного химического анализа.

21.3.3. Средства измерений

Средства измерений — технические устройства, предназначенные для измерений, имеющие нормированные метрологические характеристики, воспроизводящие и (или) хранящие единицу физической величины, размер которой принимается неизменным (в пределах установленной погрешности) в течение известного интервала времени.

По назначению различают метрологические и рабочие средства измерений. *Метрологические*, или *образцовые, средства измерений*, как видно из названия, предназначены для метрологических целей — воспроизведения единицы и (или) ее хранения или передачи размера единицы рабочим средствам измерений. С их помощью обеспечивают единство измерений в стране. К ним относятся эталоны, образцовые средства измерений, поверочные установки, средства сравнения (компараторы и др.), стандартные образцы. *Рабочие средства измерений* предназначены для измерений, не связанных с передачей размера единицы другим средствам измерений; к ним, в частности, относятся средства измерений, используемые в аналитических лабораториях.

По конструктивному исполнению различают меры и измерительные приборы. *Мера* — средство измерений, предназначенное для воспроизведения и (или) хранения физической величины обычно одного заданного размера, значение которого выражено в установленных единицах и известно с необходимой точностью. Например, нормальный элемент Вестона — мера электродвижущей силы с номинальным значением 1 В; кварцевый генератор — мера частоты электрических колебаний; $6,02 \cdot 10^{23}$ — мера числа любых частиц (атомов, ионов, молекул), равная 1 молю. Мера выступает в качестве носителя единицы физической величины и служит основой для измерений. При сравнении с ней размера измеряемой величины получают значение этой величины в тех же единицах.

Измерительный прибор — средство измерений, предназначенное для получения значений измеряемой физической величины в установленном диапазоне. Такой прибор имеет устройство для преобразования измеряемой величины в сигнал измерительной информации и его индикации в доступной для восприятия форме. Устройство для индикации обычно имеет шкалу со стрелкой или, например, цифровой указатель. С его помощью может быть проведен отсчет или регистрация значений физической величины. В случае сопряжения прибора с компьютером отсчет можно получить с дисплея или распечатки.

21.3.4. Классификация погрешностей измерений

Одной из основных метрологических характеристик результатов измерений является *погрешность* (определение погрешности см. в гл. 2). Погрешность возникает из-за несовершенства процесса измерений. Поскольку истинное значение измеряемой величины остается неизвестным, на практике можно получить лишь оценку погрешности измерения.

Конкретные причины и характер проявления погрешностей весьма разнообразны. Соответственно их классифицируют по многим критериям.

По способу выражения различают абсолютные и относительные погрешности измерения.

Абсолютная погрешность измерения — погрешность измерения, выраженная в единицах измеряемой величины.

Относительная погрешность измерения — отношение абсолютной погрешности измерения к истинному значению измеряемой величины. Поскольку истинное значение неизвестно, вместо него обычно используют действительное значение измеряемой величины (см. далее).

По характеру проявления различают систематические и случайные погрешности измерения.

Систематическая погрешность измерения — составляющая погрешности измерения, остающаяся постоянной или закономерно изменяющаяся при повторных измерениях одной и той же физической величины. Пример положительной постоянной систематической погрешности в аналитической химии — отличное от нуля значение холостого опыта. Погрешности метода измерений — *теоретические* — обусловлены несовершенством принятого метода измерений. Они являются следствием упрощенных представлений явлений и эффектов, лежащих в основе измерений. *Субъективные погрешности измерений* обусловлены индивидуальными особенностями оператора. Систематические погрешности характеризуют правильностью.

Случайная погрешность измерения — составляющая погрешности измерения, изменяющаяся случайным образом (по знаку и значению) при повторных измерениях одной и той же величины. Случайные погрешности — это погрешности, в появлении каждой из которых не наблюдается какой-либо закономерности. Они неизбежны, неустранимы и всегда присутствуют в результате измерений, вызывают рассеяние результатов при многократном измерении одной и той же величины при неизменных условиях, вызывая различие их в значащих цифрах. Общий термин для случайной погрешности в настоящее время — *прецизионность*.

21.4. Эталоны физических величин

Для обеспечения единства измерений необходимо обеспечить тождественность единиц, в которых проградуированы все средства измерений одной и той же физической величины. Это достигается путем точного воспроизведения, хранения установленных единиц физических величин и передачи их размеров средствам измерений посредством эталонов и образцовых средств измерений.

Эталон единицы величины — средство измерений, предназначенное для воспроизведения и хранения единицы величины (либо кратных, либо дольных значений единицы величины), для передачи ее размера другим средствам измерений данной величины. Эталоны единиц, признанные решением уполномоченного на то государственного органа в качестве исходных на территории Российской Федерации, называют *государственными*.

Если эталон воспроизводит единицу величины с наивысшей в стране точностью, его называют *первичным*. Как правило, государственные эталоны являются первичными. Первичные эталоны основных единиц воспроизводят эти единицы в соответствии с их определением.

Передача размеров единиц от эталонов образцовым и рабочим средствам измерений осуществляется посредством образцовых (метрологических) средств измерений.

Образцовые средства измерений — это меры или измерительные приборы, предназначенные для поверки и градуировки по ним других средств измерений и утвержденные в качестве образцовых в установленном порядке. Аттестовать и применять меры и измерительные приборы в качестве образцовых могут лишь органы государственной метрологической службы.

В самом общем виде метрологическая цепь передачи размеров единиц показана на рис. 21.1.

Передача размеров идет сверху вниз: от первичного эталона к рабочим эталонам, от рабочих эталонов к образцовым мерам и измерительным приборам 1-го разряда и т.д. В соответствии с принципом пренебрежения малыми погрешностями (см. подразд. 2.3) погрешность вышележащего средства измерений должна быть в три (или более) раза меньше погрешности нижележащих. Рабочие меры и измерительные приборы поверяют по образцовым средствам измерений, имеющим соответствующую точность. Передача размера осуществляется в основном путем поверок (см. далее). Все образцовые средства измерений подлежат обязательной поверке в сроки, устанавливаемые правилами Государственной системы обеспечения единства измерений.

Показанная на рис. 21.1 метрологическая цепь передачи размеров используется лишь для нескольких физических величин. В других случаях число ступеней в иерархии может быть существенно меньшим.

Зачастую корректная цепь передачи размеров вообще не может быть построена. Так обстоит дело, например, с количественным химическим анализом (см. далее).

Номинальное значение для образцовых мер, включенных в систему передачи размера, называют *условно истинным значением*. Если значение полу-

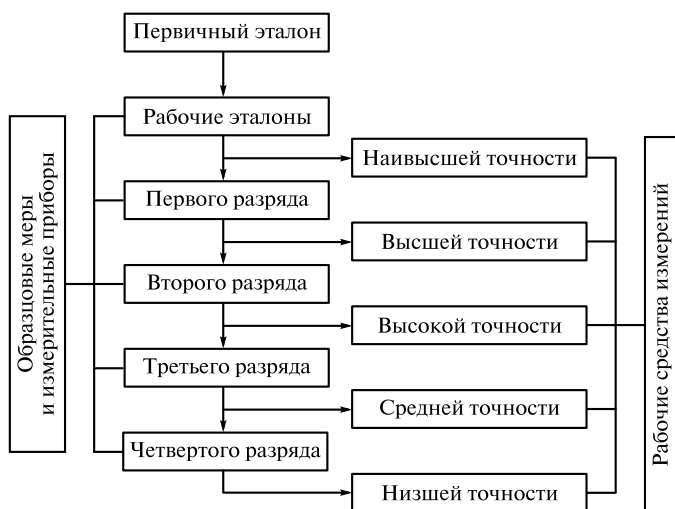


Рис. 21.1. Схема передачи размера от первичного эталона к образцовым и рабочим средствам измерений

чают другими способами (например, для стандартных образцов путем усреднения результатов межлабораторного эксперимента), используют термин *принятое опорное значение*, или просто — *опорное значение*.

21.5. Метрологические характеристики средств измерений

Измерения проводят в условиях, при которых все значения влияющих величин поддерживают в пределах, не выходящих за границы их номинальных значений. Такие условия называют *нормальными*. Они устанавливаются в нормативно-технических документах на средства измерений конкретного вида или при их поверке. При большинстве измерений нормируют нормальное значение температуры (в одних случаях это 20 °С, в других — 25 °С). Так, для выпускаемых промышленно нормальных гальванических элементов нормированное значение их электродвижущей силы относится к температуре 20 °С. На нормальное значение обычно рассчитана основная погрешность средства измерений; к нему приводят результаты многих измерений, выполненных в разных условиях.

Область значений влияющей величины, в пределах которой изменением результата измерений под ее воздействием можно пренебречь в соответствии с установленными нормами точности, называют *нормальной областью значений влияющей величины (нормальной областью)*.

Область значений влияющей величины, в пределах которой нормируют дополнительную погрешность или изменение показаний средства измерений, называют *рабочей областью значений влияющей величины (рабочей областью)*.

Условия измерений, когда измеряемая и влияющая величины принимают экстремальные значения, при которых средство измерений еще может работать без ухудшения его метрологических характеристик, называют *предельными условиями измерения*.

Метрологическими характеристиками средств измерений называют их технические характеристики, влияющие на результаты и погрешности измерений. Для каждого средства измерений комплекс этих характеристик выбирают и нормируют таким образом, чтобы с их помощью можно было бы оценить погрешность измерений.

Рассмотрим основные метрологические характеристики средств измерений.

- *Статическая характеристика преобразования* (функция преобразования, градуировочная характеристика) представляет собой зависимость выходного сигнала y от входного сигнала x вида: $y = f(x)$.

Эту характеристику задают (нормируют) в форме уравнения, графика или таблицы и официально приписывают данному средству измерений в диапазоне измерений.

Величину

$$f'(x) = dy/dx$$

называют *чувствительностью* статической характеристики преобразования.

Статическую характеристику преобразования вида $y = Kx$ называют *линейной*; в этом случае чувствительность равна K .

• *Цена деления* — важнейшая характеристика для приборов со шкалой. Для цифровых приборов роль цены деления играет цена единицы младшего разряда числа в показании прибора. В случае если чувствительность постоянна в каждой точке диапазона измерений, шкалу называют равномерной.

• *Погрешность* — это важнейшая характеристика средства измерений. В соответствии с определениями, данными выше, различают абсолютную и относительную погрешности.

Абсолютная погрешность Δx для меры есть разность между ее номинальным x_n и действительным x_d значениями:

$$\Delta x = x_n - x_d. \quad (21.2)$$

Абсолютная погрешность Δx для измерительного прибора есть разность между его показанием x_n и действительным значением x_d измеряемой величины:

$$\Delta x = x_n - x_d. \quad (21.3)$$

Относительная погрешность δ средства измерений представляет собой отношение абсолютной погрешности Δx к действительному значению. Относительную погрешность обычно выражают в процентах:

$$\delta = (\Delta x / x_d) 100 \%. \quad (21.4)$$

Поскольку почти всегда $\delta \ll 1$, полагают $x_n \approx x_d$:

$$\delta \approx (\Delta x / x_n) 100 \%. \quad (21.5)$$

Нормирование метрологических характеристик средств измерений. *Нормирование* — установление границ допустимых отклонений реальных метрологических характеристик средств измерений от их номинальных значений. Нормы устанавливаются соответствующими стандартами. Реальные значения метрологических характеристик средств измерений определяют при их изготовлении, а также в ходе поверок, и в случае неудовлетворительности хотя бы одной из них средство измерений регулируют или изымают. Нормируют как метрологические характеристики средств измерений, так и условия, в которых они эксплуатируются — условия применения (например, температуру или давление атмосферного воздуха).

Суммарная погрешность $\Delta_{\text{сум}}$ в нормальных условиях называется *основной погрешностью* и нормируется заданием предела Δ_d . Часто отдельно нормируют систематическую Δ_c и случайную Δ_0 составляющие погрешности.

Класс точности средств измерений. *Класс точности* — обобщенная характеристика средств измерений, определяемая пределами допускаемых основных и дополнительных погрешностей, а также другими свойствами средств измерений, влияющими на точность осуществляемых с их помощью измерений. Классы точности устанавливают для средств измерений, для которых систематические и случайные погрешности не нормируют отдельно.

Способ обозначения класса точности средств измерений определяется способом задания пределов допустимой основной погрешности. Обычно это делается в виде приведенной или относительной погрешности.

Пределы допустимой приведенной основной погрешности нормируют следующим образом:

$$\gamma = \Delta/x_N = \pm p, \quad (21.6)$$

где x_N — нормирующее значение; p — число ряда

$$1 \cdot 10^n; 1,5 \cdot 10^n; 2 \cdot 10^n; 2,5 \cdot 10^n; 3 \cdot 10^n; 4 \cdot 10^n; 5 \cdot 10^n; \dots;$$

$$n = \dots, -2, -1, 0, 1, 2 \dots$$

Если точность средства измерений нормируется по формуле (21.6), то обозначение его класса точности выглядит просто как число из приведенного выше ряда, выраженное в процентах. Например, если $\gamma = \pm 0,005$, то будет написано 0,5. Приведенная основная погрешность используется в случаях, когда диапазон измерения прибора охватывает и нулевое значение, и равна отношению абсолютной погрешности прибора к нормирующему значению x_N . Значение x_N указывается в документации к прибору.

Пределы допустимой для данного средства измерений относительной основной погрешности δ могут нормироваться формулой

$$\delta = \Delta/x = \pm q, \quad (21.7)$$

либо формулой

$$\delta = \frac{\Delta}{x} = \pm \left[c + d \left(\left| \frac{x_k}{x} \right| - 1 \right) \right], \quad (21.8)$$

где x — результат измерения; x_k — конечное значение диапазона измерений; q, c, d — числа из приведенного выше ряда (21.6).

В случае использования одночленной формулы (21.7) класс точности средства измерений записывают в виде значения q , выраженного в процентах, расположенного внутри окружности. Например, при $\delta = 0,005$ запись выглядит так:

$$\textcircled{0,5}$$

При использовании формулы (21.8) класс точности средства измерений записывают в виде дроби c/d , причем значения c и d выбирают из ряда (21.6) и выражают в процентах. Например, если основная погрешность равна

$$\delta = \pm \left[0,004 + 0,0001 \left(\left| \frac{x_k}{x} \right| - 1 \right) \right],$$

то класс точности будет записан так: 0,4/0,01.

Другие способы обозначения класса точности крайне редки.

Способы проверки средств измерений. Проверка средства измерений — совокупность операций, выполняемых с целью определения и подтверждения соответствия средства измерений установленным техническим требованиям. Существует несколько способов проверки, различающихся для мер и измерительных приборов.

Меры могут быть поверены путем:

- сличения с более точной, чем поверяемая, образцовой мерой с помощью компарирующего прибора (устройства);

- измерения величины, воспроизводимой поверяемой мерой, измерительными приборами соответствующего разряда и класса точности («градуировка мер»).

Измерительные приборы поверяют следующими способами:

- измеряя с их помощью величины, воспроизводимые образцовыми мерами соответствующего разряда или класса точности; обычно при этом значения измеряемой величины выбирают равными соответствующим отметкам шкалы прибора, и основная погрешность равна наибольшей разности между результатом измерения и размером меры;

- измеряя поверяемым и образцовым приборами одну и ту же величину (величины), причем погрешность поверяемого прибора определяется разностью показаний поверяемого и образцового приборов.

Поверки проводятся органами, включенными в Государственную метрологическую службу Российской Федерации.

21.6. Метрология количественного химического анализа

Конечной фазой количественного химического анализа (КХА) практически всегда является прямое измерение физической величины: массы при весовом анализе, оптических величин при спектральном анализе, электрических величин при использовании электрохимических методов и т.д. Однако это измерение не вносит, как правило, существенного вклада в общую погрешность результата анализа. Последняя в основном определяется другими этапами анализа — процедурами пробоотбора, пробоподготовки, перевода определяемого вещества в аналитическую форму, т.е. теми стадиями, которые и делают измерение собственно анализом. Поэтому в большинстве случаев результат анализа рассчитывают по эмпирической градуировочной зависимости, связывающей аналитический сигнал — результат измерения физической величины (величин) или функцию таких результатов — с концентрацией или количеством вещества образца (образцов) сравнения. Например, концентрацию C определяемого вещества в растворе методом спектрофотометрии (см. гл. 8) находят либо на основании уравнения $C = A/(\epsilon l)$ (ϵ — коэффициент молярного поглощения, л · моль⁻¹ · см⁻¹; l — толщина поглощающего слоя, см), либо с помощью градуировочной зависимости оптической плотности A от концентрации C . Отсюда ясно, что КХА обычно представляет собой косвенное измерение.

Другой особенностью КХА является большая роль человеческого фактора, поскольку результаты многих важных этапов химического анализа (пробоотбор, дозирование реактивов, перемешивание смесей веществ и т.д.) прямо зависят от квалификации, степени ответственности и настроения выполняющего эти процедуры сотрудника. Известно, что для удовлетворительного выполнения многих видов анализа необходимы лаборанты, не только прошедшие соответствующее обучение, но и имеющие стаж подобной работы. Более того, встречаются люди, вообще неспособные достичь нужного уровня. Поэтому столь большое значение придается процедурам внутрилабораторного контроля, внешней оценке качества результатов анализа, аккредитации лабо-

раторий, а при обработке результатов КХА — грубым погрешностям измерений.

И, наконец, еще один определяющий метрологию химического анализа фактор — наличие в большинстве методов количественного химического анализа объектов сложного состава так называемых *скрытых (невывявленных) систематических погрешностей*. Это — разновидность систематических погрешностей, которые по тем или иным причинам не могут быть выявлены и скорректированы в ходе или по окончании измерений.

Возникает вопрос: возможна ли корректная передача размера в КХА. Для решения вопроса о возможности построения для КХА схемы передачи размера, подобной показанной на рис. 21.1, необходимо уточнить ряд моментов:

- 1) что может выступать первичным эталоном при анализе вещества;
- 2) что представляют собой образцовые меры в КХА;
- 3) что есть средства измерений в КХА.

Сформулируем ответы на поставленные вопросы.

1. Моль — единица количества вещества — количество вещества системы, содержащее столько же структурных элементов (атомов, молекул, ионов и т.д.), сколько атомов содержится в 0,12 кг изотопа углерода ^{12}C . Из этого определения ясно, что единый эталон моля не существует — задано лишь число структурных элементов (при КХА — обычно атомов или молекул) в одном моле. Тем не менее выход существует.

Для воспроизведения размера моля какого-либо вещества в качестве эталона может служить навеска образца этого вещества достаточно высокой чистоты. Достаточно, чтобы вещество было стабильным при хранении — этому условию удовлетворяет большинство известных веществ. Для нестабильных веществ приходится искать обходные пути.

Современные методы измерения атомной и молекулярной массы (в частности, масс-спектрометрия) позволяют очень точно устанавливать атомную (молекулярную) массу веществ. Как результат, атомные массы элементов, выраженные в единицах системы СИ, известны с очень малой погрешностью. Формулы химических соединений чаще всего хорошо известны, поэтому при достаточно высокой чистоте индивидуального вещества размер моля оказывается воспроизведенным при взятии навески. Если формула соединения неизвестна (такова, в частности, ситуация для многих белков), в качестве эталона по общему согласию используют образец, получаемый по определенной, строго заданной технологии.

2. В качестве меры низшего уровня логично использовать навески стандартных образцов веществ, близких по составу и свойствам к анализируемым пробам. Это связано с тем, что большинство используемых на практике методов анализа имеют скрытые систематические погрешности, зависящие от состава и свойств анализируемых объектов. Кроме того, в развитой иерархии эталонов, подобной показанной на рис. 21.1, нет необходимости, поскольку погрешности, связанные с неопределенностью состава чистого вещества, не намного меньше погрешностей рутинных методов анализа.

3. Погрешности средств измерений не играют определяющей роли в измерении концентрации, а их сумма не определяет полностью погрешность химического анализа. Роль средства измерения при КХА играет методика выполнения анализа в целом. Очевидно, для передачи размера моля от стандарт-

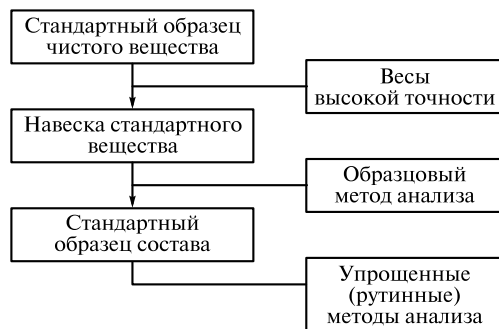


Рис. 21.2. Схема воспроизведения и передачи размера моля в отсутствие скрытых систематических погрешностей переменной

ного образца чистого вещества к рабочей мере (стандартному образцу сложного состава) необходима образцовая методика выполнения измерений, общая погрешность которой была бы мала по сравнению с требуемой погрешностью аттестации этого образца.

С учетом всего сказанного схема передачи размера для КХА, аналогичная показанной на рис. 21.1, представлена на рис. 21.2.

Эта схема действительно пригодна для некоторых видов химического анализа. В качестве примера приведем схему передачи размера при определении содержания холестерина в сыворотке крови человека, реализованную Национальным институтом стандартов и технологий США. В качестве эталона моля холестерина используется навеска стандартного образца холестерина 909, имеющего содержание основного вещества более 99,7 %. На более низком уровне находится стандартный образец 914, представляющий собой специальным образом стабилизированную и расфасованную по флаконам сыворотку крови человека. Для передачи размера к стандартному образцу 914 в качестве средства измерений используют очень точный (общая относительная погрешность менее 1 %) метод определения холестерина с помощью масс-спектрометрии с изотопным разбавлением, который градуируют по стандартному образцу 909. Образец 914 используют для оценки погрешностей более простых и дешевых методов определения холестерина.

Такая схема более или менее корректна с точки зрения классической метрологии, но редко используется на практике. Основные причины этого следующие:

- образцовый метод анализа для передачи размера моля стандартным образцам сложного состава с нужной точностью чаще всего отсутствует;
- если образцовый метод анализа существует, его использование обычно очень дорого; это видно из нашего примера: одно измерение методом масс-спектрометрии с изотопным разбавлением стоит несколько тысяч долларов;
- передача размера по классической схеме зачастую вообще не имеет смысла, поскольку рутинные методы анализа имеют скрытые систематические погрешности, искажающие результаты анализа конкретного стандартного образца.

Таким образом, КХА представляет собой весьма специфический вид измерений. Поэтому для обеспечения качества КХА используют методы и при-

емы, не применяемые совсем или применяемые крайне редко при других видах измерений.

21.7. Методы обеспечения качества результатов химического анализа

21.7.1. Общие положения

Качество КХА можно определить как состояние аналитического процесса, при котором потребитель результатов (заказчик анализа) уверен, что погрешность анализа соответствует установленным нормам или требованиям заказчика с известным уровнем доверия. Из этого определения следует, что обеспечение качества затрагивает практически все аспекты деятельности лабораторий, выполняющих КХА.

В целом можно условно установить соответствие между метрологией «классических» средств измерений (предназначенных для измерения физических величин) и методик КХА (табл. 21.1).

Каждому пункту левого столбца табл. 21.1 соответствует пункт в правом. Исключение составляют процедуры проверки приемлемости и контроля стабильности анализа (см. подразд. 2.5), которые, впрочем, могут рассматриваться как часть самой процедуры КХА. Таким образом, методику КХА можно условно рассматривать как особое средство измерений, специфика которого определяется особенностями химического анализа. Далее рассматриваются ос-

Таблица 21.1

Соответствие между метрологией «классических» средств измерений (предназначенных для измерения физических величин) и методик количественного химического анализа

«Классические» средства измерений	Методики КХА
Разработка	Разработка
Нормирование	Исследование метрологических характеристик и нормирование
Утверждение типа средств измерений	Аттестация
Изготовление серийного экземпляра средства измерений	Постановка методики КХА в конкретной лаборатории
Первичная поверка	Оценка метрологических характеристик методики в конкретной лаборатории
—	Проверка приемлемости и контроль стабильности
Периодическая поверка	Внешняя оценка качества, аккредитация и инспекционный контроль лабораторий

новные аспекты обеспечения качества КХА. Основным инструментом метрологии КХА — образцы сравнения и стандартные образцы.

21.7.2. Образцы сравнения и стандартные образцы

Стандартные образцы — важнейшее средство обеспечения качества количественного химического анализа. Они являются частным случаем образцов сравнения.

Образцы сравнения — это вещества, используемые для обеспечения качества измерений (градуировка, аттестация методик, оценка статистических характеристик измерительного процесса, внутрилабораторный контроль качества, внешняя оценка качества и т.д.). В аналитической химии используют образцы сравнения (и стандартные образцы; см. далее) состава веществ, содержание определяемых веществ в которых известно. Обычные пробы, ради исследования которых и проводится анализ, будем называть *рутинными*.

Образцы сравнения можно условно разделить на образцы сравнения простого и сложного состава.

Под *образцами сравнения простого состава* понимают чистые вещества и их растворы.

Образцами сравнения сложного состава называют многокомпонентные образцы, приближенные по составу и свойствам к рутинным пробам. Их готовят на основе веществ одной природы с рутинными пробам.

Для удобства использования образцы сравнения делят на экземпляры (расфасовывают во флаконы, ампулы и т.д.). Образец сравнения может существовать в единственном экземпляре или в нескольких экземплярах, однако для удобства использования чаще изготавливают большее их число; максимальное число экземпляров одного образца сравнения может достигать нескольких десятков и даже сотен тысяч.

Общие требования, предъявляемые к образцам сравнения, — стабильность и однородность. Для многих образцов сравнения требуется также адекватность исследуемым рутинным пробам.

Стабильность образцов сравнения состоит в том, что изменение определяемых показателей (концентрации определяемых веществ, включая форму их вхождения, если она влияет на результат анализа) от момента аттестации до момента использования должно быть мало по сравнению с погрешностью образца сравнения.

Для обеспечения стабильности образцов сравнения часто нужна специальная обработка. Так, в растворы органических веществ добавляют вещества, препятствующие их окислению и имеющие бактерицидные свойства (например, растворы глюкозы стабилизируют бензойной кислотой). Жидкости во избежание испарения герметично укупоривают (например, запаивают в ампулы), а емкости с порошкообразными образцами плотно закрывают крышками для предотвращения загрязнения. Нестабильные образцы хранят или пересылают при пониженной температуре, запаивают в ампулы, заполненные инертным газом, лиофилизируют и т.д.

Стабильность образцов сравнения обычно выражают в форме срока их годности — времени, в течение которого погрешность, связанная с нестабильностью, не превышает допустимого значения.

Однородность (гомогенность) образцов сравнения есть свойство, которое выражается в постоянстве концентрации определяемых веществ в любой части образца; при этом концентрация должна быть измерена методами, для обеспечения качества которых предназначен образец. Характеризуют неоднородность степенью отклонения от однородного состояния, которую рассматривают как случайную величину. Характеристикой неоднородности является стандартное отклонение неоднородности.

Необходимая однородность гетерофазных образцов сравнения (обычно это образцы сравнения сложного состава) достигается тщательным измельчением и последующим перемешиванием исходного материала. Требуется как однородность в пределах каждого экземпляра образца сравнения, так и между ними.

Адекватности требуют обычно от образцов сравнения сложного состава, и заключается она в том, что с точки зрения анализа образцы должны быть близки к рутинным пробам. Такое определение не является строгим, поскольку в реальности анализируется множество отличающихся друг от друга рутинных проб.

По назначению можно выделить следующие виды образцов сравнения:

- образцы для оценки точности анализа;
- градуировочные образцы.

Бывают и другие виды образцов сравнения (образцы-добавки, суррогаты и пр.).

Образцы для оценки точности анализа составляют большинство образцов сравнения. По результатам их исследования судят о правильности (а иногда и о прецизионности) анализа.

Градуировочные образцы используют при построении градуировочной характеристики.

Образцы сравнения, утвержденные (рекомендованные к использованию) официальными организациями, называют *стандартными образцами состава*, или просто — *стандартными образцами*. Стандартные образцы сложного состава называют также *стандартными образцами состава сложных матриц*.

По уровню признания можно выделить (в порядке уменьшения ранга) определенные категории стандартных образцов.

- *Международные* или *национальные стандартные образцы* вместе с документацией утверждаются (рекомендуются к использованию) международными или государственными организациями. При этом международные стандартные образцы могут разрабатываться как самими этими организациями, так и другими — важен лишь уровень их признания. Авторитет международного или национального стандартного образца определяется авторитетом утвердившей его организации.

- *Фирменные стандартные образцы* разрабатываются и производятся специализирующейся на их производстве фирмой (организацией). Подобный статус имеют до сих пор выпускаемые в России *ведомственные стандартные образцы*.

- *Внутренние стандартные образцы* утверждаются на уровне предприятия или лаборатории. Их применяют в случае отсутствия нужного стандартного образца более высокого уровня или из экономии. Стандартные образцы, утверждаемые на уровне предприятий, в России называют *стандартными образцами предприятий*.

При создании стандартных образцов можно выделить три стадии: разработка, исследование и утверждение. Последние две стадии часто рассматривают вместе, называя это *аттестацией стандартных образцов*.

На стадии разработки определяют требования к будущему стандартному образцу: назначение, состав, уровень признания (категория), требования к однородности, стабильности, погрешности установления содержания определяемых веществ и т.д. Далее разрабатывают и реализуют технологию приготовления стандартного образца, позволяющую достичь требуемых характеристик. Разработка стандартных образцов (особенно сложного состава) является областью высоких технологий. Стоимость разработки, а во многих случаях и производства стандартных образцов очень высока, что обуславливает высокие цены на них.

Разработке подлежит тип стандартного образца, т.е. технология приготовления стандартных образцов из одних и тех же веществ и способ определения содержания определяемых веществ. В дальнейшем по этой технологии изготавливают стандартные образцы данного типа.

Исследование стандартного образца может проводиться как в ходе разработки типа стандартного образца, так и при изготовлении нового стандартного образца данного типа. Обычно исследование включает оценку стабильности и неоднородности стандартного образца, а также установление среднего содержания определяемого вещества (веществ). Результатом исследования является установление содержания определяемого вещества (веществ) в стандартном образце, доверительный интервал для этой величины, срок хранения и другие метрологические характеристики стандартного образца.

Утверждение (признание) стандартного образца есть юридическая процедура, в ходе которой ему придают официальный статус.

Погрешность стандартных образцов. Базовым требованием, предъявляемым к стандартному образцу, является ограничение общей допустимой (нормируемой) погрешности $\Delta_{с.о.}$, с которой известна концентрация (концентрации) определяемого вещества (веществ) в нем.

Согласно законам метрологии погрешность $\Delta_{с.о.}$ должна быть мала по сравнению с погрешностями методики КХА Δ_d , для контроля или градуировки которых предназначен стандартный образец:

$$\Delta_{с.о.} \leq 0,3\Delta_d, \quad (21.9)$$

где Δ_d — нормируемая погрешность методики химического анализа.

Это очень жесткое и не всегда выполнимое требование. Действительно, при относительной погрешности методики $\pm 6\%$ относительная погрешность стандартного образца не должна превышать $\pm 2\%$, и это включая все компоненты погрешности: погрешность определения концентрации; погрешности, связанные с неоднородностью, нестабильностью, неадекватностью и т.д.

Обычно принимают, что различные источники погрешности независимы, тогда:

$$\Delta_{с.о.}^2 = \xi_h^2 + \xi_a^2 + \xi_s^2, \quad (21.10)$$

где ξ_h^2 определяется неоднородностью стандартного образца, ξ_a^2 — его нестабильностью, ξ_s^2 — погрешностью установления средней концентрации определяемого вещества в стандартном образце.

Максимально допустимые частные погрешности ξ_h^2 , ξ_a^2 , ξ_s^2 выбирают так, чтобы их сумма — общая погрешность — не превышала заданное значение. Однако если какая-либо частная погрешность не может быть уменьшена до требуемого значения, мирятся с увеличением общей погрешности. Другими словами, в случае невозможности выполнения требования (21.9) добиваются минимальной по техническим и экономическим соображениям погрешности $\Delta_{c.o.}$. Некоторые способы оценки составляющих погрешности приведены далее.

Адекватность стандартных образцов. Важнейшим требованием, предъявляемым к стандартным образцам сложного состава, является их адекватность исследуемым пробам. Погрешность, связанная с неадекватностью, определяется, с одной стороны, наличием скрытых систематических погрешностей метода анализа (т.е. зависимостью погрешности анализа от состава и свойств исследуемых проб; см. выше) и, с другой стороны, различиями в составе рутинных проб и стандартного образца. Таким образом, говорить об адекватности стандартного образца вообще бессмысленно — можно говорить только об адекватности стандартного образца при использовании конкретной аналитической методики (метода) анализа.

Предположим, что для рутинного метода справедлива следующая зависимость:

$$\Delta_c = f(C_1, C_2, \dots, C_j, \dots, C_k) = f(C_j), \quad (21.11)$$

где Δ_c — систематическая погрешность анализа; C_j — содержание j -х мешающих компонентов.

Обозначим концентрации мешающих компонентов в i -й рутинной пробе символом $C_{i,j}$, в стандартном образце — $C_{c.o,j}$. Тогда для систематической погрешности, определяемой матричными эффектами, для i -й рутинной пробы будет выполняться зависимость

$$\Delta_i = f(C_{i,j}), \quad (21.12)$$

для стандартного образца:

$$\Delta_{c.o} = f(C_{c.o,j}), \quad (21.13)$$

На практике каждый стандартный образец предназначен для оценки правильности либо для градуировки при анализе некоторой совокупности рутинных проб с различными значениями $C_{i,j}$. На рис. 21.3 показано распределение всех значений Δ_i для этой совокупности рутинных проб (оно предполагается нормальным) и значение $\Delta_{c.o}$. Примерно 95 % всех значений Δ_i лежит в интервале (Δ_n, Δ_b) , где $\Delta_n = \bar{\Delta}_i - 2s(\Delta_i)$; $\Delta_b = \bar{\Delta}_i + 2s(\Delta_i)$; $\bar{\Delta}_i = \sum_i \Delta_i / I$; I — число рутинных проб; $s(\Delta_i)$ — стандартное отклонение значений Δ_i :

$$s(\Delta_i) = \sqrt{\frac{\sum_i (\Delta_i - \bar{\Delta}_i)^2}{I - 1}}.$$

В качестве меры адекватности (неадекватности) стандартного образца естественно принять величину МА, представляющую собой максимальную (по абсолютной величине) разность из двух:

$$MA = \max\{|\Delta_n - \Delta_{c.o}|, |\Delta_b - \Delta_{c.o}|\}. \quad (21.14)$$

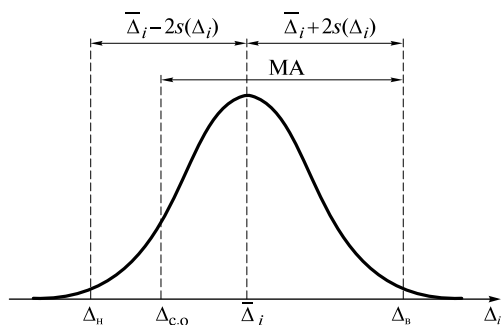


Рис. 21.3. Распределение значений Δ_i для совокупности рутинных проб

Пример оценки неадекватности приведен в подразд. 21.8. Можно сказать, что стандартный образец адекватен рутинным пробам, если

$$MA < \frac{1}{3} \Delta_{c.o.} \quad (21.15)$$

Понятие адекватности тесно связано с понятиями селективности и специфичности методик КХА.

На практике в большинстве случаев неизвестен не только вид функции (21.11), но и концентрации мешающих компонентов C_j . Это особенно справедливо при анализе объектов сложного состава и использовании недорогих, упрощенных методик анализа (скрытые систематические погрешности). В таких случаях требования к природе и составу стандартных образцов формулируют либо на основе опыта и интуитивных соображений, либо исходя из имеющихся возможностей*.

Установление опорного значения концентрации вещества в стандартных образцах. Однородное, стабильное и адекватное вещество становится стандартным образцом только после того, как ему приписано (принятое) *опорное значение* концентрации определяемого вещества (веществ), часто называемое *аттестованным значением* концентрации. Для этого используют разные способы.

По *процедуре приготовления* опорное значение концентрации оценивают, если стандартный образец готовят смешиванием (растворением, сплавлением) двух или нескольких компонентов и когда нет оснований опасаться неадекватности стандартных образцов. Типичный случай — стандартные образцы водных растворов солей металлов, широко применяемые для градуировки методик и контроля точности определения концентрации ионов металлов в воде. Состав стандартного образца рассчитывают исходя из концентрации веществ в смешиваемых компонентах и пропорций, в которых они смешиваются. Погрешность концентрации каждого определяемого вещества рассчитывают как сумму погрешностей этапов приготовления (например, погрешность дозирования компонентов) в соответствии с подразд. 2.3.

* О способах оценки однородности и стабильности стандартных образцов подробнее см.: Дворкин В.И. Метрология и обеспечение качества количественного химического анализа. — М.: Химия, 2001.

Остальные способы связаны с анализом стандартного образца.

Анализ в образцовой лаборатории, как следует из названия, состоит в том, что стандартный образец анализируют (обычно многократно) в одной лаборатории. Опорное значение концентрации и его погрешность устанавливают как среднее результатов этих измерений (после исключения «выбросов») и погрешность этого среднего. Такой способ для КХА используют в исключительных случаях. Это связано со сложностью процедур химического анализа и, как следствие, с наличием межлабораторных погрешностей: одни и те же методики при реализации в разных лабораториях дают отличающиеся между собой результаты. Исключение составляют уникальные методики, имеющие малые систематические погрешности.

Наиболее распространенный способ установления опорного значения концентрации определяемых веществ в стандартном образце — *межлабораторный эксперимент*, состоящий в том, что стандартный образец анализируют в возможно большем числе лабораторий. Результаты — среднее значение и доверительный интервал для него — после исключения грубых промахов рассматривают в качестве принятого опорного значения характеристик стандартного образца. Основное предположение, на котором основано использование данного способа, — разнонаправленность погрешностей в разных лабораториях. Межлабораторные погрешности, являющиеся систематическими для каждой лаборатории, если они независимы, при межлабораторном эксперименте оказываются случайными и усредняются. Грубо говоря, предполагается, что все не могут ошибаться «в одну сторону».

Кроме образцов сравнения и стандартных образцов там, где это возможно, из экономии часто используют *контрольные материалы* — однородные и стабильные (в течение времени их использования) образцы, адекватные рутинным пробам, но не имеющие принятого опорного значения концентрации.

21.8. Исследование и аттестация методик количественного химического анализа

Как правило, к использованию допускают лишь аттестованные методики КХА. Методику исследуют, оценивают ее метрологические характеристики и аттестуют. При этом оценивают правильность методики, компоненты прецизионности — повторяемость (сходимость), воспроизводимость (см. гл. 2), вид градуировочной характеристики, предел обнаружения и т.д. Обычно исследуют также робастность (свойство методики КХА, характеризующее ее устойчивость к изменениям условий измерений), селективность и специфичность, выражающие степень влияния веществ матрицы пробы на результаты анализа по данной методике.

Предел обнаружения методики. *Предел обнаружения методики* КХА есть минимальное значение концентрации, которое может быть с уверенностью обнаружено (с вероятностью P) при использовании минимального (статистически) значимого сигнала как порогового значения. При этом последнее понимают как минимальное статистически значимое значение чистого сигнала, который может быть зарегистрирован с вероятностью P .

Рассмотрим способы оценки предела обнаружения для случая линейной градуировочной характеристики вида

$$A = a + bC. \quad (21.16)$$

Вначале строят градуировочную характеристику и оценивают коэффициенты a , b , а также стандартные отклонения s_a , s_b , s_0 (обычно методом наименьших квадратов; см. подразд. 2.4). Рассчитывают также коэффициент линейной корреляции r между результатами измерений A и C .

Определяют минимально значимый «чистый» аналитический сигнал S_c по формуле

$$S_c = t(\bar{P}, f) s_{ac}, \quad (21.17)$$

где $t(\bar{P}, f)$ — процентная точка распределения Стьюдента, соответствующая доверительной вероятности $\bar{P}$ (чаще всего принимают $\bar{P} = 0,99$) и числу степеней свободы f , равному числу измерений за вычетом единицы; $s_{ac} = \sqrt{s_a^2 + s_0^2}$.

Предел обнаружения определяемого вещества C_D рассчитывают по формуле

$$C_D = 2 \frac{S_c}{b} \frac{(1 + r(A, C)(s_a/s_{ac})t(\bar{P}, f)(s_b/b))}{1 - t(\bar{P}, f)(s_b/b)^2}. \quad (21.18)$$

Предел обнаружения обязательно должен сопровождаться указанием доверительной вероятности.

Часто предел обнаружения C_D оценивают по более простой формуле

$$C_D = C_0 + k s_0, \quad (21.19)$$

где C_0 — поправка холостого опыта, соответствующая концентрации, измеряемой в отсутствие определяемого вещества в пробе; k — коэффициент, определяющий доверительную вероятность; s_0 — стандартное отклонение результатов измерений при концентрации, близкой к пределу обнаружения.

Если число измерений при оценке s_0 достаточно велико (10–12 или более), то в предположении о нормальном распределении результатов $k = 2$ соответствует $\bar{P} \approx 0,95$; $k = 3$ — $\bar{P} \approx 0,998$ и т.д. При этом часто используют следующую форму записи: «предел обнаружения методики, рассчитанный по 3s-критерию (при $k = 3$) составляет...».

Пределы обнаружения, рассчитанные описанными выше способами, не слишком отличаются друг от друга.

Правильность методики. Для характеристики правильности методики КХА используют оценки полной систематической погрешности $\Delta_{с,полн}$. Для нахождения таких оценок необходимо иметь «точку отсчета» — опорное значение концентрации определяемого вещества в образце. В зависимости от природы анализируемых проб и особенностей методики КХА используют разные способы проверки правильности.

При наличии адекватных стандартных образцов (или образцов сравнения) проводят несколько (I) параллельных измерений (обозначим их результаты C_i) и рассчитывают среднее значение $\bar{C}$ и стандартное отклонение s для каждого образца. Далее для каждого образца проверяют гипотезу $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu$,

где μ_1 — математическое ожидание концентрации определяемого вещества в образце, измеренное исследуемым методом; μ_2 — аттестованное (условно истинное или опорное) значение; фактически это гипотеза об отсутствии систематической погрешности (см. подразд. 2.2). Полагают распределение результатов измерений нормальным, а распределение погрешности аттестованного значения C_a образца сравнения считают равномерным в интервале $(C_a \pm \Delta C)$, где ΔC — погрешность измерения C_a . В этом случае величина

$$t = |\bar{C} - C_a| / \sqrt{\frac{s^2}{I} + \frac{(\Delta C)^2}{3}} \quad (21.20)$$

имеет распределение Стьюдента с числом степеней свободы $f = I - 1$. Если $t > t(\bar{P}, f)$ при выбранном уровне доверительной вероятности $\bar{P}$ (обычно $\bar{P} = 0,975$ для двустороннего критерия), то гипотезу H_0 отвергают, что означает наличие систематической составляющей погрешности для данного образца. В этом случае находят оценку полной систематической погрешности $(\bar{C} - C_a)$. Проведя такие измерения для образцов с концентрацией, перекрывающей весь интервал определяемых по изучаемой методике концентраций (обычно достаточно 4—6 образцов), оценивают систематические погрешности при разных концентрациях.

В отсутствие образцов сравнения проверку правильности иногда проводят по отношению к другой, хорошо изученной методике КХА (*метод сравнения*). Для этого одну или несколько рутинных проб с разной концентрацией определяемого вещества исследуют обеими методиками, проводя несколько параллельных измерений каждым методом. Результаты обрабатывают, проверяя гипотезу о равенстве двух математических ожиданий (см. подразд. 2.2).

Еще один способ проверки правильности методики КХА — использование *метода добавок* (см. гл. 1). В простейшем случае берут «типичную» пробу и часть ее анализируют (обычно несколько раз) по исследуемой методике. Обозначим полученную концентрацию C_0 . Оставшуюся часть пробы делят на несколько частей, массу которых точно измеряют. К каждой из них добавляют точно известное количество определяемого вещества («добавки»), причем обычно масса первой добавки $\Delta_1 \approx C_0$, масса второй $\Delta_2 \approx 2C_0$ и т.д. После тщательного перемешивания определяют концентрацию в каждой из получившихся смесей, проводя для каждой несколько параллельных измерений. В случае отсутствия систематической погрешности измеренные в пробах с добавками концентрации должны составлять $C_1 = C_0 + \Delta_1$, $C_2 = C_0 + \Delta_2$, ... Обозначим измеренные средние значения концентраций для проб с добавками: $\bar{C}_{1,изм}$, $\bar{C}_{2,изм}$ и т.д. Разности $(\bar{C}_{1,изм} - C_1)$, $(\bar{C}_{2,изм} - C_2)$, ... могут указывать на наличие систематической погрешности. Проверяют гипотезу о равенстве найденных экспериментально и рассчитанных концентраций. Если для какой-либо из проб с добавкой эта гипотеза не отвергается, то систематическая погрешность для нее не обнаружена. Аналогично можно рассмотреть все разности в рамках одной регрессионной модели. При проверке гипотез необходимо учитывать, что дисперсия погрешности разностей есть сумма дисперсий погрешностей

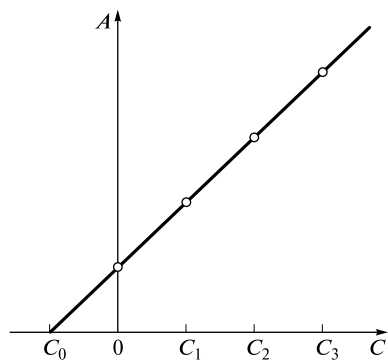


Рис. 21.4. Графическая интерпретация метода добавок

измерения концентрации в основной пробе и в пробе с добавкой (см. подразд. 2.3).

Существует также упрощенный графический способ представления результатов проверки правильности методом добавок. На графике по оси абсцисс откладывают добавленные концентрации, а по оси ординат — соответствующие значения аналитического сигнала. Проводят прямую через получившиеся точки и продлевают ее до оси абсцисс. В отсутствие систематической погрешности отрезок от нуля до точки пересечения прямой с осью абсцисс должен быть равен C_0 (рис. 21.4).

Метод добавок имеет ограничения. Согласно методу необходимо ввести добавку в той же форме, в которой определяемое вещество содержится в пробе, и равномерно распределить добавку по объему пробы. Для твердых проб выполнение этих условий часто невозможно, поэтому метод добавок обычно используют для жидких и газообразных проб.

Прецизионность методики. Для оценки стандартного отклонения повторяемости (сходимости) и стандартного отклонения воспроизводимости методики анализа при какой-либо концентрации берут контрольный материал или стандартный образец и рассылают его в большое (не менее восьми) число лабораторий. При этом каждая лаборатория должна выполнить определенное число (обычно 2—4) измерений для одной серии. Получающиеся при этом данные представляют в форме табл. 21.2, где j — номер лаборатории, i — номер измерения в лаборатории, N — число измерений в лаборатории.

Стандартные отклонения повторяемости (сходимости) s_r и воспроизводимости s_R рассчитывают по формулам

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^M \sum_{i=1}^N (X_{ji} - \bar{X}_j)^2}{M(N-1)}}, \quad (21.21)$$

$$s_R = \sqrt{s_L^2 + s_r^2},$$

где

$$s_L^2 = \frac{s_d^2 - s_r^2}{N}, \quad s_d^2 = \frac{1}{M-1} \sum_{j=1}^M N (\bar{X}_j - \bar{\bar{X}})^2, \quad \bar{\bar{X}} = \left(\sum_{j=1}^M \sum_{i=1}^N X_{ji} \right) / (MN). \quad (21.22)$$

Для полного исследования методики анализируют несколько (не менее пяти) материалов с разной концентрацией определяемого вещества, причем эти концентрации должны перекрывать весь диапазон измеряемых концентраций. По результатам измерений либо весь диапазон измеряемых концентраций делят на поддиапазоны, в пределах которых компоненты прецизионности считают постоянными, либо находят их зависимость от концентрации. Полученные

Данные для оценки повторяемости (сходимости) и воспроизводимости

Номер лаборатории	Номер измерения						Среднее значение	Стандартное отклонение
	1	2	...	i	...	N		
1	X_{11}	X_{12}	...	X_{1i}	...	X_{1N}	$\bar{X}_1$	s_1
2	X_{21}	X_{22}	...	X_{2i}	...	X_{2N}	$\bar{X}_2$	s_2
...	...	...	...	...	...	...		...
J	X_{j1}	X_{j2}	...	X_{ji}	...	X_{jN}	$\bar{X}_j$	s_j
...			...	...	...	...		...
M	X_{M1}	X_{M2}	...	X_{Mi}	...	X_{MN}	$\bar{X}_m$	s_M

Примечание. Среднее значение для j -й лаборатории: $\bar{X}_j = \left(\sum_{i=1}^N X_{ji} \right) / N$.

значения стандартных отклонений повторяемости (сходимости) и воспроизводимости (либо соответствующие пределы) приписывают методике как нормативные величины.

Все упомянутые выше характеристики в идеале должны были бы определяться для каждой методики КХА. На практике из экономии ограничиваются оценками характеристик воспроизводимости, повторяемости (сходимости), правильности (оценивается на имеющихся образцах сравнения типичного состава), а также вида градуировочной характеристики. На основе этих сведений и проводится аттестация методик КХА.

Аттестация методик. В России аттестации в обязательном порядке подлежат методики КХА, используемые в сфере распространения государственного метрологического контроля и надзора. Методики, используемые в других областях (например, в металлургии), аттестуют в добровольном порядке. Организация, осуществляющая аттестацию, проводит метрологическую экспертизу представленных документов как по форме, так и по содержанию. При положительном результате аттестации документ, регламентирующий методику, утверждают, а сведения о ней заносят в соответствующие реестры. После этого методика считается аттестованной и допускается к применению*.

21.9. Аккредитация лабораторий

Аккредитация аналитической лаборатории есть официальное признание (технической) компетентности лаборатории, осуществляющей количествен-

* Подробнее об аттестации методик см.: ГОСТ 8.563—96 «Методики выполнения измерений».

ный химический анализ. Под «аккредитацией» понимают как процедуру проверки лаборатории на компетентность (процедура аккредитации), так и ее результат («аккредитованная лаборатория»). Во многих случаях лаборатории аккредитуются и на независимость.

Компетентность (техническая) лаборатории есть способность выполнять измерения в области аккредитации с требуемой точностью. *Область аккредитации* — четко определенный для конкретной лаборатории список объектов исследований и определяемых показателей (для КХА — конкретных определяемых веществ). Для признания технической компетентности необходимо наличие в лаборатории оборудования (или свободного доступа к нему), необходимых реактивов и документов, достаточного по численности и квалификации персонала, системы обеспечения качества анализа и т.д. При аккредитации лабораторий обычно требуют использования аттестованных методик выполнения измерений.

Во всех странах, в частности в России, в областях, связанных со здоровьем людей (пищевая промышленность, здравоохранение, охрана окружающей среды и т.д.), признаются только результаты КХА, полученные в аккредитованных лабораториях.

Процедура аккредитации выглядит следующим образом: аналитическая лаборатория обращается в орган по аккредитации с просьбой аккредитовать ее, сопровождая свою просьбу документами, в которых отражают:

- сведения о лаборатории общего характера (название и адрес, штат сотрудников и их квалификация, площадь занимаемых помещений и т.д.);
- область аккредитации, используемые методики анализа и аппаратура;
- сведения о методах обеспечения и контроля качества: об используемых стандартных образцах, алгоритмах внутрилабораторного контроля и контрольных пробах, результатах участия в программах внешней оценки качества и т.д.;
- информацию, подтверждающую независимость лаборатории.

Орган по аккредитации проводит экспертизу представленной документации и при положительном результате формирует комиссию, направляемую в лабораторию. Комиссия проверяет соответствие представленных сведений фактическому состоянию дел и проводит проверку возможностей лаборатории по составленной ею программе. В частности, просят в присутствии членов комиссии проанализировать образцы сравнения или стандартные образцы состава. Если по итогам работы комиссии лабораторию признают технически компетентной и независимой, орган по аккредитации принимает решение об ее аккредитации. Лаборатории выдают соответствующее свидетельство (аттестат аккредитации). Срок аккредитации ограничен (обычно не более 5 лет). Проводится также ежегодный инспекционный контроль (фактически это упрощенная аккредитация), при отрицательных результатах которого аттестат аккредитации может быть отозван.

В целом можно сказать, что метрологические аспекты в настоящее время в значительной степени определяют лицо аналитической химии. Они играют огромную роль как при разработке новых методов химического анализа, так и в практической деятельности лабораторий, выполняющих рутинные исследования. Однако основой химического анализа были и будут собственно методы анализа.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Охарактеризуйте понятие «метрология».
2. Каков общий принцип построения системы единиц физических величин?
3. Какие основные классификации измерений вы знаете?
4. Дайте определение понятий «средства измерений», «класс точности средства измерений».
5. Каким образом передается размер единиц от эталонов образцовым и рабочим средствам измерений?
6. Для каких целей и как проводится поверка средств измерений?
7. Каковы особенности метрологии количественного химического анализа?
8. Какие метрологические характеристики методик количественного химического анализа вы знаете?
9. Что представляют собой стандартные образцы для химического анализа?
10. Каким образом оценивают пригодность стандартных образцов состава веществ?
11. Каким образом находят аттестованные значения для стандартных образцов?
12. Для чего нужна аттестация методик количественного химического анализа?
13. В чем заключается аккредитация лабораторий?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Берштейн И. Я.* Спектрофотометрический анализ в органической химии / И. Я. Берштейн, Ю. Л. Каминский. — Л. : Химия, 1986.
- Буйташ П.* Обеспечение качества результатов химического анализа / П. Буйташ, Н. М. Кузьмин, Л. Лейстнер. — М. : Наука, 1993.
- Бурдун Г. Д.* Основы метрологии / Г. Д. Бурдун, Б. Н. Марков. — М. : Изд-во стандартов, 1985.
- Гаранина Е. Н.* Качество лабораторного анализа / Е. Н. Гаранина. — М. : Лабинформ, 1997.
- ГОСТ Р ИСО 5725—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений» : в 6 ч. — М. : Изд-во стандартов, 2002.
- Дворкин В. И.* Метрология и обеспечение качества химического анализа / В. И. Дворкин. — М. : Химия, 2001.
- Катеман Г.* Контроль качества химического анализа / Г. Катеман, Ф. В. Пийперс. — Челябинск : Металлургия, 1989.
- Кузнецов П. В.* Курс лекций по дисциплине «Основы метрологии». — <http://is236012.i-seller.ru>.
- Мердок Дж.* Контрольные карты / Дж. Мердок. — М. : Финансы и статистика, 1986.
- Смагунова А. Н.* Алгоритмы определения метрологических характеристик методик количественного химического анализа / А. Н. Смагунова, О. М. Карпукова, Л. И. Бельх. — Иркутск : Иркут. гос. ун-т, 2006.
- Шаевич А. Б.* Аналитическая служба как система / А. Б. Шаевич. — М. : Химия, 1981.
- Шишкин И. Ф.* Прикладная метрология / И. Ф. Шишкин. — М. : Изд-во Всесоюз. заоч. политехн. ин-та, 1990.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Контроль объекта аналитический. Термины и определения ГОСТ Р 52361-2005

Термин (английский эквивалент)	Определение термина
Аккредитованная аналитическая лаборатория (accredited analytical laboratory)	Аналитическая лаборатория, получившая в результате ее проверки органом по аккредитации аттестат аккредитации, подтверждающий ее компетентность в выполнении аналитических работ, вошедших в область ее аккредитации
Аликвота (aliquot quantity)	Определенный объем жидкого, газообразного или сыпучего гомогенного вещества, представляющий собой часть целого
Аналит (analyte)	Компонент, искомый или определяемый в пробе вещества или материала объекта аналитического контроля
Аналитическая идентификация (analytical identification)	Отнесение объекта аналитического контроля или его компонентов к конкретному веществу, материалу, классу веществ или материалов
Аналитическая лаборатория (analytical laboratory)	Организация или структурное подразделение организации, выполняющие аналитические работы в области исследования веществ и материалов
Аналитическая навеска (sample weight)	Часть пробы вещества или материала установленной массы, целиком используемая при выполнении единичного определения. <i>Примечание.</i> В отдельных случаях в качестве аналитической навески используют всю пробу вещества или материала
Аналитические работы (analytical works)	Деятельность, связанная с определением химического состава и, в отдельных случаях, структуры и свойств вещества и материала объекта аналитического контроля. <i>Примечание.</i> Аналитические работы в общем случае включают: отбор и подготовку пробы, аналитическую идентификацию, химический анализ и, в отдельных случаях, определение структуры и свойств вещества и материалов объекта аналитического контроля
Аналитический контроль объекта (analytical control of the object)	Определение химического состава и, в отдельных случаях, структуры и свойств вещества и материала объекта аналитического контроля с последующим оцениванием соответствия объекта установленным требованиям при их наличии

Термин (английский эквивалент)	Определение термина
Аналитический сигнал (analytical response)	Сигнал, содержащий количественную информацию о величине, функционально связанной с содержанием аналита и регистрируемой в ходе анализа вещества или материала объекта аналитического контроля
Аналитическое оборудование (analytical equipment)	Оборудование, используемое в ходе анализа вещества (материала) объекта аналитического контроля
Верхняя (нижняя) граница диапазона определяемого содержания аналита (upper (lower) limit of concentration range)	Максимальное (минимальное) значение содержания аналита в пробе вещества или материала объекта аналитического контроля, которое может быть определено по данной методике анализа вещества или материала
Внутренний контроль качества результатов анализа вещества или материала (internal quality control of analysis results)	Совокупность действий, предпринимаемых аналитической лабораторией с целью подтверждения соответствия характеристик качества результатов анализа вещества (материала) объекта аналитического контроля установленным требованиям. <i>Примечание.</i> К внутреннему контролю качества результатов анализа вещества или материала относят: анализ идентичных проб в регламентированных условиях; анализ образцов сравнения; использование альтернативных методик; проверку корреляции значений различных физических величин; использование приемов разбавления пробы и внесения добавок; контроль стабильности результатов с применением контрольных карт и т. п.
Градуировка в химическом анализе вещества или материала (calibration)	Экспериментальное установление градуировочной характеристики в химическом анализе вещества (материала) объекта аналитического контроля
Градуировочная характеристика (calibration function)	Функциональная зависимость аналитического сигнала от содержания аналита, выраженная в виде формулы, графика или таблицы. <i>Примечание.</i> В зависимости от вида выражения градуировочной характеристики используют словосочетания: градуировочная функция, градуировочный график, градуировочная таблица
Градуировочный образец (calibration sample)	Образец сравнения или набор таких образцов, используемый для градуировки в химическом анализе вещества или материала объекта аналитического контроля. <i>Примечание.</i> Разновидностями градуировочного образца являются градуировочный раствор и градуировочная смесь

Термин (английский эквивалент)	Определение термина
Диапазон определяемого содержания аналита (concentration range)	Область значений содержания аналита в пробе вещества или материала объекта аналитического контроля, которые могут быть определены по данной методике анализа вещества или материала
Единичное определение (single determination)	Однократное проведение всей последовательности операций, предусмотренной методикой анализа вещества или материала объекта аналитического контроля
Качественный анализ вещества или материала (qualitative analysis)	Экспериментальное установление факта присутствия или отсутствия аналита в пробе вещества (материала) объекта аналитического контроля при заданном пороговом значении его содержания
Количественный анализ вещества или материала (quantitative analysis)	Экспериментальное определение содержания одного или нескольких аналитов в веществе (материале) объекта аналитического контроля. <i>Примечание.</i> Количественный анализ веществ или материалов рассматривают как специфический вид измерений
Матрица химического состава вещества или материала (matrix)	Компонент или совокупность компонентов, образующих данное вещество или материал объекта аналитического контроля и являющихся его основой
Метод анализа вещества или материала (method of analysis, analytical technique)	Способ получения информации о химическом составе вещества (материала) объекта аналитического контроля на основе одного или нескольких принципов анализа вещества (материала). <i>Примечание.</i> Примеры методов анализа веществ и материалов: фотометрический, титриметрический, гравиметрический, масс-спектрометрический, потенциометрический, вольтамперометрический, кулонометрический, хроматографический, атомно-абсорбционный, атомно-эмиссионный, рентгенофлуоресцентный, рентгенофазовый, рентгеноструктурный, активационный, иммуноферментный, изотопного разбавления и др.
Методика анализа вещества или материала (method of analysis, analytical procedure, analytical protocol)	Документированная совокупность операций и правил, выполнение которых обеспечивает получение результата анализа вещества (материала) объекта аналитического контроля с установленными характеристиками погрешности или неопределенностью, а для методик качественного анализа — с установленной достоверностью. <i>Примечание.</i> Различают методики количественного анализа и методики качественного анализа вещества (материала) объектов аналитического контроля

Термин (английский эквивалент)	Определение термина
Методика аналитического контроля (analytical procedure)	Документированная совокупность операций и правил проведения аналитического контроля конкретных объектов. <i>Примечание.</i> Методика аналитического контроля объекта может быть представлена в виде совокупности нескольких документов: методики отбора проб, методики подготовки проб, методики химического анализа, методики испытаний, методики выполнения измерений, правил приемки и т. п.
Неопределенность отбора пробы вещества или материала (uncertainty of sampling)	Составляющая суммарной неопределенности, обусловленная процедурой отбора пробы вещества (материала) объекта аналитического контроля
Норма содержания компонента	Установленный документом диапазон содержания компонента или максимальное и (или) минимальное содержание компонента в объекте аналитического контроля, с которым сопоставляется результат анализа
Образец сравнения (reference material)	Вещество (или материал) объекта аналитического контроля, достаточно однородное в отношении одной или нескольких надежно установленных характеристик, чтобы быть использованным при калибровке прибора, оценке метода измерений или для приписывания значений этих характеристик материалам или веществам. <i>Примечания.</i> 1. Для образцов сравнения, представляющих семейство материалов с близкими характеристиками, не обязательно наличие иерархии в соответствии со значениями неопределенности, как это принято для мер физических величин. 2. Понятие «образец сравнения» охватывает как аттестованные, так и неаттестованные образцы веществ и материалов. К первым относятся стандартные образцы, ко вторым — химические продукты и материалы с установленной степенью чистоты, например реактивы
Отбор пробы вещества или материала	Отделение части вещества (материала) объекта аналитического контроля с целью формирования пробы для последующего определения ее состава, структуры и (или) свойств
Оценка пригодности методики анализа вещества или материала (validation)	Подтверждение на основе представления объективных свидетельств того, что методика анализа вещества (материала) объекта аналитического контроля может быть применена для конкретного объекта или группы объектов. <i>Примечание.</i> Оценка пригодности методики анализа вещества или материала включает: спецификацию требований; определение характеристик методики; проверку того, что требования могут быть удовлетворены при использовании данной методики и объявление о применимости

Термин (английский эквивалент)	Определение термина
Параллельные определения (multiple determinations)	Серия единичных определений, выполненных в условиях повторяемости
Погрешность отбора пробы вещества или материала (sampling error)	Отклонение значения величины, характеризующей состав, структуру, свойства пробы вещества (материала), от значения этой же величины, характеризующей состав, структуру, свойства объекта аналитического контроля в целом. <i>Примечание.</i> Погрешность отбора проб вещества или материала включает: погрешность, обусловленную неоднородностью вещества или материала; погрешность результатов сопутствующих измерений; погрешность, обусловленную изменением состава и (или) структуры, и (или) свойств пробы в процессе процедуры отбора пробы и др.
Подготовка пробы вещества или материала (sample preparation)	Совокупность процедур, проводимых с целью подготовки пробы вещества (материала) объекта аналитического контроля к определению ее состава и (или) структуры, и (или) свойств. <i>Примечание.</i> Процедура подготовки пробы вещества или материала обычно включает две стадии — предварительную и окончательную
Предел обнаружения аналита (limit of detection)	Наименьшее содержание аналита, при котором он может быть обнаружен по данной методике анализа вещества или материала объекта аналитического контроля с заданной доверительной вероятностью. <i>Примечание.</i> Пределом обнаружения обычно считают содержание аналита, равное сумме результата холостого опыта и его стандартного отклонения, умноженного на коэффициент, соответствующий заданной доверительной вероятности
Предел определения аналита (limit of determination, limit of quantitation)	Наименьшее содержание аналита, которое может быть количественно определено с помощью данной методике анализа вещества или материала объекта аналитического контроля с установленными значениями характеристик погрешности или неопределенности
Предельная погрешность результатов анализа вещества или материала	Наибольшее допускаемое значение погрешности или характеристики погрешности результатов анализа вещества (материала) объекта аналитического контроля, указанное в нормативном документе
Представительная проба вещества или материала (representative sample)	Проба вещества (материала), которая по химическому составу и (или) свойствам, и (или) структуре принимается идентичной объекту аналитического контроля, от которого она отобрана

Термин (английский эквивалент)	Определение термина
Принцип анализа вещества или материала	Физическое явление или эффект, положенный в основу метода анализа вещества (материала объекта аналитического контроля)
Проба вещества или материала (sample)	Часть вещества (материала) объекта аналитического контроля, отобранная для анализа и (или) исследования его структуры, и (или) определения свойств, отражающая его химический состав и (или) структуру, и (или) свойства. <i>Примечания.</i> 1. В зависимости от способа получения различают следующие виды проб: разовая, точечная (единичная, частная), мгновенная, суточная и т. п. 2. В зависимости от стадии первичной обработки различают следующие виды проб: исходная, промежуточная, объединенная, средняя, сокращенная, лабораторная, аналитическая и др. 3. В зависимости от назначения различают следующие виды проб: контрольная, рабочая, резервная, арбитражная и др.
Промах (blunder)	Результат анализа пробы вещества или материала объекта аналитического контроля, резко отличающийся от других результатов анализа этой же пробы. <i>Примечание.</i> Промахом считают теоретически невозможные или маловероятные результаты
Протокол анализа вещества или материала (protocol of analysis, report of analysis)	Документ, содержащий результат(ы) анализа вещества или материала объекта аналитического контроля и информацию, необходимую для правильного и однозначного понимания этих результатов. <i>Примечание.</i> Протокол анализа вещества или материала может быть выполнен на любом носителе (бумажном, электронном, магнитном и т. д.)
Результат анализа пробы вещества или материала (result of analysis)	Информация о химическом составе пробы вещества или материала объекта аналитического контроля, полученная в ходе анализа вещества или материала. <i>Примечания.</i> 1. Если результат анализа вещества или материала является количественным, то он может быть представлен как результат единичного определения или среднее значение результатов параллельных определений (среднеарифметическое значение, медиана). 2. Если результат анализа вещества или материала не является количественным, то он может быть выражен в виде заключения о наличии (отсутствии) аналита относительно некоего порогового значения или в виде словесного описания («следы», «положительная реакция», «отсутствие», «не обнаружено» и т. п.)

Термин (английский эквивалент)	Определение термина
Результат аналитического контроля	Заключение о соответствии или несоответствии объекта аналитического контроля установленным требованиям к его химическому составу, структуре, свойствам, представленное в виде документа. <i>Примечания.</i> 1. В качестве результата аналитического контроля объекта может также рассматриваться удостоверение (подтверждение) химического состава (структуры, свойств) объекта. 2. Примерами документов, содержащих результат аналитического контроля объекта, являются сертификат соответствия, сертификат химического состава, паспорт качества, протокол анализа и т. п.
Результат холостого опыта	Содержание аналита, полученное при проведении холостого опыта, используемое при вычислении результата анализа вещества или материала объекта аналитического контроля. <i>Примечание.</i> Результат холостого опыта в качестве поправки может вычитаться из неисправленного результата анализа или использоваться в качестве поправочного множителя
Сертификат химического состава, структуры, свойств вещества или материала (certificate)	Документ, удостоверяющий химический состав (структуру, свойства) вещества (материала) объекта аналитического контроля
Требования к химическому составу (структуре, свойствам) вещества (материала)	Перечень определяемых или контролируемых компонентов химического состава, характеристик структуры и (или) свойств вещества (материала) объекта аналитического контроля, а также установленных для них норм, представленный в документе, регламентирующем требования к объекту. <i>Примечание.</i> Документами, регламентирующими требования к объекту аналитического контроля, считают: технические регламенты, стандарты, технические условия, технологическую документацию, контракты, фармакопейные статьи, санитарные нормы и правила, строительные нормы и правила и т. п.
Химический анализ вещества или материала (chemical analysis, chemical assay)	Определение компонентов химического состава вещества (материала) объекта аналитического контроля. <i>Примечания.</i> 1. По природе определяемых компонентов различают: элементный анализ, вещественный анализ, изотопный анализ, структурно-групповой, в том числе функциональный анализ, молекулярный анализ, фазовый анализ и др. 2. По природе объекта анализа различают анализ неорганических и органических веществ (материалов)

Термин (английский эквивалент)	Определение термина
Химический состав вещества или материала (chemical composition)	Совокупность компонентов, из которых состоит вещество (материал) объекта аналитического контроля. <i>Примечание.</i> Под компонентом понимают химический элемент, химическое соединение, радикал, изотоп, функциональную группу, группу, класс веществ, обладающих разными свойствами и т. д.
Холостая проба вещества или материала (blank sample)	Проба вещества (материала) объекта аналитического контроля, аналогичная аналитической пробе, но не содержащая аналита
Холостой опыт (blank experiment)	Проведение процедуры анализа вещества или материала объекта аналитического контроля без аналитической пробы или с холостой пробой
Чувствительность в анализе вещества и материала (sensitivity)	Значение первой производной градуировочной характеристики при данном содержании аналита. <i>Примечание.</i> Для линейной градуировочной характеристики чувствительность выражается значением тангенса угла наклона градуировочной прямой

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ*

- Аберрация **2** 254
— изображения **2** 257
— сферическая **2** 257
Абсорбция **1** 196; **2** 3
— поглощающего слоя **2** 32
Автоматизация тест-методов **2** 278
Авторадиография **2** 229
Адсорбция **1** 196
Аккредитация
— лабораторий **2** 385
— методик анализа **2** 385
Активационный анализ **2** 210, 216
Активация **2** 217
— источники **2** 217
— уравнение **2** 218
Алгоритм
— Финка **2** 182
— Ханаволта **2** 182
— LONG-8 **2** 182
Алкалиметрия **1** 98
Амперометрия **2** 295
Амфолит **1** 113
Анализ
— активационный **2** 210, 216
— активационный инструментальный **2** 223
— в образцовой лаборатории **2** 381
— констатирующий **2** 328
— локальный **2** 24
— микроспектральный **2** 24
— многофазных систем **2** 182
— нейтронно-активационный **2** 220
— оперативный **2** 328
— поверхности **2** 102, 229, 238, 240, 241
— полнопрофильный **2** 179
— послойный **2** 244
— проточный **2** 285
— регрессионный **1** 70
— рефрактометрический **2** 89
— фазовый динамический **1** 204
— фотометрический **2** 4
— химико-спектральный **2** 23
Анализатор времяпролетный **2** 108
Аналит **1** 7; **2** 326
Аналитическая серия **1** 74
Аналитический множитель (фактор) **1** 84
Аналитический сигнал **1** 7, 33
— в гравиметрическом методе **1** 84
— полезный **1** 33
— фона **1** 33, 34
Анион-радикал **2** 101
Антиген **2** 196
Антигенные детерминанты **2** 196
Антитело **2** 196
— вторичное **2** 199
— моноклональное **2** 20
Апертурная диафрагма **2** 249
Апофермент **2** 202
Аппаратная функция **2** 13, 238
Аргентометрия **1** 99, 177
Асимметрия **1** 54
Астигматизм приосевой **2** 257
Атомизатор
— искровой **2** 30
— пламенный **2** 33
— электротермический **2** 33
Атомизация **2** 33
Атомная единица массы **2** 97
Атомный фактор рассеяния **2** 157
Аттестация (аккредитация)
— лаборатории **2** 385
— методики анализа **2** 330
Аффинность **2** 200
Ацидиметрия **1** 98
База порошковых дифракционных данных **2** 169
— картотека ASTM, **2** 169
— указатели, **2** 169
— ICDD PDF **2** 171
— PDF-2 **2** 172
— PDF-4+ **2** 172
Бальмера формула **2** 8
Барботаж **1** 204
Барн **2** 218
Барометр **2** 344
Батохромный сдвиг **2** 44
Безразмерная физическая величина **1** 39
Беккерель **2** 211
Бера закон **2** 3
Бомбардировка быстрыми атомами **2** 102

* Жирным шрифтом указан номер тома, светлым — соответствующие страницы.

- Бора формула **2 9**
 Борна—Оппенгеймера приближение **2 11**
 Бренстеда—Лоури теория **1 113**
 Брэгга—Брентано дифрактометр **2 158, 159**
 Брэгговская интенсивность **2 155**
 Брэгговский угол **2 155**
 Бугера—Ламберта—Бера закон **2 32**
 Буферная емкость **1 147**
 Буферные растворы **1 145**
- Вавилова закон 2 72**
 Вакуум сверхвысокий **2 236**
 Ван Деемтера теория **1 217**
 Вектор-полярограмма **1 305**
 Вероятность **1 62**
 Вещество индикаторное **2 189**
 Взаимодействие
 — неупругое **2 4, 259**
 — упругое **2 4, 230**
 Видеосигнал **2 247**
 Вилкоксона—Манна—Уитни критерий **1 67**
 Волна
 — полярографическая **1 284**
 — электромагнитная **2 5**
 Волновое число **2 6**
 Вольтамперные кривые **1 310, 324**
 Вольтамперограмма **1 283**
 — инверсионная **1 306**
 Вольтамперометрия **1 281, 305, 315**
 — инверсионная **1 306**
 Воспроизводимость **1 75; 2 331**
 Восстановительная обработка **2 353**
 Время
 — мертвое **1 213**
 — отклика **1 270**
 — переходное **1 308**
 — удерживания, исправленное **1 213, 215**
 Вторично-электронный множитель **2 111**
 Вульфа—Брэгга
 — закон **2 87**
 — формула **2 153**
 Выбор метода и методики анализа **2 333**
 Выборка **1 50, 52**
 Выбор (грубый промах) **1 59**
 Выигрыш
 — Жакино (геометрический фактор) **2 56**
 — Фелжета (мультиплекс-фактор) **2 56**
 Высота
 — полярографической волны **1 284**
 — ртутного столба **1 288**
 Выход
 — линии **2 213**
 — флуоресценции **2 86, 261**
- Гальванический элемент **1 264**
 Гамма-спекторметрия **2 211**
 Гаптен **2 197**
 Гейзенберга
 — принцип неопределенности **2 18, 144**
 — соотношение **2 255**
- Гейровского—Ильковича уравнение **1 292**
 Генеральная совокупность **1 50**
 Генератор плазмы, импульсный **2 288**
 Гипотезы статистические, проверка **1 62**
 Гипсохромный сдвиг **2 44**
 Гиромагнитное (магнитомеханическое) отношение **2 124**
 Гистограмма **1 52**
 Глубина
 — отбора аналитической информации **2 234**
 — проникновения электронов **2 258**
 Гониометр **2 159**
 Гравиметрия **1 83**
 Градуировка **2 365**
 Градуировочная зависимость **2 365**
 Граница раздела фаз **2 266, 267**
 Грохочение **2 338**
 Группа простатическая **2 202**
 Гунда правило **2 69**
- Дальтон **1 40; 2 97**
 Двойной резонанс в ЯМР **2 139**
 Де Бройля формула **2 254**
 Дебаеграмма **2 155**
 Дебая
 — линия **2 155**
 — кольцо **2 155**
 Дебая—Уолтера температурный фактор **2 158**
 Дебая—Шеррера дифрактометр **2 155**
 Декантация **1 91**
 Демонда—Хальфердаля формула **2 338**
 Дениже метод **2 353**
 Десорбция/ионизация
 — матрично-активированная лазерная (MALDI) **2 104**
 — полевая **2 102**
 Детектирование селективное ионное **2 112**
 Детектор
 — для газовой хроматографии **1 236**
 — электронов **2 236**
 Детерминанты антигенные **2 196**
 Диаграммы распределительные **1 140**
 Диксона тест **1 60**
 Дисперсия **1 54**
 — аномальная **2 90**
 — волновая **2 87**
 — нормальная **2 90**
 — энергетическая **2 88**
 Дифрактограмма **2 153**
 — реперные линии **2 181**
 Дифрактометр рентгеновский **2 158**
 Дифракционный угол **2 15**
 Диффузия **1 330; 2 357**
 Длина
 — волны **2 6**
 — — электрона **2 254**
 — свободного пробега, средняя **2 234**
 Доверительная вероятность **1 62**
 Доверительный интервал **1 66**

Допплера эффект **2** 18
Дробление **2** 338

Единство измерений **2** 363

Емкость

- буферная **1** 147
- динамическая **1** 198
- обменная **1** 198
- полная **1** 198
- статическая **1** 198

Задача

- аналитическая **1** 6
- конкретная **2** 332
- обратная **2** 305
- общая **2** 331

Закон

- Бера **2** 31
- Вавилова **2** 72
- Вульфа — Брэгга **2** 87
- Кольрауша **1** 330
- Мозли **2** 86, 261
- преломления Снеллиуса **2** 90
- радиоактивного распада **2** 211
- светопоглощения (Бугера — Ламберта — Бера) **2** 32
- Фарадея **1** 317
- фотоэффекта (Эйнштейна) **2** 238
- химических эквивалентов **1** 40

Зеемана формула **2** 123

Значение

- принятое опорное **2** 369, 380
 - условно истинное **2** 368
- Зонная плавка **2** 356

Идентификация

- неизвестных фаз **2** 181
- соединений **2** 304, 305, 320, 360

Измерения

- классификация **2** 364
- косвенные **2** 365
- непрерывные **2** 330
- периодические **2** 330
- потенциометрические **1** 275
- прямые **2** 365

Изображение

- растровое **2** 247
- стигматическое **2** 257
- увеличение **2** 257

Изотопозамещение **2** 54

ИК-спектроскопия **2** 3, 48, 306

Ильковича уравнение **1** 287

Иммобилизация **2** 206

Иммунизация **2** 201

Иммунная система **2** 196

Иммуногенность **2** 201

Иммуноглобулины **2** 196

Инверсия **1** 68

Индекс

- качества ICDD PDF **2** 171

— рефракции среды (показатель преломления) **2** 7

— удерживания (Ковача) **1** 229

Индикаторы **1** 115

— кислотно-основные **1** 124

— металлохромные **1** 158

Интеграл резонансный **2** 222

Интенсивность

- брэгговского отражения **2** 156, 159
- излучения **2** 7, 32
- интегральная **2** 156

— — для метода Брэгга — Брентано **2** 156

— люминесценции **2** 73, 76, 82

— относительная эталонная (RIR) **2** 177

— спектральной линии **2** 15, 27, 55

Интеркомбинационная конверсия **2** 71

Информационно-поисковая система **2** 303

Иодометрия **1** 174

Ион

— молекулярный **2** 116

— подвижность **1** 330

Ионизация

— полевая **2** 102

— химическая **2** 101

— — при атмосферном давлении **2** 103

— электронная **2** 99

— электрораспылением (электроспрей) **2** 103

Ионит **1** 197

Ионная ловушка **2** 110

Ионное произведение воды **1** 114

Ионно-циклотронный резонанс **2** 109

Ионный источник **2** 98

Ионометрия **1** 265, 275

Ионообменные смолы **1** 197

Ионофор **1** 272

Исследования in situ **2** 226, 244, 263

Капилляр **2** 283

Кариуса метод **2** 353

Каталитические методы **2** 186, 189

Катион-радикал **2** 99

Катодолюминесценция **2** 66

Качество

— аналитического контроля **2** 326

— аналитической службы **2** 327

— химического анализа **1** 27

Квантовые переходы **2** 15

Кислота **1** 113

Класс точности средства измерений **2** 370

Ковача индекс (удерживания) **1** 229

Колебания

— ангармонические **2** 53

— вырожденные **2** 50

— гармонические **2** 53

— независимые **2** 49

— нормальные **2** 49

— электромагнитные **2** 5, 53

Количество

— вещества **1** 37

— электричества **1** 317

- Коллектор **2** 111, 252, 357, 361
- Колтупа карты **2** 57
- Кольрауша закон **1** 330
- Компетентность (техническая) лабораторий **2** 386
- Комплексометрия **1** 98
- Комплексон **1** 98, 150
- Комплексонометрия **1** 98, 149
- Компонент
 - определяемый **2** 326
 - системы **1** 183
- Конверсия **2** 71
- Кондуктометрия **1** 330; **2** 295
- Конечная точка титрования **1** 109
- Константа
 - ионного обмена **1** 198
 - кислотности **1** 113
 - комплексообразования **1** 142
 - — общая **1** 142
 - — ступенчатая **1** 142
 - Михаэлиса **2** 194
 - распределения вещества (Нернста) **1** 211
 - растворимости **1** 85
 - связывания (аффинности) **2** 200
 - спин-спинового взаимодействия **2** 133
 - экранирования **2** 86, 127
- Контроль
 - качества аналитической службы **2** 325
 - экоаналитический **1** 14
- Концентрация компонента
 - массовая **1** 38
 - молярная **1** 39
 - общая **2** 139
 - равновесная **1** 139
- Концентрирование **1** 183; **2** 354, 358
 - абсолютное **1** 185
 - групповое **1** 186; **2** 356
 - индивидуальное **1** 186; **2** 356
 - относительное **1** 186
- Концепция хромофорных групп **2** 46
- Конъюгат **2** 207
- Корреляционные таблицы **2** 130, 309
- Кофактор **2** 202
- Коэффициент
 - емкости **1** 214
 - избирательности **1** 198
 - концентрирования **1** 187
 - молярного поглощения **2** 32
 - разделения **1** 188
 - распределения **1** 200
 - селективности **1** 215
 - чувствительности **1** 34
- Краун-эфир **1** 272
- Кривые титрования **1** 106, 109
 - в комплексонометрии **1** 159
 - в редоксиметрии **1** 169
- Кристаллизация **1** 85
 - направленная **2** 356
- Кристаллическая решетка **2** 167
 - индексы Миллера **2** 167
 - межплоскостные расстояния **2** 155, 181
 - параметры **2** 167
 - период **2** 153
 - связь с дифрактограммой **2** 167
- Кристаллическая структура
 - параметры **2** 167
 - структурный фактор **2** 157
- Критерий
 - осуществимости титрования **1** 112
 - разделения (разрешения пиков) **1** 218
 - соответствия **2** 183
- Кулонометр **1** 321
- Кулонометрия **1** 318
 - гальваностатическая **1** 318, 323
 - потенциостатическая **1** 318
- Кьельдаля метод **2** 353
- Кюри **2** 211
- Ланде фактор **2** 124
- Лармора
 - уравнение **2** 124
 - частота **2** 124
- Ларморова прецессия **2** 124
- Лёвшина правило **2** 77
- Лиганд **1** 149
- Линза
 - бронированная **2** 247, 248, 256
 - конденсорная **2** 249
 - оптическая сила **2** 255, 256
 - фокусное расстояние **2** 256
- Линии
 - антистоксовы **2** 62
 - дифракционные (дебаевские) **2** 155
 - резонансные **2** 31
 - стоксовы **2** 62
- Ловушка ионная **2** 110
- Локальность **2** 270
 - латеральная (поперечная) **2** 271
 - продольная **2** 271
- Локальный анализ **2** 268
- Ломакина—Шайбе уравнение **2** 28
- Лоренца множитель **2** 157
- Люминесцентный анализ **2** 4
 - качественный **2** 82
 - количественный **2** 82
- Люминесценция **2** 3, 65, 67, 71, 290
 - квантовый выход **2** 72, 73
 - механизм **2** 67
 - спектр **2** 76, 78
 - тушение **2** 73, 75, 81
 - энергетический выход **2** 72
- Магнитная осесимметричная линза **2** 247, 248
- Маскирование **1** 184
- Масс-анализатор **2** 104
 - магнитный **2** 105
 - квадрупольный **2** 107
- Массовая доля **1** 39
- Массовая концентрация **1** 38
- Массовое число **2** 97

- Масс-рефлектор **2** 108
 Масс-спектр **2** 111
 Масс-спектрометр **2** 97
 — миниатюрный **2** 296
 Масс-спектрометрия **2** 96, 295
 — вторично-ионная **2** 103, 273
 — высокого разрешения **2** 38, 107, 116
 — миниатюризация **2** 295, 296, 297
 — тандемная **2** 111
 Масс-фрагментография **2** 112
 Масс-хроматография **2** 112
 Материалы контрольные **2** 381
 Матрица **2** 326
 Медиана **1** 53
 Международная система единиц **1** 37
 Мембранный ввод **2** 98
 Мера **2** 366
 Меркуриметрия **1** 98, 180
 Меркурометрия **1** 99
 Метод **1** 5
 — аспирационный **2** 341
 — безэталоный **1** 317
 — Брэга—Брентано **2** 159
 — внешнего стандарта **1** 221, 223
 — внутреннего стандарта **1** 223; **2** 164, 174
 — гамма-активации **2** 227
 — градуировочного графика **1** 293, 296
 — графический **1** 71
 — добавок **1** 35; **2** 383
 — искусственного интеллекта **2** 58
 — кондуктометрический **1** 330
 — корундовых чисел **2** 176
 — Мора **1** 178
 — «на отражение» **2** 246
 — «на просвет» **2** 246
 — наименьших квадратов (метод Гаусса) **1** 72
 — нормировки в хроматографии **1** 222
 — Ньютона **2** 256
 — ограничивающих растворов **1** 35
 — отдельных навесок **1** 105
 — полнопрофильного анализа **2** 172
 — разложения дифрактограммы **2** 179
 — растворов
 — бионных **1** 270
 — ограничивающих **1** 35
 — смешанных **1** 270
 — стандартных **1** 296
 — Ритвелда **2** 172, 180
 — сравнения **2** 383
 — стандартизации **2** 225
 — стандартных добавок **1** 296
 — стандартов **1** 34
 — тангенсов **2** 190
 — Фаянса **1** 179
 — ферментативный **2** 191
 — фиксированного времени **2** 190
 — фиксированной концентрации **2** 191
 — Фольгарда **1** 179
 — фотоактивации **2** 227
 — Чанга (обобщенный метод RIR) **2** 178
 — эмиссионной фотометрии пламени **2** 28
 — эталонных относительных интенсивностей (RIR) **2** 172, 175, 178
 Методика **1** 5
 Методика анализа **1** 32; **2** 330
 — аттестация (аккредитация) **2** 334
 — выбор **2** 333
 — прослеживаемость **2** 331
 Методика выполнения измерений **1** 5; **2** 365
 Методология **1** 5
 Методы
 — вскрытия проб **2** 345
 — двойного резонанса в ЯМР **2** 139
 — испарения **1** 193
 — концентрирования (классификация) **1** 188
 — кристаллизационные **2** 356
 — локального анализа и анализа поверхностей (МЛААП) **2** 266, 268
 — — неразрушающие **2** 268, 269
 — — разрушающие **2** 269, 272
 — радиоаналитические **2** 210
 — разделения **1** 188; **2** 354
 — разложения проб **2** 346, 347, 349
 — расчета хроматограмм **1** 216
 — рефрактометрии **2** 7
 — сорбционные **1** 195
 — технического контроля **2** 360
 — ELISA **2** 207
 Методы анализа **1** 12
 — абсолютные **1** 30
 — вольтамперометрические **1** 281
 — иммунологические **2** 196
 — — иммуноферментные **2** 204
 — — иммунохимические **2** 196
 — каталитические **2** 186, 189
 — кинетические **2** 186, 187, 190
 — кондуктометрические **1** 330
 — кулонометрические **1** 317
 — некаталитические **2** 186
 — относительные **1** 31
 — потенциометрические **1** 265
 — рефрактометрические **2** 4
 — спектроскопические **2** 3
 — фотометрические **2** 4
 — электрохимические **1** 262
 — эмиссионные **2** 3
 — ядерно-физические **2** 210
 — — активационные **2** 216
 — — неактивационные **2** 230
 Метрология **2** 363
 — аксиомы **2** 364
 Миграция **1** 330
 Микроанализ рентгеновский **2** 86, 258
 Микропоглощение **2** 162
 Микросистема химического анализа **2** 279
 Микроскоп
 — атомно-силовой **2** 253
 — ионный **2** 249
 — отражательный электронный **2** 249
 — проектор **2** 250

- просвечивающий электронный **2** 247, 248
- сканирующий **2** 247, 250
- — зондовый **2** 252
- — туннельный **2** 252
- электронный **2** 249
- — сканирующий (растровый) **2** 250

Микроскопия

- просвечивающая **2** 247
- сканирующая **2** 247
- электронная **2** 246
- — аналитическая **2** 262, 268

Микроструктура **2** 279

Микротрон **2** 227

Микрочип

- схема **2** 284
- технология **2** 281

Минерализация пробы **2** 352, 353

Миниатюризация аналитических систем **2** 278, 297

Михаэлиса константа **2** 194

Множитель

- аналитический (фактор) **1** 84
- интегральности (Лоренца) **2** 157
- повторяемости **2** 157

Мозли закон **2** 86, 261

Молекула **2** 311

Моль **1** 37

Мольная доля **1** 39, 139

Молярная концентрация **1** 39

Монохроматизация излучения **2** 13, 236

Мора метод **1** 178

Морзе функция **2** 52

Мощность излучения **2** 7

Мультиплекс-фактор **2** 56

Мультиплетность спиновая **2** 16

MAD-тест **1** 61

Нанообъект **1** 23

Неопределенность **1** 77

Нернста

- закон распределения **1** 211
- константа распределения **1** 211
- уравнение **1** 164, 290

Никольского—Эйзенмана уравнение **1** 268

Нормирование **2** 370

Ньютона формула **2** 256

Область

- аккредитации **2** 386
- нормальная **2** 369
- рабочая **2** 369
- сильного поля **2** 134
- скачка титрования **1** 111
- слабого поля **2** 134

Образцы

- градуировочные **2** 377
- для фазового анализа **2** 161
- сравнения **2** 334, 376
- — адекватность **2** 377
- — однородность (гомогенность) **2** 377

- — стабильность **2** 376

- стандартные **2** 334

Объект

- анализа **2** 325
- технического контроля **2** 325

Оверхаузера ядерный эффект **2** 140

Оже-электрон **2** 260

Оксидиметрия **1** 98

Определение

- биологически активных веществ **2** 207, 295
- ДНК (флуориметрическое) **2** 292, 298
- единичных молекул **2** 292
- наркотических средств **2** 289
- химического состава поверхности **2** 241
- элементного состава поверхности **2** 238

Осадители органические **1** 88

Осаждение **1** 191

- гомогенное **1** 192
- матрицы **1** 192
- совместное **1** 191

Основание **1** 113

Отбор проб **2** 325

- локальный **2** 24, 268

Отгонка **1** 193; **2** 355, 358

Относительные интенсивности **2** 176, 240

- приведение к единой шкале **2** 176

Отношение

- пик : фон **2** 261
- сигнал : шум в ЯМР **2** 135

Отображение поточечное **2** 247

Отражательная способность, удельная **2** 157

Ошибка грубая, правило **1** 60

Ошибки

- первого рода **1** 62
- второго рода **1** 62

Параксиальный пучок **2** 257

Параметр электрохимической ячейки **1** 264

Партия реактивов (продукта) **2** 344

Паули принцип **2** 16

Перенапряжение **2** 261

- активационное **1** 264

Переход

- квантовый **2** 16
- разрешенный **2** 16, 69
- электронный с переносом заряда **2** 44

Период

- колебаний **2** 6
- полураспада **2** 211

Перманганатометрия **1** 173

Пик

- изотопный **2** 117
- хроматографический **1** 213

Пиксел **2** 247

Пипетирование **1** 105

Плазма индуктивно связанная **2** 14, 37, 112, 113, 274

Планка формула **2** 6

Плотность оптическая **2** 41

- Поверка средств измерений **2 371**
 Поверхность
 — внутренняя **2 267**
 — твердого тела **2 232**
 — техническая **2 226**
 — физическая **2 226**
 — чистая **2 235**
 Повторяемость (сходимость) **1 74**
 Погрешность
 — измерений **1 77; 2 366, 367, 373**
 — средств измерений **2 370**
 Подвижность ионов **1 330**
 Подготовка проб **2 325, 328**
 Показатель
 — преломления (индекс рефракции среды) **2 7**
 — размерности физической величины **1 39**
 — титрования **1 125**
 Полевая десорбция **2 102**
 Полевая ионизация **2 102**
 Полигон частот **1 52**
 Полимеразная цепная реакция (генодиагностика) **2 298**
 Политика качества **2 327**
 Поляризация электрода **1 264**
 Полярограмма **1 283**
 Полярография **1 282**
 — дифференциальная импульсная **1 301**
 — импульсная **1 299**
 — квадратно-волновая **1 302**
 — нормальная импульсная **1 300**
 — постоянноточковая **1 282**
 — синусоидальная **1 302**
 Порядок
 — отражения **2 87, 155**
 — реакции **2 186**
 Постоянная ангармоничности **2 53**
 Потенциал **1 163**
 — полуволны **1 285**
 — редокс-пары, стандартный **1 165**
 — формальный **1 165**
 Потенциометрия **1 279; 2 294**
 Правило
 — альтернативного запрета **2 63**
 — грубой ошибки **1 60**
 — Гунда **2 69**
 — зеркальной симметрии Лёвшина **2 77**
 — отбора **2 16**
 — произведения растворимости **1 86**
 — Стокса **2 65**
 — Стокса—Ломмеля **2 71**
 Правильность методики **2 382**
 Предел обнаружения методики **2 381**
 Предмет аналитической науки **1 6**
 Прецизионность **2 367**
 — промежуточная **1 74**
 Прибор
 — измерительный **2 366**
 — ионно-оптический **2 253**
 Принцип
 — измерения **2 365**
 — неопределенности Гейзенберга **2 18, 144**
 — Паули **2 16**
 — пренебрежения малыми погрешностями **1 69**
 — Ритца **2 8**
 — Франка—Кондона **2 69, 70**
 Приспособления для пробоотбора **2 344**
 Проба **1 183; 2 325, 343**
 Пробег электронов **2 259**
 Пробоотбор **2 325, 335**
 — бытовых и промышленных отходов **2 340**
 — воздуха **2 341**
 — газов **2 340**
 — жидкостей **2 342**
 — металлов, шлаков, технологических растворов **2 339**
 — периодический **2 343**
 — пищевых продуктов и биологических материалов **2 340**
 — полужидких материалов **2 342**
 — почв **2 339**
 — природных и сточных вод **2 342**
 — пыли **2 340**
 — растений **2 340**
 — твердого топлива **2 339**
 — твердых материалов **2 337**
 Пробоподготовка **2 345**
 Проводимость электрическая (электропроводность) **1 330**
 Прогнозирование структур **2 309**
 Производство растворимости **1 85**
 — концентрационное **1 86**
 Промах грубый (выброс) **1 59**
 Пропускание света относительное **2 32**
 Прослеживаемость методики **2 331**
 Противозлектрод **1 264**
 Протолитометрия **1 98**
 Проточно-инжекционный анализ **2 285**
 Проточный анализ **2 285**
 Равновесия конкурирующие **1 139**
 Радиоактивность **2 211, 216**
 — наведенная **2 219**
 Радиоаналитические методы **2 210**
 Радиолюминесценция (сцинтилляция) **2 66**
 Радионуклид **2 210**
 Разбавитель **1 200**
 Развязка от протонов **2 139**
 Разделение **1 183, 185; 2 354**
 — в гравитационном поле **2 358**
 — химическое **1 184**
 Разложение в газовой фазе **2 273**
 Размах выборки **1 54**
 Размер, передача **2 363**
 Размерность физической величины **1 39**
 Разность термов **2 15**
 Разрешающая способность **1 297; 2 106, 237**
 Разрешение
 — абсолютное **2 237**
 — относительное **2 237**
 Распределение **1 184**

- нормальное (Гаусса) **1 54**
- Пирсона **1 57**
- Пуассона **1 58**
- равномерное **1 56**
- Стьюдента **1 57**
- Фишера **1 58**
- Рассеяние
 - единичное **2 60**
 - ионов упругое **2 230**
 - рэлеевское **2 60**
 - света когерентное антистоксово **2 64**
 - тиндалевское **2 59**
 - электромагнитного излучения **2 3**
 - электронов неупругое **2 259**
- Расстояние межъядерное равновесное **2 52**
- Раствор **1 86**
 - буферный **1 145**
 - концентрированный **1 86**
 - насыщенный **1 86**
- Растворение **1 85**
- Растворимость **1 86**
- Расчеты
 - оценочные **1 43**
 - точные **1 43**
- Реакции
 - индикаторные **2 189**
 - необратимые **1 290**
 - нулевого порядка **2 187**
 - первого порядка **2 187**
 - обратимые **1 290**
 - окислительно-восстановительные **1 162**
 - пороговые **2 218**
 - ферментативные **2 193**
 - электрохимические **1 290**
- Регион вариабельный **2 199**
- Регистрация ионов **2 111**
- Редоксиметрия **1 169, 172, 175**
- Редуциметрия **1 98**
- Режим анализа
 - at-line **2 329**
 - in-line **2 329**
 - off-line **2 329**
 - on-line **2 329**
- Резонансный интеграл **2 222**
- Ректификация **1 193**
- Релаксация
 - внутриатомная **2 242**
 - колебательная **2 66, 71**
 - межатомная **2 242**
 - спин-решеточная **2 126**
 - спин-спиновая **2 126**
- Рентгеновская дифрактометрия **2 153**
 - брэгговский угол **2 153, 155**
 - дифрактограмма **2 153, 154**
 - дифракционная линия **2 155**
 - дифракционный угол **2 155**
 - образцы **2 161**
 - погрешности инструментальные **2 163**
 - порядок отражения **2 155**
 - точность измерения интенсивности **2 163**
 - чувствительность **2 183**
 - эталоны **2 163**
- Рентгеновская дифракционная линия **2 155, 168**
- Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия **2 232**
- Рентгеновские детекторы **2 159**
- Рентгеновский дифрактометр **2 158**
 - Брэгга—Брентано **2 159, 160**
 - гониометр **2 159**
 - Дебая—Шеррера **2 155**
 - с параллельным пучком **2 158**
 - устройство **2 160**
 - юстировка **2 161**
- Рентгеновский микроанализ **2 86, 258**
- Рентгеновский спектральный анализ **2 85, 86**
- Рентгеновский фазовый анализ **2 153**
 - качественный **2 153, 181**
 - количественный **2 153, 173, 179**
 - корундовое число **2 176**
 - образцы **2 161, 163**
 - погрешность относительная **2 163**
 - полнопрофильный **2 179**
 - точность **2 163, 183**
 - чувствительность **2 183**
- Рентгеновский фотоэлектронный спектр **2 233**
- Рентгенолюминесценция **2 66**
- Рефрактометр дифференциальный **1 240**
- Рефрактометрия **2 89**
- Рефракция
 - молярная **2 90**
 - удельная **2 91**
- Резкстрагент **1 200**
- Резэкстракция **1 200**
- Ритвелда метод **2 180**
- Ритца принцип **2 8**
- Сдвиг
 - батохромный **2 44**
 - гипсохромный **2 44**
 - химический **2 128, 241**
- Седиментация **1 189**
- Седиметрия **1 99**
- Селективность
 - методики **2 333**
 - электрода **2 269**
- Сеть декларативных знаний **2 311**
- Сечение
 - ионизации **2 100**
 - фотоионизации **2 240**
- Сигнал ЯМР **2 132**
- Система
 - аналитическая портативная **2 278**
 - гетерогенная **1 85**
 - гомогенная **1 85**
 - микроаналитическая **2 286**
 - спиновая **2 126**
 - экспертная **2 302**
- Скачок титрования **1 109, 111**
- Сложение погрешностей **1 69**

- Снеллиуса закон преломления **2 90**
Соосаждение **1 90, 194**
Сорбат **1 195**
Сорбент **1 195**
Сорбция **1 195**
— динамическая **1 196**
— ионообменная **1 197**
— комплексообразующая **1 199**
— молекулярная (физическая) **1 196**
— статическая **1 195**
Состояния возбужденные
— синглетные **2 68**
— триплетные **2 69**
Спад свободной индукции **2 135**
Спектральная линия **2 8, 15**
Спектральный анализ **2 3**
— абсорбционный **2 3**
— атомно-абсорбционный **2 31**
— атомно-эмиссионный **2 4**
— атомный **2 3, 4**
— люминесцентный **2 4**
— молекулярный **2 3, 4**
— оптический **2 5**
— рентгеновский **2 85**
— рентгенофлуоресцентный **2 66**
— рефрактометрический **2 4**
— фотометрический **2 4**
— эмиссионный **2 3**
Спектрометр
— электронный **2 236**
— ЯМР импульсный **2 135, 138**
Спектроскопия **2 3**
— абсорбционная **2 4**
— атомная **2 14**
— — атомно-абсорбционная **2 31**
— — атомно-флуоресцентная **2 34**
— — атомно-эмиссионная **2 22**
— лазерная калориметрическая **2 294**
— — лазерно-индуцируемая флуоресценция **2 292**
— — флуоресцентная микроскопия **2 292**
— — хемилюминесцентная **2 4, 292**
— молекулярная
— — комбинационного рассеяния **2 59**
— — молекулярно-абсорбционная **2 48**
— сверхзвуковых струй **2 319**
— рентгеновская фотоэлектронная **2 232**
— ядерного магнитного резонанса **2 122**
Спектрофотометрия **2 40, 293**
Спектры
— атомные **2 14**
— видимой области **2 39**
— вращательные **2 11**
— дискретные **2 7**
— инфракрасные **2 48**
— испускания **2 7**
— колебательные **2 11**
— комбинационного рассеяния **2 59**
— кругового дихроизма **2 65**
— линейчатые **2 7**
— люминесценции **2 76**
— молекулярные **2 39**
— первого порядка **2 141, 312**
— поглощения **2 7**
— рентгеновские фотоэлектронные **2 233**
— ультрафиолетовые **2 39**
— флуоресценции **2 65**
— фосфоресценции **2 65**
— хемилюминесценции **2 66**
Способность разрешающая **1 297**
— энергоанализатора **2 237**
Способы
— получения чистой поверхности **2 235**
— стандартизации раствора **1 104**
Среда **1 114**
Средства измерений **2 366, 368**
— образцовые **2 368**
— поверка **2 371**
Стадии химического анализа **1 29**
Стандарт
— внешний **1 35**
— внутренний **1 35**
— вторичный **1 101**
— первичный **1 100**
Стандартизация
— в активационном анализе **2 225**
— образцов **2 378**
Стандартное (среднеквадратическое) отклонение **1 55**
Статистика математическая **1 50**
Степень
— выделения (извлечения) **1 187**
— деполяризации **2 64**
— диссоциации **1 115**
— извлечения вещества **1 200**
— оттитрованности **1 106**
— пропитки **1 224**
Стокса правило **2 65**
Стокса — Ломмеля правило **2 71**
Структура системы **2 311**
Структурный анализ
— молекулярно-структурный **2 304**
— спектроструктурный **2 314**
— структурно-групповой **2 309**
Стьюдента критерий **1 64**
Сульфатометрия **1 180**
Сцинтилляция **2 66**
Теорема центральная предельная **1 56**
Теория
— графов **2 311**
— теоретических тарелок **1 216**
Терм спектральный **2 8, 15**
Термодиффузия **2 357**
Термоспрей **2 103**
Тест-поток **2 329**
Технология микрофлюидная **2 285**
Титр **1 38**
Титр раствора **1 39**
Титранд **1 96**

- Титрант **1** 96
 — электрогенерированный **1** 325
 Титриметрия **1** 96
 Титрование **1** 96
 — амперометрическое **1** 308
 — дифференцированное (ступенчатое) **1** 128
 — заместителя (титрование по замещению) **1** 97
 — кислотно-основное **1** 113
 — комплексонометрическое **1** 149
 — косвенное **1** 97
 — кулонометрическое **1** 318, 325
 — обратное (титрование остатка) **1** 97
 — окислительно-восстановительное **1** 162
 — осадительное **1** 177
 — потенциометрическое **1** 179
 — прямое **1** 99
 Ток
 — диффузионный **1** 284
 — емкостный **1** 285
 — каталитический **1** 289
 — кинетический **1** 289
 — нефарадеевский **1** 285
 — остаточный **1** 284, 285
 — предельный **1** 284
 — фарадеевский **1** 284
 Точка
 — белого света **2** 55
 — нулевой разности хода **2** 55
 — эквивалентности **1** 109
 Точность измерений **2** 363
 Травление
 — аморфных материалов **2** 280
 — анизотропное **2** 280
 — изотропное **2** 280
 — ионное **2** 273
 — реактивно-ионное глубокое **2** 280
 — селективное **2** 273
 — химическое **2** 280
 — электрохимическое **2** 280
 Трутона правило **1** 194
 Тушение люминесценции **2** 73, 75, 81

 Углубление цвета **2** 44
 Управление качеством **2** 327
 Уравнение
 — автопротолиза воды **1** 114
 — ван Деемтера **1** 217
 — Гейровского—Ильковича **1** 292
 — Ильковича **1** 287
 — кинетическое **2** 186
 — Лармора **2** 124
 — Ломакина—Шайбе **2** 28
 — Нернста **1** 164, 290
 — обратной (катодной) полярографической волны **1** 283
 — связи в титриметрии **1** 99
 — Хендерсона—Хассельбаха **1** 146
 — ЯМР **2** 124
 Уровень
 — возбужденный **2** 9
 — вырожденный **2** 17
 — основной **2** 9
 — энергетический **2** 9
 Условия
 — измерений **2** 369
 — — нормальные **2** 369
 — — предельные **2** 369
 — резонанса **2** 125
 — технические **2** 333
 Уширение
 — доплеровское **2** 18
 — лоренцевское **2** 19
 — спектральной линии **2** 18

 Фаза
 — в рентгеновском фазовом анализе **2** 153
 — неподвижная **1** 209
 — подвижная **1** 209
 Фазовое отношение **1** 214
 Фактор **1** 84
 — геометрический **2** 56
 — Ланде **2** 124
 — насыщения **2** 219
 — распада **2** 219
 — структурный **2** 157
 — эквивалентности **1** 42, 43
 Фарадея закон **1** 317
 Фелжета выигрыш **2** 56
 Фермент **2** 202
 Фиксанап **1** 101
 Фильтрация (фильтрование) **1** 188; **2** 357
 Финка алгоритм **2** 182
 Флотация **1** 189; **2** 357
 Флуоресценция **2** 35, 65, 69, 292
 Флюид **1** 203
 Форма
 — гравиметрическая **1** 83
 — осаждаемая **1** 83
 Формула
 — Бальмера **2** 8
 — Бора **2** 9
 — Вульфа—Брэгга **2** 153
 — де Бройля **2** 254
 — Демонда—Хальферделя **2** 338
 — Зеемана **2** 123
 — Ньютона **2** 256
 — Планка **2** 6
 — сложения дисперсий **1** 70
 — структурная **2** 311
 — фотоэффекта **2** 238
 — Эйнштейна **2** 238, 253
 Фосфоресценция **2** 65, 69
 Фотоионизация **2** 101
 Фотоколориметрия **2** 4
 Фотолюминесценция **2** 66
 Фотометрический анализ **2** 4
 Фотон **2** 9
 Фотозффект **2** 232
 Франка—Кондона принцип **2** 69, 70

Функция
— аппаратная **2** 238
— Морзе **2** 52
— плотности распределения **1** 50
— распределения эмпирическая (полигон частот) **1** 52
Фурье-ИК-спектроскопия **2** 54
Фурье-преобразование **2** 55, 149
Фурье-спектрометр **2** 54

Ханаволта алгоритм **2** 182
Характеристика
— градуировочная **1** 75
— метрологическая средств измерения **2** 369
— преобразования **2** 369
Хелат **1** 149
Хемосорбция **1** 196
Хендерсона—Хассельбаха уравнение **1** 146
Химический сдвиг **2** 128, 241
Хроматограмма **1** 213
Хроматограф газовый **1** 221
Хроматографическая колонка **1** 209, 229
Хроматография **1** 209
— аналитическая **1** 222
— вытеснительная **1** 216
— газоадсорбционная **1** 233
— газовая **1** 224
— газожидкостная **1** 224
— жидкостная **1** 239
— жидкостно-адсорбционная **1** 241
— жидкостно-жидкостная **1** 242
— ионная **1** 246
— ионообменная **1** 246
— ион-парная **1** 246, 250
— лигандообменная **1** 251
— линейная **1** 212
— планарная **1** 254
— препаративная **1** 222
— промышленная **1** 222
— ситовая (эксклюзионная) **1** 252
— электромиграционная **2** 289
— — мицеллярная электрокинетическая **2** 289
Хромато-масс-спектрометрия **2** 112
Хромофоры **2** 46
Хронопотенциометрия инверсионная **1** 308

Цена деления **2** 370
Центрифугирование **1** 189
Цианидометрия **1** 98
Цилиндр Фарадея **2** 111
Цифра значащая **1** 43

Чанга метод **2** 178
Частота
— групповая **1** 52
— излучения **2** 8
— колебаний **2** 57
— Лармора **2** 124
— прецессии **2** 123

Чип микрофлюидный **2** 279
Число
— Авогадро **1** 37
— квантовое **2** 16
— «ключевое» **1** 44
— корундовое **2** 176
— наименее значимое **1** 44
— теоретических тарелок **1** 216
— эквивалентное **1** 43
Чистая поверхность **2** 235
Чувствительность **2** 32, 333
— абсолютная **2** 107
— детектора хроматографического **1** 221
— методики **1** 75; **2** 333
— относительная **2** 107

Ширина линии
— естественная **2** 18
— лоренцевская **2** 19
Шпольского эффект **2** 84

Эйнштейна формула **2** 238, 253
Эквивалент химический **1** 40, 41
Эксперимент межабораторный **2** 381
Экспертная система **2** 302
Экстрагент **1** 200, 202, 203
Экстракт **1** 200
Экстракция **1** 200
— газовая **1** 204
— сверхкритическая флюидная **1** 203
Эксцесс **1** 54
Электрогравиметрия **1** 321
Электрод
— водородный стандартный **1** 163
— вспомогательный (противоэлектрод) **1** 264
— второго рода **1** 265
— индикаторный **1** 262, 265
— ионоселективный **1** 266
— первого рода **1** 266
— поляризуемый **1** 282
— рабочий **1** 262
— с нернстовой электродной функцией **1** 268, 269
— сравнения **1** 262, 265
— ферментный **1** 274
Электролизер **1** 282
Электролит индифферентный (фон) **1** 283
Электронограмма **2** 172, 249
Электропроводность **1** 330
Электроспрей **2** 96, 103
Электрофорез **2** 197, 279, 283
— на микрочипах **2** 283, 285
Электрохимическая ячейка **1** 262
Элюент **1** 210
Эмиссия **2** 3
Энергия
— волны **2** 6
— ионизации **2** 99, 260
— — критическая **2** 260
— появления **2** 100

- пропускания **2** 238
- релаксации **2** 241
- рентгеновского кванта **2** 85, 259
- фотоэлектрона **2** 85
- Энергоанализатор электростатический
полусферический **2** 236
- Энзим **2** 202
- Эталон
 - внутренний **2** 164
 - государственный **2** 367
 - единицы величины **2** 367
 - первичный **2** 367
- Этилендиаминтетрауксусная кислота **1** 150
- Эффект
 - динамический в ЯМР **2** 143
 - Допплера **2** 18

- матричный **2** 326
- солевой **1** 88
- Шпольского **2** 84
- ядерный Оверхаузера **2** 140
- Эхо спиновое **2** 147

Явление насыщения **2** 126

Ядерные реакции **2** 217

- на заряженных частицах **2** 228
- при облучении нейтронами **2** 218
- сечение **2** 218

Ядра магнитно эквивалентные **2** 142

Ячейка

- полярографическая **1** 282
- электролитическая **1** 264
- электрохимическая **1** 262

ОГЛАВЛЕНИЕ

Глава 8. Спектроскопические методы	3
8.1. Общая характеристика и классификация спектроскопических методов	3
8.2. Излучение и его взаимодействие с веществом	5
8.3. Приборы для спектрального анализа	11
8.4. Атомные спектральные методы	14
8.4.1. Основные принципы атомного спектрального анализа	14
8.4.2. Атомно-эмиссионная спектроскопия	22
8.4.2.1. Основные понятия	22
8.4.2.2. Элементы теории и разновидности метода АЭС	25
8.4.2.3. Метрологические характеристики метода АЭС	29
8.4.3. Атомно-абсорбционная спектроскопия	31
8.4.3.1. Основные понятия	31
8.4.3.2. Способы атомизации, селекции и детектирования	33
8.4.3.3. Метрологические характеристики метода ААС	33
8.4.4. Атомно-флуоресцентная спектрометрия	34
8.4.4.1. Основные понятия	34
8.4.4.2. Метрологические характеристики метода АФС	37
8.5. Молекулярные спектральные методы	39
8.5.1. Молекулярно-абсорбционный анализ в ультрафиолетовой и видимой областях спектра	39
8.5.1.1. Основные понятия	39
8.5.1.2. Спектрофотометрия неорганических и органических соединений	43
8.5.1.3. Фотометрическое титрование	47
8.5.2. Молекулярно-абсорбционный анализ в инфракрасной области	48
8.5.2.1. Основные понятия	48
8.5.2.2. Фурье-спектроскопия	54
8.5.2.3. Качественный анализ методом ИК-спектроскопии	57
8.5.3. Спектроскопия комбинационного рассеяния	59
8.5.3.1. Основные понятия	59
8.5.3.2. Качественный анализ методом спектроскопии комбинационного рассеяния	64
8.5.4. Люминесцентный анализ	65
8.5.4.1. Основные понятия	65
8.5.4.2. Теоретические основы люминесценции	67
8.5.4.3. Количественный и качественный люминесцентный анализ	82
8.6. Рентгеновский спектральный анализ	85
8.7. Рефрактометрический анализ	89

Глава 9. Масс-спектрометрия	96
9.1. Основные понятия	96
9.2. Принцип работы масс-спектрометра	97
9.3. Тандемная масс-спектрометрия	111
9.4. Хромато-масс-спектрометрия	112
9.5. Масс-спектрометры для элементного и изотопного анализа с ионизацией в плазме	112
9.6. Количественный и качественный анализ методом масс-спектрометрии	114
Глава 10. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса	122
10.1. Основные понятия	122
10.2. Параметры спектров ЯМР	126
10.2.1. Ширина линий	126
10.2.2. Химический сдвиг	127
10.2.3. Константы спин-спинового взаимодействия	131
10.3. Регистрация спектров ЯМР	134
10.4. Принцип работы импульсного спектрометра ЯМР	138
10.5. Методы двойного резонанса в спектроскопии ЯМР	139
10.6. Характеристики спиновых систем	141
10.7. Динамические эффекты в спектроскопии ЯМР	143
10.8. Изотопный обмен	145
10.9. Использование импульсных последовательностей в спектроскопии ЯМР	146
10.10. Второе измерение в спектроскопии ЯМР	149
10.11. Применение спектроскопии ЯМР	150
Глава 11. Рентгеновский фазовый анализ	153
11.1. Основные понятия	153
11.2. Техника рентгеновского фазового анализа	158
11.2.1. Рентгеновский дифрактометр	158
11.2.2. Образцы для рентгеновской дифрактометрии и фазового анализа	161
11.2.3. Инструментальные ошибки дифракционного эксперимента	163
11.2.4. Эталоны для рентгеновской дифрактометрии и фазового анализа	163
11.2.5. Обработка результатов измерения	165
11.3. Принципы рентгеновского фазового анализа материалов	167
11.4. Базы данных для рентгеновского фазового анализа	169
11.4.1. База данных PDF	169
11.4.2. Систематизация записей (карточек) в базах данных ICDD-PDF	170
11.4.3. Система обозначений качества карточек в базах ICDD-PDF	171
11.4.4. База данных PDF-4+	172
11.4.5. Новая база данных PDF-2	172
11.5. Рентгеновский количественный фазовый анализ	173
11.5.1. Общая характеристика	173
11.5.2. Методы рентгеновского количественного фазового анализа по отдельным линиям дифрактограммы	173

11.5.3. Методы полнопрофильного рентгеновского количественного фазового анализа	179
11.6. Рентгеновский качественный фазовый анализ	181
11.6.1. Идентификация неизвестных фаз.....	181
11.6.2. Анализ многофазных систем	182
11.7. Чувствительность и точность рентгеновского фазового анализа	183
Глава 12. Кинетические методы анализа	186
12.1. Основные понятия	186
12.2. Реакции нулевого порядка	187
12.3. Реакции первого порядка	187
12.4. Применение кинетических методов в аналитической химии	189
12.5. Особенности ферментативных каталитических реакций	193
Глава 13. Иммунологические методы анализа	196
13.1. Иммунохимические методы	196
13.2. Ферменты в иммунологическом анализе	202
13.3. Иммуноферментный анализ	204
13.3.1. Классификация методов иммуноферментного анализа	204
13.3.2. Твердофазный гетерогенный иммуноферментный анализ	206
Глава 14. Ядерно-физические методы анализа	210
14.1. Основные понятия	210
14.2. Активационные ядерно-физические методы	216
14.2.1. Теоретические основы	216
14.2.2. Нейтронно-активационный анализ	220
14.2.3. Гамма-активационный анализ	227
14.2.4. Активационный анализ на заряженных частицах	228
14.3. Активационная автордиография	229
14.4. Неактивационные ядерно-физические методы	230
Глава 15. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия	232
15.1. Основные понятия	232
15.2. Техника рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии	235
15.3. Качественное определение элементного состава поверхности	238
15.4. Количественное определение элементного состава поверхности	240
15.5. Качественное и количественное определение химического состава поверхности	241
15.6. Аналитические характеристики и применение метода РФЭС	244
Глава 16. Электронная микроскопия	246
16.1. Основные понятия	246
16.2. Просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия	247
16.3. Электронные и ионные микроскопы	249
16.4. Современные сканирующие (растровые) электронные микроскопы	250
16.5. Теоретические основы метода	253
16.6. Рентгеновский микроанализ	258
16.7. Аналитическая электронная микроскопия	262

Глава 17. Методы локального анализа и анализа поверхности	266
17.1. Основные понятия	266
17.2. Неразрушающие методы	269
17.3. Разрушающие методы	272
17.4. Перспективы и проблемы МЛААП	275
Глава 18. Портативные аналитические системы	278
18.1. Принципы создания миниатюризированных систем	278
18.2. Материалы и техника создания микроаналитических систем	280
18.3. Основные блоки микроаналитических систем	281
18.4. Методы разделения в микрофлюидных системах	283
18.5. Методы детектирования аналитического сигнала	290
18.6. Микросистемы полного химического анализа	297
Глава 19. Экспертные системы и спектральный анализ без использования стандартных образцов состава	301
19.1. Общие сведения	301
19.2. Молекулярно-структурный анализ как обратная задача	304
19.3. Экспертные и информационно-поисковые системы	307
19.3.1. Основные этапы работы экспертных систем	307
19.3.2. Элементы теории структурно-группового анализа по молекулярным спектрам	309
19.3.3. Представление молекулярных структур в экспертных системах	311
19.3.4. Особенности использования спектров ЯМР в экспертных системах	312
19.4. Спектральный анализ с помощью экспертных систем	314
19.5. Анализ веществ методами ультрафиолетовой и видимой спектроскопии без использования стандартных образцов состава	317
19.6. Качественный и количественный анализ веществ методами спектроскопии с временным разрешением без использования стандартных образцов состава	321
Глава 20. Производственный аналитический контроль	325
20.1. Особенности производственного технического контроля	325
20.2. Пробоотбор	335
20.2.1. Общие сведения	335
20.2.2. Пробоотбор твердых материалов	337
20.2.3. Пробоотбор газов	340
20.2.4. Пробоотбор жидкостей	342
20.2.5. Пробоотбор реактивов и особо чистых веществ	344
20.3. Пробоподготовка	345
20.3.1. Методы вскрытия проб	345
20.3.2. Методы разложения проб	346
20.3.3. Разрушение органических веществ (минерализация пробы)	352
20.4. Методы разделения и концентрирования в техническом анализе	354
20.4.1. Общие положения	354
20.4.2. Индивидуальное и групповое концентрирование	356
20.4.3. Выбор методов разделения и концентрирования	358
20.5. Методы технического контроля	360

Глава 21. Элементы метрологии в аналитической химии	363
21.1. Основные понятия	363
21.2. Аксиомы метрологии	364
21.3. Основные вопросы теории измерений	364
21.3.1. Классификация измерений	364
21.3.2. Принципы, методы и методики измерений	365
21.3.3. Средства измерений	366
21.3.4. Классификация погрешностей измерений	366
21.4. Эталоны физических величин	367
21.5. Метрологические характеристики средств измерений	369
21.6. Метрология количественного химического анализа	372
21.7. Методы обеспечения качества результатов химического анализа	375
21.7.1. Общие положения	375
21.7.2. Образцы сравнения и стандартные образцы	376
21.8. Исследование и аттестация методик количественного химического анализа	381
21.9. Аккредитация лабораторий	385
Приложение. Контроль объекта аналитический. Термины и определения. ГОСТ Р 52361 — 2005	388
Предметный указатель	396

Учебное издание

**Алов Николай Викторович,
Василенко Иван Александрович,
Гольдштрах Марианна Александровна и др.**

**Аналитическая химия
и физико-химические методы анализа**

Том 2

Под редакцией А. А. Ищенко

Учебник

Редактор *И. Б. Ковалева*
Технический редактор *Е. Ф. Коржуева*
Компьютерная верстка: *Л. М. Беляева*
Корректор *Л. В. Гаврилина*

Изд. № 103116242. Подписано в печать 28.05.2014. Формат 70 × 100/16.

Гарнитура «Таймс». Печать офсетная. Бумага офсетная № 1. Усл. печ. л. 33,8.

Тираж 500 экз. Заказ №

ООО «Издательский центр «Академия». www.academia-moscow.ru

129085, Москва, пр-т Мира, 101В, стр. 1.

Тел./факс: (495)648-0507, 616-0029.

Санитарно-эпидемиологическое заключение № РОСС RU. АЕ51. Н 16592 от 29.04.2014.

Отпечатано с электронных носителей, предоставленных издательством,
в ОАО «Первая образцовая типография».