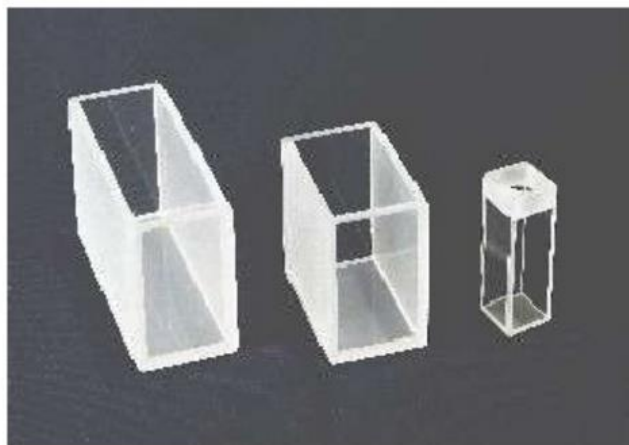


*Физико-
химические
методы
анализа*

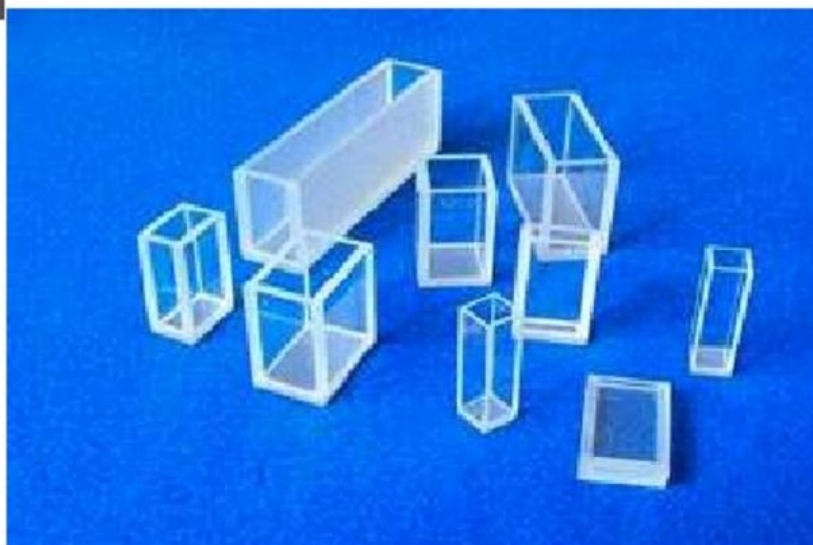
Кюветы для ФЭК

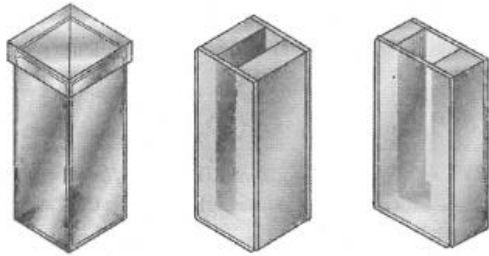
Анализируемый раствор помещается в **кювету**. Кювета представляет собой контейнер, сделанный из материала, хорошо пропускающего световые лучи.



Материал для кювет может быть разным в зависимости от области электромагнитного спектра, где происходит измерение.

Например, для видимой области спектра это стекло, для ультрафиолетовой – кварц.



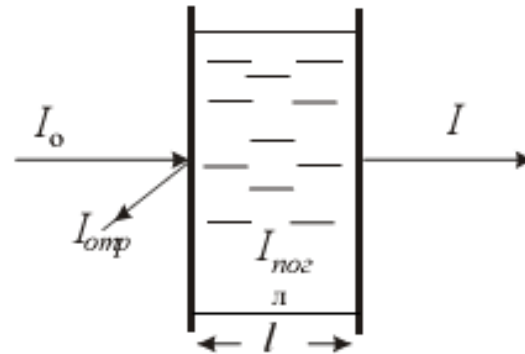


Область изучения	Материал для изготовления кюветы	Рекомендуемая длина оптического пути
УФ	кварц	0,1–1 см
Видимая область	стекло, кварц	0,1–1 см
ИК	кристаллы солей	
800–1100 нм (ближняя)		5–10 см
1100–3000 нм		0,1–2 см

Кювета для образца (образцом обычно является раствор), естественно, **должна быть прозрачна** в исследуемом диапазоне длин волн. Для изготовления кювет используют те же материалы, что и для оптических деталей.

Поглощение света растворами

Проходя через кювету с окрашенным раствором, интенсивность светового потока ослабевает за счет частичного отражения световых лучей от стенок кюветы и поглощения окрашенным раствором.



I_0 – интенсивность падающего светового потока;

$I_{отр.}$ – интенсивность светового потока, отражённого от границы раздела;

I – интенсивность светового потока, прошедшего через раствор.

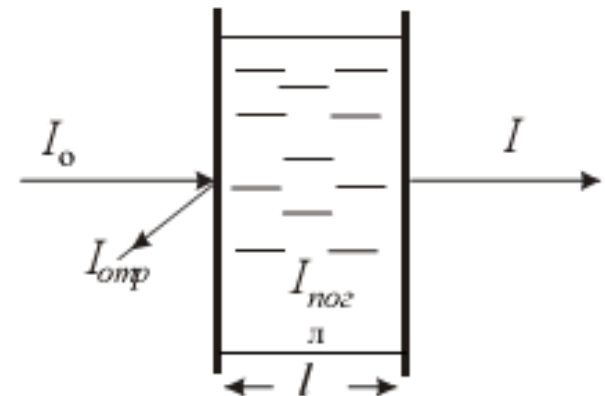
$$I_0 = I + I_{отр} + I_{погл};$$

Поглощение света растворами

Связь между интенсивностями падающего светового потока и светового потока, прошедшего через слой раствора, устанавливается законом Бугера – Ламберта:

$$I = I_0 \cdot e^{-a \cdot l}$$

α – коэффициент поглощения;
 l – толщина поглощающего слоя



Бер установил, что при постоянной толщине слоя поглощающего вещества коэффициент поглощения a пропорционален концентрации этого вещества, т.е.

$$a = \varepsilon \cdot c$$

Поглощение света растворами

$$a = \varepsilon \cdot c$$

где ε – молярный коэффициент светопоглощения, эта величина имеет размерность $л/(моль \cdot см)$;

c – концентрация поглощающего вещества.

Формулировкой закона Бера является выражение:

$$D = \lg \frac{J_0}{J} = k \cdot c,$$

где D – оптическая плотность раствора (которая равна нулю для абсолютно прозрачного раствора и равна бесконечности для абсолютно непрозрачного раствора, т.е. дословно этот термин означает «поглощение»).

Основной закон светопоглощения

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon c l}$$

При соблюдении основного закона светопоглощения оптическая плотность раствора прямо пропорциональна концентрации поглощающего вещества, толщине слоя раствора и молярному коэффициенту светопоглощения:

$$D = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Оптическая плотность – мера непрозрачности вещества для световых лучей. Для абсолютно прозрачного раствора $D=0$, для абсолютно непрозрачного $D \rightarrow \infty$

Обозначение оптической плотности

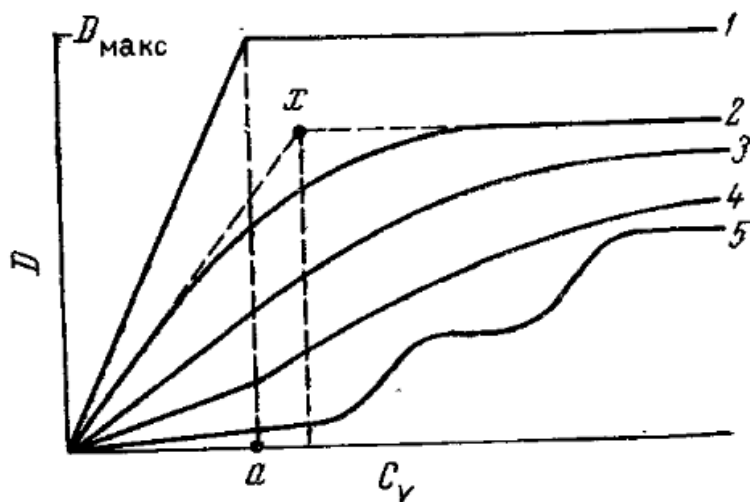
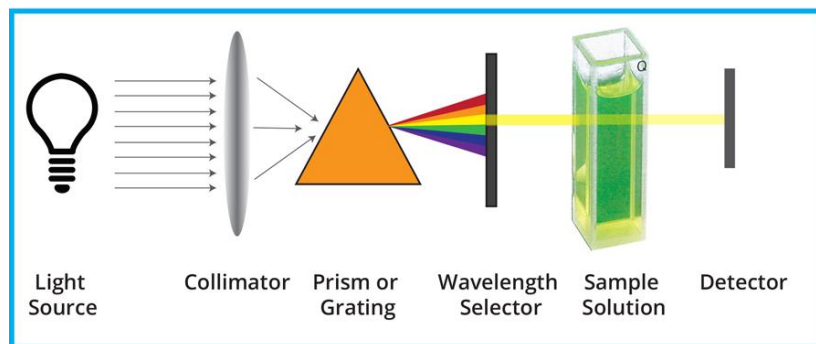
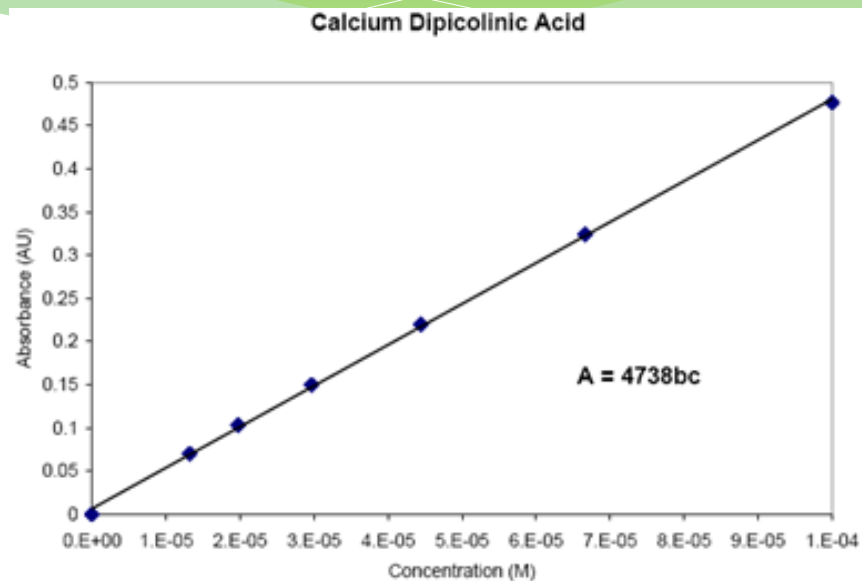


Рис. 15. Оптическая плотность серии растворов с постоянной концентрацией раствора X и переменной концентрацией раствора Y.



•Закон справедлив **только для монохроматического источника излучения** (для одной и постоянной длины волны).

•Линейная зависимость наблюдается **только в определенном интервале концентраций**.

•Для каждого вещества имеется ПДК, выше которой начинается отклонение от этого закона.

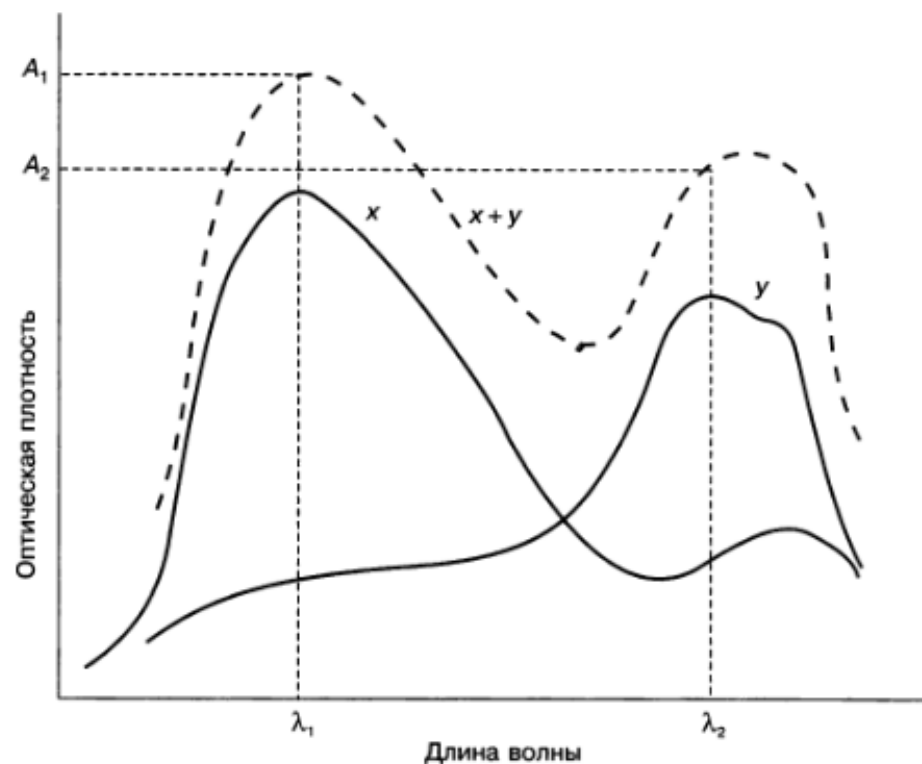
$$D = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

!!!Соблюдается закон аддитивности!!!

свтопоглощение смеси веществ равно сумме свтопоглощения отдельных компонентов (!!! при отсутствии взаимодействия между ними)

- * Из закона Бера следует, что полная оптическая плотность A для данной длины волны равна сумме оптических плотностей всех поглощающих частиц. Для частиц двух видов, если C выражена г/л,

$$A = \varepsilon_x c_x l + \varepsilon_y c_y l$$



Спектры¹⁰ поглощения чистых веществ X и Y и их смеси (1 : 1)

Иногда в фотоколориметрии пользуются понятием «пропускание»:

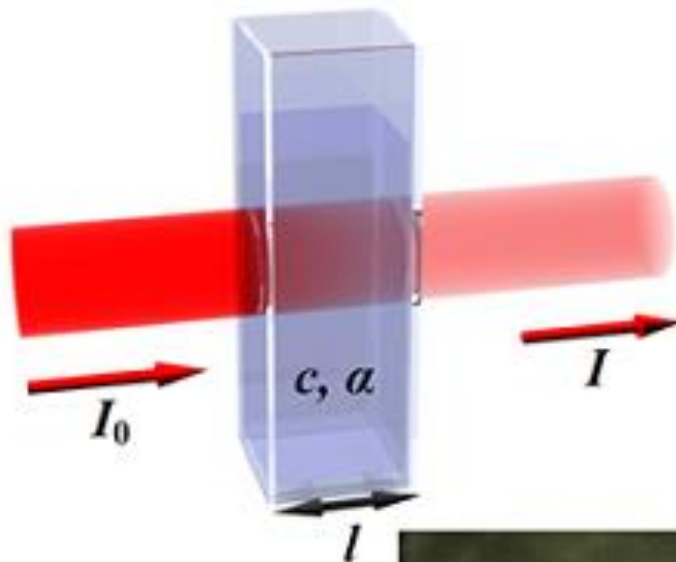
$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-\varepsilon cl}$$

Эта величина связана с оптической плотностью следующим соотношением:

$$D = -\lg \frac{I_0}{I} = \lg T$$

В различных литературных источниках оптическая плотность обозначается по разному

Сравнение оптической плотности и коэффициента пропускания



Пропускание (T) = I/I_0
%Пропускание (% T) = $100T$
Светопоглощение (A) = $\log(I_0/I)$

Пример
прибора
измеряющего
коэффициент
пропускания



Сравнение оптической плотности и коэффициента пропускания



Сравнение оптической плотности и коэффициента пропускания для одного и того же соединения



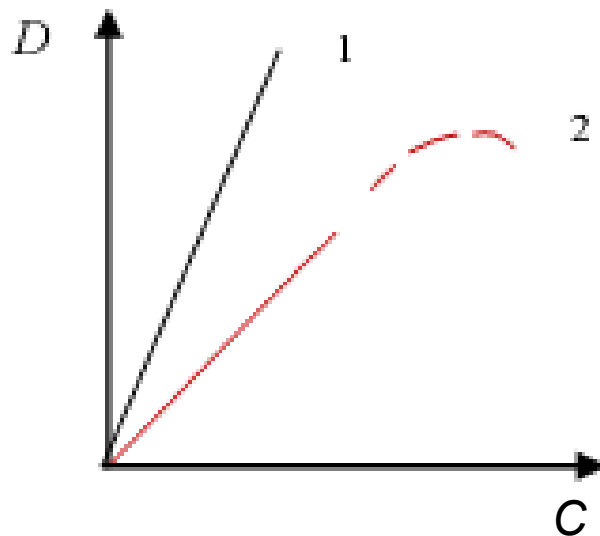
Отклонения от закона Бугера- Ламберта-Бера

Отклонения от закона Бера связаны с химическими и инструментальными факторами.

Отклонения от закона Бугера- Ламберта-Бера

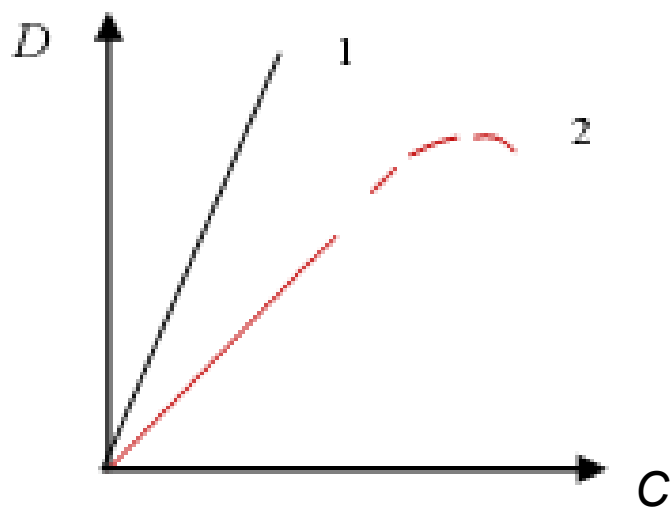
Инструментальный фактор

Отклонения от закона Бера объясняются наличием посторонних веществ и немонохроматичностью света.



Закон Бера справедлив для весьма разбавленных растворов и поэтому область его применения ограничена.

Отклонения от закона Бугера- Ламберта-Бера



3. Лучший способ минимизировать эти отклонения от закона Бера состоит в использовании соответствующих буферных растворов, добавлении большого избытка комплексообразующего реагента, и т. д.

Химические факторы

1. Химические факторы, вызывающие нелинейность, проявляются при смещении химического равновесия.

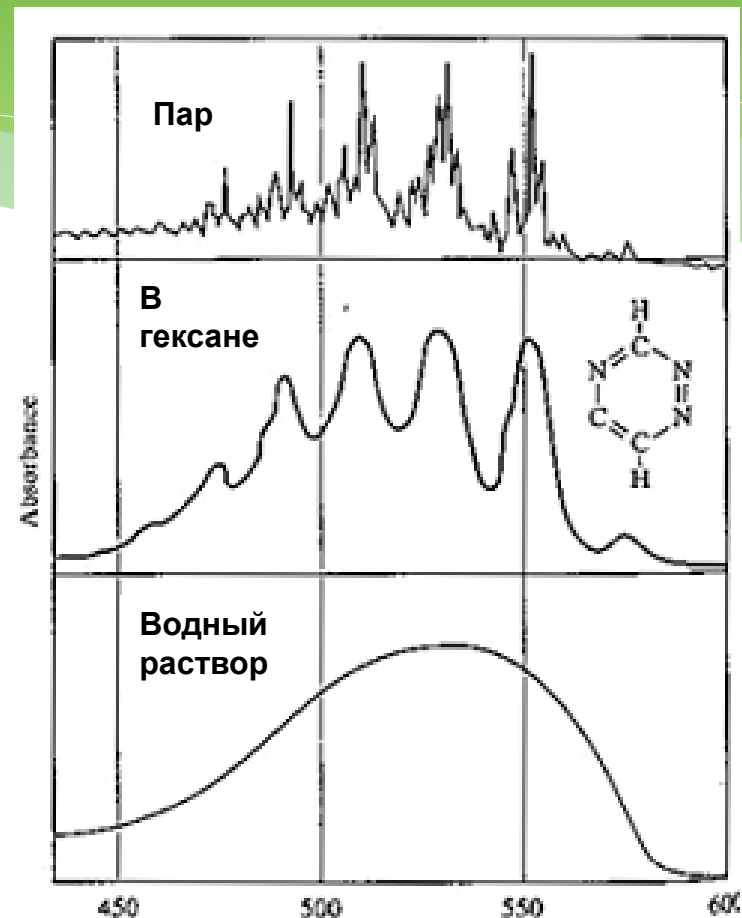


2. Соотношение молекулярных и ионных форм влияет на отклонение

Качественный анализ

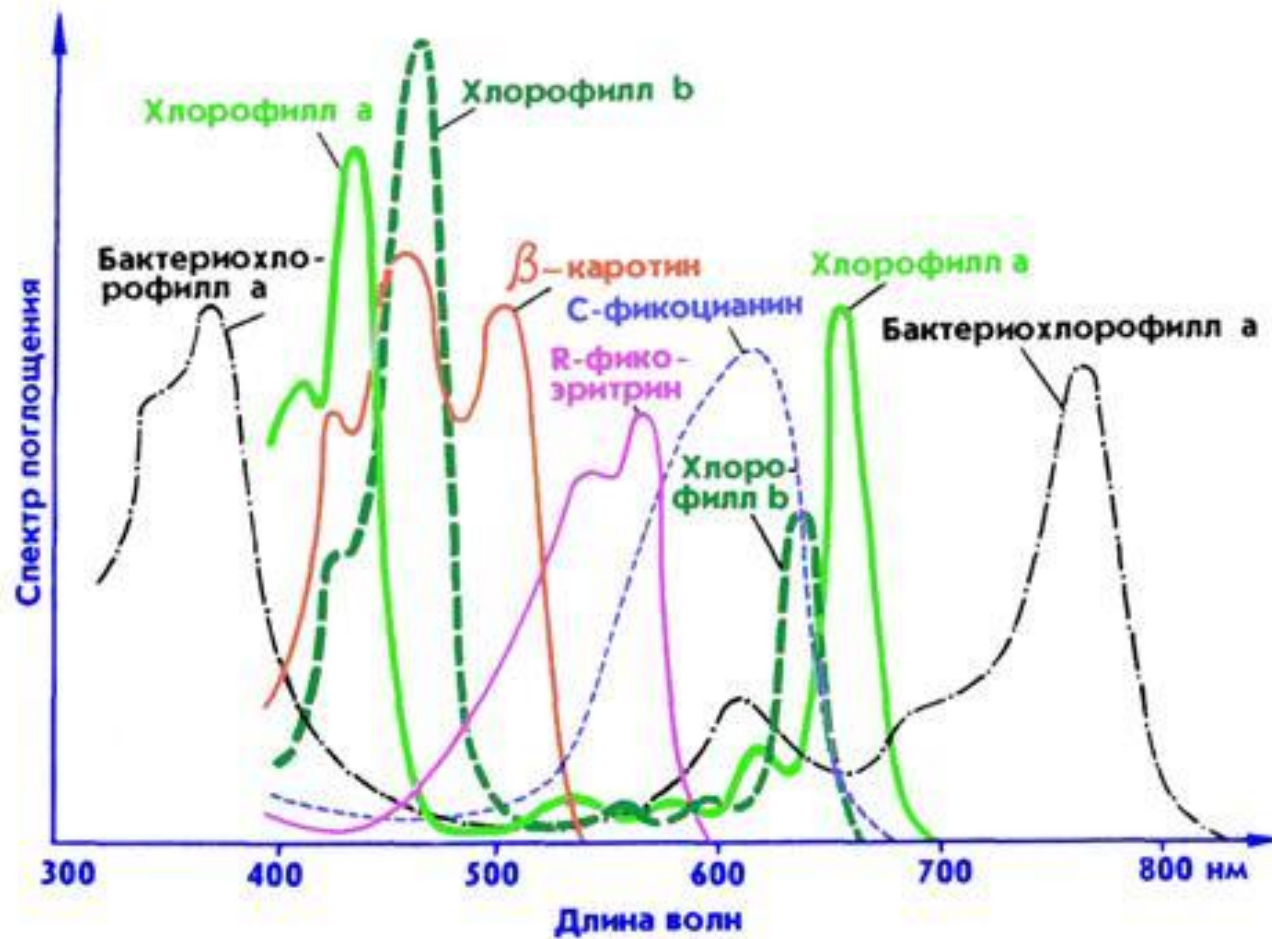
Особенности:

1. Ограничен из-за наличия только нескольких разрешенных полос поглощения.
2. Однозначная идентификация обычно невозможна.
3. Растворители влияют на положение и форму спектра.
4. Растворитель стабилизирует или дестабилизирует основное и возбужденное состояния молекул, изменяя энергию перехода.



- Структура размывается полярностью растворителя

Качественный анализ



Количественный анализ

Количественное определение основано на использовании закона Бера

Способы определения концентраций:

1. Метод градуировочного графика
2. Метод стандартных растворов
3. Метод добавок

Дополнительно используются приемы

1. Фотометрическое титрование
2. Дифференциальная фотометрия

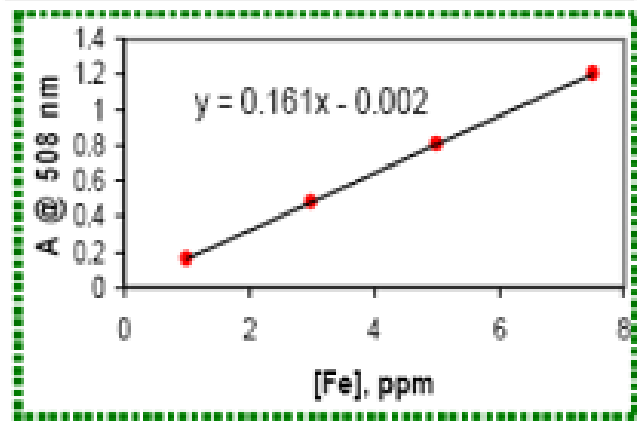
Количественный анализ

Свойства:

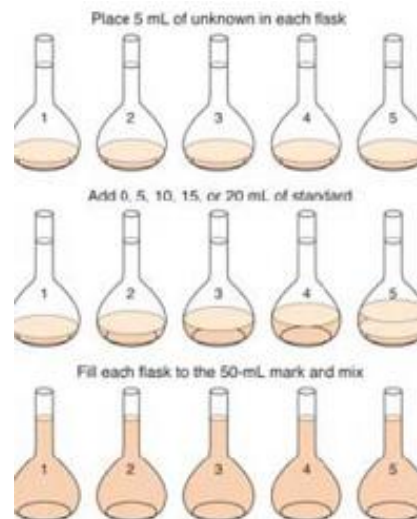
1. Широкий круг определяемых соединений (органических и неорганических)
2. Обладает средней селективностью (зачастую требуется отделение, маскирование, селективная реакция)
3. Предел обнаружения 10^{-4} - 10^{-7} М
4. Точность 1-5 отн.%
5. Относительно недорогой метод (при использовании колориметров)

Градуировочный график

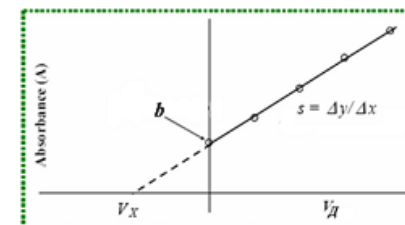
Trial #	[Fe], ppm	$A_{508 \text{ nm}}$
1	1.0	0.160
2	3.0	0.481
3	5.0	0.804
4	7.5	1.206



Метод добавок



$$A = b + sV_A$$



- * Фотометрические методы анализа основаны на :
- * 1. измерениях поглощения энергии анализируемым веществом,

**Абсорбционная
спектроскопия**

Турбидиметрия

Нефелометрия

- * 2. измерениях вторичного излучения вещества, образованного в результате поглощения первичной световой энергии.

Люминесценция

задача

Установлено, что образец, помещенный в кювету, толщиной в 1 см, пропускает 80% света определенной длины волны. Какова концентрация вещества, если коэффициент поглощения вещества при этой длине волны равен 2,0?

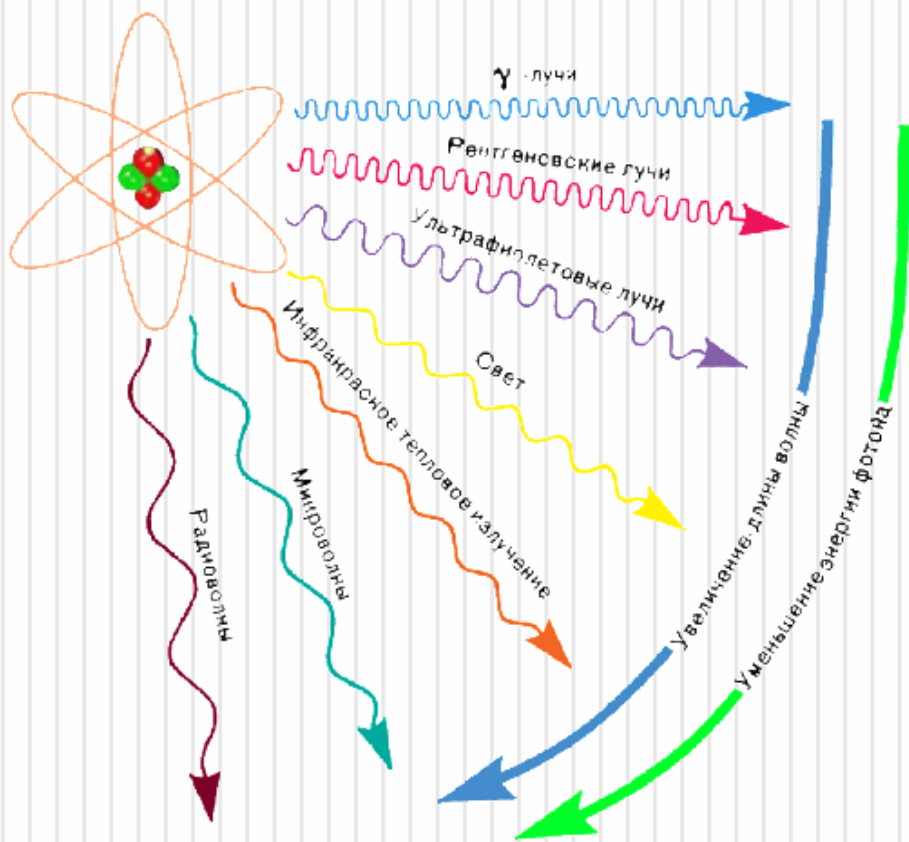
Решение: Пропускание 80% означает, что $T = 0,80$. Тогда:

$$\lg \frac{1}{0,80} = 2,0 \text{ [л / (см} \cdot \text{г)]} \cdot 1,0 \text{ [см]} \cdot c = 2,0 \text{ [см}^{-1} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{л]} \cdot 1,0 \text{ [см]} \cdot c$$

$$\lg 1,25 = 2,0 \text{ [л/г]} \cdot c = 2,0 \text{ [г}^{-1} \cdot \text{л]} \cdot c$$

$$c = \frac{0,10}{2,0} = 0,050 \text{ [г/л]}$$

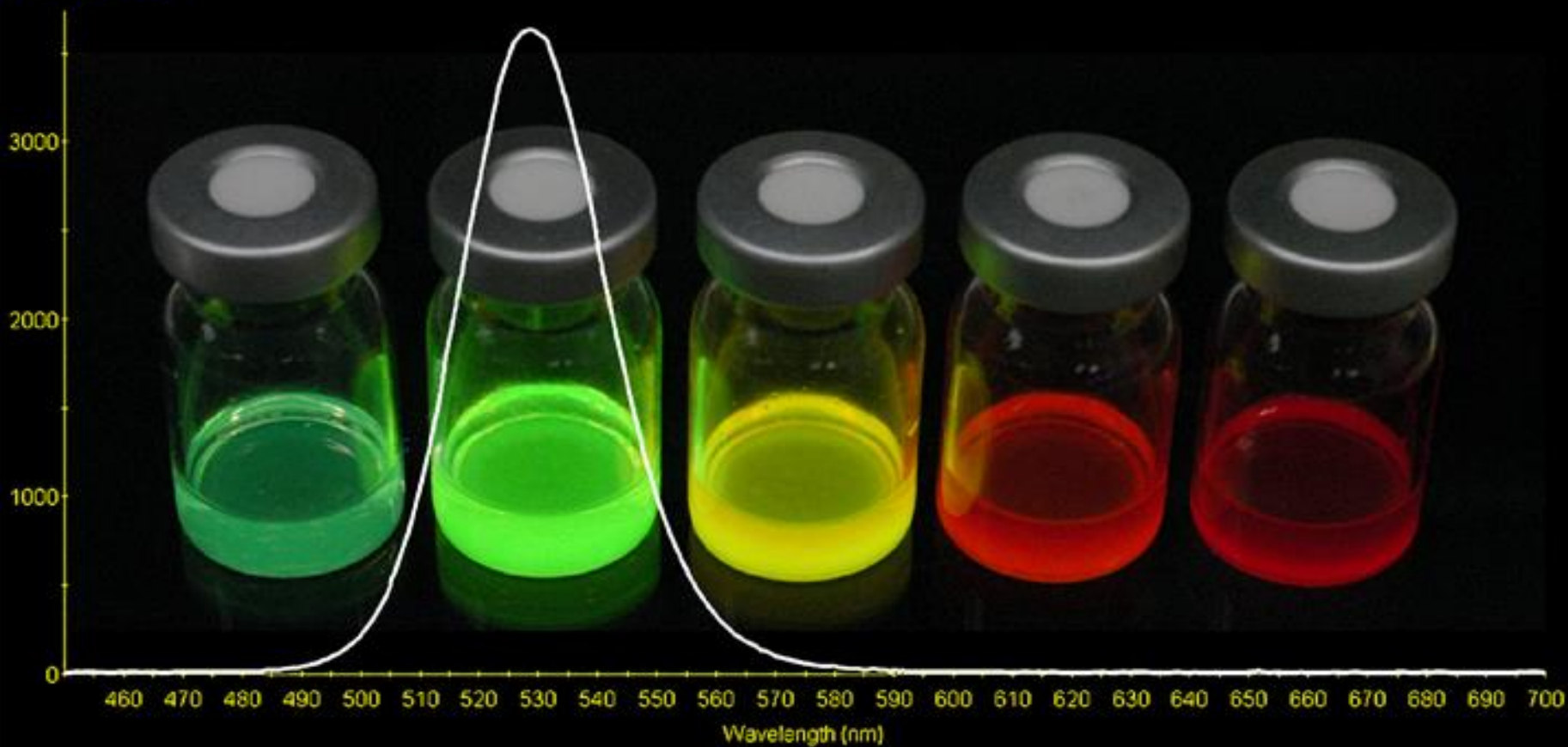
Люминесцентная спектроскопия



Что такое люминесценция

- * **Люминесценция** – свечение атомов, ионов, молекул, возникающее в результате электронного перехода в этих частицах при их возвращении из возбужденного состояния в нормальное. Таким образом молекула преобразует поглощенную энергию в собственное излучение (В.Л.Левшин)
- * Люминесценцию называют холодным свечением
- * Люминесцирующие вещества могут находиться в любом агрегатном состоянии

Intensity (counts)



Классификация видов люминесценции

- 1. По длительности свечения
- 2. По способу возбуждения
- 3. По механизму свечения:
 - свечение дискретных центров – поглощающими и излучающими центрами являются одни и те же частицы (атомы, молекулы, ионы)
 - рекомбинационное свечение – процессы поглощения и излучения разделены во времени и в пространстве; в процессе возбуждения происходит разделение частицы вещества на две противоположно заряженные части; последующая их рекомбинация сопровождается выделением энергии



Гурвич А.М. Введение в физическую химию кристаллофосфоров

Известны **два** механизма люминесценции.

Согласно одному из них, излучение фотона происходит в акте рекомбинации пары электрон - дырка. Если ток течет в прямом направлении через переход, электроны из области *n* - типа переходят в область / *p*-типа и рекомбинируют там с дырками.


Второй механизм излучения фотона объясняют возбуждением атома активатора при столкновении с ним электрона.

1. Классификация люминесценции по длительности свечения

- **Флуоресценция** ($= 10^{-8}$ с)
 - При флуоресценции молекула переходит в основное состояние из короткоживущего возбужденного состояния
 - Она наблюдается сразу же после поглощения света, быстро спадает и исчезает в результате столкновений излучающей молекулы с другими молекулами в растворе (тушение флуоресценции)
- **Фосфоресценция** ($>10^{-6}$ с)
 - Фосфоресценция наблюдается при переходе молекулы в основное состояние из относительно долгоживущего возбужденного состояния, так что между поглощением и испусканием света может пройти относительно много времени
 - Для фосфоресценции характерны большая длина волны излучения, меньшая интенсивность и большее влияние матрицы


2. Классификация люминесценции по способам возбуждения

Электромагнитное излучение УФ- и видимого диапазона	Фотолюминесценция
Поток электронов (катодные лучи)	Катодолюминесценция
Поток ионов щелочных металлов	Ионолюминесценция
Рентгеновское излучение	Рентгенолюминесценция
Радиоактивное излучение	Радиолюминесценция
Тепловая энергия	Термолюминесценция
Ультразвук	Сонолюминесценция
Механическое воздействие	Триболюминесценция
Энергия химической реакции	Хемилюминесценция



В аналитической практике чаще используют фото- и хемилюминесценцию

- * Флуоресцентные измерения **более избирательны, чем спектрофотометрические**, поскольку зависят от двух длин волн: поглощаемого и испускаемого света
- * По сравнению с молекулярной абсорбционной спектроскопией метод обладает **большей чувствительностью**
 - * *(Это обусловлено тем, что метод относится к силовым, в котором выходной сигнал увеличивается с увеличением интенсивности излучения)*
- * **Пределы обнаружения для большинства соединений составляют $\sim 10^{-3}$ мкг/мл**, что на 1-2 порядка ниже, чем в абсорбционной спектроскопии

- 
- * Кроме того, в ряде случаев наблюдается **большой линейный диапазон определяемых содержаний** – иногда до 4-х порядков величин концентраций
(при той же воспроизводимости результатов анализа)

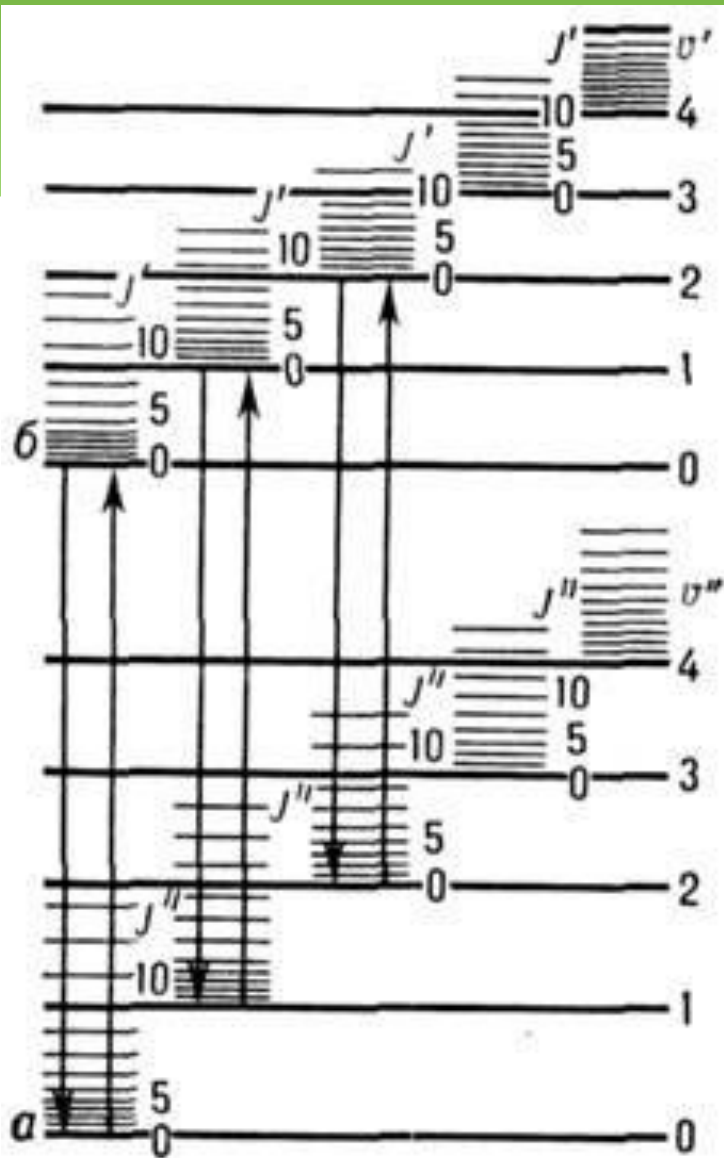
Все это предопределило развитие люминесцентного метода анализа

Молекулярная люминесцентная спектроскопия (флуориметрия)

Фотопроцессы в молекулах

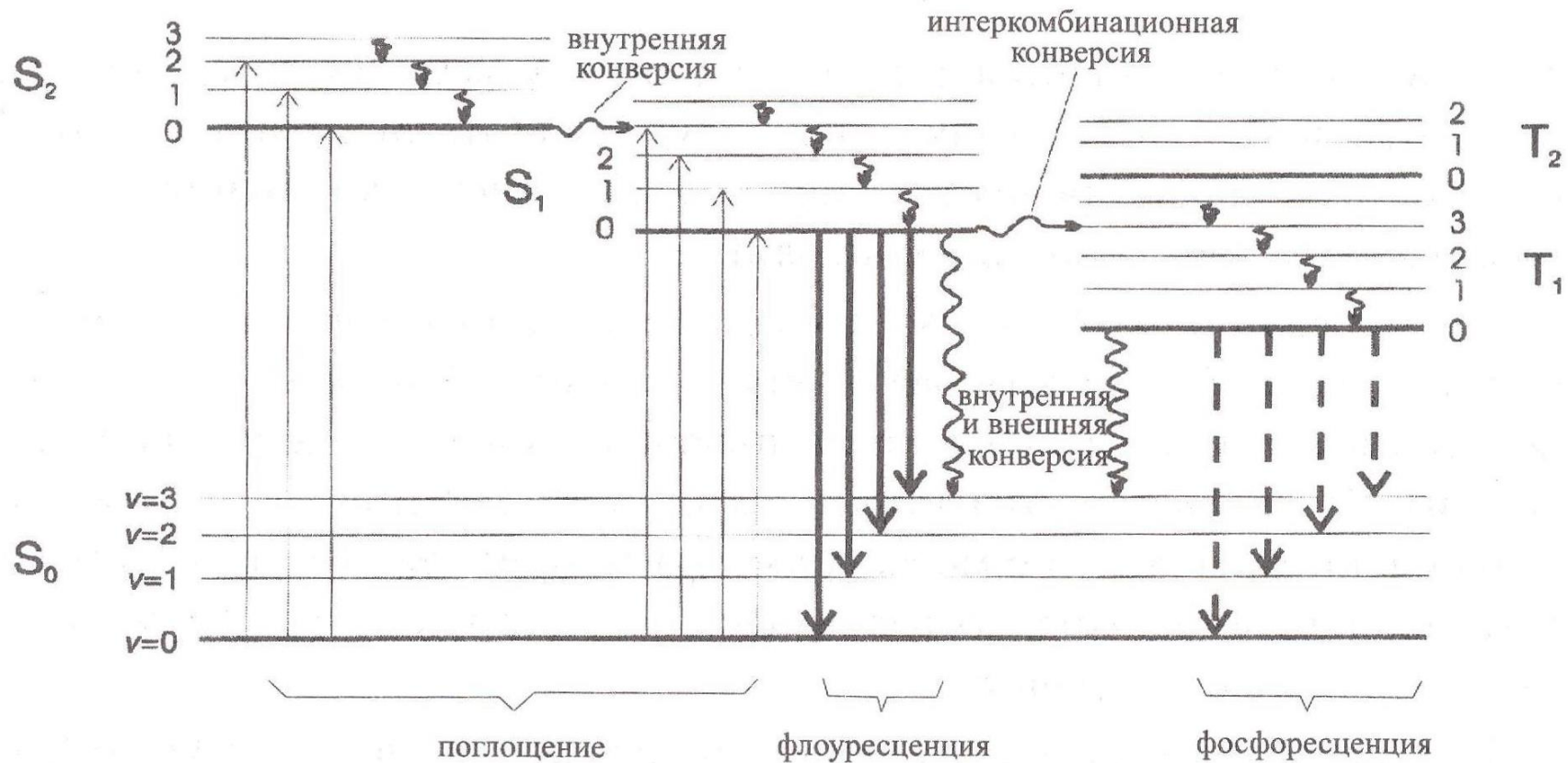
- * Электронное возбуждение молекулы связано с переходом электрона из основного состояния в возбужденное с большей энергией
- * Возбужденные молекулы переходят в основное состояние, **часто испуская свет**
- * Конкурирующие физические процессы могут приводить к образованию нового возбужденного состояния, при этом общая потеря электронной энергии несколько задерживается
- * В конечном счете все же происходит быстрый переход всех возбужденных состояний в основное состояние системы
- * **Происхождение люминесцентного излучения поясняется диаграммой Яблонского**

Схема уровней энергии двухатомной молекулы

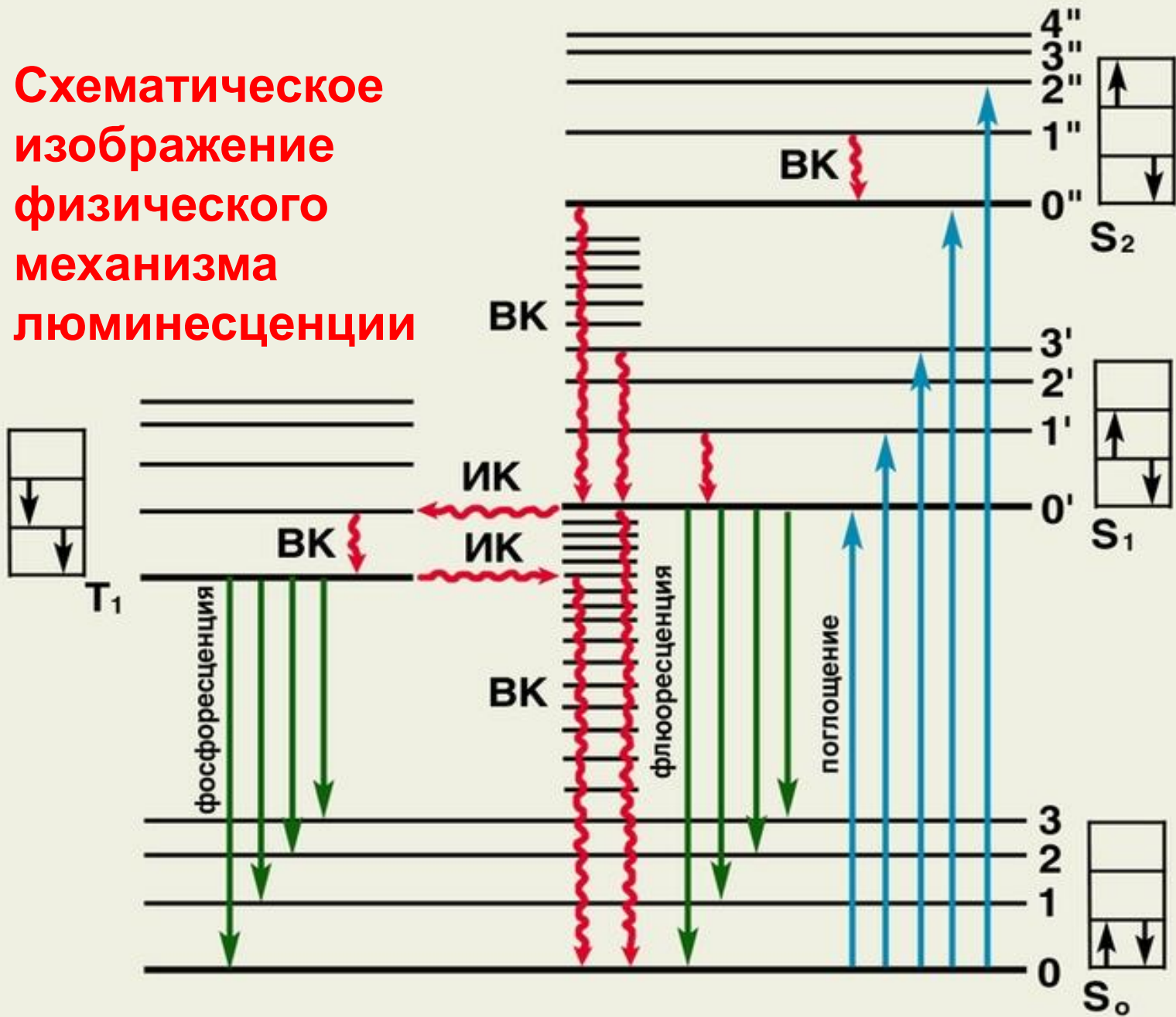


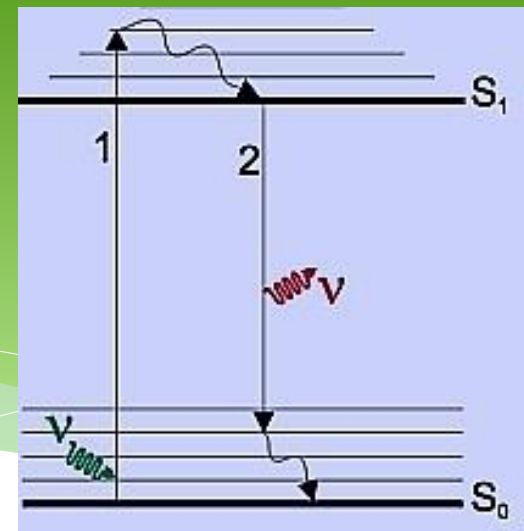
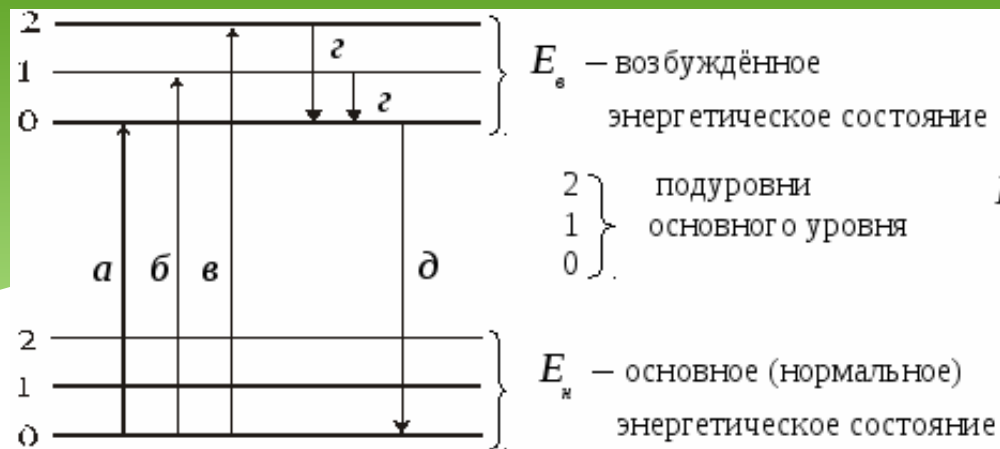
а и б -электронные уровни;
 v' и v'' - колебательные квантовые числа;
 J' и J'' - вращательные квантовые числа.

Диаграмма Яблонского



Схематическое изображение физического механизма люминесценции





Перераспределение электронов после поглощения света при флюоресценции происходит в очень короткий период времени ($10^{-8} - 10^{-9}$) с.

Переходы «г» соответствуют процессу колебательной дезактивации молекул и происходят во время столкновения с молекулами других веществ или растворителями. Они не сопровождаются излучением лучистой энергии.

С выделением лучистой энергии происходит только переход «д». При этом энергия переходов:

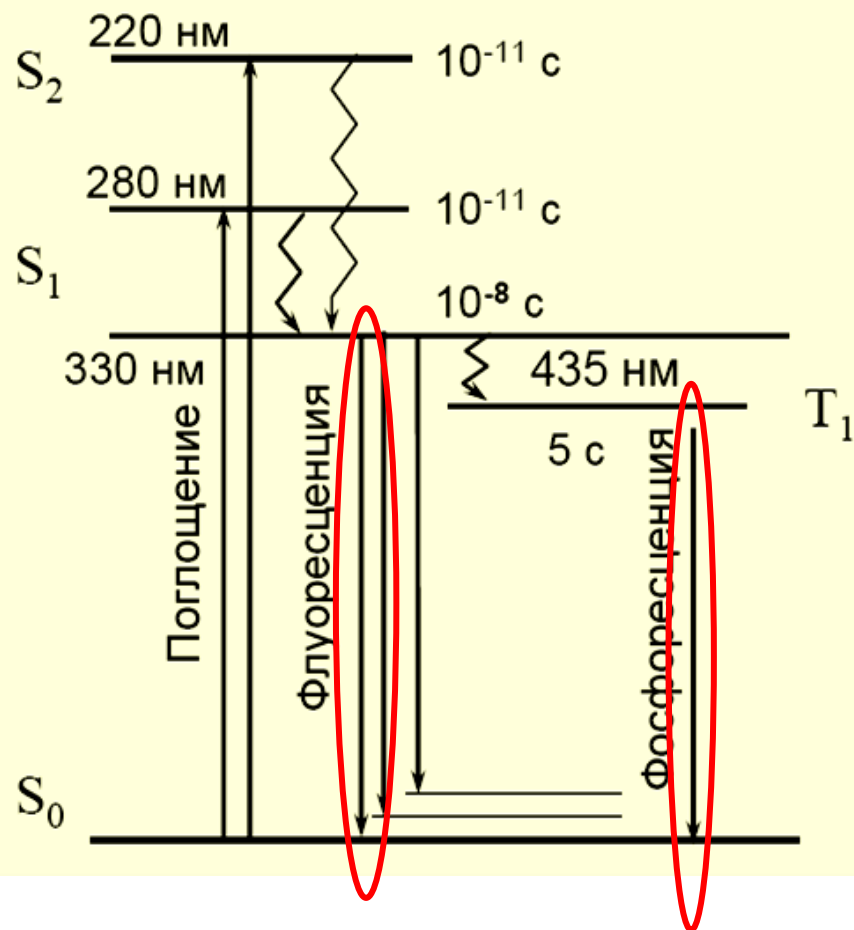
$$E_d = h(\nu_s^0 - \nu_n^0)$$

$$E_d = E_a < E_b < E_v,$$

Основные закономерности молекулярной люминесценции

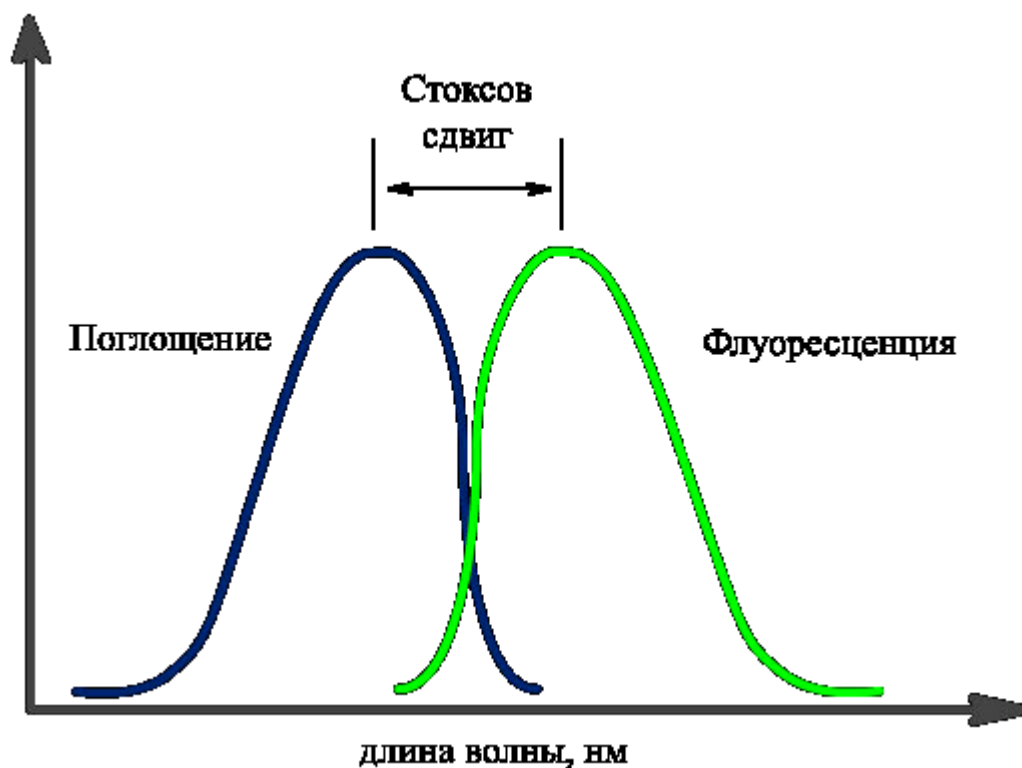
- * **Правило Каши:** форма спектра люминесценции не зависит от длины волны возбуждающего света, т.к. **излучательный переход может происходить только с самого нижнего колебательного уровня**

спектр люминесценции всегда будет одним и тем же независимо от того, на какой энергетический уровень попал электрон в результате поглощения фотона



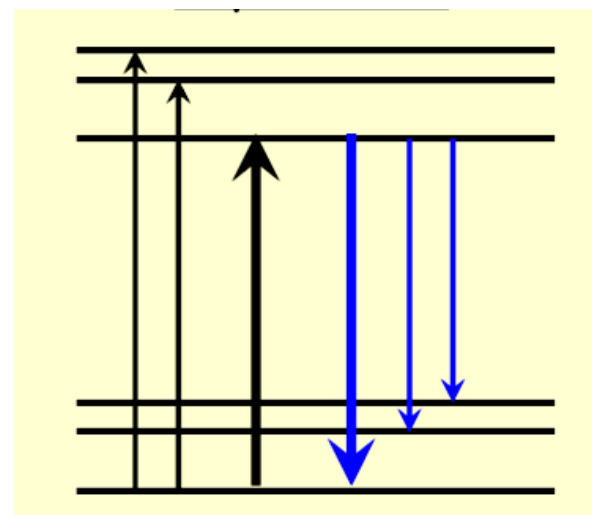
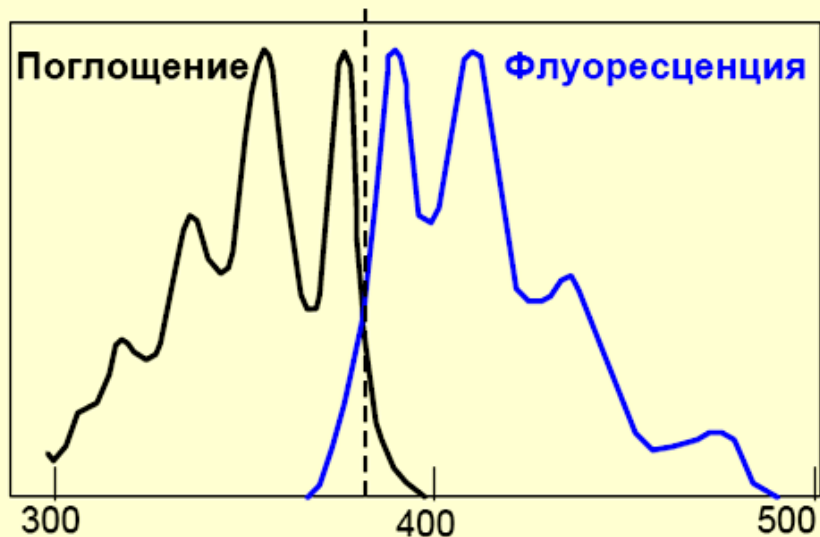
Закон Стокса-Ломмеля

- * Энергия испускаемого фотона ниже, чем энергия поглощенного фотона, поэтому спектр флуоресценции молекулы находится в области более длинных волн по сравнению со спектром поглощения -

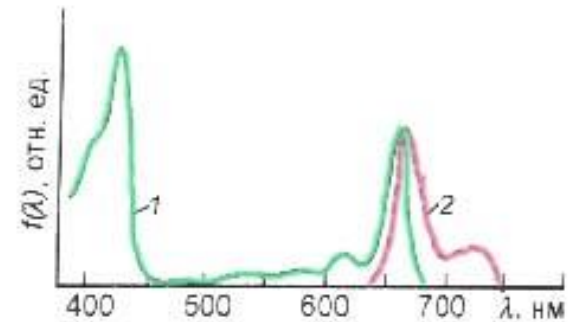
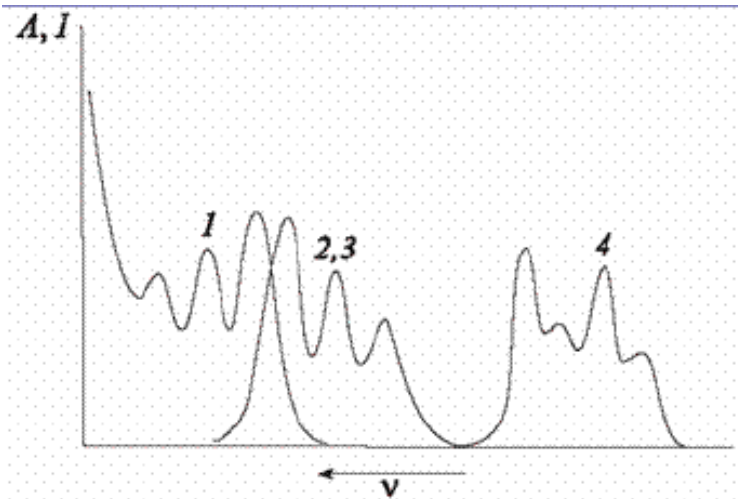


Правило Левшина

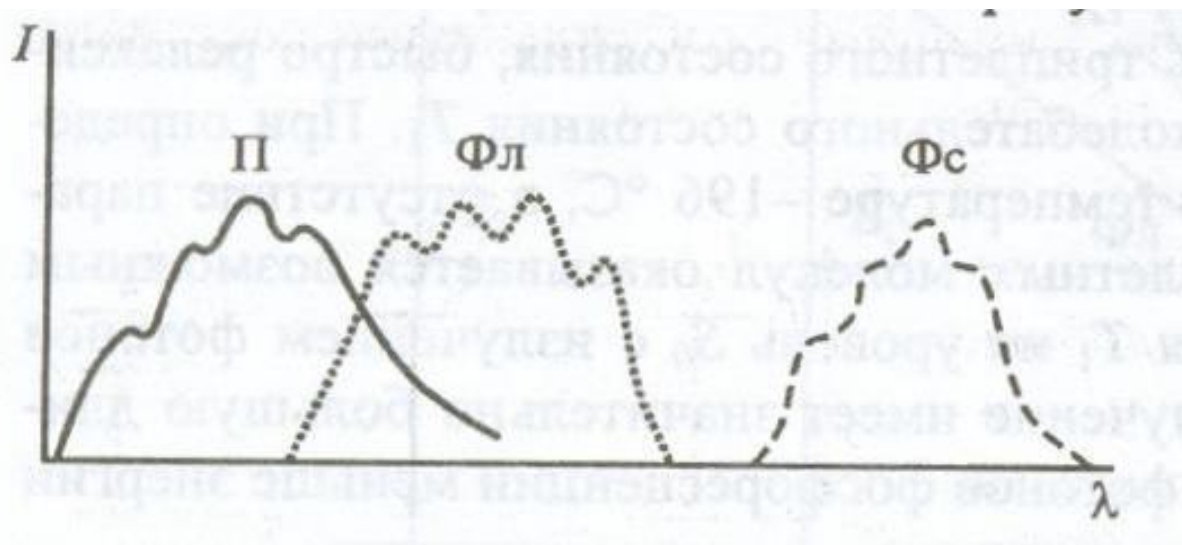
- * **спектры поглощения и флуоресценции зеркально симметричны**, поскольку структура колебательных подуровней одинакова в основном и возбужденном состояниях



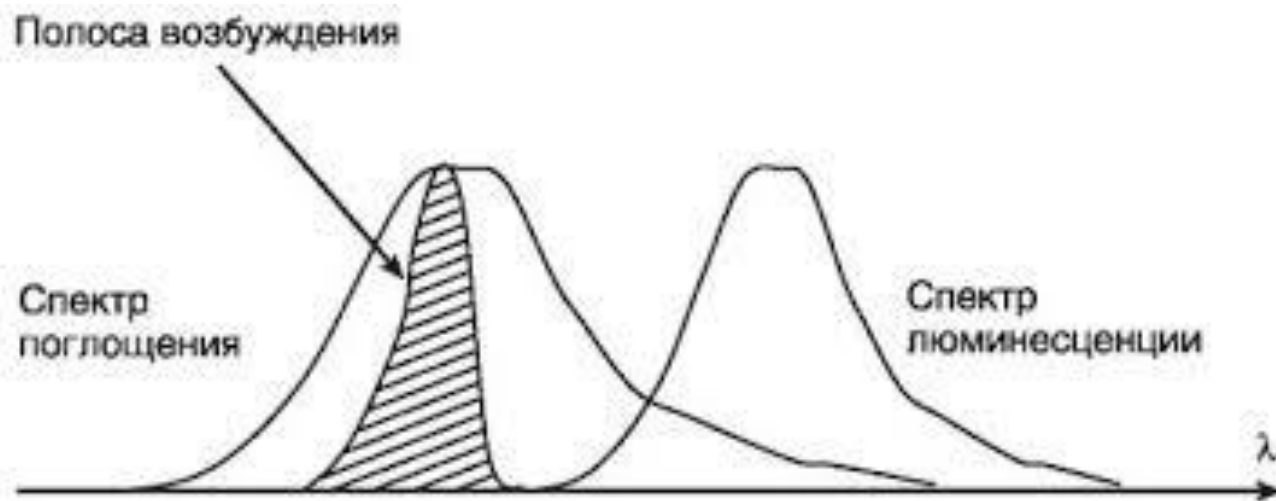
Относительное расположение спектров

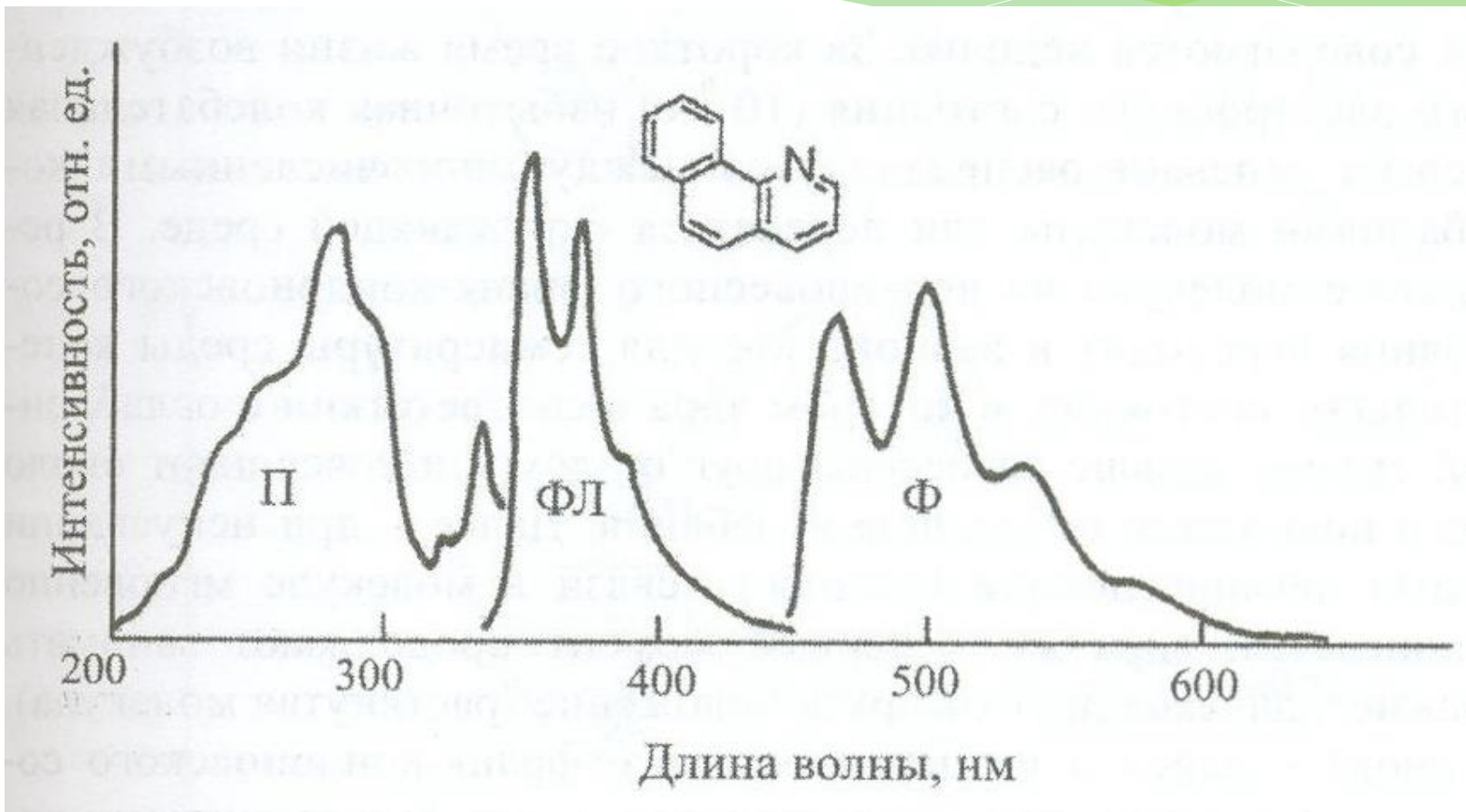


- поглощения (1)
- флуоресценции (2)
- замедленной флуоресценции (3)
- фосфоресценции (4)
- координаты: $A = f(\nu)$ - 1; $I = f(\nu)$ - 2, 3, 4

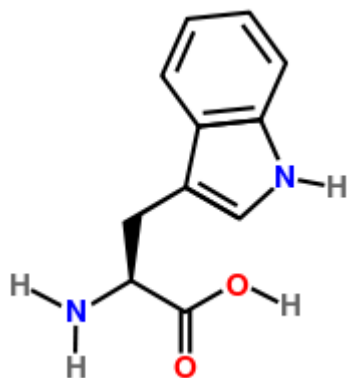


Спектр фосфоресценции в соответствии с диаграммой Яблонского лежит в области более длинных волн, чем спектр флуоресценции

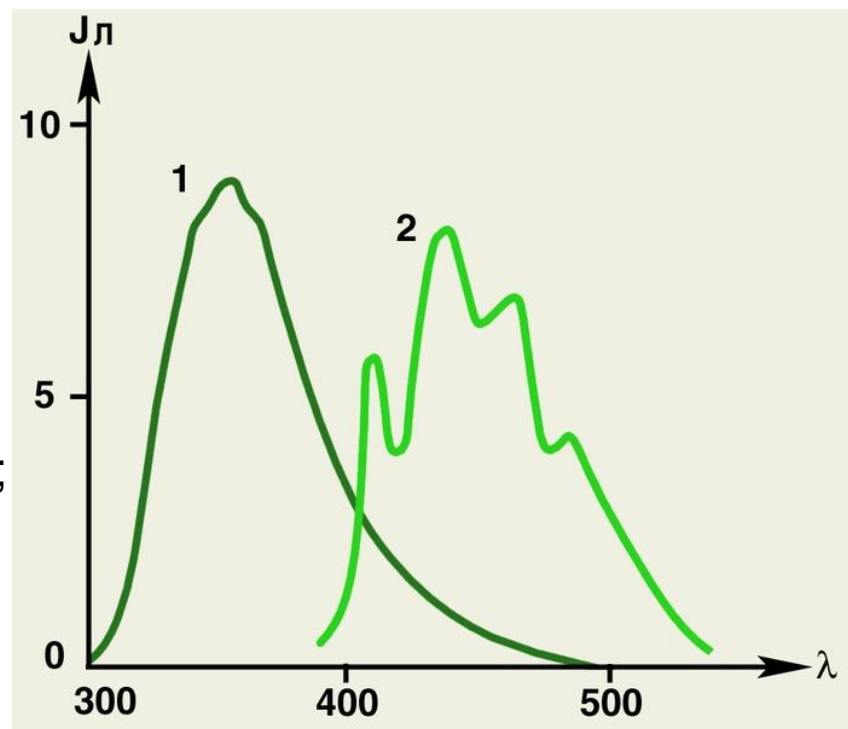




Спектры флюоресценции и фосфоресценции молекул триптофана



- λ - длина волны люминесценции (в нм);
 J_{λ} - интенсивность люминесценции (в у.е.);
1 - спектр флюоресценции (при +20°C);
2 - спектр фосфоресценции (при 196°C).



Характеристики люминесцирующих молекул

1. **Спектр возбуждения люминесценции** - зависимости интенсивности люминесценции I от частоты (волнового числа) или длины волны возбуждающего света
2. **Спектр люминесценции** - зависимость интенсивности люминесценции от ее длины волны $I = f(\lambda); I = f(\nu)$
3. **Время жизни люминесценции** – время, за которое интенсивность излучения уменьшится в e раз, поскольку затухание люминесценции происходит по закону:

$$I_t = I_0 e^{-t/\tau}$$

4. **Энергетический выход люминесценции $B_{эн}$** - отношение излучаемой энергии к поглощенной

$$B_{эн} = \frac{E_{ФЛ}}{E_{погл}}$$

5. **Квантовый выход $B_{кв}$** - отношение числа излучаемых квантов к числу поглощенных квантов светового потока

$$B_{кв} = \frac{N_{ФЛ}}{N_{погл}}$$

Измерения в люминесценции

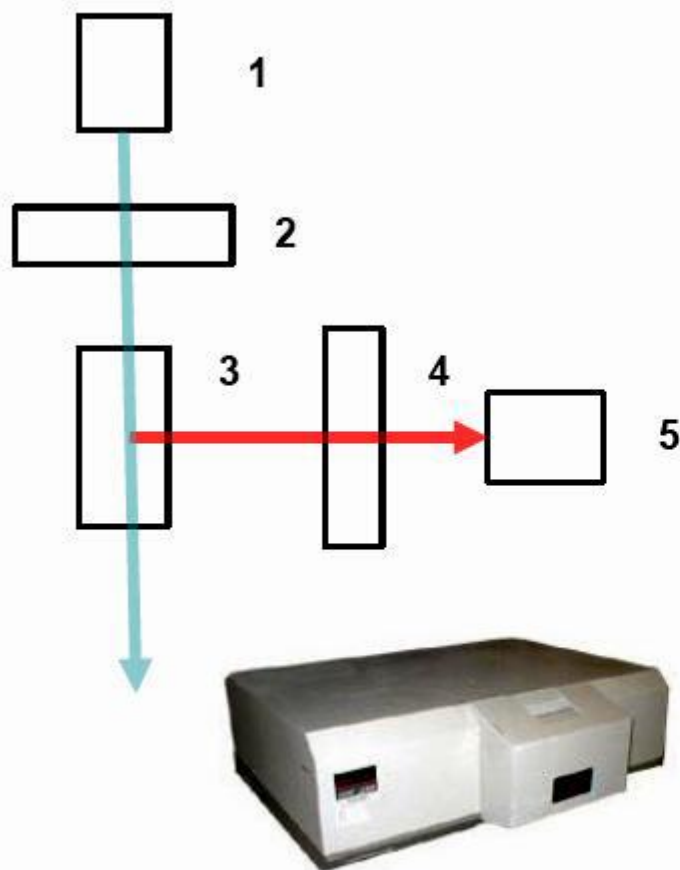
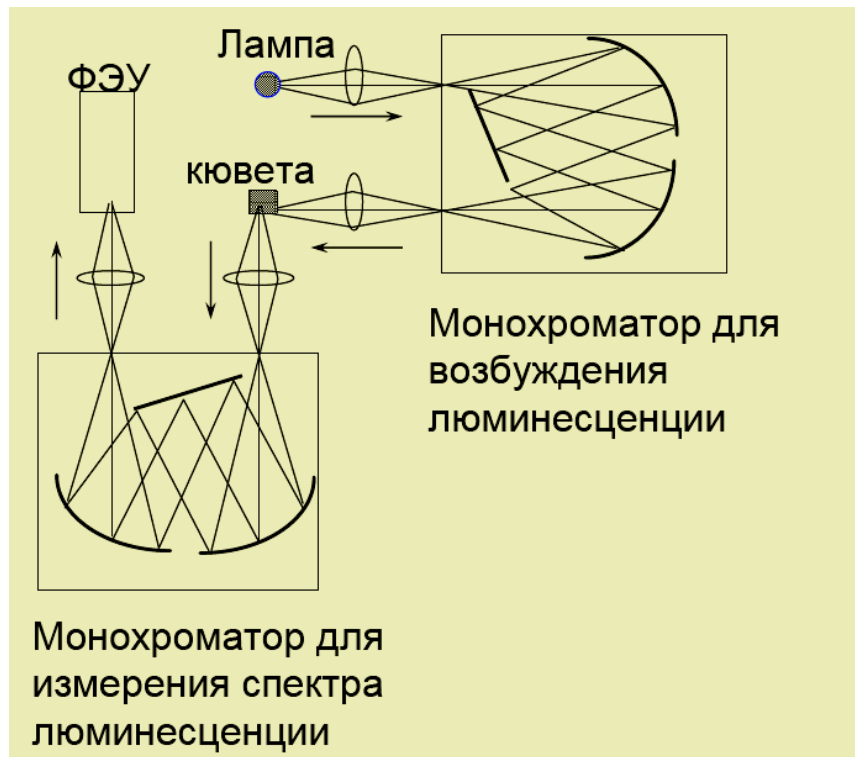
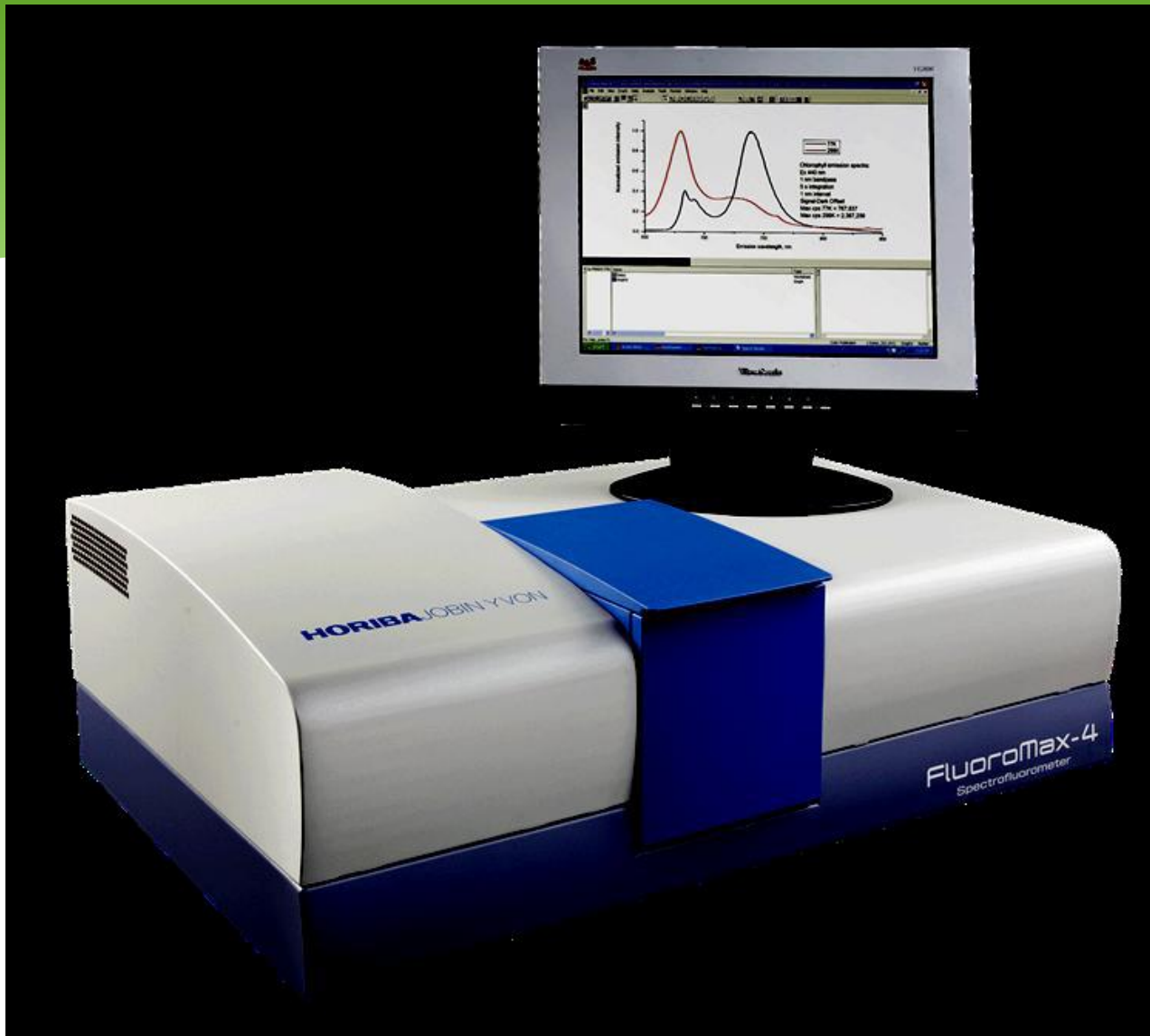


Схема спектрофлуориметра

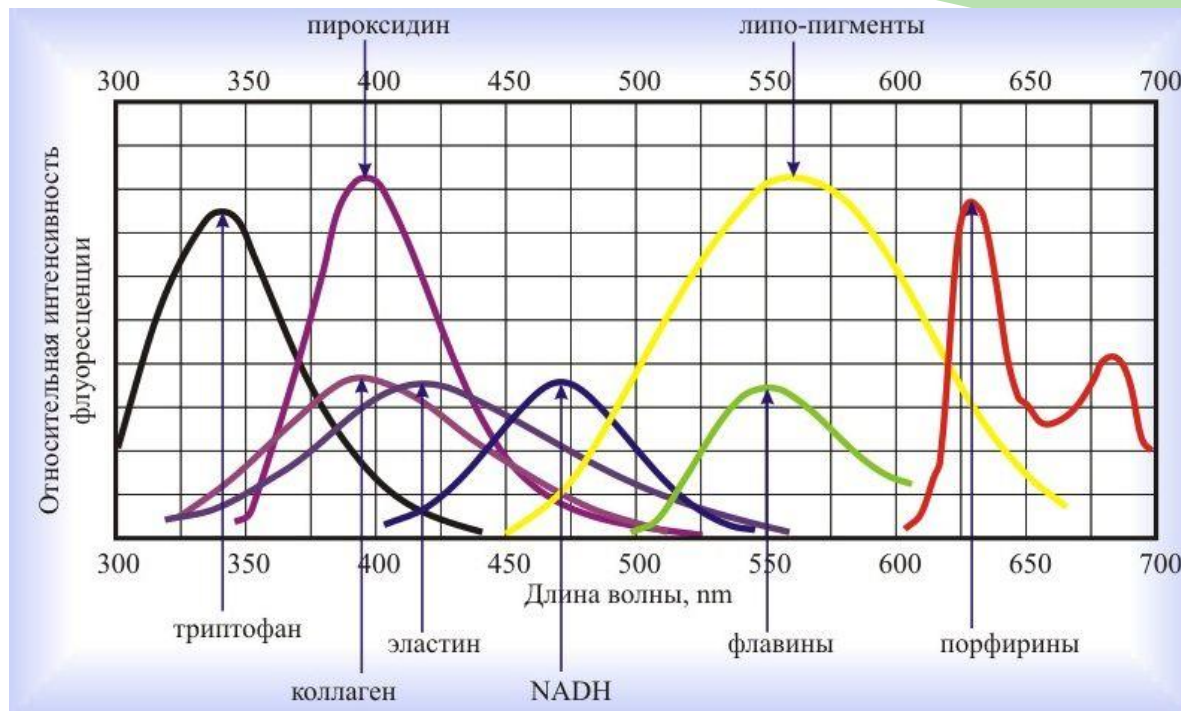


- * Для возбуждения люминесценции используется УФ-излучение. **Источники излучения** – газоразрядные лампы, чаще всего ртутно-кварцевые и ксеноновые
- * Измерение люминесцентного излучения чаще всего проводят под прямым углом к падающему лучу света, поэтому **кюветы должны быть прозрачны** во всех направлениях
- * Высококачественный прибор имеет 2 **монохроматора** – для регистрации спектра возбуждения и флуоресценции
- * **Приемником излучения** может служить глаз человека. В современных приборах используются фотоумножители (ФЭУ)
- * Для регистрации **фосфоресценции** необходимо устройство для охлаждения пробы и механический или электронный прерыватель, позволяющий облучать пробу короткими импульсами и тем самым отделять длительную фосфоресценцию от кратковременной флуоресценции



Спектрофлуориметр фирмы Horiba Fluoromax - 4

Качественный анализ



Идентификация веществ происходит в области минимального пересечения длин волн

Использование качественного анализа весьма ограничено вследствие накладывания спектров люминесцирующих веществ друг на друга

Качественный анализ

1. Спектр люминесценции есть индивидуальная характеристика люминесцирующего вещества. Спектры могут быть использованы для качественного люминесцентного анализа. Обычно такой анализ проводится визуально по цвету излучения.
 - * Качественный люминесцентный анализ применяют для исследования минералов, определения марок стёкол, сортов смазочных масел и т.п.
2. Очень чувствительны качественные **люминесцентные реакции**, используемые для обнаружения ионов
3. Возникновение или исчезновение люминесценции обычно наблюдается визуально при добавлении органических реагентов к растворам неорганических солей
 - * Так, ярко-зеленая люминесценция лития с 8-оксихинолином возникает в присутствии 0,1 мкг/мл Li,
 - * медь открывают по ярко синей люминесценции ее соединения с салицилалазином при концентрации 0,05 мкг/мл и т.д.

Количественный анализ

В основе количественного анализа лежит зависимость интенсивности люминесценции от концентрации люминесцирующего вещества

$$I_{\text{фл}} = K \cdot I_0 \cdot B_{\text{кв}} \cdot \varepsilon \cdot c \cdot l$$

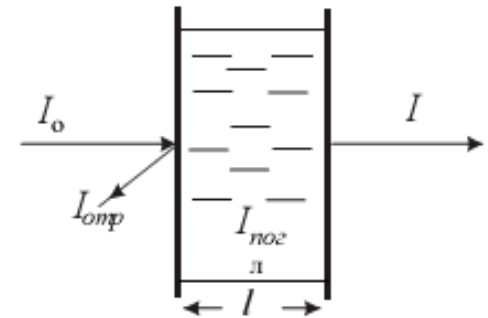
где K – коэффициент пропорциональности

$B_{\text{кв}}$ – квантовый выход люминесценции

I_0 – интенсивность возбуждающего света

ε – молярный коэффициент поглощения

l – толщина слоя раствора



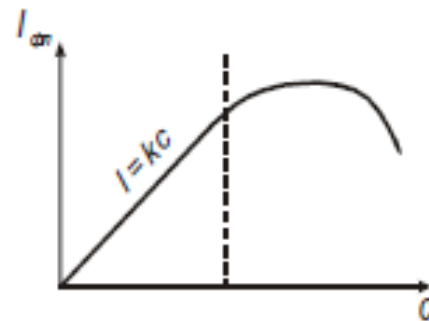
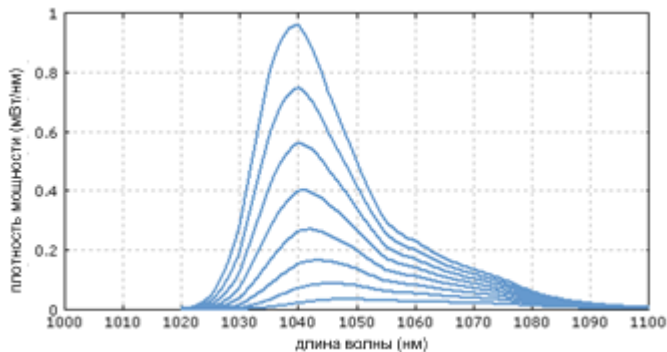
Это соотношение справедливо, если постоянны:

квантовый выход

интенсивность возбуждающего света

$$I = K \cdot c$$

- * Зависимость линейна в пределах 3-4 порядков величин концентрации (10^{-7} - 10^{-4} М)



- * При концентрациях $>10^{-4}$ М линейность графика нарушается из-за **концентрационного тушения люминесценции**, **самопоглощения** и др.

Факторы, влияющие на выход люминесценции

- **Тушение** люминесценции происходит при столкновении возбужденной молекулы с другими, особенно парамагнитными (растворенный кислород), которые стимулируют процессы интеркомбинационной конверсии
- * **Повышение температуры** уменьшает выход люминесценции. Это связано с тем, что возрастает частота соударений, при которых происходит безызлучательная дезактивация возбужденных молекул. Поэтому определения проводятся, как правило, при комнатной температуре
- * **Присутствие посторонних веществ** также понижает выход люминесценции. Наиболее активные тушители люминесценции - катионы и анионы «тяжелых» элементов (I⁻, Br⁻, Cs⁺ и др.), парамагнитные ионы и молекулы (Mn²⁺, O₂ и др.), молекулы растворителя
- * **Самопоглощение** – состоит в поглощении части испускаемого света слоем люминесцирующего вещества

Применение метода

Число флуоресцирующих веществ ограничено.

Метод применим для определения :

- 1. веществ**, обладающих **собственной люминесценцией** (соединения U(VI), особенно уранил-иона UO^{2+} , РЗЭ и др.)
- 2. ионов металлов в виде комплексов** с органическими реагентами:
 - * δ -оксихинолин и его производные (более 25 элементов, в т.ч. Li, Ca, Mg, Ba, Sc, Al, In, Ga)
 - * оксиазо- и оксиазометиновые соединения (Al, Ga, Mg и др.)
 - * полиоксифлавоны (Zr, Hf, Sn, Th, Al, Be)
 - * родаминовые красители (Au, In, Ga, Hg, B, Te и др.)
- 3. органических веществ** - конденсированных полиароматических систем (антрацен, флуорен, флуоресцеин, ...)
- 4. кристаллофосфоров** или **твёрдых растворов**. Обычно их получают спеканием основного вещества (ZnS, CdS, CaS, SrS и др.) с активатором (соединения Ag, Cu, Mn, Se и др.) и плавнем (NaCl, $NaNO_3$, KCl, CaF_2 и др.).

- * Кристаллофосфоры обозначают химическими символами основного вещества, образующего кристаллическую структуру активатора и плавня.
 - * Например, запись $ZnS \times Ag \times NaCl$ означает, что данный кристаллофосфор представляет собой сульфид цинка, активированный атомами серебра, и при синтезе его использован плавень — хлорид натрия
- Например, уран в количестве 10^{-5} мкг можно определить с применением кристаллофосфора на основе NaF, сурьму в количестве 10^{-6} мкг – на основе CaO, редкоземельные элементы в количестве 10^{-6} мкг – на основе ThO₂

**Чувствительность определения сопоставима , а иногда и превосходит атомно-спектроскопические методы:
селективность не очень высока**

Флуориметрические определения

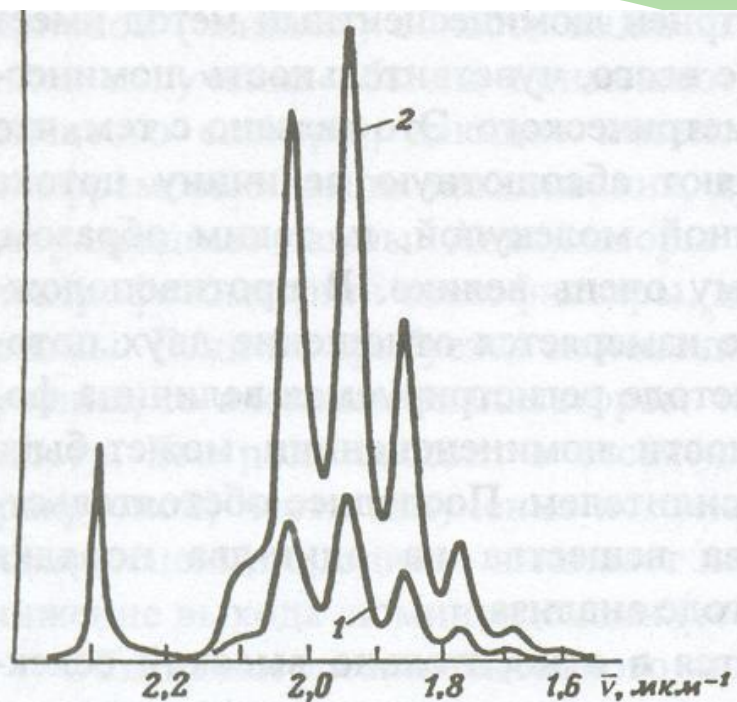


Рис. 11.62. Спектры люминесценции уранил-иона в H_2SO_4 ($c_{\text{H}_2\text{SO}_4}$, М):

1 — 0,05; 2 — 2,5

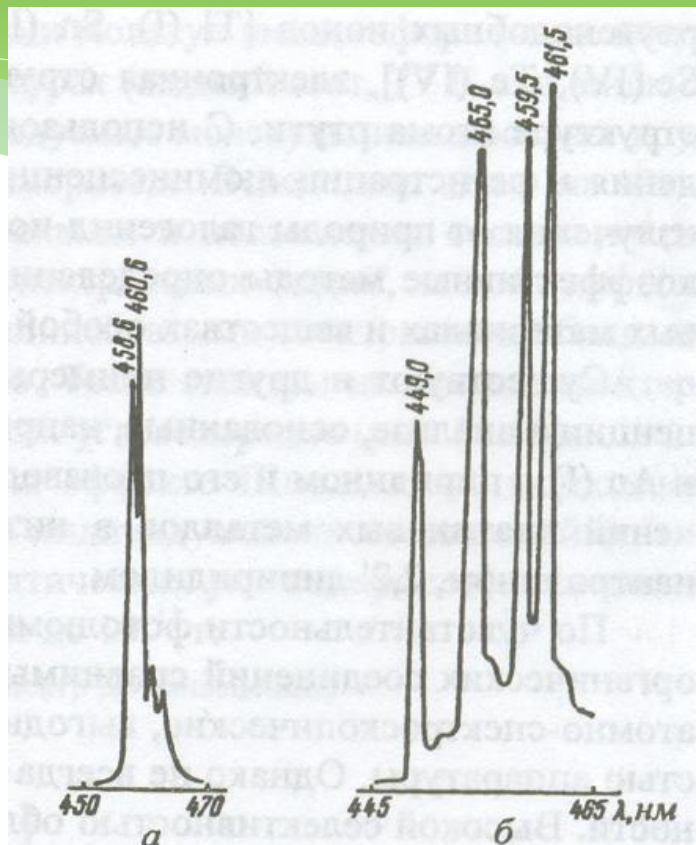
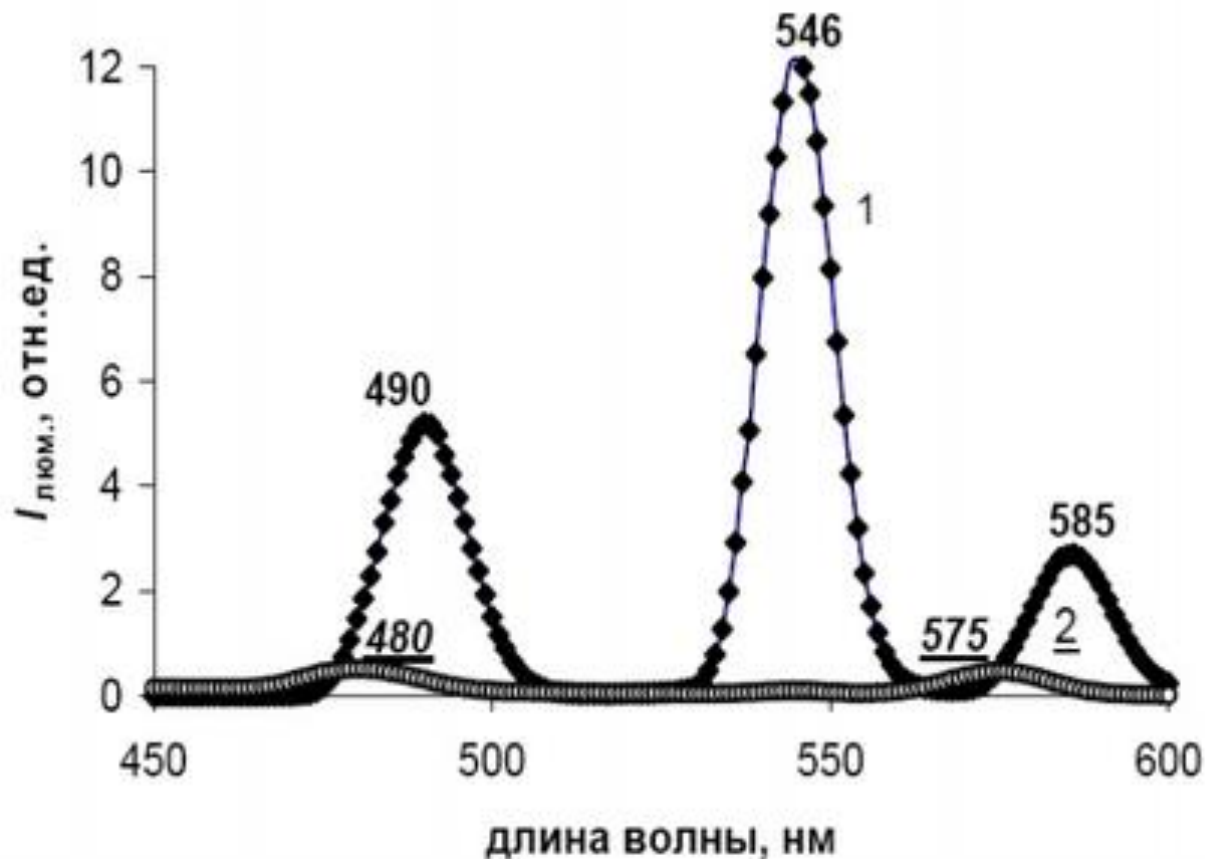


Рис. 11.63. Спектры люминесценции кристаллофосфоров, содержащих Tm^{3+} , в области 445—470 нм. Матрицы: а — LaOCl ; б — YOF

Флуориметрические определения



Спектры люминесценции комплексов Tb (III) – 1 и Dy (III) – 2 с 3-(6-бензодиоксанил)пиразол-5-карбоновой кислотой



В аналитической практике чаще используют фото- и хемилюминесценцию

- * Флуоресцентные измерения **более избирательны, чем спектрофотометрические**, поскольку зависят от двух длин волн: поглощаемого и испускаемого света
- * По сравнению с молекулярной абсорбционной спектроскопией метод обладает **большей чувствительностью**
 - * *(Это обусловлено тем, что метод относится к силовым, в котором выходной сигнал увеличивается с увеличением интенсивности излучения)*
- * **Пределы обнаружения для большинства соединений составляют $\sim 10^{-3}$ мкг/мл**, что на 1-2 порядка ниже, чем в абсорбционной спектроскопии