



Дисциплина

«Методы фармакопейного анализа»

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА
АТОМНО-ЭМИССИОННЫЙ
СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

Лекция 11

(лектор: доцент, к.фарм.н. Солодунова Г.Н.)

СПЕКТРОСКОПИЯ И СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

К оптическим методам анализа относят физико-химические методы, основанные на взаимодействии электромагнитного излучения с веществом. Это взаимодействие сопровождается явлениями, из которых наиболее важны испускание, поглощение и рассеяние излучения. Возникающие при этом сигналы несут качественную и количественную информацию о веществе. Частота сигнала отражает специфические свойства вещества, его природу. Оптические методы включают в себя большую группу спектральных методов анализа.

Спектроскопия – это раздел физики, посвященный изучению спектров электромагнитного излучения, включающий в себя методы количественного и качественного анализа, основанные на взаимодействии света с живой и неживой материей.

Все химические соединения взаимодействуют с электромагнитным излучением, уменьшая интенсивность его потока. Наблюдение за изменениями в спектральных параметрах электронных спектров позволяет устанавливать более подробные состав проб неизвестного состава.

Спектрофотометрический метод анализа – основан на поглощении монохроматического излучения, т.е. излучения с одной длиной волны в видимой и УФ (ультро-фиолетовой) областях спектра.

Методы спектроскопии можно условно поделить на две группы:

1. Методы оптической атомной спектроскопии, основанные на изменении энергии валентных электронов свободных атомов.
2. Методы, основанные на возбуждении электронов внутренних оболочек под воздействием излучения более высокой энергии, которые находятся в рентгеновской области спектра.

СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

Основой качественного спектрального анализа является свойство каждого химического элемента излучать характерный линейчатый спектр.

Задачей качественного спектрального анализа сводится к отыскиванию линий определяемого элемента в спектре пробы.

Доказательством того, что линия принадлежит данному элементу, являются длина волны и интенсивность линии. При уменьшении содержания элемента в пробе интенсивность линий этого элемента в спектре будет уменьшаться, некоторые линии исчезнут и число линий уменьшится. При очень малой концентрации останется всего несколько линий, по которым обычно проводится качественный анализ.

Длины волн и характеристику интенсивности можно найти в специализированных таблицах и справочниках. Для расшифровки спектра и определения длины волны анализируемой линии пользуются спектрами сравнения.

Слово "спектр" в переводе с латинского означает "появление" или "схема".

- Исаак Ньютон в 1666 г. первым с помощью призмы *расщепил солнечный свет на спектральные составляющие*.
- В 1758 г. Маркграф впервые, *используя окраску цвета пламени, открыл способ визуального определения вещества*.
- В 1802 г. английский физик Волдастон объяснил эксперимент Ньютона с призмой, усовершенствовал его и *впервые наблюдал многочисленные темные линии в солнечном спектре*.
- В то же время Гершель и Тальбот проводили эксперименты со светом пламени, и в 1834 г. Тальбот *спектрально разделил красный цвет пламени стронция и красный цвет лития*, что считается зарождением аналитической оптической спектроскопии.

КЛАССИФИКАЦИЯ И ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Все спектроскопические методы основаны на взаимодействии атомов, молекул или ионов, входящих в состав анализируемого вещества, с электромагнитным излучением. Это взаимодействие проявляется в поглощении или испускании фотонов (квантов). В зависимости от характера взаимодействия пробы с электромагнитным излучением выделяют две группы методов - эмиссионные и абсорбционные. В зависимости от того, какие частицы формируют аналитический сигнал, различают методы атомной спектроскопии и методы молекулярной спектроскопии:

Классификация спектроскопических методов

Таблица 1

Спектроскопические методы			
Эмиссионные		Абсорбционные	
Атомно-эмиссионный спектральный анализ	Молекулярно-эмиссионный спектральный анализ	Атомно-абсорбционный спектральный анализ	Молекулярно- абсорбционный спектральный анализ

В эмиссионных методах анализируемая проба в результате ее возбуждения излучает фотоны (кванты).

Важнейшие эмиссионные методы:

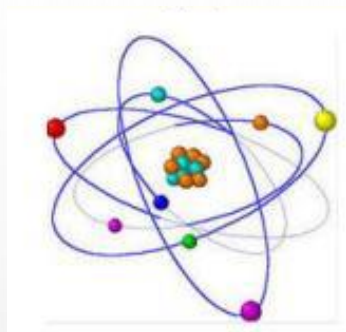
- атомно-эмиссионный спектральный анализ (АЭС) и
- люминесцентный анализ.

В абсорбционных методах излучение постороннего источника пропускают через пробу, при этом часть квантов избирательно поглощается атомами или молекулами. Важнейшие методы этой группы:

- Атомно-абсорбционный анализ (ААС) и
- Молекулярно-абсорбционная спектроскопия растворов.

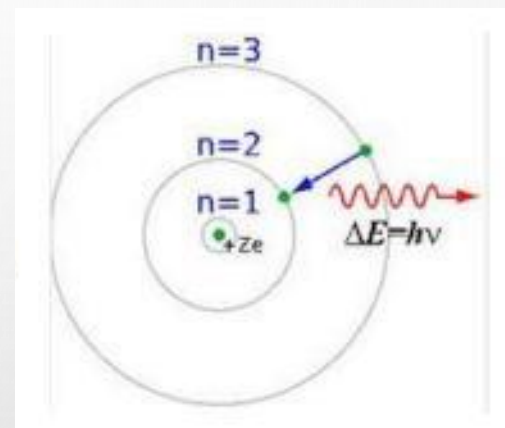
Абсорбционные методы, как и эмиссионные, используют и для обнаружения, и для количественного определения веществ.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ АТОМНЫХ СПЕКТРОВ



Если к атому подвести достаточное количество энергии (например, термической), то один или несколько электронов данного атома могут перейти с низкоэнергетического уровня (основное состояние) на более высокоэнергетический уровень (возбуждённое состояние).

Такое явление называется абсорбцией. Однако нахождение электрона в возбуждённом состоянии не является устойчивым, поэтому через какое-то время он переходит обратно в основное состояние с выделением избыточной энергии в виде излучения. Такой переход называется эмиссией. Поскольку у атома имеется только дискретный набор электронных энергетических уровней, то абсорбции и эмиссии соответствуют только конкретные значения энергий, частот и длин волн излучения :



Важно отметить, что линии в эмиссионном и абсорбционном спектрах соответствуют Излучению с одними и теми же длинами волн, поскольку переходы, отвечающие эмиссии и абсорбции, происходят между одними и теми же энергетическими уровнями.

Спектры, включающие в себя весь набор таких линий, называются линейчатыми спектрами. Однако, в целом, эмиссионные спектры имеют более сложный вид по сравнению с абсорбционными вследствие возникновения так называемых полосатых спектров, а также наложения фона, представляющего собой непрерывный спектр.

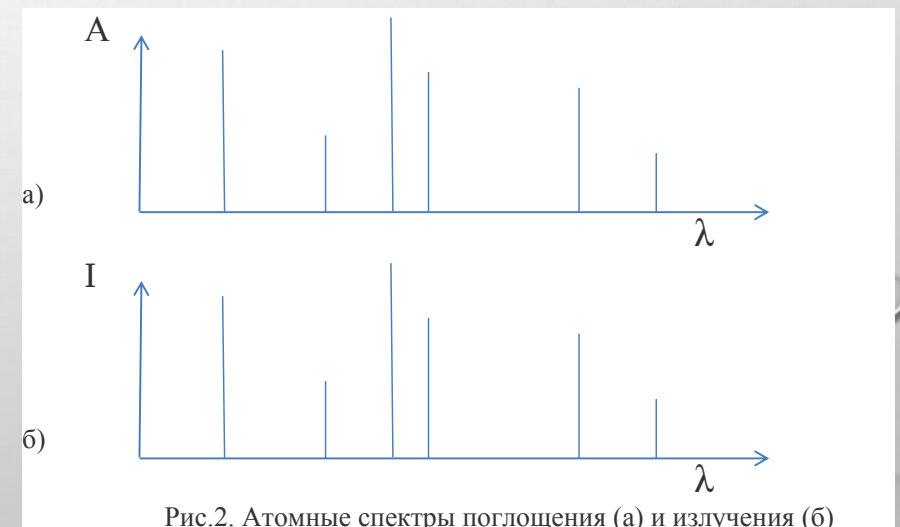


Спектр излучения пробы показывает, на каких длинах волн она преимущественно излучает свет при возбуждении (например, при сильном нагревании). Спектр излучения регистрируют в координатах: *интенсивность (I) излучения - длина волны (λ).*

Спектр поглощения пробы показывает, на каких длинах волн она преимущественно поглощает излучение внешнего источника. Такие спектры обычно регистрируют в координатах $A - \lambda$, где A - *количественная характеристика поглощения света на данной длине волны, называемая оптической плотностью.*

Спектры поглощения и излучения одного и того же вещества в некоторой области длин волн очень похожи. Чтобы понять, почему это так, надо вспомнить, что атом может находиться только в определенных состояниях, которым отвечают дискретные энергетические уровни. Переходя под воздействием внешнего излучения в более возбужденное состояние, атом должен приобрести дополнительную энергию E за счет поглощения кванта. Поэтому в спектре поглощения пробы на длине волны λ , соответствующей E , появится линия (пик).

Теперь рассмотрим атомы, которые уже переведены в возбужденное состояние, например, под действием высокой температуры. Через короткое время ($10^{-7} - 10^{-8}$ сек) после возбуждения они самопроизвольно возвращаются в основное состояние, излучая кванты.



Особенности спектров разного типа и их аналитическое применение

Атомные спектры поглощения и излучения, наблюдаемые во всем оптическом диапазоне, определяются переходами электронов, относящихся к наружным слоям («валентные электроны»). Таким образом, атомные спектры по своей природе являются электронными, а по внешнему виду - линейчатыми. Положение спектральных линий в шкале длин волн и их относительную интенсивность используют как идентификационные признаки в качественном элементном анализе.

Молекулярные спектры излучения или поглощения обычно не являются линейчатыми. Вид молекулярных спектров в разных диапазонах длин волн различен, поскольку различно происхождение соответствующих спектров. Спектры поглощения молекул в видимой или УФ-области являются широкополосными. Они дают сравнительно мало информации для выяснения состава и структуры поглощающих молекул. Это *мешает проведению качественного анализа по спектрам в УФ- или видимой области*.

Как и атом, молекула является квантовой системой, но ее энергетический спектр сложнее. Наряду с

- движением электронов относительно ядер (электронным движением) в молекулах возможно
- колебательное движение атомов (точнее, атомных ядер) друг относительно друга и
- вращательное движение молекулы как целого.

Полная энергия молекулы равна сумме электронной, колебательной и вращательной энергий; в первом приближении можно считать, что каждая из них квантуется в отдельности:

$$E_{\text{полн}} = E_{\text{эл}} + E_{\text{кол}} + E_{\text{вращ}}.$$

АТОМНО-ЭМИССИОННЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

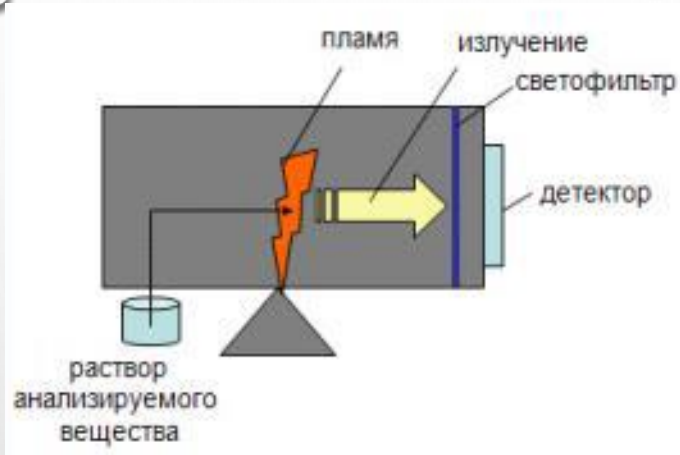
Еще в древности было замечено, что цвет пламени меняется при введении в него некоторых веществ. В XVIII веке этот эффект стали использовать в анализе; в частности, *по окраске пламени различали* соду (Na_2CO_3) и поташ (K_2CO_3). В XIX веке был установлен линейчатый характер спектров пламени. Спектры начали фотографировать, определять длины волн отдельных линий. Некоторые исследователи указывали, что, по наличию определенных спектральных линий можно судить о присутствии в пробе тех или иных элементов. Создателями спектрального анализа стали выдающиеся немецкие ученые – химик Р.Бунзен и физик Г.Кирхгоф. В результате исследований Бунзена и Кирхгофа был установлен качественный (элементный) состав многих минералов и даже небесных тел; открыт ряд ранее неизвестных элементов (таллий, индий и др.);

На рубеже XIX и XX веков для получения спектров стали применять электрическую дугу и искру, это позволило определять и те элементы, которые не возбуждаются в пламени. Было доказано, что спектральный анализ применим для обнаружения и определения элементов, независимо от их степени окисления и от того, в составе каких химических соединений они находились в исходной пробе.

АЭС стал основным способом аналитического контроля в черной и цветной металлургии, а также в геологии. Дальнейшее развитие метода связано с появлением новых источников возбуждения (особенно индукционно связанной плазмы) и новых способов регистрации спектров, а также с автоматизацией и компьютеризацией анализа.



АТОМНО-ЭМИССИОННЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ



Принцип метода довольно прост. Во всех вариантах атомно-эмиссионного спектрального анализа (АЭС) *пробу вносят в источник* (пламя или иным способом создается высокая температура). Образуется *плазма* (совокупность возбужденных атомов и электронов). В ней последовательно происходят следующие процессы:

- испарение пробы;
- атомизация первоначальных продуктов испарения (молекул или ионов);
- возбуждение образовавшихся атомов;
- испускание света возбужденными атомами.

Источники атомизации и возбуждения

Атомизация и возбуждение происходят в атомизаторе одновременно. В качестве источников возбуждения применяют пламя, электрическую дугу, искру и самый современный источник возбуждения - индуктивно-связанную плазму (ИСП, ISP). Три первых источника являются «классическими».

Пламя

Раствор пробы распыляется в пламя, и возникающее излучение термически возбужденных атомов можно измерить непосредственно. Температура пламени зависит от состава горючей смеси. Так, пламя обычной газовой горелки дает температуру около 900 °С, при этом возбуждаются лишь атомы наиболее легко возбудимых элементов - щелочных и щелочноземельных металлов.

- Смесь водорода с воздухом обеспечивает температуру около 2100 °С,
- водорода с кислородом - 2800 °С,
- ацетилена с кислородом - 3000 °С, что позволяет определять Mn, Tl, Cu, Pb, Cr и др. (всего порядка 40 элементов).

Источники атомизации и возбуждения

Дуга

Дуговой электрический разряд позволяет достичь более высоких температур - до 5000-6000 °С. Разряд возникает в промежутке (до 1 см) между двумя электродами. Обычно используются электроды из спектрально чистого графита. В этом случае порошкообразную пробу помещают в углубление нижнего электрода, верхний электрод представляет собой заточенный стержень из железа или графита. При горении дуги электроды раскаляются, проба испаряется и возбуждается в плазме дуги. В дуге удастся получить спектр почти всех элементов. Дуговые спектры применяют для качественного и полуколичественного анализа.

Искра

Для получения искры используют специальные искровые генераторы. При горении искры развивается температура 7000-12000 °С, и происходит возбуждение всех элементов. Длительность искрового разряда мала, поэтому за время разряда успевает испариться малое количество вещества. За счет этого снижается чувствительность определения по сравнению с дуговым методом, но отсутствие фона обеспечивает большую точность результатов. Искровой разряд практически не разрушает исследуемый образец, что выгодно отличает искру от дуги. Это нашло свое применение в криминалистике. Искровой разряд позволяет проводить локальный анализ поверхности металлов и сплавов (микроспектральный анализ).

Способы регистрации спектра

Существует три способа регистрации спектров - визуальный, фотографический и фотоэлектрический. Регистрация фотографическая достаточно проста по технике, доступна. Этот «классический» способ позволяет получать и измерять даже очень слабые сигналы микропримесей. Одновременно регистрируются линии всех компонентов пробы. Сфотографированные спектры можно долго хранить и в любое время провести повторные измерения.

СХЕМА СПЕКТРОГРАФА

Основные узлы приборов в эмиссионной спектроскопии:

Возникающее в ходе анализа излучение пробы фокусируют, направляют на спектральную щель прибора, где оно разлагается в спектр и регистрируется соответствующим приемником. Все приборы для спектрального анализа имеют следующие основные узлы:

- источник возбуждения (атомизации),
- диспергирующее устройство,
- блок регистрации излучения.

Кроме основных узлов в спектральном приборе есть оптическая система, предназначенная для получения параллельного пучка света, его фокусировки, изменения направления хода лучей и т. д. Разные варианты АЭС различаются по способу возбуждения и по способу регистрации спектра.

После разложения излучение пробы по длинам волн оно направляется на фотопластинку, содержащую в своем поверхностном слое кристаллы бромида серебра. В месте падения света образуется металлическое серебро. В результате проявления и закрепления фотография усиливается. На пластинке остается спектр пробы в виде ряда черных линий одинаковой высоты и ширины, но с разной степенью почернения (картинка напоминает штрих-код товара). На одну и ту же фотопластинку можно последовательно сфотографировать десятки спектров, размещая их друг под другом.

Почернение аналитических линий на проявленной фотопластинке измеряется с помощью вспомогательного прибора – микрофотометра.

Способы регистрации спектра

Существует три способа регистрации спектров - визуальный, фотографический и фотоэлектрический. Регистрация фотографическая достаточно проста по технике, доступна. Этот «классический» способ позволяет получать и измерять даже очень слабые сигналы микропримесей. Одновременно регистрируются линии всех компонентов пробы. Сфотографированные спектры можно долго хранить и в любое время провести повторные измерения.



РЕГИСТРАЦИЯ СПЕКТРОВ

Визуальный способ

Глаз человека чувствителен к свету в области спектра примерно 400-760 нм и может установить равенство или неравенство интенсивностей световых потоков одного цвета. В приборах для визуального анализа - *стилоскопах* - можно с помощью призмы выводить в спектральную щель какую-либо линию спектра пробы и сравнивать на глаз с интенсивностью линии элемента-стандарта. Отыскав совпадающие по интенсивности линии и зная содержание элемента в стандартном образце, оценивают содержание элемента в пробе.

Фотографический способ

Более универсальной является фотографическая (фотохимическая) регистрация спектров. После разложения излучения пробы по длинам волн оно направляется на фотопластинку. При освещении кристаллы бромида серебра в светочувствительном слое фотопластинки превращаются в металлическое серебро, и фотопластинка чернеет. После проявления и закрепления на фотопластинке остается изображение спектра в виде спектральных линий одинаковой высоты, но с разной степенью почернения, которая определяется интенсивностью светового потока. По сути дела - это фотографии входной щели спектрального прибора, полученные при длинах волн, характерных для спектра излучения пробы. Одновременно регистрируются линии всех компонентов пробы. На одну фотопластинку можно последовательно сфотографировать спектры нескольких проб, размещая их друг под другом.

Фотоэлектрическая регистрация

Детекторами для фотоэлектрической регистрации служат фотоэлементы, фотодиоды, фотоумножители - устройства, основанные на применении фотоэффекта и преобразующие световой поток в электрический сигнал. Затем электрический сигнал усиливается и поступает на самописец. В одноканальных спектрометрах имеется одна выходная щель и один фотоэлемент (фотоумножитель). Чтобы зарегистрировать весь спектр, надо поочередно направлять на выходную щель свет с разными длинами волн. Многоканальные спектрометры (квантометры) более удобны в работе: позволяют одновременно измерять излучение 24-х длин волн, соответствующих разным элементам.

КАЧЕСТВЕННЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

Существуют обширные *спектральные атласы*, где приведены эталонные спектры испускания большого числа элементов с указанием длин волн и относительных интенсивностей линий. Однако не все линии эталонного спектра можно найти в спектре пробы, содержащей данный элемент. *По мере уменьшения концентрации компонента в пробе интенсивность излучения уменьшается настолько, что часть линий (наименее интенсивные) уже не регистрируется данным прибором.* Последними при разбавлении пробы исчезают так называемые последние линии (как правило, наиболее интенсивные). *Для каждого элемента эти линии хорошо известны.* Чтобы проверить наличие некоторого элемента в пробе, проверяют наличие в спектре пробы *нескольких последних линий* этого элемента.

Но если в спектре обнаружена линия, длина волны которой численно совпадает с длиной волны последней линии искомого элемента, то это вовсе не означает, что она действительно принадлежит данному элементу. Дело в том, что в спектрах многих элементов насчитывается очень большое число линий (у калия – несколько десятков, у железа – несколько сот, у урана – несколько тысяч). Линии разных элементов часто случайно совпадают по длине волны («межэталонные наложения»).

Окончательный вывод о присутствии в пробе интересующего элемента следует делать, если *в спектре пробы установлено наличие нескольких линий, совпадающих по длине волны с линиями эталонного спектра данного элемента и заведомо свободных от межэталонных наложений.* Спектры пробы и эталона должны совпадать и по относительной интенсивности разных линий.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Количественный спектральный анализ основан на том, что интенсивность спектральных линий определяемого элемента (излучения) в атомно-эмиссионном спектральном анализе (АЭС) определяется концентрацией возбужденных атомов. *Если все условия анализа одинаковы, получим прямо пропорциональную зависимость интенсивности излучения на данной длине волны от концентрации элемента в пробе* (уравнение Ломакина-Шайбе):

$$I = a \cdot C \cdot b ; \quad I = a \cdot C$$

Где:

C – концентрация

I – интенсивность излучения

a – постоянная величина, зависящая от условий возбуждения и условий испарения вещества электродов;

b – коэффициент, учитывающий реабсорбцию, спектральных линий и зависящий от концентрации элемента в образце; при малых концентрациях элементов и слабых спектральных линиях, для которых самопоглощение не наблюдается, коэффициент $b = 1$, при увеличении концентрации эта величина уменьшается и становится менее 1.

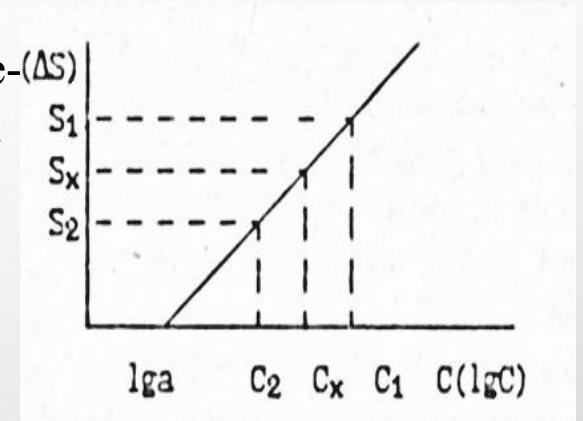
Расчет концентраций ведут по предварительно построенным градуировочным графикам.

Для обеспечения единства измерений элементного состава, в частности, методом атомного спектрального анализа служат государственные стандартные образцы (ГСО).

Наиболее распространенным методом количественного спектрального анализа является метод трех эталонов.

МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА

Наиболее распространенным методом количественного спектрального анализа является метод трех эталонов. Сущность его заключается в следующем. Регистрируются спектры анализируемого образца и как минимум трех эталонов. По результатам регистрации спектров эталонов и проб строится калибровочный график (градуировочный график), на котором отображается зависимость интенсивности линии спектра от концентрации элемента в пробе. Для повышения точности спектры эталонов и образца регистрируется не менее трех раз и берут средние значения ΔS . Полученные результаты наносят по оси ординат в виде значений $S(\Delta S)$, а по оси абсцисс откладываются значения концентраций $C(\lg C)$.



Если мы зарегистрируем интенсивность эмиссионной спектральной линии как минимум для трех проб с известными концентрациями (эталон) C_1 , C_2 и C_3 , то получим 3 точки лежащие на прямой. Для определения неизвестной концентрации C_x , лежащей в пределах C_1 и C_2 необходимо спроецировать значения интенсивности для данной пробы полученной экспериментальным путем на градуировочный график, а оттуда на ось абсцисс. Наклон прямой определяется коэффициентом b . При $b=1$ (самопоглощение отсутствует) угол наклона будет равен 45° .

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ МЕТОДОМ АТОМНОЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Определение элементов методом атомно-эмиссионной спектроскопии

- С помощью «окрашивания пламени» в аналитической химии можно осуществить качественное определение наличия отдельных ионов в пробе. При этом исследуемая проба, растворимая в небольшом количестве соляной кислоты, помещается в пламя горелки. Окраска пламени служит подтверждением наличия в пробе определенных ионов. Например, интенсивная оранжевая окраска пламени свидетельствует о присутствии в пробе солей натрия. Вид анионов в данном случае не играет существенной роли.
- Атомно-эмиссионная спектроскопия позволяет производить одновременное определение вплоть до 70 металлов. По этой причине данный метод активно применяется в лабораториях по *контролю качества в области металлургии и анализа воды, а также медицине*

Типы пламени, используемые в атомно-эмиссионной спектроскопии

Самым простым способом возбуждения атомов является использование высокотемпературного пламени (пламенной фотометрии). Растворенная проба с помощью распылителя подается в пламя, в котором происходит термическое возбуждение атомов. Для получения требуемой температуры пламени могут использоваться различные комбинации горючего газа и газа-окислителя.

Типы смесей горючих газов и газов-окислителей для пламенной фотометрии:

горючий газ, природный газ, ацетилен, газ окислитель, воздух, кислород.

Температура T, K: 2200-2300, 2500-2800, 3000-3500 (легко переводятся в возбужденное состояние)



**Возникшие вопросы по материалам лекции
просьба направлять на почту**

gn_solodunova@mail.ru

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!