

Оптические методы

Лекция 2

План

1. Люминесцентный анализ

1.1. Флуоресцентный анализ (флуориметрия)

1.2. Количественный флуоресцентный анализ

2. Эмиссионный спектральный анализ

3. Атомно-абсорбционный спектральный анализ

1. Люминесцентный анализ

- ***Люминесцентный анализ*** - совокупность оптических методов анализа, основанных на явлении люминесценции.
- ***Люминесценция*** - свечение вещества, возникающее при его возбуждении различными источниками энергии.

Классификация видов люминисценции

1. По способу (источнику) возбуждения

- **Фотолюминесценция** - свечение вещ-ва, возникающее под воздействием излучения в УФ и видимой области спектра.
- **Хемилюминесценция** - свечение вещ-ва за счет энергии химических реакций.
- **Рентгенолюминесценция** - свечение вещ-ва под воздействием рентгеновских лучей.
- **Катодолюминесценция** - свечение в-ва в газовой фазе при бомбардировке его потоком электронов.

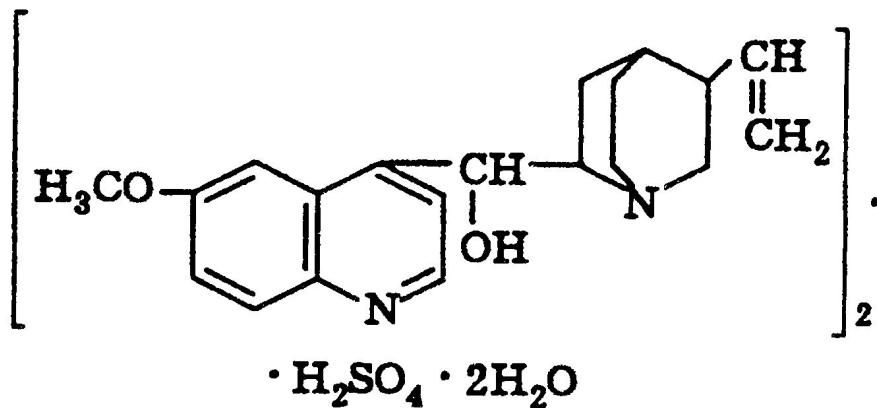
2. По длительности послесвечения

- **Флуоресценция (спонтанная люминесценция)** - свечение, прекращающееся сразу после прекращения действия источника возбуждения. Длительность послесвечения 10^{-6} - 10^{-9} с. Флуоресцирующие в-ва называют *флуорохромами*.
- **Фосфоресценция** - свечение, продолжающееся некоторое время после прекращения действия источника возбуждения. Длительность послесвечения 10^{-2} - 10^{-3} с.

1.1. Флуоресцентный анализ (флуориметрия)

Флуориметрический метод анализа основан на возбуждении электронных спектров испускания молекул определяемого вещества при внешнем УФ-облучении и измерении интенсивности их фотолюминесценции.

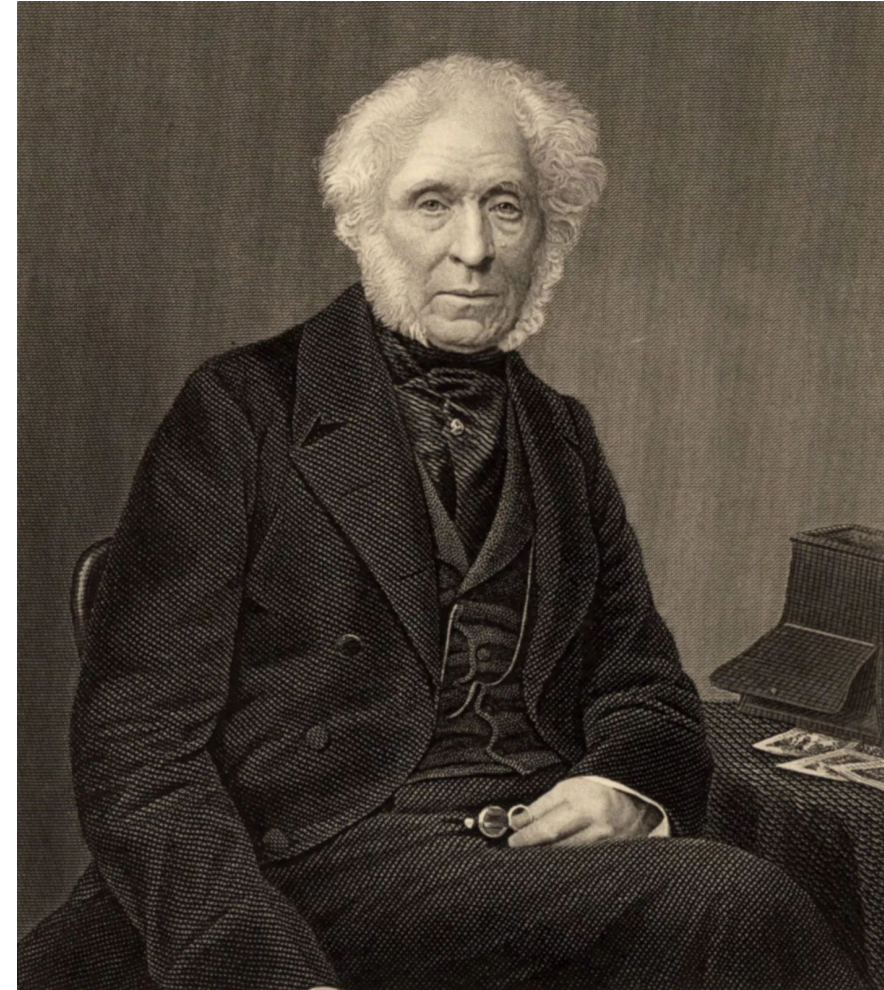
Явление *флуоресценции* было впервые исследовано **Гершелем** в 1845 г. на растворе сернокислого хинина и названо им "эпиполической дисперсией" (поверхностным светорассеянием) по причине того, что свойством самосвечения обладала, как казалось Гершелю, лишь самая поверхность **ЖИД**





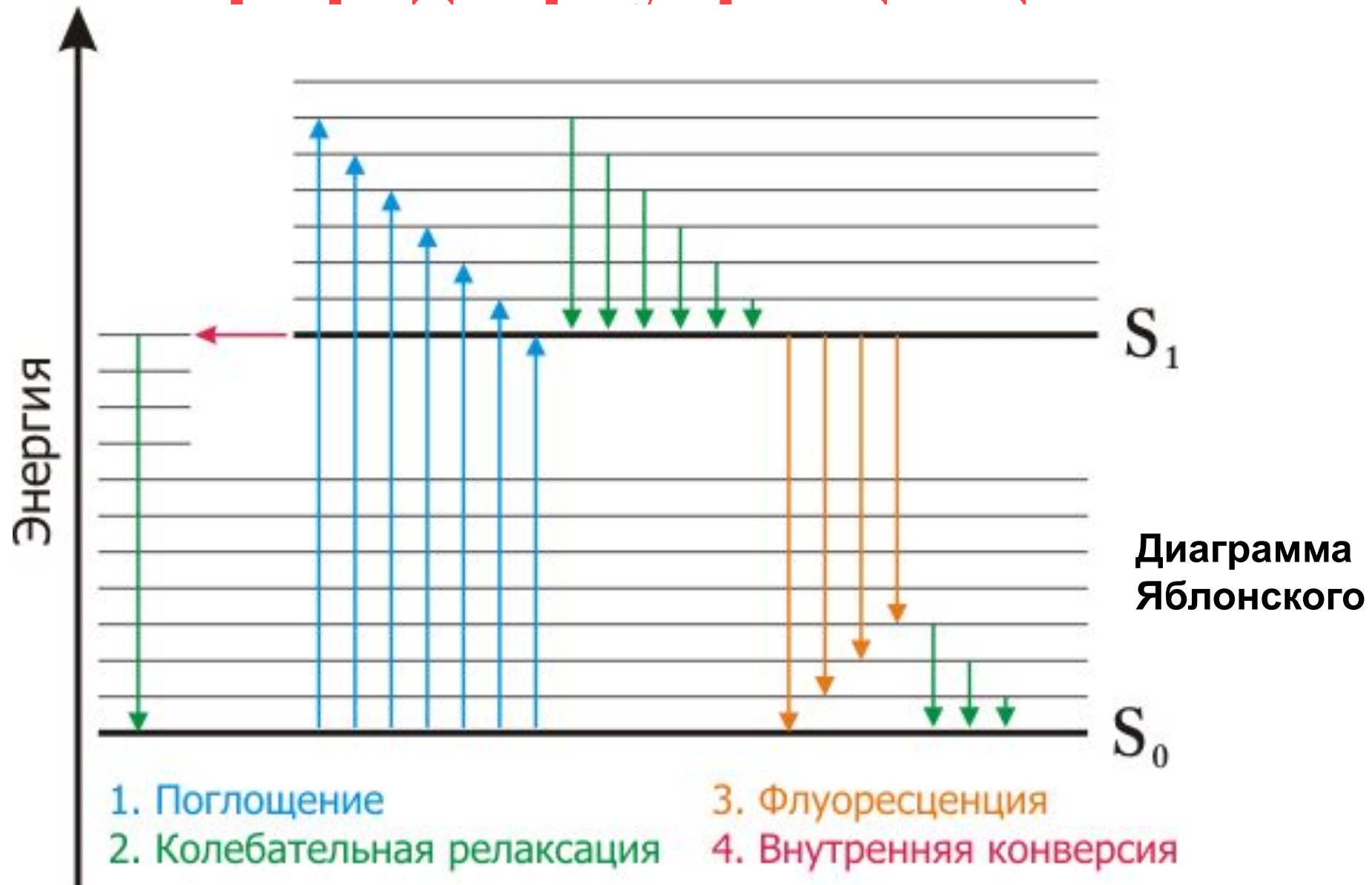
Джордж Стокс

Брюстер,
исследовавший
(1846—53) тот же самый
раствор, заметил, что
при достаточной силе
освещения жидкости
заметна флуоресценция
и у внутренних, более
глубоких слоев
жидкости; он назвал
поэтому явление
**"внутренней
дисперсией"**. Изучено
явление было впервые
Стоксом (1852-1864).



Дэвид Брюстер

Природа флуоресценции



Некоторые характеристики люминисценции (флуоресценции)

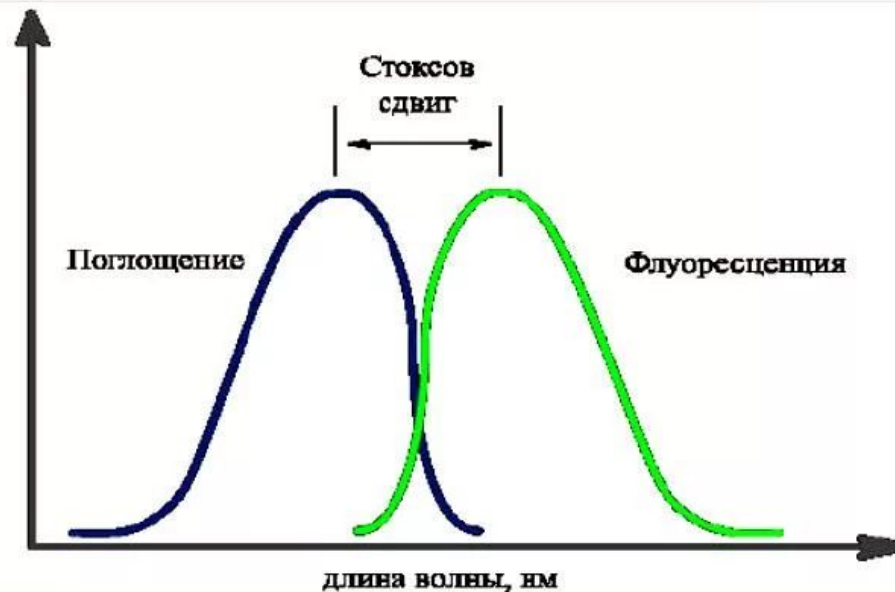
Закон Стокса-Ломмеля: спектр флуоресценции всегда смещен в сторону более длинных волн по сравнению со спектром поглощения того же вещ-ва.

Спектр люминесценции – это

это зависимость интенсивности люминесценции от длины

волны $I = f(\lambda)$ или $I = f(\nu)$

(в общем случае это **цвет** свечения)



«смещение
Стокса»

Смещение спектра люминесценции относительно спектра поглощенного света

Некоторые характеристики люминисценции (флуоресценции)

Энергетический выход φ_c люминесценции - это отношение энергии E_{lm} , излучаемой люминисцирующим веществом к энергии E_{abc} поглощенного света:

$$\varphi_c = E_{lm} / E_{abc}$$

Энергетический выход характеризует эффективность преобразования поглощенной световой E в E люминисцентного излучения.

Квантовый выход φ люминесценции - это отношение числа излученных квантов люминисценции N_{lm} к числу квантов N_{abc} поглощенного возбуждающего излучения:

$$\varphi = N_{lm} / N_{abc}$$

Чем больше квантовый выход эффективнее преобразование возбуждающего света в излучение флуоресценции.

Некоторые характеристики люминисценции (флуоресценции)

Закон Вавилова : квантовый выход флуоресценции постоянен, если длина волны возбужденного света (в определенных пределах) меньше длины волны флуоресценции:

$$\varphi = \text{const}, \text{ если } \lambda_{\text{abs}} > \lambda_{\text{lm}}$$



1.2. Количественный флуоресцентный анализ

Метод основан на использовании прямой пропорциональной зависимости между интенсивностью люминесценции (флуоресценции) и концентрацией с определяемого вещества в растворе:

$$I_{lm} = kc$$

где k — коэффициент пропорциональности.

Эта зависимость выполняется, если справедлив закон Вавилова, т.е. если квантовый выход постоянен: $\varphi = \text{const}$. Чем больше квантовый выход φ , тем больше коэффициент пропорциональности k и тем выше чувствительность флуоресцентного анализа.

Флуоресцентный анализ следует проводить в таких условиях, при которых квантовый выход флуоресценции был бы постоянным и максимальным:

$$\varphi = \varphi_{\max} = \text{const.}$$

Оборудование для люминесцентного анализа

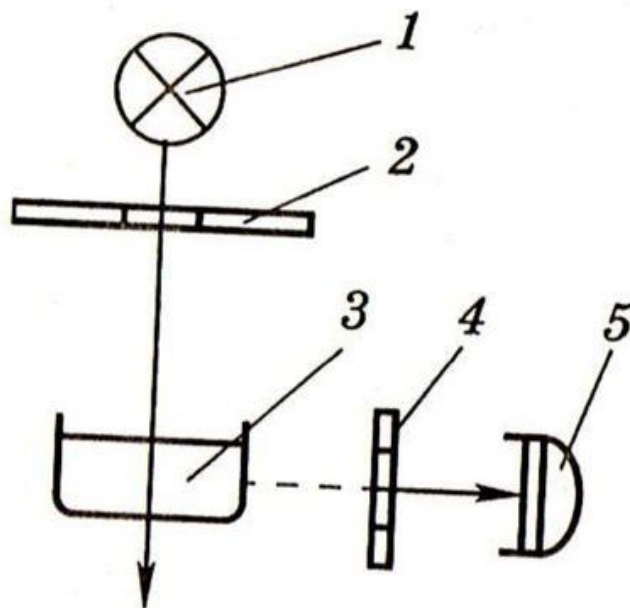
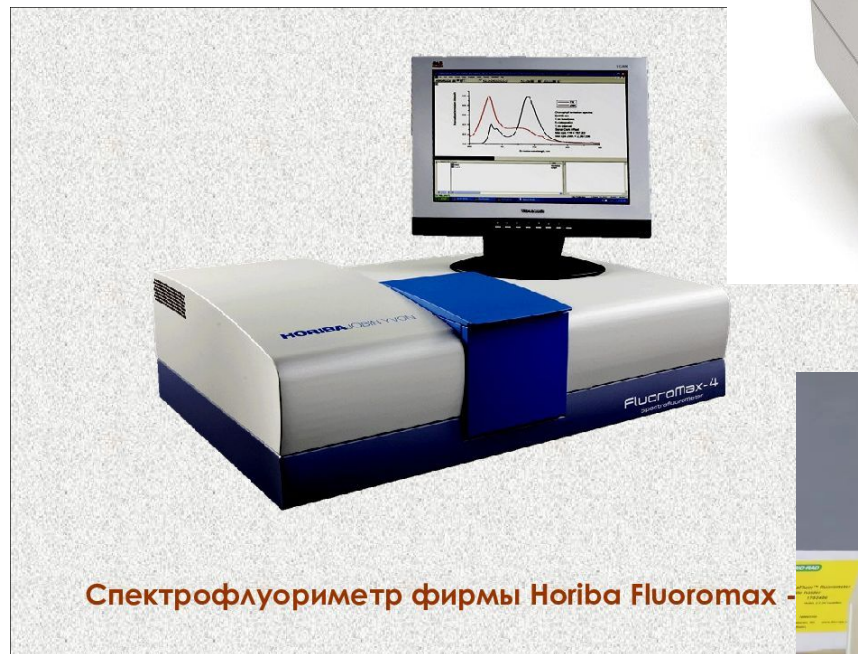


Схема флюориметра:
1 – источник излучения;
2, 4 – светофильтры ;
3 – кювета;
5 – детектор



Спектрофлуориметр фирмы Horiba Fluoromax -



Условия проведения флуоресцентного анализа

1) В соответствии с законом Вавилова для того, чтобы квантовый выход был постоянным, необходимо, чтобы выполнялось условие

$$\lambda_{abs} < \lambda_{lm}$$

Обычно для возбуждающего излучения используют интервал длин волн 250-800 нм.

2) Анализируемый раствор должен быть сильно разбавленным (концентрация $c < 10^{-4}$ моль/л).

Уменьшение интенсивности люминесценции при увеличении концентрации раствора называется **концентрационный тушением** люминесценции (флуоресценции). Минимальная концентрация, при которой уже наблюдается концентрационное тушение флуоресценции, называется **пороговой концентрацией**.

Условия проведения флуоресцентного анализа

3) Посторонние примеси должны быть удалены.

4) Температура во время проведения флуориметрических измерений должна поддерживаться постоянной.

При повышении температуры наблюдается *температурное тушение* флуоресценции.

5) В тех случаях, когда определяемое вещество не обладает собственной флуоресценцией, проводят люминесцентную реакцию.

Люминесцентная реакция — такая химическая реакция, протекание которой сопровождается либо возникновением, либо исчезновением люминесценции, либо изменением цвета.

Флуоресцентные соединения

К флуоресценции способны многие органические вещества, как правило содержащие систему сопряжённых π -связей.

Наиболее известными являются:

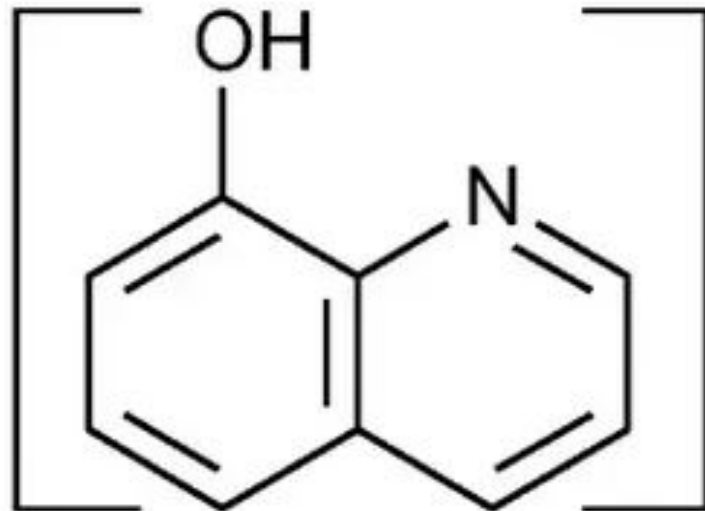
- хинин,
- метиловый зелёный,
- метиловый синий,
- феноловый красный,
- кристаллический фиолетовый,
- бриллиантовый синий кризоловый,
- флуоресцеин,
- эозин, акридиновые красители (акридиновый оранжевый, акридиновый жёлтый)

Примеры люминесцентных реакций

- Для флуориметрического определения катионов Li^+ , Be^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} проводят люминесцентные реакции этих катионов с 8-оксихинолином, в результате которых образуются флуоресцирующие внутрикомплексные соединения.



где L^- — оксихинолинат-ион.



8-ОКСИХИНОЛИН

Примеры люминесцентных реакций

- Катионы натрия Na^+ можно определить люминесцентной реакцией с цинкуранилацетатом. Образующийся продукт реакции - натрий-цинкуранилацетат люминесцирует зеленым светом - дает яркое **зеленое свечение**.



→



Примеры люминесцентных реакций

- *Реакции образования кристаллофосфоров.*

Большинство веществ в кристаллическом состоянии не обладает собственной люминесценцией. Введение в них определенных примесей соединений других элементов (активаторов) приводит к возникновению характерной люминесценции.

Такие вещества называют *кристаллофосфорами* (соли элементов I и II групп активированные медью, серебром. Например, олово (II) можно определить по свечению кристаллофосфора, представляющего собой иодид калия, содержащий олово.



Применение флуориметрического анализа

- Метод широко применяется в **фармакопейном анализе**, например, при контроле качества фолиевой кислоты, этакридина лактата, хинина гидрохлорида, натрия парааминосалицилата, хлортетрациклина гидрохлорида, резерпина, тиамина хлорида и бромиды, рибофлавина и др.
- Флуориметрически определяют содержание **катионов магния** в биологических жидкостях - в сыворотке крови.
- Предел обнаружения определяемых веществ весьма низкий: до $10^{-8}\%$.
- Метод позволяет определять концентрации - до 10^{-12} - 10^{-15} г/л.
- Аппаратурное оформление метода сравнительно несложно.
- Погрешности флуориметрического анализа обычно составляют около 2-5%

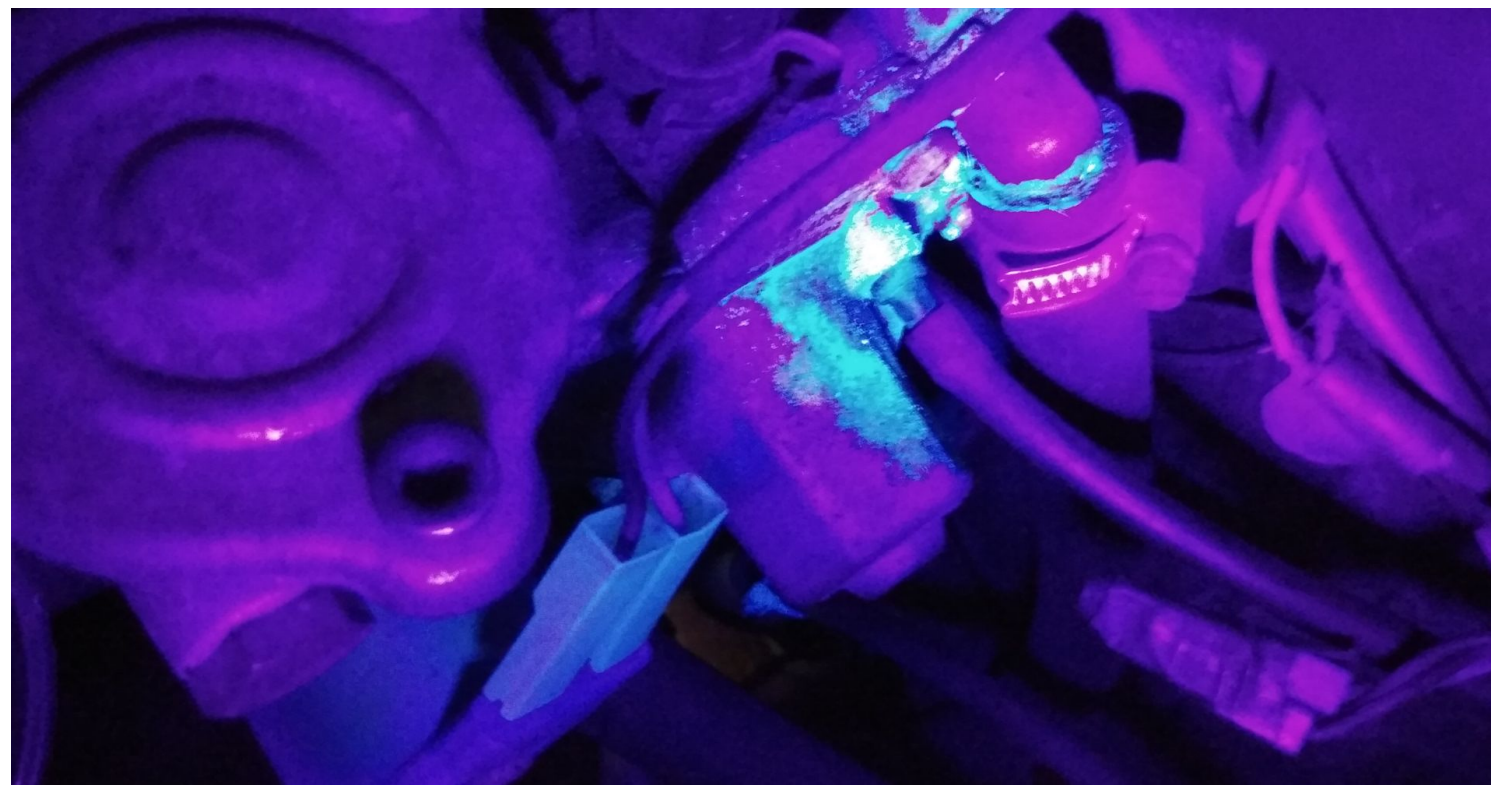
Применение флуориметрического анализа

В *производстве красок и окраске текстиля* (краски, фломастеры). Флуоресцентные краски, в сочетании с «чёрным светом», часто используются в дизайне дискотек и ночных клубов. Практикуется также применение флуоресцентных пигментов в красках для татуировки.



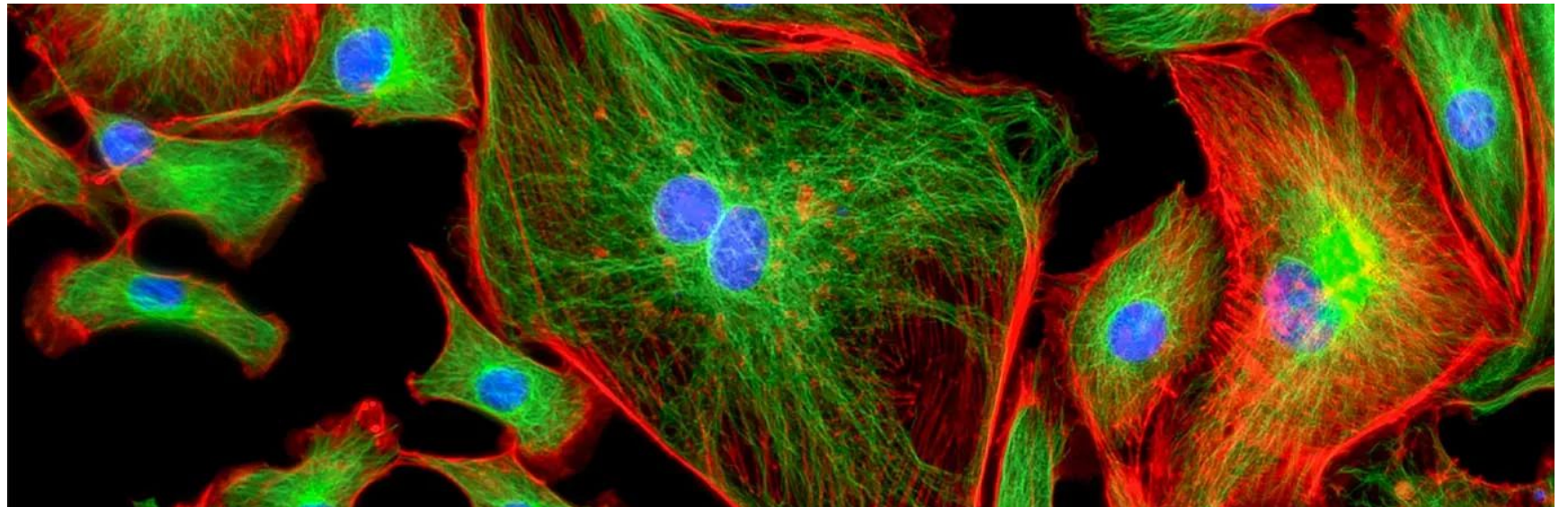
Применение флуориметрического анализа

В *технике*: технические жидкости, например - антифризы, часто добавляют флюоресцентные добавки, облегчающие поиск течи из агрегата. В ультрафиолетовом свете подтёки такой жидкости становятся очень хорошо заметны.



Применение флуориметрического анализа

В **биохимии и молекулярной биологии** нашли применение флуоресцентные зонды и красители, которые используются для визуализации отдельных компонентов биологических систем. Например, эозинофилы (клетки крови) называются так потому, что имеют сродство к эозину, благодаря чему легко поддаются подсчёту при анализе крови.



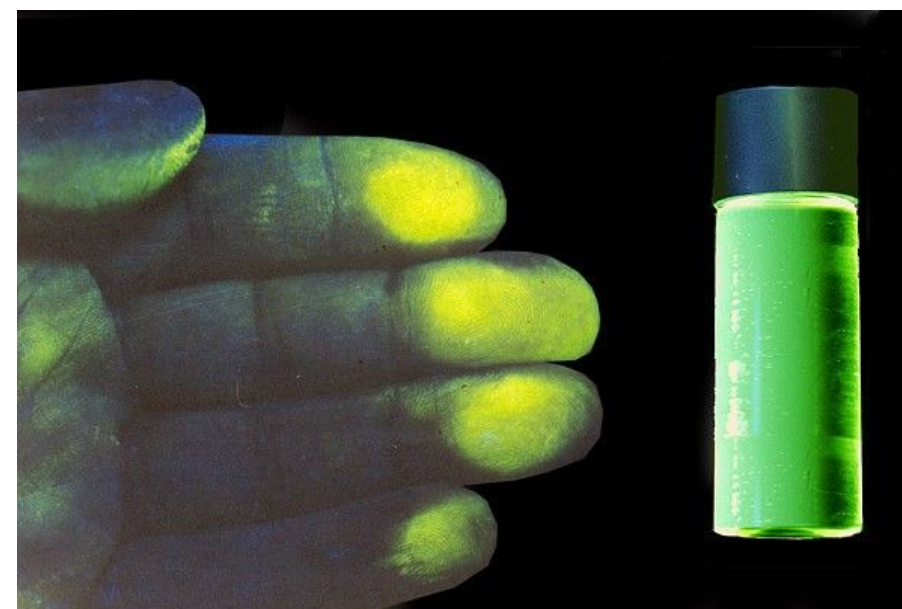
Применение флуориметрического анализа

В **криминалистике**: отдельные флуоресцирующие вещества используются в оперативно-разыскной деятельности (для нанесения пометок на деньги, иные предметы в ходе документирования фактов дачи взяток и вымогательства). Также могут использоваться в химловушках.



• ***Химическая ловушка (химловушка)***

- снаряжённые (обработанные) специальными химическими веществами (красящими, люминисцирующими или запаховыми) приспособления или устройства, закамуфлированные под различные предметы, либо скрытно установленные внутри объекта охраны, или рядом с ним для переноса.



В гидрологии и экологии: Флуоресцеин был применен в **1877** для доказательства того, что реки Дунай и Рейн соединены подземными каналами. Краситель внесли в воды Дуная и спустя несколько часов характерную зелёную флуоресценцию обнаружили в небольшой речке, впадающей в Рейн.

Специфический маркёр, который облегчает поиск потерпевших крушение лётчиков в океане.

Также флуорофоры могут использоваться для анализа загрязнения окружающей среды (обнаружение утечки нефти (масляных плёнок) в морях и океанах).

Титрование с применением флуоресцентных индикаторов

Флуоресцентные индикаторы — такие органические соединения, которые при возбуждении лучами соответствующей длины волны изменяют флуоресценцию в точке эквивалентности или вблизи ее.

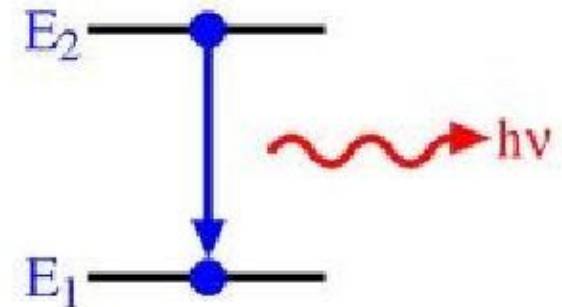
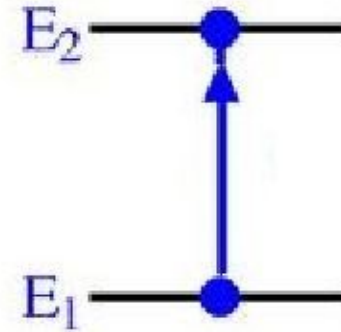
Эти индикаторы применяются чаще всего в методах кислотно-основного титрования.

Флуоресцентный индикатор	Интервал рН перехода цвета флуоресценции	Цвет флуоресценции
Бензофлавин	0,3-1,7	желтый-зеленый
Салициловая кислота	2,5-4,0	нет-темно-синий
Флуоресцеин	4,0-5,0	розово-зеленый-зеленый
Кумарин	9,8-12,0	

2. Эмиссионный спектральный анализ

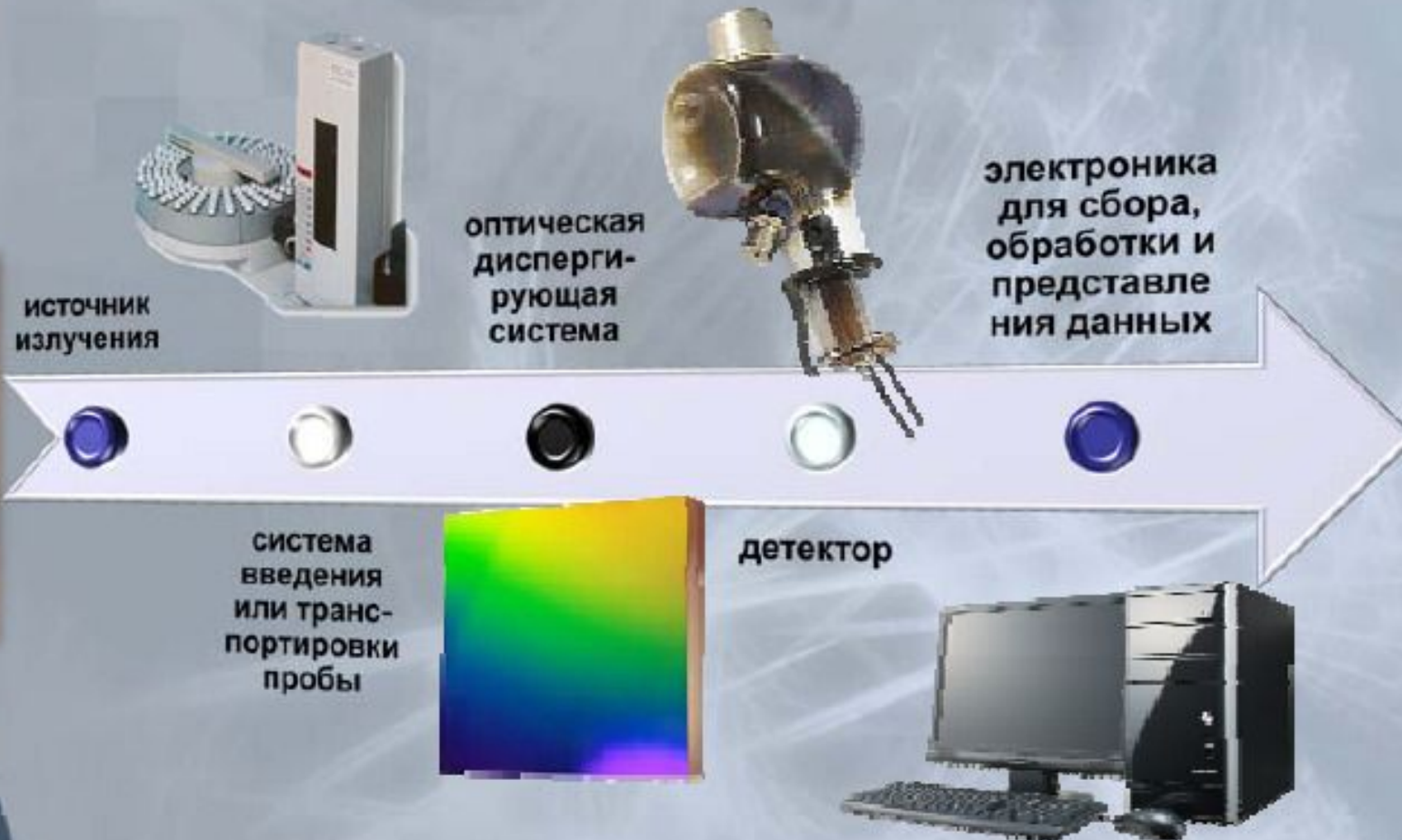
Атомно-эмиссионная спектроскопия

основана на переводе внешних (валентных) электронов свободных атомов в возбужденное состояние и последующем самопроизвольном переходе возбужденных электронов на нижележащие орбитали с испусканием (эмиссией) избыточной энергии в виде квантов электромагнитного излучения в видимой и УФ-областях спектра.



Узлы приборов АЭСА

Любой атомно-эмиссионный спектрометр состоит из следующих основных узлов



Атомно-эмиссионный спектральный анализ (АЭСА)

– это метод определения химического состава вещества по **спектру излучения его атомов** под влиянием источника возбуждения (дуга, искра, пламя, плазма).

Метод АЭСА основан на **термическом возбуждении** свободных атомов или одноатомных ионов и регистрации оптического спектра испускания возбужденных атомов.

Для получения спектров испускания элементов, содержащихся в образце, анализируемый раствор вводят в пламя.

Излучение пламени поступает в монохроматор, где оно разлагается на отдельные спектральные линии.

Интенсивность выбранных линий регистрируется с помощью фотоэлемента или фотоумножителя, соединенного с измерительным прибором.

Источник возбуждения должен обеспечивать необходимую яркость спектра по сравнению с фоном и должен быть достаточно стабильным, то есть интенсивность спектральных линий должна оставаться постоянной во время измерения. Наибольшего применения в качестве источников возбуждения используют *пламя, дугу и искру*.

• **Пламя.** Возбуждение атомов в пламени имеет термическую природу. Температура пламени зависит от состава горючей смеси. Пламя обычной газовой горелки имеет $t \sim 900 \text{ }^\circ\text{C}$, смесь $\text{H}_2 + \text{воздух}$ $t \sim 2100 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{H}_2 + \text{O}_2$ $t \sim 2800 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{C}_2\text{H}_2 + \text{O}_2$ $t \sim 3000 \text{ }^\circ\text{C}$. Анализируемое вещество вводится с помощью специального распылителя в пламя в виде раствора.

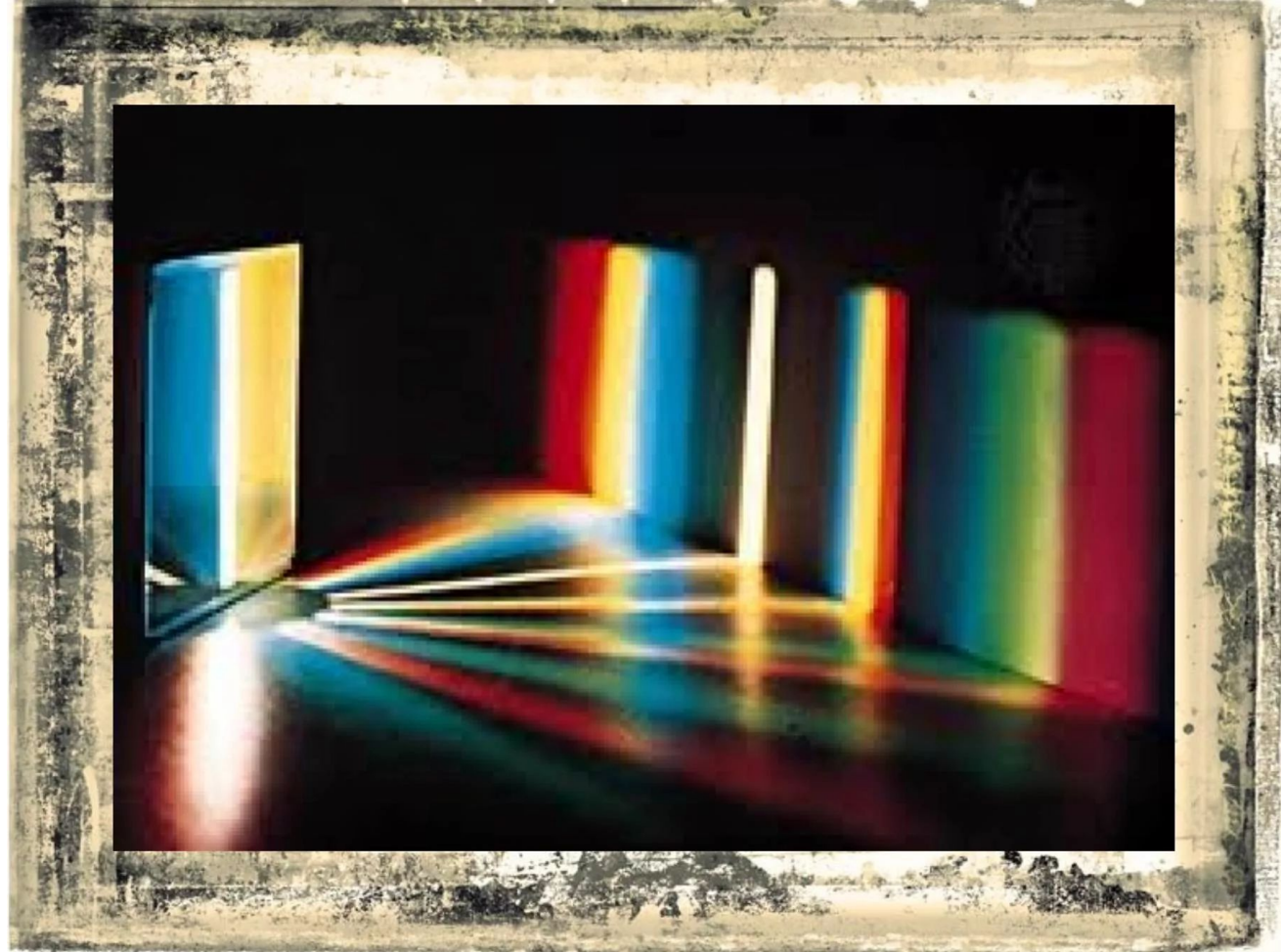
• **Электрическая дуга** – это электрический разряд при сравнительно большой силе тока (5...7 А) и небольшом напряжении (50...80 В). Температура дуги достигает 5000-6000 $^\circ\text{C}$. В дуге получают спектр почти *всех элементов*.

• **Искра.** Для получения искры используют специальные искровые генераторы. При горении искры развивается температура 7000-10000 $^\circ\text{C}$ и происходит возбуждение *всех элементов*.

Диспергирующий элемент

Раскладывает излучение в спектр:

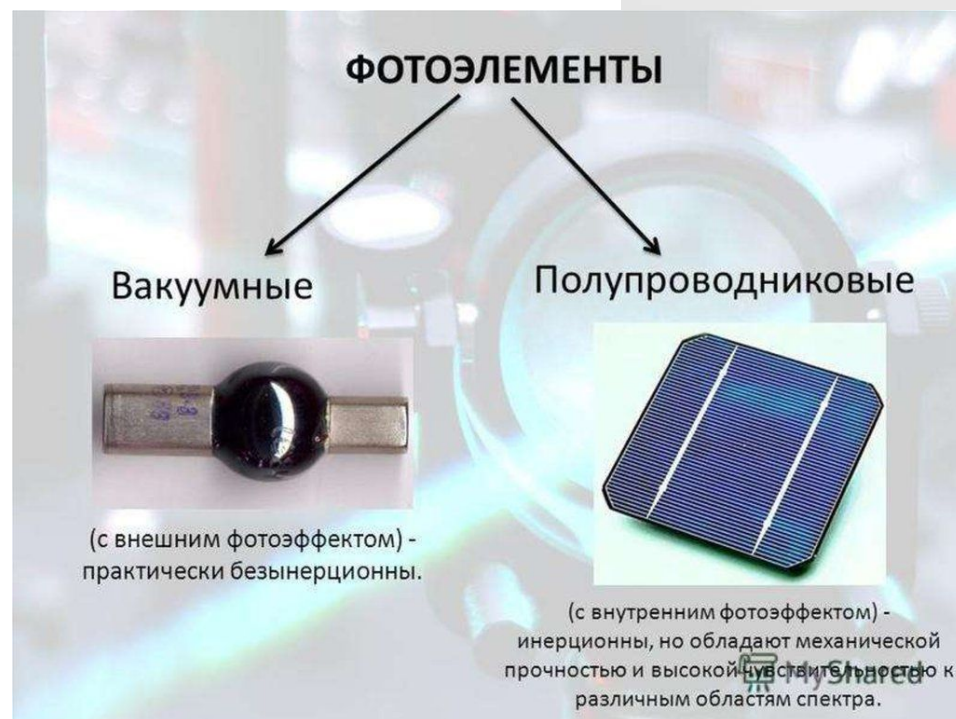
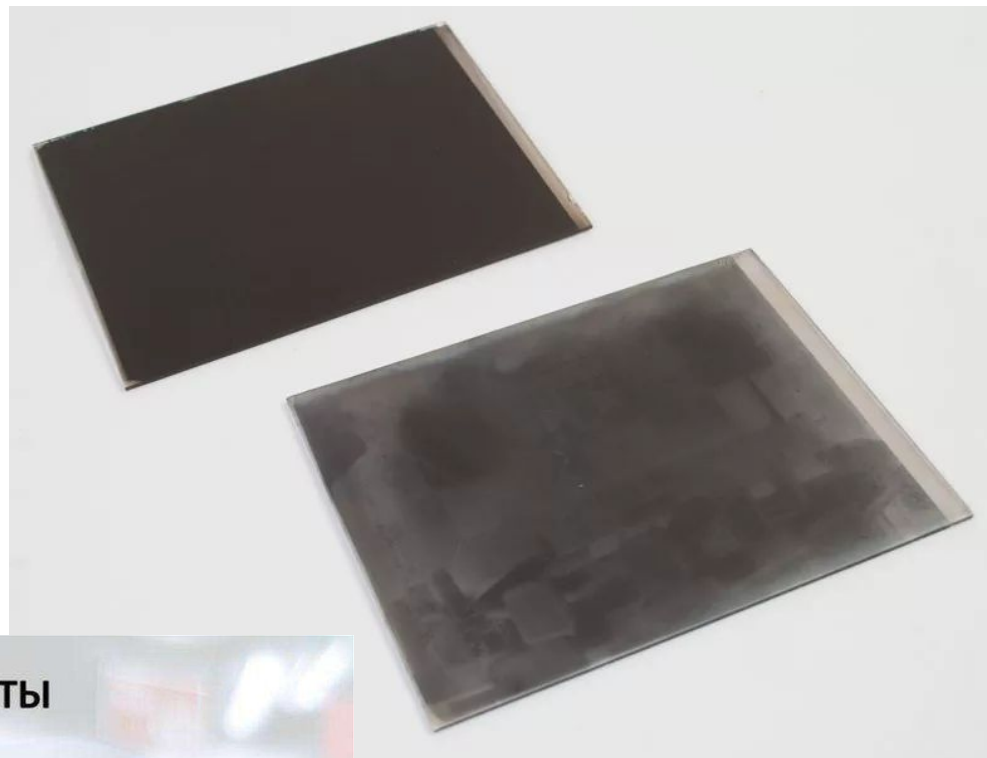
- призмы,
- дифракционные решетки,
- интерференционные устройства.

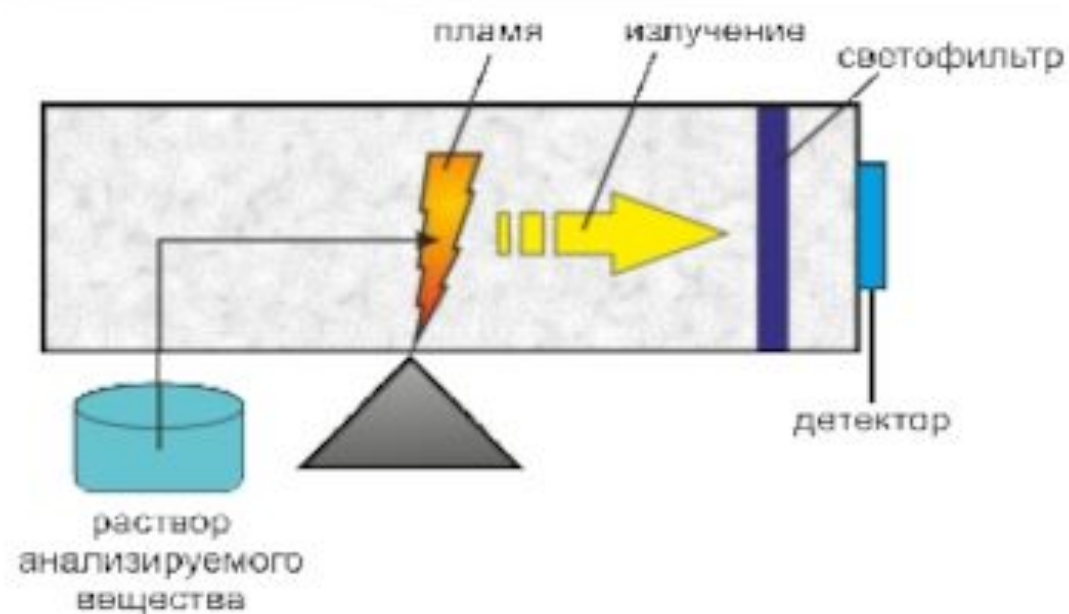


Приемники света

1. Фотопластинка

2. Фотоэлементы – это устройства, которые превращают световую энергию в электрическую.





Эмиссионный анализ:

1. Каждый элемент имеет свой спектр, который не зависит от способов возбуждения.
2. Интенсивность спектральных линий зависит от концентрации элемента в данном веществе.

Преимущества:

1. Высокая чувствительность.
2. Малое время измерения.
3. Детектирования отдельных молекул.
4. Дистанционность измерений.

Применение

- Исследование химического состава сплава при ведении плавки металла.
- Анализ готовых изделий с целью определения марки, состава, примесей.
- Контроль качества на всех стадиях производства.
- Контроль качества исходного материала.
- Экологический мониторинг состояния окружающей среды.
- Изучение химического состава геологических объектов.

Экология

- Эмиссионные спектрометры - универсальные приборы, которые способны исследовать не только металлические, но и токонепроводящие пробы. С их помощью можно исследовать вещества, находящиеся в различных агрегатных состояниях и формах. Диапазон спектральных линий охватывает все интересующие элементы, в том числе С, S, Р, О, Н и щелочно-земельные элементы.

Геология

Спектральный анализ дает возможность анализировать *химический состав руд и минералов*. С его помощью изучаются условия их образования, что позволяет целенаправленно проводить геологическую разведку для поиска новых месторождений.

Кроме этого, спектральный анализ используется для изучения *метеоритного материала*. Это дает возможность сделать практические выводы о составе космических объектов.



Металлургия

- Определение марки стали.
- Анализ углерода, серы и фосфора в сплаве.
- Анализ неметаллических включений и примесей.
- Анализ чистых металлов и сложных сплавов.
- Сертификационный анализ.
- Эмиссионные приборы широко используются для сортировки и анализа состава металлического лома, который служит сырьем для получения стали.



3. Атомно-абсорбционный спектральный анализ

Историческая справка

Окрашивание пламени солями щелочных металлов использовал в **1758 г. Маргграф** для различения солей натрия (желтое пламя) и калия (красное пламя), даже не подозревая о причине данного явления.



Историческая справка

- Позднее проводились систематические наблюдения за солнечным светом, приведшие в **1802 г. Уоллстоуна** к открытию черных линий в солнечном спектре.
- Фундаментальные зависимости между атомной абсорбцией и атомной эмиссией определили физик **Кирхгофф** и химик **Бунзен** в **1860 г.** Кирхгофф сформулировал общий закон, согласно которому **любая материя поглощает свет именно на той длине волны, на которой она его излучает.**



Роберт Бунзен

Историческая справка

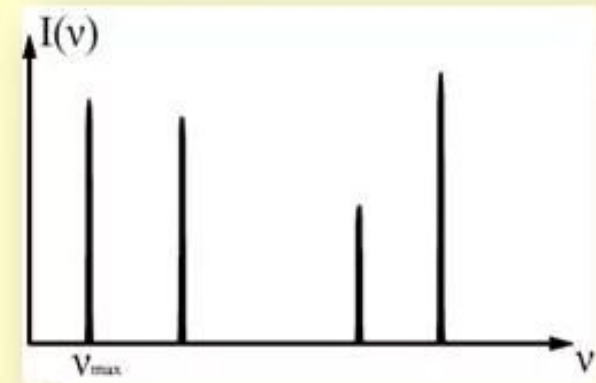
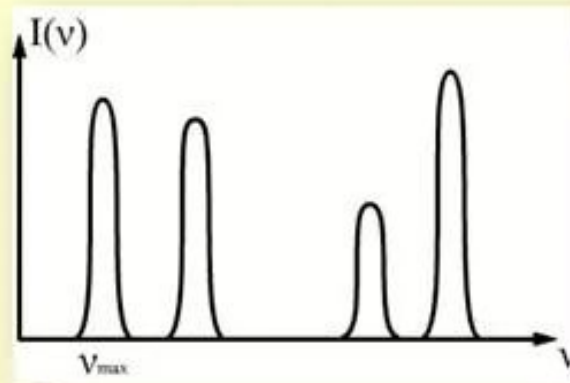
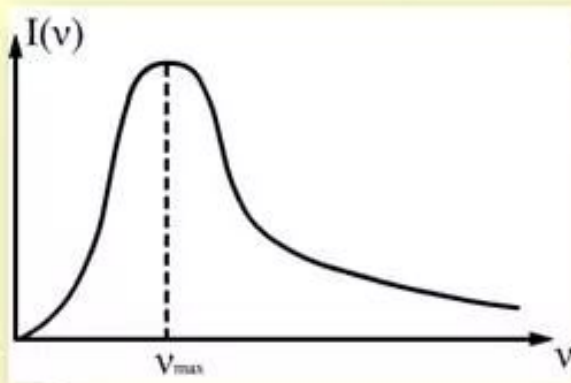
В **1958 г.** профессор **Б. В. Львов** из Ленинграда первый начал заниматься беспламенной атомно-абсорбционной спектроскопией. Но несмотря на новые знания эта методика получила своё практическое воплощение лишь спустя 10 лет.



Типы атомных спектров



Распределение энергии по частотам
(спектральная плотность интенсивности излучения)



Типы атомных спектров

При высокотемпературном воздействии на вещество возможно возникновение трех типов спектров: непрерывных полосатых и линейчатых.

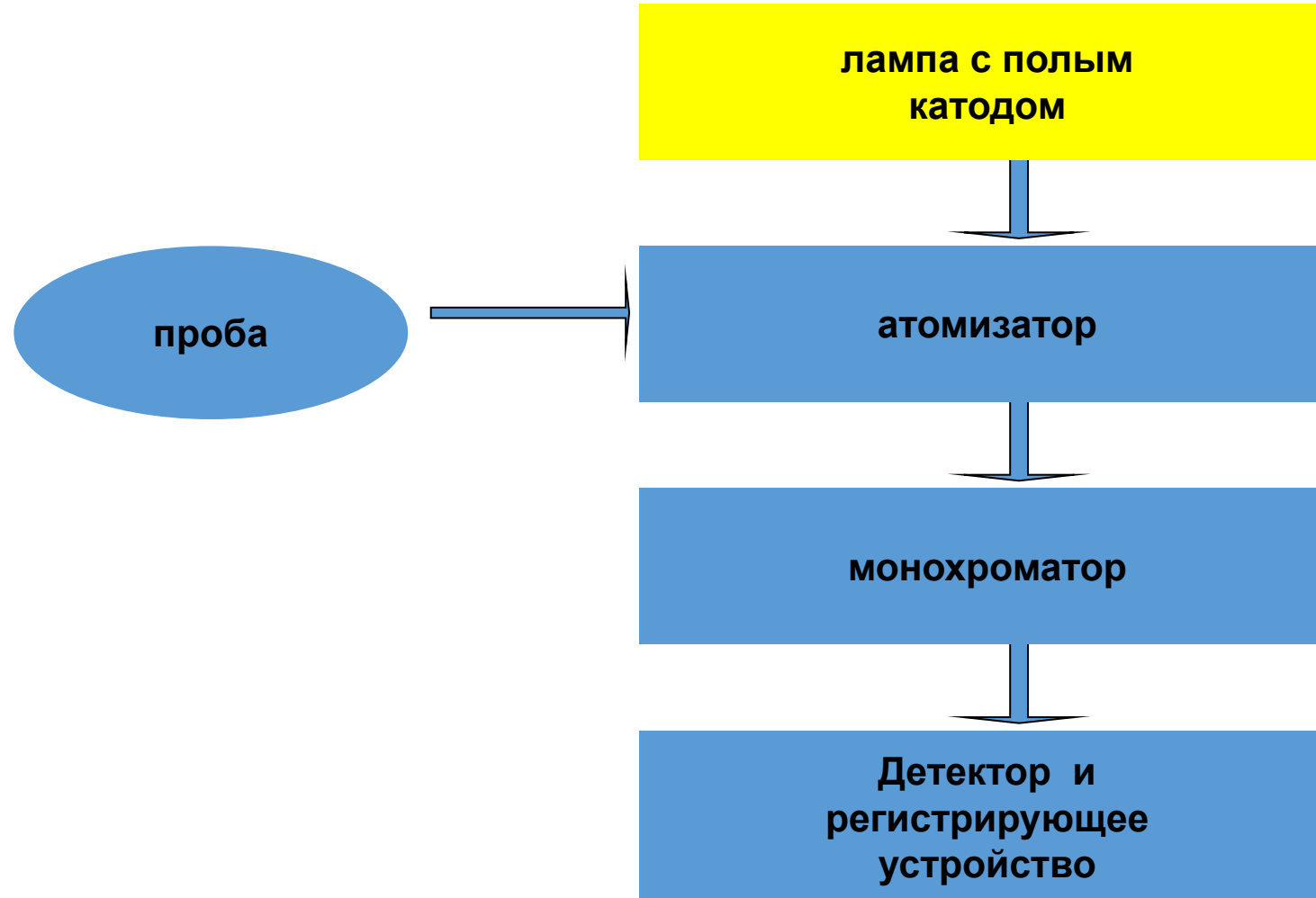
Излучение с *непрерывным спектром* испускается раскаленными твердыми телами.

Полосатые спектры типичны для молекул, находящихся при высокой температуре. Эти спектры отражают сложные процессы, связанные с изменением электронной, колебательной и вращательной энергии молекул.

Линейчатые спектры обусловлены процессами возбуждения электронов свободными атомами и одноатомных ионов. Для объяснения линейчатой природы атомных спектров можно использовать Боровскую модель атома.

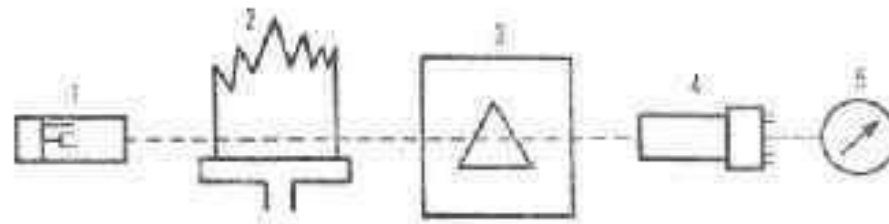
Закономерности в атомных спектрах для элементов Периодической системы подчиняются *правилу сдвига Коссея-Зоммерфельда*: спектр каждого элемента подобен спектру однократно ионизированного атома элемента, следующего за ним.

Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра



Этапы анализа

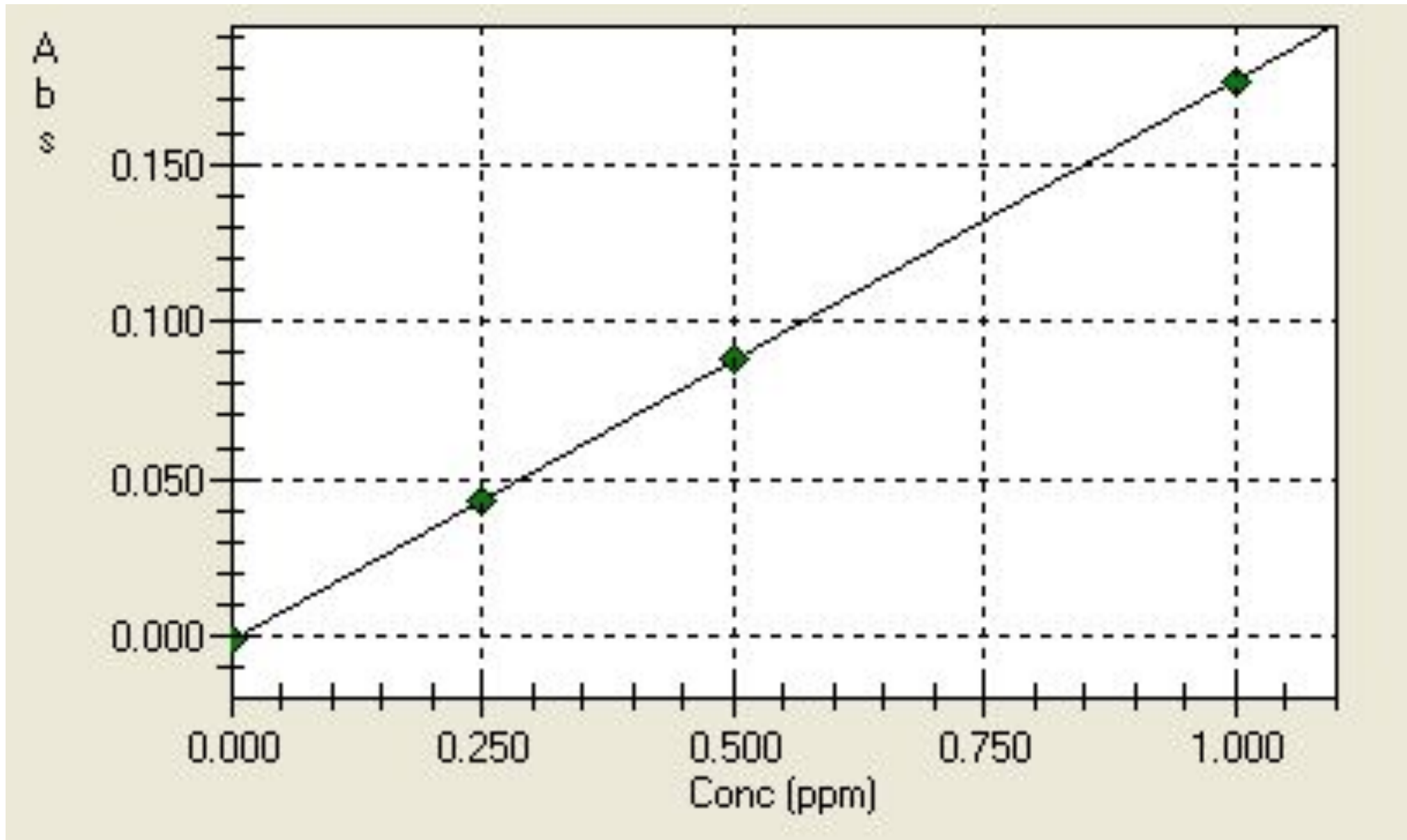
1. Проба в виде раствора подается на пламя горелки и испаряется.
2. Через пар пропускается электромагнитное излучение катодной лампы
3. Атомы металла в пробе поглощают (абсорбируют) часть спектра
4. Детектор фиксирует оставшееся (неабсорбированное) излучение



Атомизация в пламени

Составы газовых смесей для пламенной ААС:

Газовая смесь (горючий газ – окислитель)	Температура, К	Определяемые элементы
ацетилен - воздух	до 2500	большинство
ацетилен - закись азота	до 3100	B, Al, Si, Be, элементы 3-5 побочных подгрупп
водород - воздух	до 2300	As, Se
метан - воздух	до 2000	щелочные металлы



**Зависимость величины абсорбции от
концентрации**

Аппаратура. Современные атомно-абсорбционные спектрометры



Спасибо за внимание!